

## ВЛИЯНИЕ ДИНАМИКИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК СИНОАТРИАЛЬНОГО УЗЛА

© 2016 г. А.Д. Хохлова\* \*\*, Р.А. Сюняев\*\*\*, А.М. Рывкин\* \*\*, Д.В. Шмарко\* \*\*, М.А. Гонотков\*\*\*\*, Е.А. Лебедева\*\*\*\*, В.А. Головки\*\*\*\*, А.С. Москвин\*\*, О.Э. Соловьёва\* \*\* \*\*\*\*\*, Р.Р. Алиев\*\*\* \*\*\*\*\*

\*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106;

\*\*Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;

\*\*\*Московский физико-технический институт (государственный университет), 141701, Долгопрудный Московской области, Институтский пер., 9;

\*\*\*\*Институт физиологии Коми научного центра УрО РАН, 167982, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Первомайская, 50;

\*\*\*\*\*Институт математики и механики УрО РАН, 620990, Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, 16;

\*\*\*\*\*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail: a.khokhlova@iip.uran.ru

Поступила в редакцию 11.06.16 г.

При помощи математического моделирования исследовалось влияние динамики внутриклеточного кальция на спонтанную активность клеток водителей ритма. Мы сравнили ответы на подавление кальциевого тока L-типа в нескольких моделях электрической активности клеток синоатриального узла. Все модели показали уменьшение максимальной скорости деполяризации, амплитуды потенциала действия, длительности потенциала действия. Модели кальциевых часов показали увеличение периода колебаний до 12%. Модели, в которых спонтанная активность в основном определяется током, активируемым при гиперполяризации, показали до 15% уменьшение периода колебаний. Сопоставление полученных теоретических результатов с экспериментальными данными свидетельствует о различном вкладе внутриклеточных механизмов в спонтанную активность водителей ритма в центре и на периферии синоатриального узла.

*Ключевые слова:* потенциал действия, динамика кальция, синоатриальный узел, математическое моделирование.

Современные модели генерации потенциала действия (ПД) в клетках водителей ритма синоатриального узла (САУ), построенные на основе формализма Ходжкина–Хаксли [1], описывают динамику мембранных токов в клетке. Многие из них учитывают внутриклеточную динамику основных ионов:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ . С принципами построения математических моделей кардиомиоцитов можно ознакомиться в работах [2,3].

Сокращения: ПД – потенциал действия, САУ – синоатриальный узел, СР – саркоплазматический ретикулум, ML-модель – модель Мальцева и Лакатта, ЭКМ – электронно-конформационная модель, ДПД<sub>50</sub> – длительность ПД на 50% амплитуды.

Роль кальциевой динамики в генерации потенциала действия клеток САУ до сих пор остается открытым вопросом. С одной стороны, для клеток истинных водителей ритма САУ характерен невыраженный саркоплазматический ретикулум (СР), который занимает меньшую долю объема клетки по сравнению с клетками рабочего миокарда предсердий и желудочков [4,5], что может свидетельствовать о меньшем вкладе динамики внутриклеточного кальция в электрофизиологическую функцию таких клеток. С другой стороны, в численных экспериментах было показано, что изолированная от мембранных токов  $\text{Ca}^{2+}$ -высвобождающая система в клетках САУ может вести себя как осциллятор, запускающий ПД [6]. Данная

гипотеза позволяет объяснить экспериментальные данные о существовании спонтанных локальных высвобождений  $\text{Ca}^{2+}$  из СР [6,7], что дало повод для обсуждения возможной роли высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  из СР в спонтанной активности клеток водителей ритма [3,6,8]. Таким образом, существующие на сегодняшний день модели можно условно разбить на две группы: модели, где в качестве триггера спонтанной активности выступает ток, активируемый при гиперполяризации ( $i_p$ ) (ниже модели «мембранных часов»), и модели, основанные на механизме так называемых «кальциевых часов».

На сегодняшний день не существует экспериментальных методов, позволяющих прямым образом одновременно измерять концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в различных отделах клетки и проанализировать влияние динамики  $\text{Ca}^{2+}$  на генерацию ПД в клетках водителей ритма.

В данной работе влияние внутриклеточного кальция на электрическую активность клеток водителей ритма проанализировано в рамках различных моделей генерации ПД клетками САУ кролика, в том числе одной из ранних моделей Noble & Noble [9], а также более детальных математических моделей, учитывающих динамику ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [6,8,10], в нормальных и патологических условиях при ингибировании кальциевого тока L-типа.

## МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И МЕТОДЫ

Далее кратко представим основные черты анализируемых математических моделей, описывающих спонтанную генерацию электрических импульсов клетками САУ кролика при физиологической температуре 34–37°C. Изменение трансмембранного потенциала кардиомиоцита в каждой из моделей описывалось дифференциальным уравнением  $dV_m/dt = -1/C_m(\sum i_{\text{ion}})$ , где  $V_m$  – трансмембранный потенциал,  $C_m$  – емкость мембраны,  $\sum i_{\text{ion}}$  – сумма ионных токов через мембрану клетки.

**Модели, не учитывающие внутриклеточную динамику  $\text{Ca}^{2+}$ .** Модель Zhang (2000) [11]. Одна из моделей, известных в литературе, которая описывает региональные различия электрической активности клеток САУ. Авторы модели на основе экспериментальных данных разработали модель генерации ПД центральных клеток (истинных водителей ритма) и периферического региона САУ (латентных водителей ритма). Данные модели качественно воспроизводят экспериментальные данные по ингибированию тетродотоксин-чувствительного натриевого тока,

кальциевого тока через каналы L- и T-типов и тока входящего выпрямления  $i_{K1}$ . Модель не учитывает динамику ионов  $\text{Ca}^{2+}$  внутри клетки, концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле задается постоянной величиной.

