



TRABAJO FINAL DE GRADO

Estudio mediante modelado y simulación de la aparición de alternantes en condiciones de estimulación del sistema beta-adrenérgico en el ventrículo humano sano y con insuficiencia cardíaca

Grado en Ingeniería Electrónica Industrial y
Automática

Autor: Jordi Ferre Martínez

Tutora: Beatriz Ana Trénor Gomis

Cotutora: Maria Teresa Mora Fenoll

Curso 2019-2020

Contenido

1. Introducción	2
1.1. Anatomía cardíaca.....	2
1.1.1. Corazón.....	2
1.1.2. Estructura y capas cardíacas.....	4
1.2. Fisiología cardíaca.....	6
1.2.1. Membrana celular	6
1.2.2. Mecanismo eléctrico-mecánico.....	7
1.3. Modelado bioeléctrico cardíaco.....	9
1.3.1. Modelo del potencial de acción.....	9
1.4. Insuficiencia cardíaca	11
1.4.1. Remodelado electrofisiológico	11
1.4.2. Detubulación.....	11
1.4.3. Arritmias en insuficiencia cardíaca.....	14
1.5. Sistema beta-adrenérgico.....	17
2. Motivación	18
3. Objetivos.....	18
4. Selección y construcción de modelos	19
4.1. Modelo O'Hara	19
4.2. Modelo de detubulación.....	21
4.3. Poblaciones de modelos.....	21
5. Resultado y análisis.....	22
5.1. Efectos del ISO en condiciones normales.....	23
5.1.1. Epicardio	23
5.1.2. Endocardio	27
5.2. Efectos del ISO en insuficiencia cardíaca	31
5.2.1. Epicardio	31
5.2.2. Endocardio	35
5.3. Efectos del ISO en poblaciones de modelos sanos y con insuficiencia cardíaca	39
5.3.1. Condiciones normales	39
5.3.2. Insuficiencia cardíaca	43
5.4. Efecto de la detubulación.....	¡Error! Marcador no definido.
6. Conclusión.....	54
7. Bibliografía.....	55

1. Introducción

1.1. Anatomía cardiaca

1.1.1. Corazón

El corazón es el órgano más importante del sistema circulatorio. Consiste en una estructura vacía formada por paredes de tejido muscular que tiene una capacidad contráctil suficiente para generar una presión que desplaza y distribuye la sangre y las sustancias que ésta contiene por todo el cuerpo mediante los vasos sanguíneos, venas y arterias. Su tamaño no es mucho mayor que el de un puño y se sitúa en la cavidad torácica, concretamente en el mediastino medio.

Internamente, el corazón está dividido en cuatro cavidades que se agrupan dos a dos, en la parte superior las aurículas y en la inferior los ventrículos. Las aurículas son las cámaras encargadas de recibir la sangre del organismo y enviarla a los ventrículos, y estos la dirigen al resto del cuerpo por el sistema circulatorio. La aurícula y el ventrículo derechos están comunicados por la válvula tricúspide, las dos cavidades del lado derecho están comunicadas por la válvula mitral.

El sistema circulatorio se descompone en dos subcircuitos, la circulación mayor y la circulación menor.

En el circuito mayor o sistémico la sangre oxigenada proveniente de los pulmones llega a la aurícula izquierda, ésta la manda al ventrículo izquierdo y la bombea a través de la arteria aorta que, ramificándose, la distribuye por el resto del organismo.

El recorrido del circuito menor empieza en la aurícula derecha que recibe la sangre desoxigenada procedente de todo el cuerpo y es dirigida al ventrículo derecho el cual, mediante la arteria pulmonar, la envía a los pulmones, donde se produce el intercambio gaseoso, para volver a la aurícula izquierda y empezar de nuevo el ciclo.

En la Figura 1 se exponen las válvulas y cavidades por las que pasa la sangre en cada circuito.

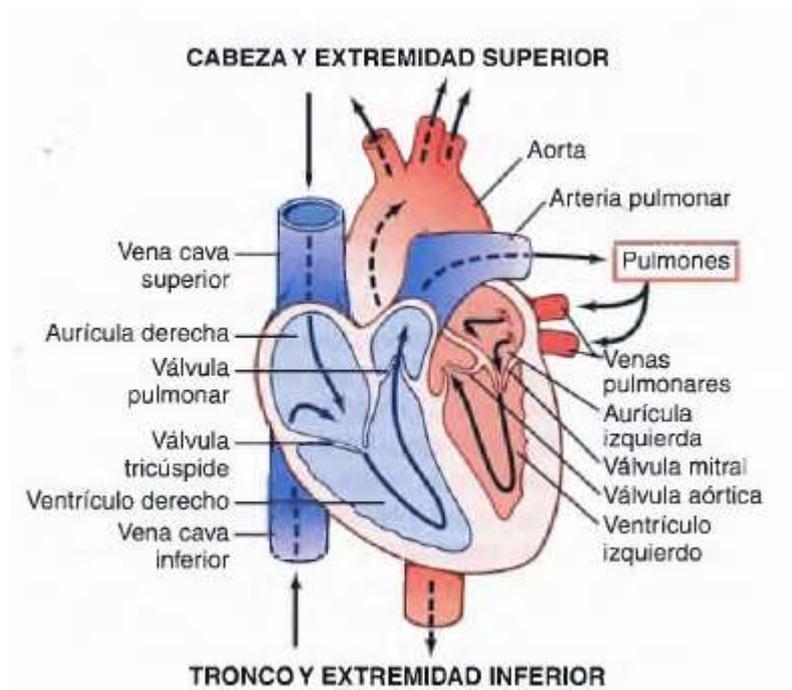


Figura 1. Estructura interna del corazón en dos colores. En azul las zonas involucradas en el circuito menor y en rojo las involucradas en el circuito mayor. Fuente: *Guyton and Hall*, 2011.

Para que la circulación de la sangre se produzca realizando los dos circuitos explicados anteriormente, es necesario un correcto funcionamiento del corazón, es decir, que se realicen correctamente los movimientos de contracción o sístole, y relajación o diástole.

El ciclo cardíaco consta de cinco fases: sístole auricular, contracción ventricular isovolumétrica, eyección, relajación ventricular isovolumétrica y por último llenado auricular pasivo. Las tres primeras partes del ciclo se corresponden con la sístole, donde la sangre es expulsada del corazón, y las dos últimas se corresponden con la diástole, en las que el corazón recibe la sangre de los diferentes lugares del organismo. Cada ciclo cardíaco tiene una duración de 0.8 segundos. La sístole tiene una duración menor que la diástole, aproximadamente 0.3 segundos frente a 0.5 segundos. Este ciclo se repite de 70 a 80 veces por minuto que es la frecuencia cardíaca normal.

1.1.2. Estructura y capas cardíacas

En este apartado se describe la estructura del corazón. El corazón se compone de tres capas principalmente: el epicardio, miocardio y el endocardio. Todas ellas tienen una actividad eléctrica que desencadena las contracciones mecánicas del corazón.

El epicardio, también llamado pericardio visceral, es la capa más externa del corazón. En gran parte está formado por tejido mesotelial de células cúbicas que se agrupan en torno de tejido conectivo y vascular, aunque también es común una acumulación de tejido adiposo, con una proporción variable en función del individuo. El epicardio está envuelto de vasos sanguíneos, llamados venas y arterias coronarias. La forma que observamos del corazón exterior, y por tanto del epicardio se asemeja bastante a una pirámide de cuatro caras, aunque esta forma varía constantemente por el ciclo cardíaco.

El miocardio es tejido intermedio y más voluminoso de la pared cardíaca. Este está compuesto principalmente de fibras musculares y tejido conectivo. Su grosor es mayor en el ventrículo izquierdo, debido a que la intensidad de la contracción de esta cavidad debe ser suficiente para transportar la sangre oxigenada procedente de los pulmones al resto del cuerpo. Sin embargo, las fibras musculares más importantes del miocardio son las que forman el llamado sistema de conducción eléctrica. Este es el responsable de la transmisión eléctrica en el corazón y se compone del nodo sinusal, las vías internodales, el nodo auriculoventricular, el haz de His y las fibras de Purkinje (Figura 2).

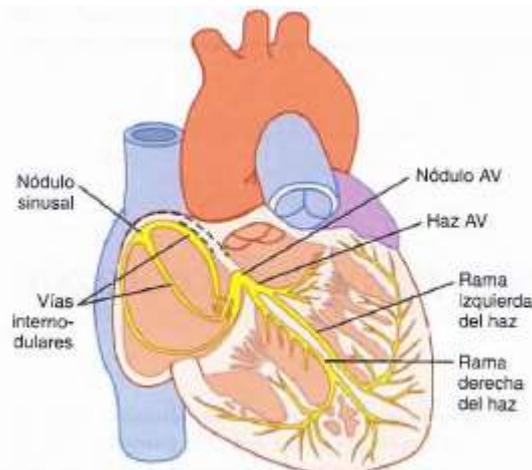


Figura 2. Nodo sinusal y el sistema de Purkinje del corazón, mostrando también el nodo aureoventricular, vías internodales auriculares y las ramas del haz ventricular. Fuente: *Guyton and Hall*, 2011.

El endocardio es una membrana de tejido epitelial, formada por células endoteliales y tejido conectivo laxo. Esta capa recubre diferentes estructuras del organismo, entre ellas, las cuatro cavidades cardíacas. Esta superficie lisa permite la libre circulación sanguínea y sirve como tejido aislante y protector del

miocardio subyacente. Además, el miocardio también recubre las diferentes válvulas cardíacas, para darle firmeza y uniformidad al resto de estructuras.

Finalmente, el corazón también está compuesto de un esqueleto fibroso, que está formada principalmente por fibras de colágeno compactas y densas, que proporcionan un soporte firme a las diferentes estructuras tisulares y recubren los orificios correspondientes a las válvulas cardíacas para evitar su dilatación cuando se producen la contracción y expansión ventricular y auricular.

1.2. Fisiología cardíaca

1.2.1. Membrana celular

La membrana celular es una fina capa lipídica que rodea la célula. Su función es separar el medio intracelular del extracelular, haciendo así de barrera física entre el contenido de ambos líquidos, con la intención de impedir la difusión de moléculas de agua u otras partículas con carga, iones.

Esta membrana tiene un grosor que oscila entre 7.5 y 10 nm y está formada de proteínas y lípidos. Esta capa lipídica, formada sobre todo de moléculas fosfolípidas, es la que impide el paso del agua y de las sustancias solubles en agua. Un extremo de estas moléculas es soluble en el agua, hidrofílico, y el otro sólo es soluble en grasas, hidrofóbico. Por esta razón, las moléculas tienden a unirse entre ellas, porque los extremos hidrofóbicos se atraen entre sí (Figura 3).

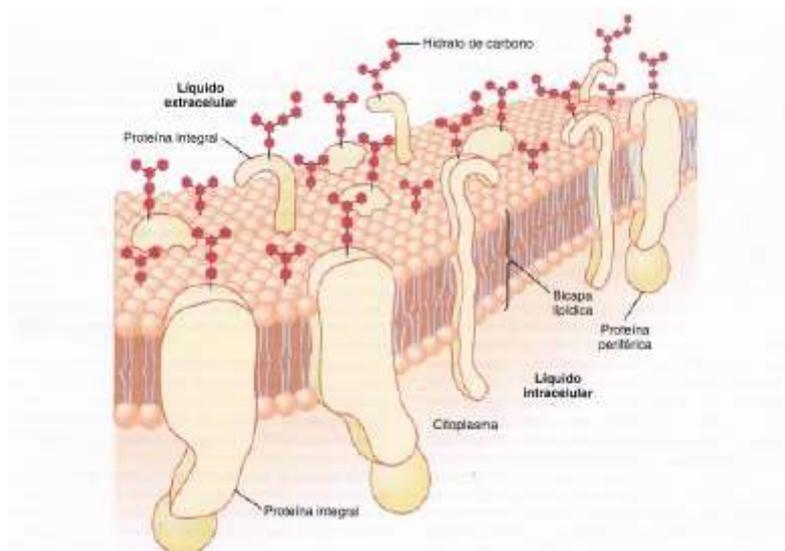


Figura 3. Estructura de la membrana celular, mostrando sus principales componentes. Figura: *Guyton and Hall, 2011.*

Por otra parte, y como habíamos señalado anteriormente, la membrana está también compuesta por proteínas. Estas están divididas en dos tipos: proteínas integrales y proteínas periféricas. Las proteínas integrales cruzan por completo la membrana, sin embargo, las proteínas periféricas están simplemente unidas a una capa.

Las proteínas integrales forman unos conductos por los cuales se distribuyen el agua y sustancias solubles en ella, sobre todo iones, entre los medios intracelular y extracelular. Estos conductos reciben el nombre de canales estructurales y solo permiten el paso a ciertas sustancias.

En este proyecto la función que vamos a analizar es la capacidad de transportar iones de por la membrana y así se equilibran las concentraciones iónicas en la fase de reposo del potencial de acción que se explica más adelante.

1.2.2. Mecanismo eléctrico-mecánico

1.1.2.1. Difusión iónica a través de la membrana celular

La difusión es el mecanismo que, mediante la diferencia de concentraciones intracelulares y extracelulares, realiza el intercambio de iones. Cuando hay una diferencia de concentración de iones entre los dos medios, éstos cambian de uno a otro con el objetivo de igualar las concentraciones y llegar al estado de equilibrio. Este intercambio se produce mediante los conductos compuestos por las proteínas de las membranas. Los canales estructurales facilitan o impiden el paso de los iones de un medio a otro, y para ello existen mecanismos pasivos y mecanismos activos, según si este desplazamiento necesita de un gasto energético o no.

Los mecanismos pasivos no necesitan un aporte de energía, por tanto, simplemente con las fuerzas ejercidas por la difusión se realiza en intercambio de iones. Hay tres tipos de mecanismos pasivos de difusión:

- La difusión simple tiene una magnitud menor que otras, pero los iones que están involucrados en ella pueden atravesar la membrana sin necesidad de otro mecanismo.
- Los canales iónicos son proteínas integrales en las cuales se realiza una difusión selectiva, es decir, permite el tránsito de ciertos iones. Estos canales dependen de las condiciones del medio, como la temperatura u otros estímulos, para que se puedan producir los intercambios de iones, es decir, que el conducto se encuentre abierto o cerrado.
- En tercer lugar, tenemos los intercambiadores y co-transportadores, que utilizan el intercambio de un ion a favor de su gradiente para dirigir otro en dirección contraria. (Bioelectrónica, J. Ferrero Corral et al. 1994)

1.2.2.2. Potencial de acción cardiaco

El intercambio iónico que se ha descrito anteriormente provoca una variación en el potencial de la membrana de la célula. En el corazón hay un tipo de células que hacen la función de un marcapasos, generan un estímulo eléctrico que se propaga a través del tejido celular. Estos estímulos generan el potencial de acción que a su vez provoca las contracciones que conocemos del corazón para cumplir con la circulación de la sangre por los dos circuitos de los que hemos hablado anteriormente. El potencial de reposo de las células cardíacas es aproximadamente de -88 mV hasta que se desarrolla PA tras la llegada del estímulo a cada una de las células.

Esta variación transitoria del potencial de membrana y denominada potencial de acción, es distinta en cada tipo de tejido, y a veces en el mismo tejido, debido al comportamiento de los canales iónicos. Sin embargo, la mayoría constan de cinco fases que vamos a explicar a continuación (Figura 5).

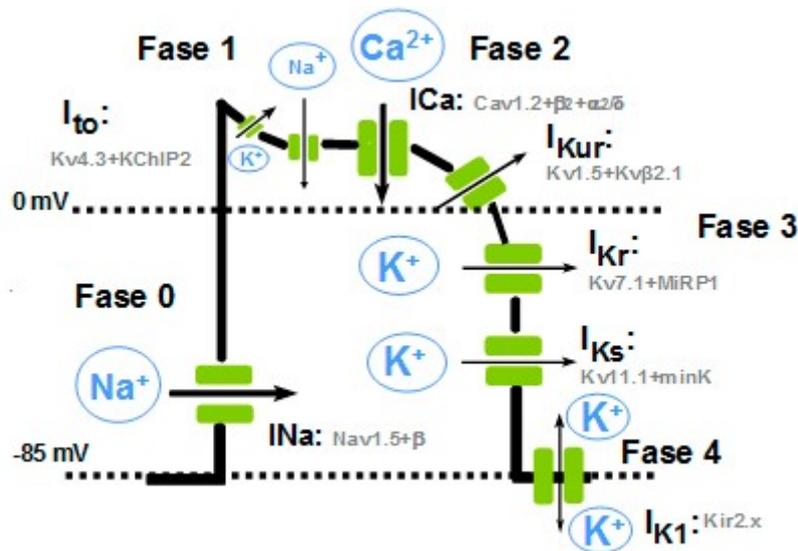


Figura 5. Figura que muestra el potencial de acción de una célula cardíaca, con todas sus fases y corrientes iónicas predominantes representadas. Fuente: Potencial de acción cardíaco en <https://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.html>.

- Fase 0. Despolarización: En este momento del potencial de acción se produce la apertura de los canales de Na⁺ que dependen del voltaje, que se activan y desactivan en esta fase durante 1 o 2 ms, permitiendo la entrada de estos iones en la célula. Esto provoca que el potencial de acción alcance un valor +20 mV, partiendo del potencial en reposo, y por tanto la célula se despolariza rápidamente y estos canales se cierran.
- Fase 1. Repolarización inicial: Después del cierre de los canales de Na⁺, se activa una corriente rápida de activación e inactivación, la corriente transitoria (K⁺).
- Fase 2. Meseta: La repolarización de la fase anterior es muy breve, pronto el potencial se estabiliza y entramos en una meseta. Esto significa que las corrientes de entrada y las de salida son prácticamente iguales, y esto se produce por el aumento de la permeabilidad al Ca²⁺ y el efecto contrario con al K⁺.
- Fase 3. Repolarización rápida: Se cierran los canales de Ca²⁺, se acaba el equilibrio que provocaba la meseta y la permeabilidad de K⁺ aumenta.
- Fase 4. Diástole: Cuando se acaba la repolarización, el potencial de membrana vuelve al de reposo, valores de -88 mV.

1.3. Modelado bioeléctrico cardiaco

1.3.1. Modelo del potencial de acción

Predecir el comportamiento de los órganos del cuerpo humano y su reacción a determinadas enfermedades y a sus perspectivas tratamientos, es un punto fundamental en la investigación médica desde hace muchos años. Esto se vuelve vital cuando el órgano del que intentamos saber más es tan importante y frágil como el corazón.

Para estudiar su comportamiento se suelen generar modelos computacionales, que, mediante ciertas variables y relaciones, lo limitan anatómica y funcionalmente. Estos modelos nos permiten observar las reacciones del corazón con o sin ciertas variables, lo cual sería imposible de realizar ellos, y, además, se realizan estudios y test sin poner en riesgo la integridad física del paciente o voluntario.

En la siguiente figura (Figura 6), se observa el modelado de una célula cardíaca. Cabe aclarar que el condensador colocado a la izquierda del circuito, con una capacidad eléctrica de ($1\mu\text{F}/\text{cm}$), corresponde a la membrana celular, una bicapa lipídica de unos 80 \AA , ya que separa dos medios eléctricos. Esta membrana permite el paso de distintos elementos del medio intracelular al medio extracelular, y este intercambio de cargas crea las corrientes iónicas (Ferrero et al. 2018).

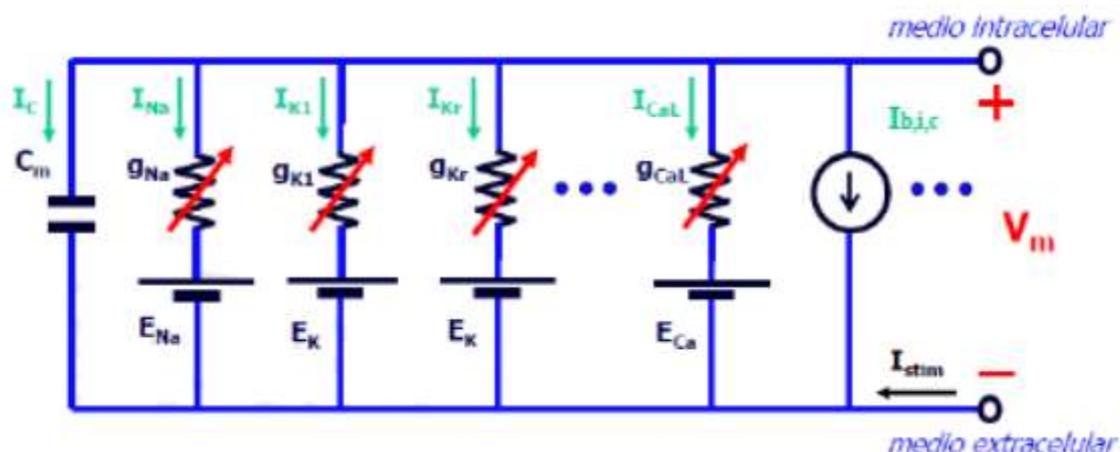


Figura 6. Modelo eléctrico de una célula. Fuente: Ferrero et al. (2018)

Como hemos comentado anteriormente, C_m representa la membrana celular. La fuente corresponde a las bombas, intercambiadores y cotransportadores ($I_{b,i,c}$); I_{stim} representa la corriente de estimulación externa; g_x hace referencia a las conductancias de cada canal iónico y E_x a los potenciales de reposo de los iones. Estos potenciales permiten que un ion esté en equilibrio con una corriente nula. Utilizando la Ley de Nerst, calculamos E_x con la siguiente ecuación: (6)

$$E_x = \frac{R \cdot T}{z_x \cdot F} \cdot \ln \left(\frac{[X]_e}{[X]_i} \right) \quad (1)$$

En este caso, R es la constante de los gases ideales, T la temperatura en K, z_x la carga del ion, F la constante de Faraday y $[X]_e$ y $[X]_i$ las concentraciones extracelulares e intracelulares, respectivamente.

