



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIERÍA
INDUSTRIAL VALENCIA

TRABAJO FIN DE MASTER EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

**ESTUDIO MEDIANTE MODELADO
MATEMÁTICO Y SIMULACIÓN
COMPUTACIONAL DE LOS EFECTOS DE LA
ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA EN EL
TEJIDO CARDIACO HUMANO**

AUTORA: CLAUDIA ESTEBAN PATÓN

TUTOR: JOSE MARÍA FERRERO DE LOMA-OSORIO

Curso Académico: 2019-20

AGRADECIMIENTOS

Este año ha sido muy diferente a como me pensaba que sería cuando decidí sumergirme en este proyecto, pero gracias a la gente que me ha rodeado he podido sacar muchas cosas buenas de esta situación y alcanzar las metas que me había planteado a principio de curso, entre ellas, este TFM.

Considero que una de las lecciones más valiosas que he sacado de esta experiencia es a valorar más las pequeñas cosas que realmente me hacen feliz.

Como los cafés al sol por las mañanas con mi madre, las batallitas de mi padre mientras paseamos por el monte por la tarde, los besos y los abrazos incondicionales de mi hermana a cualquier hora del día o incluso los ratitos con mi tía tumbadas por la noche en el sofá en los que me cuenta historias de amoríos de famosos que ni conozco.

También los amigos y familia que te alegran el día incluso detrás de la pantalla o los reencuentros después de 4 meses que se sentían como años.

Por supuesto no olvido esas reuniones de la Junta CLS cada noche o los planes de verano en los que el pueblo nos ha hecho reencontrarnos con nuestra infancia más que nunca al haberse cancelado todos los eventos y viajes.

He aprendido a apreciar lo que realmente me llena y, sobre todo, a decidir en quién y en qué vale la pena invertir el tiempo. Por eso quiero dar las gracias a Chema, por permitirme dedicar parte de este tiempo (a mi ritmo) a este trabajo que tanto he disfrutado haciendo.

Por último, me gustaría dar un especial agradecimiento a Violeta, una de las mejores cosas que me llevo de esta universidad. Sin ti, la carrera, el máster y, en general la vida, no hubieran sido ni la mitad de divertidas.

A mi yayo, has sido una dura dosis de realidad, te echaremos mucho de menos.

RESUMEN

Según la Organización Mundial de la Salud la isquemia miocárdica es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo. Es por ello por lo que, en las últimas décadas, se han desarrollado diferentes modelos computacionales para el estudio de sus efectos. Sin embargo, la mayoría de estos modelos tienen algunas carencias que hace que no se puedan considerar completos.

En este Trabajo Final de Máster se han desarrollado dos nuevos modelos matemáticos isquémicos (ORd-EF y ToR-EF) con los que se han reducido algunas de las carencias presentes en los otros modelos isquémicos. Para el desarrollo de estos dos nuevos modelos computacionales se ha partido de los modelos originales de potencial de acción cardíaco de O'Hara (Hara, Laszlo, Andras, & Yoram, 2011) y Tomek (Tomek et al., 2019). A ellos se les ha añadido la formulación de diferentes efectos isquémicos y cómo ellos afectan a las corrientes iónicas celulares. En particular, se han incorporado a los modelos los efectos del ATP y ADP intracelulares en las bombas iónicas ATP-dependientes, se ha actualizado el modelo de la corriente de potasio sensible a ATP a células humanas, se ha ampliado la formulación del efecto del pH extra e intracelular sobre las corrientes de calcio, de sodio rápida y tardía, la corriente rápida de potasio y transitoria de salida y las bombas e intercambiadores iónicos más importantes. Además, se ha modelado el efecto de la lisofosfatidilcolina (LPC) sobre las corrientes de sodio y al tardía de potasio. Por último, a diferencia de los modelos "clásicos" de potencial de acción isquémico, en este trabajo se ha modelado una fibra cardíaca unidimensional, con los que quedan incluidos en el modelo los efectos de la propagación eléctrica en el miocardio. Ambos modelos se han programado en lenguaje C.

Estos nuevos modelos (ORd-EF – modelo de O'Hara con efectos isquémicos por Esteban y Ferrero - y ToR-EF - modelo de Tomek con efectos isquémicos por Esteban y Ferrero) han permitido analizar cómo la hipoxia, la hiperkalemia y la acidosis presentes en la isquemia miocárdica afectan al potencial de acción cardíaco y a la concentración de potasio extracelular. Los resultados obtenidos se han comparado con los únicos experimentos disponibles en la actualidad llevados a cabo en cardiomiocitos humanos en corazón in-vivo. El análisis de los resultados permite concluir que, de los modelos desarrollados, el modelo ToR-EF es el que más se aproxima a los resultados reales, tanto para aproximar las variaciones isquémicas dinámicas de la duración del potencial de acción como el aumento dinámico de la concentración extracelular de potasio.

En conclusión, a pesar de las limitaciones de los nuevos modelos, se ha confirmado que el modelo ToR-EF reproduce correctamente en una fibra cardíaca simulada los efectos isquémicos sobre el tejido cardíaco.

Palabras clave: corazón, isquemia miocárdica, corriente iónica, duración del potencial de acción, concentración de potasio extracelular.

RESUM

Segons l'Organització Mundial de la Salut la isquèmia miocardiaca és una de les principals causes de mortalitat en tot el món. Es per això que en les últimes dècades s'han desenvolupat diferents models computacionals per a l'estudi dels seus efectes. No obstant això, la majoria de aquests models tenen algunes carències que fan que no es puguin considerar complets.

En aquest Treball de Final de Màster s'han desenvolupat dos nous models matemàtics isquèmics (ORd-EF i ToR-EF) amb els que s'han reduït algunes de les carències presents en els altres models isquèmics. Per al desenvolupament d'aquests dos nous models computacionals s'ha partit dels models originals de potencial d'acció cardíac de O'Hara (Hara et al., 2011) i Tomek (Tomek et al., 2019). A ells se'ls ha afegit la formulació de diferents efectes isquèmics i com ells afecten a els corrents iònics cel·lulars. En particular, s'han incorporat als models els efectes del ATP i ADP intracel·lulars en les bombes iòniques ATP-dependents, s'ha actualitzat el model del corrent de potassi sensible a ATP a cèl·lules humanes, s'ha ampliat la formulació del efecte del pH extra i intracel·lular sobre els corrents de calci, de sodi ràpid i tardà, el corrent ràpid de potassi i transitòria d'eixida i les bombes i intercanviadors iònics més importants. A més, s'ha modelat el efecte de la lisofosfatidilcolina (LPC) sobre els corrents de sodi i tardà de potassi. Per últim, a diferència dels models "clàssics" de potencial d'acció isquèmic, en aquest treball s'ha modelat una fibra cardíaca unidimensional, amb els que queden inclosos en el model els efectes de la propagació elèctrica en el miocardi. Ambdós models s'han programat en llenguatge C.

Aquests dos nous models (ORd-EF – model de O'Hara amb efectes isquèmics per Esteban i Ferrero – i ToR-EF – model de Tomek amb efectes isquèmics per Esteban i Ferrero) han permès analitzar com la hipòxia, la hiperkalemia i la acidosis presents en la isquèmia miocardiaca afecten al potencial d'acció cardíac i a la concentració de potassi extracel·lular. Els resultats obtinguts s'han comparat amb els dos únics experiments disponibles a la actualitat portats a terme en cardiomiòcits humans en un cor in-vivo. L'anàlisi dels resultats permet concloure que, dels models desenvolupats, el model Tor-EF és el que més s'aproxima als resultats reals, tant per aproximar les variacions isquèmiques dinàmiques de la durada del potencial d'acció com l'augment dinàmic de la concentració extracel·lular de potassi.

En conclusió, tot i les limitacions dels nous models, s'ha confirmat que el model Tor-EF reproduceix correctament en una fibra cardíaca simulada els efectes isquèmics sobre el teixit cardíac.

Paraules clau: cor, isquèmia, corrent iònica, duració del potencial d'acció, concentració de potassi extracel·lular.

ABSTRACT

According to the World Health Organization, myocardial ischemia is one of the main causes of mortality throughout the world. That is the reason why, in recent decades, different computational models have been developed to study its effects. However, most of these models have some shortcomings that mean that they cannot be considered complete.

In this Final Master's Thesis, two new ischemic mathematical models have been developed (ORd-EF and ToR-EF) with which some of the deficiencies present in other ischemic models have been reduced. For the development of these two new computational models, the original models of cardiac action potential of O'Hara (Hara, Laszlo, Andras, & Yoram, 2011) and Tomek (Tomek et al., 2019) were used. The formulation of different ischemic effects and how they affect cellular ionic currents has been added to them. In particular, the effects of intracellular ATP and ADP on ATP-dependent ion pumps have been incorporated into the models, the model of the ATP-sensitive potassium current has been updated to human cells, the formulation of the effect of extra and intracellular pH has been expanded over the calcium current, the fast and late sodium currents, the fast potassium current, the transient outflow potassium current and the most important pumps and ion exchangers. Moreover, the effect of lysophosphatidylcholine (LPC) on sodium and late potassium currents has been modelled. Lastly, unlike the "classical" models of ischemic action potential, in this work a one-dimensional cardiac fiber has been modelled and the effects of electrical propagation in the myocardium have been included in the models. Both models have been programmed in C language.

These new models (ORd-EF - O'Hara's model with ischemic effects by Esteban and Ferrero - and ToR-EF - Tomek's model with ischemic effects by Esteban and Ferrero) have made it possible to analyze how hypoxia, hyperkalemia and acidosis present in myocardial ischemia affect cardiac action potential and extracellular potassium concentration. The results obtained have been compared with the only currently available experiments carried out on human cardiomyocytes in the heart in-vivo. The analysis of the results allows us to conclude that, between the models developed, the ToR-EF model is the one that most closely approximates the real results, both to approximate the dynamic ischemic variations of the duration of the action potential and the dynamic increase of the extracellular potassium concentration.

In conclusion, despite the limitations of the new models, it has been confirmed that the ToR-EF model correctly reproduces the ischemic effects on cardiac tissue in a simulated cardiac fiber.

Keywords: heart, ischemia, ionic current, action potential duration, extracellular potassium concentration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Circuitos de circulación mayor y circulación menor. Fuente modificada de: (Hall & Guyton, 2011).....	23
Figura 2.2. Representación anatómica del corazón. Fuente: (“Cardiovascular health: Heart anatomy”)..	24
Figura 2.3. Estructura de una válvula mitral. Fuente: (“Cardiovascular health: Heart valves”).....	25
Figura 2.4. Capas histológicas de la pared del corazón. Fuente: (BruceBlas. Medical gallery of Blausen Medical 2014. Wikimedia Commons).....	26
Figura 2.5. Representación de los componentes de los filamentos finos. Fuente: modificado de (Ramon Romero, Mansilla Olivares, & Rivera Cruz, 2016)	27
Figura 2.6. Movimientos del ciclo cardíaco: diástole y sístole. Fuente: (Barret, Barman, Boitano, & Brooks, 2010)	28
Figura 2.7. Variaciones a lo largo del ciclo cardíaco de: presión aórtica, presión en la aurícula y el ventrículo izquierdos, volumen ventricular, electrocardiograma y fonocardiograma. Fuente: (Valdez, Huaman, Grados, & Benites, 2019).....	30
Figura 2.8. Esquema del sistema de conducción eléctrica cardíaco. Fuente: (Leon Zulceta, 2019).....	31
Figura 2.9. Ondas del ECG. Fuente: (Olmo & Nave, 2017).....	32
Figura 2.10. Bombas, intercambiadores y cotransportadores presentes en la membrana celular cardíaca. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017).....	34
Figura 2.11. Representación de los gradientes de difusión y de campo eléctrico que atraviesan la membrana celular cardíaca a través de canales abiertos de Ca^{2+} , Na^+ , K^+ y Cl^- en a) un medio extracelular más positivo que el intracelular y b) un medio extracelular más negativo que el intracelular. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017).....	35
Figura 2.12. Esquema de una compuerta voltaje dependiente según el formalismo de Hodgkin y Huxley. (Jose María Ferrero, 2020).....	36
Figura 2.13. Probabilidad de apertura de las compuertas de activación e inactivación en un canal iónico voltaje-dependiente. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017).....	37
Figura 2.14. Probabilidades de apertura de los canales iónicos presentes en la membrana de un cardiomiocito humano. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020).....	37
Figura 2.15. Estados de un canal con una compuerta de activación y otra de inactivación con probabilidades de apertura independientes. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020).....	39
Figura 2.16. Estados de un canal con una compuerta de activación y otra de inactivación cuando el cierre de la compuerta de inactivación depende del estado del canal. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020).....	39

Figura 2.17. Corrientes iónicas implicadas en el potencial de acción ventricular y auricular. Las corrientes despolarizantes se muestran en rojo y las repolarizantes, en azul. Fuente: modificado de (Tamargo, 2013).....	42
Figura 2.18. Efecto de los canales iónicos sobre las fases del PA en una célula cardíaca. Fuente: modificado de (“Potencial de acción cardíaco,” 2019).....	42
Figura 2.19. Transcurso temporal del potencial de acción mostrando alternancias eléctricas concordantes (izquierda) y discordantes). La letra L indica que es potencial de acción es de larga duración y la letra S indica que ese potencial de acción es de corta duración. A y B hace referencia a registros en diferentes zonas del corazón. Fuente: (Wilson & Rosenbaum, 2007)	44
Figura 2.20. Modelo eléctrico de una célula. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017)	44
Figura 2.21. Efecto de la isquemia miocárdica sobre el potencial de acción cardíaco. Fuente: (Thakor, Ferrero, Saiz, Gramatikov, & Ferrero, 1998).....	47
Figura 2.22. Variación de la duración del potencial de acción cardíaco en función de la probabilidad de apertura de los canales de potasio ATP-dependientes. Fuente: (Ferrero et al., 1996)	47
Figura 4.1. Esquema del modelo de O'Hara. Fuente: (Hara et al., 2011)	51
Figura 4.2. Esquema del modelo de Tomek. Fuente: (Tomek et al., 2019).....	53
Figura 4.3. Evolución temporal de los parámetros isquémicos: (A) ATPi ; (B) ADPi ; (C) pHi y pHo ; (D) LPC. Fuente: (González Ascaso, 2019).....	65
Figura 5.1. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ORd-EF en condiciones de normoxia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$	69
Figura 5.2. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ToR-EF en condiciones de normoxia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$	70
Figura 5.3. Diferencia entre el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo de la fibra simulada en condiciones de normoxia.	71
Figura 5.4. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ORd-EF tras 2 minutos de isquemia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes (diferentes además a las de la Fig. 5.1) con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms, modelo ADP Smith y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$	72
Figura 5.5. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ToR-EF tras 2 minutos de isquemia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes (diferentes además a las de la Fig. 5.2) Condiciones de simulación: BCL 500 ms, modelo ADP Smith y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$	73

