VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

MODELOVÁNÍ DYNAMIKY KALCIA V EXCITABILNÍCH I NEEXCITABILNÍCH BUŇKÁCH

MODELING OF CALCIUM DYNAMICS IN EXCITABLE AND NON-EXCITABLE CELLS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S PROJECT

AUTOR PRÁCE Jan Tkáč

AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE Ing. Milan Rychtárik

SUPERVISOR

BRNO, 2011

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor

Biomedicínská technika a bioinformatika

Student: Jan Tkáč ***ID:*** 121612
Ročník: 3 ***Akademický rok:*** 2010/2011

NÁZEV TÉMATU:

Modelování dynamiky kalcia v excitabilních i neexcitabilních buňkách

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

Seznamte se s princi modelování dynamiky kalcia v excitabilních a neexcitabilních buňkách a vytvořte rešerši zabývající se danou problematikou. Zaměřte se především na jevy jako CICR, spřažení excitace-kontrakce a vznik a význam kalciových vln. V prostředí MATLAB realizujte několik modelů zabývající se dynamikou kalcia v srdečních i jiných svalových buňkách (Luo-Rudy 1994, Bertam 2000, popř. další). Na těchto modelech demonstrujte vhodné fyziologické a patofyziologické jevy (inotropní efekt některých látek, apod.).
Práce musí obsahovat teoretický rozbor problematiky, popis postupu a použitých metod pro modelování, dále musí obsahovat funkční vybrané modely realizované v prostředí MATLAB včetne přehledného GUI a srovnání výsledku s dostupnou literaturou.

DOPORUCENÁ LITERATURA:

[1] MLCEK, M., et al. Mathematical model of the electromechanical heart contractile system -regulatory subsystem physiological considerations. Physiol. Res. 50, 425-432, 2001.
[2] LUO, CH. , RUDY, Y. A Dynamic Model of the Cardiac Ventricular Action Potencial, I. Simulations of Ionic Currents and Concentration Changes. Circulation Research, 1994, vol. 74, s. 1071-1097.
[3] BERTRAM, R., et. al. The Phantom Burster Model for Pancreatic b-Cells. Biophysical J., 2000, vol. 79, s. 2880-2892.

Termín zadání: 7. 2. 2011 ***Termín odevzdání:*** 27. 5. 2011

Vedoucí práce: Ing. Milan Rychtárik

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
Předseda oborové rady

UPOZORNENÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následku porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledku vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá elektrofyziologickými jevy na molekulární úrovni a úrovni buněk. Cílem je podat základní informace pro pochopení jednoduchých buněčných modelů. Práce také pojednává o principech modelování dynamiky kalcia v buňkách. V prostředí Matlab jsou realizovány modely Luo-Rudy z roku 1991, Luo-Rudy z roku 1994 a model oscilačního chování β-buněk pankreatu. Pomocí rozhraní GUI je vytvořen přehledný program pro simulaci elektrofyziologickými jevu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Kalcium, Matlab, modelování, akční potenciál, srdeční buňky, Luo-Rudy 1991, Luo-Rudy 1994, Bertram 2000, β-buňky pankreatu.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with electrophysiologic phenomenons on molecular and cellular level. The aim is to provide basic information for better understanding of simple cellular models. This work also discusses principles of calcium dynamic modelling in cells. In Matlab environment the Lou-Rudy model from 1991, Lou-Rudy model from 1994 and the phantom burster model for pancreatic β-cells are implemented. Using the GUI interface a clear program for simulation electrophysiologic phenomenons is created.

KEYWORDS

Calcium, Matlab, modeling, action potential, cardiac cells, Luo-Rudy 1991, Luo-Rudy 1994, Bertram 2000, pancreatic β-cells.

TKÁČ, J. *Modelování dynamiky kalcia v excitabilních i neexcitabilních buňkách.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2011. 45 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Milan Rychtárik.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Modelování dynamiky kalcia v excitabilních i neexcitabilních buňkách jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedeného semestrálního projektu dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením tohoto projektu jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 27. května 2011 .....

podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu semestrálního projektu Ing. Milanu Rychtárikovi za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne 27. května 2011 .....

podpis autora

Obsah

Úvod 4
1. Vápník v organismu 5
2. Propojení excitace a kontrakce 6
3. Molekulární podstata kontrakce 8
4. Vápníkem indukované uvolňování vápníku 10
5. Receptory vápníkového uvolňování 11
   5.1 Inositoltrifosfát 11
   5.2 Ryanodinové receptory 12
6. Kalciové vlny 12
7. Excitabilní a neexcitabilní buňky 14
8. Akční potenciál 15
9. Modelování 16
   9.1 Historie modelování 16
   9.2 Model Luo-Rudy z roku 1991 18
   9.3 Model Luo-Rudy z roku 1994 20
   9.4 Model β-buněk slinivky břišní 21
10. Modelování v Matlabu 23
   10.1 Model Luo Rudy z roku 1991 23
   10.2 Model Luo-Rudy z roku 1994 27
   10.3 Model β-buněk slinivky břišní 31
   10.4 Grafické rozhraní programu 35
Závěr 41
Použitá literatura 42
A. Popis přiložených souborů 46

Seznam obrázků

Obrázek 1: Výměna kalcia u osob s příjmem 1000 mg na den [1] 5
Obrázek 2: Akční potenciál působí na retikulum, které uvolní Ca2+, to vyvolá kontrakci a ta odezní vychytáním Ca2+ do retikula [3] 7
Obrázek 3: Funkční jednotka svalu [3] 8
Obrázek 4: Mikroskopická stavba svalu, http://medicina.ronnie.cz 9
Obrázek 5: Endoplazmatické retikulum, http://www.bioweb.genezis.eu 10
Obrázek 6: Koncentrace vápníku je regulována pomocí receptorů, nacházejících se v místě mezi srdeční sarkolemou (Sarcolemma) a sarkoplasmatickým retikulem (SR). Vápník se uvolňuje z komplexu ryanodinového receptoru (RyR2). SERCA přenáší Ca2+ ionty z cytosolu buňky do SR. http://www.nature.com/nm/journal/v11/n12/fig_tab/nm1205-1284_F1.html 11
Obrázek 7: Spirálová vlna oocytu drápatky vodní. Světlejší místa značí vyšší koncentraci Ca^{2+} 13
Obrázek 8: Schéma cytoplazmatické membrány buňky, http://www.uic.edu 14
Obrázek 9: Akční potenciál komorové kontraktilní buňky. 0 - prudká depolarizace, 1 - rychlá repolarizační fáze, 2 - fáze plató, 3 - konečná repolarizace 4 - pomalá diastolická depolarizace, PP - prahový potenciál; KP - klidový potenciál, http://www.ekg.kvalitne.cz 16
Obrázek 10: Voltampérová charakteristika časově nezávislého draslíkového proudu I_K pro $[K]_o$ = 10; 50; 20; 40; 75 a 150 mM, http://rudylab.wustl.edu 18
Obrázek 11: Voltampérová charakteristika aktivovaného časově závislého draslíkového proudu I_K pro $[K]_o$ = 5,4; 50 a 150 mM, http://rudylab.wustl.edu 19
Obrázek 12: Schéma popisující proudy přes buněčnou membránu v modelu Luo Rudy 1991 http://rudylab.wustl.edu 19
Obrázek 13: Schéma buněčného modelu Luo-Rudy z roku 1994 [16] 20
Obrázek 14: Rychlé výbušné oscilace při měření napěťové odezvy na proudový impuls (current clamp) 22
Obrázek 15: Schéma plazmatické membrány buňky pankreatu, obsahující proudy použité v modelu oscilace kalcia [23] 22
Obrázek 16: Průběh vápníkového proudu 23
Obrázek 17: Průběh koncentrace volného intracelulárního vápníku v srdeční komorové buňce 24
Obrázek 18: Průběh sodíkového proudu, proudu pozadí, celkový průběh iontových proudů, vypočtený průběh časově závislého a časově nezávislého draslíkového proudu a průběh draslíkového proudu - fáze plató 25
Obrázek 19: Průběh akčního potenciálu srdeční buňky pro $[K]_o$ = 7; 5,4; 4 a 3 mM 26
Obrázek 20: Průběh akčního potenciálu pro $[K]_o$ = 7; 5,4; 4 a 3 mM z originální práce Luo-Rudy z roku 1991 [15] 27
Obrázek 21: Impuls akčního napětí realizovaného modelu 27
Obrázek 22: Graf zobrazuje volt-ampérové charakteristiky všech časově nezávislých proudů modelu Luo-Rudy z roku 1994 28
Obrázek 23: Časově nezávislé proudy z originální prace Luo-Rudy z roku 1994 [16] 28
Obrázek 24: Průběhy časově závislých proudu sarkolemou (I_{Na}, I_{Ca}, I_K, I_{NaCa} a $I_{ns(Ca)}$) a průběh koncentrace intracelulárního vápníku ($[Ca]_i$) 29
Obrázek 25: Průběh intracelulárního vápníku (model Luo-Rudy z roku 1994) [16] .. 29

Obrázek 26: Obrázek vlevo zobrazuje průběhy inaktivační brány L-typu vápníkového kanálu vytvořených v Matlabu dle uvedených autorů. Obrázek vpravo zobrazuje průběhy inaktivačních brán z originální práce autorů Luo a Rudy [16] 30
Obrázek 27: Změny impulsu akčního napětí v závislosti na změně extracelulárního sodíku 31
Obrázek 28: Průběhy jednotlivých proudu modelu. 31
Obrázek 29: Oscilační chování napětí na výstupu modelu 32
Obrázek 30: Součet pomalých draslíkových proudů I_{s1} a I_{s2} 33
Obrázek 31: Oscilace proměnných z originálního modelu The Phantom Burster Model for Pancreatic β-Cells [24] 34
Obrázek 32: Rychlé, střední a pomalé oscilace napětí z výstupu vytvořeného modelu 34
Obrázek 33: Úvodní nastavení programu - výběr modelu 35
Obrázek 34: Hlavní panel programu s vybraným modelem akčního potenciálu srdeční komorové buňky. Program obsahuje panel pro změnu intracelulárních a extracelulárních iontových koncentrací, panel pro nastavení stimulačních impulsů, panel pro nastavení celkového času, panel pro zobrazení akčního potenciálu a panel pro zobrazení ostatních průběhu modelu 35
Obrázek 35: Panel s nastavením extracelulární a intracelulární koncentrace iontů a panel pro výběr počtu impulsů a nastavení stimulačních impulsů 36
Obrázek 36: Grafické prostředí modelu β-buněk pankreatu. Program obsahuje tři základní části: panel pro nastavení vodivostí jednotlivých proudových kanálů, panel pro zobrazení výstupního napětí a panel pro zobrazení ostatních průběhů 38
Obrázek 37: Nastavení jednotlivých vodivostí a celkového času simulace 39

Úvod

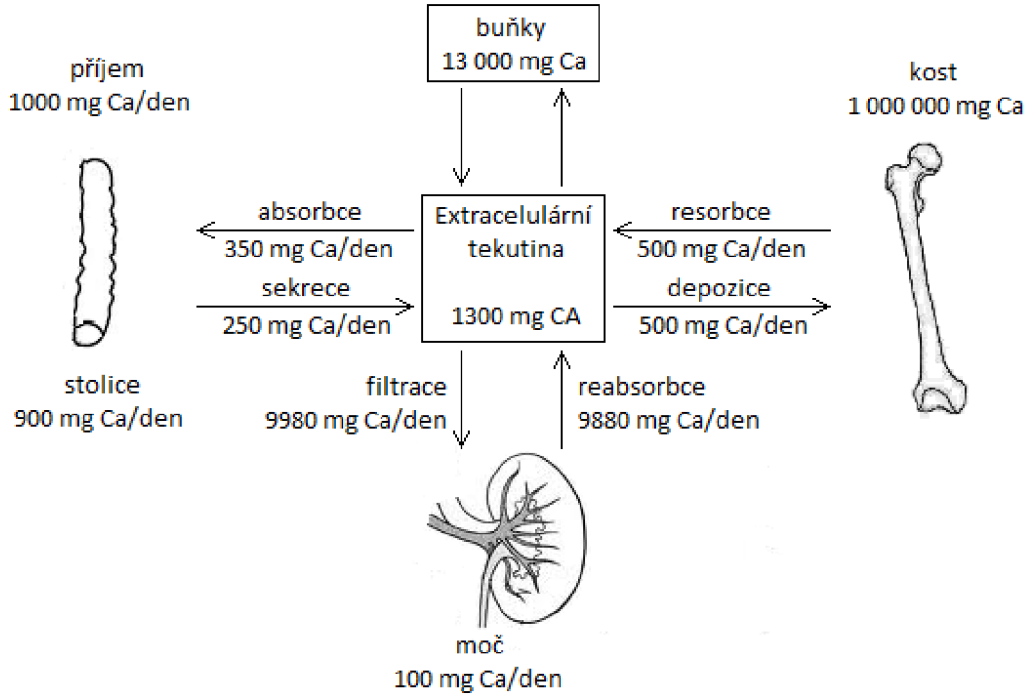
Studium elektrofyziologických jevů v laboratořích přináší neustále nové poznatky. Bioelektrické děje a jejich signály hrají důležitou roli pro řízení všech orgánů lidského těla, jako je například kontrakce srdečního svalu a tím je zajištěna jedna ze základních životních funkcí lidského těla. Snímání elektrických signálů z povrchu těla slouží jako základ pro různé diagnostické metody, jako jsou například elektrokardiografie, elektroencefalografie a jiné. Další úrovní pro snímání biologických signálů, je snímání signálů na buněčné úrovni, o které pojednává tato práce.

Cílem této bakalářské práce je vytvořit rešerši na téma modelování dynamiky kalcia v excitabilních i neexcitabilních buňkách a naprogramovat modely simulující buněčné průběhy v prostředí Matlab. Úvodní kapitoly objasňují elektrofyziologické jevy a podávají informace o funkci a vlastnostech vápníku v buňkách a organismu. V dalších kapitolách, které se zabývají modelování těchto jevů, je popsána historie modelování a popis tří modelů (Lou-Rudy z roku 1991, 1994 a model oscilačního chování β-buněk pankreatu z roku 2000). Dalším cílem práce je realizovat modely Luo-Rudy z roku 1991, 1994 a model β-buněk pankreatu a vykreslit jednotlivé průběhy iontových membránových proudů, akčního napětí a koncentrace kalcia. Program dále obsahuje grafické prostředí realizované v rozhraní GUI. Grafické prostředí nabízí přehledné ovládání modelů, nastavení parametrů modelu a volbu zobrazovaných komponent.

1. Vápník v organismu

Kalcium je jedním z nejvýznamnějších kationtů lidského organismu. Je vitálně důležitý pro aktivitu tkání, ale jeho nadměrná intracelulární koncentrace vede k zániku buňky. Udržování extracelulární koncentrace kalcia na stálé úrovni vyplývá z vitální úlohy iontů kalcia pro neuromuskulární dráždivost, funkci kardiovaskulárního systému, krevní koagulaci, funkci buněčných membrán, jejich pasivní permeabilitu a stabilitu membránových struktur, z jeho účasti na četných enzymových reakcích a na regulaci sekrece bílkovinných hormonů. Důležitá úloha kalcia při nervovém přenosu je známa již od doby klasických Ringerových studií z 19. století. [1] Veliké množství kalcia se nachází v podpůrných tkáních.

Ionty kalcia mají významnou roli v nitrobuněčné signalizaci, slouží jako sekundární posel při zahajování a regulaci velkého množství elektrických a biochemických jevů v buňkách. Kalciové ionty se podílejí na kontrole genové exprese, jsou vitálně důležité pro kontrakci všech typů svalů, působí jako nitrobuněčný regulátor metabolismu buňky. Kalcium se váže na fosfolipidy a jiné membránové složky a na cytoskelet buněk, čímž pomáhá udržovat jejich tvar. Kalcium působí jako regulátor při transportu jiných iontů přes iontové kanály, jako např. přes draslíkové a chloridové kanály závislé na kalciu.



Obrázek 1: Výměna kalcia u osob s příjmem 1000 mg na den [1]

V těle zdravého člověka o hmotnosti 70 kg je asi 1,3 kg kalcia. Přibližně 99 % kalcia je v kostech a zubech, 1 % v buňkách měkkých tkání a 0,1 % v extracelulární tekutině. Malé množství kalcia v kostech, přibližně 1 %, představuje kalcium rychle směnitelné s extracelulární tekutinou, jež přispívá k rychlé regulaci koncentrace kalcia v extracelulární tekutině (Obrázek 1). [1][2]

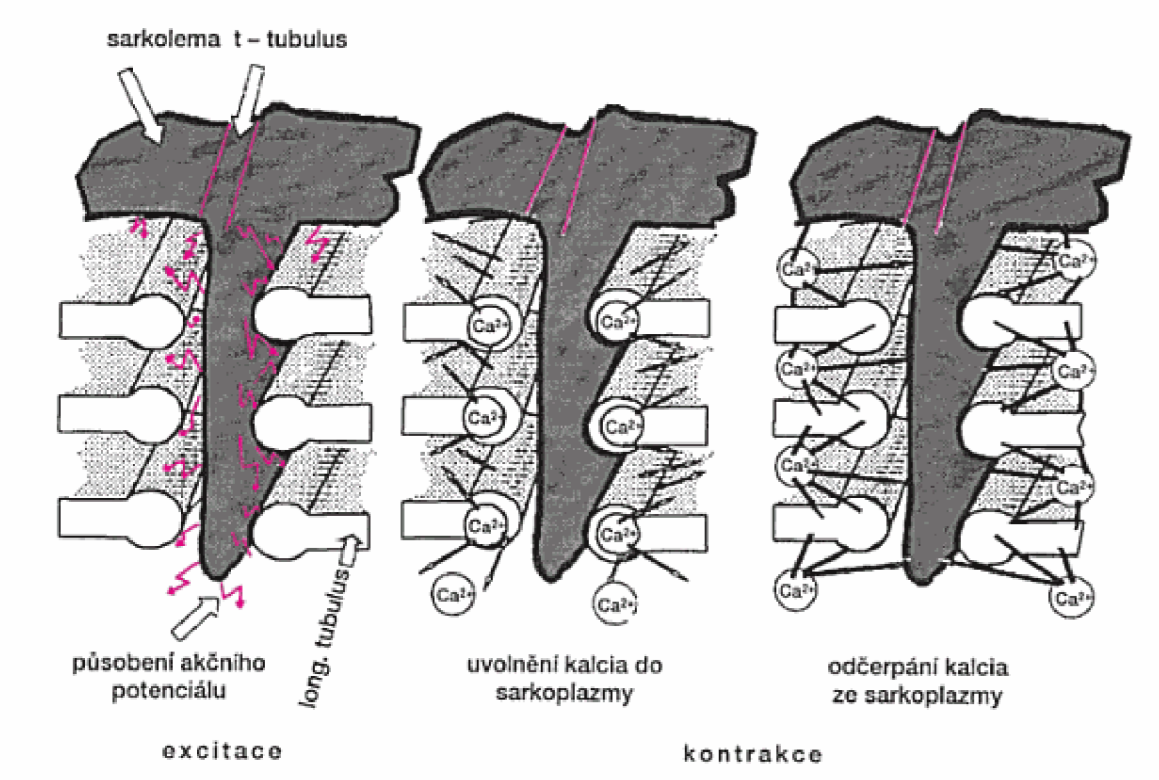
2. Propojení excitace a kontrakce

Vlákna kosterního svalu jsou přímo řízena nervovým systémem. Axony míšních motoneuronů vytvářejí spolu se sarkolemou nervosvalové ploténky, které se v mnohém podobají chemickým synapsím v CNS. Signálem pro vznik akčního potenciálu na sarkolemě je uvolnění acetylcholinu na ploténce nervovým vzruchem přicházejícím po vláknu motoneuronu. Aktivací acetylcholinových receptorů nikotinového typu, které přímo řídí kanály pro Na^+, vznikne místní depolarizace. Vzhledem k velikosti ploténky, množství aktivovaných receptorů a hustotě polem řízených Na^+ kanálů v okolí ploténky, může svalová buňka reagovat akčním potenciálem na každý vzruch přicházející do nervového zakončení. Ten se rychle šíří na celou povrchovou membránu včetně T systému (viz níže).

