



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIERÍA
INDUSTRIAL VALENCIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EFECTO FARMACOLÓGICO EN POBLACIONES DE CÉLULAS VENTRICULARES SANAS Y PATOLÓGICAS MEDIANTE MODELADO Y SIMULACIÓN

AUTORA: SARA DE SCALS CARMONA

TUTORA: DRA. BEATRIZ ANA TRÉNOR GOMIS

COTUTOR: JORDI LLOPIS LORENTE

Curso Académico: 2020-21

AGRADECIMIENTOS

A Bea y Jordi,

por vuestra dedicación e implicación conmigo y el proyecto. Por lo cómoda que me habéis hecho sentir. Por hacer parecer fácil la tarea más compleja. No podría haber pedido más en un tutor.

A mis padres,

por guiarme en el transcurso de mi etapa académica, por ser mi referencia en todos los aspectos y el pilar fundamental de mi vida.

A mis abuelos,

por estar orgullosos de mi en mis logros y en mis fracasos.

A Marta,

por estar de forma incondicional, por sostenerme este año como nadie lo ha hecho.

Este trabajo no habría sido posible sin vosotros.

RESUMEN

La *Torsade de Pointes* es una taquiarritmia ventricular responsable de la retirada de ciertos fármacos del mercado por ser uno de los efectos adversos más graves. Para reducir su incidencia, han surgido iniciativas como CiPA, que evalúa la predicción del riesgo proarrítmico de fármacos; incluyendo modelos *in silico*.

En el presente trabajo se analiza el impacto de diversos fármacos sobre los cardiomiocitos ventriculares sanos y con insuficiencia cardíaca mediante la simulación y modelado computacional de los comportamientos electrofisiológicos de las células cardíacas utilizando los modelos computacionales de O'Hara et. al (2011), Tomek et al. (2019), y un modelo de O'Hara modificado (ORdmJ). 28 fármacos de CiPA, clasificados en función de su riesgo torsadogénico, fueron simulados con el bloqueo de poro simple mediante la ecuación de Hill. Se emplearon modelos celulares con insuficiencia cardíaca y se realizó un análisis de sensibilidad que estudiaba la contribución de las corrientes en el potencial de acción y el transitorio de calcio. Asimismo, se consideró la variabilidad electrofisiológica producida en sujetos de una misma especie simulando poblaciones de modelos de cardiomiocitos humanos.

Los resultados muestran que las corrientes I_{NaL} e I_{NaCa} son grandes contribuyentes en el alargamiento del potencial de acción y que J_{SERCA} es una de las mayores responsables de la disminución de calcio en células con insuficiencia cardíaca en el modelo de Tomek et al. Adicionalmente, el estudio mostró que es importante emplear modelos realistas del comportamiento electrofisiológico ventricular, que incluya variabilidad poblacional, puesto que los efectos farmacológicos pueden variar ligeramente con el individuo. Además, se obtienen respuestas agravadas en situaciones patológicas, lo cual destaca la importancia de considerar estas situaciones en la evaluación de seguridad cardíaca.

En conclusión, esta herramienta podría contribuir en las predicciones de efectos peligrosos en la producción de futuros medicamentos ajustándose a las distintas condiciones electrofisiológicas y/o patológicas.

Palabras Clave: Modelo computacional, potencial de acción, transitorio de calcio, cardiomiocito, fármaco, CiPA, *Torsade de Pointes*, insuficiencia cardíaca, población de modelos.

RESUM

La *Torsade de Pointes* és una taquiarrítmia ventricular responsable de la retirada de certs fàrmacs del mercat per ser un dels efectes adversos més greus. Per resuir la seua incidència, han sorgit iniciatives com CiPA, que avalua la predicció del risc proarrítmic de fàrmacs; incloent models *in silico*.

En el present treball s'analitza l'impacte de diversos fàrmacs sobre els cardiomiòcits ventriculars sans i amb insuficiència cardíaca mitjançant la simulació i modelatge computacional dels comportaments electrofisiològics de les cèl·lules cardíques utilitzant els models computacionals d'O'Hara et. al (2011), Tomek et al. (2019), i un model d'O'Hara modificat (ORdmJ). 28 fàrmacs de CiPA, classificats en funció del seu risc torsadogènic, van ser simulats amb el bloqueig de porus simple mitjançant l'equació de Hill. Es van emprar models cel·lulars amb insuficiència cardíaca i es va realitzar una anàlisi de sensibilitat que estudiava la contribució dels corrents en el potencial d'acció i el transitori de calci. Així mateix, es va considerar la variabilitat electrofisiològica produïda en subjectes d'una mateixa espècie simulant poblacions de models de cardiomiòcits humans.

Els resultats mostren que els corrents I_{NaL} i I_{NaCa} són grans contribuents en l'allargament del potencial d'acció i que J_{SERCA} és un dels majors responsables de la disminució de calci en cèl·lules amb insuficiència cardíaca en el model de Tomek et al. Addicionalment, l'estudi va mostrar que és important emprar models realistes del comportament electrofisiològic ventricular, que incloga variabilitat poblacional, ja que els efectes farmacològics poden variar lleugerament amb l'individu. A més, s'obtenen respostes agreujades en situacions patològiques, la qual cosa destaca la importància de considerar aquestes situacions en l'avaluació de seguretat cardíaca.

En conclusió, aquesta eina podria contribuir en les prediccions d'efectes perillosos en la producció de futurs medicaments ajustant-se a les diferents condicions electrofisiològiques i/o patològiques.

Paraules clau: Model computacional, potencial d'acció, transitori de calci, cardiomiòcit, fàrmac, CiPA, *Torsade de Pointes*, insuficiència cardíaca, població de models.

ABSTRACT

Torsade de Pointes is a ventricular tachyarrhythmia responsible for the withdrawal of certain drugs from the market as one of the most dangerous side effects. In order to reduce its incidence, initiatives such as CiPA, which evaluates the probability of proarrhythmic risk of drugs, including the use of *in silico* models, have emerged.

At present, we analyze the impact of various drugs on healthy and failing ventricular cardiomyocytes by simulating and computationally modeling the electrophysiological behavior of cardiac cells using the computational models of O'Hara et. al (2011), Tomek et al. (2019), and a modified O'Hara model (ORdmJ). 28 CiPA drugs, ranked according to their torsadogenic risk, were simulated with single pore blockade using the Hill equation. Cellular models with heart failure were used and a sensitivity analysis studying the contribution of currents to the action potential and calcium transient was performed. The electrophysiological variability present in subjects of the same species was also considered by simulating populations of models of human cardiomyocytes.

The results show that I_{NaL} and I_{NaCa} currents are major contributors to action potential elongation and that J_{SERCA} is a major contributor to calcium depletion in cells of those subjects with heart failure in the model of Tomek et al. In addition, the study showed that it is important to employ realistic models of ventricular electrophysiological behavior, including population variability, since pharmacological effects may vary slightly with the individual. In addition, aggravated responses are obtained in pathological situations, which highlights the importance of considering these situations in cardiac safety assessment.

In conclusion, this tool could contribute to the prediction of hazardous effects in the production of future drugs by adjusting for different electrophysiological and/or pathological conditions.

Keywords: Computational model, action potential, calcium transient, cardiomyocyte, drug, CiPA, *Torsade de Pointes*, heart failure, population of models.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Capas que componen la pared cardíaca (Marieb 2009).....	2
Figura 2. Circulación mayor y menor (Marieb 2009).....	3
Figura 3. Sistema de conducción eléctrica (de los Nietos Miguel 2007)	5
Figura 4. Estructura del cardiomiocito (Walker and Spinale 1999)	5
Figura 5. Filamentos gruesos (A) y filamentos finos (B) (Constanzo 2011).....	6
Figura 6. Filamentos y bandas que componen el sarcómero (Constanzo 2011)	6
Figura 7. Potencial de acción del cardiomiocito ventricular (Deplón Mosquera 2018)	9
Figura 8. Propagación del potencial de acción entre cardiomiocitos (Mohrman and Heller 2007)	9
Figura 9. Potencial de acción de las células nodales SA (Constanzo 2011).....	10
Figura 10. Fisiopatología de la insuficiencia cardíaca (Pereira-Rodríguez, Rincón-González, and Niño-Serrato 2016).....	11
Figura 11. Degeneración del bloqueo hERG en taquicardia ventricular (TdP) (Roden and Viswanathan 2005).....	12
Figura 12. Modelo eléctrico de un canal iónico (Ferrero de Loma-Osorio 2019)	14
Figura 13. Modelo eléctrico de un conjunto de canales iónicos que conforman una población (Ferrero de Loma-Osorio 2019).....	15
Figura 14. Modelo eléctrico de una población de canales iónicos (Ferrero de Loma-Osorio 2019). ...	15
Figura 15. Modelo eléctrico celular (Ferrero de Loma-Osorio 2019).....	15
Figura 16. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (O’Hara et al. 2011).....	18
Figura 17. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (Tomek et al. 2019)	21
Figura 18. Código perteneciente al módulo main.....	23
Figura 19. Ecuación de la corriente de sodio rápida perteneciente al módulo model	24
Figura 20. Código de las variables de salida proporcionadas por el módulo model.....	24
Figura 21. Código perteneciente a la función Get Starting State	24
Figura 22. Código perteneciente a model runner	25
Figura 23. Biomarcadores más característicos del potencial de acción y el transitorio de calcio, respectivamente.....	26
Figura 24. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de control para el modelo de ORd y ToR-ORd.....	30
Figura 25. Corrientes iónicas principales que contribuyen a la formación del potencial de acción, para el modelo de ORd y ToR-ORd	31

Figura 26. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	34
Figura 27. Efecto de Quinidine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	34
Figura 28. Efecto de Domperidone en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	35
Figura 29. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	35
Figura 30. Efecto de Nifedipine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	36
Figura 31. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.....	36
Figura 32. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd	40
Figura 33. Corrientes iónicas afectadas por insuficiencia cardíaca, para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd	41
Figura 34. Análisis de la contribución de la corriente I_{NaL} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd.....	43
Figura 35. Análisis de la contribución de la corriente I_{NaCa} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd.....	43
Figura 36. Análisis de la contribución de la corriente J_{up} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd.....	44
Figura 37. Potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos calibrada ORdmJ..	46
Figura 38. Potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos calibrada ToR-ORd	47
Figura 39. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.....	49
Figura 40. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORd.....	49
Figura 41. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.....	50
Figura 42. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORd.....	50
Figura 43. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.....	51

Figura 44. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORd.....	51
Figura 45. Biomarcadores absolutos tras la administración de Ibutilide en la población de modelos ORdmJ.	53
Figura 46. Biomarcadores absolutos tras la administración de Ibutilide en la población de modelos ToR-ORd.	53
Figura 47. Biomarcadores absolutos tras la administración de Droperidol en la población de modelos ORdmJ.	54
Figura 48. Biomarcadores absolutos tras la administración de Droperidol en la población de modelos ToR-ORd.	54
Figura 49. Biomarcadores absolutos tras la administración de Mexiletinel en la población de modelos ORdmJ.	55
Figura 50. Biomarcadores absolutos tras la administración de Mexiletine en la población de modelos ToR-ORd.	55
Figura 51. APD ₉₀ relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ORdmJ	56
Figura 52. APD ₉₀ relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ToR-ORd ..	56
Figura 53. Calcio sistólico relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ORdmJ.	57
Figura 54. Calcio sistólico relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ToR-ORd	57
Figura 55. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en la población de modelos ORdmJ	58
Figura 56. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en la población de modelos ToR-ORd.....	58
Figura 57. Efecto de Ibutilide en la población de modelos ORdmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.	60
Figura 58. Efecto de Ibutilide en la población de modelos ToR-ORd en condiciones de insuficiencia cardíaca.	60
Figura 59. Efecto de Droperidol en la población de modelos ORdmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.	61
Figura 60. Efecto de Droperidol en la población de modelos ToR-ORd en condiciones de insuficiencia cardíaca.	61
Figura 61. Efecto de Mexiletine en la población de modelo ORdmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.	62
Figura 62. Efecto de Mexiletine en la población de modelo ToR-ORd en condiciones de insuficiencia cardíaca.	62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Alteraciones de las conductancias de los canales en el modelo ORd modificado (ORdmJ) (Dutta et al. 2016)	19
Tabla 2. Comparación de las ecuaciones de las compuertas de activación (m_{ss}) e inactivación (h_{ss} y j_{ss}) en estado estacionario de I_{Na} del modelo ORd original y ORd modificado (ORdmJ) (Llopis-Lorente et al. 2020; Mora et al. 2017; Passini et al. 2016)	20
Tabla 3. Remodelado iónico del modelo de insuficiencia cardíaca.....	27
Tabla 4. Rangos de los biomarcadores empleados para la calibración.....	28
Tabla 5. Biomarcadores relacionados con el potencial de acción de los modelos ORd y ToR-ORd	31
Tabla 6. Biomarcadores relacionados con el transitorio de calcio de los modelos ORd y ToR-ORd.....	32
Tabla 7. Fármacos propuestos por la iniciativa CiPA (Colatsky et al. 2016).....	33
Tabla 8. Biomarcadores relativos correspondientes al efecto de 28 fármacos de CiPA en el modelo ORdmJ	38
Tabla 9. Biomarcadores relativos correspondientes al efecto de 28 fármacos de CiPA en el modelo ToR-ORd.....	39
Tabla 10. Biomarcadores relativos en condiciones de insuficiencia cardíaca de los modelos HFORdmJ y HFToR-ORd	42
Tabla 11. Factores de escala empleados en el modelo de insuficiencia cardíaca HFToR-ORd vs rangos de los factores multiplicativos obtenidos mediante la revisión bibliográfica de modelos de HF publicados aceptados.....	45
Tabla 12. Coste desglosado de la mano de obra	68
Tabla 13. Coste imputable sin IVA desglosado del <i>hardware</i>	69
Tabla 14. Coste imputable sin IVA desglosado del <i>software</i>	69
Tabla 15. Coste total del proyecto	70

LISTA DE ABREVIATURAS

APD _x	Duración del potencial de acción tras un X % de repolarización
AV	Auriculo-Ventricular / Atrioventricular
Ca ⁺²	Ion Calcio
Ca _{i, diast}	Calcio diastólico
Ca _{i, sist}	Calcio sistólico
C _m	Capacidad eléctrica de la membrana
CaMKII	Proteína quinasa II dependiente del complejo Ca ⁺² /calmodulina
[C] _{fármaco}	Concentración de fármaco aplicado
CiPA	<i>Comprehensive in-vitro Proarrhythmia Assay</i>
CL	Duración del ciclo cardíaco (<i>Cycle Length</i>)
Cl ⁻	Ion Cloro
CTD _x	Duración del transitorio de calcio tras un X% de recuperación
dV _m /dt _{máx}	Pendiente máxima del potencial de acción
E _s	Potencial de equilibrio de un ion S
EAD	Despolarización temprana (<i>Early After Depolarization</i>)
EFTPC	Concentración plasmática terapéutica libre efectiva (<i>Effective Free Therapeutic Concentration</i>)
F	Constante de Faraday
FDA	Administración de alimentos y medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i>)
G _s	Conductancia de la población de canales del ion S
G _{canal}	Conductancia de la población de canales en condiciones de control
G _{canal, fármaco}	Conductancia de la población de canales tras aplicar un fármaco
h	Coeficiente de Hill
hERG	Gen codificante del canal de potasio IKr (<i>The human Ether-à-go-go-Related Gene</i>)
HF	<i>Heart failure</i>
HFORdmJ	Modelo O'Hara-Rudy modificado de potencial de acción de un cardiomiocito humano con insuficiencia cardíaca
HFToR-ORD	Modelo de Timek de potencial de acción de un cardiomiocito humano con insuficiencia cardíaca

h_{ss}	Inactivación de la corriente de Na^+
h_{ssp}	Inactivación de la corriente de Na^+ por fosforilación de la CaMK
IC	Insuficiencia Cardíaca
$[IC_{50, canal}]$	Concentración inhibitoria del 50% del canal
I_S	Corriente del ion S
$I_{b,i,c}$	Corriente producida por bombas iónicas, intercambiadores y cotransportadores
I_C	Corriente del condensador de membrana
$I_{Ca,Cl}$	Corriente de Cl^- activada con Ca^{+2}
I_{CaL}	Corriente de Ca^{+2} que pasa por los canales tipo L (canales lentos de Ca^{+2})
I_{Clb}	Corriente de Cl^- de fondo (<i>background</i>)
I_f	Corriente marcapasos (<i>Funny current</i>)
I_{Na}	Corriente rápida de Na^+
I_{NaCa} / I_{NCX}	Corriente del intercambiador Na^+ / Ca^{+2}
I_{NaK}	Corriente Na^+ / K^+ ATPasa
I_{NaL}	Corriente lenta de Na^+
I_{K1}	Componente de rectificación interna
I_{Kr}	Componente rápida de la corriente de rectificación tardía de K^+
I_{Ks}	Componente lenta de la corriente de rectificación tardía de K^+
I_{stim}	Corriente de estimulación externa
I_{to}	Corriente transitoria de K^+
J_{leak}	Flujo de fuga de Ca^{+2} del retículo sarcoplásmico a través de la bomba SERCA
JSR	Unión del retículo sarcoplásmico
j_{ss}	Inactivación de la corriente rápida de Na^+
J_{up} / J_{SERCA}	Flujo de Ca^{+2} que atraviesan la bomba SERCA del citosol al retículo
K^+	Ion Potasio
$K_{rel, Ca^{2+}}$	Parámetro de activación de receptores de rianodina no fosforilados
m_{ss}	Activación de la corriente rápida de Na^+
Myo	Mioplasma
Na^+	Ion Sodio
NSR	Red sarcoplasmática reticular

ORd	Modelo O'Hara-Rudy de potencial de acción de cardiomiocito humano
ORdmJ	Modelo O'Hara-Rudy modificado de potencial de acción de cardiomiocito humano
PA	Potencial de Acción
R	Constante de los gases ideales
R_{Ω}	Resistencia
SA	Sinusal / Sinoauricular
SS	Subespacio
T	Temperatura
TdP	<i>Torsade de Pointes</i>
TFG	Trabajo Final de Grado
τ_{hL}	Constante de tiempo de la compuerta de inactivación hL
ToR-ORd	Modelo Tomek et al. de potencial de acción de cardiomiocito humano
V	Potencial eléctrico
V_e	Potencial extracelular
V_i	Potencial intracelular
V_m	Potencial de membrana
V_p	Potencial de pico
V_{pp}	Valencia del ion S
V_r	Potencial de membrana en reposo
X	Matriz de variables de estado
X_0	Vector de variables de estado en condiciones iniciales
Z_S	Valencia del ion S
γ_S	Conductancia unitaria de un canal iónico específico de un ion S

ÍNDICE

DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto

ÍNDICE DE LA MEMORIA

RESUMEN	I
RESUM	II
ABSTRACT	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN	1
CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN	2
2.1. ANATOMÍA CARDÍACA.....	2
2.1.1. Pared cardíaca	2
2.1.2. Cavidades cardíacas.....	3
2.1.4. Irrigación.....	4
2.1.5. Inervación	4
2.1.6. Sistema de conducción eléctrico.....	4
2.1.7. Estructura del cardiomiocito	5
2.2. ELECTROFISIOLOGÍA CARDÍACA	7
2.2.1. Conducción a través de la membrana celular	7
2.2.2. Potencial de acción.....	7
2.2.3. Propagación del potencial de acción.....	9
2.3. INSUFICIENCIA CARDÍACA / <i>HEART FAILURE</i>	10
2.4. SEGURIDAD FARMACOLÓGICA.....	11
2.4.1. Efectos farmacológicos adversos en el sistema cardiovascular	12
2.4.2. Iniciativa CiPA.....	13
2.5. MODELADO ELÉCTRICO	13
2.5.1. Modelo eléctrico de los canales iónicos.....	13
2.5.2. Modelo eléctrico celular.....	15

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	17
CAPÍTULO 4. MÉTODOS	18
4.1. MODELOS COMPUTACIONALES	18
4.1.2. Modelo Tomek et al. (ToR-ORd).....	20
4.2.2. Protocolo de estimulación y ejecución de las simulaciones.	23
4.2.3. Medida de biomarcadores	25
4.3. MODELO DE INSUFICIENCIA CARDÍACA O <i>HEART FAILURE</i>	26
4.4. POBLACIÓN DE MODELOS.....	27
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS	29
5.1. COMPARACIÓN ENTRE MODELOS DE ORd y ToR-ORd.....	29
5.1.1. Estabilización	29
5.2.1. Comparación de las respuestas entre modelos	29
5.2. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN LOS MODELOS BÁSICOS.....	32
5.3. INSUFICIENCIA CARDÍACA / <i>HEART FAILURE</i>	39
5.3.1. Análisis de sensibilidad en insuficiencia cardíaca.....	42
5.3.2. Remodelado en insuficiencia cardíaca	44
5.4. EFECTO FARMACOLÓGICO EN POBLACIÓN DE MODELOS.....	46
5. 4. 1. Población de modelos calibrada.....	46
5.4. 2. Efecto farmacológico en población con modelos base	47
5.4.3. <i>Heart Failure</i> en población de modelos base.....	57
5.4.4. Efecto farmacológico en población de modelos con <i>heart failure</i>	59
CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN	63
CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA	64
 ÍNDICE DEL PRESUPUESTO	
1. INTRODUCCIÓN	68
2. PRESUPUESTO DETALLADO	68
2.1. COSTE DE MANO DE OBRA.....	68
2. 2. COSTE DE <i>HARDWARE</i>	69
2. 3. COSTE DE <i>SOFTWARE</i>	69
2. 4. COSTE TOTAL	69

MEMORIA

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la causa principal de muertes a nivel global. La prevalencia de estas patologías se han duplicado en los últimos 30 años y la mortalidad se ha incrementado de forma ininterrumpida alcanzando los 18 millones en 2019 (Roth et al. 2020).

En los últimos años, la industria farmacéutica ha sido perjudicada tras la retirada de determinados fármacos del mercado que produjeron la *Torsade de Pointes* (TdP), un tipo de taquicardia ventricular altamente peligrosa (Park et al. 2019). Este suceso ha sido considerado desde entonces una amenaza para la salud pública, por lo que se han desarrollado iniciativas como *Comprehensive in-vitro Proarrhythmia Assay* (CiPA) para el desarrollo de modelos computacionales que sirvan para predecir riesgos relacionados con la aparición de esta arritmia.

El desarrollo de un modelo fiable para el estudio y predicción de la seguridad torsadogénica de los compuestos farmacológicos es el eje central sobre el que se desarrolla el presente TFG. La finalidad de la realización del trabajo es estudiar el efecto de diversos medicamentos sobre los cardiomiocitos ventriculares humanos sanos y afectados por insuficiencia cardíaca mediante modelado computacional y simulación, que contribuya en la evolución de herramientas predictivas y colabore en la superación de las limitaciones de modelos de evaluación actuales.

Los estudios en fases tempranas de nuevos fármacos mediante este tipo de herramientas permiten extraer conclusiones complementarias a los ensayos clínicos en animales y seres humanos, y en un futuro podrían convertirse una alternativa viable que permitiera prescindir de ellos. Asimismo, también tendrían un impacto económico beneficioso en la sociedad, pues se pretende que contribuyan al aumento de la producción de medicamentos, lo que disminuiría su importe y tendrían una mayor accesibilidad.

Por esto y por la búsqueda de una mejora en la seguridad de las terapias y la salud, la realización de este estudio comparativo del efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares sanas y patológicas mediante modelado y simulación fue mi elección para realizar este TFG, pues pensé que no había mejor trabajo con el que concluir el grado en ingeniería biomédica: un proyecto que me permitiera continuar mi aprendizaje en el ámbito de la bioelectricidad y modelado eléctrico, aplicar mis conocimientos de programación en Matlab adquiridos durante la carrera y aportar, con la ayuda y la orientación proporcionada por la doctora Beatriz Trénor y Jordi Llopis (estudiante de Doctorado), mi granito de arena a esta compleja pero apasionante investigación.

CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

2.1. ANATOMÍA CARDÍACA

El sistema cardiovascular es el sistema de transporte e intercambio de oxígeno, nutrientes, desechos celulares, hormonas y otras sustancias significativas del cuerpo humano. Este sistema se compone principalmente de la sangre, tejido líquido que actúa como medio de transporte; los vasos sanguíneos, conductos que permiten la distribución de la sangre a los diferentes tejidos; y el corazón, órgano que la impulsa debido a su contracción (P. A. (University of M. laizzo 2006).

El corazón humano es una víscera muscular que se encuentra situado en el mediastino medio anterior, el espacio entre los pulmones en el interior de la cavidad torácica (OpenStax College 2013). Éste descansa sobre la superficie superior del diafragma, delante de la columna vertebral y tras el esternón y los cartílagos costales (Weinhaus and Roberts 2005).

2.1.1. Pared cardíaca

La pared del corazón está compuesta por tres capas de distinto espesor: el pericardio, el miocardio y el endocardio (ver Figura 1).

El pericardio es un revestimiento de doble cobertura. El pericardio fibroso es la capa más externa, y sirve de protección y anclaje a las estructuras colindantes; mientras que el pericardio seroso es una bicapa interna formada a su vez por las capas parietal, fusionado con el pericardio fibroso, y visceral o epicardio, fusionado con la pared del corazón (Marieb 2009).

El miocardio es el tejido muscular que compone la pared del corazón, siendo a su vez la capa intermedia y de mayor espesor. Está constituida principalmente por células musculares cardíacas, fibras de colágeno, vasos sanguíneos de irrigación y fibras nerviosas (Sastre and Pérez 2014).

Finalmente, el endocardio es una delgada capa de endotelio que tapiza el interior del órgano de forma continuada a la envoltura de los vasos.

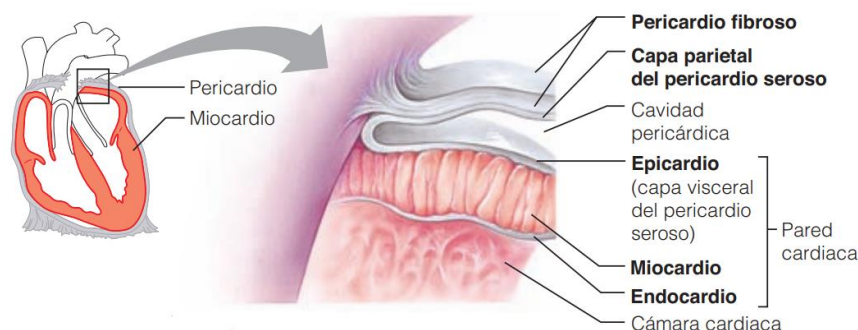


Figura 1. Capas que componen la pared cardíaca (Marieb 2009).

2.1.2. Cavidades cardíacas

Internamente el corazón está dividido en cuatro cámaras: dos aurículas y dos ventrículos. Las aurículas son las cavidades superiores, de menor tamaño, en las que desembocan las venas y llega la sangre. Los ventrículos son cavidades voluminosas de donde emergen las arterias y se impulsa la sangre al exterior. La existencia del tabique interauricular e interventricular separa el órgano longitudinalmente en dos mitades.

En los conductos de salida de las cuatro cavidades se ubican las válvulas cardíacas, unas estructuras móviles que impiden el flujo de sangre retrógrado. Entre las aurículas y los ventrículos se hallan las válvulas auriculoventriculares (AV), las cuales se cierran debido a un aumento de presión durante la sístole o contracción ventricular para evitar el reflujo de sangre a la aurícula. La válvula AV derecha se denomina válvula tricúspide, y la izquierda válvula mitral. Por otro lado, las válvulas situadas entre los ventrículos y las arterias se conocen como válvulas semilunares, que evitan que la sangre arterial regrese al corazón. Entre estas se encuentra la válvula pulmonar y arterial.

2.1.3. Circuitos de circulación sanguínea

Existen dos circuitos de circulación sanguínea distintos, pero vinculados, tal y como podemos observar en la figura 2.

Circuito pulmonar o menor, en el cual el recorrido de la sangre va del corazón a los pulmones y viceversa; y el circuito sistémico o mayor, donde la circulación de la sangre va del corazón a todo el organismo.

La circulación menor se inicia en el ventrículo derecho, el cual recoge la sangre pobre en oxígeno proveniente del organismo que ha sido conducida hasta la aurícula derecha mediante las venas cavas superior e inferior, y posteriormente hasta el ventrículo.

La sangre es bombeada y dirigida desde el ventrículo izquierdo, a través de la arteria pulmonar que se bifurca en dos ramas, a los pulmones, donde se produce el intercambio de gases (se recoge el oxígeno y se descarga el dióxido de carbono). La sangre rica en oxígeno retorna al lado izquierdo del corazón a través de las cuatro venas pulmonares que desembocan en la aurícula izquierda.

La circulación mayor se inicia en el ventrículo izquierdo, el cual recoge sangre oxigenada que sale por la arteria aorta. A partir de esta arteria se producirán ramificaciones de arterias sistemáticas para transportar la sangre y aportar oxígeno a los diversos tejidos del organismo. El circuito se cierra devolviendo la sangre desoxigenada a la aurícula derecha por la vena cava superior o inferior, donde acaban desembocando las venas sistémicas.

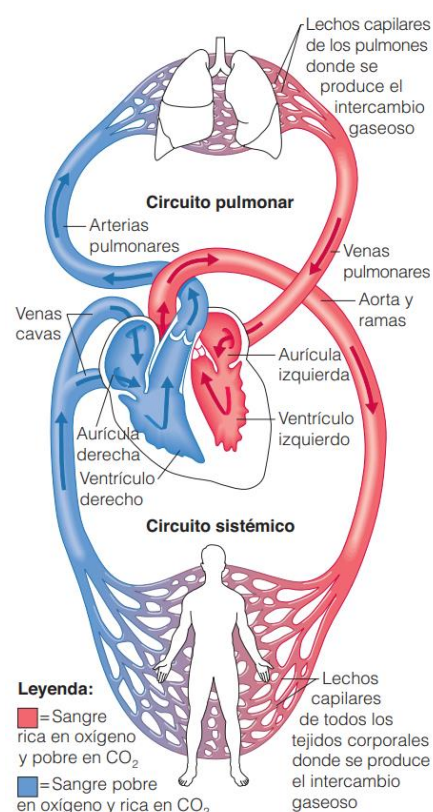


Figura 2. Circulación mayor y menor (Marieb 2009).

2.1.4. Irrigación

El miocardio también es un tejido que requiere de suministro de oxígeno, nutrientes y una forma de eliminar los desechos, por lo que el corazón cuenta con su propio sistema vascular conocido como circulación coronaria. Este entramado de vasos consta principalmente de las arterias coronarias derecha e izquierda, que nacen en la raíz de la aorta y se ramifican para distribuir la sangre rica en oxígeno por el miocardio. En el seno coronario convergen las venas que transportan la sangre pobre en oxígeno que acaba desembocando en la aurícula derecha.

2.1.5. Inervación

El corazón está inervado por el sistema nervioso autónomo, el cual es responsable de su actividad involuntaria. Las fibras nerviosas autónomas proceden tanto del sistema simpático como del parasimpático, y forman el plexo cardíaco. Por un lado, el sistema simpático procede de la cadena simpática cervical a la altura de los ganglios cervicales III y IV (de los Nietos Miguel 2007), y actúa principalmente aumentando la frecuencia cardíaca (cardioacelerador). Por otro lado, el sistema parasimpático alcanza el corazón mediante el nervio vago, que se encarga de disminuir la frecuencia (cardiomoderador).

2.1.6. Sistema de conducción eléctrico

El sistema de conducción se compone por una masa de células miocárdicas (nodos o nódulos) junto con una red de fibras capaces de transmitir el impulso eléctrico por todo el miocardio.

Nodo sinusal o sinoauricular (SA).

Pequeño cúmulo de tejido especializado situado en la aurícula derecha. Es comúnmente conocido como el 'marcapasos natural' del corazón ya que es donde se originan los impulsos eléctricos que darán lugar al latido (de los Nietos Miguel 2007). El estímulo viaja por las vías de conducción internodales al nodo auriculoventricular comenzando una ola de contracción que empuja la sangre de las aurículas a los ventrículos.

Nodo auriculoventricular o atrioventricular (AV).

Grupo de células cardíacas especializadas localizado en la zona de unión de la aurícula y el ventrículo derecho. El nodo AV retrasa la transmisión del impulso haciendo posible que la sangre llegue a los ventrículos antes de que estos se contraigan.

Haz de His y fibras de Purkinje.

El Haz de His es un haz de células no contráctiles que parte del nodo AV, atraviesa el tabique auriculoventricular y se bifurca en dos ramas derecha e izquierda que descienden por el tabique interventricular hasta el ápex del corazón y se extienden por sus respectivos ventrículos. Dado que el ventrículo izquierdo tiene mayor tamaño que el derecho, la rama izquierda se divide en dos ramas, una anterior y otra posterior. Todas las ramas terminan arborizándose en pequeñas fibras conocidas como las fibras de Purkinje, que propagan el impulso a las células contráctiles del miocardio.