Figura 5.6. Diferencia entre el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo de la fibra simulada en condiciones de normoxia.	74
Figura 5.7. Duración del potencial de acción al 90% de repolarización en el epicardio ventricular de 26 pacientes con enfermedades de arteria coronaria en condiciones de control y después de uno, dos y tres minutos de isquemia (BCL 500 ms). Las barras de error corresponden al error estándar. Fuente: modificado de (Sutton et al., 2000).....	76
Figura 5.8. Representación gráfica del potencial de acción en condiciones de control y tras 1, 2 y 3 minutos de isquemia. La simulación se ha realizado empleando el modelo ORd-EF con el modelo de ADP Smith, un BCL de 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y -200 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	77
Figura 5.9. Representación gráfica del potencial de acción en condiciones de control y tras 1, 2 y 3 minutos de isquemia. La simulación se ha realizado empleando el modelo ToR-EF con el modelo de ADP Smith, un BCL de 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y -190 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	77
Figura 5.10. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 1 (Smith) y 3 (Weiss) según la Tabla 6 para el modelo ORd-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000).	79
Figura 5.11. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 2 (Smith) y 4 (Weiss) según la Tabla 6 para el modelo ORd-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000).	79
Figura 5.12. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 1 y 3 según la Tabla 6 para el modelo ToR-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000). En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.	80
Figura 5.13. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 2 y 4 según la Tabla 6 para el modelo ToR-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000). En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.	80
Figura 5.14. Representación de cómo la hipoxia y la hiperkalemia avanzan durante 2.5 minutos de isquemia. En rosa se muestra la frecuencia dominante en ventanas de 1s con desviación estándar, en azul se muestra la curva suavizada usada para el ajuste, en rojo se muestra la concentración extracelular de potasio y en verde la fracción de canales IK(ATP) activados. Fuente: (Kazbanov et al., 2014).....	81
Figura 5.15. Variación de la concentración de potasio extracelular durante 2.5 minutos de isquemia empleando el modelo ORd-EF. Las condiciones de simulación son la 4 y la 5 de la Tabla 6: BCL 333 ms y pulsos de estimulación de 0.5 ms y -500 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$. En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.	83
Figura 5.16. Variación de la concentración de potasio extracelular durante 2.5 minutos de isquemia empleando el modelo ToR-EF. Las condiciones de simulación son la 4 y la 5 de la Tabla 6: BCL 333 ms y pulsos de estimulación de 0.5 ms y -520 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$. En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias entre el modelo ORd y el modelo ToR-ORd.....	54
Tabla 2. Variables de estado definidas en cada modelo.....	57
Tabla 3. Parámetros de configuración definidos en el módulo setDefaultSettings.....	63
Tabla 4. Valores iniciales y finales de los efectos isquémicos.....	65
Tabla 5. Factores de modificación de conductancias y de curvas de activación e inactivación en función de los efectos isquémicos.....	66
Tabla 6. Definición de los parámetros de simulación.....	75
Tabla 7. Comparación entre los acortamientos en la duración del potencial de acción obtenidos en las simulaciones 1 y 2 (BCL=500ms; tdur_stm=2ms; ADP Smith) y los datos experimentales de (Sutton et al., 2000). El error corresponde al error estándar.....	78
Tabla 8. Comparación entre los acortamientos en la duración del potencial de acción obtenidos en las simulaciones 3 y 4. (BCL=500ms; tdur_stm=2ms; ADP Weiss) y los datos experimentales de (Sutton et al., 2000). El error corresponde al error estándar.....	78
Tabla 9. Comparación entre los valores de concentración de potasio extracelular obtenidos en las simulaciones 5 y 6 (BCL 333 ms; tdur_stm=0.5ms; corriente de estimulación 2xumbral) y los datos experimentales de (Kazbanov et al., 2014).....	82

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ADP	Adenosín difosfato
APD	Duración del potencial de acción
ATP	Adenosín trifosfato
AV	Auriculoventricular
Ca²⁺	Calcio
Cl⁻	Cloro
ECG	Electrocardiograma
IMA	Isquemia miocárdica aguda
JSR	Retículo sarcoplásmico de unión
K⁺	Potasio
LCAC	Acilcarnitina
LPC	Lisofosfatidilcolina
LPM	Latidos por minuto
mV	Milivoltios
MYO	Mioplasma
Na⁺	Sodio
NSR	Retículo Sarcoplásmico de Red
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORd	Modelo original de O'Hara (Hara et al., 2011)
ORd-GoF	Modelo de O'Hara modificado (González Ascaso, 2019)
PA	Potencial de acción
SA	Sinoauricular
SS	Subespacio
ToR-ORd	Modelo original de Tomek (Tomek et al., 2019)
TFG	Trabajo Final de Grado
TFM	Trabajo Final de Máster
TnC	Troponina C
TnI	Troponina I
TnT	Troponina T
V_m	Potencial de membrana

ÍNDICE

DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto

ÍNDICE DE LA MEMORIA

RESUMEN.....	3
RESUM.....	5
ABSTRACT.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABLAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	13
ÍNDICE.....	15
CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	19
CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN.....	23
2.1. El corazón.....	23
2.1.1. Fisiología del corazón.....	23
2.1.2. Anatomía del corazón.....	24
2.1.3. El ciclo cardíaco: propiedades mecánicas.....	27
2.1.4. El latido cardíaco: propiedades eléctricas.....	31
2.2. La membrana celular cardíaca.....	33
2.2.1. Mecanismos de transporte.....	33
2.2.2. Formalismos de los canales iónicos.....	35
2.2.3. Potencial de acción cardíaco.....	40
2.2.4. Potenciales de acción alternantes.....	43
2.2.5. Modelo eléctrico de un cardiomiocito.....	44
2.3. La isquemia miocárdica.....	45
2.3.1. Bases de la isquemia miocárdica.....	45
2.3.2. Modelado electrofisiológico de la isquemia miocárdica.....	46
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS.....	49
CAPÍTULO 4. DESCRIPCIÓN DEL MODELO COMPUTACIONAL.....	51
4.1. Modelos computacionales de potencial de acción en humano.....	51

4.2. Descripción del software.....	55
4.2.1. Módulo <i>main</i>	56
4.2.3. Módulo <i>propagate</i>	56
4.2.4. Módulo <i>model</i>	57
4.2.5. Módulo <i>setinitial_conditions</i>	62
4.2.6. Módulo <i>setDefaultSettings</i>	63
4.2.7. Módulo <i>setDefaultIsqAct</i>	64
4.2.6. Módulo <i>setDefaultCorrAct</i>	64
4.3. Simulación de los efectos isquémicos	64
4.4. Códigos de los modelos.....	67
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
5.1. Resultados de los modelos en normoxia	69
5.2. Resultados de los modelos en isquemia	71
5.3. validación del modelo isquémico con datos experimentales.....	75
5.2.1. Efecto de la isquemia sobre la duración del potencial de acción	75
5.2.2. Efecto de la isquemia sobre la concentración de potasio extracelular	81
5.5. Limitaciones del modelo	84
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	85
CAPÍTULO 7. LÍNEAS FUTURAS	87
CAPÍTULO 8. REFERENCIAS	89

ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

PRESUPUESTO	97
1. Costes de personal.....	99
2. Costes de ejecución	100
2.1. Costes de software.....	100
2.2. Costes de hardware.....	101
3. Coste total del proyecto.....	101

MEMORIA

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La isquemia miocárdica aguda (IMA) es una enfermedad cardíaca que consiste en la disminución del flujo sanguíneo coronario debido a la obstrucción total o parcial de una arteria. Normalmente, esta obstrucción es producida por la acumulación de placas de ateroma en las paredes de las arterias o a un vasoespasma de una arteria coronaria, provocando un insuficiente aporte de nutrientes y oxígeno al músculo cardíaco, así como una acumulación excesiva de anhídrido carbónico (Hall & Guyton, 2011). Todo eso lleva a una alteración del ritmo cardíaco, que puede afectar gravemente a la eficacia de la función de bomba e incluso llegar al grado de provocar la muerte del individuo. Concretamente, se producen un conjunto de alteraciones electrofisiológicas en el tejido que aumentan la probabilidad de sufrir arritmias ventriculares (Michael Janse & Kléber, 1981).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la cardiopatía isquémica es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo. A pesar de ello, los efectos que provoca esta enfermedad sobre la actividad electrofisiológica del corazón no son del todo conocidos. Esto hace ver la importancia y necesidad del estudio del corazón con el objetivo de conocer mejor su funcionamiento y poder desarrollar nuevas formas de prevenir, diagnosticar y tratar todo tipo de enfermedades cardíacas. En este trabajo nos centraremos en la isquemia miocárdica.

La actividad eléctrica del corazón puede modelarse matemática y computacionalmente estableciendo una analogía de circuitos eléctricos. Actualmente, encontramos modelos matemáticos para la simulación de la actividad cardíaca en humanos y otras especies que reproducen los fenómenos electrofisiológicos a partir de formulaciones matemáticas. La ventaja que presentan estos modelos es que permiten la predicción de respuestas en condiciones que pueden ser difíciles de reproducir a nivel experimental y, por lo tanto, abren una nueva vía de estudio del corazón y de aquellas patologías que puedan estar relacionadas con él.

A día de hoy, el modelado de células cardíacas ha sido ampliamente estudiado y sus inicios se remontan a principios del siglo XX, cuando Van der Pol y Van der Mark (Van der Pol & Van der Mark, 1928) desarrollaron los primeros sistemas matemáticos de los que se tiene constancia para la descripción de la actividad rítmica del corazón y el estudio de su relación con la señal electrocardiográfica. Unos años más tarde, Von Neumann (Von Neumann, 1951) y Ulam (Ulam, 1952) progresaron en la instrucción de este campo con el desarrollo de modelos multicelulares a partir de la creación de autómatas celulares. Simultáneamente, Hodgkin y Huxley (Hodgkin & Huxley, 1939) emplearon los conocimientos obtenidos en los trabajos de Nernst y Planck para describir, de forma matemática, la propagación del potencial de acción (PA) en fibras nerviosas. De este modo, desarrollaron un sistema de ecuaciones diferenciales que cuantifica los flujos de corriente que atraviesan la membrana celular y que se mantiene todavía como paradigma matemático en las simulaciones.

Paralelamente, la propagación de la activación cardíaca en modelos multicelulares también se ha estudiado durante los últimos años. En los modelos se define mediante derivadas parciales que forman una ecuación de difusión-reacción y ella hace referencia, por una parte, a la difusión del

voltaje a lo largo del tejido y, por otra parte, a la corriente iónica que atraviesa la membrana celular (Chorro Gascó, 2005).

Centrándonos en los procesos electrofisiológicos que conllevan la isquemia miocárdica, en los últimos años los modelos computacionales cardíacos se han convertido en una poderosa herramienta como complemento a la investigación clínica y experimental (Noble, 2002; Rodriguez, Trayanova, & Noble, 2006; J. Silva & Rudy, 2010; Trayanova, 2011; Trayanova et al., 2012; Trayanova & Tice, 2009; Trenor Gomis et al., 2011). Uno de los mayores inconvenientes del estudio experimental de esta enfermedad es que es un fenómeno de naturaleza inestable y dinámica compleja. Además, la mayoría de las arritmias letales se producen antes de que el individuo ingrese en el hospital, por lo que también dificulta la realización de estudios clínicos sistémicos. Ambos hechos, junto a los obstáculos éticos y prácticos que plantea la relación estrecha que mantienen las arritmias isquémicas con la muerte del individuo, hacen que las simulaciones computacionales para el estudio de esta enfermedad cobren una mayor importancia. De hecho, la isquemia miocárdica aguda, junto al infarto de miocardio, son las dos patologías cardíacas que se han conseguido simular con mayor éxito hasta ahora (Rodríguez et al., 2006).

En los modelos matemáticos actuales de isquemia se incluyen las alteraciones que provoca la falta de riego sanguíneo sobre las corrientes iónicas (ver (Jose M Ferrero, Trenor, & Romero, 2014) para estado del arte de los modelos actuales y (Dutta, Mincholé, Quinn, & Rodriguez, 2017a) para comparación). Por ejemplo, en estos modelos se incluye cómo las variaciones en los niveles de pH intra y extracelular provocados por la acidosis isquémica actúan sobre las corrientes entrantes de sodio y calcio (J. Ferrero, Saiz, & Thakor, 1996; J. Ferrero, Trenor, Rodriguez, & Saiz, 2003) o cómo los niveles de adenosín trifosfato (ATP) y adenosín difosfato (ADP) tienen un efecto directo sobre los canales de potasio sensibles al ATP (Dutta, Mincholé, Quinn, & Rodriguez, 2017b; J. Ferrero et al., 1996). Sin embargo, y como punto clave para el desarrollo de este trabajo, la mayoría de los modelos actuales no se pueden considerar completos por diferentes razones. En primer lugar, dichos modelos no suelen incluir los cambios que, la alteración de estos parámetros, provocan en otras corrientes iónicas. Además, cuando se modela el efecto de la isquemia sobre un canal, a menudo su cinética no cambia y solamente se modifica el valor de su conductancia máxima (Dutta et al., 2017a; Jose M Ferrero et al., 2014). Asimismo, por lo general, la concentración extracelular de potasio se fija como un valor elevado (representando la hiperkalemia generada por la isquemia) cuando realmente no se mantiene constante, sino que varía durante el periodo isquémico. Por último, gran parte de los modelos isquémicos actuales están basados en datos obtenidos de modelos animales (perro, conejo y cobaya, en su gran mayoría) y no están adaptados para humano.

Por todo ello, el objetivo principal de este trabajo final de máster (TFM) es desarrollar, validar, presentar y comparar diferentes modelos computacionales más completos para la simulación de los efectos electrofisiológicos que provoca la isquemia miocárdica aguda sobre un corazón humano. Este proyecto es continuación del trabajo final de grado (TFG) realizado por Marta Gironés Sangüesa (Gironés Sangüesa, 2020), en el cual se perseguía el mismo objetivo sobre una célula aislada. En el trabajo actual se busca ir más allá y se han desarrollado dos modelos 1D (modificados respecto a los presentados en el citado TFG) que consisten en la simulación de una fibra de 2 cm de longitud formada por células miocárdicas virtuales. Gracias a estos modelos se ha podido estudiar, no solo el efecto de la isquemia miocárdica sobre un cardiomiocito humano, sino también sobre la propagación del potencial de acción a través de toda una fibra.

Para el desarrollo de estos modelos se ha partido de los modelos originales de O'Hara (ORd) (Hara et al., 2011) y Tomek (ToR-ORd) (Tomek et al., 2019) de potencial de acción en cardiomiocitos humanos y, sobre ellos, se han ampliado los efectos de los componentes

isquémicos sobre las corrientes iónicas celulares incluyendo, en la medida de lo posible, datos de corazón isquémico humano.

Posteriormente, los modelos desarrollados han sido sometidos a un proceso de validación empleando datos experimentales de dos estudios realizados sobre corazón humano (Kazbanov et al., 2014; Sutton et al., 2000) con el objetivo de confirmar que los efectos isquémicos introducidos reproducen correctamente el comportamiento electrofisiológico de la IMA.

Todo ello constituye una tarea propia de la Ingeniería Biomédica y es objeto de este Trabajo Fin de Máster. Entre las competencias específicas descritas en el título de Máster Universitario en Ingeniería Biomédica impartido por la Universidad Politécnica de Valencia aparece, en el número 3, la competencia siguiente:

“Ser capaz de modelar matemáticamente y simular procesos complejos en el ámbito de la ingeniería biomédica”

Dicha competencia es la que justifica la elección del contenido de este trabajo y la que se pretende desarrollar en el mismo.

CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

2.1. EL CORAZÓN

2.1.1. Fisiología del corazón

El corazón es el núcleo del sistema circulatorio y consiste en una bomba que suministra sangre a las demás estructuras del organismo. Su función principal es conseguir que los nutrientes y el oxígeno, que han sido obtenidos a partir de otras funciones corporales (digestión y respiración) lleguen a todas las células para que puedan desarrollarse todas las funciones vitales del cuerpo humano. Cuando es necesario un aporte extra de energía, este órgano responde con un aumento de su actividad, incrementando con ello la frecuencia de bombeo.

El sistema circulatorio, tal como se muestra en la **¡Error! La autoreferencia al marcador no es válida.**, es un circuito cerrado que a su vez se divide en el sistema de circulación mayor y el sistema de circulación menor.

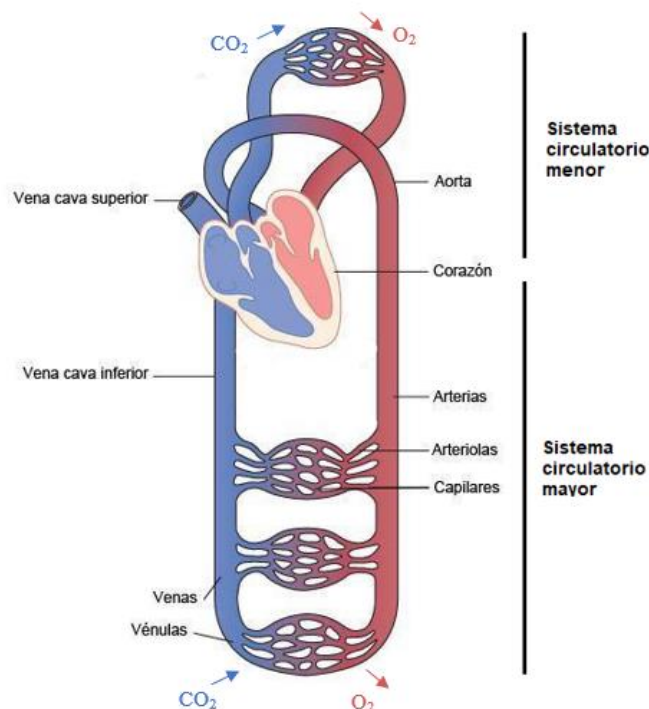


Figura 2.1. Circuitos de circulación mayor y circulación menor. Fuente modificada de: (Hall & Guyton, 2011)

En primer lugar, la sangre, previamente oxigenada durante su paso por los pulmones, es expulsada por la arteria aorta en cada latido y avanza por sus diferentes ramificaciones hasta conseguir irrigar todas las estructuras. Cuando los nutrientes y el oxígeno han sido cedidos a todas las células, la sangre es recogida de nuevo en las venas y devuelta al corazón. Este circuito es conocido como sistema de circulación mayor, general o sistémica.