Z nervových zakončení se mediátor uvolňuje v kvantech (jednotlivé váčky naplněné acetylcholinem), a to nejen hromadně při akčním potenciálu, ale i jednotlivě při náhodném kontaktu váčku s aktivní části presynaptické membrány. Jednotlivé kvantum acetylcholinu náhodně uvolněné do synaptické štěrbiny vyvolá na postsynaptické membráně aktivaci poměrně malého počtu postsynaptických receptorů (úměrného množství acetylcholinu v uvolněném kvantu). Takto vyvolaná depolarizace je menší než 1 mV (miniaturní ploténkový potenciál), má charakter místního podráždění a nevyvolá akční potenciál.

Transverzální tubuly čili T-systém jsou tubulární útvary vytvářené membránou svalového vlákna, které se na četných místech zanořují kolmo ke svalovým fibrilám. T-systém probíhá v těsném sousedství longitudinálních tubulů, což jsou uzavřené útvary sarkoplazmatického retikula, které jsou uloženy podél myofibril. Longitudinální tubuly se na svých koncích rozšiřují v terminální cisterny, které spolu s těsně přilehlými T-tubuly vytvářejí tzv. triády (Obrázek 2).

Podél T-systému, který patří k extracelulárnímu prostoru, proniká akční potenciál rychle do nitra svalového vlákna a vyvolá masivní uvolnění Ca^{2+} z přilehlých longitudinálních tubulů. Ca^{2+} se váže na troponin a umožní tak interakci myozinu s aktinem (viz. kapitola Molekulární podstata kontrakce). Děj, který probíhá od elektrické stimulace svalu k iniciaci svalové kontrakce je označován jako propojení (spřažení) excitace a kontrakce (Obrázek 2). [3]



Obrázek 2: Akční potenciál působí na retikulum, které uvolní Ca2+, to vyvolá kontrakci a ta odezní vychytáním Ca2+ do retikula [3]

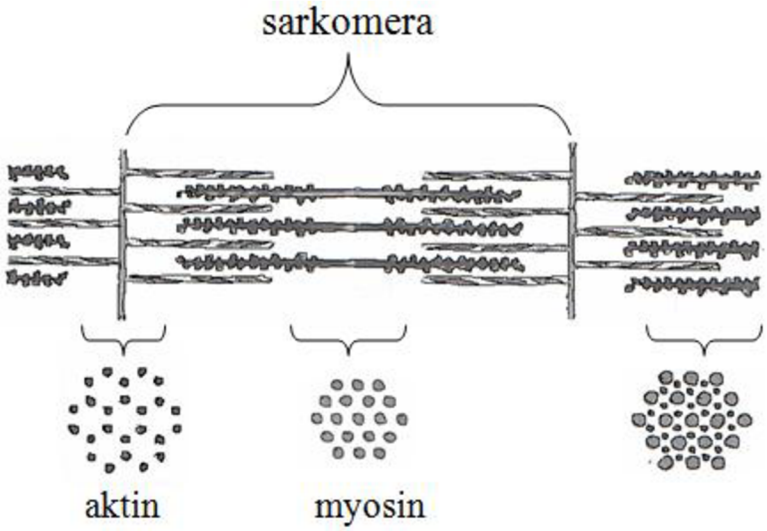
To je příkladem rychlého buněčného aktivačního mechanismu. Ca^{2+} se v terminálních cisternách shromažďuje vázáno na kalsekvestrin a po otevření kanálu typu RYR (ryanodinový receptor) je uvolněno a masivně přechází do sarkoplazmy. Otevření RYR obstarávají dihydropyridinové napěťově řízené receptory v T-systému; jsou umístěny v těsné blízkosti RYR a pod vlivem napěťového signálu způsobí jejich otevření.

Sarkoplazmatické Ca^{2+} je účinně pumpováno zpět do longitudinálních tubulů (odkud difunduje do termálních cisteren) ATPázovým systémem sarkoplazmatického retikula. Činnost pumpy Ca^{2+} (2 ionty Ca^{2+} na rozštěpení 1 molekuly ATP) závisí na přítomnosti Mg^{2+}, předpokládá se antipod jednoho iontu Mg^{2+} proti dvěma iontům

Ca^{2+}. Protože uvnitř buněk musí být za normálních podmínek velmi nízká koncentrace Ca^{2+}, jsou vápníkové pumpy vysoce specifické, mají vysokou afinitu k Ca^{2+} a jsou kontrolovány množstvím Ca^{2+} v cytosolu. Stoupne-li tato koncentrace nad 10^{-4} mM/l, zrychlí pumpa práci (součásti pumpy může být např. regulační protein kalmodulin). Pumpa je svou strukturou a funkcí příbuzná natriové pumpě. [3][4]

3. Molekulární podstata kontrakce

Podstatou kontrakce je chemická reakce mezi aktinem a myozinem (Obrázek 3). Vyjděme z předpokladu, že hladina vápníku je tak vysoká, že troponin je v poloze, kdy nezakrývá (neinhibuje) reakční místo aktinu.

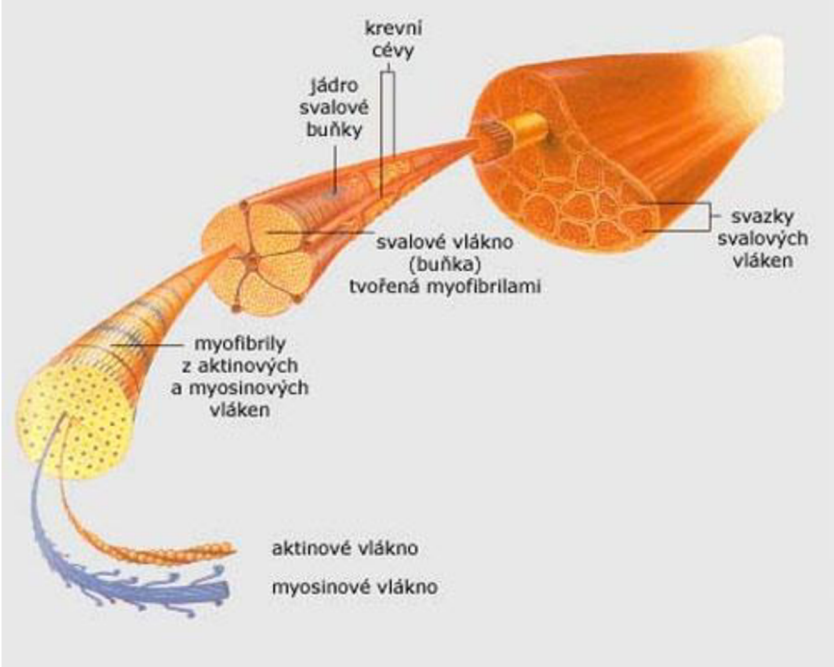


Obrázek 3: Funkční jednotka svalu [3]

V tomto případě může dojít k připojení hlavy myozinu k reakčnímu místu aktinu. Připojením hlavy myozinu na aktinové místo vznikl tzv. příčný můstek. Po spojení ihned dojde ke změně struktury myozinu. Tuto změnu označujeme jako konformace molekuly a je charakterizována tím, že hlava myozinu se poněkud stočí a současně i vlákno příčného můstku vykoná translační pohyb. Konformační změna v molekule myozinu je příčinou pohybu příčného můstku. Tento pohyb příčného můstku je vlastním zdrojem zasouvání aktinového filamenta. Tento pohyb je však natolik nepatrný, že by nemohl zajistit značné změny v délce sarkomeru.

Po rotaci hlavy a tím i po posunutí aktinového filamenta musí dojít k oddělení hlavy z reakčního místa. To se děje za pomocí ATP. Hlava myozinu vykazuje vysokou ATPasovou aktivitu. Štěpení ATP myozinem probíhá jen v přítomností Mg^{2+}. Energie

uvolněná hydrolysou ATP je zužitkována dvojím způsobem. Část energie je spotřebována na oddělení hlavy od reakčního místa a část energie slouží ke zvýšení obsahu vnitřní energie hlavy myozinu, což se projeví návratem hlavy do původní polohy. Jen v této výchozí poloze je hlava schopna nového připojení s reakčním místem aktinu. Reakce aktinu s myozinem spotřebovává chemickou energii.



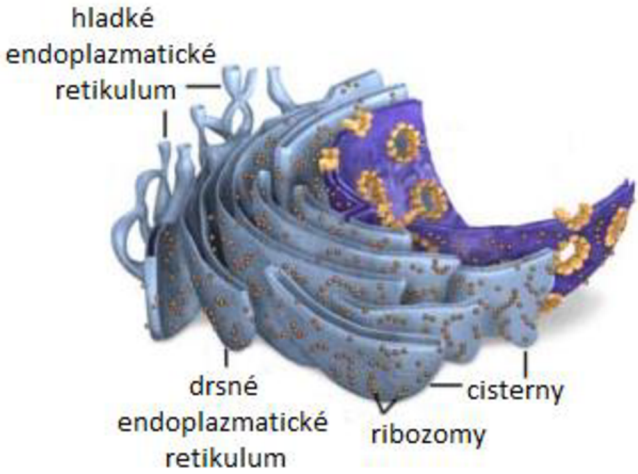
Obrázek 4: Mikroskopická stavba svalu, http://medicina.ronnie.cz

Sarkomera je tvořená velkým množstvím aktinových a myozinových filament. Každé aktinové filamentum má několik stovek příčných můstků (Obrázek 4). Pohyb aktinových mezi myozinová filamenta je mnohonásobně se opakující proces tvorby, konformace a rozpojování příčných můstků. Některé můstky se právě tvoří, jiné rotují a jiné se v témže okamžiku rozpojují. Protože se tento proces odehrává sečtením mnoha nepatrných diskrétních pohybů, získává navenek charakter hladkého, klouzavého zasouvání aktinových mezi myozinová filamenta.

Podobně se celé zkrácení myofibrily skládá ze zkracování jednotlivých sarkomem a zkrácení svalového vlákna vzniká sečtením zkrácení jednotlivých myofibril. Stah svalu je dán součtem zkrácení jednotlivých svalových vláken. [5][4]

4. Vápníkem indukované uvolňování vápníku

Vápníkem indukované uvolňování vápníku (v angličtině – Calcium-induced calcium release – CICR) je proces, kdy vápník může vyvolat uvolnění dalšího vápníku ze sarkoplazmatického retikula svalu.



Obrázek 5: Endoplazmatické retikulum, http://www.bioweb.genezis.eu

Původně byl navržen pro kosterní svalstvo, ale následující výzkum ukázal, že je vhodnější u srdečního svalu. Nyní je zřejmé, že CICR se široce vyskytuje v buněčné signalizaci a v mnoha nesvalových buňkách, např. vylučování inzulínu ze slinivky břišní a mnoho dalších.

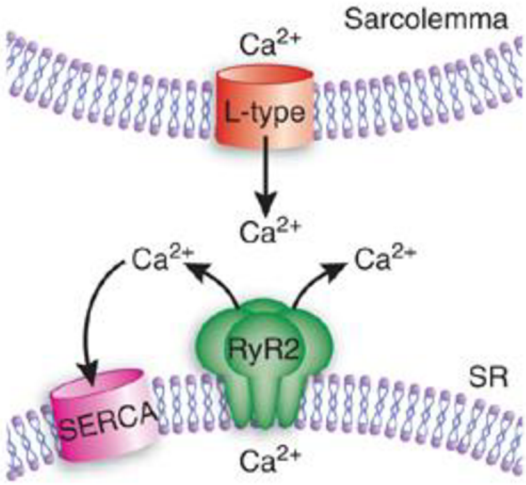
Buněčné membrány svalových buněk (sarkolema) obsahují mnoho iontových receptorů. Jeden z nich je iontový kanál DHPR (dihydropyridinový receptor), který umožňuje vstup vápenatých iontů do cytosolu (část Calcium-induced). Sarkoplazmatické retikulum skladuje vápenaté ionty a obsahuje ryanodinový receptor, který je citlivý na vápenaté ionty cytosolu. Ryanodinový receptor uvolní vápníkový kanál, který uvolňuje zásoby kalcia v sarkoplazmatickém retikulu. Tato část se nazývá calcium-release.

Účelem tohoto mechanismu je vydání velmi malého, ale podstatného podílu vápníku do svalového cytosolu. Kalciové ionty se nakonec vážou na protein na aktinových filamentech, které stimulují svalový stah. [6][7]

5. Receptory vápníkového uvolňování

Receptor je bílkovina umístěna na cytoplazmatické membráně, v cytoplazmě, nebo v buněčném jádře, která přijímá konkrétní chemické signály od sousedních buněk, nebo z prostředí uvnitř organismu (Obrázek 6).

Tyto signály dávají informaci buňce, že má něco udělat. Informace mohou vést k dělení buněk, odumíraní buněk, nebo také k povolení určité molekuly vstupovat nebo vystupovat z buňky. [25]



Obrázek 6: Koncentrace vápníku je regulována pomocí receptorů, nacházejících se v místě mezi srdeční sarkolemou (Sarcolemma) a sarkoplasmatickým retikulem (SR). Vápník se uvolňuje z komplexu ryanodinového receptoru (RyR2). SERCA[1] přenáší Ca2+ ionty z cytosolu buňky do SR. http://www.nature.com/nm/journal/v11/n12/fig_tab/nm1205-1284_F1.html

5.1 Inositoltrifosfát

Inositoltrifosfát (IP_3, přesněji inositol-1,4,5-trifosfát) je molekula s funkcí druhého posla[2], používaná k přenosu signálů a lipidové signalizaci v buňkách. Inositoltrifosfát je ve vodě rozpustný a tím se šíří přes buňku. Vzniká hydrolýzou membránového fosfolipidu (konkrétně z PIP_2[3]). Druhým produktem této enzymatické reakce je diacylglycerol, rovněž druhý posel, ten však na rozdíl od inositoltrifosfátu zůstává ukotven ve fosfolipidové membráně.

---

[1] SERCA - sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase
[2] Druhý posel - je označení pro malou signální molekulu, jejíž koncentrace v buňce prudce vzrůstá po navázání ligandů („prvních poslů“) na membránový receptor.
[3] PIP_2 - fosfatidylinositol

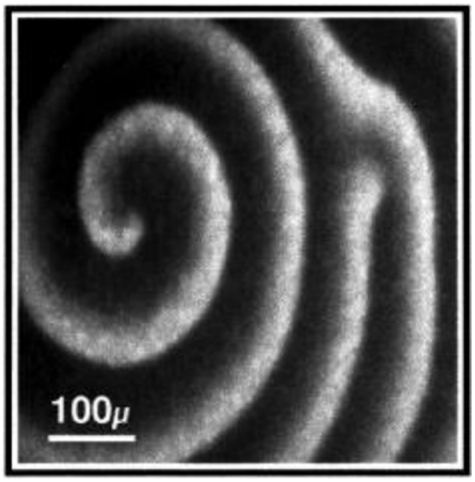
IP_3 se váže na membránu endoplasmatického retikula k nitrobuněčným receptorům - na ligandem řízený iontový kanál a způsobuje tak uvolnění Ca^{2+} z nitrobuněčných zásob v endoplazmatickém retikulu. Ca^{2+} poté aktivuje proteinázy závislé na vápníku a kalmodulinu. [26][27]

5.2 Ryanodinové receptory

Jedna z možností uvolnění Ca^{2+} do cytoplasmy buňky je přes ryanodinové receptory, které se nacházejí v buňkách různých tkání (srdeční buňky, buňky hladkého a kosterního svalstva, neurony a jiné). Ryanodinové receptory jsou strukturně a funkčně podobné s IP_3 receptory, zejména v jejich citlivosti na Ca^{2+}. Stejně jako vápník může aktivovat IP_3 receptory a zvýšit tok Ca2+, tak může i spouštět CICR ze sarkoplasmatického nebo endoplasmatického retikula prostřednictvím ryanodinových receptorů. Vzestup koncentrace Ca^{2+} iontů v cytosolu působí na Ca^{2+} dependentní ryanodinové receptory v sarkoplazmatickém retikulu a díky proudu vápníkových iontů ze sarkoplasmatického retikula se cytosolová koncentrace kalcia zvýší zhruba 100krát a může vyvolat svalovou kontrakci. Vápník také může inaktivovat ryanodinové receptory, avšak fyziologický význam této inaktivace je nejasný. Ryanodinové receptory jsou pojmenované podle jejich citlivosti na ryanodin, který snižuje pravděpodobnost otevření kanálu. Na druhou stranu zvýšení pravděpodobnosti otevření ryanodinových receptorů způsobuje kofein. [28][29]

6. Kalciové vlny

U koncentrace intracelulárního vápníku jsou často pozorované oscilace s periodami od několika sekund až po více než minutu. Tyto oscilace se ovšem většinou nevyskytují rovnoměrně po celé buňce, ale vyskytují se v opakovaných intracelulárních vlnách. Ve velkých buňkách intracelulární vlny vyvinou vysoký stupeň prostorového uspořádání, které tvoří soustředné kruhy, rovinné vlny a rozmanité spirály. (Obrázek 7)



Obrázek 7: Spirálová vlna oocytu drápatky vodní. Světlejší místa značí vyšší koncentraci Ca^{2+}. http://iopscience.iop.org/1367-2630/5/1/396/fulltext

Rychlost intracelulárních vápníkových vln je velice podobná v celé řadě buněčných typů. Rychlost těchto vln je v rozmezí od 5 do 20 μm/s. Intracelulární vlny jsou nezávislé na extracelulárním vápníku a mohou způsobit intracelulární oscilace u některých typů buněk. [30]

Stejně jako není jasná přesná funkce Ca2+ oscilací, tak ani funkce vápníkových vln není zcela prozkoumána. Všeobecně se ví, že umožňují komunikaci z jedné strany buňky na druhou, nebo mezi buňkami a také mohou sloužit k synchronizaci globální mnohobuněčné reakce na lokální podnět. Nicméně ve většině případů funkci vln neznáme.

