

Faculteit Ingenieurswetenschappen Vakgroep Civiele Techniek

Onderzoeksgroep Cardiovascular Mechanics and Biofluid Dynamics Voorzitter: Prof. dr. ir. P. Verdonck

### Modellering van de contractie van hartspiercellen

Michaël Piron

Promotors: Prof. dr. ir. P. Segers en Prof. dr. S. Sys

> Begeleidster: Ir. L. Lanoye

Scriptie ingediend tot het behalen van de academische graad van Burgerlijk Ingenieur Werktuigkunde-Elektrotechniek

Academiejaar 2006–2007



Faculteit Ingenieurswetenschappen Vakgroep Civiele Techniek

Onderzoeksgroep Cardiovascular Mechanics and Biofluid Dynamics Voorzitter: Prof. dr. ir. P. Verdonck

### Modellering van de contractie van hartspiercellen

Michaël Piron

Promotors: Prof. dr. ir. P. Segers en Prof. dr. S. Sys

> Begeleidster: Ir. L. Lanoye

Scriptie ingediend tot het behalen van de academische graad van Burgerlijk Ingenieur Werktuigkunde-Elektrotechniek

Academiejaar 2006–2007

#### Toelating tot bruikleen

De auteur geeft de toelating deze scriptie voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van het afstudeerwerk te kopiëren voor persoonlijk gebruik.

Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze scriptie.

Michaël Piron

4juni2007

# Woord vooraf

Het hart is een elektromechanische pomp wiens falen de grootste oorzaak is van natuurlijke dood in de hedendaagse samenleving. Om inzicht te krijgen in de oorzaken van het falen van de motor die ons in leven houdt, kunnen fysiologische modellen hulp bieden. Zij laten toe om niet-invasief de hartwerking te analyseren, tot op moleculair niveau. Invloeden van veroudering, ziektes en zelfs genetische afwijkingen op de hartwerking kunnen bestudeerd worden aan de hand van fysiologische modellen.

Een kernwoord in de modellering van het hart is multi-scale modelling. Het hart kan niet gevat worden in één model, maar bestaat uit de koppeling van modellen die elk een bepaalde ruimteschaal modelleren. Enkele ruimteschalen zijn: orgaanniveau, weefselniveau en celniveau. Men kan verder nog een onderscheid maken tussen modellering van de hartspier en modellering van de bloedstroming in het hart. Een koppeling tussen al deze verschillende modellen geeft uiteindelijk een virtueel hart.

Dit eindwerk is de aanzet tot de modellering van een volledig hart. Daarbij werd een model opgezet dat de actieve contractie van de hartspier op celniveau modelleert. Voor die modellering werd een softwarepakket gekozen dat toelaat om modellen op verschillende ruimtelijke schalen te implementeren en te koppelen. Met de constructie van een celmodel en het inwerken in een nieuw softwarepakket legt dit eindwerk dus een belangrijke basis.

Dit verslag is het resultaat van een jaar ontdekken hoe spieren kunnen contraheren, in combinatie met experimenteren in een complex simulatieprogramma. Dit eindwerk heeft me niet alleen veel bijgeleerd over spierwerking en het principe van fysiologische modellering, maar heeft me ook veel praktijkervaring opgeleverd. Probleemoplossend werken, plannen, contacten leggen met mensen in het onderzoeksgebied, ...

Een thesis schrijven is geen werk dat je compleet alleen doet. Ik wens dan ook enkele personen te danken.

- Een eerste woord van dank gaat uit naar mijn promotors, Patrick Segers en Stanislas Sys, voor de nodige ondersteuning tijdens het afgelopen jaar en het vertrouwen om mij heel wat vrijheid te geven.
- Verder wens ik ook mijn thesisbegeleidster, Lieve Lanoye, te danken voor de hulp tijdens onze brainstormsessies. Met meerdere mensen rond een probleem denken geeft altijd nieuwe inzichten.
- A special word of thank goes to David Nickerson from the University of Auckland, New-Zealand, for helping me out with all my questions concerning the CMISS software package.

- Dank aan mijn vrienden voor de steun en de interesse in mijn thesis.
- In dit lijstje met dankwoorden mogen mijn ouders zeker niet ontbreken. Niet enkel bij dit eindwerk, maar gedurende mijn ganse opleiding tot ingenieur hebben ze mij gesteund, interesse getoond en mij alle kansen geboden om dit waar te maken. Bedankt daarvoor!

Michaël Piron Gent, 4 juni 2007

#### Modellering van de contractie van hartspiercellen

door Michaël Piron

Afstudeerwerk ingediend tot het behalen van de graad van Burgerlijk Ingenieur Werktuigkunde-Elektrotechniek

Academiejaar 2006-2007

Promotors: Prof. dr. ir. P. Segers en Prof. dr. S. Sys Begeleidster: Ir. L. Lanoye

Faculteit Ingenieurswetenschappen
Universiteit Gent
Vakgroep Civiele Techniek
Onderzoeksgroep Cardiovascular Mechanics and Biofluid Dynamics
Voorzitter: Prof. dr. ir. P. Verdonck

#### Samenvatting

Deze thesis start met een inleiding tot de fysiologie van hartspiercellen, ter ondersteuning van de rest van het verslag. Daarbij komen zowel de anatomie als de mechanismen die contractie tot gevolg hebben, aan bod.

Vervolgens wordt een analyse gegeven van de bestaande hartspiercelmodellen. Hierbij ligt de nadruk op de mechanistische celmodellen, de zogenaamde cross-bridge modellen, omdat deze zich baseren op de biochemische processen die in werkelijkheid optreden, in tegenstelling tot de fenomenologische modellen.

Na het bundelen van al die kennis wordt in hoofdstuk 3 dan een celmodel geconstrueerd dat een hartspiercel simuleert vanaf de actiepotentiaal tot de effectieve krachtontwikkeling, op basis van bestaande modellen. Concreet wordt een koppeling gerealiseerd tussen het elektrofysisch celmodel van ten Tusscher en het cross-bridge model van Landesberg en Sideman.

Daarna volgt de implementatie van dit model in een specifiek gekozen eindige-elementenprogramma, met name CMISS.

Verder bevat deze thesis documentatie omtrent de installatie en het gebruik van het softwarepakket CMISS voor de modellering van hartspieren. Deze informatie kwam tot stand door uitgebreid experimenteren en analyseren van bestaande voorbeeldsimulaties en kan een belangrijke bron van informatie zijn voor verder onderzoek met dit pakket.

**Trefwoorden:** Hartspiercel, mechanistische celmodellen, CMISS, cross-bridge theorie, multiscale modellering

# Modelling the contraction of cardiac muscle cells

Michaël Piron

Supervisor(s): Patrick Segers, Stanislas Sys, Lieve Lanoye

Abstract—In this Master's thesis, a complete model of cardiac muscle cell contraction was developed, based on existing models. The model is based on the cross-bridge dynamics model of LANDESBERG & SIDEMAN, which was modified by coupling it to the electrophysiological model of TEN TUSSCHER ET AL. In the second part of the research, a suitable simulation software package was selected, based on the fact that we wanted the ability to easily implement the cardiac cell model in a higher-scale model of cardiac tissue or even a whole heart.

*Keywords*—cardiac muscle cell, mechanistic cell models, CMISS, crossbridge theory, multi-scale modelling

#### I. INTRODUCTION

THE heart is an electromechanical driven pump whose failure is the most important cause of natural death today. Physiological models can help us to gain some insight in the failure of the motor that keeps us alive. The models allow us to analyze the heart function in a non-invasive manner, even at a molecular level. Influence of aging, diseases and even genetical disorders on heart function can be analyzed using physiological models.

A keyword in modelling the heart is **multi-scale modelling**. The heart function can't be described by one model, but consists of a linkage between models that each act in their own spatial scale. These spatial scales are: organ scale, tissue scale and cell scale. At the organ spatial scale, a distinction is made between the heart muscle function and fluid modelling of the heart. By linking all these models together, a virtual heart is created.

The research described in this paper is the first step towards a complete heart model. It proposes a cardiac contraction model at cell scale, by coupling existing physiological models together.

#### II. MODEL

First, a literature study was performed to get an overview of the mechanical muscle cell models that exist today. This study showed that a distinction can be made between two types of models. First, the *phenomenological models*, which are in fact black-box models, try to reconstruct the link between muscle input (muscle activation and load) and output (force, length, velocity), by fitting mathematical expressions to experimental data. Second, there are so-called *mechanistic models*, which try to reconstruct the same links, but not with a black box approach. Instead, these models are based on the biophysical mechanisms that cause the contraction. The model equations are described in terms of filaments and cross-bridges.

Even though a phenomenological model is computationally less demanding than a mechanistic model and reconstructs the muscle behaviour quite well, this kind of model cannot implement all the contraction phenomena. Moreover, fenomenological models lack insight in their inner workings, because their structure doesn't match the real biophysical structure. With a mechanistic model, much more insight is gained in the influence of the different physiological parameters on the muscle contraction phenomenon.

#### A. Cross-bridge dynamics

The study of several cross-bridge cell models showed the importance of feedback mechanisms in the model. This makes the model of LANDESBERG & SIDEMAN [1] very attractive for simulating heart muscle cell behaviour, because it contains two feedback mechanisms: *cooperativity* and *mechanical feedback*.

The cooperativity mechanism reflects the fact that cycling cross bridges between muscle filaments have an influence on the affinity of the regulatory proteins for calcium. A detailed study [2] showed that the affinity of the regulatory proteins for calcium was influenced by the number of force generating cross-bridges in the sarcomere. Force development increases the affinity for calcium.

The mechanical feedback mechanism is a negative feedback mechanism that implements the influence of filament sliding on cross-bridge cycling. This mechanism does not only include the fact that sliding of filaments transfers cross-bridges between the different overlap regions of the sarcomere and thus affects the ability of the sarcomere to generate force. Next to that, the sliding velocity also causes cross-bridge links to break, which is modelled by a higher cross-bridge dissociation rate.

The importance of both feedback mechanisms in modelling effects at ventricular level is demonstrated by the research of LANDESBERG [3]. These control mechanisms explain the typical form of the pressure-volume loop and the well-known Frank-Starling law.

#### B. Calcium dynamics

The original model of LANDESBERG & SIDEMAN includes a model of calcium dynamics, based on the model of LEE & ALLEN. However, this simple electrophysiological model has a phenomenological nature. In this thesis, the electrophysiological component of the LANDESBERG & SIDEMAN model was replaced by a more complex and mechanistic model: the TEN TUSSCHER ET AL model [4]. It would allow us to gain more insight into the contraction phenomenon and the effect of failure at electrophysiological level on the contraction mechanism.

The TEN TUSSCHER ET AL model was developed by the research group of prof. DENNIS NOBLE, University of Oxford, who is known to be a pioneer in the area of elektrophysiological modelling of the heart. The reason why the TEN TUSSCHER ET AL model was selected for this research, is because it was developed to simulate human ventricular tissue. And in comparison with previous models, the TEN TUSSCHER ET AL model was simplified, to make a trade-off between realistic modelling and

M. Piron is a Master student at the Engineering Department, Ghent University (UGent), Gent, Belgium. E-mail: Michael.Piron@UGent.be .

computationally efficient modelling. This makes the model suitable for future use in multi-scale cardiac models.

#### C. Model coupling

Coupling the cross-bridge model and electrophysiological model together was done via the troponin buffer. This involved a modification in the model of TEN TUSSCHER ET AL. The simple intracellular calcium buffer description was split into a model of the calmodulin buffer and a model of the troponin buffer, because these are the most significant buffers in modelling the calcium dynamics with respect to cross-bridge cycling. A scheme of the complete model is given in figure 1.



Fig. 1. Scheme of the complete cardiac cell model. The troponin buffer TRPN is the link between the cross-bridge model and the electrophysiological model.

The model of TEN TUSSCHER ET AL calculates the total intracellular calcium concentration  $[\rm Ca]_{itotal}$ . In order to calculate the free intracellular calcium concentration  $[\rm Ca]_i$ , the number of  $\rm Ca^{2+}$  ions in the calmodulin (CMDN) and troponin (TRPN) buffer has to be calculated, because:

$$[Ca]_{itotal} = [Ca]_i + CMDN + TRPN$$
(1)

The cross-bridge model of LANDESBERG & SIDEMAN calculates the number of  $\mathrm{Ca}^{2+}$  ions bound to troponin, which is the content of the TRPN buffer of the model.

The calculated free intracellular calcium concentration  $[Ca]_i$  is then sent back to both the electrophysiological model and the cross-bridge model, to be able to solve the equations in the next iteration step.

#### **III. SIMULATIONS**

The first step in getting the model simulations working, was to select a suitable software package. The software should not only be able to solve our cell model, but it has to be able to implement the cell model in a finite-element problem, in order to allow the modelling of heart muscle tissue. At the moment of writing, two packages satisfy these criteria: *Continuity* (University of California) and *CMISS* (University of Auckland). The packages have many functionalities in common, because of their common roots. In this thesis, CMISS was selected, because it had a great advantage over Continuity: it supports the implementation of user defined models. These custom models are written in *CellML*, an XML-based document type which allows biological models to be read, stored and exchanged in digital format.

A CellML file of the electrophysiological model of TEN TUSSCHER was available from previous research [5]. After some modifications, this model implementation was ready for use. Concerning the cross-bridge model of LANDESBERG & SIDEMAN, no CellML implementation was performed in the past, so this model had to be built from nothing. Eventually, both models were coupled, as described in previous paragraph, and combined into one CellML file, ready for use in the CMISS simulation environment.

The last chapter of the thesis is a step forward towards the use of the cell model in a multi-scale simulation, where modelling at heart tissue level is performed. In this finite-element tissue model, the underlying cell model is used to calculate the active tension in the tissue. The coupling of the cell model with a finite-element mechanical model is described.

#### **IV. CONCLUSIONS**

In this thesis a complete model of cardiac muscle cells was developed, based on a literature study of existing models. This involved the coupling of a cross-bridge model with an electrophysiological model. Even though the model seems promising, the simulations reveal that there are inconsistencies in the behaviour of the simulated cell in comparison with real behaviour. A study of these inconsistencies shows that a sensitivity analysis of the parameterset is necessary, because a wrong parameter combination is likely to be the cause of the problem. However, such an analysis was not possible in the time scheme of this thesis. To conclude one can say that this thesis forms a fundamental base for further research on heart muscle modelling.

#### ACKNOWLEDGMENTS

I would like to thank my supervisors Patrick Segers, Stanislas Sys and Lieve Lanoye for giving me the necessary support during this research and for the advice during the numerous brainstorm sessions.

#### REFERENCES

- LANDESBERG, A., AND SIDEMAN, S. Mechanical regulation of cardiac muscle by coupling calcium kinetics with cross-bridge cycling: A dynamic model. Am. J. Physiol. 267 (1994), H779–H795.
- [2] LANDESBERG, A., AND SIDEMAN, S. Coupling calcium binding to troponin C and cross-bridge cycling in skinned cardiac cells. Am. J. Physiol. 266 (1994), H1260–H1271.
- [3] LANDESBERG, A. End-systolic pressure-volume relationship and intracellular control of contraction. Am J Physiol 270 (1996), H338–H349.
- [4] TEN TUSSCHER, K., NOBLE, D., NOBLE, P., AND PANFILOV, A. A model for human ventricular tissue. Am J Physiol Heart Circ Physiol 286 (2004), H1573–H1589.
- [5] NICKERSON, D., AND HUNTER, P. The noble cardiac ventricular electrophysiology models in CellML. Progress in Biophysics and Molecular Biology 90 (2006), 346–359.

# Inhoudsopgave

1	$\mathbf{Fys}$	iologie van de hartspier	1			
	1.1	Bouw	1			
		1.1.1 Spierweefsel	1			
		1.1.2 Spiervezel	2			
		1.1.3 Sarcoplasmatisch reticulum en de T-tubuli	4			
	1.2	Spiercontractie	6			
		1.2.1 De actiepotentiaal	6			
		1.2.2 Excitatie-contractie koppeling	10			
		1.2.3 Mechanisch aspect van de spiercontractie	11			
		1.2.4 Relaxatie	13			
	1.3	Contractiemodes	13			
	1.4	Het hart	15			
		1.4.1 Activaties equentie	16			
		1.4.2 Pompwerking van het hart	17			
	1.5	De papillairspier	19			
<b>2</b>	Bes	taande hartspiercelmodellen	20			
	2.1	Fenomenologische modellen	20			
	2.2	Mechanistische modellen	22			
		2.2.1 Cross-bridge theorie	22			
		2.2.2 Distribution-Moment model	26			
		2.2.3 Model van Landesberg & Sideman	31			
3	Constructie van een compleet hartspiercelmodel 38					
	3.1	Cross-bridge dynamica	39			
		3.1.1 Aannames	39			
		3.1.2 Mathematisch model	41			
	3.2	Calciumdynamica	46			
		3.2.1 Fenomenologisch model	46			
		3.2.2 ten Tusscher et al	47			
	3.3	Modelkoppeling	49			
	3.4	Modelparameters	52			
4	Sim	nulatiesoftware	55			
	4.1	Simulatiepakketten	55			
		4.1.1 Vereisten	55			
		4.1.2 Abaqus	55			
		4.1.3 Continuity	56			

		4.1.4	CMISS	57		
		4.1.5	Uiteindelijke keuze	59		
	4.2	CMISS	3	59		
		4.2.1	Installatie van CMISS	59		
		4.2.2	Structuur van een simulatie	60		
	4.3	CellMl	Δ	65		
		4.3.1	Componenten en eenheden	66		
		4.3.2	Groepering en encapsulation	67		
		4.3.3	CellML Specificatie	68		
5	Мо	doloim	ulatio	60		
9	5 1		limplementatio	60		
	0.1	5 1 1	ton Tussehor model	60		
		519	Landecharg & Sideman	09 71		
		5.1.2	Landesberg & Sideman	71		
	59	5.1.5 Simula	tiorosultaton on discussio	12		
	0.2	5 9 1	Jacometricaba contractio	73		
		5.2.1		73		
		5.2.2	Het affact van filamontgliiden	76		
		5.2.5 5.2.4	Het effect van het TEN TUSSCHER model	70		
		5.2.4 5.2.5	Conclusio	79		
		0.2.0		19		
6	Toe	komst		80		
	6.1	Model	geometrie	81		
	6.2	Proble	emdefinities	81		
	6.3	Koppe	ling van de problemen	82		
	6.4	Simula	tie	83		
7	Bes	luit		86		
٨	Sno	hoidan	rouloon bij isotono contractios	00		
A	Sile	meiusv	erioop bij isotone contracties	00		
в	Inst	allatie	van CMISS	91		
	B.1	Install	atie van Ubuntu Linux	91		
	B.2	Install	atie van back-end module cm	92		
	B.3	Install	atie van front-end module <b>cmgui</b>	92		
	B.4	Install	atie van hulpprogramma's sig2text en text2sig	93		
С	Mu	ti-scal	e modellering in CMISS	95		
D	Bes	tandsli	jst van de bijgevoegde CD-ROM	103		
Bi	bliog	rafie		104		
т						
Lijst van tabellen						

# Lijst van afkortingen en symbolen

De symbolen die opgenomen werden in deze lijst komen overeen met de definities van het model dat voor deze thesis gebruikt werd; met andere woorden het model van LANDESBERG & SIDE-MAN. Deze symbolen corresponderen dus niet noodzakelijk met definities uit andere modellen die vermeld werden in de literatuurstudie, maar uniformiteit werd zo veel mogelijk nagestreefd. Wat betreft de betekenis van de verschillende ionstromen en bijhorende parameters in het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL, wordt verwezen naar het desbetreffend artikel [32].

	Symbolen —
$[Ca]_{itotal}$	Totale intracellullaire calcium concentratie $[\mu M]$
$[Ca]_i$	Intracellullaire vrije calcium concentratie $~[\mu M]$
$[Ca]_{srbufsr}$	Gebufferde calcium concentratie in het sarcoplasmatisch reticulum $~[\mu M]$
$[Ca]_{srtotal}$	Totale calcium concentratie in het sarcoplasmatisch reticulum $~[\mu M]$
$[Ca]_{sr}$	Vrije calcium concentratie in het sarcoplasmatisch reticulum $~[\mu M]$
α	Overlap verhouding van een sarcomeer, dat de mate van filamentoverlap uitdrukt [–]
$\eta$	Visceuze coëfficiënt van een cross-bridge $[Nms/\mu m]$
$\eta_{PE}$	Visceuze coëfficiënt van de internal load van een spiervezel $[Nms/\mu m]$
$\overline{A}_i$	Toestandsvariabele die de dichtheid (concentratie per eenheidslengte) van troponine- eenheden voorstelt met Ca <sup>2+</sup> gebonden en horend bij een cross-bridge in zwakke conformatie. Het subscript <i>i</i> verwijst naar één van de drie mogelijke overlapgebie- den ( $i \in \{s, d, n\}$ ) [ $\mu M / \mu m$ ]
$\overline{F}$	Kracht die door één cross-bridge gegenereerd kan worden in isometrisch regime $\left[N\right]$
$\overline{R}_i$	Toestandsvariabele die de dichtheid (concentratie per eenheidslengte) van troponine- eenheden voorstelt die geen Ca <sup>2+</sup> gebonden hebben en die horen bij een cross-bridge in zwakke conformatie. Het subscript <i>i</i> verwijst naar één van de drie mogelijke over- lapgebieden ( $i \in \{s, d, n\}$ ) [ $\mu M/\mu m$ ]

- $\label{eq:transformation} \begin{array}{l} \overline{T}_i & \mbox{Toestandsvariabele die de dichtheid (concentratie per eenheidslengte) van troponine$  $eenheden voorstelt met Ca^{2+} gebonden en horend bij een cross-bridge in sterke con$ formatie. Het subscript i verwijst naar het single-overlap of double-overlap gebied $van een sarcomeer (i \in \{s, d\}) \quad [\mu M / \mu m] \end{array}$
- $\overline{U}_i$  Toestandsvariabele die de dichtheid (concentratie per eenheidslengte) van troponineeenheden voorstelt die geen Ca<sup>2+</sup> gebonden hebben en die horen bij een cross-bridge in sterke conformatie. Het subscript *i* verwijst naar het *single-overlap* of *doubleoverlap* gebied van een sarcomeer ( $i \in \{s, d\}$ ) [ $\mu M/\mu m$ ]
- $A_i$  Toestandsvariabele die de concentratie troponine-eenheden voorstelt met Ca<sup>2+</sup> gebonden en horend bij een cross-bridge in zwakke conformatie. Het subscript *i* verwijst naar één van de drie mogelijke overlapgebieden ( $i \in \{s, d, n\}$ ) [ $\mu M$ ]
- B Empirische constante in de beschrijving van de passieve contractie-eigenschap van een spiervezel  $[N/\mu m^2]$
- $BCa_H$  Totale concentratie Ca<sup>2+</sup>-ionen gebonden aan de *high-affinity* sites van troponine [ $\mu M$ ]
- $BCa_L$  Totale concentratie Ca<sup>2+</sup>-ionen gebonden aan de *low-affinity* sites van troponine [ $\mu M$ ]
- $Buf_{sr}$  Maximale calcium<br/>concentratie in de buffer van het sarcoplasmatisch reticulum<br/>  $[\mu M]$
- CMDN Totale calcium concentratie in de calmoduline buffer  $[\mu M]$

 $CMDN_{max}$  Maximale calcium concentratie in de calmoduline buffer  $[\mu M]$ 

- D Empirische constante in de beschrijving van de passieve contractie-eigenschap van een spiervezel [-]
- E Empirische constante in de beschrijving van de passieve contractie-eigenschap van een spiervezel  $[N/\mu m^2]$
- F Totaal ontwikkelde spierkracht  $[N/\mu m^2]$
- f Snelheids constante voor de cross-bridge overgang van zwakke naar sterke conformatie  $[ms^{-1}]$
- $F_{CE}$  Totale actieve contractiekracht ontwikkeld door een spiervezel  $[N/\mu m^2]$
- $F_{PE}$  Kracht in een spiervezel ten gevolge van de passieve eigenschappen van de vezel $[N/\mu m^2]$
- $F_{XB}$  Kracht ontwikkeld door één cross-bridge [N]
- g Snelheids constante voor het verbreken van cross-bridges, in de situatie waarbij Ca<sup>2+</sup> gebonden is aan troponine  $[ms^{-1}]$

$g^{\prime}$	Snelheids constante voor het verbreken van cross-bridges, in afwezigheid van Ca $^{2+}$ op troponine $\mbox{[}ms^{-1}\mbox{]}$
$g_0$	Snelheidsconstante voor het verbreken van cross-bridges in isometrisch regime, in de situatie waarbij Ca <sup>2+</sup> gebonden is aan troponine $[ms^{-1}]$
$g_0'$	Snelheids constante voor het verbreken van cross-bridges in isometrisch regime in afwezig heid van $\rm Ca^{2+}$ op troponine $[ms^{-1}]$
$g_1$	Mechanische feedbackcoëfficiënt, die beschrijft hoe de snelheid waarmee cross-bridges verbroken worden afhankelijk is van de verkortingssnelheid, in de situatie waarbij Ca <sup>2+</sup> gebonden is aan troponine [ $\mu m^{-1}$ ]
$g_1^{'}$	Mechanische feedbackcoëfficiënt, die beschrijft hoe de snelheid waarmee cross-bridges verbroken worden afhankelijk is van de verkortingssnelheid, in afwezigheid van Ca <sup>2+</sup> op troponine [ $\mu m^{-1}$ ]
K	Affinite it van low-affinity sites van troponine voor ${\rm Ca}^{2+}\text{-}{\rm ionen}~[\mu M^{-1}]$
$k_{-h}$	Snelheids constante voor losmaken van ${\rm Ca}^{2+}$ van high-affinity sites van troponine $[ms^{-1}]$
$k_{-l}$	Snelheids constante voor losmaken van $Ca^{2+}$ van low-affinity sites van troponine wanneer cross-bridges zich in zwakke conformatie bevinden $[ms^{-1}]$
$k_{-m}$	Snelheids constante voor losmaken van $Ca^{2+}$ van low-affinity sites van troponine wanneer cross-bridges zich in sterke conformatie bevinden $[ms^{-1}]$
$K_{0.5}$	Constante in de sigmoïdefunctie die de calcium affiniteit $K$ van troponine uitdrukt in functie van het aantal sterk gebonden cross-bridges $N_{XB}$ [ $\mu M$ ]
$K_0$	Affinite it van de low-affinity sites van troponine voor calcium in rust toestand $[\mu M^{-1}]$
$K_1$	Coëfficiënt die de invloed van het aantal sterke cross-bridges $N_{XB}$ op de calcium- affiniteit K van troponine beschrijft $[\mu M^{-1}]$
$K_{bufsr}$	Constante die de intracellullaire calcium concentratie voorstelt waarbij de buffer van het sarcoplas matisch reticulum voor de helft gevuld is $~[\mu M]$
$K_h$	Affinite it van high-affinity sites van troponine voor $\mathrm{Ca}^{2+}\text{-}\mathrm{ionen}~[\mu M^{-1}]$
$k_h$	Snelheids constante voor binding van ${\rm Ca}^{2+}$ aan high-affinity sites van troponin e $[\mu M^{-1}ms^{-1}]$
$K_l$	Affiniteit van low-affinity sites van troponine voor ${\rm Ca}^{2+}\text{-ionen}$ bij sterke crossbridges $[\mu M^{-1}]$
$k_l$	Snelheids constante voor binding van Ca <sup>2+</sup> aan low-affinity sites van troponine wanneer cross-bridges zich in zwakke conformatie bevinden $[\mu M^{-1}  m s^{-1}]$

$K_{mCMDN}$	Constante die de intracellullaire calcium concentratie voorstelt waarbij de calmoduline buffer voor de helft gevuld is $~[\mu M]$
$K_m$	Affiniteit van low-affinity sites van troponine voor ${\rm Ca}^{2+}\text{-ionen}$ bij zwakke crossbridges $[\mu M^{-1}]$
$k_m$	Snelheids constante voor binding van Ca <sup>2+</sup> aan low-affinity sites van troponine wanneer cross-bridges zich in sterke conformatie bevinden $[\mu M^{-1}  m s^{-1}]$
$L_b$	Lengte van de kale zone in het midden van een my osinefilament waar zich geen my osinearmpjes met kopjes bevinden $~[\mu m]$
$L_d$	Lengte van het sarcomeergebied waar de dunne actinefilamenten en dikke my osinefilamenten dubbel overlappen (double-overlap gebied) $~[\mu m]$
$L_m$	Lengte van het deel van een my osinefilament waar zich my osinearmpjes bevinden $[\mu m]$
$L_n$	Lengte van het sarcomeergebied waar de dunne actinefilamenten en dikke my osinefilamenten niet overlappen (non-overlap gebied) $~[\mu m]$
$L_s$	Lengte van het sarcomeergebied waar de dunne actinefilamenten en dikke my osinefilamenten enkel overlappen (single-overlap gebied) $[\mu m]$
$L_z$	Lengte van het deel van een sarcomeer dat ingenomen wordt door de Z-schijven $[\mu m]$
$L_m^{\prime}$	Lengte van een dik my osinefilament $~[\mu m]$
n	Machtcoëfficiënt in de sigmoïdefunctie die de calcium affiniteit $K$ van troponine uitdrukt in functie van het aantal sterk gebonden cross-bridges $N_{XB}$ [-]
$N_A$	Het getal van Avogadro, dat het aantal eenheden in 1 mol van een substantie uitdrukt: $N_A = 1,02310^{23}mol^{-1}$ [mol <sup>-1</sup> ]
$N_C$	Constante die een maat is voor het aantal regulerende eenheden (zoals gedefini- eerd in aanname 1 van het model) per sarcomeer en het aantal sarcomeren per eenheidsdoorsnede van de beschouwde spiervezel [-]
$N_{XB}$	Aantal cross-bridges dat zich in de sterke conformatie bevindt $\ [mol/\mu m^2]$
$R_i$	Toestandsvariabele die de concentratie troponine-eenheden voorstelt die geen Ca <sup>2+</sup> gebonden hebben en die horen bij een cross-bridge in zwakke conformatie. Het subscript <i>i</i> verwijst naar één van de drie mogelijke overlapgebieden ( $i \in \{s, d, n\}$ ) $[\mu M]$
SL	Sarcomeerlengte $[\mu m]$
$Sp_0$	Lengte van een ontspannen sarcomeer $[\mu m]$

$T_i$	To estandsvariabele die de concentratie troponine-eenheden voorstelt met $Ca^{2+}$ ge-	
	bonden en horend bij een cross-bridge in sterke conformatie. Het subscript $i$ ver-	
	wijst naar het single-overlap of double-overlap gebied van een sarcomeer $(i \in \{s, d\})$	
	$[\mu M]$	
TRo	Totale concentratie van de troponine complexen in de beschouwde cel $~[\mu M]$	
TRPN	Totale concentratie $Ca^{2+}$ -ionen gebonden aan de bindingssites (zowel <i>low-affinity</i>	
	als <i>high-affinity</i> sites) van troponine $[\mu M]$	
$U_i$	Toestandsvariabele die de concentratie troponine-eenheden voorstelt die geen $\operatorname{Ca}^{2+}$	
	gebonden hebben en die horen bij een cross-bridge in sterke conformatie. Het sub-	
	script $i$ verwijst naar het single-overlap of double-overlap gebied van een sarcomeer	
	$(i \in \{s,d\})  [\mu M]$	
V	Verkortingssnelheid (Teken conventie: $V>0$ bij contractie) $~[\mu m/ms]$	
$V_u$	Maximale verkortingssnelheid van een cross-bridge eenheid $~[\mu m/ms]$	
Afkortingen		
FLR	Force-length relation	
FVR	Force-velocity relation	

### Hoofdstuk 1

# Fysiologie van de hartspier

Het eerste hoofdstuk legt in eerste instantie uit hoe een spier en in het bijzonder een hartspier opgebouwd is, tot op microscopisch niveau. Vanuit de kennis van de microscopische structuur van spierweefsel beschouwen we dan de spiercontractie, waarbij de nadruk ligt op het mechanisch aspect. Tenslotte wordt kort de werking van het hart verduidelijkt, waarbij de papillairspieren benadrukt worden wegens hun rol in dit onderzoek.

#### 1.1 Bouw

#### 1.1.1 Spierweefsel

Zoals te zien is in figuur 1.1 heeft spierweefsel als basiseenheid de spiercel, ook wel spiervezel of *myociet* genoemd. Deze cellen zijn door hun hoge contractiliteit specifiek voor beweging uitgerust. Spierweefsel is echter niet puur samengesteld uit spiercellen, maar bevat ook een grote hoeveelheid bindweefsel. Dit bindweefsel zorgt voor het samenhouden van de spier.



Figuur 1.1: Ontleding van een algemene skeletspier, met aanduiding van de verschillende scheden [3]

Zo vormt het bindweefsel zogenaamde spiervezelscheden (*endomysia*) die het sarcolemma van de spiervezels omgeven en die lymfevaten, bloedvaten en zenuwvezels bevatten. Een reeks spiervezels vormt een spierbundel, die omgeven wordt door een bundelschede (*perimysium*). Een reeks spierbundels vormt dan uiteindelijk de spier, omgeven door de spierschede (*epimysium*). Al deze bindweefselscheden zorgen dat de kracht gegenereerd door elk spiervezeltje overgedragen wordt op het been of orgaangedeelte dat moet bewegen of vervormen.

Morfologisch gezien onderscheidt men drie soorten spierweefsel:

- Glad spierweefsel
- Skeletspierweefsel
- Hartspierweefsel

De laatste twee types hebben beide een dwarsgestreept uiterlijk, maar omwille van de verschillen tussen beide soorten, is de naam 'dwarsgestreepte spier' voorbehouden voor skeletspieren [39].

#### 1.1.2 Spiervezel

Zoals reeds gezegd zorgen de spiervezels voor de contractie. Een hartspiervezel is typisch 50 tot  $100 \,\mu m$  lang en 10 tot  $20 \,\mu m$  breed. Een spiervezel is in feite een bundel van parallelle *myofibrillen*, omgeven door een vrij dun plasmamembraan, het *sarcolemma*. Dit membraan maakt een spiervezel tot echte cel, vandaar dat we de benamingen spiervezel en spiercel door elkaar kunnen gebruiken.

Tussen de myofibrillen vindt men celorganellen, waaronder glycogeenkorrels, die opslagtanks voor energie zijn, en mitochondriën (in de spiercel spreekt men over *sarcosomen*), die glycogeen kunnen omzetten in suikers voor contractie.

De myofibrillen zijn de functionele eenheden voor contractie. Deze zijn relatief goed zichtbaar in de spiervezel en zorgen zo voor een lengtestreping. De fibrillen zelf zijn echter dwarsgestreept, wat te maken heeft met hun submicroscopische structuur.

De myofibrillen zijn samengesteld uit twee soorten filamenten:

- Dunne filamenten of actinefilamenten
- Dikke filamenten of myosinefilamenten

Deze filamenten lopen parallel met elkaar in de lengterichting van de spiervezel en vertonen een zekere graad van overlapping. Bij de contractie van het spiervezeltje schuiven de dunne en dikke filamenten tussen elkaar.