En segundo lugar, cuando las venas devuelven la sangre al corazón, esta es enviada a los pulmones para ser oxigenada de nuevo y retorna al corazón para ser impulsada otra vez a todo el organismo. Este recorrido, que tiene una longitud menor al anterior, se conoce como sistema de circulación menor o pulmonar.

2.1.2. Anatomía del corazón

El corazón humano se encuentra ubicado en el mediastino medio del tórax, descansando sobre el diafragma y rodeado por los pulmones a los laterales, el esternón y los cartílagos costales por delante y la columna vertebral, la aorta y el esófago por detrás. Se consigue fijar en esta situación mediante los grandes vasos que entran y salen de él y por el pericardio, una capa formada por una membrana serosa y una membrana fibrosa que recubre la superficie externa del miocardio.

Este órgano posee volúmenes diferentes según el sexo y la edad del individuo, pero además un mismo corazón también varía notablemente dependiendo de si se encuentra en sístole o en diástole. El volumen total de un corazón suele rondar entre 500 y 800 mililitros. El peso oscila entre el 0.4% y el 0.45% del peso corporal total (López Farré & Macaya Miguel, 2009), lo que supone unos 275 gramos en el hombre y 250 gramos en la mujer, aproximadamente.

Morfología macroscópica

Para una mejor descripción de la morfología macroscópica del corazón, se realiza una diferencia entre morfología interna y externa.

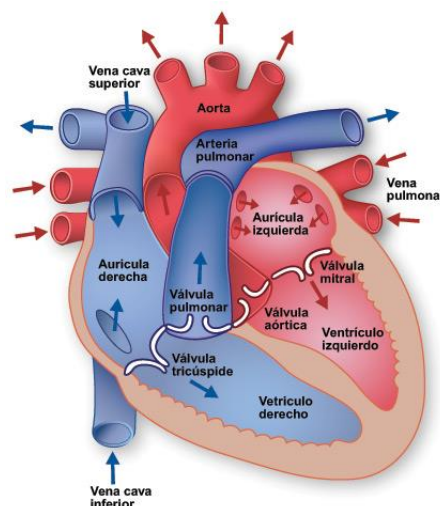


Figura 2.2. Representación anatómica del corazón. Fuente: ("Cardiovascular health: Heart anatomy")

Internamente, tal y como se muestra en la Figura 2.2, el corazón está estructurado en cuatro cavidades: dos aurículas en la parte superior y dos ventrículos en la parte inferior. En función del lado en el que se encuentren, se les denomina aurícula y ventrículo derecho o aurícula y ventrículo izquierdo.

A nivel estructural, los ventrículos tienen una capa muscular más gruesa porque requieren de una potencia de bombeo mayor que las aurículas. Asimismo, el músculo del ventrículo izquierdo es considerablemente más grueso que el del ventrículo derecho porque es el encargado de bombear la sangre al recorrido del sistema de circulación mayor.

Separando ambos lados del corazón se encuentran el tabique interauricular (entre las aurículas) y el tabique interventricular (entre los ventrículos), por lo que, en condiciones normales, las cavidades de un lado no se comunican con las cavidades del otro lado. Sin embargo, las aurículas y los ventrículos de cada uno de los lados sí están comunicados y lo hacen a través de las válvulas auriculoventriculares (AV). La válvula AV localizada en el lado derecho se conoce como válvula tricúspide y la localizada en el lado izquierdo, válvula mitral.

La estructura de estas válvulas, representada en la Figura 2.3, consiste en un anillo sujeto al orificio de ambas cavidades a partir del que surgen velos, dos velos en el caso de la válvula mitral y tres velos en el caso de la válvula tricúspide (López Farré & Macaya Miguel, 2009). Además, en los bordes de estos velos se encuentran las cuerdas tendinosas que se fijan a la musculatura ventricular, concretamente a los músculos papilares, y evitan el prolapso de dichos velos hacia las aurículas cuando se cierran las válvulas. La función principal de las válvulas AV es permitir el paso de sangre de las aurículas a los ventrículos, pero impedir su retorno.

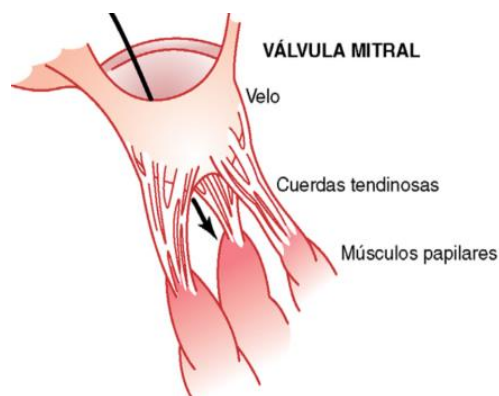


Figura 2.3. Estructura de una válvula mitral. Fuente: ("Cardiovascular health: Heart valves")

Respecto a la morfología macroscópica externa, este órgano tiene forma de pirámide invertida con la base a la altura del segundo espacio intercostal y con la punta orientada hacia lado inferior izquierdo a la altura del quinto espacio intercostal. Esta punta es conocida con el nombre de ápex.

Como órgano central del sistema circulatorio, en el corazón nacen y desembocan los grandes vasos sanguíneos. Por una parte, aquellos que devuelven la sangre al corazón son las venas; las que provienen del sistema circulatorio mayor y entran por la aurícula derecha son las venas cavas y las que forman parte del sistema circulatorio menor y conectan los pulmones con la aurícula izquierda son las venas pulmonares. Por la otra parte, los vasos a través de los que sale la sangre del corazón se llaman arterias; arteria pulmonar es la que conecta el ventrículo derecho con los pulmones y arteria aorta la que sale del ventrículo izquierdo para repartir la sangre por el resto del cuerpo.

Igual que entre las aurículas y los ventrículos, entre las arterias y los ventrículos también encontramos válvulas, en este caso conocidas como válvulas semilunares, para evitar el retorno de la sangre. Entre el ventrículo derecho y la arteria pulmonar está posicionada la válvula pulmonar y entre el ventrículo izquierdo y la arteria aorta, la válvula aórtica.

De forma paralela, el corazón también tiene unas arterias y venas para su propia irrigación y que adquieren el nombre de arterias y venas coronarias. Las arterias coronarias surgen como una escisión de la arteria aorta y suministran sangre oxigenada al músculo cardíaco mientras que las venas coronarias, por su parte, devuelven la sangre sin oxigenar al seno coronario y desemboca en la aurícula derecha (López Farré & Macaya Miguel, 2009).

Por último, rodeando por fuera todo el corazón está situado el pericardio parietal, una membrana fibrosa formada por dos capas y que se encarga de separar el corazón y los grandes vasos del resto de estructuras vecinas otorgándoles protección. Además, también actúa como transmisor de presiones desde la cavidad torácica hacia el órgano.

Morfología microscópica

Las cavidades del corazón (aurículas y ventrículos) están constituidas por tres capas histológicas representadas en Figura 2.4. Recubriendo la superficie interna del corazón es conocida como endocardio y la superficie externa, epicardio o pericardio visceral. Entre ambas se encuentra la hoja interna o miocardio, que correspondería al conocido como músculo cardíaco.

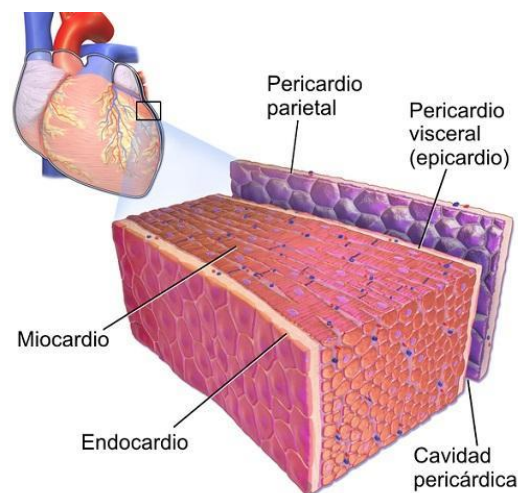


Figura 2.4. Capas histológicas de la pared del corazón. Fuente: (BruceBlaus. Medical gallery of Blausen Medical 2014. Wikimedia Commons)

El tejido muscular cardíaco está constituido por dos tipos diferentes de fibras musculares: las cardíacas y las especializadas.

Por una parte, las células musculares mononucleadas conocidas como cardiomiocitos o miocitos cardíacos se ramifican formando una red tridimensional de fibras musculares cardíacas que se conectan unas con otras mediante los discos intercalares (engrosamientos transversales de la membrana celular). Estas uniones son las que permiten la conducción sincronizada de los potenciales de acción entre las fibras y, por tanto, permiten la contracción (Tortosa, 2015).

En el interior de los cardiomiocitos se encuentran las proteínas que son responsables de los procesos de contracción y relajación del corazón: la actina y la miosina. La miosina forma los filamentos gruesos y la actina es parte de los filamentos finos junto a la tropomiosina y la troponina. Tal como se muestra en la Figura 2.5, la troponina está compuesta por tres subunidades: la troponina T (TnT) que es la que tiene contacto directo con la tropomiosina, la troponina C (TnC) que tiene un terminal carboxilo y otro amino a los que se une el Ca^{2+} y la troponina I (TnI) que se une a la actina para bloquear sus puntos de unión con la miosina (Montero & Campos, 2006). La unión de los iones de calcio con cada fibra muscular es importante ya que es el responsable del inicio del proceso de contracción y relajación (Rubira, 2009).

Por otra parte, las fibras musculares especializadas no tienen mucha capacidad contráctil debido a la ausencia de actina y miosina, pero tienen función excitadora y conductora, es decir, generan y conducen los impulsos eléctricos y regulan tanto la velocidad como la intensidad del latido.

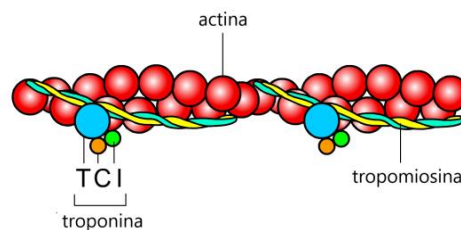


Figura 2.5. Representación de los componentes de los filamentos finos. Fuente: modificado de (Ramon Romero, Mansilla Olivares, & Rivera Cruz, 2016)

2.1.3. El ciclo cardíaco: propiedades mecánicas

Como se ha comentado anteriormente, la función principal del corazón es bombear sangre. Para ello, realiza dos movimientos en cada ciclo cardíaco: sístole y diástole. En un individuo sano un ciclo cardíaco ronda los 800 ms y se divide en 500 ms de diástole y 300 ms de sístole (Tamargo & Delpón, 2010). Ambos procesos se muestran representados en la Figura 2.6.

Cuando las aurículas están llenas y los ventrículos relajados, las válvulas AV se abren dejando pasar la sangre de la cavidad con mayor presión (las aurículas) a la cavidad con menor presión (los ventrículos). En condiciones normales, un 70% de la sangre presente en las aurículas es expulsada de forma pasiva y el otro 30% es impulsada por la contracción de las aurículas. Este movimiento se conoce como diástole y en él las válvulas semilunares están cerradas para evitar que la sangre salga del ventrículo antes de hora. Cuando el ventrículo está lleno, se pasa al movimiento de sístole, en el que los ventrículos inician un proceso de contracción con el objetivo de abrir dichas válvulas y eyectar la sangre por las arterias. En este periodo, las válvulas AV se cierran para evitar el retroceso (Rubira, 2009).

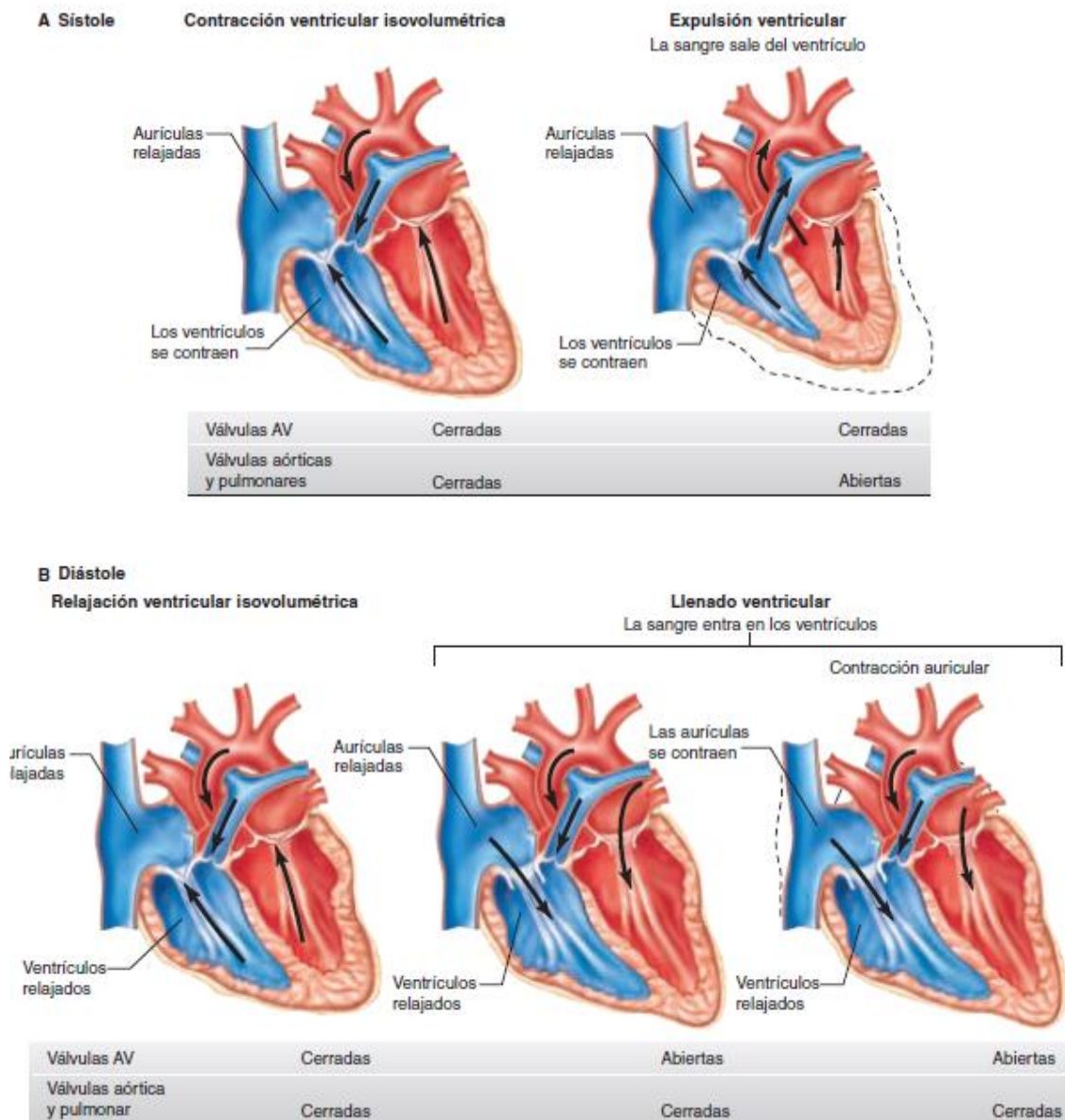


Figura 2.6. Movimientos del ciclo cardíaco: diástole y sístole. Fuente: (Barret, Barman, Boitano, & Brooks, 2010)

Detrás de los movimientos de sístole y diástole ocurren una serie de fenómenos mecánicos y eléctricos que se traducen en cambios de flujo, de presión y de volumen con cada latido. En la Figura 2.7 se ven representadas las variaciones de presión y volumen en la parte izquierda del corazón a lo largo de un ciclo cardíaco. También se encuentra representado el electrocardiograma (ECG), que muestra cómo varía el potencial de membrana a lo largo de este mismo ciclo cardíaco, y el fonocardiograma, que consiste en un registro de los ruidos producidos por el corazón durante el bombeo.