Llegados a este punto, como en cualquier circuito eléctrico se debe cumplir la primera Ley de Kirchhoff: la suma de las corrientes entrantes en un nodo es igual a la suma de las corrientes salientes en dicho nodo. Por tanto, en el modelo celular, la suma de las corrientes que pasan por los canales iónicos (I_x); más las corrientes generadas por las bombas, intercambiadores y cotransportadores; junto con I_c e I_{stim} ha de ser igual a 0.

$$I_x + I_{b,i,c} + I_c = 0 \quad (2)$$

Donde:

$$I_c = C_m \cdot \frac{dV_m}{dt} \quad (3)$$

$$I_x = g_x \cdot (V_m - E_x) \quad (4)$$

$$g_x(V_{m,t}) = N_x \cdot Y_x(V_m) \cdot f_x(V_m, t) \quad (5)$$

Sabiendo que N_x corresponde al número de canales de la familia, y_x la conductancia unitaria y f_x la probabilidad de apertura del canal.

Sustituyendo en (3), (4) y (5) se obtiene en (2):

$$\Sigma g_x \cdot (V_m - E_x) + \Sigma I_{b,i,c} + C_m \cdot \frac{dV_m}{dt} + I_{stim} = 0 \quad (6)$$

1.4. Insuficiencia cardíaca

La insuficiencia cardíaca es una cardiopatía que consiste en que el corazón ya no es capaz de bombear la sangre con oxígeno, proveniente de los pulmones, al resto del cuerpo.

Suele ser una enfermedad crónica, es decir, que se presenta de una manera prolongada, aunque puede aparecer repentinamente. Las causas pueden ser diversas, muchos problemas del corazón e, incluso, algunas situaciones ajenas al corazón que demandan un rendimiento excesivo de este órgano. Aun así, la causa más común son otras cardiopatías, sobre todo, en las arterias coronarias, esto provoca un flujo de sangre menor y esto reduce la eficiencia del corazón.

Esta enfermedad también puede ser provocada como consecuencia de un infarto de miocardio, el tejido dañado por esta cardiopatía no es capaz de cumplir su función y, por tanto, esto puede provocar una insuficiencia cardíaca.

Hay dos tipos de insuficiencia cardíaca. La primera se llama insuficiencia cardíaca sistólica (HFrEF) y se ocasiona porque el miocardio no puede expulsar la sangre del corazón correctamente. El segundo tipo la sangre no puede entrar fácilmente al corazón porque el miocardio presenta una gran rigidez, se denomina insuficiencia cardíaca diastólica (HFpEF).

Normalmente, esta cardiopatía se inicia en una parte del corazón y se extiende a la otra. Suele empezar en el ventrículo izquierdo, y por el fallo en este suele pasar al ventrículo derecho.

Los síntomas de la insuficiencia cardíaca son problemas respiratorios y cansancio que al principio de la patología serán evidentes en momentos de gran actividad cardíaca (disnea del esfuerzo), pero en un estado avanzado de la enfermedad se puede manifestar incluso en reposo.

Cómo es una cardiopatía bastante común sobre todo en adultos mayores de 40 años, se han realizado numerosos estudios para el tratamiento de esta enfermedad.

1.4.1. Remodelado electrofisiológico

Se han observado muchos cambios experimentalmente en células cardíacas aisladas con insuficiencia cardíaca. Los modelos computacionales han ayudado a analizar las consecuencias en la electrofisiología celular de estos cambios. La primera simulación estudiada que se centró en las alteraciones eléctricas inducidas por la insuficiencia cardíaca fue llevada a cabo por Priebe y Beuckelmann en 1998.

Desde ese estudio, un número de modelos computacionales se centraron en describir el fenotipo de la insuficiencia cardíaca en las bases de los nuevos datos emergentes. Como se observa en la Figura 6, muchos modelos computacionales no solo reproducen la prolongación del APD, sino también niveles elevados de $[Ca^{2+}]_i$ diastólico, la reducción de pico del $[Ca^{2+}]_i$ sistólico y la lenta decaída del transitorio de Ca^{2+} observado experimentalmente en células con insuficiencia cardíaca.

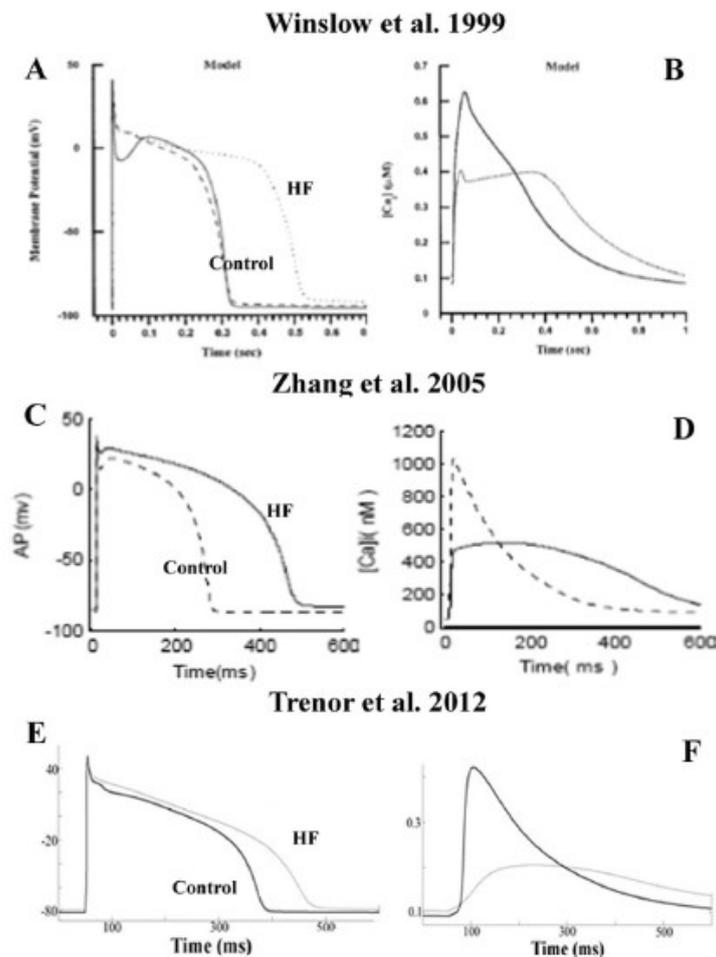


Figura 6. Cambios electrofisiológicos en insuficiencia cardíaca. Se representan potenciales de acción (columna izquierda) y transitorios de Ca^{2+} (columna derecha) obtenidos primero en condiciones normales y luego con remodelado electrofisiológico de insuficiencia cardíaca. Fuente: Gómez et al. (2015).

Muchos trabajos realizaron avances importantes, como el de Winslow et al. que definió el modelo mínimo de 'etapa final de insuficiencia cardíaca' centrándose en el nivel de proteínas de SR Ca^{2+} ATPasa y NCX en miocitos cardíacos de perro con insuficiencia cardíaca.

Shannon et al. 2005 desarrollaron una descripción más detallada de las dinámicas del Ca^{2+} . Se predijo que la afinidad del Ca^{2+} a los receptores rianodina (RyR) aumenta la probabilidad de retardo en las postdespolarizaciones (DADs) cuando se simula con insuficiencia cardíaca.

Y, así, muchas otras simulaciones han encontrado grandes avances en temas muy importantes del remodelado electrofisiológico para insuficiencia cardíaca. Por ejemplo, Grandi et al. 2007 con las vías de Calcio calmodulina quinasa II (CaMKII) o Moreno et al. 2013 incluyendo las vías de señalización beta-adrenérgica en un trabajo computacional (Gómez et al. 2015).

1.4.2. Detubulación

Como ya se ha indicado anteriormente, en la membrana de las células del corazón se produce un intercambio iónico y se transmite el potencial de una a otra. Además, todo ello implica un intercambio de iones de calcio que se produce principalmente en los túbulos transversales o túbulos T. Gracias a estos túbulos es posible sincronizar la liberación de calcio en las células lo que permite que el corazón se contraiga con la fuerza suficiente para transportar la sangre oxigenada a cualquier punto del resto del cuerpo.

Se ha observado experimentalmente que las células ventriculares afectadas de insuficiencia cardíaca pierden la estructura de los T-túbulos, lo cual se denomina detubulación. Así, en estas condiciones el intercambio de calcio cambia drásticamente. En diversos estudios se ha demostrado que una alteración en el ciclo del calcio, que depende en gran parte de los canales iónicos de tipo L, puede provocar arritmias en los pacientes que lo sufren. Las corrientes que se ven alteradas por este cambio son las I_{CaK} , I_{CaL} y I_{CaNa} . Podemos observar una representación gráfica de los túbulos T y como se distribuyen en la célula en la Figura 7.

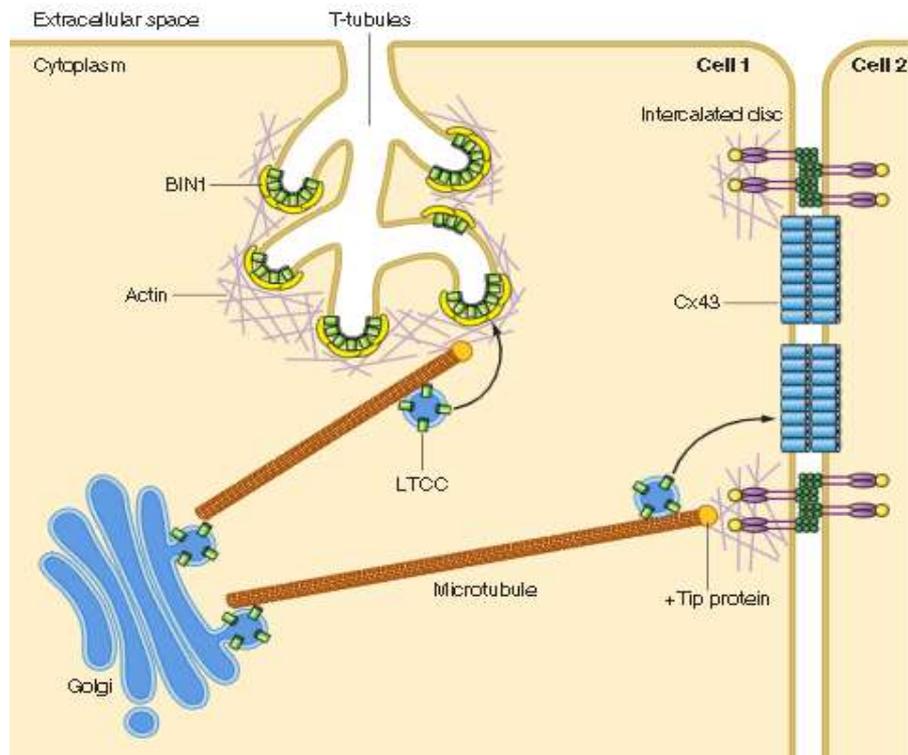


Figura 7. Estructura de los túbulos T y posición relativa en una célula. Fuente: Hong et al. (2016)

En este trabajo vamos a probar también con un modelo en el que está representada la detubulación para ver qué variaciones tendríamos incluyendo estos parámetros en la simulación.

1.4.3. Arritmias en insuficiencia cardíaca

Los cambios en la estructura del miocardio, incluso los microanatómicos, combinados con la remodelación electrofisiológica provocada por la insuficiencia cardíaca generan arritmias. La generación de la actividad desencadenada contribuye a iniciar arritmias y un sustrato alterado ayuda a que estas se mantengan. Una excitabilidad reducida a nivel celular emerge en el tejido como un retraso de la velocidad de conducción de la propagación de la onda de despolarización. Además, los gradientes de repolarización y la heterogeneidad electrofisiológica favorecen el bloqueo unidireccional y la reentrada. Para generar circuitos de reentrada, se necesita una brecha excitable o una ventana vulnerable, además, una conducción lenta y las heterogeneidades amplían la ventana vulnerable.

Muchos estudios han modelado alteraciones estructurales observadas en insuficiencia cardíaca para reproducir la actividad de reentrada. La importancia de la fibrosis para determinar la dinámica y la estabilidad de la reentrada ha sido destacada en muchos estudios. Como el porcentaje de los fibroblastos aumenta, la dinámica de espirales se ha caracterizado en una variedad de desequilibrios

y una secuencia intrínseca de transiciones entre ellas. El acoplamiento eléctrico de cardiomiocitos con las células de fibroblastos altera la propagación del potencial de acción anisótropo en la insuficiencia cardíaca humana en una moda que depende significativamente de la densidad del contenido fibroso y el grado de acoplamiento intercelular. Un rango de niveles intermedios de fibrosis y acoplamiento intercelular puede combinarse para favorecer la actividad de reentrada.

Para evaluar la dinámica de ondas espirales, el análisis de mapas de fase proporciona una herramienta potente para explorar los patrones de conducción anormal en el ajuste de la fibrosis ventricular. La fase rastrea la progresión de una región definida del miocardio mediante el potencial de acción. Los puntos alrededor de los cuales la fase progresa a través de un ciclo completo de $-\pi$ a π son de especial interés. En estos puntos, la fase se vuelve indeterminada y rota a su alrededor en una moda organizada. Estos puntos se llaman puntos singulares. Los puntos singulares comparten localización con las heterogeneidades anatómicas, y su espacio está modelado por estas heterogeneidades (Gómez et al. 2015).

Estos estudios enseñan que la presencia de las heterogeneidades estructurales como la fibrosis, aumentan el número de singularidades de fase, así el riesgo de rotura en las ondas. Podemos observar un ejemplo de esto en la Figura 8, del estudio de Gómez et al. (2014).

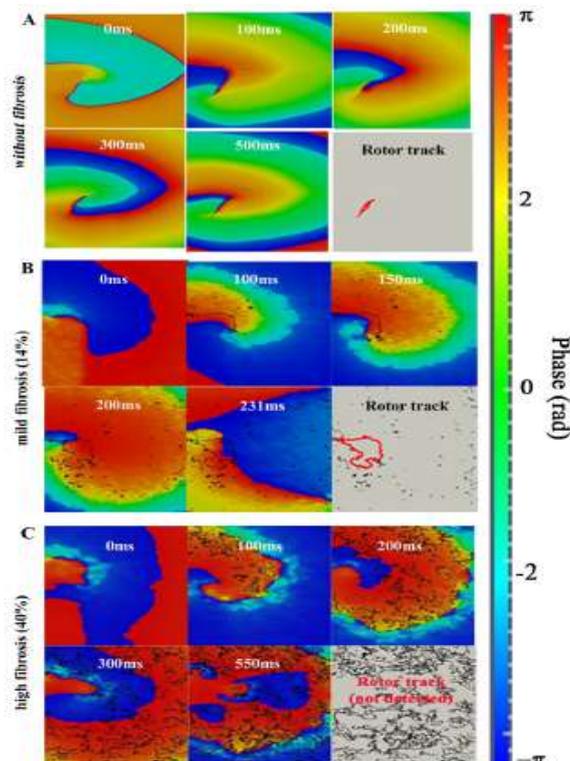


Figura 8. Ejemplo de la evaluación de ondas espirales mediante la herramienta del análisis de mapas de fase. Fuente: Gómez et al. (2015).

Los mecanismos arritmogénicos que se analizan en el presente trabajo final de grado son los alternantes. Los alternantes eléctricos están relacionados a la arritmogénesis por la dispersión de la refractariedad y se convierte en un indicador de riesgo de una muerte cardíaca repentina, además de la disfunción ventricular resultante de los alternantes mecánicos. Los alternantes cardíacos se manifiestan como fluctuaciones en el potencial de acción y en el ciclo de Ca^{2+} en los miocitos debido al hecho de que los procesos de voltaje de la membrana y el de Ca^{2+} están unidos. Sin embargo, los mecanismos subyacentes que llevan a los alternantes aún no se han identificado totalmente y la naturaleza de retroalimentación del acoplamiento entre el voltaje y las dinámicas de Ca^{2+} complica la tarea. Entre los mecanismos propuestos, se han sugerido alternantes voltaje-dirigidos Ca^{2+} -impulsados y la contribución de ambos sistemas (Mora et al. 2019).

La forma de cuantificar estos alternantes varía si los estamos midiendo mediante el APD o por la concentración de calcio, lo cual nos deja estas dos fórmulas para su medida:

$$Ca_{alt} = 1 - \frac{Ca_{min}}{Ca_{max}}$$

$$APD_{alt} = APD_{max} - APD_{min}$$

En condiciones de insuficiencia cardíaca, se ha observado la aparición de alternantes.

1.5. Sistema beta-adrenérgico

Otro de los sistemas que se alteran en condiciones de insuficiencia cardíaca y que es objeto del presente trabajo fin de grado es el sistema beta-adrenérgico compuesto por los receptores adrenérgicos, que son unos receptores asociados por la proteína G.

Aunque existen tres tipos de adrenoreceptores (AR), que son α_1 , α_2 y β , y cada tipo está dividido en 3 subtipos, nos vamos a centrar en los β_1 y β_2 .

La activación de los llamados beta-adrenérgicos tiene como consecuencia la estimulación de la adenil ciclasa y el aumento del cAMP. Esto provoca la que se active la Proteína Kinasa A (PKA).

El β_1 -AR tiene la función de aumentar el gasto cardíaco que se provoca por el aumento de la frecuencia cardíaca, la liberación de renina por las células yuxtglomerulares o la lipólisis en el tejido adiposo. En este caso es el receptor más importante que trata la respuesta cardiovascular a la noradrenalina liberada por los terminales nerviosos simpáticos y a la adrenalina circulante.

En cambio, el β_2 -AR se sitúa en las células de musculares, músculo liso, ya que su función más importante es la de relajar el músculo (Scanzano et al.2015).

En condiciones de insuficiencia cardíaca estos receptores se estimulan de como sistema de protección natural, pero a la larga pueden desencadenar mayores problemas, por ello, uno de los tratamientos en insuficiencia cardíaca son los betabloqueantes. En este trabajo se va a estudiar el efecto que provoca la estimulación beta-adrenérgica en células en condiciones normales y en insuficiencia cardíaca, mediante la aplicación in-silico de isoproterenol, estimulador del sistema beta-adrenérgico.

2. Motivación

Una vez expuesta la introducción, se puede entender que la insuficiencia cardíaca es una dolencia muy importante y que es bastante frecuente en personas de 40 años en adelante.

Por tanto, es muy importante ver cómo afecta esta cardiopatía a la actividad eléctrica celular del corazón. En este caso, vamos a estudiar cómo afecta al potencial, al calcio intracelular y a las corrientes iónicas.

Para esto vamos a utilizar tres modelos computacionales. Los modelos nos permiten observar el comportamiento electrofisiológico celular y su respuesta a fármacos o patologías, en este caso los beta-estimulantes (1 y 2) y a la insuficiencia cardíaca.

Con estos modelos se puede complementar la información que sacamos de los experimentos que se hacen con células reales, es decir, *in vitro* o *in vivo*. Las simulaciones realizadas con estos modelos van mejorando año a año y contribuyen a reducir la experimentación animal y humana.

3. Objetivos

Los objetivos de este trabajo se centran en el mecanismo de generación de alternantes, y se va a enfocar de distintos modos.

El objetivo principal en el presente Trabajo Final de Grado es estudiar cómo influyen los beta-estimulantes y la insuficiencia cardíaca en la aparición de alternantes utilizando el modelo de O'Hara.

Como objetivos específicos se propone por una parte comprobar el funcionamiento de un modelo modificado en el que se ha implementado la detubulación y ver qué efectos tiene en las simulaciones realizadas y las diferencias con el primer modelo.

Por otra parte, el segundo objetivo específico es analizar qué corrientes iónicas influyen más en la aparición de alternantes realizando una simulación con una población de 300 células, así como estudiar el efecto de isoproterenol en esta población.