Figuur 1.2: Een spiervezel of myociet ontleed. a) Onderdelen van een myociet. b) Myofibril, de functionele eenheid voor contractie. c) Sarcomeer, repeterende eenheid in de myofibril. [3]

In de myofibril kunnen we verschillende zones of banden onderscheiden, te zien in figuur 1.2. De A-band (Anisotrope) is het bereik waarover de dikke filamenten zich uitstrekken. Daarbinnen is de H-zone het deel van de dikke filamenten dat niet overlapt met dunne filamenten. Dan is er ook nog de I-band (Isotrope), zijnde de zone waar zich geen dikke filamenten bevinden. In het midden van de I-band zit de Z-schijf. De afwisseling van smalle, lichtere I-banden met bredere, donkerder A-banden geeft een dwarsgestreept uitzicht aan de spier. Het deel tussen twee aangrenzende Z-schijven noemt men *sarcomeer*; dit is een repeterende eenheid van een myofibril.

Bovenstaande bespreking is geldig voor (dwarsgestreepte) skeletspieren. Hartspierweefsel heeft in grote mate dezelfde bouw, maar er zijn verschillen. Hartspiervezels zijn net als skeletspiervezels lang uitgerekte cilindrische cellen, maar bevatten slechts één of hoogstens twee kernen, die zich centraal in de vezel bevinden. Bovendien zijn deze aan de **uiteinden longitudinaal gesplitst** in meerdere uiteinden, waarmee ze verbinding maken met omliggende vezels. Op die manier bekomt men een driedimensionaal netwerk van vezels (figuur 1.3).

Het contactpunt tussen twee hartspiervezels wordt gevormd door de zogenaamde *intercalaire schijven*. Deze zorgen enerzijds voor een verankeringspunt voor de myofibrillen en een sterke binding tussen aangrenzende spiervezels. Daarnaast vormen de membranen van aanliggende



Figuur 1.3: Opbouw van hartspierweefsel. [39]

spiervezels zogenaamde lageweerstands-juncties rond de schijven, waarlangs de contractiele stimuli zich snel kunnen verspreiden. Aangrenzende spiervezels contraheren dus quasi simultaan en men zegt dan dat de hartspier kan werken alsof het een *syncytium* is [10; 39].

Tussen de hartspiervezels bevindt zich eveneens bindweefsel, analoog aan spiervezelscheden van skeletspieren. Dit bevat een groot capillair netwerk dat de hoge metabolische vereisten voor continue activiteit van de hartspiervezels weerspiegelt. Hartspiercellen contraheren immers continu, in tegenstelling tot skeletspiercellen. Deze continue activiteit wordt verder besproken in de paragraaf over de actiepotentiaal (paragraaf 1.2.1).

De contractiele proteïnen of filamenten van hartspiervezels zijn gelijkaardig aan de beschreven filamenten van skeletspieren, wat deze dus ook een dwarsgestreept uitzicht geeft. Dit is echter moeilijker te visualiseren wegens het longitudinaal opsplitsen van de hartspiervezels.

#### 1.1.3 Sarcoplasmatisch reticulum en de T-tubuli

Binnen de spiervezel bevindt zich nog een belangrijk systeem, dat de contractie van de myofibrillen activeert wanneer de spiercel geactiveerd wordt via zenuwen. Concreet gaat het over het sarcoplasmatisch reticulum, zijnde het spierequivalent van het endoplasmatisch reticulum, en de T-tubuli.

De myofibrillen zijn omgeven door een netwerk van kanaaltjes dat de naam sarcoplasmatisch reticulum (SR) draagt. Dit apparaat regelt de opslag en vrijgave van  $Ca^{2+}$ -ionen, die een belangrijke rol spelen in de spiercontractie. Het sarcoplasmatisch reticulum is geen uniforme structuur, maar verbreedt aan het midden van een sarcomeer in een soort geperforeerde band (Eng. fenestrated collar, FC). Ook aan de uiteinden verbreedt het sarcoplasmatisch reticulum



**Figuur 1.4:** Myofibrillen omgeven door een netwerk gevormd door het sarcoplasmatisch reticulum en de T-tubuli. FC = fenestrated collar. TC = terminal cisternae. T = T-tubuli. [26]

in structuren met de benaming *terminale cisternae* (TC). Dit alles is te zien in figuur 1.4. Het sarcoplasmatisch reticulum is een opslagtank voor calcium, waarbij vooral de uiteinden of cisternae rijk zijn aan calcium.

Direct onder het sarcoplasmatisch reticulum ligt een reeks granules, die glycogeen bevatten, alsook veel van de enzymen die nodig zijn om glycogeen in ATP om te zetten. Er ligt dus een energiebron dicht bij het sarcoplasmatisch reticulum, wat in overeenstemming is met het feit dat het sarcoplasmatisch reticulum één van de grootste energieverbruikers is van het sarcomeer.

De *T-tubuli* of *transverse tubuli* vormen een complex netwerk van kanaaltjes die dwars op de vezelrichting lopen. Het zijn in feite invaginaties van het sarcolemma, waardoor ze dus gevuld zijn met extracellulair vocht. Vermits spieractivatie volgt uit een wijziging van het potentiaalverschil over het celmembraan (de actiepotentiaal, zie paragraaf 1.2.1), zorgen de T-tubuli er dus voor dat dit signaal tot in de vezel zelf doordringt. De T-tubuli communiceren met de terminal cisternae van het sarcoplasmatisch reticulum via voetvormige structuren, die ook wel *Clara's feet* worden genoemd, naar de ontdekker ervan. Het actiesignaal wordt op die manier overgedragen op het sarcoplasmatisch reticulum [26].

De verdere werking van het activatiesysteem komt aan bod in de paragraaf over contractie (paragraaf 1.2).

Het principe van sarcoplasmatisch reticulum en T-tubuli is gelijkaardig bij skeletspiercellen en hartspiercellen. Qua bouw valt op te merken dat de T-tubuli in hartspiercellen eerder gelokali-

seerd zijn ter hoogte van de Z-lijn dan aan de overgang tussen A- en I-band, in tegenstelling tot skeletspiercellen.

Met deze bespreking van de spieropbouw en en de componenten van het activatiesysteem, is de nodige basis gelegd om het mechanisme van spiercontractie te bekijken.

#### 1.2 Spiercontractie

Het is belangrijk om een onderscheid te maken tussen de elektrische en mechanische effecten die optreden in spieren bij contractie. De volgende indeling in paragrafen maakt dit onderscheid en beschrijft tevens de link tussen de effecten.

#### 1.2.1 De actiepotentiaal

Een niet-geprikkelde spiervezel heeft net zoals een niet-prikkelbare cel een bepaalde *rustpotentiaal.* Dit is een negatief potentiaalverschil van 50 à  $100 \, mV$  dat bestaat over het celmembraan (de cel heeft een lagere potentiaal dan de buitenwereld). Deze rustpotentiaal is het gevolg van drie factoren:

- de verschillende samenstelling van de intra- en extracellulaire vloeistof
- de grotere permeabiliteit van het celmembraan voor K<sup>+</sup>-ionen dan voor Na<sup>+</sup>-ionen
- de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pomp

De eerste twee factoren maken dat een cel waarover initieel geen potentiaalverschil is, progressief negatief geladen wordt. Zo stelt men vast dat intracellulaire vloeistof veel meer  $K^+$ -ionen bevat dan Na<sup>+</sup>-ionen, terwijl dit bij de extracellulaire vloeistof net omgekeerd is. Dit zorgt voor een concentratiegradiënt over het celmembraan, die samen met het verschil in membraanpermeabiliteit voor verschillende ionen voor een progressief negatief geladen cel zorgt.

Naarmate het potentiaalverschil negatiever wordt, neemt de K<sup>+</sup>-uitstroom af en de Na<sup>+</sup>-instroom toe, totdat deze ionstromen zich stabiliseren en de rustpotentiaal dus gevormd is. Hoewel er elektrisch evenwicht is over het celmembraan, is er nog geen chemisch evenwicht. Daar komt dan de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pomp ter sprake, die een actief transportmechanisme in het celmembraan is, dat Na<sup>+</sup>-ionen naar buiten en K<sup>+</sup>-ionen naar binnen pompt, zodat ook chemisch evenwicht bereikt wordt.

Bij elektrische prikkeling van de cel door een zenuw ontstaat een *actiepotentiaal*, die bestaat uit een *depolarisatie* (de membraanpotentiaal neemt eerst toe en wordt daarna zelfs positief), gevolgd door een *repolarisatie* (waarbij de rustpotentiaal hersteld wordt). Bekijken we dit even meer in detail:

De prikkel veroorzaakt een hogere Na<sup>+</sup>-permeabiliteit van het membraan, waardoor Na<sup>+</sup>-ionen naar binnen stromen (door de concentratiegradiënt en elektrische ladingsgradiënt). Die Na<sup>+</sup>kanalen openen zich niet tegelijk, maar sequentieel, zodat de Na<sup>+</sup>-stroom progressief toeneemt. Door die inwaartse Na<sup>+</sup>-stroom neemt de membraanpotentiaal toe. Wanneer deze een bepaalde waarde bereikt, de zogenaamde *drempelpotentiaal*, neemt de inwaartse Na<sup>+</sup>-stroom plots massaal toe. De depolarisatiesnelheid neemt dus plots zeer sterk toe en verspreidt zich over het ganse membraan.

Op het einde van de depolarisatie bedraagt de membraanpotentiaal ongeveer  $40 \, mV$  (de *om-keerpotentiaal*), waarbij de Na<sup>+</sup>-kanalen zich progressief sluiten en de normale waarde voor Na<sup>+</sup>-permeabiliteit opnieuw bereikt wordt.

Na het bereiken van de omkeerpotentiaal start de repolarisatie, waarbij de  $K^+$ -permeabiliteit ongeveer honderd keer toeneemt.  $K^+$ -ionen stromen uit de cel wegens de hogere inwendige concentratie en de positieve lading van de cel ten opzichte van haar omgeving. Door die ionstroom neemt de membraanpotentiaal af, tot deze opnieuw de rustpotentiaal bereikt.

Na de actiepotentiaal zal de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pomp de nodige K<sup>+</sup>-ionen naar binnen en Na<sup>+</sup>-ionen naar buiten pompen, zodat de oorspronkelijke toestand volledig bereikt wordt [34].

Op het vlak van actiepotentialen verschillen hartspiercellen op significante punten van zenuw- en skeletspiercellen. Dit is zeer belangrijk bij het modelleren van de contractie van hartspiercellen. Bij zenuw- en skeletspiercellen gebeuren repolarisatie- en depolarisatiefase zeer snel. De hele actiepotentiaal neemt slechts enkele milliseconden in beslag. Bij hartspiercellen zijn de actiepotentialen echter complexer en de repolarisatiefase duurt over het algemeen langer. Een typische ventriculaire actiepotentiaal duurt 100 à 200 ms. Bovendien moeten we nog een onderscheid maken tussen actiepotentialen in verschillende regio's van het hart.



Figuur 1.5: Voorstelling van een typische ventriculaire actiepotentiaal. De vijf fasen van de actiepotentiaal zijn aangegeven. [31]

Een typische ventriculaire actiepotentiaal staat weergegeven in figuur 1.5. Zoals deze figuur toont, valt deze actiepotentiaal te verdelen in fasen.

**Fase 0** is de snelle opwaartse sprong van de actiepotentiaal (AP). Deze fase is analoog aan de opwaartse sprong van de actiepotentiaal bij zenuw- en skeletspiercellen en is dus eveneens hoofdzakelijk gestuurd door de stroom van Na<sup>+</sup>-ionen. Bovenstaande beschrijving van de Na<sup>+</sup>-kanalen bij depolarisatie is dus nog steeds geldig. De sprong is snel wegens de zeer snelle activatie en inactivatie van Na<sup>+</sup>-stromen in vergelijking met andere stromen.

In **fase 1** treedt een eerste kleine repolarisatie op. Het is een transiënte en korte fase. Zo wordt de fase 1 repolarisatie hoofdzakelijk bepaald door een transiënte uitwaartse  $K^+$ -stroom. Er is een grote variabiliteit in de lengte van fase 1 naargelang de beschouwde diersoort en de plaats van de beschouwde hartspiercel in het hart.

**Fase 2** is de zogenaamde *plateaufase*, waarbij de membraanpotentiaal quasi constant blijft. Het is deze fase die zorgt voor een lange duur van de actiepotentiaal in hartspiercellen en is meteen ook het grootste verschil in actiepotentiaal tussen hartspiercellen enerzijds en zenuw- en skeletspiercellen anderzijds. Dankzij een evenwicht tussen in- en uitwaartse ionstromen komt de plateaufase tot stand. De inwaartse stroom komt hoofdzakelijk tot stand door  $Ca^{2+}$ -ionen en in kleine mate door Na<sup>+</sup>-ionen (Deze laatste stroom is voor een groot deel reeds inactief na enkele ms). De uitwaartse stroom wordt gevormd door K<sup>+</sup>-ionen. De inwaartse  $Ca^{2+}$ -stroom bereikt reeds na enkele milliseconden een piek, maar heeft enkele honderden milliseconden nodig om inactief te worden; vandaar de lange plateaufase.

**Fase 3** is de late repolarisatiefase en komt ruwweg gezien overeen met de repolarisatie die waargenomen wordt bij zenuw- en skeletspiercellen. Deze fase wordt veroorzaakt door een onevenwicht tussen de stromen die in de plateaufase in evenwicht waren. Zo zal de uitwaartse K<sup>+</sup>-stroom de Ca<sup>2+</sup>-stroom uiteindelijk overheersen, waardoor een repolarisatie optreedt.

In **fase 4** treedt de *rustpotentiaal* op, welke gedefinieerd is als de stabiele, negatieve potentiaal die optreedt tussen actiepotentialen in niet-spontane cellen (cellen waarin zich niet spontaan een actiepotentiaal vormt).

Sommige hartspiercellen zijn in staat om spontaan actiepotentialen af te vuren. Dit verschijnsel noemt men **automaticiteit**. Automatische cellen hebben geen stabiele rustpotentiaal tussen actiepotentialen, maar genereren een trage spontane depolarisatie die men fase 4 depolarisatie of *pacemaker potentiaal* noemt. Aangezien er geen rustpotentiaal kan gedefinieerd worden, neemt men de meest negatieve potentiaal, de *maximum diastolische potentiaal*.



Figuur 1.6: Voorstelling van een typische sinoatriale knoop actiepotentiaal. Merk de pacemaker potentiaal op. Verder is ook de membraanpotentiaal over het algemeen minder negatief in vergelijking met de ventriculaire actiepotentiaal van figuur 1.5. [31]

Figuur 1.6 toont het verloop van de actiepotentiaal van de *sinoatriale knoop*, waarin duidelijk de pacemaker potentiaal te zien is. De spontane depolarisatie zorgt ervoor dat de membraanpotentiaal de drempel bereikt om de kanalen te openen die verantwoordelijk zijn voor het genereren van de actiepotentiaal. De helling van de pacemaker potentiaal bepaalt de snelheid waarmee actiepotentialen afgevuurd worden.

De kracht van contractie en de hartslag worden geregeld door de sympathische en parasympathische zenuwen. Zo stimuleren de sympathische zenuwen de  $Ca^{2+}$ -stroom, met een hogere contractiekracht tot gevolg. Deze zenuwen verhogen ook de helling van de pacemaker potentiaal, en zo dus het ritme waarmee de actiepotentialen optreden, met als gevolg dat de hartslag verhoogt. Parasympathische zenuwen hebben een omgekeerd effect. Effecten van neurotransmitters op de cardiologische ionstromen zijn dus cruciaal in het moduleren van de hartwerking. [31]

In deze paragraaf is geschetst hoe een actiepotentiaal tot stand komt. Volgende paragraaf beschrijft hoe actiepotentialen de vrijgave van  $Ca^{2+}$ -ionen door het sarcoplasmatisch reticulum tot gevolg hebben.

#### 1.2.2 Excitatie-contractie koppeling

De excitatie-contractie koppeling of elektro-mechanische koppeling is het mechanisme dat de link vormt tussen actiepotentialen en uiteindelijke contractie van de myocyten. In die koppeling speelt  $Ca^{2+}$  een centrale rol.

Het is typisch voor hartspieren dat excitatie-contractie koppeling afhankelijk is van extracellulaire  $Ca^{2+}$ . Figuur 1.7 rechts toont de situatie voor een hartspiercel. Hierbij zijn de dihydropyridine receptoren (DHPR)  $Ca^{2+}$ -kanalen die gelegen zijn in het oppervlaktemembraan en de T-tubuli van de beschouwde cel. Deze zogenaamde L-type kanalen regelen de  $Ca^{2+}$ -influx tijdens een actiepotentiaal.

In vorige paragraaf staat vermeld dat er tijdens de plateaufase van de actiepotentiaal een



Figuur 1.7: Verschillende modellen van excitatie-contractie koppeling. Links: Mechanisch koppelingsmodel voor skeletspieren. Rechts: calcium-induced Ca<sup>2+</sup> release (CICR) model voor hartspieren. [31]

inwaartse stroom van Ca<sup>2+</sup>-ionen in de cel is. Dit heeft verschillende gevolgen:

- De myocyten in de beschouwde spiervezel worden rechtstreeks geactiveerd door die Ca<sup>2+</sup>influx, dit tot op zekere hoogte. Ca<sup>2+</sup>-ionen activeren immers de contractie van de myocyten, zoals zal blijken uit volgende paragraaf.
- Daarnaast zorgt die inwaartse Ca<sup>2+</sup>-stroom voor Ca<sup>2+</sup> vrijgave uit het sarcoplasmatisch reticulum (interne opslagplaats van de cel). Die vrijgave van ionen uit het sarcoplasmatisch reticulum is de grootste bron van Ca<sup>2+</sup>-ionen die contractie veroorzaken.
- Tenslotte vult die inwaartse stroom de interne opslagplaatsen van Ca<sup>2+</sup> aan (zijnde het sarcoplasmatisch reticulum) voor een volgende contractie.

Het tweede genoemde gevolg is het grootste effect dat optreedt. De toename van  $[Ca^{2+}]_i$  (intracellulaire Ca<sup>2+</sup>-concentratie) ten gevolge van die influx opent het kanaal van het sarcoplasmatisch reticulum voor massale vrijgave van Ca<sup>2+</sup>. Dit proces heet *calcium-geïnduceerde* Ca<sup>2+</sup> *vrijgave* (calcium-induced Ca<sup>2+</sup> release, CICR).

Voor de volledigheid vermelden we dat er bij skeletspieren een ander mechanisme van excitatiecontractie koppeling optreedt. Hierbij opent het kanaal van het sarcoplasmatisch reticulum voor  $Ca^{2+}$ -vrijgave zich via directe fysische interactie met een potentiaalgevoelige molecule in de T-tubule. Dit is te zien in figuur 1.7 links. [31]

Het tweede deel van de excitatie-contractie koppeling, zijnde de activatie van de contractie van myocyten door aanwezigheid van intracellullaire Ca<sup>2+</sup>-ionen, wordt in volgende paragraaf beschreven.

#### 1.2.3 Mechanisch aspect van de spiercontractie

In paragraaf 1.1.2 werd de contractie van een spiervezel gezien als het tussen elkaar schuiven van de dunne en dikke filamenten waaruit de myofibrillen zijn opgebouwd. Uiteraard is dit een simplistische voorstelling en is contractie meer dan het over elkaar schuiven van filamenten.

Het in elkaar glijden van de filamenten gebeurt doordat kleine armpjes op de myosinefilamenten (dikke filamenten) de actinefilamenten (dunne filamenten) vastgrijpen en deze naar het midden van het sarcomeer toe trekken. Dit is de basis van de zogenaamde *cross-bridge* theorie.

Om dit verschijnsel te begrijpen, bekijken we de moleculaire samenstelling van de filamenten iets meer in detail. De myosinemoleculen - waaruit een **myosinefilament** is opgebouwd - bestaan uit twee kopjes en een staart (figuur 1.8). De moleculen assembleren zich tot een myosinefilament door staart aan staart te gaan liggen, zodat de koppen aan weerszijden uitsteken. Door deze opbouw zijn de koppen in de linker- en rechterhelft van een sarcomeer tegengesteld georiënteerd.



Figuur 1.8: Myosinemolecule waaruit een myosinefilament is opgebouwd [3]

Het **actinefilament** bestaat uit een dubbele helixvormige streng van actinemonomeren. In de groeven van deze helix zit *tropomyosine* (Tm) met daarop *troponinecomplexen* (Tn), zijnde een groepering van 3 proteïnen TnC, TnI en TnT. Figuur 1.9 toont een schematische voorstelling van het actinefilament.



Figuur 1.9: Dun filament of actinefilament [3]

De dubbele helix van het actinefilament heeft op bepaalde plaatsen bindingssites waar de myosinekopjes kunnen aanhechten. In rusttoestand (niet-geëxciteerde toestand) worden deze sites echter geblokkeerd door de Tm-Tn complexen. Zo bevindt er zich ter hoogte van elke bindingssite steeds een Tn-molecule, die zorgt voor een binding tussen de dubbele actinehelix enerzijds en de Tm (tropomyosine) anderzijds. Elk van de drie subunits van Tn heeft een specifieke functie hierin. TnT zorgt voor de binding tussen Tn en de Tm-streng en is dus de basis voor het Tm-Tn complex. TnI bindt met de actinestreng om het Tm-Tn complex ter plaatse te houden. Het derde proteïne, TnC, speelt een cruciale rol bij het activeren van de contractie.

Troponine C is een proteïne waaraan  $Ca^{2+}$ -ionen kunnen binden. Het gevolg van deze binding is een conformationele verandering van de Tn-molecule, waardoor deze beweegt. We zien dat door die binding van  $Ca^{2+}$ -ionen het Tm-Tn complex zich verplaatst en zo de bindingssite van de actinestreng vrijmaakt. Hier is de essentiële link gelegd tussen de  $Ca^{2+}$ -concentratie in het sarcoplasma en het contraheren van de spiercel. [10; 34].

Laat ons nu uitgaan van een geactiveerd sarcomeer, wat betekent dat ter hoogte van dit sarcomeer de intracellulaire  $Ca^{2+}$ -concentratie  $[Ca^{2+}]_i$  hoog genoeg is opdat de bindingssites van de actinefilamenten beschikbaar zouden zijn voor aanhechting.



Figuur 1.10: Cross-bridge cyclus [31]

In afwezigheid van ATP binden myosine en actine zeer sterk. Actine en myosine vormen dan een *rigor complex* (stijve verbinding). Deze situatie is voorgesteld in stap 3 van figuur 1.10. Door ATP toe te voegen, wordt dit complex verbroken aangezien de ATP-M verbinding (ATPmyosine) een grotere affiniteit heeft dan de A-M verbinding (actine-myosine). Dit is stap 4. De kopjes van de myosinemolecules zijn voorzien van ATPase, een enzym dat ATP kan hydrolyseren. Bij toevoeging van ATP aan het complex treedt dus hydrolyse op ter hoogte van het myosinekopje. Die reactie zet ATP om in ADP en  $P_i$  (inorganisch fosfaat), met vrijgave van energie. Een eerste gevolg van de hydrolyse is het wijzigen van de oriëntatie van het myosinekopje, te zien in stap 1 van figuur 1.10. Het kopje komt in een hoge-energie configuratie.

Verder wijzigen ook de bindingskarakteristieken van het M-ADP- $P_i$  complex, zodat een sterke binding met actine ontstaat. De cross-bridge is terug gevormd (stap 2). De biochemische cyclus is compleet na het dissociëren van ADP en  $P_i$  van myosine. Het myosinekopje gaat over naar een lage-energie configuratie door te kantelen, waardoor het aangehechte actinefilament naar het midden van het sarcomeer getrokken wordt.

Per crossbridge cyclus wordt één ATP molecule gehydroliseerd.

Eén cyclus van aanhechten en verbreken van cross-bridges volstaat niet om de gemiddelde spierverkortingen te realiseren. Zo kan een dwarsgestreepte spier kracht ontwikkelen en verkorten in een bereik van 50 tot 150 % van zijn rustlengte. Rekening houdend met een sarcomeerlengte van  $2, 2 \mu m$ , is dit een bereik van 1, 1 to 3,  $3 \mu m$ . Vermits de dunne filamenten langs weerszijden van het sarcomeer elk bijdragen tot de helft van de totale verkorting, moeten de dunne filamenten zich dus over  $1, 1 \mu m$  verplaatsen relatief ten opzichte van de dikke filamenten. Wetende dat de afstand tussen twee opeenvolgende cross-bridges  $0,014 \mu m$  bedraagt en een myosinemolecule slechts  $0,150 \mu m$  lang is, moeten er dus **meerdere cycli** optreden tussen de filamenten om de waargenomen contractie te kunnen verklaren. [31]

Bovenstaande beschrijving van het cyclisch verbinden en verbreken van cross-bridges om zo tot krachtontwikkeling en contractie te komen, valt onder de noemer van de zogenaamde *cross-bridge theorie*.

#### 1.2.4 Relaxatie

Niet enkel spiercontractie maar ook spierrelaxatie vraagt energie. Vorige paragraaf beschreef op welk moment er ATP nodig is om contractie mogelijk te maken. ATP is ook nodig om de spier te laten relaxeren.

Kort na het vrijgeven van  $Ca^{2+}$  begint het sarcoplasmatisch reticulum met de heropname van  $Ca^{2+}$ -ionen, door middel van een actief pompsysteem, waarbij de  $Ca^{2+}$ -ionen opnieuw opgeslagen worden in de terminale cisternae van het sarcoplasmatisch reticulum. Voor deze pompwerking is ATP vereist. Indien deze pomp niet zou werken en  $Ca^{2+}$  dus niet meer terug opgenomen zou worden door het sarcoplasmatisch reticulum, zou de spier blijven contraheren, ook al zijn er geen actiepotentialen meer. [10]

#### **1.3** Contractiemodes

Wat wij in experimenten kunnen opmeten, is de mechanische output van een spier. Zo kunnen wij opmeten welke kracht een spier(vezel) kan genereren, welke verkorting hiermee gepaard gaat en met welke snelheid dit gebeurt. Dit zijn gegevens die een mechanisch spiermodel ook zou moeten kunnen genereren.



Figuur 1.11: Isometrische contractiemode [3]

Men kan verschillende modes van contractie onderscheiden. De eenvoudigste mode is de **isometrische contractie** (figuur 1.11). Hierbij worden de uiteinden van de spier vastgehecht, zodat deze niet kan verkorten bij stimulatie. Er wordt dan wel kracht ontwikkeld, maar er is geen uitwendige verplaatsing. De spier levert zogenaamde *inwendige arbeid*.

Een korte schok laat de spier contraheren en meteen weer relaxeren. Dit is een zogenaamde *twitch*. Een pulstrein van schokken met voldoend hoge frequentie resulteert in een constante spierspanning, de zogenaamde *tetanus*.

Isometrische contracties zijn nuttig om de maximum kracht op te meten die de spier kan genereren, en om het op- en neergaan van de activatie te bestuderen.



Figuur 1.12: Isotonische contractiemode [3]

Een andere contractiemode is de **isotonische contractie**, waarbij de twee spieruiteinden naar elkaar toe kunnen bewegen bij contractie (concentrische contractie) en de spier daarbij een constante belasting ondervindt. Dit is schematisch weergegeven in figuur 1.12. In de grafiek rechts in de figuur is te zien hoe de spanning zich opbouwt bij het begin van de tetanus. Eens de spanning van 3kg bereikt is, kan de spier de aangebrachte last opheffen en dus verkorten. Een isotonische tetanus is zeer nuttig om contractiele dynamica waar te nemen. [26; 34]

De contracties die in vivo optreden, zijn spierverkortingen met variabele belasting. Dit zijn de zogenaamde *auxotone contracties*.

#### 1.4 Het hart

Na bovenstaande bespreking van de bouw en werking van hartspierweefsel, is het interessant om het hart als orgaan even te bekijken. Dit om een globaal kader te vormen.

Het hart heeft een pompfunctie in het cardiovasculair systeem van het lichaam. Het hart bestaat in feite uit twee pompen die in serie staan: één daarvan pompt het bloed door de longen voor uitwisseling van zuurstof en koolstofdioxide met de omgeving (*pulmonaire circulatie*), terwijl de andere pomp de bloedvoorziening naar alle andere weefsels in het lichaam verzorgt (*systemische circulatie*).



Figuur 1.13: Doorsnede van het hart, anterieure zijde. Legende: 1. Rechter atrium, 2. Linker atrium, 3. Bovenste holle ader, 4. Aorta, 5. Longslagader, 6. Longader, 7. Mitralisklep, 8. Aortaklep, 9. Linker ventrikel, 10. Rechter ventrikel, 11. Onderste holle ader, 12. Tricuspidalisklep, 13. Pulmonarisklep (*Wikipedia Commons*)

Figuur 1.13 toont de bouw van het menselijk hart (anterieure zijde). Het hart bestaat uit twee boezems of *atria* en twee kamers of *ventrikels*. Het zuurstofarme bloed van de verschillende weefsels komt via de onderste en bovenste holle ader (*vena cava superior* en *inferior*) het rechter atrium van het hart binnen. Dit bloed wordt via het rechter ventrikel doorgepompt naar de longslagaders, waarna het in de longen terechtkomt. Het in de longen met zuurstof verrijkt bloed stroomt via de longader het linker atrium van het hart binnen, waarna het doorgepompt wordt naar het linker ventrikel. Het hart pompt dit zuurstofrijk bloed dan in de aorta, waarna het zich verspreidt naar alle weefsels in het lichaam.

De stroming door het hart is éénrichtingsverkeer, wat gegarandeerd wordt door de hartkleppen. Het hart heeft vier kleppen. De kleppen die de atria scheiden van de ventrikels, heten *atrioventri*culaire (AV) kleppen. In de linker harthelft is dit de *mitralisklep*; in de rechter harthelft spreken we over de tricuspidalisklep. Tussen de ventrikels en de slagaders die uit het hart vertrekken (longslagaders en aorta) liggen de halfmaanvormige kleppen. Tussen het linkerventrikel en de longslagader zit de pulmonarisklep, terwijl rechterventrikel en aorta gescheiden worden door de *aortaklep* [5].

Het *myocardium* is het spierweefsel van het hart, dat zorgt voor de hartcontracties. Daarnaast is er het *endocardium*, dat zich aan de binnenzijde van het myocardium bevindt en opgebouwd is uit endotheelcellen. De derde laag bevindt zich rond het myocardium: het *epicardium* en doet dienst als beschermende laag.

Doorheen het myocardium varieert de oriëntatie van de hartspiervezels. Die specifieke oriëntatie maakt dat wanneer een excitatiepuls zich voortplant door het spierweefsel, de atria en ventrikels correct contraheren om een goede pompwerking te bekomen.

#### 1.4.1 Activatiesequentie

Zoals in dit hoofdstuk reeds uitgelegd werd, geven aanliggende hartspiervezels contractiele stimuli aan elkaar door, zodat een excitatiegolf zich kan voortplanten in het myocardium. Activatie wordt normaal gestart ter hoogte van een groep pacemaker cellen in de *sinoatriale knoop* (SA knoop), die om die reden ook wel *primaire pacemaker* wordt genoemd. Zoals gezegd vertonen deze pacemakercellen spontane depolarisatie (figuur 1.6). De elektrische golf bereikt eerst de atria, die bijgevolg contraheren en bloed in de ventrikels pompen (de laatste fase van de ventriculaire vulling, zie paragraaf 1.4.2).

Het ventriculaire myocardium is elektrisch geïsoleerd van de atria, op een groep traag-geleidende cellen na, gekend als de *atrioventriculaire knoop* (AV knoop). De vetraging in pulsgeleiding die hier optreedt zorgt ervoor dat bloed vanuit de atria in de ventrikels kan gepompt worden vooraleer deze contraheren.

De activatiegolf bereikt het ventriculair myocardium via de *atrioventriculaire bundel* of *bundel* van His, die zich opsplitst bovenaan het *interventriculair septum* (dit is de scheidingswand tussen de twee ventrikels). Elke tak loopt langs het septum en krult onderaan naar het topje van het respectievelijk ventrikel. In dat punt verdelen de bundels zich in snel-geleidende *Purkinje vezels*, die de elektrische puls verspreiden over het endocardiaal deel van het ventriculair myocardium (binnenzijde van het myocardium). De activatiegolf verspreid zich van endocardiael lagen naar epicardiale of buitenste lagen van het myocardium en zorgt zo voor geleidelijke opbouw van de contractie van de ventrikels [21].

#### 1.4.2 Pompwerking van het hart

De hartcyclus kan opgedeeld worden in vier fasen: een contractie- (I) en ejectiefase (II) tijdens de *systole*; een relaxatie- (III) en vullingsfase (IV), tijdens de *diastole*. Deze verschillende fasen zijn afgebakend in figuur 1.14, die de hartyclus samenvat.

Het begin van de ventriculaire contractie valt samen met de piek van de R-golf in het elektrocardiogram. Met alle kleppen gesloten, trekken de ventrikels samen, waardoor de ventriculaire druk vrij snel stijgt. Dit is de **isovolumetrische contractie** (I).

Op een gegeven moment wordt de linker ventriculaire druk (blauwe lijn in luik 2 van figuur 1.14) groter dan de aortadruk (zwarte streepjeslijn), waardoor de halfmaanvormige kleppen openen. Het openen van deze kleppen betekent het begin van de **ejectiefase** (II). Gedurende deze fase neemt het ventriculair volume af van het *eind-diastolisch volume* (EDV) tot het *residueel volume* of *eind-systolisch volume* (ESV). Het uitgestoten volume bloed heet *slagvolume* (SV). De druk in linker ventrikel en aorta bereikt een maximum, waarna de druk terug afneemt. Als de ventriculaire druk terug onder de aortadruk valt, sluiten de halfmaanvormige kleppen. Hiermee is de ventriculaire systole beëindigd.

Het begin van de ventriculaire diastole is de **isovolumetrische relaxatie** (III). Gedurende het relaxeren van de ventrikels neemt de ventriculaire druk sterk af. Op een gegeven moment wordt de ventriculaire druk kleiner dan de atriale druk, waardoor de atrioventriculaire kleppen openen. Merk op dat gedurende de ejectiefase de atriale druk is toegenomen, ten gevolge van het zuigeffect teweeggebracht door het verlagen van het kleppenvlak in het hart.

Na het openen van de atrioventriculaire kleppen begint de **vullingsfase** (IV). Het bloed stroomt snel van de atria naar de ventrikels. Gedurende deze *snelle ventriculaire vulling* (fase IVa) wordt 80% vulling van de ventrikels bereikt op korte tijd en zorgt bijgevolg voor een val van de *centraal veneuze druk* (CVP, luik 3 van figuur 1.14). De centraal veneuze druk herstelt zich in de rest van de diastole. Na de snelle ventriculaire vullingsfase volgt een tragere vulling of *diastase* (IVb) en tenslotte een *atriale contractie* (IVc). Deze contractie zorgt voor nog een actieve vulling van de ventrikels op het einde en is het gevolg van een puls die uitgestuurd wordt door de sinoatriale knoop (SA knoop). In het elektrocardiogram is dit te herkennen aan de P-golf. De golf plant zich voort in het hartweefsel en geeft iets later aanleiding tot ventriculaire excitatie (QRS-complex in het elektrocardiogram). De atrioventriculaire kleppen sluiten zich door de stijgende ventriculaire druk, en de hartcyclus kan herbeginnen [5; 9].