**Модели, учитывающие внутриклеточную динамику ионов кальция.** Модель Noble & Noble (1984) [9]. Данная модель является прототипом современных более детальных математических моделей, описывающих электрическую функцию клеток водителей ритма. Кроме описания мембранных токов в модели учитывается, в том числе, вызванное кальцием высвобождение кальция. В этой модели  $\text{Ca}^{2+}$ , поступающий из внеклеточного пространства (через каналы L-типа), активирует рианодинновые рецепторы и вызывает поток ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР. Саркоплазматический ретикулум представлен как два связанных между собой отдела – поглощающий и высвобождающий.

Модель Алиева (2004–2005) [12,13]. Модель центральных и периферических клеток САУ была разработана на основе моделей Zhang 2000 и [14]. Учитывает как различия между клетками из центра и периферии, так и динамику внутриклеточных концентраций ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , процессы вызванного кальцием высвобождения кальция и связывания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  кальмодулином, тропонином и кальсеквестрином. В данном случае проводимость рианодинового канала является функцией концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в диадическом пространстве цитоплазмы (области между кальциевыми каналами и рианодиновыми рецепторами). Также модель учитывает влияние ацетилхолина на электрическую активность клетки за счет активации ацетилхолинзависимого калиевого тока, сдвига кривой активации тока активируемого гиперполяризацией и подавления кальциевого тока.

**Модели кальциевых часов.** В следующих моделях  $\text{Ca}^{2+}$ -высвобождающая система может работать в автоколебательном даже автономно от мембранной динамики как самоподдерживающийся устойчивый осциллятор.

Модель Мальцева и Лакатта (2009) (ML-модель) [6]. Особое внимание авторы при разработке этой модели уделили исследованию роли кластеров рианодиновых каналов, расположенных на мембране СР, в высвобождении ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из СР. Кластеры рианодиновых каналов описываются в модели как один объединенный канал, в отличие от большинства более ранних моделей открытие/закрытие которого описывается в терминах марковской цепи, состоящей из четырех основных состояний

[15]. Авторы показали, что открытие рианодинных каналов и запуск высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  возможны без внешнего сигнала со стороны кальциевых L-каналов, что может объяснить экспериментальные данные о существовании спонтанных локальных высвобождений  $\text{Ca}^{2+}$  из СР в клетках САУ. Так, показав в численных экспериментах, что изолированная от мембранных токов  $\text{Ca}^{2+}$ -высвобождающая система может вести себя как самоподдерживающийся устойчивый осциллятор, авторы вводят понятие «внутриклеточных кальциевых часов» клетки.

*Модель Severi (2012)* [10]. Авторы данной модели пересмотрели уравнения мембранных токов, основываясь на современных экспериментальных данных. Основной акцент был сделан на модификации формул для токов/ионных насосов и обменников для того, чтобы корректно описать в модели влияние ингибиторов активируемого при гиперполяризации тока ( $i_f$ ), а также описать механизмы вегетативной и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой регуляции клеток САУ. Для этого авторы использовали экспериментальные данные по влиянию ивабрадина, цезия, ацетилхолина, изопреналина и ВАРТА на потенциал действия клетки. Описание динамики ионов  $\text{Ca}^{2+}$  было заимствовано из ML модели.

*Электронно-конформационная модель  $\text{Ca}^{2+}$ -высвобождающей системы + ML-модель (2015) (объединенная модель ML + ЭКМ)* [8]. Авторы этой модели интегрировали оригинальную электронно-конформационную модель (ЭКМ) кластера рианодинных каналов (9\*9) в ML-модель, заменив описание вызванного кальцием высвобождения кальция. Основной особенностью данной модели является рассмотрение динамики рианодинного канала не как дискретного марковского процесса, а как непрерывного в рамках электронно-конформационной теории. Данная модель сводит огромное количество степеней свободы канала всего к двум: быстрой (электронной, отвечающей за присоединение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  к активным центрам канала) и медленной (конформационной, отвечающей за его структурное открытие/закрытие) [3]. Состояние канала описывается в энергетических терминах двухъямным конформационным потенциалом (минимумы, вероятности переходов между ветвями которого зависят от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в терминальных цистернах СР и в диадическом пространстве). Данный подход к рассмотрению кластеров рианодинных каналов позволяет исследовать процесс высвобождения  $\text{Ca}^{2+}$  из СР на макромолекулярном уровне. Было показано, что учет конформационного взаимодействия между каналами обес-

печивает устойчивость колебаний кальциевых часов в физиологическом режиме работы [16].

**Методы.** Каждая из моделей Noble & Noble, ML, Severi, Zhang и Алиева представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений с заданными начальными условиями. Для расчета активационных и инактивационных переменных ионных каналов и ПД в данных моделях был выбран явный метод Эйлера с шагом по времени  $\Delta t = 10^{-5}$  с. Для электронно-конформационной модели стохастической динамики рианодинного канала в модели ML + ЭКМ использовали метод Монте-Карло.

Для расчета моделей Noble & Noble, ML, Severi и Zhang был использован пакет COR [17]. Полная система дифференциальных уравнений и параметров данных моделей на языке CellML представлена на сайте <https://models.physioomeproject.org/cellml>. Объединенная модель ML + ЭКМ и модель Алиева были рассчитаны в оригинальных программных комплексах.

