



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIERÍA
INDUSTRIAL VALENCIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

ESTUDIO MEDIANTE SIMULACIÓN COMPUTACIONAL DE LAS CAUSAS DE LOS ALTERNANTES DE ORIGEN ISQUÉMICO EN CARDIOMIOCITOS VENTRICULARES

AUTOR: INÉS LLORENTE LIPE

TUTOR: JOSE MARÍA FERRERO DE LOMA-OSORIO

COTUTORA: CLAUDIA ESTEBAN PATÓN

Curso Académico: 2020-21

AGRADECIMIENTOS

A Chema por confiar en mi desde el primer momento y darme la posibilidad de realizar este trabajo con él. A Chema y a Claudia por el apoyo constante, por hacer de esto un camino fácil y por todos los buenos momentos juntos.

A mi familia y amigos maños, por seguir estando siempre tan cerca a pesar de la distancia.

A mis amigos de Valencia, por convertirlos en mi familia durante estos cuatro años.

A Aida, por ser mi apoyo incondicional.

RESUMEN

La isquemia miocárdica aguda es un patología que causa aproximadamente 7 millones de muertes al año. Durante la primera fase de esta enfermedad cardiaca se producen potenciales de acción alternantes, que son fuertemente arritmogénicos. Sin embargo, aunque se dispone de estudios donde se han observado dichos alternantes experimentalmente, sus causas son aún desconocidas.

El objetivo del presente TFG es doble. Por un lado, se ha partido de una versión del modelo de O'Hara-Rudy (O'Hara et al., 2011) de potencial de acción ventricular humano desarrollado por Ana González en su TFG (Gonzalez Ascaso, 2019) programado en Matlab y se ha desarrollado una versión que permite el estudio teórico de las causas de la aparición de potenciales de acción alternantes en situaciones de isquemia aguda de miocardio. El segundo objetivo consiste en determinar las causas de estos alternantes. Para ello, se ha programado un módulo nuevo para realizar de manera sistemática un elevado número de simulaciones que permiten identificar las condiciones que dan lugar a alternantes. Además, se han realizado distintas modificaciones de esta nueva versión del modelo para el estudio de los factores isquémicos y de las corrientes y concentraciones iónicas para tratar de dilucidar las causas de los mismos, y estudiar potenciales formas terapéuticas de eliminarlos.

Los resultados obtenidos sugieren que los valores que toman las concentraciones intracelulares de ATP y ADP durante la isquemia aguda son clave en la aparición de alternantes eléctricos a través de la corriente de potasio sensible a ATP. También lo es la concentración extracelular de potasio. Por otro lado, la alternancia que se produce en el ciclo del calcio también tiene efectos en el potencial de acción, al provocar una alternancia en la corriente de calcio a través de los canales de tipo L. Asimismo, la depresión de la corriente rápida de sodio también ha probado ser clave en la aparición de alternantes. Por último, la corriente rápida de potasio favorece el mantenimiento dichos potenciales de acción alternantes, aunque no constituye la causa directa de la aparición de los mismos.

Palabras Clave: isquemia miocárdica aguda, alternantes, factores isquémicos, corrientes iónicas, potencial de acción

RESUM

La isquèmia miocàrdica aguda és un patologia que causa aproximadament 7 milions de morts a l'any. Durant la primera fase d'aquesta malaltia cardíaca es produeixen potencials d'acció alternants, que són fortament aritmogènics. No obstant això, tot i que es disposa d'estudis on s'han observat aquests alternants experimentalment, les seves causes són encara desconegudes.

L'objectiu d'aquest TFG és doble. D'una banda, s'ha partit d'una versió de el model de O'Hara-Rudy (O'Hara et al., 2011) de potencial d'acció ventricular humà desenvolupat per Ana González en el seu TFG (Gonzalez Ascaso, 2019) programat en Matlab i, s'ha desenvolupat una versió que permet l'estudi, mitjançant models computacionals, de les causes de l'aparició de potencials d'acció alternants en situacions d'isquèmia aguda de miocardi. El segon objectiu consisteix a determinar les causes d'aquests alternants. A continuació, s'ha programat un mòdul nou per a realitzar de manera sistemàtica un elevat nombre de simulacions que permeten identificar les condicions que donen lloc a alternants. A més, s'han realitzat diferents modificacions d'aquesta nova versió del model per a l'estudi dels factors isquèmics i dels corrents i concentracions iòniques per tractar de dilucidar les causes dels mateixos, i estudiar potencials formes terapèutiques d'eliminar-los.

Els resultats obtinguts suggereixen que els valors que prenen l'ATP i l'ADP durant la isquèmia són clau en l'aparició de alternants elèctrics a través del corrent de potassi sensible a ATP. D'altra banda, l'alternança que es produeix en el cicle del calci també té efectes en el potencial d'acció, al provocar una alternança en el corrent de calci a través dels canals de tipus L. Així mateix, la depressió del corrent ràpid de sodi també ha provat ser clau en l'aparició de alternants. Finalment, el corrent ràpid de potassi afavoreix el manteniment aquests potencials d'acció alternants, encara que no constitueix la causa directa de l'aparició dels mateixos.

Paraules Clau: isquèmia miocàrdica aguda, alternants, factors isquèmics, corrents iòniques, potencial d'acció

ABSTRACT

Acute myocardial ischemia is a disease that causes approximately 7 million deaths every year. During the first phase of this heart disease, alternans action potentials are produced, which are strongly arrhythmogenic. However, although there are studies where such alternans have been observed experimentally, their causes are still unknown.

The aim of the present TFG is twofold. On the one hand, we have started from a version of the O'Hara-Rudy model (O'Hara et al., 2011) of the human ventricular action potential developed by Ana González during her TFG (Gonzalez Ascaso, 2019) programmed in Matlab and a version has been developed that allows the study, using computational models, of the causes of the appearance of alternans action potentials in situations of acute myocardial ischemia. The second objective is to determinate the causes of these alternans. A new module has then been programmed to systematically perform a large number of simulations to identify the conditions that lead to alternans. In addition, various modifications have been made to this new version of the model to study of ischemic factors and ionic currents and concentrations to try to elucidate the causes their causes and study potentials therapeutic ways of eliminating them.

The results obtained suggest that the values taken by ATP, ADP and extracellular potassium during ischemia are key in the appearance of electrical alternants through the ATP-sensitive potassium current. On the other hand, the alternation that occurs in the calcium cycle also has effects on the action potentials, by causing an alternation in L-type calcium current. Likewise, depression of the fast sodium current has also been shown to be key in the occurrence of alternans. Finally, the fast potassium current favours the maintenance of these alternans action potentials, although it is not the direct cause of their appearance.

Keywords: acute myocardial ischemia, alternans, ischemic factors, ionic currents, action potentials

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 2.1 Anatomía del corazón. Fuente: (Cardiovascular Health: Heart Valves, n.d.).....</i>	<i>3</i>
<i>Figura 2.2. Sistema de conducción eléctrico cardiaco. Fuente: (Electrocardiografía, n.d.)</i>	<i>4</i>
<i>Figura 2.3. Gradientes de difusión y campo eléctrico. (A) Potencial de membrana negativo y (B) Potencial de membrana positivo. Fuente: (Gironés Sanguesa, 2020).....</i>	<i>6</i>
<i>Figura 2.4. Intercambiadores, cotransportadores y bombas. Fuente: modificado de (Gironés Sanguesa, 2020)</i>	<i>7</i>
<i>Figura 2.5. Circuito eléctrico equivalente de un canal iónico. Fuente: modificado de (Gironés, 2020)</i>	<i>8</i>
<i>Figura 2.6. Probabilidad de apertura de las compuertas de los canales iónicos. Fuente: (Jose María Ferrero, 2019a)</i>	<i>8</i>
<i>Figura 2.7. Modelo eléctrico de una célula cardiaca. Fuente: (Gironés, 2020).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2.8. Esquema fases potencial de acción y corrientes iónicas implicadas. Fuente: (Gomez Cruz & Arévalo, 2020).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 2.9. Cambios del potencial de acción en isquemia miocárdica. Fuente: (Jose María Ferrero, 2019b)</i>	<i>11</i>
<i>Figura 2.10. Representación de la alternancia en el ECG, PA y ciclo intracelular del calcio (Laurita & Rosenbaum, 2008).....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 4.1. Esquema del modelo de potencial de acción en miocito ventricular en humano. Fuente: (O'Hara et al., 2011).....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 4.2. Potencial de acción de la simulación estática de 15 minutos.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 4.3. Morfología de los alternantes en tres instantes distintos de la isquemia miocárdica, (A) antes de los alternantes, (B) durante la aparición de alternantes y (C) después de los alternantes.</i>	<i>21</i>
<i>Figura 4.4. Evolución temporal de los factores isquémicos entre el minuto 4.6 y el 6.4.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4.5. Potencial de acción de la simulación (A) con alternantes y (B) sin alternantes.</i>	<i>27</i>
<i>Figura 4.6. (A) Comparación de potenciales de acción de un latido largo y uno corto de una simulación con alternantes; (B) comparación del potencial de acción del latido largo de la simulación con alternantes con otro latido largo de una simulación sin alternantes.....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 4.7. (A) Comparación de potenciales de acción de un latido largo y uno corto de una simulación con alternantes resaltando los 20 milisegundos después de la de divergencia entre ambos potenciales; (B) comparación del potencial de acción del latido largo de la simulación con</i>	

<i>alternantes con otro latido largo de una simulación sin alternantes resaltando los 20 milisegundos después de la de divergencia entre ambos potenciales (B).....</i>	28
<i>Figura 5.1. Aparición de alternantes (A) en el potencial de acción, (B) en el calcio intracelular y (C) en el calcio del subespacio.</i>	30
<i>Figura 5.2. (A) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_i$ en una simulación dinámica; (B) $[Ca^{2+}]_i$ fijado para todos los latidos a partir de la marca roja. (C) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_{ss}$ en una simulación dinámica; (D) $[Ca^{2+}]_{ss}$ fijado para todos los latidos a partir de la marca roja.</i>	31
<i>Figura 5.3. (A) Evolución temporal del potencial de acción en una simulación dinámica; (B) Potencial de acción una vez fijado $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$ a partir de la marca roja.</i>	32
<i>Figura 5.4. (A) PA en una simulación dinámica; (B) PA fijado para todos los latidos a partir de la marca roja.</i>	32
<i>Figura 5.5. (A) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_i$ en una simulación dinámica; (B) $[Ca^{2+}]_i$ una vez se ha fijado el potencial de acción a partir de la marca roja. (C) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_{ss}$ en una simulación dinámica; (D) $[Ca^{2+}]_{ss}$ una vez se ha fijado el potencial de acción a partir de la marca roja.</i>	33
<i>Figura 5.6. Potencial de acción cuando el valor de $[ATP]_i$ es de 7.33 mM, excepto para una corriente (indicada en el panel) que vale 6 mM. Esta corriente es I_{KATP} en (A) e I_{NaK} en (B).</i>	34
<i>Figura 5.7. Potencial de acción cuando el valor del $[ADP]_i$ es de 350 μM, excepto para una corriente (indicada en el panel) que vale 266.6 μM. Esta corriente es I_{KATP} en (A) e I_{NaK} en (B). .</i>	35
<i>Figura 5.8. Potencial de acción para $[ATP]_i = 10$ mM, $[ADP]_i = 15$ μM, LPC = 2 μM, y $[K^+]_o = 11.5$ mM en ambas Figuras, (A) pHi = 6.2 / pHo = 6.4 y (B) pHi = 7.2 / pHo = 7.4.</i>	35
<i>Figura 5.9. Potencial de acción para $[ATP]_i = 10$ mM, $[ADP]_i = 15$ μM, $[K^+]_o = 11.5$ mM, pHi = 7.2 y pHo = 7.4 en ambas Figuras, (A) LPC = 2 μM y (B) LPC = 8 μM.....</i>	36
<i>Figura 5.10. Potencial de acción y (B) corriente I_{Na} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo activador del 3% en el instante marcado en rojo.</i>	37
<i>Figura 5.11. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{CaL} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo activador del 5% en el instante marcado en rojo.</i>	38
<i>Figura 5.12. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{KATP} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibidor del 10% en el instante marcado en rojo.</i>	38
<i>Figura 5.13. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{Kr} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibidor del 15% en el instante marcado en rojo.</i>	39
<i>Figura 5.14. (A) Potencial de acción y (B) corriente J_{rel} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibidor del 85% en el instante marcado en rojo.</i>	39
<i>Figura 5.15. Comparación de la corriente de sodio para el latido largo y el corto.</i>	40
<i>Figura 5.16. Comparación de la corriente rápida de potasio para el latido largo y el corto.</i>	41
<i>Figura 5.17. Comparación de la componente rápida de la corriente de potasio para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.....</i>	41

<i>Figura 5.18. Compuerta de activación (x_r) de la corriente I_{Kr} para la simulación (A) con alternantes y(B) sin alternantes.</i>	<i>42</i>
<i>Figura 5.19. Comparación de corriente de potasio sensible a ATP para el latido largo y el corto.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 5.20. Comparación de la corriente de potasio sensible a ATP para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 5.21. Comparación de la corriente de calcio por los canales tipo L para el latido largo y el corto.</i>	<i>44</i>
<i>Figura 5.22. Comparación de la corriente de calcio por los canales tipo L para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.</i>	<i>44</i>
<i>Figura 5.23. Comparación de la concentración del subespacio de calcio para el latido largo y el corto enteros (A) y del inicio de los latidos (B).</i>	<i>45</i>
<i>Figura 5.24. Φ_{CaL} de la simulación en la que se ha aumentado un 10% el valor la concentración extracelular de calcio en el punto marcado en rojo.</i>	<i>46</i>
<i>Figura 5.25. Potencial de acción de la simulación en la que se ha aumentado un 10% el valor la concentración extracelular de calcio en el punto marcado en rojo.</i>	<i>46</i>

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Corrientes presentes en el modelo de O'Hara</i>	16
<i>Tabla 2. Valores iniciales y finales de los factores isquémicos</i>	20
<i>Tabla 3. Valores de los factores isquémicos para el minuto 4.6 y el 6.4.</i>	22
<i>Tabla 4. Valores de los metabolitos en la primera tanda de simulaciones sistemáticas.</i>	23
<i>Tabla 5. Valores de los metabolitos en la segunda tanda de simulaciones sistemáticas.</i>	24
<i>Tabla 6. Modificaciones realizadas de la versión 2.1 del modelo original.</i>	25
<i>Tabla 7. Umbrales de potenciación parcial e inhibición parcial de las corrientes iónicas necesarios para la desaparición de los potenciales de acción alternantes.</i>	37

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

APD	Duración del potencial de acción
AV	Auriculoventricular
BCL	Periodo de estimulación
E_s	Potencial de equilibrio del ion "S"
JSR	Retículo sarcoplasmático de unión
MYO	Mioplasma
NSR	Retículo sarcoplasmático de red
PA	Potencial de acción
SS	Subespacio celular
TFG	Trabajo Fin de Grado
TFM	Trabajo Fin de Máster

ÍNDICE

DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto

ÍNDICE DE LA MEMORIA

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	1
CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. EL CORAZÓN	3
2.1.1 Anatomía cardiaca.....	3
2.1.2 El ciclo cardiaco	4
2.1.3 Sistema eléctrico de conducción.....	4
2.2 ELECTROFISIOLOGÍA DEL CORAZÓN.....	5
2.2.1 Mecanismos de transporte	5
2.2.2 Los canales iónicos: modelo eléctrico.....	7
2.2.2 Potencial de acción	9
2.3 ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA.....	10
2.3.1 Potenciales de acción alternantes.....	12
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	13
CAPÍTULO 4. DISEÑO DEL SOFTWARE.....	15
4.1 MODELO DE POTENCIAL DE ACCIÓN DE O'HARA	15
4.2 SOFTWARE DE SIMULACIÓN DEL MODELO DE POTENCIAL DE ACCIÓN DE O'HARA	16
4.2.1 Módulo <i>main</i>	16
4.2.2 Módulo <i>model</i>	17
4.3 MÓDULOS DE SIMULACIÓN ADICIONALES IMPLEMENTADOS	20
4.3.1 Simulaciones dinámicas	20
4.3.2 Simulaciones estáticas	22
4.3.3 Módulos de análisis.....	25
4.4 SIMULACIONES SELECCIONADAS PARA ANÁLISIS	26
4.5 CÓDIGOS IMPLEMENTADOS	28

CAPÍTULO 5. RESULTADOS.....	29
5.1 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE POTASIO EN LA APARICIÓN DE ALTERNANTES	29
5.2 RELACIÓN ENTRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN Y EN EL CICLO DEL CALCIO.....	29
5.3 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES ISQUÉMICOS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN.....	33
5.4 DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS CORRIENTES IÓNICAS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN.....	36
5.5 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LAS CORRIENTES IÓNICAS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN	40
5.5.1 Corriente de sodio (I_{Na}).....	40
5.5.2 Corriente rápida de potasio (I_{Kr}).....	41
5.5.3 Corriente de potasio sensible a ATP (I_{KATP}).....	42
5.5.4 Corriente de calcio por los canales tipo L (I_{CaL}).....	44
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES.....	47
CAPÍTULO 7. LÍNEAS DE TRABAJO FUTURAS.....	49
CAPÍTULO 8. REFERENCIAS	51

ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

PRESUPUESTO	57
1. OBJETIVOS	57
2. COSTES PARCIALES	57
2.1 Costes de personal	57
2.2 Costes materiales	58
3. COSTE TOTAL.....	58

Estudio mediante simulación computacional de las causas de los alternantes de origen
isquémico en cardiomiocitos ventriculares

MEMORIA DEL TFG

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la isquemia miocárdica aguda es una de las causas de mortalidad más frecuentes, causando aproximadamente 7 millones de muertes anuales en el mundo. Es una enfermedad cardíaca que se desarrolla por una reducción del flujo sanguíneo en el miocardio, provocando una disminución del aporte de nutrientes y oxígeno a las células cardíacas. Habitualmente, esta patología se produce por la obstrucción total o parcial de una arteria coronaria y puede ser producida por distintos factores, como el desprendimiento de una placa de ateroma o un vasoespasmó de una arteria.

Los primeros 15 minutos de la isquemia miocárdica se denominan ‘fase 1A de la isquemia’, y durante esta fase el corazón sufre importantes cambios metabólicos y electrofisiológicos. En torno al minuto cinco tras la oclusión, en la zona isquémica aparece una alternancia de la amplitud y la duración del potencial de acción. Estas alteraciones tienen diferentes efectos sobre el corazón y, en particular, son precursoras del desarrollo de arritmias. En concreto, se sabe que justo antes de iniciarse la fibrilación ventricular es cuando aparecen los potenciales de acción alternantes. Por ello, es de vital importancia el estudio de la causalidad de este fenómeno.

Desde hace décadas se sabe que es posible modelar computacionalmente la actividad eléctrica del corazón. Utilizando esta herramienta, se pueden estudiar y analizar los efectos eléctricos de la isquemia miocárdica. Estos modelos permiten la simulación del potencial de acción con un gran realismo y, además, en condiciones difícilmente reproducibles de un modo experimental, permitiendo así su estudio sin las limitaciones propias de la experimentación, aunque padeciendo de las inherentes al modelado matemático.

El grupo de investigación de modelado cardíaco perteneciente al Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B) de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), que codirige el tutor del presente Trabajo Fin de Grado (TFG), ha realizado múltiples publicaciones utilizando modelos computacionales de los fenómenos eléctricos del corazón. En varios estudios en los que se ha analizado la isquemia miocárdica aguda se han observado potenciales de acción alternantes; sin embargo, en pocos de ellos se han estudiado a fondo las causas de este fenómeno.

Son antecedentes de este trabajo el TFG de Marta Gironés Sangüesa (Gironés Sangüesa, 2020), en el que se modeló la isquemia miocárdica en una célula aislada, y el Trabajo Fin de Máster (TFM) desarrollado por Claudia Esteban Patón (Esteban Patón, 2021), cotutora de este TFG, en el que se modeló la isquemia miocárdica en tejido cardíaco unidimensional. En ambos trabajos se observaron potenciales de acción alternantes, pero no se analizaron sus causas por no constituir este el objetivo de los citados trabajos.

Por otro lado, en el TFM llevado a cabo por Patricia Olcina González (Olcina González, 2018) se estudió la hiperkalemia, es decir, la acumulación de potasio extracelular durante la isquemia miocárdica. Los resultados del trabajo mostraron que la concentración de este ion sufre una estabilización causada por la aparición de potenciales de acción alternantes y que la estabilización de la concentración extracelular de potasio está directamente relacionada con la aparición de arritmias mortales.

De este modo, se sabe que la alternancia eléctrica provoca la aparición de arritmias relacionadas con la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda. Por ello, el estudio de las causas de los alternantes de origen isquémico en cardiomiocitos ventriculares resulta crucial. El objetivo de este trabajo consiste en realizar este estudio mediante simulación computacional.

En el Trabajo Fin de Grado realizado por Ana González Ascaso (Gonzalez Ascaso, 2019) se completó el modelo de potencial de acción desarrollado por O'Hara y otros (O'Hara et al., 2011) para adaptarlo a los resultados obtenidos en el TFM de Patricia Olcina González. Esta versión es de la que se ha partido en el presente Trabajo Fin de Grado.

Entre las competencias específicas descritas en el Grado de Ingeniería Biomédica impartido en la Universidad Politécnica de Valencia se encuentra la número 14, que indica:

“Capacidad de desarrollar, programar y aplicar métodos matemáticos en el análisis, la modelización y la simulación del funcionamiento de los seres vivos y de los sistemas y procesos utilizados en biología y medicina”.

Entre otras capacidades relacionadas con la Ingeniería Biomédica, es esta competencia la que justifica y se desarrolla en el presente Trabajo Fin de Grado.

CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

2.1. EL CORAZÓN

2.1.1 Anatomía cardiaca

El corazón es el principal órgano del sistema circulatorio. Se encuentra situado en el tórax, en su parte anterior está el esternón y en la posterior, el esófago y la columna vertebral. Descansa sobre el diafragma y en sus laterales se sitúan los pulmones.

El corazón está formado por cuatro cavidades: dos ventrículos, situados en la parte inferior; y dos aurículas, en la superior. Estas cavidades dividen el corazón en el lado derecho y el izquierdo, que se encuentran separados mediante los tabiques auriculares y ventriculares. La aurícula derecha se comunica con el ventrículo derecho mediante la válvula tricúspide y, la aurícula izquierda con el ventrículo izquierdo a través de la válvula mitral.

Estas cavidades están formadas por tres capas de tejido distintas. La más externa es el pericardio, una bolsa que cubre todo el corazón; a continuación, se encuentra el miocardio, el músculo cardiaco; y la más interna es el endocardio.

El corazón se encarga de bombear la sangre que circula por el cuerpo. Para ello, cuenta con las arterias, vasos sanguíneos que sacan la sangre de corazón, y con las venas, vasos que la introducen en él, como se observa en la Figura 2.1. Las venas cava inferior y superior llegan a la aurícula derecha, y del ventrículo derecho salen las arterias pulmonares. Del mismo modo, las venas pulmonares llegan a la aurícula izquierda, y del ventrículo izquierdo sale la arteria aorta. Los ventrículos y las arterias están comunicados mediante válvulas semilunares, estas son las válvulas pulmonares y aórtica, respectivamente.