Figuur 1.14: De verschillende fasen van de hartcyclus [9]

#### 1.5 De papillairspier

De eerste fase van het onderzoek bestaat uit het modelleren van de mechanische contractie van een elementaire hartspiercel. Een belangrijke tweede fase in het modelleren is het toetsen van het gedrag van het model aan de werkelijkheid. In het geval van modellering van hartspieren zijn metingen op papillairspieren hiervoor zeer geschikt.

De keuze voor de papillairspier is te verklaren door haar eenvoudige samenstelling, vermits de spiervezels quasi gealigneerd liggen, maar ook omdat dit spiertje eenvoudig te dissecteren is uit een konijnenhart bijvoorbeeld. De functie van de papillairspier in het hart bestaat in het verankeren van de atrioventriculaire hartkleppen (mitralisklep en tricuspidalisklep) door middel van verbindingsdraden, de zogenaamde *chordae tendinae*. De papillairspier dient niet voor het openen of sluiten van de klep, aangezien dit door een drukgradiënt gebeurt (zie vorig paragraaf), maar zorgt voor ondersteuning van de klep tegen grote drukken of inversie van de klep. Onderstaande figuur toont de anatomie van het hart, met hierin de mitralis- en tricuspidalisklep, verbindingsdraden en papillairspieren.



Figuur 1.15: De papillairspieren in het hart (Atlas of Echocardiography, http://www.med.yale.edu/ intmed/cardio/echo\_atlas/references/papillary\_muscles.html)

### Hoofdstuk 2

# Bestaande hartspiercelmodellen

Op basis van de kennis van spiercontractie, die kort samengevat werd in vorig hoofdstuk, kan men vervolgens een spiermodel gaan opstellen. Een spiermodel tracht op mathematische wijze zoveel mogelijk gekende spiercontractie-eigenschappen te reconstrueren. Studie van de beschikbare wetenschappelijke literatuur omtrent spiermodellen toonde het grote aantal diverse modellen dat vandaag de dag beschikbaar is.

Globaal gezien kan men de spiermodellen opsplitsen in twee grote groepen. Deze twee groepen verschillen in de manier waarop het fysiologisch modelleren van een spiervezel benaderd wordt. Concreet onderscheidt men volgende groepen:

- De fenomenologische modellen, die zich puur baseren op data uit experimenten, zonder expliciet de waargenomen fenomenen te koppelen aan biofysische mechanismen. Men gaat uit van de spiercel als black box, waarbij men kijkt naar de input (spieractivatie en -belasting) en de output die daarbij hoort (spierkracht, spierverkorting en verkortingssnelheid). Het verband tussen in- en uitvoer tracht men te reconstrueren.
- 2. De **mechanistische modellen** daarentegen vertrekken vanaf de kennis over de biofysische mechanismen die aan de basis liggen van spiercontractie. Modellering gebeurt op niveau van de filamenten en cross-bridges.

In de literatuur is bovenstaande groepering duidelijk zichtbaar en wordt hier ook aangehouden bij de bespreking van verschillende bestaande modellen.

#### 2.1 Fenomenologische modellen

Fenomenologische spiermodellen vinden hun oorsprong in de jaren 1930. In 1938 voerde wetenschapper AV Hill experimenten uit die handelden rond de warmte en energie die vrijkomt bij spiercontractie. Uit die experimenten leidde Hill een karakteristieke vergelijking af, die het verband tussen contractiesnelheid V en ontwikkelde kracht F weergeeft:

$$(F+a)(V+b) = constant$$
(2.1)

Deze hyperbolische kracht-snelheidsrelatie (FVR, *Force-velocity relation*) is de basis voor het Hill-model.
Hill interpreteerde zijn experimenten als komende van een contractiel element (CE) dat in serie staat met een ongedempt elastisch element (SE). Bij een isometrische contractie trekt het contractiel element samen (en levert dus arbeid) en spanning wordt opgebouwd door uitrekking van het elastisch element. Bij relaxatie van de spier verkort het elastisch element waarbij de opgeslagen potentiële energie vrijkomt onder de vorm van warmte. [16]

Het contractiel element stelt de actieve karakteristiek van de spiervezels voor en wordt beschreven door de force-velocity relation (FVR) en de force-length relation (FLR). Het serie-elastisch element SE vertegenwoordigt alle elastische componenten van een spier-pees eenheid. De derde



Figuur 2.1: Drie Hill-type modellen, waarvan I het klassieke Hill model voorstelt [25]

component in het Hill model is een elastisch element dat in parallel staat met de bovenstaande serie-elementen (PE). Dit derde element stelt het bindend weefsel rond de spiervezels en spierbundels voor. Verder wordt opgemerkt dat de twee elastische elementen in het Hill model beschreven worden door niet-lineaire vergelijkingen [33].

De drie componenten van het Hill model zijn voorgesteld in figuur 2.1, dit in verschillende mogelijke configuraties. De eerste configuratie stelt het klassieke Hill model voor.

Het model van Hill is ontstaan uit de analyse van data uit experimenten op intacte kikkerspieren en is dus een typisch fenomenologisch model. In de jaren 1930 waren kennis en ideeën omtrent het spiercontractiemechanisme vrij beperkt, omdat de structurele opbouw van spieren nog niet gekend was. Men was dus aangewezen op een fenomenologische aanpak. Tegenwoordig is de kennis van de structurele bouw van spieren al veel groter, maar nog steeds worden fenomenologische modellen, gebaseerd op het Hill model, aangewend. De eenvoud van het model en beperkte nodige rekencapaciteit zijn redenen hiervoor. Om effecten op schaal van spierweefsel en organen te reconstrueren volstaat het vaak om eenvoudige spiercelmodellen hiervoor te gebruiken.

De laatste jaren is de rekencapaciteit van computers groter en goedkoper geworden, zodat rekentijd een minder belangrijk argument geworden is in de keuze tussen spiermodellen (fenomenologisch versus mechanistisch). Als men een model van een orgaan of spierweefsel bouwt op basis van een mechanistisch celmodel, is men bovendien in staat om na te gaan hoe bepaalde effecten op celniveau zich kunnen uiten op weefsel- of orgaanniveau.

Hoewel een Hill model in staat is om force-length en force-velocity verbanden en activatiedynamica te reconstrueren, zijn er beperkingen. Zo interageren die verbanden op een complexe manier en die interacties zitten niet vervat in de modelbeschrijving. Met andere woorden: extrapolatie van Hill-gebaseerde spiermodellen naar complexe contractiecondities kan onbetrouwbaar zijn [33].

Een laatste argument in het voordeel van mechanistische spiermodellen is het feit dat als een modelvoorstelling veel overeenkomsten vertoont met de fysische werkelijkheid, men beter in staat is om de werking en resultaten ervan te interpreteren. Daarom gaat deze thesis niet dieper in op de fenomenologische modellen.

## 2.2 Mechanistische modellen

Zoals reeds gezegd was in de jaren 1930 de kennis omtrent de structurele bouw van spieren beperkt. Het begin van de jaren 1950 luidde een nieuw tijdperk in dankzij de structurele biologie, die een grote invloed had op de manier waarop men dacht in de spierfysiologie. X-ray diffractie experimenten op spieren onthulden de aanwezigheid van filamenten. Het was H. HUXLEY die kort daarna de *sliding filament theory* introduceerde, waarin hij suggereerde dat spiercontractie ontstaat door het langs elkaar schuiven van twee soorten filamenten. Deze theorie werd onafhankelijk bevestigd door enerzijds H. HUXLEY en HANSEN en anderzijds A. HUXLEY en NIEDERGERKE [13; 16].

#### 2.2.1 Cross-bridge theorie

In 1957 publiceerde A. HUXLEY een theorie die verklaart hoe de filamenten langs elkaar schuiven [15]. In dit artikel maakt HUXLEY beweringen over de spiercontractie, die trachten een link te leggen tussen de mechanische, thermische, chemische en structurele wijzigingen die optreden bij spiercontractie. Hij was de eerste die die verbanden trachtte te leggen.

In het eerste deel van het artikel haalt HUXLEY de nodige argumenten en bewijzen aan om aan te tonen dat de bewering van de sliding filament theory correct is. Het bestaan van twee soorten filamenten die over elkaar schuiven is immers de basis voor HUXLEY's nieuwe hypothese: de cross-bridge theorie.



Figuur 2.2: Diagram dat de hypothese van A. HUXLEY illustreert. De pijlen geven de richting van de relatieve beweging tussen de filamenten weer bij spiercontractie. [15]

De hypothese van de cross-bridge theorie bestaat erin dat de myosinefilamenten zijdeeltjes (M) hebben die langs het filament kunnen kunnen bewegen en ermee verbonden zijn door elastische verbindingen (figuur 2.2). Deze zijdeeltjes oscilleren rond hun evenwichtspunt door thermische agitatie (Browniaanse beweging) en maken tijdelijke verbindingen met sites (A) op tegenoverliggende dunne filamenten. Deze verbindingen vormen zich spontaan en kunnen enkel verbroken worden door een reactie die energie vergt.

Essentieel in dit systeem is dat de snelheid van de reacties waarmee connecties gemaakt of verbroken worden, afhankelijk verondersteld worden van de positie van het schuivend deeltje M ten opzichte van zijn evenwichtspositie O (afstand x). De snelheidsconstanten voor de reacties die de verbinding tussen A en M opzetten en verbreken, worden voorgesteld door f en g respectievelijk. Het verloop van deze snelheidsconstanten in functie van parameter x is weergegeven in figuur 2.3.



Figuur 2.3: Snelheidsfuncties voor vorming, f, en verbreken, g, van cross-bridge verbindingen tussen de dikke (myosine) en dunne (actine) myofilamenten in functie van x, de positie van de actieve site A op het dunne filament ten opzichte van de evenwichtspositie O van de cross-bridge. [15]

Merk in figuur 2.3 de sterke asymmetrie op van de functies f en g rond de evenwichtspositie O. Als men immers voor de probabiliteit voor vorming van een cross-bridge in functie van de positie x een Gaussiaanse verdeling zou aannemen (ten gevolge van de Browniaanse beweging van de deeltjes M), zou dit betekenen dat M dezelfde kans heeft om te binden aan een A-site links of rechts van de evenwichtspositie. Gevolg is dat er geen netto spierkracht of verkorting zou optreden. De verdeling van de snelheidsconstanten f en g in figuur 2.3 is zodanig gekozen dat cross-bridge vorming zorgt voor een relatieve beweging tussen de filamenten die overeenkomt met een spierverkorting.

**Wiskundige formulering** Stel dat n(x,t) de fractie cross-bridges voorstelt die op tijdstip t gebonden zijn met actieve actinesites A in het interval (x, x + dx). Gezien de definitie van de snelheidsconstanten f en g voor binding respectievelijk verbreken van cross-bridge verbindingen, bekomt men dat:

$$\frac{\mathrm{D}n}{\mathrm{D}t} = \frac{\partial n}{\partial t} - \frac{\partial n}{\partial x}v = (1-n)f(x) - ng(x)$$
(2.2)

De materiële tijdsafgeleide  $\frac{D}{Dt}$  brengt in rekening dat de actine- en myosinefilamenten langs elkaar schuiven met een relatieve verkortingssnelheid v(t).

Voor het opstellen van vergelijking (2.2) is men uitgegaan van formele regels [40], die in veel mechanistische modellen toegepast worden. Concreet wordt er aangenomen dat de snelheid waarmee het aantal moleculen in een bepaalde toestand toeneemt, een gewogen som is van het aantal moleculen in aangrenzende toestanden, waarbij de wegingscoëfficiënten de snelheidsconstanten zijn (term (1 - n)f(x)). De afnamesnelheid van het aantal moleculen in de beschouwde toestand is proportioneel met het aantal moleculen in diezelfde toestand (term ng(x)).

Om de ontwikkelde kracht in de spier te bepalen, neemt men aan dat het elastisch element voldoet aan de wet van HOOKE, met een stijfheid k. Beschouwt men een stuk contractiel weefsel met een lengte van een half sarcomeer (zijnde s/2) en een doorsnede A. De kracht in dit stuk weefsel uitgeoefend door alle gebonden cross-bridges met bindingslengtes in het interval (x, x + dx) bedraagt dan:

$$kx\frac{mAs}{2}n(x,t)\frac{\mathrm{d}x}{l} \tag{2.3}$$

Hierin stelt  $\frac{mAs}{2}$  de totale hoeveelheid cross-bridges in het stuk weefsel voor (*m* is het totaal aantal cross-bridges per eenheidsdoorsnede),  $\frac{mAs}{2} \frac{dx}{l}$  is het aantal cross-bridges in dat weefsel waarvan de dichtstbijzijnde actieve actinesite gelegen is in het interval (*x*, *x* + d*x*) en *n*(*x*, *t*) is de fractie van deze cross-bridges die effectief gebonden is met die dichtstbijzijnde actinesite.

Door vervolgens te sommeren over alle mogelijke bindingslengtes en te delen door de sectie A, bekomt men de ontwikkelde spanning in het beschouwde stuk spierweefsel:

$$\sigma(t) = \frac{msk}{2l} \int_{-\infty}^{+\infty} n(x,t) x \,\mathrm{d}x \tag{2.4}$$

Gebruik makend van het verloop van de snelheidsconstanten f en g (figuur 2.3):

$$f = \begin{cases} 0 & x < 0 \\ \frac{f_1 x}{h} & 0 < x < h \\ 0 & x > h \end{cases} \qquad g = \begin{cases} g_2 & x < 0 \\ \frac{g_1 x}{h} & 0 < x < h \\ \frac{g_1 x}{h} & x > h \end{cases}$$
(2.5)

en na oplossen van de vergelijking (2.2) kan men de uitdrukking van de spierkracht (2.4) uitdrukken in functie van de verkortingssnelheid. A. HUXLEY heeft aangetoond dat deze Force-Velocity relatie voldoet aan de karakteristieke vergelijking van HILL (vergelijking (2.1)).



Figuur 2.4: Krachtontwikkelingsmechanisme volgens H. HUXLEY, geponeerd in 1969. Krachtontwikkeling door een cross-bridge is niet langer het gevolg van de uitwijking ten opzichte van een evenwichtspositie, maar wordt veroorzaakt door rotatie van het myosinekopje [13]

"Power Stroke" In het oorspronkelijk model van A. HUXLEY waren de M-deeltjes elastisch verbonden met het dikke filament (zoals geschetst in figuur 2.2), zodat er reeds kracht zou bestaan in de cross-bridges vooraleer deze binden met actieve actinesites en krachtontwikkeling dus een rechtstreeks gevolg is van binding [16]. In 1969 maakte H. HUXLEY een hypothese rond de krachtontwikkeling in een sarcomeer. Hierbij baseerde hij zich op de vaststelling dat een myosinekopje (M in figuur 2.2) niet in één configuratie voorkomt, maar twee posities kan innemen. Concreet poneerde H. HUXLEY dat het myosinekopje eerst bindt met een actieve actinesite en dan pas kracht ontwikkelt, door een rotatie van het kopje rond zijn aanhechtingspunt. Dit wordt geschetst in figuur 2.4. Het stukje S-2 in de figuur doet dienst als verbindingsas die de rotatiebeweging van het myosinekopje omzet in een lineaire verplaatsing van de filamenten ten opzichte van elkaar. Hiermee was het idee van *arbeidsslag* of *power stroke* bij cross-bridges geboren [13].

**Quick force recovery** In 1971 vervolledigden A. HUXLEY en SIMMONS de cross-bridge theorie, zodat deze ook compatibel werd met het vastgestelde krachtherstel na een plotse spierverkorting. Bij zo een plotse spierverkorting valt de kracht gelijktijdig weg met de lengtewijziging en herstelt zich in een snelle fase, gevolgd door een langzame fase.

Concreet heeft men dit gemodelleerd door de link tussen het myosinefilament en een myosinekopje elastisch te veronderstellen (segment S-2 in figuur 2.4). Ten gevolge van de plotse spierverkorting kantelt het myosinekopje, waardoor de elastische link verlengt en er dus een ogenblikkelijk krachtherstel optreedt.

De voorwaarde is natuurlijk wel dat er aangehechte cross-bridges zijn opdat het snelle krachtherstel zou kunnen optreden. Bij grote verkortingsamplitudes gaan alle cross-bridge verbindingen verloren, zodat het snelle krachtherstel door rotatie van myosinekopjes niet beschikbaar is. In dat geval moeten zich eerst cross-bridge verbindingen vormen, zodat er in totaal een traag krachtherstel is. [13]

**Calciumactivatie** Wat de spieractivatie betreft in het cross-bridgemodel, kan men zeggen dat er een korte aanzet gegeven is tot het modelleren van activatie, maar uitgebreide dynamica van calciumactivatie is niet aanwezig. In zijn artikel over de cross-bridge theorie [15] spreekt A. HUXLEY over een activatie in twee stappen. Een eerste stap bestaat erin dat volgende reactie mogelijk wordt:

$$AXP \rightarrow A + X + PO_4$$
 (2.6)

In deze eerste stap worden de fosfaatgroepen weggenomen die gedurende de rusttoestand de binding van sites A aan deeltjes M verhinderen. De tweede stap is dan het vormen van de A-M links (reactie met snelheidsconstante f). De eerste stap wordt ogenblikkelijk verondersteld, zodat stap 2 de tijdsvertragende stap zal zijn.

Het oorspronkelijke cross-bridge model van A. HUXLEY heeft een belangrijke basis gelegd in het modelleren van de actieve contractie van spiercellen. Hoewel het model enkel de basiseigenschappen van contractie kan reconstrueren, is dit sinds de publicatie vaak gebruikt als basis voor uitgebreidere modellen. Dit zal blijken uit de verdere analyse van mechanistische contractiemodellen.

#### 2.2.2 Distribution-Moment model

Het zogenaamde Distribution-Moment model van ZAHALAK volgt rechtstreeks uit het HUXLEY cross-bridge model. ZAHALAK & MA [40] hadden als objectief het toevoegen van een compatibel model van calciumactivatie dynamica aan het cross-bridge model van HUXLEY. Met 'compatibel' bedoelt men een activatiemodel dat qua nauwkeurigheid en complexiteit past bij een twee-toestandsmodel van contractiedynamica.

**Momenten** Het Distribution-Moment model vertrekt van de aannames van het cross-bridge model van HUXLEY en komt al snel tot de uitdrukking (2.4) voor de actieve spanning  $\sigma(t)$  in een stuk spierweefsel. Door het invoeren van een schalingsfactor h voor de bindingslengte x (his het bereik van x waarover significante kans is tot actine-myosine binding), kan de spierkracht F(t) geschreven worden als:

$$F(t) = A(t)\sigma(t) = \frac{msAkh^2}{2l} \int_{-\infty}^{+\infty} \xi n(\xi, t) \,\mathrm{d}\xi$$
(2.7)

met  $\xi = \frac{x}{h}$ . De spierkracht valt te schrijven als  $F(t) = \Gamma Q_1(t)$ , waarin

$$Q_1(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \xi n(\xi, t) \,\mathrm{d}\xi \tag{2.8}$$

het genormaliseerde eerste moment van de bindingsdistributie functie n(x,t) is. Behoud van volume en het feit dat er een vast aantal sarcomeren in een spiervezel zitten, maken de factor  $\Gamma$ constant doorheen de tijd. Het eerste moment van de bindingsdistributie functie is dus proportioneel met de spierkracht. Verder kan men aantonen [40] dat de stijfheid  $K_c$  van het contractiel weefsel en de totale elastische energie opgeslagen in de cross-bridges,  $U_c$ , voldoen aan:

$$K_c(t) \sim Q_0(t) \qquad U_c(t) \sim Q_2(t) \tag{2.9}$$

met

$$Q_{\lambda}(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} \xi^{\lambda} n(\xi, t) \,\mathrm{d}\xi, \quad \lambda = 0, 1, 2, \dots$$
(2.10)

De eerste drie momenten hebben dus belangrijke macroscopische betekenis: ze zijn proportioneel met respectievelijk de stijfheid, kracht en elastische energie van het contractiel weefsel.



Figuur 2.5: Schema van de calciumactivatie in het Distribution-Moment model [40]

**Calciumactivatie** Men gaat uit van het activatieproces geschetst in figuur 2.5. Dit proces komt zeer sterk overeen met de beschrijving uit hoofdstuk 1. Zo zorgt een actiepotentiaal voor een depolarisatie van het sarcoplasmatisch reticulum, waardoor de permeabiliteit van het sarcoplasmatisch reticulum voor  $Ca^{2+}$ -ionen toeneemt. Door de aanwezige concentratiegradiënt over de wand diffunderen de  $Ca^{2+}$ -ionen snel naar buiten, in het cytoplasma, waar deze binden met specifieke receptorsites van troponinemolecules. Die troponinemolecules bevinden zich op de dunne actinefilamenten en bij binding van  $Ca^{2+}$ -ionen maken de troponinemolecules actinesites beschikbaar voor cross-bridgebinding.

Onvoldoende kennis van de details van bovenstaande activatiesequentie maakt dat bepaalde veronderstellingen gemaakt moesten worden.

- Men veronderstelt dat slechts een fractie  $\alpha$  van de totale hoeveelheid M cross-bridges kan interageren met geactiveerde actine. Deze fractie is functie van de lengte van het contractiel weefsel en dus gebonden met de overlap van dunne en dikke filamenten.
- Men veronderstelt dat er steeds een 1-1-1 overeenkomst is tussen een myosine cross-bridge, de dichtstbijzijnde actinesite en de troponinemolecule die de beschikbaarheid van die actinesite voor cross-bridgebinding regelt. Deze aanname maakt dat men zich kan concentreren op de dynamica van één enkel *myosine-actine-troponine complex* (MAT)

• Elke troponinemolecule heeft 4 calcium-bindingssites, waarvan 2 high-affinity en 2 lowaffinity sites. De 2 high-affinity sites worden niet in rekening gebracht voor de regeling van contractie, wegens de trage dynamica ervan. Er wordt aangenomen dat twee Ca<sup>2+</sup>ionen sequentieel binden aan een troponinemolecule, en pas nadat het tweede Ca<sup>2+</sup>-ion gebonden is, wordt de bijhorende actinesite vrijgegeven voor cross-bridge binding.

Bij het opstellen van het kinetisch schema van een myosine-actine-troponine complex, hebben ZAHALAK & MA een onderscheid gemaakt tussen *tight coupling* en *loose coupling*.

- In het geval van **loose coupling** kunnen Ca<sup>2+</sup>-ionen binden en loskomen van troponine ongeacht de bindingstoestand tussen actine en myosine.
- In het **tight coupling** schema kan een troponinemolecule de gebonden Ca<sup>2+</sup>-ionen slechts vrijgeven wanneer de geassocieerde cross-bridge losgemaakt is van actine.

Dit onderscheid wordt doorheen de hele modelbeschrijving aangehouden.

Het diagram in figuur 2.6 toont het tight coupling schema in volle lijn. Bij loose coupling worden er de toestanden in streepjeslijn aan toegevoegd. De gekrulde pijlen geven binding en loslaten van  $Ca^{2+}$ -ionen door troponine aan. De gevulde zeshoekjes stellen  $Ca^{2+}$ -ionen voor. De rechte pijlen geven overgangen tussen de verschillende toestanden aan, en gaan gepaard met de bijhorende snelheidsconstanten.

De constanten f en g zijn nog steeds de snelheidsconstanten gerelateerd aan cross-bridgevorming. De constanten  $k_l$  en  $k_{-l}$  zijn de voorwaartse respectievelijk achterwaartse snelheidsconstante in de binding van Ca<sup>2+</sup>-ionen aan troponine.



**Figuur 2.6:** Diagram van de twee kinetische schema's in het Distribution-Moment model: tight coupling (volle lijn) en loose coupling (volle lijn + streepjeslijn) [40]

Op basis van de kinetische schema's kan men de wiskundige vergelijkingen afleiden die deze kinematica beschrijven. Dit gebeurt opnieuw volgens de formele regels voor het opstellen van de differentiaalvergelijkingen, zoals reeds toegepast in de theorie van HUXLEY.

**Modelvergelijkingen** Zoals reeds gezegd, zijn de eerste drie momenten van de bindingsdistributie functie belangrijk om het fysisch gedrag van het spierweefsel te kennen (kracht, stijfheid, elastische energie). Om deze momenten  $Q_{\lambda}$  te kunnen berekenen, is de kennis van de distributiefunctie n(x,t) vereist. Na het implementeren van bovenstaande beschrijving rond calciumactivatie in het cross-bridge model, bekomt men volgende vergelijkingen:

$$\frac{Dn}{Dt} = \frac{\partial n}{\partial t} - v(t)\frac{\partial n}{\partial x} = r(\alpha - n) f(x) - n g(x) \qquad \text{tight coupling} \qquad (2.11)$$

$$\frac{\mathrm{D}n}{\mathrm{D}t} = \frac{\partial n}{\partial t} - v(t)\frac{\partial n}{\partial x} = (r\alpha - n)f(x) - ng(x) \qquad \text{loose coupling}$$
(2.12)

In vergelijking met vergelijking (2.2) in het model van HUXLEY zijn er twee variabelen bijgekomen:

- Factor  $\alpha$ , die de fractie cross-bridges voorstelt die kunnen binden met geactiveerde actinesites. Bij maximale overlapping tussen dunne en dikke filamenten is  $\alpha = 1$ .
- De activatiefactor r, die functie is van de vrije calciumconcentratie (r = r([Ca])) en op die manier de invloed van [Ca] op de spiercontractie in rekening brengt. Bij hoge [Ca] zijn alle actinesites actief en is er dus hoge graad van activatie ( $[Ca] \approx 1$ ).

Bij hoge activatiegraad en maximale overlapping tussen de filamenten vallen beide vergelijkingen samen met de originele vergelijking uit het cross-bridge model (2.2).

**Distribution-Moment benadering** Naast het implementeren van een model voor calciumactivatie dynamica, is een tweede luik in het Distribution-Moment model het invoeren van een benadering om het spiermodel rekenkundig eenvoudiger te maken. Het bepalen van de distributiefunctie  $n(\xi, t)$  vraagt het oplossen van een partiële differentiaalvergelijking (2.11) of (2.12). Wegens de complexiteit hiervan, tracht men dit te omzeilen door een a priori veronderstelling te maken over de vorm van de bindingsdistributie  $n(\xi, t)$ . Men gaat uit van een Gaussiaanse verdeling:

$$n(\xi,t) = n^*(\xi,t) = \frac{Q_0}{\sqrt{2\pi q}} \exp\left\{-\frac{(\xi-p)^2}{2q^2}\right\}$$
(2.13)

met

$$p = Q_1/Q_0$$
  $q = \sqrt{(Q_2/Q_0) - (Q_1/Q_0)^2}$ 

Door deze veronderstelling te maken kan men het model voorstellen door een reeks niet-lineaire gewone differentiaalvergelijkingen voor de bepaling van de momenten  $Q_0$ ,  $Q_1$  en  $Q_2$ , zodat het oplossen van de partiële differentiaalvergelijking omzeild is.

Door het invoeren van de Distribution-Moment benadering, bekomt men een 4e orde toestandsmodel voor contractiel weefsel. De toestandsvariabelen zijn:  $Q_0, Q_1, Q_2$  en [Ca]. Later stelde WU ET AL [36] een methode voor om de partiële differentiaalvergelijking van de distributie  $n(\xi, t)$  snel en accuraat op te lossen. Deze methode maakt geen beperkende veronderstellingen in het oplossen van de vergelijking.

Hoewel de momentenfuncties volgens de Distribution-Moment benadering vrij dicht aanleunen bij de analytische oplossing, bestaan er situaties waar de afwijking te groot is. Het bestaan van een efficiënter algoritme om de partiële differentiaalvergelijking op te lossen, lijkt dus een verbetering. In het artikel wordt de nieuwe methode van WU ET AL qua rekentijd echter enkel vergeleken met de analytische oplossingsmethode, zodat niets gekend is over de relatieve rekentijd ten opzichte van de Distribution-Moment benadering.

**Experimentele validatie** ZAHALAK & MA [40] vergeleken eerst de resultaten van de Distribution-Moment benadering met de exacte oplossing van de Huxleyvergelijking bij constante activatie en stelden een sterke afwijking vast in het verloop van de bindingsdistributie  $n(\xi, t)$ . Het verloop van de drie momenten van deze distributie week echter zeer weinig af, wat het model geschikt maakt voor beschrijving van het macroscopische gedrag van de spier.

Verder heeft men zowel de tight coupling als loose coupling vorm vergeleken met meetdata. Daaruit blijkt dat de tight coupling versie van het model beter in staat is om een isometrische twitch en isotone contractie met eenzelfde parameterset te reconstrueren. Ook in de zogenaamde *quick-release experimenten* scoort het tight coupling model beter. Dit zijn experimenten waarbij een plotse lengtewijziging in de spier wordt veroorzaakt, waarbij de invloed op het krachtverloop bekeken wordt. In dit geval werd een plotse verkorting aangebracht tijdens een isometrische twitch. Gevolg is een val van de ontwikkelde kracht en een bijhorende stijging in de vrije calciumconcentratie [Ca]. Dit laatste verschijnsel wordt niet teruggevonden in een loose coupling simulatie, omdat calciumdynamica en contractiedynamica niet gekoppeld zijn. Vandaar de voorkeur voor het tight coupling model in het artikel van ZAHALAK & MA.

Uit onderzoek blijkt echter dat het loose coupling model dichter aanleunt bij de werkelijkheid [28]. Zo is sterk gebonden myosine gedurende een beperkte tijd in staat om de binding met actine aan te houden in de afwezigheid van  $Ca^{2+}$ , wat volgens het tight coupling model onmogelijk is.

De reden waarom een tight coupling model de quick release experimenten kan reconstrueren, is omdat de definitie van tight coupling in beperkte mate **coöperativiteit** in de calciumbinding nabootst. Coöperativiteit bij calciumbinding is het effect dat calciumbinding en dus krachtontwikkeling, verdere calciumbinding vergemakkelijkt, en omgekeerd. Echter, bij het modelleren van hartspiervezels is er slechts één low-affinity site aanwezig op de troponinemoleculen, waardoor het effect van coöperativiteit door aanname van tight coupling veel minder sterk aanwezig is [11]. Het gebruik van een realistischer loose coupling model, aangevuld met een expliciete implementatie van het coöperatief effect is dus meer aangewezen, zeker bij de modellering van de hartspier. Deze discussie komt verder aan bod in paragraaf 2.2.3.

Beperkingen Ondanks de vele voorstellen tot verbetering van het klassieke cross-bridge model, onder andere door ZAHALAK & MA [40] en WU ET AL [36], brengen deze modellen een belangrijke klasse fenomenen niet in rekening, met name de invloed van de contractiegeschiedenis van de spier op krachtontwikkeling. De interacties tussen de filamenten zijn immers lineair elastisch verondersteld en de toestand van gebonden of verbroken zijn van crossbridges is bepaald door specifieke snelheidsfuncties, zodat er geen tijdsgeheugen van de spier gemodelleerd is.

In GUCCIONE ET AL [11] werd vastgesteld dat implementatie van het coöperatief effect in het cross-bridge model noodzakelijk is om deactivatie, een typisch effect in hartspieren dat bepaald wordt door de contractiegeschiedenis van de spier, correct te kunnen reconstrueren.

Wu & HERZOG [35] deden ook een voorstel tot aanpassing van het cross-bridge model, om de val van de ontwikkelde kracht ten gevolge van een eerdere spierverkorting in rekening te brengen. Daarbij werd het steady-state deel van de krachtafname bepaald aan de hand van de geleverde arbeid door de spier gedurende de verkorting. De dynamische eigenschappen werden geïmplementeerd door middel van een *fading memory* functie. Deze functie brengt het contractieverleden van de spier in rekening, waarbij effecten vlak voor het beschouwde tijdstip een groter gewicht hebben dan effecten verder in het verleden. Men dient echter op te merken dat deze modificatie enkel de effecten van een spierverkorting in rekening brengt; de effecten van een spierverlenging kunnen niet gereconstrueerd worden. Verder is de voorgestelde modificatie van het fenomenologisch type, zodat geen inzicht wordt verkregen in het biologisch mechanisme dat de krachtval na een eerdere spierverkorting verklaart.

Hoewel de cross-bridge theorie goed ingeburgerd is en ondanks de vele voorstellen tot verbetering, blijft het ontbreken van een contractiegeheugen in het cross-bridge model dus een groot nadeel.

#### 2.2.3 Model van Landesberg & Sideman

In 1992 schreven LANDESBERG & SIDEMAN een artikel [19] waarin zij de koppeling tussen calciumbinding aan troponine en de ontwikkelde spierkracht bij hartspieren onderzochten.

Experimenten toonden de invloed van de cross-bridge cyclus op de affiniteit van de regulerende proteïnes (troponinecomplex) voor calcium aan. Zo gebeurt bijvoorbeeld de val van de calciumtransiënt bij isotone contracties trager dan bij isometrische contracties. Op basis van die vaststellingen stelden LANDESBERG & SIDEMAN zich de vraag: Hoe regelt calciumbinding aan troponine de mechanische activiteit? Gebeurt dit door in te spelen op de cross-bridge kinematica of door het recruteren van cross-bridges en het reguleren van het aantal cross-bridges dat effectief kracht kan genereren?

**Oorspronkelijk model** Om op bovenstaande vraag een antwoord te krijgen, werd een **loosecoupling model** opgesteld. Dit model wordt gekarakteriseerd door het bestaan van een toestand waarbij cross-bridges zich in een sterke conformatie bevinden (ze kunnen kracht ontwikkelen) zonder  $Ca^{2+}$  gebonden te hebben aan de bijhorende troponine, zoals reeds uitgelegd in paragraaf 2.2.2 over het Distribution-Moment model.

Toestand	Cross-bridge conformatie	Ca <sup>2+</sup> gebonden op troponine
R	zwak	_
A	zwak	GEBONDEN
T	STERK	GEBONDEN
U	STERK	_

Tabel 2.1: Toestandsvariabelen in het model van LANDESBERG & SIDEMAN van 1992

Het model definieert vier toestandsvariabelen in het gebied waar de actine- en myosinefilamenten enkelvoudig overlappen (Daarnaast bestaan gebieden waar de filamenten niet overlappen of dubbel overlappen, maar daar kunnen de cross-bridges geen kracht ontwikkelen). In het model van 1992 stellen deze toestandsvariabelen de fractie troponinemoleculen voor die zich in de overeenkomstige toestanden bevinden. De vier toestandsvariabelen zijn vastgelegd door twee criteria:

- 1. het wel of niet gebonden zijn van  $Ca^{2+}$  aan de low-affinity sites van troponine
- 2. de cross-bridges die zich in sterke of zwakke conformatie bevinden

Tabel 2.1 geeft een overzicht van de vier modeltoestanden. Het bestaan van toestand U weerspiegelt het feit dat het hier gaat om een loose coupling model.