Для моделирования ингибирования кальциевого тока L-типа в каждой исследуемой модели максимальная проводимость/проницаемость каналов L-типа к ионам кальция была уменьшена на 25 и на 50%. Для анализа были рассмотрены первые 10 сердечных циклов. Для сравнения результатов моделирования с экспериментальными данными были использованы данные по влиянию блокатора кальциевых каналов нифедипина (0,1, 0,5 и 2 мкМ) на потенциал действия клеток САУ [18,19].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице приведено сравнение характеристик ПД всех рассматриваемых моделей клеток САУ с экспериментальными данными, полученными на небольших кусочках ткани из центра и периферии САУ кролика в нормальных условиях [18–21] и при действии блокатора кальциевых каналов L-типа [18,19]. Все модели центральных клеток САУ (модели Noble & Noble, ML, Severi, ML + ЭКМ, Zhang (центр), Алиева (центр)) воспроизводят основную характеристику истинных водителей ритма – максимальная скорость  $dV_{\max}/dt$  фазы быстрой деполяризации ПД соответствует медленной скорости деполяризации клеток центра САУ, зарегистрированной экспериментально ( $1,9 \pm 0,19$  В/с [20] ~  $5,6 \pm 1,8$  В/с [18]). Период спонтанных возбуждений и длительность ПД на 50% амплитуды (ДПД<sub>50</sub>) во всех моделях центра САУ качественно соответствует экспериментальным данным, полученным при физиологических температурах

Сравнение характеристик потенциала действия в центральной и периферической областях САУ кролика в моделях и в экспериментальных данных в нормальных условиях и при ингибировании кальциевого тока L-типа.

Модель, год создания	$\downarrow g_{CaL}/P_{CaL}, \%$	Период, с	МДП, мВ	Амплитуда ПД, мВ	ДПД <sub>50</sub> , с	$dV_{max}/dt, В/с$
Noble & Noble (центр) 1984	<b>0</b>	<b>0,266</b>	<b>-63,03</b>	<b>85,60</b>	<b>0,063</b>	<b>4,8</b>
	25	0,269	-61,30	77,45	0,065	3,7
	50	0,267	-53,44	57,01	0,067	1,7
ML (центр) 2009	<b>0</b>	<b>0,333</b>	<b>-62,82</b>	<b>75,88</b>	<b>0,100</b>	<b>4,8</b>
	25	0,359	-62,51	71,16	0,095	3,0
	50	Нет генерации ПД				
Severgi (центр) 2012	<b>0</b>	<b>0,355</b>	<b>-58,00</b>	<b>80,28</b>	<b>0,110</b>	<b>7,2</b>
	25	0,361	-58,19	76,60	0,098	5,5
	50	0,398	-57,97	70,01	0,086	3,5
ML + ЭКМ (центр) 2015	<b>0</b>	<b>0,466</b>	<b>-67,32</b>	<b>89,71</b>	<b>0,113</b>	<b>6,3</b>
	25	0,501	-68,65	83,41	0,095	4,8
	50	Нет генерации ПД				
Zhang (центр) 2000	<b>0</b>	<b>0,321</b>	<b>-56,01</b>	<b>75,20</b>	<b>0,137</b>	<b>2,3</b>
	25	Нет генерации ПД				
	50	Нет генерации ПД				
Zhang (периферия) 2000	<b>0</b>	<b>0,159</b>	<b>-77,52</b>	<b>102,12</b>	<b>0,076</b>	<b>61,1</b>
	25	0,149	-76,59	96,64	0,067	56,6
	50	0,136	-74,15	87,13	0,058	46,3
Алиев (центр) 2005	<b>0</b>	<b>0,356</b>	<b>-61,48</b>	<b>86,87</b>	<b>0,128</b>	<b>4,1</b>
	25	0,352	-59,67	72,4	0,114	2,1
	50	Нет генерации ПД				
Алиев (периферия) 2005	<b>0</b>	<b>0,238</b>	<b>-79,46</b>	<b>108,73</b>	0,100	<b>78,7</b>
	25	0,218	-80,21	106,25	0,089	78,9
	50	0,193	-81,01	103,07	0,074	79,4
Экспериментальные данные (центр) [20], $t = 38^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,386 ± 0,010</b>	<b>-61 ± 1,4</b>	<b>66 ± 2</b>	<b>0,105 ± 0,004</b>	<b>1,9 ± 0,2</b>
Экспериментальные данные (центр) [21], $t = 35^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,333 ± 0,020</b>	<b>-62 ± 4</b>	<b>65 ± 5</b>	<b>0,105 ± 0,010</b>	<b>3,2 ± 0,5</b>
Экспериментальные данные (периферия) [21], $t = 35^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,300 ± 0,020</b>	<b>-78 ± 6</b>	<b>95 ± 4</b>	<b>0,070 ± 0,010</b>	<b>17,0 ± 5,0</b>
Экспериментальные данные (центр) [18], $t = 31^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,600 ± 0,095</b>	<b>-61 ± 6</b>	<b>71 ± 6</b>	<b>0,168 ± 0,015</b>	<b>5,6 ± 1,8</b>
	0.1 мкМ нифедитина	0,679 ± 0,075	-57 ± 8	53 ± 14*	0,179 ± 0,014	2,8 ± 1,3*