4. Selección y construcción de modelos

4.1. Modelo O'Hara

El primer modelo en el que realizaremos las simulaciones es el de O'Hara, que es el modelo básico que tomamos directamente del *paper* de O'Hara et al.

Este modelo, al ser tan conocido, podemos encontrar muchas referencias y resultados de otros trabajos o artículos realizados con distintas frecuencias, tipos de célula, con o sin ISO, etc.

El modelo dinámico de O'Hara-Rudy (ORd) fue creado por el Centro de Bioelectricidad y Arritmia Cardíaca de la Universidad Washington de St. Louis, Missouri, por Thomas O'Hara y Yoram Rudy. Este modelo es el que se utiliza como referencia en la cardiología actual. Cuando se realizó este estudio, la mayoría de los estudios se centraban en células no humanas que, aunque su comportamiento se asemeja a las humanas, no es el mismo y por tanto, no se puede investigar con exactitud apartados tan importantes como la respuesta ante algunos fármacos.

Para la construcción del modelo se tomaron datos experimentales de más de 140 corazones humanos, y con ello se realizó el modelo matemático que mejor refleja el comportamiento de las células del corazón.

Este modelo altamente detallado de la electrofisiología y del ciclo de Ca^{2+} ventriculares. Está constituido por 16 corrientes de membrana, 7 flujos y 43 variables de estado, entre ellas el potencial de membrana, la corriente iónica total y el tiempo. Todo esto resulta en la siguiente fórmula que expresa el potencial de membrana:

$$C \frac{dV}{dt} = -(I_{Na} + I_{NaL} + I_{CaL} + I_{K1} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{to} + I_{CaNa} + I_{CaK} + I_{NaCa} + I_{NaCa} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{pCa} + I_{bNa} + I_{bCa} + I_{Kb} - I_{stim})$$

Todos los datos se obtuvieron a una temperatura de 37°C bloqueando selectivamente los canales iónicos de los cardiomiocitos, esta técnica se llama patch-clamp. Con esto consiguieron obtener la forma de onda y los valores reales de las corrientes de una manera muy precisa.

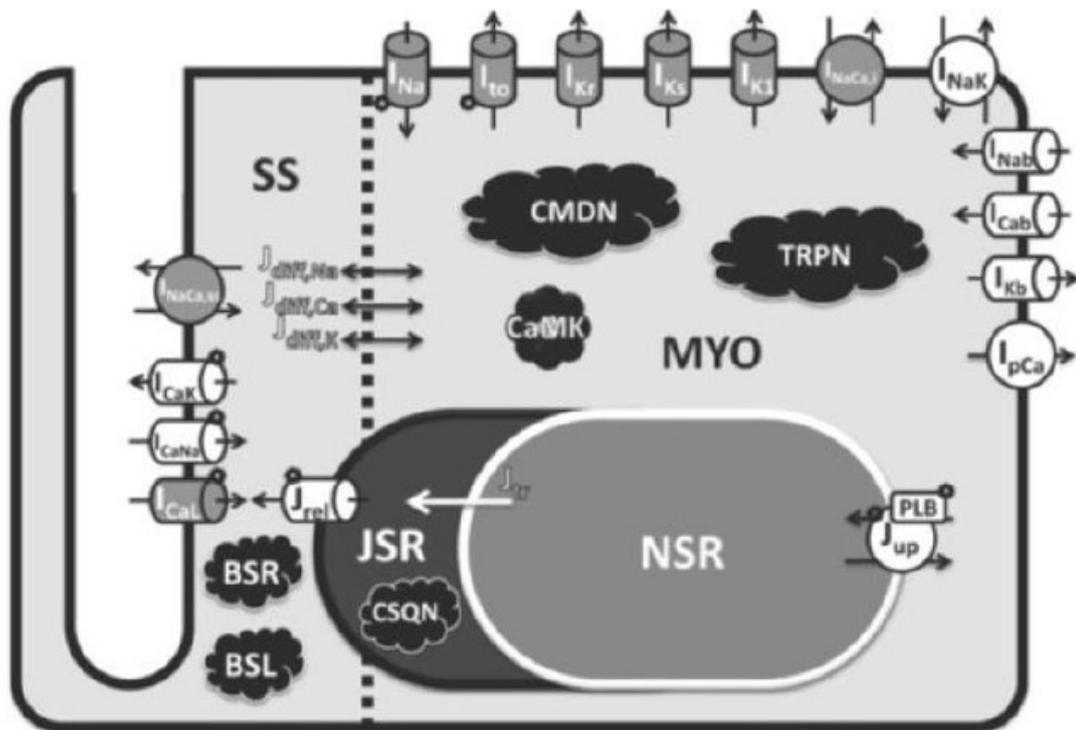


Figura 9. Diagrama esquemático del modelo de miocito del ventrículo humano. Fuente: O'Hara et al. (2011).

En la Figura 9 se puede observar la representación visual de la célula realizada por O'Hara y Rudy donde se observan 4 partes en las que se divide esta: el mioplasma (MYO), la junta sarcoplásmica reticular (JSR), la red sarcoplásmica reticular (NSR) y el subespacio (SS).

Este modelo está considerado se encuentra dentro de la iniciativa CiPA, cuyo objetivo es facilitar la adopción de una nueva forma de evaluación clínica del *Torsade de Pointes*, es decir, que no se mida solamente a partir de la potencia de bloqueo de hERG y por la prolongación del intervalo QT del ECG. Para mejorar el comportamiento del modelo tras la aplicación de fármacos se han modificado ciertas conductancias de algunos canales iónicos, como por ejemplo I_{Kr} , I_{CaL} o I_{NaL} . Además, en el modelo empleado en el presente trabajo se ha incluido el sistema beta-adrenérgico y la detubulación.

El mayor inconveniente del modelo de O'Hara original es que no refleja la detubulación y, por tanto, cuando simulamos la insuficiencia cardíaca los resultados obtenidos no se ajustaran del todo a la realidad porque para simular correctamente las modificaciones que realiza esta enfermedad se necesita una mejor adaptación.

4.2. Modelo de detubulación

En este segundo modelo se realizan algunos cambios en el modelo de O'Hara, para así, añadir la detubulación que hace más realistas las simulaciones realizadas sobre todo en insuficiencia cardíaca.

Para simular la insuficiencia cardíaca se deben realizar cambios en el modelo. La parte electrofisiológica ha sido modificada para representar los cambios característicos de la insuficiencia cardíaca a nivel celular, como por ejemplo la remodelación de los canales iónicos y la pérdida de los dominios celulares de los túbulos T. La remodelación de la insuficiencia cardíaca heterogénea se ha implementado como se indica en Gómez et al. (2015): incremento de la corriente lenta de Na^+ , el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, la fuga de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático, y la disminución de la actividad de la bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático (SERCA), la corriente de K^+ , la corriente a través de la bomba Na^+/K^+ , y la sensibilidad de liberación a través de RyRs.

Respecto a la detubulación, se han introducido los cambios siguiendo la metodología descrita en Sanchez-Alonso et al. (2015):

1. Canales de calcio tipo L (LTCC), que predominan en el subespacio (espacio de la submembrana cerca de los túbulos T), fueron redistribuidos en la cresta.
2. La mitad de los intercambiadores diádicos $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) fueron recolocados en la superficie de la membrana.
3. Se redujo la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático para reproducir RyRs huérfanos.

4.3. Poblaciones de modelos

Se han construido modelos de una población de células para así reflejar mejor la realidad, ya que cada persona puede tener unos valores diferentes en cada corriente, dentro de unos parámetros. Por tanto, con este estudio se observa cómo puede afectar el fármaco isoproterenol a distintas personas, con cada una de ellas unos valores distintos de las corrientes iónicas principales, pero eso sí todas ellas con insuficiencia cardíaca. Esto nos permitirá saber qué corrientes y en qué rango son más importantes en la aparición de alternantes.

En este caso, la población de modelos es una modificación del modelo de O'Hara, incluyendo en él un bucle que genera los valores iniciales tanto de las corrientes y los flujos iónicos. Estos valores varían aleatoriamente entre 0.8 y 1.6 de sus respectivas unidades.

Con estos valores aleatoriamente generados se simulan 300 células distintas, y, al finalizar, se contabilizan automáticamente los alternantes que se encuentran entre todas las simulaciones. Además, hace un gráfico de bloques que indica cuáles son las corrientes y flujos más influyentes para la aparición de alternantes.

Describe también la población de modelos con insuficiencia cardíaca.

5. Resultado y análisis

En este apartado se reflejan los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas con cada uno de los modelos descritos y mediante el uso de MatLab. Además, se muestran las gráficas detalladas que describen los resultados obtenidos de las simulaciones. Con las gráficas se ilustra fácilmente el análisis que hacemos de cada resultado y los compararemos con estudios realizados anteriormente experimentales o de simulación, para ver si son coherentes. Además, los resultados nos permiten analizar los mecanismos iónicos que desencadenan las alteraciones en el comportamiento eléctrico ventricular en condiciones patológicas.

En las gráficas se utiliza el color negro para las simulaciones de células sanas (N) y el color rojo para las células con insuficiencia cardíaca. Las células con los beta-estimulantes (ISO 1) se mostrarán con un grosor menor y en las que no se han utilizado éstos (ISO 0) con un mayor grosor.

Para poder abreviar algunos conceptos vamos a utilizar algunas siglas que necesitan ser explicadas previamente:

- **APD (*Action Potential Duration*):** En español es la duración del potencial de acción, parámetro que indica la duración temporal entre la fase de despolarización y el punto donde la amplitud del potencial ha disminuido en un 90%. Por tanto, se calcula la duración del 90% del potencial de acción y es por eso por lo que también es llamado APD90.
- **Calcio sistólico:** Este parámetro es el valor máximo del transitorio de calcio que se registra en el momento de la sístole, es decir, en el tiempo en el que el corazón se contrae.

5.1. Efectos del ISO en condiciones normales

En este apartado, vamos a analizar las simulaciones realizadas con las células sanas empleando el modelo ORd, tanto en epicardio como en endocardio, comparando los resultados con (ISO1) y sin (ISO0) isoproterenol. Se van a observar las corrientes iónicas más influyentes para la aparición de alternantes, y además la duración del potencial de acción (APD) y el transitorio de calcio, así como sus variaciones con la frecuencia de estimulación, es decir las curvas de restitución.

5.1.1. Epicardio

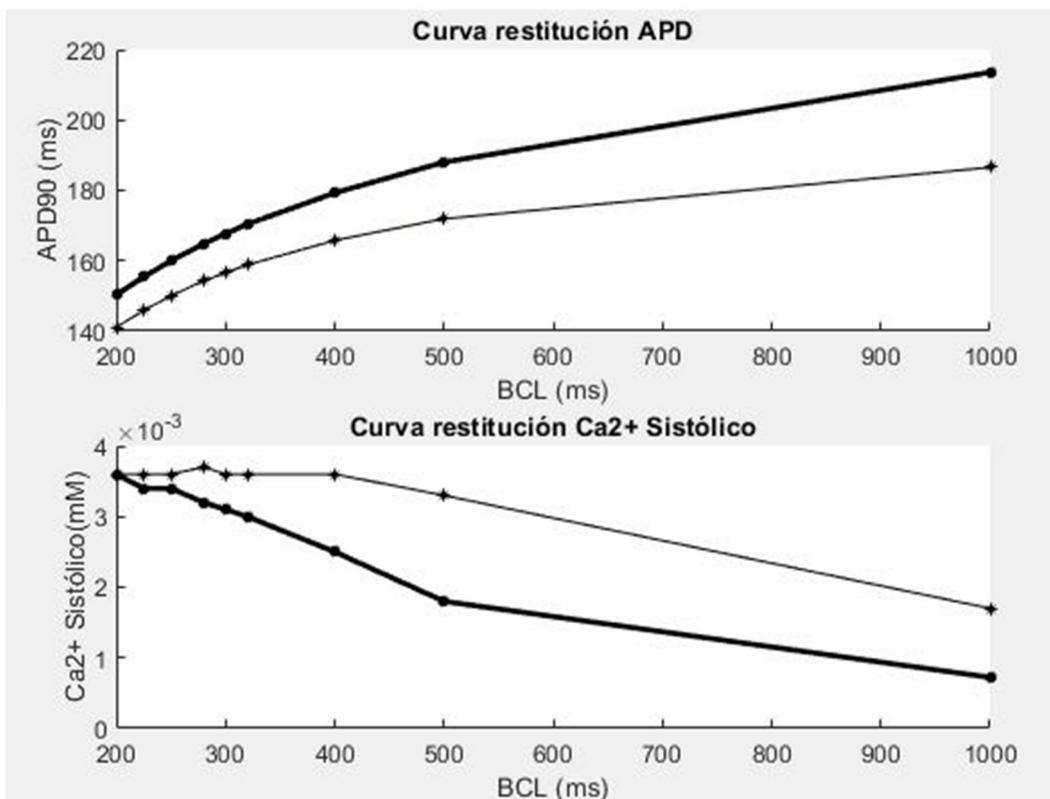


Figura 10. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del pico de transitorio de calcio en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de los (curva fina). En el eje de abscisas se muestra el *Basic Cycle Length* (BCL) o el ciclo básico de estimulación de ms.

Se puede observar en esta imagen las curvas de restitución tanto del APD como del calcio sistólico. En la gráfica A se ve que hay una diferencia de +9 ms con un *Basic Cycle Length* (BCL) de 200 ms entre el APD con y sin isoproterenol. Esta diferencia va aumentando hasta que con 1000 ms es de +27 ms.

Observando ahora la gráfica inferior, se puede ver que cambia un poco ya a simple vista. En este caso se observa que ambas gráficas empiezan en un

mismo punto, pero por el efecto provocado por el isoproterenol (ISO1) se van distanciando más hasta llegar a un máximo de $-1.5 \mu\text{M}$ con un BCL de 500 ms.

Pese a los resultados en BCLs bajos en la curva de restitución en el transitorio de calcio, en ambas gráficas se puede ver cómo el valor, tanto del APD como del Ca^{2+} sistólico, es superior sin isoproterenol (ISO0). Estos resultados concuerdan con lo expuesto por Gong et al. (2020) en su artículo donde se expone que el efecto del isoproterenol reduce el APD, y esta reducción depende de la frecuencia de estimulación de la célula.

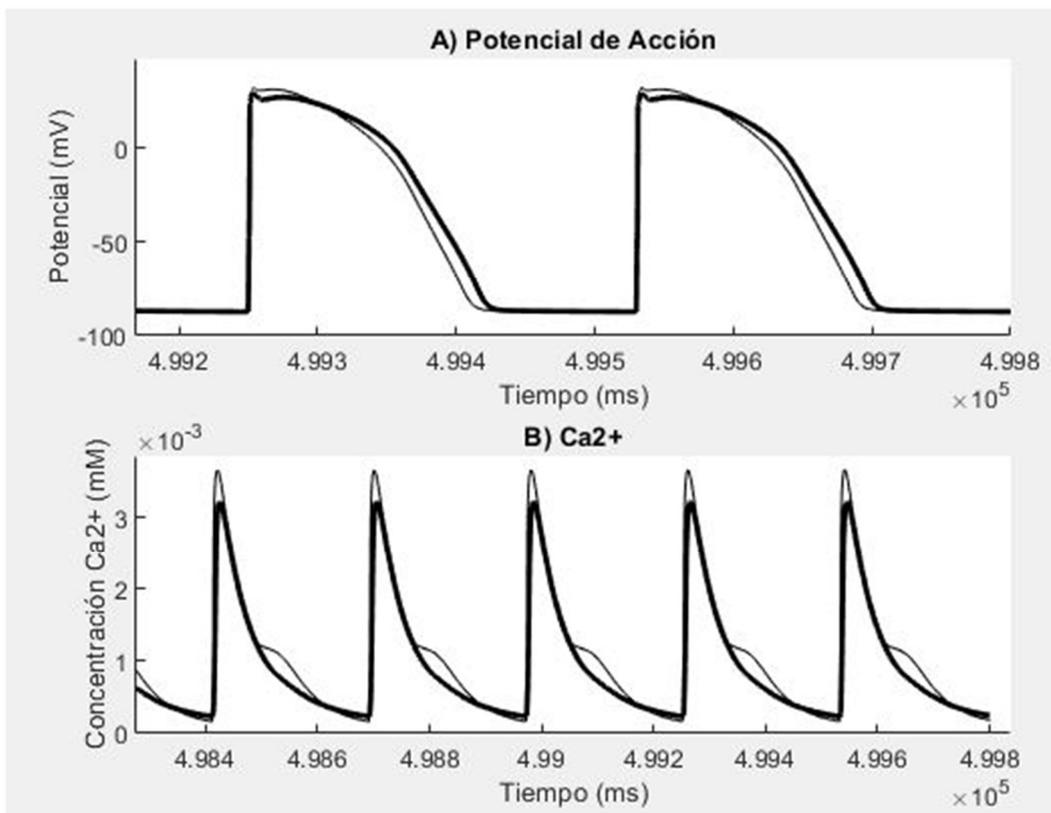


Figura 11. A) Potencial de acción APD en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la figura 11 se observa cómo el potencial de acción es más corto con los efectos de los beta-estimulantes actuando en la célula, y también cómo el calcio es más alto con estos mismos parámetros.

Esto se corresponde perfectamente con el artículo de Gong et al. (2020) donde se da constancia de que el efecto de ISO acorta el potencial de acción, aunque éste llegue a un mayor potencial e, igualmente, muestra que el calcio intracelular es mayor cuando se aplica ISO1 en las células. Lo único que no se refleja en sus

resultados es la protuberancia que aparece al final del periodo del calcio, ya que en sus gráficas sí que parece que se produzca una desviación parecida pero la nuestra es más acentuada. Esto se debe al hecho de que en nuestras simulaciones trabajamos con BCLs más pequeños, 280 ms, y en su artículo las simulaciones empiezan con 400 ms. Es más, al observar otras figuras de su estudio, se puede ver cómo esta protuberancia disminuye e incluso llega a desaparecer conforme se aumenta el BCL.