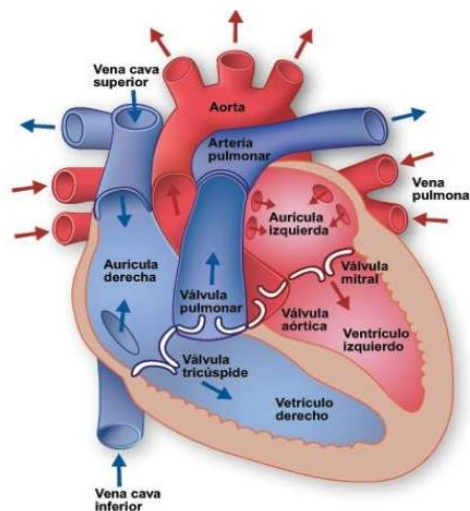


Figura 2.1 Anatomía del corazón. Fuente: (Cardiovascular Health: Heart Valves, n.d.)

Todas las válvulas mencionadas cuentan con la misma función, evitar el retroceso de la sangre una vez que ha pasado de una cavidad a otra.

2.1.2 El ciclo cardíaco

El ciclo cardíaco se define como la repetición de eventos mecánicos y eléctricos que se suceden en cada latido cardíaco. Cada ciclo se inicia debido a la generación de un potencial de acción en el nodo sinusal, provocando la contracción de las aurículas. Y en cada ciclo, el corazón experimenta dos movimientos: la sístole, periodo de contracción en el que se bombea la sangre; y la diástole, periodo de relajación en el que se llenan las cavidades de sangre.

El ciclo cardíaco se divide en cinco fases, el cambio de una a la otra se produce por cambios de presión en las cavidades que provocan el movimiento de la sangre de las zonas de mayor presión a las de menor.

La primera es la relajación isovolumétrica (diástole ventricular temprana), en la que la sangre pasa de las venas hacia las aurículas, aumentando así la presión de estas. Después tiene lugar el llenado ventricular rápido (diástole ventricular), en el que las válvulas mitral y tricúspide se abren, permitiendo un flujo rápido y pasivo de sangre desde las aurículas a los ventrículos. La tercera fase es la diástasis, que consiste en un llenado pasivo de los ventrículos. A continuación, se produce la sístole auricular, es decir, la contracción auricular, eyectando el volumen residual de sangre hacia el ventrículo. Una vez ha pasado toda la sangre de las aurículas a los ventrículos, ocurre la contracción isovolumétrica (primera fase sístole ventricular), en la que las válvulas mitral y tricúspide se cierran debido al aumento de presión de los ventrículos, que supera la de las aurículas. Por último, tiene lugar la eyección ventricular (segunda fase sístole ventricular), en la que la presión de los ventrículos es mayor que la de las arterias, por lo que se abren las válvulas semilunares (aórtica y pulmonar) y la sangre es expulsada del corazón (Universidad Nacional Autónoma de México, 2019).

2.1.3 Sistema eléctrico de conducción

El ciclo cardíaco anteriormente descrito tiene lugar gracias al sistema de conducción eléctrico del corazón. Los impulsos eléctricos que se generan producen la contracción de las células y dan lugar a un latido.

El sistema de conducción eléctrico cardíaco se compone del nodo sinusal, el nodo auriculoventricular (AV), el haz de His, que se divide en la rama derecha y en la izquierda, y el sistema de fibras de Purkinje; estos componentes se observan en la Figura 2.2.

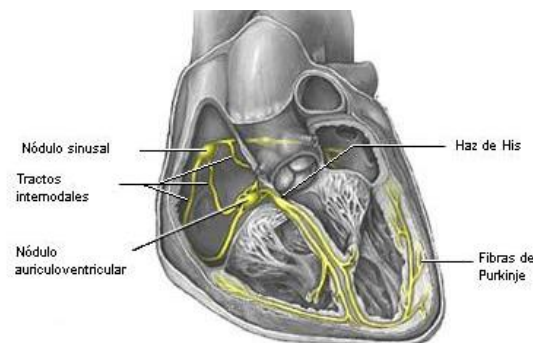


Figura 2.2. Sistema de conducción eléctrico cardíaco. Fuente: (Electrocardiografía, n.d.)

El nodo sinusal se encuentra en la pared de la aurícula derecha y es el que marca el ritmo cardíaco dado que presenta la frecuencia más rápida, 70 latidos por minuto (lpm). La propagación se realiza a través de los tractos internodales hasta el nodo auriculoventricular.

El nodo AV se encuentra en la parte posterior del septum interauricular, y es la única vía de comunicación eléctrica entre las aurículas y los ventrículos. Su velocidad de propagación es muy lenta, lo que permite un óptimo llenado ventricular durante la sístole auricular.

Del nodo AV, la excitación se transmite al haz de His, que propaga la conducción en dos ramas a ambos lados del tabique interventricular, hasta llegar a las fibras de Purkinje, que se ramifican por las paredes de los ventrículos, como se observa en la Figura 2.2. La velocidad del sistema de conducción ventricular es muy rápida, de modo que se transmite de forma casi inmediata a toda la superficie que cubre.

2.2 ELECTROFISIOLOGÍA DEL CORAZÓN

2.2.1 Mecanismos de transporte

La membrana celular está formada por dos capas de lípidos y separa el medio intracelular (interior de la célula) del medio extracelular (exterior de la célula). Estos dos son medios conductores y la membrana es eléctricamente aislante, por lo que entre los tres forman un condensador. La membrana tiene una capacidad de $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ y un espesor de 80 \AA (Guyton & Hall, 2011).

El movimiento de los iones entre ambos medios depende en cierta parte de la difusión y el campo eléctrico. De este modo, estos determinan las concentraciones iónicas a ambos lados de la membrana celular. La difusión es un fenómeno por el cual los iones tienden a moverse de las zonas en las que hay mayor concentración a las que menos. El campo eléctrico, por su parte, hace que los iones se muevan según su carga, ya que los iones negativos tienden a ir hacia zonas positivas, y los positivos, hacia zonas negativas (Malmivuo & Plonsey, 1995).

El sentido de la difusión siempre será el mismo para cada ion ya que las concentraciones de estos no varían lo suficiente entre el medio intracelular y extracelular como para modificarlo. Sin embargo, el campo eléctrico depende del potencial de membrana, por lo que, en función de si este es positivo o negativo, el movimiento de los iones variará.

Los principales iones que se encuentran en la célula son el calcio (Ca^{2+}), el sodio (Na^+), el potasio (K^+) y el cloro (Cl^-). Los gradientes de difusión y campo eléctrico para estos iones se observan en la Figura 2.3.

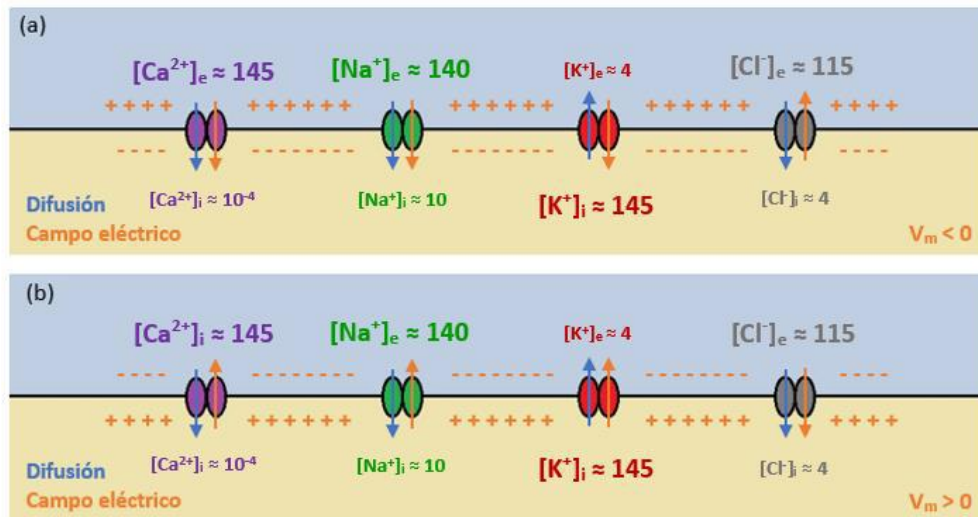


Figura 2.3. Gradientes de difusión y campo eléctrico. (A) Potencial de membrana negativo y (B) Potencial de membrana positivo. Fuente: (Gironés Sanguesa, 2020)

Por otro lado, como la membrana es un elemento aislante, los iones necesitan mecanismos de transporte específicos para poder atravesarla. Estos mecanismos se dividen en dos categorías, los pasivos y los activos, y se representan en la Figura 2.4. Los canales iónicos, los intercambiadores y los cotransportadores forman parte del grupo de los pasivos. Las bombas son activas, ya que necesitan de energía para funcionar (Malmivuo & Plonsey, 1995).

Los intercambiadores iónicos realizan el intercambio de iones entre el medio extracelular y el intracelular. El intercambiador Sodio-Calcio (Na^+-Ca^{2+}) extrae un ion de calcio e introduce tres de sodio. Por difusión, el sodio tiende a entrar aportando así la energía suficiente para sacar el calcio. Por otro lado, también existe el intercambiador sodio-protones (Na^+-H^+), igual que en el caso anterior, la energía proporcionada por introducir un ion sodio se utiliza para extraer un protón.

Un cotransportador se basa en un método parecido al anteriormente descrito, pero en este caso utiliza la energía aportada por un ion que sale de la célula de forma pasiva, para extraer otro con él. En el cotransportador Cl^-K^+ , el ion de potasio proporciona la energía necesaria para extraer el de cloro.

El único mecanismo activo, las bombas, requiere de energía externa ya que los iones implicados se mueven en el sentido contrario al gradiente de difusión. La bomba Na^+-K^+ capta 3 iones de sodio del medio intracelular y 2 de potasio del extracelular, y los intercambia. Esa energía externa la aporta una molécula de adenosín trifosfato (ATP) del medio intracelular debido a la desfosforilación que sufre al entrar en contacto con una enzima ATPasa que se encuentra en la bomba. También hay bombas de un solo ion, la bomba de calcio extrae este ion al medio extracelular.

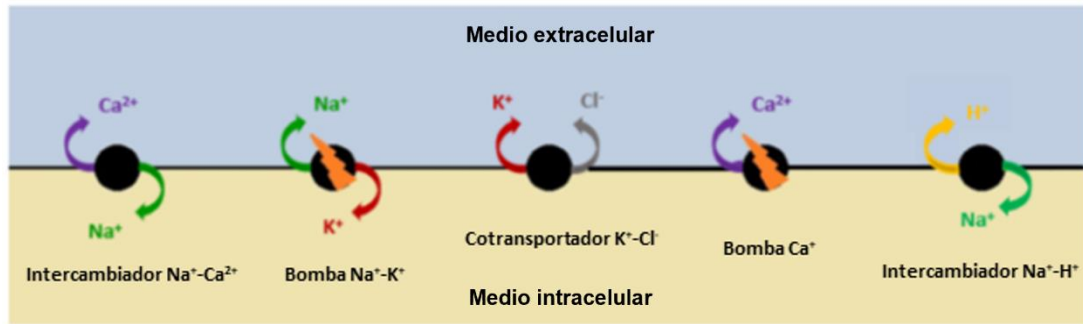


Figura 2.4. Intercambiadores, cotransportadores y bombas. Fuente: modificado de (Gironés Sanguesa, 2020)

2.2.2 Los canales iónicos: modelo eléctrico

Los canales iónicos se encuentran en la membrana celular y son proteínas con poros que cuentan con una cierta selectividad iónica, por lo que por cada canal solo pueden pasar ciertos iones.

Las proteínas que forman los canales pueden variar su estado conformacional abriendo y cerrando el canal. Normalmente estos cambios se producen por una variación en el potencial de membrana, este tipo de canales se denominan voltaje-dependientes. Por otro lado, existen los canales ligando-dependientes, que varían su estado si un ligando concreto se une a estas proteínas.

Los canales ofrecen resistencia al paso de los iones y se utiliza el termino de conductancia para expresar este fenómeno, que se define como la facilidad que tiene el canal para dejar pasar los iones.

Respecto al campo eléctrico al que están sometidos los iones, se representa mediante el potencial de membrana (V_m), y el gradiente de difusión, con el potencial de equilibrio del ion (E_s).

El potencial de equilibrio de un ion indica el potencial de membrana que debería haber para que el ion no tendiera a moverse de un medio a otro. Depende de las concentraciones de cada ion en el medio intracelular y extracelular y se expresa mediante la ecuación de Nernst (Ferrero Corral, 1994).

$$E_s = \frac{RT}{z_s F} \ln \frac{[S]_e}{[S]_i} \quad (1)$$

Siendo R la constante universal de los gases ideales, T la temperatura, F la constante de Faraday, z la valencia del ion, $[S]_e$ y $[S]_i$ las concentraciones del ion en el medio extracelular e intracelular, respectivamente.

De este modo, la corriente eléctrica que atraviesa un canal se representa en la Figura 2.5 y se define en la siguiente ecuación (Ferrero Corral, 1994).

$$I_s = \gamma_s (V_m - E_s) \quad (2)$$

Siendo γ_s la conductancia unitaria del canal y $(V_m - E_s)$ la fuerza de accionamiento o *driving force*.

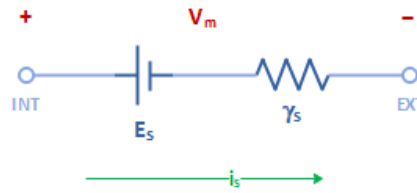


Figura 2.5. Circuito eléctrico equivalente de un canal iónico. Fuente: modificado de (Gironés Sanguesa, 2020)

Sin embargo, las células están formadas por familias de canales, no por canales individuales. En el modelo equivalente de una familia de canales iónicos, la corriente iónica depende de la conductancia total de la familia (G_s).

$$I_s = G_s (V_m - E_s) \quad (3)$$

La conductancia total de la familia se define como:

$$G_s = N_s \gamma_s f_s \quad (4)$$

Donde N_s es el número de canales de la familia, γ_s la conductancia unitaria, y f_s la fracción de canales abiertos (en tanto por uno).

La fracción de canales abiertos en un instante t se representa en la siguiente ecuación (Ferrero Corral, 1994).

$$\frac{df_s}{dt} = \frac{f_\infty(V_m) - f_s(t)}{\tau_f(V_m)} \quad (5)$$

Donde f_∞ es la fracción estacionaria de canales abiertos $[0,1]$ y τ_f la constante de tiempo.

La probabilidad de que un canal iónico esté abierto dependerá de sus compuertas y hay dos tipos: de activación e inactivación. La probabilidad de apertura de las de activación aumenta cuando lo hace el potencial de membrana, en cambio, la probabilidad de apertura de las de inactivación disminuye cuando aumenta el potencial, como se representa en la Figura 2.6.

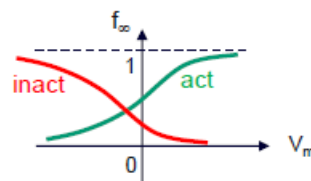


Figura 2.6. Probabilidad de apertura de las compuertas de los canales iónicos. Fuente: (Ferrero, 2019a)

Por lo tanto, el canal permite el paso de corriente si todas las compuertas están abiertas.

La constante de tiempo dictamina la rapidez del canal de reaccionar al cambio de potencial, por lo tanto, la rapidez para abrirse y cerrarse. Esta depende de las propias constante de tiempo de cada compuerta.

Por último, el modelo eléctrico de una célula (Figura 2.7) se representa como todas las familias de canales iónicos conectadas en paralelo entre el medio extracelular y el intracelular, así como

el resto de mecanismos de transporte (cotransportador, bombas e intercambiadores), y la capacidad de la membrana celular. La suma de todas estas corrientes más la corriente externa, conocida como corriente de estímulo, ha de ser cero. Esta corriente es la que aporta el estímulo necesario para aumentar el potencial de membrana lo suficiente y, de este modo, se dispare el potencial de acción.

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum_S I_S + \sum_{B,I} I_{B,I} + I_{stim} = 0 \quad (6)$$

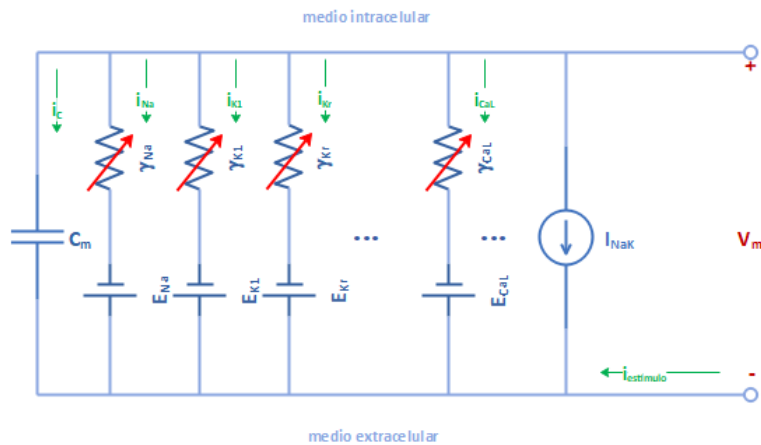


Figura 2.7. Modelo eléctrico de una célula cardíaca. Fuente: (Gironés Sanguesa, 2020)

2.2.2 Potencial de acción

El corazón está formado por células excitables denominadas cardiomiocitos que son capaces de generar un potencial de acción si reciben un estímulo externo suficientemente grande.

Cuando la célula se encuentra en reposo, el interior de la membrana está cargado negativamente y el exterior positivamente, con una diferencia entre ambos medios de -85mV. A esa diferencia de potencial se le llama potencial de membrana.

De este modo, el estímulo que recibe la célula hace aumentar el potencial de membrana, provocando el desarrollo de un potencial de acción (PA). En la Figura 2.8 están representadas las cinco fases del PA y las corrientes iónicas implicadas.

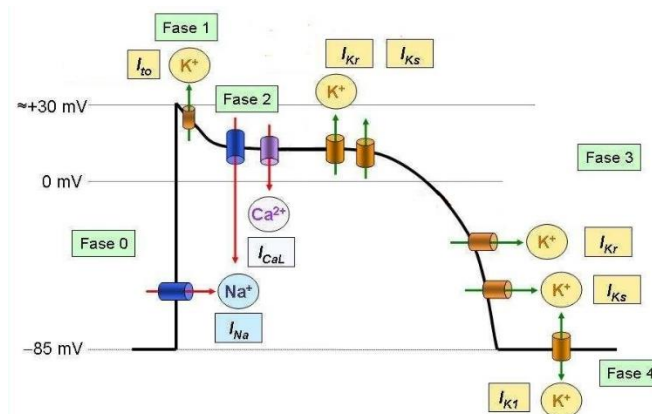


Figura 2.8. Esquema fases potencial de acción y corrientes iónicas implicadas. Fuente: (Gomez Cruz & Arévalo, 2020)

Cuando la célula es excitada por el estímulo, la membrana es despolarizada y, si alcanza el potencial umbral (-65 mV), se genera el potencial de acción.

FASE 0. Esta primera fase rápida de despolarización se debe a la entrada masiva de iones de Na^+ ya que, al aumentar el V_m , se abren las compuertas de activación de estos canales. Estas compuertas cuentan con unas constantes de tiempo muy pequeñas, por ello, la corriente es muy rápida, y se produce una gran pendiente en el potencial de acción, hasta llegar a 30 mV. Los canales se mantienen abiertos hasta que las compuertas de inactivación se cierran, ya que tardan más en reaccionar al tener una constante de tiempo más grande.

FASE 1. La primera fase de repolarización se debe a la activación de la corriente transitoria I_{to} , esta cuenta con una compuerta de activación y otra de inactivación, por lo que provoca una repolarización corta y rápida.

FASE 2. La fase de meseta representa un equilibrio entre las corrientes entrantes y salientes. Las entrantes corresponden con la corriente lenta de Na^+ (I_{NaL}) y con la de Ca^{2+} a través de los canales tipo L (I_{CaL}). Las salientes son las corrientes rápidas (I_{Kr}) y lentas (I_{Ks}) de K^+ .

FASE 3. La repolarización se acelera debido a que las corrientes entrantes disminuyen al cerrarse las compuertas de inactivación y, de este modo, las corrientes de potasio predominan, haciendo que el potencial de acción disminuya progresivamente.

FASE 4. Al final de la fase anterior se activa la corriente I_{K1} que determina el nivel de potencial de membrana en el reposo. Esto se debe a que es un canal sin compuertas, por lo que una vez se han cerrado el resto de canales de potasio, los iones terminan de salir por este hasta alcanzar el potencial de reposo, que coincidirá con el potencial de equilibrio del potasio.

Los cardiomiocitos cuentan con la propiedad de refractariedad, por la que una célula permanece un tiempo sin poder ser excitada después de un potencial de acción. A este tiempo se le llama periodo refractario, y se divide en dos fases. La primera corresponde con el periodo refractario absoluto y, en él, la célula no puede ser excitada. Después, durante el periodo refractario relativo, puede ser excitada, pero necesita un impulso mayor al normal para poder excitarse. Cuando este tiempo termina, la célula vuelve a su estado de reposo. Esto se debe a que los canales de Na^+ y K^+ necesitan un tiempo para volver a su estado inicial después de cada potencial de acción.

2.3 ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA

La isquemia miocárdica aguda está considerada como la causa de muerte natural más frecuente (Steg et al., 2012). Se produce cuando el flujo sanguíneo al corazón se ve reducido, provocando que las células no puedan realizar adecuadamente los procesos metabólicos. Esta reducción normalmente es debida a una oclusión parcial o total de las arterias del corazón (arterias coronarias). Además de reducir la capacidad del miocardio para bombear sangre, también puede provocar el desencadenamiento de arritmias, como la fibrilación ventricular.

Los primeros 15 minutos de la isquemia miocárdica se denominan la 'fase 1A de la isquemia', y durante esta fase el corazón sufre los mayores cambios metabólicos y electrofisiológicos. Tienen lugar tres importantes alteraciones metabólicas: acidosis (disminución del pH), hiperkalemia (aumento de la concentración extracelular de potasio) e hipoxia (disminución de oxígeno que

deriva en una disminución de ATP) (Janse & Wit, 1989). Como consecuencia, la actividad de los canales iónicos varía, provocando cambios en el potencial de acción (Figura 2.9): el potencial de reposo aumenta, la duración y amplitud del potencial de acción disminuyen, así como la velocidad de despolarización. Además, las células pierden excitabilidad como consecuencia de un aumento del periodo refractario (ERP) (Noma, 1983).

La duración del potencial de acción (APD) se mide mediante el parámetro APD_{90} . Este mide el tiempo transcurrido entre el 50% de la despolarización y el 90% de la repolarización del potencial de acción (Sierra et al., 2008).