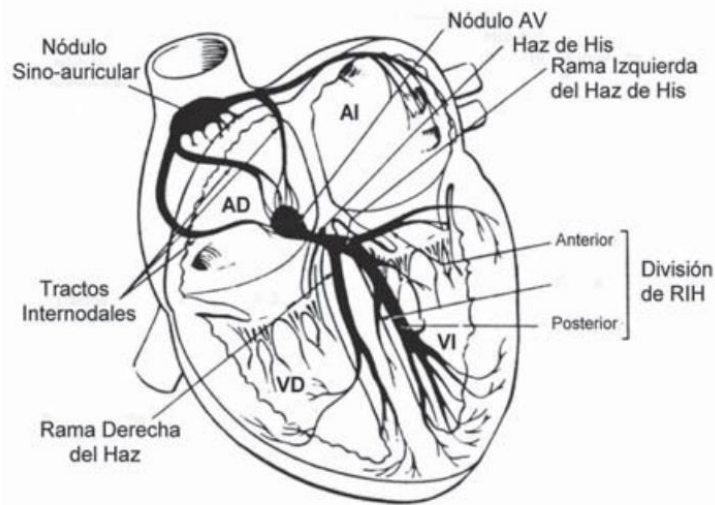


Figura 3. Sistema de conducción eléctrica (de los Nietos Miguel 2007).

2.1.7. Estructura del cardiomiocito

El miocardio es un tejido organizado formado por diversos tipos celulares tales como células de músculo liso, fibroblastos y cardiomiocitos. Los cardiomiocitos son células musculares estriadas que componen principalmente el tejido del corazón. Se caracterizan por su forma cilíndrica, por ser contráctiles y, generalmente, multinucleadas (Walker and Spinale 1999).

La membrana basal es una barrera que conecta a los miocitos con la matriz extracelular e interviene en el intercambio molecular entre el espacio externo y el interior del miocito. Las células cardíacas se encuentran interconectadas entre sí gracias a uniones especializadas denominadas discos intercalados, los cuales contienen varios complejos de unión, incluidos los adherentes zónula, los desmosomas y las uniones gap (OpenStax College 2013). Sirve como fuerte enlace mecánico entre los miocitos y como vía de baja resistencia que permite una rápida conducción de los impulsos eléctricos.

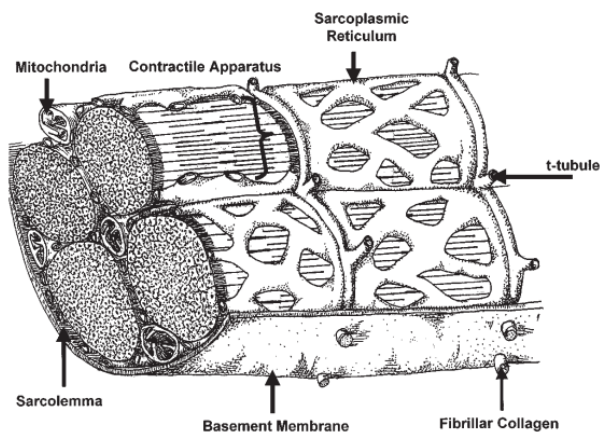


Figura 4. Estructura del cardiomiocito (Walker and Spinale 1999).

El sarcolemma es la membrana plasmática de las fibras musculares. En ella se puede encontrar un sistema tubular transversal o túbulos T, que son invaginaciones del sarcolemma que configuran canales que conducirán el impulso eléctrico a las proximidades del retículo sarcoplasmático en el interior celular. El retículo sarcoplasmático es un retículo endoplasmático especializado del músculo estriado que almacena iones de calcio que serán liberados con la llegada del potencial de acción para producir la contracción, ya que depende de la concentración de iones de calcio y ATP.

Los cardiomiocitos contienen numerosas miofibrillas que constituyen los sarcómeros. Un sarcómero es una unidad anatómica funcional del músculo estriado, compuesto por filamentos contráctiles (Figura 5): los filamentos gruesos, compuestos por proteínas de miosina; y los filamentos finos, formados por las proteínas actina, troponina y tropomiosina. Los filamentos gruesos se componen por la cola y por dos cabezas globulares, lugar de unión de la actina. La actina que forma parte de los filamentos finos posee lugares de unión a la miosina, los cuales se encuentran envueltos en tropomiosina mientras no se produzca contracción. A su vez, existen tres variedades de troponina: la troponina T, la cual sirve de nexo de unión del complejo troponina a la tropomiosina; la troponina I, que contribuye a la inhibición de la interacción entre la actina y la miosina; y troponina C, lugar donde se adhiere el calcio al comienzo de la contracción.

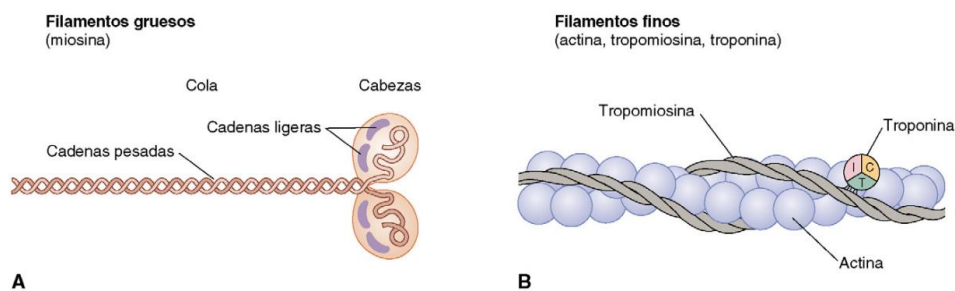


Figura 5. Filamentos gruesos (A) y filamentos finos (B) (Constanzo 2011).

Como se puede observar en la Figura 6, cada sarcómero contiene un disco Z delimitando sus extremos, donde se anclan los filamentos finos, contenidos en la banda I. En el centro se localiza la banda A, integrada por los filamentos gruesos, dónde pueden superponerse con los finos en el momento de la contracción.

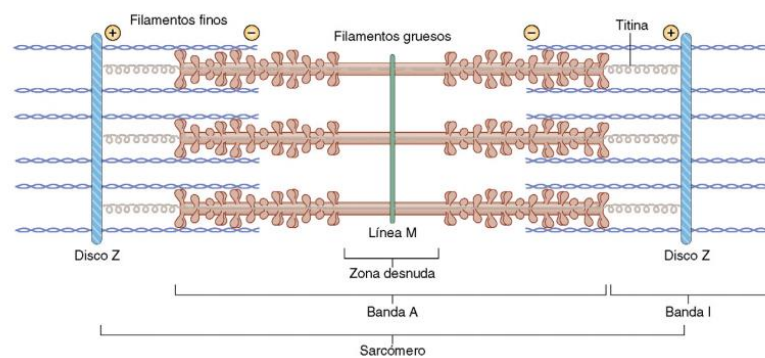


Figura 6. Filamentos y bandas que componen el sarcómero (Constanzo 2011).

El acoplamiento excitación-contracción es la traducción del potencial de acción en contracción muscular. Tras la despolarización de los túbulos T se produce un incremento de la concentración intracelular de Ca^{+2} , que se combina con la troponina C de los filamentos finos provocando una modificación estructural que permite la formación de puentes cruzados, debido a que la tropomiosina se desplaza y no continúa bloqueando la interacción entre actina y miosina. De esta manera, a contracción muscular es el resultado de los filamentos de actina deslizándose a lo largo de los filamentos de miosina.

2.2. ELECTROFISIOLOGÍA CARDÍACA

La base de la contracción y el buen funcionamiento del corazón se sustenta en la correcta generación y transmisión de impulsos eléctricos. En este capítulo se describen los distintos procesos que contribuyen a la activación eléctrica de este órgano.

2.2.1. Conducción a través de la membrana celular

La membrana plasmática o membrana celular es una bicapa lipídica semipermeable que delimita la célula. En ella se encuentran múltiples proteínas, la mayoría implicadas en regular el transporte de sustancias entre el interior y el exterior celular, tales como los canales iónicos, intercambiadores y bombas, que son proteínas transmembrana que permiten el paso de iones específicos.

Existen cuatro iones principales en la electrofisiología cardíaca: los iones de sodio (Na^+), iones de calcio (Ca^{+2}), iones de potasio (K^+) e iones de cloro (Cl^-), cuyo desplazamiento el medio interno o externo celular vienen dado por dos fenómenos: la difusión y el campo eléctrico.

Por un lado, la difusión es un fenómeno natural que tiende a mover las partículas cargadas de una zona de mayor concentración a otra de menor concentración, mientras que, por otro, el campo eléctrico es una fuerza que se da debido a la naturaleza de la carga eléctrica, que puede ser positiva o negativa, y que tendrá tendencia a zonas con carga opuesta. Las diversas concentraciones y cargas eléctricas iónicas en el espacio celular generan lo que se denomina potencial eléctrico (V), una medida del campo eléctrico en un punto que representa la energía potencial electrostática que adquiriría un ion ubicado en este lugar.

El potencial de membrana (V_m) se calcula como la diferencia entre el potencial intracelular (V_i) y el potencial extracelular (V_e):

$$V_m = V_i - V_e \quad (1)$$

Un cardiomiocito tiene un potencial de membrana en reposo de -80 mV, lo cual indica que, en ausencia de un estímulo externo que modifique la distribución de iones, existe un balance negativo de cargas en el interior celular.

2.2.2. Potencial de acción

El potencial de acción (PA) es un rápido cambio transitorio de voltaje que tiene lugar en la membrana celular (Mohrman and Heller 2007) que produce variaciones en la distribución iónica dentro y fuera de la célula. El desencadenante del potencial de acción es un estímulo externo, una corriente que generalmente proviene de las células vecinas y que debe alcanzar un voltaje umbral alrededor de los -65 mV para que se origine.

Los canales iónicos específicos pueden estar formados por compuertas dependientes del potencial de membrana: compuertas de activación o de inactivación, es decir, que con el incremento del potencial aumenta o disminuye su probabilidad de apertura respectivamente.

Existen 5 fases diferentes en el potencial de acción de un cardiomiocito ventricular:

Fase 0 o despolarización.

Se parte del potencial de membrana en reposo negativo de -80 mV, aproximadamente. Tras la llegada del estímulo el potencial de membrana sufre un aumento, lo cual favorece la apertura de las compuertas de activación de los canales de sodio. Este hecho permite la aparición de una corriente de entrada Na^+ (I_{Na}), junto con la apertura de canales lentos de calcio y la sucesiva entrada de este ion (Ca^{+2}) al espacio intracelular. En consecuencia, obtenemos una fase de incremento rápido del potencial de membrana que alcanza el máximo voltaje en torno a 20 mV.

Fase 1 o repolarización inicial.

Consiste en el descenso rápido del potencial causado por la disminución de la corriente de Na^+ , ya que comienzan a inactivarse sus canales; y la aparición de la corriente transitoria de K^+ (I_{to}).

Fase 2 o meseta.

Fase menos variable del potencial, que se mantiene entre los 0 y los 20 mV. Representa el equilibrio entre dos corrientes de entrada y tres de salida.

Entre las corrientes de entrada encontramos una corriente lenta de sodio (I_{NaL}), producto del conjunto de canales de sodio que no se han inactivado totalmente; y la corriente de calcio (I_{CaL}) a través de canales tipo-L. A lo largo de esta etapa se origina la entrada más notable de calcio intracelular, de manera que es durante este período que tiene lugar la contracción de los cardiomiocitos.

La corriente de salida es una corriente de rectificación tardía de potasio (K^+) que tiene diversas componentes: una corriente de salida de K^+ ultrarrápida (I_{Kur}), rápida (I_{Kr}) y lenta (I_{Ks})

Fase 3 o repolarización.

Esta fase comienza cuando las corrientes de entrada I_{Na} y I_{Ca} se disipan debido a la completa inactivación de los canales correspondientes. Se produce una caída prolongada del potencial debido a que se mantienen activas las corrientes salientes de K^+ mencionadas en la fase 2, ya que no presentan compuertas de inactivación. Al finalizar esta fase aparecen otra corriente saliente de K^+ conocida como corriente de rectificación interna (I_{K1}) ya que es la que determina que el potencial de membrana vuelva a su valor inicial en reposo.

Fase 4 o reposo.

Fase de potencial de membrana prácticamente constante en torno a -80 mV. Las componentes de la corriente de rectificación tardía de K^+ se disiparon por el cierre de sus compuertas de activación al disminuir el voltaje. Por otro lado, los canales de la corriente de rectificación I_{K1} no presentan ninguna compuerta, por lo que están abiertos en reposo.

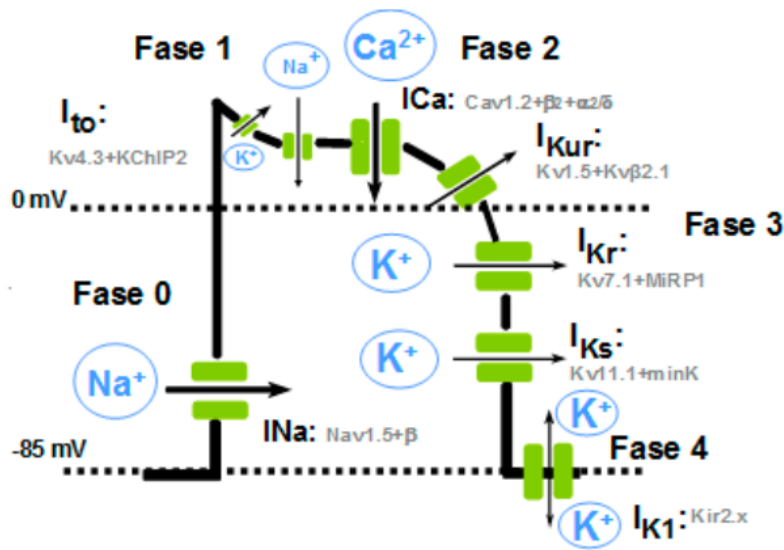


Figura 7. Potencial de acción del cardiomiocito ventricular (Deplón Mosquera 2018).

2.2.3. Propagación del potencial de acción

El corazón es un sicitio funcional, es decir, está formado por numerosas células individuales, pero funcionan y se coordinan como una única.

Esto es debido a la propagación del potencial de acción por el tejido miocárdico, el cual se extiende de una célula a otra gracias a las uniones gap o comunicantes. Las uniones gap son conexiones entre las membranas celulares contiguas unidas por conexinas, un conjunto de proteínas que se disponen formando un cilindro hueco. De esta forma se consigue un "único" medio intracelular desde el punto de vista eléctrico, ya que los iones pueden desplazarse con libertad de una célula a otra puesto que las uniones siempre están abiertas y no son selectivas a ninguna partícula.

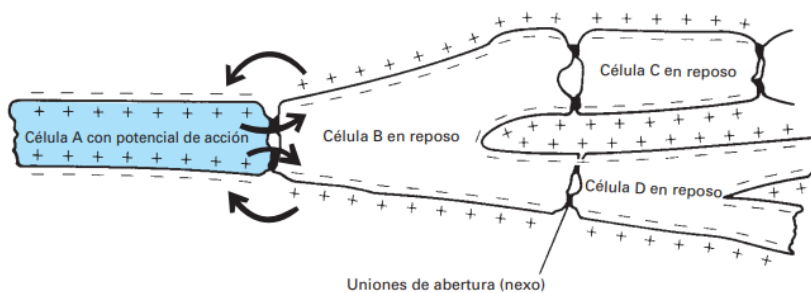


Figura 8. Propagación del potencial de acción entre cardiomiocitos (Mohrman and Heller 2007).

Tal y como se muestra en la Figura 8, la corriente estímulo capaz de desencadenar el potencial de acción en un cardiomiocito generalmente proviene de células vecinas en las que previamente se ha disparado un potencial de acción. Pero el origen del estímulo externo en los cardiomiocitos ventriculares son las células del nodo sinusal. Las células del nodo sinusal son particulares puesto que

no necesitan de un estímulo externo para desencadenar un potencial de acción, sino que se autodisparan. El potencial de membrana nunca se encuentra en fase de reposo, sino que, tras la repolarización, sufre una subida de potencial lenta y transitoria hasta alcanzar el umbral de disparo, como se muestra en la Figura 9. Este fenómeno es debido a que los canales de sodio de las células sinusales se encuentran abiertos tras la repolarización, ya que solo tienen una compuerta de inactivación que se cerrará con la subida de potencial. Por ello, en lugar de producirse una etapa de reposo, se origina una despolarización rápida provocada por una corriente de sodio entrante denominada corriente *funny* o marcapasos (I_f) (Mohrman and Heller 2007).

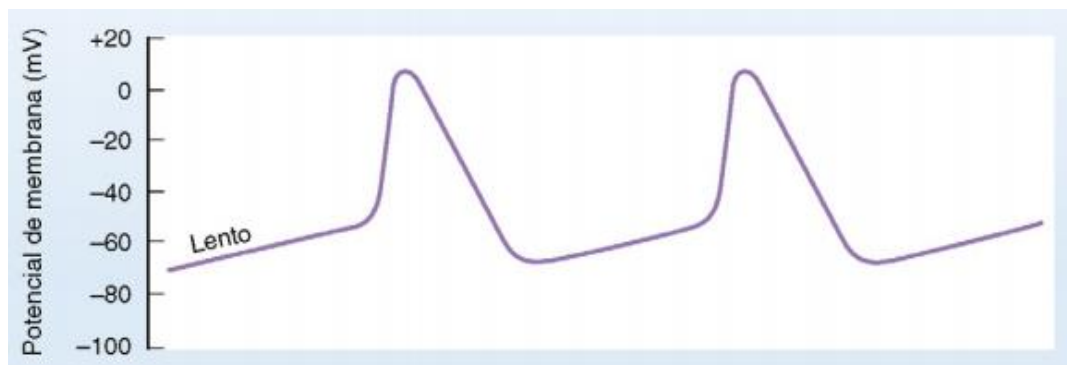


Figura 9. Potencial de acción de las células nodales SA (Constanzo 2011).

2.3. INSUFICIENCIA CARDÍACA / HEART FAILURE

La insuficiencia cardíaca (IC) (en inglés *Heart Failure, HF*) es una patología fisiológica hipertensa que presenta un gasto cardíaco reducido e insuficiente, es decir, una disminución de la cantidad de sangre bombeada al exterior del corazón, incapaz de satisfacer los requerimientos metabólicos. Puede suceder en uno o en ambos ventrículos debido a anomalías en la eyección (IC sistólica) o en el llenado (IC diastólica). La IC sistólica tiene su origen en una menor cifra de células miocárdicas o por un decremento en su función contráctil, mientras que el problema de la IC diastólica recae en una defectuosa relajación del tejido miocárdico (Ulate Montero and Ulate Campos 2008).

La fisiopatología de la insuficiencia cardíaca está constituida por un conjunto de mecanismos que intentan restablecer la adecuada perfusión sanguínea a los tejidos. Con el objeto de compensar el déficit miocárdico o déficit de contractilidad que disminuye a sangre eyectada, se origina un incremento de contracción auricular y seguidamente la ley de Frank-Starling, la cual establece que cuanto más se distiende el músculo cardíaco durante el llenado, mayor es la fuerza contráctil y la sangre bombeada, ya que existe una relación entre la longitud de la fibra cardíaca y la fuerza de contracción. Esta situación mejoraría las condiciones iniciales, pero si esta adaptación se hace persistente puede llevar a un remodelado ventricular patológico que evolucione en una insuficiencia cardíaca. El corazón sufre cambios morfológicos o estructurales que vienen seguidos de alteraciones funcionales. Este remodelado produce alteraciones a nivel celular, principalmente en componentes

básicos celulares que influyen en la rigidez del miocardio, tales como, la degradación de la matriz extracelular o los diferentes plegados de las proteínas del citoesqueleto celular (Sánchez-Marteles, Rubio Gracia, and Giménez López 2016). Asimismo, la electrofisiología celular se ve afectada fundamentalmente en un alargamiento de la duración del potencial de acción y en variaciones en los iones sodio y calcio del interior celular.

La insuficiencia cardíaca causa trastornos hemodinámicos como la congestión, acumulación de líquido extracelular por el aumento de las presiones; e hipoperfusión, disminución del aporte sanguíneo. Para contrarrestar los efectos de estos trastornos se originan variaciones neurohormonales y, en ocasiones, una respuesta inflamatoria oxidativa.

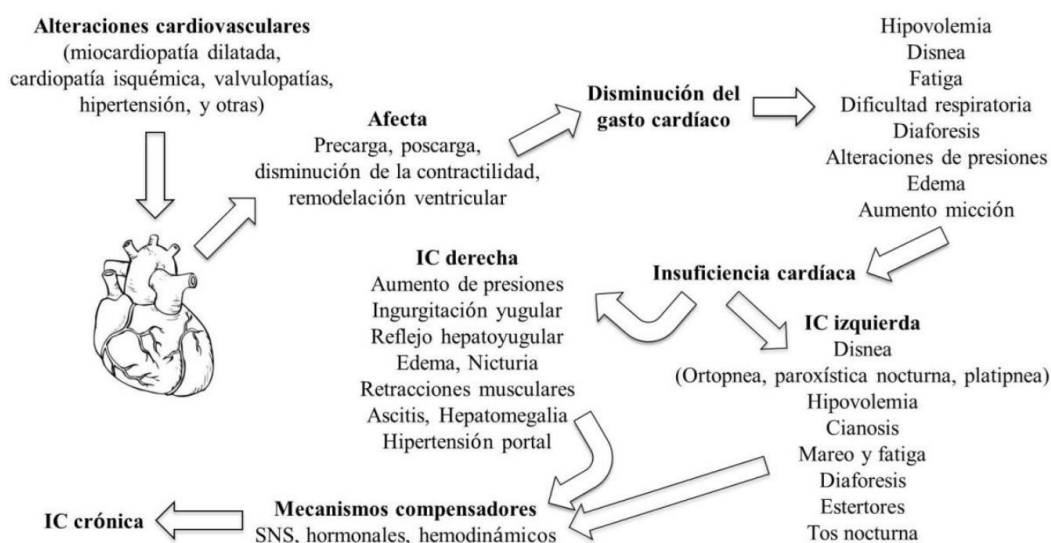


Figura 10. Fisiopatología de la insuficiencia cardíaca (Pereira-Rodríguez, Rincón-González, and Niño-Serrato 2016).

2.4. SEGURIDAD FARMACOLÓGICA

Dentro de la farmacología se pueden diferenciar diversas disciplinas:

1. Farmacología primaria. Es el estudio de los efectos de un fármaco en relación con el resultado deseado.
2. Farmacología secundaria. Se centra en la determinación e investigación de aquellos efectos alejados del objetivo.
3. Seguridad farmacológica.

La seguridad farmacológica es un campo científico cuyo objetivo es a predicción de los efectos adversos causados por un fármaco para poder determinar su nivel de peligrosidad. Se basa en la investigación preclínica antes de la fase I de pruebas en seres humanos, lo cual lo hace susceptible a

adversidades como la incertidumbre de si los modelos preclínicos animales tendrán un comportamiento similar o si proporcionan detecciones exactas.

Entre los objetivos de la seguridad farmacológica se encuentran la protección de los efectos adversos a los participantes voluntarios en ensayos clínicos de Fase I, la protección de los futuros pacientes y la reducción máxima de riesgos tras el desarrollo y la comercialización del fármaco (Pugsley, Authier, and Curtis 2008).

Los efectos farmacológicos se analizan en los sistemas de órganos primarios, entre los cuales se encuentran el sistema nervioso central, el sistema cardiovascular y el sistema respiratorio. Asimismo, existen otros sistemas cuyo estudio es de interés denominados sistemas secundarios, como el sistema renal y el sistema gastrointestinal.

2.4.1. Efectos farmacológicos adversos en el sistema cardiovascular

El *Torsade de pointes* (TdP) es una arritmia taquicárdica ventricular polimorfa potencialmente mortal, la cual origina un alargamiento del intervalo QT junto con una variación tanto en forma como en amplitud del complejo QRS. La aparición de esta taquicardia está relacionada con el suministro de determinados fármacos que producen un bloqueo en los canales de potasio codificados por el gen humano *ether-à-go-go* (hERG). El bloqueo hERG disminuye la componente rápida de la corriente de rectificación tardía (I_{Kr}), una corriente saliente que contribuye a la repolarización, por lo que el decremento se traduce en un retraso de esta fase, un alargamiento de la duración del potencial de acción cardíaco (APD), lo cual se refleja en la prolongación del QT en electrocardiograma (ECG) creando propensión a la fibrilación ventricular y a la muerte súbita (véase Figura 11).

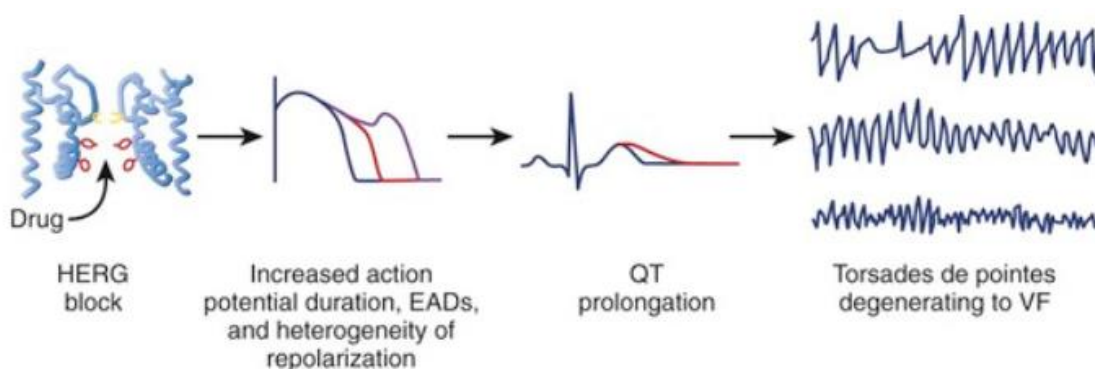


Figura 11. Degeneración del bloqueo hERG en taquicardia ventricular (TdP) (Roden and Viswanathan 2005).

Además de la I_{Kr} , también han sido relacionadas de forma destacable con la prolongación del intervalo QT a la corriente lenta de sodio (I_{NaL}) y a la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}). El aumento de estas dos corrientes de entrada junto a la reducción de las corrientes de salida aumenta la probabilidad de que la I_{CaL} pueda desencadenar latidos prematuros denominados EADs (Weiss et al. 2010).

Los EADs (*early afterdepolarizations*) son despolarizaciones tempranas producto de la desaceleración de la repolarización, ya que al aumentar la corriente de entrada neta es posible superarla e invertirla, siendo el inicio a nivel celular de los TdPs.

2.4.2. Iniciativa CiPA

La iniciativa CiPA (*Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay*) se centra en el análisis del efecto de los fármacos sobre numerosos canales iónicos con la finalidad de conseguir un modelo informático predictivo de los riesgos que puede sufrir una célula miocárdica humana, propuesta por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).

De esta manera, esta iniciativa emprende una búsqueda de una perspectiva estandarizada y mecanicista de determinar las probabilidades de aparición del TdP que mejore al modelo utilizado actual

Esta compleja tarea ha sido dividida en cuatro líneas de estudio (Vicente et al. 2018):

- 1) Ensayos *in vitro* para la observación los efectos farmacológicos en los canales iónicos de los miocardiocitos. Fueron elegidos las siete corrientes iónicas con mayor influencia en producir el potencial de acción: I_{Na} , I_{NaL} , I_{CaL} , I_{to} , I_{Ks} , I_{Kr} e I_{K1} .
- 2) Incorporación de los efectos de múltiples canales iónicos en un modelo informático *in silico* del cardiomiocito ventricular humano.
Esta línea de trabajo se centra en la creación de un modelo *in silico* capaz de reproducir los procesos electrofisiológicos de las células cardíaca que contribuya a la valoración de riesgo proarrítmico.
- 3) Uso de cardiomiocitos procedentes de células madre pluripotentes inducidas por humanos. Se centra en confirmación de los descubrimientos en los ensayos *in vitro* e *in silico* y el análisis de efectos imprevisibles.
- 4) Evaluación de la respuesta de exposición farmacológica en estudios clínicos en fase I. Se realiza una investigación con el fin de comparar y estudiar las disparidades entre la electrofisiología humana y los datos obtenidos mediante los ensayos preclínicos.

2.5. MODELADO ELÉCTRICO

Desde el comienzo de estudio de la electricidad, uno de los objetivos más perseguidos ha sido la comprensión de su origen y comportamiento en los seres vivos. Persiguiendo este fin, surge el concepto de modelado eléctrico celular, un conjunto de ecuaciones que aproximan las propiedades eléctricas de células excitables.

2.5.1. Modelo eléctrico de los canales iónicos

El modelo eléctrico de un canal iónico individual viene dado por los siguientes términos:

- La conductancia unitaria (γ_s): Mide la capacidad de conducción de corriente eléctrica, siendo la inversa de la resistencia. Depende del potencial de membrana (V_m) y de las concentraciones del ion (S) que atraviesa el canal.
- El potencial de equilibrio (E_s): Es el valor del potencial eléctrico de membrana para el cual se equilibra el gradiente de concentración de un ion (S), siendo la corriente neta que atraviesa la membrana cero.

El potencial de equilibrio es calculado por la ecuación de Nernst:

$$E_s = \frac{R \cdot T}{Z_s \cdot F} \ln \frac{[S]_e}{[S]_i} \quad (2)$$

Siendo R la constante universal de los gases ideales, T la temperatura, Z_s la valencia del ion (S) que se está considerando, F la constante de Faraday y $[S]_e$ y $[S]_i$ las concentraciones iónicas extracelular e intracelular respectivamente.

Tras conocer estos conceptos, los aplicamos a la Ley de Ohm:

$$\Delta V = I \cdot R_\Omega \quad (3)$$

La ley de Ohm marca las relaciones entre voltaje (V), corriente (I) y resistencia (R_Ω), sosteniendo que si existe una diferencia de potencial (ΔV) en un conducto, existirán corrientes eléctricas a través de él.

Aplicando la ley de Ohm a la conductancia de un canal iónico se obtiene la ecuación que describe el comportamiento eléctrico de un canal iónico individual:

$$I_s = \gamma_s (V_m - E_s) \quad (4)$$

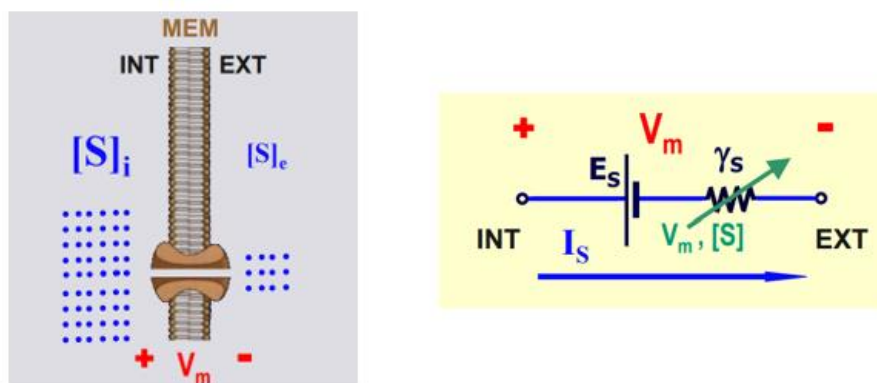


Figura 12. Modelo eléctrico de un canal iónico (Ferrero de Loma-Osorio 2019).

El modelo eléctrico de una población de canales de un determinado ion (S) equivale al modelo eléctrico de cada canal individual de la población dispuestos en paralelo (Figura 13).

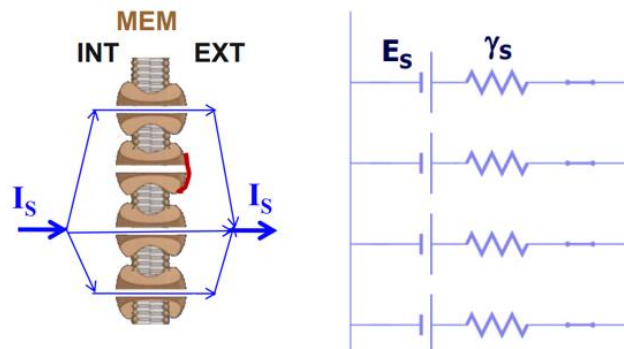


Figura 13. Modelo eléctrico de un conjunto de canales iónicos que conforman una población (Ferrero de Loma-Osorio 2019).

Es posible obtener una sola ecuación para toda una población de canales mediante la agrupación de las ramas en paralelo en una sola rama equivalente que represente a la familia completa:

$$I_S = G_S(V_m - E_S) \quad (5)$$

Siendo G_S la conductancia de la población de canales del ion (S), obtenida del producto de la conductancia unitaria (γ_S) y el número de canales abiertos de la población en ese instante de tiempo.



Figura 14. Modelo eléctrico de una población de canales iónicos (Ferrero de Loma-Osorio 2019).

2.5.2. Modelo eléctrico celular

El modelado eléctrico de una célula considera distintos componentes celulares que intervienen en sus propiedades eléctricas, representados por los siguientes elementos equivalentes conectados en paralelo (Figura 15):

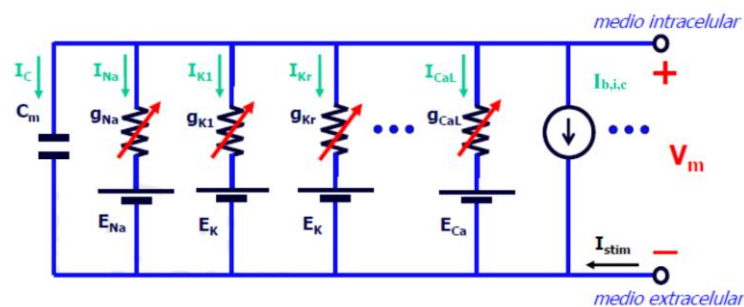


Figura 15. Modelo eléctrico celular (Ferrero de Loma-Osorio 2019).