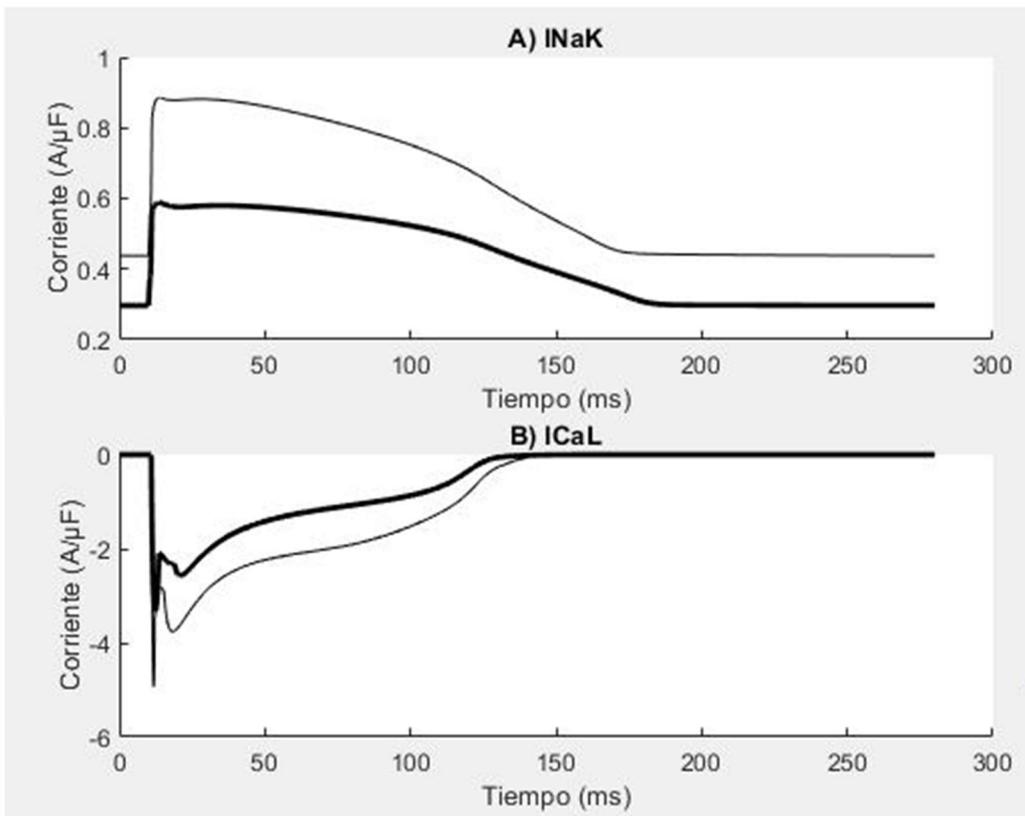


Figura 12. A) Corriente iónica I_{NaK} en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

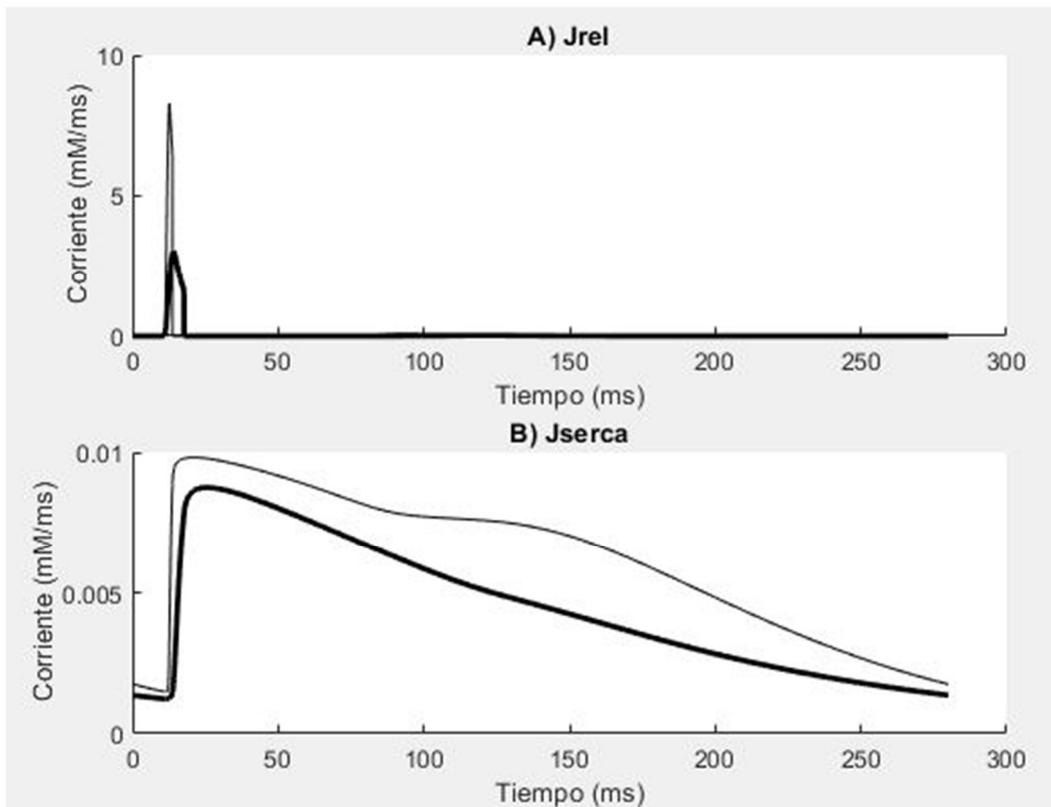


Figura 13. A) Flujo iónico J_{rel} en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células epicárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la figura 12 se observa cómo en las corrientes el patrón es el mismo, lo que cambia es el signo, ya que en el caso de la I_{NaK} es una corriente que evoluciona hacia valores más positivos por el tipo de transmisión iónica a la que corresponde. En cambio, la corriente I_{CaL} tiende a valores negativos, pero en ambos casos la más extrema es la gráfica que representa a las células en las que se han aplicado los efectos del ISO1. Estos resultados se corresponden perfectamente con lo observado en el artículo de Gong et al. (2020).

En la figura 13 ocurre exactamente lo mismo, siguen siendo valores muy superiores en la parte donde se aplican los efectos de los beta-estimulantes, en J_{rel} es más del doble.

Como se esperaba, en las simulaciones realizadas con células epicárdicas no se han encontrado alternantes. Se observa el efecto provocado por el fármaco isoproterenol al igual que ocurre en el artículo de Gong et al (2020), pero en este artículo no se profundizaba en la búsqueda de alternantes, punto que es prioritario en este trabajo, aunque en este caso no se han hallado.

5.1.2. Endocardio

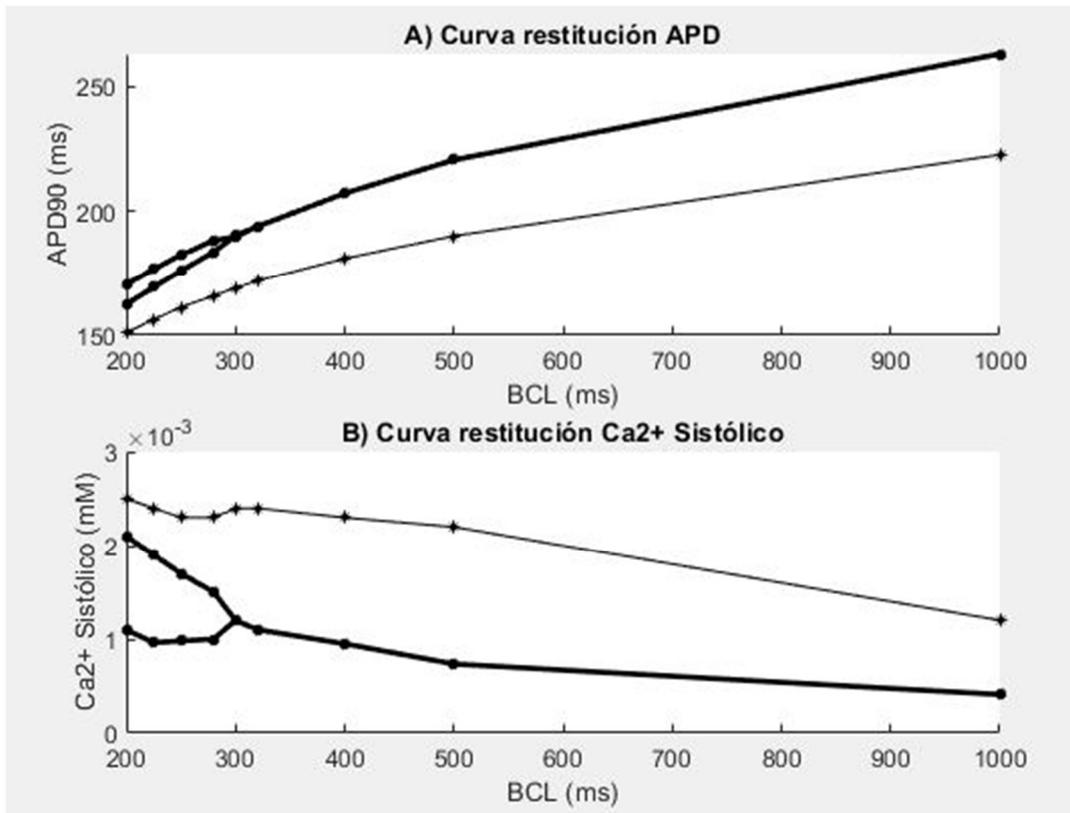


Figura 14. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del transitorio de calcio en células endocárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de los (curva fina).

En la figura 14 se puede observar la aparición de alternantes para ISO0, es decir APDs de 2 duraciones distintas (largo y corto) consecutivas para un mismo BCL.

En la gráfica A, se muestran claramente alternantes hasta un BCL de 300 ms. Estos alternantes tienen una amplitud de 8 ms en 200 ms y se reducen hasta 5 ms en 280 ms. A parte de esta novedad, se sigue observando el efecto del isoproterenol (ISO1) que provoca una diferencia máxima con las células sin el fármaco (ISO 0) de 40 ms con un BCL de 1000 ms.

En la gráfica B, observamos lo mismo prácticamente, ya que los alternantes en el calcio sistólico también llegan hasta el BCL de 300 ms. El tamaño de estos es de 1 μM en 200 ms y disminuye hasta 0.5 μM en 280 ms. Como pasaba con las células epicárdicas la gráfica con isoproterenol (curva fina) tarda en reducir la cantidad de calcio mucho más que la gráfica que no lo contiene (ISO 0) donde se ve patente el efecto ISO.

Además, en estas figuras podemos comprobar que como se observa en el artículo de Mora et al. (2017) con células en condiciones normales y sin aplicar

el isoproterenol se producen alternantes a frecuencias altas, llegando a BCLs cercanos a los 280 ms.

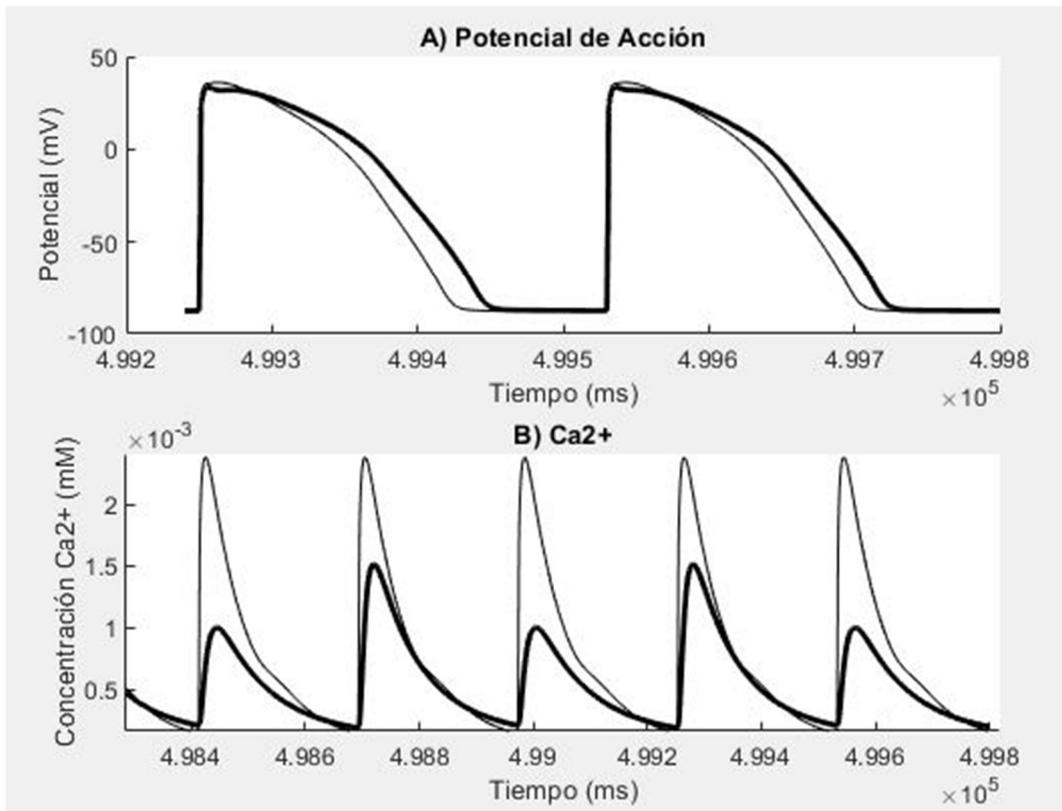


Figura 15. A) Duraciones de potencial de acción (APD) en células endocárdicas con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células endocárdicas con el modelo Ord en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la gráfica A de la figura 15 se pueden observar los dos últimos potenciales de acción donde se observa la diferencia de duración, la alternancia, en los potenciales consecutivos en ausencia de ISO. También se aprecia que el potencial de la célula con isoproterenol es más corto. En la gráfica B se ven claramente los alternantes de calcio en las células en las que no se han aplicado los beta-estimulantes. Además, se observa que el calcio de las células con ISO es mucho mayor que el de las células en condiciones normales.

En general, en la figura 15 se siguen viendo los efectos del isoproterenol en células en condiciones normales, provoca un acortamiento del APD y un aumento del nivel de calcio, tal y como se observa en el artículo de Gong et al. (2020).

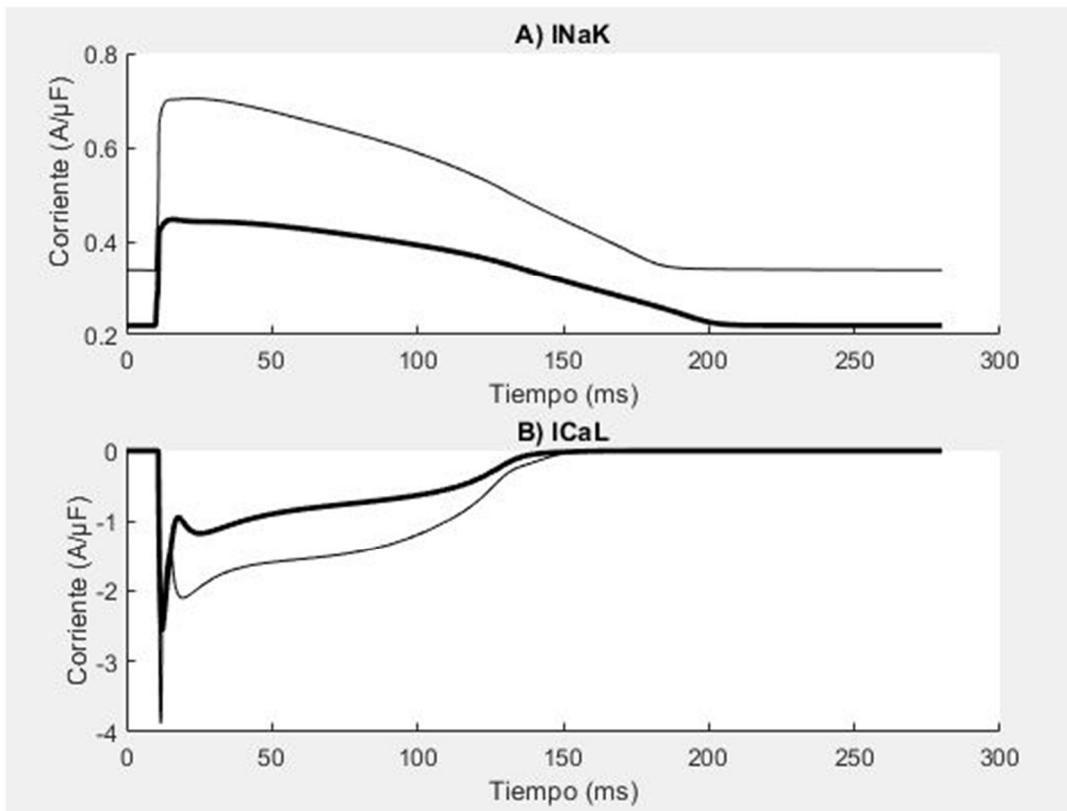


Figura 16. A) Corriente iónica I_{NaK} en células epicárdicas con el modelo Ord en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células epicárdicas con el modelo Ord en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

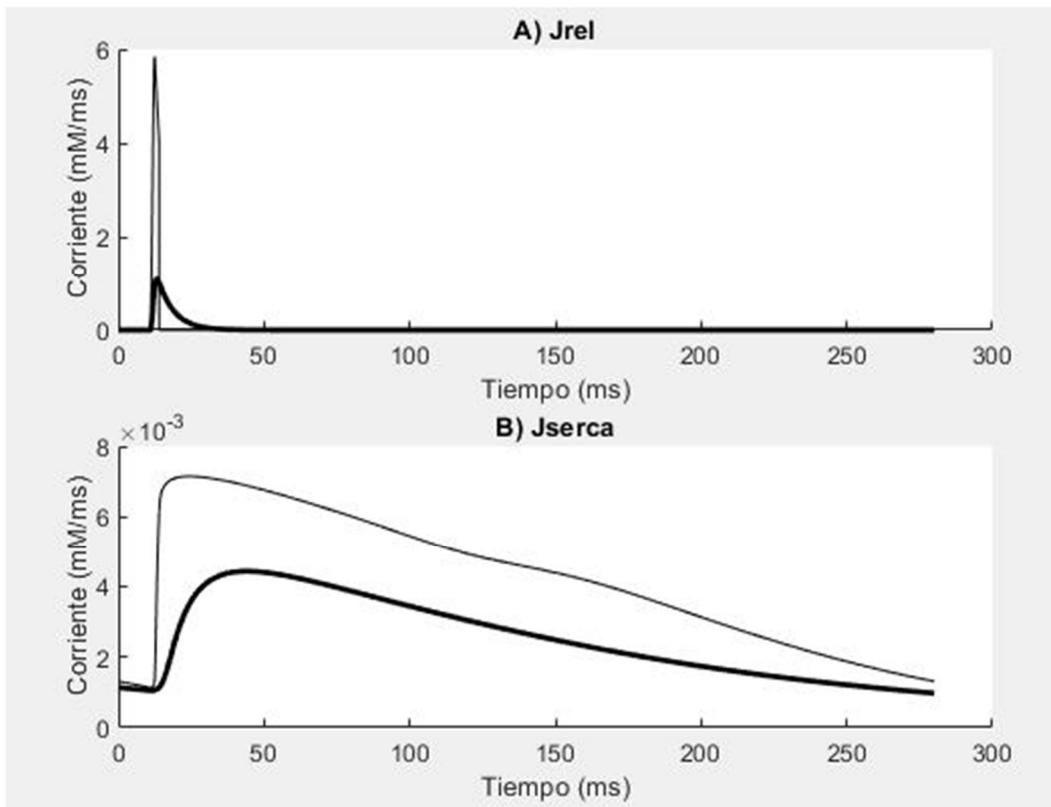


Figura 17. A) Flujo iónico J_{rel} en células endocárdicas con el modelo Ord en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células endocárdicas con el modelo Ord en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

Las figuras 16 y 17 muestran algunas de las corrientes iónicas más importantes y, igual que pasaba en las células del epicardio, las curvas muestran un valor superior cuando se aplica el isoproterenol en las células.

Los valores son similares a los que muestra el artículo de Gong et al. (2020).

En este caso, con las células endocárdicas ya se observan alternantes en altas frecuencias, a partir de 280 ms. Estos son más patentes en el calcio sistólico, pero también se observan claramente en el APD. El alternante más grande de APD que se observa se encuentra en los 200 ms y es de 7.8 ms. En la misma frecuencia se halla también el mayor de los alternantes de calcio sistólico siendo este índice de 0.476, calculado con la fórmula que se ha explicado anteriormente en el apartado de arritmias cardíacas con insuficiencia cardíaca.

Al mismo tiempo se observa que en ciertos parámetros se reflejan mayores cambios entre los valores con y sin ISO que en las gráficas de las células epicárdicas. Un ejemplo de esto es el calcio intracelular (Figura 15B) y el flujo J_{serca} (Figura 17B).

5.2. Efectos del ISO en insuficiencia cardíaca

5.2.1. Epicardio

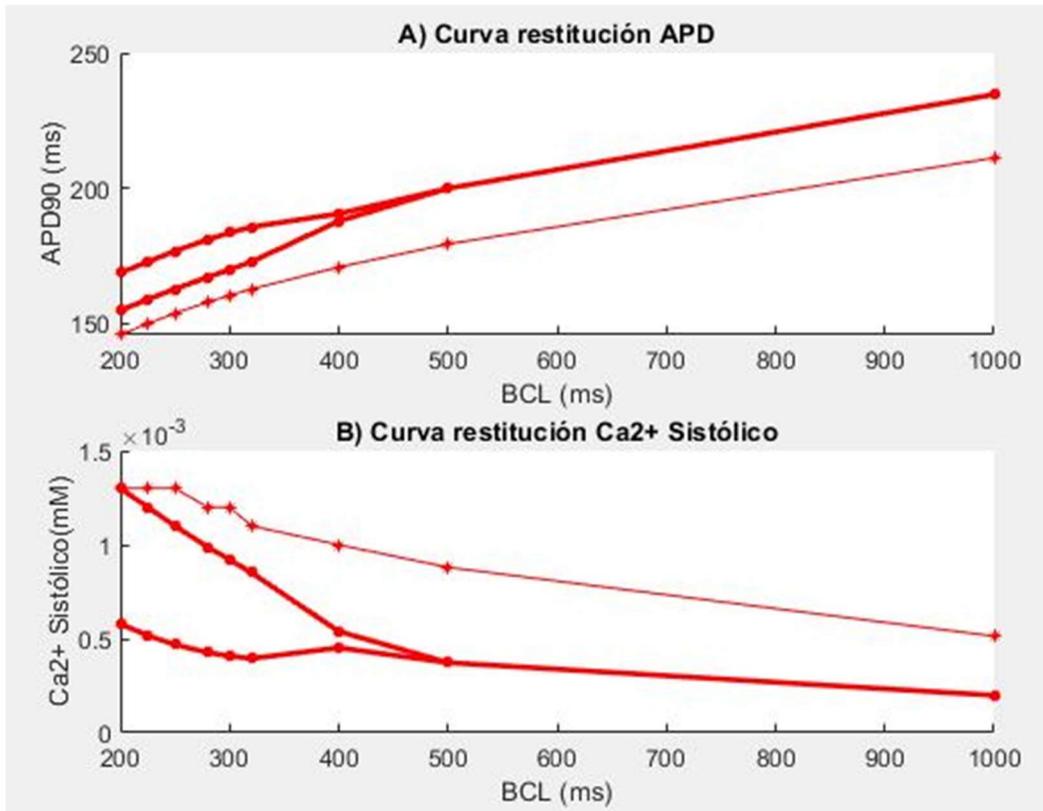


Figura 18. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del transitorio de calcio en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de los (curva fina).