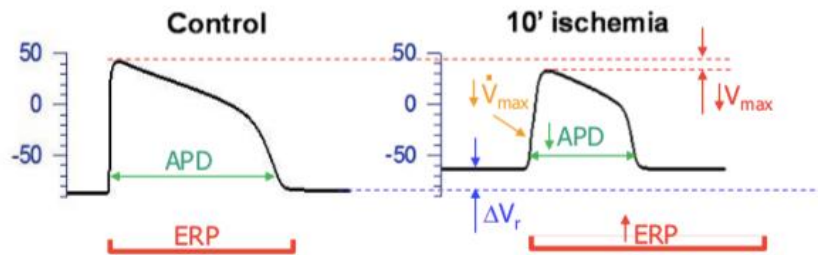


Figura 2.9. Cambios del potencial de acción en isquemia miocárdica. Fuente: (Ferrero, 2019b)

La disminución en la duración del potencial de acción es debida a la hipoxia. La consecuencia directa de la disminución de oxígeno es la caída de los niveles de ATP, así como un aumento de la concentración de adenosín difosfato (ADP) en el medio intracelular. Esto reduce la actividad de la bomba Na^+/K^+ y provoca la activación de la corriente de potasio sensible a ATP (I_{KATP}) (Noma, 1983). Como resultado se produce un aumento de la salida de potasio de la célula, lo que conduce a una repolarización más rápida, y a un acortamiento del APD.

La acidosis supone una disminución del pH, tanto intracelular como extracelular, aproximadamente de 7.2 a 6.2, y de 7.4 a 6.4, respectivamente. Esta variación deriva en una reducción de la conductancia de los canales de Na^+ y los canales de Ca^{2+} tipo-L ya que dependen de la concentración de H^+ y estos iones se acumulan en la célula por la acidosis (Sato et al., 1985). La consecuencia directa es una despolarización más lenta y, por lo tanto, una menor pendiente máxima de despolarización. Además, también disminuye la excitabilidad de la célula.

El aumento de la concentración extracelular de K^+ denominado hiperkalemia provoca un aumento del potencial de reposo de la célula. La acumulación de este ion se debe principalmente a tres mecanismos: la activación de la corriente I_{KATP} , la inhibición parcial de la bomba Na^+/K^+ y la inactivación de la corriente lenta de sodio, I_{NaL} (Ferrero et al., 2014). Al aumentar $[K^+]_o$, lo hace su potencial de equilibrio y, por lo tanto, el potencial de reposo de la célula, ya que, como se ha comentado anteriormente, depende de dicho potencial de equilibrio a través de la corriente I_{K1} .

Además, durante la isquemia también se produce el aumento de los niveles intracelulares de algunos metabolitos lipídicos como la lisofosfatidilcolina (LPC). Como resultado, se activa la corriente lenta del sodio, aumentando así la entrada de Na^+ a la célula y la actividad de la bomba sodio-potasio (Ferrero et al., 2006)

Por último, del minuto 15 al 45 tiene lugar la 'fase 1B de la isquemia', durante la que se produce el desacoplamiento celular, y el tejido isquémico deja de ser excitable (Ferrero et al., 2014).

2.3.1 Potenciales de acción alternantes

La alternancia de la onda T en el electrocardiograma (Figura 2.10) se ha utilizado como un importante indicador de vulnerabilidad de taquicardia ventricular y de arritmias cardiacas en general, en isquemia miocárdica aguda (Deng et al., 2017).

Esta alternancia de la onda T se ve reflejada en los potenciales de acción como una alternancia en la amplitud y duración de estos en la zona isquémica. Los alternantes empiezan a aparecer en el minuto 3 de la isquemia, durante la 'fase 1A', y desaparecen entorno al minuto 8. Al principio presentan una alternancia 1:1, es decir, largo-corto-largo-corto. Sin embargo, después la alternancia se vuelve más compleja presentando patrones de 1:2:1 o incluso 1:3:1. Son de gran importancia ya que pueden suponer el escenario perfecto para arritmias al provocar un alto grado de heterogeneidad en el tejido (De Castro et al., 2014).

No solo han sido observados alternantes eléctricos, sino también en el ciclo del calcio intracelular, como se observa en la Figura 2.10. Esto tiene como consecuencia una alternancia en la corriente de calcio (I_{CaL}).



Figura 2.10. Representación de la alternancia en el ECG, PA y ciclo intracelular del calcio
(Laurita & Rosenbaum, 2008)

Los potenciales de acción alternantes que se dan durante la isquemia miocárdica tienen unas características únicas que no poseen los alternantes producidos durante otras patologías (Surawicz & Fisch, 1992). La principal característica es una lenta despolarización dividida en dos tramos que presentan los latidos largos, en cambio, los latidos cortos tienen una amplitud menor ya que solo cuentan con el primer tramo de la despolarización, y su APD también es menor (Kleber et al., 1978).

La primera fase de la despolarización depende de la corriente de sodio (I_{Na}), mientras que la segunda es mantenida por la corriente de los canales tipo L de calcio (I_{CaL}). De este modo, la alternancia anteriormente comentada del ciclo del calcio intracelular puede ser la responsable de la alternancia en los PA (De Castro et al., 2014). Sin embargo, el complejo mecanismo responsable de los potenciales de acción alternantes en la isquemia todavía no ha sido completamente establecido.

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

Los potenciales de acción alternantes se producen durante la primera fase de la isquemia miocárdica aguda y dan lugar al desarrollo de arritmias mortales. Sin embargo, a pesar de la incidencia de esta patología y sus efectos, no se conocen las causas precisas que dan lugar a la aparición de esta alternancia eléctrica.

Por ello, este TFG tiene dos objetivos principales. El primero consiste en **desarrollar un software de simulación en entorno Matlab® que permita simular los potenciales de acción, las corrientes iónicas y las concentraciones iónicas en una célula aislada sometida a condiciones de isquemia miocárdica aguda y que esté adaptado para el estudio de los alternantes eléctricos**. El segundo objetivo es **estudiar, utilizando el software antedicho, las causas de la aparición de los potenciales de acción alternantes en el nivel de los canales iónicos y las concentraciones iónicas**.

El primer objetivo se divide en dos subobjetivos.

- ✓ Adaptar el modelo y el software desarrollados por Ana González (Gonzalez Ascaso, 2019) para el estudio de los alternantes eléctricos.
- ✓ Elaborar un nuevo módulo de software para la ejecución sistemática de simulaciones con la finalidad de estudiar la influencia de los factores isquémicos en la aparición de los potenciales de acción alternantes.

El segundo objetivo está dividido en tres subobjetivos.

- ✓ Determinar la influencia de los factores isquémicos, entendidos estos como la concentración intracelular de ATP y ADP, el valor de pH intracelular y extracelular, el valor del metabolito LPC y la concentración extracelular de potasio, en la aparición de alternantes del potencial de acción.
- ✓ Establecer la relación entre la alternancia eléctrica y la del ciclo del calcio, que tiene como consecuencia una alternancia en la concentración intracelular y del subespacio del calcio.
- ✓ Realizar un análisis sobre los efectos que tienen las corrientes iónicas en el desarrollo de alternantes mediante un análisis de sensibilidad.

CAPÍTULO 4. DISEÑO DEL SOFTWARE

4.1 MODELO DE POTENCIAL DE ACCIÓN DE O'HARA

Para el desarrollo de este TFG se ha utilizado el modelo de potencial de acción de miocito ventricular humano aislado desarrollado por Thomas O'Hara y otros (O'Hara et al., 2011) implementado en el lenguaje MATLAB®. El modelo de O'Hara constituye el estado del arte en modelado electrofisiológico cardiaco celular, y ha sido adoptado por la FDA (*Food and Drug Administration*) como *golden standard* para el estudio *in-silico* de la cardiotoxicidad de fármacos. Sin embargo, este modelo no incluye los efectos electrofisiológicos que afectan al PA durante la isquemia miocárdica aguda. Por ello, se ha utilizado la versión 2.0 del modelo de O'Hara desarrollada por Ana González en su Trabajo Fin de grado (Gonzalez Ascaso, 2019; Gonzalez-Ascaso et al., 2019), que sí contiene estos efectos.

En la Figura 4.1 se encuentran recogidas todas las corrientes presentes en este modelo, que incluyen las corrientes que atraviesan los canales iónicos, bombas, intercambiadores y corrientes por difusión (J_{diff}). En el apartado siguiente se detallarán las ecuaciones más relevantes del modelo. El sistema completo de ecuaciones puede encontrarse en la publicación original (O'Hara et al., 2011).

Se encuentran modeladas en las cuatro partes en las que está dividida la célula: el mioplasma (MYO), el retículo sarcoplasmático de unión (JSR), el retículo sarcoplasmático de red (NSR) y el subespacio (SS) presente en los túbulos T.

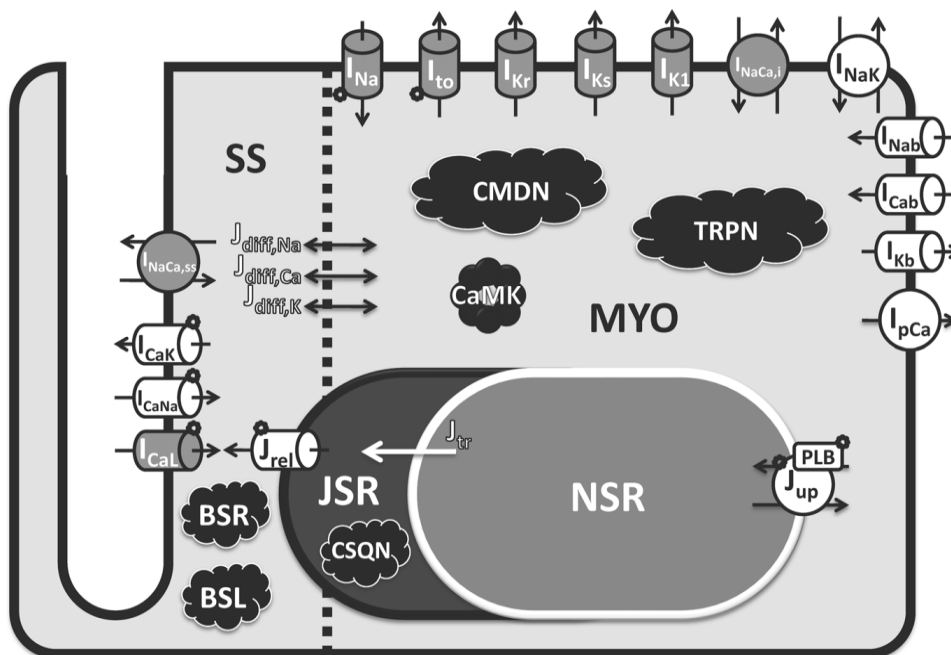


Figura 4.1. Esquema del modelo de potencial de acción en miocito ventricular en humano.
Fuente: (O'Hara et al., 2011)

En la Tabla 1 se recogen todas las corrientes presentes en el modelo.

Corrientes de los canales iónicos de potasio	I_{to}	Corriente transitoria de salida de K^+
	I_{Kr}	Corriente rápida de K^+
	I_{Ks}	Corriente lenta de K^+
	I_{K1}	Corriente rectificadora de K^+
	I_{KATP}	Corriente de K^+ sensible a ATP
	I_{Kb}	Corriente de fondo de K^+ para ajustar el modelo
Corrientes de los canales iónicos de calcio	I_{CaL}	Corriente de Ca^{2+} de los canales tipo-L
	I_{CaNa}	Componente de Na^+ de la corriente de Ca^{2+} tipo-L
	I_{CaK}	Componente de K^+ de la corriente de Ca^{2+} tipo-L
	I_{Cab}	Corriente de fondo de Ca^{2+} para ajustar el modelo
Corrientes de los canales iónicos de sodio	I_{Na}	Componente rápida de la corriente de Na^+
	I_{NaL}	Componente lenta de la corriente de Na^+
	I_{Nab}	Corriente de fondo de Na^+ para ajustar el modelo
Corrientes correspondientes a bombas e intercambiadores	I_{NaK}	Corriente de la bomba sodio/potasio
	I_{pCa}	Corriente de la bomba de Ca^{2+}
	I_{NaCa_i}	Corriente del intercambiador sodio/calcio en el MYO
	$I_{NaCa_{ss}}$	Corriente del intercambiador sodio/calcio en el SS
	J_{rel}	Corriente de Ca^{2+} en el receptor de rianodina
	J_{up}	Corriente de la bomba SERCA
Flujos de difusión	$J_{diff,Na}$	Corriente de difusión del Na^+
	$J_{diff,Ca}$	Corriente de difusión del Ca^{2+}
	$J_{diff,K}$	Corriente de difusión del K^+

Tabla 1. Corrientes presentes en el modelo de O'Hara

4.2 SOFTWARE DE SIMULACIÓN DEL MODELO DE POTENCIAL DE ACCIÓN DE O'HARA

La implementación en MATLAB de este modelo cuenta con dos módulos, el *main* y el *model*. En el *model* se encuentran implementadas todas las ecuaciones correspondientes a las corrientes y los factores isquémicos γ , en el *main*, se definen todas las variables iniciales y se llama al módulo *model* para llevar a cabo la resolución de las ecuaciones definidas en él.

4.2.1 Módulo *main*

En el *main* se definen tres grupos de variables distintas.

El primer grupo (*settings*) son parámetros que indican los valores de inicio y final de los factores isquémicos ($[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH_i , pH_o y LPC), el tiempo que dura la isquemia y en qué minuto empieza y el BCL (periodo de estimulación). Si el *model* no cuenta con los valores de estos parámetros, utiliza los indicados en los *settings*.

El segundo grupo (*isq_act*) sirve para activar, si están a 1, o desactivar, si están a 0, los componentes isquémicos y, por lo tanto, los efectos que estos tienen durante las simulaciones. Hay tres variables distintas y hacen referencia a la hipoxia (afecta al ATP y ADP), a la acidosis (pH_i y pH_o) y a los metabolitos (LPC).

Por último, el tercer grupo (*corr_act*) activa el efecto de los factores isquémicos sobre las corrientes. Del mismo modo que en el anterior grupo, si están a 0 no afectan y si están a 1, sí.

También se puede indicar si la simulación se quiere realizar en *batch mode* o no mediante la variable *batchYN*, es decir, si se quiere que la simulación sea automática o no.

Como variables de salida del *main* se obtienen cuatro matrices. Dos de ellas son vectores de tiempo, uno en minutos (*minTi*) y otro en milisegundos (*Ti*). *StateVars* es la matriz con las 42 variables de estado de las ecuaciones diferenciales contenidas en el *model* y recoge el potencial de membrana, las compuertas de activación e inactivación de las corrientes iónicas y el valor del potasio extracelular, entre otras. Por último, *currents* es una estructura donde se recogen las corrientes iónicas, los factores isquémicos y las funciones isquémicas, que regulan cómo afectan los factores isquémicos a cada una de las corrientes.

El *main* llama al *model* para cada uno de los latidos de la simulación a través la función *ode15s*. Esta resuelve las 42 ecuaciones diferenciales definidas en el *model* mediante el método de las diferencias finitas. Para cada instante de tiempo calcula el nuevo valor de cada variable de estado como el valor del instante de tiempo anterior más un incremento, y este incremento es el que se calcula en las ecuaciones diferenciales.

4.2.2 Módulo *model*

En este módulo se definen los cambios dinámicos que se producen en los metabolitos y las funciones isquémicas para posteriormente ser aplicadas en las ecuaciones de las corrientes iónicas. Este módulo puede dividirse en 4 bloques diferentes que van a ser explicados a continuación.

Este módulo se ejecuta para cada instante temporal de la simulación, por ello, en el primer bloque se define este instante según el número de latido en el que se encuentra y el BCL definido. Además, en este bloque se definen algunas constantes del modelo como concentraciones extracelulares, constantes físicas referentes a la geometría de la célula y los potenciales de equilibrio de cada ion. A continuación, se definen las 42 variables de estado del modelo, dándoles nombre a cada una de ellas.

En el segundo bloque se indican los cambios dinámicos de los metabolitos ($[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH_i , pH_o y LPC) que indican la variación temporal para cada uno de ellos. Cabe destacar que este bloque fue ampliado por parte de Ana González en su TFG (Gonzalez Ascaso, 2019).

En el tercer bloque se definen las funciones isquémicas que indican cómo afecta cada uno de los factores isquémicos a cada corriente iónica.

Por último, en el cuarto bloque se incluyen las ecuaciones de las corrientes iónicas y de los flujos. Las ecuaciones de las corrientes iónicas cuentan con una estructura fija de base.

$$I_s = \prod f_{isq_{Is}} \cdot G_s \cdot prob_apertura_canal \cdot (V_m - E_s) \quad (7)$$

Donde $\prod f_{isq_Is}$ es el producto de las funciones isquémicas definidas en el tercer bloque, G_s es la conductancia máxima de cada canal iónico, y $(V_m - E_s)$ es la *driving force*.

La probabilidad de apertura del canal se calcula como el producto de la probabilidad de apertura de cada una de las compuertas. De este modo, se define una ecuación diferencial, correspondiente con la ecuación (5) para cada compuerta, que indica la variación de la probabilidad de apertura para cada instante temporal.

Además, en algunos casos las compuertas de inactivación pueden estar fosforiladas por CaMK (proteína quinasa II dependiente de Ca^{2+} /calmodulina). La calmodulina se une a los iones de calcio intracelular activando la quinasa y provocando un cambio de conformación de la compuerta, modificando así sus constantes de tiempo (Maier & Bers, 2007). Por ello, si el canal cuenta con compuertas fosforiladas por CaMK se calcula una ecuación diferencial de la probabilidad de apertura distinta para estas compuertas, y se define un factor (f_{Isp}) que indica la cantidad de compuertas fosforiladas en tanto por uno respecto al total. Se multiplica f_{Isp} por las compuertas fosforiladas y $1 - f_{Isp}$ por las no fosforiladas.

A continuación, se indica un listado de las ecuaciones para cada una de las corrientes iónicas que atraviesan un canal iónico incluidas en el modelo:

$$I_{Na} = f_{pHi,INa} \cdot f_{LPC,INa} \cdot G_{Na} \cdot (V_m - E_{Na}) \cdot m^3 \cdot ((1 - f_{INap}) \cdot h \cdot j + f_{INap} \cdot h_p \cdot j_p) \quad (8)$$

$$I_{NaL} = f_{LPC,INaL} \cdot G_{NaL} \cdot (V_m - E_{Na}) \cdot mL \cdot ((1 - f_{INaLp}) \cdot hL + f_{INaLp} \cdot hL_p) \quad (9)$$

$$I_{to} = G_{to} \cdot (V_m - E_K) \cdot ((1 - f_{Itop}) \cdot a \cdot i + f_{Itop} \cdot a_p \cdot i_p) \quad (10)$$

$$I_{Kr} = G_{Kr} \cdot \sqrt{\frac{[K^+]_o}{5.4}} \cdot (V_m - E_K) \cdot xr \cdot rkr \quad (11)$$

$$I_{Ks} = G_{Ks} \cdot K_{SCa} \cdot (V_m - E_{Ks}) \cdot xs1 \cdot xs2 \quad (12)$$

$$I_{K1} = G_{K1} \cdot \sqrt{[K^+]_o} \cdot (V_m - E_K) \cdot rk1 \cdot xk1 \quad (13)$$

$$I_{KATP} = f_{ATP,KATP} \cdot f_{Mg} \cdot f_{Na} \cdot G_{KATP} \cdot \sqrt{\frac{[K^+]_o}{5.4}} \cdot (V_m - E_K) \quad (14)$$

Cabe destacar que el potencial de equilibrio de la corriente I_{Ks} no es del potasio, sino una combinación entre el del potasio y el del sodio, debido a que un 2% de los iones que atraviesan ese canal son de sodio.

Respecto a los canales de calcio tipo L (I_{CaL}), por ellos también pasan iones de Na^+ y K^+ , además de Ca^{2+} . Las corrientes generadas por estos iones se representan mediante I_{CaNa} e I_{CaK} .

$$I_{CaL} = f_{alt,CaL} \cdot f_{pHi,CaL} \cdot f_{pHo,CaL} \cdot Phi_{CaL} \cdot d \cdot ((1 - f_{ICaLp}) \cdot P_{Ca} \cdot (f \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{ca} \cdot n_{ca}) + f_{ICaLp} \cdot P_{Cap} \cdot (f_p \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{cap} \cdot n_{ca})) \quad (15)$$

$$I_{CaNa} = f_{alt,CaL} \cdot f_{pHi,CaL} \cdot f_{pHo,CaL} \cdot Phi_{CaNa} \cdot d \cdot ((1 - f_{ICaLp}) \cdot P_{CaNa} \cdot (f \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{ca} \cdot n_{ca}) + f_{ICaLp} \cdot P_{CaNap} \cdot (f_p \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{cap} \cdot n_{ca})) \quad (16)$$

$$I_{CaK} = f_{alt,CaL} \cdot f_{pHi,CaL} \cdot f_{pHo,CaL} \cdot Phi_{CaK} \cdot d \cdot ((1 - f_{ICaLp}) \cdot P_{CaK} \cdot (f \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{ca} \cdot n_{ca}) + f_{ICaLp} \cdot P_{CaKp} \cdot (f_p \cdot (1 - n_{ca}) + j_{ca} \cdot f_{cap} \cdot n_{ca})) \quad (17)$$

Estas tres corrientes están formuladas empleando la ecuación de voltaje Goldman-Hodgkin-Katz, representada por los factores Phi_{CaL} , Phi_{CaNa} , Phi_{CaK} , en vez de la ecuación de Nernst, para describir la fuerza de accionamiento.

$$Phi_{CaL} = 4 \cdot V_m \cdot \frac{F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[Ca^{2+}]_{ss} \cdot e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 0.341 \cdot [Ca^{2+}]_o}{e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 1} \quad (18)$$

$$Phi_{CaNa} = 4 \cdot V_m \cdot \frac{F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[Na^+]_{ss} \cdot e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 0.341 \cdot [Na^+]_o}{e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 1} \quad (19)$$

$$Phi_{CaK} = 4 \cdot V_m \cdot \frac{F^2}{R \cdot T} \cdot \frac{[K^+]_{ss} \cdot e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 0.341 \cdot [K^+]_o}{e^{2 \cdot V_m \cdot \frac{F}{R \cdot T}} - 1} \quad (20)$$

Donde V_m es el potencial de membrana, F la constante de Faraday, R la constante de los gases ideales, T la temperatura, $[Ca^{2+}]_{ss}$ la concentración de Ca^{2+} en el subespacio, $[Ca^{2+}]_o$ la concentración de Ca^{2+} extracelular, y lo mismo para $[Na^+]_{ss}$, $[Na^+]_o$, $[K^+]_{ss}$ y $[K^+]_o$.

En este corriente no se utiliza la conductancia, como en el resto, sino el concepto de permeabilidad, P_{Ca} para las no fosforiladas y P_{cap} para las fosforiladas. Igual que la conductancia, es una constante.

Las tres compuertas de inactivación de I_{CaL} son voltaje-dependientes, pero dos de ellas, j_{ca} y f_{ca} , también pueden ligarse al ion calcio y este modifica su estado conformacional. n_{ca} es el factor que indica la cantidad de compuertas de inactivación ligadas al ion calcio.