A lo largo de un ciclo cardiaco se pueden observar 6 fases diferenciadas:

- 1) Contracción isovolumétrica
Comprende desde que se cierra la válvula AV hasta que se abre la válvula aórtica. En ese periodo el ventrículo acaba de ser llenado con la sangre proveniente de la aurícula y el volumen ventricular alcanza su máximo (130 ml), cerrando la válvula mitral. Eso aumenta la presión ventricular y, cuando alcanza el valor de la presión aórtica (80 mmHg), fuerza la apertura de la válvula semilunar.
- 2) Eyección
La apertura de la válvula aórtica permite la salida de sangre del ventrículo, reduciendo así el volumen ventricular hasta 50 ml. El movimiento de contracción ventricular (complejo QRS del ECG) y el impulso de la sangre hacia la arteria aorta aumentan ambas presiones hasta 120 mmHg, pero a medida que la sangre es expulsada del corazón y los ventrículos se relajan (onda T del ECG), ambas presiones comienzan a descender.
- 3) Relajación isovolumétrica
Cuando la presión aórtica alcanza los 95 mmHg, la válvula aórtica se cierra, aumentando ligeramente la presión aórtica y reduciendo notablemente la presión ventricular, pasando de 80 mmHg a prácticamente 0 mmHg. El volumen ventricular se mantiene residual el 50 ml.
- 4) Flujo de entrada rápido
La caída de la presión ventricular por debajo de la presión auricular provoca la apertura de la válvula AV y comienza el traspaso pasivo de sangre de nuevo de la aurícula al ventrículo, consiguiendo un traspaso del 70% de la sangre presente en la aurícula. Esto hace aumentar el volumen ventricular.
- 5) Diástasis
A medida que aumenta el volumen ventricular, también aumenta ligeramente la presión, por lo que disminuye el gradiente de presión auriculoventricular y el llenado del ventrículo se hace más lento.
- 6) Sístole auricular
Finalmente, se realiza la contracción auricular (onda P del ECG), aumentando la presión auricular y ventricular e impulsando el volumen de sangre remanente en la aurícula hacia el ventrículo.

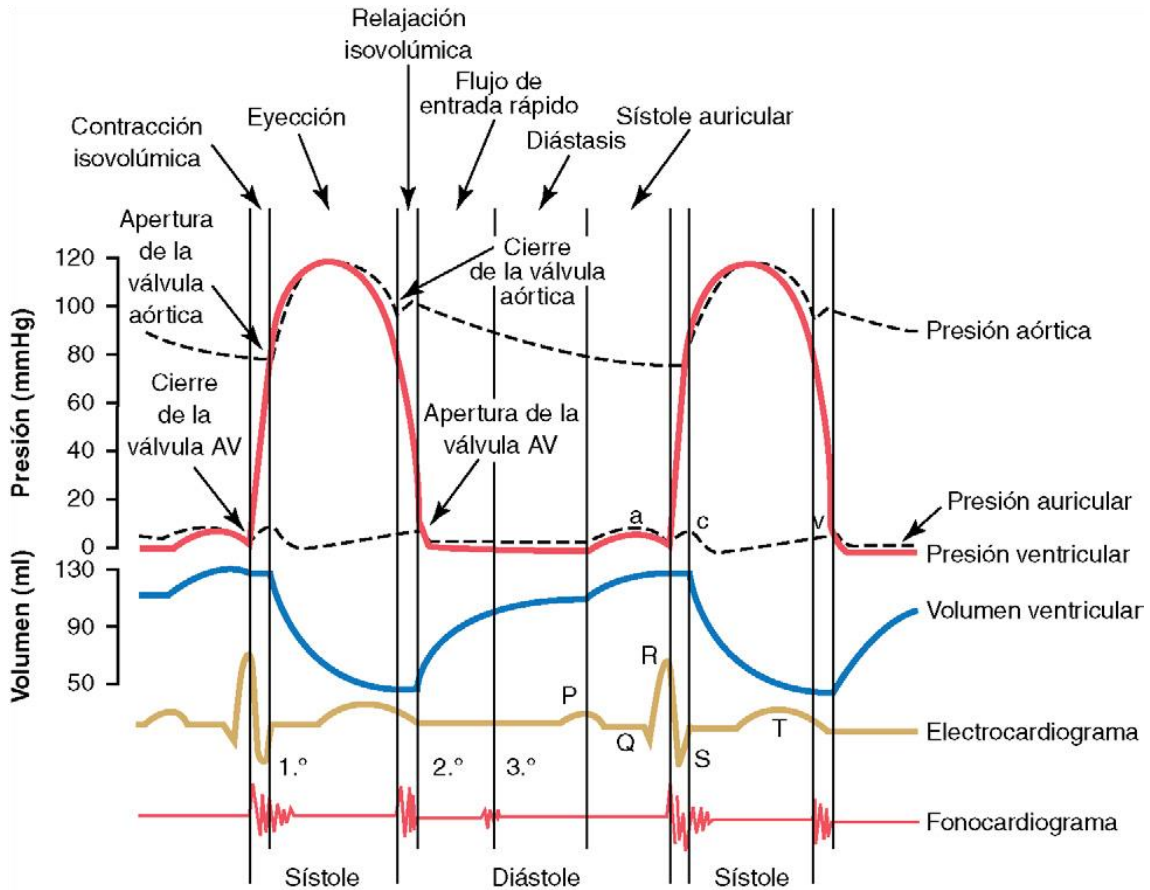


Figura 2.7. Variaciones a lo largo del ciclo cardíaco de: presión aórtica, presión en la aurícula y el ventrículo izquierdos, volumen ventricular, electrocardiograma y fonocardiograma. Fuente: (Valdez, Huaman, Grados, & Benites, 2019)

Tal como se muestra en la gráfica del volumen ventricular, el volumen total de sangre que, en condiciones normales, es capaz de almacenar un ventrículo humano es de 130 ml (volumen diastólico final) y el volumen de sangre que expulsa en cada latido es de 80 ml (volumen sistólico). Como se puede ver, hay un porcentaje del volumen de sangre que no es eyectado al exterior del corazón. Este volumen se conoce como volumen sistólico residual y ronda los 50 ml. Si el corazón no es capaz de bombear correctamente una cantidad adecuada de sangre y este volumen sistólico residual aumenta, pueden desarrollarse miocardiopatías.

$$\text{Fracción de eyección} = \frac{\text{Volumen sistólico}}{\text{Volumen diastólico}} \quad (1)$$

La fracción de eyección (1) muestra el porcentaje de la cantidad de sangre que bombea el ventrículo izquierdo con cada latido. La fracción de eyección en un sujeto sano ronda entre el 50 y el 70%, por debajo del 40% se considera insuficiencia cardíaca o cardiomiopatía y por encima del 75%, miocardiopatía hipertrófica (Bonow, Mann, Zipes, & Libby, 2012).

2.1.4. El latido cardíaco: propiedades eléctricas

Los movimientos mecánicos que se llevan a cabo durante el ciclo cardíaco tal y como se ha explicado en el apartado anterior, tienen su origen en la actividad eléctrica del corazón. El corazón es un órgano auto-excitante que presenta un sistema propio de producción de impulsos eléctricos y una estructura de conducción. Cada impulso eléctrico provoca que las células del músculo cardíaco se contraigan y esta contracción es coordinada en todas las cavidades cardíacas, permitiendo que el corazón entero actúe como una bomba. Cada contracción corresponde a un latido y, en condiciones normales, la frecuencia cardíaca suele oscilar entre 60 y 100 latidos por minuto (lpm). Si dicha frecuencia es inferior a 60 lpm se considera bradicardia y si es superior a 100 lpm, taquicardia. Estas alteraciones del ritmo cardíaco pueden ser fisiológicas o patológicas.

Este sistema de conducción eléctrica cardíaco, representado en la Figura 2.8, está formado por cuatro elementos principales: el nódulo sinusal o sinoauricular (SA), el nódulo AV, el haz de His y el sistema de fibras de Purkinje.

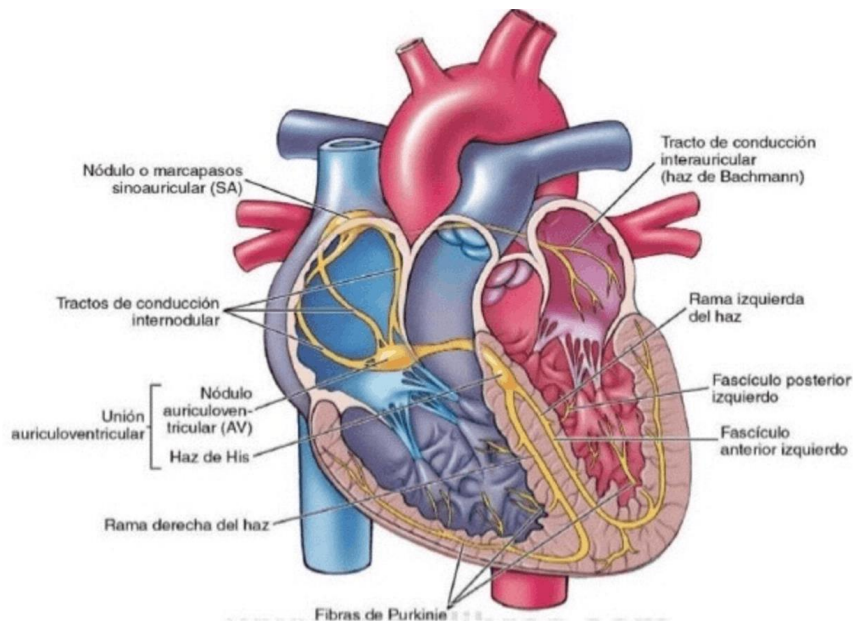


Figura 2.8. Esquema del sistema de conducción eléctrica cardíaco. Fuente: (Leon Zulceta, 2019)

El nódulo SA es donde se origina el impulso eléctrico y se encuentra situado en la pared de la aurícula derecha, unido a la vena cava superior. Una vez producido, el impulso se propaga por las fibras miocárdicas de las aurículas a una velocidad aproximada de 0.3 m/s hasta llegar al nódulo AV, posicionado en el tabique interauricular y conectado con el nódulo SA a través de tres tractos de conducción internodulares (anterior, medio y posterior). La velocidad de propagación en el nodo AV es de 0.05 m/s (más lenta que en el nodo SA), por lo que se genera un retraso en el avance de la activación permitiendo el llenado del ventrículo mientras se produce la contracción auricular.

La función del nódulo SA es marcar el ritmo cardíaco indicando cuándo debe contraerse el corazón, mientras que la función del nódulo AV es filtrar los impulsos eléctricos provenientes del nódulo AV en caso de que sean más de los necesarios o generar sus propios impulsos si no llegan.

En condiciones normales, el nódulo SA es el que marca el ritmo cardíaco porque posee una frecuencia de latido mayor a la del nodo AV, 70 lpm frente a 40-60 lpm.

Cuando el impulso eléctrico atraviesa el nodo AV, llega al haz de His, que se divide en dos ramas a su paso por el tabique interventricular. Cada una de las ramas distribuye el impulso a un ventrículo. El haz de His también es capaz de generar sus propios impulsos en caso de ser necesario, pero su frecuencia de latido oscila entre 25-40 lpm. Finalmente, el haz de His desemboca en las fibras de Purkinje, que conducen rápidamente el impulso eléctrico por todo el miocardio ventricular. Esta conducción es la más rápida, alcanzando en algunos casos los 4 m/s (“Electrocardiografia.es,” n.d.).

Las ondas características de la señal electrocardiográfica representan la despolarización y repolarización que sufren las células cardiacas cuando son alcanzadas por este impulso eléctrico. La señal de activación provoca la despolarización de las células cardiacas haciendo que se contraigan y, cuando vuelven al estado de reposo, se repolarizan de nuevo. Es por ello por lo que la señal ECG se emplea para el diagnóstico del estado electrofisiológico del corazón. En la --- se puede observar a que procesos de despolarización y repolarización de las diferentes estructuras del corazón pertenece cada onda.

- Onda P - despolarización auricular
- Segmento PQ - meseta auricular
- Complejo QRS - despolarización ventricular + repolarización auricular
- Segmento ST - meseta ventricular
- Onda T - repolarización ventricular

Existe también una onda U que aparece en algunas ocasiones después de la onda T y se relaciona con la repolarización lenta de las fibras de Purkinje o con repolarización de los músculos papilares ventriculares. Puede ser debida a causas basales y fisiológicas o derivada de una patología.

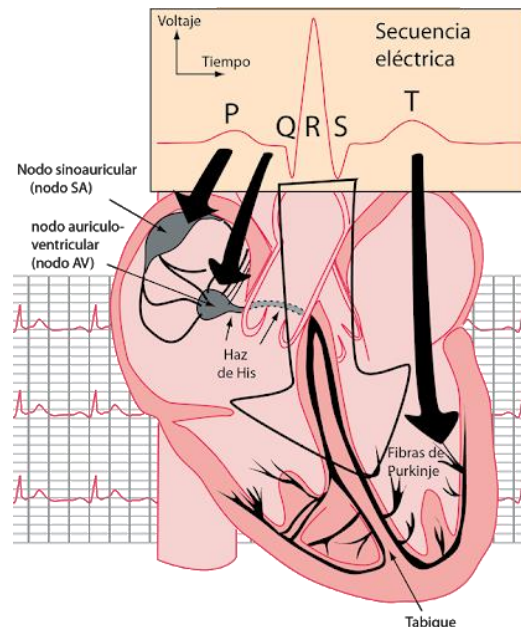


Figura 2.9. Ondas del ECG. Fuente: (Olmo & Nave, 2017)

2.2. LA MEMBRANA CELULAR CARDIACA

2.2.1. Mecanismos de transporte

Toda célula animal está recubierta por una doble capa de lípidos conocida como membrana celular o membrana plasmática. Esta membrana es curvada, plana y flexible, con unos 80 Å de espesor.

Al ser semipermeable permite el paso de diversas partículas químicas cargadas o iones. Los iones son moléculas hidrofílicas inmiscibles en la capa lipídica de la membrana y son necesarios mecanismos de transporte específicos para poder atravesarla. Podemos dividir estos mecanismos de transporte en dos grupos: los mecanismos activos que no permiten el paso de moléculas sin un aporte externo de energía (bombas) y los mecanismos pasivos en los que este aporte de energía no es necesario (canales iónicos, intercambiadores y cotransportadores).

A continuación, se describen cada uno de ellos.

Bombas

Las bombas son los únicos mecanismos de transporte activo presentes en la membrana plasmática. Cuando el movimiento de transporte debe de ir en contra del campo eléctrico o del gradiente de difusión, se trata de un mecanismo de transporte activo y requiere de una molécula de ATP (energía) para realizar dicho movimiento. Hay de dos tipos de bombas: por una parte, están las bombas de un solo ion como por ejemplo la bomba de calcio, cuya función es extraer calcio (Ca^{2+}) del interior de la célula; por otra parte, están las bombas intercambiadoras como la bomba sodio-potasio, que en cada movimiento introduce dos iones de potasio (K^+) y extrae dos iones de sodio (Na^+).

Intercambiadores

Dentro de los mecanismos de transporte pasivo, los intercambiadores se encargan de permutar iones entre los dos medios celulares aprovechando gradientes favorables, por eso no requieren de un aporte extra de energía. Como ejemplo de intercambiadores tenemos el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que introduce tres iones de sodio de forma pasiva y, aprovechando ese gradiente favorable, extrae un ion de calcio. Además, también se encuentra el intercambiador Na^+/H^+ , empleado para regular el pH y que introduce en la célula un ion de sodio a costa de extraer un protón.