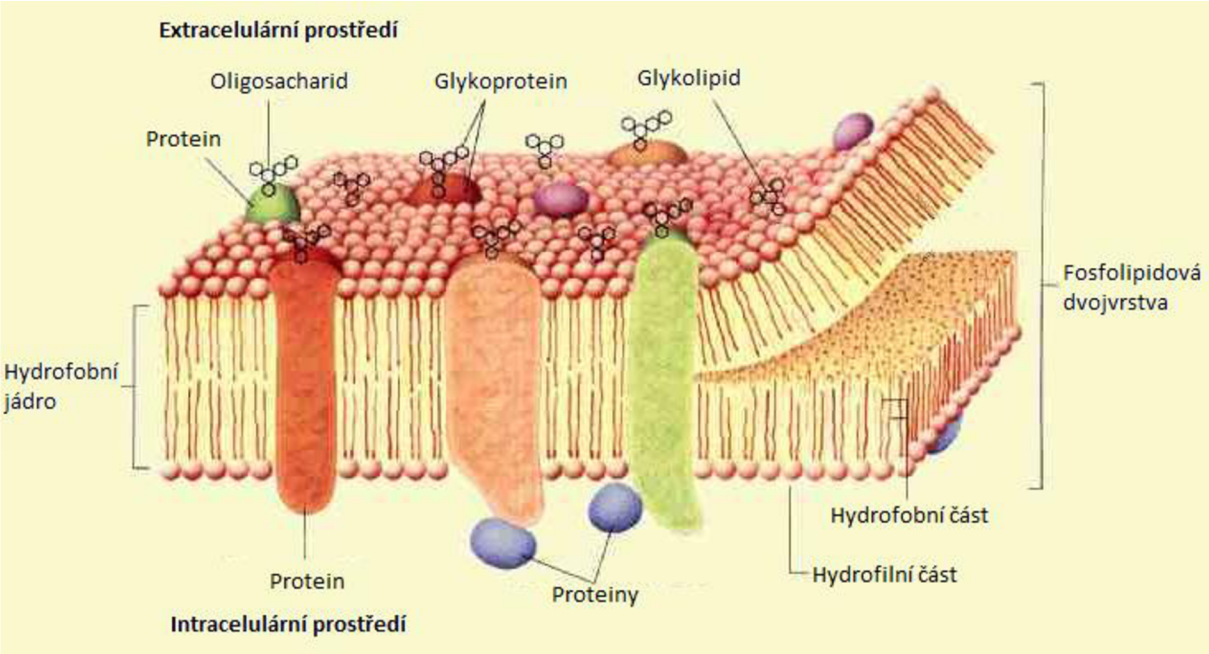
Generování intracelulárních vápníkových vln částečně závisí na apokrinní aktivitě ATP[4], který aktivuje receptory sousedních buněk. Extracelulární ATP se váže na purinergní receptory (receptory aktivované ATP), které tvoří velkou skupinu receptorů – iontové kanály. Aktivace purinergních receptorů spouští uvolňování IP_3 a ukládání intracelulárního vápníku (viz. kapitola 5.1). [31]

Ačkoliv se diskutuje o přesném mechanismu šíření vápníkových vln, je obecně známo, že v mnoha buňkách jsou intracelulární vápníkové vlny řízeny difuzí vápníku mezi Ca2+ uvolňovacími místy. Podle této hypotézy se vápník uvolněný z jednoho vápníkově citlivého zásobníku šíří do okolních zásobníků a tím spustí další uvolňování kalcia prostřednictvím vápníkem indukovaného uvolňování vápníku (viz. kapitola 4). Opakování tohoto procesu způsobuje generování postupující vysoké koncentrace vápníkových iontů – kalciové vlny. [32]

[4] ATP - adenosintrifosfát

7. Excitabilní a neexcitabilní buňky

Excitabilní buňky mají schopnost podráždění vést a předávat dále a svalové buňky na ně navíc reagují svým stažením. Vnitřní prostředí každé buňky je odděleno od vnějšího prostředí cytoplazmatickou membránou (Obrázek 8).



Obrázek 8: Schéma cytoplazmatické membrány buňky, http://www.uic.edu

V buněčné membráně se nacházejí tři typy proteinů, které kontrolují pohyb Ca^{2+} intracelulárně a extracelulárně: Ca-ATPáza, Ca/Na pumpa a kalciové kanály, které umožňují volný vstup Ca^{2+} do buňky, pokud jsou otevřené. První dva mechanizmy zajišťují průchod Ca^{2+} ven z buňky, zatímco Ca^{2+} kanály umožňují vstup Ca^{2+} do buňky, poněvadž koncentrace Ca^{2+} ně buňky je mnohem vyšší než uvnitř. [8]

Kalciové kanály se skládají z proteinových komplexů, tvořených pěti proteinovými podjednotkami (α1, α2, β, χ a δ). Otevření nebo zavření Ca^{2+} kanálů závisí na molekulárních a fyzikálních mechanizmech. Kalciové kanály jsou dvojího druhu: jednak aktivované poslíčkem (messenger), jedná se o neexcitabilní buňky, jednak aktivované změnou transmembránového napětí. Tyto se objevují ve většině excitabilních buněk, např. v neuronech, sekrečních buňkách a svalových buňkách. Bylo popsáno šest kalciových kanálů, ovlivňovaných změnou potenciálu: L, T, N, P, Q, R, kde zejména první dva mají význam pro klinickou praxi a terapii. L kanál se nalézá ve většině excitabilních buněk, ve svalstvu je obecně zodpovědný za dlouhodobý svalový tonus (L=long-lasting) a jeho aktivace je vyvolána velkou změnou napětí

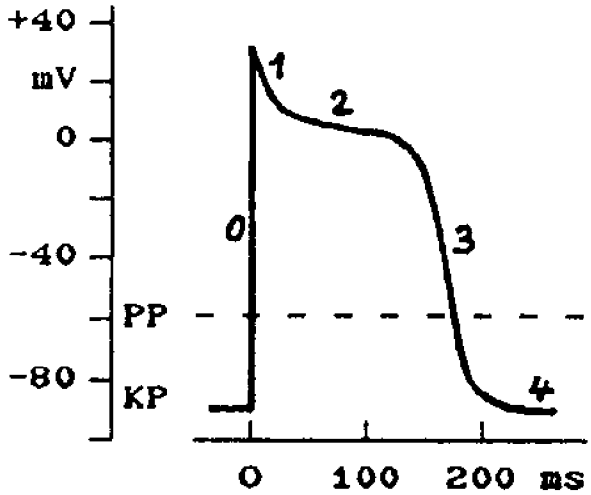
a zůstává otevřený relativně dlouho. T kanál se vyskytuje v membránách svalových buněk v podstatně menší míře a je zodpovědný za pacemakerovou aktivitu v srdci, mozku a za sekreci, např. aldosteronu. Jeho aktivita vyžaduje malou změnu potenciálu (T = transient), zůstává otevřený kratší dobu. L i T kanály zprostředkovávají kontrakci hladkého svalstva cév tím, že umožňují vstup Ca^{2+} do buňky s následující kontrakcí kontraktibilních fibril. Výsledkem je vazokonstrikce a vzestup krevního tlaku. Ve svalových buňkách L kanál zajišťuje kontrakční sílu (inotropní účinek), zatímco T kanály zprostředkovávají vznik impulzů (chronotropní a batmotropní účinek). Výsledkem je zvýšený minutový objem a zvýšená tepová frekvence. Celkovým kardiovaskulárním účinkem otevření kalciových kanálů je vzestup krevního tlaku a zvýšení srdeční práce. [9]

8. Akční potenciál

Uvnitř buňky lze naměřit odlišný elektrický potenciál než vně buňky. Znamená to, že na buněčné membráně vzniká membránový potenciál - napětí mezi vnějškem a vnitřkem buňky, jehož velikost je dána rozdílem intracelulárního a extracelulárního potenciálu. Membránový potenciál vykazuje každá živá buňka a je stejně významným projevem buněčného života jako metabolismus nebo rozmnožování. Vnitřní prostředí buňky vykazuje záporný potenciál, vnější kladný. Proto se před hodnotu membránového potenciálu uvádí znaménko minus. Membránový potenciál může nabývat hodnot od jednoho do sta milivoltů. Největší membránový potenciál -95 mV bylo naměřeno u Purkyňových vláken v srdci. U většiny buněk se membránový potenciál v čase nemění. Jedná se o buňky (tkáně) nevzrušivé. Na rozdíl od nich se u vzrušivých buněk (tkání) membránový potenciál mění. Ať už samovolně, nebo na základě vnějšího podnětu. Vzrušivé buňky tvoří nervovou tkáň, kosterní, srdeční a hladkou svalovinu. Membrány vzrušivých tkání vykazují podle membránového potenciálu dva krajní stavy. V klidu, kdy se membránový potenciál nemění, vykazuje membrána klidový membránový potenciál. V opačném případě se jedná o akční potenciál. Průběh akčního potenciálu je zobrazen na obrázku (Obrázek 9).

Ve fázi 0 je propustnost pro sodíkové ionty určována funkcí rychlého sodíkového kanálu. Buněčnou membránou se pasivně a aktivně přemisťují ionty Na^{+}, Ca^{2+}, K^{+}, přičemž velikosti těchto iontových proudů jsou v každém okamžiku závislé

na tloušťce kanálu a existujícím elektrochemickém potenciálovém rozdílu na buněčné membráně. [5]



Obrázek 9: Akční potenciál komorové kontraktilní buňky. 0 - prudká depolarizace, 1 - rychlá repolarizační fáze, 2 - fáze plató, 3 - konečná repolarizace 4 - pomalá diastolická depolarizace, PP - prahový potenciál; KP - klidový potenciál, http://www.ekg.kvalitne.cz

Ve fázi 2 se k pronikajícím sodíkovým iontům pomalým sodíkovým kanálem přidávají ionty vápníku. Při poklesu napětí na buněčné membráně se uvádí do činnosti "pomalý" draslíkový kanál, jímž tečou ionty draslíku z buňky ven a který zůstává v činnosti po celou dobu repolarizace. [10]

9. Modelování

9.1 Historie modelování

Jednobuněčné modely

První jednobuněčné modely vznikly ve vědeckých pracích v roce 1952, které prováděli Alan Lloyd Hodgkin a Andrew Fielding Huxley (Hodgkin and Huxley 1952). V těchto pokusech, prováděných na velkých axonech chobotnice, odvodili kvantitativní popis proudu přes buněčnou membránu a průběh akčního potenciálu. Model matematicky vysvětluje napěťově závislé vlastnosti sodíkových a draslíkových kanálů v membráně nervu. Vzhledem k tomu, že podobné iontové kanály existují i u srdečních buněk, byly tyto znalosti využity k modelu akčního potenciálu Purkyňových buněk (McAllister et al. 1975).

Nicméně bylo zjištěno, že akční potenciál srdečních buněk je mnohem složitější než akční potenciál nervových buněk. Rozdíl byl ve větší rozmanitosti iontových kanálů v srdeční buňce a přidání části dynamiky intracelulárního vápníku (DiFrancesco and Noble 1985; Luo and Rudy 1991; Luo and Rudy 1994). Doplněný model se stal složitější a kompletnější. Avšak formulace těchto kanálů pořád vycházela z popisu Hodgkina a Huxleyho a navíc srdeční buňky obsahují důležitou část intracelulárního vápníku – sarkoplasmatické retikulum. [11]

Moderní modely akčního potenciálu srdce

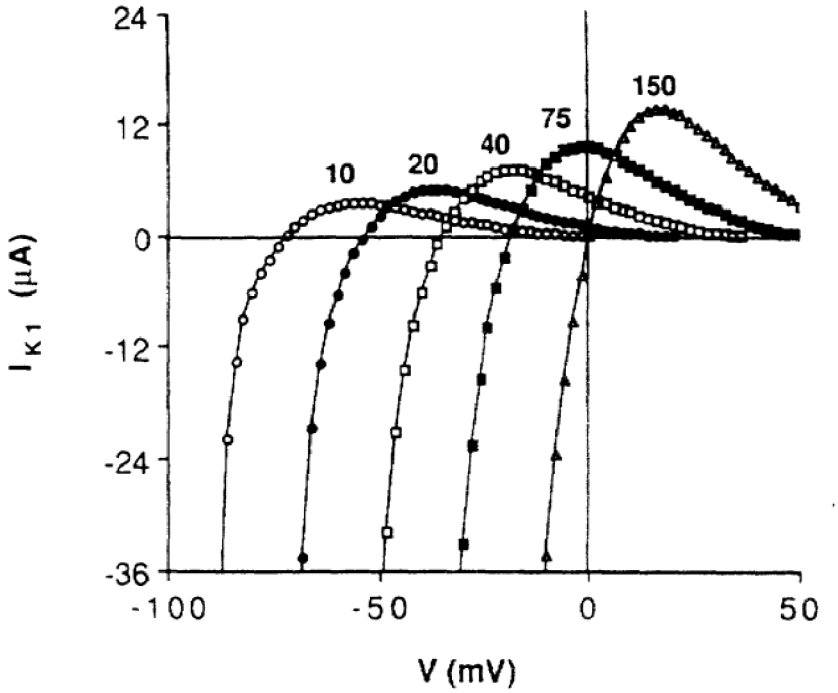
Současné modely spojují velký soubor iontových kanálů, bohatou historii experimentování a kompletní manipulací s vápníkem. Navíc se zlepšil výpočetní výkon a numerické metody, což nám umožňuje řešit složité soustavy diferenciálních rovnic, které umožňují přesnější popis buněčné elektrofyziologie (jednobuněčné modely) a vzájemné působení mnoha buněk (síťové modely). Z těchto důsledků se zaměření modelování přesunulo z popisu normálního chování myocytů na popis patologických jevů.

V roce 1985 DiFrancesco a Noble popsali vylepšený model akčního potenciálu Purkyňových buněk (D-N model, DiFrancesco nad Noble, 1985), který zahrnoval klasický iontový kanál, spolu s vylepšenými předpoklady pro vápníkové kanály (L-typ a T-typ) a dynamiku intracelulárního vápníku. Avšak záznamová technika experimentů byla v té době poměrně omezená a nemohla vysvětlit důležité nestandardní jevy. V roce 1991 Luo a Rudy zveřejnili aktualizovanou verzi D-N modelu, který zahrnoval novější experimentální údaje pro sodíkové a draslíkové proudy, ale vynechal tvorbu vnitřního vápníkového proudu (I_{si}) (Luo and Rudy 1991). Další vylepšení přišlo v roce 1994. Luo a Rudy zveřejnili aktualizovaný model, který rozsáhle změnil D-N popis L-typu vápníkového kanálu ($I_{Ca,L}$), Na^+/Ca^{2+} výměníku, Na/K pumpy, sarkoplazmatické Ca-ATPázy, indukce Ca^{2+} a Ca^{2+} vydání (viz. kapitola 4). Do nového modelu přidali některé procesy, které v D-N modelu nebyly popsány. Byly to vyrovnávání Ca^{2+} a nespecifický vápenatý proud (Luo and Rudy 1994). Tento model se skládá ze tří oddílů - myoplasmy, sítě sarkoplazmatického retikula a junkčního sarkoplazmatického retikula. Tento rozšířený model poskytl průlom v simulacích excitace-kontrakce. V roce 1998 byl Luo-Rudy model vylepšen nahrazením zvířecích buněk lidskými. (Priebe and Beuckelmann 1998). [12]

Zatímco model Luo-Rudy popisuje ventrikulární akční potenciály, několik dalších modelů existují pro jiné srdeční tkáně. V roce 2000 Zhang a kolektiv začlenili nejnovější informace o sinoatriálním uzlu (SA) k vytvoření moderního modelu různých sinoatriálních buněk (centrální uzlové a periferní uzlové buňky) (Zhang et al. 2000). Lindblad a kolektiv využili stávající biofyzikální data k nasimulování akčních potenciálů. Záznam provedli na atriu králíka (Lindblad et al. 1996). [13][14]

9.2 Model Luo-Rudy z roku 1991

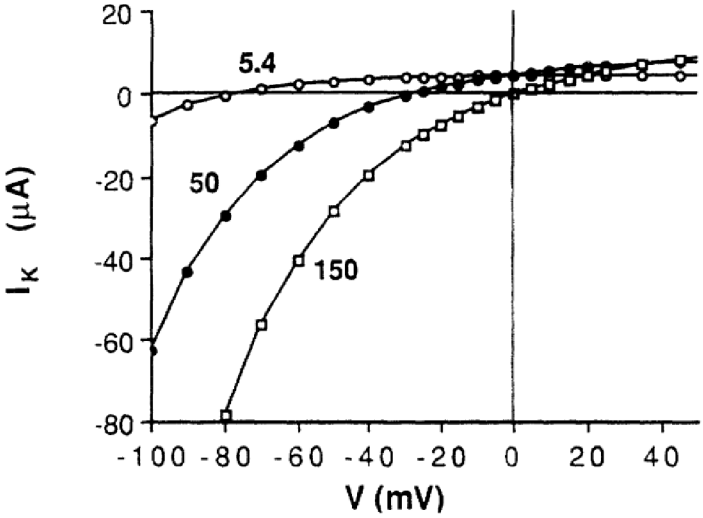
Jedná se o matematický model akčního potenciálu membrány savčí komorové buňky. Model je založen na informacích z jedné buňky a jednoho kanálu a zahrnuje možnost změny extracelulární koncentrace draslíku $[K]_o$. Rychlý sodíkový proud I_{Na} je charakterizován velkým nárůstem rychlosti (U_{max} = 400 V/sec) a pomalým návratem z inaktivace. Časově nezávislý draslíkový proud I_{K1} obsahuje zápornou fázi a zobrazuje významný přechodový jev draslíkových iontů (Obrázek 10).