De este modo, las compuertas de inactivación de los canales de calcio tipo-L se diferencian entre fosforiladas y no fosforiladas, y dentro de cada uno de estos grupos, entre las que están ligadas a un ion calcio y las que no.

En cuanto a las bombas y los intercambiadores, las ecuaciones correspondientes son las siguientes:

$$I_{NaCa_i} = f_{pHi,NCX} \cdot 0.8 \cdot G_{NCX} \cdot allo \cdot (z_{Na} \cdot J_{NCX,Na} + z_{ca} \cdot J_{NCX,Ca}) \quad (21)$$

$$I_{NaCa_{ss}} = f_{pHi,NCX} \cdot 0.2 \cdot G_{NCX} \cdot allo \cdot (z_{Na} \cdot J_{NCX,Na} + z_{ca} \cdot J_{NCX,Ca}) \quad (22)$$

$$I_{NaK} = f_{ATP,INaK} \cdot f_{pHi,INaK} \cdot P_{NaK} \cdot (z_{Na} \cdot J_{NaK,Na} + z_{ca} \cdot J_{NaK,K}) \quad (23)$$

$$I_{pCa} = f_{ATP,IpCa} \cdot G_{pCa} \cdot \frac{[Ca^{2+}]_i}{0.0005 + [Ca^{2+}]_i} \quad (24)$$

$$J_{rel} = (1 - f_{Jrelp}) \cdot J_{relnp} + f_{Jrelp} \cdot J_{relp} \quad (25)$$

$$J_{up} = f_{ATP,Jup} \cdot ((1 - f_{Jupp}) \cdot J_{upnp} + f_{Jupp} \cdot J_{upp}) - J_{leak} \quad (26)$$

Donde $J_{NCX,Na}$ y $J_{NCX,Ca}$ son los flujos de sodio y calcio que atraviesan el intercambiador Na^+/Ca^{2+} y $J_{NaK,Na}$ y $J_{NaK,K}$ son los flujos de sodio y potasio que atraviesan la bomba Na^+ .

Por otro lado, J_{relnp} y J_{relp} representan la probabilidad de apertura de los canales RyR del JSR y dependen del calcio presente en el JSR. J_{upnp} y J_{upp} hacen referencia a la probabilidad de apertura de la bomba SERCA, y dependen del calcio intracelular. J_{leak} es una corriente de fuga dependiente del calcio del NSR.

Por último, los flujos de difusión presentes en el modelo son:

$$J_{diff,Na} = \frac{[Na^+]_{ss} - [Na^+]_i}{2} \quad (27)$$

$$J_{diff,K} = \frac{[K^+]_{ss} - [K^+]_i}{2} \quad (28)$$

$$J_{diff,Ca} = \frac{[Ca^{2+}]_{ss} - [Ca^{2+}]_i}{0.2} \quad (29)$$

4.3 MÓDULOS DE SIMULACIÓN ADICIONALES IMPLEMENTADOS

4.3.1 Simulaciones dinámicas

Para poder llevar a cabo un estudio sobre la influencia que tienen los factores isquémicos sobre el potencial de acción, es necesario conocer los valores que toman estos parámetros durante la 'fase 1A' de la isquemia miocárdica. Para ello, se ha realizado una simulación de 15 minutos en la que se ha analizado la aparición de potenciales de acción alternantes durante la isquemia miocárdica, así como, la evolución temporal de los factores isquémicos. Los efectos de la isquemia empiezan a aparecer a partir del minuto cinco de simulación, por lo que, realmente, la información de interés para este estudio es la mostrada a partir de ese instante, que corresponde con el minuto 0 en la Figura 4.2.

Para realizar esta simulación se han tomado los valores iniciales y finales de los factores isquémicos presentes en el modelo utilizado. Estos han sido modificados del modelo original de O'Hara y otros (O'Hara et al., 2011) por parte de Patricia Olcina González en su TFM (Olcina González, 2017) y Ana González Ascaso en su TFG (González Ascaso, 2019).

	[ATP] _i (mM)	[ADP] _i (μM)	pH _i	pH _o	LPC (μM)
Valor Inicial	10	15	7,2	7,4	2
Valor Final	1	80	5,9	6,1	20

Tabla 2. Valores iniciales y finales de los factores isquémicos

Como se observa en la Figura 4.2, a partir de ese instante el potencial de reposo empieza a aumentar, una de las consecuencias de la isquemia que se ha comentado en el Capítulo 2. Un ejemplo de la morfología de los potenciales de acción en ese periodo de tiempo está representado en la Figura 4.3 (A).

Por otro lado, se ha identificado en qué minuto empiezan los alternantes y hasta qué instante de tiempo permanecen. Los alternantes aparecen entre el minuto 4.6 y el 6.4, como se observa en la Figura 4.2, y un ejemplo de su morfología se muestra en la Figura 4.3 (B).

Por último, en la última etapa de la isquemia, los potenciales de acción dejan de dispararse ya que las células dejan de ser excitables, como se observa en la Figura 4.3 (C).

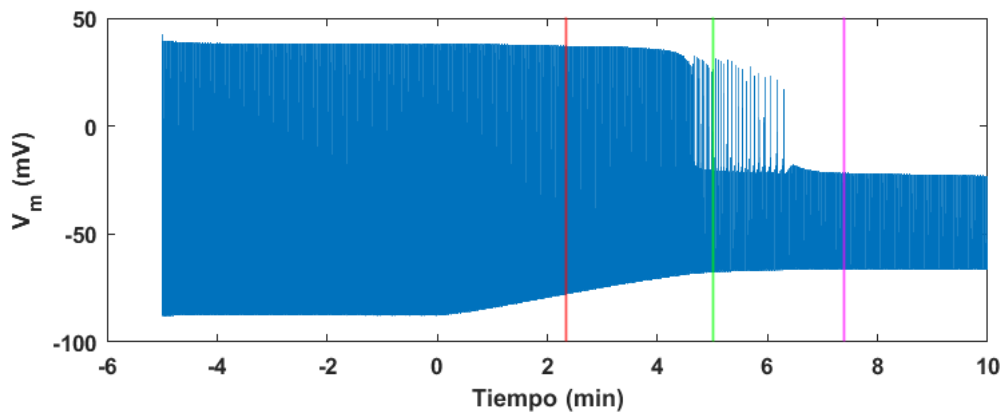


Figura 4.2. Potencial de acción de la simulación estática de 15 minutos.

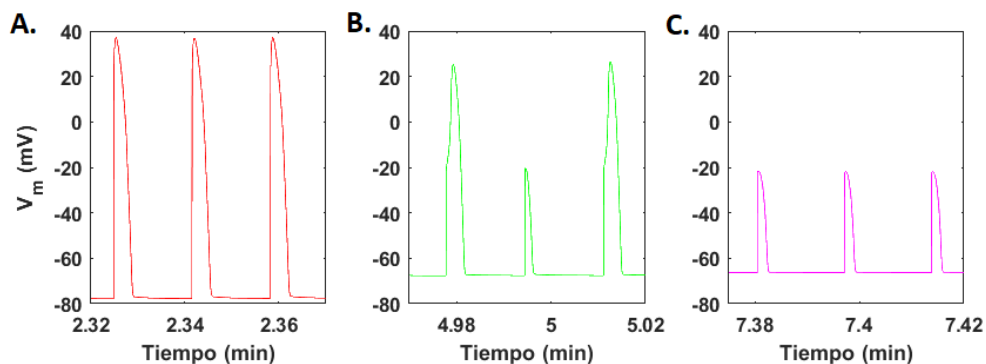


Figura 4.3. Morfología de los alternantes en tres instantes distintos de la isquemia miocárdica, (A) antes de los alternantes, (B) durante la aparición de alternantes y (C) después de los alternantes.

Teniendo en cuenta el rango de tiempo en el que aparecen los potenciales de acción alternantes, se han analizado los valores de los factores isquémicos en él. En la Figura 4.4 se ha representado la evolución temporal de los factores isquémicos desde el minuto 4.6 hasta el 6.4. Por otro lado, en la Tabla 3 se han detallado los valores de los factores en esos instantes concretos. Como factores isquémicos se han tomado $[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH_i , pH_o , LPC y $[K^+]_o$. Cabe destacar que $[K^+]_o$ es una variable de estado en el modelo, por lo tanto, no se han podido fijar sus valores iniciales y finales.

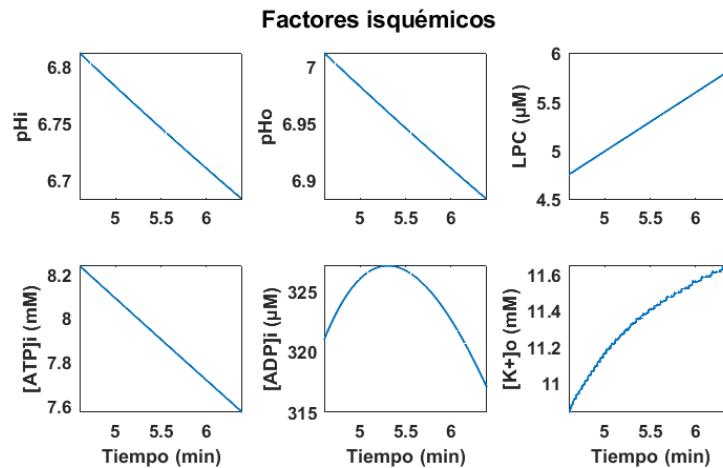


Figura 4.4. Evolución temporal de los factores isquémicos entre el minuto 4.6 y el 6.4.

	[ATP] _i (mM)	[ADP] _i (μM)	pH _i	pH _o	LPC (μM)	[K ⁺] _o (mM)
minuto 4.6	8,4	328	6,85	7,05	4,5	10,5
minuto 6.4	7,4	316	6,65	6,85	6	11,8

Tabla 3. Valores de los factores isquémicos para el minuto 4.6 y el 6.4.

4.3.2 Simulaciones estáticas

Partiendo de los datos obtenidos en la simulación dinámica, se ha desarrollado un nuevo módulo para el estudio sistemático de la influencia de los factores isquémicos sobre los potenciales de acción alternantes. Haciendo uso de este, se han llevado a cabo distintas simulaciones estáticas, en las que cada una ha dependido de una combinación distinta de valores de estos parámetros. De este modo, es posible determinar no solo los efectos de cada uno de los factores por individual sobre el PA, sino también su efecto conjunto.

Para realizar estas simulaciones estáticas se han mantenido constantes los valores de los factores isquémicos durante los 5 minutos que duran las simulaciones. Se ha escogido esta duración para las simulaciones ya que, tanto los parámetros de los que estas dependen, como las concentraciones de los iones, necesitan un tiempo mínimo para estabilizarse. Se ha utilizado un BCL de 1000 ms, es decir, un latido por segundo.

Por otro lado, para poder llevar a cabo estas simulaciones tomando la concentración extracelular de potasio como un factor isquémico, ha sido necesario desarrollar una versión 2.1 del modelo tomado para realizar el presente trabajo fin de grado. Los dos módulos de esta versión se han denominado 'main2019_ORd_MMChAL' y 'model2019_ORd_MMChAL'. En ella, ha sido necesario eliminar [K⁺]_o como variable de estado y se ha establecido como una variable de entrada del modelo.

Los valores de los factores isquémicos se han determinado a partir de los mostrados en la Tabla 3. Se han tomado cuatro valores para cada uno de estos parámetros dentro de los rangos anteriormente determinados, con la especificación de ser equidistantes entre ellos, como se observa en la Tabla 4.

[ATP] _i (mM)	[ADP] _i (μM)	pH _i	pH _o	LPC (μM)	[K ⁺] _o (mM)
7,4	316	6,65	6,85	4,5	10,5
7,733	320	6,7166	6,9166	5	10,933
8,066	324	6,7833	6,9833	5,5	11,366
8,4	328	6,85	7,05	6	11,8

Tabla 4. Valores de los metabolitos en la primera tanda de simulaciones sistemáticas.

Todos los *corr_act* se han puesto a 0, de esta forma, la variación de los factores isquémicos no influye en las corrientes iónicas, y estas solo se ven modificadas por el valor inicial presente en el vector *settings*.

Al contar con cinco variables distintas y cuatro datos para cada una de ellas, se han realizado un total de 1024 simulaciones. Debido al gran volumen de simulaciones que esto supone, se ha diseñado un software de simulaciones, denominado '*Simulaciones_sistemáticas*', que las computa todas ellas de forma automática.

Para ello, se ha creado un bucle con cinco *for* anidados, uno para cada una de las variables. Para el parámetro pH_o, no se ha hecho un *for* ya que está directamente relacionado con pH_i al ser su valor 0.2 unidades más que este. En cada uno de los *for* se coge uno de los valores mostrados en la Tabla 4 para cada parámetro. De este modo, en cada bucle se utiliza una combinación distinta para realizar la simulación. Dentro del bucle, se modifican las variables *settings* correspondientes a cada uno de los factores isquémicos según el valor deseado y se ejecuta la función *main*. Obteniendo así, las matrices *minTi*, *Ti*, *StateVars* y *currents*, y se guardan todas ellas para cada simulación. Además, se grafica el potencial de acción y se guarda la Figura.

Una vez realizadas todas las simulaciones, se ha llevado a cabo una primera clasificación entre aquellas en las que había alternantes y las que no. Para ello, se ha analizado el APD₉₀ de los dos últimos latidos mediante un software denominado '*Calculo_ADP90*' desarrollado por la autora del presente trabajo.

Para su cálculo se ha utilizado tanto el vector de tiempo de cada latido, extraído a partir de *minTi*, como el vector de potenciales, extraído a partir de la primera columna de *StateVars* que corresponde con el potencial de membrana. Para cada latido, se ha calculado el valor pico-pico como la diferencia entre el potencial de reposo y el valor máximo. Y, con esos datos, se ha calculado el valor del potencial de acción para el que se ha producido el 90% de la repolarización, denominado *V90*.

Para calcular el APD₉₀ hay que realizar la diferencia temporal entre dos puntos, el correspondiente al *V90* anteriormente calculado y el instante en el que se ha producido el 50% de la despolarización, como se ha explicado en el Capítulo 2. Para hallar ambos valores, se ha realizado un *for* que pasa por todo el vector de potenciales.

Para cada uno de los puntos, se han comprobado las siguientes condiciones.

```

for i=2:length(PA1)
    if (PA1(i-1) < V90) && (PA1(i) >= V90) && (idx1_0==0)
        idx1_0=i;
    elseif (PA1(i-1) >= V90) && (PA1(i) < V90)
        idx1_f=i;
    else
    end
end

```

end

Siendo $PA1$ el vector de potenciales del latido, $idx1_0$ el índice del punto en la pendiente de despolarización e $idx1_f$ el índice del punto en la pendiente de repolarización

De este modo, si se cumple que el punto anterior es menor que $V90$ y el punto correspondiente es mayor que $V90$, ese punto corresponde al de la pendiente de despolarización. Por otro lado, si el punto anterior es mayor que $V90$ y el punto en cuestión menor que $V90$, en este caso, se trata del punto $V90$. Una vez localizados ambos valores, se ha calculado el instante temporal en el que se daban y, realizando la diferencia, se ha hallado el valor de APD_{90} .

Posteriormente, se ha cuantificado si la diferencia relativa entre ambos valores es mayor al 10%. Si lo es, indica que había PA alternantes en esa simulación. Si, por el contrario, es igual o menor al 10%, no hay alternancia. Ya que dos potenciales de acción no alternantes tienen un APD_{90} muy similar, siendo su diferencia menor al 10%.

Una vez analizadas las 1024 simulaciones, se ha observado que únicamente aparecen alternantes cuando la concentración extracelular de potasio vale 11.8 mM, independientemente del valor del resto de parámetros. Por ello, para poder llevar a cabo un estudio más exhaustivo, se ha realizado una segunda tanda de simulaciones estáticas en las que se ha ampliado el rango de los valores de los factores isquémicos. Los nuevos valores se muestran en la Tabla 5.

[ATP] _i (mM)	[ADP] _i (μM)	pH _i	pH _o	LPC (μM)	[K ⁺] _o (mM)
6	100	6,2	6,4	2	11,5
7,333	183.22	6,533	6,733	4	11,833
8,666	266.66	6,866	7,066	6	12,166
10	350	7,2	7,4	8	12,5

Tabla 5. Valores de los metabolitos en la segunda tanda de simulaciones sistemáticas.

Como se ha realizado con la primera simulación, se ha llevado a cabo una clasificación entre las simulaciones con alternantes y las que no presentan alternantes, utilizando los valores del APD_{90} de los dos últimos latidos. Y, a continuación, se ha llevado a cabo una segunda clasificación únicamente de las simulaciones con potenciales de acción alternantes utilizando un software denominado 'Calculo_maximos' desarrollado por la autora del presente trabajo. Estas se han dividido entre las que presentan una alternancia 1-1, es decir, latido largo-corto-largo-corto y las que presentan otro patrón de alternancia.

Para ello, se han calculado los máximos de cada latido para los últimos cuatro de cada simulación. Se ha utilizado un *if-elseif-else* para realizar la clasificación. De este modo, si se cumplen las siguientes condiciones, hay alternancia 1-1. $Max4$ indica el máximo del último latido, $max3$ del penúltimo latido y así sucesivamente con las otras dos variables.

```
if max1>0 && max2<0 && max3>0 && max4<0
elseif max1<0 && max2>0 && max3<0 && max4>0
```

Con estas condiciones se puede afirmar que se cumple la alternancia 1-1 debido a que los latidos largos tienen un máximo mayor que 0, y los cortos no, ya que son latidos para los que el potencial de acción no llega a dispararse.

Una vez realizadas ambas clasificaciones, se ha procedido al análisis los resultados obtenidos. Sin embargo, al haber una cantidad tan grande de datos, ya que cada simulación depende de 6 variables distintas y se cuentan con 1024 simulaciones, entrañaba una alta dificultad analizar toda la información. Por ello, se han elegido dos simulaciones con condiciones similares, una que presentase una alternancia 1-1 y otra sin alternancia, para poder analizarlas en profundidad. Se ha decidido tomar un ejemplo con alternancia con patrón 1-1 ya que el resto de patrones son más complejos y, por lo tanto, los mecanismos que los causan también.

Ambas simulaciones tienen los mismos valores para todos los factores isquémicos, excepto uno, la concentración intracelular de ATP.

4.3.3 Módulos de análisis

El análisis de la relación entre la alternancia en el potencial de acción con el ciclo del calcio, con los factores isquémicos y con las corrientes iónicas se ha llevado a cabo mediante el desarrollo de dos modificaciones (recogidas en la Tabla 6) de la versión 2.1 del modelo original, creada para el presente trabajo, y otras dos modificaciones de la versión desarrollado por Ana González Ascaso en su TFG (Gonzalez Ascaso, 2019).

Modificaciones del modelo	Objetivo
<i>main2019_ORd_MMChA_clampca</i> <i>model2019_ORd_MMChA_clampca</i>	Prefijar las concentraciones de calcio para analizar su efecto sobre el potencial de acción.
<i>main2019_ORd_MMChA_clamppa</i> <i>model2019_ORd_MMChA_clamppa</i>	Prefijar el potencial de acción para analizar qué ocurre con los valores de las concentraciones de calcio.
<i>main2019_ORd_MMChAL_fisq</i> <i>model2019_ORd_MMChAL_fisq</i>	Análisis de los efectos de $[ATP]_i$ y $[ADP]_i$ sobre las corrientes iónicas.
<i>main2019_ORd_MMChAL_pert</i> <i>model2019_ORd_MMChAL_pert</i>	Estudio de sensibilidad para analizar la importancia de cada una de las corrientes iónicas.

Tabla 6. Modificaciones realizadas de la versión 2.1 del modelo original.

Respecto al estudio del efecto de la alternancia sobre el ciclo del calcio, se ha buscado, por una parte, prefijar las formas de onda del potencial de acción para analizar qué ocurre con los valores de las concentraciones de calcio y, por otra parte, prefijar las formas de onda de las concentraciones de calcio para analizar su efecto sobre el potencial de acción. Para ello, se ha creado la modificación '*main2019_ORd_MMChA_clampca*' y '*model2019_ORd_MMChA_clampca*', en la que se han prefijado los valores de $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$, y '*main2019_ORd_MMChA_clamppa*' y '*model2019_ORd_MMChA_clamppa*', donde se han prefijado los valores del potencial de acción. Para simplificar la explicación se va a comentar solo el procedimiento para el caso de prefijar el potencial de acción, pero se realizaría lo mismo para el otro.

Para definir las condiciones en las que prefijar el potencial de acción, se ha buscado el último latido antes de que empezase la alternancia en la primera simulación dinámica realizada, y se ha extraído el vector temporal y el de potencial correspondientes a este latido. Se ha realizado una nueva simulación en la que se ha forzado que este latido ejemplo se repita periódicamente para todos los siguientes en base a estos vectores.

Se ha eliminado el potencial de membrana como variable de estado del modelo, y se han introducido como variables de entrada los vectores temporales y de potencial correspondientes al latido ejemplo. En el módulo *model*, para cada instante temporal de la simulación, se ha analizado el vector de tiempo y se han extraído los dos valores existentes más cercanos a él. Ya que, al utilizarse un método de diferencias finitas para realizar las simulaciones, los instantes temporales no se calculan de forma equidistante y, por lo tanto, no coinciden en todos los latidos.

Una vez obtenidos estos dos instantes temporales, se ha buscado su correspondencia en el potencial de membrana, para saber sus valores. Se ha realizado la interpolación entre ellos y el instante temporal actual, para obtener el potencial de membrana que le correspondería.

Para poder implementar estas modificaciones es necesario el uso del software '*Simulaciones_clamp*' en el que se realiza, en primer lugar, la simulación dinámica de la que se obtienen los vectores de tiempo y potencial de la onda a prefijar. A continuación, se realiza la simulación en la que se prefija el potencial de acción.

Por otro lado, para el estudio de la influencia de los factores isquémicos sobre la alternancia del potencial de acción, se ha creado la modificación '*main2019_ORd_MMChAL_fisq*' y '*model2019_ORd_MMChAL_fisq*'. En ella, ha sido necesario crear dos nuevos *settings* denominados *ATP_ini_mod* y *ADP_ini_mod* para poder contar en el modelo con dos valores distintos de estos factores isquémicos y, de este modo, analizar a través de que corrientes iónicas tienen efecto en el potencial de acción.

Por último, se ha realizado un estudio de sensibilidad para analizar la importancia de cada una de las corrientes iónicas en la aparición de la alternancia en el potencial de acción utilizando la nueva modificación de la versión 2.1 compuesta por los módulos '*main2019_ORd_MMChAL_pert*' y '*model2019_ORd_MMChAL_pert*'.

Empleando esta nueva versión, se han potenciado parcialmente o inhibido parcialmente las corrientes hasta un umbral suficiente para que se eliminaran los alternantes. Para ello, se han realizado simulaciones de cinco minutos en las que se han multiplicado las corrientes por un factor multiplicativo '*f_pert*' cuando el minuto de la simulación era mayor a un instante concreto (minuto 4.79) para el que los parámetros de la simulación ya se habían estabilizado.