Cotransportadores

Otro mecanismo de transporte pasivo son los cotransportadores, donde un ion que tiende a salir de forma pasiva arrastra tras de él otros iones. Un ejemplo de ello es el cotransportador Cl^-/K^+ , que aprovecha que el potasio tiende a salir por difusión, arrastrando así a un ion de cloro (Cl^-).

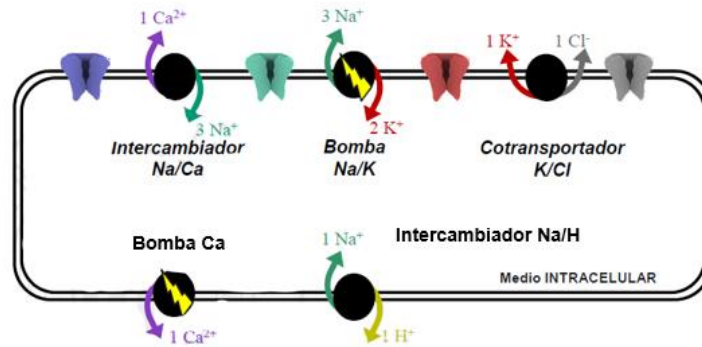


Figura 2.10. Bombas, intercambiadores y cotransportadores presentes en la membrana celular cardíaca. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017)

Canales iónicos

El último mecanismo de transporte presente en la membrana plasmática de las células cardíacas son los canales iónicos. Estos canales están formados por proteínas con poros hidrófilos y son capaces de controlar a qué iones les permiten el paso, es decir, poseen selectividad iónica. Los canales iónicos se designan con el nombre del ion al que permiten el paso y aquellos que presentan una mayor relevancia en el potencial de acción cardíaco son los canales de sodio, potasio, calcio y cloro.

Cada canal está formado por cuatro subunidades alfa idénticas, es decir, todas ellas tienen los mismos aminoácidos y las mismas estructuras primaria, secundaria y terciaria. Cada una de esas unidades está formada por 6 alfa-hélices. Adicionalmente, cada canal puede tener 2 o 4 subunidades beta.

Estas proteínas son capaces de adoptar estados conformacionales diferentes como respuesta a un estímulo. En función de cuál sea este estímulo, los canales iónicos se diferencian en voltaje-dependientes (responden a un cambio en el potencial de membrana) y ligando-dependientes (responden a la unión o ausencia de unión de un ligando específico) (Hille, 1975).

Cuando el canal se encuentra en estado abierto y, por tanto, se permite el paso de iones, hay dos tipos de corrientes que pueden atravesarlo. Por una parte, se encuentran las corrientes de difusión, en las que los iones se ven desplazados por la diferencia de concentración entre los medios intracelular y extracelular. Los iones siempre tenderán a ir hacia donde haya una concentración menor. Por la otra parte, se hallan las corrientes generadas por el campo eléctrico, en las que los iones se desplazan según su carga. En este caso los iones negativos irán hacia el medio más positivo y los iones positivos hacia el medio más negativo.

En la Figura 2.11 se muestran los gradientes de difusión y campo eléctrico para los canales iónicos más característicos de una célula cardíaca. Es importante tener en cuenta que, aunque haya transporte de iones entre los medios extracelular e intracelular, las concentraciones suelen mantenerse. Es decir, las concentraciones extracelulares de calcio, sodio y cloro siempre serán mayores que las intracelulares y la concentración intracelular de potasio será mayor que la extracelular. Por lo tanto, el gradiente de difusión siempre será el mismo. Sin embargo, el gradiente del campo eléctrico sí variará en función de la polaridad de los medios. Es por ello por lo que, cuando el medio extracelular sea más positivo, el calcio, el sodio y el potasio tenderán a entrar mientras el cloro tenderá a salir y, cuando el medio extracelular sea más negativo, ocurrirá lo contrario.

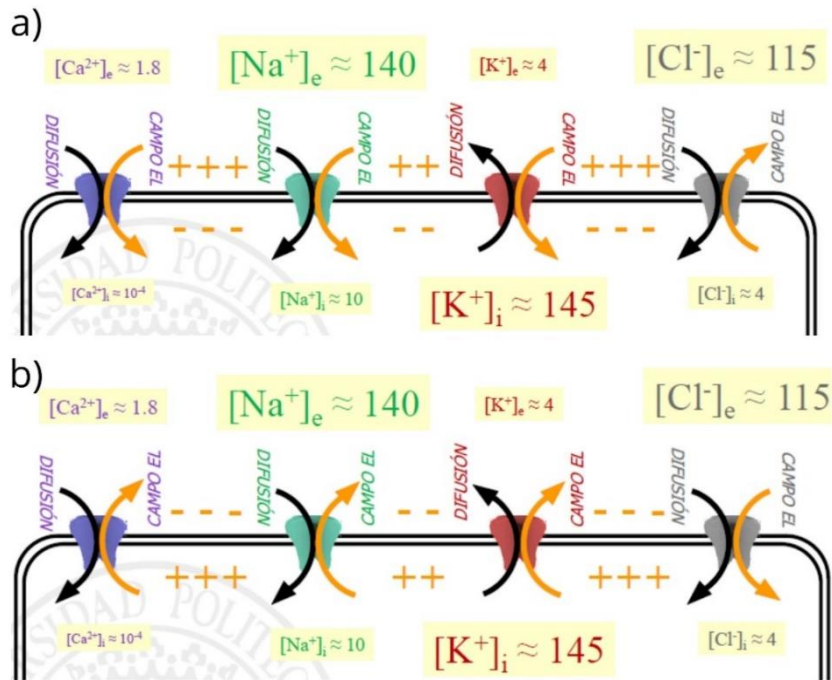


Figura 2.11. Representación de los gradientes de difusión y de campo eléctrico que atraviesan la membrana celular cardíaca a través de canales abiertos de Ca^{2+} , Na^+ , K^+ y Cl^- en a) un medio extracelular más positivo que el intracelular y b) un medio extracelular más negativo que el intracelular. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017)

2.2.2. Formalismos de los canales iónicos

A la hora de simular el flujo de corriente que atraviesa un canal iónico, se pueden emplear dos formalismos matemáticos.

Formalismo Hodgkin-Huxley

Por un lado, se encuentra el modelo de compuertas, en el cual Hodgkin y Huxley (Hodgkin & Huxley, 1952) explican estos estados según la posición de las llamadas compuertas, unas estructuras presentes en los canales iónicos y que pueden ser de activación o inactivación. Este formalismo fue planteado en el primer modelo matemático capaz de reproducir el comportamiento de las corrientes iónicas transmembrana y del potencial de acción. Este modelo se basaba en el comportamiento electrofisiológico de un axón de calamar.

Desde entonces, este formalismo ha sido ampliamente usado para desarrollar la mayoría de los modelos computacionales de potencial de acción actuales (Decker, Heijman, Silva, Hund, & Rudy, 2009; Grandi, Pasqualini, & Bers, 2010; Hara et al., 2011; Luo & Rudy, 1994; ten Tusscher, Noble, Noble, & Panfilov, 20014).

Cada canal iónico puede poseer en su estructura una, varias o ninguna compuerta de cada uno de los dos tipos. Estas compuertas poseen una probabilidad de apertura, que es la que definirá el estado del canal y que variará en función del estímulo. Por ejemplo, en el caso de los canales voltaje dependientes, la fracción de compuertas de activación abiertas aumentará conforme lo haga el potencial de membrana, mientras que la fracción de compuertas de inactivación abiertas disminuirá conforme lo haga dicho potencial.

En la Figura 2.12 se muestra una compuerta voltaje dependiente.

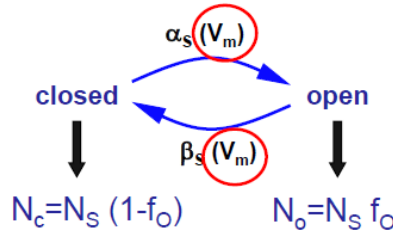


Figura 2.12. Esquema de una compuerta voltaje dependiente según el formalismo de Hodgkin y Huxley. (Jose María Ferrero, 2020)

En este caso la probabilidad de apertura de la compuerta se define como:

$$\frac{df_o}{dt} = \alpha_s * (1 - f_o(t)) - \beta_s * f_o(t) \quad (2)$$

Siendo α_s y β_s las ratios de apertura y cierre, respectivamente, y f_o la fracción de compuertas abiertas en un instante t .

Considerando f_∞ como la fracción de compuertas abiertas en estado estacionario y τ_f la constante de tiempo de apertura en ms, que se definen como:

$$f_\infty(V_m) = \frac{\alpha_s(V_m)}{\alpha_s(V_m) + \beta_s(V_m)} \quad (3)$$

$$\tau_f(V_m) = \frac{1}{\alpha_s(V_m) + \beta_s(V_m)} \quad (4)$$

La ecuación (2) se puede reformular como:

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

La presencia de los dos tipos de compuertas en un mismo canal voltaje-dependiente implica la existencia de tres estados conformacionales, los cuales se muestran representados en la Figura 2.13.

En el primer estado conformacional, conocido como estado cerrado o en reposo, el potencial de membrana tiene un valor tan bajo que mantiene las compuertas de inactivación abiertas, pero no llega a abrir las compuertas de activación, por lo que no se permite el paso de iones. En este estado habría que aumentar el potencial de membrana para poder pasarlo a estado abierto. En segundo lugar, siendo el único de los tres estados que permite el paso de iones, se encuentra el estado abierto. En él, el potencial de membrana es lo bastante alto como para que las compuertas de activación estén abiertas, pero no se hayan cerrado todavía las compuertas de inactivación. Por último, un canal iónico se encuentra en estado inactivo cuando el potencial de membrana es tan alto que, aunque las compuertas de activación estén abiertas, el paso de iones no está permitido porque ya se han cerrado las compuertas de inactivación. El inconveniente de este estado es que, para conseguir que se abra, es necesario disminuir el potencial de membrana para abrir las compuertas de inactivación aunque se cierren las de activación (pasando el canal a estado cerrado) y, posteriormente, aumentar el voltaje para abrir las compuertas de activación (pasando el canal a estado abierto).

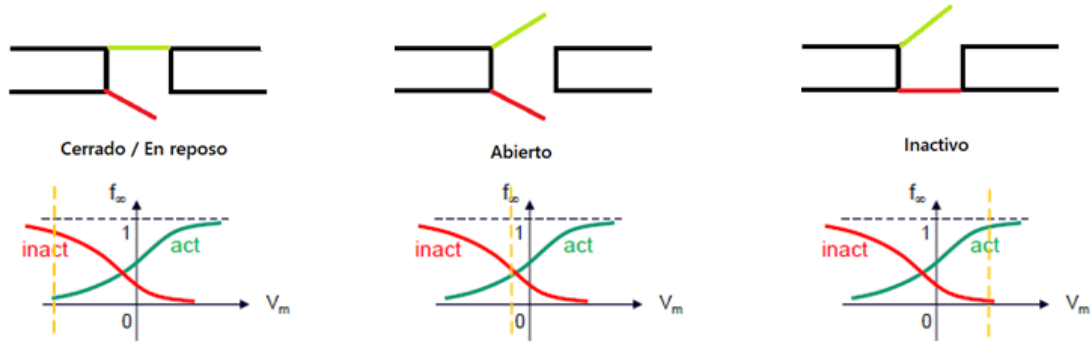


Figura 2.13. Probabilidad de apertura de las compuertas de activación e inactivación en un canal iónico voltaje-dependiente. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017)

Respecto a las compuertas ligando-dependientes, encontramos dos tipos: las que son activadas cuando se une un ligando y las que son inactivadas cuando se une un ligando. En estos dos casos, las probabilidades de apertura se definen de la siguiente forma:

Activadas por ligando

$$\psi = \frac{1}{1 + \left(\frac{K_m}{[L]}\right)^H} \quad (6)$$

Inactivadas por ligando

$$\psi = \frac{1}{1 + \left(\frac{[L]}{K_m}\right)^H} \quad (7)$$

Donde $[L]$ es la concentración de ligando, H el número de receptores de unión del ligando en cada canal y K_m la cantidad de ligando necesaria para que la probabilidad de apertura de esa compuerta sea del 50%.

La probabilidad total de apertura de un canal será igual al producto de las probabilidades de apertura de cada una de sus compuertas. Las probabilidades de apertura de los canales presentes en un cardiomiocito ventricular humano se muestran representadas en la siguiente

Figura 2.14.

$$\begin{array}{lll} f_{Na} = m^3 h j & f_{Ca(L)} = d f f_{Ca} & f_{to} = r s \\ f_{Ks} = x_s^2 & f_{Kr} = x_{r1} x_{r2} & f_{K1} = 1 \end{array}$$

Figura 2.14. Probabilidades de apertura de los canales iónicos presentes en la membrana de un cardiomiocito humano. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020)

Donde las probabilidades marcadas en verde (m, d, r, x_s, x_{r1}) hacen referencia a las compuertas de activación y las marcadas en rojo (h, j, f, s, x_{r2}), a las de inactivación. Se puede observar, por tanto, que el canal de calcio CaL presenta una compuerta ligando dependiente con una probabilidad de apertura f_{Ca} y que el canal de potasio $K1$ no presenta compuertas.

Formalismo Markov

Por otra parte, el modelo estático de canales iónicos de Markov define el canal como una cadena de estados discretos entre los que puede transitar dicho canal dependiendo de diferentes condiciones y esos estados pueden asociarse con estados conformacionales del canal (Becker et al., 1994; Sigworth, 1999). Esta formulación se basa en la idea de que las transiciones entre los diferentes estados del canal dependen del estado conformacional en el que se encuentre el canal en ese mismo momento.

La primera vez que el modelo de Markov fue introducido en los modelos de potencial de acción fue en 1999 (Clancy & Rudy, 1999), donde se empleó para representar las transiciones entre estados en función del voltaje y el tiempo. Este nuevo modelo demostró ser versátil y útil para reproducir el comportamiento de los canales iónicos cuando sus propiedades cinéticas se veían modificadas por mutaciones y desde entonces ha sido usado con ese propósito (Clancy & Rudy, 2002; Irvine, Jafri, & Winslow, 1999; J. R. Silva & Rudy, 2005). Sin embargo, también ha sido empleado para describir canales que no han sido mutados (Clancy & Rudy, 1999, 2002; J. R. Silva & Rudy, 2005) y para simular el efecto de fármacos (Romero, Trenor, Yang, Saiz, & Clancy, 2014; Zygmunt et al., 2011).

Comparativa de ambos formalismos

La limitación principal del modelo de Hodgkin-Huxley es que asume que la apertura de una compuerta es independiente del resto, pero se ha demostrado que la probabilidad de apertura de algunas compuertas varía en función del estado del canal. Por ejemplo, Armstrong y Bezanilla probaron en 1977 que la inactivación de los canales de Na^+ era más probable cuando el canal estaba abierto (Bezanilla & Armstrong, 1977). Además, con el avance en el estudio de los canales iónicos también se ha evidenciado que no hay solo dos posibilidades de posición de un canal, sino que puede haber 3 o incluso 4 debido a las rotaciones de las hélices alfa. Estas posiciones no pueden representarse con el modelo de compuertas, cosa que imposibilita la correcta reproducción del efecto de algunas mutaciones sobre el PA y plantea la idea de estados cinéticos del canal.

Se puede afirmar que el modelo de Markov describe mejor el comportamiento actual de los canales iónicos. Sin embargo, también es cierto que es matemáticamente mucho más complejo y eso supone un coste computacional bastante más elevado, circunstancia que hay que tener en cuenta.

Por ejemplo, planteamos el caso de un canal hipotético que tuviera, según el formalismo de Hodgkin y Huxley, una compuerta de activación (m) y otra compuerta de inactivación (h) cuya probabilidad de apertura fuera totalmente independiente al estado del canal.