Obrázek 10: Voltampérová charakteristika časově nezávislého draslíkového proudu I_K pro $[K]_o$ = 10; 50; 20; 40; 75 a 150 mM, http://rudylab.wustl.edu

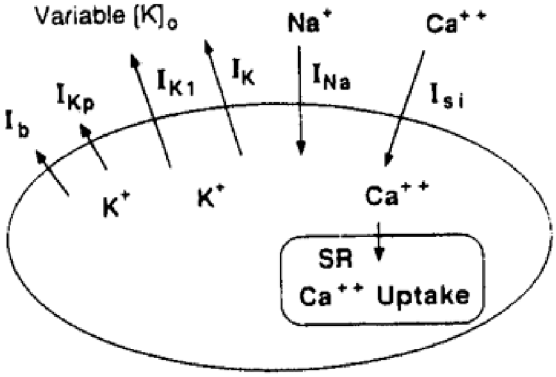
Časově závislý draslíkový proud I_K (Obrázek 11) zaujímá velmi malou míru přechodových iontů. Součásti modelu je nový draslíkový proud, který se aktivuje

při fázi plató. Simulované akční potenciály kopírují experimentálně pozorované jevy změn draslíkových iontů na trvání a ustálení akčního potenciálu. Fyziologické simulace se zaměřují na interakci mezi depolarizací a depolarizací (předčasná stimulace).



Obrázek 11: Voltampérová charakteristika aktivovaného časově závislého draslíkového proudu I_K pro $[K]_o$ = 5,4; 50 a 150 mM, http://rudylab.wustl.edu

Výsledky ukazují význam pomalé obnovy sodíkového proudu I_{Na} při určování reakce buňky. Simulované reakce na pravidelné stimulace zahrnují Wenckebachový[5] vzory a alternace při normálních draslíkových proudech, zatímco při nízkých draslíkových proudech jsou pozorovány nepravidelné Wenckebachový intervaly, neperiodické vzory a zvýšená dráždivost, které mají za následek nestabilní reakce (chaotická činnost). [15]

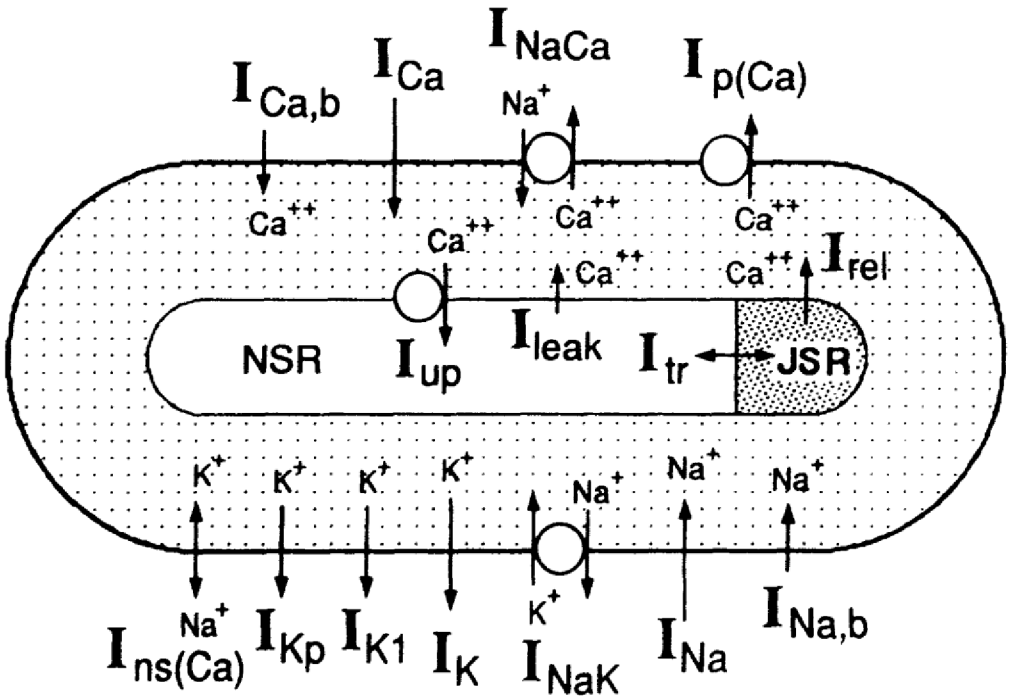


Obrázek 12: Schéma popisující proudy přes buněčnou membránu v modelu Luo Rudy 1991 http://rudylab.wustl.edu

[5] Karel Frederik Wenckebach – holandský anatom, který se zabýval kardiologií

9.3 Model Luo-Rudy z roku 1994

V předchozí práci byly formulovány membránové draslíkové proudy a sodíkový proud. Ching-hsing Luo a Yoram Rudy ve své práci z roku 1994 představili model akčního potenciálu komorové srdeční buňky. Tento model se zaměřuje na procesy, které regulují intracelulární Ca^{2+} vápníkové ionty a na závislostí jeho koncentrace. Pro výzkum akčního potenciálu srdeční komorové buňky byly převážně použity srdeční buňky morčat. Z toho vychází modelování dalších typů komorových buněk s vhodnými úpravami a s ohledem na rozdíly mezi jednotlivými druhy. V modelu je obsažen proud vápníkových iontů přes L-typ kanálů (I_{Ca}), Na^{2+}/Ca^{2+} výměník, uvolňování vápníkových iontů a jeho vychytávání v sarkoplazmatickém retikulu, ukládání Ca^{2+} v sarkoplazmatickém retikulu a v myoplazmě, vápníková pumpa v sarkolemě, Na^{+}/K^{+} výměník a nespecifické Ca^{2+} aktivační membránové proudy. Aktivace I_{Ca} je řádově rychlejší než u předchozích modelů.



Obrázek 13: Schéma buněčného modelu Luo-Rudy z roku 1994 [16]

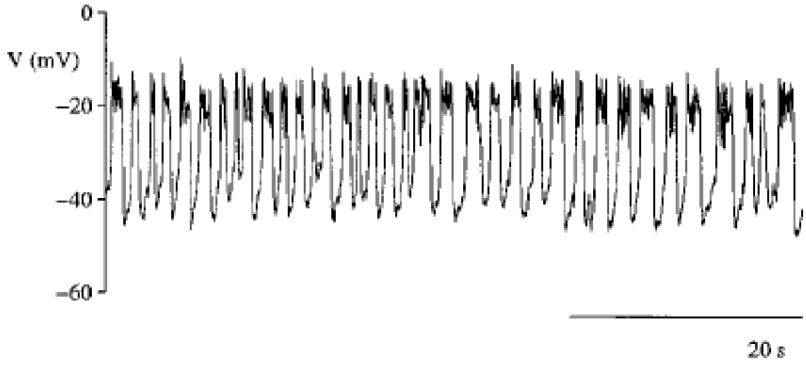
Inaktivace vápníkového proudu ICa závisí na membránovém napětí a na koncentraci intrcelulárních vápníkových iontů $[Ca^{2+}]_i$. Sarkoplazmatické retikulum je rozděleno na dvě části: síť sarkoplazmatického retikula a junkční sarkoplazmatické retikulum. Vápníkové ionty vstupují do sítě sarkoplazmatického retikula a exponenciálně se přemístí do junkčního sarkoplazmatického retikula. Uvolnění vápníku probíhá

v junkčním sarkoplazmatickém retikulu a může být vyvolané dvěma různými mechanismy. První je tzv. CICR (viz kapitola Vápníkem indukované uvolňování vápníku) a druhý způsob může být samovolné uvolňování. Model poskytuje základy pro studium arytmogenní aktivity jednotlivých buněk včetně pozdních depolarizací. Je možné simulovat buněčné reakce při různých stupních přetížení vápníkovými ionty. [16]

9.4 Model β-buněk slinivky břišní

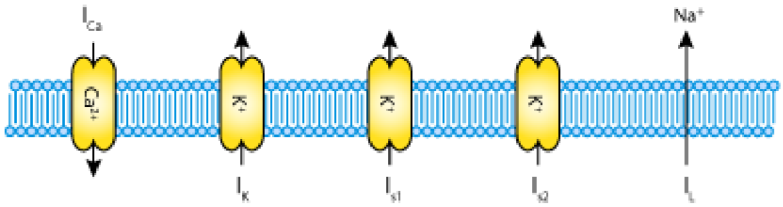
β-buňky pankreatu byly předmětem experimentálních a teoretických zkoumání po dobu několika desetiletí. Jedním z důvodu pro tento zájem byl význam buněk pro glukózovou homeostázu. Jsou jediným zdrojem inzulínu, který většina buněk potřebuje pro příjem a metabolismus glukózy a snížení funkce beta-buněk přispívá k cukrovce. Hlavním cílem práce byla dynamika beta-buněk a to zejména z jeho výbušné elektrické aktivity. Tyto vlny se skládají z aktivní fáze vápníku, který je zodpovědný za akční potenciály a klidné repolarizační části spolu s oscilacemi vápníku v cytosolu, který řídí pulzní sekreci inzulínu. [18]

Elektrická aktivita beta-buněk je zkoumána především na dvou odlišných přípravcích a to na Langerhansových ostrůvcích, což jsou mikroorganismy obsahující tisíce endokrinních buněk a na izolovaných buňkách. Nejvíce výzkumu bylo provedeno na myších, ovšem kalciové vlny byly zaznamenány i v pokusech in vivo, kde mohou být pozorovány negativní zpětné vazby na plazmatickou hladinu glukózy. Jediný podnět pro vytvoření oscilací je zvýšení koncentrace glukózy na 5 až 20 mM, což má za následek vlny v rozmezí 10 až 60 s. Rychlejší oscilace (s periodou menší než 10 s) jsou vyvolány acetylcholinem. Pomalejší oscilace s periodami kolem několika minut jsou vyvolané adrenalinem – fyziologickým inhibitorem sekrece inzulínu. [17][19] Pomalejší oscilace membránového potenciálu byly také zaznamenány v přítomnosti leucinu nebo ketoisokaproátu a při zvýšené koncentrací externího vápníku. Existují důkazy, že kultivace ostrůvků po dobu několika dní podporuje výskyt pomalých oscilací. [20][21] Jednobuněčné elektrofyziologické studie zjistily, že oscilace mohou vzniknout i u jednotlivých buněk, ale toto vlnění je zpravidla mnohem rychlejší (periody od 2 do 5 s) než u ostrůvků (Obrázek 14). [22]



Obrázek 14: Rychlé výbušné oscilace při měření napěťové odezvy na proudový impuls (current clamp)

V roce 2000 Richard Bertram, Joseph Previte, Arthur Sherman, Tracie A. Kinard a Leslie S. Satin vytvořili matematický model elektrické aktivity beta-buněk pankreatu (Obrázek 15), které jsou schopné vytvářet širokou paletu oscilací. Na rozdíl od předchozích modelů je vypuknutí oscilací řízeno interakcí dvou pomalých procesů, jedním s relativně krátkou časovou konstantou (1 až 5 sekund) a druhým s mnohem větší časovou konstantou (1 až 2 minuty). [23]



Obrázek 15: Schéma plazmatické membrány buňky pankreatu, obsahující proudy použité v modelu oscilace kalcia [23]

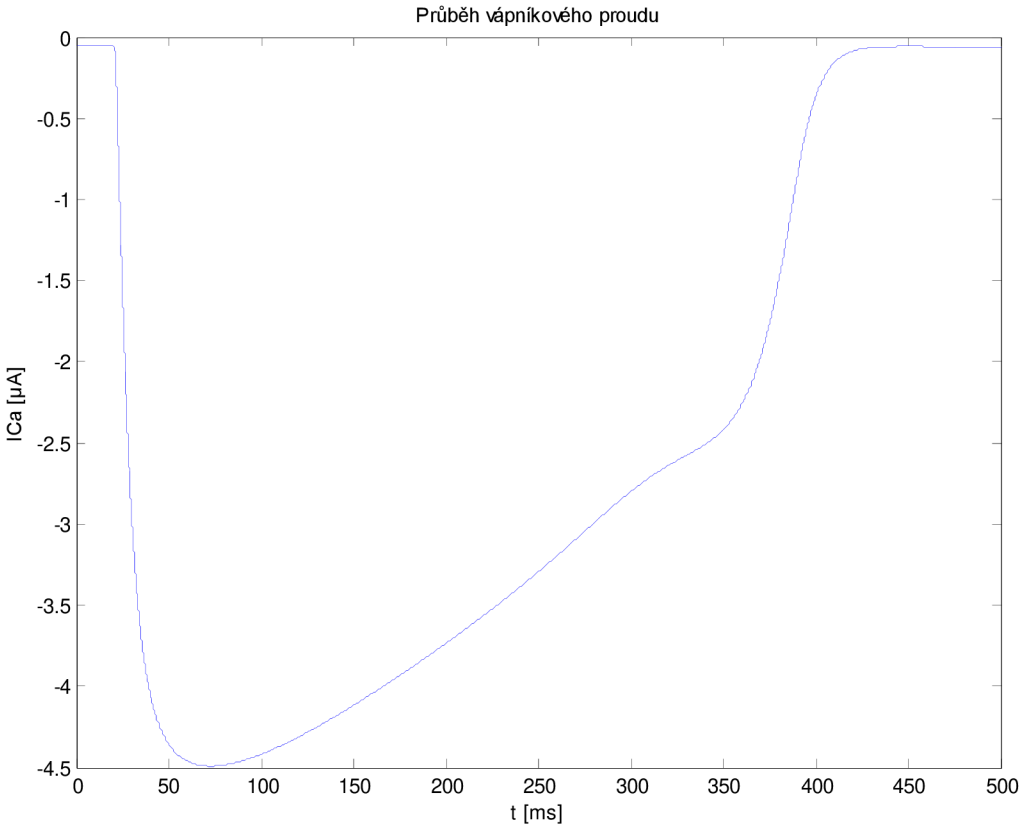
Bertram a kol. navrhli experimentální postup pomocí metody dynamic clamp, při které měří střední dobu oscilace z izolovaných buněk. Při svých experimentech přišli na to, že silné elektrické spojení mezi rychlými výbušnými oscilacemi a pomalými výbušnými oscilacemi může vytvářet synchronizované střední výbušné oscilace. Z toho vyplývá, že Langerhansovy ostrůvky jsou složené z buněk, které jsou ve své podstatě rychlé nebo pomalé (nevyskytují se zde buňky se střední rychlostí výbušných oscilací). [24]

10. Modelování v Matlabu

10.1 Model Luo Rudy z roku 1991

Při realizaci tohoto modelu v Matlabu je využitý model, který vydali Ching-hsing Luo a Yoram Rudy v roce 1991. Model zobrazuje tyto průběhy jednotlivých proudových a napěťových komponent:

- průběh sodíkového proudu (Obrázek 18)
- průběh vápníkového proudu (Obrázek 16)
- průběh koncentrace kalcia (Obrázek 17)
- průběh časově závislého draslíkového proudu (Obrázek 18)
- průběh časově nezávislého draslíkového proudu (Obrázek 18)
- průběh draslíkového proudu (fáze plató) (Obrázek 18)
- průběh proudu pozadí (Obrázek 18)
- celkový průběh iontových proudů (Obrázek 18)
- průběh akčního potenciálu (Obrázek 19)



Obrázek 16: Průběh vápníkového proudu

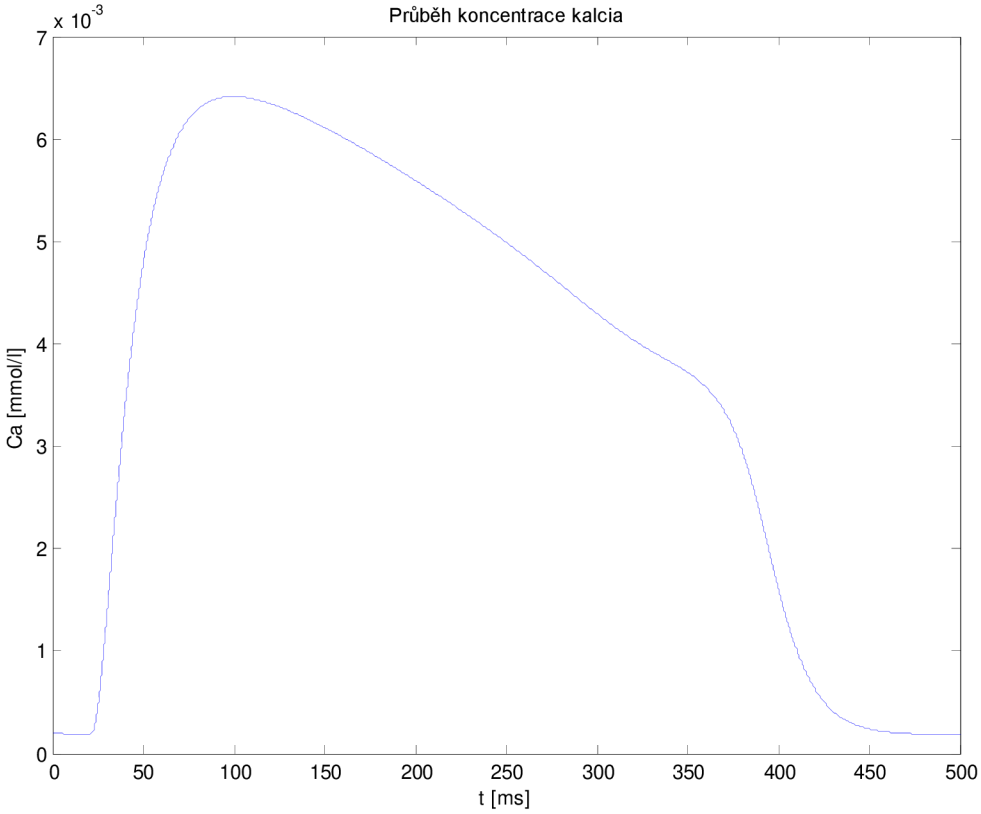
Program je rozdělen do dvou částí. První část obsahuje cyklus, kde se vypočítávají hodnoty pro zobrazení jednotlivých průběhů. V druhé části se jednotlivé průběhy vykreslují. Pro dostatečnou přesnost výsledků je použita vysoka hodnota vzorkování (50000 vzorků na 500 ms). V každém cyklu se spočítají jednotlivé hodnoty proudů, napětí a koncentrace.