Окончание

Модель, год создания	$\downarrow g_{CaL}/P_{CaL}, \%$	Период, с	МДП, мВ	Амплитуда ПД, мВ	ДПД <sub>50</sub> , с	$dV_{max}/dt, \text{В/с}$
Экспериментальные данные (периферия) [18], $t = 31^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	$0,552 \pm 0,060$	$-71 \pm 3$	$80 \pm 2$	$0,148 \pm 0,021$	$24,5 \pm 6,5$
	0,1 мкМ нифедипина	$0,544 \pm 0,051$	$-66 \pm 7$	$72 \pm 2^*$	$0,156 \pm 0,019$	$15,0 \pm 5,0^*$
Экспериментальные данные (центр) [19], $t = 32^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,602</b>	<b>-67,86</b>	<b>77,59</b>	<b>0,176</b>	<b>5,6</b>
	2 мкМ нифедипина	Нет генерации ПД				
Экспериментальные данные (периферия) [19]), $t = 32^\circ\text{C}$	<b>Контроль</b>	<b>0,349</b>	<b>-71,14</b>	<b>91,75</b>	<b>0,085</b>	<b>84,8</b>
	2 мкМ нифедипина	0,287	-72,66	87,30	0,062	75,2

Примечание. \* – Достоверность различий по сравнению с контролем;  $\downarrow g_{CaL}/P_{CaL}, \%$  – уменьшение в моделях максимальной проводимости/проницаемости каналов L-типа к ионам кальция в процентах от исходного значения; МДП – максимальный диастолический потенциал; ДПД<sub>50</sub> – длительность ПД на 50% амплитуды;  $dV_{max}/dt$  – максимальная скорость нарастания фронта ПД. Средние значения экспериментальных данных из работы [19] адаптированы для таблицы.

[20,21]. Отметим, что временные характеристики ПД очень чувствительны к изменению температуры: период спонтанных возбуждений и ДПД<sub>50</sub>, зарегистрированные при 35 и 38°C, численно отличаются от данных, полученных при температурах 31–32°C [18,19] в 1,5–2 раза (таблица).

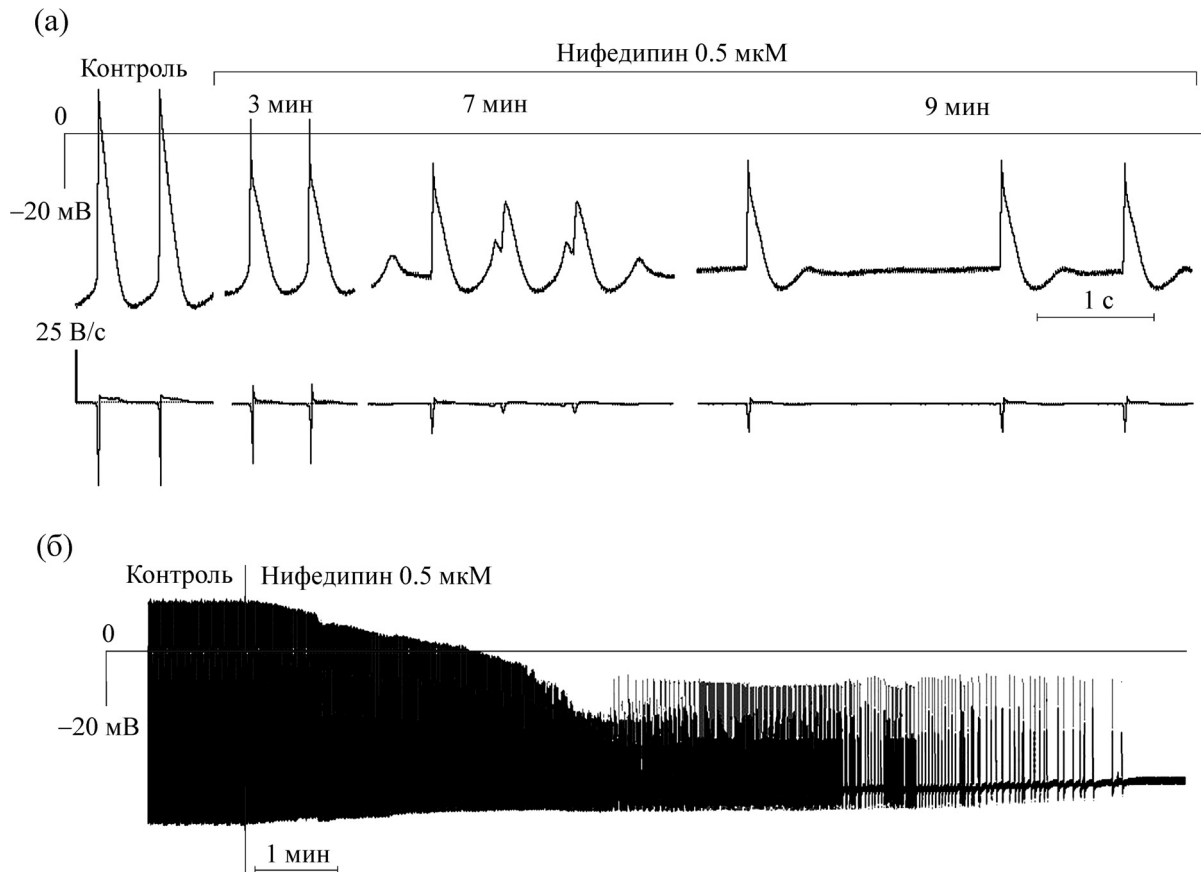
Значительные отличия от экспериментального значения максимального диастолического потенциала показали модели Severi и Zhang (центр). Превышение по амплитуде ПД показали результаты вычислений на моделях Noble & Noble, ML + ЭКМ и Алиева (центр).