4.4 SIMULACIONES SELECCIONADAS PARA ANÁLISIS

Como se ha comentado con anterioridad, de entre las 1024 simulaciones estáticas realizadas, se han seleccionado dos para un análisis más exhaustivo, ya que la gran cantidad de datos que se posee no permite sacar conclusiones claras. Se han elegido dos simulaciones con datos similares, una que presenta una alternancia 1-1 y otra sin alternancia.

Estudio mediante simulación computacional de las causas de los alternantes de origen isquémico en cardiomiocitos ventriculares

La simulación con alternantes tiene los siguientes valores para los factores isquémicos:

- $[ATP]_i = 6 \text{ mM}$
- $[ADP]_i = 350 \text{ } \mu\text{M}$
- $LPC = 8 \text{ } \mu\text{M}$
- $pHi = 7.2$
- $pHo = 7.4$
- $[K^+]_o = 11.5 \text{ mM}$

La simulación sin alternantes tiene los mismos valores para todos los factores isquémicos, excepto para el $[ATP]_i$ que tiene un valor de 7.33 mM .

El potencial de acción de ambas simulaciones se puede observar en la Figura 4.5

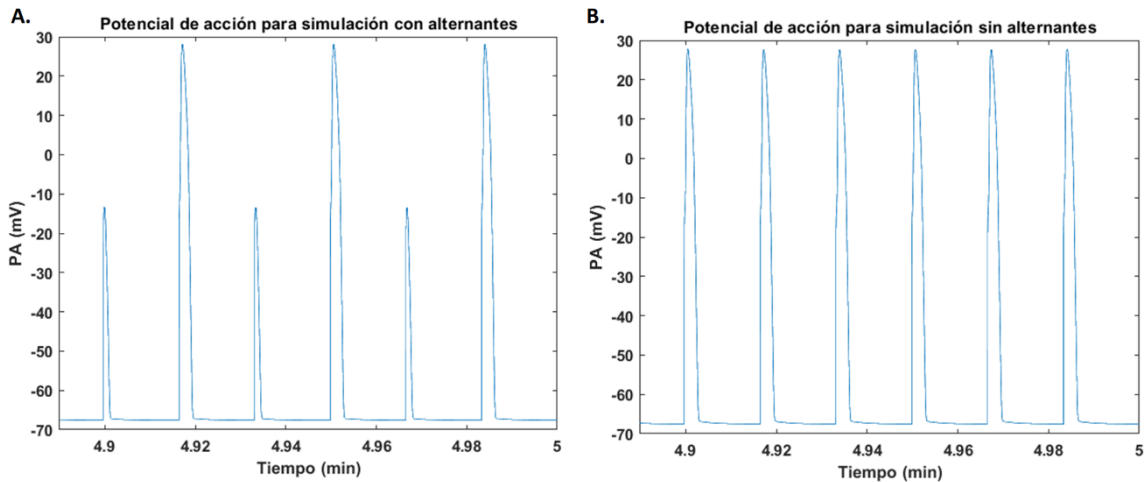


Figura 4.5. Potencial de acción de la simulación (A) con alternantes y (B) sin alternantes.

Para realizar el análisis en profundidad se han realizado dos comparaciones. La primera entre el último potencial corto y el penúltimo largo de la simulación con alternantes (Figura 4.5 (A)). Y, la segunda, entre ese mismo potencial largo y el correspondiente en la simulación sin alternantes (Figura 4.5 (B)).

Para poder realizar estas comparaciones, se han solapado los dos potenciales de acción en cada caso, como se observa en la Figura 4.6.

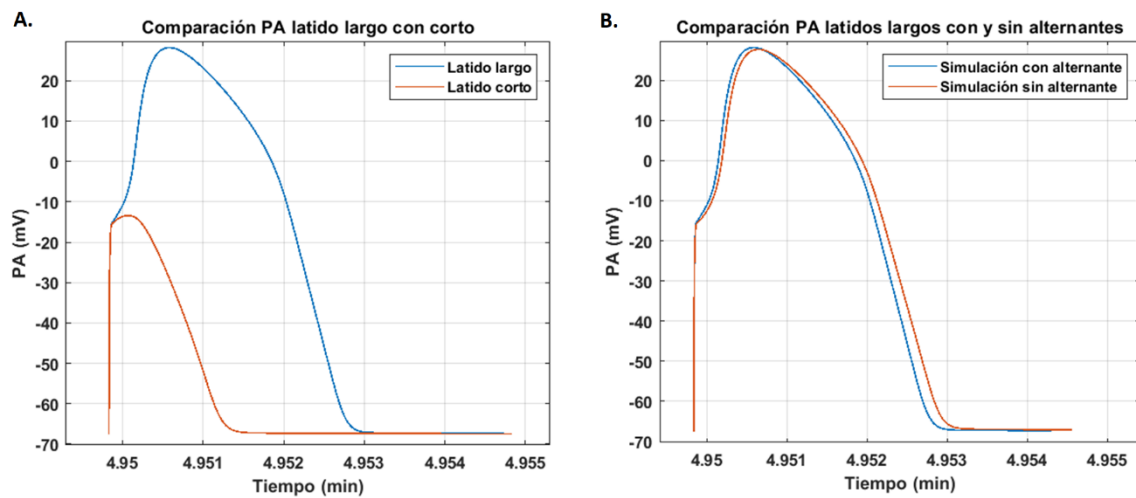


Figura 4.6. (A) Comparación de potenciales de acción de un latido largo y uno corto de una simulación con alternantes; (B) comparación del potencial de acción del latido largo de la simulación con alternantes con otro latido largo de una simulación sin alternantes.

Para cada una de las comparaciones se ha localizado el instante temporal en el que los dos potenciales de acción empiezan a divergir y se han analizado 20 milisegundos en adelante. De este modo, se ha considerado ese intervalo como el periodo de tiempo que provoca la aparición de los alternantes y se ha analizado ese mismo periodo en las corrientes para saber cuáles son las causantes de este fenómeno. En la Figura 4.7, están representadas las dos comparaciones con los 20 milisegundos marcados en cada potencial de acción.

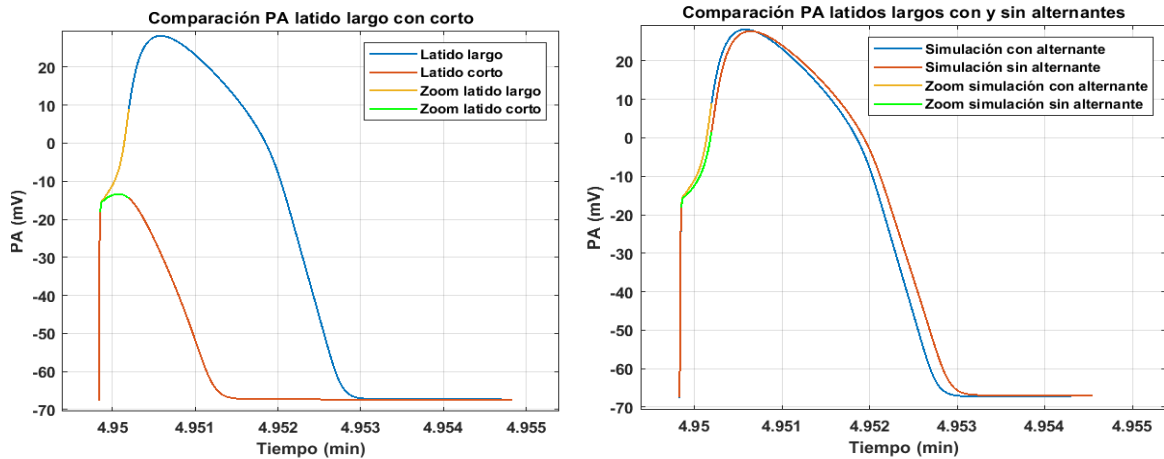


Figura 4.7. (A) Comparación de potenciales de acción de un latido largo y uno corto de una simulación con alternantes resaltando los 20 milisegundos después de la de divergencia entre ambos potenciales; (B) comparación del potencial de acción del latido largo de la simulación con alternantes con otro latido largo de una simulación sin alternantes resaltando los 20 milisegundos después de la de divergencia entre ambos potenciales (B).

4.5 CÓDIGOS IMPLEMENTADOS

Los códigos explicados a lo largo de este capítulo no se han incluido en la memoria por las limitaciones de extensión. Por ello, se encuentran disponibles en el siguiente enlace para su consulta:

<https://drive.google.com/drive/folders/1oIXDhVqokEsmwNKh3aifJbEK7M7viUXp?usp=sharing>

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

5.1 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR DE POTASIO EN LA APARICIÓN DE ALTERNANTES

Durante el desarrollo del presente TFG, se han realizado un total de 2048 simulaciones estáticas en las que los valores de los factores isquémicos ($[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH_i , pH_o y LPC) se encontraban fijados. Los resultados de estas simulaciones han sido cruciales para delimitar los rangos de valores para los que los factores isquémicos dan lugar a potenciales de acción alternantes. Además, estos resultados han sido la base para determinar la importancia y el efecto de cada factor isquémico sobre el potencial de acción.

Los resultados obtenidos de las primeras 1024 simulaciones sugieren la importancia del potasio extracelular en la aparición de potenciales de acción alternantes, ya que, estos solo aparecen en aquellas simulaciones para las que el valor de $[K^+]_o$ es de 11.8 mM. Además, con la segunda tanda de simulaciones estáticas se ha observado que es necesario que el potasio extracelular tenga un valor mayor de 11.5 mM para que se produzcan potenciales de acción alternantes. De este modo, el valor que toma el potasio extracelular durante un episodio de isquemia miocárdica aguda es determinante en la aparición de la alternancia eléctrica.

5.2 RELACIÓN ENTRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN Y EN EL CICLO DEL CALCIO

En primer lugar, se ha querido estudiar una de las hipótesis más extendidas sobre la causa de aparición de los potenciales de acción alternantes: la consecuencia que tiene la alternancia en el ciclo del calcio sobre el potencial de acción y, por lo tanto, la causalidad de este fenómeno en la aparición de los potenciales de acción alternantes (Clusin, 2008; Weiss et al., 2006; Edwards & Blatter, 2014).

Para ello, partiendo de la simulación dinámica de 15 minutos presentada anteriormente, se ha analizado si en el minuto 4.65, en el que se produce la aparición de PA alternantes, también se da esta alternancia en el calcio intracelular y en el calcio del subespacio.

Estudio mediante simulación computacional de las causas de los alternantes de origen
isquémico en cardiomiocitos ventriculares

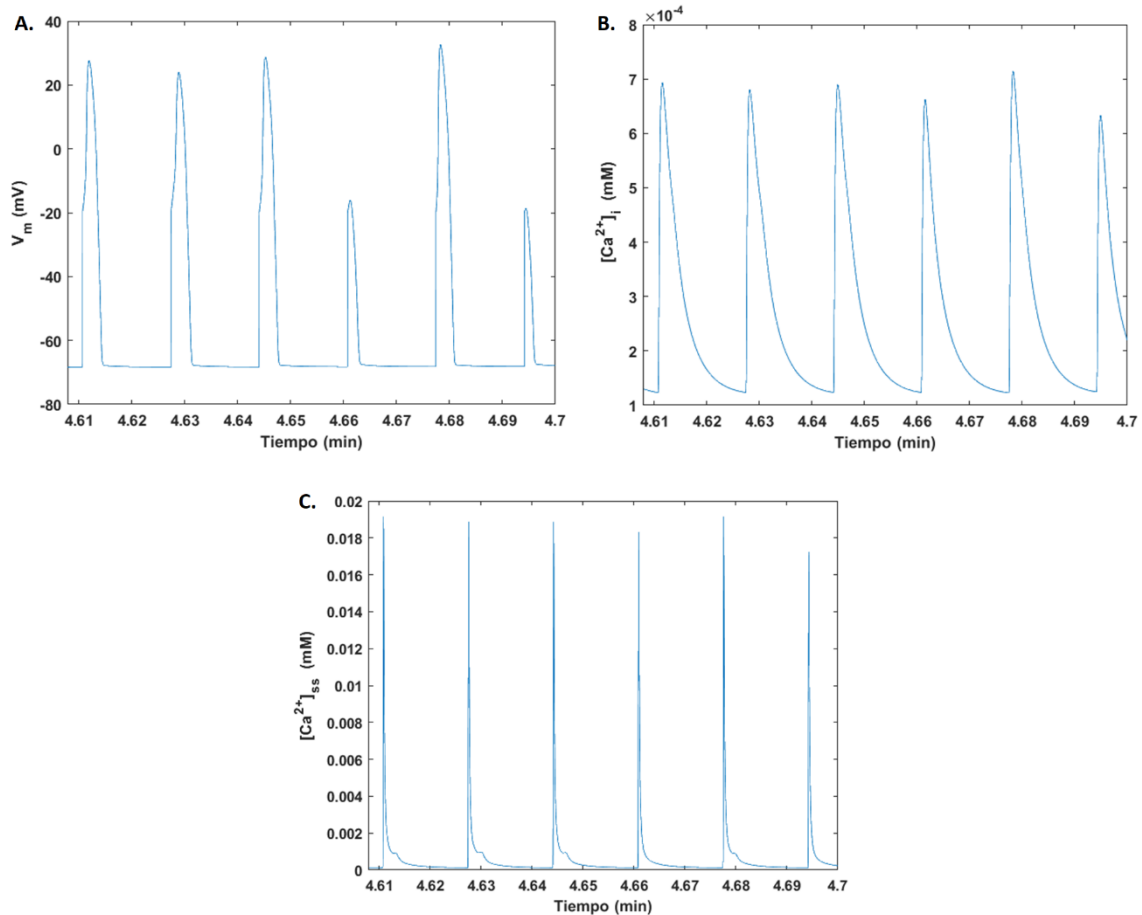


Figura 5.1. Aparición de alternantes (A) en el potencial de acción, (B) en el calcio intracelular y (C) en el calcio del subespacio.

Como se ha representado en la Figura 5.1, en el primer latido en el que se produce alternancia eléctrica, también se da la alternancia en sus valores de calcio, tanto intracelular como del subespacio.

Por otro lado, para corroborar la relación directa entre estas tres variables, se ha utilizado el modelo compuesto por los módulos *'main2019_ORd_MMChA_clampca'* y *'model2019_ORd_MMChA_clampca'* explicados en el Capítulo 4. En la simulación en la que se ha utilizado este módulo, dejan de calcularse dinámicamente los valores de ambas concentraciones de calcio ($[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$) en el instante en el que va a comenzar el primer latido con alternancia eléctrica (minuto 4.66). En su lugar, se “prefijan” sus formas de onda, haciéndolas iguales a las del latido anterior, y estas formas de onda se repiten periódicamente. De este modo, se elimina artificialmente la alternancia de las concentraciones de calcio para determinar si son ellas las responsables de la alternancia del potencial de acción.

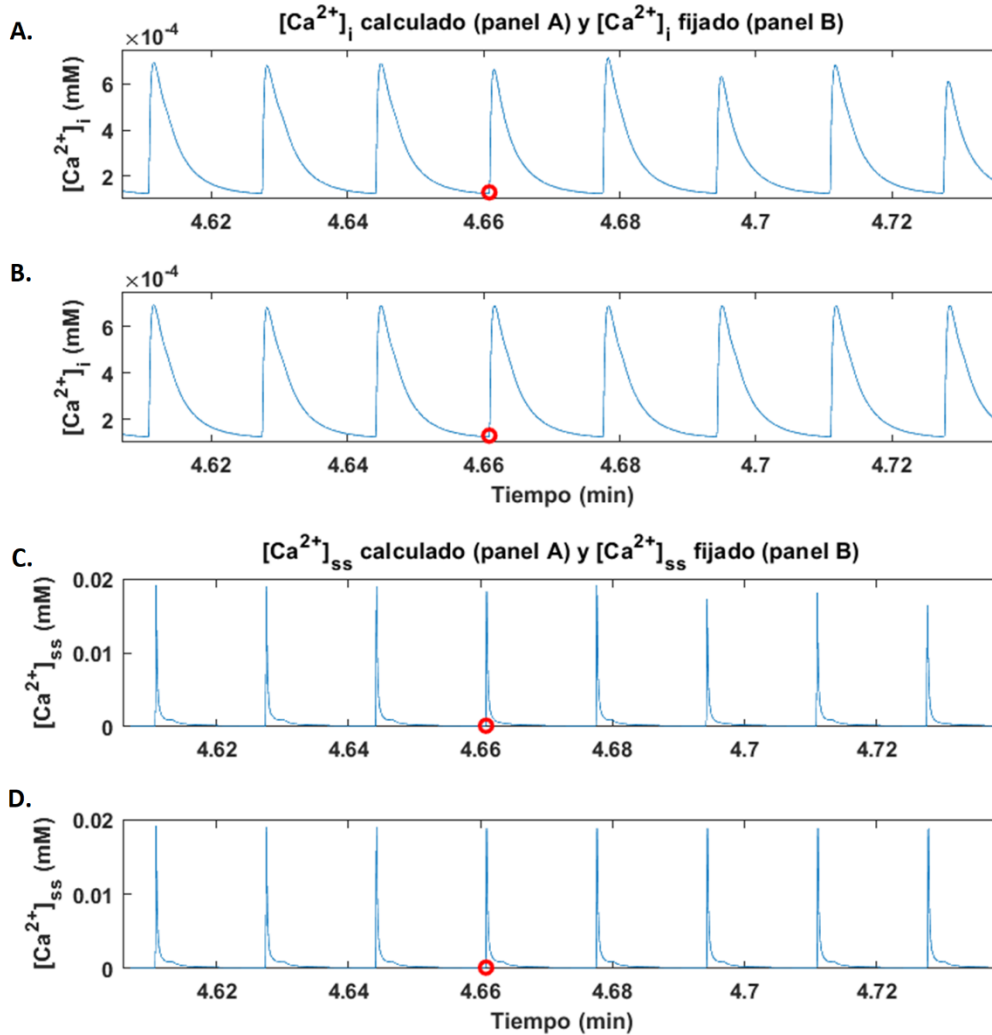


Figura 5.2. (A) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_i$ en una simulación dinámica; (B) $[Ca^{2+}]_i$ fijado para todos los latidos a partir de la marca roja. (C) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_{ss}$ en una simulación dinámica; (D) $[Ca^{2+}]_{ss}$ fijado para todos los latidos a partir de la marca roja.

En la Figura 5.2 (A y C) se han representado los valores del calcio intracelular y del subespacio en una simulación dinámica con efectos de la isquemia miocárdica. En la Figura 5.2 (B y D) se representa la misma simulación, pero en este caso se han fijado los valores de $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$ a partir del punto marcado en rojo. Nótese que, hasta el instante indicado por el punto, las formas de onda de los paneles respectivos coinciden.

El resultado de la simulación muestra que, como consecuencia de haber fijado los valores de $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$, a partir del instante marcado, no se da alternancia en el potencial de acción, tal como se observa en la Figura 5.3.

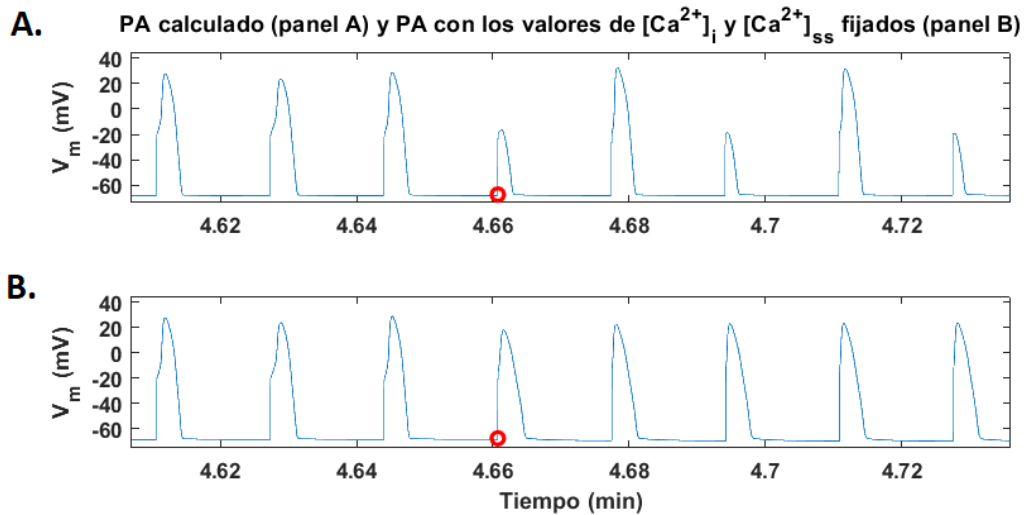


Figura 5.3. (A) Evolución temporal del potencial de acción en una simulación dinámica; (B) Potencial de acción una vez fijado $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$ a partir de la marca roja.

Del mismo modo, se han utilizado los módulos 'main2019_ORd_MMChA_clampca' y 'model2019_ORd_MMChA_clampca' explicados en el Capítulo 4, para realizar la simulación recíproca: una segunda simulación en la que se ha prefijado el valor del potencial de membrana a partir del instante en el que comienza la alternancia eléctrica para poder estudiar la evolución temporal del $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$ en ausencia de alternancia en el potencial de acción. En la Figura 5.4 (A) se ha representado el potencial de membrana en la simulación dinámica y en la Figura 5.4 (B) se ha representado la misma simulación, pero se ha prefijado este PA a partir del latido marcado en rojo.

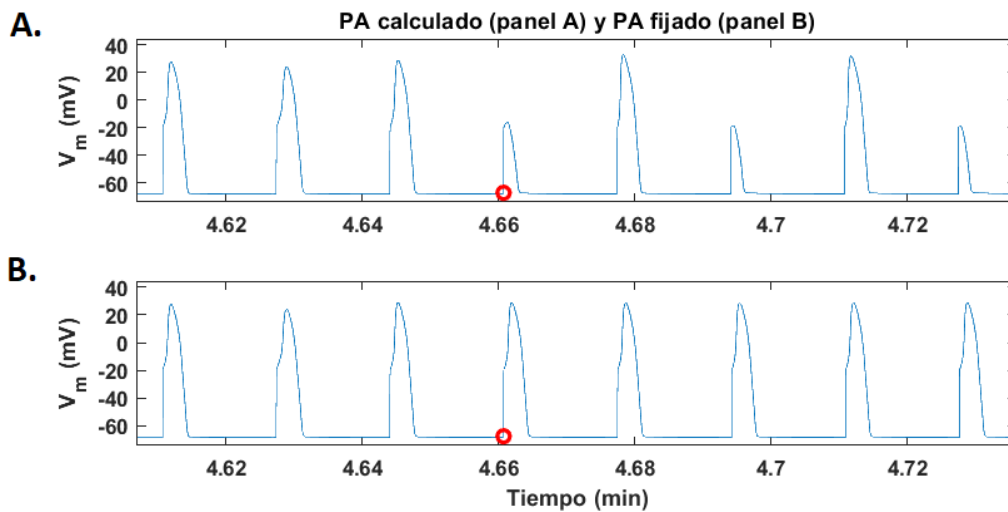


Figura 5.4. (A) PA en una simulación dinámica; (B) PA fijado para todos los latidos a partir de la marca roja.