Zobrazený průběh vápníkového proudu (Obrázek 16) se vypočte pomocí rovnice (1), změna intracelulární koncentrace volného vápníku (Obrázek 17) podle rovnice (2).

$$I_{Ca} = 0{,}09 \cdot \mathrm{d} \cdot \mathrm{f} \cdot (\mathrm{U} - \mathrm{E}_{\mathrm{Ca}}), \tag{1}$$

$$\frac{d[Ca]_i}{dt} = -10^{-4} \cdot I_{Ca} + 0{,}07 \cdot (10^{-4} \cdot [Ca]_i), \tag{2}$$

kde *d, f* tvoří vrátkovací systém, *U* je hodnota membránového napětí. E_{Ca} je rovno hodnotě napětí pro vápníkové ionty. $[Ca]_i$ je intracelulární koncentrace vápníkových iontů.



Obrázek 17: Průběh koncentrace volného intracelulárního vápníku v srdeční komorové buňce

Pro výpočet sodíkového proudu membránou (Obrázek 18) je použita rovnice (3).

$$I_{Na} = 23 \cdot m^3 \cdot h \cdot j \cdot (U - E_{Na}), \tag{3}$$

kde *m, h, j* tvoří vrátkovací systém. E_{Na} reprezentuje velikost reverzního napětí pro sodíkové ionty. *U* je hodnota membránového napětí.

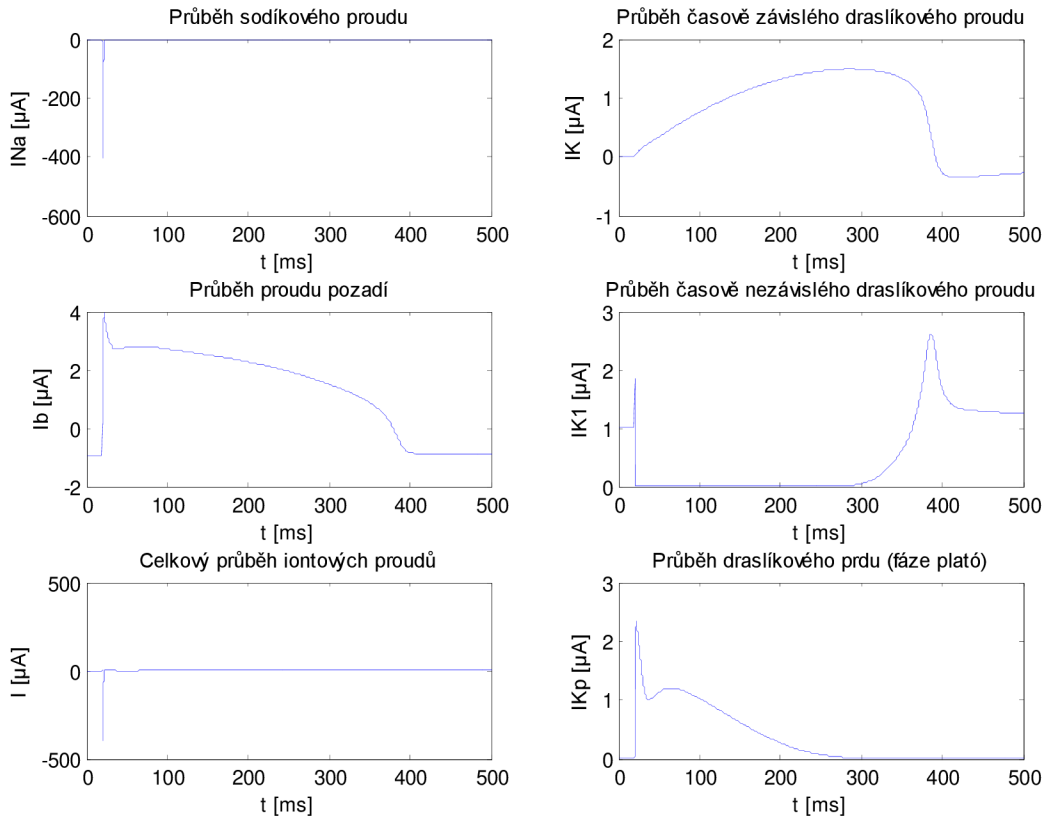
Průběhy časově závislého a časově nezávislého draslíkového proudu a průběh draslíkového proudu – fáze plató (Obrázek 18) jsou výpočty podle rovnic (4), (5) a (6).

$$I_K = \overline{G} \cdot X \cdot X_i \cdot (U - E_K), \tag{4}$$

$$I_{K1} = \overline{G}_{K1} \cdot K1_{\infty} \cdot (U - E_{K1}), \tag{5}$$

$$I_{Kp} = 0{,}0183 \cdot K_p \cdot (U - E_{Kp}), \tag{6}$$

kde $\overline{G}$ je vodivost daných iontů, K reprezentuje deaktivační vrátka, *E* jsou potenciály jednotlivých proudů a *U* je velikost membránového napětí.



Obrázek 18: Průběh sodíkového proudu, proudu pozadí, celkový průběh iontových proudů, vypočtený průběh časově závislého a časově nezávislého draslíkového proudu a průběh draslíkového proudu - fáze plató

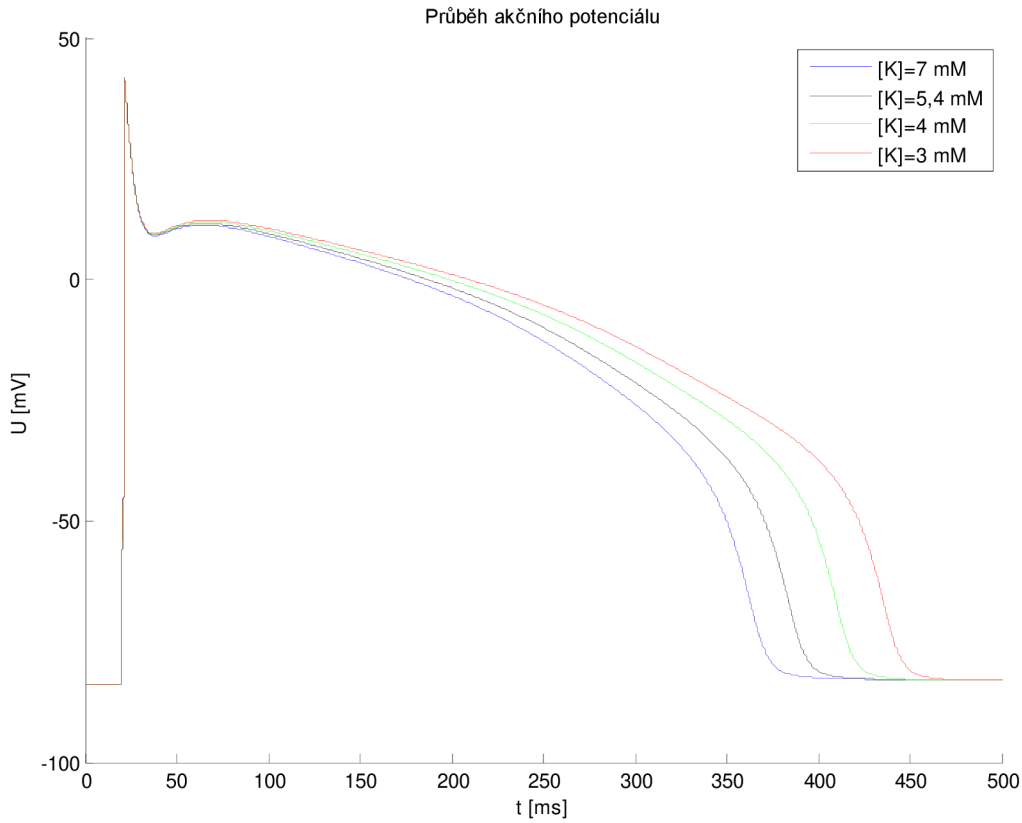
Průběh proudu I_b (Obrázek 18) je vypočten pomocí rovnice (7). Celkový proud (Obrázek 18) je součet jednotlivých iontových proudů (rovnice 8).

$$I_b = 0{,}03921 \cdot (U + 59{,}87), \tag{7}$$

$$I = I_{Na} + I_{Ca} + I_K + I_{K1} + I_{Kp} + I_b, \tag{8}$$

kde U je hodnota membránového napětí.

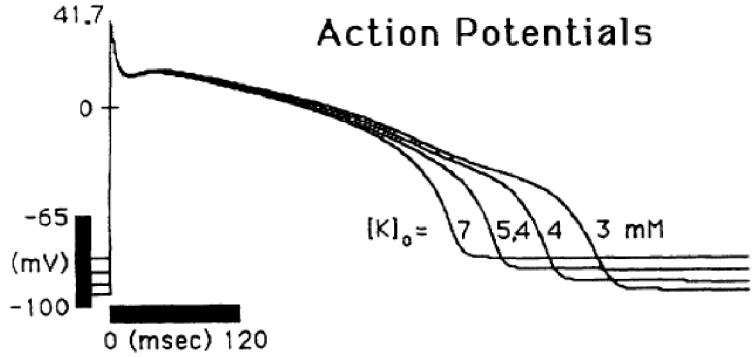
Výsledný průběh akčního potenciálu srdeční komorové buňky (Obrázek 19) obsahuje rychlou depolarizaci membrány, za kterou je zodpovědný rychlý sodíkový proud. Následuje rychlá repolarizační fáze a poté fáze plató, kde se repolarizace na krátkou dobu ustálí. V této fázi se k pronikajícím sodíkovým iontům pomalým sodíkovým kanálem přidávají ionty vápníku. Akční potenciál se repolarizuje až do klidové hodnoty membránového napětí.



Obrázek 19: Průběh akčního potenciálu srdeční buňky pro $[K]_o$ = 7; 5,4; 4 a 3 mM

Při změně koncentrace draslíku se mění průběh akčního potenciálu. Při zvýšení koncentrace draslíku se trvání akčního potenciálu zkracuje a při snížení koncentrace draslíku se naopak výsledný průběh akčního napětí prodlužuje. Obrázek 19 zobrazuje průběhy akčního napětí pro různé koncentrace draslíku pomocí modelu

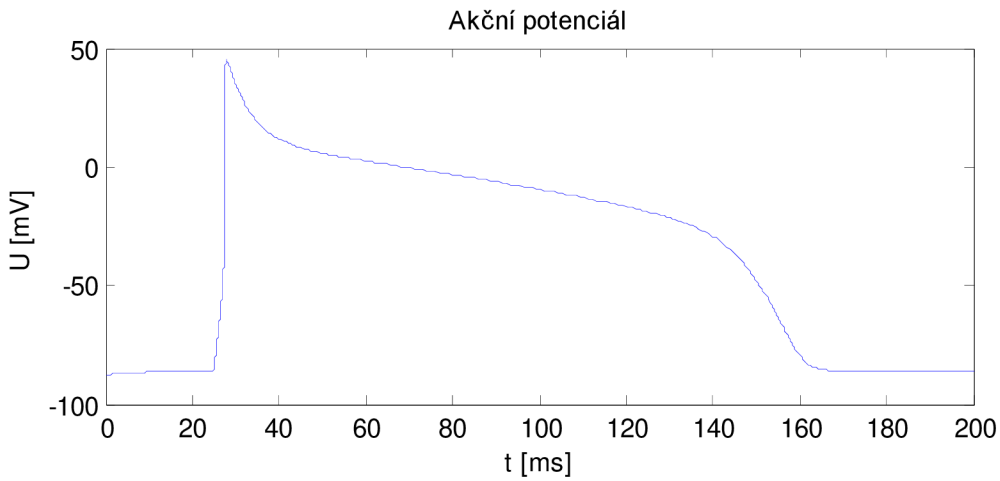
vytvořeného v Matlabu. Obrázek 20 představuje originální průběhy akčních potenciálu pro různé koncentrace draslíku z práce Luo-Rudy z roku 1991.



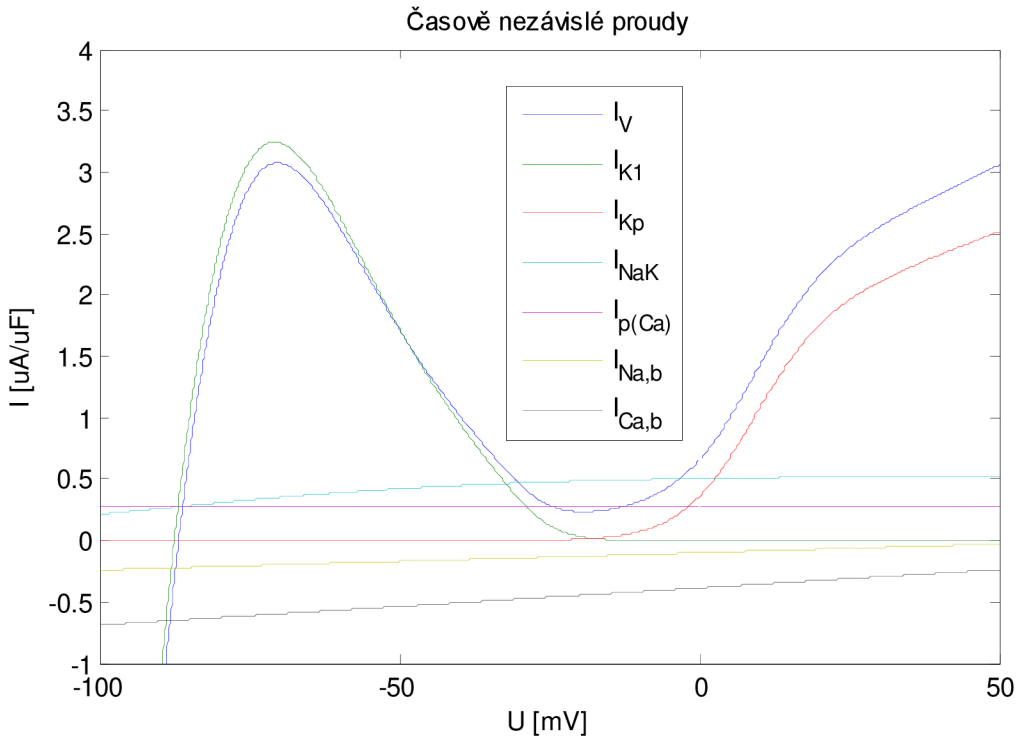
Obrázek 20: Průběh akčního potenciálu pro $[K]_o$ = 7; 5,4; 4 a 3 mM z originální práce Luo-Rudy z roku 1991 [15]

10.2 Model Luo-Rudy z roku 1994

Tento model je realizovaný na základě modelu A dynamic model of cardiac ventricular action potential od autorů: Ching-hsing Luo a Yoram Rudy z roku 1994. Výstupem modelu je impuls akčního napětí (Obrázek 21), který je tvořen iontovými proudy v sarkolemě. Celkový proud buněčnou membránou se skládá z rychlého sodíkového proudu (I_{Na}), proudů skrz vápníkový L-kanál ($I_{Ca,t}$, $I_{Ca,K}$, $I_{Ca,Na}$, I_{Ca}), časově závislého draslíkového proudu (I_K), časově nezávislého draslíkového proudu (I_{K1}), draslíkového proudu – fáze plató (I_{Kp}), sodíko–vápníkového výměníku (I_{NaCa}), sodíko-draslíkové pumpy (I_{NaK}), nespecifického vápníkem aktivovaného proudu ($I_{ns(Ca)}$, $I_{ns,K}$, $I_{ns,Na}$), vápníkové pumpy ($I_{p(Ca)}$), vápníkového proudu pozadí ($I_{Ca,b}$) a sodíkového proudu pozadí ($I_{Na,b}$).

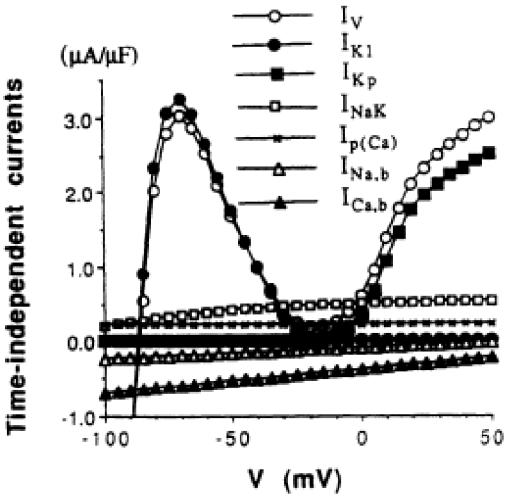


Obrázek 21: Impuls akčního napětí realizovaného modelu



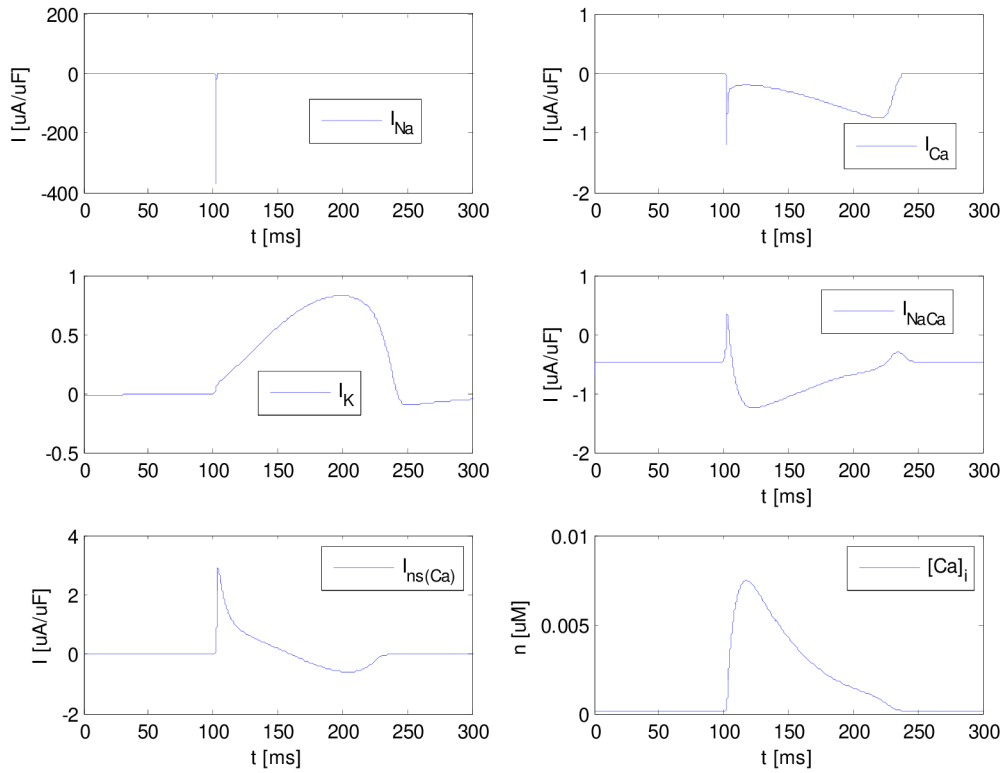
Obrázek 22: Graf zobrazuje volt-ampérové charakteristiky všech časově nezávislých proudů modelu Luo-Rudy z roku 1994

Časově nezávislé proudy mohou být vykresleny pomocí volt-ampérové charakteristiky (Obrázek 22). Z volt-ampérové charakteristiky je patrná větší závislost na napětí u časově nezávislého draslíkového proudu (I_{K1}) a draslíkového proudu – fáze plató (I_{Kp}), než u ostatních proudů. Průběhy volt-ampérové charakteristiky časově nezávislých proudů z práce autorů Luo a Rudy z roku 1994 (Obrázek 23) jsou shodné s volt-ampérovou charakteristikou vytvořeného modelu (Obrázek 22).