- Capacidad eléctrica de la membrana (C_m).
La membrana celular presenta es una bicapa lipídica de 80 Å con propiedades eléctricas equivalentes a un condensador con capacidad $1 \mu F/cm^2$ (Plonsey and Barr 1988). Este condensador origina una corriente que viene dada por la ecuación:

$$I_C = C_m \frac{dV_m}{dt} \quad (6)$$

- Las diferentes poblaciones de canales iónicos se presentan con su respectiva conductancia (G_s) en serie con un generador de tensión con el valor del potencial de equilibrio (E_s). Por esta rama circulan las corrientes generadas por cada familia de canales, calculada mediante la ecuación (5) tratada en el apartado anterior:

$$I_s = G_s(V_m - E_s) \quad (5)$$

- La fuente de corriente ($I_{b,i,c}$) equivale a las corrientes producidas por otras proteínas de transporte: las bombas iónicas, los intercambiadores y los cotransportadores.

Los circuitos eléctricos cerrados cumplen que la suma de corrientes entrantes a un nodo debe ser igual a la suma de las corrientes salientes (*1ª Ley de Kirchhoff*), es decir, el sumatorio de corrientes que atraviesan un nudo debe ser 0, por lo que se obtiene la siguiente expresión:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum G_s(V_m - E_s) + \sum I_{b,i,c} + I_{stim} = 0 \quad (7)$$

Siendo I_{stim} el estímulo externo que disparará el potencial de acción.

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio es analizar el impacto que poseen distintos fármacos sobre los cardiomiocitos ventriculares humanos sanos y afectados por insuficiencia cardíaca en una búsqueda del progreso del conocimiento acerca de los desencadenantes de las arritmias cardíacas.

En particular, contribuir a la iniciativa CiPA mediante el modelado y la simulación matemática de los procesos electrofisiológicos más significativos de las células cardíacas para la predicción de la *Torsade de Pointes* (TdP), una taquicardia ventricular que puede originarse como efecto adverso tras la administración de medicamentos. De esta manera, se pretende catalogar los fármacos en función de su peligrosidad, aportando información concluyente para la seguridad farmacológica.

Para lograr la finalidad del trabajo, se plantea el desarrollo de una herramienta programada en Matlab que lleve a cabo un conjunto de objetivos específicos que se exponen a continuación:

- Simular la actividad eléctrica cardíaca mediante los modelos existentes de potencial de acción ventricular humano O'Hara-Rudy y ToR-ORd.
- Realización de simulaciones en las que se variarán los parámetros iónicos de las células ventriculares.
- Modelar y simular la electrofisiología cardíaca en células con insuficiencia cardíaca partiendo de los modelos computacionales base.
- Analizar la contribución de las corrientes iónicas en el potencial de acción y el transitorio de calcio del modelo celular afectado con insuficiencia cardíaca.
- Realizar un modelado del efecto farmacológico en células ventriculares sanas y con insuficiencia cardíaca.
- Procesar y calcular los biomarcadores más destacados a partir de las simulaciones realizadas.
- Desarrollar poblaciones de modelos que contemplen la variabilidad electrofisiológica presente en los seres humanos.

CAPÍTULO 4. MÉTODOS

4.1. MODELOS COMPUTACIONALES

Los modelos computacionales son herramientas que permitirán el modelado y la simulación de la actividad eléctrica cardíaca a nivel celular, permitiendo el estudio y prevención de los posibles efectos proarrítmicos que pueda provocar un fármaco, gracias a una comprensión más completa del comportamiento de las corrientes iónicas.

Para lograr el objetivo de este trabajo se ha realizado la experimentación y el análisis mediante el modelo básico de O'Hara-Rudy (ORd), el modelo O'Hara-Rudy modificado (ORdmJ) y el modelo de ToR-ORD, los cuales nos permitirán reproducir de forma muy precisa el potencial de acción en cardiomiocitos ventriculares humanos.

4.1.1. Modelo O'Hara-Rudy

El modelo de O'Hara-Rudy (ORd) es un modelo matemático del potencial de acción humano sano en cardiomiocitos ventriculares capaz de simular un gran abanico de comportamientos electrofisiológicos (O'Hara et al. 2011).

El modelo se compone de 41 variables de estado, 14 corrientes iónicas y 7 flujos obtenidos mediante un sistema de ecuaciones diferenciales no lineales cuya formulación está basada en el formalismo de Hodgkin-Huxley.

El modelo ORd básico fue desarrollado a partir de datos de cardiomiocitos aislados provenientes de hasta 140 corazones humanos, obtenidos mediante técnicas de *patch-clamp*; y su origen fue servir como punto de partida para la obtención de datos en células no enfermas que contribuyeran desarrollo del modelo *in silico* de CiPA.

La Figura 16 muestra una representación esquemática del cardiomiocito ventricular humano en la que se diferencian cuatro cámaras: El mioplasma (Myo), compartimento que contiene el citoplasma de la célula; la red sarcoplasmática reticular (NSR), las uniones del retículo sarcoplásmico (JSR) y el subespacio (SS) que representa el espacio próximo a los túbulos T.

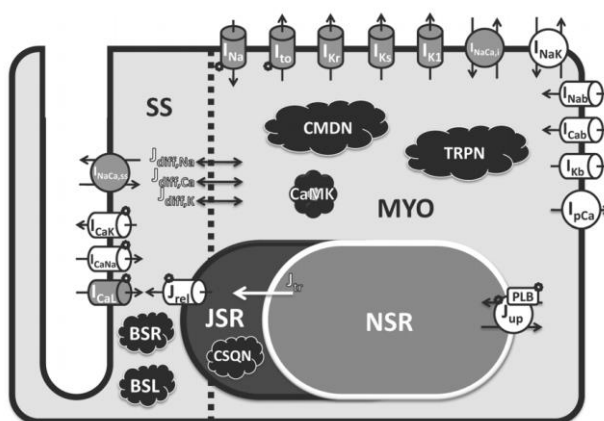


Figura 16. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (O'Hara et al. 2011).

Este esquema incluye la representación de los procesos iónicos que contribuyen al potencial de acción, entre los cuales destacan las corrientes iónicas de sodio, calcio y potasio, intercambiadores como el Na/Ca y bombas iónicas como la bomba Na/K. Asimismo se incluyen mecanismos que influyen en el transitorio de calcio que interviene en la contracción celular, como la bomba SERCA (J_{up}).

El modelo Ord sobresale por la reproducción de la señal de CaMKII, por la obtención de simulaciones de fármacos bloqueantes y patologías, y la predicción de arritmias mediante la eficiente representación de EADs, y se focaliza principalmente en la respuesta de la fase repolarizante.

4.1.1.1. Modelo O'Hara – Rudy modificado

Durante la realización del trabajo, se hizo uso del modelo O'Hara-Rudy modificado, abreviado como ORdmJ, publicado por Llopis Lorente et al. (2020). Este nuevo modelo reformado parte del modelo original de O'Hara-Rudy (ORd), y se propuso con el fin de perfeccionar el comportamiento electrofisiológico y ajustar los efectos farmacológicos obtenidos.

A continuación, se presentan los cambios introducidos en el modelo ORd original (Llopis-Lorente et al. 2020):

- Alteraciones en las conductancias de los canales correspondientes a las siguientes corrientes iónicas: I_{Na} , I_{NaL} , I_{CaL} , I_{Kr} , I_{Ks} e I_{K1} (Tabla 1) (Dutta et al. 2016). Este ajuste se realizó con el fin de encontrar un acercamiento a los resultados obtenidos experimentalmente en células cardíacas humanas sanas y en células con determinados canales bloqueados debido a la acción de ciertos fármacos.

Conductancia iónica	Modificación del factor de escala
G_{Na}	40%
G_{NaL}	227,4%
G_{CaL}	101,8%
G_{Kr}	111,9%
G_{Ks}	164,8%
G_{K1}	141,4%

Tabla 1. Alteraciones de las conductancias de los canales en el modelo ORd modificado (ORdmJ) (Dutta et al. 2016).

- Modificación de la corriente I_{Na} . Se buscó alcanzar una mejor velocidad de propagación mediante la alteración de las compuertas de activación e inactivación. Además, para preservar los valores empíricos de la derivada máxima se disminuyó la conductancia de su

población de canales al 60%. A continuación, se detallan las modificaciones de las compuertas de activación e inactivación de los canales de Na⁺:

ORd	ORdmJ
$m_{ss} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(v+39,57)}{9,871}}}$	$m_{ss} = \frac{1}{1 + e^{\frac{-(v+39,57+9,4)}{7,5}}}$
$h_{ss} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+82,90}{6,086}}}$	$h_{ss} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+78,5}{6,22}}}$
$j_{ss} = h_{ss}$	$j_{ss} = h_{ss}$
$h_{ssp} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+89,1}{6,086}}}$	$h_{ssp} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+78,5+6,2}{6,22}}}$

Tabla 2. Comparación de las ecuaciones de las compuertas de activación (m_{ss}) e inactivación (h_{ss} y j_{ss}) en estado estacionario de I_{Na} del modelo ORd original y ORd modificado (ORdmJ) (Llopis-Lorente et al. 2020; Mora et al. 2017; Passini et al. 2016).

De esta manera se obtuvo una respuesta del modelo modificado ORdmJ más adecuada, pero al mismo tiempo dentro de los rangos óptimos para poder considerarse válido.

4.1.2. Modelo Tomek et al. (ToR-ORd)

ToR-ORd es un modelo de potencial de acción reciente que busca reproducir los procesos principales de la electrofisiología ventricular humana y el acoplamiento excitación-contracción, en corazones sanos, patológicos y tratados con determinados fármacos bloqueantes.

Como indica su nombre, ToR-ORd parte del modelo de O'Hara-Rudy (ORd), el cual, a pesar de ser considerado uno de los modelos computacionales mejor ajustados a datos experimentales hasta el momento, presentaba algunas incongruencias. Por ello, se desarrolla este nuevo modelo en base a las siguientes reformulaciones (Tomek et al. 2019):

- Corriente de calcio tipo L (I_{CaL})
La I_{CaL} interviene directamente en el potencial de acción y el transitorio de calcio intracelular. Ord junto con otros modelos predecesores realizaban el cálculo de la fuerza de difusión iónica mediante la Ley de Nernst, método que fue sustituido en ToR-ORd por las ecuaciones de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) y se reestructuró la corriente del subespacio (SS) hacia el mioplasma.
Se consiguió una mejora en el comportamiento de la I_{CaL} y en la consistencia de la fase 2 del potencial de acción, pues con el modelo ORd se obtienen valores del potencial durante la meseta levemente superiores al valor conocido experimental que está en torno a 20 mV.

- Corriente de rectificación tardía (I_{Kr})
La I_{Kr} es la corriente fundamental en la fase de repolarización del potencial de acción ventricular.
Se reformuló la corriente basándose en el modelo de Markov de Lu-Vandenberg y mejora la activación de la corriente en el modelo ORd. Esta modificación influyó en los resultados de los cardiomiocitos con bloqueo de Ca^{+2} , consiguiendo un ajuste más adecuado en la duración del AP, ya que la disminución de la corriente de calcio produce un acortamiento y en el modelo ORd se obtenía un alargamiento no fisiológico.
- Otras corrientes alteradas fueron: I_{Na} , $I_{(Ca)Cl}$, I_{Clb} e I_{K1}

En la Figura 17 se observa la estructura del cardiomiocito ventricular compuesta de cuatro secciones bien diferenciadas, de la misma manera que el diagrama celular del modelo ORd, con las modificaciones realizadas plasmadas en naranja.

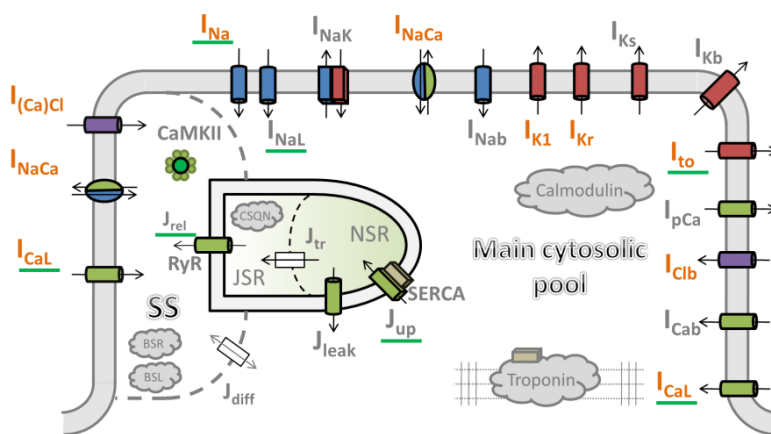


Figura 17. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (Tomek et al. 2019).

4.2. SIMULACIÓN DEL EFECTO FARMACOLÓGICO

La administración de determinados fármacos es potencialmente peligrosa, ya que algunos de sus efectos pueden contribuir a la aparición de arritmias, como la ya mencionada *Torsade de Pointes* (TdP). El origen celular se encuentra en la asociación y bloqueo de los canales iónicos cardíacos por parte de las moléculas farmacológicas, una función ideada y efectiva en los fármacos directamente implicados en el tratamiento de arritmias, pero considerado un efecto adverso en aquellas con una finalidad diferente.

El grado de bloqueo provocado por un medicamento es función de la afinidad de éste por una determinada población de canales y de su concentración. Este hecho se puede ver reflejado en una disminución de las conductancias máximas de los canales, afectando, por tanto, a las corrientes iónicas que los atraviesan y, consecuentemente, al potencial de acción.

Con el objetivo de estudiar y validar el efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares, tanto sanas como patológicas, se analizan 28 fármacos seleccionados por la iniciativa CiPA, categorizadas en función de la propensión a provocar arritmias: alta, intermedia o baja (Colatsky et

al. 2016). La idoneidad de estos fármacos recae en que han sido altamente investigados con anterioridad, lo que permite disponer de información científica verificada sobre sus características y su comportamiento frente a las distintas poblaciones de canales conforme a los datos experimentales.

Se simularán los efectos farmacológicos de los distintos compuestos de CiPA mediante los modelos computacionales ORdmJ y ToR-ORD, calculando el bloqueo producido y transfiriéndole el valor de los factores de escala, que afectan a la conductancia original de cada población de canales en función del medicamento. El método empleado para cuantificar el bloqueo o factores de escala es la formulación de la ecuación de Hill.

4.2.1. Ecuación de Hill

El factor de escala es una variable que modificará el valor de la conductancia de una determinada población de canales simulando el bloqueo por acción del fármaco. Este se extrae utilizando la ecuación de Hill de la siguiente manera:

$$G_{canal,fármaco} = \frac{1}{1 + \left(\frac{[C]_{fármaco}}{[IC_{50,canal}]}\right)^h} \cdot G_{canal} \quad (8)$$

En esta expresión llamamos G a las conductancias, siendo G_{canal} la conductancia del canal en condiciones de control y $G_{canal, fármaco}$ la nueva conductancia reducida tras la aplicación del fármaco. En cuanto al factor de escala que produce la reducción, es función de los siguientes parámetros:

$[C]_{fármaco}$ es la concentración del fármaco aplicado. Se expresa como un múltiplo de la concentración plasmática terapéutica libre efectiva (en inglés *effective free therapeutic concentration*, EFTPC), es decir, la concentración de fármaco que hay en la sangre.

$[IC_{50,canal}]$ es la concentración inhibitoria del 50% del canal. En estas cantidades la corriente que atraviesa estos canales se reduce a la mitad. Es un parámetro fijo obtenido experimentalmente que caracteriza la capacidad de bloqueo que tiene cada fármaco en una población de canales concreta. A menores valores de IC_{50} , más potente es el fármaco. Por el contrario, si el IC_{50} es demasiado elevado podría considerarse que no afecta a los canales.

Finalmente, h es el coeficiente de Hill, cuyo valor expresa el número de moléculas de fármaco que son necesarias para bloquear un canal iónico.

Debido a que en este trabajo se estudia la cardiotoxicidad de los fármacos, los datos utilizados para el cálculo de las conductancias mediante la ecuación de Hill han sido datos extremos dentro de los posibles casos existentes, ya que se puede asumir que, si para valores límite de concentración no hay peligro, para otros tampoco lo habrá. Concretamente, las simulaciones de los 28 medicamentos inducen bloqueos centrándose en los canales iónicos de las siguientes corrientes: I_{Na} , I_{NaL} , I_{CaL} , I_{to} , I_{Kr} , I_{Ks} e I_{K1} .

4.2.2. Protocolo de estimulación y ejecución de las simulaciones.

La totalidad de las simulaciones de este trabajo se efectuaron con una longitud del ciclo de estimulación (*Cycle Length, CL*) de 1000 ms, en otras palabras, con una frecuencia de estimulación de 1 Hz. Asimismo, para cada una se realizaron 500 latidos dado que se comprobó que, a esa frecuencia, a partir de 300 pulsos, se alcanzaba el régimen permanente.

4.2.2.1. Modelo O'Hara – Rudy.

En lo referente al *software*, el código que conforma el modelo computacional de ORd se compone de dos módulos: el módulo *main* y el módulo *model*.

El módulo *main* contiene el código responsable de asignar datos de entrada, resolución de las ecuaciones diferenciales y obtención de los datos de salida.

```
%X0 is the vector for initial conditions for state variables
X0=[v nai nass ki kss cai cass cansr cajsr m hf hs j hsp jp mL hL hLp

CL=1000;%pacing cycle length in ms
beats=500;%number of beats in the simulation

options=[];%options for ode solver

for n=[1:beats]
    [time X]=ode15s(@model,[0 CL],X0,options,1);
    X0=X(size(X,1),:);
    %output beat number to the screen to monitor runtime progress
end
```

Figura 18. Código perteneciente al módulo *main*.

En este se imponen las condiciones iniciales de 41 variables de estado que, como se observa en la Figura 18, conformarán el vector X_0 , se selecciona la duración de los latidos (*CL*) y el número de ellos a los que se quiere estimular (*beats*). Las variables de entrada se pasarán al módulo *model*, el cual modelará el comportamiento electrofisiológico del miocito que se quiere simular, y se resolverán las ecuaciones diferenciales mediante la función *ode15s* para la obtención de las variables de salida siguientes para aquellos latidos que hayan sido guardados:

- *Time*: Vector tiempo.
- *StateVars (X)*: Matriz cuyas columnas son cada una de las variables de estado y cuyas filas son los valores de estas variables tomados en los distintos instantes temporales contenidos en el vector *Time*.

Otros parámetros de salida que pueden obtenerse son las corrientes y flujos que tienen lugar en el cardiomiocito, que se obtendrían sin necesidad de resolver las ecuaciones diferenciales mediante la función *ode15s*.

En cuanto al módulo *model*, contiene el código correspondiente con el modelado de los procesos y la respuesta eléctrica celular cardíaca. Incluye los parámetros variables e invariables implicados y las ecuaciones matemáticas que sirven para modelar desde el comportamiento de los canales iónicos hasta las dinámicas iónicas de las corrientes (véase un ejemplo en la Figura 19).

```
%Calculate INa
INa=GNa*(v-ENa)*m^3.0*((1.0-fINap)*h*j+fINap*hp*jp);
```

Figura 19. Ecuación de la corriente de sodio rápida perteneciente al módulo model.

Las variables de entrada imprescindibles para el modelo son la duración del latido a simular (CL), las condiciones iniciales de las variables de estado (X_0) y la etiqueta $flag_ode$, un indicador de las variables de salida del modelo en función de su valor. Como se muestra en la Figura 20, si $flag_ode$ tiene valor 1 se obtendrán los vectores $Time$ y X mediante la función `ode15s` en el módulo `main`, en caso contrario, se devuelve el valor de las corrientes iónicas en ese instante.

```
%output the state vector when ode_flag==1, and the calculated currents and fluxes otherwise
if flag_ode==1
    output=[dv dnai dnass dki dkss dcaI dcass dcansr dcajer dm dhf dns dj dnsp djp dmL dhL dhLp da diF diS dap diFp diSp dd dff dfs dfoaf
else
    output=[INa INaL Ito ICaL IKr IKs IKl INaCa_i INaCa_ss INaK IKb INab ICab IpCa Jdiff JdiffNa JdiffK Jup Jleak Jtr Jrel CaMKa Istim];
end
```

Figura 20. Código de las variables de salida proporcionadas por el módulo model.

4.2.2.2. Modelo Tomek et al.

En cuanto al *software* del modelo de *Tomek et al.* en este trabajo se utilizaron los siguientes módulos:

Get Starting State. Es una función que permite al usuario seleccionar el estado inicial que utilizará el modelo simulado. Ésta devuelve las condiciones iniciales de las variables de estado (X_0) en función del modelo celular seleccionado: endocárdico, epicárdico o miocárdico.

```
function X0 = getStartingState(modelCode)
%% Baseline ToR-ORd
if (strcmp(modelCode, 'Torord_endo'))
    X0=[-88.8691566357934,12.099664765518
end

if (strcmp(modelCode, 'Torord_epi'))
    X0=[-89.0154768721342,12.838260526981
end

if (strcmp(modelCode, 'Torord_mid'))
    X0=[-88.9590090659588,14.996817064250
end
```

Figura 21. Código perteneciente a la función *Get Starting State*

Model Runner. Es una función que establece los parámetros definidos por defecto, y permite realizar cambios en ellos mediante la descompresión de una estructura de parámetros (*parameters*) que contiene las modificaciones dadas por los usuarios. Por ejemplo, el código de la Figura 22 muestra el funcionamiento de *model runner* con el factor de escala que multiplicará la conductancia de los canales de sodio rápido. El valor por defecto del factor de escala será 1, manteniendo la conductancia máxima de los canales con condiciones normales. En caso de que la estructura

parameters contenga un campo con el nombre '*INa_Multiplier*' se le asignará a éste el nuevo valor contenido en este campo.

```
% Current multipliers
INa_Multiplier = 1;
if (isfield(parameters, 'INa_Multiplier'))
INa_Multiplier = parameters.INa_Multiplier; end
```

Figura 22. Código perteneciente a *model runner*.

Una vez establecido el valor de todos los parámetros, se le pasarán al módulo *model ToR-ORd*, para, a continuación, acabar devolviendo las variables de salida *Time*, *X* y *parameters*.

Model ToR-ORd. Al igual que en el modelo ORd, este módulo es el núcleo de la simulación, dónde se modela mediante todas las constantes, variables y expresiones matemáticas necesarias la respuesta eléctrica del cardiomiocito. La estructura del código es muy similar a la de *model* de ORd, con las mismas variables de entrada, salida y resolución de las ecuaciones mediante la función *ode15s*, añadiendo los parámetros establecidos en *model runner* también como variables entrantes.

Get Currents Structure. Es una función que permite obtener una estructura llamada *currents* que contiene todos los flujos y corrientes iónicas. Asimismo, también extrae otros parámetros importantes que nos son corrientes pero que son frecuentemente analizados como el vector de tiempo *Time*, el potencial de membrana o la concentración de calcio en el citosol.

4.2.3. Medida de biomarcadores

Los biomarcadores son indicadores numéricos medibles que se obtienen para caracterizar y estudiar la respuesta de los distintos modelos computacionales. Se pueden extraer medidas de todo tipo que contribuyan a decidir qué modelo reproduce mejor determinadas medidas, realizar ajustes que mejoren la reproducibilidad y ayuden a obtener la mayor similitud posible con las propiedades electrofisiológicas experimentales en células humanas.

En este estudio se han considerado 16 biomarcadores para analizar distintas magnitudes significativas, así como el voltaje en la membrana del cardiomiocito (Figura 23) y la concentración iónica de calcio intracelular (Figura 24):

- **Duración del potencial de acción (APD).** Mide el tiempo que transcurre desde el inicio del potencial de acción, en el momento de máxima despolarización, hasta que se produce un porcentaje de repolarización. Por ejemplo, el APD₉₀ representa el tiempo que dura el potencial de acción desde el inicio hasta el 90% de la repolarización total. Se han realizado mediciones del APD a distintos porcentajes: APD₉₀, APD₈₀, APD₅₀ y APD₃₀.
- **Triangulación APD.** Mide la diferencia de duración entre dos biomarcadores de APD a diferentes porcentajes de repolarización. Se han obtenido las triangulaciones APD₉₀₋₅₀ y APD₈₀₋₃₀.
- **Potencial de membrana en reposo (V_r).** Es el valor del voltaje e la membrana antes de dispararse el potencial de acción.

- **Potencial de pico (V_p).** Es el valor máximo que alcanza el potencial de membrana durante el potencial de acción.
- **Potencial pico-pico (V_{pp}).** Mide la amplitud del potencial de acción y se calcula como la diferencia del potencial máximo (V_p) y el potencial de reposo (V_r).
- **Pendiente máxima ($\frac{dV_m}{dt}_{\text{máx}}$).** Mide la máxima variación del voltaje o máxima derivada del potencial de membrana respecto al tiempo. Ocurre en la fase de despolarización.

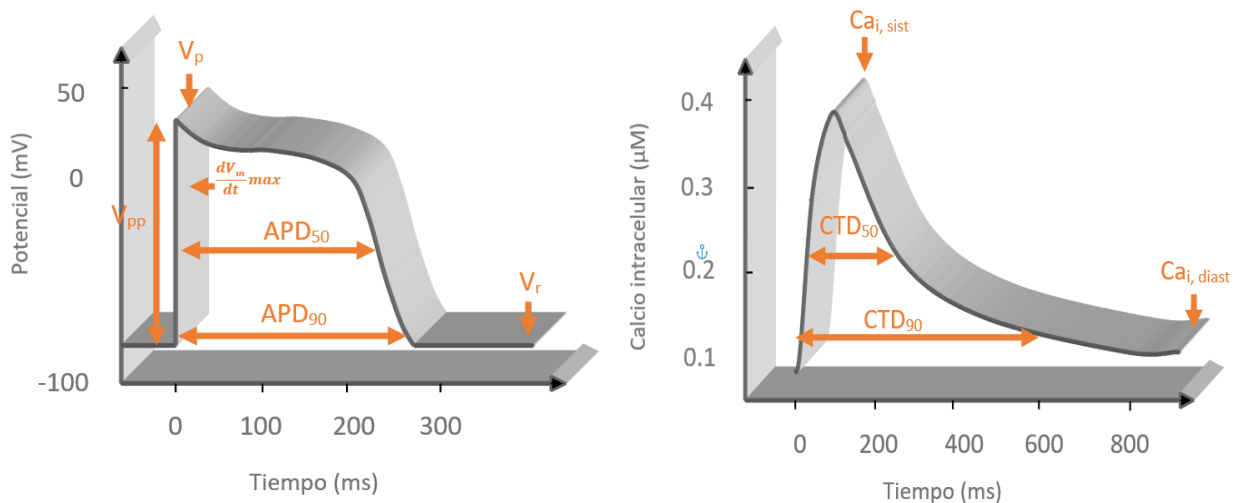


Figura 23. Biomarcadores más característicos del potencial de acción y el transitorio de calcio, respectivamente.

- **Duración del transitorio de calcio (CTD).** Mide el tiempo que transcurre desde el inicio de la contracción, hasta que se reestablece un porcentaje de la concentración inicial de calcio. Por ejemplo, el CTD_{90} representa el tiempo que dura el transitorio de calcio desde el inicio hasta que se recupera el 90%.
Se han realizado mediciones del CTD a distintos porcentajes: CTD_{90} , CTD_{80} , CTD_{50} y CTD_{30}
- **Triangulación CTD.** Mide la diferencia de duración entre dos biomarcadores de CTD a diferentes porcentajes. Se han obtenido las triangulaciones CTD_{90-50} y CTD_{80-30} .
- **Calcio sistólico ($Ca_{i, \text{sist}}$).** Parámetro que indica el valor más elevado de concentración de calcio. Ocurre durante la sístole o contracción del músculo cardíaco.
- **Calcio diastólico ($Ca_{i, \text{diast}}$).** Parámetro que indica el valor mínimo de calcio intracelular tras la repolarización del potencial. Ocurre durante la diástole o relajación del tejido.

4.3. MODELO DE INSUFICIENCIA CARDÍACA O HEART FAILURE

Tras tratar la metodología mediante la que se simularán las características electrofisiológicas de los cardiomiocitos ventriculares sanos, en este apartado se expone la metodología utilizada para modelar el potencial de acción en cardiomiocitos afectados por insuficiencia cardíaca.

En este TFG se emplearán dos modelos computacionales: HFORdmJ y HFToR-ORD.

Parámetro iónico	Modificación del factor de escala	
I_{NaL}	130%	Gomez et al. (2014) presentó modificaciones en el modelo ORd original con el fin de simular el fenotipo de insuficiencia cardíaca en las células ventriculares, las cuales fueron adaptadas al modelo ORdmJ, obteniéndose así el modelo HFORdmJ, propuesto por Llopis Lorente 2018 (Tabla 1). Todos los factores de escala sufrieron la misma modificación, exceptuando aquél que afecta a la corriente de sodio lenta (I_{NaL}), que en el modelo de Gómez tenía un valor de 180%.
τ_{hL}	180%	
I_{to}	40%	
I_{K1}	68%	
I_{NaK}	70%	
I_{NCX}	175%	
J_{SERCA}	50%	
J_{leak}	130%	
$CaMKa$	150%	
$K_{rel, Ca^{2+}}$	80%	

Tabla 3. Remodelado iónico del modelo de insuficiencia cardíaca. El motivo por el cual se decidió reducir este parámetro en el modelo ORdmJ fueron, fundamentalmente, que la corriente I_{NaL} ya había sufrido un incremento, teniendo un mayor protagonismo (Llopis Lorente 2018). Además, los datos experimentales referidos a la conductancia de los canales de sodio lento presentan rangos bastante amplios, estando el porcentaje escogido incluido en ellos.

Dado que se concluyó que el modelo HFORdmJ consigue una mejor respuesta ante los efectos farmacológicos que los modelos previos, en este trabajo se decidió aplicar las mismas modificaciones observadas en la Tabla 1 al modelo de ToR-ORd original, obteniendo el segundo de los modelos utilizados (HFToR-ORd).

4.4. POBLACIÓN DE MODELOS

Los procesos fisiológicos de los seres vivos presentan divergencias debido a las variaciones biológicas existentes entre los organismos. Incluso entre individuos de la misma especie existen estas diferencias en la fisiología, las cuales pueden llegar a exteriorizarse como predisposición a distintas patologías.

Hoy por hoy, no es demasiado conocido el motivo de la variabilidad electrofisiológica entre los seres humanos, cuyo entendimiento sería crucial para optimizar las predicciones, ya que ignorar la diversidad existente en los datos experimentales contribuye a la pérdida de información significativa. Por este motivo, se estudiará la respuesta electrofisiológica de los cardiomiocitos ventriculares mediante metodología cimentada en la construcción y calibración de poblaciones de modelos. Esto implica que la misma simulación que se realizaba para una sola célula cardíaca, se realizará tantas veces como individuos compongan la población, con ligeras diferencias en propiedades iónicas en cada una.

A continuación, se describirán los procesos de construcción y calibración de la población de 1000 modelos celulares:

La construcción consiste en elaborar una matriz constituida por factores de escala que modificarán las conductancias originales que no tienen en cuenta la variabilidad. Esta matriz se genera de forma aleatoria y está acotada. Así mismo, sigue una distribución normal con media 1 y una desviación

estándar de 0,2. Con los factores de escala obtenidos, se generará la población mediante los modelos computacionales ORdmJ y ToR-ORd. Dado que la matriz está conformada por factores de escala obtenidos al azar, es posible que en algún modelo se produzcan combinaciones de conductancias no fisiológicas, en otras palabras, que no existen realmente porque no hacen viable el disparo del potencial o se obtiene una duración demasiado prolongada o al contrario. Por esta razón es necesario realizar una calibración de la población.

Biomarcador	Uds.	Mínimo	Máximo	Referencias
APD ₄₀	(ms)	85	320	(O'Hara et al. 2011) (Britton et al. 2017) (Passini et al. 2017)
APD ₅₀	(ms)	110	350	(O'Hara et al. 2011) (Guo et al. 2011) (Britton et al. 2017)
APD ₉₀	(ms)	180	440	(O'Hara et al. 2011) (Guo et al. 2011) (Britton et al. 2017)
APD ₉₀₋₄₀	(ms)	50	150	(O'Hara et al. 2011) (Britton et al. 2017) (Passini et al. 2017)
dV/dt	(mV/ms)	150	1000	(O'Hara et al. 2011) (Britton et al. 2017) (Passini et al. 2017)
V _p	(mV)	10	55	(O'Hara et al. 2011) (Guo et al. 2011)(Britton et al. 2017)
V _r	(mV)	-95	-80	(O'Hara et al. 2011) (Guo et al. 2011) (Britton et al. 2017)
CTD ₅₀	(mS)	120	420	(Coppini et al. 2013) (Passini et al. 2016)
CTD ₉₀	(mS)	220	785	(Coppini et al. 2013) (Passini et al. 2016)
Ca _{i, sist}	(μM)	0,262	2,23	(Schmidt et al. 1998)
Ca _{i, diast}	(μM)	--	0,40	(Schmidt et al. 1998)
Na ⁺	(μM)	--	39,27	(Pieske et al. 2002)
ΔAPD ₉₀ con I _{Ks} al 90%	(%)	-54,4	62	(O'Hara et al. 2011)
ΔAPD ₉₀ con I _{Kr} al 70%	(%)	32,25	91,94	(Grandi, Pasqualini, and Bers 2010)
ΔAPD ₉₀ con I _{K1} al 50%	(%)	-5,26	14,86	(Jost et al. 2008)

Tabla 4. Rangos de los biomarcadores empleados para la calibración.