En este apartado se observan los efectos de la insuficiencia cardíaca en las células del corazón. En la gráfica A de la figura 18 se ve cómo las células en las que no se habían aplicado los efectos del isoproterenol presentan alternantes hasta el BCL de 400 ms. La máxima diferencia se produce con un BCL de 200 ms y es de 14 ms.

La gráfica B muestra la diferencia en la concentración de los iones de calcio sistólico. Se observa que en este caso los alternantes presentan una diferencia entre ellos que es prácticamente la misma que hay entre la gráfica con (ISO1) y sin isoproterenol (ISO0), siendo la mayor diferencia de ambos de $0.7 \mu\text{M}$.

Los resultados concuerdan con los obtenidos en el artículo de Gong et al. (2020) en referencia al efecto del isoproterenol en células cardíacas. En este caso, se ha comprobado con células epicárdicas y con insuficiencia cardíaca, parámetros que no usa Gong en su artículo.

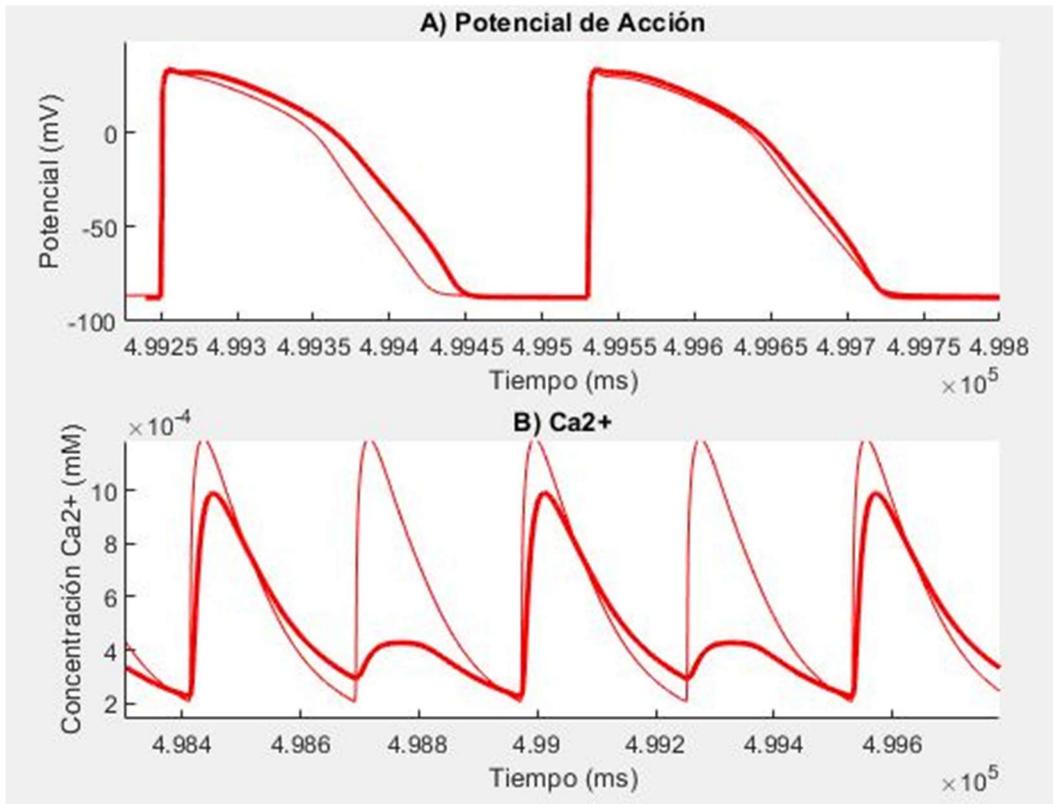


Figura 19. A) Potencial de acción en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la gráfica A de la figura 19 se observan claramente los alternantes en la duración de los dos potenciales de acción. En la gráfica B los alternantes se observan claramente ya que distan mucho en valor, ya que vemos diferencias de más del doble entre un pulso y otro.

Del mismo modo que sucede en células sanas, el isoproterenol provoca que el calcio sea mayor, pero con insuficiencia cardíaca el fármaco evita que se produzcan alternantes a altas frecuencias.

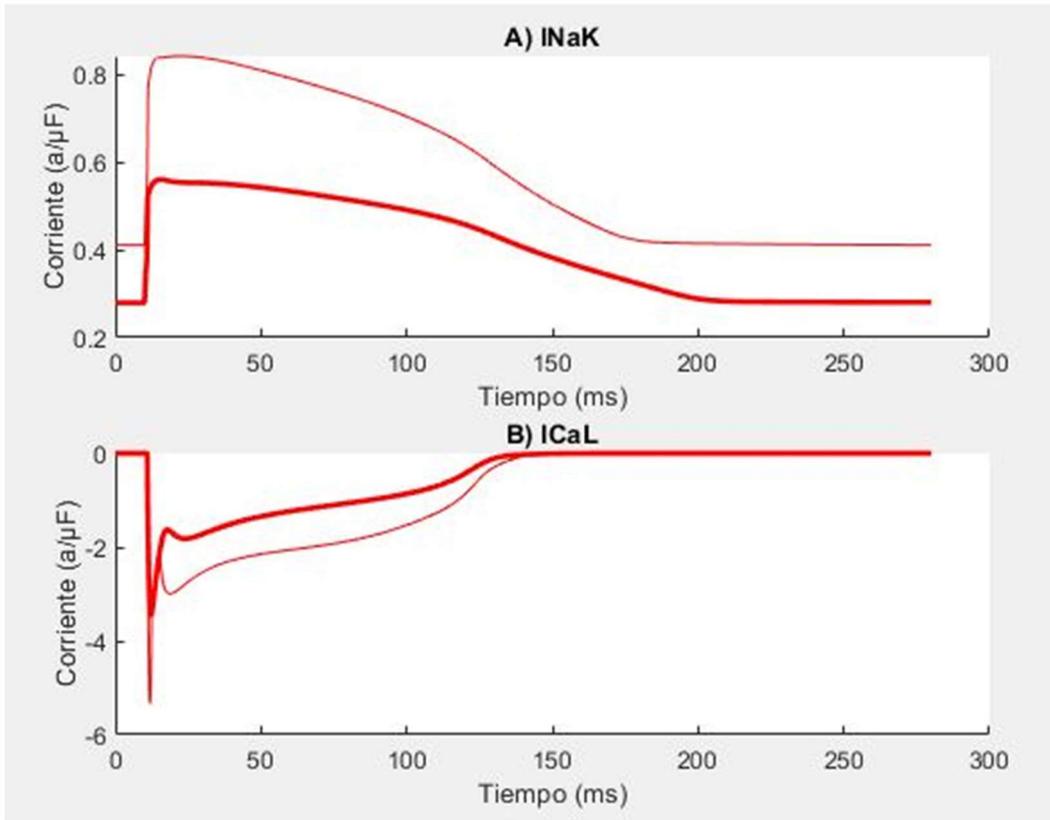


Figura 20. A) Corriente iónica I_{NaK} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

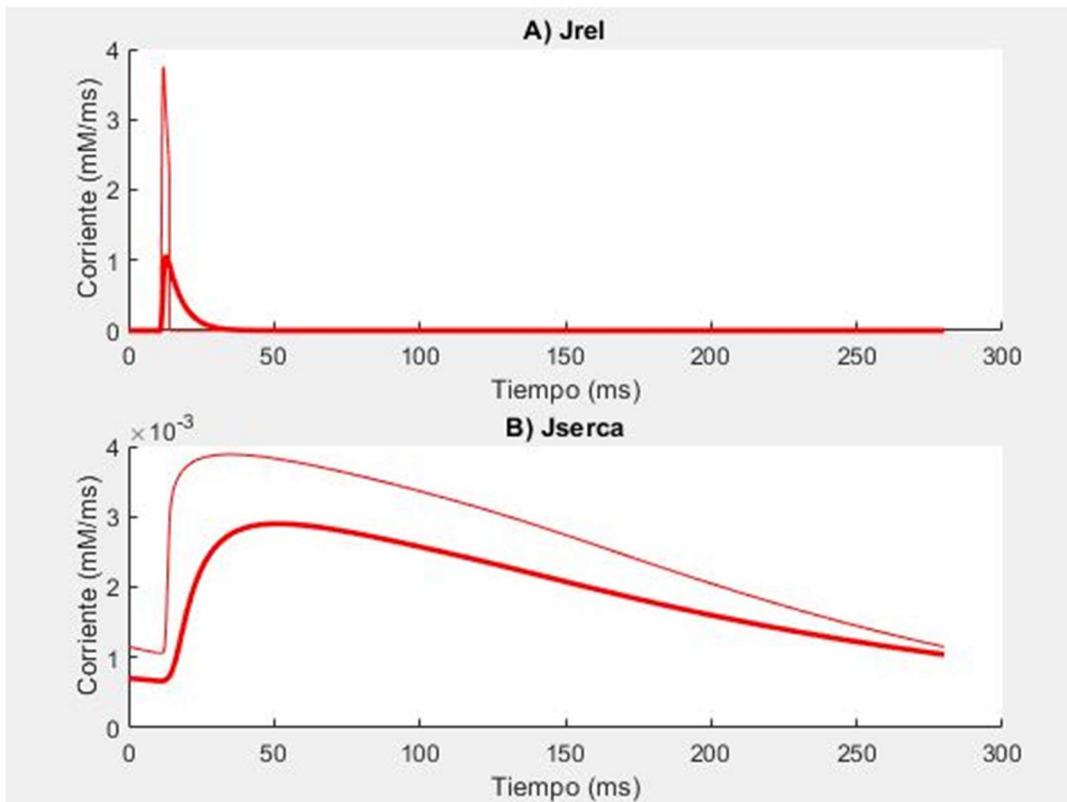


Figura 21. A) Flujo iónico J_{rel} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En las figuras 20 y 21 se ve que los valores con isoproterenol son mucho mayores, igual que se veía en las corrientes clave de las células sin esta cardiopatía.

Los efectos que provoca el isoproterenol, tanto en las corrientes como en los flujos, se observan claramente, por tanto, sigue estando en sintonía con el artículo de Gong et al. (2020).

Se observan grandes diferencias con las simulaciones realizadas sin insuficiencia cardíaca. En este caso la patología provoca la aparición de alternantes en las células en las que no se ha aplicado el isoproterenol, el mismo caso a lo que ocurría en las células endocárdicas en condiciones normales. Además, estos alternantes se encuentran en frecuencias más altas que los observados anteriormente, en este caso se hallan a partir de 400 ms.

5.2.2. Endocardio

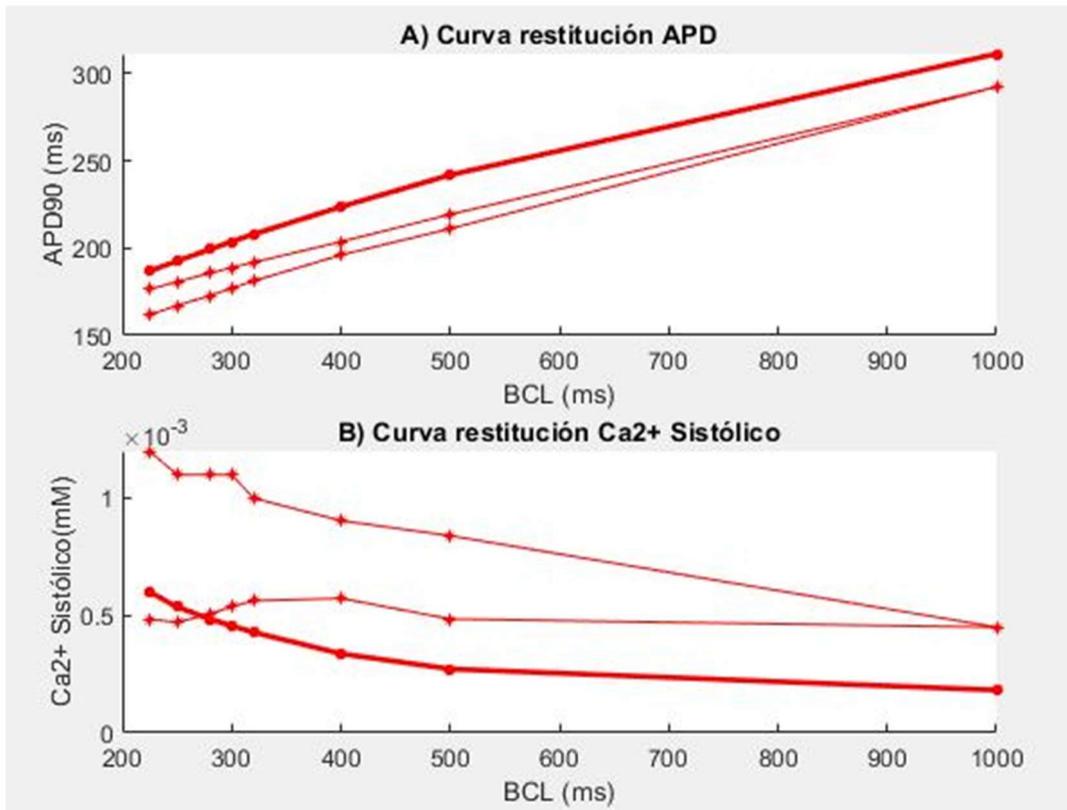


Figura 22. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del transitorio de calcio en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina).

En la figura 22 se observa que en las células endocárdicas con los efectos del isoproterenol aparecen alternantes incluso con frecuencias medias-altas, un BCL de 500 ms. Además, sigue estando patente el efecto provocado por los beta-estimulantes, que hace que sea mayor el calcio. En la gráfica A, el alternante con mayor diferencia es de 15 ms con un BCL de 200 ms. En este caso, en la gráfica B, sí que es mayor la diferencia entre los alternantes de calcio sistólico que la diferencia entre las células con y sin isoproterenol. Se observan alternantes de 0.583 μM y entre las gráficas de ISO0 e ISO1 hay una diferencia de 0.5 μM .

Los resultados obtenidos concuerdan con el artículo de Gong et al. (2020) con lo que al efecto ISO se refiere, pero no era previsible encontrar un alternante hasta un BCL de 500 ms aplicando isoproterenol. Esto puede deberse a que se han realizado las simulaciones con insuficiencia cardíaca y Gong lo testea en condiciones normales.

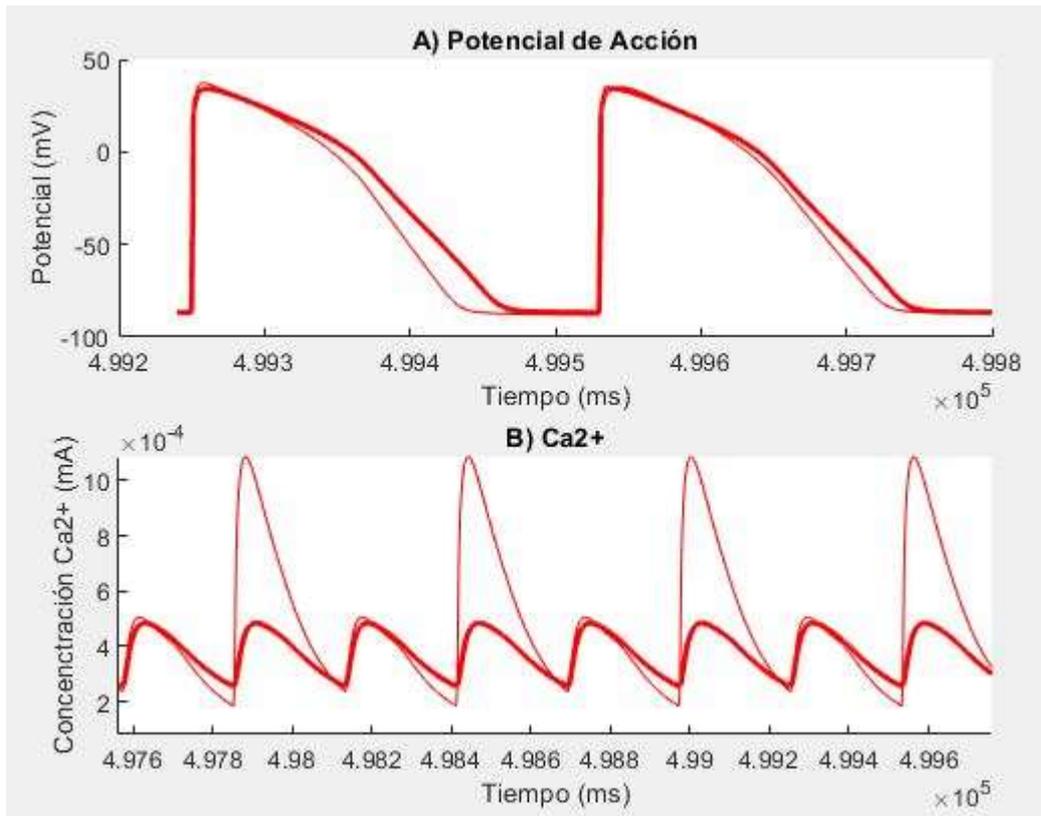


Figura 23. A) Potencial de acción APD en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la figura 23 se observan de manera clara los alternantes, especialmente en la gráfica B. De ésta llama la atención la diferencia tan grande entre el calcio máximo de las células con (ISO1) y sin (ISO0) isoproterenol, 0.6 μM entre uno y otro.

En este caso, al contrario que pasaba con las células epicárdicas, el fármaco provoca que se produzcan alternantes con gran diferencia, especialmente, en el calcio.

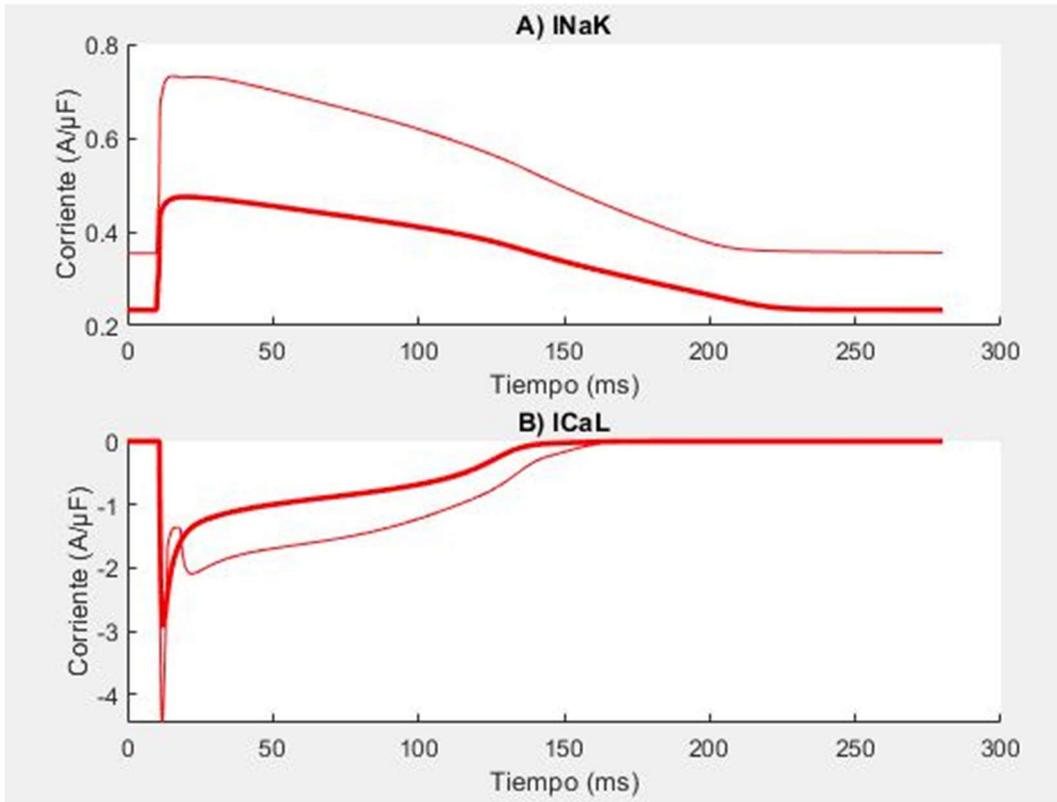


Figura 24. A) Corriente iónica I_{NaK} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

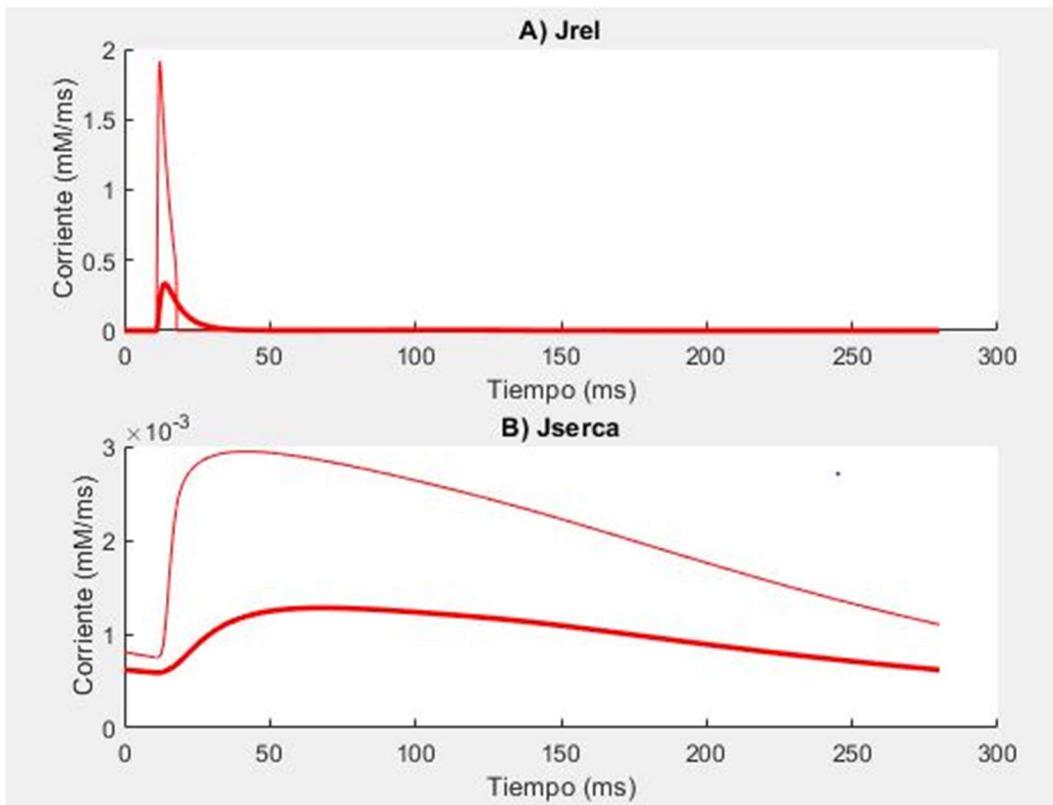


Figura 25. A) Flujo iónico J_{rel} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En las figuras 24 y 25 se observan las corrientes y flujos más influyentes, y simplemente se ve que tienen un valor superior, provocado por el isoproterenol, igual que se ve en el resto de las figuras de corrientes, lo cual se corresponde con el artículo de Gong et al. (2020).