Figuur 2.7: Toestanden R, A, T & U gedefinieerd in het model van LANDESBERG & SIDEMAN uit 1992. Dit diagram beschrijft de interacties tussen de 4 modeltoestanden. De vermelde coëfficiënten worden verduidelijkt in de tekst [19]

De overgangen tussen de toestanden zijn bepaald door de kinematica van  $Ca^{2+}$ -binding aan troponine enerzijds, en de cross-bridge cyclus anderzijds. De interacties worden getoond in figuur 2.7 en kunnen beschreven worden op basis van de volgende set eerste-orde differentiaalvergelijkingen (subscript *s* voor *single-overlap*):

$$\begin{bmatrix} \dot{R}_{s} \\ \dot{A}_{s} \\ \dot{T}_{s} \\ \dot{U}_{s} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_{l} \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} & k_{-l} & 0 & g'_{0} \\ k_{l} \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} & -f - k_{-l} & g_{0} & 0 \\ 0 & f & -g_{0} - k_{-m} & k_{m} \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} \\ 0 & 0 & k_{-m} & -g'_{0} - k_{m} \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R_{s} \\ A_{s} \\ T_{s} \\ U_{s} \end{bmatrix}$$
(2.14)

Bovenstaande differentiaalvergelijkingen volgen meteen uit figuur 2.7 door dezelfde formele regels te hanteren die gebruikt werden om de vergelijkingen af te leiden in vorige paragrafen (cross-bridge model en Distribution-Moment model).

De gebieden waarin de actine- en myosinefilamenten niet of dubbel overlappen, worden gegroepeerd onder de *niet-krachtontwikkelende regio's*. In deze gebieden kunnen enkel de toestanden R en A (cross-bridges in zwakke conformatie) bestaan, waartussen de interacties beschreven worden door volgende vergelijkingen (subscript *o* voor *non-forcegenerating*):

$$\begin{bmatrix} \dot{R}_o \\ \dot{A}_o \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_l \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} & k_{-l} \\ k_l \begin{bmatrix} \text{Ca} \end{bmatrix} & -k_{-l} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R_o \\ A_o \end{bmatrix}$$
(2.15)

In vergelijkingen (2.14) en (2.15) stellen f,  $g_0$  en  $g'_0$  de snelheidsconstanten van de cross-bridge cyclus voor;  $k_l$  en  $k_{-l}$  zijn de snelheidscoëfficiënten voor Ca<sup>2+</sup>-binding aan low-affinity sites van troponine wanneer cross-bridges zich in zwakke conformatie bevinden;  $k_m$  en  $k_{-m}$  zijn de snelheidscoëfficiënten voor Ca<sup>2+</sup>-binding aan low-affinity sites van troponine wanneer crossbridges zich in sterke conformatie bevinden.

Door bovenstaande toestanden in het model te implementeren komt men tot een spiermodel met geheugen, waarbij de contractiegeschiedenis in rekening wordt gebracht bij het bepalen van het spiergedrag op elk ogenblik. Dit was in voorgaande spiermodellen niet aanwezig.

Het model uit 1992 is in staat om de totale hoeveelheid  $Ca^{2+}$  gebonden aan troponine en de ontwikkelde kracht door een myociet in **isometrisch regime** te berekenen. De ontwikkelde isometrische kracht is evenredig met het aantal cross-bridges in sterke conformatie in het singleoverlap gebied:

$$F = \overline{F} \left( T_s + U_s \right) \tag{2.16}$$

De evenredigheidsconstante  $\overline{F}$  stelt de gemiddelde ontwikkelde kracht van één cross-bridge voor. De totale hoeveelheid gebonden Ca<sup>2+</sup> aan troponine is de som van de hoeveelheden gebonden aan low-affinity en high-affinity sites van troponine:

$$BCa = BCa_L + BCa_H \tag{2.17}$$

waarbij geldt dat:

$$BCa_L = A_s + T_s + A_o \tag{2.18}$$

$$\frac{\mathrm{d}BCa_H}{\mathrm{d}t} = (2 - BCa_H)k_h[\mathrm{Ca}] - BCa_Hk_{-h}$$
(2.19)

In het verdere verloop van het artikel van 1992 werken LANDESBERG & SIDEMAN met de **steadystate** relaties die tussen de toestandsvariabelen bestaan. Transiënte verschijnselen werden dus niet beschouwd. Dit houdt in dat de **vrije**  $Ca^{2+}$ -concentratie in de cel constant gehouden wordt. Om in experimenten een constante intracellullaire  $Ca^{2+}$ -concentratie te realiseren, gebruikt men hartspiercellen die van hun membraan ontdaan zijn (de zogenaamde *skinned cardiac cells*).

**Coöperativiteit** Op basis van experimenten van HOFMAN & FUCHS kende men het werkelijke verloop van de spierkracht F en totale hoeveelheid gebonden Ca<sup>2+</sup> aan troponine, BCa, in functie van de Ca<sup>2+</sup>-concentratie. Bij lage calciumconcentraties ([Ca<sup>2+</sup>] < 10<sup>-6</sup>M) kan men veronderstellen dat de hoeveelheid Ca<sup>2+</sup> gebonden aan de low-affinity sites van troponine verwaarloosbaar is:  $BCa \approx BCa_H$ . Door in dat gebied de meetdata te fitten aan de oplossing van de reactievergelijking (2.19) voor high-affinity sites, kent men de Ca<sup>2+</sup>-affiniteitscoëfficiënt van de high-affinity sites,  $K_h = \frac{k_h}{k_{-h}}$ , en dus het verloop van  $BCa_H$  in functie van de Ca<sup>2+</sup>-concentratie.





Figuur 2.8: Verloop van de  $\operatorname{Ca}^{2+}$ -affiniteit van low-affinity sites, K, in functie van de  $\operatorname{Ca}^{2+}$ -concentratie [19]

**Figuur 2.9:** Verband tussen de  $Ca^{2+}$ -affiniteit van low-affinity sites, K, en genormaliseerde kracht [19]

In het artikel komt men op basis van de bovenvermelde vergelijkingen tot volgende uitdrukking voor  $BCa_L$  in steady-state:

$$BCa_L = \frac{K[\text{Ca}]}{1 + K[\text{Ca}]} \tag{2.20}$$

waarin  $K = K_l = K_m$  met

$$K_l = \frac{k_l}{k_{-l}} \qquad K_m = \frac{k_m}{k_{-m}}$$
 (2.21)

waarbij  $K_l$  de Ca<sup>2+</sup>-affiniteit van low-affinity sites bij sterke cross-bridges en  $K_m$  de affiniteit bij zwakke cross-bridges voorstelt.

Op basis van deze uitdrukking en de experimentele gegevens kunnen we dan het verloop van de affiniteitscoëfficiënt K in functie van de Ca<sup>2+</sup>-concentratie berekenen, zoals weergegeven in figuur 2.8 (de Ca<sup>2+</sup>-concentratie is hier uitgedrukt in  $pCa = -\log_{10}[\text{Ca}^{2+}]$ , maar voor de duidelijkheid heeft men het minteken weggelaten).

De vaststelling dat K toeneemt met stijgende vrije Ca<sup>2+</sup>-concentratie is in overeenstemming met experimenten. De ontwikkelde kracht neemt echter ook toe met stijgende [Ca<sup>2+</sup>], dus een toename van de affiniteit K kan te maken hebben met [Ca<sup>2+</sup>] en/of F. Door experimenten uit te voeren met *vanadaat*, een fosfaat analoog, kan men cross-bridgevorming verhinderen en op die manier het aandeel van kracht (of dus aantal verbonden cross-bridges) in de Ca<sup>2+</sup>-affiniteit van de low-affinitysites inschatten. Daaruit blijkt dat er een verschil is in gebonden Ca<sup>2+</sup> als er wel of geen vanadaat aan de spier wordt toegevoegd. Concreet is de affiniteitscoëfficiënt 13 maal hoger als cross-bridges kunnen gevormd worden!

In andere experimenten heeft men de invloed van  $[Ca^{2+}]$  op K bij constante kracht F opgemeten, waaruit geconcludeerd kon worden dat **het effect van**  $[Ca^{2+}]$  **op de affiniteitscoëfficiënt** K insignificant is in vergelijking met het effect van de kracht F. Figuur 2.9 toont het verband tussen affiniteitscoëfficiënt K zonder vanadaat en genormaliseerde kracht.

Met deze kennis introduceerden LANDESBERG & SIDEMAN coöperativiteit in hun model door de coëfficiënt K in de toestandsvergelijkingen afhankelijk te maken van het aantal gebonden cross-bridges.

**Loose coupling versus tight coupling** In hun artikels verwijzen LANDESBERG & SIDEMAN [19; 20] naar het artikel van ZAHALAK & MA [40] over het Distribution-Moment model, dat eerder aan bod kwam, in verband met de keuze tussen *tight* en *loose coupling*. ZAHALAK & MA kozen voor het tight coupling model met als argument dat het loose coupling model de extra  $Ca^{2+}$ -vrijgave in *quick-release* experimenten niet kan verklaren.

LANDESBERG & SIDEMAN gaan hiertegen in door eerst te argumenteren dat het tight coupling model zelf niet alle verschijnselen kan verklaren. Concreet kan het tight coupling model de  $Ca^{2+}$ -vrijgave in *rigor*-toestand (stijve spiertoestand; bij afwezigheid van ATP) niet verklaren. Vóór het wegnemen van ATP is de ontwikkelde kracht door de spier afhankelijk van de  $Ca^{2+}$ -concentratie, maar eens de spier de rigor-toestand bereikt, blijft kracht bewaard, maar worden de gebonden  $Ca^{2+}$ -ionen vrijgegeven. Een tweede verschijnsel dat het tight coupling model tegenspreekt, is het feit dat gedurende spierrelaxatie de  $Ca^{2+}$ -ontbinding van troponine voorloopt op de krachtafname.

Het loose coupling model kan bovenstaande verschijnselen wel verklaren. Wat  $\operatorname{Ca}^{2+}$ -vrijgave bij quick release experimenten betreft, kan een loose coupling model dit reconstrueren door variabele coëfficiënten in te voeren (invloed van snelheid V op cross-bridgevorming) en de  $\operatorname{Ca}^{2+}$ -affiniteit van low-affinity sites van troponine (K) uit te drukken als een krachtafhankelijke coëfficiënt. Quick release van de spier verbreekt de cross-bridges en zorgt op die manier voor een reductie van K, wat resulteert in een extra  $\operatorname{Ca}^{2+}$ -vrijgave van de bindingssites.

**Isotone contracties** In hun artikels van 1993 [18] en 1994 [20] vulden LANDESBERG & SI-DEMAN hun model aan door er enerzijds een model van calciumdynamica aan toe te voegen. Concreet simuleert dit deelmodel de vrije  $Ca^{2+}$ -transiënt die optreedt in het myociet, op basis van ionstromen van en naar het sarcoplasmatisch reticulum en over het celmembraan.

Anderzijds maakten LANDESBERG & SIDEMAN hun model ook geschikt voor het simuleren van isotone contracties. Daarbij werd rekening gehouden met het feit dat het glijden van filamenten twee effecten heeft:

- Bij spierverkorting gaan bepaalde troponine-eenheden over van het *single-overlap* gebied naar het *non-force-generating* gebied en het omgekeerde geldt bij spierverlenging. Het aantal eenheden dat getransfereerd wordt, is evenredig met de onderlinge glijsnelheid van de filamenten en de ogenblikkelijke dichtheid van troponine in elk van de toestanden.
- Daarnaast heeft de glijsnelheid van de filamenten invloed op de snelheid g waarmee crossbridges overgaan van de sterke conformatie (gebonden) naar de zwakke conformatie (niet gebonden). Deze afhankelijkheid wordt lineair verondersteld.

Deze vaststellingen geven aanleiding tot een tweede feedbackmechanisme in het model, naast coöperativiteit: de **mechanische feedback**.

Tenslotte bracht men in het model ook de passieve mechanische eigenschappen van de spiervezel in rekening door de interne spierbelasting (*internal load*) te definiëren, die een bepaald aandeel in de totale kracht heeft, naast het actieve contractiedeel.

Al deze beschouwingen leiden tot het volgend fysiologisch model:



Figuur 2.10: Schema van het dynamisch model van LANDESBERG & SIDEMAN [18; 20]

**Een dynamisch model** Zoals reeds gezegd was het model van LANDESBERG & SIDEMAN uit 1992 [19] een steady-state model, waarbij de vrije  $Ca^{2+}$ -concentratie in de cel constant gehouden werd. Toen werd de basis gelegd voor het coöperativiteitsmechanisme en de *force-length relation*. De artikels van 1993 [18] en 1994 [20] behandelden de mechanische feedback in het model en de *force-velocity relation*, waarmee men evolueerde naar het gedrag van een **intacte cel**, waar de  $Ca^{2+}$ -concentratie nooit een steady-state toestand bereikt en de spier niet enkel onderworpen is aan isometrische condities. Een **dynamisch model** werd dus opgesteld.

**Belang van feedbackmechanismen** Zoals gezegd zijn in het dynamisch model van LAN-DESBERG & SIDEMAN twee intracellulaire controlemechanismen aanwezig: het coöperativiteitsmechanisme en de negatieve mechanische feedback. In 1996 voerde LANDESBERG een studie uit [17] die het belang van de aanwezigheid van deze controlemechanismen aantoonde voor simulatie op ventriculair niveau.

Concreet is coöperativiteit verantwoordelijk voor de lengte-afhankelijke calciumgevoeligheid met toenemende sarcomeerlengte. Verlenging van het sarcomeer verhoogt immers het aantal crossbridges in het *single-overlap* gebied, en verhoogt op die manier het activatieniveau. Deze verhoging van het activatieniveau brengt een hoger aantal cross-bridges in de sterke conformatie met zich mee, en door coöperativiteit geeft dit aanleiding tot een hogere affiniteit van troponine voor calcium. Dit mechanisme verklaart de typische vorm van het kracht-lengteverband (FLR) en de *Frank-Starling wet*, die zegt dat een grotere vulling van het hart aanleiding geeft tot een hogere contractiekracht. De mechanische feedback bepaalt de vorm van de kracht-snelheidscurve (FVR).

De twee controlemechanismen bepalen dus het typische verloop van het druk-volumeverloop in

het ventrikel, en zijn dus onontbeerlijk in het modelleren van een hartspiervezel. De aanwezigheid van deze controlemechanismen in het model van LANDESBERG & SIDEMAN is een sterk positief punt van dit model.

De laatste 15 jaar zijn er heel wat artikels verschenen van LANDESBERG en/of SIDEMAN waarin gebruik gemaakt wordt van het door hen ontwikkelde model dat hierboven is beschreven. Op vlak van notaties en definities van de optredende variabelen is men echter niet consequent in de artikels. In deze thesis is gekozen voor de notaties en definities uit het meest recente artikel [38] dat verschenen is rond het model van LANDESBERG & SIDEMAN en deze zijn zoveel mogelijk toegepast in het aanhalen van oudere artikels, omwille van uniformiteit. De *Lijst van afkortingen en symbolen* bevat dan ook de meest recente definities.

# Hoofdstuk 3

# Constructie van een compleet hartspiercelmodel

De doelstelling van deze thesis is om tot een compleet celmodel van een myociet of hartspiervezel te komen, dat in staat is om spiercontracties zo realistisch mogelijk te benaderen en dit op een computationeel efficiënte wijze.

In dit hoofdstuk wordt de opbouw van een model beschreven, compleet met aannames en wiskundige beschrijvingen. Op basis van de literatuurstudie, samengevat in hoofdstuk 2 is ervoor gekozen om het model van LANDESBERG & SIDEMAN als basis te nemen. Dit model is zeer geschikt voor het modelleren van mechanische contractie van hartspiercellen, omwille van volgende argumenten:

- Het model is gericht op de simulatie van **hartspieren**. Hoewel modellering van skelet- en hartspiercellen vrij gelijkaardig zijn, bestaan er nuanceverschillen. Concreet gaat het om de parameterkeuzes en het aantal *low-affinity* bindingssites voor binding van Ca<sup>2+</sup> aan troponine.
- Het is een **mechanistisch model**. Niet het *force-velocity* verband (FVR) ligt aan de basis van de modelbeschrijving, maar wel de verschillende toestanden van de cross-bridges en de bijhorende regulerende proteïnen.
- Implementaties van calciumdynamica alsook excitation-contraction coupling zijn aanwezig.
- Voor het verband tussen binding van Ca<sup>2+</sup> aan troponine en de cross-bridge cyclus wordt uitgegaan van het **loose coupling** principe, wat de realiteit het best benadert.
- **Coöperativiteit** is aanwezig als één van de twee feedback processen in de excitatiecontractie koppeling. Het tweede proces is de feedback van verkortingssnelheid op de cross-bridge cyclus, de zogenaamde **mechanische feedback**. Zoals reeds vermeld in vorig hoofdstuk, zijn deze controlemechanismen van groot belang in het correct reconstrueren van het druk-volumeverband op ventrikelniveau.
- Het model brengt in rekening dat het gedrag van een spier afhangt van zijn contractiegeschiedenis. Zo kan de spier bij een gegeven tijdstip, lengte, belasting en snelheid, een

verschillend gedrag vertonen, afhankelijk van het door de spier afgelegde pad. Dit "**spier-geheugen**" wordt uitgedrukt door de toestandsvariabelen en de verbanden tussen die variabelen.

• Het is een dynamisch model dat zowel isometrische als isotone contracties kan reconstrueren.

De volgende paragrafen beschrijven de opbouw van het hartspiercelmodel. Aan het model van LANDESBERG & SIDEMAN werden wijzigingen aangebracht, zoals zal blijken uit volgende paragrafen.

# 3.1 Cross-bridge dynamica

#### 3.1.1 Aannames

Omdat een mathematisch model onmogelijk alle aspecten van een reëel fysiologisch proces in aanmerking kan nemen, moeten veronderstellingen gemaakt worden die het proces vereenvoudigen. In het hartspiercelmodel van LANDESBERG & SIDEMAN werden op basis van vaststellingen volgende veronderstellingen gemaakt [20]:

- 1. De regelunit die besproken wordt in het model bestaat uit één regulerend troponinecomplex met de zeven aanliggende actinemolecules en de myosinekopjes.
- 2. Cross-bridges kunnen enkel in een sterke of zwakke conformatie voorkomen. Kracht wordt enkel geproduceerd in de sterke conformatie.
- 3. Een vrij myosinekopje en actine-gebonden myosine zijn in snel evenwicht. De cross-bridges in zwakke conformatie springen snel over van de ene actinesite naar de andere. Verder kunnen de cross-bridges in sterke conformatie tijdens de krachtontwikkeling snel aanhechten en loskomen.
- 4. De cross-bridge overgangen tussen zwakke en sterke conformatie worden beschreven door de snelheidsbeperkende stappen in het biochemisch model van de cross-bridgecyclus. Die snelheidsbeperkende stap in de overgang van zwakke naar sterke conformatie is gerelateerd de hydrolyse van ATP en fosfaatvrijgave.
- 5. De cross-bridge cycli tussen zwakke en sterke conformatie zijn onafhankelijk van elkaar.
- 6. Elke troponinemolecule heeft drie bindingssites voor calcium: twee ervan hebben hoge affiniteit voor calcium (*high-affinity* sites) en de derde heeft lage affiniteit (*low-affinity* sites). Calciumbinding aan elk van de *high-affinity* sites is onafhankelijk van calciumbinding aan andere bindingssites in het sarcomeer en heeft geen effect op het regelen van de cross-bridge cycli.
- 7. Binding van calcium aan *low-affinity* sites regelt de cross-bridge cycli. De hoofdrol van gebonden calcium is het regelen van ATPase activiteit, welke nodig is voor de overgang van cross-bridges van de zwakke naar sterke conformatie, zoals beschreven in hoofdstuk 1, paragraaf 1.2.3. In afwezigheid van calcium wordt de activiteit van ATPase verhinderd.

Enkel een insignificante overgang van cross-bridges van de zwakke naar sterke conformatie vindt plaats zonder calciumbinding aan de aanliggende troponinesite.

- 8. Troponine-tropomyosine-actine interacties langsheen het sarcomeer beïnvloeden de kinematica van calciumbinding aan de *low-affinity* sites van troponine.
- 9. Calcium kan dissociëren van troponine vóór de overgang van cross-bridges van sterke naar zwakke conformatie; cross-bridges kunnen bestaan in de sterke conformatie zonder dat calcium gebonden is aan troponine. Er is een losse koppeling tussen het loskomen van cross-bridges en calciumdissociatie van troponine, vanwaar de term *loose coupling model*.
- 10. Er zijn drie overlapregio's tussen de dunne actinefilamenten en de dikke myosinefilamenten: niet-overlap regio (*non-overlap*), een enkele-overlap regio (*single-overlap*) en een dubbeleoverlap regio (*double-overlap*).
- 11. Cross-bridge cycli worden niet beïnvloed door het dubbel overlappen van actinefilamenten met het myosinefilament. De nettokracht gegenereerd in de *double-overlap* gebieden is echter nul. Bijgevolg is de nettokracht gegenereerd door het sarcomeer functie van het aantal cross-bridges dat zich in de sterke conformatie bevindt in het *single-overlap* gebied.
- 12. De myosinekopjes en troponinecomplexen zijn uniform verdeeld langsheen de dunne en dikke filamenten. Het aantal myosinekopjes in het *single-overlap* gebied is evenredig met de lengte van dat gebied, maar de fractie cross-bridges die zich in de sterke conformatie bevinden is afhankelijk van de calciumkinematica en cross-bridgecyclus.
- 13. De snelheid waarmee cross-bridges overgaan van sterke naar zwakke conformatie hangt af van de rek die deze cross-bridges ondervinden, wat rechtstreeks gekoppeld is met de filament-glijsnelheid. In dit model veronderstelt men dat de overgangssnelheid van sterke naar zwakke conformatie van de cross-bridges lineair afhangt van de filamentglijdingssnelheid:  $g = g_0 + g_1 V$ .
- 14. Door het glijden van de filamenten worden troponine regelunits aan de rand van een bepaald sarcomeergebied overgedragen naar een ander gebied: van het non-overlap gebied naar single-overlap gebied en van het single-overlap gebied naar double-overlap gebied bij contractie. Gedurende de spierverlenging bij de relaxatie gebeurt het omgekeerde. De hoeveelheid troponine in elke toestand die overgedragen wordt tussen de gebieden ten gevolge van filamentglijden is proportioneel met de glijsnelheid van de filamenten én ogenblikkelijke troponinedichtheid in elke toestand. De overdracht van een toestandsvariabele van het non-overlap gebied naar het single-

overlap gebied tijdens contractie hangt af van de hoeveelheid calcium gebonden aan het actinefilament in het non-overlap gebied en het aantal cross-bridges in sterke conformatie op het myosinefilament in het single-overlap gebied.

15. De individuele cross-bridges gedragen zich als Newtoniaanse viscoelastische elementen: het gemiddelde *force-velocity* verband van één enkele cross-bridge is bij benadering lineair.

16. De interne spierbelasting of *internal load*, die de passieve mechanische sarcomeereigenschappen in rekening brengt (paragraaf 2.2.3), heeft visco-elastische eigenschappen, zoals opgemeten werd bij plotse spierlengtewijzigingen van een spier in rust.

Bovenstaande veronderstellingen laten toe om het spiercontractieproces in een mathematisch model te gieten.

#### 3.1.2 Mathematisch model

**Sarcomeergeometrie** Uit het snelheidsverloop kunnen we de sarcomeerlengte SL in de tijd berekenen, door integratie:

$$\frac{dSL}{dt} = -V \tag{3.1}$$

V is gedefinieerd als de verkortingssnelheid van het sarcomeer en is bijgevolg positief bij sarcomeerverkorting, wat het minteken in de vergelijking verklaart.



Figuur 3.1: Boven: Schematische voorstelling van een half sarcomeer, met de verschillende overlap regio's. Onder: De verschillende toestanden in elke regio en de overgangen hiertussen, in isometrisch regime [20]

Vervolgens kan het sarcomeer opgesplitst worden in drie componenten, zijnde de *single-overlap*, *double-overlap* en *non-overlap* gebieden:

$$SL = L_s + L_d + L_n \left( + L_b + L_z \right)$$
(3.2)

De termen  $L_b$  en  $L_z$  stellen respectievelijk lengte van de kale zone in het midden van het myosinefilament (draagt geen myosinekopjes) en de breedte van de Z-schijven voor, en zijn hier vermeld om een mathematisch correcte beschrijving te bekomen. Onder normale fysiologische omstandigheden geldt:

$$L_s = \alpha L_m \tag{3.3}$$

$$L_d = (1 - \alpha)L_m \tag{3.4}$$

$$L_{n} = SL - L'_{m} - L_{z} = SL - L_{m} - L_{b} - L_{z}$$
(3.5)

Dit volgt meteen uit figuur 3.1, rekening houdende met de definitie van de overlapverhouding:

$$\alpha \triangleq \frac{L_s}{L_m} \tag{3.6}$$

en met  $L_m = L'_m - L_b$  de lengte van het myosinefilament dat effectief myosinekopjes draagt.

**Modeltoestanden** Zoals reeds aangehaald in paragraaf 2.2.3 definieert het model van LAN-DESBERG & SIDEMAN vier toestanden R, A, T en U, die vastgelegd zijn door de conformatie waarin de cross-bridges zich bevinden en het al dan niet gebonden zijn van Ca<sup>2+</sup> aan troponine (zie tabel 2.1). Aanvankelijk maakte men geen onderscheid tussen het *non-overlap* en *doubleoverlap* gebied, door deze samen als het *non-force generating* gebied te beschouwen. Wegens aanname 11 echter bestaan er in het *double-overlap* gebied eveneens vier toestanden zoals in het *single-overlap* gebied, zodat dit verschilt van het *non-overlap* gebied, waar slechts twee toestanden kunnen bestaan (namelijk R en A, de zwakke-conformatietoestanden). In het vervolg wordt dus wel een onderscheid gemaakt.

De mogelijke toestanden en hun overgangen in **isometrisch regime** zijn voor elk van de drie sarcomeergebieden weergegeven in figuur 3.1. Deze schema's zijn gelijkaardig aan figuur 2.7, waarbij nu de mechanische feedback geïmplementeerd wordt door  $g_0$  en  $g'_0$  te vervangen door respectievelijk  $g(V) = g_0 + g_1 V$  en  $g'(V) = g'_0 + g'_1 V$ , in overeenstemming met aanname 13 van dit model. De toestandsvariabelen zijn  $R_s$ ,  $A_s$ ,  $T_s$  en  $U_s$  voor het single-overlap gebied;  $R_d$ ,  $A_d$ ,  $T_d$  en  $U_d$  voor het double-overlap gebied en tenslotte  $R_n$  en  $A_n$  voor het non-overlap gebied. Deze variabelen stellen de concentraties troponineunits voor in elke toestand van de beschouwde overlapgebieden. In de veronderstelling dat de troponineunits uniform verdeeld zijn langs het actinefilament, geldt:

$$R_i + A_i + T_i + U_i = TRo \qquad i \in \{s, d\}$$

$$(3.7)$$

$$R_n + A_n = TRo \tag{3.8}$$

met TRo de totale concentratie troponine in de cel (die constant genomen wordt).

Zoals vermeld in aanname 14 van het model treden er in een **niet-isometrisch regime** ook overgangen tussen de toestanden op als gevolg van het glijden van de filamenten ten opzichte van elkaar, wat niet weergegeven is in figuur 3.1. Om het effect van de cross-bridgecyclus en dat van het filamentglijden gescheiden te kunnen houden bij de modellering, voert men een nieuwe set toestandsvariabelen in. Als  $X_i \in \{R_n, A_n, R_s, A_s, T_s, U_s, R_d, A_d, T_d, U_d\}$  een originele

$$\overline{X}_{i} = \frac{X_{i}}{L_{i}}; \qquad \overline{X}_{i} \in \left\{\overline{R}_{i}, \overline{A}_{i}, \overline{T}_{i}, \overline{U}_{i}\right\}; \qquad i \in \{n, s, d\}$$
(3.9)

Gebruik makend van die dichtheidstoestandsvariabelen, kan men de overgangen tussen de verschillende toestanden ten gevolge van cross-bridge cyclus en calciumdynamica gewoon uitschrijven, zonder rekening te moeten houden met het schuiven van filamenten. Dit laatste wordt in een later stadium geïmplementeerd. Op basis van figuur 3.1 geldt dan:

$$\begin{bmatrix} \overline{R}_{i} \\ \overline{A}_{i} \\ \overline{T}_{i} \\ \overline{U}_{i} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_{l} [\operatorname{Ca}]_{i} & k_{-l} & 0 & g'(V) \\ k_{l} [\operatorname{Ca}]_{i} & -f - k_{-l} & g(V) & 0 \\ 0 & f & -g(V) - k_{-m} & k_{m} [\operatorname{Ca}]_{i} \\ 0 & 0 & k_{-m} & -k_{m} [\operatorname{Ca}]_{i} - g'(V) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \overline{R}_{i} \\ \overline{A}_{i} \\ \overline{T}_{i} \\ \overline{U}_{i} \end{bmatrix}$$
(3.10)

Voor de overgangen tussen de twee toestanden  $\overline{R}_n$  en  $\overline{A}_n$  in het non-overlap gebied geldt:

$$\begin{bmatrix} \dot{\overline{R}}_n \\ \dot{\overline{A}}_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -k_l \, [\operatorname{Ca}]_i & k_{-l} \\ k_l \, [\operatorname{Ca}]_i & -k_{-l} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \overline{R}_n \\ \overline{A}_n \end{bmatrix}$$
(3.11)

De definities van de coëfficiënten  $k_l$  en  $k_{-l}$  uit vorig hoofdstuk blijven ongewijzigd, dus dit zijn de snelheidsconstanten van calciumbinding aan low-affinity sites van troponine voor zwak verbonden cross-bridges. Hetzelfde geldt voor  $k_m$  en  $k_{-m}$ , de snelheidsconstanten van calciumbinding aan low-affinity sites van troponine voor sterk verbonden cross-bridges.

Merk op dat de coëfficiciënten  $k_{-l}$  en  $k_{-m}$ , die de calciumdissociatie van troponine beschrijven, niet constant zijn omwille van het **coöperativiteitsmechanisme**, dat in een verdere paragraaf uitgewerkt wordt.

Dankzij twee aannames die volgen uit experimenten, kunnen bovenstaande vergelijkingen sterk vereenvoudigd worden [20].

- 1. De snelheid waarmee cross-bridges verbroken worden, is onafhankelijk van het al dan niet aanwezig zijn van Ca<sup>2+</sup> op de troponine, dus  $g = g' = g_0 + g_1 V$ .
- 2. Alle *low-affinity* sites op troponine hebben ongeveer dezelfde affiniteit voor calcium, dus onafhankelijk van de conformatie van de cross-bridges. Concreet betekent deze aanname dat de coëfficiënten  $k_l = k_m$  en  $k_{-l} = k_{-m}$ . Deze aanname werd in vorig hoofdstuk ook reeds gemaakt in de voorstelling van het model van LANDESBERG & SIDEMAN, door te stellen dat de affiniteitscoëfficiënten van *low-affinity* sites voor Ca<sup>2+</sup> bij zwakke respectievelijk sterke cross-bridge conformatie gelijk zijn:  $K = K_l = K_m$ . Wanneer vanaf nu gesproken wordt over de affiniteitscoëfficiënt van low-affinitysites voor Ca<sup>2+</sup>, bedoelen we:

$$K \triangleq \frac{k_l}{k_{-l}} \tag{3.12}$$

**Glijden van filamenten** Tot nu toe werden de toestandsovergangen ten gevolge van crossbridge cyclus en calciumdynamica beschreven, als veranderingen in de dichtheidstoestandsvariabelen  $\left(\frac{d\overline{X}_i}{dt}\right)$ . Echter, ten gevolge van het glijden van de filamenten ten opzichte van elkaar, veranderen de lengtes van de drie overlapgebieden en bijgevolg ook het aantal troponine-units in elk overlapgebied.

Het effect van het glijden van filamenten wordt in rekening gebracht door eenvoudigweg de uitdrukking  $X_i = \overline{X}_i L_i$  af te leiden naar de tijd:

$$\frac{\mathrm{d}X_i}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{X}_i}{\mathrm{d}t}L_i + \overline{X}_i\frac{\mathrm{d}L_i}{\mathrm{d}t}$$
(3.13)

Uit de paragraaf rond sarcomeergeometrie op pagina 41 volgt dat:

$$\frac{\mathrm{d}L_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}L_n}{\mathrm{d}t} = -V \qquad \frac{\mathrm{d}L_d}{\mathrm{d}t} = V \tag{3.14}$$

Dit geeft aanleiding tot volgende uitdrukkingen voor de toestandsvariabelen:

$$\frac{\mathrm{d}X_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}X_s}{\mathrm{d}t} L_s - \overline{X}_s V \qquad , X \in \{R, A, T, U\}$$
(3.15)

$$\frac{\mathrm{d}X_d}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}X_d}{\mathrm{d}t} L_d + \overline{X}_d V \qquad , X \in \{R, A, T, U\}$$
(3.16)

$$\frac{\mathrm{d}X_n}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}X_n}{\mathrm{d}t} L_n - \overline{X}_n V \qquad , X \in \{R, A\}$$
(3.17)

**Kracht** Op basis van aanname 15 is de gemiddelde kracht die gegenereerd wordt per crossbridge gegeven door:

$$F_{XB} = \overline{F} - \eta V = \overline{F} \left( 1 - \frac{V}{V_u} \right)$$
(3.18)

waarbij  $\overline{F}$  de eenheidskracht is die door elke cross-bridge gegenereerd wordt bij isometrische contractie.  $\eta$  is de visceuze coëfficiënt, bepaald door de maximale verkortingssnelheid  $(V_u)$ :

$$\eta \triangleq \frac{\overline{F}}{V_u} \tag{3.19}$$

Door de kracht van één cross-bridge te vermenigvuldigen met het aantal cross-bridges dat zich in sterke conformatie bevindt, bekomt men de actieve contractiekracht ontwikkeld door het beschouwde sarcomeer. Het aantal cross-bridges in sterke conformatie wordt gegeven door:

$$N_{XB} = [N_C L_s (T_s + U_s)] N_A 10^{-30}$$
(3.20)

in overeenkomst met aannames 7 en 12.  $N_C$  is hierin een constante die het aantal regulerende eenheden (gedefinieerd in aanname 1) per sarcomeer en de sarcomeerdichtheid per eenheidsdoorsnede van een spiervezel in rekening brengt [37]. De factoren buiten de haakjes dienen voor de nodige omzettingen tussen eenheden en zijn hier voor de volledigheid vermeld. Eén van die factoren is  $N_A$ , het getal van Avogadro.

Uiteindelijk is de totale actieve contractiekracht als volgt uit te drukken:

$$F_{CE} = N_{XB} F_{XB} \tag{3.21}$$

Daarnaast is er nog de interne spierbelasting of *internal load* die een aandeel heeft in de totale spiervezelkracht. De *internal load* vertoont visco-elastische eigenschappen en wordt hier gesimuleerd door een parallel element, dat visceuze en passief elastische eigenschappen heeft [6; 20]:

$$F_{PE} = \eta_{PE} V + \begin{cases} E \left( e^{D\left(\frac{SL}{Sp_0} - 1\right)} - 1 \right) & SL \ge Sp_0 \\ -B \left( 1 - \frac{SL}{Sp_0} \right) & SL < Sp_0 \end{cases}$$
(3.22)

Hierin zijn E, D en B empirische constanten,  $Sp_0$  is de lengte van een ontspannen sarcomeer en  $\eta_{PE}$  stelt de visceuze eigenschap van de *internal load* voor.

De totale spiervezelkracht is dan uiteindelijk gegeven door:

$$F = F_{CE} + F_{PE} \tag{3.23}$$

**Coöperativiteit** Zoals reeds uitgelegd in hoofdstuk 2 is de meest dominante vorm van coöperativiteit de invloed van de ontwikkelde kracht of het aantal cross-bridges in sterke conformatie op de affiniteit van de *low-affinity* sites van troponine voor  $Ca^{2+}$ .