La calibración se basa en descartar aquellos modelos de la población que no cumplen con los valores de los rangos experimentales. Se realiza mediante la medición de determinados biomarcadores de todos los modelos celulares y la comprobación de que se encuentran incluidos en los intervalos que se muestran en la Tabla 2. La mayoría de biomarcadores se obtienen a partir de la población en condiciones de control, exceptuando las variaciones de APD₉₀ que se realizarán sobre la simulación de la población con un bloqueo del 90%, 70% y 50% de las corrientes I_{Ks}, I_{Kr} e I_{K1}, respectivamente.

De esta manera es posible realizar la selección de las simulaciones que cumplen con los criterios, que serán los que conformarán la población sobre la que se realizarán los estudios pertinentes.

Tanto la construcción como la calibración se realizó para el modelo ORdmJ y ToR-ORd, obteniendo dos poblaciones de modelos que se emplearon para estudios del efecto farmacológico en condiciones normales y patológicas, concretamente en poblaciones afectadas con insuficiencia cardíaca.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos durante la elaboración del trabajo.

Primeramente, se realizó una comparativa entre los modelos ORd (O'Hara-Rudy dynamic) (O'Hara et al. 2011) y ToR-ORd (Tomek et al. 2019) a la hora de simular la electrofisiología del ventrículo cardíaco humano sano. A continuación, se realiza un estudio de los efectos farmacológicos de 28 fármacos de CiPA en ambos modelos. Seguidamente se desempeña un análisis de la respuesta de los modelos celulares miocárdicos con insuficiencia cardíaca. En último lugar se muestra el efecto farmacológico en poblaciones celulares sanas y con insuficiencia cardíaca, siendo capaces, así, de considerar la variabilidad que pudiese existir en cada una de sus simulaciones.

5.1. COMPARACIÓN ENTRE MODELOS DE ORd y ToR-ORd

5.1.1. Estabilización

Previamente a la comparativa se realizó una comprobación del número de latidos al que se estabiliza el modelo ToR-ORd, de forma que se asegure que los latidos no varíen de una simulación a otra. Es conocido que ToR-ORd se encuentra estabilizado para una frecuencia de 1 Hz en condiciones normales. Sin embargo, es necesario constatar la estabilidad del modelo si se realizan modificaciones en frecuencia o en ciertas conductancias. Por ello, se realizaron diversas simulaciones variando la conductancia de la corriente I_{CaL} y se comprobó que a mayor número de latidos simulados, más largos y más similares eran los potenciales de acción, pudiéndose considerar que a partir de 300 pulsos se conseguía una estacionariedad en la duración del potencial de acción (APD).

5.2.1. Comparación de las respuestas entre modelos

En este subapartado se procede a realizar una comparativa entre las respuestas de los modelos básicos ORd y ToR-ORd en control a una frecuencia de estimulación de 1 Hz o tiempo entre pulsos de 1000 ms (CL) y con una simulación de 500 latidos (en inglés *beats*), con el objeto de identificar las diferencias más significativas entre ambos modelos. Los distintos resultados del modelo ORd vendrán representados por una línea de guiones, mientras que los correspondientes al modelo ToR-ORd se muestran con una línea continua.

En la Figura 24 se representan los potenciales de acción y el calcio intracelular de los modelos ORd y ToR-ORd superpuestos respectivamente.

Respecto al potencial de acción, se puede apreciar una morfología considerablemente similar, aunque encontramos leves variaciones dependiendo de la fase. Por un lado, las fases de despolarización y de reposo son prácticamente invariables. Es en la meseta donde se encuentra la diferencia más destacable, ya que el modelo ORd aumenta los valores del potencial en este período, encontrándose la representación en ToR-ORd mejor ajustada.

En cuanto al calcio intracelular, en ambos modelos también se asemejan en forma, pero la máxima concentración obtenida por ToR-ORd alcanza valores superiores, asimismo la recuperación del calcio es ligeramente más rápida.

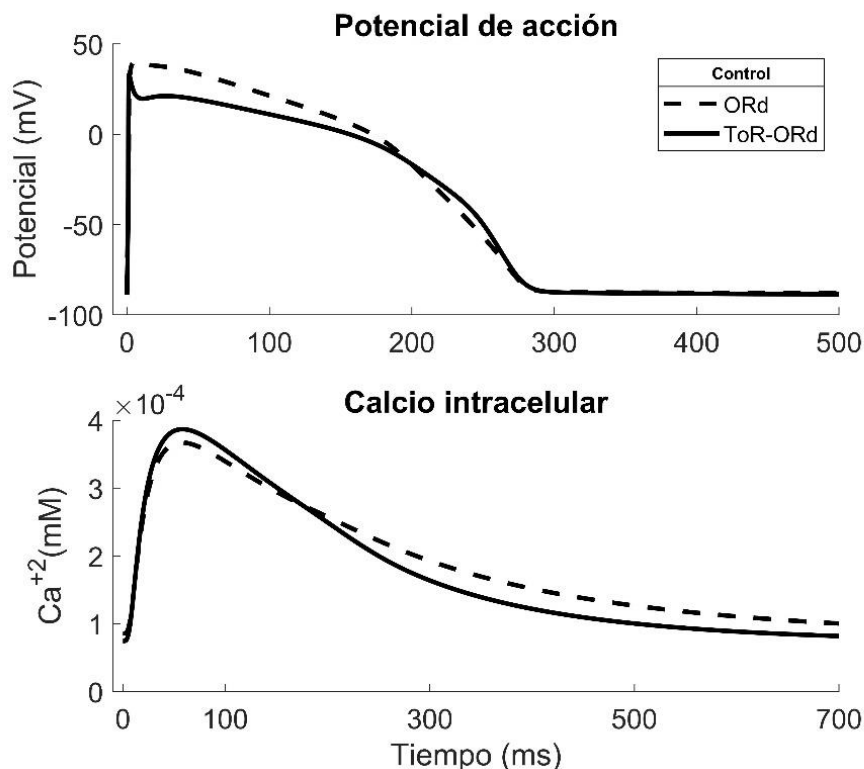


Figura 24. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de control para el modelo de ORd y ToR-ORd

A continuación, se presentan siete corrientes fundamentales que contribuyen en la formación del potencial de acción (Figura 25).

Todas las corrientes siguen una trayectoria semejante en ambos modelos, siendo similar su desarrollo a lo largo del eje x, aunque se observan disparidades destacables en el máximo alcanzado por la corriente I_{to} . El aumento considerable de esta corriente en el modelo de ToR-ORd implica un incremento de corriente saliente de potasio durante los primeros milisegundos tras la despolarización, lo cuál explica el mejor ajuste morfológico de la fase anterior a la meseta en este modelo, donde ya se puede apreciar distinciones entre la fase 1 o repolarización inicial y la fase 2 o meseta.

Otra corriente cuya respuesta presenta diferencias señalables es la I_{CaL} , siendo que en el modelo ToR-ORd representa el flujo de iones que atraviesan los canales de calcio tipo L, siendo estos, no solo iones Ca^{+2} , sino también Na^{+} y K^{+} .

En último lugar, la reformulación de la corriente rápida de rectificación tardía I_{Kr} presenta una mejor concordancia con los estudios experimentales según Lu et al., 2001.

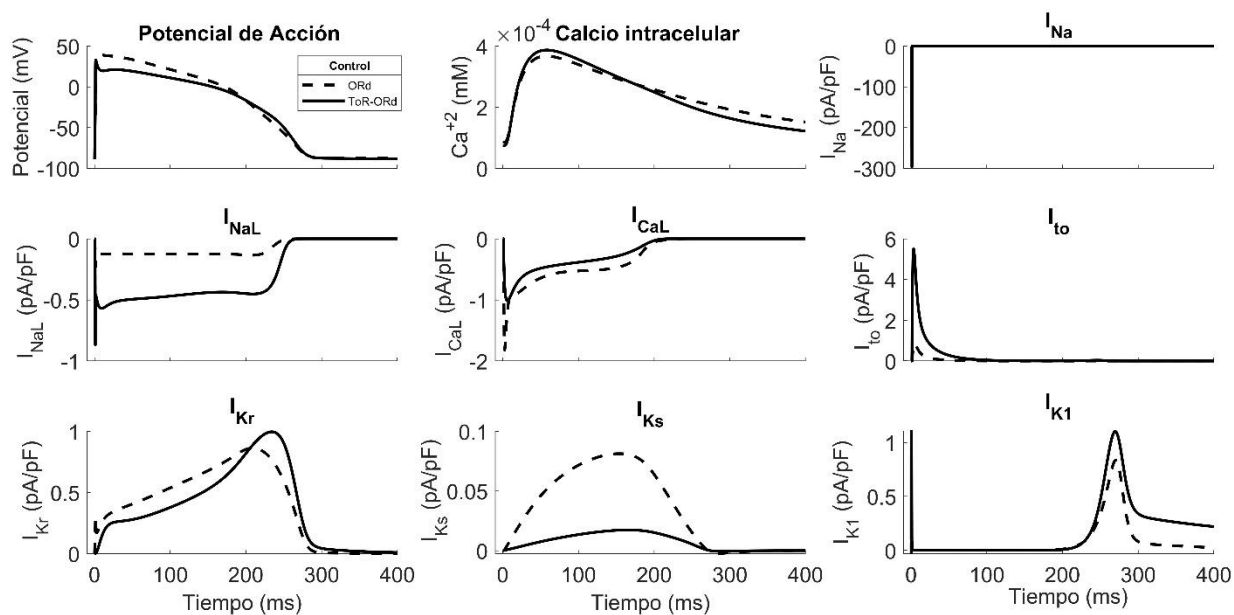


Figura 25. Corrientes iónicas principales que contribuyen a la formación del potencial de acción, para el modelo de ORd y ToR-ORd.

Continuando con la comparativa de los dos modelos, se presentan los valores de los biomarcadores fundamentales relacionados con el potencial de acción (Tabla 3) y el transitorio de calcio (Tabla 4):

BIOMARCADORES							
CONTROL							
Modelo	Triang.		V_{pp}	$\frac{dv}{dt}_{max}$	V_r	V_p	
	APD ₉₀	APD ₅₀					
	(ms)	(ms)	(ms)	(mV)	(mV/ms)	(mV)	(mV)
ORd	267,89	208,02	59,87	128,06	258,66	-88,00	40,06
ToR-ORd	271,35	219,80	51,55	121,90	349,16	-88,96	32,94

Tabla 5. Biomarcadores relacionados con el potencial de acción de los modelos ORd y ToR-ORd.

El valor de los biomarcadores del potencial enfatizan su similitud en cuanto a morfología y duración. Ambos comienzan con un potencial de membrana en reposo (V_r) prácticamente idéntico, el cuál evoluciona hasta alcanzar una repolarización al 90% al transcurrir alrededor de 270 ms. En cuanto a las diferencias más remarcables las podemos encontrar en aquellos parámetros que miden magnitudes cercanas a la meseta, así como el valor máximo alcanzado (V_p), que en ToR-ORd es unos 8 mV inferior que en la respuesta de ORd, lo que reafirma su sobreestimación del potencial en la fase 2.

Es destacable la disparidad de la pendiente máxima alcanzada en la despolarización de ambos modelos, ya que es uno de los indicadores con mayor variación, la cual no se consigue apreciar en la Figura 19. Por tanto, conociendo que ambos potenciales de acción parten del mismo voltaje en reposo, y sabiendo que el valor de pico alcanzado con Tomek es menor junto los valores de la dV/dt_{max} son superiores, se concluye que la despolarización del modelo Tor-ORd tiene una mayor velocidad.

BIOMARCADORES					
CONTROL					
Modelo	CTD₉₀ (ms)	CTD₅₀ (ms)	Triang. CTD₉₀-CTD₅₀ (ms)	Ca_i sistólico (nM)	Ca_i diastólico (nM)
ORd	565,08	232,95	332,12	367,27	85,73
ToR-ORd	457,09	207,16	249,93	386,96	74,59

Tabla 6. Biomarcadores relacionados con el transitorio de calcio de los modelos ORd y ToR-ORd.

De la misma manera la duración del transitorio de calcio (CTD) apunta a una recuperación más rápida que en el modelo de ORd. Asimismo, se obtiene que las concentraciones de calcio sistólico aumenta en 20 nM en ToR-ORd.

5.2. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN LOS MODELOS BÁSICOS

Tras tratar los resultados de los modelos en condiciones de control, se procede a estudiar la incidencia de los efectos farmacológicos en los modelos de cardiomiocitos sanos a partir de 28 fármacos propuestos por la iniciativa CiPA (Tabla 5), de los cuales existen en la actualidad datos farmacológicos, obtenidos de ensayos experimentales, fundamentales en las simulaciones realizadas.

Para la simulación de los fármacos se utilizará el modelo modificado de O'Hara-Rudy (ORdmJ) debido a que, las pequeñas modificaciones que se añadieron al modelo ORd original, permiten obtener una respuesta mejorada tras la aplicación de estos compuestos. Por esta razón, de aquí en adelante se hará uso de este modelo. En cuanto al modelo ToR-ORd, se continuará haciendo uso del modelo original.

Fármacos de entrenamiento y calibración		
Riesgo alto	Riesgo intermedio	Riesgo bajo
Azimilide	Astemizole	Diltiazem
Bepriidil	Chlorpromazine	Loratadine
Dofetilide	Cisapride	Metoprolol
Ibutilide	Clarithromycin	Mexiletine
Quinidine	Clozapine	Nifedipine
Vandetanib	Domperidone	Nitrendipine
Disopyramide	Droperidol	Ranolazine
Sotalol	Terfenadine	Tamoxifen
	Pimozide	Verapamil
	Risperidone	
	Ondansetron	

Tabla 7. Fármacos propuestos por la iniciativa CIPA (Colatsky et al. 2016).

De los 28 fármacos utilizados en este estudio, se decidió realizar simulaciones de 6 de ellos a concentraciones de $1 \times \text{EFTPC}$ para extraer deducciones concluyentes. Se eligieron 2 fármacos de cada categoría: Ibutilide y Quinidine (riesgo alto), Domperidone y Droperidol (riesgo intermedio) y Nifedipine y Mexiletine (riesgo bajo).

Las curvas que se corresponden con las simulaciones en condiciones de control se representan con el color negro, mientras que las curvas de color rojo representan simulaciones bajo los efectos de un fármaco.

En primer lugar, se presentan las simulaciones del potencial de acción y transitorio de calcio de los fármacos con mayor riesgo arritmogénico (Figuras 26 y 27). Éstas se caracterizan por producir un mayor cambio morfológico y una superior prolongación de la duración del potencial de acción (APD). Ibutilide es considerado el fármaco más peligroso pues obtuvo un alargamiento del APD_{90} en valores absolutos de 622,55 ms en ORdMj y de 548,44 ms en ToR-ORd. Quinidine también muestra un aumento considerable de su APD. En ambos fármacos de alto riesgo el modelo ORd reproduce una prolongación del APD superior al modelo ToR-ORd, siendo que en condiciones de control no existían diferencias significativas entre los modelos.

Seguidamente se muestran las simulaciones correspondientes a los fármacos con riesgo intermedio (Figuras 28 y 29). Es propio de los fármacos de esta categoría elevar el APD, pero de forma leve; siendo el APD_{90} de los componentes farmacológicos elegidos de 5 a 30 ms superior al APD_{90} en control, aproximadamente.

Finalmente, se observa que los fármacos de bajo riesgo (Figuras 30 y 31) no producen efecto, es decir, su respuesta es prácticamente idéntica, e incluso se reduce la duración del potencial.

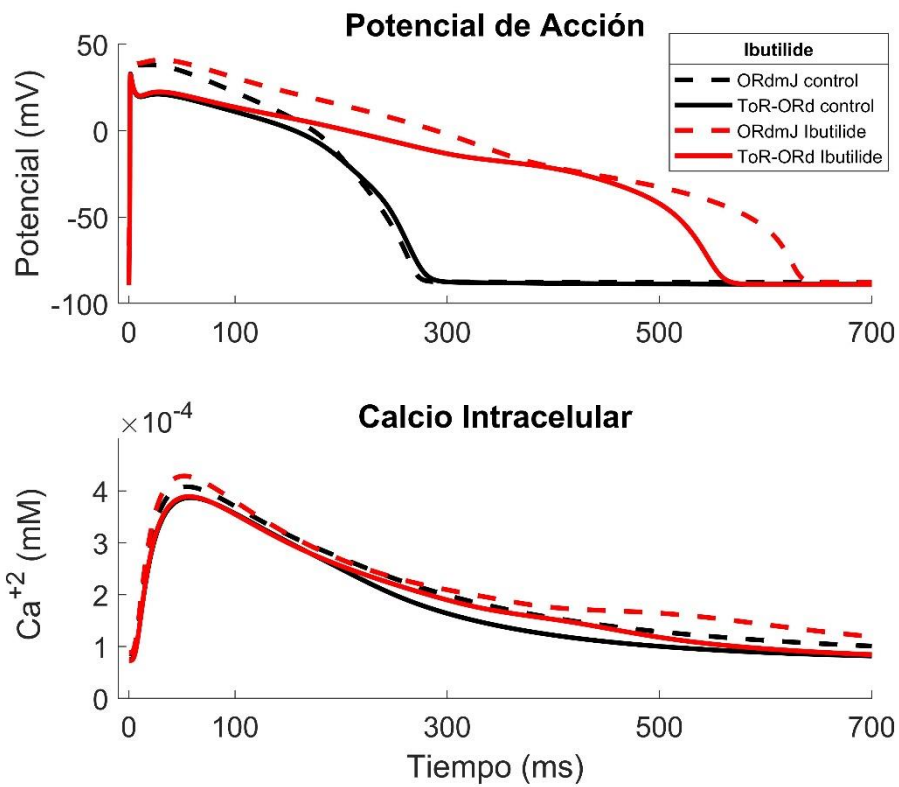


Figura 26. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

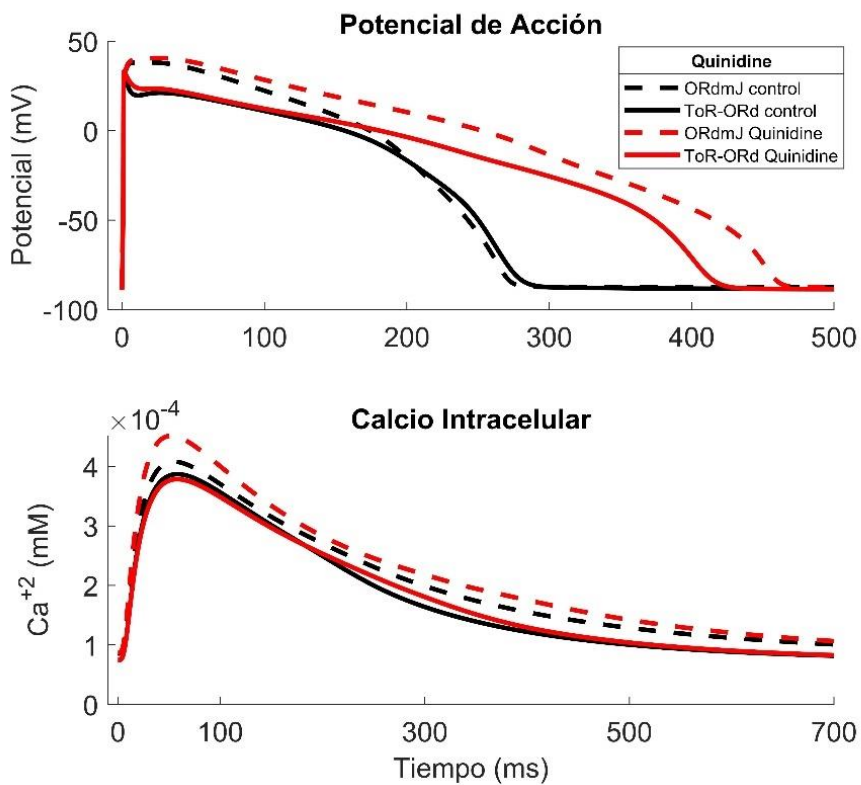


Figura 27. Efecto de Quinidine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

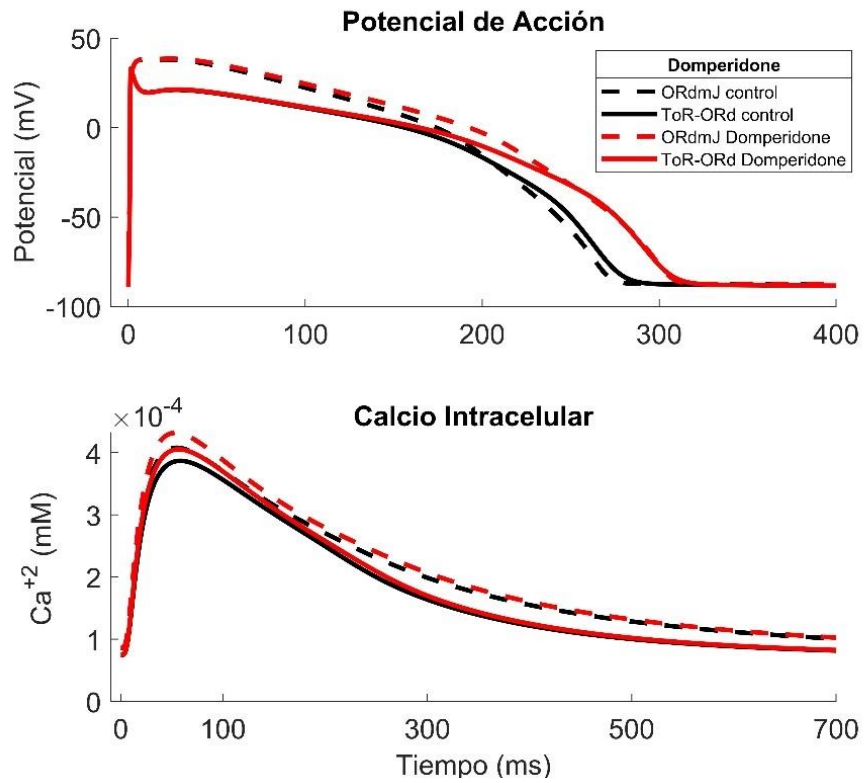


Figura 28. Efecto de Domperidone en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

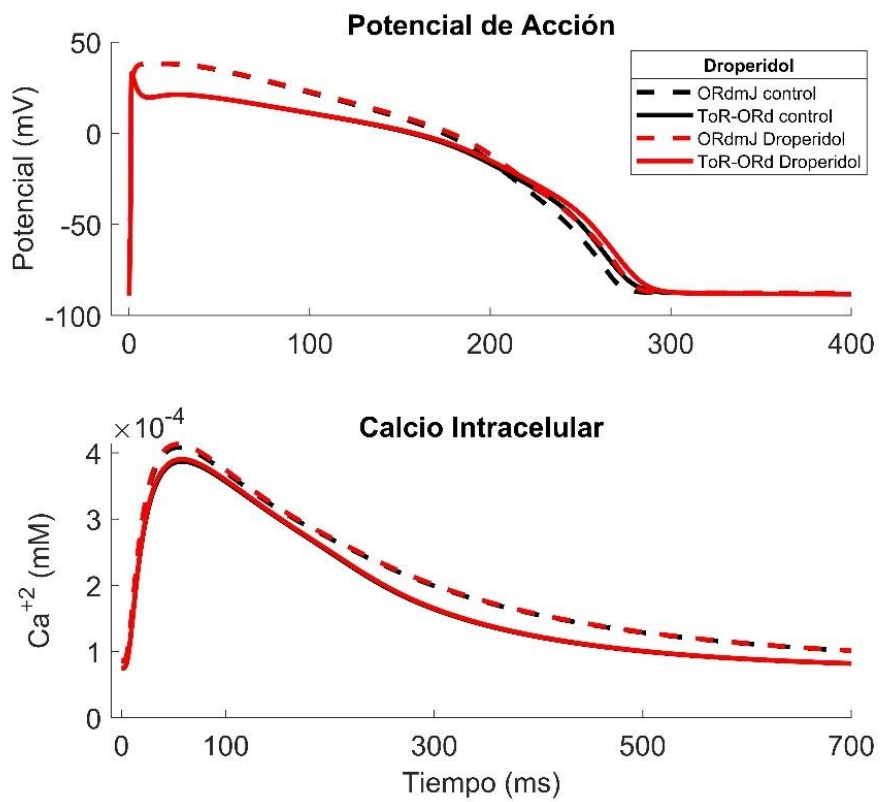


Figura 29. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

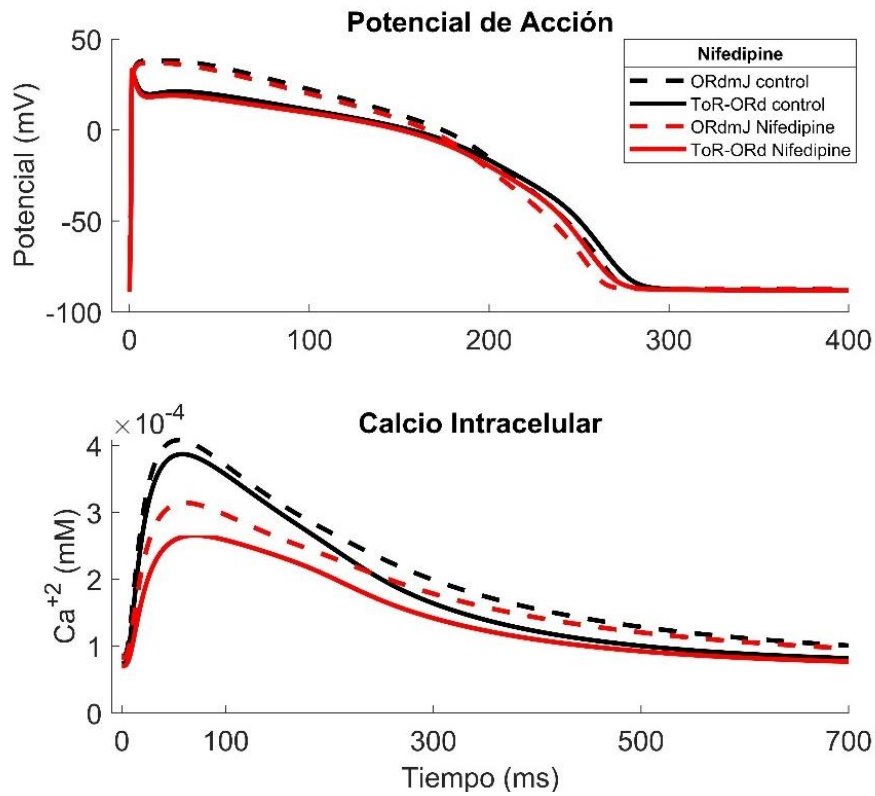


Figura 30. Efecto de Nifedipine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

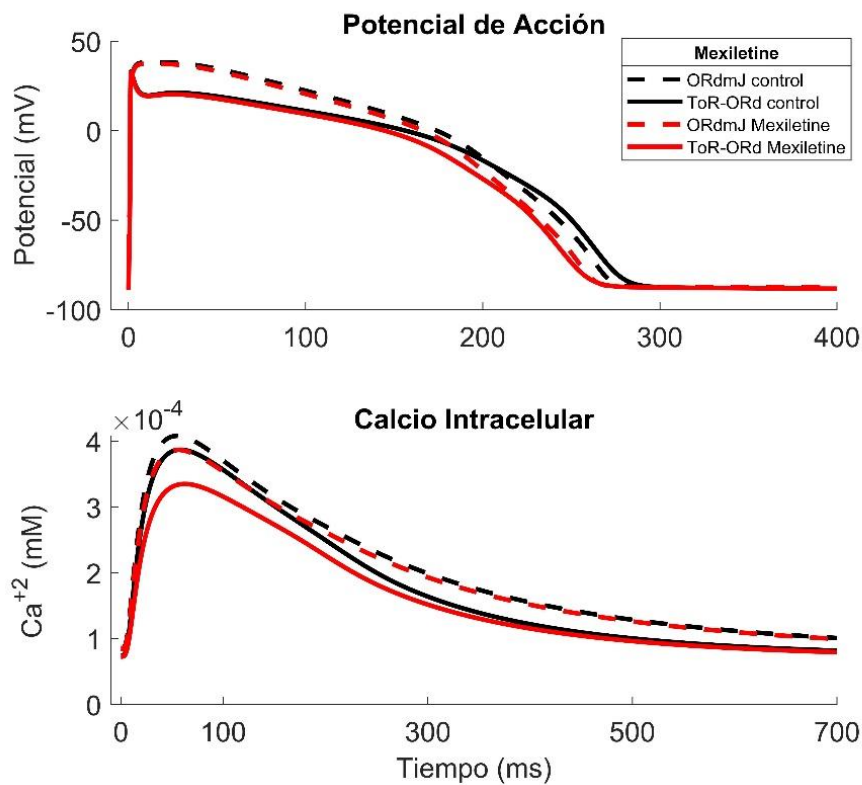


Figura 31. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

Junto con las simulaciones, han sido extraídos biomarcadores significativos tras la aplicación de cada uno de los 28 fármacos para los modelos de ORdmJ y ToR-ORd. Los valores representados en las tablas 8 y 9 son los valores relativos, es decir, el porcentaje de aumento o disminución del biomarcador afectado por el fármaco respecto a su valor en condiciones de control.

Estos parámetros sirven de indicadores para discriminar componentes farmacológicos potencialmente torsadogénicos. Dado que la *Torsade de Pointes* (TdP) es una arritmia que modifica la forma y alarga la duración del AP, la triangulación APD_{90-50} es considerada un biomarcador clave. Una triangulación APD_{90-50} elevada denota una repolarización más alterada producida por un bloqueo en los canales hERG y la consecuente reducción de la corriente rápida de rectificación tardía (I_{Kr}). Podemos destacar que la triangulación en el modelo ORdmJ tras la administración de Ibutilide es un 294% superior y en el modelo de ToR-ORd un 101,8%, lo que corrobora su clasificación como fármaco de alto riesgo. Por otro lado, los efectos de mexiletine reducen ligeramente su valor un 7,2 % en ToR-ORd y un 3,5% en ORdmJ.

Las diferencias más significativas entre los efectos farmacológicos sobre el modelo de ORdmJ y ToR-ORd vienen destacadas en negrita en la Tabla 8 y Tabla 9, y se corresponden con los fármacos que presentan un mayor riesgo proarrítmico: Ibutilide y Quinidine. Aparentemente, los compuestos farmacológicos más peligrosos, que son aquellos que prolongan una mayor prolongación en la duración del PA, también son aquellos que acentúan las diferencias entre ambos modelos. Principalmente se refleja en este alargamiento del APD, el cual se encuentra más pronunciado en el modelo de ORdmJ con un aumento del 136% del APD_{90} con Ibutilide y del 70,9% tras la administración de Quinidine, mientras que en ToR-ORd se incrementa un 102,1% y 49,3% con cada fármaco respectivamente. Estas discrepancias en la duración del potencial de cada modelo también se ven reflejadas en el biomarcador de la triangulación APD_{90-50} antes mencionado, convirtiéndolo en el valor más distinto entre ambos modelos.

Por otro lado, la mayor divergencia respecto al transitorio de calcio entre los modelos es la variación del calcio sistólico producida, también, por los fármacos con más riesgo. Quinidine provoca un aumento del 10,6% de la concentración de calcio intracelular máxima en ORdmJ, mientras que en ToR-ORd produce una reducción del 2,2%.

Finalmente, cabe destacar que fármacos de bajo riesgo reducen el calcio sistólico de forma más pronunciada en ToR-ORd, pues Nifedipine reduce un 31,4% su concentración frente a una reducción del 23% en ORdmJ. Esto también se observa en el efecto de Mexiletine, aunque con menos discordancia, con una disminución del 13,5% en ToR-ORd y de 5,2 % en ORdmJ.