En las simulaciones realizadas con células endocárdicas con insuficiencia cardíaca se hallan alternantes en frecuencias bastante bajas ya que se encuentran a partir de 500 ms, una frecuencia parecida a la que observábamos con las células epicárdicas, pero en este caso, al contrario de lo ocurrido en las células en condiciones normales y en las células epicárdicas con insuficiencia cardíaca, los alternantes se generan en las células en las que se ha aplicado el isoproterenol. Por tanto, en este caso, la aplicación de este fármaco favorece la aparición de alternantes lo cual es perjudicial para el paciente.

Un caso bastante particular que observamos en este apartado es la Figura 23B, donde se ve cómo la concentración de calcio disminuye tanto en los alternantes como la concentración obtenida en las células sin ISO.

5.3. Efecto de la detubulación

5.3.2. Condiciones normales

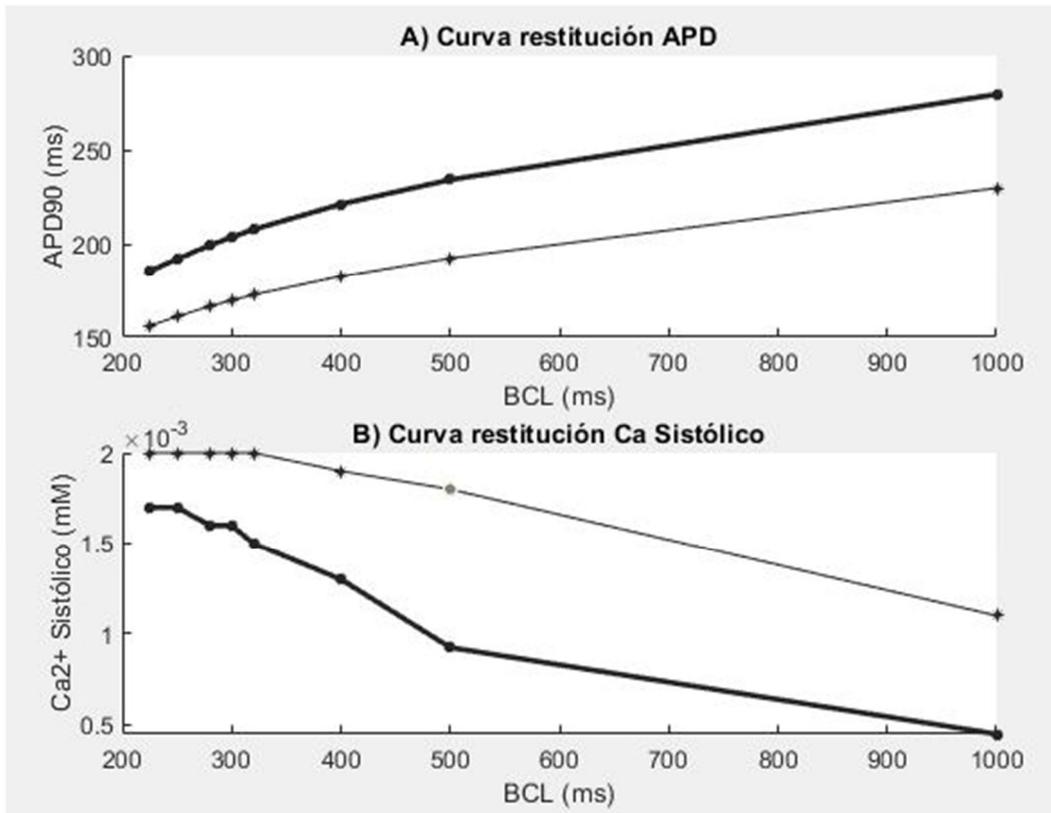


Figura 26. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del transitorio de calcio en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de los (curva fina).

En la figura 26 se observa el efecto provocado por el isoproterenol que provoca que los valores de la gráfica 26.A) sean mayores cuando no hay presencia del fármaco en las células y, por el contrario, se reduce el calcio en la gráfica 26.B).

Esto se justifica por el efecto ISO que se ha observado en el resto de los apartados, pero la diferencia radica en que, si se compara la figura 26 con la figura 14, se ve que han desaparecido los alternantes que aparecían en el modelo de ORd. Además de esto, hay diferencias notorias entre algunos parámetros de estas gráficas.

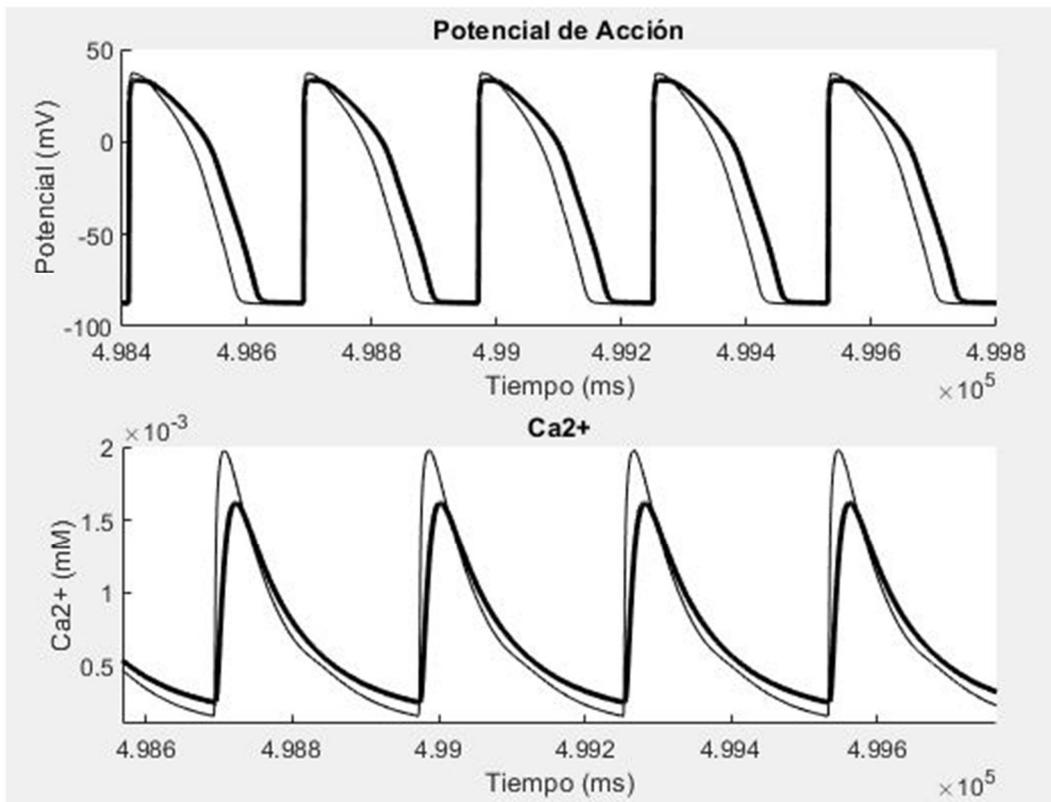


Figura 27. A) Potencial de acción APD en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En la figura 27 se sigue observando el efecto ISO y tal y como se ve en la figura 26 y en el resto de los apartados.

En este caso debemos volver a comparar la figura 27 con la figura 15, y se vuelve a observar cómo los alternantes dejan de aparecer en la gráfica de las células en las que no se aplica el isoproterenol.

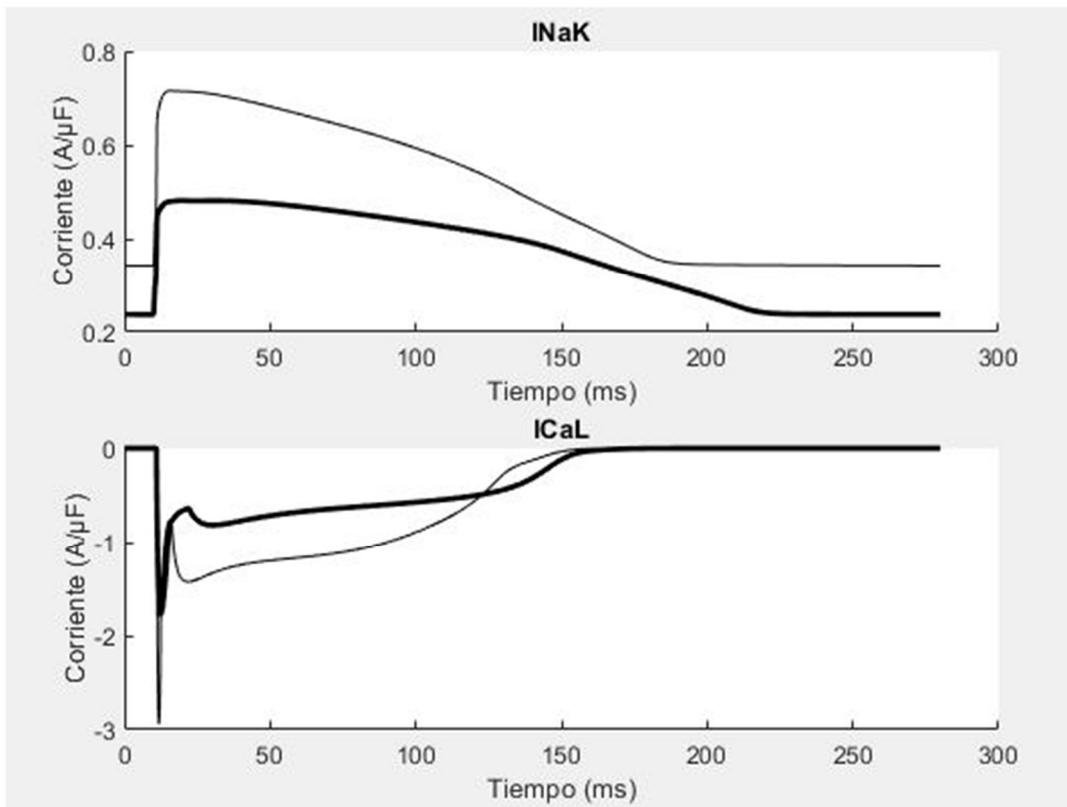


Figura 28. A) Corriente iónica I_{NaK} en células epicárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células epicárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

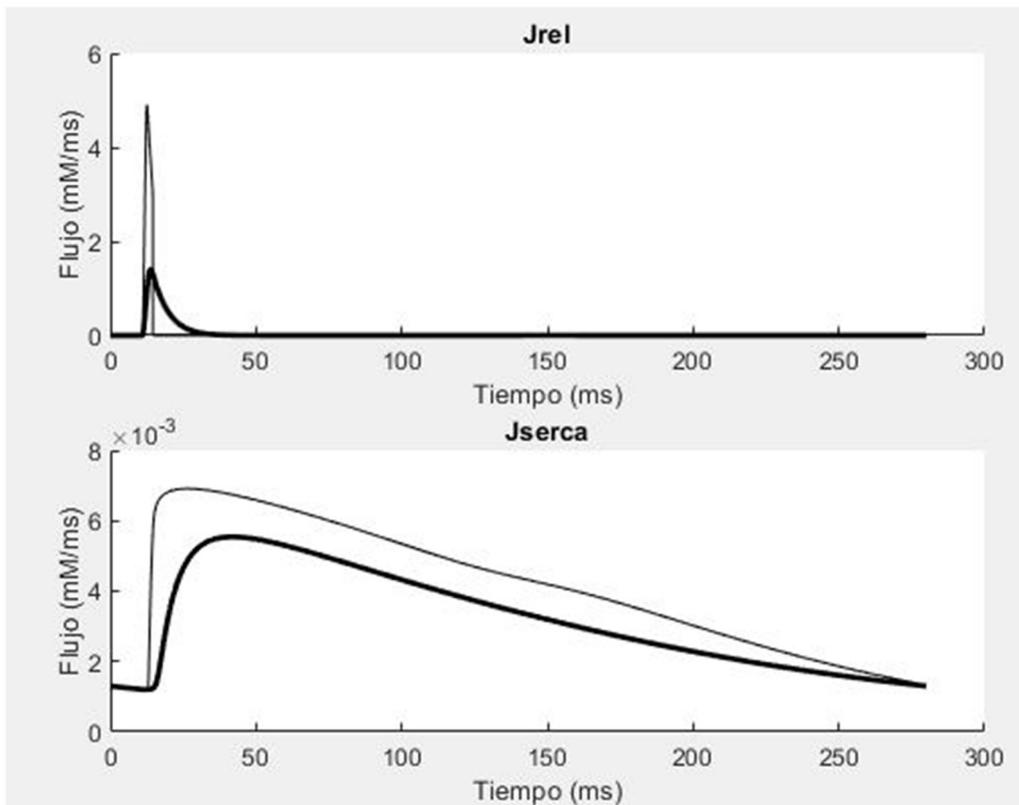


Figura 29. A) Flujo iónico J_{rel} en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células endocárdicas con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

Finalmente, en las figuras 28 y 29 observamos las corrientes y los flujos más influyentes de las células para la aparición de alternantes.

Además del evidente efecto ISO que ya hemos explicado en apartados anteriores en este caso con la comparación con las figuras 16 y 17, los cambios que se observan son de diferencias de magnitud, aunque en este caso dichas diferencias no son demasiado grandes.

5.3.3. Insuficiencia cardíaca

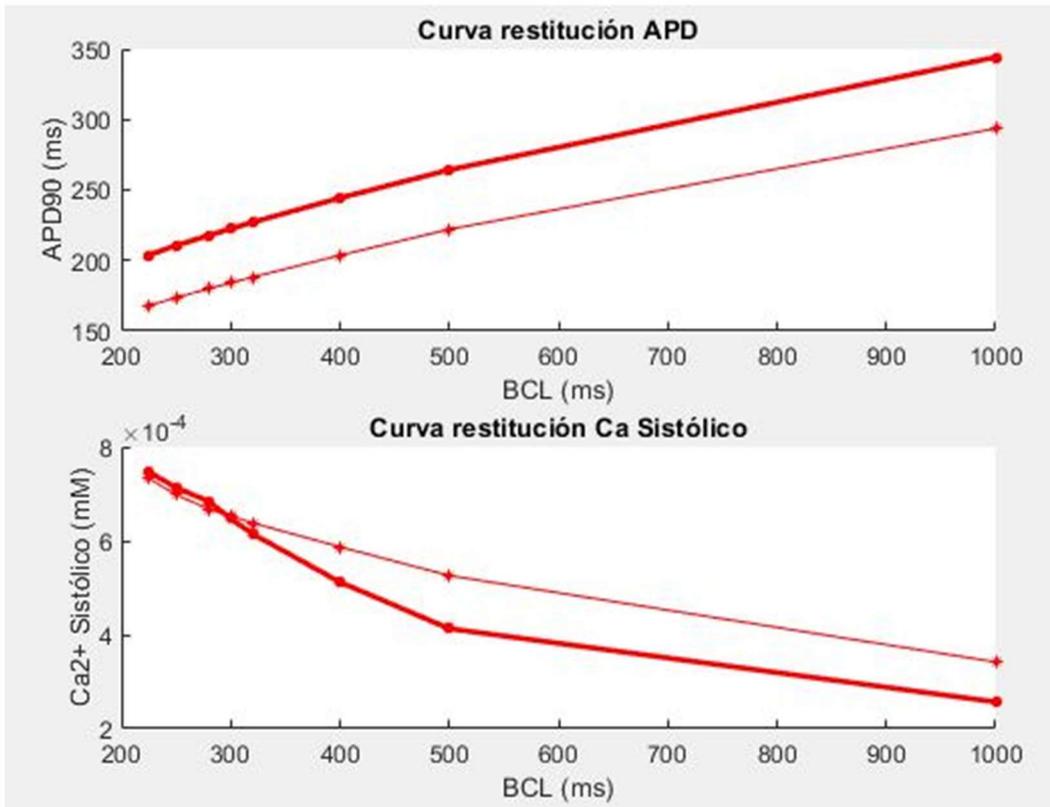


Figura 30. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina). B) Curva de restitución del transitorio de calcio en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de los (curva fina).

Al igual que se observaba en la figura 22, en la figura 30 se muestra el efecto del isoproterenol provocado en las células endocárdicas. Sin embargo, no se muestran los alternantes que se podían ver en la gráfica del modelo ORd, que en este caso se extendían incluso hasta los 500 ms.

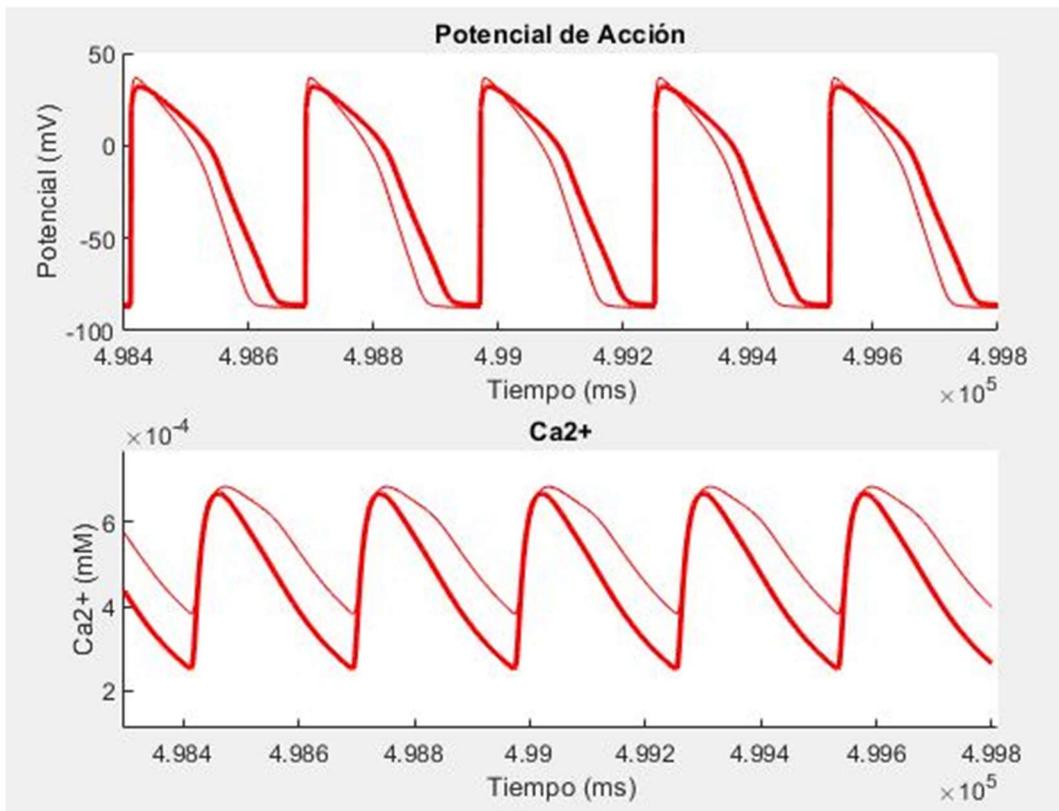


Figura 31. A) Potencial de acción APD en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Calcio intracelular en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

La figura 31 muestra el efecto ISO, pero en cambio no muestra ninguna muestra de alternantes, al contrario de lo que pasa en la figura 23 donde se muestran unos alternantes de una gran magnitud.