De coëfficiënt  $k_l$  voor binding van Ca<sup>2+</sup> op *low-affinity* sites wordt constant verondersteld. Dit heeft tot gevolg dat enkel nog de affiniteitscoëfficiënt K moet uitgedrukt worden in functie van het aantal cross-bridges in sterke conformatie, zijnde  $N_{XB}$ . De publicatie van YANIV ET AL uit 2006 [38] veronderstelt een lineair verband tussen deze twee grootheden, voor de eenvoud. In een artikel uit 2005 [37] waarin de effecten van coöperativiteit bekeken worden, gebruiken dezelfde auteurs een complexer verband. De calciumaffiniteit is er een sigmoïdale functie van  $\overline{N}_{XB}$ , die beter aansluit bij de meetresultaten:

$$K = K_0 + K_1 \frac{\overline{N}_{XB}^n}{K_{0.5}^n + \overline{N}_{XB}^n}$$
(3.24)

met  $K_0$  de calciumaffiniteit in rust en  $K_0 + K_1$  de maximale affiniteit.  $K_0$  en  $K_1$  zijn bepaald op basis van de vaststelling dat de affiniteit bij volledige activatie ongeveer 20 keer de affiniteit in rust bedraagt. De constanten  $K_{0.5}$  en n werden gefit om de waargenomen grote naijling van kracht op sarcomeerlengte bij lage oscillatiefrequenties te reproduceren. De naijling tussen kracht en sarcomeerlengte is toe te schrijven aan coöperativiteit als positief feedbackmechanisme in het spiermodel [37].

Merk op dat in bovenstaande uitdrukking niet  $N_{XB}$ , zoals gedefinieerd in (3.20), gebruikt wordt, maar wel:

$$\overline{N}_{XB} = T_s + U_s \tag{3.25}$$

zijnde de **concentratie** sterk verbonden cross-bridges.

Het sigmoïdaal verband wordt in dit model gebruikt, omdat dit het coöperativiteitverschijnsel goed benadert, ondanks de nog onvolledige kennis van dit verschijnsel.

**Snelheid** Het verloop van de snelheid wordt bepaald door de last die de spier ondervindt. Voor simulatie van een compleet hart bijvoorbeeld kan sarcomeer-verkortingssnelheid als gevolg van ontwikkelde kracht bepaald worden door het celmodel te koppelen aan een model op grotere ruimteschaal, dat de hartpompwerking beschrijft. Dit komt later nog aan bod. In eerste instantie wordt het spiercelmodel bekeken, dat in staat moet zijn om isometrische en isotone contracties te reconstrueren.

Zoals reeds gezien in paragraaf 1.3 over de verschillende contractiemodes, is in het geval van een **isometrische contractie** de maximaal ontwikkelde kracht nog steeds kleiner dan de belasting die de spier moet verplaatsen ( $F < F_B$ ). Het snelheidsverloop is dan zeer eenvoudig uit te drukken door V = 0.

In de isotone contractiemode treedt spierverkorting op, waarbij de ontwikkelde kracht tijdens

de verkorting constant blijft. Het snelheidsverloop dat hiermee gepaard gaat, wordt bekomen door te eisen dat:

$$\frac{\mathrm{d}F}{\mathrm{d}t} = 0 \tag{3.26}$$

Door deze uitdrukking toe te passen op vergelijkingen (3.21), (3.22) en (3.23) bekomt men volgende differentiaalvergelijking op de snelheid V:

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} = \left\{ F_C \left[ 1 - \frac{V}{V_u} \right] \left[ L_s f A_s - (T_s + U_s) \left\{ L_s (g_0 + g_1 V) + 2 V \right\} \right] - K_{PE} V \right\} \\ \left\{ F_C \frac{L_s}{V_u} (T_s + U_s) - \eta_{PE} \right\}^{-1} \quad (3.27)$$

 $\operatorname{met}$ 

$$F_C = 10^{-30} N_A N_C \overline{F}$$
 (3.28)

$$K_{PE} = \begin{cases} \frac{ED}{Sp_0} e^{D\left(\frac{SL}{Sp_0} - 1\right)} &, SL \ge Sp_0 \\ \frac{B}{Sp_0} &, SL < Sp_0 \end{cases}$$
(3.29)

De wiskundige uitwerking hiervan is te vinden in bijlage A.

Algoritmisch gezien wordt het snelheidsverloop als volgt geïmplementeerd:

$$V = \begin{cases} 0 & , F < F_B \\ V \text{ voldoet aan (3.27)} & , F \ge F_B \end{cases}$$
(3.30)

# 3.2 Calciumdynamica

#### 3.2.1 Fenomenologisch model

Om het spiergedrag (krachtontwikkeling, lengte, snelheid) te kunnen simuleren, moeten we enkel nog de calciumdynamica modelleren. In het model van LANDESBERG & SIDEMAN [18; 20] wordt gebruik gemaakt van een eenvoudig fenomenologisch model van de  $Ca^{2+}$ -stromen in het sarcolemma en het sarcoplasmatisch reticulum, waarbij verondersteld wordt dat deze laatste twee volledig onafhankelijk werken. Dit is een model van LEE & ALLEN. Figuur 3.2 toont het onderdeel van het model van LANDESBERG & SIDEMAN dat de calciumdynamica beschrijft.



Free Co<sup>2+</sup> TRANSIENT

Figuur 3.2: Fragment uit de modelvoorstelling, dat de calciumdynamica van het model van LANDES-BERG & SIDEMAN beschrijft [18; 20]

De vier calciumfluxen in het schema van figuur 3.2 worden als volgt uitgedrukt [20]:

$$I_s = Q_s \left[ \left( 1 - e^{-\frac{t}{\tau_{SR}}} \right) e^{-\frac{t}{\tau_{SF}}} + I_l \right] [\text{Ca}]_o$$
(3.31)

$$I_o = Q_o[\operatorname{Ca}]_i \tag{3.32}$$

$$I_i = Q_i \left[ \left( 1 - e^{-\frac{t}{\tau_{iR}}} \right) e^{-\frac{t}{\tau_{iF}}} + I_l \right] [\text{Ca}]_{sr}$$

$$(3.33)$$

$$I_u = Q_u \frac{[\operatorname{Ca}]_i}{K_{mu} + [\operatorname{Ca}]_i} \tag{3.34}$$

Deze vergelijkingen tonen duidelijk de fenomenologische aard van het calciumdynamicamodel. In werkelijk is de calciumdynamica het gevolg van verschillende ion-stromen en -pompen over het celmembraan, alsook over het membraan van het sarcoplasmatisch reticulum. In dit model werden alle optredende calciumstromen samengevat in vier nettofluxen, waarvan het verloop benaderd werd door statische exponentiële functies.

In de evaluatie van hun dynamisch model [20] halen LANDESBERG & SIDEMAN aan dat ondanks het feit dat dit eenvoudig calciumdynamica model wel mooie resultaten levert, een complexere beschrijving van de calciumdynamica tot nieuwe inzichten zou kunnen leiden. Het implementeren van een realistischer calciumdynamica-model is een relatief kleine moeite, gezien het grote aantal elektrofysiologische modellen dat reeds bestaat. Het implementeren van een elektrofysiologisch model dat de verschillende ionstromen, -pompen en -poorten modelleert houdt een **groot voordeel** in, omdat het nieuwe mogelijkheden biedt aan het spiercelmodel. Zo zou men in staat zijn om de invloed van het blokkeren van een bepaalde ionpomp of -poort op de spierwerking en zelfs de volledige hartwerking in te schatten aan de hand van gerichte simulaties.

#### 3.2.2 ten Tusscher et al

Op basis van de hierboven gevoerde argumentering is er in dit onderzoek voor gekozen om de beschrijving van de calciumdynamica over te laten aan een elektrofysiologisch model, dat minder fenomenologisch maar meer mechanistisch van aard is, en dit model dan te koppelen aan het mechanisch celmodel.

Prof. DENNIS NOBLE van de Universiteit van Oxford kan als één van de grondleggers van de elektrofysiologische modellering in het hart beschouwd worden. Doorheen de jaren ontwikkelde zijn onderzoeksgroep elektrofysiologische modellen die steeds complexer werden, doordat ze biofysisch gedetailleerder werden.

Het model uit 1998, beschreven in NOBLE ET AL [24] is het meest complexe model van de onderzoeksgroep en reconstrueert het gedrag van een ventriculaire spiercel van een guinees biggetje. Het TEN TUSSCHER ET AL model van de onderzoeksgroep [32] uit 2004 is iets minder gedetailleerd, om het model computationeel niet te zwaar te maken, zodat het model bruikbaar is om te implementeren in *multi-scale* modellen die weefsels tot volledige organen simuleren.

Vermits het hartspiercelmodel van deze thesis bedoeld is om te kunnen gebruiken in het modelleren van hogere ruimteschalen, lijkt het TEN TUSSCHER ET AL model interessant om te gebruiken. Een tweede argument in het voordeel van dit elektrofysiologisch model is dat het bedoeld is om menselijk ventriculair weefsel te kunnen modelleren.

Vóór het model van TEN TUSSCHER ET AL was het enige bestaande model voor menselijke ventriculaire cellen dat van PRIEBE & BEUCKELMAN [27], gebaseerd op het LUO-RUDY model voor ventriculaire cellen van guinese biggetjes. Hoewel het model van PRIEBE & BEUCKELMAN redelijk goed de basiskenmerken van actiepotentialen van normale en falende menselijke ventrikelcellen kan reconstrueren, zijn verschillende ionstromen gebaseerd op experimentele data van dieren, waardoor bepaalde eigenschappen niet goed gereproduceerd worden. In dat opzicht is het model van TEN TUSSCHER ET AL beter, aangezien het gebaseerd is op recente en meer gedetailleerde meetdata. Bovendien is het PRIEBE-BEUCKELMAN model niet geoptimaliseerd om gebruikt te worden in *multi-scale* modellering.



Figuur 3.3: Diagramvoorstelling van het model van TEN TUSSCHER ET AL (2004) [22]

Figuur 3.3 toont een schematische voorstelling van het model van TEN TUSSCHER ET AL, met de ionstromen en -pompen, alsook de aanwezige buffers in het model. Zoals de meeste elektrofysiologische modellen is dit opgebouwd aan de hand van een HODGKIN-HUXLEY type elektrisch equivalent van het spiercelmembraan. Dit membraan heeft een zekere capaciteit  $C_m$ , waarmee resistieve transmembraan kanalen, ionenpompen en exchangerstromen in parallel staan. De wetten van KIRCHHOFF leiden tot een differentiaalvergelijking die het verloop van de membraanpotentiaal  $V_m$  geeft:

$$\frac{\mathrm{d}V_m}{\mathrm{d}t} = -\frac{I_{ion} + I_{stim}}{C_m} \tag{3.35}$$

met

$$I_{ion} = I_{Na} + I_{K1} + I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{CaL} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{pCa} + I_{pK} + I_{bCa} + I_{bNa}$$
(3.36)

en  $I_{stim}$  is de extern aangebrachte stimulus.

Daarnaast kan het model ook intracellullaire concentraties van de drie beschouwde ionen  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$  en  $K^+$  berekenen.

**Opmerking** Tijdens het verkennen en implementeren van het model van TEN TUSSCHER ET AL stootte ik in het artikel [32] op inconsistenties in de eenheden van bepaalde parameters. In contacten met één van de auteurs van het artikel, met name PENNY NOBLE van de Universiteit van Oxford, werden deze fouten bevestigd. De auteurs verzekerden echter dat deze inconsistenties geen invloed hebben op de correctheid van het model.

### 3.3 Modelkoppeling

In het verleden werd het model van TEN TUSSCHER ET AL reeds gebruikt als onderdeel van een hartmodel, in het artikel van SHIM ET AL [30]. Daar werd opgemerkt dat de calciumdynamica in het TEN TUSSCHER ET AL model te eenvoudig is om te communiceren met een cross-bridgedynamica model, met name het modelleren van de intracellullaire  $Ca^{2+}$ -buffers.



Figuur 3.4: Calciumdynamica in het model van TEN TUSSCHER ET AL (2004)

Figuur 3.4 toont het modelschema uit vorige paragraaf, maar nu zijn enkel de ionstromen en -pompen weergegeven die betrekking hebben op de calciumdynamica van het model van TEN TUSSCHER ET AL. De calciumdynamica wordt beschreven door volgende set vergelijkingen [32]:

$$[Ca]_{itotal} = [Ca]_i + [Ca]_{ibufc}$$

$$(3.37)$$

 $\operatorname{met}$ 

$$\frac{d[Ca]_{itotal}}{dt} = -\frac{I_{CaL} + I_{bCa} + I_{pCa} - 2I_{NaCa}}{2V_CF} + I_{leak} - I_{up} + I_{rel}$$
(3.38)

$$[Ca]_{ibufc} = \frac{[Ca]_i Buf_c}{[Ca]_i + K_{bufc}}$$
(3.39)

Wat het sarcoplasmatisch reticulum betreft:

$$[Ca]_{srtotal} = [Ca]_{sr} + [Ca]_{srbufsr}$$
(3.40)

met

$$\frac{\mathrm{d}[\mathrm{Ca}]_{srtotal}}{\mathrm{d}t} = \frac{V_C}{V_{SR}} \left( -I_{leak} + I_{up} - I_{rel} \right)$$
(3.41)

$$[Ca]_{srbufsr} = \frac{[Ca]_{sr} Buf_{sr}}{[Ca]_{sr} + K_{bufsr}}$$
(3.42)

De ionstromen over de wand van het sarcoplasmatisch reticulum worden uitgedrukt als volgt:

$$I_{leak} = V_{leak} ([Ca]_{sr} - [Ca]_i)$$

$$(3.43)$$

$$I_{up} = \frac{V_{maxup}}{1 + \frac{K_{up}^2}{[Ca]_i^2}}$$
(3.44)

$$I_{rel} = \left(a_{rel} \frac{[\text{Ca}]_{sr}^2}{b_{rel}^2 + [\text{Ca}]_{sr}^2} + c_{rel}\right) dg$$
(3.45)

Hierin is  $[Ca]_{itotal}$  de totale intracellullaire calciumconcentratie, waarvan een deel vrij beschikbaar is in het cytoplasma ( $[Ca]_i$ ) en een deel gebufferd is ( $[Ca]_{ibufc}$ ). Dit laatste wordt beschreven door de vergelijking (3.39). Analoog bestaat de totale calciumconcentratie in het sarcoplasmatisch reticulum  $[Ca]_{srtotal}$  uit een vrij deel  $[Ca]_{sr}$  en een gebufferd deel  $[Ca]_{srbufsr}$ , beschreven door vergelijking (3.42).

Zoals reeds gezegd, wordt in SHIM ET AL [30] de opmerking gemaakt dat de calciumdynamica in het model van TEN TUSSCHER ET AL te eenvoudig is om te koppelen aan een cross-bridge model. Het tekort van het model zit in de modellering van de calciumbuffer in het cytoplasma, die te eenvoudig is.

De koppeling van het TEN TUSSCHER ET AL model met het model van LANDESBERG & SIDEMAN is een excitatie-contractie koppeling via een troponinebuffer.  $Ca^{2+}$ -ionen die binden aan *lowaffinity* of *high-affinity* sites van troponine, komen in de zogenaamde troponinebuffer terecht. Zoals reeds verschillende keren aangehaald in deze thesis heeft troponine 2 hoge-affiniteits bindingssites voor calcium en 1 lage-affiniteitssite in hartspiercellen.

Daarnaast is er nog een niet-myofibrillair proteïne dat tal van cellullaire activiteiten regelt door

calciumbinding, namelijk **calmoduline**. Dit proteïne is in veel lagere concentraties aanwezig in de spiercel dan troponine en heeft 4 calciumbindingssites per calmodulinemolecule. Calmoduline wordt mede in rekening gebracht als calciumbuffer, omdat troponine en calmoduline de enige calciumbindende proteïnes zijn die snel genoeg verzadigd raken om een rol te spelen in de snelle calciumregeling van spiercontractie. Zo is na een calciumtransiënt meer dan 94% van het gebonden calcium verbonden met calmoduline en troponine. [29]

Dus het modelleren van die twee buffers is noodzakelijk om enerzijds een realistischer model van de calciumdynamica te verkrijgen, en anderzijds om een goede koppeling met het crossbridgemodel mogelijk te maken. Het modelleren van deze twee specifieke calciumbuffers is in overeenstemming met het elektrofysiologisch model van PRIEBE & BEUCKELMAN [27], dat in vorige paragraaf al even vermeld werd. De beschrijving van de calmodulinebuffer is qua vorm analoog aan de originele calciumbuffer uit het TEN TUSSCHER ET AL model:

$$CMDN = \frac{[Ca]_i CMDN_{max}}{[Ca]_i + K_{mCMDN}}$$
(3.46)

In het PRIEBE-BEUCKELMAN model wordt voor de troponinebuffer dezelfde beschrijving gebruikt. Deze wordt in ons model echter niet overgenomen, omdat die troponinebuffer precies de link vormt tussen het elektrofysiologisch model en het cross-bridgemodel. Concreet:

$$TRPN = BCa_L + BCa_H \tag{3.47}$$

waarin  $BCa_L$  en  $BCa_H$  respectievelijk de hoeveelheid gebonden calcium aan de *low-affinity* en *high-affinity* sites voorstellen. De uitdrukkingen voor deze twee grootheden werden reeds vermeld in paragraaf 2.2.3, maar zien er in het huidig cross-bridge model als volgt uit:

$$BCa_{L} = \frac{L_{s} \left(A_{s} + T_{s}\right) + L_{d} \left(A_{d} + T_{d}\right) + L_{n} A_{n}}{L_{s} + L_{d} + L_{n}}$$
(3.48)

$$\frac{\mathrm{d}BCa_H}{\mathrm{d}t} = (2TRo - BCa_H) k_h [\mathrm{Ca}]_i - BCa_H k_{-h}$$
(3.49)

Vergelijkingen (3.46) en (3.47) vervangen de originele buffervergelijking (3.39), zodat uiteindelijk:

$$[Ca]_{itotal} = [Ca]_i + CMDN + TRPN$$
(3.50)

De vergelijkingen met betrekking tot het sarcoplasmatisch reticulum en de bijhorende buffer blijven ongewijzigd.

De koppeling tussen het elektrofysiologisch en cross-bridge dynamica model bestaat er dus in dat het model van TEN TUSSCHER ET AL de waarde van de totale intracellullaire calciumconcentratie levert. Op basis van de vrije calciumconcentratie (door iteratie bekomen) is de inhoud van de calmodulinebuffer gekend. In het model van LANDESBERG & SIDEMAN wordt de inhoud van de troponinebuffer berekend aan de hand van de hoeveelheid gebonden calcium aan troponine. Via bovenstaande vergelijking is dan de vrije intracellullaire calciumconcentratie gekend, die teruggegeven wordt aan het model van TEN TUSSCHER ET AL. Het elektrofysiologisch model heeft deze waarde immers nodig om bepaalde ionstromen te kunnen berekenen.

Tenslotte toont figuur 3.5 de schematische voorstelling van het totaal hartspiercelmodel dat opgebouwd werd.



Figuur 3.5: Totaal hartspiercelmodel, als koppeling van het elektrofysiologisch model van TEN TUS-SCHER ET AL en het cross-bridgemodel van LANDESBERG & SIDEMAN

## 3.4 Modelparameters

De originele parameters van het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL werden voor gebruik in dit model niet aangepast. Daarom wordt voor deze parameterwaarden verwezen naar *Table 1* van het artikel [32].

Wel valt nog op te merken dat het elektrofysiologisch model in staat is om drie types ventriculaire cellen te simuleren: Als men in een doorsnede van de ventrikelwand van de binnenzijde naar de buitenzijde van het hart beweegt, vindt men respectievelijk endocardiale, M-type en epicardiale cellen. Door enkele parameters in het elektrofysiologisch model te wijzigen, kan men elk van deze drie cellen simuleren.

Concreet verschillen endocardiale cellen van epicardiale en M-cellen in hun veel kleinere transiënte uitwaartse ionstroom  $I_{to}$  en het tragere herstel van inactivatie. Verder verschillen M-cellen van de endocardiale en epicardiale cellen door hun veel kleinere  $I_{Ks}$  stroom (*slow delayed rectifier current*) [32].

Alle andere parameters van het samengestelde model zijn weergegeven in tabel 3.1. De waarden voor de parameters zijn zoveel mogelijk gebaseerd op waarden uit de literatuur, waarbij telkens

	:		1 -			
gekozen	1S	voor	ae	meest	recente	publicatie.
0						T

Tabel 3.1:         Model										
Parameter	Wa	arde	Bron							
Sarcomeergeometrie										
$L_a$	$1,\!15$	$\mu m$	[20]							
$L_m^{\prime}$	$1,\!5$	$\mu m$	[20]							
$L_b$	$0,\!1$	$\mu m$	[20]							
$L_z$	0,1	$\mu m$	[20]							
Cross-bridge cyclus										
f	$0,\!04$	$ms^{-1}$	[38]							
$g_0$	$0,\!01$	$ms^{-1}$	[38]							
$g_1$	7,7	$\mu m^{-1}$	[38]							
Troponinecomplex										
TRo	60,0	$\mu M$	[20; 38]							
$k_h$	$1,0\ 10^{-3}$	$\mu M^{-1}  m s^{-1}$								
$k_{-h}$	$3,3\ 10^{-4}$	$ms^{-1}$	[20]							
$k_l$	$6,0\ 10^{-2}$	$\mu M^{-1}  m s^{-1}$	[37; 38]							
Krachtontwik	keling									
$N_c$	$2,1 \ 10^9$	-								
$V_u$	$1,0\ 10^{-2}$	$\mu m/ms$	[37; 38]							
$\eta_{PE}$	$1,2\ 10^{-7}$	$Nms\mu m^{-3}$	[8]							
$\overline{F}$	$2,0  10^{-12}$	N	[20; 37]							
B	$9{,}81\ 10^{-10}$	$N\mu m^2$	[6]							
D	$10,\!5$	-	[6]							
E	$5{,}89\ 10^{-10}$	$N\mu m^2$	[6]							
$Sp_0$	$1,\!9$	$\mu m$	[20]							
Coöperativite	eit									
$K_0$	$0,\!3$	$\mu M^{-1}$	[37]							
$K_1$	$_{3,0}$	$\mu M^{-1}$	[37]							
$K_{0.5}$	24,0	$\mu M$	[37]							
n	$_{3,5}$	-	[37]							
Calmodulinebuffer										
$CMDN_{max}$	50,0	$\mu M$	[27]							
$K_{CMDN}$	$2,\!38$	$\mu M$	[27]							

Voor de waarde van de snelheidsconstante  $k_h$  voor binding van calcium aan de high affinity sites van troponine, stelden LANDESBERG & SIDEMAN [20] een waarde  $k_h = 1,0 \ 10^5 \ \mu M^{-1} m s^{-1}$  voor. In de simulaties bleek dit echter een veel te grote waarde te zijn, want dit had tot gevolg dat de high-affinity sites in 1 tijdstap alle vrije intracellullaire Ca<sup>2+</sup>-ionen bond, zodat geen Ca<sup>2+</sup>-ionen meer beschikbaar waren om contractie toe te laten. Daarom werd hiervoor een lagere waarde gekozen. Wat de waarde van de viscositeitscoëfficiënt  $\eta_{PE}$  betreft, vermeldt DE TOMBE & TER KEURS [8] dat de waarde hiervan 0, 3 tot 0, 5%  $F_0 s/\mu m$  bedraagt. Rekening houdende met een isometrische twitch kracht  $F_0$  van grootte-orde  $3 \, 10^{-8} N/\mu m^2$  geldt:

$$\eta_{PE} \approx \frac{0,4}{100} \, 3 \, 10^{-8} \, \frac{N}{\mu m^2} \, 10^3 \, \frac{ms}{\mu m} = 1,2 \, 10^{-7} \frac{N \, ms}{\mu m^3} \tag{3.51}$$

Het groot aantal parameters is een moeilijkheid van het model van LANDESBERG & SIDEMAN. Bij het kiezen van een geschikt model moest men een compromis maken tussen enerzijds de nauwkeurigheid van het model en anderzijds de complexiteit ervan. Het model van LANDES-BERG & SIDEMAN is een mechanistisch model dat vele effecten van hartspiercellen in rekening brengt, maar dit brengt een groter aantal parameters met zich mee. Bovendien zorgen de feedbackmechanismen ervoor dat een wijziging van slechts één parameter grote veranderingen in het modelgedrag kan teweeg brengen.

# Hoofdstuk 4

# Simulatiesoftware

Dit hoofdstuk vat de zoektocht naar een geschikt simulatiepakket voor dit onderzoek samen. Drie softwarepakketten worden onderworpen aan een analyse, waarin wordt nagegaan in welke mate elk van de programma's voldoet aan de onderzoekseisen.

Na het maken van een keuze wordt vervolgens dieper ingegaan op de werking en het gebruik van het gekozen pakket. Dit ter ondersteuning van het volgende hoofdstuk.

### 4.1 Simulatiepakketten

#### 4.1.1 Vereisten

Vooraleer op zoek te gaan naar softwarepakketten, is het nodig om de vereisten te inventariseren waaraan een geschikt pakket moet voldoen voor dit onderzoek. Deze thesis is de aanloop naar onderzoek rond de actieve contractie van een hartspier, dus het onderzoek blijft niet beperkt tot het celniveau. Dit heeft tot gevolg dat het gebruikte simulatiepakket zeker in staat moet zijn om eindige-elementenberekeningen uit te voeren. Zo kunnen pakketten als **MatLab**<sup>®</sup> of zelfs **Microsoft Office Excel**<sup>®</sup> perfect simulaties op celniveau uitvoeren, maar simulaties van de contractie van hartspierweefsel of een volledig hart zijn hiermee niet haalbaar.

Verder zou het interessant zijn mocht het pakket in staat zijn om op basis van medische beelden van een hart een realistische mesh op te bouwen, door middel van beeldverwerking. Dit is eveneens met het oog op het modelleren van een volledig hart.

Tenslotte moet het pakket invoer van *custom* modellen toelaten, zodat men niet beperkt blijft tot de modellen die in het softwarepakket geïmplementeerd zijn.

#### 4.1.2 Abaqus

Aan de onderzoeksgroep IbiTech van de Universiteit Gent heeft men veel ervaring met het eindige-elementenpakket **Abaqus**<sup>®</sup> (http://www.abaqus.com) in het biomedische onderzoeksdomein, met name in het onderzoek naar stents. Gezien de grote kennis van Abaqus<sup>®</sup>, werd de mogelijkheid onderzocht om dit pakket te gebruiken in de modellering van de contractie van hartspiercellen.

In het academiejaar 2003-2004 was er een masterthesis aan de vakgroep Bouwkundige Contructies, waarvan een deel van het onderzoek bestond uit de modellering van een hartspiervezel in Abaqus<sup>®</sup>[7]. Hierbij werd gebruik gemaakt van een model dat de actieve spanning beschrijft op basis van een tijdsafhankelijke stijfheidsmodulus van het spiermateriaal.

De activatie van een hartspier is een biochemisch proces dat instaat voor het aanhechten van de dwarsbruggetjes tussen de filamenten, zoals beschreven werd in hoofdstuk 1. Het is echter niet mogelijk om die chemische processen te gaan modelleren in Abaqus<sup>®</sup>, omdat het pakket werkt met dode materialen.

In de vermelde masterthesis omzeilde men dit probleem door de grootheid temperatuur te gebruiken als fictieve activatieparameter. Een toename van de trekspanning bij constante lengte en een verkorting bij constante spanning in het spiermateriaal kan men bekomen door een verlaging van de temperatuur, waarbij men de spieruiteinden respectievelijk ingeklemd en vrij beweegbaar maakt.

Op basis van dit voorgaand onderzoek en het feit dat deze thesis een mechanistisch model compleet met biochemische processen wil gaan modelleren, blijkt de nood aan alternatieven voor Abaqus<sup>®</sup>.

#### 4.1.3 Continuity

Voor het vinden van een alternatief voor Abaqus<sup>®</sup> werd beroep gedaan op contacten met Dr. Roy Kerckhoffs, post-doctoraal onderzoeker aan de Universiteit van Californië, San Diego. Kerckhoffs maakt er deel uit van de *Cardiac Mechanics Research Group* binnen het *Department of Bioengineering*, geleid door Prof. Andrew McCulloch.

De Cardiac Mechanics Research Group is actief in het onderzoek naar mechanica en elektrische dynamica van het normaal en ziek hart, dit van moleculair niveau tot op orgaanniveau. Hiervor maken zij gebruik van het softwarepakket **Continuity** (http://www.continuity.ucsd.edu), dat door hen ontwikkeld werd en vrij beschikbaar is voor academisch onderzoek.

Continuity maakt gebruik van de object-geörienteerde programmeertaal Python en laat toe om problemen in biomechanica, biotransport en elektrofysiologie op te lossen. Daarnaast kan Continuity eenvoudig meshes genereren, dankzij beeldverwerking van medische beelden, mesh fitting en mesh-verfijning.

Het pakket bestaat uit twee grote componenten, genaamd Continuity Client en Continuity Server. Client is de zogenaamde front-end applicatie, waarmee de gebruiker model- en simulatieparameters kan ingeven en ook de resultaten van de simulatie grafisch kan analyseren (zowel plots als 3D beelden). Server is de back-end rekenmodule, die functies bevat voor:

- Eindige-elementen modellering
- Mesh opbouw
- Rendering van model en data
- Beeldverwerking
- Data fitting
- Lineaire en niet-lineaire elasticiteit en biomechanica
- Reactie-diffusie systemen en elektrofysiologie
- Transportprocessen en biofysica
- Modellering van celsystemen

De scheiding tussen een front-end en back-end applicatie maakt het mogelijk om de gebruikersinterface op een standaard PC te draaien en de simulatieberekeningen uit te voeren op een krachtige rekencomputer, wat zeker niet overbodig is bij het modelleren van een volledige hartspier. Continuity werkt op Windows, Linux en MacOS [2]. Op het moment van schrijven was versie 6.3 beschikbaar.

Continuity had op het moment van dit onderzoek nog geen handleiding, wat het programma een steile leercurve geeft. De grafische interface is gelukkig vrij intuïtief en het globale principe van het softwarepakket is analoog aan andere eindige-elementenpakketten, zoals Abaqus<sup>®</sup>. Enkele tutorials staan bovendien beschikbaar op de website, alsook vele voorbeelden. De voorbeelden hebben echter relatief weinig nut, aangezien deze beschikbaar gesteld zijn onder de vorm van gecompileerde Python-scripts. Zonder broncodebestanden is het dus onmogelijk om de opbouw van die voorbeelden te bekijken en hieruit te leren.

Wat passieve eigenschappen van het spiermateriaal betreft, zijn er verschillende constitutieve betrekkingen geïmplementeerd in Continuity. Het is mogelijk om *user defined* betrekkingen in te brengen onder de vorm van een Python-script, maar specificaties of voorbeelden hierover zijn niet beschikbaar.

Op vlak van biomechanica bevat Continuity standaard twee celmodellen, zijnde het *Hunter-McCulloch-terKeurs (HMT)* model en het *Guccione* model. Van deze twee modellen zijn alle parameters instelbaar via de grafische gebruikersinterface. De interface biedt echter nergens de mogelijkheid om eigen celmodellen in te geven, wat een grote beperking betekent.

Uit de studie van Continuity blijkt dat dit pakket aan bijna alle vereisten voldoet die gesteld werden. Het ontbreken van de mogelijkheid om eigen celmodellen in het simulatiepakket te brengen is een groot nadeel.

#### 4.1.4 CMISS

Continuity droeg aanvankelijk de naam dCMISS, wat slaat op het feit dat Continuity afgeleid is van het eindige-elementenpakket CMISS, dat vandaag nog bestaat (http://www.cmiss.org). CMISS staat voor *Continuum Mechanics, Image analysis, Signal processing and System Identification*, wat de voornaamste functies van dit softwarepakket beschrijft.



Het pakket CMISS werd ontwikkeld aan het *Bioengineering Institute* van de Universiteit van Auckland, Nieuw-Zeeland. Deze groep wordt geleid door Prof. Peter Hunter. Op de website

is te zien dat Prof. Andrew McCulloch 10 jaar lang heeft bijgedragen in de ontwikkeling van CMISS.

Gezien hun gemeenschappelijke achtergrond hebben Continuity en CMISS dezelfde functies, maar toch zijn er belangrijke verschillen. Hoewel er van CMISS ook geen handleiding bestaat, is er een zeer groot aanbod aan voorbeelden beschikbaar in een voor de mens leesbare vorm. Deze zijn te vinden op: http://cmiss.bioeng.auckland.ac.nz/development/examples/. Dit maakt CMISS veel toegankelijker in vergelijking met Continuity.

Qua opbouw bestaat CMISS net als Continuity uit twee modules. Enerzijds is er cm, de backend module, die alle rekenwerk uitvoert en anderzijds is er cmgui, de front-end applicatie die de resultaten van de rekenmodule visualiseert in 3D. Een belangrijk verschil met Continuity is dat CMISS enkel ontworpen is voor gebruik op een Linux-machine.

Wat betreft de invoer van user defined modellen biedt CMISS meer perspectieven dan Continuity. Zo kan men eenvoudig eigen modellen implementeren in CMISS onder het **CellML bestandsformaat**.

CellML (http://www.cellml.org) is een dataformaat dat men enkele jaren geleden aan het *Bioengineering Institute* van de Universiteit van Auckland ontwikkeld heeft. Dit dataformaat is een universeel datatype, gebaseerd op het XML-dataformaat, dat toelaat om biologische modellen in digitale vorm op te slaan en uit te wisselen. In paragraaf 4.3 wordt dieper ingegaan op CellML.

De ontwikkeling van CellML kadert in het **IUPS Physiome Project**<sup>1</sup>, dat tot doel heeft een framework voor computationele fysiologie te bieden. Dit houdt onder andere het opstellen van standaarden voor modellering en dataformaten in, alsook het aanbieden van databases met modellen op alle ruimteschalen (celniveau, weefselniveau, orgaanniveau, organismeniveau) en van alle orgaansystemen. Door het aanbieden van fysiologische modellen in een gestandaardiseerd formaat kan men door koppeling tussen bestaande modellen dan tot simulaties van volledige organismen komen [14; 23].





Hoewel CMISS én Continuity betrokken zijn in het IUPS Physiome Project, ondersteunt enkel CMISS het CellML dataformaat. Een belangrijk voordeel van de combinatie CellML + CMISS is dat men bestaande modellen meteen kan downloaden op een Internetdatabase en gebruiken in CMISS. Dit betekent een grote tijdsbesparing, gezien het groot aantal vergelijkingen waaruit een model vaak is opgebouwd.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>IUPS staat voor International Union of Physiological Sciences. Meer informatie over het Physiome Project is te vinden op http://www.physiome.org.nz.

**Definiëren van meshes** Om deze analyse van beschikbare simulatiepakketten te beëindigen, is er nog een opmerking die geldt voor zowel CMISS als Continuity.

Normaal definieert men geometrieën in eindige-elementensoftware met behulp van een 3D model editor, waarna automatisch een mesh van vele kleine elementjes gecreëerd wordt. CMISS en Continuity werken niet op die manier.