Estudio comparativo del efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares sanas y patológicas mediante modelado y simulación

BIOMARCADORES RELATIVOS %						
ORdmJ						
FÁRMACOS	Triang.					
	APD ₉₀	APD ₅₀	APD ₉₀ -APD ₅₀	CTD ₉₀	Ca _i sistólico	Ca _i diastólico
Vandetanib	29,9	27,3	40,4	-1,4	12,2	2,5
Sotalol	3,1	2,9	3,7	-0,3	1,4	0,3
Quinidine	70,9	57,3	126,2	3,7	10,6	2,4
Ibutilide	136,4	97,8	294,0	22,8	5,0	3,1
Dofetilide	1,6	1,4	2,4	0,2	-0,2	0,0
Disopyramide	7,3	6,7	9,7	0,0	1,4	0,5
Bepridil	12,2	11,4	15,5	-0,8	5,6	1,2
Azimilide	10,6	10,0	12,9	-0,8	5,1	1,1
Terfenadine	1,4	1,2	2,0	0,0	0,3	0,1
Risperidone	0,2	0,2	0,3	0,0	0,1	0,0
Pimozide	1,3	1,2	1,6	-0,1	0,6	0,1
Ondansetron	5,4	5,0	7,2	2,3	-6,9	-0,3
Droperidol	2,9	2,7	3,7	-0,2	1,2	0,3
Domperidone	13,1	12,2	16,9	-0,8	5,9	1,2
Clozapine	2,6	2,5	3,3	-0,2	1,2	0,3
Clarithromycin	0,5	0,5	0,6	0,0	0,2	0,1
Cisapride	2,2	2,0	3,2	0,0	0,3	0,1
Chlorpromazine	3,5	3,2	4,8	-0,3	1,5	0,3
Astemizole	0,8	0,8	1,0	-0,1	0,4	0,1
Verapamil	9,0	8,3	12,0	-0,1	2,1	0,7
Tamoxifen	0,7	0,7	0,9	-0,1	0,3	0,1
Ranolazine	8,4	7,4	12,4	-0,5	3,3	0,5
Nitrendipine	-0,2	-0,2	-0,2	0,2	-0,5	-0,1
Nifedipine	-3,2	-3,6	-1,7	7,2	-23,0	-3,1
Mexiletine	-3,5	-4,2	-0,6	1,1	-5,2	-1,2
Metoprolol	-0,9	-1,1	-0,3	0,3	-1,3	-0,3
Loratadine	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Diltiazem	0,5	0,4	0,9	0,1	-0,2	0,0

Tabla 8. Biomarcadores relativos correspondientes al efecto de 28 fármacos de CiPA en el modelo ORdmJ

BIOMARCADORES RELATIVOS %						
ToR-ORd						
FÁRMACOS	Triang.					
	APD ₉₀	APD ₅₀	APD ₉₀ -APD ₅₀	CTD ₉₀	Ca _i sistólico	Ca _i diastólico
Vandetanib	24,4	22,7	31,7	-0,2	10,4	1,6
Sotalol	2,4	2,2	3,2	-0,1	1,3	0,2
Quinidine	49,3	40,7	86,2	5,6	-2,2	0,2
Ibutilide	102,1	102,2	101,8	18,2	0,5	-2,3
Dofetilide	1,5	1,3	2,1	0,5	-0,7	0,2
Disopyramide	5,0	4,2	8,1	0,9	-1,4	-0,1
Bepriidil	9,7	8,9	13,0	-0,3	4,9	0,8
Azimilide	8,1	7,5	10,7	-0,3	4,3	0,7
Terfenadine	0,9	0,7	1,8	0,1	-0,2	0,0
Risperidone	0,2	0,2	0,2	0,0	0,1	0,0
Pimozide	1,0	0,9	1,4	0,0	0,5	0,1
Ondansetron	4,0	3,7	5,3	4,5	-12,5	-1,7
Droperidol	2,2	2,0	3,1	0,0	0,9	0,2
Domperidone	10,2	9,3	14,2	-0,3	4,8	0,8
Clozapine	2,0	1,9	2,8	-0,1	1,0	0,2
Clarithromycin	0,4	0,4	0,5	0,0	0,2	0,0
Cisapride	1,9	1,7	2,9	0,2	0,0	0,2
Chlorpromazine	2,8	2,4	4,4	-0,1	1,2	0,2
Astemizole	0,6	0,6	0,8	0,0	0,4	0,1
Verapamil	6,7	5,9	10,2	0,8	-0,3	0,1
Tamoxifen	0,6	0,5	0,8	0,0	0,3	0,1
Ranolazine	4,2	2,8	10,3	0,5	-1,2	-0,3
Nitrendipine	-0,3	-0,3	-0,1	0,2	-0,7	-0,1
Nifedipine	-3,2	-3,1	-3,5	11,0	-31,4	-5,8
Mexiletine	-7,2	-8,5	-1,4	2,9	-13,5	-2,6
Metropolol	-1,8	-2,1	-0,5	0,7	-3,7	-0,7
Loratadine	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Diltiazem	0,2	0,0	0,8	0,2	-0,8	-0,1

Tabla 9. Biomarcadores relativos correspondientes al efecto de 28 fármacos de CiPA en el modelo ToR-ORd.

5.3. INSUFICIENCIA CARDÍACA /HEART FAILURE

En el presente apartado se analiza la respuesta de los modelos HFORdmJ y HFToR-ORd, modelos que simulan la electrofisiología en los cardiomiocitos ventriculares con insuficiencia cardíaca a partir de la adición de las modificaciones sugeridas por Llopis Lorente, 2018; basadas en los cambios realizados por Gomez et al., 2014.

Al igual que en las realizadas en condiciones de control, estas simulaciones se realizaron a una frecuencia de estimulación de 1 Hz o tiempo entre pulsos de 1000 ms (*cycle length* CL) y con una simulación de 500 latidos (en inglés *beats*). Los resultados en condiciones de insuficiencia cardíaca vienen representados por líneas de color rojo.

A escala celular, la insuficiencia cardíaca se manifiesta con un aumento en la duración del potencial de acción (Figura 32) y variaciones en las conductancias de los canales que redistribuyen las concentraciones intracelulares de sodio y calcio, principalmente. Es lógico observar alteraciones en el transitorio de calcio dado que este ion es directamente responsable con la contracción y, esta patología suele deberse a diversas anomalías relacionadas con la disfunción contráctil. Fundamentalmente, se produce un decrecimiento del calcio sistólico, un incremento del calcio diastólico y una recuperación más lenta.

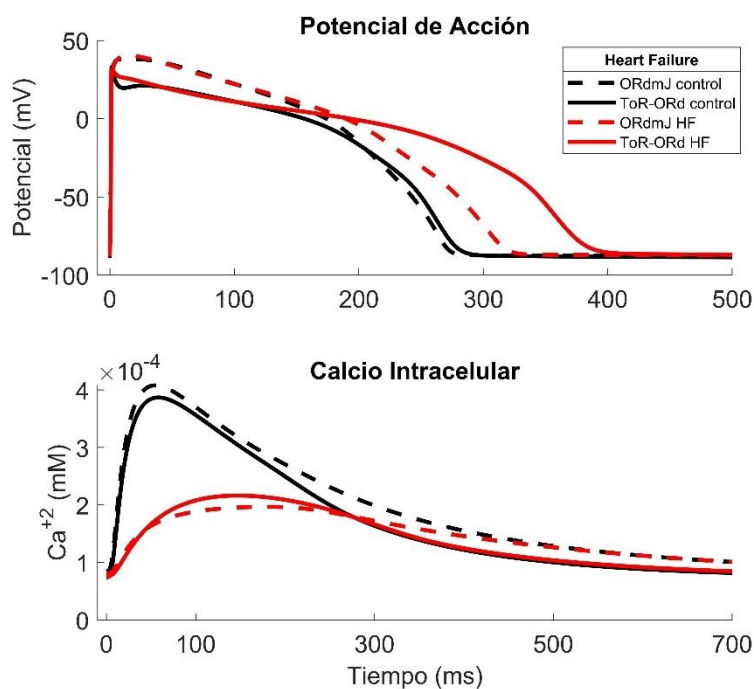


Figura 32. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd.

En la Figura 33 se representan 9 de las corrientes iónicas más afectadas por esta patología, entre las cuales destacamos la corriente de calcio a través de la bomba SERCA (J_{up}), cuya amplitud se ve gravemente disminuida. Así mismo, es importante señalar que algunas corrientes responsables de la

repolarización sufren un retraso, así como la I_{Kr} y la I_{K1} , que contribuyen al alargamiento de la duración del AP.

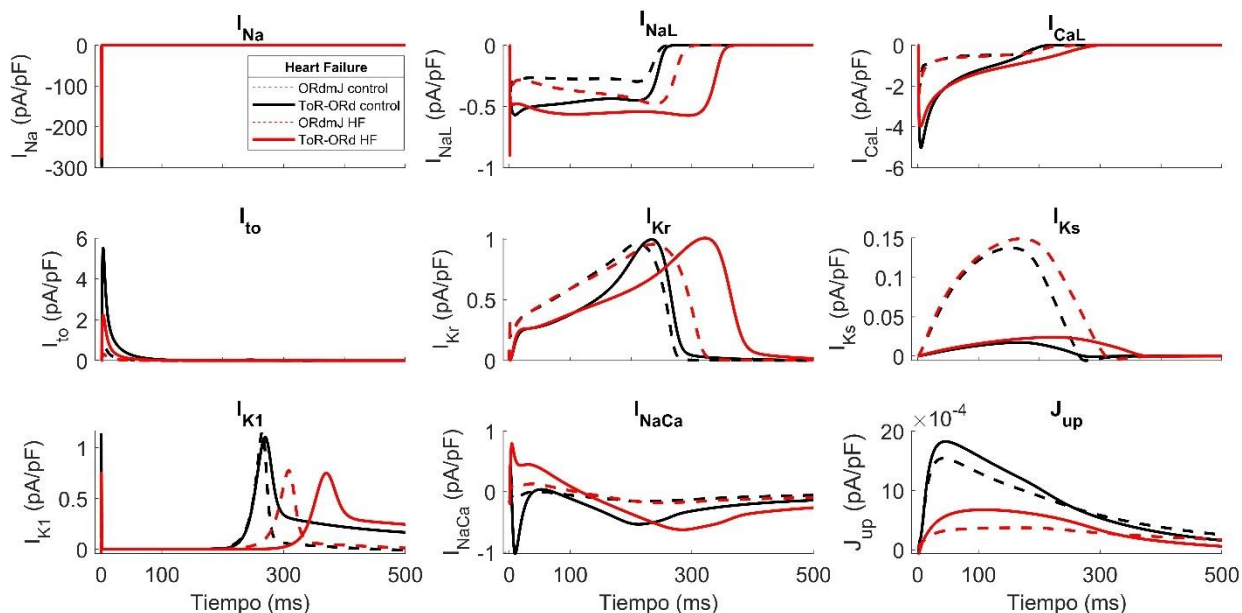


Figura 33. Corrientes iónicas afectadas por insuficiencia cardíaca, para el modelo de ORdmJ y ToR-ORd

A continuación, se presenta la Tabla 8, donde vienen recogidos los biomarcadores relativos fundamentales correspondientes a los modelos HFORdmJ y HFToR-ORd. Es posible realizar una comparativa con los datos experimentales que proporciona Walmsley et al. 2013, aunque ésta es de forma aproximada, ya que los datos se tomaron a distintas frecuencias y en distintas condiciones. A pesar de ello, siguen siendo una referencia del comportamiento electrofisiológico de las células con insuficiencia cardíaca.

En cuanto a la dinámica del calcio, tanto HFORdmJ como HFToR-ORd coinciden en disminución pronunciada de concentración de calcio sistólico, siendo este valor máximo de Ca^{+2} intracelular reducido alrededor de un 44,4% (Walmsley et al. 2013). Asimismo, la duración del transitorio de calcio si se observa su recuperación al 80% (CTD_{80}) también presenta un aumento que oscila en torno al 51,7% (Walmsley et al. 2013) en comparación a una célula sana, siendo cierto que el transcurso de la dinámica del calcio en HFToR-ORd sea más acelerado que en HFORdmJ.

BIOMARCADORES								
HEART FAILURE								
RELATIVOS %								
Modelo	APD ₈₀ (ms)	APD ₃₀ (ms)	Triang. APD ₈₀ -APD ₃₀ (ms)	CTD ₈₀ (ms)	CTD ₃₀ (ms)	Triang. CTD ₈₀ -CTD ₃₀ (ms)	Ca _i sistólico (mM)	Ca _i diastólico (mM)
HFORdmJ	15,45	5,91	35,60	60,90	123,16	26,71	-51,78	-5,17
HFToR-ORd	37,38	31,88	45,87	39,62	82,02	8,12	-44,08	1,63

Tabla 10. Biomarcadores relativos en condiciones de insuficiencia cardíaca de los modelos HFORdmJ y HFToR-ORd.

Respecto a los biomarcadores relacionados con el potencial de acción, el modelo HFORdmJ sufre un alargamiento de su APD₈₀ muy similar a los datos presentados por Walmsley et al. 2013, en torno a una prolongación de 19,7% (Walmsley et al. 2013). Sin embargo, teniendo en cuenta las diferencias ya existentes entre ORd y ToR-ORd en condiciones de control, podemos considerar que existe una discrepancia en la duración del potencial (APD₈₀) de HFToR-ORd, pues sufre un alargamiento muy pronunciado. Su APD₈₀ se ve aumentado el doble que lo establecido en los resultados de Walmsley.

Dado que el APD₈₀ se ve altamente incrementado, se planteó que la modificación del factor de escala en la corriente I_{NaL} no fuera el adecuado para representar la insuficiencia cardíaca en el modelo de ToR-ORd. Por esta razón, se llevaron a cabo los siguientes análisis y comprobaciones:

En primer lugar, se realizaron simulaciones y se extrajeron biomarcadores para el modelo HFToR-ORd con un factor de escala del 120% y del 110% para los canales de I_{NaL}, en lugar del 130% empleado originalmente. No se obtuvieron resultados concluyentes, ya que la duración del potencial de acción continuaba altamente prolongada.

En segundo lugar, se efectuó un análisis de contribución de las corrientes para comprender la prolongación del potencial de acción.

Finalmente, se realizó una revisión bibliográfica que permitiese aportar información de los rangos de los factores de escala validados para simular la insuficiencia cardíaca en distintos modelos.

5.3.1. Análisis de sensibilidad en insuficiencia cardíaca

Considerando que la disminución del factor de escala que modifica el valor de la corriente I_{NaL} en condiciones de insuficiencia cardíaca no mejoró los valores de la duración del potencial, se pretende determinar las corrientes con mayor influencia en el alargamiento del APD mediante un análisis de contribución de las corrientes y comprobar si I_{NaL} es realmente la causa.

Se obtuvieron simulaciones del potencial de acción y el transitorio de calcio en condiciones de control, graficado en color negro; en condiciones de insuficiencia cardíaca, graficado en color rojo; y una simulación graficada en azul, que representa la insuficiencia cardíaca mediante las modificaciones necesarias en todas las corrientes exceptuando una, que se encuentra en condiciones de control.

Se hizo este análisis para las corrientes I_{Na} , I_{NaL} , I_{CaL} , I_{NaCa} , I_{Na} , I_{NaK} , I_{to} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{K1} y J_{up} . Sin embargo, las gráficas que se muestran a continuación son aquellas cuya corriente en control presenta más efecto.

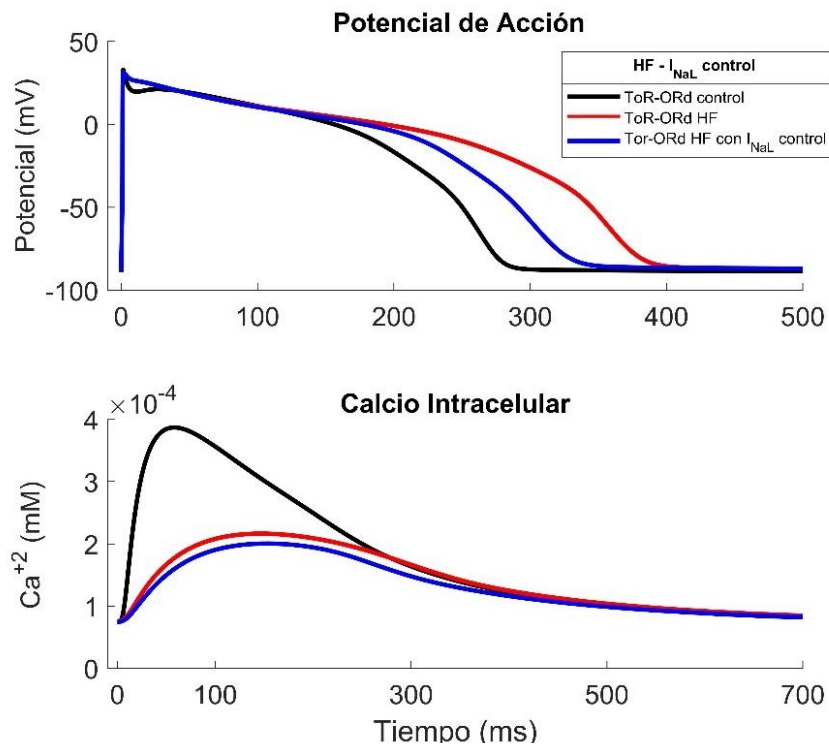


Figura 34. Análisis de la contribución de la corriente I_{NaL} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd.

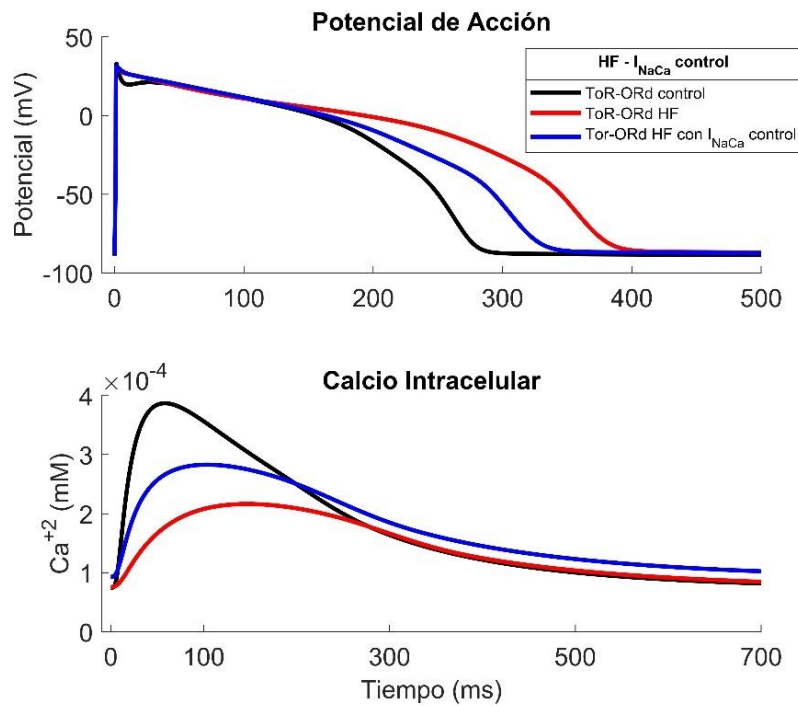


Figura 35. Análisis de la contribución de la corriente I_{NaCa} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd.

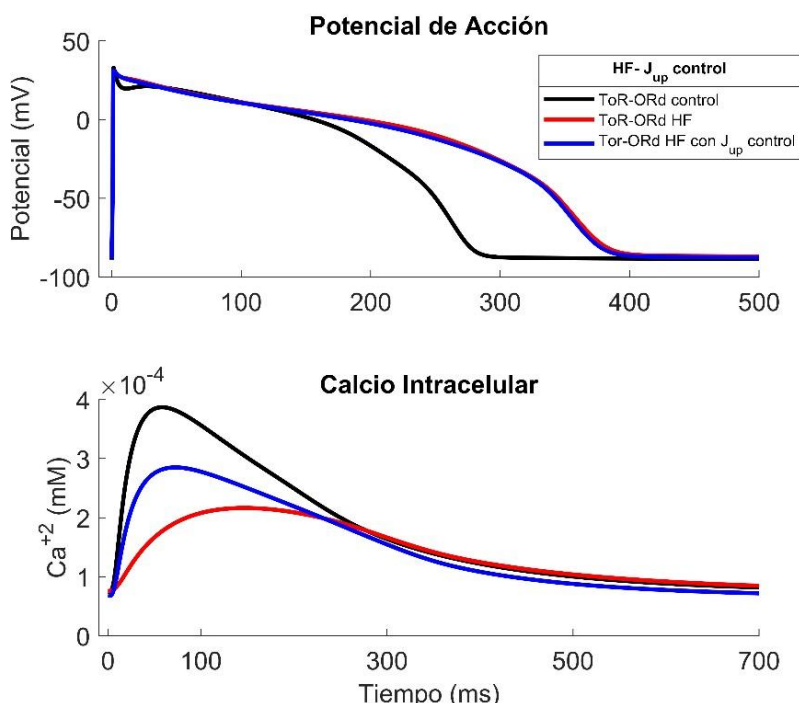


Figura 36. Análisis de la contribución de la corriente J_{up} en el potencial de acción y en el transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en el modelo HFToR-ORd

Del análisis de sensibilidad se puede concluir que la contribución de la corriente I_{NaL} (Figura 34), I_{NaCa} (Figura 35) y J_{up} (Figura 36) son las más significativas. La corriente lenta de sodio y la corriente de intercambio Na^+/Ca^{+2} son las mayores participantes en la prolongación del potencial de acción en células con insuficiencia cardíaca, visto que al eliminar el factor de escala que modifica la conductancia de sus canales en el modelo HFToR-ORd, el aumento del potencial se reduce a la mitad de forma aproximada.

Por otro lado, la corriente Ca^{+2} a través de la bomba SERCA (J_{up}) es la que más efecto tiene sobre la dinámica del calcio, ya que los valores del calcio sistólico y su recuperación aumentan, y la concentración de calcio diastólico disminuye, cuando se omite la remodelación de SERCA en insuficiencia cardíaca, lo cual se acerca a al comportamiento electrofisiológico de una célula sana. También la I_{NaCa} tiene un papel importante en el valor de calcio sistólico celular, pues cuando ésta se ve afectada por la patología, la concentración Ca^{+2} se ve disminuida.

5.3.2. Remodelado en insuficiencia cardíaca

Tras el análisis de sensibilidad, se ha realizado una revisión bibliográfica de los factores de escala que intervienen en el remodelado de cada corriente entre numerosos artículos que publicaron modelos de insuficiencia cardíaca en células ventriculares que han sido aceptados. De esta manera se resumió en la Tabla 11 el abanico de valores de estos factores multiplicativos validados, incluidos en un intervalo limitado por los valores máximo y mínimo de cada factor utilizados de entre todos los artículos señalados.

La búsqueda se centrará únicamente en modelos humanos, ya que su respuesta electrofisiológica es la más similar a la buscada por el modelo HFToR-ORd. Esta recopilación permite justificar los porcentajes que se utilizan para modelar la insuficiencia cardíaca en el modelo ToR-ORd, incluido el factor multiplicativo de la corriente I_{NaL} , debido a que todos ellos se encuentran comprendidos o próximos en los rangos de los valores recogidos.

Parámetros del modelo	HFToR-ORd	Rangos	Referencias
$CaMK_a$	150%	150%	(Gomez et al. 2014), (Trenor et al. 2012)
t_{hL}	180%	200%	(Gomez et al. 2014)
I_{NaL}	130%	[25%, 1200%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Moreno et al. 2013), (Trenor et al. 2012), (Narayan et al. 2008), (Zhang et al. 2008)
I_{to}	40%	[36%, 130%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Lu, Xia, and Zhu 2012), (Moreno et al. 2013), (Trenor et al. 2012), (Narayan et al. 2008), (Shannon, Wang, and Bers 2005), (Walmsley et al. 2013), (Zhang et al. 2008), (Zlochiver 2010)
I_{K1}	68%	[32%, 80%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Lu, Xia, and Zhu 2012), (Moreno et al. 2011), (Moreno et al. 2013), (Priebe and Beuckelmann 1998), (Shannon, Wang, and Bers 2005), (Trenor et al. 2012), (Zhang et al. 2008), (Zlochiver 2010)
I_{NaCa}	175%	[70%, 200%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Lu, Xia, and Zhu 2012), (Moreno et al. 2011), (Priebe and Beuckelmann 1998), (Shannon, Wang, and Bers 2005), (Trenor et al. 2012), (Walmsley et al. 2013), (Zhang et al. 2008), (Zlochiver 2010)
I_{NaK}	70%	[10%, 90%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Lu, Xia, and Zhu 2012), (Moreno et al. 2013), (Trenor et al. 2012), (Zhang et al. 2008)
J_{rel} ($j_{srMidpoint}$)	80%	150%	(Kubo et al. 2017)
J_{leak}	130%	[70%, 500%]	(Gomez et al. 2014), (Moreno et al. 2011), (Moreno et al. 2013), (Shannon, Wang, and Bers 2005), (Trenor et al. 2012)
J_{up}	50%	[30%, 200%]	(Gomez et al. 2014), (Kubo et al. 2017), (Lu, Xia, and Zhu 2012), (Moreno et al. 2011), (Narayan et al. 2008), (Shannon, Wang, and Bers 2005), (Trenor et al. 2012), (Walmsley et al. 2013)

Tabla 11. Factores de escala empleados en el modelo de insuficiencia cardíaca HFToR-ORd vs rangos de los factores multiplicativos obtenidos mediante la revisión bibliográfica de modelos de HF publicados aceptados.

5.4. EFECTO FARMACOLÓGICO EN POBLACIÓN DE MODELOS

Los cardiomiocitos sanos pertenecientes a una única especie y próximos en localización presentan características análogas en su comportamiento electrofisiológico, en otras palabras, el potencial de acción y el transitorio de calcio. Pese a todo, se producen variaciones relevantes en cuanto a la forma y transcurso de estos procesos entre individuos, conocida como variabilidad de una población, lo cual justifica una respuesta variable para cada cardiomiocito o persona individual.

El origen a nivel celular de esta variabilidad no está totalmente determinado. Mediante la construcción y calibración de poblaciones de modelos se pretende considerar todas las respuestas fisiológicas posibles que se pueden dar tras la administración de fármacos en poblaciones celulares sanas y afectadas por insuficiencia cardíaca, con el fin de analizar y realizar una predicción lo más realista posible de la peligrosidad de estos compuestos.

5.4.1. Población de modelos calibrada

Se generaron dos poblaciones de 1.000 modelos de cardiomiocitos ventriculares mediante ORdmJ y ToR-ORD mediante la elaboración de factores de escala aleatorios que modificarán las conductancias para representar la variabilidad existente. Cada simulación se ejecutó a frecuencias de 1 Hz y tras realizar 500 latidos. Tras la calibración, la población de modelos de ORdmJ disminuyó a 879 modelos válidos (Figura 37), mientras que la de ToR-ORD se restringió a 810 (Figura 38).

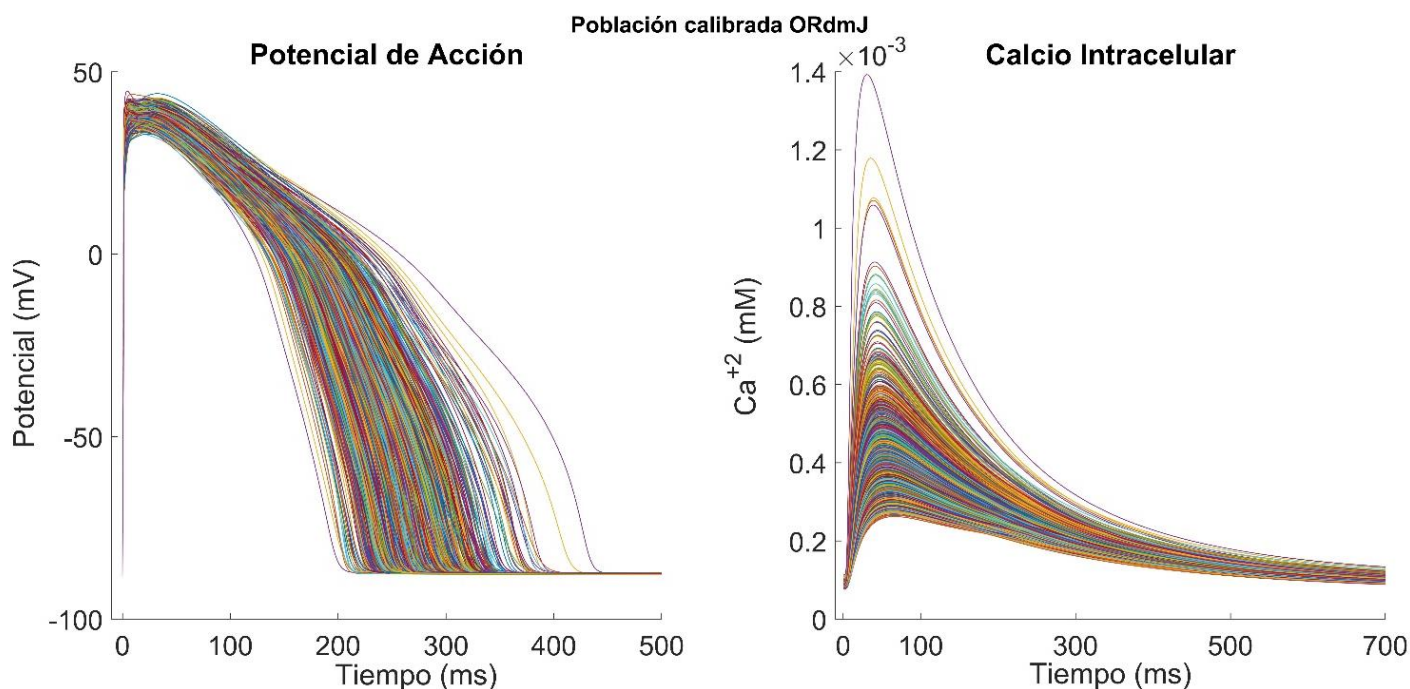


Figura 37. Potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos calibrada ORdmJ.

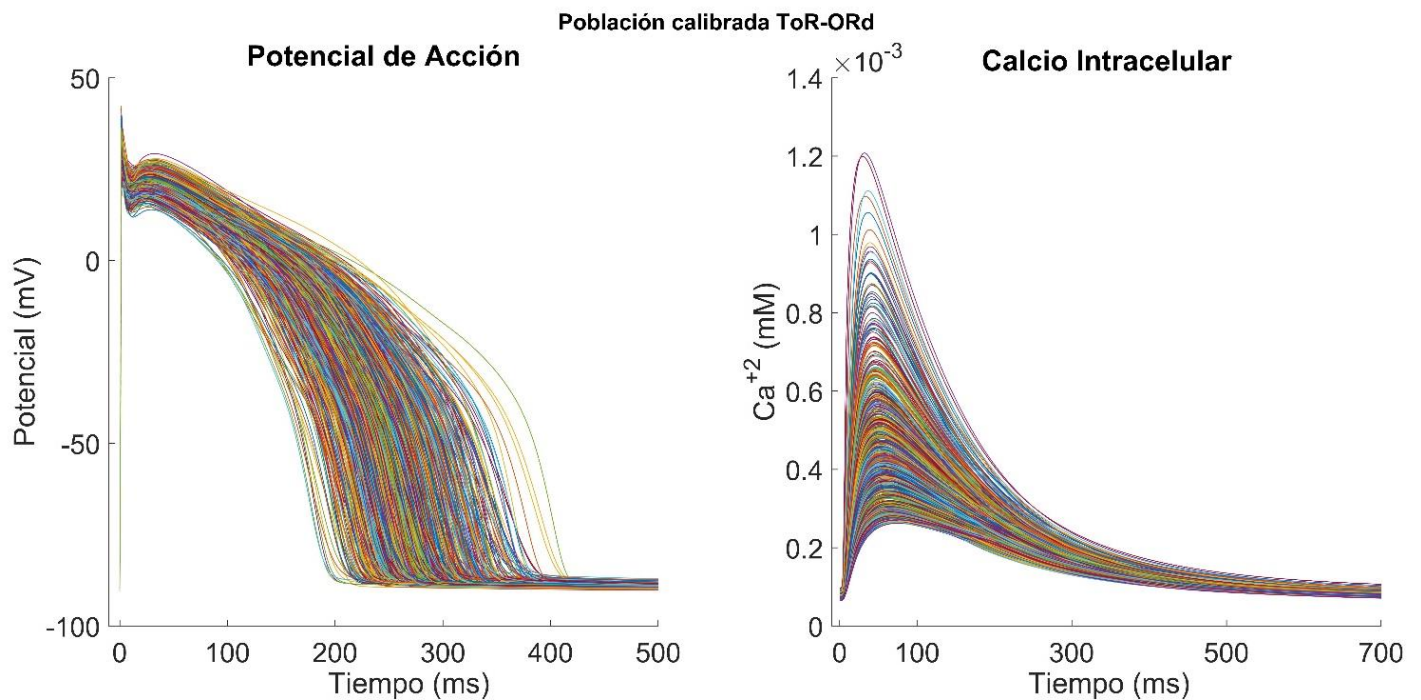


Figura 38. Potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos calibrada ToR-ORd.

Se puede observar claramente como en función del modelo la morfología del potencial de acción presenta una repolarización inicial o espiga más ajustada, siendo el caso de la población de modelos en ToR-ORd, mostrada en la Figura 38, como ya se vio en las simulaciones unicelulares en control. La variabilidad se ve representada fundamentalmente durante la fase de repolarización, que en ambas poblaciones se presenta como una variación de la duración entre 200 y 440 ms aproximadamente.

En cuanto al transitorio de calcio, las variaciones significativas se encuentran en la concentración de calcio sistólico alcanzada, que se mueven en un rango de $0,275 \cdot 10^{-3}$ a $1,2 \cdot 10^{-3}$ mM. La variabilidad poblacional de ToR-ORd muestra una tendencia a incrementar el máximo de Ca^{+2} alcanzado teniendo en cuenta que el valor obtenido en la respuesta de un cardiomiocito individual en control es de $0,387 \cdot 10^{-3}$ mM. De igual manera ocurre en la dinámica del calcio correspondiente a la población de ORdmJ, que además presenta mayores valores alcanzados (de hasta $1,4 \cdot 10^{-3}$ mM) y alejados de la media de la población.

5.4. 2. Efecto farmacológico en población con modelos base

Todas las variaciones entre modelos de una misma población reafirman la idea de que la variabilidad origina alteraciones significativas en función del individuo, que pueden influir en los efectos que presentan determinados fármacos o ciertas patologías en su comportamiento electrofisiológico.

Se ha simulado la respuesta de cada modelo de las poblaciones calibradas mencionadas tras la aplicación de tres fármacos seleccionados de entre los 28 compuestos de la iniciativa CIPA empleados en este TFG: Ibutilide, clasificado como el compuesto con mayor riesgo torsadogénico; Droperidol, un fármaco de riesgo intermedio; y mexiletine, el fármaco menos peligroso. Se simulará al igual que se simularon los efectos farmacológicos en modelos básicos: mediante bloqueo de poro simple, aplicando la ecuación de Hill en las 7 corrientes que más contribuyen al potencial: I_{Na} , I_{NaL} , I_{to} , I_{CaL} , I_{Kr} , I_{Ks} e I_{K1} .