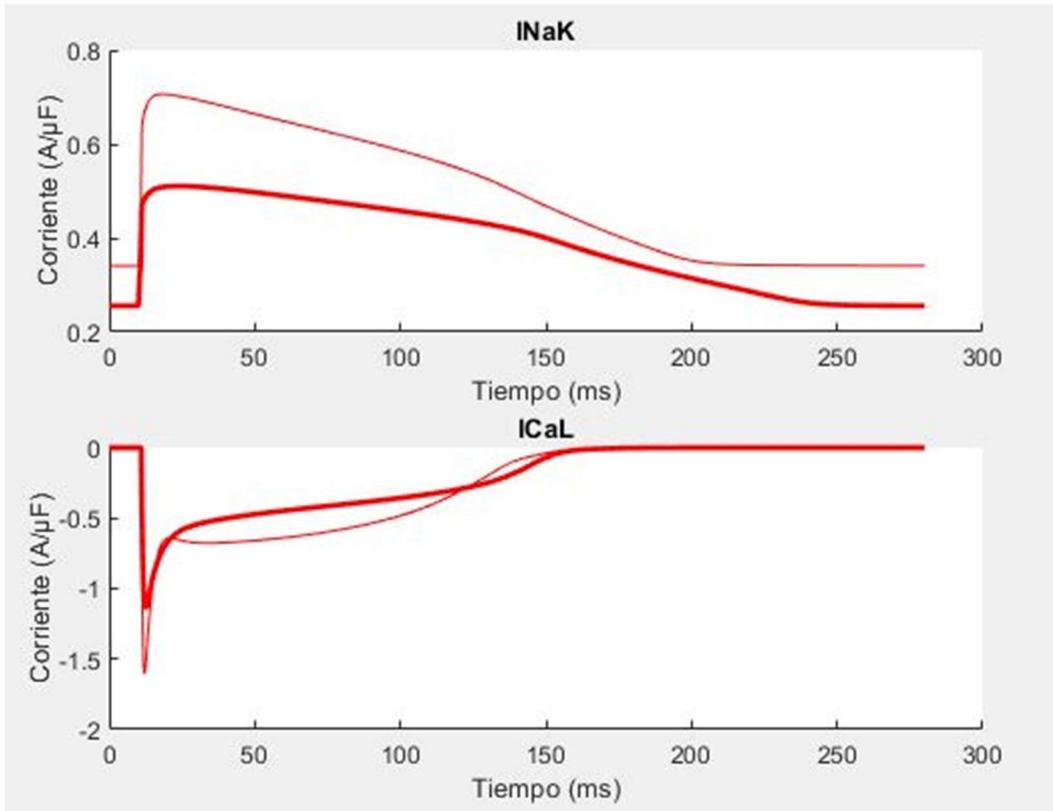


Figura 32. A) Corriente iónica I_{NaK} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Corriente iónica I_{CaL} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

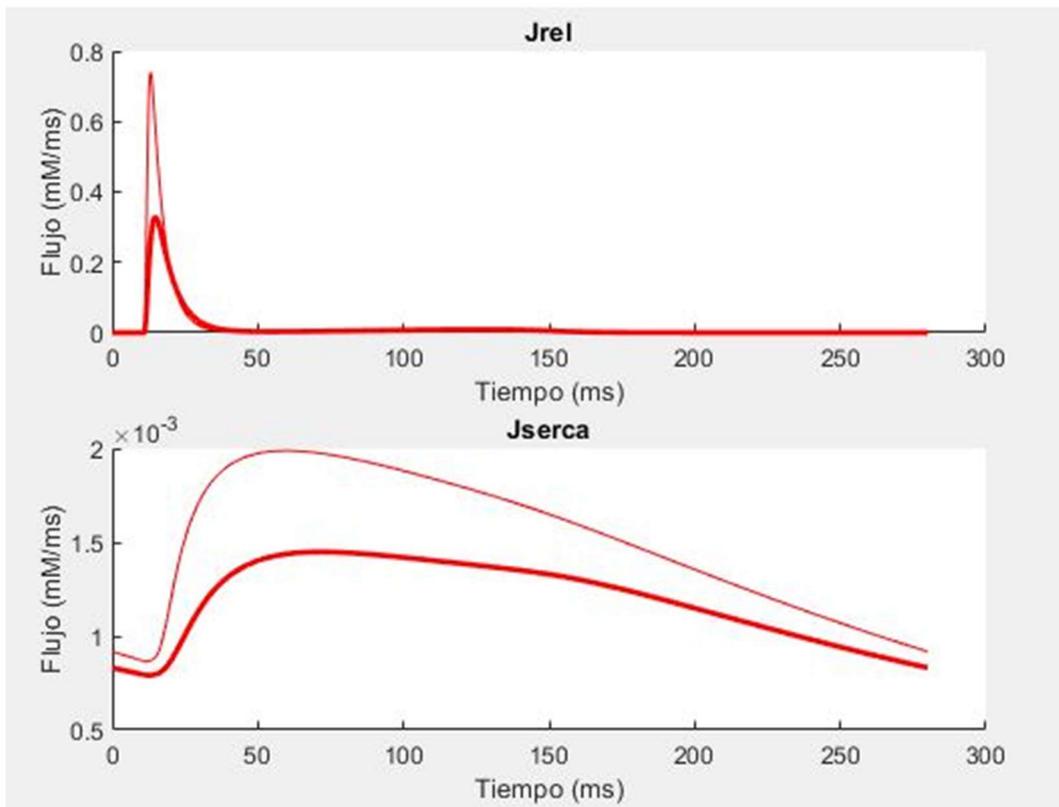


Figura 33. A) Flujo iónico J_{rel} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms. B) Flujo iónico J_{serca} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo ORd con detubulación en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms.

En este caso, en las figuras 32 y 33 sigue estando patente el efecto provocado por el fármaco isoproterenol en las células endocárdicas. Pero, comparando estas gráficas con las figuras 24 y 25, vemos que hay una gran diferencia de magnitud en todas las gráficas de ambas figuras.

Como se observa en el apartado de detubulación, con este modelo desaparecen los alternantes obtenidos en con el modelo de O'Hara. Esto puede deberse a que los cambios realizados en las corrientes iónicas con respecto al modelo de O'Hara para incluir la detubulación en éste, deben analizarse con mayores detalles y, por tanto, no refleja fielmente los resultados esperados. Este modelo está siendo testeado en este trabajo y se debe seguir desarrollando para conseguir un código óptimo que mejore incluso el modelo de O'Hara et al. (2020).

5.4. Efectos del ISO en poblaciones de modelos sanos y con insuficiencia cardíaca

La población que hemos simulado en este caso se compone de 300 células en las que varían aleatoriamente las corrientes iónicas.

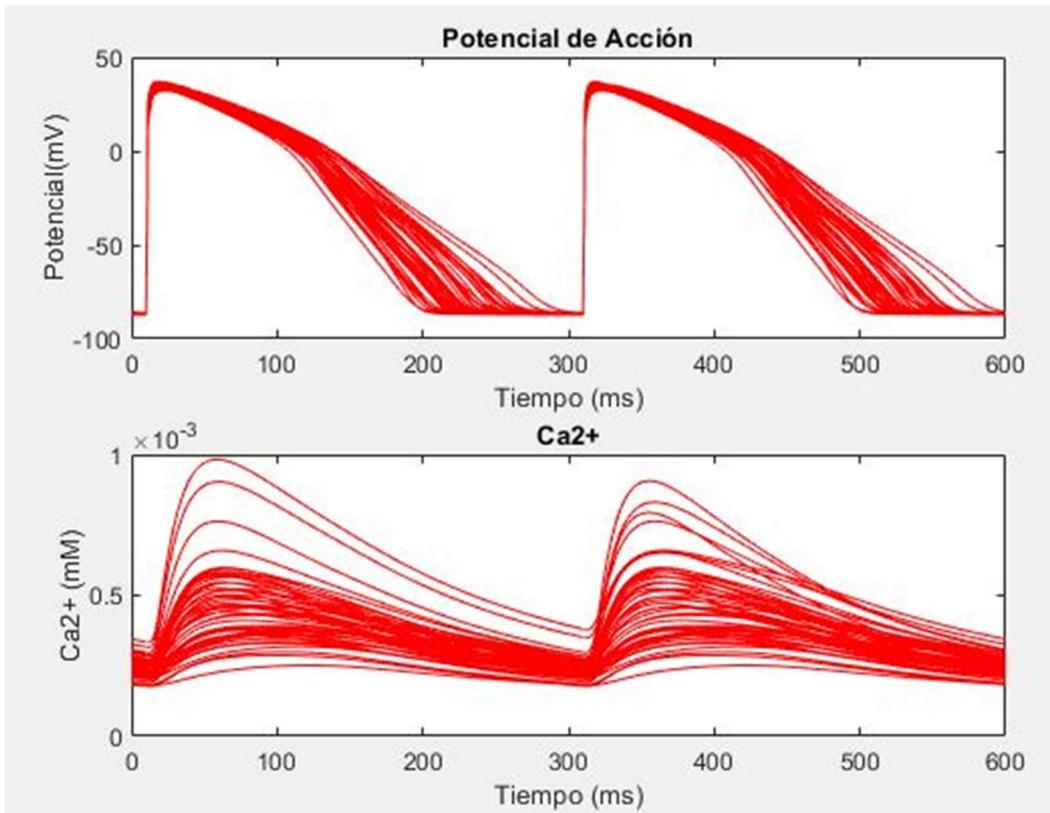


Figura 34. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO tomando 50 células al azar. B) Curva de restitución del calcio en células endocárdicas con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO tomando 50 células al azar.

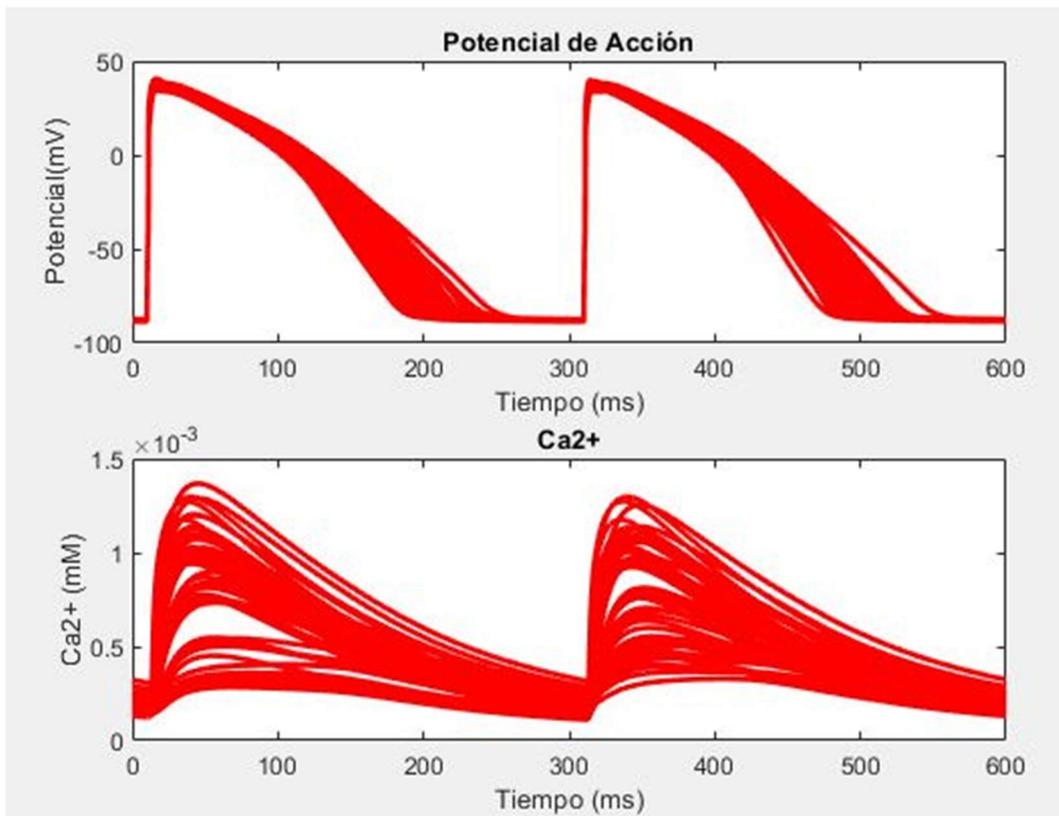


Figura 35. A) Curva de restitución del potencial de acción APD en células endocárdicas con el modelo de poblaciones ORd en presencia de ISO tomando 50 células al azar. B) Curva de restitución del calcio en células endocárdicas con el modelo de poblaciones ORd en presencia de ISO tomando 50 células al azar.

En las figuras 34 y 35 se observa la tendencia, tanto del potencial como del calcio intracelular. En la figura 1.A), la duración del potencial es bastante mayor en general que en la figura 2.A), donde observamos que hay muchas menos líneas que se escapan de la tendencia.

En la figura 34.B), el calcio intracelular tiene un nivel bastante más bajo que en la figura 35.B). Las gráficas reflejadas en la figura 34.B) muestran que la mayoría de las células están en torno a $0.5 \cdot 10^{-3}$ mM o por debajo, y, en cambio, en la figura 35.B) está mucho más repartido, y la gran mayoría superan los $0.5 \cdot 10^{-3}$ mM.

Estos cambios entre las células con y sin presencia de ISO se corresponden con la gran diferencia que existe entre ellas en el número de alternantes. En las células con ISO se registraron 226 alternantes y en las que hay ausencia de ISO sólo 39 alternantes.

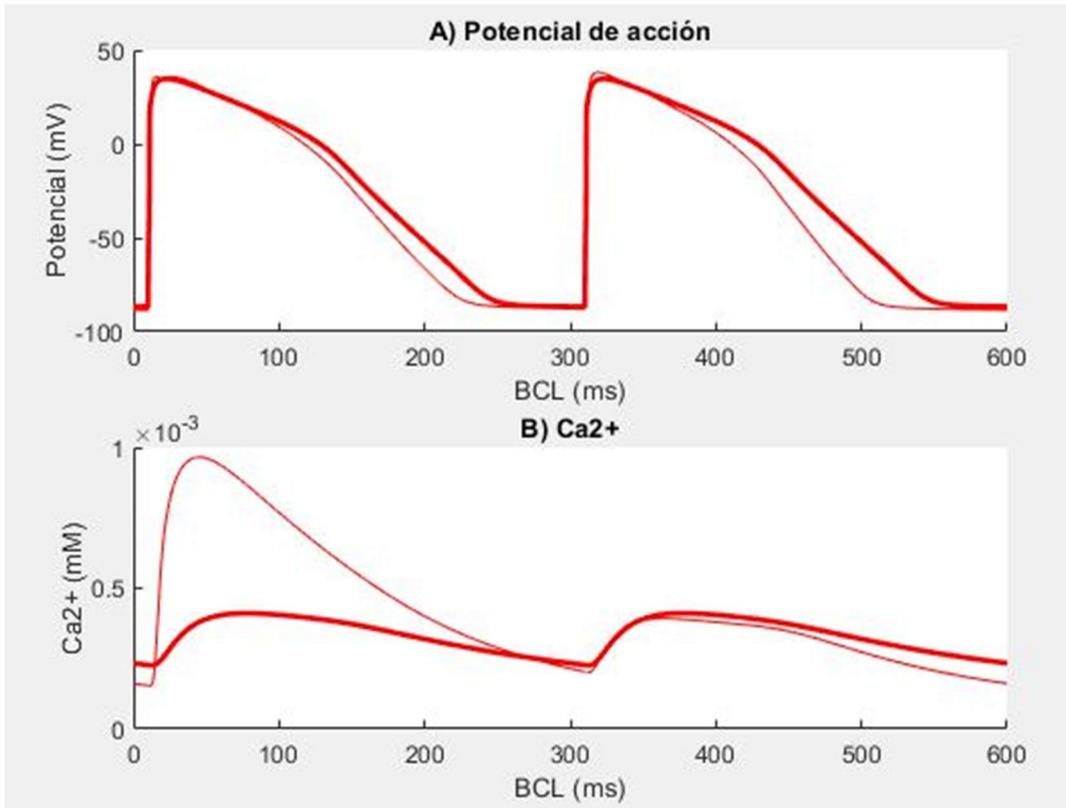


Figura 36. A) Potencial de acción en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación. B) Calcio intracelular en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación.

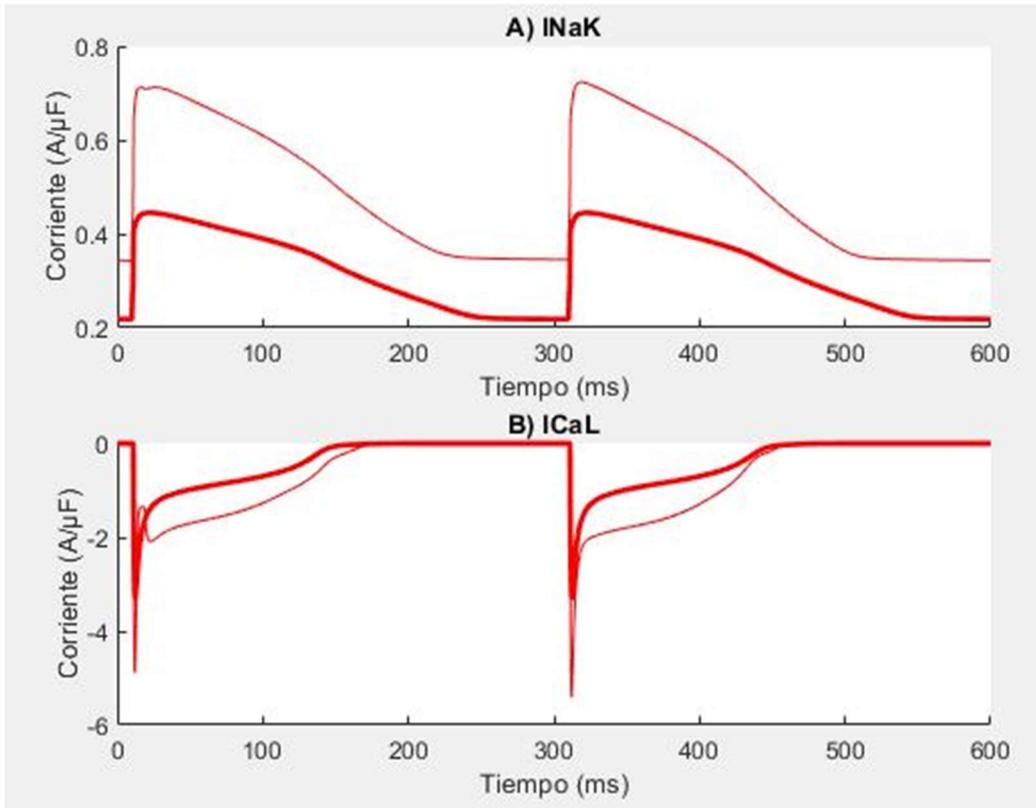


Figura 37. A) Corriente iónica I_{NaK} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación. B) Corriente iónica I_{CaL} en células epicárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación.