In de meeste eindige-elementenpakketten gebruikt men lineair-elastische materiaaleigenschappen en de elementen hebben lineaire basisfuncties. Gevolg hiervan is dat men vele kleine lineaire elementjes nodig heeft om een goede benadering van gekromde geometrieën te bekomen. In CMISS en Continuity is het mogelijk om hogere-orde basisfuncties te gebruiken (kwadratisch of zelfs kubisch), zodat complexe gekromde geometrieën kunnen gemodelleerd worden met een klein aantal elementen.

Noch CMISS noch Continuity beschikken over een automatische mesh generator, dus geometrieën moeten manueel gedefinieerd worden. Concreet houdt dit in dat eerst knooppunten vastgelegd worden, waaruit dan elementen aangemaakt worden, die tenslotte gefit worden aan een beschikbare dataset. Dit is echter geen groot nadeel, aangezien het aantal elementen beperkt blijft (dankzij de hogere-orde basisfuncties) en fijnregeling van de mesh om bij de geometrie te passen sowieso manueel moet gebeuren [1].

#### 4.1.5 Uiteindelijke keuze

Uit bovenstaande analyse blijkt duidelijk het grote voordeel voor het gebruik van CMISS in dit onderzoek. Hoewel Continuity eveneens aan veel van de gestelde eisen voldoet, biedt CMISS het belangrijke voordeel dat user defined modellen ingevoerd worden, en dit in een gestandaardiseerd bestandsformaat (CellML). En Internetdatabases bieden reeds vele modellen aan in het CellML formaat.

Keerzijde van de medaille is de steile leercurve die CMISS heeft, wegens het ontbreken van duidelijke documentatie. Continuity heeft dit evenmin en vergelijkbare alternatieven zijn niet beschikbaar. De verplichting om Linux als besturingssysteem te gebruiken kan misschien als een struikelblok worden gezien, maar eens de installatie vervolledigd is, valt dit argument weg.

Conclusie van bovenstaande analyse is dat van de onderzochte pakketten, CMISS het meest geschikte pakket voor dit onderzoek is.

### 4.2 CMISS

Deze paragraaf verduidelijkt het gebruik van CMISS, vanaf de installatie tot het uiteindelijke simuleren, en dient als handleiding voor geïnteresseerden die onderzoek wensen te doen met CMISS.

#### 4.2.1 Installatie van CMISS

Zoals reeds vermeld in paragraaf 4.1 is voor het gebruik van CMISS een Linux besturingssysteem vereist. Voor dit onderzoek werd gebruik gemaakt van de toen meest recente Linux Ubuntu distributie, zijnde Ubuntu 6.10, codenaam 'Edgy Eft'. De versie van CMISS die gebruikt werd, heeft versienummers cm-2.1 en cmgui-2.3.3 (voor de back-end en front-end module respectieve-

lijk). Alle simulaties werden uitgevoerd op een laptop, uitgerust met een AMD-processor van 1.79GHz en een fysiek geheugen van 512MB.

Wegens het ontbreken van een installatiehandleiding bij CMISS, diende de installatie door trial & error te gebeuren. Bijlage B beschrijft een mogelijke manier om het CMISS pakket te installeren op een gewone PC.

**Opmerking** Op de website van CMISS staat nergens expliciet vermeld of de aangeboden versie van CMISS reeds CellML ondersteuning biedt. Het bestaan van de website http://www.bioeng.auckland.ac.nz/people/nickerso/cmiss/cellml\_into\_cmiss.html met als titel 'Getting CellML into CMISS' suggereerde dat CMISS nog compatibel gemaakt moet worden met CellML modellen door bepaalde bibliotheken toe te voegen na de installatie van CMISS. Dit gaf aanleiding tot enige verwarring. Uit contact met David Nickerson van de Universiteit van Auckland, Nieuw-Zeeland blijkt echter dat de huidige versie van CMISS het CellML formaat reeds standaard ondersteunt, zodat installatie van extra bibliotheken niet meer nodig is.

#### 4.2.2 Structuur van een simulatie

Het eigenlijke simuleren gebeurt in de back-end module cm. Na installatie van CMISS volgens de beschrijving in bijlage B, kan men deze module opstarten door in een Terminalvenster het commando cm in te geven. Na het opstarten van cm komt men dan terecht in een commandolijnomgeving.

Een typische simulatie bestaat uit een vaste reeks commando's. Deze worden hier kort verduidelijkt, aangezien hierover nog geen documentatie bestaat. Ik baseer mij hierbij op informatie op de website van CMISS, analyse van voorbeelden en contacten met David Nickerson van de Universiteit van Auckland. Eerst worden de nodige voorbereidingen getroffen:

```
# If the dir path is not set, default to current directory
1
   if (! defined $dir) {
        dir = "./";
3
   }
   \# Drop off the trailing / in the example path
\mathbf{5}
   chopped = chop \ dir;
   if ($chopped ne "/") {
7
        $dir .= $chopped;
   }
9
   # Set-up some useful variables
11
   $output = "$dir/output";
   if (! -d $output) {
13
     mkdir $output,0700;
   }
15
   format = "binary";
17
   set output; $output/logfile on
   set echo
19
```

Concreet wordt een variabele **\$dir** gedefinieerd, die de huidige maplocatie bevat. Vervolgens wordt de variabele **\$output** aangemaakt, die de locatie aangeeft waar de gegenereerde uitgangsbestanden opgeslagen zullen worden. Indien deze map nog niet bestaat, wordt deze aangemaakt. Verder kunnen nog variabelen gedefinieerd worden die in verdere commando's nog gebruikt zullen worden, zoals hier de variabele **\$format**.

Tenslotte worden alle ingetypte commando's opgeslagen in een logbestand logfile.out in de uitvoermap **\$output** (lijnen 18 en 19 in de code). Dit is handig bij het opbouwen en debuggen van een simulatie.

De bovenstaande commando's zijn geschreven in de Perl programmeertaal.

Vervolgens kan men de simulatieomgeving instellen.

**fem** define parameters; r/p/l <; FILE>

Met dit commando worden alle parameters betreffende de omvang van het probleem ingelezen. Het eerste argument neemt de waarde r, p of l aan en het tweede argument is een bestandsnaam (optioneel).

- Met het argument **r** leest CMISS de nodige parameterinformatie in uit een bestaand tekstbestand FILE.ippara.
- Met argument p vraagt CMISS de nodige parameterwaarden aan de gebruiker en slaat deze op in het bestand FILE.ippara. Indien geen bestandsnaam is opgegeven, wordt een standaardnaam gekozen.
- Met argument l leest CMISS de informatie in uit het bestand FILE.ippara en toont de inhoud ervan ook op het scherm.

De andere commando's hebben een gelijkaardige opbouw. Als de simulatie voor het eerst opgebouwd wordt, bestaan er nog geen IP-bestanden (bestanden met extensie .IPxxxx), zodat dan het argument p meegegeven wordt aan de commando's. Eens de nodige simulatieparameters opgeslagen zijn in de IP-bestanden, leest men deze in via het commando met argument r. Bij het uitvoeren van bovenstaand commando vraagt CMISS naar waarden voor allerhande parameters van de rekenmodule, om op basis daarvan het nodige computergeheugen vrij te maken. Uit de naamgeving van de variabelen valt echter niet af te leiden wat ze betekenen en op de website van CMISS is hierover geen informatie beschikbaar. In onze simulaties wordt gebruik gemaakt van het bestand **emech.ippara**, dat gebruikt werd in veel CMISS voorbeelden.

Nu leggen we de eindige-elementen geometrie van het probleem vast.

**fem** define coordinates; r/p/l <;FILE>

Dit commando leest of schrijft informatie over het coördinatensysteem uit het bestand FILE.ipcoor. Dit bevat het type coördinatenstelsel (cartesiaans, poolcoördinaten, sferische coördinaten), het aantal dimensies en eventuele symmetrie van het probleem.

**fem** define nodes; r/p/l/d <; FILE>

De geometrie van het probleem wordt vastgelegd door eerst zogenaamde knopen of *nodes* te definiëren, met bovenstaand commando. De knopendata komt uiteindelijk in het bestand

#### FILE.ipnode terecht.

Door het argument d mee te geven, vult CMISS op alle vragen het standaard antwoord in. Dit is een snelle manier om een simulatie van een celmodel uit te voeren, waar in feite geen geometrie gedefinieerd moet worden.

De volgende stap is het invoeren van de basisfuncties:

fem define bases; r/p/l/d <; FILE>

Basisfuncties vormen een essentieel onderdeel van eindige-elementenberekeningen. In deze stap worden verscheidene basisfuncties vastgelegd, die in de volgende stappen kunnen gebruikt worden door ernaar te verwijzen via hun toegewezen nummer. Meer informatie over de wiskundige achtergrond van de eindige-elementenmethode en de basisfuncties in het bijzonder is te vinden in de literatuur [4]. De informatie over de basisfuncties is vastgelegd in het bestand FILE.ipbase. Daarna kunnen dan de elementen gedefinieerd worden:

fem define elements; r/p/l/d <; FILE>

Met dit commando worden het aantal elementen, het aantal coördinaten (dimensies) voor elk element, de gebruikte basisfuncties voor elke variabele en tenslotte de knoopnummers die de verschillende elementen definiëren, vastgelegd in het bestand FILE.ipelem.

Zoals reeds uitgelegd op pagina 59 (*Definiëren van meshes*) laten hogere-orde basisfuncties toe om complexe geometrieën te modelleren met een beperkt aantal elementen. Typisch is dus een klein aantal hogere-orde elementen aanwezig in simulaties. In principe is hiermee het model geometrisch volledig bepaald. Voor het simuleren van elektrofysiologische modellen is echter een veel grotere ruimtelijke resolutie vereist, die niet met deze ruwe elementenmesh bereikt wordt. Een oplossing voor dit probleem werd in CMISS voorzien onder de vorm van een **grid**. Een grid is een veel fijnere, lagere-orde (typisch lineaire) elementenmesh, die gedefinieerd wordt binnen de hogere-orde geometrische mesh. De knooppunten van deze mesh, de zogenaamde **gridpunten**, bevatten geen geometrische informatie. De ruimtelijke informatie van de gridpunten wordt afgeleid uit de onderliggende geometrische mesh. Als de geometrische mesh dan vervormt ten gevolge van een mechanisch model, wordt de grid mesh mee vervormd. Het implementeren van zo'n grid gebeurt met volgende commando's:

```
fem define grid;r/p/1/d<;FILE>
fem update grid geometry;
fem update grid metric;
```

Het eerste commando leest de nodige grid-informatie in uit het bestand FILE.ipgrid. De andere twee commando's passen de grid mesh geometrisch aan de onderliggende hogere-orde mesh aan.

Nu het probleem geometrisch vastligt, is het tijd om de rekenkundige aspecten te bepalen:

**fem** define equation; r/p/l/d <; FILE>

Dit commando legt het probleemtype vast (statische analyse, tijdsintegratie, modale analyse, quasi-statische analyse,  $\ldots$ ), de vergelijkingen (lineare elasticiteit, diffusie, navier-stokes, celmodel,  $\ldots$ ) en de te gebruiken basisfuncties voor het interpoleren van de variabelen. In het geval van een celmodel kan dan nog gekozen worden voor ingebouwde modellen of een CellML voorsteling. Alle informatie wordt opgeslagen in FILE.ipequa.

Aangezien gekozen is voor een CellML modelvoorstelling, bestaat de volgende stap erin om het CellML-bestand in te lezen:

**fem** define cell; r/p/l/d <; FILE>

Dit commando legt de link met het CellML-bestand, waarna het ingelezen wordt en de verschillende variabelen van het CellML-model herkend worden door CMISS. Bij elk van de variabelen kan men aangeven of de waarde hiervan moet opgeslagen worden. Waarden van constanten en beginwaarden van tijdsvariërende variabelen kunnen opgegeven worden, waarbij waarden gesuggereerd worden op basis van het CellML bestand.

Met het commando:

**fem** define material; r/p/l/d<;FILE> cell

kan men kiezen om naargelang het geometrisch punt een ander celmodel te gebruiken. Dit is hier niet van toepassing, maar dit commando moet wel uitgevoerd worden. Bij dit commando hoort een bestand FILE.ipmatc.

Vervolgens dienen de materiaalparameters van het probleem vastgelegd te worden:

**fem** define material; r/p/l/d <; FILE>

Voor een elektrofysiologisch probleem wordt hiermee de signaalgeleiding in de verschillende richtingen doorheen het materiaal opgegeven. De informatie staat in het bestand FILE.ipmate. Begin- en randcondities van het probleem worden dan vastgelegd in FILE.ipinit:

**fem** define initial;r/p/l/d<;FILE>

De laatste stap voor het eigenlijke simuleren is het vastleggen van de solverparameters (bestand FILE.ipsolv):

**fem** define solve; r/p/l/d <; FILE>

Om de simulatie te starten, wordt de solver eerst geïnitialiseerd:

fem solve to 0;

Vervolgens wordt een zogenaamde *history file* geopend, waarin tijdens de simulatie de gewenste resultaten zullen opgeslagen worden.

```
fem open history <; FILE> read/write variables VARLIST niqslist NUMBERS binary;
```

Dit commando opent het bestand FILE.binhis om te lezen of te schrijven, naargelang het eerste argument (read of write). Het argument variables geeft aan welk type variabelen het historybestand zal bevatten. Daarbij is VARLIST een lijst, die volgende elementen kan bevatten:

- YP, wat een lijst of array is die knoopdata bevat.
- YQ is een array die de membraanpotentiaal in alle gridpunten bevat (*main grid point* solution variable array).
- YQS bevat alle oplossingen van het celmodel. Alle variabelen waarvan in het IPCELL bestand aangegeven werd dat ze opgeslagen moesten worden, zitten in deze array (*cellular model solution variable array*).

Het volgende argument (niylist in het geval van YP variabelen, niqlist voor YQ variabelen en niqslist voor YQS variabelen) geeft aan welke indices/variabelen binnen de gekozen arrays moeten opgeslagen worden in het historybestand. Tenslotte wordt aangegeven dat het historybestand in binaire vorm opgeslagen moet worden. Ter verduidelijking even een voorbeeld:

```
fem open history; $output/elec write variables YQS niqslist 1..22 binary;
```

Dit commando opent het bestand elec.binhis in de uitvoermap om er de variabelen 1 tot en met 22 van het celmodel in weg te schrijven.

De eigenlijke simulatie wordt uitgevoerd door middel van een lus:

```
1 $Tend = 800;
$dt = 1.0;
3 for ($time=$dt;$time<$Tend;$time+=$dt) {
    print "Time_=_$time\n";
5 fem solve restart to $time;
    fem write history time $time variables YQS $format;
7 }
```

Elke tijdsstap worden de gegevens weggeschreven naar het historybestand. Na afloop van de simulatie wordt het historybestand afgesloten:

```
fem close history binary;
```

Om af te sluiten wordt de data in het historybestand dan omgezet naar een CMISS signal bestand, wat dan omgezet wordt naar een een UnEMAP signal bestand:

- 1 fem evaluate electrode; \$output/cmiss-signal history \$output/historyfile
  from grid YQS iy 1..22 binary;
- $_{2}$  | fem define export; r/p/l<;FILE>

```
3 fem export signal; $output/unemap-signal electrode signal $output/cmiss-
signal names cell;
```

Het eerste commando maakt een CMISS signaalbestand cmiss-signal.binsig aan door het historybestand history.binhis te evalueren op specifieke 'elektrodelocaties', die hier bepaald worden door de grid. Verder wordt aangegeven welke variabelen uit het historybestand moeten geëxporteerd worden.

In het tweede commando worden de instellingen voor het export-commando aangegeven, welke opgeslagen zijn in een bestand FILE.ipexpo.

Het derde commando zet het elektrodesignaal cmiss-signal.binsig om naar het exportbestand unemap-signal.signal, waarbij de namen van de variabelen overgenomen worden uit het celmodel (names cell).

Het CMISS programma kan men dan verlaten met het commando q. Eens terug in de Linux omgeving, kan men het geëxporteerde signaal in de uitvoermap omzetten naar een leesbaar ASCII-bestand:

sig2text unemap-signal.signal leesbaar.txt

Om het herhaaldelijk invoeren van deze resem commando's in CMISS te vermijden, is het mogelijk om de commando's in een tekstbestand met extensie COM op te slaan. De simulatie kan dan eenvoudig uitgevoerd worden door in een Linux Terminal-venster te typen:

cm simulatie.com

waarbij simulatie.com zich in de huidige map bevindt.

Tenslotte vermelden we nog dat een lijst van alle mogelijke commando's voor cm beschikbaar is op de website van CMISS: http://cmiss.bioeng.auckland.ac.nz/development/help/cm/ commands.

### 4.3 CellML

Zoals reeds gezegd is CellML een XML-gebaseerde taal die ontworpen is om computergebaseerde biologische modellen op te slaan en uit te wisselen. Waar mogelijk bouwt CellML verder op bestaande XML-standaarden, zoals:

- MathML (http://www.w3.org/Math), dat een XML-gebaseerde taal is voor het beschrijven van wiskundige vergelijkingen
- Resource Description Framework (http://www.w3.org/RDF) voor het invoegen van metadata. Metadata dient vooral om verklarende uitleg te geven bij modelcomponenten of variabelen en om vermelding te maken van het artikel en de auteurs waarvan het model afkomstig is.

**CellML Repository** Op de CellML-website is een database van modellen beschikbaar, de zogenaamde *Repository* (http://www.cellml.org/models). De modellen in de repository zijn gebaseerd op gepubliceerde artikels. Op het moment van schrijven bevat de database hoofdzakelijk elektrofysiologische modellen; slechts enkele mechanische celmodellen zijn aanwezig. Bij het gebruik van modellen uit de CellML model repository is een kritische geest belangrijk. Men moet zich de vraag stellen of een bepaald CellML-bestand een volledige en correcte implementatie is van het bronartikel. Tot nu toe heeft men ervoor gezorgd dat de modellen in de database exact dezelfde modelvergelijkingen bevatten als het bronartikel. Dit betekent echter

ook dat fouten in het artikel overgenomen worden. Momenteel ontwikkelt men standaarden om grip te krijgen op deze problematiek [23]. Concreet geeft men aan alle modellen een zogenaamd *Curation Level* mee, dat de waarde van het model beschrijft. De mogelijke curation levels zijn:

- Level 0: Het model werd nog niet gecontroleerd
- Level 1: Het model is consistent met de vergelijkingen uit het origineel gepubliceerde artikel
- Level 2: Het model werd gecontroleerd op consistentie van de eenheden, op aanwezigheid van alle parameter- en beginwaarden, op overbepaaldheden. Ook werd nagegaan dat het model na simulatie de resultaten uit de oorspronkelijke publicatie weergeeft.

• Level 3: Het model is gecontroleerd op compatibiliteit met voorwaarden als behoud van massa, momentum, ...

Daarnaast is er ook een *Confidence level*, dat weergeeft hoe het CellML model presteert in specifieke simulatiepakketten.

#### 4.3.1 Componenten en eenheden

CellML modellen zijn voorgesteld als een verzameling componenten, die met elkaar verbonden zijn tot een netwerk. Elke component stelt een logisch onderdeel van het model voor. Dit kan een fysieke component zoals een ionenpomp zijn of een groep entiteiten met dezelfde functie. Een componentbeschrijving bevat alle informatie die gerelateerd is aan die component: definitie van variabelen, mathematische vergelijkingen die verbanden leggen tussen deze variabelen, metadata met informatie rond de component.

Variabelen kunnen lokaal in de component gedefinieerd worden of kunnen zichtbaar gemaakt worden voor andere componenten via een *interface*. Interfaces maken het mogelijk om met een component te communiceren en er de nodige gegevens uit te halen, zonder de interne werking van die component te kennen.

De componentmatige opbouw van modellen maakt het hergebruik van modelonderdelen dus mogelijk, enerzijds omdat alle vergelijkingen en definities verbonden aan een component op één locatie zijn opgeslagen en anderzijds omdat enkel de interface van een component moet gekend zijn om er verbindingen mee te leggen. [12]

Bij wijze van voorbeeld toont codefragment 4.1 een stukje CellML code dat een component IbCa beschrijft. Deze component berekent de calcium-achtergrondstroom in een hartspiercel, die beschreven wordt door de vergelijking:

$$I_{bCa} = g_{bCa} (V_m - E_{Ca})$$
(4.1)

In het eerste deel van de code definieert men de optredende variabelen. De variabele  $I_{bCa}$  is als een uitgang gedefinieerd. De parameters  $(g_{bCa} \text{ en } E_{Ca})$  en membraanpotentiaal  $V_m$  worden als ingangen gedefinieerd. Het tweede deel van de code bevat bovenstaande vergelijking, ingegeven in MathML formaat. Codefragment 4.1: Een voorbeeld van CellML code, waarbij een component IbCa gedefinieerd wordt die de Ca-achtergrondstroom in hartspiercellen beschrijft

1 < component name="IbCa" cmeta:id="IbCa">						
$<\!\mathrm{variable\ name}="\mathrm{IbCa"\ public\_interface}="\mathrm{out"\ units}="\mathrm{pA\_per\_pF"}/\!>$						
${\scriptstyle 3 \qquad < variable \ name="g_bCa" \ public_interface="in" \ units="nS_per_pF"/>}$						
$<$ variable name="V" public_interface="in" units="mV"/>						
5 <variable name="E_Ca" public_interface="in" units="mV"></variable>						
$\tau = -\pi t = \pi t =$						
$<$ apply id="i_bCa_calculation"> <eq></eq>						
9 $IbCa$						
$<\!\!\operatorname{apply}\!\!>\!\!\operatorname{times}\!/\!>$						
11 <ci>g_bCa</ci>						
<apply $><$ minus $>$						
13 <ci>V</ci>						
$< ci>E_Ca$						
15						
17						
19						

Naast componenten kan men in een CellML ook eenheden definiëren. Door variabelen te voorzien van eenheden, bekomt men een volledige modelbeschrijving en is men bovendien in staat om de wiskundige vergelijkingen op consistentie te controleren. Nieuwe variabelen kunnen gedefinieerd worden door ze uit te drukken in functie van een reeks basiseenheden die CellML als gekend beschouwt.

#### 4.3.2 Groepering en encapsulation

Groepering is een manier om structuur te geven aan een model, door bepaalde verbanden tussen componenten te definiëren. In CellML bestaan er twee types verbanden: containment en encapsulation.

Een containment is een geometrische relatie die het mogelijk maakt om aan te geven dat bepaalde componenten zich fysisch in een andere component bevinden. Zo zal een component die een calciumbuffer binnen het sarcoplasmatisch reticulum van een hartspiercel beschrijft, zich fysisch bevinden in de component die het sarcoplasmatisch reticulum als geheel beschrijft. Voor simulaties in het pakket CMISS heeft dit type relatie geen betekenis, maar kan nuttig zijn voor software die het model grafisch tracht voor te stellen.

Veel belangrijker is de encapsulation relatie. Encapsulation laat toe om een groep componenten te verbergen van de rest van het model door één enkele component als interface tot het verborgen netwerk te gebruiken. Deze relatie geeft structuur aan het model, omdat bepaalde connecties tussen componenten onmogelijk gemaakt worden. Componenten die niet tot het afgeschermd netwerk behoren, moeten verbinding leggen via de interfacecomponent. Encapsulation is zeer nuttig om twee modellen overzichtelijk aan elkaar te koppelen, zoals uit volgend hoofdstuk zal blijken.

#### 4.3.3 CellML Specificatie

De CellML specificatie legt de opbouw, syntax en het gebruik van het CellML dataformaat volledig vast. In november 2002 werd de CellML 1.1 specificatie uitgebracht als opvolger van de allereerste specificatie, CellML 1.0. De meest recente CellML specificatie is steeds beschikbaar op http://www.cellml.org/specifications.

CellML 1.1 voegt interessante functies toe ten opzichte van CellML 1.0, die de uitwisselbaarheid van modelcomponenten ten goede komen. Sinds deze nieuwe specificatie is het mogelijk om componenten en definities van eenheden uit een ander CellML model te importeren door te verwijzen naar dat model. De kennis van de modelinterfaces volstaat dus. Vroeger moest men echter de nodige componenten uit het ene model kopiëren als men deze wou gebruiken in een nieuw model, zodat eerst de interne bouw van het bronmodel moest bestudeerd worden.

Het is belangrijk op te merken dat het simulatiepakket CMISS op het moment van schrijven enkel de CellML 1.0 specificatie ondersteunt! Van de handige importeerfunctie kan dus nog geen gebruik gemaakt worden.

# Hoofdstuk 5

# Modelsimulatie

Met de kennis uit hoofdstuk 4 omtrent het simulatiepakket CMISS en het CellML dataformaat kan men vervolgens het hartspiervezelmodel dat in hoofdstuk 3 werd opgebouwd, omzetten naar een CellML datavorm, die als basis zal dienen voor de simulatie in CMISS.

### 5.1 CellML implementatie

#### 5.1.1 ten Tusscher model

Met de kennis dat CellML modellen beschikbaar zijn op het Internet, is het nuttig om op zoek te gaan naar een bestaande CellML voorstelling van het elektrofysiologisch model dat we gebruiken. Zo is het model van TEN TUSSCHER ET AL beschikbaar in de CellML repository (http://www. cellml.org/models/tentusscher\_noble\_noble\_panfilov\_2004\_version01). Dit CellML model heeft echter een curation level gelijk aan nul en blijkt ook niet te werken in CMISS, zodat de repository in dit geval geen nuttige bron is.

In 2006 is er een artikel verschenen waarin de verschillende modellen ontwikkeld door Prof. DE-NIS NOBLE en collega's geïmplementeerd worden in CellML, waarmee men simulaties uitvoert om de gekende modelresultaten te reconstrueren [22]. Daarin komt ook het model van TEN TUS-SCHER ET AL aan bod. Gezien het feit dat de auteurs van dit artikel zelf het CellML bestand hebben opgebouwd en met die bestanden de simulaties van het artikel uitgevoerd hebben, komt dit overeen met een curation level hoger dan 1, wat deze bron dus al veel betrouwbaarder maakt.

De CellML implementatie van het artikel is beschikbaar op de website van het *IUPS Physiome Project*<sup>1</sup>. Het model van TEN TUSSCHER ET AL is daar echter geïmplementeerd volgens de CellML 1.1 specificatie, die niet ondersteund wordt door het simulatiepakket CMISS (zoals vermeld in hoofdstuk 4). Concreet zijn alle modelcomponenten en de eenheden elk in aparte CellML-bestanden ondergebracht en worden geïmporteerd in het hoofdbestand, wat enkel mogelijk is in CellML 1.1. Het CellML model diende door knip- en plakwerk dus omgezet te worden tot een CellML 1.0 compatibel model. Die omzetting wijzigt geenszins de inhoud (variabelen en vergelijkingen) van het model.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>De CellML voorstelling van het 2004 ten Tusscher et al. model is te vinden op http://www.physiome.org. nz/publications/PBMB-2006-90/Nickerson/models/2004\_tenTusscher/.



Figuur 5.1: Structuur van het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL in CellML vorm. Elk blok stelt een component voor. De niet-gevulde pijlen wijzen op een encapsulation verband.

Na herwerken van het model bekomt men een CellML 1.0 compatibel model waarvan de componenten en hun onderlinge relaties zijn weergegeven in figuur 5.1. Elk blok stelt een component van het model voor en de niet-gevulde pijlen wijzen op een **encapsulation** verband tussen componenten.

De verdeling van het model in componenten komt zeer goed overeen met de structurele indeling van het originele artikel [32]. In de component membrane\_potential wordt de membraanpotentiaal  $V_m$  berekend aan de hand van de optredende ionstromen, die op hun beurt berekend worden in de overeenkomstige componenten. De calciumdynamica van het model zit vervat in de component Cai, die beroep doet op de componenten Jleak, Jup en Jrel. De component parameters\_tenTusscher bevat alle parameterwaarden van het model en geeft deze waarden door aan de andere componenten. De component stimulation\_protocol beschrijft het verloop van stimulus  $I_{stim}$  doorheen de tijd.

De component tenTusscher maakt verbinding met alle componenten (behalve de gatecomponenten) en doet dienst als interface tot het model. Alle relevante grootheden, zoals membraanpotentiaal, alle ionstromen en calciumconcentraties worden via de interface ter beschikking gesteld voor andere modellen.

#### 5.1.2 Landesberg & Sideman

Zoals vermeld in vorig hoofdstuk bevat de CellML repository slechts weinig mechanische celmodellen. Concreet gaat het enkel om het GUCCIONE en HUNTER-MCCULLOCH-TERKEURS (HMT) model, die nog in de oude repository staan en dus nog geen Curation Level gekregen hebben.

Ook in de literatuur is geen sprake van een beschikbare CellML-voorstelling van het mechanisch model van LANDESBERG & SIDEMAN, dus moest een CellML model hiervan opgesteld worden. De basis hiervoor werd gelegd in de uiteenzetting in hoofdstuk 3, waar een hartspiercelmodel opgesteld werd op basis van het model van LANDESBERG & SIDEMAN.



Figuur 5.2: Structuur van het mechanisch model van LANDESBERG & SIDEMAN in CellML vorm. Elk blok stelt een component voor. De niet-gevulde pijlen wijzen op een encapsulation verband.

De gekozen indeling van het model in componenten is weergegeven in figuur 5.2, waarbij alle deelcomponenten via een **encapsulation** relatie verbonden zijn met de interfacecomponent **landesberg**. De indeling in componenten komt zeer sterk overeen met de indeling van hoofdstuk 3, bij het opbouwen van het cross-bridge model.

#### 5.1.3 Modelkoppeling

Zoals reeds uitvoerig besproken in paragraaf 3.3 gebeurt de koppeling tussen het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL en het cross-bridgedynamica model van LANDESBERG & SIDEMAN door middel van de troponinebuffer.



Figuur 5.3: Koppeling van het TEN TUSSCHER ET AL model met het LANDESBERG & SIDEMAN model. De interfaces naar beide modellen worden verbonden met een globale modelinterface TNNP\_LS. De doorgegeven grootheden worden weergegeven met streepjeslijnen.

De koppeling van de CellML modellen is schematisch weergegeven in figuur 5.3. Het elektrofysiologisch model, waarvan de interfacecomponent tenTusscher is weergegeven, berekent de totale intracellullaire calciumconcentratie  $Ca_{itotal}$  op elk tijdstip. Deze waarde wordt doorgegeven aan het cross-bridgemodel, via de interfacecomponent landesberg. In het cross-bridgemodel (component freeCa om precies te zijn) wordt dan de vrije intracellullaire calciumconcentratie berekend als volgt:

$$Ca_i = Ca_{itotal} - TRPN - CMDN \tag{5.1}$$

Het cross-bridgemodel gebruikt dan deze intracellullaire calciumconcentratie om de spierkracht F, sarcomeerlengte SL en verkortingssnelheid V te berekenen. Tevens wordt deze berekende concentratie teruggestuurd naar het elektrofysiologisch model, om in de volgende tijdsstap  $[Ca]_{i,total}$  te kunnen berekenen.

Het elektrofysiologisch model en het cross-bridgemodel geven de berekende waarden via hun respectievelijke interfacecomponenten door aan de interfacecomponent van het globale spiercelmodel, TNNP\_LS.

### 5.2 Simulatieresultaten en discussie

#### 5.2.1 Isometrische contractie

Een eerste reeks simulaties bestond uit het onderwerpen van een spiervezel aan een isometrische contractie. Voor verschillende sarcomeerlengtes werd het krachtverloop berekend, wat weergegeven is in figuur 5.4.



Figuur 5.4: Simulatie van het krachtverloop bij isometrische contractie van een hartspiervezel, voor verschillende sarcomeerlengtes

Deze figuur toont hoe de isometrisch ontwikkelde kracht groter is naargelang de sarcomeerlengte groter is. Deze vaststelling is in overeenkomst met de werking van het coöperatief mechanisme van het spiermodel. Bij een grotere sarcomeerlengte is het *single-overlap* gebied groter, zodat meer cross-bridges kunnen bijdragen tot de krachtontwikkeling (hoger activatieniveau). Via coöperativiteit geeft dit aanleiding tot een hogere calciumaffiniteit van de *low affinity* sites van troponine. In figuur 5.5 is de maximaal ontwikkelde kracht uitgezet in functie van de sarcomeerlengte.



Figuur 5.5: Maximaal ontwikkelde isometrische kracht in functie van sarcomeerlengte

Tenslotte toont figuur 5.6 het verloop van de ontwikkelde isometrische kracht voor verschillende sarcomeerlengtes, uit het artikel van LANDESBERG & SIDEMAN [20].



Figuur 5.6: Krachtverloop in isometrisch regime voor verschillende sarcomeerlengtes volgens LANDES-BERG & SIDEMAN [20]

In bovenstaande figuur is een effect te zien dat slechts beperkt zichtbaar is in onze simulaties, namelijk de afname van de tijd tot maximale kracht (*time-to-peak*) naarmate de sarcomeerlengte afneemt. Het feit dat ons model dit effect niet of praktisch niet weergeeft, duidt erop dat een betere parameterkeuze zich opdringt. Welke parameter(s) hiervoor gewijzigd moet worden, is te bepalen aan de hand van een sensitiviteitsanalyse van de parameters.

#### 5.2.2 Isotone contractie

Op basis van in vitro experimenten op een gedissecteerde papillairspier uit een konijnenhart wordt voor verschillende afterload-belastingen een krachtverloop zoals in figuur 5.7 bekomen.



Figuur 5.7: Experimenteel krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon overgangsexperiment, bij constante preload en verschillende afterload belastingen

In deze figuur is te zien hoe de overgang van isotone contractie naar isometrische contractie vroeger optreedt naargelang de spierbelasting gereduceerd wordt. Dit fenomeen wordt *belas-tingsafhankelijke relaxatie* genoemd, en is het gevolg van de mechanische feedback, waarin de glijsnelheid de cross-bridgecyclus beïnvloedt.

Bij het uitvoeren van de simulatie met het model uit hoofdstuk 3, met de parameterwaarden uit tabel 3.1, doet zich echter het omgekeerde effect voor. Figuur 5.8 toont dat het isometrisch regime in de simulatie later intreedt naarmate de afterload afneemt.



Figuur 5.8: Gesimuleerd krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon overgangsexperiment, bij constante preload en verschillende afterload belastingen

Het oorspronkelijk cross-bridge model van LANDESBERG & SIDEMAN kan de belastingsafhankelijke relaxatie wel reconstrueren, zoals te zien is in figuur 5.9.



Figuur 5.9: Krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon overgangsexperiment, bij constante preload en verschillende afterload belastingen, berekend in LANDESBERG & SI-DEMAN [20]

De discrepantie tussen onze simulatie en de publicatie van LANDESBERG & SIDEMAN [20] is enerzijds te verklaren door de verschillende parameterset. Daarnaast is er mogelijk een verschil wat de implementatie van het effect van filamentglijden op de modeltoestanden betreft en tenslotte verschillen de modellen ook van elkaar op vlak van calciumdynamica. Deze laatste twee punten komen in volgende paragrafen aan bod.

#### 5.2.3 Het effect van filamentglijden

In paragraaf 3.1.2 werd het effect van filamentglijden op de modeltoestanden afgeleid door de definitie  $X_i = \overline{X}_i L_i$  af te leiden naar de tijd. Er valt echter op te merken dat deze afleiding niet overeenkomt met aanname 14 die gemaakt werd bij het opstellen van het cross-bridge model van LANDESBERG & SIDEMAN. Op basis van die aanname 14 zou de redenering in figuur 5.10 realistischer zijn.