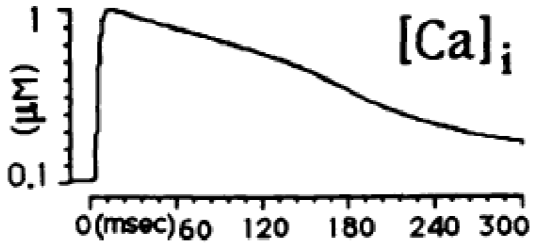
Obrázek 23: Časově nezávislé proudy z originální prace Luo-Rudy z roku 1994 [16]

Obrázek 24 zobrazuje rychlý sodíkový proud (I_{Na}), který depolarizuje membránu buňky, dále vápníkový proud (I_{Ca}), časově závislý draslíkový proud (I_K), sodíko-vápníkový výměník (I_{NaCa}) a nespecifický vápníkem aktivovaný proud ($I_{ns(Ca)}$), které s pomocí ostatních repolarizačních proudu ustálí membránový potenciál až na svou klidovou hodnotu.



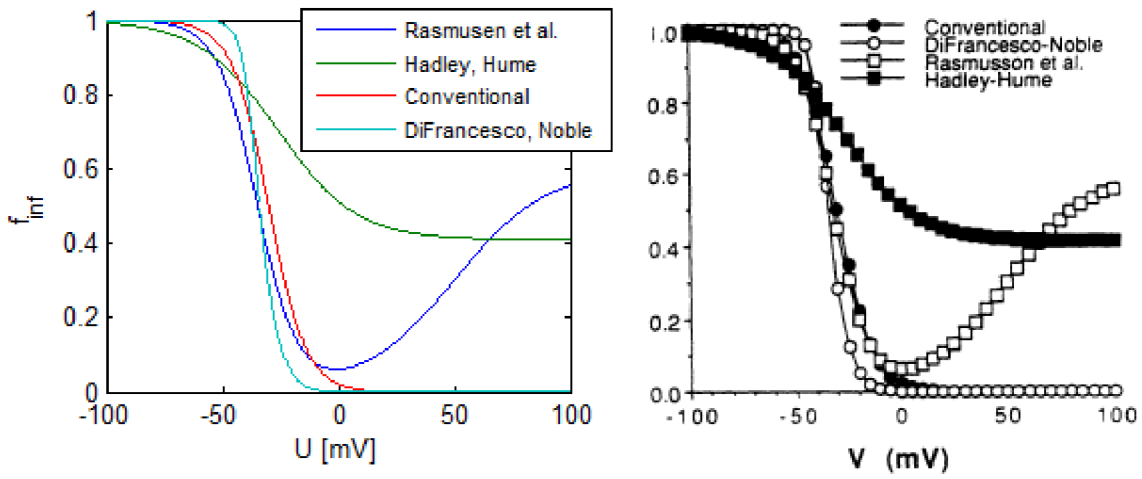
Obrázek 24: Průběhy časově závislých proudu sarkolemou (I_{Na}, I_{Ca}, I_K, I_{NaCa} a $I_{ns(Ca)}$) a průběh koncentrace intracelulárního vápníku ($[Ca]_i$)

Inracelulární koncentrace vápníku ($[Ca]_i$, Obrázek 24) neodpovídá skutečným hodnotám (Obrázek 25), jelikož u modelu vytvořeného v Matlabu je použitý jiný systém vypočtu intracelulárního vápníku než v originální práci.



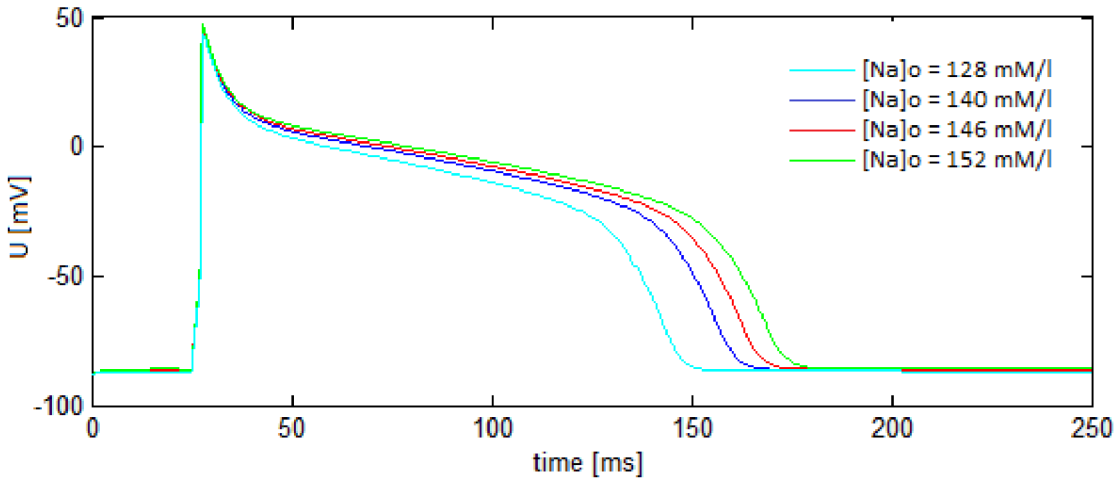
Obrázek 25: Průběh intracelulárního vápníku (model Luo-Rudy z roku 1994) [16]

Průběh intracelulárního vápníku ovlivňuje některé proudy skrz buněčnou membránu a tím je ovlivněn i výsledný impuls akčního napětí. Další nepřesnosti tohoto modelu mohou nastat při výpočtu diferenciálních rovnic modelu, kde je nastavena maximální hodnota kroku a relativní odchylka při výpočtu rovnic. Avšak tyto dvě hodnoty jsou zvoleny poměrně malé, tudíž ovlivnění výsledných výstupů modelu je zanedbatelné.



Obrázek 26: Obrázek vlevo zobrazuje průběhy inaktivační brány L-typu vápníkového kanálu vytvořených v Matlabu dle uvedených autorů. Obrázek vpravo zobrazuje průběhy inaktivačních brán z originální práce autorů Luo a Rudy [16]

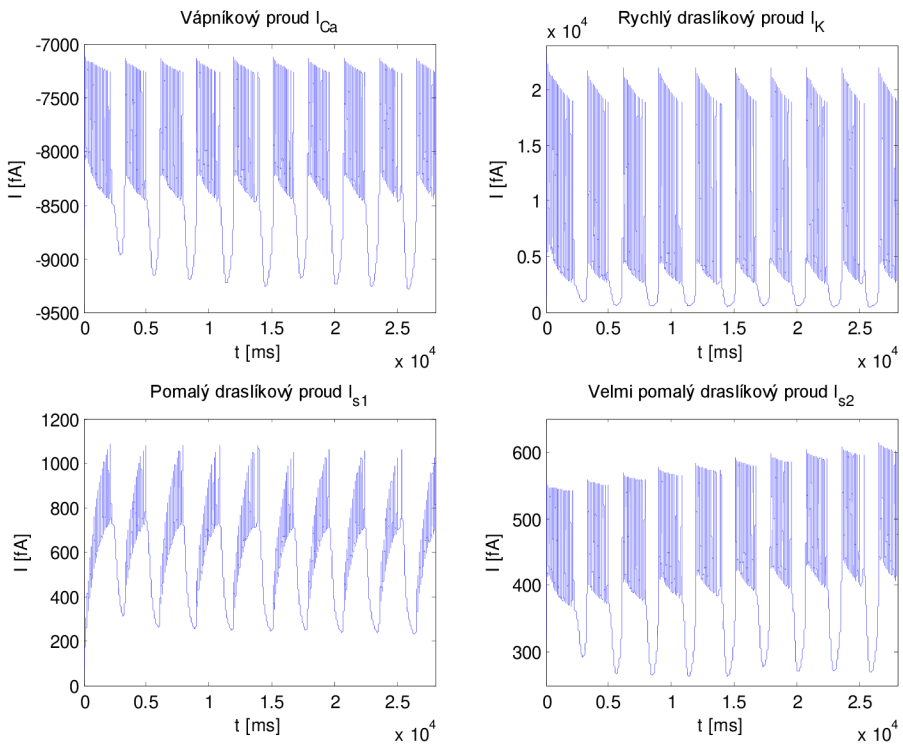
Pro ověření správnosti časově nezávislých proudů je vytvořena volt-ampérová charakteristika proudů (Obrázek 22) a srovnána s originální prací (Obrázek 23). Pro ověření proudu skrz vápníkový L-kanál je sestrojena závislost ustáleného stavu inaktivační brány vápníkového proudu (f) na napětí a je srovnána s původní prací (Obrázek 26). Funkčnost modelu se dále může testovat změnami proudových vodivostí, změnou extracelulární a intracelulární koncentrace jednotlivých iontů. Obrázek 27 ukazuje změny impulsu akčního napětí při změně extracelulární koncentrace sodíkových iontů. Při snižování koncentrace se akční potenciál zkracuje a při zvýšení extracelulární koncentrace sodíku se výsledný průběh akčního napětí prodlužuje.



Obrázek 27: Změny impulsu akčního napětí v závislosti na změně extracelulárního sodíku

10.3 Model β-buněk slinivky břišní

Jedná se o model z roku 2000 od autorů: Bertram, Previte, Sherman, Kinard a Satin. Vytvořený model se skládá s vápníkového proudu I_{Ca} (Obrázek 28), rychlého draslíkového proudu I_K (Obrázek 28), pomalého draslíkového proudu I_{s1} (Obrázek 28), velmi pomalého draslíkového proudu I_{s2} (Obrázek 28) a třech dynamických proměnných (s1, s2 a n).

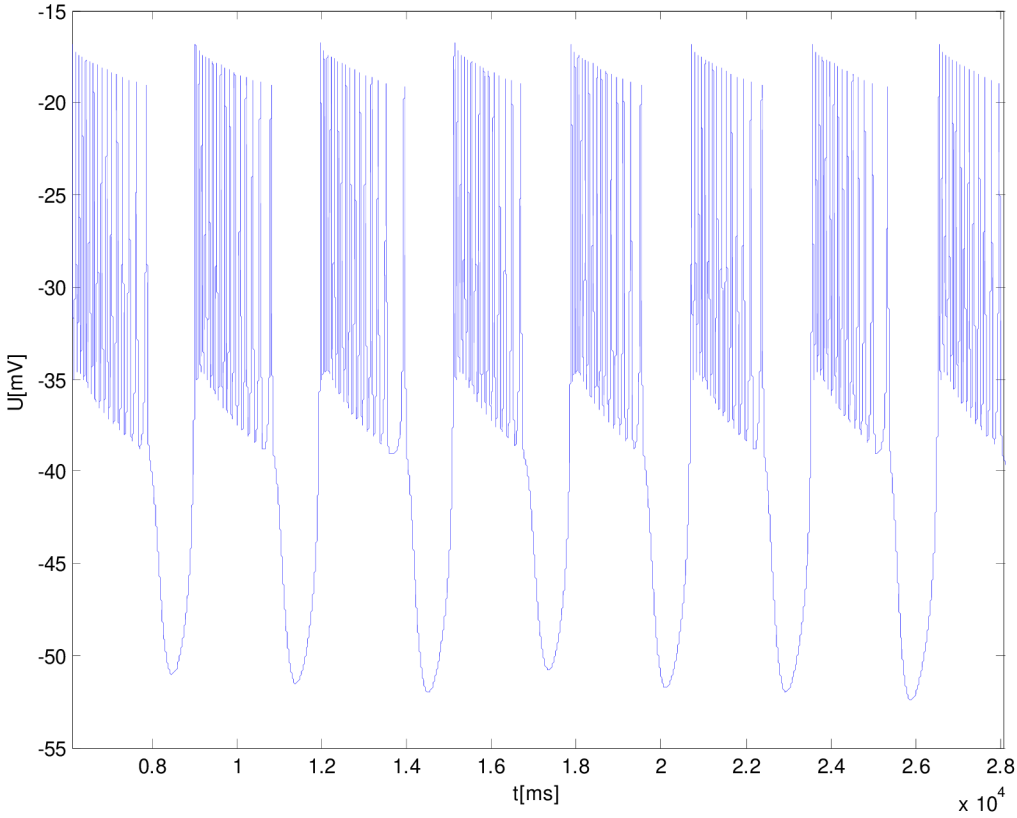


Obrázek 28: Průběhy jednotlivých proudu modelu.

Výstup modelu reprezentuje napětí U, které má oscilační charakter (Obrázek 29). Oscilační chování buněk je popsáno v kapitole 6. Výpočet výstupního napětí modelu se vypočte podle diferenciální rovnice (9).

$$\frac{dU}{dt} = \frac{I_{Ca} + I_K + I_{s1} + I_{s2} + I_L}{C_m}, \tag{9}$$

kde I_{Ca}, I_K, I_{s1}, I_{s2} a I_L jsou hodnoty proudových komponent modelu a C_m reprezentuje hodnotu kapacity membrány.



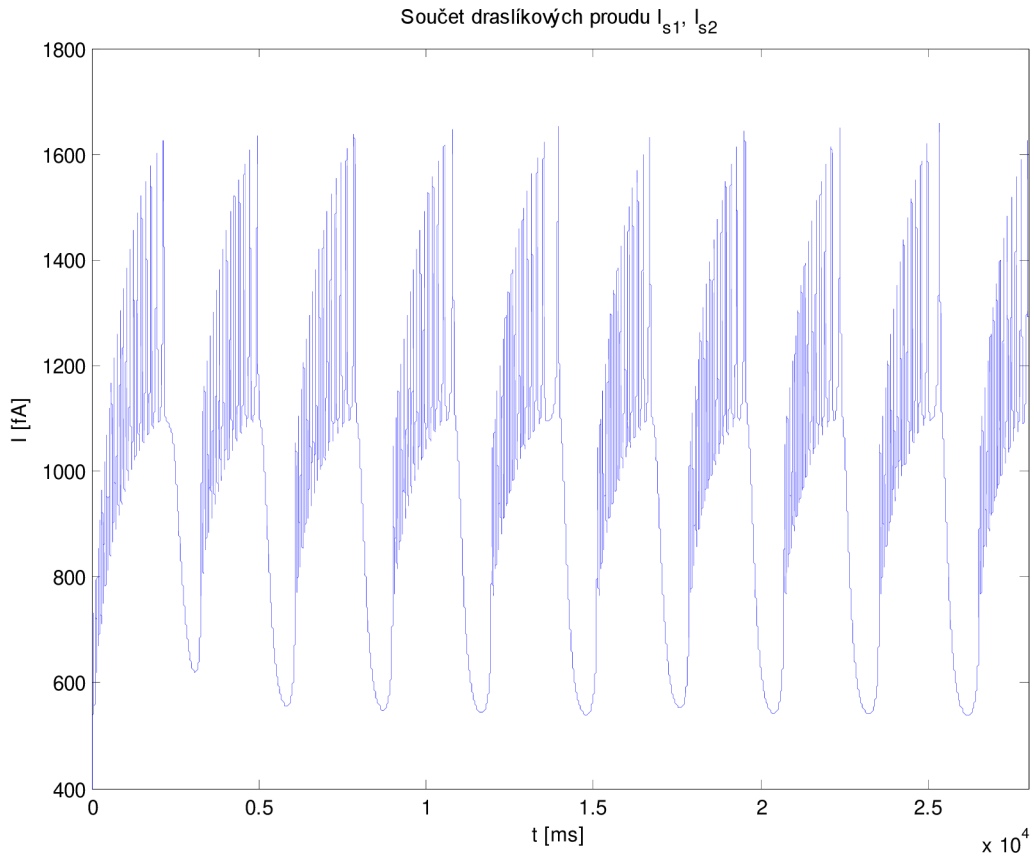
Obrázek 29: Oscilační chování napětí na výstupu modelu

Součtem pomalého draslíkového proudu (I_{s1}) a velmi pomalého draslíkového proudu (I_{s2}) dostaneme celkový průběh pomalých draslíkových proudů (Obrázek 30). Výpočet draslíkových proudu se realizuje podle rovnic (10) a (11).

$$I_{s1} = g_{s1} s_1 (U - U_K), \tag{10}$$

$$I_{s2} = g_{s2} s_2 (U - U_K), \tag{11}$$

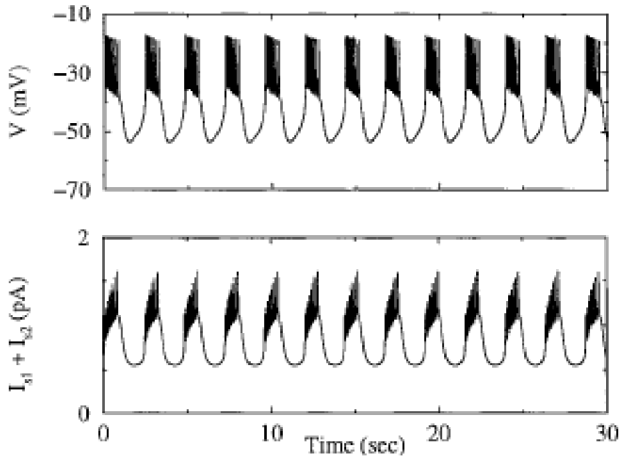
kde g_{s1} a g_{s2} jsou vodivosti jednotlivých kanálu, s_1 a s_2 jsou dynamické proměnné pro jednotlivé proudy a U_K představuje potenciál draslíkových iontů.