A continuación, se presentan los resultados de la población afectada por el fármaco en rojo junto con la población calibrada en condiciones de control en azul para realizar una mejor comparativa del cambio producido

En referencia al fármaco Ibutilide, en las Figura 39 y Figura 40 se observa un alargamiento muy superior de la duración del potencial en comparación a la población en control, lo cual muestra también el estudio de Passini et al. (2017) en fármacos de alto riesgo como Dofetilide y Flecainide, ya que aumenta la repolarización como consecuencia del bloqueo del canal hERG. Pero el efecto más destacable es la aparición de despolarizaciones tempranas (EADs) en ciertos modelos de ambas poblaciones, hecho que no ocurre en simulaciones que no consideran la variabilidad. Este efecto puede originar en la aparición arritmias como la TdP, lo cual sirve de indicador de la potencial peligrosidad de este fármaco. Este hecho también concuerda con resultados obtenidos por Passini et al. (2017), donde la acción de fármacos peligrosos presentan irregularidades en la repolarización causada por la elevada inhibición de las corrientes I_{Kr} e I_{Na} en medicamentos como Dofetilide y Flecainidine, donde se aprecia un mayor impacto del efecto farmacológico en la población in silicio de los modelos AP humanos ya que se aplican a 10xEFTPC y 30xEFTPC respectivamente, lo cual es lógico pues es más probable que a concentraciones más altas se produzcan un mayor número de anomalías.

En cuanto a los componentes farmacológicos de riesgo intermedio (Figura 41 y Figura 42) o bajo (Figura 43 y Figura 44), la respuesta obtenida es más predecible, ya que coincide con un leve alargamiento de la duración para Droperidol y una ligera disminución del mismo para mexiletine, comportamientos propios de la peligrosidad de cada uno. Si observamos el efecto producido por fármacos de bajo riesgo tal y como se muestra con Verapamil en Britton et al. 2017, se pueden ver similitudes en la respuesta obtenida por este modelo y los ensayos que obtuvieron en células ventriculares humanas ex vivo: en ocasiones ciertos modelos presentan un acortamiento del APD y no se han detectado EADs en la repolarización de ningún modelo.

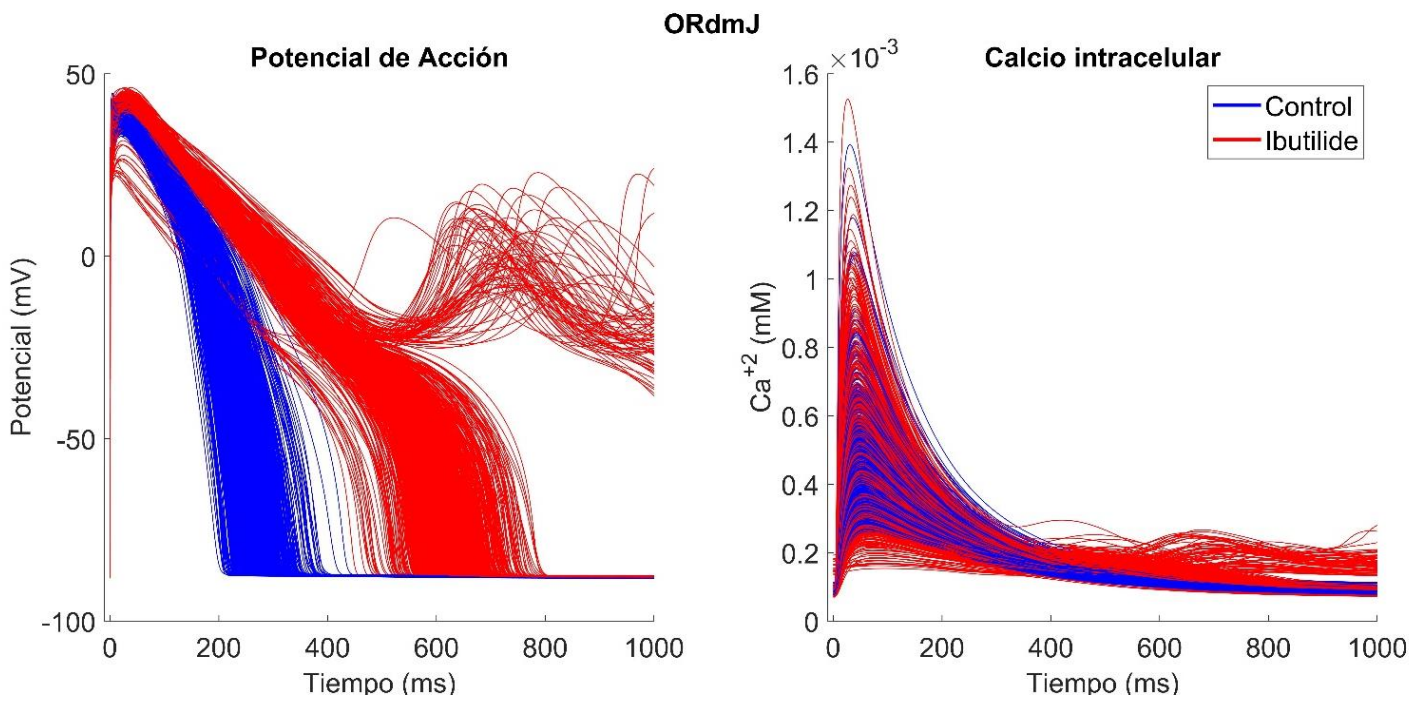


Figura 39. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.

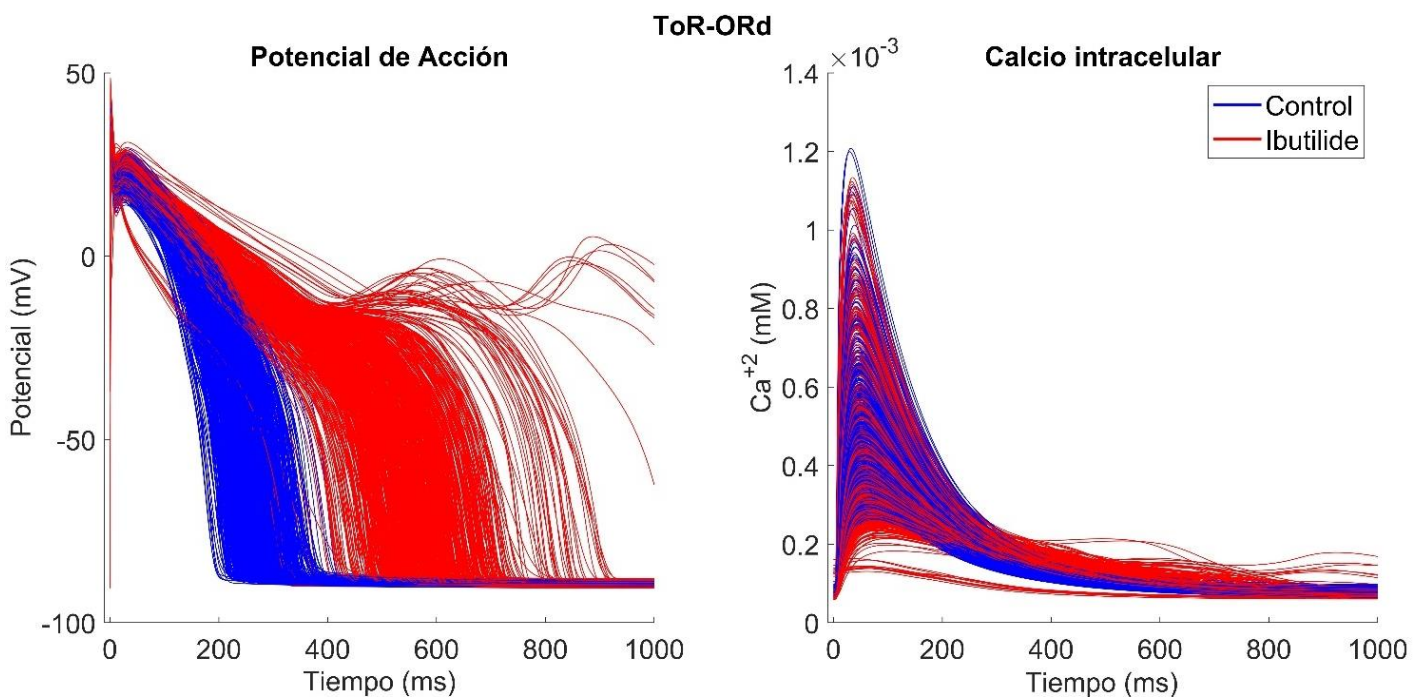


Figura 40. Efecto de Ibutilide en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORd

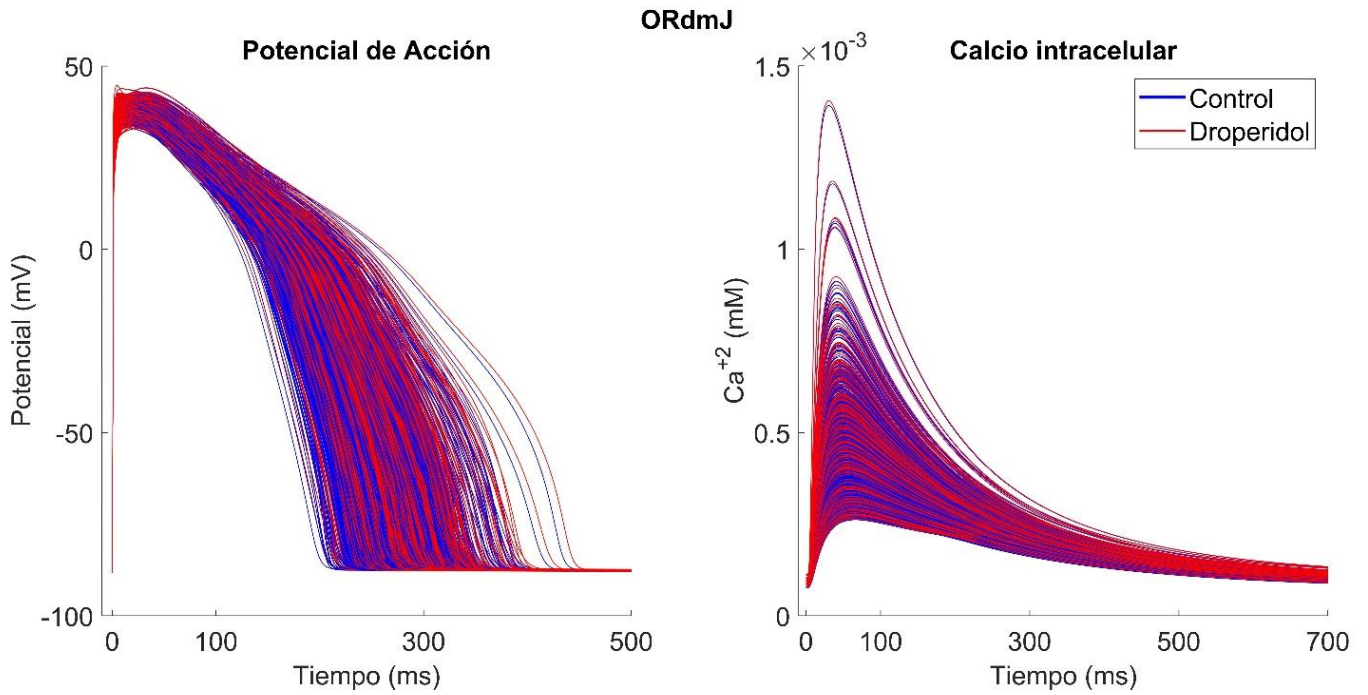


Figura 41. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.

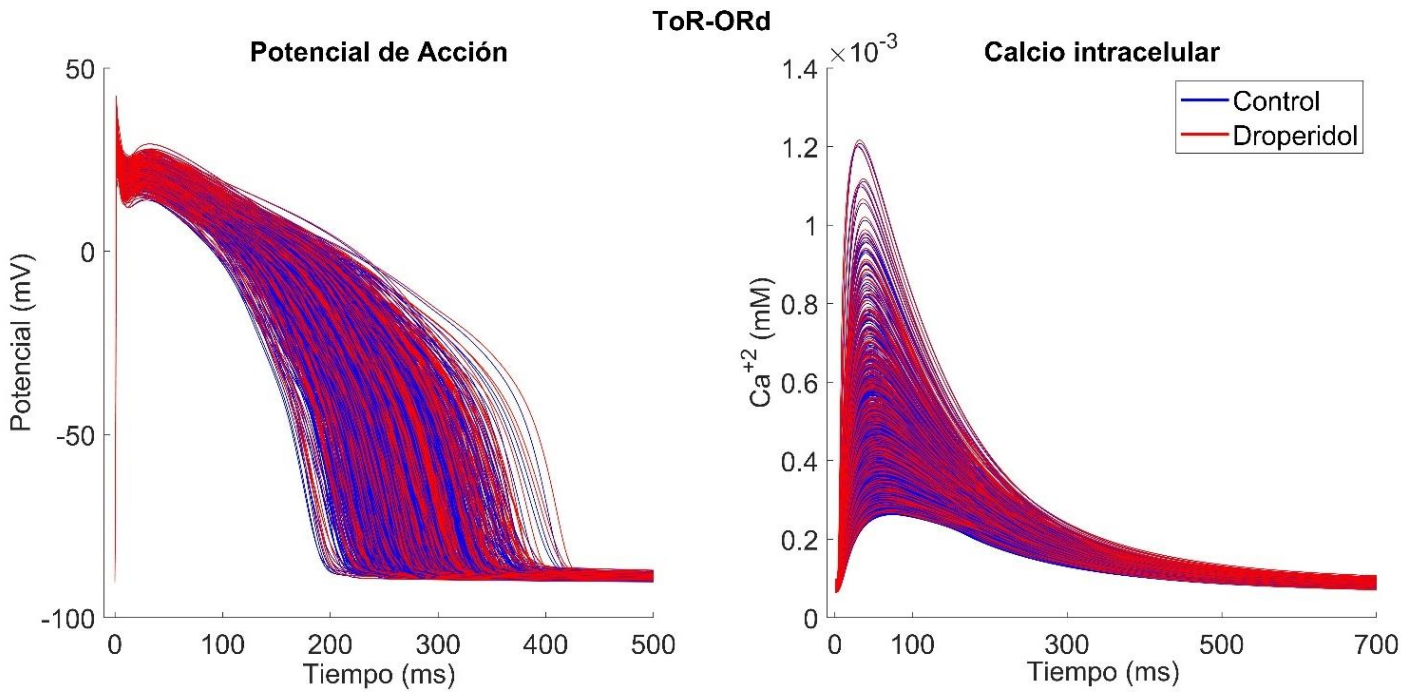


Figura 42. Efecto de Droperidol en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORD.

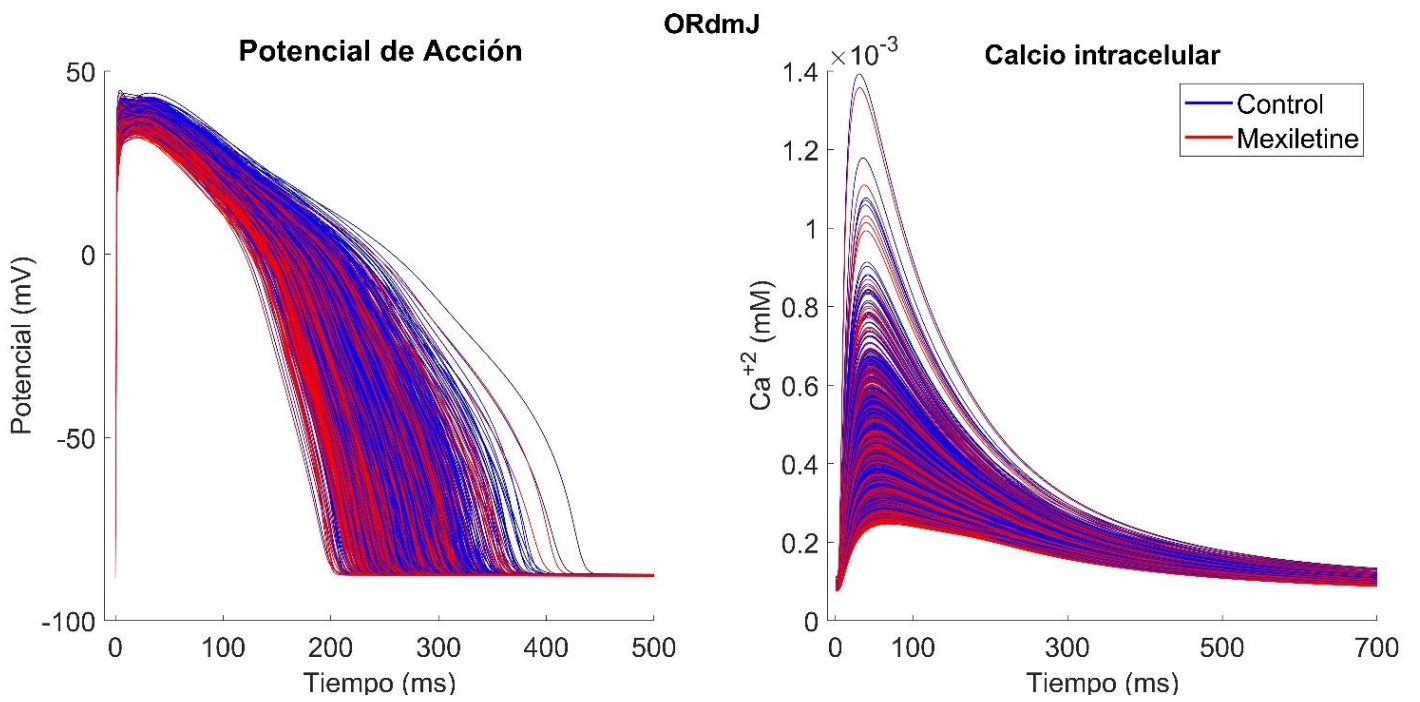


Figura 43. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ORdmJ.

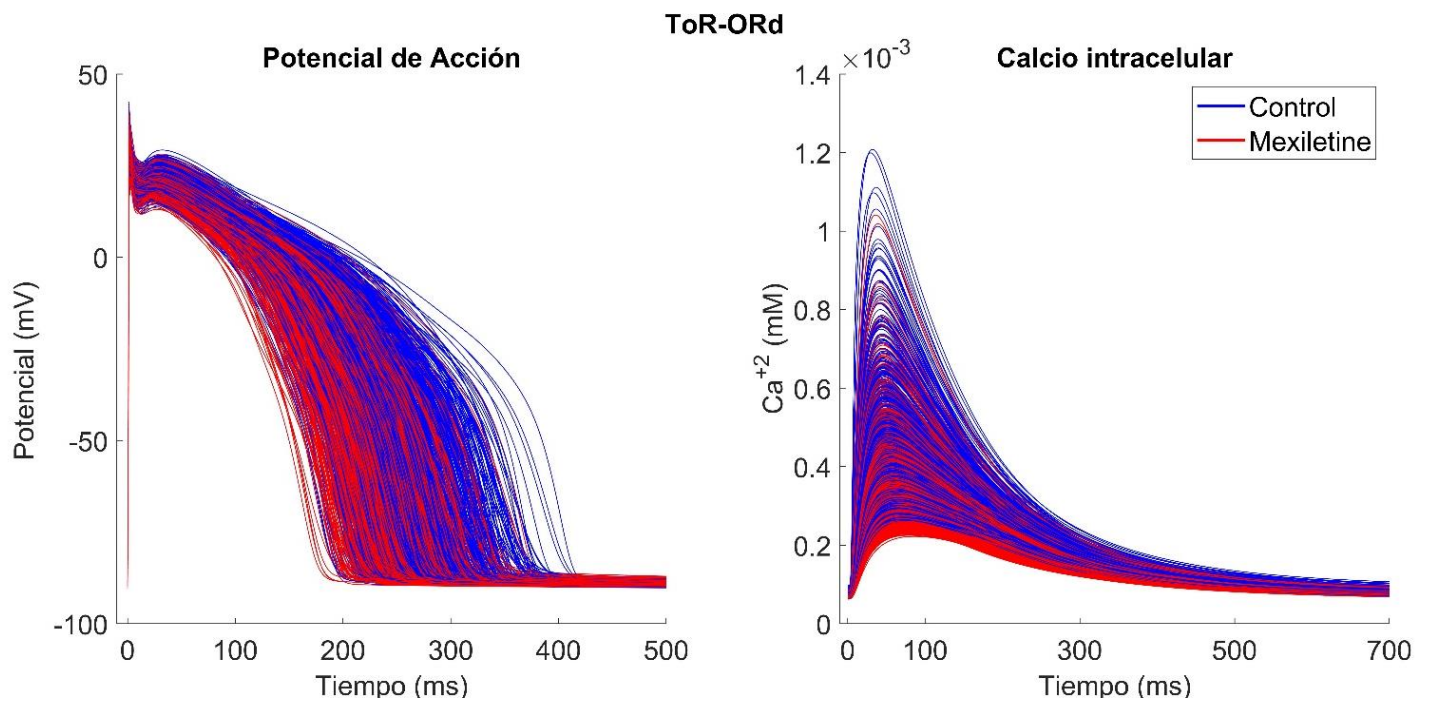


Figura 44. Efecto de Mexiletine en el potencial de acción y transitorio de calcio de la población de modelos de ToR-ORd.

Con el fin de visualizar con mayor claridad el comportamiento de las dos poblaciones tras la administración de fármacos, a continuación, se presentan los biomarcadores más representativos del efecto que tienen los tres compuestos farmacológicos expuestos anteriormente. Los biomarcadores APD_{90} , CTD_{90} , $Ca_{i,sist}$ y $Ca_{i,díast}$ se muestran en valores absolutos mediante histogramas superpuesto en condiciones de control y en tras aplicar uno de los fármacos, para realizar una mejor comparativa.

En referencia a la duración del potencial de acción (APD_{90}), aquellos modelos que presentaron las despolarizaciones tempranas (EADs) han sido representados en la columna de 1000 ms, lo cual no implica que la duración de su potencial de acción vaya a durar esa cantidad de tiempo, sino que se agruparon en ese valor como forma de visualizar qué proporción de cardiomiocitos podrían originar este precedente de la *Torsade de Pointe*.

Primeramente, analizaremos la Figura 45 y la Figura 46, correspondientes al Ibutilide. Respecto al APD_{90} este medicamento causa una respuesta similar entre las dos poblaciones de modelos, es decir, un alargamiento en torno a 600 ms. Es necesario puntualizar que la población modelada con ORdmJ tiene un número destacablemente superior de modelos que presentan EADs.

En cuanto a la duración de transitorio de calcio (CTD_{90}) se comienza a observar disparidades entre los modelos: ambos aumentan el valor de este biomarcador, pero en la Figura 45 se aprecia que la población ORdmJ la mayoría de los modelos que concentran en valores cercanos a 700 ms, mientras que la población de ToR-ORd incrementa menos estos valores y los modelos que la componen presentan una distribución mucho más progresiva alrededor del valor central de 550 ms aproximadamente.

Respecto al calcio sistólico y diastólico, los cambios son poco significativos en ambos modelos puesto que los histogramas están prácticamente superpuestos.

En segundo lugar, la Figura 47 y la Figura 48 muestra los efectos de Droperidol, que como fármaco de riesgo intermedio presenta ligeros aumentos en todos sus biomarcadores, obteniendo una respuesta prácticamente idéntica entre ambas poblaciones.

Finalmente, Mexiletine reduce el valor de todos los indicadores como se aprecia, excepto la duración del calcio transitorio (CTD_{90}) que se incrementa levemente. La población de ORdmJ y la población de ToR-ORd presentan resultados muy similares en lo histogramas tanto en el valor central o de la mayoría de la población como en la distribución, aunque los biomarcadores correspondientes a los modelos de ToR-ORd se encuentran de forma sutil por debajo de los de la población ORdmJ.

Estudio comparativo del efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares sanas y patológicas mediante modelado y simulación

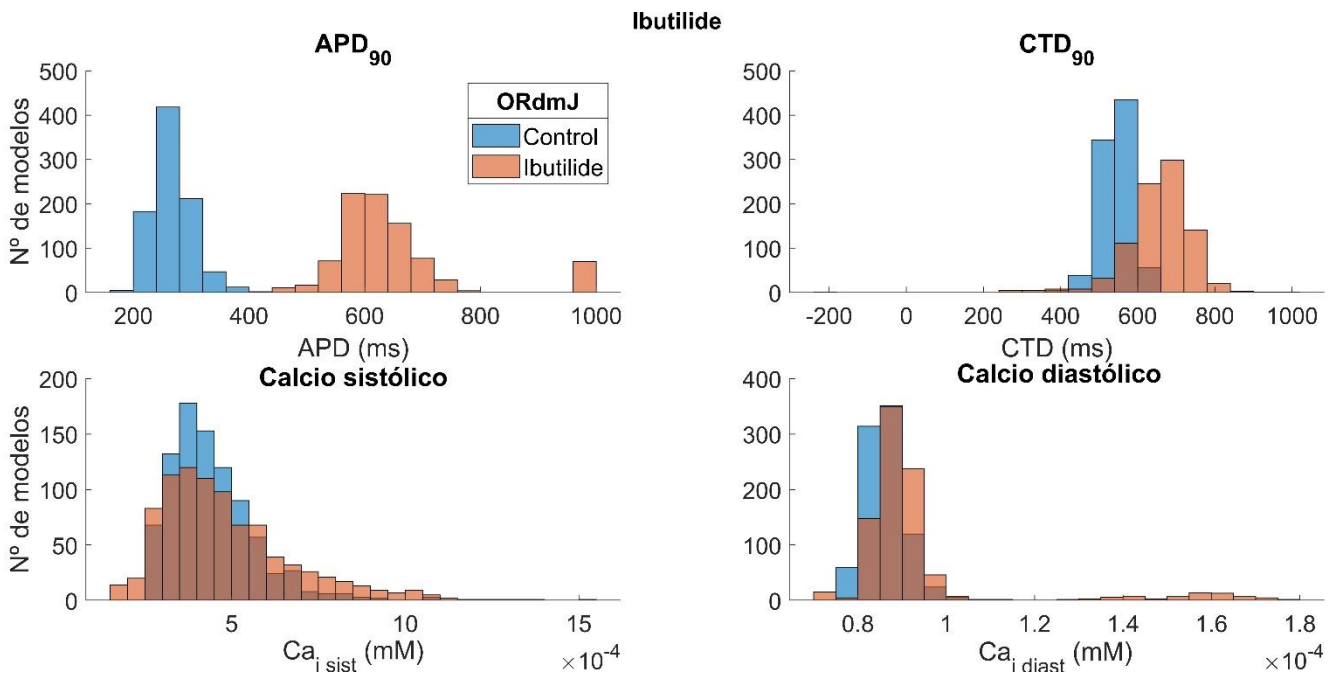


Figura 46. Biomarcadores absolutos tras la administración de Ibutilide en la población de modelos ORdmJ.

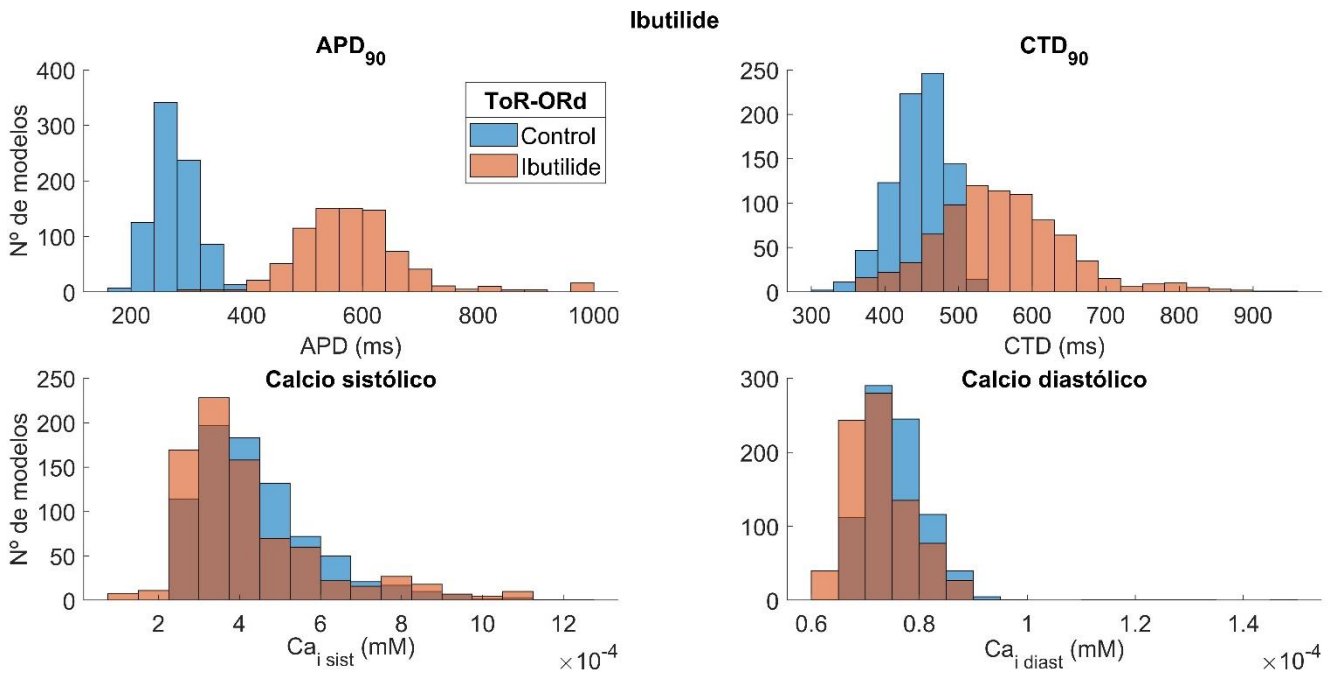


Figura 45. Biomarcadores absolutos tras la administración de Ibutilide en la población de modelos ToR-ORd.

Estudio comparativo del efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares sanas y patológicas mediante modelado y simulación

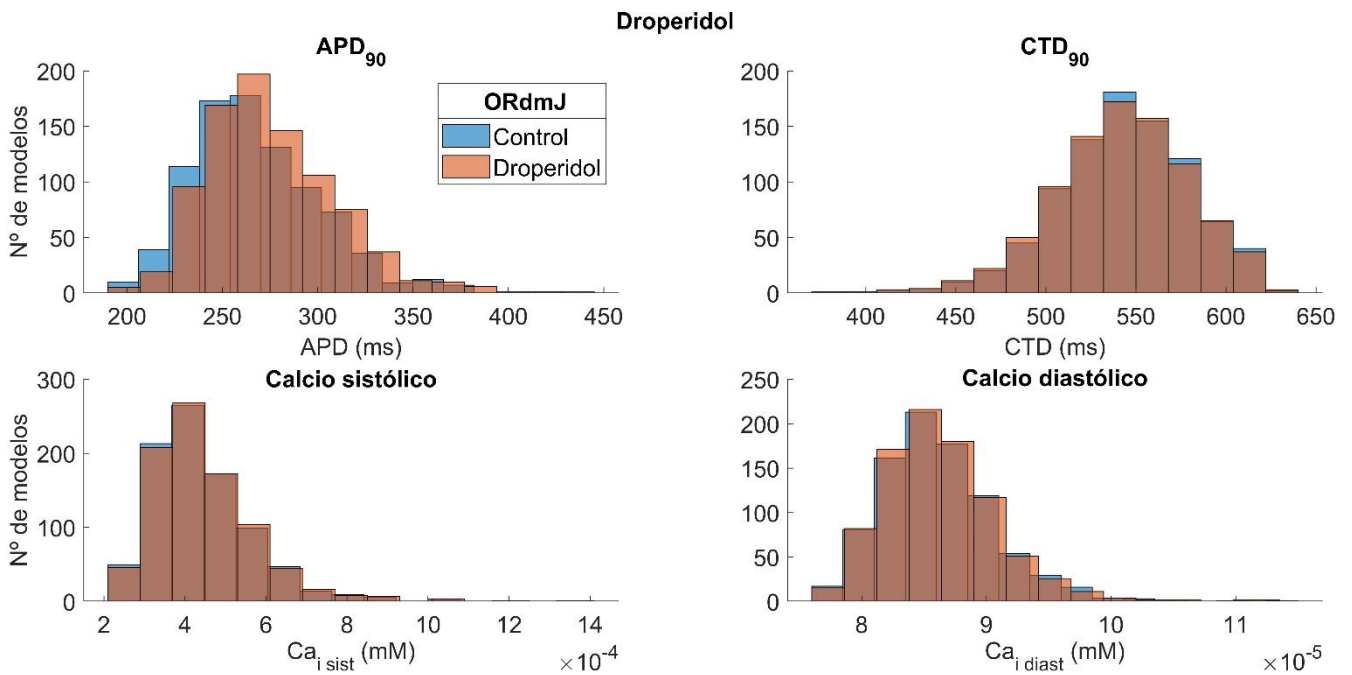


Figura 48. Biomarcadores absolutos tras la administración de Droperidol en la población de modelos ORdmJ.

