

ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ КАРДИОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ЭЛЕКТРОМЕХАНИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ

ПРАТУСЕВИЧ В. Р., ЗЫКОВ В. С., МУКУМОВ М. Р.

Показана возможность определения ионного механизма действия кардиотропных веществ с помощью математической модели электромеханического сопряжения в миокарде. Работоспособность метода проверена с помощью веществ с заведомо известным механизмом действия. Дан пример анализа с помощью предложенного метода механизма действия дилтиазема на папиллярную мышцу крысы.

Обязательный этап при создании новых лекарственных средств — установление ионного механизма действия физиологически-активных веществ (ФАВ), входящих в их состав. В настоящее время для этого применяется трудоемкий фармакологический анализ, суть которого заключается в исследовании изменения эффектов вещества в ответ на последовательное ингибирование или активацию потенциальных клеточных мишеней с помощью относительно специфических химических соединений [1]. Вместе с тем наличие взаимосвязи между функциональным состоянием отдельных звеньев электромеханического сопряжения (ЭМС) и параметрами электрической и сократительной активности, например, в миокарде, позволяет надеяться на создание более рационального метода для определения ионного механизма действия ФАВ, обладающих инотропной активностью.

В настоящей работе показана принципиальная возможность решения указанной задачи с помощью математической модели баланса Ca^{2+} в кардиомиоците на основании регистрации внутриклеточных потенциалов и изометрического сокращения фрагмента миокарда, стимулируемого по специальной программе до и во время действия испытываемого химического соединения. Проведенные исследования включали в себя: выбор математической модели ЭМС, разработку программы стимуляции и отбор регистрируемых параметров, отработку методики параметрической идентификации и проверку ее работоспособности в опытах на животных с помощью веществ различных классов, обладающих известным механизмом действия.

Выбор модели. Сила сокращения кардиомиоцита определяется концентрацией свободного кальция в районе сократительного аппарата [2]. В свою очередь, концентрация Ca^{2+} в миоплазме регулируется интенсивностью субклеточных потоков, которые могут претерпевать изменения под действием кардиотропных агентов [3—5].

В последнее время был разработан ряд различных по сложности моделей ЭМС в миокарде, описывающих потоки внутриклеточного Ca^{2+} [6—10]. Для идентификации целесообразно применить сравнительно простую модель ЭМС, позволяющую описать основные ритмоинотропные эффекты, характерные для миокарда лягушки [7] или крысы [11]. Уравнения модели (см. также [12]) имеют вид

$$\begin{aligned} dc(t)/dt &= a_0 + \alpha(t-\tau)a_1 - a_2c(t) + \alpha(t-\tau)a_3r(t)c(t), \\ dr(t)/dt &= a_2c(t) - \alpha(t-\tau)a_3r(t)c(t) - \alpha(t-\tau)a_4r(t) - a_5r(t), \end{aligned} \tag{1}$$

где c — содержание Ca^{2+} в миоплазме (сила изометрического сокращения миокардиальной полоски принимается в первом приближении пропорциональной данной величине); r — содержание Ca^{2+} во внутриклеточных депо (саркоплазматический ретикулум, подмембранные Са-

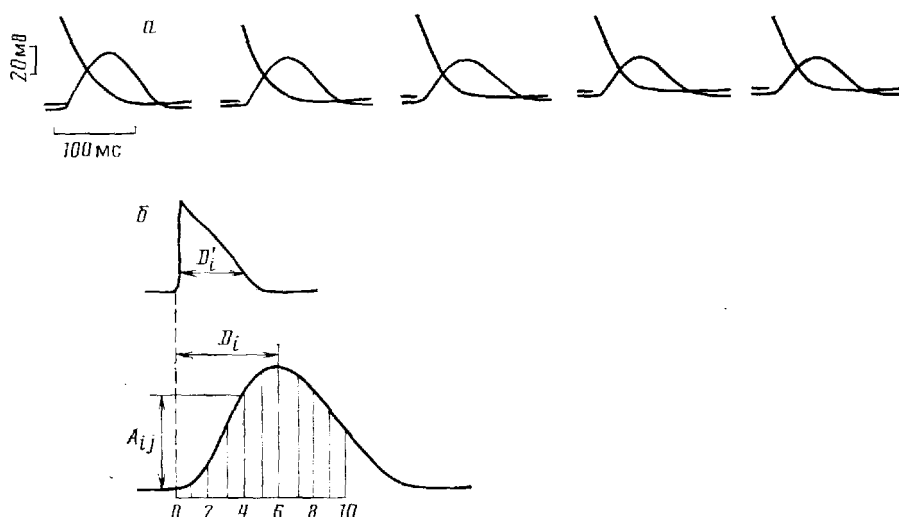


Рис. 1. Экспериментальная запись внутриклеточных потенциалов и сократительной активности миокарда (а) и схема оцифровки сократительного ответа (б); электрическая активность — верхняя кривая