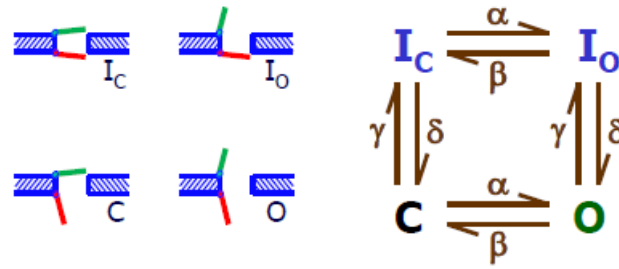


Figura 2.15. Estados de un canal con una compuerta de activación y otra de inactivación con probabilidades de apertura independientes. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020)

La formulación sería la siguiente:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha * (1 - m) - \beta * m \quad (8)$$

$$\frac{dh}{dt} = \gamma * (1 - h) - \delta * h \quad (9)$$

Donde la probabilidad de apertura sería

$$f_o = m * h \quad (10)$$

Y la ecuación final del canal (explicada más adelante) se definiría como:

$$I_s = N_s \cdot \gamma_s \cdot f_o \cdot (v_m - E_s) \quad (11)$$

Donde N_s representa el número de canales de la familia, γ_s es la conductancia unitaria (pS) de cada canal y E_s el potencial de equilibrio del ion.

Para concluir, la formulación de este canal se realiza únicamente con dos ecuaciones diferenciales.

Sin embargo, si el cierre de las compuertas de inactivación dependiera del estado del canal, ya no se podría formular con el formalismo de Hodgkin y Huxley y la representación esquemática de los estados y sus ratios de apertura y cierre, quedaría así:

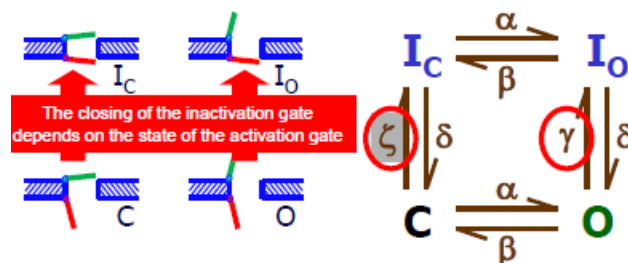


Figura 2.16. Estados de un canal con una compuerta de activación y otra de inactivación cuando el cierre de la compuerta de inactivación depende del estado del canal. Fuente: (Jose María Ferrero, 2020)

En ese caso las ecuaciones del modelo serían las siguientes:

$$\frac{df_o}{dt} = \alpha * f_c + \delta * f_{I0} - (\beta + \gamma) * f_o \quad (12)$$

$$\frac{df_c}{dt} = \delta * f_{Ic} + \beta * f_o - (\alpha + \gamma) * f_c \quad (13)$$

$$\frac{df_{Ic}}{dt} = \gamma * f_c + \beta * f_{I0} - (\beta + \delta) * f_{Ic} \quad (14)$$

$$\frac{df_{I0}}{dt} = \gamma * f_o + \alpha * f_{I0} - (\beta + \delta) * f_{I0} \quad (15)$$

Es decir, se pasaría de dos a cuatro ecuaciones diferenciales, lo que supone un aumento considerable del coste computacional.

Por último, hay que tener en cuenta que existen estudios comparativos donde se ha demostrado que las diferencias entre ambos modelos no son tan grandes. Por ejemplo, en 2016 se probó que, al simular los efectos de ciertas mutaciones que afectan a las corrientes I_{Kr} e I_{Na} , las diferencias entre modelos a la hora de comparar las corrientes iónicas eran muy pequeñas ($\rho > 0.92$) y los potenciales de acción eran casi idénticos ($\rho > 0.99$) (Carbonell-pascual, Godoy, Ferrer, Romero, & Ferrero, 2016).

Como conclusión, se ha demostrado que la formulación de Hodgkin-Huxley no es suficiente para describir al completo el comportamiento de los canales iónicos. Sin embargo, en algunas ocasiones, la ventaja de un menor coste computacional junto a la prueba de que los resultados entre ambos modelos son casi idénticos, inclina la balanza hacia su uso y por eso sigue siendo el más utilizado.

2.2.3. Potencial de acción cardíaco

Los cardiomiocitos, células por las que está compuesto el tejido cardíaco, son células excitables, lo que significa que son capaces de generar un potencial de acción como respuesta a un estímulo. Un PA es una descarga eléctrica que viaja en forma de onda a través de la membrana plasmática de la célula y modifica su distribución de carga eléctrica.

En reposo, el medio extracelular es positivo y el medio intracelular negativo. La diferencia de potencial entre ambos medios es conocido como potencial de membrana y, en esas condiciones, es de -85 mV. Por lo tanto, la ecuación correspondiente al potencial de membrana es la siguiente:

$$V_m = V_i - V_e \quad (16)$$

Donde, V_m , V_i y V_e corresponden a los potenciales de membrana, intracelular y extracelular, respectivamente.

Como se ha visto en apartados anteriores, existen estructuras que permiten el paso de iones de un medio a otro a través de la membrana y eso hace cambiar su polaridad, haciendo variar el potencial de membrana. En la Figura 2.18 y la Figura 2.17 se muestra representado cómo afectan las corrientes de los canales iónicos principales sobre el potencial de acción de una célula cardíaca. En condiciones normales, un PA cardíaco en humanos tiene una duración aproximada de 150-300 ms y en él se pueden diferenciar 5 fases que se desarrollan a continuación.

► Despolarización (Fase 0)

La fase de despolarización comienza cuando un cardiomiocito, que parte del reposo, aumenta su potencial de membrana debido a la recepción de un estímulo. Si el estímulo es suficiente para elevar el potencial de membrana hasta alcanzar un cierto potencial umbral (definido sobre los -60 mV), aumenta la probabilidad de apertura de las 3 compuertas de activación de los canales de sodio voltaje-dependientes, por donde entra la corriente I_{Na} . Esa apertura supone la entrada de iones de Na^+ por difusión y aumenta el potencial intracelular, aumentando con él el potencial de membrana. Una vez se alcanzan los -40 mV, se abren la compuerta de activación de los canales de calcio tipo L y comienzan a entrar iones de Ca^{2+} también por difusión, dando lugar a la corriente I_{CaL} . La despolarización de la célula se produce de forma muy rápida, tal y como puede verse en la gran pendiente de la Fase 0 y el potencial de membrana alcanza los 20 mV en apenas unos ms. Esto se debe a que las compuertas de activación de los canales de sodio son muy rápidas.

► Espiga (Fase 1)

Dado que los canales de sodio poseen dos compuertas de inactivación, el aumento del potencial de acción hace que estos se cierren, impidiendo la entrada de más iones Na^+ . En ese momento entra en juego la corriente transitoria I_{to} , que es de activación e inactivación rápida y extrae iones de K^+ por difusión, produciendo una repolarización veloz y creando la marcada espiga característica de esta fase.

► Meseta (Fase 2)

A pesar de que los canales tipo L de calcio poseen una compuerta de inactivación, esta es muy lenta, por lo que sigue entrando calcio. Esta entrada es la que dispara la contracción de la célula cardíaca. Durante este proceso se libera gran cantidad de iones de calcio en el interior celular provenientes del retículo sarcoplásmico y eso inactiva el canal de corriente I_{CaL} . Además, también quedan remanentes, algunos canales abiertos de sodio que no se han cerrado en la fase anterior. De forma paralela, también se abren dos canales de corrientes rectificadoras tardías de salida de K^+ , una rápida (I_{Kr}) y otra lenta (I_{Ks}). En el caso de la aurícula, en esta fase también encontramos una corriente de salida de potasio ultra-rápida I_{Kur} , que en los ventrículos no tiene un papel muy importante. Por lo tanto, en esta fase compiten la entrada de iones de Ca^{2+} con la salida de iones de K^+ y por eso el potencial de membrana se mantiene constante temporalmente.

► Repolarización (Fase 3)

Finalmente se inactivan las corrientes de sodio y de calcio y el potencial de membrana disminuye debido a la salida de calcio por las corrientes repolarizantes de potasio que han sido activadas en la fase anterior. Junto a esas, se activa otra corriente de rectificación de potasio llamada I_{K1} , que tiene un papel más importante en la siguiente fase.

► Reposo (Fase 4)

Por último, a medida que va disminuyendo el potencial de membrana por la salida de potasio, se van cerrando las compuertas de activación y se inactivan todas las corrientes menos I_{K1} , que no tiene compuertas. Por lo tanto, el potencial sigue disminuyendo hasta alcanzar el potencial de equilibrio del K^+ a -85 mV, el cual se considera el potencial de reposo de la célula.

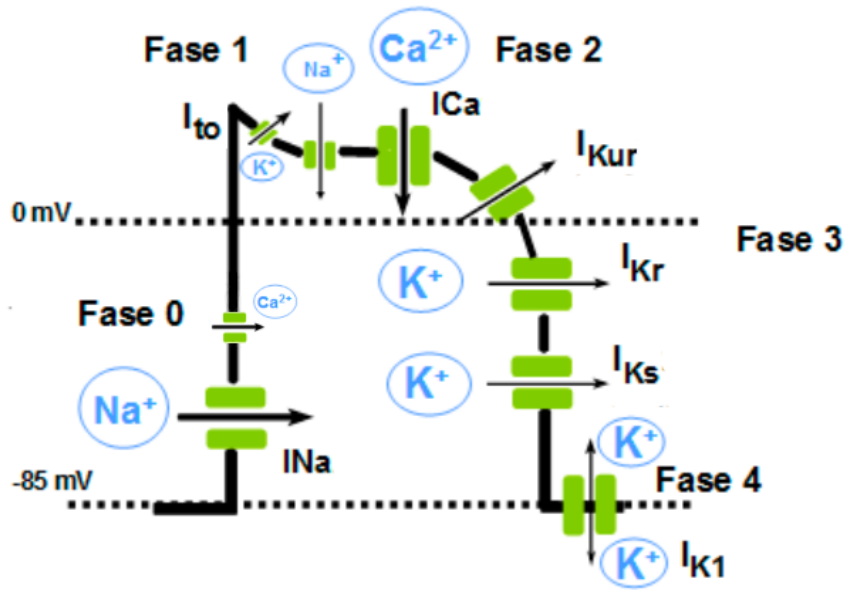


Figura 2.18. Efecto de los canales iónicos sobre las fases del PA en una célula cardíaca. Fuente: modificado de ("Potencial de acción cardíaco," 2019)

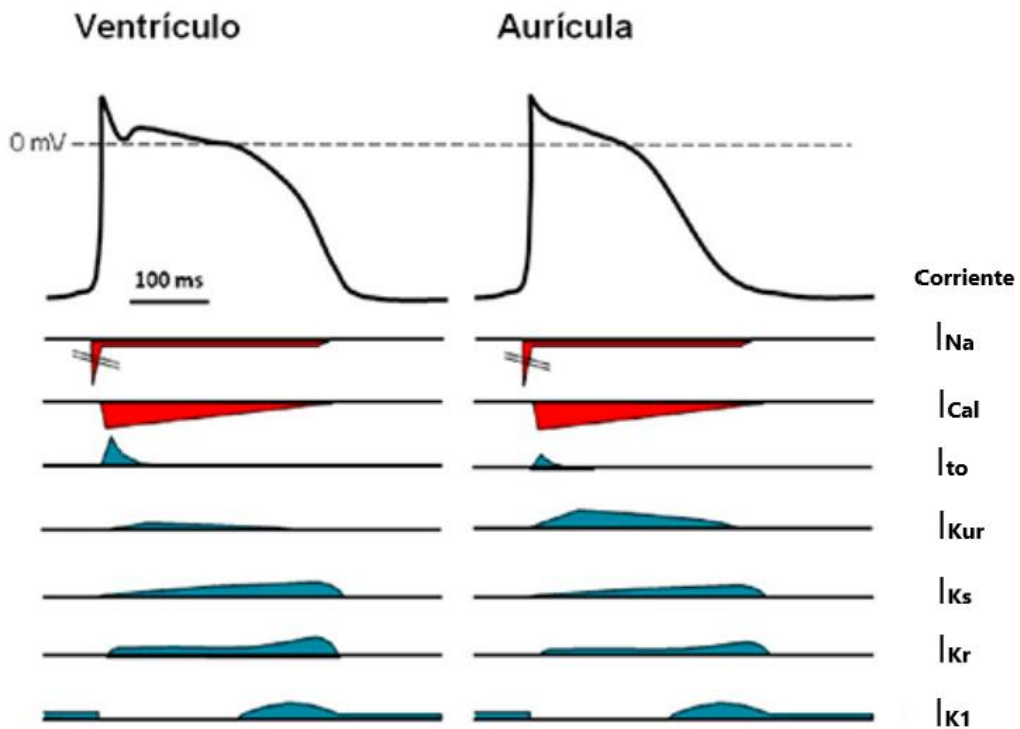


Figura 2.17. Corrientes iónicas implicadas en el potencial de acción ventricular y auricular. Las corrientes despolarizantes se muestran en rojo y las repolarizantes, en azul. Fuente: modificado de (Tamargo, 2013)

Propagación del PA y el periodo refractario

Los cardiomiocitos excitados transmiten el impulso eléctrico a las células vecinas a través de los discos intercalares. El cambio de polaridad de la célula (que ocurre durante la despolarización) provoca que los iones positivos presentes en la célula excitada tiendan a ir hacia el bajo potencial del citoplasma de la célula contigua. Ese movimiento actuará como estímulo para que el potencial de membrana de la célula vecina alcance el potencial umbral y se dispare en ella un PA.

Una vez la célula ha finalizado el proceso de repolarización, entra en el llamado periodo refractario absoluto, durante el cual no es capaz de excitarse y, por tanto, no puede desencadenar otro potencial de acción aunque sea estimulada. Después de este periodo de tiempo la célula se encuentra en el conocido como periodo refractario relativo, donde la célula sí podría llegar a excitarse, pero haría para para ello un estímulo muy intenso. La suma de estos dos periodos adquiere el nombre de periodo refractario y tiene una duración aproximada de unos 250-300 ms en cardiomiocitos ventriculares y de unos 150 ms en cardiomiocitos auriculares (Ramírez, 2009). Cuando finaliza el periodo refractario, vuelve al estado de reposo, lista para ser excitada.

Potencial de equilibrio

Se conoce como potencial de equilibrio de un ion a aquel potencial que debería tener la membrana plasmática para que la corriente neta de dicho ion fuese cero y, por tanto, no tendiera a desplazarse de un medio a otro. El potencial de equilibrio adquiere un valor diferente para cada ion y este puede calcularse a partir de la Ley de Nerst:

$$E_s = \frac{R \cdot T}{z_s \cdot F} \cdot \ln \left(\frac{[S]_e}{[S]_i} \right) \quad (17)$$

Donde R corresponde a la constante de los gases ideales, T a la temperatura (en Kelvin), z_s es la carga del ion, F la constante de Faraday y $[S]_e$ y $[S]_i$ las concentraciones extracelulares e intracelulares de ion, respectivamente.

Como se ha comentado anteriormente, el potencial de equilibrio del potasio corresponde al potencial de membrana en reposo gracias a la acción de la corriente I_{K1} y es de -85 mV. El potencial de equilibrio del sodio ronda los 35 mV, el del calcio 52 mV y el del cloro -91 mV (Jose María Ferrero, 2017).

2.2.4. Potenciales de acción alternantes

En algunas ocasiones ocurre que surge una alternancia en la duración del potencial de acción entre latidos y el transitorio intracelular de Ca^{2+} que sigue un patrón repetitivo de largo-corto-largo-corto o grande-pequeño-grande-pequeño, respectivamente.

Algunos estudios experimentales han demostrado que aquellas situaciones en las que se producen alternancias eléctricas también suelen aparecer arritmias cardíacas. Estas situaciones se pueden deber a alteraciones farmacológicas y electrolíticas, mutaciones genéticas de los canales o patologías como la IMA (Walker & Rosenbaum, 2003). Esto sucede porque la dispersión espacial y temporal del APD son dos factores causantes de bloqueos unidireccionales y arritmias de reentrada en el tejido cardíaco.

Encontramos dos tipos de alternancias: concordantes o discordantes, en función de si regiones diferentes del corazón tienen la misma secuencia o una secuencia diferente de alternancia, respectivamente. La discordancia espacial es más arritmogénica que la alternancia concordante.