En la Figura 5.5 (B y D) se ha representado lo que ocurre con las formas de onda de $[Ca^{2+}]_i$ y $[Ca^{2+}]_{ss}$ cuando se prefija el potencial de acción a partir del latido marcado en rojo. Se puede observar como la consecuencia es una disminución brusca de los valores de pico (sistólicos) pero sin alternancia: esta desaparece claramente si se eliminan los alternantes eléctricos.

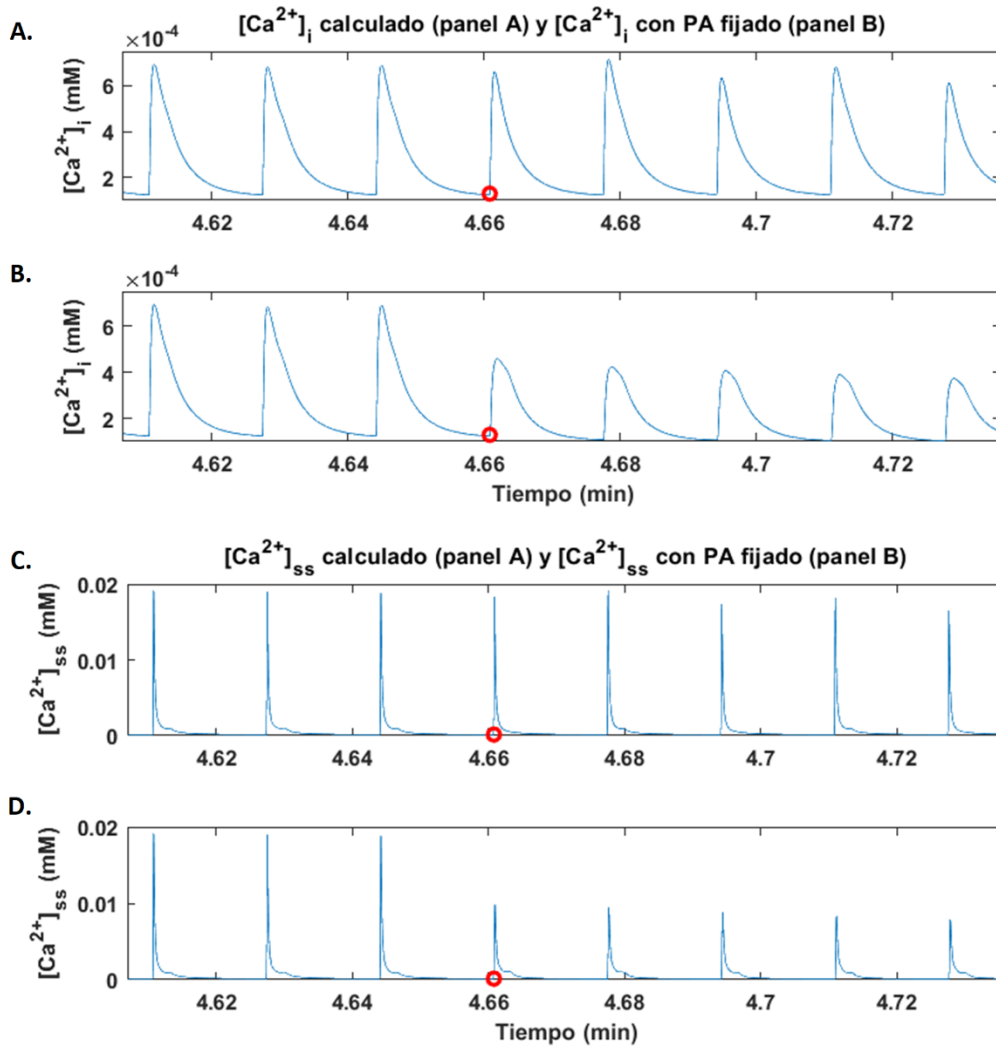


Figura 5.5. (A) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_i$ en una simulación dinámica; (B) $[Ca^{2+}]_i$ una vez se ha fijado el potencial de acción a partir de la marca roja. (C) Evolución temporal del $[Ca^{2+}]_{ss}$ en una simulación dinámica; (D) $[Ca^{2+}]_{ss}$ una vez se ha fijado el potencial de acción a partir de la marca roja.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de ambas simulaciones, se puede concluir que existe una relación directa entre la alternancia del potencial de acción y la del ciclo del calcio.

5.3 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES ISQUÉMICOS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN

Como se comprobó al realizar las 1024 simulaciones explicadas en el Capítulo 4, los valores de los factores isquémicos ($[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH_i , pH_o y LPC) tienen una gran influencia en la aparición de potenciales de acción alternantes. En efecto, en esas primeras simulaciones realizadas, la diferencia entre secuencias con y sin alternantes radicaba únicamente en el valor de estos factores isquémicos. Estos parámetros se manifiestan en el potencial de acción a través de los efectos que causan en ciertas corrientes.

Además, las dos simulaciones que se han escogido para realizar el análisis de la causa de aparición de alternantes se diferencian únicamente en el valor de la concentración intracelular de ATP. En aquella en la que sí hay alternantes, el valor es $[ATP]_i = 6$ mM, y en la que no aparecen,

el valor es de 7.33 mM. Por lo tanto, este factor tiene una gran influencia en el fenómeno de la alternancia.

Este factor isquémico influye en cuatro corrientes diferentes: I_{KATP} , I_{NaK} , la bomba SERCA y la bomba de Ca^{2+} . Para saber a través de cuál de ellas causa un mayor efecto en la aparición de alternantes se han realizado cuatro simulaciones para las que se han usado los módulos 'main2019_Ord_MMChAL_fisq' y 'model2019_ORd_MMChAL_fisq' explicados en el Capítulo 4. En cada una de ellas, una de las cuatro corrientes descritas se veía afectada por $[ATP]_i = 6$ mM y el resto por $[ATP]_i = 7.33$ mM. Teniendo esto en cuenta, se puede saber a través de qué corriente tiene un mayor efecto el $[ATP]_i$.

Como se observa en la Figura 5.6, variando la concentración de ATP intracelular de I_{KATP} los alternantes subsisten, mientras que realizando el mismo procedimiento en I_{NaK} la alternancia desaparece. Cabe destacar que los resultados obtenidos cuando se realiza el mismo procedimiento para I_{pCa} y la bomba SERCA son los mismos que para I_{NaK} .

De este modo, los resultados sugieren que $[ATP]_i$ tiene una gran influencia en la aparición de alternantes únicamente a través de la corriente I_{KATP} .

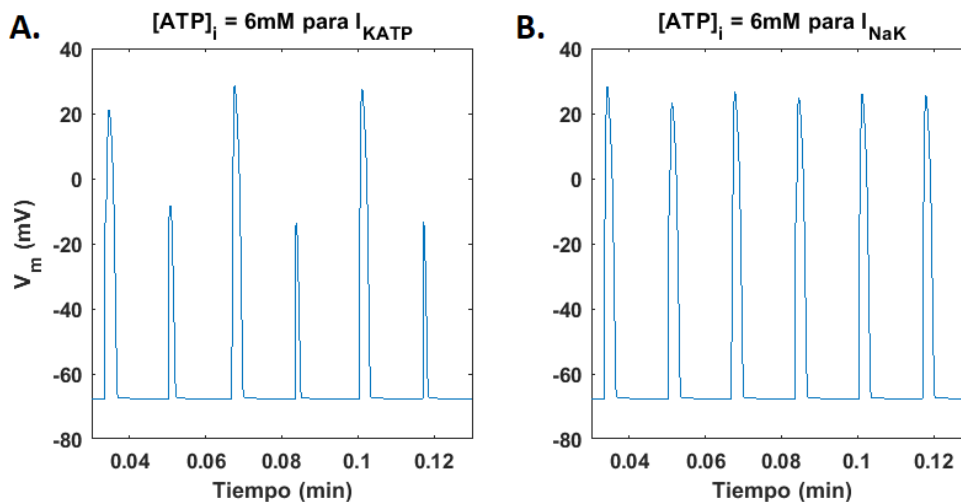


Figura 5.6. Potencial de acción cuando el valor de $[ATP]_i$ es de 7.33 mM, excepto para una corriente (indicada en el panel) que vale 6 mM. Esta corriente es I_{KATP} en (A) e I_{NaK} en (B).

Se ha repetido el mismo procedimiento con el $[ADP]_i$, utilizando los mismos módulos de software. En este caso, una de las corrientes se veía afectada por una concentración de ADP intracelular igual a 350 μ M, y el resto de 266.6 μ M. El $[ADP]_i$ se manifiesta en el potencial de acción a través de las mismas corrientes que el $[ATP]_i$.

Los resultados para la bomba de Ca^{2+} y la bomba SERCA también son los mismos que para I_{NaK} , representada en la Figura 5.7 (B). Por lo tanto, el $[ADP]_i$ también tiene su mayor efecto sobre el potencial de acción a través de la corriente de potasio sensible al ATP (I_{KATP}), como se puede observar en la Figura 5.7 (A) ya que aparecen alternantes.

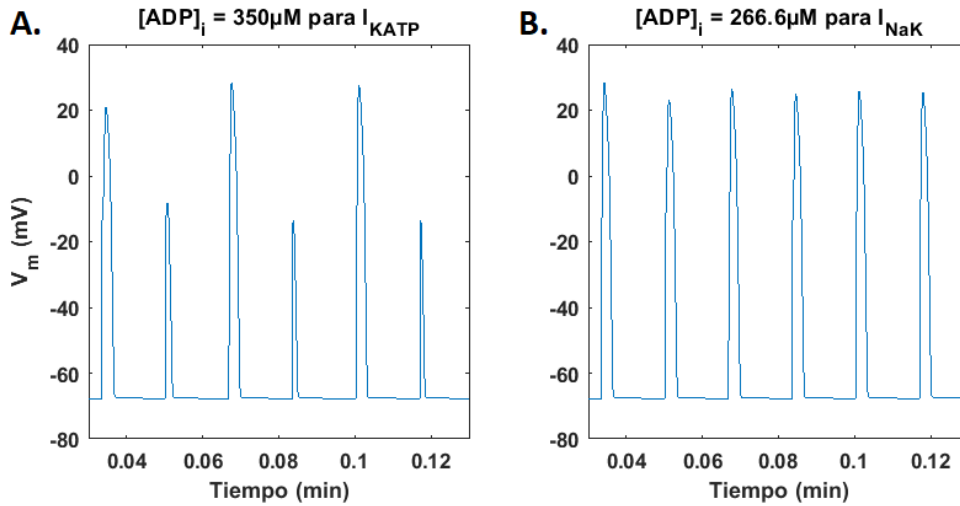


Figura 5.7. Potencial de acción cuando el valor del $[ADP]_i$ es de $350 \mu\text{M}$, excepto para una corriente (indicada en el panel) que vale $266.6 \mu\text{M}$. Esta corriente es I_{KATP} en (A) e I_{NaK} en (B).

Por otro lado, se ha estudiado la influencia de los factores pH_i , pH_o y LPC sobre la aparición de potenciales de acción alternantes. Para ello, se han realizado distintas simulaciones para el pH tanto intra como extracelular, y para la LPC. En ellas, se han modificado los *settings* correspondientes al resto de factores asignándoles valores no isquémicos, para que estos no influyeran en la aparición de alternantes, y se iba variando el *settings* del parámetro en cuestión.

En las simulaciones en las que variaban pH_i y pH_o , el resto de parámetros adoptaban los siguientes valores: $[ATP]_i = 10 \text{ mM}$, $[ADP]_i = 15 \mu\text{M}$, $\text{LPC} = 2 \mu\text{M}$ y $[K^+]_o = 11.5 \text{ mM}$. Se realizaron cuatro simulaciones distintas en las que el pH_i adoptaba valores de 6.2, 6.5, 6.8 y 7.2, y el pH_o de 6.4, 6.7, 7 y 7.4.

En la Figura 5.8 (A) se observa el potencial de acción para $\text{pH}_i = 6.2$ y $\text{pH}_o = 6.4$, y en la Figura 5.8 (B) para $\text{pH}_i = 7.2$ y $\text{pH}_o = 7.4$. Para las otras dos simulaciones, los resultados obtenidos son parecidos a los mostrados, desaparecen los alternantes. Por ello, los resultados sugieren que los efectos del pH_i y pH_o no son determinantes en el fenómeno de aparición de alternancia eléctrica.

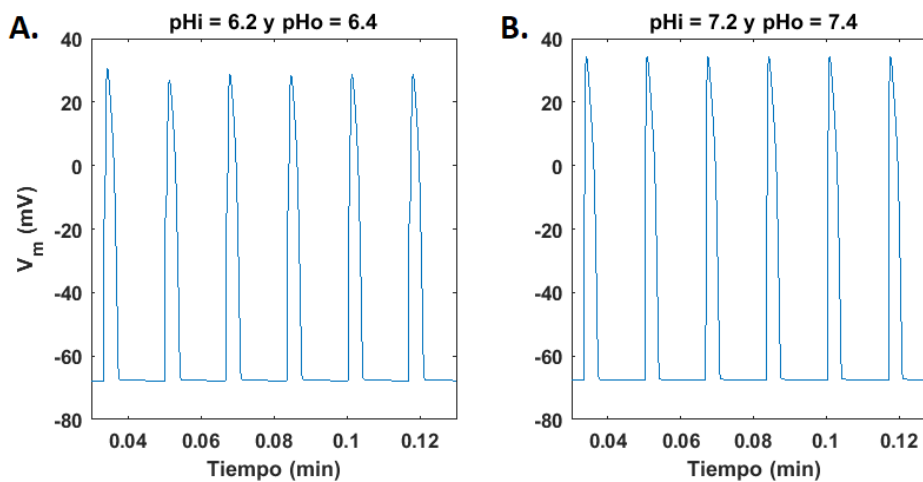


Figura 5.8. Potencial de acción para $[ATP]_i = 10 \text{ mM}$, $[ADP]_i = 15 \mu\text{M}$, $\text{LPC} = 2 \mu\text{M}$, y $[K^+]_o = 11.5 \text{ mM}$ en ambas Figuras, (A) $\text{pH}_i = 6.2 / \text{pH}_o = 6.4$ y (B) $\text{pH}_i = 7.2 / \text{pH}_o = 7.4$.

Respecto a la LPC, se ha llevado a cabo el mismo procedimiento, siendo los valores de los factores isquémicos los siguientes: $[ATP]_i = 10 \text{ mM}$, $[ADP]_i = 15 \text{ }\mu\text{M}$, $pH_i = 7.2$ y $pH_o = 7.4$ y $[K^+]_o = 11.5 \text{ mM}$. En las cuatro simulaciones llevadas a cabo, la LPC adoptaba valores de 2, 4, 6 y 8 μM .

Los potenciales de acción cuando la LPC toma valores de 4 y 6 μM , son parecidos a los que se observan en la Figura 5.9. Por ello, el valor del metabolito LPC tampoco parece ser determinante en la aparición de los potenciales de acción alternantes.

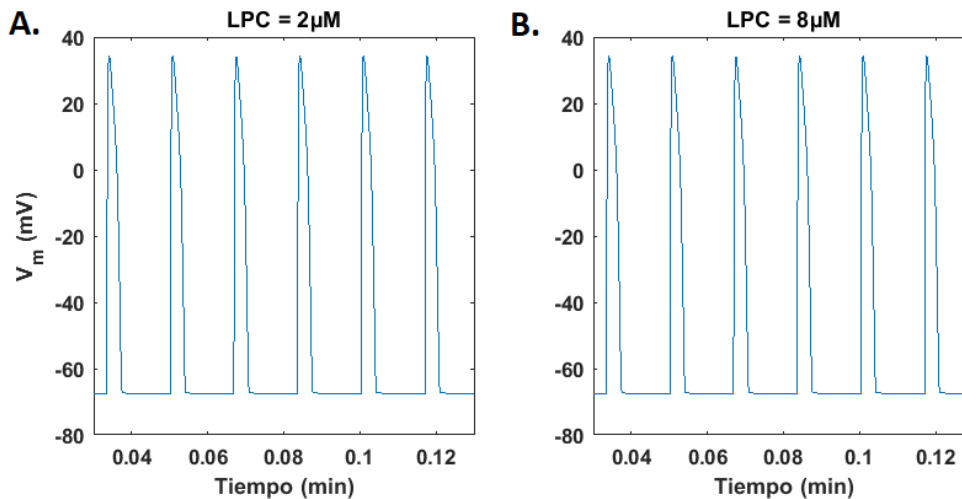


Figura 5.9. Potencial de acción para $[ATP]_i = 10 \text{ mM}$, $[ADP]_i = 15 \text{ }\mu\text{M}$, $[K^+]_o = 11.5 \text{ mM}$, $pH_i = 7.2$ y $pH_o = 7.4$ en ambas Figuras, (A) $LPC = 2 \text{ }\mu\text{M}$ y (B) $LPC = 8 \text{ }\mu\text{M}$.

5.4 DETERMINACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS CORRIENTES IÓNICAS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN

Para el estudio de la influencia de las corrientes iónicas sobre la alternancia en el potencial de acción se ha realizado un estudio de sensibilidad utilizando los módulos 'main2019_ORd_MMChAL_pert' y 'model2019_ORd_MMChAL_pert' explicados en el Capítulo 4.

En concreto, se han potenciado parcialmente o inhibido parcialmente las corrientes mediante factores multiplicativos. Se han potenciado aquellas corrientes que son entrantes y se han inhibido las salientes. Se ha procedido de este modo, debido a que, si las corrientes entrantes están debilitadas, se ve favorecida la aparición de los alternantes al reducirse la despolarización y, ocurre lo mismo si las salientes están reforzadas, al favorecer la repolarización.

En cada simulación realizada, una de las corrientes relevantes para el PA se ha multiplicado por su correspondiente factor multiplicativo (mayor o menor que la unidad), manteniendo el resto de corrientes en sus valores normales. Mediante estas simulaciones, se ha determinado el grado de inhibición o activación parcial de cada corriente por separado que se necesita para eliminar los alternantes del potencial de acción.

En la Tabla 7 se muestran los porcentajes de inhibición parcial (flechas descendentes) o potenciación parcial (flechas ascendentes) que se ha necesitado, como mínimo, para hacer desaparecer los alternantes del potencial de acción.

Estudio mediante simulación computacional de las causas de los alternantes de origen isquémico en cardiomiocitos ventriculares

	I_{Na}	I_{CaL}	I_{KATP}	I_{Kr}	I_{NaL}
Umbral	↑ 3%	↑ 5%	↓ 10%	↓ 15%	↑ 60%
	J_{rel}	SERCA	I_{to}	I_{Ks}	
Umbral	↓ 85%	↑ 90%	x	x	

Tabla 7. Umbrales de potenciación parcial e inhibición parcial de las corrientes iónicas necesarios para la desaparición de los potenciales de acción alternantes.

Por ejemplo, en el caso de la corriente de potasio sensible a ATP (I_{KATP}), se ha necesitado multiplicar la corriente por 0.90 (disminuirla en un 10%) para erradicar los alternantes. Cuanto menor sea el valor porcentual mostrado en la tabla, tanto de potenciación como de inhibición, de las corrientes, más importancia tiene esta en la aparición de potenciales de acción alternantes.

La corriente de sodio presenta el menor umbral necesario la eliminación de la alternancia: un 3%. El potencial de acción y la corriente I_{Na} resultantes de realizar esta modificación están representadas en la Figura 5.10.

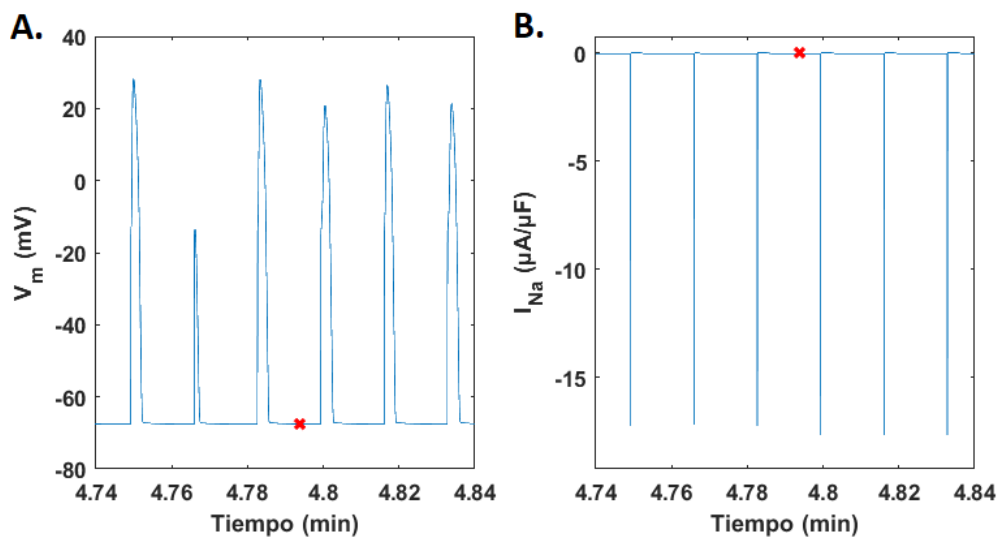


Figura 5.10. Potencial de acción y (B) corriente I_{Na} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo activador del 3% en el instante marcado en rojo.

Al aumentar un 5% la corriente de I_{CaL} desaparece la alternancia en el siguiente latido después del instante en el que se aplica el factor multiplicativo, como se observa en la Figura 5.11.

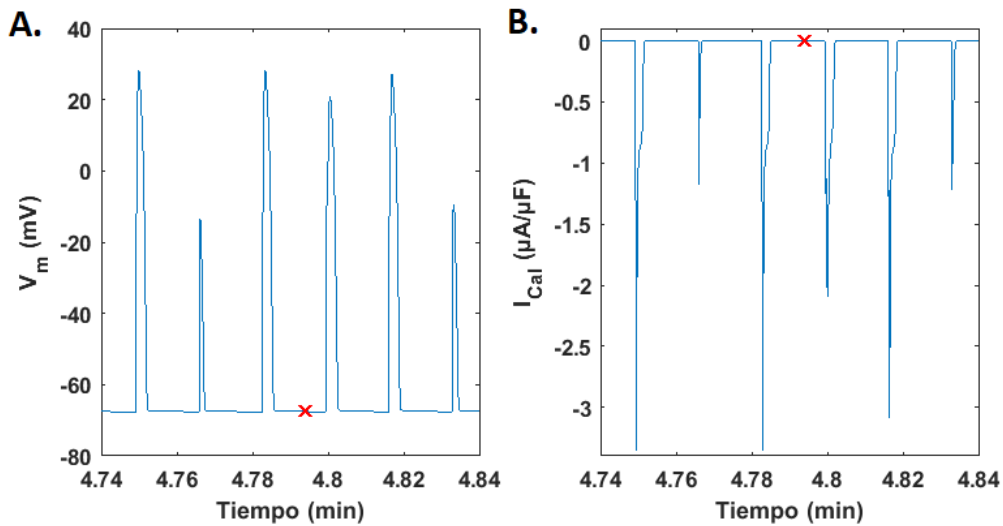


Figura 5.11. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{CaL} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo activador del 5% en el instante marcado en rojo.