Все модели латентных водителей ритма (модели Zhang (периферия) и Алиева (периферия), выделены курсивом в таблице) воспроизводят более высокую скорость  $dV_{max}/dt$  по сравнению с клетками истинных водителей ритма, что соответствует экспериментальным данным (таблица). Частота генерации ПД выше в периферических клетках по сравнению с центральными клетками: на 50,5% в модели Zhang (периферия) и на 33,1% в модели Алиева (периферия) vs. 42,0% в эксперименте при температуре 32°C [19]. Отметим, что в других экспериментальных работах региональные различия оказались менее выраженными [18,21]. Также модели Zhang (периферия) и Алиева (периферия) качественно воспроизводят различия в характеристиках максимального диастолического потенциала и амплитуды ПД: максимальный диастолический потенциал ниже, а амплитуда ПД выше в пе-

риферических участках по сравнению с центральным участком САУ.

**Влияние блокатора кальциевых каналов L-типа на электрическую активность клеток САУ.** Экспериментально было показано, что чувствительность центральных клеток к ингибированию  $\text{Ca}^{2+}$  тока  $i_{CaL}$  выше по сравнению с периферическими клетками [18,19]. Ингибирование  $i_{CaL}$  блокатором нифедипином в концентрации 0,1 мкМ у центральных клеток ( $n = 5$ ,  $dV/dt_{max} = 5,6 \pm 1,8 \text{ В/с}$ ) привело к снижению амплитуды ПД на 25% и замедлению скорости фазы быстрой деполяризации на ~50% (таблица, [18]). У периферических клеток ( $dV/dt_{max} = 24,5 \pm 6,5 \text{ В/с}$ ,  $n = 3$ ) добавление 0,1 мкМ нифедипина привело к снижению амплитуды ПД на 10% и замедлению  $dV/dt_{max}$  на 40% (таблица, [18]). Повышение концентрации нифедипина от 0,1 до 0,5 мкМ ( $n = 4$ ) приводило к подавлению электрической активности у полюсов САУ кролика на 7–10 мин экспозиции. Влияние 0,5 мкМ нифедипина на нарушение нормальной генерации ПД периферических клеток САУ кролика показано на рис. 1.

В работах [22,23] показано, что ингибирование  $i_{CaL}$  нифедипином в концентрации 2 мкМ (что привело к падению на 99% амплитуды  $i_{CaL}$  по сравнению с контрольным уровнем) вызывает прекращение генерации ПД в центре САУ кролика. На периферии САУ при той же самой концентрации нифедипина уменьшаются  $dV_{max}/dt$ , амплитуда ПД, ДПД<sub>50</sub> и период спонтанных возбуждений. В клетках промежуточ-



**Рис. 1.** Влияние нифедипина (0,5 мкМ) на генерацию ПД клеток периферической области САУ кролика на 3-й, 7-й и 9-й минуте экспозиции: (а) – изменение конфигурации ПД и скорости фазы быстрой деполяризации ( $dV/dt_{\max}$ ), (б) – запись ПД при сжатой временной шкале [18].

ного типа было отмечено значительное уменьшение частоты колебаний [19].

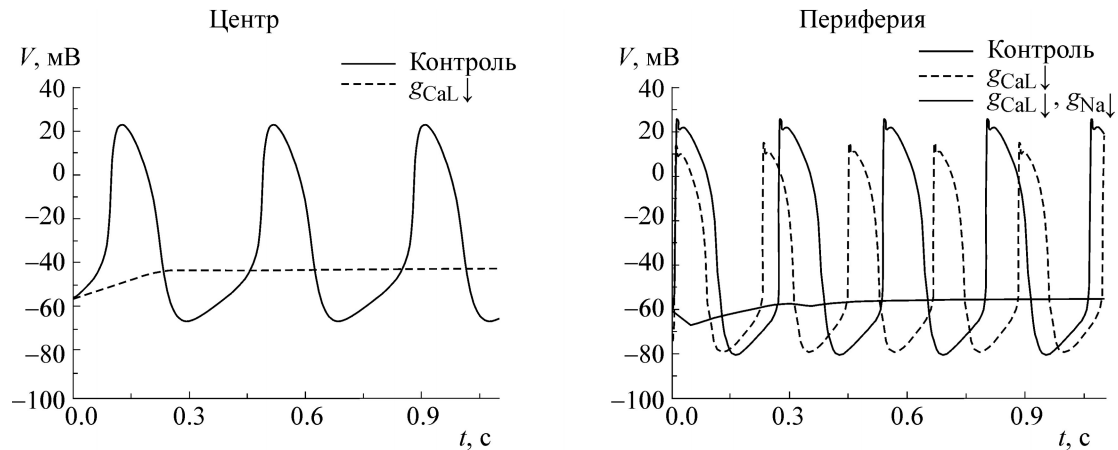
Модели, учитывающие региональные различия электрических свойств клеток САУ (модели Zhang и Алиева), воспроизводят отличия в ответе клеток из различных регионов на ингибирование  $i_{CaL}$ . При одинаковом уменьшении параметра  $g_{CaL}$  в моделях наблюдалось прекращение генерации ПД в центре, но не на периферии САУ, что соответствует экспериментальным данным (таблица). Результаты моделирования показывают, что сильно выраженный натриевый ток в периферических клетках по сравнению с центральными клетками [11] является компенсаторным механизмом, предотвращающим резкое падение суммарного деполяризующего тока, которое привело бы к остановке электрической активности клетки. При одновременном подавлении натриевого тока в периферических клетках в моделях Zhang (периферия) и Алиева (периферия) наблюдалось прекращение генерации ПД аналогично тому, как

ранее было получено в центральных клетках САУ (рис. 2).