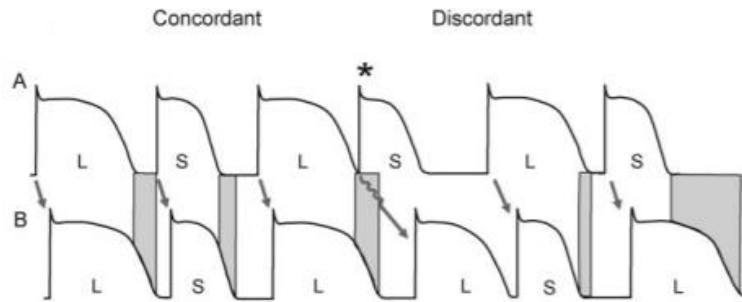


Figura 2.19. Transcurso temporal del potencial de acción mostrando alternancias eléctricas concordantes (izquierda) y discordantes). La letra L indica que es potencial de acción es de larga duración y la letra S indica que ese potencial de acción es de corta duración. A y B hace referencia a registros en diferentes zonas del corazón. Fuente: (Wilson & Rosenbaum, 2007)

2.2.5. Modelo eléctrico de un cardiomiocito

La actividad eléctrica del corazón puede modelarse matemática y computacionalmente estableciendo una analogía de circuitos eléctricos. En la Figura 2.20 se muestra el modelo eléctrico generalizado de una célula.

En primer lugar, para crear un modelo eléctrico de un cardiomiocito, la membrana celular se considera un condensador de capacidad C_m , ya que separa dos medios eléctricos y es atravesado por una corriente I_c .

En segundo lugar, los mecanismos vistos que permiten el paso de iones a través de la membrana celular han de presentar un lado hacia el medio extracelular y otro al medio intracelular. Por una parte, los canales iónicos quedan representados por una impedancia g_s y una fuente de alimentación E_s cuyo valor será igual al potencial de reposo de dicho ion tal como se define en la ecuación (17). Cada canal será atravesado por una corriente I_s . Por otra parte, las bombas, los intercambiadores y los cotransportadores se definen con una fuente de corriente I_b .

Finalmente, se tiene I_{stim} que es la corriente de estimulación externa generada por las células vecinas.

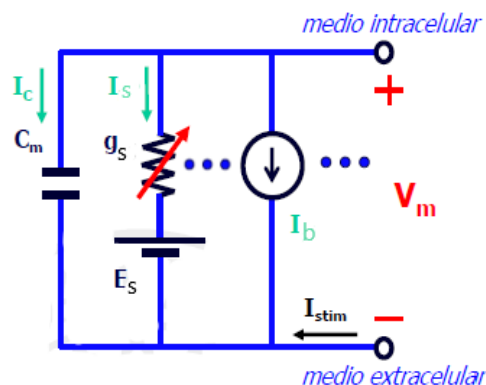


Figura 2.20. Modelo eléctrico de una célula. Fuente: modificado de (Jose María Ferrero, 2017)

La primera Ley de Kirchhoff defiende que, dado que la carga total se conserva, la suma de todas las corrientes que llegan a la unión de dos o más ramas es igual a la suma de las corrientes que salen de ellas. Es por ello por lo que se puede afirmar que:

$$I_c + I_s + I_b + I_{stim} = 0 \quad (18)$$

Se considera que la intensidad que recorre el condensador es (Ferrero Corral, 1994):

$$I_c = C_m \cdot \frac{dv_m}{dt} \quad (19)$$

Donde C_m es la capacidad de la membrana y $\frac{dv_m}{dt}$ la variación del potencial de membrana según el tiempo.

Y que, a partir de la Ley de Fick y la Ley de Ohm aplicada al transporte iónico por difusión y por campo eléctrico, respectivamente, la intensidad que recorre un canal iónico es la siguiente (Ferrero Corral, 1994):

$$I_s = \gamma_s \cdot (v_m - E_s) \quad (20)$$

Siendo γ_s la conductancia unitaria del canal, v_m el potencial de membrana y E_s el potencial de equilibrio del ion.

Dado que las células excitables están compuestas de familias de canales iónicos y no un solo canal, se considera la conductancia total de una población de canales:

$$g_s(v_m, t) = N_s \cdot \gamma_s(v_m) \cdot f_s(v_m, t) \quad (21)$$

Donde N_s representa el número de canales de la familia, γ_s es la conductancia unitaria (pS) de cada canal y f_s muestra la probabilidad de apertura del canal.

De (5), (6), (7) y (8) se obtiene que la ecuación del modelo eléctrico de una célula es:

$$C_m \cdot \frac{dv_m}{dt} + \sum g_s \cdot (v_m - E_s) + \sum I_b + I_{stim} = 0 \quad (22)$$

2.3. LA ISQUEMIA MIOCÁRDICA

2.3.1. Bases de la isquemia miocárdica

La isquemia miocárdica aguda, también conocida como IMA, es una patología cardíaca que surge a raíz de la obstrucción total o parcial de una arteria coronaria. Dicha obstrucción supone la disminución del flujo sanguíneo hacia el músculo cardíaco y, por tanto, este no recibe la cantidad de oxígeno y nutrientes necesaria ni puede eliminar los productos del metabolismo tisular no deseados. El aporte insuficiente de oxígeno impide que el músculo cardíaco pueda mantener la polarización normal de las membranas y eso lleva a una alteración del ritmo cardíaco, que puede afectar gravemente a la eficacia de la función de bomba e incluso llegar al grado de provocar la muerte del individuo. Según la Organización Mundial de la Salud, la cardiopatía isquémica es la causa de muerte más común en la cultura occidental.

La causa más común de obstrucción coronaria es la aterosclerosis, que consiste en unas placas de ateroma que provocan la protrusión de la luz de la arteria coronaria y, por tanto, el bloqueo del flujo sanguíneo de forma parcial o total. Esto sucede en aquellas personas que o bien poseen una predisposición genética, o bien tienen sobrepeso, obesidad o un estilo de vida sedentario (Hall & Guyton, 2011). En estos casos, se van depositando bajo el endotelio (en diferentes puntos de las arterias coronarias) cantidades importantes de colesterol de forma gradual y después, esos depósitos son invadidos por tejido fibroso, formando las placas ateroscleróticas. Uno de los lugares más frecuentes de formación de estas placas son los primeros centímetros de las arterias coronarias mayores (Hall & Guyton, 2011). Otra causa de obstrucción coronaria relativamente común es un espasmo muscular local en una de las arterias coronarias, también conocido como vasoespasmo. Este podría deberse a un reflejo nervioso local que provoca que el músculo de la pared vascular coronaria se contraiga de forma excesiva (Hall & Guyton, 2011).

Los primeros 15 minutos después de una oclusión coronaria se categorizan dentro de la “Fase 1A de la isquemia”, en la que el corazón presenta los cambios más profundos tanto a nivel metabólico como a nivel electrofisiológico. Por una parte, se observan cambios en las concentraciones de electrolitos a nivel subcelular tales como disminución de los niveles de ATP y oxígeno y aumento del pH tanto intracelular como extracelular (Wit, Janse, & Mount, 1993) Por otra parte, también hay cambios en la actividad de los canales iónicos a nivel celular que provocan el aumento del potencial de reposo y la disminución de la duración del potencial de acción (APD) y la velocidad de despolarización. Por último, también se produce una disminución de la velocidad de conducción que favorece la aparición de taquiarritmias (Michael Janse & Kléber, 1981; MJ Janse et al., 1980).

A este periodo le sigue la “Fase 1B de la isquemia”, que ocurre entre 15 y 45 minutos después de la oclusión coronaria. En esta fase se produce el desacoplamiento celular (de Groot, Wilms-Schopman, Opthof, Remme, & Coronel, 2001), el tejido isquémico deja de ser excitable y pueden reaparecer arritmias después de un “periodo seguro” de unos minutos (Kaplinsky, Ogawa, Balke, & Dreifus, 1979; W. Smith, Fleet, Johnson, Engle, & Cascio, 1995).

El músculo cardíaco necesita 1.3 ml de oxígeno por cada 100g de tejido muscular cada minuto con tal de mantenerse vivo. Teniendo en cuenta que al ventrículo izquierdo en reposo llegan 8ml por minuto, el músculo cardíaco puede resistir aunque el flujo sanguíneo coronario se reduzca al 15-30% (Hall & Guyton, 2011). Es por eso por lo que la isquemia miocárdica se refiere aproximadamente a los 30 primeros minutos sin suministro de sangre al corazón y, cuando esta vuelve, las células se recuperan. Sin embargo, si el flujo sanguíneo es bloqueado por un periodo de tiempo más largo, las células cardíacas se infartan y los efectos son permanentes.

2.3.2. Modelado electrofisiológico de la isquemia miocárdica

La isquemia miocárdica provoca cambios eléctricos y metabólicos sobre el comportamiento celular. Las alteraciones electrofisiológicas en el tejido cardíaco aumentan la probabilidad de sufrir arritmias ventriculares (Michael Janse & Kléber, 1981), de hecho, la IMA es la causa más frecuente de taquicardia y fibrilación auriculares.

Desde el punto de vista electrofisiológico, la fase 1A de la IMA tiene tres efectos principales debido al cese del flujo sanguíneo: hipoxia, hiperkalemia y acidosis (Kodama, Wilde, Janse, Durrer, & Yamada, 1984; Morena et al., 1980). Estos tres fenómenos tienen un efecto sobre los canales iónicos de la membrana celular cardíaca y se traducen en cambios sobre el PA (Carmeliet, 1999).

En la Figura 2.21 pueden verse estos cambios y son principalmente: aumento del potencial de reposo y reducción de la duración del potencial de acción, la velocidad de despolarización y el valor de amplitud máxima. Además, a ello también se suma un aumento del periodo refractario.

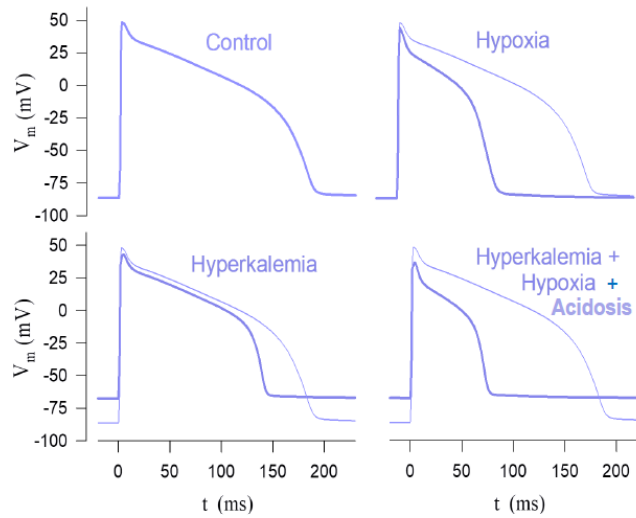


Figura 2.21. Efecto de la isquemia miocárdica sobre el potencial de acción cardíaco. Fuente: (Thakor, Ferrero, Saiz, Gramatikov, & Ferrero, 1998)

Hipoxia

En la membrana plasmática existen unos canales de potasio ligando-dependientes sensibles a ATP que se encuentran siempre cerrados dado que los altos niveles de ATP (en condiciones normales) lo permiten. Pero cuando hay una deficiencia de glucosa y O_2 (moléculas generadoras de ATP) debido a la isquemia, los niveles de ATP se reducen y algunos de estos canales se abren. Dado que la corriente $I_{K(ATP)}$ es una corriente externa, su aumento conduce a una repolarización más rápida y, por tanto, un acortamiento del APD.

Los canales de potasio ATP-dependientes logran reducir el APD incluso si sólo un pequeño porcentaje de ellos están abiertos; eso sucede porque hay una gran cantidad de estos canales y tienen una alta conductancia unitaria. Como se muestra en la Figura 2.22, es suficiente un porcentaje de alrededor de 0.6% de estos canales abiertos para acortar la duración del PA a la mitad (Ferrero et al., 1996).

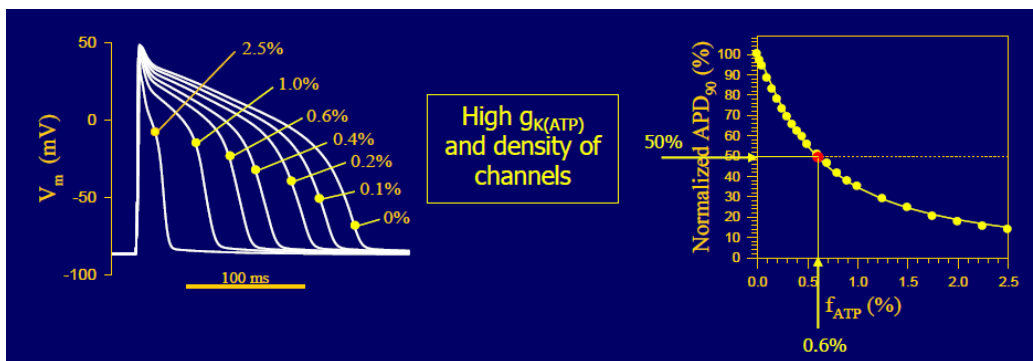


Figura 2.22. Variación de la duración del potencial de acción cardíaco en función de la probabilidad de apertura de los canales de potasio ATP-dependientes. Fuente: (Ferrero et al., 1996)

Hiperkalemia

La IMA también provoca que la concentración extracelular de potasio aumente (de 4 hasta 12-16 mmol/L) dado que el torrente sanguíneo no lo equilibra. A medida que la concentración de potasio extracelular aumenta, el potencial de equilibrio del potasio se vuelve menos negativo (Ley de Nerst) y eso se traduce en que el potencial de reposo de la célula también aumenta. Como se ha explicado anteriormente, la conexión directa entre la concentración de potasio extracelular y el potencial de membrana en reposo está relacionada con la corriente rectificadora interna (I_{K1}). Al final de la repolarización cardíaca, el potasio sale de la célula a través de canales $K1$ (que no tienen compuertas) hasta que la concentración de potasio extracelular alcanza el potencial de equilibrio del potasio, logrando el potencial de membrana en reposo.

Además, a pesar de que la IMA provoca que el PA dure menos, la célula isquémica es menos excitable y por ello es necesario esperar más tiempo para accionar el PA siguiente. Es decir, aumenta el periodo refractario y la estimulación debe venir más tarde para poder accionar un nuevo potencial de acción.

Esta baja excitabilidad también es provocada por la hiperkalemia. A medida que aumenta el potencial de reposo, la probabilidad de encontrar las compuertas voltaje-dependientes abiertas durante el potencial de reposo, es menor. Por lo tanto, hay más canales de sodio inactivados (sus puertas de inactivación no se han llegado a abrir).

Acidosis

Durante los primeros 10-20 minutos de isquemia, el pH intracelular aumenta de 7.2 a 7.4 y el pH extracelular, de 6.2 a 6.4 (Marban et al., 1990). Durante la isquemia, la célula se vuelve más ácida porque los iones de H^+ se acumulan y el torrente sanguíneo no lo equilibra. Esto afecta a la conductancia de los canales de Na^+ y Ca^{2+} (g_{Na} , g_{Ca}) porque son inversamente dependientes de $[H^+]$ (disminuyen su valor cuando aumenta la concentración de iones de H^+).

Durante la despolarización, la corriente de sodio entrante es la contribución más fuerte al aumento del potencial de membrana. A medida que se reduce la corriente de sodio (remodelación de decremento de g_{Na}), la pendiente es más pequeña, y el PA necesita más tiempo para alcanzar el pico máximo, lo que se traduce en una menor velocidad de despolarización y un valor máximo de potencial de membrana también menor. Además, una disminución en la pendiente implica que la velocidad de propagación es menor.

Además de estos tres efectos principales, durante la isquemia también se ven alterados los niveles de ácidos grasos y también el metabolismo de los fosfolípidos. Esto provoca un aumento de los metabolitos lipídicos a nivel intracelular tales como las cadenas largas de acilcarnitina (LCAC), y la lisofosfatidilcolina (LPC), que también tienen un papel en el potencial de acción cardíaco. Por ejemplo, el aumento de la concentración de LPC provoca un aumento de entrada de Na^+ ya que activa una corriente de sodio lenta de inactivación y ello incrementa el flujo de la bomba Na^+/K^+ (J. M. Ferrero, Trenor, Montilla, & Saiz, 2006).