Obrázek 30: Součet pomalých draslíkových proudů I_{s1} a I_{s2}

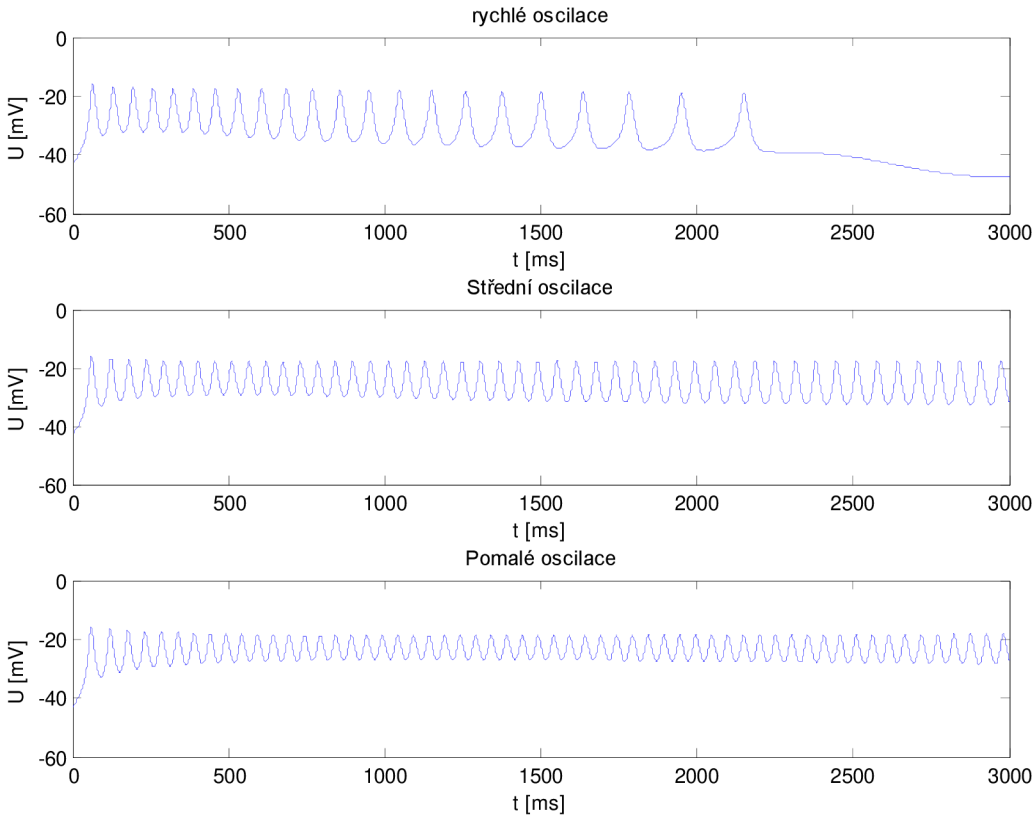
Obrázek 31 představuje průběh napětí a součet průběhů pomalých draslíkových proudů z originální práce od autorů Bertram, Previte, Sherman, Kinard a Satin z roku 2000. Rychlé oscilace se získají nastavením draslíkové vodivosti g_{s1} na relativně vysokou hodnotu 20 pS. Oscilace jsou řízeny pomalou aktivitou dynamické proměnné s_1. Když hodnota s_1 je malá, tak i proud I_{s1} je dostatečně malý na to, aby udržel hodnotu membránového potenciálu pod prahovou hodnotou, tudíž vznikají akční potenciály. Tyto rychle se měnící akční potenciály způsobují pomalý nárůst hodnoty s_1 a aktivaci I_{s1}. Když hodnota s_1 je dostatečně velká, proud I_{s1} potlačuje rychlé oscilace akčního potenciálu a buňka se vrací do klidného hyperpolarizovaného stavu.

Výstupy původní práce (Obrázek 31) jsou srovnatelné s výstupním napětím (Obrázek 29) a součtem pomalých draslíkových proudu (Obrázek 30) modelu realizovaného v Matlabu.



Obrázek 31: Oscilace proměnných z originálního modelu The Phantom Burster Model for Pancreatic β-Cells [24]

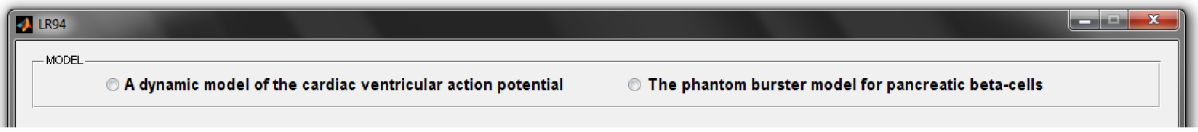
Rychlost oscilací závisí na hodnotě vodivosti pomalých draslíkových kanálů. Podle práce od autorů Bertram a kol. z roku 2000 jsou definovány vodivosti pomalých draslíkových kanálu pro tři základní oscilace. Rychlé oscilace jsou dosaženy nastavením vodivosti na hodnotu g_{s1} = 20 pS, střední oscilace jsou realizovány hodnotou g_{s1} = 7 pS a pomalé oscilace způsobuje vodivost s hodnotou g_{s1} = 3 pS.



Obrázek 32: Rychlé, střední a pomalé oscilace napětí z výstupu vytvořeného modelu

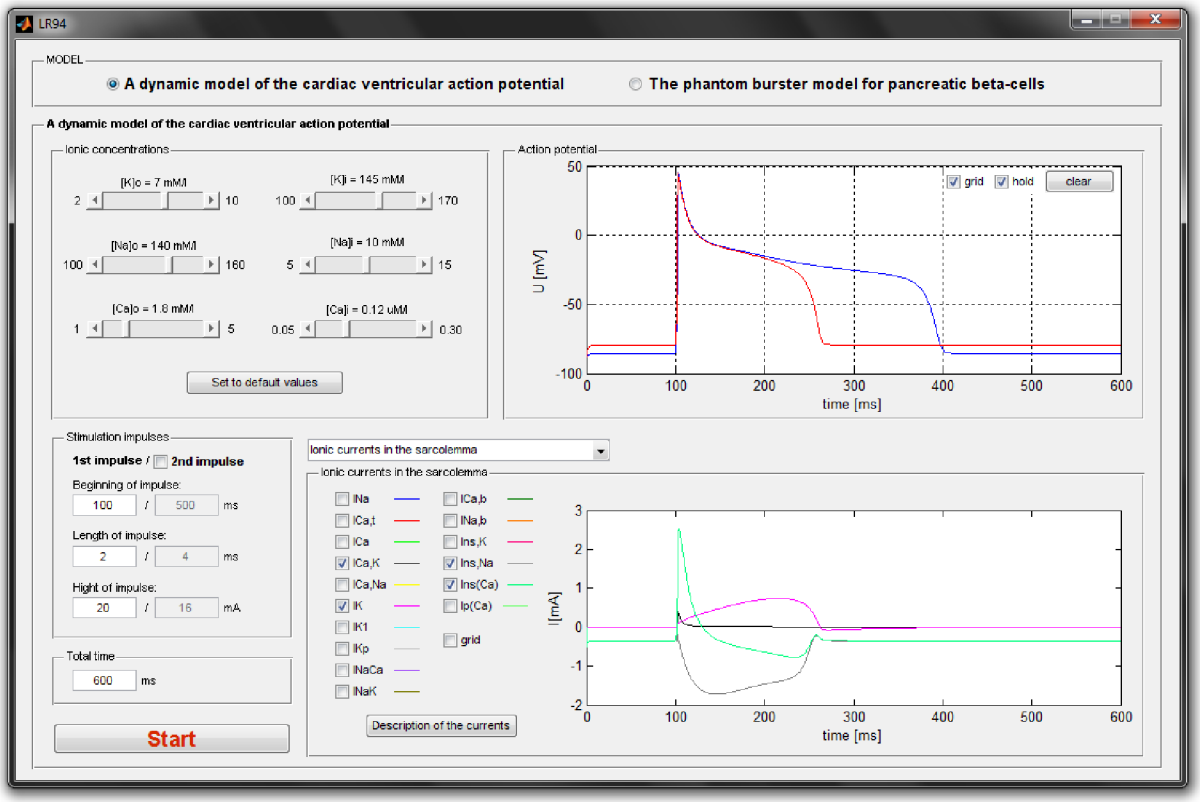
10.4 Grafické rozhraní programu

Grafické prostředí modelů je vytvořeno v Matlabu R2008a pomocí rozhraní GUI. Program se skládá se dvou hlavních části. První část je věnována modelu Luo-Rudy z roku 1994 a druhá část obsahuje práci s modelem realizovaného podle práce Bertram et al. z roku 2000.



Obrázek 33: Úvodní nastavení programu - výběr modelu

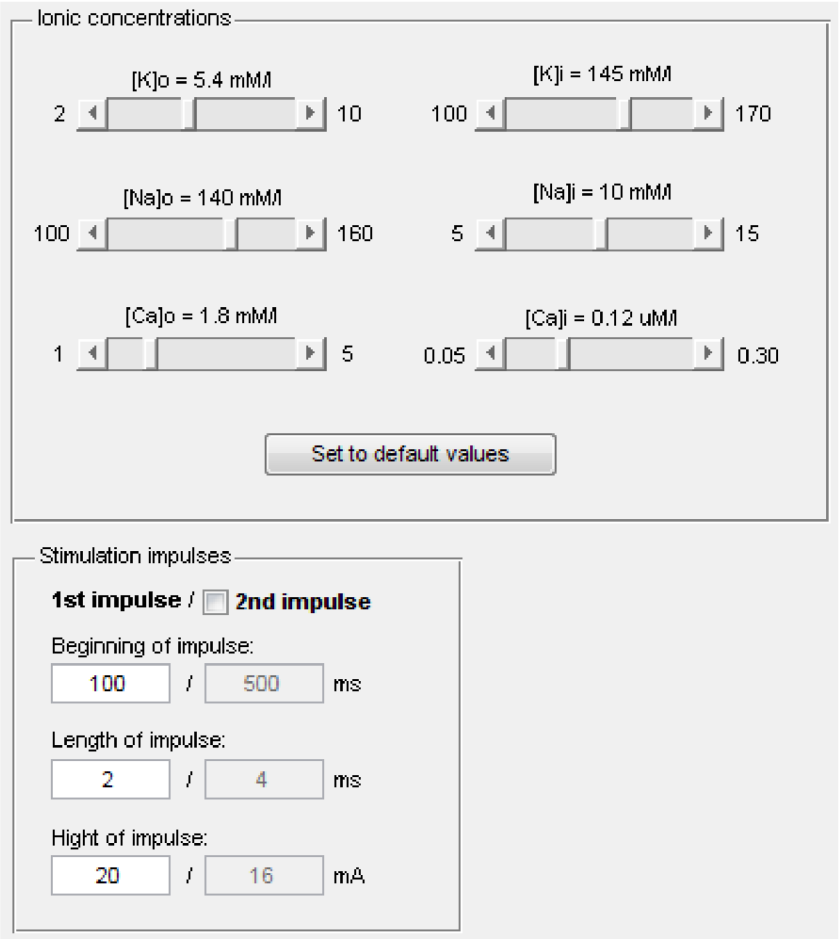
Po spuštění programu se zobrazí nabídka s možností výběru dvou modelů (Obrázek 33). Na výběr je dynamický model akčního potenciálu komorové srdeční buňky a model oscilačního chování β-buněk slinivky břišní. Po výběru se v programu zobrazí panel s ovládacími prvky daného modelu (Obrázek 34, Obrázek 36).



Obrázek 34: Hlavní panel programu s vybraným modelem akčního potenciálu srdeční komorové buňky. Program obsahuje panel pro změnu intracelulárních a extracelulárních iontových koncentrací, panel pro nastavení stimulačních impulsů, panel pro nastavení celkového času, panel pro zobrazení akčního potenciálu a panel pro zobrazení ostatních průběhu modelu

Model Luo-Rudy z roku 1994

Grafické rozhraní tohoto modelu umožňuje několik voleb nastavení. Pomocí panelu *Ionic concentrations* (Obrázek 35) lze nastavit extracelulární a intracelulární koncentraci draslíku, sodíku a vápníku.



Obrázek 35: Panel s nastavením extracelulární a intracelulární koncentrace iontů a panel pro výběr počtu impulsů a nastavení stimulačních impulsů

Změny koncentrace iontů způsobují změny v průběhu akčního potenciálu srdeční komorové buňky. Zvýšení extracelulární koncentrace draslíku způsobuje zkrácení doby trvání akčního potenciálu a mírně zvyšuje klidové membránové napětí. Naopak snížení extracelulární koncentrace draslíku způsobí zkrácení akčního potenciálu a pokles klidového membránového napětí. Změny koncentrace extracelulárního sodíku mají podobný, ale opačný efekt než změny extracelulárního draslíku. Při vyšší hodnotě koncentrace se akční potenciál prodlužuje a při menší koncentraci extracelulárního sodíku dochází ke zkrácení akčního potenciálu. Ovšem změny koncentrace sodíkových iontů už nemají takový velký vliv na klidové

membránové napětí jako změny koncentrace draslíkových iontů. Změny intracelulárního a extracelulárního vápníku způsobují především změny ve fázi plató akčního potenciálu. Všechny tyto popsané změny chování akčního potenciálu lze vyzkoušet v grafickém rozhraní vytvořeného programu.

Dalším nastavením je možnost definovat si stimulační impuls podle vlastních parametrů, popřípadě přidat druhý stimulační impuls (Obrázek 35 – *Stimulation impulses*). Při stimulaci pravoúhlými impulsy je důležitá minimální hodnota proudu, která vyvolá podráždění a doba trvání stimulačního impulsu. Čím menší je velikost proudu, tím delší dobu stimulačního impulsu potřebujeme k depolarizaci membrány. Tuto závislost můžeme graficky vyjádřit jako prahovou křivku dráždivosti (Hoorweg - Weissova křivka). S touto křivkou souvisí termín reobáze, kdy při prodlužování impulsu nad určitou hodnotu se již prahová velikost nemění. Při zkracování doby trvání stimulačního impulsu vzrůstá velikost proudu. Dráždivost tkání je označována termínem chronaxie, který je definován jako trvání prahového impulsu velikosti dvojnásobné reobáze. [33] Tyto vlastnosti depolarizace membrány si lze ověřit nastavováním stimulačního impulsu a sledováním akčního potenciálu v programu.

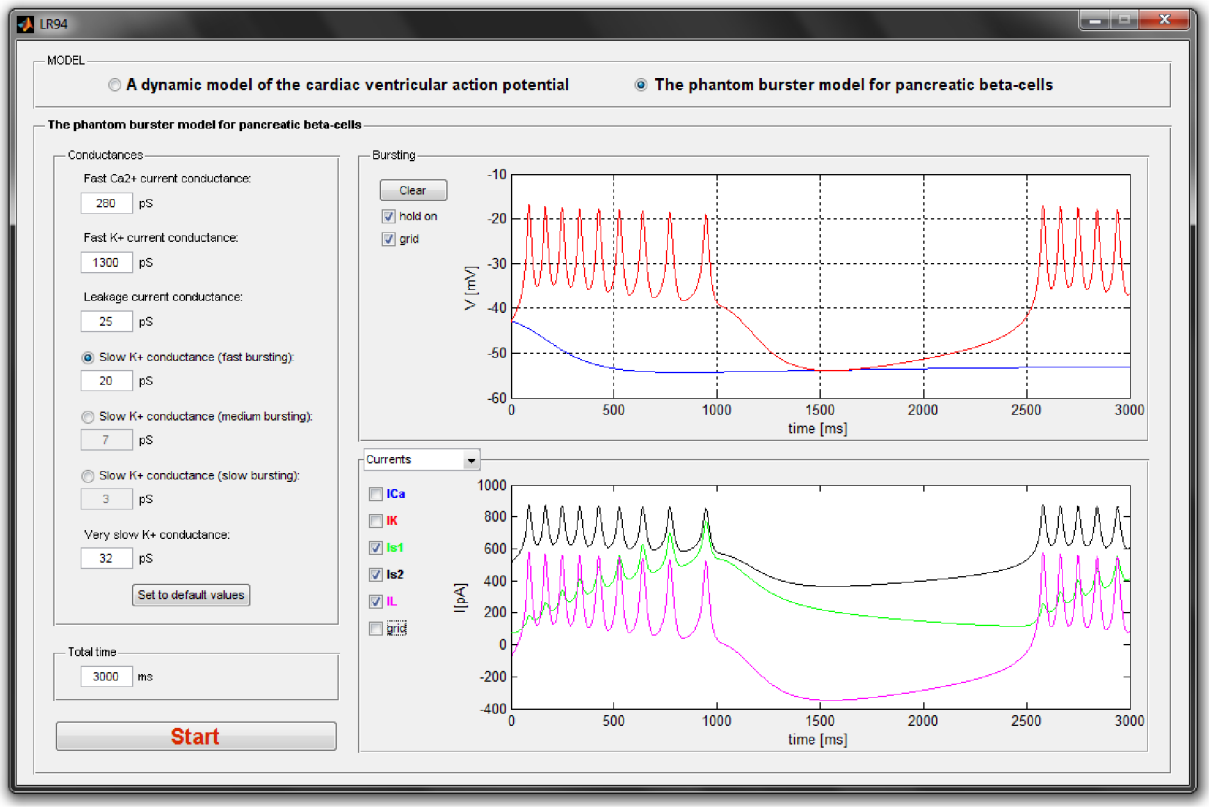
Panel *A dynamic model of the cardiac ventricular action potential* (Obrázek 34) dále obsahuje možnost zobrazit si iontové proudy v sarkolemě. Mezi tyto proudy patří rychlý sodíkový proud (I_{Na}), proudy skrz vápníkový L-kanál ($I_{Ca,t}$, $I_{Ca,K}$, $I_{Ca,Na}$, I_{Ca}), časově závislý draslíkový proud (I_K), časově nezávislý draslíkový proud (I_{K1}), draslíkový proud – fáze plató (I_{Kp}), sodíko–vápníkový výměník (I_{NaCa}), sdíko-draslíková pumpa (I_{NaK}), nespecifické vápníkem aktivované proudy ($I_{ns(Ca)}$, $I_{ns,K}$, $I_{ns,Na}$), vápníková pumpa ($I_{p(Ca)}$), vápníkový proud pozadí ($I_{Ca,b}$) a sodíkový proud pozadí ($I_{Na,b}$). Všechny tyto proudy si lze zobrazit v grafickém rozhraní programu. Dalšími výstupy modelu jsou dynamické proměnné, které hrají důležitou roli při aktivacích proudu v sarkolemě. Tyto proměnné se nazývají aktivační a inaktivační brány, které tvoří vrátkovací systém membrány. Posledními výstupy modelu jsou vápníkové proudění a dynamika vápníkových zásobníku.