Все анализируемые модели истинных водителей ритма воспроизводили экспериментальный результат остановки спонтанной активности. Однако чувствительность моделей к параметру, описывающему максимальную проводимость ( $g_{CaL}$ ) (или проницаемости каналов L-типа к ионам кальция ( $P_{CaL}$ )) оказалась различной.

Модель Noble & Noble оказалась наименее чувствительной к подавлению  $i_{CaL}$  (точнее, кальциевой компоненты  $i_{SI}$ , о существовании кальциевых каналов L-типа не было известно на момент выхода оригинальной статьи). В данной модели уменьшение  $P_{CaL}$  на 25 и 50% не привело к прекращению генерации ПД. Несмотря на уменьшение  $dV_{\max}/dt$  и амплитуды ПД, такие характеристики, как период спонтанных возбуждений и ДПД<sub>50</sub>, изменились незначительно (таблица).

Модель Zhang, которая не учитывает внутриклеточную динамику  $Ca^{2+}$ , оказалась наибо-



**Рис. 2.** Влияние ингибирования  $Ca^{2+}$  тока L-типа ( $\downarrow g_{CaL}$  на 50%) на генерацию ПД клеток центральной и периферической области САУ в модели Алиева.

лее чувствительной к подавлению тока  $i_{CaL}$ : уменьшение на 25% максимальной проводимости каналов L-типа  $g_{CaL}$  в модели Zhang (центр) привело к полному подавлению спонтанной активности, чего не наблюдается в других моделях. Более того, уже при уменьшении  $g_{CaL}$  на 15% генерация ПД в модели прекращалась со второй секунды. Уменьшение  $g_{CaL}$  на 10% вызвало уменьшение амплитуды и периода колебаний. В модели Zhang периферической клетки уменьшение  $g_{CaL}$  на 50% привело к уменьшению периода колебаний на 7% (18% в эксперименте [19]) и к 15%-му падению амплитуды (5% в эксперименте [19]).

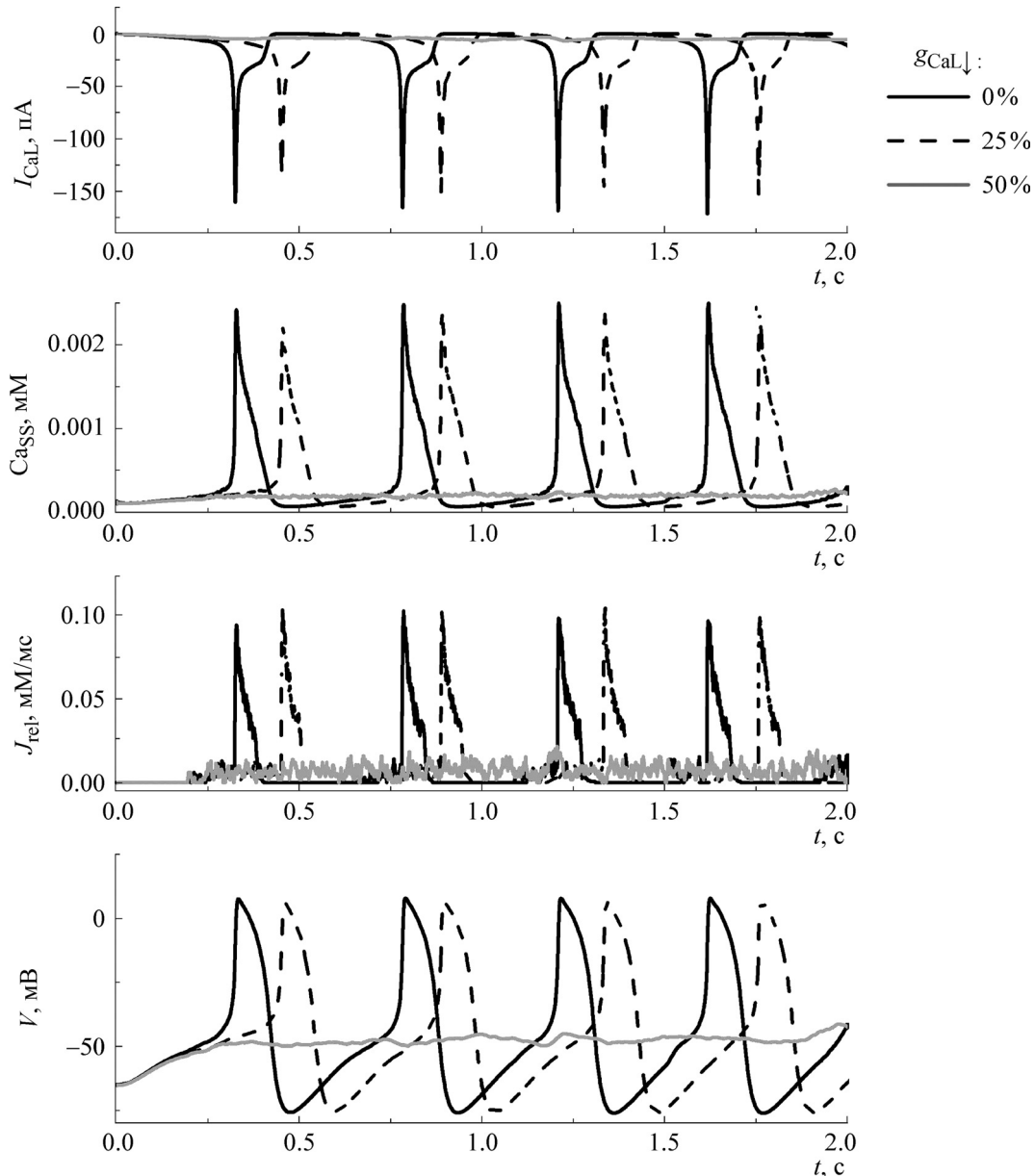
Близкая к модели Zhang модель Алиева включает описание функции СР клетки САУ. В результате модель Алиева центральных клеток САУ менее чувствительна к ингибированию  $i_{CaL}$ : спонтанная электрическая активность не прекращается при уменьшении  $g_{CaL}$  на 25%. Относительные изменения амплитуды и периода колебаний ПД периферической клетки при подавлении  $i_{CaL}$  несколько ближе к экспериментальным значениям [19]: 19%-е уменьшение периода колебаний и 5%-е уменьшение амплитуды. Следует отметить, что медленные изменения внутриклеточных ионных концентраций  $Na^+$  и  $K^+$  приводили к дальнейшему сокращению периода колебаний в модели Алиева до 0,186 с, однако для упрощения рассматриваемых явлений в настоящей работе для всех моделей рассматривались только первые 10 сердечных циклов. В обеих моделях установившееся значение мембранного потенциала в центральных клетках при ингибировании  $i_{CaL}$  равнялось  $-41$  мВ (см. рис. 3), что близко к  $-45$  мВ, полученным в эксперименте [19].