Figuur 5.10: Overgangen tussen de modeltoestanden ten gevolge van het glijden van de filamenten; A) bij sarcomeerverkorting en B) bij sarcomeerverlenging. De dunne pijlen geven overgangen tussen non-overlap en single-overlap gebied aan. De dikke pijlen geven overgangen tussen single-overlap en double-overlap gebied aan.

Deze figuur schetst de toestandsovergangen die plaatsvinden ten gevolge van het verkorten of verlengen van het sarcomeer.

Als het sarcomeer verkort met dL (= V dt), dan gaat een segment dL over van het non-overlap gebied naar het single-overlap gebied en een segment 2dL gaat over van het single-overlap gebied naar het double-overlap gebied (ten gevolge van het schuiven van de 2 actinefilamenten naar elkaar toe). Het omgekeerde geldt in het geval van een verlenging.

Op basis van deze redenering en het schema in figuur 5.10 zouden voor het **non-overlap** gebied dan volgende relaties gelden:

$$\begin{cases} \frac{dR_n}{dt} = \frac{d\overline{R}_n}{dt} L_n - \overline{R}_n V & \text{Verkorting} \\ \frac{dR_n}{dt} = \frac{d\overline{R}_n}{dt} L_n - (\overline{R}_s + \overline{U}_s) V & \text{Verlenging} \end{cases}$$

$$\begin{cases} \frac{dA_n}{dt} = \frac{d\overline{A}_n}{dt} L_n - \overline{A}_n V & \text{Verkorting} \\ \frac{dA_n}{dt} = \frac{d\overline{A}_n}{dt} L_n - (\overline{A}_s + \overline{T}_s) V & \text{Verlenging} \end{cases}$$
(5.2)
$$\end{cases}$$

Voor het *single-overlap* gebied geldt:

$$\begin{cases} \frac{\mathrm{d}X_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{X}_s}{\mathrm{d}t} L_s + \left(\overline{X}_n - 2\,\overline{X}_s\right) V & \text{Verkorting} \\ \frac{\mathrm{d}X_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{X}_s}{\mathrm{d}t} L_s + \left(\overline{X}_s - 2\,\overline{X}_d\right) V & \text{Verlenging} \end{cases}$$
(5.4)

voor de beschrijving van de 4 toestanden  $(X \in \{R, A, T, U\})$ , waarbij  $\overline{T}_n = \overline{U}_n = 0$  genomen wordt, aangezien deze toestanden niet bestaan in het *non-overlap* gebied. In het **double-overlap** gebied tenslotte geldt:

$$\begin{cases} \frac{\mathrm{d}X_d}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{X}_d}{\mathrm{d}t} L_d + 2\,\overline{X}_s \,V & \text{Verkorting} \\ \frac{\mathrm{d}X_d}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{X}_d}{\mathrm{d}t} L_d + 2\,\overline{X}_d \,V & \text{Verlenging} \end{cases}$$
(5.5)

voor de beschrijving van de 4 toestanden  $(X \in \{R, A, T, U\})$ .

Een simulatie werd uitgevoerd van het model op basis van bovenstaande vergelijkingen voor het beschrijven van het effect van filamentglijden. Het krachtverloop bij een isometrisch-isotoon overgangsexperiment werd daarbij gesimuleerd.



Figuur 5.11: Krachtverloop bij een isometrisch-isotoon overgangsexperiment in een simulatie op basis van een alternatief filamentglijdingsmechanisme

In figuur 5.11 is te zien dat het effect van *load dependent relaxation* ook hier niet correct gereconstrueerd wordt. Wat nieuw is, is de piek die optreedt in het krachtverloop. Die opwaartse sprong treedt op wanneer de spierrelaxatie start en is te verklaren door het feit dat de relaxatie vrij snel gebeurt en daarbij de sterke cross-bridges in het *double-overlap* gebied dus met hoge snelheid overgedragen worden naar het *single-overlap* gebied, waar ze kracht kunnen ontwikkelen.

Het optreden van deze piek is eigen aan het model, maar is niet noodzakelijk foutief. Indien alle spiervezeltjes in een papillairspier simultaan zouden contraheren en relaxeren, zou deze piek zich uiten in het krachtverloop van de papillairspier. In realiteit is er echter een spreiding aanwezig in het krachtverloop van de verschillende spiervezeltjes, zodat deze piek zich mogelijk niet uit op spierniveau.

In deze thesis werden dus twee mogelijke mechanismen voorgesteld, die de invloed van filamentglijden op de toestandsvariabelen modelleren. Deze geven een verschillend krachtverloop in de simulaties. Het artikel van LANDESBERG & SIDEMAN stelt een mechanisme voor dat elementen van beide mechanismen uit deze thesis bevat. In het artikel is men echter onduidelijk over het verdere gebruik van deze uitdrukkingen. Het is in elk geval duidelijk dat geen van beide voorgestelde mechanismen het effect van *load dependent relaxation* reconstrueert, zodat een oorzaak hiervoor elders te zoeken is.

#### 5.2.4 Het effect van het ten Tusscher model

Bij het vaststellen van de discrepanties tussen de simulaties en de resultaten uit het artikel van LANDESBERG & SIDEMAN [20], stelt zich spontaan de vraag naar het aandeel van de implementatie van het TEN TUSSCHER model hierin. Daarom werden de simulaties ook uitgevoerd met het oorspronkelijk fenomenologisch model, beschreven door vergelijkingen (3.31) tot (3.34). Die resultaten zijn praktisch dezelfde als de simulatie uitgevoerd met het model van TEN TUSSCHER. Deze vaststelling maakt duidelijk dat de koppeling van het cross-bridge model met een nieuw elektrofysiologisch model niet aan de oorzaak van de afwijkingen van de simulaties ligt.

Het feit dat de koppeling van het cross-bridge model met het model van TEN TUSSCHER weinig of geen wijzigingen teweegbracht in vergelijking met het oorspronkelijk gepubliceerd model [20], betekent echter niet dat deze koppeling nutteloos is. Zoals reeds eerder gezegd, komt men door deze koppeling tot een volledig mechanistisch model, dat meer inzicht verschaft dan een fenomenologisch model. Zo kan met dit model onderzocht worden hoe afwijkingen op elektrofysiologisch vlak (blokkage van een ionpomp door bepaalde medicatie bijvoorbeeld) zich uiten in het gedrag van de spiervezel. Dit laatste kon echter nog niet onderzocht worden in deze thesis, wegens de problemen die zich voordoen ter hoogte van het cross-bridge model.

#### 5.2.5 Conclusie

Uit de simulaties blijkt dat het spiervezelmodel zeker op twee vlakken moet verbeterd of verduidelijkt worden. Allereerst bestaat er nog onduidelijkheid rond het implementeren van effect van filamentglijden op de krachtwerking van de spiervezel. Om hierover duidelijkheid te krijgen, nam ik reeds contact op met auteur LANDESBERG, maar hij had jammer genoeg een volgeboekte agenda op het moment dat dit probleem zich stelde.

Een tweede element dat de verschillen tussen simulatieresultaten en experimenten verklaart, is de parameterset van het model. Zoals reeds vermeld in paragraaf 3.4, is het model van LANDES-BERG & SIDEMAN een moeilijk model wegens het relatief groot aantal parameters. Daarnaast zorgen de feedbackmechanismen ervoor dat een kleine wijziging in één van de parameters grote veranderingen in het modelgedrag met zich mee kan brengen. Dit maakt dat een grondige sensitiviteitsanalyse van de verschillende parameters nodig is om nog meer inzicht te krijgen in de koppelingen tussen de modelcomponenten en dus het modelgedrag. Zo'n sensitiviteitsanalyse zal dan tonen welke parameter(s) gewijzigd moeten worden om een realistischer modelgedrag te bereiken.

# Hoofdstuk 6

# Toekomst

Zoals reeds een aantal keer aangehaald werd, zijn de ontwikkeling van het hartspiercelmodel en de computerimplementatie uitgevoerd met het oog op het gebruik ervan in een *multi-scale* model. Tot nu toe werden enkel simulaties op celniveau uitgevoerd. In dit hoofdstuk wordt een aanzet gegeven tot het modelleren van een stuk hartspierweefsel, met het in dit onderzoek ontwikkelde hartspiercel als onderdeel dat voor de actieve contractiekracht zorgt.

De implementatie van zo'n *multi-scale* model in CMISS wordt hier beschreven aan de hand van het simulatievoorbeeld in bijlage C, dat gebaseerd is op voorbeeld 5d1 van de CMISS website: Active contraction of a 3D slab using cellular steady-state HMT. In dit hoofdstuk zullen enkele cruciale fragmenten uit bijlage C belicht worden.

Het komt erop neer dat een stuk hartspierweefsel gemodelleerd wordt met de eindige-elementen methode. Voor de bepaling van de actieve spanning in het weefsel ten gevolge van spiercontractie, wordt gebruik gemaakt van een onderliggend celmodel. In dit onderzoek zou dit het ontwikkelde model van hoofdstuk 3 zijn; in het voorbeeld 5d1 van CMISS gaat het om het HUNTER-MCCULLOCH-TERKEURS model, dat reeds in CMISS ingebouwd is.

Bij het modelleren van een stuk spierweefsel moet CMISS in feite twee rekenproblemen oplossen:

- Het hoofdprobleem is een eindige-elasticiteits probleem op weefselniveau
- Om de actieve spanning in het weefsel te kennen, moet een celprobleem opgelost worden. Dit probleem speelt zich af op gridniveau en de oplossing ervan wordt doorgespeeld naar het mechanisch hoofdprobleem.

In de simulatie komt deze splitsing tot uiting door het definiëren van twee probleemklassen:

88 # The two class definitions

89 | SMECHANICS = 1;

90 | CELL = 2;

In de verdere simulatie worden de twee probleemdefinities dan gescheiden gehouden door bij de overeenkomstige commando's het argument class \$MECHANICS of class \$CELL te vermelden.

#### 6.1 Modelgeometrie

Na het definiëren van de nodige variabelen, wordt dan de geometrie van het probleem opgesteld. In het voorbeeld van CMISS gaat het om een balk, verdeeld in 8 kubusvormige elementjes. Nieuw ten opzichte van de bespreking in paragraaf 4.2.2 omtrent de opbouw van een simulatie, zijn volgende commando's:

```
_{106} |# 0 deg fibre angles everywhere, using a tri-linear interpolation, and
```

```
|107| \# need to define sheets etc...
```

108 **fem** define fibre; r; \$example/emech-0deg;

109 **fem** define element; r; \$example/emech-1x8x1-linear fibre;

Met het eerste commando worden vezels gedefinieerd ter hoogte van de knooppunten van de geometrie. Dit levert een bestand emech-Odeg.ipfibr op. Het tweede commando definieert de zogenaamde *sheets*. Dit is in feite het interpoleren tussen de vezels van de knooppunten door middel van gekozen basisfuncties, om zo de vezeloriëntatie overal in de elementen te kennen. Een bestand emech-1x8x1-linear.ipelfb wordt aangemaakt.

Aangezien in dit voorbeeld de elementen geometrisch vastgelegd worden door middel van trikubische Hermite basisfuncties, moeten de afgeleiden in elk knooppunt ook opgegeven worden. In het geval van kubusvormige elementen kan dit automatisch door de commando's in lijnen 113 tot en met 115.

### 6.2 Probleem definities

Eens de modelgeometrie vastligt, wordt het mechanisch basisprobleem gedefinieerd (merk het argument class \$MECHANICS op):

```
_{129} \# Set up the mechanics
```

```
130 fem define equation; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS lock;
```

```
_{131} | # using Carey's new material parameters
```

```
132 fem define material; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS;
```

```
133 \# use the cellular HMT active tension
```

```
134 fem define active; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS;
```

```
135 \# fix the corners group and allow wall-x group to slide in x-axis
```

```
136 fem define initial; r; $example/mech-cubic-fixed class $MECHANICS;
```

```
_{137} # use the Newton solver with GMRES
```

138 **fem** define solve; r; \$example/newton class \$MECHANICS;

Daarna komt dan het definiëren van het onderliggend celprobleem aan bod. Daarbij wordt een 9x9x9 grid gedefinieerd binnen elk element. Deze grid zal de mesh vormen voor het oplossen van het celmodel (zoals besproken in paragraaf 4.2.2), en het bovenliggend mechanisch model zal dan de nodige celresultaten uit die grid halen. Definitie van de grid:

```
_{140} \left| \# \ \textit{Set up the HMT cellular model} - \textit{used to calculate the active tension} \right.
```

```
141 \# Define a 9x9x9 grid scheme for use in all elements and calculate
```

```
_{142} # their spatial location and metrics
```

```
143 fem define grid; r; $example/cell-9x9x9 class $CELL;
```

```
144 fem update grid geometry;
```

145 **fem** update grid metric;

Verder worden dan de andere parameters van het celprobleem ingesteld, door de commando's te doorlopen die reeds in paragraaf 4.2.2 aan bod kwamen.

Nu zijn beide problemen volledig gedefinieerd. Vooraleer de simulatie kan gestart worden, moeten echter nog voorbereidingen getroffen worden voor de koppeling tussen beide modellen.

### 6.3 Koppeling van de problemen

De oplossingswaarden van de verschillende grootheden in het **celprobleem** worden opgeslagen in een gridrooster of **gridarray YQS**. Om de nodige grootheden te kunnen uitlezen en dan door te geven aan het bovenliggend mechanisch probleem, moet allereerst geweten zijn waar in de array YQS deze grootheden opgeslagen zijn.

188 fem inquire cell\_variable Tension return\_variables T\_GRIDARRAY, T\_GRIDIDX;

Bovenstaand commando gaat in de verschillende arrays van CMISS op zoek naar celvariabele *Tension*. De variabele **\$T\_GRIDARRAY** bevat dan de naam van de array waarin de variabele zich bevindt (in dit geval YQS) en **\$T\_GRIDIDX** is dan het indexnummer dat de positie van *Tension* binnen de array YQS voorstelt. Analoog worden de variabelen *ExtensionRatio* en *Cai* uit het celmodel uitgelezen.

Daarna worden twee historybestanden aangemaakt (lijnen 205 tot en met 212), waarin tijdens de simulatiestappen respectievelijk alle celoplossingen en enkel de geconvergeerde celoplossingen zullen opgeslagen worden.

Voor het oplossen van het **mechanisch hoofdprobleem** wordt gebruik gemaakt van de waarden in de zogenaamde **Gausspunten**. Het mechanisch probleem leest de nodige celgrootheden dus niet rechtstreeks uit de gridpunten! Daarom moeten de Gausspunten regelmatig bijgewerkt worden met (geïnterpoleerde) waarden uit de gridpunten:

<sup>215</sup> **fem** update gauss gridvars \$T\_GRIDARRAY \$T\_GRIDIDX \$T\_GAUSSARRAY \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX;

<sup>216</sup> **fem** update gauss gauss\_field destination\_field \$T\_GAUSSIDX source\_field \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX;

Het eerste commando kopieert de gridwaarden van de variabele *Tension* (index \$T\_GRIDIDX in array \$T\_GRIDARRAY) naar een voorlopige index \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX in de Gauss-array (YG). Het tweede commando zet de informatie in de voorlopige Gaussindex \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX dan over naar de index \$T\_GAUSSIDX, waar het uitgelezen kan worden door het mechanisch probleem. Het manoeuver met de voorlopige index is er om te voorkomen dat het uitvoeren van een simulatiestap in het mechanisch probleem de waarde van de actieve spanning uit het celmodel zou overschrijven.

Nu kan het mechanisch probleem geïnitialiseerd worden:

218

fem solve class \$MECHANICS increment 0.0 iterate \$MAX\_MECH\_ITER error \$MECH\_ERRTOL;

en na convergentie worden (indien gevraagd) de initiële rekken en spanningen geëxporteerd (lijnen 231 tot en met 249).

Verder moeten de in het mechanisch probleem berekende initiële vezelrekken in het spierweefsel overgedragen worden van de Gausspunten (weefselniveau) naar de gridpunten (celniveau), zodat deze gebruikt kunnen worden door het celmodel:

251 fem update grid extension\_ratio component \$L\_MECHIDX \$L\_GRIDARRAY \$L\_GRIDIDX class \$MECHANICS;

### 6.4 Simulatie

Nu beide problemen gedefinieerd en geïnitialiseerd zijn, kan de eigenlijke simulatielus opgestart worden. Daarin worden volgende stappen doorlopen:

1. Bijwerken van de vezelrekken in de gridpunten (celniveau) met de rekken berekend in het mechanisch probleem (weefselniveau, Gausspunten), zodat het celmodel de nodige gegevens heeft

fem update grid extension\_ratio component \$L\_MECHIDX \$L\_GRIDARRAY \$L\_GRIDIDX class \$MECHANICS;

2. Het celmodel oplossen voor de huidige tijdsstap

```
fem solve class $CELL from $previous_time to $current_time;
```

3. De oplossing van het celmodel wegschrijven in de historyfile die alle iteraties bevat

278fem write history unit \$ITERATIONS\_UNIT time \$history\_time<br/>variables yqs \$FORMAT class \$CELL;

4. Overdragen van de net berekende actieve spanningen van de gridpunten (celniveau) naar de Gausspunten (weefselniveau), zodat het mechanisch probleem deze waarden kan gebruiken

281	fem update gauss gridvars \$T_GRIDARRAY \$T_GRIDIDX \$T_GAUSSARRAY
	T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
282	fem update gauss gauss_field destination_field \$T_GAUSSIDX
	source_field \$T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;

5. Eén iteratie van het mechanisch hoofdprobleem oplossen in de huidige tijsstap, met de nieuwe actieve spanningswaarden

fem solve class \$MECHANICS increment 0.0 iterate 1 error \$MECH\_ERRTOL;

Bovenstaande stappen zijn schematisch weergegeven in figuur 6.1.



Figuur 6.1: Interactie tussen een model op weefselniveau en een celmodel tijdens het simuleren van een multi-scale model

Deze stappen worden herhaald totdat het mechanisch hoofdprobleem convergeert voor de huidige tijdsstap. Eens convergentie bereikt is, wordt de oplossing van deze tijdsstap weggeschreven naar het historybestand dat de geconvergeerde oplossingen bevat

293

fem write history unit \$CONVERGED\_UNIT time \$time variables yqs
\$FORMAT class \$CELL;

gevolgd door het exporteren van de vervormde geometrie

296

fem export node; \$output/deformed\_\$time field as tissue;

En indien gevraagd, exporteert CMISS ook nog de rek- en spanningsinformatie van de verschillende Gausspunten:

297	if (\$export_gauss) {
298	$\# \ Export \ the \ converged \ Gauss \ point \ strains$
299	fem update gauss strain fibre components;
300	${\bf fem} \ {\tt export} \ {\tt gauss}; {\tt \$output/gauss\_strain\_\$time} \ {\tt yg} \ {\tt as} \ {\tt tissue};$
301	$\# \ Export \ the \ converged \ Gauss \ point \ stresses \ first \ need \ to$
302	# put the active tension back into YG (the strains from the
303	$\# \ previous \ update \ have \ overwritten \ it)$
304	fem update gauss gauss_field destination_field \$T_GAUSSIDX
	source_field \$T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
305	fem update gauss stress fibre components;
306	fem export gauss; \$output/gauss_stress_\$time yg as tissue;

}

# fem update gauss gauss\_field destination\_field \$T\_GAUSSIDX source\_field \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX;

308

307

Hierbij valt op te merken dat na elk commando fem update gauss ... de actieve spanning in de Gausspunten (weefselniveau) overschreven wordt, zodat deze waarden telkens weer moeten bijgewerkt worden met de actieve spanning afkomstig van het celmodel (opgeslagen in \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX), met behulp van het commando fem update gauss gauss\_field .... Hier wordt het nut van manoeuver met de voorlopige index duidelijk.

Daarna worden alle bovenstaande handelingen herhaald voor de volgende tijdsstap. Wanneer alle tijdsstappen doorlopen zijn, is de simulatie beëindigd. Dan rest enkel nog het sluiten van de twee historybestanden (lijnen 327 en 328) en het exporteren van de informatie in de historybestanden, volgens de procedure beschreven in paragraaf 4.2.2 (lijnen 330 tot en met 349).

Hoewel dit hoofdstuk slechts een aanzet geeft tot het modelleren van spierweefsel, worden toch de capaciteiten van het pakket CMISS op dat vlak getoond, alsook mogelijkheid om het celmodel van deze thesis te gebruiken in een *multi-scale* modellering. De uitleg in dit hoofdstuk is vrij technisch, maar kan een grote tijdsbesparing betekenen voor verder onderzoek.

# Hoofdstuk 7

# Besluit

In dit thesisonderzoek werd een compleet hartspiercelmodel opgesteld. Daarbij werd gestart met een literatuurstudie rond de werking van het spiercontractiemechanisme op celniveau. De cross-bridgecyclus als motor van de spiercontractie werd uit de doeken gedaan.

Met deze basis werd in hoofdstuk 2 een analyse gemaakt van bestaande spiermodellen, waarbij een onderscheid gemaakt werd tussen de fenomenologische en mechanistische celmodellen. Er werd geargumenteerd dat mechanistische modellen de voorkeur genieten, omdat ze meer inzicht verschaffen in de werking van het gesimuleerde proces. De modelbeschrijving is er immers gebaseerd op de werkelijke biofysische mechanismen die aan de basis van het contractieproces liggen. Uit de literatuurstudie van de bestaande spiercelmodellen kwam het model van LANDESBERG & SIDEMAN naar voor als het meest complete model. De aanwezigheid van de twee feedbackmechanismen in dit model, met name coöperativiteit en mechanische feedback, maakt dat het model van LANDESBERG & SIDEMAN in staat is om effecten op ventrikelniveau te verklaren. Het is dus een echt hartspiervezelmodel.

Logischerwijs werd dan ook gekozen voor het model van LANDESBERG & SIDEMAN als basis voor het model dat in deze thesis opgebouwd werd. Het oorspronkelijk model van LANDESBERG & SIDEMAN was voorzien van een zeer eenvoudig calciumdynamica model, dat fenomenologisch van aard was. Dit eenvoudig model werd vervangen door een koppeling met het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL. Om die koppeling te realiseren werd het model van TEN TUSSCHER aangepast op basis van het model van PRIEBE & BEUCKELMANN. Concreet werd de modellering van de intracellulaire calciumbuffer iets complexer gemaakt, door een onderscheid te maken tussen een calmodulinebuffer en een troponinebuffer. Deze laatste vormt de link tussen het cross-bridge model en het elektrofysiologisch model.

Het hier samengestelde spiercelmodel is bedoeld om in later onderzoek gebruikt te worden in een *multi-scale* model. Hartspierweefsel en zelfs een volledig hart worden dan gemodelleerd, waarbij de actieve contractie van de hartspier steunt op het onderliggende hartspiercelmodel. Er werd dan ook getracht om de implementatie van het celmodel zodanig te realiseren dat uitbreiding tot spierweefsel relatief eenvoudig kan gebeuren. Implementatie in een eindig-elementenprogramma was daarom aangewezen. In hoofdstuk 4 werden enkele bestaande pakketten geanalyseerd, waarbij het pakket CMISS als meest geschikt programma uit de bus kwam. Dit had veel te maken met de mogelijkheid om de celmodellen in te geven in het universeel CellML dataformaat. In

hoofdstuk 5 werd dan de concrete implementatie van het ontwikkelde celmodel in het CMISS pakket beschreven, gevolgd door een analyse van de uitgevoerde simulaties. Het laatste hoofdstuk geeft een aanzet tot het modelleren van volledig hartspierweefsel, door analyse van een bestaand CMISS voorbeeld.

Ter conclusie kunnen we zeggen dat in deze thesis de basis gelegd voor een veelbelovend hartspiervezelmodel. De keuze van bestaande modellen werd ondersteund door een literatuurstudie. Uit de simulaties blijkt dat twee punten zeker nog verder uitgewerkt zouden moeten worden vooraleer het opgestelde model als correct werkend kan worden beschouwd. Enerzijds is een grondige sensitiviteitsanalyse van de modelparameters nodig en anderzijds moet het effect van filamentglijding op de krachtontwikkeling herzien worden, eventueel in overleg met de auteurs van het originele artikel.

# Bijlage A

# Snelheidsverloop bij isotone contracties

Deze bijlage beschrijft de mathematische uitwerking om de vergelijking van het snelheidsverloop bij isotone contractie te bepalen in het ontwikkelde celmodel. Deze vergelijking wordt aangehaald in paragraaf 3.1.2 van hoofdstuk 3, waar een compleet hartspiercelmodel opgebouwd wordt.

Om het snelheidsverloop bij isotone contractie te bepalen, gaat men uit van de kenmerkende randvoorwaarde:

$$\frac{\mathrm{d}F}{\mathrm{d}t} = 0 \tag{A.1}$$

Het linkerlid van deze vergelijking kan bepaald worden op basis van de uitdrukking voor de totale kracht F die ontwikkeld wordt door een spiervezel:

$$F = F_{ce} + F_{pe} \tag{A.2}$$

zodat

$$\frac{\mathrm{d}F}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}F_{ce}}{\mathrm{d}t} + \frac{\mathrm{d}F_{pe}}{\mathrm{d}t} \tag{A.3}$$

Wat de eerste term van het rechterlid in (A.3) betreft:

$$F_{ce} = N_{XB} F_{XB} \tag{A.4}$$

zodat

$$\frac{\mathrm{d}F_{ce}}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}N_{XB}}{\mathrm{d}t}F_{XB} + N_{XB}\frac{\mathrm{d}F_{XB}}{\mathrm{d}t} \tag{A.5}$$

Verdere uitwerking:

$$\frac{\mathrm{d}F_{ce}}{\mathrm{d}t} = \left[10^{-30} N_A N_C L_s \frac{\mathrm{d}(T_s + U_s)}{\mathrm{d}t} F_{XB} + 10^{-30} N_A N_C \frac{\mathrm{d}L_s}{\mathrm{d}t} (T_s + U_s) F_{XB}\right] + N_{XB} \frac{\mathrm{d}F_{XB}}{\mathrm{d}t} \quad (A.6)$$

Nu geldt:

$$\frac{\mathrm{d}L_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}SL}{\mathrm{d}t} = -V \tag{A.7}$$

$$\frac{\mathrm{d}F_{XB}}{\mathrm{d}t} = \bar{F} \frac{1}{V_u} \left(-\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t}\right) \tag{A.8}$$

$$\frac{\mathrm{d}T_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}T_s}{\mathrm{d}t} L_s - \overline{T}_s V \tag{A.9}$$

$$\frac{\mathrm{d}U_s}{\mathrm{d}t} = \frac{\mathrm{d}\overline{U}_s}{\mathrm{d}t} L_s - \overline{U}_s V \tag{A.10}$$

$$\frac{\mathrm{d}(\overline{T}_s + \overline{U}_s)}{\mathrm{d}t} = f \,\overline{A}_s - g(V) \left(\overline{T}_s + \overline{U}_s\right) \tag{A.11}$$

(A.12)

Na hergroepering ziet de eerste term van het rechterlid in (A.3) er als volgt uit:

$$\frac{\mathrm{d}F_{ce}}{\mathrm{d}t} = 10^{-30} N_A N_C \bar{F} \left\{ \left[ 1 - \frac{V}{V_u} \right] \left[ L_s \left( f A_s - (g_0 + g_1 V)(T_s + U_s) \right) - 2V (T_s + U_s) \right] - \frac{L_s}{V_u} (T_s + U_s) \frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} \right\}$$
(A.13)

Voor de tweede term van het rechterlid in (A.3) grijpen we even terug naar uitdrukking (3.22) die de *internal load* beschrijft:

$$F_{PE} = \eta_{PE} V + \begin{cases} E \left( e^{D \left( \frac{SL}{Sp_0} - 1 \right)} - 1 \right) &, SL \ge Sp_0 \\ -B \left( 1 - \frac{SL}{Sp_0} \right) &, SL < Sp_0 \end{cases}$$
(A.14)

Afleiden naar de tijd geeft:

$$\frac{\mathrm{d}F_{PE}}{\mathrm{d}t} = \eta_{PE} \frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} + \begin{cases} \frac{ED}{Sp_0} e^{D\left(\frac{SL}{Sp_0}-1\right)} \left(-V\right) &, SL \ge Sp_0\\ -B\left(-\frac{1}{Sp_0}\right) \left(-V\right) &, SL < Sp_0 \end{cases}$$
(A.15)

$$\frac{\mathrm{d}F_{PE}}{\mathrm{d}t} = \eta_{PE} \frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} - V \begin{cases} \frac{E D}{Sp_0} e^{D\left(\frac{SL}{Sp_0} - 1\right)} &, SL \ge Sp_0\\ \frac{B}{Sp_0} &, SL < Sp_0 \end{cases}$$
(A.16)

Vereenvoudigde notatie:

$$\frac{\mathrm{d}F_{PE}}{\mathrm{d}t} = \eta_{PE} \,\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} - V \,K_{PE} \tag{A.17}$$

 $\operatorname{met}$ 

$$K_{PE} \triangleq \begin{cases} \frac{ED}{Sp_0} e^{D\left(\frac{SL}{Sp_0} - 1\right)} &, SL \ge Sp_0\\ \frac{B}{Sp_0} &, SL < Sp_0 \end{cases}$$
(A.18)

Uitdrukkingen (A.13) en (A.17) brengen we dan in vergelijking (A.3):

$$\frac{\mathrm{d}F}{\mathrm{d}t} = F_C \left[ 1 - \frac{V}{V_u} \right] \left[ L_s f A_s - (T_s + U_s) \left\{ L_s (g_0 + g_1 V) + 2 V \right\} \right] - K_{PE} V + \left[ \eta_{PE} - F_C \frac{L_s}{V_u} (T_s + U_s) \right] \frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} \quad (A.19)$$

met de constante  $F_C \triangleq 10^{-30} N_A N_C \overline{F}$ .

Door tenslotte de voorwaarde (A.1) voor isotone contractie in te brengen, bekomt men vergelijking (3.27):

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t} = \left\{ F_C \left[ 1 - \frac{V}{V_u} \right] \left[ L_s f A_s - (T_s + U_s) \left\{ L_s (g_0 + g_1 V) + 2 V \right\} \right] - K_{PE} V \right\} \\ \left\{ F_C \frac{L_s}{V_u} (T_s + U_s) - \eta_{PE} \right\}^{-1}$$
(A.20)

# Bijlage B

# Installatie van CMISS

Deze bijlage biedt de nodige informatie om de installatie van CMISS en het Ubuntu besturingssysteem uit te voeren op een standaard PC. Een zekere basiskennis van Linux wordt hierbij verondersteld.

## B.1 Installatie van Ubuntu Linux

Ubuntu Linux is een open source besturingssysteem en bijgevolg vrij beschikbaar. De nodige bestanden zijn beschikbaar op http://www.ubuntu.com/getubuntu. Voor deze thesis werd gekozen voor een *Desktop Edition* voor *Standard Personal Computer*.

Na het branden van het imagebestand op een CD-ROM schijfje bekomt men een zogenaamde LiveCD. Ubuntu kan dus vanaf CD opgestart worden. Start de PC op met de Ubuntu CD in de CD-ROM lezer. Na het opstarten van Ubuntu komt men in een omgeving gelijkaardig aan Microsoft Windows. Op het bureaublad staat een snelkoppeling die toelaat om Ubuntu op de harde schijf te installeren.

**Opmerking** Als Ubuntu geïnstalleerd wordt naast een ander besturingssysteem, dient men een niet-gepartitioneerde ruimte van enkele gigabytes te voorzien alvorens de Ubuntu Installer uit te voeren. Dit kan bijvoorbeeld met het pakket PartitionMagic.

Partitie	Type	Koppelpunt	Beschrijving	Grootte
/dev/hda1	FAT32	/media/hda1	Windows C-schijf	20GB
/dev/hda2	FAT32	/media/hda2	Windows D-schijf	$15 \mathrm{GB}$
/dev/hda3	ext3	/	Linux root	20 GB
/dev/hda4	linux-swap	swap	Linux swap	518MB

Tabel B.1: Voorbeeld van een partitionering

De installatie van Ubuntu kan naar eigen smaak uitgevoerd worden. Ter ondersteuning vermeldt tabel B.1 een mogelijke partitioneringstabel. Hier werd Ubuntu geïnstalleerd naast een bestaande Windows XP installatie. Na de installatie kan bij het opstarten gekozen worden tussen de aanwezige besturingssystemen. In het vervolg van deze handleiding zal met het begrip *gebruikersmap* steeds de map /home/USER/ bedoeld worden, waarbij USER de gebruikersnaam is die bij de installatie gekozen werd.

Ter voorbereiding op de volgende stappen zijn enkele bestanden nodig van de CD-ROM die bij dit document is bijgevoegd. De map install van de CD-ROM mag gekopieerd worden naar de gebruikersmap, zodat uiteindelijk de bestanden op de locatie /home/USER/install/ staan. Na het uitvoeren van de instructies in deze bijlage, mag deze map opnieuw verwijderd worden.

## B.2 Installatie van back-end module cm

Voor de installatie van de back-end module zullen we werken in het Terminal-venster, dat we eveneens nodig hebben om nadien met **cm** te werken. Terminal is te vinden onder het menu 'Applications'.

Om de back-end module te installeren moeten volgende commando's ingevoerd worden. We installeren het programma in de map /usr/local/ en gaan ervan uit dat de nodige installatiebestanden in de gebruikersmap beschikbaar zijn:

```
cd /usr/local
sudo mkdir cmiss
cd cmiss
sudo tar xvjf /home/USER/install/cm-2.1.tar.bz2
```

Vervolgens moeten enkele pakketten geïnstalleerd worden:

sudo apt-get install build-essential sudo apt-get install libg2c0 sudo apt-get install g77

Tenslotte voegen we cm toe aan de PATH-variabele van Linux, door aan het bestand .bashrc een commandolijn toe te voegen. We openen het tekstbewerkingsprogramma *nano* als volgt:

```
sudo nano /home/USER/.bashrc
```

Aan het einde van dit tekstbestand voegen we volgende regels toe:

```
export CMISS_ROOT=/usr/local/cmiss
export PATH=$PATH:$CMISS_ROOT/cm-2.1/bin/
```

Met de toetsencombinatie CTRL+X wordt *nano* afgesloten, na eerst te bevestigen dat de wijzigingen mogen opgeslagen worden. Eens terug in het Terminalvenster moet nog 'exit'+ENTER getypt worden om dit af te sluiten (dit is nodig om de wijzigingen van kracht te laten worden). De back-end module cm is nu klaar voor gebruik. De applicatie kan in een Terminalvenster gestart worden met het commando cm.

### B.3 Installatie van front-end module cmgui

De installatie van de grafische front-end applicatie cmgui vereist allereerst installatie van enkele pakketten. We gaan er van uit dat de nodige installatiebestanden aanwezig zijn in de map /home/USER/install/.