депо); $\alpha(t)$ — функция, описывающая возбуждение миокардиальной клетки: $\alpha=1$ в активную фазу длительностью D , $\alpha=0$ в остальное время цикла; a_0 , a_1 — интенсивности стационарного и потенциалзависимого компонентов входящего в клетку Са-потока соответственно; a_2 — интенсивность захвата Ca^{2+} во внутриклеточные депо; a_3 — интенсивность выброса Ca^{2+} из депо во время активной фазы сократительного цикла; a_4 и a_5 — интенсивности потенциалзависимого и стационарного компонентов Са-потока, выходящего из депо во внеклеточную среду; τ — задержка начала развития сокращения по отношению к началу возбуждения клетки.

Методика идентификации. Задача определения ионного механизма действия кардиотропных веществ сведена нами к задаче параметрической идентификации модели ЭМС в кардиомиоците, т. е. определению коэффициентов модели, обеспечивающих минимум функционала рассогласования между экспериментальными и модельными значениями измеряемых параметров. Сопоставление наборов коэффициентов, полученных до и во время действия ФАВ, позволяет выявить внутриклеточные потоки Ca^{2+} , подвергшиеся изменению при данном воздействии.

Несмотря на относительную простоту, система (1) тем не менее достаточно сложна для аналитического изучения. Основным инструментом ее исследования служили вычислительные эксперименты, в которых, в частности, был выявлен достаточный набор исходных параметров для идентификации системы (1) и наилучший по сходимости алгоритм идентификации. При этом оказалось, что надежная идентификация модели (1) по зависимости «частота — сила» невозможна в силу плохой обусловленности данной задачи. Недостаточно также информации о форме отдельного (одного) сократительного цикла, так как в этом случае решение задачи идентификации не единственно. В вычислительных экспериментах было показано, что задача идентификации имеет единственное решение, устойчивое по отношению к ошибкам измерений, если использовать информацию о форме пяти последовательных сокращений после покоя при двух различных частотах стимуляции.

На рис. 1 сверху показан пример экспериментальной записи «лестницы» сокращений и соответствующих мембранных потенциалов папиллярной мышцы крысы на частоте 0,5 Гц после 5-мин периода покоя (5 мин достаточно для приведения мышцы в исходное состояние, не зависящее от предшествовавшей стимуляции). Внизу схематично представ-

лены параметры сократительного ответа, вводимые в программу идентификации. Величина силы сокращения для каждого из пяти сократительных циклов фиксируется в 11 точках, первая из которых соответствует началу активной фазы. Аналогичная процедура осуществляется при стимуляции с частотой 0,167 Гц. По этим данным производится расчет функционала рассогласования измеренных значений силы сокращения со значениями решения $c(t)$ системы (1) для тех же моментов времени. При получении решения системы (1) начальные условия берутся соответствующими состоянию покоя ($c_0 = a_0/a_2$, $r_0 = a_0/a_3$); длительности активной фазы D_i' считаются пропорциональными временам достижения максимума силы сокращения D_i с масштабным коэффициентом k . По вводимым в программу измеренным параметрам A_{ij} , где i — номер сократительного цикла ($i=1, \dots, 10$), j — номер точки внутри цикла ($j=0, \dots, 10$) и D_i ($i=1, \dots, 10$), программа идентификации определяет коэффициенты a_0 — a_5 и параметры τ и k путем минимизации функционала рассогласования.