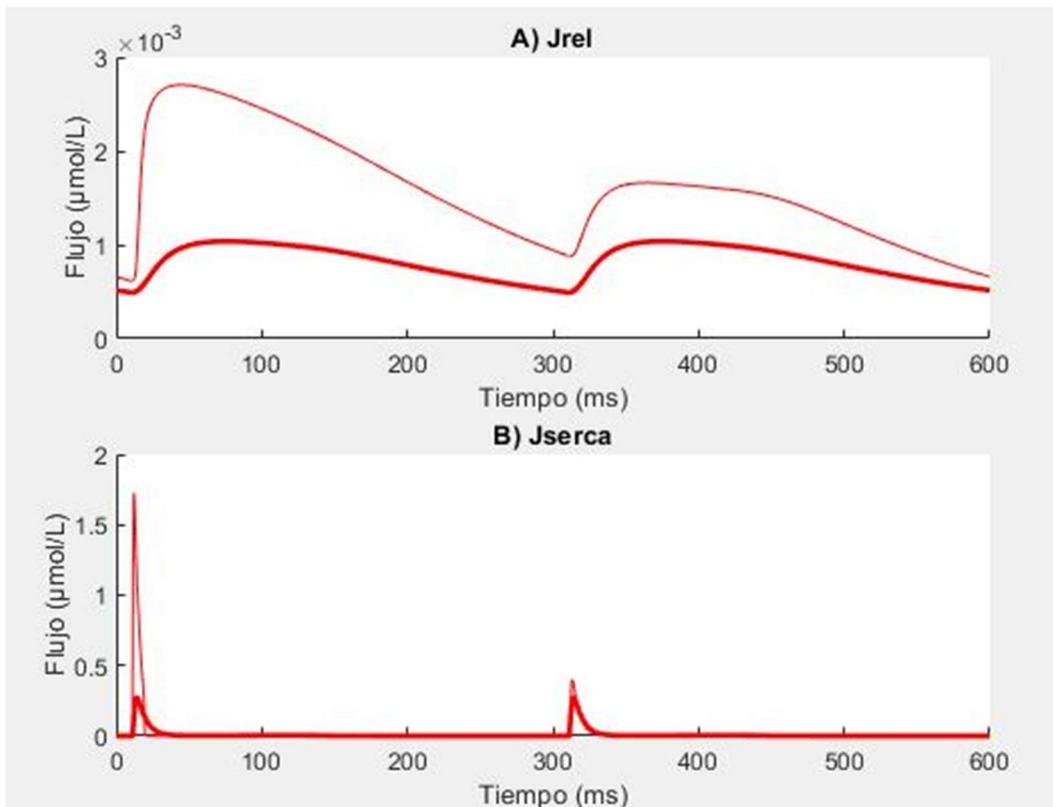


Figura 38. A) Flujo iónico J_{rel} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación. B) Flujo iónico J_{serca} en células endocárdicas con insuficiencia cardíaca con el modelo de poblaciones ORd en ausencia de ISO (curva gruesa) y en presencia de ISO (curva fina) utilizando un BCL de 280 ms representando la célula 80 de la simulación.

En las figuras 36, 37 y 38 se representan los valores más importantes (potencial de acción, concentración de calcio intracelular, I_{NaK} , I_{CaL} , J_{rel} y J_{serca}) de una sola célula.

En la célula 80, que es la que se ha escogido para este caso, se muestra un alternante en la célula con presencia de isoproterenol y, en cambio, en la que no lo contiene no se observa esta alteración.

En este caso, dónde más se nota la diferencia de estos alternantes es en la concentración del calcio (Figura 36.B) que aumenta en más del doble cuando se aplica el ISO. En las corrientes, no hay tanta diferencia en la forma de la onda, pero si en la magnitud del valor pico que tienen ambas gráficas (Figura 37). Finalmente, en los flujos se refleja esta diferencia de magnitud que se refleja sobre todo en el primer pulso (Figura 38).

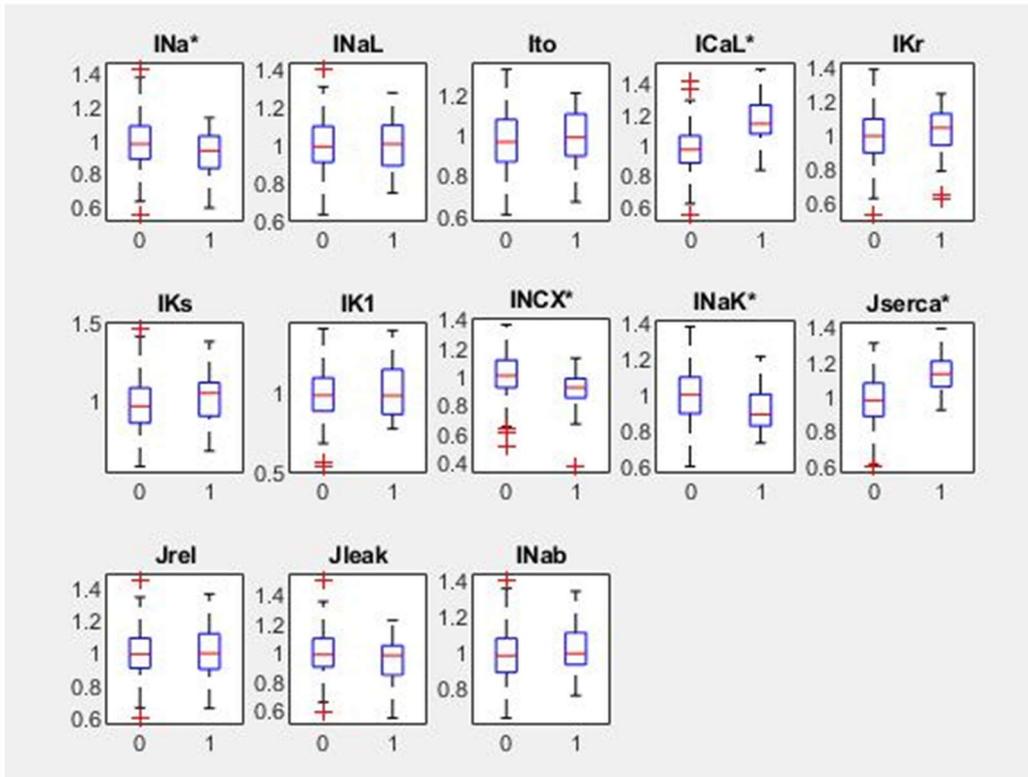


Figura 39. Gráfica de bloques de corrientes iónicas y flujos y sus variaciones en las diferentes células de la población de células sin ISO.

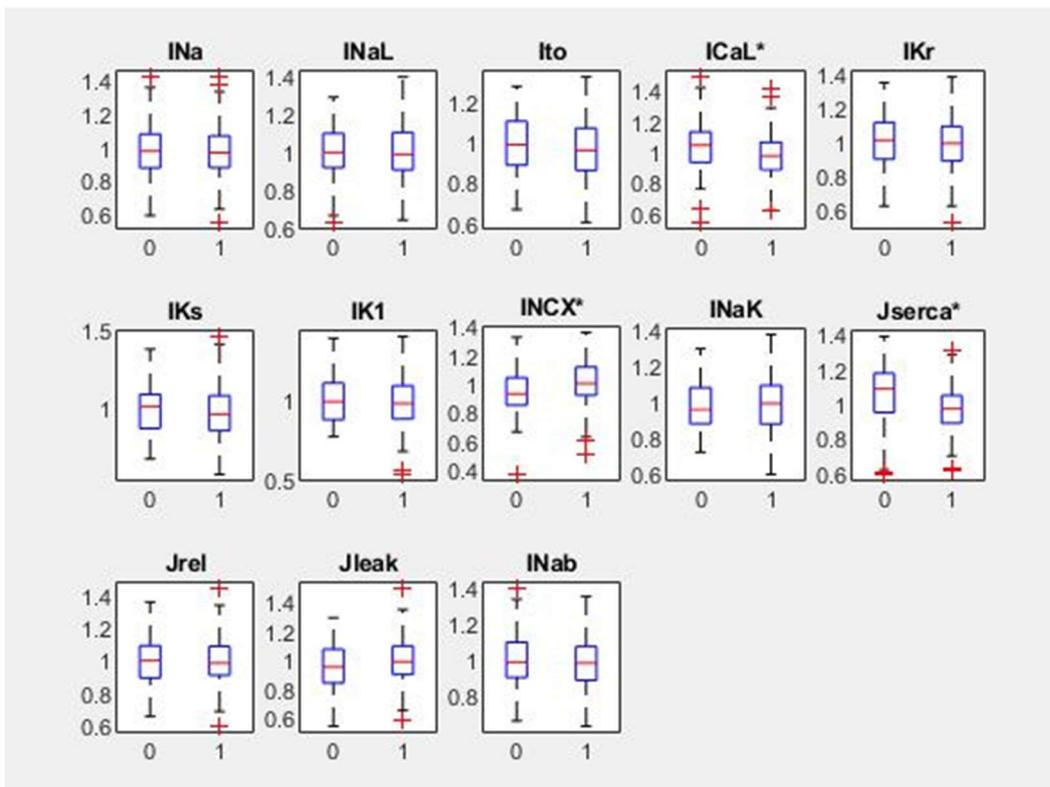


Figura 40. Gráfica de bloques de corrientes iónicas y flujos y sus variaciones en las diferentes células de la población de células con ISO.

Estas dos figuras (Figura 39 y 40) muestran un gráfico en el que se exponen las corrientes iónicas y flujos y la variabilidad de estas. En este caso, estas variaciones se comparan entre las células con y sin ISO, y con estos datos vemos cuáles son las corrientes y flujos que más influyen en la aparición de alternantes. En la parte izquierda de cada bloque se muestra el rango de magnitud, la media y los puntos aislados o anómalos de las células sin alternantes y en la parte derecha se observa lo mismo, pero de las células con alternantes. En los nombres de cada corriente y flujo, aparece un asterisco (*) cuando el cambio del rango de este parámetro con (1) y sin alternantes (0) es significativo, y se considera que es relevante para la aparición de alternantes.

En la figura 39, los parámetros en los que se observan cambios más significativos son I_{Na} , I_{CaL} , I_{NCX} , I_{NaK} y J_{serca} . En especial, I_{CaL} y J_{serca} se ven cambios muy grandes tanto en rango y media. Sin embargo, en la figura 40, donde se producen cambios significativos de I_{CaL} , I_{NCX} y J_{serca} . Incluso se observa que en los parámetros que presentan cambios no son tan grandes como los que se muestran en la figura 39.

Estos resultados se asemejan con el artículo de Mora et al. (2019) que realiza una simulación similar a la realizada para este trabajo y que muestra que los parámetros influyentes para la aparición de alternantes son los mismos que se han obtenido en este proyecto. En el trabajo de Mora et al. (2019) no se tuvo en cuenta la estimulación beta-adrenérgica.

6. Conclusión

La conclusión correspondiente al objetivo principal de este trabajo lo hemos observado en el apartado 5.1, y por los resultados obtenidos podemos concluir que el isoproterenol ayuda en la prevención de aparición de alternantes en todos los casos, excepto si se aplica en células endocárdicas cuando estas sufren insuficiencia cardíaca. En este caso, el fármaco aplicado favorece la aparición de alternantes, incluso a frecuencias bajas. En las células del epicardio en condiciones normales, el isoproterenol no modifica la posibilidad de aparición de alternantes y en los dos casos restantes, células del endocardio en condiciones normales y células epicárdicas con insuficiencia cardíaca, este fármaco elimina los alternantes que se observan sin su aplicación a frecuencias altas.

Por otra parte, en relación con el primer objetivo específico, en el apartado 5.2 se aprecian grandes diferencias con los resultados del primer modelo con el modelo modificado para implementar la detubulación. El mayor cambio y de mayor importancia es la desaparición de todos los alternantes que obteníamos en el apartado anterior. Esto puede deberse a los cambios realizados en las corrientes iónicas para mejorar el rendimiento del modelo. Estas modificaciones deben analizarse con mayor detalle y el presente trabajo constituye un primer testeo para el modelo. Por tanto, en este punto se debería seguir investigando y mejorando el modelo para extraer los resultados que esperamos.

Finalmente, en el apartado 5.3 se analiza el modelo de poblaciones, en el que simulamos una población de 300 células con insuficiencia cardíaca. En este caso, las corrientes que se observan como más influyentes para la aparición de alternantes varían si aplicamos o no el isoproterenol en las células. En las que no se ha suministrado el fármaco las corrientes más influyentes son I_{Na} , I_{NCX} , I_{NaK} , y, especialmente, I_{CaL} y J_{serca} . En cambio, cuando se aplica el isoproterenol los alternantes aparecen principalmente por variaciones en I_{CaL} , I_{NCX} y J_{serca} . Por tanto, podemos concluir que el fármaco estabiliza ciertas corrientes, las cuáles sufren menos cambios, en este caso I_{Na} y I_{NaK} .

7. Bibliografía

1. Gomez, J. F., Cardona, K., & Trenor, B. (2015). Lessons learned from multi-scale modeling of the failing heart. In *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* (Vol. 89, pp. 146–159). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.10.016>
2. Gong, J. Q. X., Susilo, M. E., Sher, A., Musante, C. J., & Sobie, E. A. (2020). Quantitative analysis of variability in an integrated model of human ventricular electrophysiology and β -adrenergic signaling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 143, 96–106. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2020.04.009>
3. Heijman, J., Volders, P. G. A., Westra, R. L., Rudy, Y., Heijman, J., Volders, P. G. A., Westra, R. L., & Rudy, Y. (n.d.). *Local control of β -adrenergic stimulation: Effects on ventricular myocyte electrophysiology and Ca²⁺-transient Online Data Supplement*.
4. Hong, T., & Shaw, R. M. (2017). CARDIAC T-TUBULE MICROANATOMY AND FUNCTION. *Physiol Rev*, 97, 227–252. <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2015>
5. Hudson, A. L., Walsh, L. D., Gandevia, S. C., & Butler, J. E. (2020). Respiratory muscle activity in voluntary breathing tracking tasks: Implications for the assessment of respiratory motor control. *Respiratory Physiology and Neurobiology*. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.103353>
6. Ibrahim, M., Gorelik, J., Yacoub, M. H., & Terracciano, C. M. (n.d.). *The structure and function of cardiac t-tubules in health and disease*. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0624>
7. Le, Y., Scanzano, A., & Cosentino, M. (2015). Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Frontiers in Pharmacology* | *Www.Frontiersin.Org*, 1, 171. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00171>
8. Mora Id, M. T., Gomez, J. F., Morley, G., Ferrero, J. M., & Trenor, B. (2019). *Mechanistic investigation of Ca²⁺ alternans in human heart failure and its modulation by fibroblasts*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217993>

9. Ferrero y de Loma-Osorio, J.M (2018). *Material de clase: Bioelectricidad*. Valencia: Máster en Ingeniería Biomédica.
10. J.Hall and A. Guyton, *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Philadelphia, PA Elsevier, 2011.
11. J.Ferrero Corral, J. Ferrero y de Loma-Osorio, J. Saiz Rodríguez and A. Arnau Vives, *Bioelectrónica*. [Valencia]: Universidad Politécnica de Valencia, 1994.
12. E. Grandi, J. Puglisi, S. Wagner, L. Maier, Simulation of Ca-calmodulin-dependent protein kinase II on rabbit ventricular myocyte ion currents and action potentials, *Biophys. J.* 93 (11) (Dec. 2007) 3835–3847.
13. J.D. Moreno, P.C. Yang, J.R. Bankston, E. Grandi, D.M. Bers, R.S. Kass, C.E. Clancy, Ranolazine for congenital and acquired late INa-linked arrhythmias: in silico pharmacological screening, *Circ. Res.* 113 (7) (Sep. 2013) e50–e61.
14. T.R. Shannon, F. Wang, D.M. Bers, Regulation of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca release by luminal [Ca] and altered gating assessed with a mathematical model, *Biophys. J.* 89 (6) (2005) 4096–4110.
15. J.F. Gomez, K. Cardona, L. Martinez, J. Saiz, B. Trenor, Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 2D simulation study, *PLoS One* 9 (7) (2014), e103273.
16. T. O’Hara y Y. Rudy, “Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation, experimental validation and application”. 2011.

Presupuesto

1. Introducción

En este caso el presupuesto de este Trabajo Final de Grado se ha dividido en tres partes:

- Costes de personal.
- Costes de *hardware*.
- Costes de *software*.

2. Presupuesto detallado

2.1 Costes de mano de obra

En este apartado se detallan los detalles de los costes personales y para ello se exponen las persona que han participado en él y sus titulaciones:

- Dra. Beatriz Ana Trénor Gomis: Doctora Ingeniera Industrial por la Universidad de València. Ha llevado a cabo las tareas de supervisión, apoyo y corrección del trabajo, sobre todo de la parte teórica del proyecto.
- María Teresa Mora Fenoll: Graduada en Ingeniería Química y en el Máster de Ingeniería Biomédica. Ha llevado a cabo tareas de supervisión y apoyo, mayormente de la parte práctica.
- D. Jordi Ferre Martínez: Estudiante del Grado en Ingeniería Electrónica Industrial y Automática. Responsable de la realización de las simulaciones, de la modificación del código y análisis de los resultados.

En la siguiente tabla (Tabla 1) se muestran los costes de mano de obra del trabajo. Los costes unitarios se han estimado atendiendo a la categoría del personal.

Categoría de Personal	Cantidad (horas)	Coste unitario (€/h)	Coste Total (€)
Estudiante	300	15,00	4500
Doctora Ingeniera	30	25,00	750
Graduada de Máster y Grado	30	20,00	600
		Subtotal	5850

Tabla 1. Presupuesto. Desglose de los costes de mano de obra del trabajo.

Los costes de personal totales son de **cinco mil ochocientos cincuenta euros (5850€)**.

2.2 Costes de Hardware

En esta parte, se exponen los elementos electrónicos utilizados para la realización de este trabajo y se hace una deducción del coste imputable de cada uno.

- Ordenador portátil Acer.
- Disco duro externo WD elements de 1,5 Terabyte para la copia de seguridad de los archivos del proyecto.

En la siguiente tabla (Tabla 2) se desglosan los costes de *hardware*:

Descripción	Cantidad	Coste sin IVA (€)	Vida útil (meses)	Tiempo de uso (meses)	Coste imputable sin IVA (€)
Ordenador portátil	1	800	60	6	80
Disco duro externo 1,5 Tb	1	86	96	6	5,38
				Subtotal	85,38

Tabla 2. Presupuesto. Desglose de los costes de *hardware* del trabajo.

Los costes imputables de la Tabla 2 se han calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Coste imputable sin IVA} = \frac{\text{Tiempo de uso}}{\text{Vida útil}} \times \text{Coste sin IVA}$$

Las unidades de cada variable utilizada en la ecuación se muestran en la tabla.

El coste total que corresponde al *hardware* es de **ochenta y cinco euros con treinta y siete céntimos (85,38€)**.

2.3 Coste de software

Finalmente, en este apartado se citan los programas que se han utilizado para la elaboración de este trabajo y, como pasaba en el apartado anterior, se hace una deducción de su coste imputable.

- Windows 10 (Microsoft Corporation, Redmond (WA), EE. UU.): Sistema operativo del ordenador utilizado. Precio incluido en el precio del propio ordenador.
- Matlab 2019Ra (TheMathWorks Inc., Natick (MA), EE. UU.): Programa en el que se ha desarrollado el código y donde se han realizado las simulaciones y realizado las gráficas.
- Microsoft Office 365 (Microsoft Corporation, Redmond (WA), EE. UU.): Suite ofimática utilizada para la redacción de la memoria.

Descripción	Cantidad	Coste (€)	Duración licencia (meses)	Tiempo de uso (meses)	Coste imputable sin IVA (€)
Windows 10	1	0	Ilimitada	6	0
Matlab R2019a	1	800	12	6	400
Microsoft Office 365	1	69	12	6	34,5
				Subtotal	434,5

Tabla 3. Presupuesto. Desglose de los costes de *software* del trabajo.

Para el cálculo del coste imputable sin IVA se ha utilizado la ecuación vista anteriormente en el apartado de costes de *hardware*, cambiando la vida útil por la duración de la licencia del programa.

El coste total del *software* es de **cuatrocientos treinta y cuatro euros con cincuenta céntimos (434,5€)**.

3. Presupuesto final

Una vez ya se han obtenido los costes principales de nuestro trabajo, se suman para tener la cantidad básica del presupuesto. Esta suma da 6369,88 €. A esto se le deben añadir los dos costes que explicaremos a continuación que son porcentajes de este coste de ejecución material que acabamos de calcular.

- Gastos generales: Refiere a todos los gastos no incluidos o relacionados con la actividad productiva, como los gastos administrativos, fiscales, financieros o tasas administrativas. Éstos se estiman en un 15% según la ley vigente.
- Beneficio industrial: Atendiendo a la ley vigente se aplica sobre el coste de ejecución material un beneficio del 6%.

Finalmente, se tiene que aplicar un Impuesto sobre el Valor Añadido (IVA), que atendiendo a la legislación vigente es de un 21%.

Descripción	Coste imputable sin IVA (€)	Coste con IVA (€)
Coste de ejecución material	6369,88	7707,55
Gastos generales	955,48	1156,13
Beneficio Industrial	382,19	462,45
Total	7707,55	9326,13

Tabla 4. Desglose final del presupuesto del trabajo.

Finalmente, se puede concluir que el presupuesto total del presente trabajo es de **nueve mil trescientos veintiséis euros con trece céntimos (9326,13€)**.