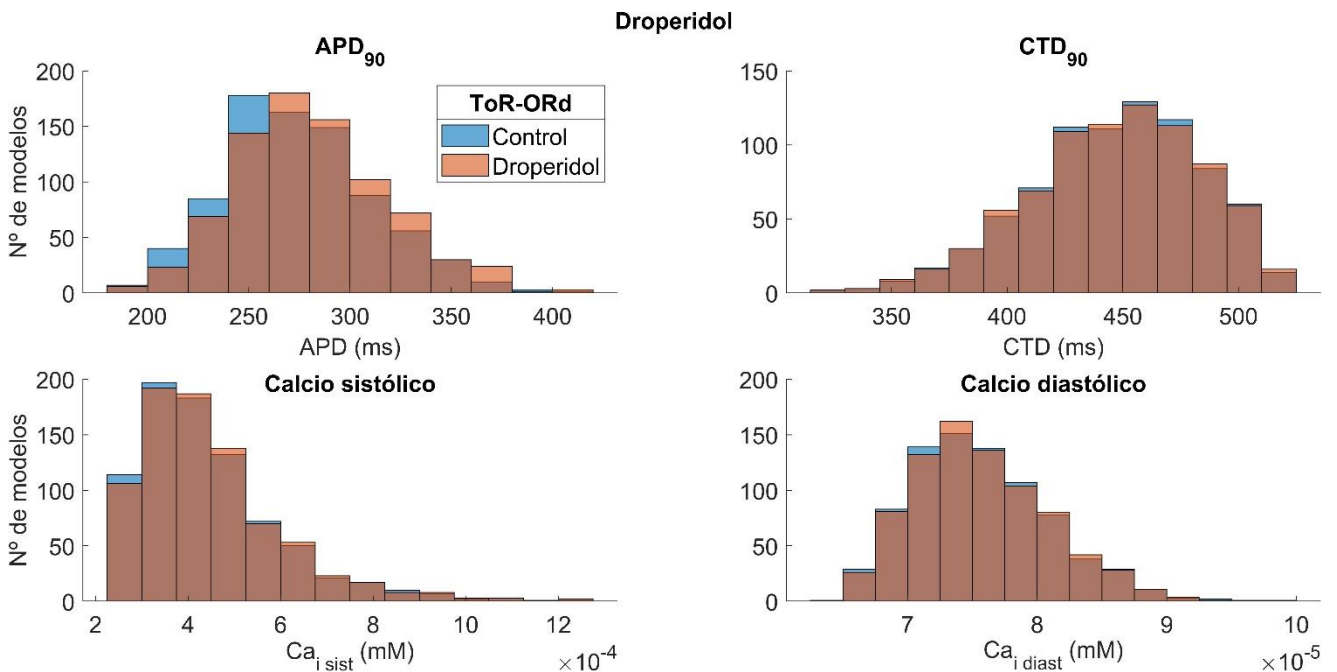


Figura 47. Biomarcadores absolutos tras la administración de Droperidol en la población de modelos ToR-ORd.

Estudio comparativo del efecto farmacológico en poblaciones de células ventriculares sanas y patológicas mediante modelado y simulación

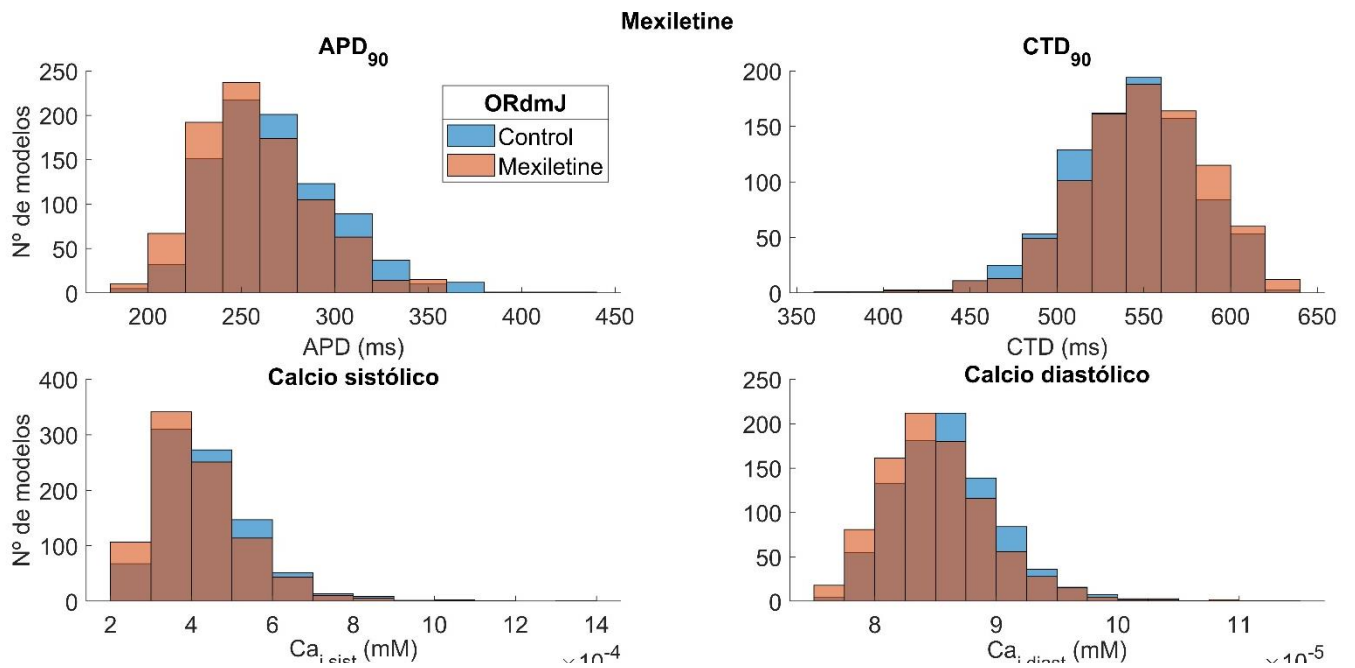


Figura 49. Biomarcadores absolutos tras la administración de Mexiletine en la población de modelos ORdmJ.

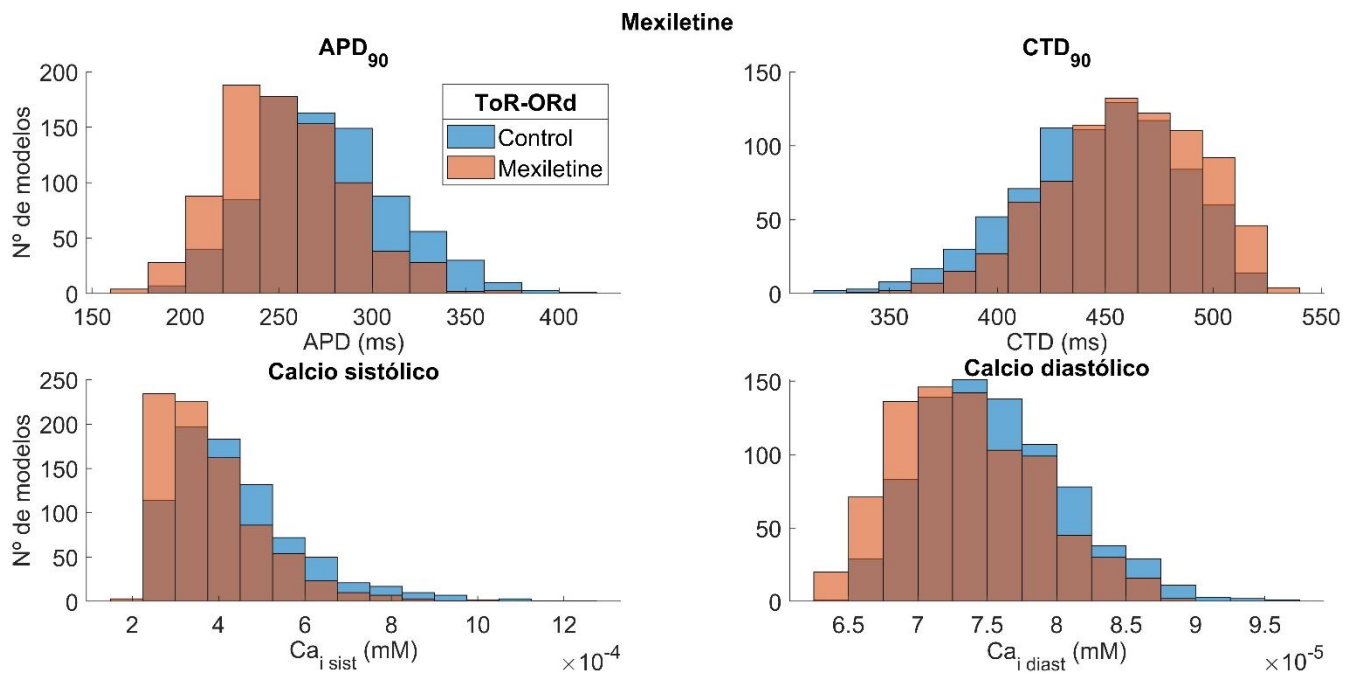


Figura 50. Biomarcadores absolutos tras la administración de Mexiletine en la población de modelos ToR-ORD.

En último lugar, se obtuvieron el APD_{90} y el calcio sistólico representados en diagramas de caja y bigotes como valores relativos respecto a los biomarcadores en condiciones de control, es decir, refleja el porcentaje de variación de los valores con fármaco respecto a las condiciones normales.

En referencia a la duración del potencial de acción (APD_{90}), el efecto producido por Ibutilide es el más destacable, pues es el que tiene porcentajes más elevados de prolongación. En la Figura 51 se observa mediana cercana a un incremento de un 140% en la población de ORdmJ y un 120% en la población de ToR-ORd en la Figura 52. El 50% de la población de modelos ORdmJ oscila entre una prolongación de 125% y 160%, mientras que en ToR-ORd entre 100% y el 130%. Además, los valores atípicos vienen representados por estrellas de color rojo, y las que se encuentran en la parte superior representan las prolongaciones más peligrosas y las despolarizaciones tempranas (EADs) que se originan en algunos modelos.

En comparación con los fármacos Droperidol y Mexiletine, Ibutilide es el que produce una mayor dispersión, lo que significa que los efectos en la población son más variables. Este hecho es importante ya que muestra una mayor imprevisibilidad de las consecuencias y riesgos del medicamento, pues es variable en función del sujeto.

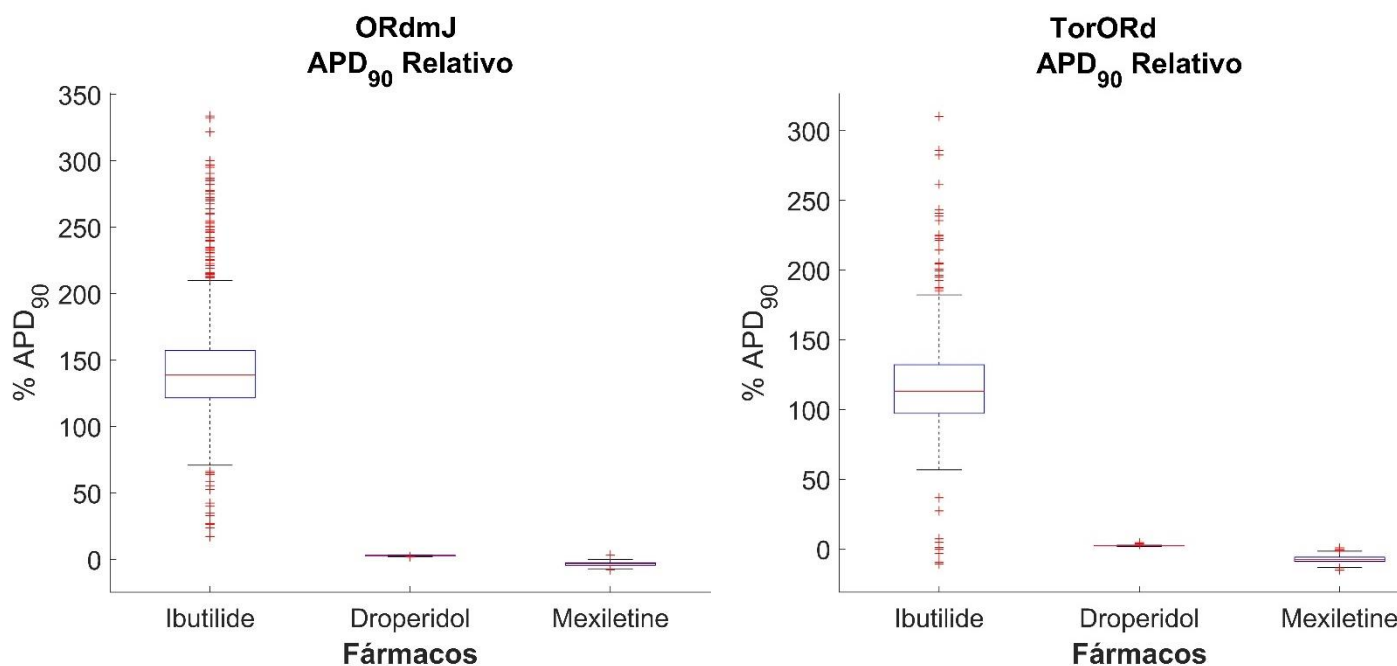


Figura 51. APD_{90} relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ORdmJ.

Figura 52. APD_{90} relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ToR-ORd.

En cuanto al calcio sistólico, las poblaciones presentan mayores diferencias entre ellas que en el APD. Ibutilide actúa sobre ellas de manera bastante simétrica, ya que ambas contienen aproximadamente la mitad de los modelos que componen la población sufriendo un aumento, y la mitad restante, sufriendo una disminución de la concentración máxima de calcio intracelular. Los modelos de ToR-ORd muestran una dispersión significativamente mayor, presentando más variación entre modelos, sin embargo, ORdmJ alcanza porcentajes de incremento mayores en los valores anómalos.

Por otro lado, Droperidol produce un incremento casi inapreciable de manera muy similar en ambas poblaciones y Mexiletine produce una reducción de este indicador algo más notable, principalmente en la población de ToR-ORd, cuya mediana se encuentra en torno a una disminución del 10% y el 75% de los modelos se reducen entre un 5% y 20%.

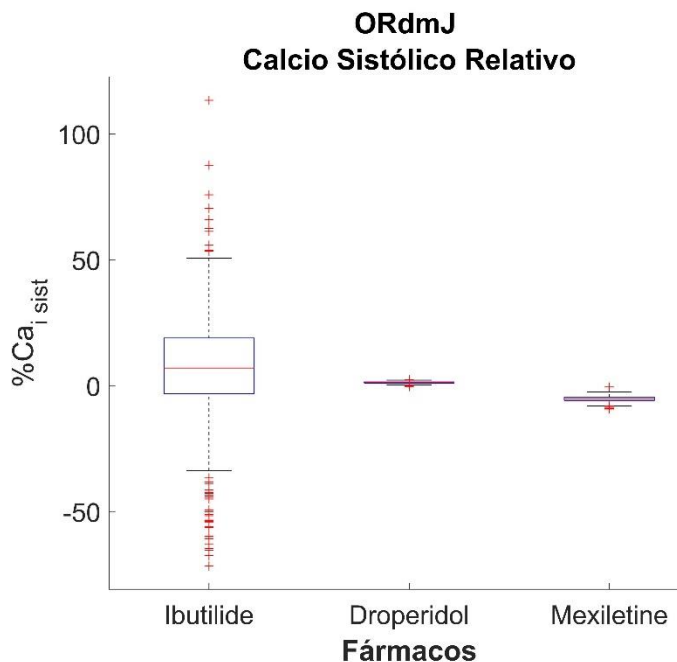


Figura 53. Calcio sistólico relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ORDmJ.

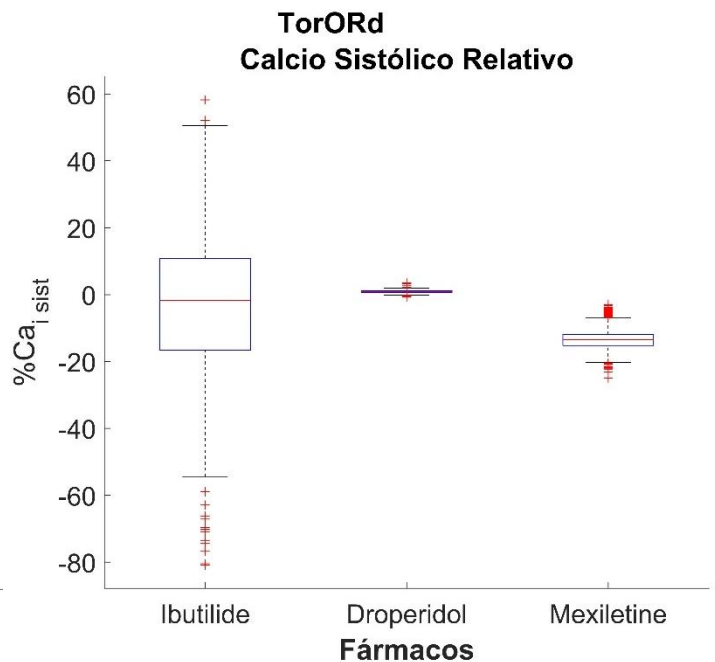


Figura 54. Calcio sistólico relativo tras la administración de fármacos en la población de modelos ToR-ORd.

5.4.3. Heart Failure en población de modelos base

En este apartado se presentan los resultados obtenidos tras aplicar las modificaciones producidas por la insuficiencia cardíaca en la población de modelos de ORDmJ y ToR-ORd. Se obtuvieron los potenciales de acción y el transitorio de calcio de las poblaciones en condiciones de control y en condiciones patológicas estimulando cada una longitud de ciclo de 1000 ms y 500 latidos, representado con líneas azules y rojas respectivamente.

La Figura 55 y la Figura 56 muestran una considerable prolongación del potencial de acción cardíaco, una notable disminución de calcio sistólico y un aumento del diastólico, tal y como se podría esperar tras observar el comportamiento electrofisiológico del modelo de cardiomiocito único con insuficiencia cardíaca.

Ambas poblaciones de modelos ilustran la variabilidad de las células cardíacas con esta patología, existiendo diferencias significativas con las poblaciones en condiciones en control, pero es interesante puntualizar que existe una superposición entre la población sana y la población enferma.

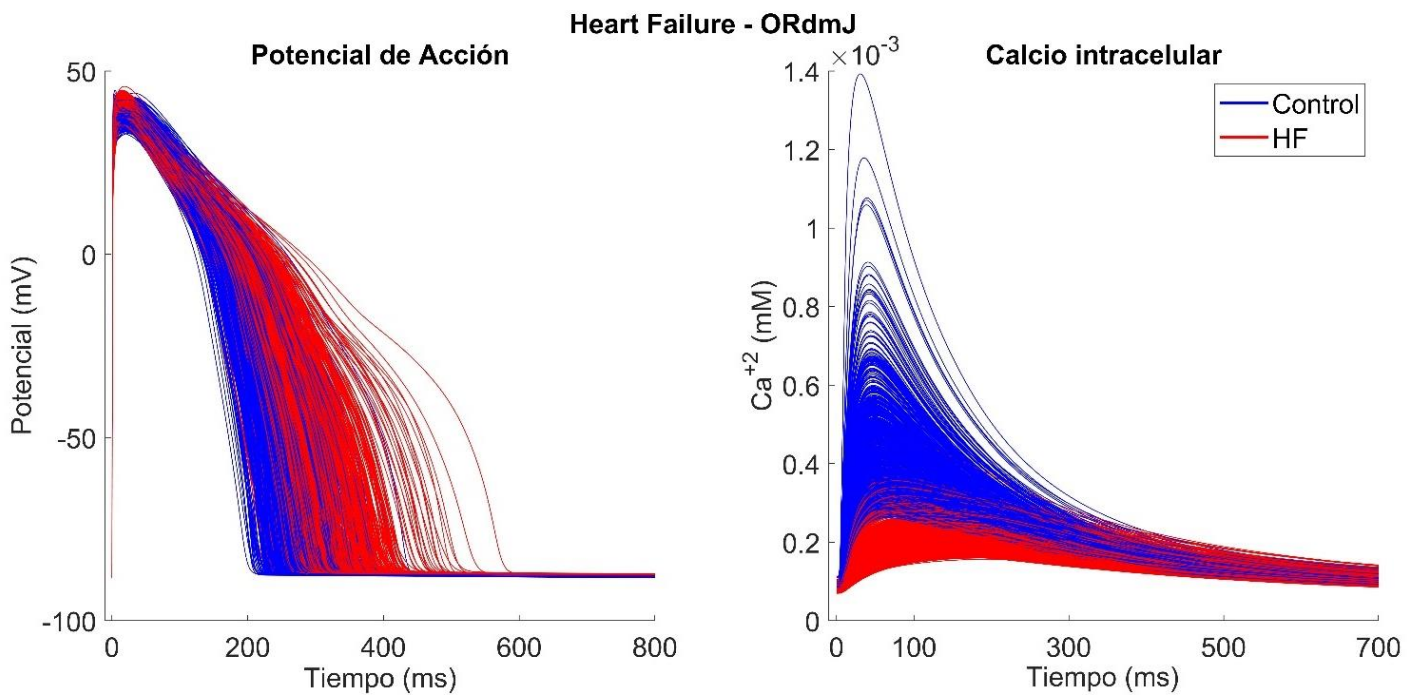


Figura 55. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en la población de modelos ORdmJ.

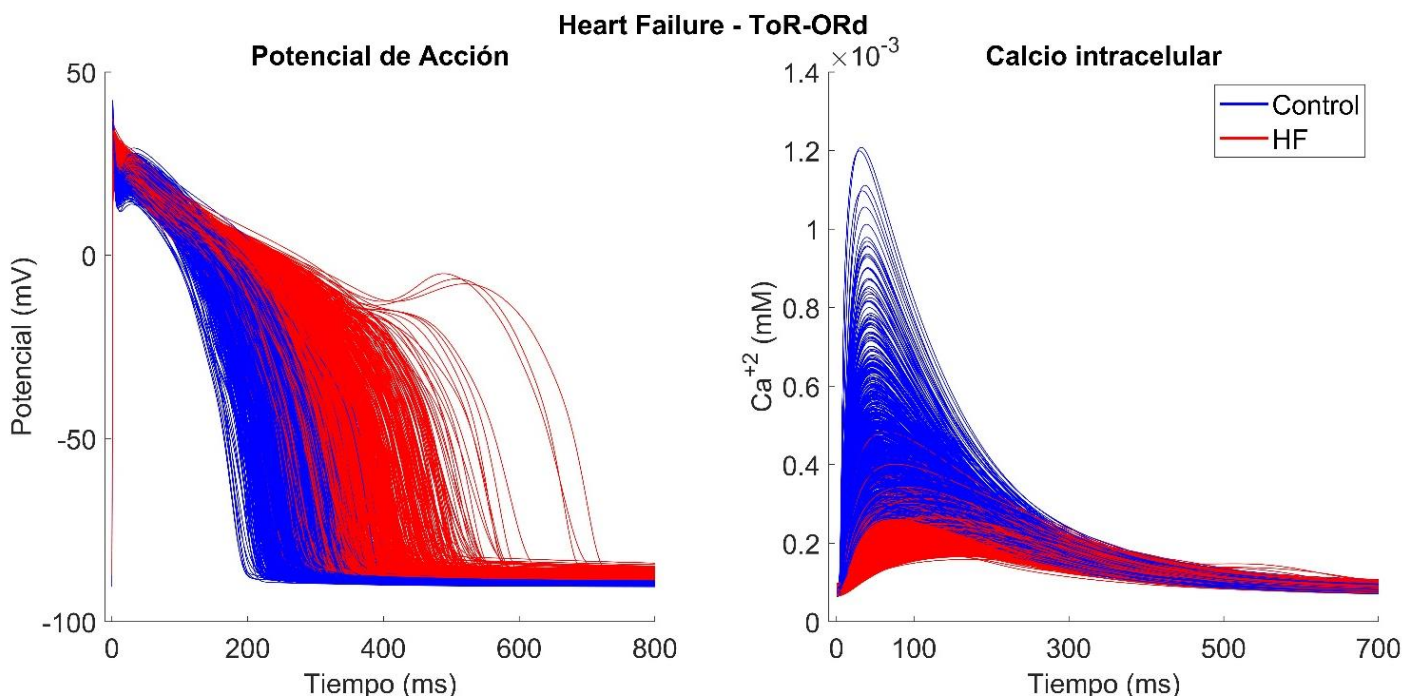


Figura 56. Potencial de acción y transitorio de calcio en condiciones de insuficiencia cardíaca en la población de modelos ToR-ORd.

Como era de esperar, la población de modelos ToR-ORd con insuficiencia cardíaca (Figura 56) produce una prolongación superior a la población ORdmJ. Lo que nos muestra la simulación de la población de modelos ToR-ORd, que no mostró la simulación celular individual, es que en un pequeño número de modelos existe el riesgo de aparición de despolarizaciones tempranas (EADs). Véase en la Figura 56 cómo la pendiente descendente de la fase de repolarización, de pronto, sufre una despolarización antes de llegar al potencial de reposo, originando una pendiente ascendente que, tras unos momentos, volverá a repolarizar. Esto ocurre sin la administración de ningún fármaco, existiendo un riesgo de arritmia muy elevado. En cambio, en la población de ORdmJ (Figura 55), a pesar de contar con unos pocos más modelos, ninguno de ellos sufre la aparición de EADs.

En comparación con la población de modelos obtenida por Walmsely et al. (2013) para un CL de 1500 ms, concuerdan a rasgos generales en cuanto a la prolongación del APD y la disminución del calcio máximo citosólico en los cardiomiocitos con IC respecto a aquellos no patológicos. Sin embargo, la prolongación de la duración del potencial de acción tanto en la población de ORdmJ como en ToR-ORd se encuentra en un rango superior, ya que la muestra de población con insuficiencia cardíaca de Walmsley presenta su APD_{80} en un intervalo entre 223 ms y 486 ms. Por otro lado, el calcio sistólico se reduce de manera menos pronunciada en los modelos estudiados en este trabajo, puesto que el valor medio de la muestra de los modelos poblacionales del transitorio de calcio es de $0,158 \cdot 10^{-3}$ mM.

5.4.4. Efecto farmacológico en población de modelos con *heart failure*

Una vez estudiado el efecto farmacológico en poblaciones de cardiomiocitos sanos y el comportamiento electrofisiológico de las células cardíacas con insuficiencia cardíacas previamente a la administración de los fármacos, se procederá a realizar simulaciones que muestren la respuesta de la terapia farmacológica en poblaciones de modelos con insuficiencia cardíaca.

Con el objetivo de observar las diferencias entre la respuesta de las células con insuficiencia cardíaca sin tratamiento farmacológico y tras la aplicación de fármacos, se presentan simulaciones de las poblaciones de modelos en estas condiciones: representado en azul, la población con *heart failure* en ausencia de medicamentos y, representado en rojo, la población con *heart failure* en presencia de un fármaco.

De estos resultados se puede destacar que los fármacos incrementan de forma evidente su riesgo arritmogénico en modelos celulares patológicos. La Figura 58 muestra el efecto de Ibutilide sobre la población de modelos ORdmJ con insuficiencia cardíaca. A pesar de que esta población no presentaba EADs en ausencia de fármacos, tras la administración de Ibutilide aparecen numerosos modelos que presentan EADs, lo cual concuerda con los resultados obtenidos al aplicar este fármaco en poblaciones de modelos sanas (Figura 39), pero el aumento de peligrosidad se ve reflejado en que los EADs ya no se originan de manera individual, si no que aparecen múltiples EADs en cada modelo.

En la Figura 59 el Ibutilide origina respuesta semejante en la población de ToR-ORd, pero mucho más extrema. La aparición de múltiples EADs ocurre con tanta frecuencia en tantos modelos que se hace indistinguible la forma de los potenciales de acción. Este hecho indica casi con total seguridad que se producirá un alargamiento del intervalo QT en el electrocardiograma que degenerará en la

taquicardia *Torsade de Pointe*. Además, tanto la población de ORdmJ como la de ToR-ORd sufren desordenadas oscilaciones durante la recuperación del transitorio de calcio, lo cual contribuya a un empeoramiento de la disfunción contráctil y, por tanto, de la insuficiencia cardíaca. Se puede destacar que la respuesta de los fármacos se ve agravada tras administrarse en células con IC, ya que en el modelo de ToR-ORd con esta patología aparecen anomalías en la despolarización tras aplicar Ibutilide a una concentración de $1 \times \text{EFTPC}$, de forma muy similar a la que se observaron en Passini et al. (2017), tras aplicar a una población de modelos sana Flecainide (un fármaco de alto riesgo) a altas concentraciones ($30 \times \text{EFTPC}$).

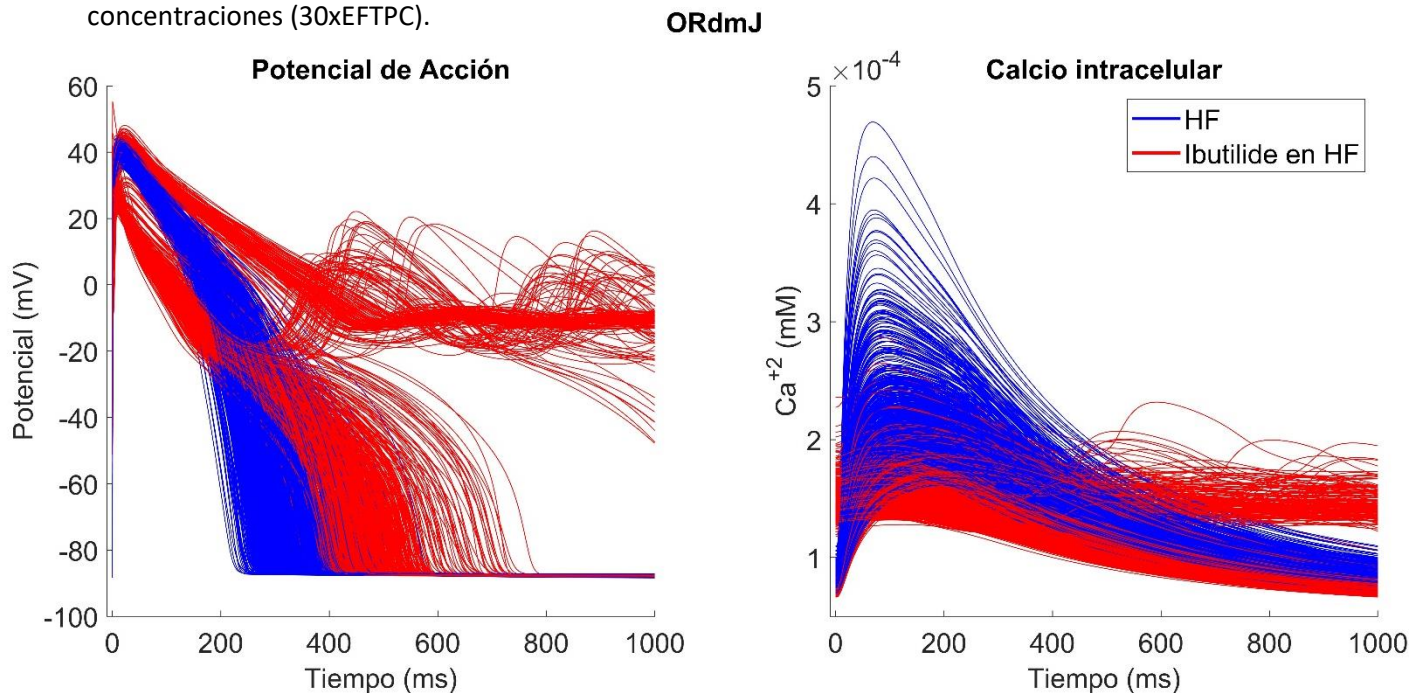


Figura 58. Efecto de Ibutilide en la población de modelos ORdmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.

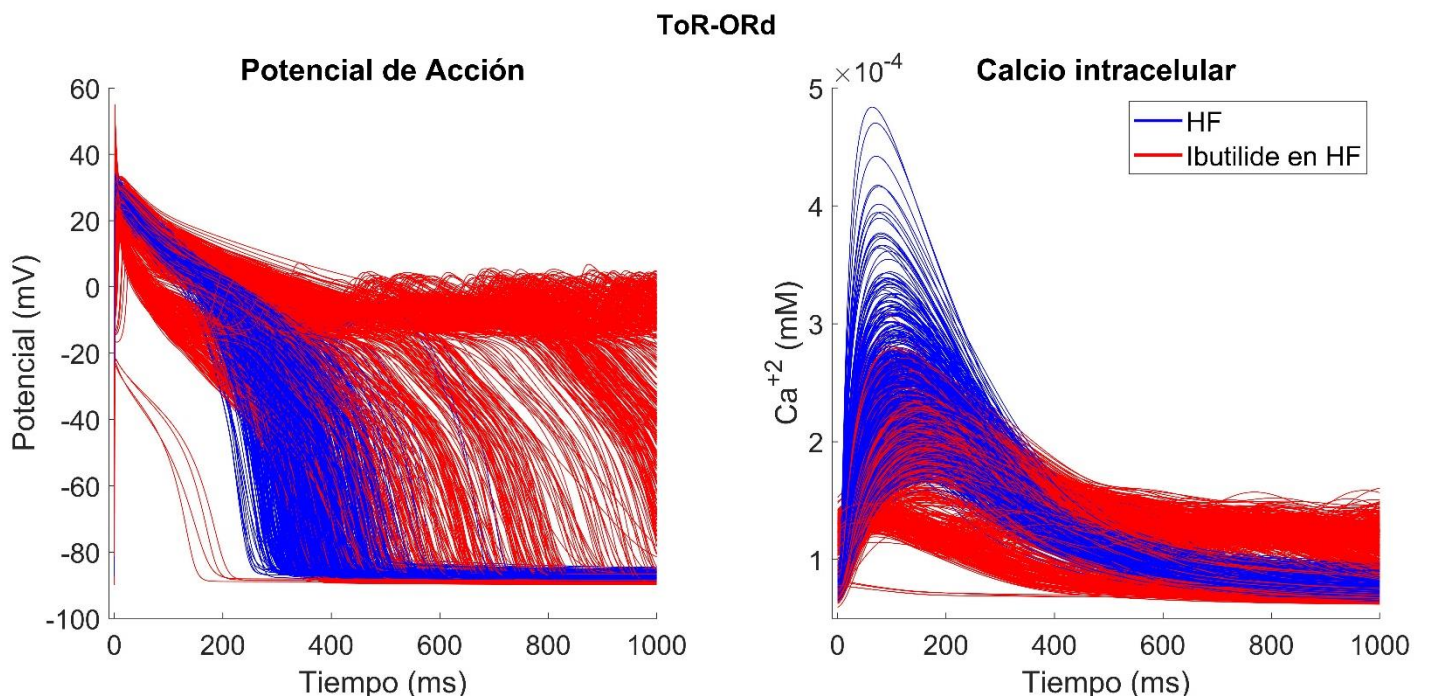


Figura 57. Efecto de Ibutilide en la población de modelos ToR-ORd en condiciones de insuficiencia cardíaca.