Doba výpočtu modelu závisí na zvolené celkové době vykreslování průběhu akčního potenciálu a přesnosti výpočtu diferenciálních rovnic v Matlabu. Řešení diferenciálních rovnic v Matlabu nabízí mnoho nastavení. Pro dostatečnou přesnost a dobu trvání vykreslovaných průběhů jsou v tomto modelu použity parametry

relativní odchylka a maximální krok při výpočtu diferenciálních rovnic. Zvýšení přesnosti výpočtů má za následek delší dobu výpočtu modelu a naopak při zvolení menší přesnosti se výsledný průběh vykreslí rychleji.

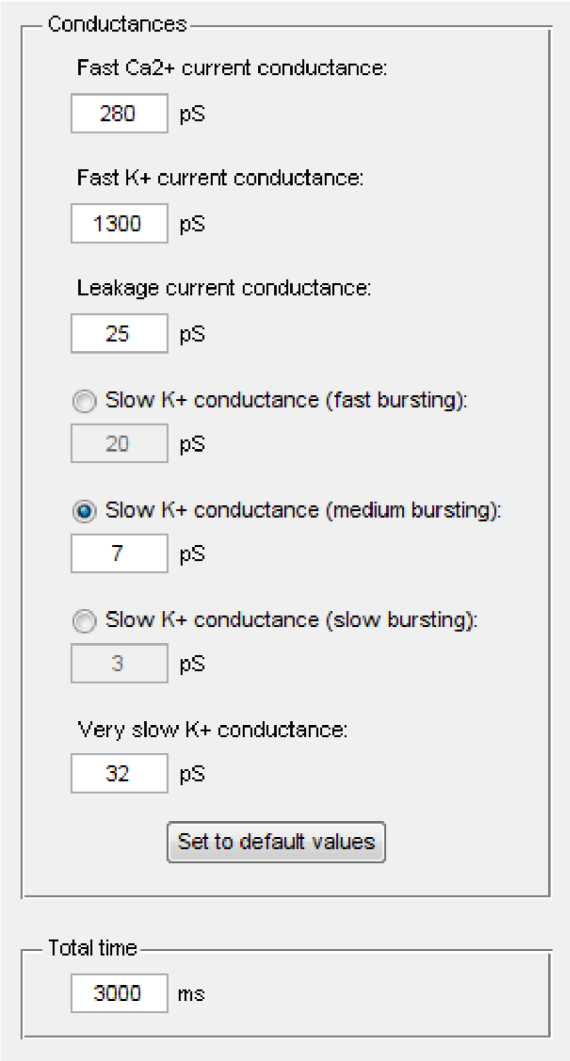
Model β-buněk slinivky břišní

Druhá část programu je věnována modelování β-buněk pankreatu. (Obrázek 36)



Obrázek 36: Grafické prostředí modelu β-buněk pankreatu. Program obsahuje tři základní části: panel pro nastavení vodivostí jednotlivých proudových kanálů, panel pro zobrazení výstupního napětí a panel pro zobrazení ostatních průběhů

Grafické prostředí tohoto modelu umožňuje simulaci dynamických proměnných, proudů a výstupního napětí oscilačního chování β-buněk pankreatu. Program v tomto modu je rozdělen na tři základní časti. První část obsahuje nastavení vlastností modelu a celkovou dobu simulování průběhů (Obrázek 37). Druhá část slouží pro vykreslení výstupního oscilačního napětí modelu a třetí část má za úkol zobrazení jednotlivých průběhů proudů a dynamických proměnných.



Obrázek 37: Nastavení jednotlivých vodivostí a celkového času simulace

Nastavení umožňuje měnit vodivosti u rychlého vápníkového kanálu (g_{Ca}), rychlého draslíkového kanálu (g_K), vodivost unikajícího proudu (g_L), vodivost pomalého draslíkového kanálu (g_{s1}) a vodivost velmi pomalého draslíkového kanálu (g_{s2}), přičemž vodivost pomalého draslíkového kanálu je primárně rozdělena na tři základní vodivosti vzhledem k definovaným rychlostem oscilace podle modelu od autorů Bertram a kol. z roku 2000. (Obrázek 37). Oscilace tedy mohou nastat tří typů podle vodivosti. Prvním typem jsou rychlé oscilace, u kterých je vodivost pomalého draslíkového kanálu nastavená na hodnotu g_{s1} = 20 pS. Dalším typem jsou oscilace střední rychlosti, které jsou dány hodnotou g_{s1} = 7 pS a pomalé oscilace jsou generovány při vodivosti g_{s1} = 3 pS. Všechny vodivosti při spuštění programu jsou nastaveny na základní hodnoty podle originální práce.

Výpočet tohoto modelu je poměrně pomalý z důvodu relativně dlouhé doby simulace. Pro správné zobrazení oscilačních vzorů je potřeba nastavit celkový čas simulace alespoň na hodnotu kolem 3000 ms pro rychlé oscilace. Rychlost výpočtu modelu v Matlabu je dána relativní odchylkou a maximálním krokem při výpočtu diferenciálních rovnic. Snížením těchto požadavku na přesnost je zajištěna poměrně malá doba pro výpočet modelu. Avšak vysoké tolerance a velká hodnota maximálního kroku mohou způsobit nepřesnosti výstupních průběhů modelu, zejména u středních a pomalých oscilací.

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo vytvořit rešerši na téma modelování dynamiky kalcia v excitabilních i neexcitabilních buňkách a v prostředí Matlab naprogramovat modely zabývající se bioelektrickými jevy. Úvodní kapitoly slouží k objasnění elektrofyziologických jevů a podávají informace o funkci a vlastnostech vápníku v buňkách a organismu. Další kapitoly se věnují modelování těchto jevů.

Jako první byl vytvořen model, který popisuje průběhy jednotlivých membránových proudů, celkového membránového proudu, akčního potenciálu a průběh koncentrace kalcia. Model je založen na výzkumu, který prováděli Ching-hsing Luo a Yoram Rudy a na jejich publikaci z roku 1991. Program pro zobrazení jednotlivých průběhů používá vzorkování 50000 vzorků na 500 ms, což umožňuje dostatečně přesné zobrazení průběhů pro rychle se měnící proudy a napětí. Nevýhodou programu při této vzorkovací frekvenci je pomalý výpočet všech rovnic.

Dalším vytvořeným modelem je model Luo-Rudy z roku 1994, který definuje složitější práci s vápníkem než model Luo-Rudy z roku 1991. Tento model již nevypočítává rovnice pomocí cyklu, ale je zde použitá funkce ode15s, což je proměnný příkaz založený na základě numerických derivačních vzorců. Tato metoda zajišťuje rychlejší výpočet výsledných průběhů. Nevýhodou tohoto modelu jsou nepřesnosti výstupu modelu, které jsou popsány v kapitole 10.2.

Posledním vytvořeným modelem je model oscilačního chování buněk pankreatu. Výpočet tohoto modelu trvá delší dobu z důvodu dlouhé doby výsledného průběhu. Delší doba výsledného průběhu je zvolena kvůli správnému zobrazení oscilačních vzorů buňky, které trvají až 1000 ms.

Pro jednodušší práci s modely je vytvořeno grafické rozhraní, které uživateli umožňuje přehledné ovládání a rozsáhlé nastavení modelu Luo-Rudy z roku 1994 a modelu autorů Bertram a kol. z roku 2000. Vytvořený program může sloužit pro demonstraci vybraných elektrofyziologických pochodů na buněčné úrovni a pro výuku v předmětech zabývajícími se bioelektrickými jevy.

Použitá literatura

[1] BROULÍK, P. *Poruchy kalciofosfátového metabolismu*. Praha : Grada, 2003. 192 s.

[2] SILBERNAGL, S.; DESPOPOULOS, A. *Atlas fyziologie člověka*. 6. vydání. Praha : Grada, 2004. 448 s.

[3] TROJAN, S. et al. *Lékářská fyziologie*. Praha : Grada, 2003. 771 s.

[4] AIDLEY, D. *The physiology of excitable cells*. 3rd edition. Cambridge: Press Syndicate, 1989. 508 s.

[5] PULEČÍK, P. *Obecná fyziologie vzrušivých tkání*. Praha : Univerzita Karlova, 1984. 79 s.

[6] Endo, M. *Calcium release from the sarcoplasmic reticulum*. Physiol Rev, 1977. 101 s.

[7] Islam M. S. et al. *Ca2+-induced Ca2+ release in insulin-secreting cells*. FEBS Lett. 1992. 91 s.

[8] DOLEŽEL, Z. *Cardiology.sk* [online]. 2001 [cit. 2011-01-03]. Přehled současných zkušeností s léčebným uplatněním blokátorů kalciových kanálů v léčbě hypertenze u dětí. Dostupné z WWW: <http://www.cardiology.sk/casopis/601/07/frame.htm>Klinická farmakologie / Milan Grundmann, Ivana Kacířová

[9] GRUNDMANN, M.; KACÍŘOVÁ, I. *Klinická farmakologie*. Olomouc: Lékařská fakulta UP, 1999. 215 s.

[10] BIN, H. *Modeling & Imaging of Bioelectrical Activity: Principles and Applications*. [s.l.] : Springer, 2004. 334 s.

[11] The CellML Project Noble, 1962. In *A Modification of the Hodgkin-Huxley Equations Applicable to Purkinje Fibre Action and Pace-Maker Potentials* [online]. [s.l.] : [s.n.], 2010 [cit. 2011-01-03]. Dostupné z WWW: <http://models.cellml.org/exposure/812eeafbc8ebe97bef435340c80cfcce>.

[12] The CellML Project DiFrancesco, Noble, 1985. In *A Model of Cardiac Electrical Activity Incorporating Ionic Pumps and Concentration Changes* [online]. [s.l.] : [s.n.], 2010 [cit. 2011-01-03]. Dostupné z WWW: <http://models.cellml.org/exposure/91d93b61d7da56b6baf1f0c4d88ecd77>

[13] The CellML Project Lindblad, Murphey, Clark, Giles, 1996. In *A Model of the Action Potential and Underlying Membrane Currents in a Rabbit Atrial Cell*

[online]. [s.l.] : [s.n.], 2010 [cit. 2011-01-03]. Dostupné z WWW: <http://models.cellml.org/exposure/036dcdf013d736a376bf4d8f429bb804>.

[14] The CellML Project Info Zhang, Holden, Kodama, Honjo, Lei, Varghese, Boyett, 200. In *Mathematical models of action potentials in the periphery and center of the rabbit sinoatrial node.* [online]. [s.l.] : [s.n.], 2010 [cit. 2011-01-03]. Dostupné z WWW: <http://models.cellml.org/exposure/01f6a47881da1925315d1d89d3a8d901>.

[15] LUO, CH.; RUDY, Y. *Circulation Research*. Dallas: American Heart Association, 1991. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction, s. 1501-1526.

[16] LUO, CH.; RUDY, Y. *Circulation Research*. Dallas: American Heart Association, 1994. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I. Simulations of ionic currents and concentration changes, s. 1071-1096.

[17] GILON, P.; HENQUIN, J., C. Influence of membrane potential changes on cytoplasmic Ca^{2+} concentration in an electrically excitace cell, the insulin-secreting pancreatic B-cell. J. Biol. Chem. 267:20713–20720.

[18] SANCHEZ-ANDRES, J., V., GOMIS A., VALDEOLMILLOS, M. 1995. The electricalactivity of mouse pancreatic b-cells recorded in vivo shows glucosedependent oscillations. J. Physiol. (Lond.) 486:223–228.

[19] BERTRAM, R., SMOLEN, P., SHERMAN, A., MEARS, D., ATWATER, I., MARTIN, F., SORIA, B. A role for calcium release-activated current (CRAC) in cholinergic modulation of electrical activity in pancreatic b-cells. Biophys. J. 68:2323–2332.

[20] MARTIN, F., SANCHEZ-ANDRES, J. V., SORIA, B. 1995. Slow $[Ca^{2+}]_i$ oscillations induced by ketoisocaproate in single mouse pancreatic islets. Diabetes. 44:300-305.

[21] BERGSTEN, P. 1995. Slow and fast oscillations of cytosolic Ca^{2+} correspond to pulsatile insulin release. Am. J. Physiol. 268:E282–E287.

[22] KINARD, T. A., VRIES, G., SHERMAN, A., SATIN, L. S. 1999. Modulation of the bursting properties of single mouse pancreatic b-cells by artificial conductances. Biophys. J. 76:1423–1435.

[23] cellMl – Bertram et al., 2000 The CellML Project Bertram, Previte, Sherman, Kinard, Satin, 2000. In *The Phantom Burster Model for Pancreatic Beta Cells*

[online]. [s.l.] : [s.n.], 2010 [cit. 2011-01-03]. Dostupné z WWW: <http://models.cellml.org/exposure/fe91f06c8311ffd90fd1eaabe9b0032a>.

[24] BERTRAM, R., et. al. The Phantom Burster Model for Pancreatic b-Cells. Biophysical J., 2000, vol. 79, s. 2880-2892.

[25] ASMAT, Tauseef, et al. Streptococcus pneumoniae Infection of Host Epithelial Cells via Polymeric Immunoglobulin Receptor Transiently Induces Calcium Release from Intracellular Stores. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2011, 10.1074/jbc.M110.212225 , [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/286/20/17861.full?sid=e2c96331-4721-40b1-bab0-e19a553c2575>.

[26] ALVES, Eduardo, et al. Melatonin and IP_3-induced Ca^{2+} Release from Intracellular Stores in the Malaria Parasite Plasmodium falciparum within Infected Red Blood Cells. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2010, 286: 5905-5912, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/286/7/5905.full?sid=49e557c3-05c9-4726-87ce-f618fae0bf59>.

[27] NASH, Mark, et al. Synaptic Activity Augments Muscarinic Acetylcholine Receptor-stimulated Inositol 1,4,5-Trisphosphate Production to Facilitate Ca^{2+} Release in Hippocampal Neurons. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2004, 279: 49036-49044, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/279/47/49036.full?sid=103b8cea-4752-4e1f-bf52-c51da45c0eaa>.

[28] MICKELSON, J., et al. Abnormal sarcoplasmic reticulum ryanodine receptor in malignant hyperthermia. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 1993, 268: 1376-1382, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/268/2/1376.full.pdf+html?sid=d5577b51-1f7d-431b-a0c7-cbe6ca62ff8c>.

[29] ZHAO, Fangyi, et al. Dantrolene Inhibition of Ryanodine Receptor Ca2+Release Channels: MOLECULAR MECHANISM AND ISOFORM SELECTIVITY. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2001, 272: 23389-23397, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/272/37/23389.full?sid=d5577b51-1f7d-431b-a0c7-cbe6ca62ff8c>.

[30] ROONEY, T., et al. Oscillatory cytosolic calcium waves independent of stimulated inositol 1,4,5-trisphosphate formation in hepatocytes. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 1991, 266: 12272-12282, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/266/19/12272.full.pdf+html?sid=8f289672-65e2-49d7-b585-d8f724fb7363>.

[31] COCO, Silvia, et al. Storage and Release of ATP from Astrocytes in Culture. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 2003, 278: 1354-1362, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/278/2/1354.full?sid=8f289672-65e2-49d7-b585-d8f724fb7363>.

[32] LYTTON, J.; WESTLIN, M.; HANLEY, M. Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca-ATPase family of calcium pumps. *The Journal of Biological Chemistry* [online]. 1991, 266: 17067-17071, [cit. 2011-05-13]. Dostupný z WWW: <http://www.jbc.org/content/266/26/17067.full.pdf+html?sid=8f289672-65e2-49d7-b585-d8f724fb7363>.

[33] The University of New Mexico [online]. c2011 [cit. 2011-05-20]. Dostupné z WWW: <http://www.unm.edu/~toolson/rheobase_chronaxie_determination.htm>.

A. Popis přiložených souborů na CD

Adresář CD:\

- ***Jan_Tkac_BP.pdf*** – elektronická verze bakalářské práce
- ***README*.txt** – popis souborů na CD

Adresář CD:\Bertram 2000

- ***bertram_model.m*** - soubor obsahující výpočty modelu autorů Bertram a kol.
- ***bertram_solver.m*** - spouštěcí soubor modelu autorů Bertram a kol.

Adresář CD:\Grafické rozhraní

- ***bertram_model.m*** - soubor obsahující výpočty modelu autorů Bertram a kol.
- ***currents.m*** - funkce obsahující vykreslení proudů pro model Luo-Rudy z roku 1994
- ***currentsB.m*** -funkce obsahující vykreslení proudů pro model autorů Bertram a kol.
- ***fluxes.m*** - funkce pro vykreslení proudů sarkoplazmatického retikula modelu Luo-rudy z roku 1994
- ***gates.m*** - funkce pro vykreslení aktivačních a inaktivačních bran modelu Luo-Rudy z roku 194
- ***LR_94_model.m*** - soubor obsahující výpočty pro model Luo-Rudy z roku 1994
- ***LR94.fig*** - grafické rozhraní vytvořeného programu
- ***LR94.m*** - spouštěcí soubor grafického prostředí

Adresář CD:\Luo-Rudy 1991

- ***Luo_Rudy_1991.m*** - spouštěcí soubor modelu Luo-Rudy z roku 1991 obsahující veškeré výpočty modelu

Adresář CD:\Luo-Rudy 1994

- ***LR_94_model.m*** - soubor obsahující výpočty pro model Luo-Rudy z roku 1994
- ***LR_94_solver.m*** – spouštěcí soubor modelu Luo-Rudy z roku 1994