Allereerst moet het pakket *Openmotif* geïnstalleerd worden. Hiervoor is een RPM-bestand beschikbaar in de gebruikersmap, dat eerst moet omgezet worden naar een DEB-bestand (met
behulp van applicatie **alien**) vooraleer installatie mogelijk is. Aanmaken van een DEB-bestand, gevolgd door de installatie gebeurt door volgende commando's:

```
sudo apt-get install alien
cd /home/USER/install/
sudo alien openmotif-2.3.0beta1-rhe4.i386.rpm
sudo dpkg -i openmotif_2.3.0_1.2_i386.deb
```

Daarnaast is ook het pakket Imagemagick nodig om afbeeldingen te kunnen exporteren:

```
sudo apt-get install imagemagick
```

Vervolgens kunnen we overgaan tot de installatie van cmgui:

```
cd $CMISS_ROOT
sudo mkdir cmgui
cd cmgui
sudo tar xzvf /home/username/install/cmgui-i686-linux-2.3.3.tar.gz
```

Tenslotte voegen we **cmgui** ook toe aan de PATH-variabele van Linux, door aan het bestand .bashrc een commandolijn toe te voegen:

```
sudo nano /home/USER/.bashrc
```

We voegen dan volgende regel op het einde van het bestand toe:

```
export PATH=$PATH: $CMISS_ROOT/cmgui/
```

Met de toetsencombinatie CTRL+X wordt *nano* afgesloten, na eerst te bevestigen dat de wijzigingen mogen opgeslagen worden. Eens terug in het Terminalvenster moet nog 'exit'+ENTER getypt worden om dit af te sluiten (dit is nodig om de wijzigingen van kracht te laten worden). De front-end module cmgui is nu klaar voor gebruik. De applicatie kan in een Terminalvenster gestart worden met het commando cmgui.

#### B.4 Installatie van hulpprogramma's sig2text en text2sig

Om de simulatiedata uit CMISS in een leesbaar bestand te krijgen, is een hulpprogramma vereist. Na het uitvoeren van de CMISS simulaties, zijn de resultaten beschikbaar als een SIGNAL-bestand. Dit is binaire data in het zogenaamde UNemap formaat, die niet zomaar leesbaar is in een teksteditor.

Met behulp van het hulpprogramma sig2text wordt deze binaire data omgezet naar een ASCIItekstbestand, dat eenvoudig kan geïmporteerd worden in een programma als Microsoft Excel<sup>®</sup>. Het programma text2sig voert de omgekeerde bewerking uit.

Om die hulpprogramma's te installeren, moeten volgende commando's uitgevoerd worden in een Terminalvenster:

```
cd $CMISS_ROOT
sudo cp /home/USER/install/sig2text .
sudo cp /home/USER/install/text2sig .
sudo chmod a+x sig2text
sudo chmod a+x text2sig
```

Om de hulpprogramma's tenslotte beschikbaar te maken, dienen we aan de PATH-variabele nog een commandolijn toe te voegen:

sudo nano /home/USER/.bashrc

We voegen dan volgende regel op het einde van het bestand toe:

export PATH=\$PATH:\$CMISS\_ROOT/

Met de toetsencombinatie CTRL+X wordt *nano* afgesloten, na eerst te bevestigen dat de wijzigingen mogen opgeslagen worden.

De hulpprogramma's kunnen nu als volgt worden gebruikt:

sig2text bronbestand.signal doelbestand.txt

#### Bijlage C

### Multi-scale modellering in CMISS

Deze bijlage toont het commandobestand van een CMISS simulatie, gebaseerd op het voorbeeld 5d1 van de CMISS website<sup>1</sup>, getiteld: Active contraction of a 3D slab using cellular steady-state HMT.

```
1 #
  \# 3D slab with HMT used for active tension calculation
3 #
  # Uses the steady state version of HMT at the cellular (grid point)
5 \notin level to update the active tension at the gauss points for
  \# integration in a finite elasticity solution of a 3-dimensional slab
7 \# of cardiac (pig?) tissue
  #
9
  # Set up some colour highlighting
11 \# To turn off all formating
  FBnone = " \setminus 033[0m";
|13| \# Foreground colurs
  Fblack = " \ 033[30m";
15 $Fred = "\033[31m";
  $Fgreen
           = "\033[32m";
17 |  $Fyellow = "\033[33m";
            = "\033[34m";
  $Fblue
19 Fmagneta = " \setminus 033[35m";
  Fcyan = " \ 033[36m";
_{21} $Fwhite = "\033[37m";
  # Background colours
_{23} $Bblack = "\033[40m";
  $Bred
           = "\033[41m";
_{25} $Bgreen = "\033[42m";
  Byellow = " \setminus 033[43m";
           = "\033[44m";
27 $Bblue
  Bmagneta = " \setminus 033[45m";
_{29} $Bcyan = "\033[46m";
           = "\033[47m";
  $Bwhite
31
  \# If the example path is not set, default to current directory
33 if (! defined $example) {
```

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Voorbeeld 5d1: http://cmiss.bioeng.auckland.ac.nz/development/examples/5/5d/5d1/

```
example = "./";
35 }
  \# Drop off the trailing / in the example path
37 $chopped = chop $example;
  if ($chopped ne "/") {
      example :=  chopped;
39
  }
41
  #
_{43}| \neq Main \ section \ \ldots
  #
45
  set echo;
47
  FORMAT = "binary";
49
  \# for this example, we do not want to export data for every iteration
_{51} $output_iterations = 0;
  \# we do want to export cellular membrane potentials
53 $export_potentials = 0;
  # we do not want to export any Gauss point information
55 $export_gauss = 0;
  \# and we do not want to list out any strains
57 $list_strains = 0;
  \# although, if we did we would want them at these Gauss points
59 @gauss_points = (1,38,39,42,43,22,23,26,27,64);
_{61} \# Set the output directory
  soutput = ".";
63 if (! -d $output) {
      mkdir $output,0700;
65 }
_{67} # Enable to solution of the finite elastic y model
  SOLVE_DISTRIBUTED_MECHANICS = 1;
69 \# Set to false to not solve the cell model
  SOLVE\_CELL\_MODEL = 1;
71 \# We want to use the steady state version of HMT
  STEADY_STATE = 1;
73 \# Set this to 1 to fix both ends of the slab
  SISOMETRIC = 0;
75
  # The different [Ca] i transients - cai.iptime is from Martyn Nash,
77 \not \# cai\_resting.iptime is a constant resting level of [Ca]i and
  \# cai_new.iptime is an approximation of the transient presented in
79 \# Stuyvers et. al. Prog. Biophys. Mol. Biol. 69:1998 (Fig. 1), and
  \# cai_test.iptime is a scaled down version of this transient – i.e.
|| # one that works \dots
\# so \# s c a i = " c a i ";
  \#$ cai = "cai_resting";
| \# \ cai = "cai_n ew";
  cai = "cai_test";
```

```
87
   # The two class definitions
89 $MECHANICS = 1;
  CELL = 2;
91
   # Parameters for the distributed mechanics solution
93 | $MECH_ERRTOL = 0.01:
   MAX_MECH_TER = 20;
95
   \# Set up the geometry 1*8*1 element 4*32*4mm bicubic-Hermite basis,
97 \neq 0 fibre angle
   fem define parameter; r; $example/emech;
99 fem define coordinates; r; $example/emech;
   fem define node; r; $example/emech-1x8x1-cubic;
101 \# Need a tri-cubic Hermite for geometry (and bi-cubic Hermite for faces)
   # and a tri-linear for fibres (and bi-linear for faces)
103 \# and a auxilary basis for pressure
   fem define base; r; $example/emech-cubic-linear;
105 fem define element; r; $example/emech-1x8x1-cubic;
   \# \ 0 deg \ fibre \ angles \ everywhere, \ using \ a \ tri-linear \ interpolation , \ and
107 \# need to define sheets etc...
   fem define fibre; r; $example/emech-0deg;
109 fem define element; r; $example/emech-1x8x1-linear fibre;
111 \# Need to calculate the undeformed nodal derivatives (using the linear
   # flag since we are modelling a square)
113 fem update node derivative 1 linear;
   fem update node derivative 2 linear;
115 fem update node derivative 3 linear;
|117| \# Node/element groups to set BC's
   fem group node external as bdy_nodes;
119 fem group node 1,10,19,28 as left_end;
   fem group node 9,18,27,36 as right_end;
121 if ($ISOMETRIC) {
       fem group node left_end, right_end as corners;
123 } else {
       fem group node left_end as corners;
125 }
   fem group node 18 as wall_x;
127 fem group element 1..8 as ALL_ELEMENTS;
|129| \# Set up the mechanics
   fem define equation; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS lock;
131 \# using Carey's new material parameters
   fem define material; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS;
133 \# use the cellular HMT active tension
   fem define active; r; $example/mech-cubic class $MECHANICS;
|135| \neq fix the corners group and allow wall x group to slide in x-axis
   fem define initial;r;$example/mech-cubic-fixed class $MECHANICS;
_{137} # use the Newton solver with GMRES
   fem define solve; r; $example/newton class $MECHANICS;
139
```

```
\# Set up the HMT cellular model – used to calculate the active tension
_{141} # Define a 9x9x9 grid scheme for use in all elements and calculate
  # their spatial location and metrics
143 fem define grid; r; $example/cell-9x9x9 class $CELL;
  fem update grid geometry;
145 fem update grid metric;
  # Could use this for coupled models...
147 #fem group grid xi1=0 oneoff as stimulus_site;
  # Always a useful group to have
149 fem group grid element ALLELEMENTS as ALL_GRID_POINTS;
  # Define the HMT cardiac mechanics model
151 fem define equation; r; $example/cell-hmt class $CELL;
  \# Need to define these material parameters even though they are
|153| \# completely unused for this simulation
  fem define material; r; $example/cell-hmt class $CELL;
_{155} # Define the model parameters – if we what to use the steady-state
  # version we need to set the STEADY_STATE flag
157 if ($STEADY_STATE) {
       fem define cell; r; $example/cell-hmt-ss class $CELL;
159 } else {
       fem define cell;r; $example/cell-hmt class $CELL;
161 }
  \# Define the spatially varying cellular parameters – there are none
163 fem define material; r; $example/cell-hmt cell class $CELL;
  \# and update the grid point materials
165 fem update grid material class $CELL;
  \# Define the [Ca] i transient (defined above)
167 fem define time; r; $example."/". $cai;
  \# Define the initial condition for the cellular model – setting the
169 \# [Ca] i variable in the cell model to be defined via the above time
  # variable
171 fem define initial; r; $example/cell-hmt class $CELL;
  # Define a simple Euler interagtion for the cellular ODE's
173 fem define solve; r; $example/cell-hmt class $CELL;
175 \# Export the undeformed geometry
  fem export node; $output/slab as tissue;
177 fem export element; $output/slab as tissue;
  \# ... and define the deformed field ...
179 fem export element; $output/deformed field as tissue;
  \# and the grid point numbers
181 fem export element; $output/numbers as tissue grid_numbers;
183 \# Initialise the cell integration
  fem solve class $CELL to 0;
185
  \# Set the various indices for the cellular (YQS) and gauss (YG) arrays
187 \# Tension index for grid (YQS) and Gauss (YG) variables
  fem inquire cell_variable Tension return_variables T_GRIDARRAY, T_GRIDIDX;
189 $T_GAUSSARRAY = "YG";
  T_GAUSSIDX = 1;
191 \# !!!! These need to be greater than 6 so that when a update gauss
  # !!!! stress/strain is done we don't loose anything
```

193  $T_FROM_CELLS_GAUSSIDX = 7$ ; ## use this to avoid repeating the evaluation of tension at gauss points # Fibre extension ratio index for grid (YQS) and mechanics variables 195 **fem** inquire cell\_variable ExtensionRatio return\_variables L\_GRIDARRAY, L\_GRIDIDX;  $L_MECHIDX = 1;$ 197 # and previous fibre extension ratio index for grid (YQS) and mechanics variables fem inquire cell\_variable ExtensionRatioPrevious return\_variables LGRIDARRAY\_PREV , L\_GRIDIDX\_PREV; 199 if ((\$L\_GRIDARRAY ne \$L\_GRIDARRAY\_PREV) || (\$L\_GRIDIDX == \$L\_GRIDIDX\_PREV)) {  $die ~" \texttt{Extension\_ratio\_current\_} (\$\texttt{L\_GRIDARRAY}, \$\texttt{L\_GRIDIDX}) \_ \texttt{and\_previous\_} (\texttt{L\_GRIDARRAY}, \texttt{L\_GRIDIDX}) \_ \texttt{and\_previous\_} (\texttt{L\_GRIDARRAY}, \texttt{L\_GRIDIDX}) \_ \texttt{and\_previous\_} (\texttt{L\_GRIDIDX}) \_ \texttt{and\_previous\_} (\texttt{And\_previous\_} (\texttt{And\_previous\_}) (\texttt{And\_previous\_}$ \$L\_GRIDARRAY\_PREV, \$L\_GRIDIDX\_PREV) \_ arrays\_do\_not\_match !! "; 201 } # [Ca] i index for grid (YQS) 203 fem inquire cell\_variable Cai return\_variables CALGRIDARRAY, CALGRIDIDX;  $_{205}$  # Open the history files for tension, extension ratio, and [Ca]i # One for the solutions for each iteration and one for the  $_{207}$  # coverged solutions  $TERATIONS_UNIT = 21;$ 209 \$CONVERGED\_UNIT = 22; fem open history; \$output/cell-hmt\_iter write unit \$ITERATIONS\_UNIT variables yqs niqslist \$T\_GRIDIDX, \$L\_GRIDIDX, \$CAL\_GRIDIDX binary class \$CELL; 211 fem open history; \$output/cell-hmt write unit \$CONVERGED\_UNIT variables yqs niqslist \$T\_GRIDIDX, \$L\_GRIDIDX, \$CAL\_GRIDIDX binary class \$CELL; 213 # Initialise the distributed mechanics # ?? Need to initialise YG ?? 215 **fem** update gauss gridvars \$T\_GRIDARRAY \$T\_GRIDIDX \$T\_GAUSSARRAY \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX; fem update gauss gauss\_field destination\_field \$T\_GAUSSIDX source\_field \$T\_FROM\_CELLS\_GAUSSIDX; 217 **if** (\$SOLVE\_DISTRIBUTED\_MECHANICS) { fem solve class \$MECHANICS increment 0.0 iterate \$MAX\_MECH\_ITER error \$MECH\_ERRTOL; 219 } else { CONVERGED = 1;221 } *# NOTE:* # 225 # CONVERGED is set in the CMISS routine NONLIN, either to 1 or 0 #depending on whether convergence was achieved or not in the # # # non-linear solution. # 227 229231 # save the initial converged solution if (\$CONVERGED) { if (\$output\_iterations && \$export\_gauss) { 233 # Export the initial strains ?? fem update gauss strain fibre components; 235fem export gauss; \$output/gauss\_strain\_0 yg as tissue; # and stresses - first need to put the active tension back into 237

```
\# YG (the strains from the previous update have overwritten it)
           fem update gauss gauss_field destination_field $T_GAUSSIDX source_field
239
               $T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
           fem update gauss stress fibre components;
           fem export gauss; $output/gauss_stress_0 yg as tissue;
241
           \# Need to replace the stress values that have been put into
           \# YG(1..) with the initial active tension values
243
           fem update gauss gauss_field destination_field $T_GAUSSIDX source_field
               $T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
       }
245
   } else {
       die "\n\nSomething_is_very,_very_wrong_-_see_ya...\n\n";
247
249
   \# Set the initial fibre extension ratio for HMT grid problem
251 fem update grid extension_ratio component $L_MECHIDX $L_GRIDARRAY $L_GRIDIDX class
       $MECHANICS:
253
   #
   # The main time loop \ldots.
255 #
   \$tend = 5.0;
_{257} $tstep = 1.0;
   finish = 0;
259 $current_time = 0;
   previous_time = 0;
_{261} $history_time = 0;
   ##set echo;
263 for ($time=0;($time<=$tend)&&(!$finish);$time+=$tstep) {
       $previous_time = $current_time;
       $current_time = $time;
265
       # Solve the current step
267
       iter = 0;
       CONVERGED = 0;
269
       while ($iter < $MAX_MECH_ITER) {</pre>
           $iter++:
271
           print "\nIteration: \_ $iter\n\n";
           \# Update the cellular extension ratios at the grid points
273
           fem update grid extension_ratio component $L_MECHIDX $L_GRIDARRAY
               $L_GRIDIDX class $MECHANICS;
           # Solve the cell model for the current step
275
           fem solve class $CELL from $previous_time to $current_time;
           \# Write to the iterations history file
277
           fem write history unit $ITERATIONS_UNIT time $history_time variables yqs
               $FORMAT class $CELL;
           $history_time++;
279
           \# Update the active tension at the Gauss points
           fem update gauss gridvars $T_GRIDARRAY $T_GRIDIDX $T_GAUSSARRAY
281
               $T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
           fem update gauss gauss_field destination_field $T_GAUSSIDX source_field
               $T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
           \# Solve the finite elasticity with the new active tensions
283
```

	fem solve class \$MECHANICS increment 0.0 iterate 1 error \$MECH_ERRTOL;
285	# Stop iterating if we have reached a converged solution
	$if$ (\$CONVERGED) {
287	last;
	}
289	}
	if (\$CONVERGED) {
291	print \$Fcyan."Solve_was_successful,_convergence_was_found_in_\$iter_
	<pre>iteration(s)\$FBnone\n";</pre>
	# Write to the converged history file
293	fem write history unit \$CONVERGED_UNIT time \$time variables yqs \$FORMAT
	class \$CELL;
	# Export the deformed nodes – need field on the export node to
295	# get the deformed geometry
	fem export node; \$output/deformed_\$time field as tissue;
297	11 (Sexport_gauss) {
	# Export the converged Gauss point strains
299	fem update gauss strain fibre components;
201	# Ernort the converged Cause point strasses first need to
301	# Export the converged Gauss point stresses first need to # nut the active tension back into VG (the strains from the
303	# previous undate have overwritten it)
000	fem update gauss gauss field destination field \$T GAUSSIDX
	source_field \$T_FROM_CELLS_GAUSSIDX:
305	fem update gauss stress fibre components;
	fem export gauss; \$output/gauss_stress_\$time yg as tissue;
307	fem update gauss gauss_field destination_field \$T_GAUSSIDX
	source_field \$T_FROM_CELLS_GAUSSIDX;
	}
309	if (\$list_strains) {
	# List out the strain at the specified Gauss points
311	$gauss\_string = "";$
	foreach \$gauss_point (@gauss_points) {
313	rem fist strain; soutput/gauss_point_s {gauss_point} _strain_stime
	souss string — "Souss point ".
315	
010	chop \$gauss_string:
317	# and the grid point closest to them
	fem evaluate strain; \$output/grid_point_strains_\$time from
	cell_extension_ratios index \$L_GRIDIDX at gauss \$gauss_string
	nearest class \$CELL;
319	}
	} else {
321	print \$Bred.\$Fcyan." Solve_was_unsuccessful, _convergence_was_not_found_with
	_\$iter_iterations\$FBnone\n";
	\$ finish = 1;
323	} ] # and of time loop
205	
325	# Close the cell history files
327	fem close history unit \$ITERATIONS UNIT \$FORMAT class \$CELL:
521	fem close history unit \$CONVERGED_UNIT \$FORMAT class \$CELL;

329						
	# Compute the CMISS signal files from the history file					
331	##set echo;					
	$\# \ [Ca] \ i$					
333	fem evaluate electrode; \$output/cai history \$output/cell-hmt from grid yqs iy					
	\$CALGRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
	fem evaluate electrode; \$output/cai_iter history \$output/cell-hmt_iter from grid					
	yqs iy \$CALGRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
335	# tension					
	fem evaluate electrode; \$output/tension history \$output/cell-hmt from grid yqs iy					
	\$T_GRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
337	$fem \ evaluate \ electrode; \$output/tension\_iter \ history \ \$output/cell-hmt\_iter \ from$					
	grid yqs iy \$T_GRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
	# and extension ratio					
339	fem evaluate electrode; \$output/extension_ratio history \$output/cell-hmt from grid					
	yqs iy \$L_GRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
	fem evaluate electrode; \$output/extension_ratio_iter history \$output/cell-hmt_iter					
	from grid yqs iy \$L_GRIDIDX \$FORMAT class \$CELL;					
341						
	# Export to UnEMAP signal files					
343	fem define export; r; \$example/cell;					
	fem export signal; \$output/cai electrode signal \$output/cai;					
345	fem export signal; \$output/tension electrode signal \$output/tension;					
	${\bf fem \ export \ signal; \$ output/extension\_ratio \ electrode \ signal \ soutput/extension\_ratio \ electrode \ soutput/extension\_ratio \ electrode \ signal \ soutput/extension\_ratio \ electrode \ signal \ soutput/extension\_ratio \ electrode \ soutput/extension\_ra$					
	;					
347	fem export signal; \$output/cai_iter electrode signal \$output/cai_iter;					
	<pre>fem export signal;\$output/tension_iter electrode signal \$output/tension_iter;</pre>					
349	fem export signal; \$output/extension_ratio_iter electrode signal \$output/					
	<pre>extension_ratio_iter;</pre>					
351	# Check for isovolumic contraction					
	fem list element total;					
353	fem list element deformed total;					

#### Bijlage D

## Bestandslijst van de bijgevoegde CD-ROM

Bij dit verslag hoort een CD-ROM, die de nodige bestanden bevat om het simulatiepakket te installeren dat in dit onderzoek gebruikt werd. Verder zijn ook alle simulatiebestanden aanwezig, alsook dit verslag in digitale vorm.

Onderstaande boomstructuur geeft de inhoud van de CD-ROM weer, aangevuld met uitleg.

/	$\rightarrow$	/install	$\rightarrow$	cm-2.1.tar.bz2	$\Rightarrow$	Deze map bevat alle
			$\rightarrow$	cmgui-i686-linux-2.3.3.tar.gz		bestanden om de
			$\rightarrow$	openmotif - 2.3.0 beta 1 - rhe 4.i 386. rpm		installatie uit bijlage B
			$\rightarrow$	sig2text		te kunnen uitvoeren
			$\rightarrow$	text2sig		
	$\rightarrow$	/simulaties			$\Rightarrow$	Simulatiebestanden
	$\rightarrow$	$/\mathrm{cellml}$			$\Rightarrow$	CellML modelbestanden
	$\rightarrow$	/verslag	$\rightarrow$	$the sis\_michael piron.pdf$	$\Rightarrow$	Dit eindwerk
						in digitale vorm

### Bibliografie

- [1] Website CMISS, Getting Started. http://www.cmiss.org/cm/wiki/GettingStarted.
- [2] Website Continuity. http://www.continuity.ucsd.edu.
- [3] Website van Geralyn Caplan met afbeeldingen van spieranatomie. chapter 9. http://www.octc.kctcs.edu/gcaplan/anat/Notes.
- [4] FEM/BEM notes. http://www.cmiss.org, Bioengineering Institute, The University of Auckland, February 2006.
- [5] BERNE, R. M., LEVY, M. N., KOEPPEN, B. M., AND STANTON, B. A. Physiology, 4th ed. Mosby, St-Louis Missouri, 1998.
- [6] BEYAR, R., AND SIDEMAN, S. A computer study of the left ventricular performance based on fibre structure, sarcomere dynamics, and transmural electrical propagation velocity. *Circ. Res.* 55 (1984), 358–375.
- [7] DE BACKER, L. De mechanische werking van de hartspier. Master's thesis, Universiteit Gent, Faculteit Ingenieurswetenschappen, 2003-2004.
- [8] DE TOMBE, P. P., AND TER KEURS, H. E. D. J. An internal viscous element limits unloaded velocity of sarcomere shorterning in rat myocardium. *Journal of Physiology* 454 (1992), 619–642.
- [9] DESPOPOULOS, A., AND SILBERNAGL, S. Color Atlas of Physiology, 5th ed. Thieme, 2002.
- [10] GANONG, W. F. Review of Medical Physiology, 22th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2005.
- [11] GUCCIONE, J. M., MOTABARZADEH, I., AND ZAHALAK, G. I. A distribution-moment model of deactivation in cardiac muscle. *Journal of Biomechanics* 31 (1998), 1069–1073.
- [12] HEDLEY, W. J., NELSON, M. R., BULLIVANT, D. P., AND NIELSEN, P. F. A short introduction to CellML. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A 359* (2001), 1073–1089.
- [13] HERZOG, W., AND AIT-HADDOU, R. Considerations on muscle contraction. Journal of Electromyography and Kinesiology 12 (2002), 425–433.
- [14] HUNTER, P., SMITH, N., FERNANDEZ, J., AND TAWHAI, M. Integration from proteins to organs: the IUPS Physiome Project. *Mechanisms of Ageing and Development 126* (2005), 187–192.

- [15] HUXLEY, A. Muscle structure and theories of contraction. Prog Biophys Biophys Chem 7 (1957), 255–318.
- [16] JONTES, J. D. Theories of muscle contraction. Journal of Structural Biology 115 (1995), 119–143.
- [17] LANDESBERG, A. End-systolic pressure-volume relationship and intracellular control of contraction. Am J Physiol 270 (1996), H338–H349.
- [18] LANDESBERG, A., AND SIDEMAN, S. Calcium kinetic and mechanical regulation of the cardiac muscle. Adv Exp Med Biol 346 (1993), 59–77.
- [19] LANDESBERG, A., AND SIDEMAN, S. Coupling calcium binding to troponin C and crossbridge cycling in skinned cardiac cells. Am. J. Physiol. 266 (1994), H1260–H1271.
- [20] LANDESBERG, A., AND SIDEMAN, S. Mechanical regulation of cardiac muscle by coupling calcium kinetics with cross-bridge cycling: A dynamic model. Am. J. Physiol. 267 (1994), H779–H795.
- [21] NASH, M. Mechanics and material properties of the heart using an anatomically accurate mathematical model. PhD thesis, The University of Auckland, New Zealand, 1998.
- [22] NICKERSON, D., AND HUNTER, P. The noble cardiac ventricular electrophysiology models in CellML. Progress in Biophysics and Molecular Biology 90 (2006), 346–359.
- [23] NICKERSON, D., NASH, M., NIELSEN, P., SMITH, N., AND HUNTER, P. Computational multiscale modeling in the IUPS Physiome Project: Modeling cardiac electromechanics. *IBM J. Res. & Dev. 50*, 6 (2006), 617–630.
- [24] NOBLE, D., VARGHESE, A., KOHL, P., AND NOBLE, P. Improved guinea-pig ventricular cell model incorporating a diadic space, I<sub>Kr</sub> and I<sub>Ks</sub>, and length- and tension-dependent processes. *Can J Cardiol* 14 (1998), 123–134.
- [25] PARMLEY, W. W., AND SONNENBLICK, E. H. Series elasticity in heart muscle: Its relation to contractile element velocity and proposed muscle models. *Circ. Res.* 20 (1967), 112–123.
- [26] POLLACK, G. H. Muscles & Molecules Uncovering the Principles of Biological Motion. Ebner & Sons Publishers, Seattle, Washington, 1990.
- [27] PRIEBE, L., AND BEUCKELMAN, D. J. Simulation study of cellular electric properties in heart failure. *Circ Res 82* (1998), 1206–1223.
- [28] RICE, J. J., AND DE TOMBE, P. P. Approaches to modeling crossbridges and calciumdependent activation in cardiac muscle. *Progress in Biophysics & Molecular Biology 85* (2004), 179–195.
- [29] ROBERTSON, S. P., JOHNSON, J. D., AND POTTER, J. D. The time course of Ca<sup>2+</sup> exchange with calmodulin, troponin, parvalbumin, and myosin in response to transient increases in Ca<sup>2+</sup>. *Biophys J 34* (1981), 559–569.

- [30] SHIM, E. B., LEEM, C. H., ABE, Y., AND NOMA, A. A new multi-scale simulation model of the circulation: from cells to system. *Phil Trans R Soc A 364* (2006), 1483–1500.
- [31] SPERELAKIS, N. Cell Physiology Source Book. Academic Press, 1996.
- [32] TEN TUSSCHER, K., NOBLE, D., NOBLE, P., AND PANFILOV, A. A model for human ventricular tissue. Am J Physiol Heart Circ Physiol 286 (2004), H1573–H1589.
- [33] VAN DEN BOGERT, A., GERRITSEN, K., AND COLE, G. Human muscle modelling from a user's perspective. *Journal of Electromyography and Kinesiology 8* (1998), 119–124.
- [34] WEYNE, J. Algemene en menselijke fysiologie met inbegrip van neurofysiologie, vol. 1. Academia Press, 1993.
- [35] WU, J., AND HERZOG, W. Modelling concentric contraction of muscle using an improved cross-bridge model. *Journal of Biomechanics* 32 (1999), 837–848.
- [36] WU, J., HERZOG, W., AND COLE, G. Modeling dynamic contraction of muscle using the cross-bridge theory. *Mathematical Biosciences* 139 (1997), 69–78.
- [37] YANIV, Y., SIVAN, R., AND LANDESBERG, A. Analysis of hystereses in force length and force calcium relations. Am J Physiol Heart Circ Physiol 288 (2005), H389–H399.
- [38] YANIV, Y., SIVAN, R., AND LANDESBERG, A. Stability, controllability and observability of the "Four State" Model of the sarcomeric control of contraction. *Annals of Biomedical Engineering* 34 (2006), 778–789.
- [39] YOUNG, B., AND HEATH, J. W. Wheater's Functional Histology, 4th ed. Churchill Livingstone, 2000.
- [40] ZAHALAK, G. I., AND MA, S.-P. Muscle activation and contraction: constitutive relations based directly on cross-bridge kinetics. *Journal of Biomechanical Engineering 112* (1990), 52–62.

# Lijst van figuren

1.1	Ontleding van een algemene skeletspier, met aanduiding van de verschillende sche-	
	den [3] $\ldots$	1
1.2	Een spiervezel of myociet ontleed [3]	3
1.3	Opbouw van hartspierweefsel. [39]	4
1.4	Myofibrillen omgeven door een netwerk gevormd door het sarcoplasmatisch reti-	
	culum en de T-tubuli [26] $\ldots$	5
1.5	Voorstelling van een typische ventriculaire actiepotentiaal. De vijf fasen van de	
	actiepotentiaal zijn aangegeven. [31] $\ldots$	7
1.6	Voorstelling van een typische sinoatriale knoop actiepotentiaal [31] $\ldots \ldots \ldots$	9
1.7	Verschillende modellen van excitatie-contractie koppeling [31] $\ldots \ldots \ldots \ldots$	10
1.8	Myosinemolecule waaruit een myosinefilament is opgebouwd [3] $\ldots \ldots \ldots \ldots$	11
1.9	Dun filament of actinefilament [3]	11
1.10	Cross-bridge cyclus [31] $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$	12
1.11	Isometrische contractiemode [3] $\ldots$	14
1.12	Isotonische contractiemode $[3]$	14
1.13	Doorsnede van het hart, anterieur zicht ( <i>Wikipedia Commons</i> )	15
1.14	De verschillende fasen van de hartcyclus [9]	18
1.15	De papillairspieren in het hart (Atlas of Echocardiography)	19
2.1	Drie Hill-type modellen, waarvan I het klassieke Hill model voorstelt $[25]$	21
2.2	Diagram dat de hypothese van A. HUXLEY illustreert. De pijlen geven de richting	
	van de relatieve beweging tussen de filamenten weer bij spiercontractie. $[15]$	23
2.3	Snelheidsfuncties voor vorming, $f$ , en verbreken, $g$ , van cross-bridge verbindin-	
	gen tussen de dikke (myosine) en dunne (actine) myofilamenten in functie van	
	x, de positie van de actieve site A op het dunne filament ten opzichte van de	
	evenwichtspositie O van de cross-bridge. [15]	23
2.4	Krachtontwikkelingsmechanisme volgens H. HUXLEY, geponeerd in 1969. Kracht-	
	ontwikkeling door een cross-bridge is niet langer het gevolg van de uitwijking ten	
	opzichte van een evenwichtspositie, maar wordt veroorzaakt door rotatie van het	
	myosinekopje $[13]$	25
2.5	Schema van de calcium activatie in het Distribution-Moment model [40] $\ldots$ .	27
2.6	Diagram van de twee kinetische schema's in het Distribution-Moment model [40]	28
2.7	Toestanden $R,A,T$ & $U$ ge definieerd in het model van LANDESBERG & SIDEMAN	
	uit 1992 [19]	32

2.8	Verloop van de Ca <sup>2+</sup> -affiniteit van low-affinity sites, $K$ , in functie van de Ca <sup>2+</sup> -	
	concentratie [19] $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$ $\ldots$	34
2.9	Verband tussen de Ca <sup>2+</sup> -affiniteit van low-affinity sites, $K$ , en genormaliseerde	
	kracht [19] $\ldots$	34
2.10	Schema van het dynamisch model van LANDESBERG & SIDEMAN $[18; 20]$	36
3.1	Boven: Schematische voorstelling van een half sarcomeer, met de verschillende	
	overlap regio's. <b>Onder:</b> De verschillende toestanden in elke regio en de overgan-	
	gen hiertussen, in isometrisch regime [20]	41
3.2	Fragment uit de modelvoorstelling, dat de calciumdynamica van het model van	
	Landesberg & Sideman beschrijft [18; 20]	47
3.3	Diagramvoorstelling van het model van TEN TUSSCHER ET AL (2004) [22] $\ldots$	48
3.4	Calciumdynamica in het model van TEN TUSSCHER ET AL $(2004)$	49
3.5	Totaal hartspiercelmodel, als koppeling van het elektrofysiologisch model van ${\tt TEN}$	
	Tusscher et al en het cross-bridgemodel van Landesberg & Sideman	52
5.1	Structuur van het elektrofysiologisch model van TEN TUSSCHER ET AL in CellML	
	vorm. Elk blok stelt een component voor. De niet-gevulde pijlen wijzen op een	
	encapsulation verband	70
5.2	Structuur van het mechanisch model van LANDESBERG & SIDEMAN in CellML	
	vorm. Elk blok stelt een component voor. De niet-gevulde pijlen wijzen op een	
	encapsulation verband	71
5.3	Koppeling van het TEN TUSSCHER ET AL model met het LANDESBERG & SI-	
	DEMAN model. De interfaces naar beide modellen worden verbonden met een	
	globale model interface $\tt TNNP\_LS.$ De doorgegeven grootheden worden we ergegeven	
	met streepjeslijnen	72
5.4	Simulatie van het krachtverloop bij isometrische contractie van een hartspiervezel,	
	voor verschillende sarcomeerlengtes	73
5.5	Maximaal ontwikkelde isometrische kracht in functie van sarcomeerlengte	74
5.6	Krachtverloop in isometrisch regime voor verschillende sarcomeerlengtes volgens	
	LANDESBERG & SIDEMAN [20]	74
5.7	Experimenteel krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon	
-	overgangsexperiment, bij constante preload en verschillende afterload belastingen	75
5.8	Gesimuleerd krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon over-	
5.0	gangsexperiment, bij constante preload en verschillende afterload belastingen	75
5.9	Krachtverloop van een papillairspier bij een isometrisch-isotoon overgangsexpe-	
	riment, bij constante preioad en verschillende afterioad belastingen, berekend in	76
5 10	LANDESBERG & SIDEMAN [20]	70
5.10	Krachtverloop bij oon jeometrisch jesteen overgangeovperiment in oon simulatie	"
0.11	on hasis van een alternatief filamentoliidingsmechanisme	78
	op basis van een aiternatier manenighjungsmeenamsme	10
6.1	Interactie tussen een model op weefselniveau en een celmodel tijdens het simuleren	
	van een <i>multi-scale</i> model	84

# Lijst van tabellen

2.1	Toestandsvariabelen in het model van LANDESBERG & SIDEMAN van 1992	32
3.1	Modelparameters	53
B.1	Voorbeeld van een partitionering	91