В качестве алгоритма идентификации модели ЭМС в миокарде применен алгоритм Гаусса — Ньютона [13] в модификации, предусматривающей дробление шага итерации при нарушении условия устойчивости и неотрицательности коэффициентов. Он реализован в виде системы программ на ФОРТРАНе-IV для ЭВМ ICL-470, допускает изменение числа снимаемых параметров сокращения, легко модифицируется при переходе к другим моделям типа систем дифференциальных уравнений. Блок минимизации функционала рассогласования не использует непосредственно обращения матрицы при расчете очередного шага итерации, что достигается применением метода квадратного корня [14]. В результате алгоритм работоспособен и для «плохих» функционалов рассогласования. Предусмотрена также оценка качества сходимости путем расчета приближенных доверительных интервалов для идентифицированных коэффициентов (в линейном приближении задачи) [15]. Подробно о методике экспериментов см. в [11].

Проверка работоспособности методики. Для оценки эффективности разработанной методики в условиях «зашумленных» исходных данных были проведены вычислительные эксперименты с идентификацией параметров модели по имитированным данным с наложением помехи, имеющей нормальное распределение с нулевым средним и с дисперсией σ , составляющей заданную долю максимальной величины силы сокращения. Сходимость алгоритма не нарушается при наложении аддитивной помехи с $\sigma \leq 5\%$ максимальной величины сигнала, что позволяет применить данный алгоритм при обработке результатов экспериментов на животных.

Работоспособность предлагаемой методики проверялась в опытах на папиллярной мышце крысы с помощью ФАВ с известным механизмом действия. В качестве примера на рис. 2 приведены результаты применения разработанной методики к данным, полученным в эксперименте с дилтиаземом — блокатором Ca^{2+} -каналов [5].

Сопоставляя наборы коэффициентов, полученные в результате идентификации математической модели (1) ЭМС по данным электрической и сократительной активности миокарда крысы до и после добавления дилтиазема в раствор, омывающий препарат (амплитуды сокращений представлены на рис. 2, а), видим, что коэффициент a_1 уменьшился на $\sim 50\%$, a_2 увеличился на 17% , a_4 уменьшился на 16% , остальные изменились на $\leq 10\%$. Наиболее значительное изменение (уменьшение в ~ 2 раза) претерпел коэффициент a_1 , что указывает на снижение Са-тока под влиянием дилтиазема. Это хорошо согласуется с известными данными о действии дилтиазема как блокатора Са-каналов [5] и служит подтверждением работоспособности методики.

Обсуждение. В настоящей работе предложен новый метод определения механизмов воздействий ФАВ на миокард, сводящийся к идентификации математической модели ЭМС по измеренным характеристикам электрической и сократительной активности миокарда. Основное приме-

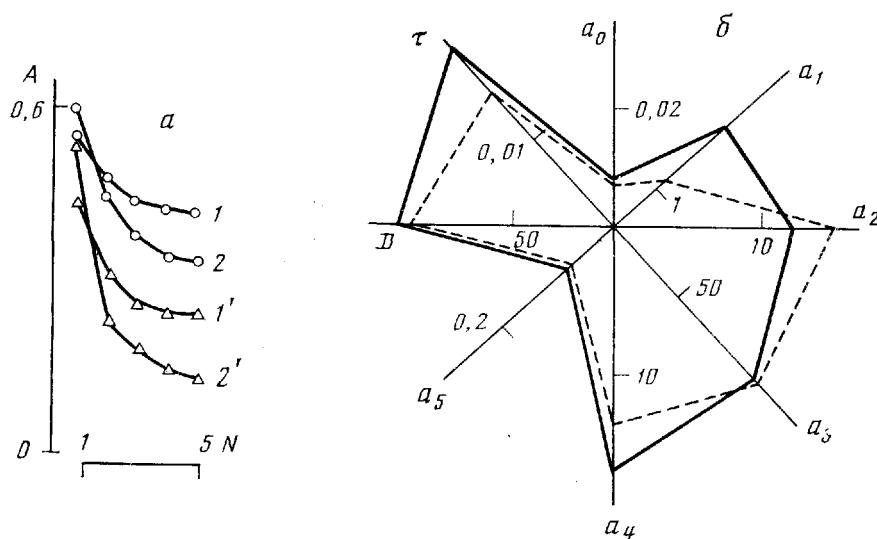


Рис. 2. Результаты идентификации механизма действия дилтиазема на миокард крысы; *a* — зарегистрированные амплитуды «лестницы» сокращений на частотах 0,167 (1) и 0,5 Гц (2) до (1, 2) и после добавления ФАВ (1', 2') в омывающий раствор; *b* — диаграммы идентифицированных коэффициентов в норме (сплошная линия) и при действии дилтиазема (штриховая линия). Величины *D* и τ , имеющие размерность времени, даны в с, остальные коэффициенты (размерность обратного времени) — в с⁻¹

нение метода — прогнозирование ионного механизма действия физических или фармакологических факторов на миокард [16].