El umbral necesario para que desaparezcan los alternantes durante toda la simulación al inhibir la corriente I_{KATP} es del 10%. El potencial de acción y la corriente resultantes están representados en la Figura 5.12.

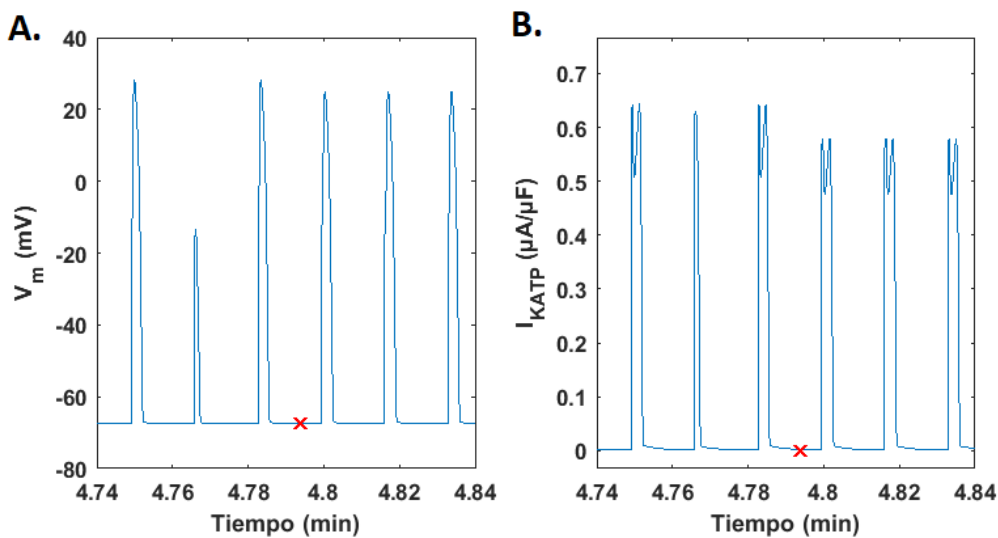


Figura 5.12. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{KATP} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibitor del 10% en el instante marcado en rojo.

Por otro lado, al disminuir la corriente I_{Kr} en un 15% también desaparecen los potenciales de acción alternantes a lo largo de toda la simulación, como se observa en la Figura 5.13.

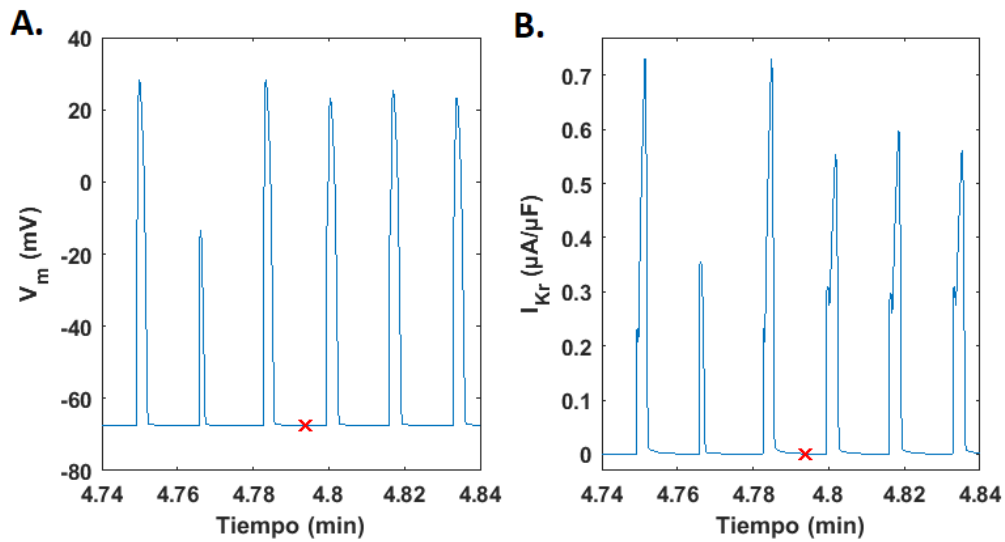


Figura 5.13. (A) Potencial de acción y (B) corriente I_{Kr} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibitor del 15% en el instante marcado en rojo.

Respecto a los canales R y R (J_{rel}), al ser multiplicados por un factor multiplicativo inhibitor del 85% desaparece la alternancia durante tres latidos después del instante en el que se aplica, como se observa en la Figura 5.14 (A). Por otro lado, la corriente J_{rel} , representada en la Figura 5.14 (B), se recupera rápidamente después de aplicar el bloqueo, lo que explica que la alternancia se recupere a partir del cuarto latido post-alteración.

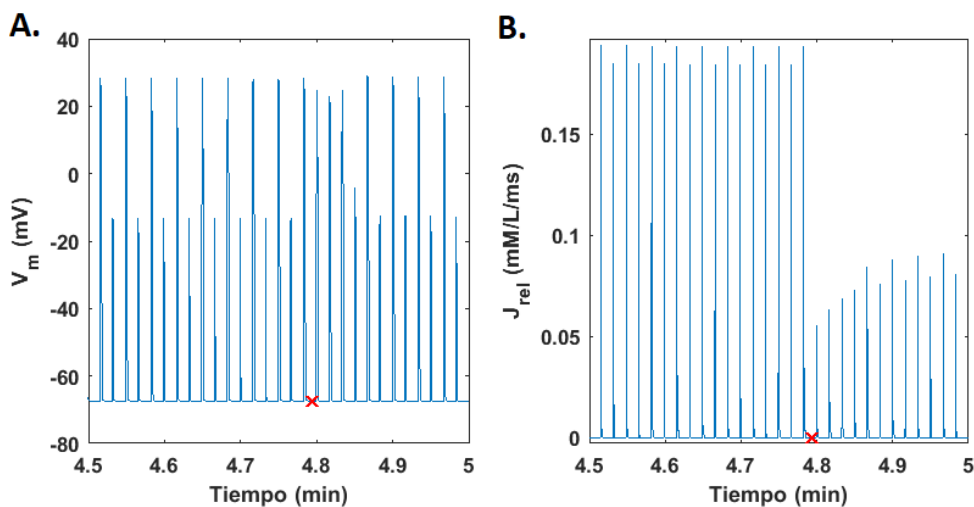


Figura 5.14. (A) Potencial de acción y (B) corriente J_{rel} obtenidas al multiplicar esta corriente por un factor multiplicativo inhibitor del 85% en el instante marcado en rojo.

La corriente I_{NaL} necesita ser potenciada en un 60% para apreciarse cambios en el potencial de acción, por ello, su efecto en la alternancia del PA es muy pequeño. Lo mismo ocurre con la bomba SERCA, para la que se necesita un aumento del 90%. En el caso de las corrientes I_{Ks} e I_{to} no desaparecen los alternantes ni anulándolas, por lo tanto, su implicación en la aparición de estos es nula.

5.5 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LAS CORRIENTES IÓNICAS SOBRE LA ALTERNANCIA EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN

Se ha realizado un análisis de aquellas corrientes iónicas que han resultado ser más significativas, según el estudio de sensibilidad anteriormente descrito, en la aparición de potenciales de acción alternantes.

5.5.1 Corriente de sodio (I_{Na})

La corriente de sodio es la responsable del primer tramo de despolarización, el que si se produce tanto en los latidos largos como en los cortos. En la Figura 5.15 está representada la I_{Na} para el latido largo y para el corto de la simulación con alternantes elegida para analizar la alternancia eléctrica. La corriente es prácticamente igual en ambos latidos diferenciándose solo en un 3% del valor de pico.

Aunque esta diferencia parece pequeña, resulta esencial para la eliminación de los alternantes. La razón hay que buscarla en la diferencia entre el potencial de acción largo y el corto y, en concreto, en la fase de despolarización. En la Figura 4.6 (A) se observa como ambos potenciales comienzan a divergir para un valor de potencial cercano a -15 mV, tras una primera fase de despolarización con una pendiente de alto valor. A partir de -15 mV, el potencial de acción largo continúa despolarizándose con una pendiente mucho menor, mientras que el corto alcanza una meseta muy breve tras la cual comienza a repolarizarse.

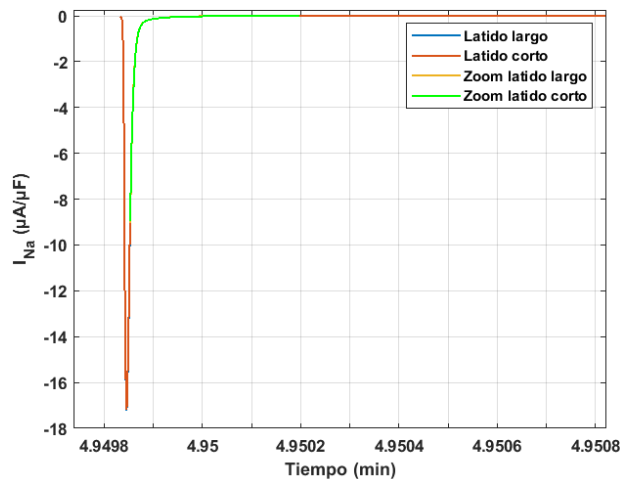


Figura 5.15. Comparación de la corriente de sodio para el latido largo y el corto.

La corriente responsable de la despolarización de alta pendiente es precisamente la corriente de sodio que se está analizando en este apartado. Su “misión” es elevar el potencial de membrana hasta un valor (-15 mV) para el cual la corriente de calcio a través de los canales tipo L (I_{CaL}) sea capaz de continuar el proceso de despolarización (más lenta). El hecho de aumentar la corriente de sodio en un 3% eleva el potencial de membrana lo suficiente (1 mV adicional) como para que la corriente I_{CaL} pueda conseguir la despolarización completa de la célula, incluso en el potencial de acción corto.

5.5.2 Corriente rápida de potasio (I_{Kr})

A diferencia del caso de la corriente de sodio, la corriente I_{Kr} presenta grandes diferencias entre los latidos largo y corto, como se observa en la Figura 5.16.

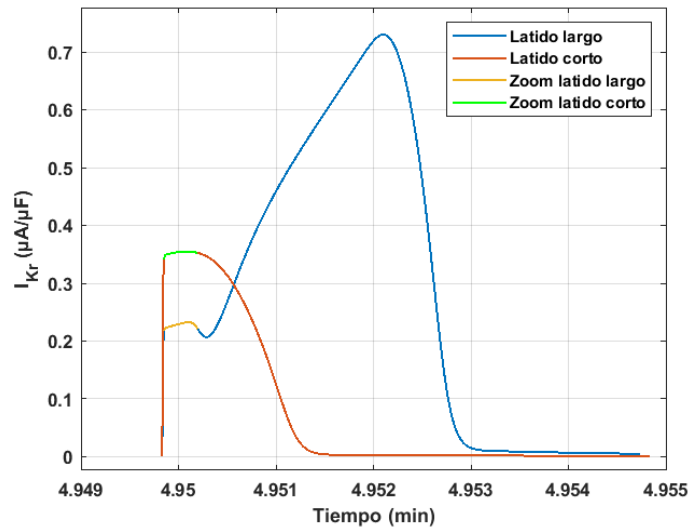


Figura 5.16. Comparación de la corriente rápida de potasio para el latido largo y el corto.

Analizando la comparación entre latidos se observa como la corriente es mucho mayor en el latido corto que en el largo inmediatamente antes de que estos latidos se bifurquen. Por otro lado, si se observa la Figura 5.17 en la que se comparan el mismo latido largo para la simulación con y sin alternantes, se aprecia como para la simulación sin alternantes el valor de la corriente es más parecido a la del latido corto que a la del largo.

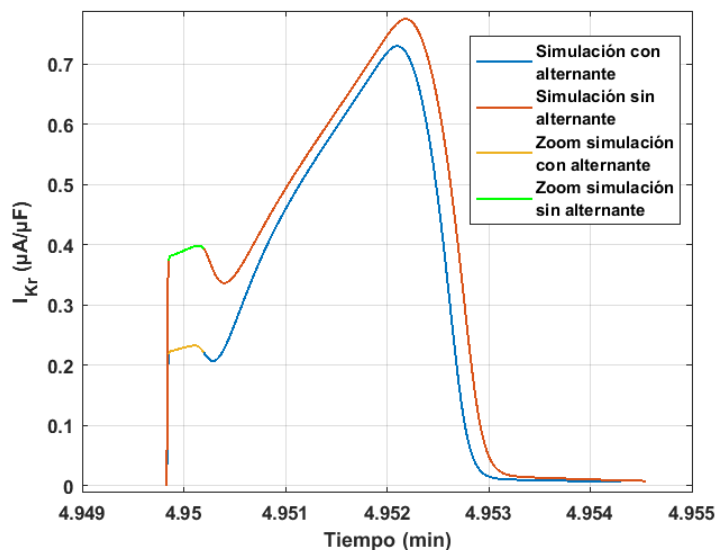


Figura 5.17. Comparación de la componente rápida de la corriente de potasio para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.

Para estudiar de qué puede depender esta diferencia y por qué el valor de la corriente del latido corto es más parecido al valor de un latido en una simulación sin alternantes, se ha analizado la ecuación de la corriente I_{Kr} , correspondiente con la Ecuación (11).

Los términos G_{Kr} (conductancia máxima del canal), $\sqrt{[K^+]_o/5.4}$ y E_K son constantes en la simulación e iguales para ambos latidos. Por otro lado, xr es la probabilidad de apertura de la compuerta de activación y rkr de la de inactivación. La compuerta de inactivación no tiene constante de tiempo (es de acción instantánea) y únicamente depende del potencial de membrana.

De este modo, la compuerta de activación sería la única responsable de este comportamiento. Igual que con los potenciales de acción, se ha comparado con la compuerta de activación de la simulación sin alternantes y, de este modo, poder ver las diferencias entre ellas. Ambas están representadas en la Figura 5.18.

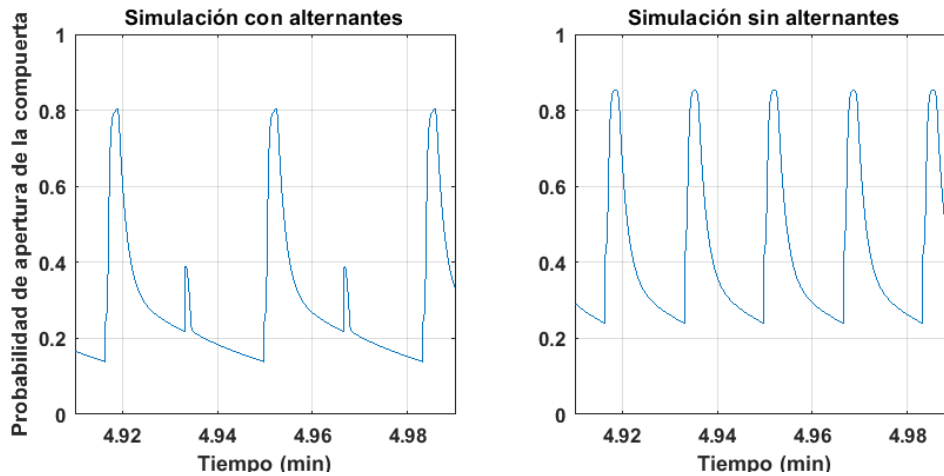


Figura 5.18. Compuerta de activación (xr) de la corriente I_{Kr} para la simulación (A) con alternantes y(B) sin alternantes.

La corriente es mayor en el inicio del latido corto ya que la probabilidad de apertura es mayor (0.22) cuando este empieza respecto a cuando lo hace el latido largo (0.14). Sin embargo, analizando la Figura 5.18 (B) se observa como la probabilidad de apertura en este caso (0.24) es más parecida al latido corto que al largo, lo mismo que se observaba en los potenciales.

De este modo, la diferencia radica en que, en el latido corto, como la corriente es más breve en el tiempo, las compuertas tienen más tiempo para cerrarse una vez ha disminuido el potencial de membrana, por lo que la probabilidad de apertura llega a valores más bajos para el inicio del siguiente latido.

Por ello, los resultados sugieren que la corriente I_{Kr} no es la causante directa de esta alternancia, ya que su funcionamiento se ve alterado precisamente por la presencia de estos alternantes, pero sí que favorece su mantenimiento. Esto es debido a que si la probabilidad de apertura de la compuerta de activación es mayor cuando empieza el latido corto que cuando empieza el largo, la corriente también es mayor, haciendo que el potencial de membrana disminuya más rápido, y favoreciendo que no se produzca el segundo tramo de despolarización.

5.5.3 Corriente de potasio sensible a ATP (I_{KATP})

En la Figura 5.19 se compara la corriente I_{KATP} del latido largo y del corto, y en la Figura 5.20 se compara la misma corriente para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.

En esta última se aprecia como la corriente es menor para el latido de la simulación sin alternantes. Esto se debe a que la corriente no tiene compuertas voltaje-dependientes, y se activa progresivamente cuando hay disminuye la $[ATP]_i$ (José M. Ferrero et al., 1996). Como en la simulación sin alternantes este factor isquémico es mayor ($[ATP]_i = 7.33$ mM frente a 6 mM de la simulación con alternantes) la corriente deja pasar más potasio.

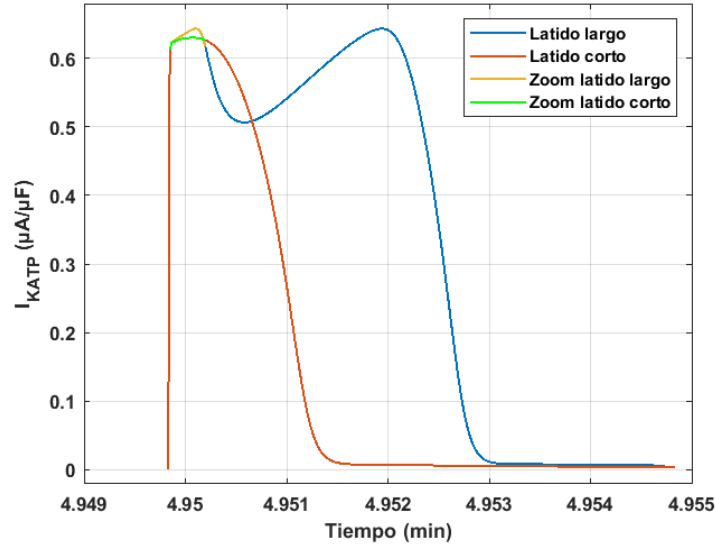


Figura 5.19. Comparación de corriente de potasio sensible a ATP para el latido largo y el corto.

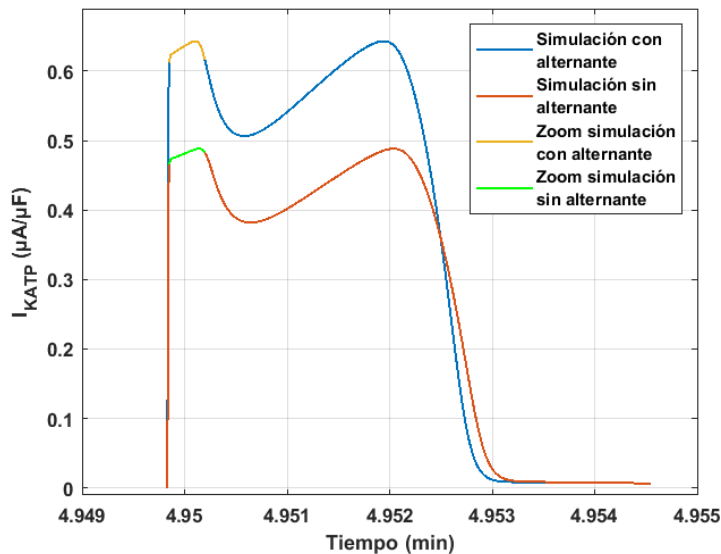


Figura 5.20. Comparación de la corriente de potasio sensible a ATP para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.

El umbral de inhibición de la corriente I_{KATP} indica que esta tiene un gran efecto en la aparición de los alternantes. Se ha analizado la Ecuación (14) correspondiente a esta corriente para estudiar de qué manera influye en el fenómeno de la alternancia eléctrica.

Los términos G_{KATP} , $\sqrt{[K^+]_o/5.4}$ y E_K son constantes para la simulación y tienen los mismos valores para ambos latidos. Por otro lado, f_{Mg} depende de la concentración intracelular de magnesio, una constante, y del potencial de membrana, y f_{Na} de la concentración intracelular

de sodio y del potencial de membrana. De este modo, ambos factores sufrirán una alternancia debido a V_m , pero no son responsables de ella.

Por último, $f_{ATP_{KATP}}$ depende tanto de $[ATP]_i$ como de $[ADP]_i$. Como se ha comentado anteriormente, estos dos parámetros influyen en el potencial de acción a través de esta corriente y, de hecho, a través de este factor. Por lo tanto, los resultados sugieren que I_{KATP} influye en la aparición de alternantes debido a los valores de $[ATP]_i$ y $[ADP]_i$.

5.5.4 Corriente de calcio por los canales tipo L (I_{CaL})

La corriente I_{CaL} es la responsable del segundo tramo de despolarización. Los resultados mostrados en la Figuras 4.6 (A) y 5.21 sugieren que este segundo tramo no se produce en los latidos cortos ya que no tiene lugar la segunda parte de la entrada de calcio en la célula. Además, en la Figura 5.22 se muestra como ambos latidos largos muestran una morfología muy parecida.

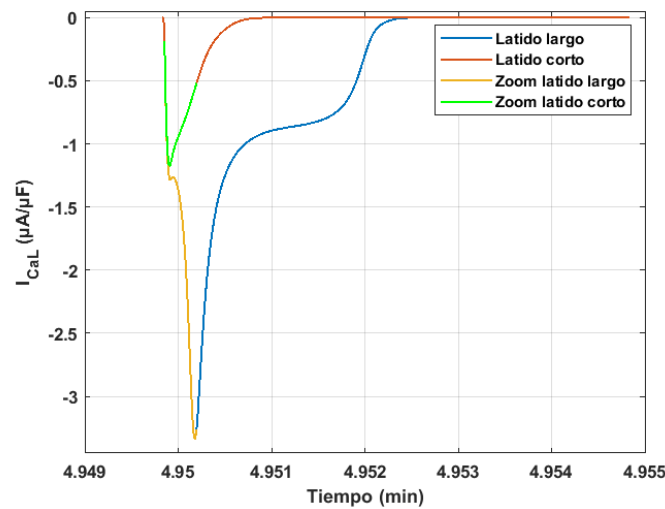


Figura 5.21. Comparación de la corriente de calcio por los canales tipo L para el latido largo y el corto.