Результаты экспериментов на ML-модели, основанной на гипотезе «кальциевых часов», модели Severi (в которой функция СР и динамика кальция в цитозоле интегрирована из ML-модели) и модели ML + ЭКМ показали противоположный результат: при ингибировании  $i_{CaL}$  период колебаний увеличился (таблица). Так, в модели Severi период увеличился на 11%, а  $dV_{max}/dt$  упала в два раза при ингибировании  $i_{CaL}$  на 50%, что соответствует экспериментальным данным на полосках ткани (11,6%-е увеличение периода, 50%-е падение  $dV_{max}/dt$  при 0,1 мкМ нифедипина [19]). Изменение амплитуды ПД при уменьшении  $g_{CaL}$  на 25% составило величину порядка 5 мВ в моделях ML, Severi и ML + ЭКМ по сравнению с  $\approx 15$  мВ в модели Алиева.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показал, что при ингибировании кальциевого тока L-типа анализируемые модели воспроизводят следующие экспериментально зарегистрированные результаты: 1) уменьшение  $dV_{max}/dt$ , 2) уменьшение амплитуды ПД, 3) уменьшение ДПД<sub>50</sub> (кроме модели Noble & Noble). Частота спонтанных генераций ПД растет в моделях Zhang и Алиева (моделях мембранной динамики), но не в моделях ML, ML + ЭКМ и Severi (моделях «кальциевых часов»).

Сокращение периода колебаний в моделях «мембранных часов» Zhang и Алиева, в основу которых положен механизм спонтанной активности за счет  $i_f$ , может быть связано с тем, что при подавлении  $i_{CaL}$  деполяризующие токи уменьшаются по сравнению с калиевыми токами, что, в свою очередь, сокращает фазу ре-



**Рис. 3.** Влияние ингибирования  $\text{Ca}^{2+}$  тока L-типа на электрическую функцию и кальциевую динамику в клетке центральной области САУ в модели ML + ЭКМ. Показан временной ход (сверху вниз):  $\text{Ca}^{2+}$ -ток через каналы L-типа ( $i_{\text{CaL}}$ ), концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в диадическом пространстве ( $\text{Ca}_{\text{ss}}$ ), поток  $\text{Ca}^{2+}$  из СР ( $J_{\text{rel}}$ ), мембранный потенциал ( $V$ ).

поляризации. Об этом свидетельствует как уменьшение амплитуды колебаний, так и сокращение ДПД<sub>50</sub> (таблица).

Увеличение периода колебаний в моделях «кальциевых часов» может быть связано с достаточно высокой амплитудой тока  $i_{\text{NaCa}}$  в данных моделях: так, например, в модели Severi в контроле амплитуда  $i_{\text{NaCa}}$  достигала величины 2 А/Ф [7], что сравнимо с амплитудой  $i_{\text{CaL}}$ , равной 6 А/Ф. Для сравнения: амплитуда  $i_{\text{NaCa}}$  в модели Алиева центральных клеток в кон-

троле была менее 0,4 А/Ф. Кроме того, на рис. 3 видно, что уменьшение  $g_{\text{CaL}}$  на 25% в модели ML + ЭКМ не приводит к значительному уменьшению концентрации кальция в диадическом пространстве, таким образом, несмотря на уменьшение  $g_{\text{CaL}}$ , из СР высвобождается достаточно большое количество  $\text{Ca}^{2+}$ , что предотвращает значительное уменьшение тока  $i_{\text{NaCa}}$ , выводящего  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля клетки во внеклеточное пространство. Таким образом, при ингибировании тока  $i_{\text{CaL}}$  соотношение между



деполяризирующими и реполяризирующими токами в моделях «кальциевых часов» изменяется не так сильно, как в «мембранных» моделях. С другой стороны, финальная фаза медленной деполяризации и начальная фаза быстрой деполяризации, в которой существенную роль играет  $i_{CaL}$ , замедлилась ( $\approx 6,7\%$  при уменьшении  $g_{CaL}$  на 25% в модели ML + ЭКМ, рис. 3), что привело к увеличению периода спонтанных возбуждений.