Применяемый метод параметрической идентификации требует значительных затрат машинного времени, поэтому его реализация возможна только на достаточно мощных ЭВМ. Один из путей снижения трудоемкости метода — использование при подборе параметров приближенных оценок для измеряемых величин (аналогичных формулам, полученным в работе [12], но сохраняющим точность в более широкой области пространства параметров).

Следует отметить, что в силу неизбежной неполноты модели изложенная методика позволяет лишь прогнозировать мишень ФАВ и предусматривает выполнение контрольной серии экспериментов. Несмотря на эти ограничения, предлагаемый метод приводит к значительному сокращению числа экспериментов на животных в ходе углубленного изучения кардиотропных химических соединений.

Авторы выражают благодарность Ю. С. Ляховичу за предоставленные экспериментальные материалы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Проблемы изыскания, исследования и производства новых лекарственных средств. Каунас: Швиеса, 1979.
2. Bassingthwaighle J. B., Reuter H. // *Electrical Phenomena in the Heart*. N. Y.: Acad. Press. 1972. P. 353.
3. Китайгородская Г. М., Мукумов М. Р., Дмитриева И. В. // *Биофизика*. 1981. Т. 26. № 4. С. 669.
4. Allen D. G., Orchard C. H. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1984. V. 16. P. 117.
5. Lee K. S., Tsien R. W. // *Nature*. 1983. V. 302. P. 790.
6. Kaufmann R., Bayer R., Fürniss T. et al. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1974. V. 6. P. 543.
7. Мукумов М. Р., Паутов В. А., Ходоров Б. И. // *Докл. АН СССР*. 1978. Т. 238. № 1. С. 239.
8. Цатурян А. К., Изаков В. Я. // *Биофизика*. 1978. Т. 23. № 5. С. 895.
9. Мархасин В. С., Мильштейн Г. Н., Соловьева О. Э. // *Биофизика*. 1985. Т. 30. № 2. С. 322.
10. Adler D., Wong A. Y. K., Mahler Y., Klassen G. A. // *J. Theor. Biol.* 1985. V. 113. P. 379.
11. Мукумов М. Р., Истарова Л. Г., Ляхович Ю. С. и др. // *Биофизика*. 1985. Т. 30. № 2. С. 317.
12. Пратусевич В. Р., Зыков В. С., Мукумов М. Р. // *Вопросы кибернетики* — 93 М.: Научный совет по комплексной проблеме «Кибернетика» АН СССР, 1982. С. 76.
13. Гилл Ф., Мюррей У., Райт П. *Практическая оптимизация*. М.: Мир, 1985.

14. Бахвалов Н. С. Численные методы. М.: Наука, 1978.
15. Химмельблау Д. Анализ процессов статистическими методами. М.: Мир, 1973.
16. Мукумов М. Р., Пратусевич В. Р., Зыков В. С. Способ определения чувствительности миокарда: А. с. 1163266. СССР//Б. И. 1985. № 23, МКИ G01N33—48.

Филиал научно-исследовательского института
по биологическим испытаниям химических
соединений, Москва;
Институт проблем управления АН СССР,
Москва

Поступила в редакцию
15.V.1986,
после доработки
11.VIII.1986

**EVALUATION OF THE ACTION OF CARDIOTROPIC SUBSTANCES
BY MEANS OF A MATHEMATICAL MODEL OF ELECTROMECHANICAL
COUPLING**

PRATUSEVICH V. R., ZYKOV V. S., MUKUMOV M. R.

*Moscow Department, Research Institute for Biological Tests
of Chemical Compounds; Institute of Control Sciences, Moscow*

An assessment of the ionic action mechanism of cardiotropic substances with the aid of a mathematical model for excitation-contraction coupling in myocardium is proved to be possible. The technique developed consists in the model parameter identification from the experimental data on electrical and mechanical activity of myocardial strip. The validity of the technique is tested using the known mechanism drugs. An example is given of analysis by the technique suggested of the action mechanism of diltiazem on the rat papillary muscle.