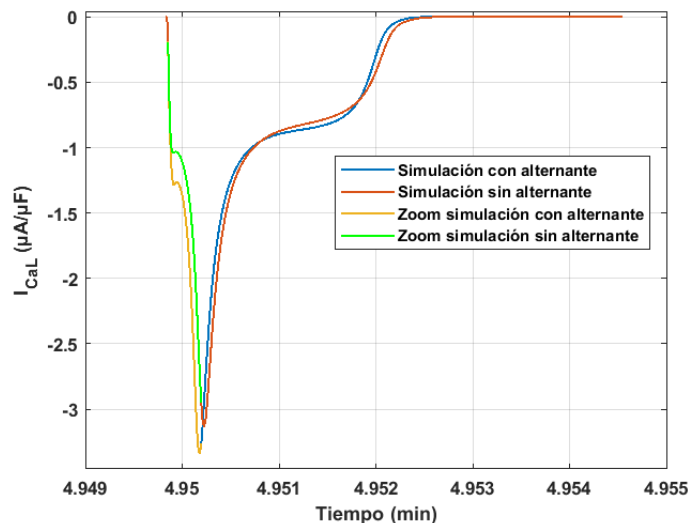


Figura 5.22. Comparación de la corriente de calcio por los canales tipo L para el mismo latido largo en una simulación con alternantes y otra sin alternantes.

La ecuación de la corriente de calcio es la (15). En ella todos los factores son constantes excepto nca , $fICaLp$ y $PhiCaL$, y todos ellos dependen de la concentración de calcio del subespacio.

$[Ca^{2+}]_{ss}$ está representada en la Figura 5.23 (A) y se observa que también presenta alternancia. Aunque, realmente, el instante más relevante para la alternancia corresponde al inicio del latido, representado en la Figura 5.23 (B). La razón es que cuanto mayor es la concentración de calcio en el subespacio, menor es la corriente entrante de calcio, debido a la presencia de compuertas calcio-inhibidas en los canales de calcio tipo L y también al gradiente de difusión. De este modo, al ser mayor la concentración al inicio del latido corto, la corriente de calcio es menor.

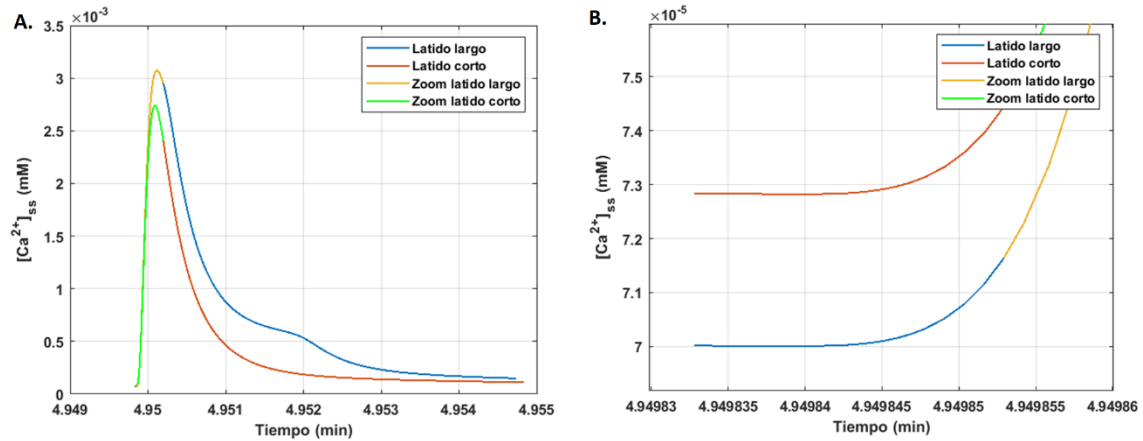


Figura 5.23. Comparación de la concentración del subespacio de calcio para el latido largo y el corto enteros (A) y del inicio de los latidos (B).

La dependencia con $fICaLp$ es indirecta ya que este factor solo está relacionado con $[Ca^{2+}]_{ss}$ debido a que la cantidad de canales fosforilados depende de que la calmodulina se una a este calcio. Lo mismo ocurre con nca , en este caso, la cantidad de canales ligando-dependientes dependerá de la cantidad de calcio presente al que ligarse. Además, cabe destacar que la corriente depende tanto de la cantidad de canales fosforilados ($fICaLp$) como de los no fosforilados ($1 - fICaLp$) y, del mismo modo, de los canales ligados a un Ca^{2+} (nca) y de los no ligados ($1 - nca$). Por lo tanto, una variación de estos parámetros no influye directamente en el valor de la corriente.

Respecto a $PhiCaL$, la *driving force* de esta corriente, depende directamente de $[Ca^{2+}]_{ss}$ y su variación afecta a la corriente, como se observa en la Ecuación (18).

Teniendo en cuenta que $PhiCaL$ también depende de la concentración de calcio extracelular, y este valor se puede variar ya que es una constante en el modelo y no una variable de estado, se ha podido realizado una nueva simulación para la que se han utilizado los módulos 'main2019_ORd_MMChAL_pert' y 'model2019_ORd_MMChAL_pert', explicados en el Capítulo 4. En ella, se ha aumentado el valor de esta variable para saber cómo afectaría a la corriente de calcio. En la Figura 5.24, se observa que aumentando $[Ca^{2+}]_o$ un 10%, la *driving force* aumenta en valor absoluto y, además, desaparece la alternancia.

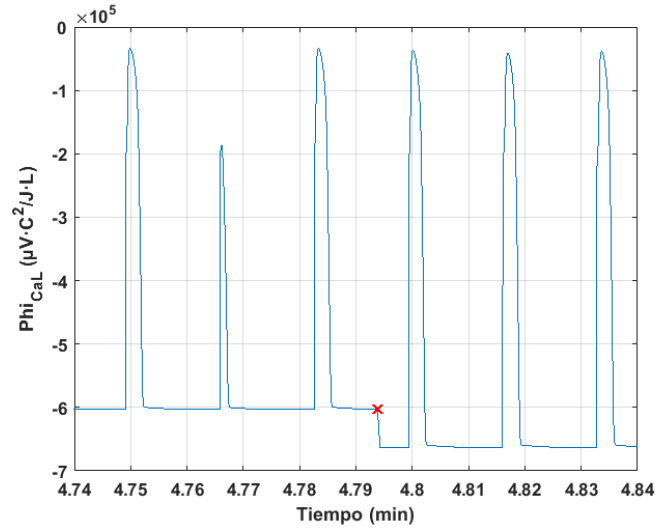


Figura 5.24. Φ_{CaL} de la simulación en la que se ha aumentado un 10% el valor la concentración extracelular de calcio en el punto marcado en rojo.

Como consecuencia, aumenta la corriente de calcio y, desaparecen los alternantes en esta. Y como resultado también desaparecen en el potencial de acción como se observa en la Figura 5.25.

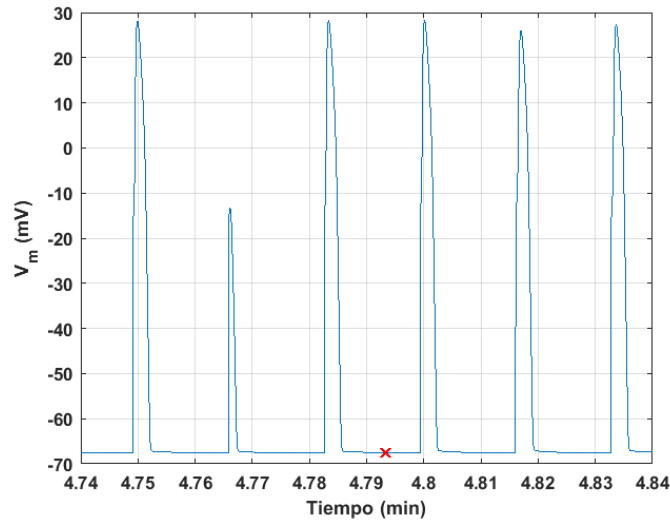


Figura 5.25. Potencial de acción de la simulación en la que se ha aumentado un 10% el valor la concentración extracelular de calcio en el punto marcado en rojo.

La concentración extracelular de calcio está relacionada con la concentración de calcio en el subespacio a través del intercambiado sodio-calcio del subespacio, $I_{NaCa_{ss}}$. De este modo, cuando $[Ca^{2+}]_o$ aumenta, también lo hace $[Ca^{2+}]_{ss}$, provocando cambios en Φ_{CaL} , y como se ha visto, esto tiene como consecuencia la eliminación de la alternancia en los potenciales de acción.

Los resultados sugieren que I_{CaL} tiene efectos sobre la alternancia en el potencial de acción debido a la alternancia que se produce en la concentración de calcio del subespacio, a través de su *driving force*, Φ_{CaL} .

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

El primer objetivo de este TFG era desarrollar un software de simulación en entorno Matlab® que permitiese simular los potenciales de acción, las corrientes iónicas y las concentraciones iónicas en una célula aislada sometida a condiciones de isquemia miocárdica aguda y que estuviese adaptado para el estudio de los alternantes eléctricos. Este objetivo se ha cumplido, tal como se detalla en el Cap. 4 de esta memoria. Las diferentes versiones del software desarrollado, así como los diferentes módulos programados, han permitido simular los potenciales de acción alternantes inducidos por la isquemia miocárdica aguda y estudiar su relación causal con las corrientes iónicas, las concentraciones iónicas y los factores isquémicos. Fruto de los estudios llevados a cabo utilizando el software desarrollado, pueden enunciarse las siguientes conclusiones, relacionadas todas ellas con el segundo objetivo del TFG (estudiar, utilizando el software antedicho, las causas de la aparición de los potenciales de acción alternantes en el nivel de los canales iónicos y las concentraciones iónicas).

1.- Los alternantes en el potencial de acción aparecen solamente si se da un valor crítico en la concentración extracelular de potasio: ésta debe tener un valor superior a 11.5 mmol/L. Este valor se alcanza en el miocardio a los pocos minutos (entre 5 y 10) después de la oclusión coronaria. Por otro lado, el ATP disminuye bruscamente en un episodio de isquemia miocárdica aguda y, por el contrario, el ADP adquiere valores superiores a los normales. Los resultados sugieren que ambos cambios en la concentración de nucleótidos influyen en la aparición de la alternancia eléctrica. Por último, de acuerdo también con las simulaciones, los valores de pH intracelular y extracelular, así como la concentración de LPC, no influyen en la aparición de alternantes.

2.- La influencia de las concentraciones de ATP y ADP en la aparición de alternantes del potencial de acción se canaliza a través de la corriente de potasio sensible a ATP y no de las bombas iónicas (bomba sodio-potasio, bomba de calcio sarcolémica y bomba SERCA del retículo sarcoplásmico), a pesar de que la actividad de estas últimas está directamente influenciada por los valores de los nucleótidos mencionados.

3.- Los alternantes eléctricos (en el potencial de acción) están íntimamente relacionados con los alternantes iónicos en el ciclo del calcio (en la concentración intracelular de calcio, tanto en el mioplasma como en el subespacio). Sin alternantes de calcio no se producen alternantes del potencial de acción y viceversa.

4.- Las corrientes iónicas tienen influencias muy diversas en la aparición de alternantes. Estos son muy sensibles a pequeñas variaciones (menores o iguales al 15%) de la corriente rápida de sodio (3%), la corriente de entrada de calcio a través de los canales de tipo L (5%), la corriente de potasio sensible a ATP (10%) y a la corriente rápida de potasio (15%). El resto de corrientes sarcolémicas tienen una influencia menor en la aparición de alternantes del potencial de acción.

Esta última conclusión sugiere posibles abordajes farmacológicos para tratar de evitar (o al menos retrasar) la aparición de alternantes. Un fármaco agonista de los canales de calcio de tipo L (como el Nefiracetam, que se administraba en el pasado contra la demencia senil, o el (R)-Baclofen, fármaco utilizado contra la esclerosis múltiple) podría evitar la aparición de alternantes en pacientes con riesgo cardiovascular, pues las simulaciones sugieren que basta con elevar un 5% dicha corriente de calcio para que el fenómeno alternante desaparezca. Lo mismo, y por las mismas razones, podría decirse de fármacos agonistas de la corriente rápida de sodio (como el Veratridine), pero en este caso habría que tener en cuenta que dichas sustancias son generalmente neurotóxicas y, por lo tanto, la relación riesgo-beneficio no justificaría su uso. Por último, fármacos antagonistas de los canales de potasio sensibles a ATP (como la glibenclamida) también podrían evitar o retrasar la aparición de alternantes y, con ello, de la fibrilación ventricular. Sin embargo, la administración de alguno de estos fármacos a pacientes con riesgo cardiovascular tendría implicaciones secundarias que habría que estudiar a fondo antes de considerarlo como una alternativa terapéutica.

CAPÍTULO 7. LÍNEAS DE TRABAJO FUTURAS

A lo largo del trabajo se ha remarcado la gran importancia de estudiar las causas del origen de los potenciales de acción alternantes producidos durante la isquemia miocárdica aguda por sus características arritmogénicas. Sin embargo, a pesar de que con este trabajo se ha arrojado algo de luz sobre este tema, todavía es importante que se realicen más estudios que puedan llegar a esclarecer totalmente las causas de este fenómeno. Las líneas de trabajo futuras que se sugieren a continuación están directamente relacionadas con las limitaciones del presente trabajo.

Por ello, futuras líneas de trabajo podrían ser:

- Utilizar modelos en los que los factores de isquemia miocárdica estuvieran formulados en su totalidad con datos obtenidos de experimentos en corazones humanos, ya que una parte de los datos presentes en el modelo utilizado son de experimentos en animales.
- Utilizar modelos que incluyan mayor cantidad de metabolitos, como la fosfatidilcolina (PC), que tengan efectos en las corrientes durante la isquemia miocárdica.
- Simular el efecto de la isquemia no solo en cardiomiocitos aislados, como se ha realizado en este trabajo, sino también en tejidos 1D, con lo que se podría analizar la propagación eléctrica entre células.

CAPÍTULO 8. REFERENCIAS

- Cardiovascular health: Heart valves.* (n.d.). Retrieved May 5, 2021, from <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/heart-anatomy/>
- Clusin, W. T. (2008). Mechanisms of calcium transient and action potential alternans in cardiac cells and tissues. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 294(1). <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00802.2007>
- De Castro, A. F., Giovanni, A., Rodriguez, J. F., & Ferrero, J. M. (2014). Dynamic computational simulations of alternans in acute myocardial ischemia. *Computing in Cardiology*, 41(January), 877–880.
- Deng, Y. L., Zhao, J. Y., Yao, J. H., Tang, Q., Zhang, L., Zhou, H. L., Zhang, C. T., Lv, J. G., & Quan, X. Q. (2017). Verapamil suppresses cardiac alternans and ventricular arrhythmias in acute myocardial ischemia via ryanodine receptor inhibition. *American Journal of Translational Research*, 9(6), 2712–2722.
- Edwards, J. N., & Blatter, L. A. (2014). Cardiac alternans and intracellular calcium cycling. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 41(7), 524–532. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12231>
- Electrocardiografía.* (n.d.). Retrieved May 9, 2020, from <https://telemedicinacamilocarbonellm.weebly.com/activacioacuten-eleacutectrica.html>
- Esteban Patón, C. (2021). *Estudio mediante modelado matemático y simulación computacional de los efectos de la isquemia miocárdica aguda en el tejido cardíaco humano.* <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/163519>
- Ferrero Corral, J. M. (1994). *Bioelectrónica : señales bioeléctricas.* Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Electrónica.
- Ferrero, José M., Sáiz, J., Ferrero, J. M., & Thakor, N. V. (1996). Simulation of action potentials from metabolically impaired cardiac myocytes: Role of ATP-sensitive K⁺ current. *Circulation Research*, 79(2), 208–221. <https://doi.org/10.1161/01.RES.79.2.208>
- Ferrero, Jose M., Trenor, B., & Romero, L. (2014). Multiscale computational analysis of the bioelectric consequences of myocardial ischaemia and infarction. *Europace*, 16(3), 405–415. <https://doi.org/10.1093/europace/eut405>
- Ferrero, Jose María. (2019a). *Tema 3. Modelo computacional de los canales iónicos.*
- Ferrero, Jose María. (2019b). *Tema 7. Fundamentos bioeléctricos de las arritmias cardíacas.*
- Ferrero, Jose María, Trenor, B., Montilla, F., & Saiz, J. (2006). Ischemia. In *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering* (pp. 2086–2103).
- Gironés Sanguesa, M. (2020). *Modelado y simulación computacional de los efectos electrofisiológicos de la isquemia miocárdica en células cardíacas humanas aisladas.* <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/150102>
- Gomez Cruz, O., & Arévalo, L. J. (2020). *Resumen de fisiología.* Universidad autónoma de

Chiapas.

- Gonzalez-Ascaso, A., Olcina, P., Garcia-Daras, M., F Rodriguez-Matas, J., & M Ferrero, J. (2019). Why Does Extracellular Potassium Rise in Acute Ischemia? Insights from Computational Simulations. *2019 Computing in Cardiology Conference (CinC)*, 45, 2019–2022. <https://doi.org/10.22489/cinc.2019.088>
- Gonzalez Ascaso, A. (2019). *Development of a computational model to simulate ischemia and hyperkalemia in human ventricular cardiomyocytes*.
- Guyton, C. A., & Hall, J. E. (2011). *Tratado de fisiología médica* (12th ed.). Elsevier.
- Janse, M. J., & Wit, A. L. (1989). Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *The American Physiological Society*, 69, 1049–1169. <https://doi.org/10.1152/physrev.1989.69.4.1049>
- Kleber, A. G., Janse, M. J., Van Capelle, F. J. L., & Durrer, D. (1978). Mechanism and time course of S-T and T-Q segment changes during acute regional myocardial ischemia in the pig heart determined by extracellular and intracellular recordings. *Circulation Research*, 42(5), 603–613. <https://doi.org/10.1161/01.RES.42.5.603>
- Laurita, K. R., & Rosenbaum, D. S. (2008). Cellular mechanisms of arrhythmogenic cardiac alternans. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 97(2–3), 332–347. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2008.02.014>
- Maier, L. S., & Bers, D. M. (2007). Role of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) in excitation-contraction coupling in the heart. *Cardiovascular Research*, 73(4), 631–640. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.11.005>
- Malmivuo, J., & Plonsey, R. (1995). Bioelectromagnetism. In *Etica e Politica* (Vol. 15, Issue 1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195058239.001.0001>
- Noma, A. (1983). ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. In *Nature* (Vol. 305, Issue 5930, pp. 147–148). <https://doi.org/10.1038/305147a0>
- O'Hara, T., Virág, L., Varró, A., & Rudy, Y. (2011). Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation. *PLoS Computational Biology*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002061>
- Olcina González, P. (2017). *Desarrollo de un software para el estudio, mediante simulación computacional, de las causas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda*. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/85027>
- Olcina González, P. (2018). *Estudio mediante modelado y simulación del efecto de la isquemia miocárdica sobre la pérdida de potasio en cardiomiocitos ventriculares*. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/110092>
- Sato, R., Noma, A., Kurachi, Y., & Irisawa, H. (1985). Effects of intracellular acidification on membrane currents in ventricular cells of the guinea pig. *Circulation Research*, 57(4), 553–561. <https://doi.org/10.1161/01.RES.57.4.553>
- Sierra, D. A., Rueda, O. L., & Correa, C. R. (2008). Parametric analysis of the ionic concentrations effects in the behavior of the sinoatrial node [Análisis paramétrico del efecto de las concentraciones iónicas en el funcionamiento del nodo sinusal]. *Revista Facultad de Ingeniería*, 45, 54–66. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-54949143199&partnerID=40&md5=880f2aee80115d7068bcd6f62d95a964>
- Steg, P. G., James, S. K., Atar, D., Badano, L. P., Lundqvist, C. B., Borger, M. A., Di Mario, C., Dickstein, K., Ducrocq, G., Fernandez-Aviles, F., Gershlick, A. H., Giannuzzi, P., Halvorsen, S., Huber, K., Juni, P., Kastrati, A., Knuuti, J., Lenzen, M. J., Mahaffey, K. W., ... Wallentin, L.

- (2012). ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal*, 33(20), 2569–2619. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs215>
- Surawicz, B., & Fisch, C. (1992). Cardiac alternans: Diverse mechanisms and clinical manifestations. *Journal of the American College of Cardiology*, 20(2), 483–499. [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(92\)90122-4](https://doi.org/10.1016/0735-1097(92)90122-4)
- Universidad Nacional Autónoma de México. (2019). *El corazón como bomba: fases del ciclo cardíaco*. 15. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wiggers_Diagram.svg
- Weiss, J. N., Karma, A., Shiferaw, Y., Chen, P. S., Garfinkel, A., & Qu, Z. (2006). From pulsus to pulseless: The saga of cardiac alternans. *Circulation Research*, 98(10), 1244–1253. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000224540.97431.f0>

PRESUPUESTO DEL TFG

PRESUPUESTO

1. OBJETIVOS

En este apartado se va a realizar la valoración económica del presente Trabajo Fin de Grado. En el presupuesto se van a detallar los costes parciales, que incluyen los costes de personal y los costes materiales, así como los costes totales del proyecto.

2. COSTES PARCIALES

Los costes parciales incluyen los costes de personal y los costes materiales.

2.1 Costes de personal

Los costes de personal incluyen el salario del personal que ha estado implicado en el proyecto según el nivel académico y las horas trabajadas, en este caso han participado dos ingenieros superiores que han guiado y tutorizado el trabajo y una estudiante de ingeniería biomédica que ha realizado el TFG.

El sueldo base de un estudiante es aproximadamente de 1400 €/mes, en cuanto a los dos ingenieros superiores, el sueldo base sería de 2600 €/mes. Si un año tiene 52 semanas y se le restan cuatro de vacaciones y dos de festivos, se trabaja un total de 46 semanas. Considerando una jornada laboral de 8 horas al día, cinco días a la semana, esto hace un total de 1840 horas anuales trabajadas. Además, el coste de la seguridad social para la empresa es de un 31.55% en base a cada uno de los salarios.

De este modo, el coste del ingeniero estudiante es de 14.01 €/h y del ingeniero superior de 26.02 €/h.

En la Tabla 1 se recogen los costes de personal.

Nº	Descripción del recurso	Unidad	Precio Unitario	Cantidad (h)	Coste Total
1	Ingeniero biomédico superior	€/h	26,02 €	50	1.301,00 €
2	Ingeniero biomédico superior	€/h	26,02 €	50	1.301,00 €
3	Ingeniero biomédico estudiante	€/h	14,01 €	300	4.203,00 €
TOTAL					6.805,00 €

Tabla 1. Costes de personal para cada individuo implicado en el proyecto

2.2 Costes materiales

Dentro de los costes de material, se incluyen los costes de software o licencias de programas informáticos empleados durante la realización del TFG, así como los equipos informáticos utilizados.

En la Tabla 2 se recogen todos estos costes.

Nº	Descripción del recurso	Precio	Cantidad	Duración licencia	Periodo de uso	Factor de amortización	Coste Total
1	Licencia de MATLAB Student R2021b	69,00 €	1	12 meses	10 meses	5/6	58,00 €
2	Microsoft Office Student 365	149,00 €	1	12 meses	10 meses	5/6	124,00 €
3	HUAWEI MateBook D 14	800,00 €	1	60 meses	10 meses	1/6	133,00 €
TOTAL							315,00 €

Tabla 2. Costes materiales del proyecto

3. COSTE TOTAL

Por último, se calculan los costes totales del proyecto como la suma de los costes de personal y los costes materiales como se muestra en la Tabla 3.

Descripción	Importe
Costes de personal	6.805,00 €
Costes materiales	315,00 €
TOTAL	7.120,00 €

Tabla 3. Costes totales del proyecto