En cuanto a los fármacos de riesgo intermedio (Figura 59 y Figura 60) y bajo riesgo (Figura 61 y Figura 62) se observan efectos comparables a los que ocurrieron en cardiomiocitos sanos. Si bien es cierto que se originan EADs simples en algunos modelos de la población, esto no se debería a la acción del propio fármaco, sino a la existencia previa de estas despolarizaciones tempranas en esos modelos debido a la insuficiencia cardíaca.

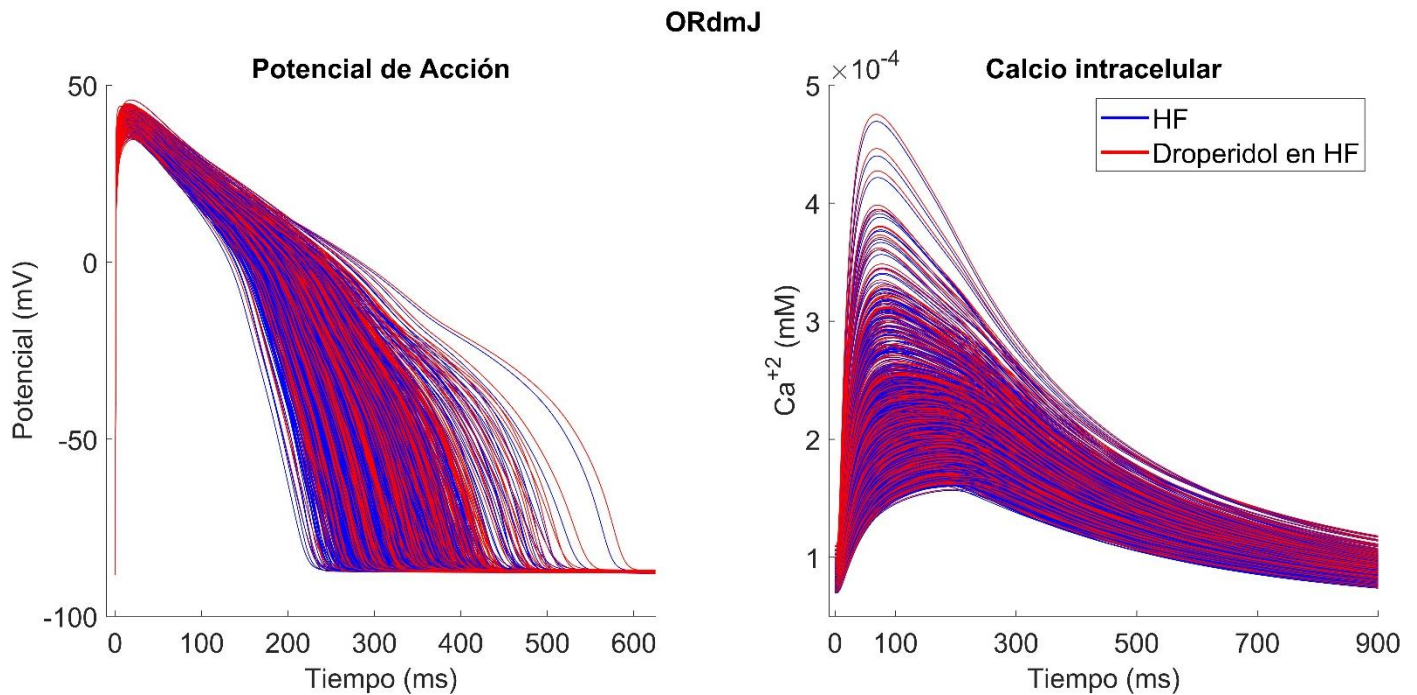


Figura 60. Efecto de Droperidol en la población de modelos ORdmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.

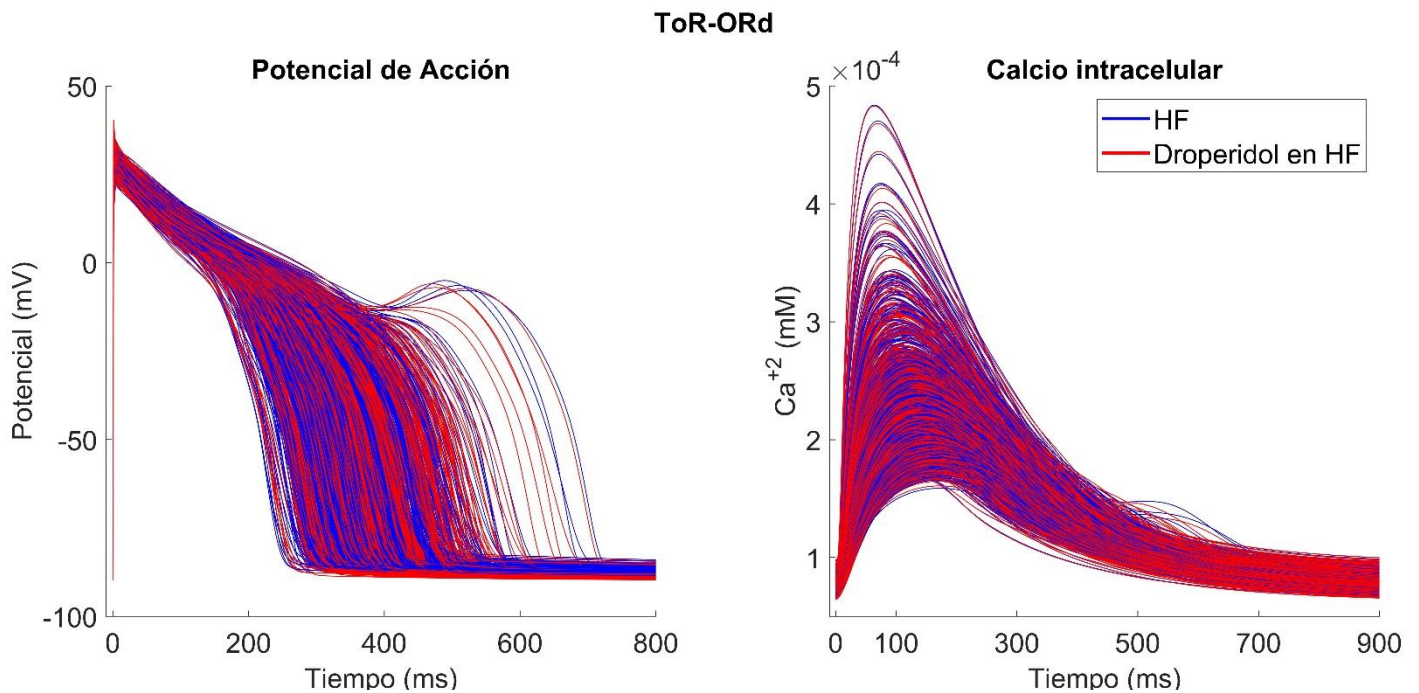


Figura 59. Efecto de Droperidol en la población de modelos ToR-ORd en condiciones de insuficiencia cardíaca.

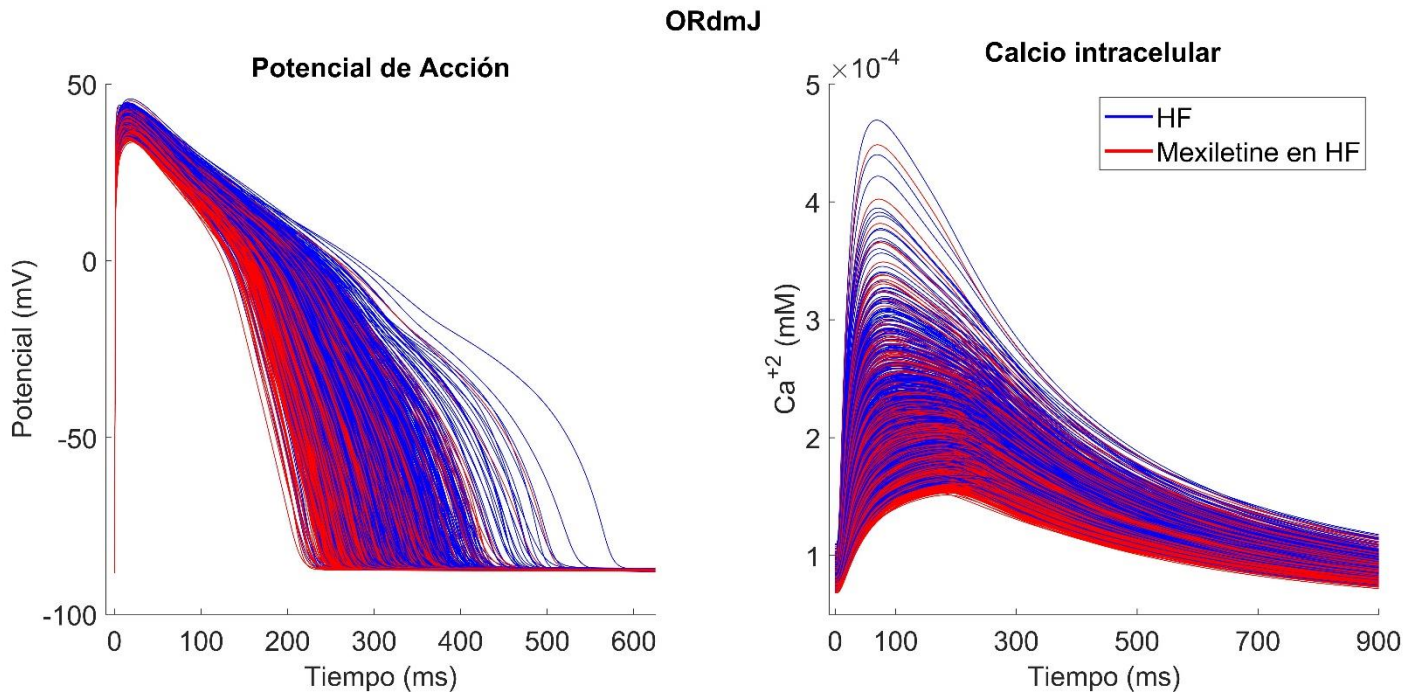


Figura 61. Efecto de Mexiletine en la población de modelo ORDmJ en condiciones de insuficiencia cardíaca.

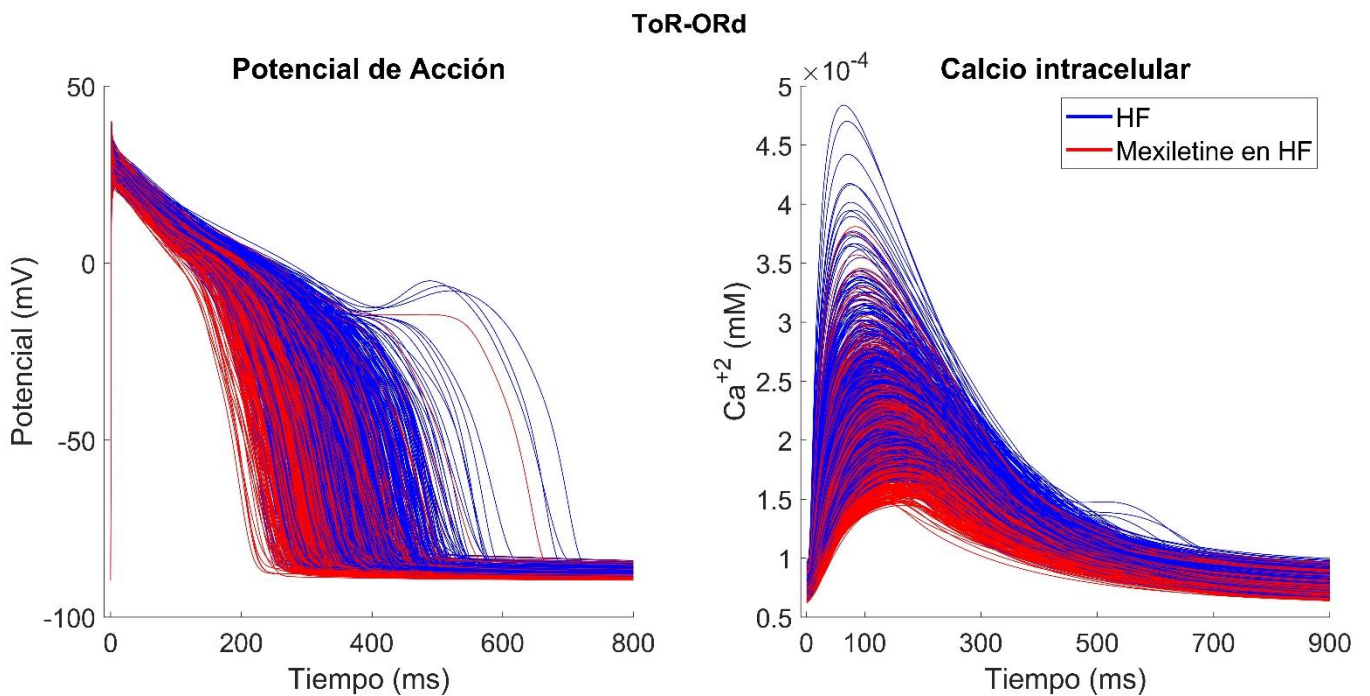


Figura 62. Efecto de Mexiletine en la población de modelo ToR-ORD en condiciones de insuficiencia cardíaca.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN

En este trabajo de final de grado se ha analizado el efecto de diversos fármacos sobre cardiomiocitos ventriculares humanos sanos y afectados por la insuficiencia cardíaca mediante modelado y simulación computacional. Con este fin, se realizaron simulaciones de la actividad eléctrica de las células cardíacas mediante los modelos existentes de O'Hara et al. y Tomek et al. en condiciones de control.

El análisis de sensibilidad para el modelo de ToR-ORd con insuficiencia cardíaca (HFToR-ORd) mostró que, además de la I_{Kr} , la cual es una corriente cuyo bloqueo es conocido como gran responsable de la prolongación de la fase de repolarización, el bloqueo de la corriente de sodio lenta (I_{NaL}) y la corriente del intercambiador Na^+/Ca^{+2} (I_{NaCa}) son otros dos grandes contribuyentes al aumento de la duración del potencial de acción. Este comportamiento permite deducir que no todos los fármacos que bloquean la I_{Kr} son necesariamente proarrítmicos, ya que el tiempo de repolarización está sujeto al equilibrio entre las corrientes de despolarización y repolarización, es decir, el riesgo real se produce cuando existe la posibilidad de que las corrientes de entrada generen despolarizaciones tempranas (EADs), siendo que los fármacos que reduzcan las corrientes salientes de K^+ como la I_{Kr} , aunque afecten a la repolarización, pueden no degenerar en *Torsade de Pointe* a causa del bloqueo de las corrientes entrantes de Na^+ y Ca^{+2} . En cuanto al transitorio de calcio, se ha comprobado que la J_{SERCA} es el flujo más significativo en la reducción del calcio sistólico y, por tanto, una de las causas más importantes de la disfunción contráctil de la IC.

Se desarrollaron poblaciones de modelos sanas y afectadas por IC a las que se les aplicó el efecto de distintos fármacos para considerar la variabilidad electrofisiológica entre distintos cardiomiocitos ventriculares humano. Este análisis ha permitido resaltar que no existe una respuesta estandarizada para sujetos que pertenecen a una misma especie, no obstante, tanto en la población de ORdM1 como en la de ToR-ORd, a 1xEFTPC los fármacos de mayor riesgo, proarrítmico, como Ibutilide, provocan un notable alargamiento en el APD en todos los modelos y tienen mayor tendencia a generar anomalías en la repolarización como las despolarizaciones prematuras; los fármacos con riesgo intermedio, como Droperidol, producen una prolongación menos significativa; y los de bajo riesgo, como Mexiletine, no afectan o incluso acortan la duración del potencial. Asimismo, no solo existen discrepancias entre el efecto farmacológico los modelos de una población sana, sino que la peligrosidad de estos compuestos se agrava en los modelos patológicos con insuficiencia cardíaca, siendo el modelo poblacional de ToR-ORd el que predice escenarios más extremos.

Respecto a los modelos computacionales ORd y ToR-ORd cada uno de ellos tiene sus fortalezas y sus debilidades pero, es necesario resaltar que ToR-ORd presenta una morfología más ajustada, lo cual repercute en los diferentes análisis estudiados en este trabajo. Asimismo, el modelo de ToR-ORd fue desarrollado para optimizar las inconsistencias del modelo ORd y mejorar su respuesta bajo bloqueo farmacológico y en ciertas patologías. Por este motivo, los resultados de ToR-ORd se podrían considerar más fiables, pero su validación es compleja debido a la escasez de experimentos equiparables a las simulaciones realizadas y que consideren la variabilidad inter-individuo.

Por todo ello, se piensa que el desarrollo de esta herramienta puede contribuir en las predicciones de posibles efectos peligrosos en la producción de futuros medicamentos ajustándose a las distintas condiciones electrofisiológicas y/o patológicas.

CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA

- Britton, Oliver J et al. 2017. "The Electrogenic Na⁺/K⁺ Pump Is a Key Determinant of Repolarization Abnormality Susceptibility in Human Ventricular Cardiomyocytes: A Population-Based Simulation Study." *Frontiers in Physiology* 8(MAY). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28529489/>.
- Colatsky, Thomas et al. 2016. "The Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) Initiative — Update on Progress." *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 81: 15–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vascn.2016.06.002>.
- Constanzo, Linda S. (Virginia Commonwealth University School of Medicine). 2011. *FISIOLOGÍA*. 4th ed. ed. Nancy Lombardi. Richmond, Virginia.
- Coppini, Raffaele et al. 2013. "Late Sodium Current Inhibition Reverses Electromechanical Dysfunction in Human Hypertrophic Cardiomyopathy." *Circulation* 127(5): 575–84. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23271797/>.
- Deplón Mosquera, Eva (Proyecto ITACA). 2018. "Potencial de Acción Cardíaco." <https://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm>.
- Dutta, Sara et al. 2016. "Optimization of an in Silico Cardiac Cell Model for Proarrhythmia Risk Assessment." *Frontiers in Physiology* 8(AUG).
- Ferrero de Loma-Orsorio, Jose María (Universitat Politècnica de València). 2019. "Material Asignatura : Bioelectricidad, Grado de Ingeniería Biomédica."
- Gomez, Juan F. et al. 2014. "Electrophysiological and Structural Remodeling in Heart Failure Modulate Arrhythmogenesis. 1D Simulation Study." *PLoS ONE* 9(9).
- Grandi, Eleonora, Francesco S. Pasqualini, and Donald M. Bers. 2010. "A Novel Computational Model of the Human Ventricular Action Potential and Ca Transient." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 48(1): 112–21. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19835882/>.
- Guo, Donglin et al. 2011. "Electrophysiological Properties of HBI-3000: A New Antiarrhythmic Agent with Multiple-Channel Blocking Properties in Human Ventricular Myocytes." *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 57(1): 79–85. <https://europepmc.org/article/med/20980921>.
- Iaizzo, Paul A. (University of Minnesota). 2006. 15 *Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, and Devices*. ed. Paul A. Iaizzo. Minneapolis: Humana Press.
- Jost, Norbert et al. 2008. "Molecular Basis of Repolarization Reserve Differences between Dogs and Man." 118. <https://iris.uniupo.it/handle/11579/27186#.YNBy7GgzaUk>.
- Kubo, Taeko, Takashi Ashihara, Tadashi Tsubouchi, and Minoru Horie. 2017. "Significance of Integrated in Silico Transmural Ventricular Wedge Preparation Models of Human Non-Failing and Failing Hearts for Safety Evaluation of Drug Candidates." *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 83: 30–41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vascn.2016.08.007>.
- Llopis-Lorente, Jordi et al. 2020. "In Silico Classifiers for the Assessment of Drug Proarrhythmicity." *Journal of Chemical Information and Modeling* 60(10): 5172–87.
- Llopis Lorente, Jordi. 2018. "ANÁLISIS COMPARATIVO DEL EFECTO FARMACOLÓGICO EN CÉLULAS VENTRICULARES SANAS Y CON INSUFICIENCIA CARDÍACA MEDIANTE MÉTODOS DE MODELADO Y SIMULACIÓN." Universitat Politècnica de València.
- de los Nietos Miguel, Cristina. 2007. "Nociones Básicas De Anatomía , Fisiología Y Patología

- Cardíaca." *Enfermería en cardiología* 1: 7–20.
- Lu, Luyao, Ling Xia, and Xiuwei Zhu. 2012. "Simulation of Arrhythmogenic Effect of Rogue RyRs in Failing Heart by Using a Coupled Model." *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2012.
- Marieb, Elaine N. (Holyoke Community College). 2009. *Essentials of Human Anatomy Anatomía y Fisiología Humana*. 9th ed. ed. Miguel Martín-Romo. Pearson Education.
- Mohrman, David E., and Lois Jane (University of Minnesota Medical School) Heller. 2007. *Fisiología Cardiovascular Fisiología Cardiovascular*. 6th ed. Duluth.
- Mora, Maria T., Jose M. Ferrero, Lucia Romero, and Beatriz Trenor. 2017. "Sensitivity Analysis Revealing the Effect of Modulating Ionic Mechanisms on Calcium Dynamics in Simulated Human Heart Failure." *PLoS ONE* 12(11).
- Moreno, Jonathan D. et al. 2011. "A Computational Model to Predict the Effects of Class I Anti-Arrhythmic Drugs on Ventricular Rhythms." *Science Translational Medicine* 3(98).
- Moreno, Jonathan D et al. 2013. "Ranolazine for Congenital and Acquired Late INa-Linked Arrhythmias: In Silico Pharmacological Screening." *Circulation Research* 113(7): e50. /pmc/articles/PMC3896218/.
- Narayan, Sanjiv M., Jason D. Bayer, Gautam Lalani, and Natalia A. Trayanova. 2008. "Action Potential Dynamics Explain Arrhythmic Vulnerability in Human Heart Failure. A Clinical and Modeling Study Implicating Abnormal Calcium Handling." *Journal of the American College of Cardiology* 52(22): 1782–92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2008.08.037>.
- O'Hara, Thomas, László Virág, András Varró, and Yoram Rudy. 2011. "Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation." *PLoS Computational Biology* 7(5).
- OpenStax College. 2013. *Anatomy & Physiology*. Houston, Texas. <http://cnx.org/content/col11496/latest/>.
- Park, Jin Sol, Ji Young Jeon, Ji Ho Yang, and Min Gul Kim. 2019. "Introduction to in Silico Model for Proarrhythmic Risk Assessment under the Cipa Initiative." *Translational and Clinical Pharmacology* 27(1): 12–18. /pmc/articles/PMC6989268/.
- Passini, Elisa et al. 2016. "Mechanisms of Pro-Arrhythmic Abnormalities in Ventricular Repolarisation and Anti-Arrhythmic Therapies in Human Hypertrophic Cardiomyopathy." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 96: 72–81.
- Passini, Elisa et al. 2017. "Human in Silico Drug Trials Demonstrate Higher Accuracy than Animal Models in Predicting Clinical Pro-Arrhythmic Cardiotoxicity." *Frontiers in Physiology* 8(SEP).
- Pereira-Rodríguez, Javier E, Gina Rincón-González, and Damaris R. Niño-Serrato. 2016. "Insuficiencia Cardíaca: Aspectos Básicos de Una Epidemia En Aumento." *Sociedad Cubana de Cardiología* 8(1): 58–70. <http://www.medigraphic.com/pdfs/corsalud/cor-2016/cor161i.pdf>.
- Pieske, Burkert et al. 2002. "Rate Dependence of [Na⁺]_i and Contractility in Nonfailing and Failing Human Myocardium." *Circulation* 106(4): 447–53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12135944/>.
- Plonsey, Robert (Duke University), and Roger C. Barr. 1988. *Bioelectricity A Quantitative Approach*. Third Edit. Durham, North Carolina: Springer Science.
- Priebe, Leo, and Dirk J. Beuckelmann. 1998. "Simulation Study of Cellular Electric Properties in Heart

- Failure." *Circulation Research* 82(11): 1206–23.
- Pugsley, M. K., S. Authier, and M. J. Curtis. 2008. "Principles of Safety Pharmacology." *British Journal of Pharmacology* 154(7): 1382–99.
- Roden, Dan M, and Prakash C Viswanathan. 2005. "Genetics of Acquired Long QT Syndrome." *Journal of Clinical Investigation* 115(8): 2025–32. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16075043/>.
- Roth, Gregory A et al. 2020. "Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study." *Journal of the American College of Cardiology* 76(25): 2982–3021.
- Sánchez-Marteles, M., J. Rubio Gracia, and I. Giménez López. 2016. "Fisiopatología de La Insuficiencia Cardíaca Aguda: Un Mundo Por Conocer." *Revista Clínica Española* 216(1): 38–46.
- Sastre, Iván José, and Ricardo Pérez. 2014. "Anatomía Y Fisiología Del Corazón." *Anatomía y fisiología del corazón*: 1–30. <https://www.faeditorial.es/capitulos/infarto-miocardio.pdf>.
- Schmidt, Ulrich, Chul Soo Kim, Angelia A Doye, and Judith K Gwathmey. 1998. "Contribution of Abnormal Sarcoplasmic Reticulum ATPase Activity to Systolic and Diastolic Dysfunction in Human Heart Failure." *Article in Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. <https://www.researchgate.net/publication/13486143>.
- Shannon, Thomas R., Fei Wang, and Donald M. Bers. 2005. "Regulation of Cardiac Sarcoplasmic Reticulum Ca Release by Luminal [Ca] and Altered Gating Assessed with a Mathematical Model." *Biophysical Journal* 89(6): 4096–4110. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.105.068734>.
- Tomek, Jakub et al. 2019. "Development, Calibration, and Validation of a Novel Human Ventricular Myocyte Model in Health, Disease, and Drug Block." *eLife* 8: 1–48.
- Trenor, Beatriz et al. 2012. "Simulation and Mechanistic Investigation of the Arrhythmogenic Role of the Late Sodium Current in Human Heart Failure." *PLoS ONE* 7(3): 11–13.
- Ulate Montero, Guido, and Adriana Ulate Campos. 2008. "Actualización En Los Mecanismos Fisiopatológicos de La Insuficiencia Cardíaca." *Acta Médica Costarricense* 50(1).
- Vicente, Jose et al. 2018. "Mechanistic Model-Informed Proarrhythmic Risk Assessment of Drugs: Review of the 'CiPA' Initiative and Design of a Prospective Clinical Validation Study." *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 103(1): 54–66.
- Walker, C. A., and F. G. Spinale. 1999. "The Structure and Function of the Cardiac Myocyte: A Review of Fundamental Concepts." *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 118(2): 375–82.
- Walmsley, John et al. 2013. "MRNA Expression Levels in Failing Human Hearts Predict Cellular Electrophysiological Remodeling: A Population-Based Simulation Study." *PLoS ONE* 8(2).
- Weinhaus, Anthony J., and Kenneth P. Roberts. 2005. "Anatomy of the Human Heart." *Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, and Devices: Second Edition*: 59–85.
- Weiss, James N et al. 2010. "Early Afterdepolarizations and Cardiac Arrhythmias." *Heart Rhythm* 7(12): 1891–99. </pmc/articles/PMC3005298/>.
- Zhang, Yu et al. 2008. "Simulation Study of Transmural Cellular Electrical Properties in Failed Human Heart." *Chinese Journal of Biomedical Engineering* 27(4): 526–32.
- Zlochiver, Sharon. 2010. "Subthreshold Parameters of Cardiac Tissue in a Bi-Layer Computer Model of Heart Failure." *Cardiovascular Engineering* 10(4): 190–200.

PRESUPUESTO

1. INTRODUCCIÓN

El presupuesto realiza una estimación los costes del trabajo realizado que, por su carácter, incluye los siguientes tipos:

1. Coste de mano de obra.
2. Coste de *hardware*.
3. Coste de *software*.

Los costes de *hardware* y *software* se calcularán teniendo en cuenta la amortización de cada elemento siguiendo la siguiente fórmula:

$$\text{Coste imputable en ausencia de IVA} = \frac{\text{Tiempo de uso}}{\text{Tiempo de vida útil}} \times \text{Coste sin IVA} \quad (9)$$

2. PRESUPUESTO DETALLADO

2.1. COSTE DE MANO DE OBRA

En el siguiente apartado se precisan los costes de personal, es decir, las personas que han trabajado y desarrollado el proyecto. A continuación, se presenta brevemente a cada una de ellas junto su titulación y su cometido en este TFG:

- Beatriz Ana Trénor Gomis: Doctora Ingeniera Industrial. Tutora principal, encargada de la dirección y supervisión del proyecto, junto con la corrección del mismo. Principalmente la parte teórica.
- Jordi Llopis Lorente: Estudiante de doctorado, graduado en el Grado de Ingeniería Biomédica y Máster en Ingeniería Biomédica. Co-tutor, encargado de la supervisión de trabajo y asistencia en la parte práctica, que se corresponde el código de la programación de los modelos computacionales.
- Sara de Scals Carmona: Estudiante del Grado de Ingeniería Biomédica. Encargada de la modificación de los códigos, la ejecución de las simulaciones y el análisis de los resultados.

Nº	Mano de obra	Coste unitario	Horas	Total
1	Ingeniero biomédico <i>junior</i>	15 €/h	300 h	4.500 €
2	Doctor Ingeniero tutor	25 €/h	32 h	800 €
3	Ingeniero co-tutor	20 €/h	32 h	640 €
Total mano de obra:				5.940 €

Tabla 12. Coste desglosado de la mano de obra.

En la Tabla 12 se encuentran desglosados los costes debidos a la remuneración de los usuarios que intervinieron en el proyecto. Los costes unitarios dependen de la categoría o titulación del personal.

2. 2. COSTE DE HARDWARE

En este apartado se detallan los costes asociados con el material electrónico físico empleado mediante el cálculo del coste imputable según la fórmula (10).

Nº	Equipo / Hardware	Coste sin IVA	Cantidad	$\frac{Uso}{Vida\ útil}$	Coste imputable sin IVA
1	Ordenador portátil Lenovo Yoga 530-14IKB i5-8250U 14"	750 €	1 u	7/60 meses	87,5 €
2	Disco duro externo 1,5 Tb	86 €	1 u	7/96 meses	6,27 €
Total hardware:					93,77€

Tabla 13. Coste imputable sin IVA desglosado del hardware.

2. 3. COSTE DE SOFTWARE

El coste de software engloba los costes de programas informáticos utilizados para llevar a cabo el proyecto. A continuación, se detallan aquellos que fueron utilizados y su función:

- Windows 10 (Microsoft Corporation, Redmond (WA), EEUU): Sistema operativo del ordenador empleado. *Coste englobado en el precio de compra del ordenador.
- Microsoft Office 365 (Microsoft Corporation, Redmond (WA), EEUU): Paquete de programas informáticos aplicaciones que realizan tareas ofimáticas, con la que se realizó la redacción del trabajo.
- Matlab 2019Ra (TheMathWorks Inc., Natick (MA), EE. UU.): Programa utilizado para desarrollar y modificar el código de los modelos computacionales, y realizar y graficar las simulaciones.

Nº	Programa / Software	Coste sin IVA	Cantidad	$\frac{Uso}{Duración\ licencia}$	Coste imputable sin IVA
1	Windows 10	119,99 €	1 u	7/60 meses	*0,00 €
2	Microsoft Office 365	69 €	1 u	7/12 meses	40,25 €
3	Matlab 2019 Ra	800 €	1 u	7/12 meses	466,67
Total software:					506, 92 €

Tabla 14. Coste imputable sin IVA desglosado del software.

2. 4. COSTE TOTAL

El coste total del proyecto es la suma del coste de mano de obra junto con el coste de *hardware* y *software*, a los que se le debe aplicar el Impuesto sobre el Valor Añadido (IVA) de un 21%.

Nº	Tipo de costes	Coste imputable sin IVA	Coste imputable con IVA
1	Mano de Obra	5.940 €	7.187,4 €
2	Hardware	93,77 €	113,46 €
3	Software	506,92 €	613,37 €
		Presupuesto Total:	7.914,23 €

Tabla 15. Coste total del proyecto.

Finalmente, se concluye con que el presupuesto total del proyecto tendrá un coste de 7.914,23€.