Амплитуда  $i_{NaCa}$  в модели Noble & Noble в нормальных условиях достигает 0,8 А/Ф, что больше, чем в моделях Zhang и Алиева, однако меньше чем в моделях ML, Severi, ML + ЭКМ. Таким образом, можно сказать, что по оценке вклада  $i_{NaCa}$  в суммарный деполяризирующий ток модель Noble & Noble занимает промежуточное положение между моделями, основанных на гипотезе «кальциевых часов», и моделях, в основу которых положен механизм спонтанной активности, связанный с динамикой мембранных токов.

Проведенное исследование позволяет предположить, что модели типа «кальциевых часов» (ML, ML + ЭКМ и Severi) лучше описывают имеющиеся экспериментальные данные по ингибированию  $i_{CaL}$  в клетках истинных водителей ритма. Модели, в основу которых положен механизм спонтанной активности, связанный с мембранными токами (модели Zhang и Алиева), адекватно воспроизводят экспериментальные данные в клетках периферического типа. Это может быть связано с различной ролью  $i_{NaCa}$  в суммарном деполяризирующем токе в моделях первого и второго типа и косвенно может говорить о различных механизмах спонтанной активности в центре и на периферии САУ.

Численные эксперименты на моделях Noble, Severi, Zhang, ML и разработка модели ЭКМ выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-35-00005), исследование  $Ca^{2+}$ -высвобождающей системы в рамках модели ML + ЭКМ поддержано Российским фондом фундаментальных исследова-

ний (грант № 16-34-60223), экспериментальное исследование влияния нифедипина на электрическую активность клеток САУ поддержано УрО РАН (грант № 15-5-4-11).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, *J. Physiol.* **117** (4), 500 (1952).
2. P. P. Алиев, *Успехи физиол. наук* **41** (3), 44 (2010).
3. A. S. Moskvina, et al., *JETP Lett.* **93** (7), 403 (2009).
4. W. K. Bleeker, et al., *Circ. Res.* **46** (1), 11 (1980).
5. T. N. James, et al., *Circulation* **34** (1), 139 (1966).
6. V. A. Maltsev and E. G. Lakatta, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **296** (3), H594 (2009).
7. E. G. Lakatta, et al., *Circ. Res.* **106** (4), 659 (2010).
8. A. M. Рывкин, et al., *Биофизика* **60** (6), 1138 (2015).
9. D. Noble and S. J. Noble, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **222** (1228), 295 (1984).
10. S. Severi, et al., *J. Physiol.* **590** (18), 4483 (2012).
11. H. Zhang, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **279** (1), H397 (2000).
12. P. P. Алиев, et al., *Докл. РАН* **397** (5), 697 (2000).
13. P. P. Алиев и Л. М. Чайлахян, *Докл. РАН* **402** (5), 689 (2005).
14. Y. Kurata, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **283** (5), H2074 (2002).
15. M. D. Stern, et al., *J. Gen. Physiol.* **113** (3), 469 (1999).
16. A. M. Ryvkin, et al., *Dokl. Biol. Sci.* **444** (1), 162 (2012).
17. A. Gurney, et al., *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.* **367** (1895), 1885 (2009).
18. Е. А. Лебедева и В. А. Головкин, в сб. *Материалы докладов V Съезда биофизиков России* (Ростов-на-Дону, 2015), т. 2, с. 306.
19. I. Kodama, et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **272** (6), H2793 (1997).
20. T. Opthof, et al., *J. Mol. Cell Cardiol.* **17** (6), 549 (1985).
21. В. А. Головкин, *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова* **95** (4), 387 (2009).
22. P. F. Mery, et al., *J. Physiol.* **494** (Pt 1), 105 (1996).
23. H. Satoh and K. Tsuchida, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **21** (5), 685 (1993).

## **Influence of Intracellular Calcium Dynamics on Electrical Activity of Sinoatrial Node Cells**

**A.D. Khokhlova\* \*\*, R.A. Syunyaev\*\*\*, A.M. Ryvkin\* \*\*, D.V. Shmarko\* \*\*,  
M.A. Gonotkov\*\*\*\*, E.A. Lebedeva\*\*\*\*, V.A. Golovko\*\*\*\*, A.S. Moskvina\*\*,  
O.E. Solovyova\* \*\* \*\*\*\*\*, and R.R. Aliev\*\*\* \*\*\*\*\***

*\*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Pervomaiskaya 106, Yekaterinburg, 620049 Russia*

*\*\*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,  
ul. Mira 19, Yekaterinburg, 620002 Russia*

*\*\*\*Moscow Institute of Physics and Technology (Moscow State University),  
Institutskiy per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141701 Russia*

*\*\*\*\*Institute of Physiology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Pervomaiskaya 50, Syktyvkar, Republic of Komi, 167982 Russia*

*\*\*\*\*\*Institute of Mathematics and Mechanics, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
ul. Sof'i Kovalevskoi 16, Yekaterinburg, 620990 Russia*

*\*\*\*\*\*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The influence of intracellular calcium dynamics on spontaneous activity of pacemaker cells was investigated via mathematical modeling. We compared the responses to the inhibition of calcium L-type current in several models of electrical activity of sinoatrial node cells. All models showed a decrease in the maximum velocity of depolarization, action potential amplitude, action potential duration. Calcium clock models showed an increase in the period of calcium oscillation up to 12%. Models in which spontaneous activity is mainly determined by the hyperpolarization-activated current showed up to 15% reduction in the oscillation period. A comparison of theoretical results with experimental data indicates different contribution of intracellular mechanisms to spontaneous activity of pacemaker cells from center and periphery of the sinoatrial node.

*Key words: action potential, calcium dynamics, sinoatrial node, mathematical modeling*