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

Hoy en día, se encuentran a nuestro alcance numerosos modelos matemáticos para el estudio de la isquemia miocárdica, pero la mayoría de ellos no se pueden considerar completos por las diferentes razones nombradas a la hora de explicar la motivación, los antecedentes y la justificación de este trabajo.

Este proyecto parte del Trabajo de Fin de Grado de Marta Gironés Sangüesa (Gironés Sangüesa, 2020) y los modelos de O'Hara (Hara et al., 2011) y Tomek (Tomek et al., 2019). En él se busca obtener unas simulaciones más completas y realistas que las que se obtienen con los modelos actuales, desarrollando y validando dos modelos computacionales nuevos que recojan los efectos electrofisiológicos de la isquemia sobre una fibra de 2 cm de longitud formada por células miocárdicas.

Para conseguir este propósito, los objetivos específicos que se han planteado son los siguientes:

- ✓ Realizar un estudio bibliográfico sistemático sobre los efectos electrofisiológicos de la isquemia miocárdica aguda sobre las corrientes iónicas que atraviesan la membrana celular cardíaca de un ventrículo humano.
- ✓ Introducir la formulación de dichos efectos en los modelos de O'Hara (Hara et al., 2011) y Tomek (Tomek et al., 2019), creando dos nuevos modelos matemáticos en un paquete software desarrollado en el lenguaje de programación C que permitan simular, no solo el efecto de la isquemia miocárdica sobre un cardiomiocito humano, sino también sobre la propagación del potencial de acción a través de una fibra miocárdica unidimensional.
- ✓ Desarrollar diferentes módulos, en entorno Matlab®, que permitan la automatización de la extracción y el análisis de resultados a partir de los datos obtenidos en las simulaciones, así como su posterior representación gráfica para una mejor interpretación.
- ✓ Validar los nuevos modelos computacionales desarrollados realizando una comparación de los resultados obtenidos con datos experimentales de la literatura y determinar cuál de ellos se aproxima más al comportamiento real de una célula isquémica.
- ✓ Emplear los nuevos modelos computacionales para comprender de un mejor modo cuál es el efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre las corrientes iónicas y el potencial de acción cardíaco.

CAPÍTULO 4. DESCRIPCIÓN DEL MODELO COMPUTACIONAL

4.1. MODELOS COMPUTACIONALES DE POTENCIAL DE ACCIÓN EN HUMANO

La mayoría, si no la totalidad, de los modelos matemáticos existentes de PA cardíaco para simular los efectos electrofisiológicos de la isquemia miocárdica no se pueden considerar completos debido a las diferentes razones enumeradas en el CAPÍTULO 1.

En este TFM se han desarrollado dos nuevos modelos de potencial de acción isquémico más completos con el objetivo de comparar los resultados obtenidos con cada uno. Para la formulación de estos dos nuevos modelos se han empleado los modelos que ya existen de potencial de acción de miocito ventricular de O'Hara (Hara et al., 2011) y Tomek (Tomek et al., 2019). Las nuevas versiones han sido nombradas como ORd-EF y ToR-EF.

Ambos modelos definen las ecuaciones que simulan las corrientes iónicas que atraviesan la membrana celular cardíaca humana a través de los diferentes mecanismos de transporte (canales iónicos, bombas, intercambiadores y co-transportadores) y, por consiguiente, las ecuaciones que representan todos los cambios que esto ocasiona en las concentraciones iónicas y de los metabolitos. Como salida se obtienen el potencial de acción, el forma de onda de las concentraciones iónicas y de los metabolitos y la evolución temporal de las diferentes corrientes iónicas.

Los modelos de los que se ha partido son los siguientes:

Modelo O'Hara (ORd)

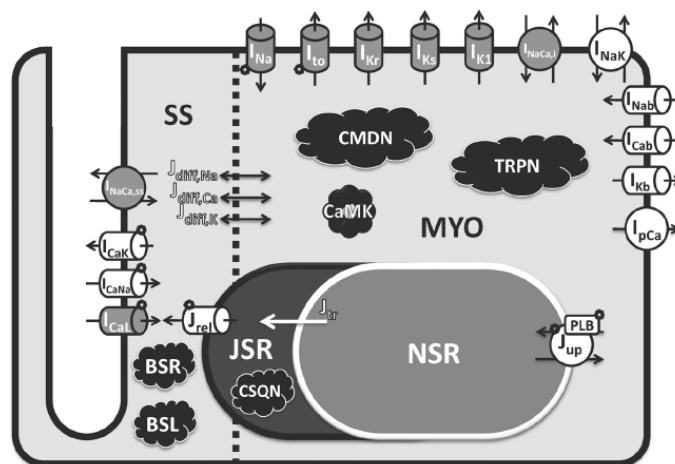


Figura 4.1. Esquema del modelo de O'Hara. Fuente: (Hara et al., 2011)

Como se observa en la Figura 4.1, este modelo divide la célula en cuatro compartimentos: el mioplasma (MYO), el subespacio de los túbulos T (SS) y el retículo sarcoplásmico, que se subdivide a su vez en el retículo sarcoplásmico de unión (JSR) y el retículo sarcoplásmico de red (NSR). En las paredes de estos compartimentos se encuentran las corrientes y flujos iónicos descritos a partir del formalismo de Hodgkin-Huxley. Además, también encontramos flujos de difusión iónica entre el subespacio y el mioplasma y ambas partes del retículo sarcoplásmico. Las corrientes transmembrana se indican con una "I" en su nombre y los flujos con una "J".

Por lo tanto, las corrientes y flujos descritos en este modelo son:

- I_{Na} – componente rápida de la corriente entrante de Na^+
- I_{NaL} – componente lenta de la corriente entrante de Na^+
- I_{to} – corriente transitoria de salida de K^+
- I_{Kr} – componente rápida de la corriente de salida de K^+
- I_{Ks} – componente lenta de la corriente de salida de K^+
- I_{K1} – corriente rectificadora de salida de K^+
- I_{NaCa_i} – corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+} localizado en el mioplasma
- $I_{NaCa_{ss}}$ – corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+} localizado en el subespacio
- I_{NaK} – corriente de la bomba Na^+/K^+
- I_{Nab} – corriente entrante de Na^+ para el ajuste del modelo
- I_{Cab} – corriente entrante de Ca^{2+} para el ajuste del modelo
- I_{Kb} – corriente entrante de K^+ para el ajuste del modelo
- I_{pCa} – corriente de la bomba de Ca^{2+} localizada en el mioplasma
- I_{CaL} – corriente de entrada de Ca^{2+} por los canales tipo L
- I_{CaNa} – componente de entrada Na^+ de los canales de Ca^{2+} tipo L
- I_{CaK} – componente de entrada K^+ de los canales de Ca^{2+} tipo L
- J_{up} – flujo que atraviesa la bomba de Ca^{2+} presente en la pared del NSR (SERCA)
- J_{tr} – flujo de translocación entre los compartimentos del retículo sarcoplásmico
- J_{rel} – flujo de liberación de Ca^{2+} del JSR
- $J_{diff,Na}$ – flujo de difusión de Na^+ entre el SS y el MYO
- $J_{diff,K}$ – flujo de difusión de K^+ entre el SS y el MYO
- $J_{diff,Ca}$ – flujo de difusión de Ca^{2+} entre el SS y el MYO

La versión de este modelo desde la que se partió fue la última modificación realizada por Ana González Ascaso en su TFG (González Ascaso, 2019), por lo que, adicionalmente, este modelo presenta una corriente extra saliente de K^+ sensible a ATP y nombrada como I_{KATP} .

Además, también se encuentra formulada la corriente I_{stim} que es la corriente de estimulación necesaria para generar un potencial de acción.

Modelo Tomek (ToR-ORd)

El modelo de Tomek (Tomek et al., 2019) fue publicado recientemente y está basado a su vez en el modelo de O'Hara, pero introduciendo ciertas mejoras que lo acercan más a los resultados experimentales. La célula se divide en los mismos compartimentos que el modelo anterior y en las paredes de estos compartimentos se encuentran las corrientes y flujos iónicos descritos a partir del formalismo de Hodgkin-Huxley o los modelos de Markov.

En la Figura 4.2. se muestra el esquema de este modelo.

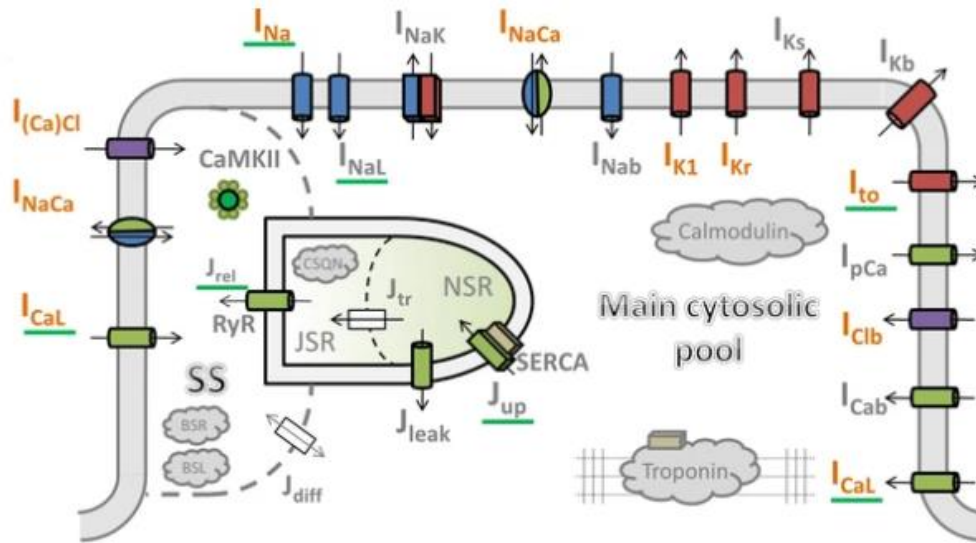


Figura 4.2. Esquema del modelo de Tomek. Fuente: (Tomek et al, 2019)

Todos los cambios propuestos en este modelo con respecto del modelo de O'Hara han sido programados e incluidos sobre el modelo de PA de acción de fibras nerviosas por la autora del presente TFM.

Diferencias entre ambos modelos

Los cambios comentados que presenta el modelo ToR-ORd frente al modelo ORd pueden dividirse en tres bloques: adición de nuevas corrientes, reformulación de corrientes ya existentes y otros cambios.

En el primer bloque se encuentran dos corrientes de Cl^- que se han formulado de cero para este modelo y que se ven representadas en la Figura 4.2. Estas son la corriente I_{CaCl} entrante de cloro y dependiente de Ca^{2+} presente en el subespacio y la corriente entrante de cloro I_{Clb} presente en el mioplasma, que se emplea para el ajuste del modelo.

Para la formulación de estas corrientes resulta necesario definir también nuevos parámetros relacionados con la concentración de cloro y que serán: la concentración intracelular ($[\text{Cl}^-]_i$), la concentración extracelular ($[\text{Cl}^-]_o$) y el potencial de equilibrio (E_{Cl}). Estas adiciones, junto al cambio del valor del potasio extracelular de 5.4 a 5 mM, formarían el tercer bloque de "otros cambios". También es importante señalar que, a la hora de inicializar las variables de estado dentro del módulo *setinitial_conditions*, el modelo ToR-ORd hace distinciones entre epicardio, endocardio y midmiocardio, además de aportar valores más precisos y acordes a los resultados experimentales.

Por último, en el segundo bloque se encuentran la mayoría de las corrientes del modelo de O'Hara, ya que las únicas corrientes que mantienen la misma formulación en ambos modelos son la corriente I_{pCa} y los flujos de difusión J_{diffNa} , J_{diffCa} y J_{diffK} . El resto de corrientes, o bien han visto alterados alguno de sus parámetros, o bien han sido remodeladas. En la Tabla 1 se recogen las diferencias entre estas corrientes en los dos modelos.

Tabla 1. Diferencias entre el modelo ORd y el modelo ToR-ORd.

CORRIENTE	ORd	ToR-ORd
I_{Na}	Compuerta activación m	Nuevas ecuaciones de mss y tm
	Compuerta de inactivación h con componente rápida hf y otra lenta hs	Compuerta h simplificada sin componentes
	Compuerta de inactivación j	Nuevas ecuaciones de jss y tj
	Compuerta de inactivación hp con componente rápida hf y otra lenta hsp	Compuerta hp simplificada sin componentes
	Compuerta de inactivación jp	Nuevas ecuaciones de jssp y tjp
	GNa = 31	GNa = 11.7802
I_{NaL}	Compuerta activación mL	Nueva ecuación para tmL
	GNaL = 0.0144	Gna = 0.0279
I_{CaL}	ICaL_ss	División entre ICaL_ss (80%) e ICaL_i (20%)
	v0a_ICaL=-3.940	v0a_ICaL=3.872
	ka_ICaL=4.230	ka_ICaL=7.105
	Compuerta jca se define con fcass y tjca	Compuerta jca se define con jcass y tjca (nueva ecuación)
	k2n=1000	k2n=500
	PCa=1e-4	PCa=8.3757e-5
PhiCaL en función de la concentración de calcio	PhiCaL en función de la actividad del calcio	
I_{CaNa}	ICaNa_ss	División entre ICaNa_ss (80%) e ICaNa_i (20%)
	PhiCaNa en función de la concentración de sodio	PhiCaNa en función de la actividad del sodio
I_{CaK}	ICaK_ss	División entre ICaK_ss (80%) e ICaK_i (20%)
	PhiCaK en función de la concentración de potasio	PhiCaK en función de la actividad del potasio
I_{Kr}	Formalismo de compuertas Hodgkin-Huxley	Formalismo de estados Markov
	GKr = 0.046	GKr = 0.0321
I_{Ks}	GKs = 0.0034	GKs = 0.0011
I_{K1}	Compuerta activación xk1 y compuerta de inactivación rk1	Única compuerta de k1ss
	GK1 = 0.1908	GK1 = 0.6992
I_{NaCa}	División entre INaCa_ss (20%) e INaCa_i (80%)	División entre INaCa_ss (65%) e INaCa_i (35%)
	GNCX = 0.0008	GNCX = 0.0034

I_{to}	Gto = 0.02	Gto = 0.0279
I_{NaK}	PNaK = 30	PNaK = 15.4509
I_{Kb}	Compuerta activación xkb	Nueva ecuación de xkb
	GKb = 0.003	GKb = 0.0189
I_{Nab}	PNaB = 3.75e-10	PNaB = 1.9238e-8
I_{Cab}	I_{Cab} en función de la concentración de calcio	I_{Cab} en función de la actividad del calcio
	PCab = 2.5e-8	PCab = 5.9194e-8
J_{rel}	Kinfrel = 1.5	Kinfrel = 1.7
	Jrel	1.5378*Jrel
J_{up}	Jupnp	Nueva ecuación de Jupnp
	Jupp	Nueva ecuación de Jupp
	Jleak	Nueva ecuación de Jleak

4.2. DESCRIPCIÓN DEL SOFTWARE

Este software, desarrollado en lenguaje de programación C, se ha configurado para simular el efecto de la isquemia sobre una fibra de 2 cm formada por células del endocardio. En función de las condiciones concretas que se quisieron representar en cada momento, se fueron variando ciertos valores que iban dando lugar a simulaciones diferentes.

Los parámetros de entrada necesarios de definir para ejecutar cualquiera de los dos modelos son:

- *Nnod* – Indica el número de nodos por los que está formado la fibra y es el que marcará la longitud de la misma junto a la discretización espacial que se defina en el modelo. En nuestro caso dx está definido en 0.025 cm, por lo tanto, para tener una fibra de 2 cm, deberá de haber 81 nodos.
- *dt* – Es el paso de tiempo en ms, en nuestro caso lo definimos en 0.02.
- *tsave* – Marca el instante t en ms en el que se desea que se empiece a grabar datos en las matrices de salida. Para poder obtener la totalidad de los resultados, mantenemos este valor en 0.
- *prnt_sec* – Define la frecuencia con la que los datos deben de ser guardados. Para que se almacenen los datos cada ms, teniendo en cuenta que el paso de tiempo es 0.02 ms, la frecuencia de guardado la definiremos en 50.
- *tdur_stm* – Establece la duración del estímulo en ms. Este parámetro variará en función de la simulación que deseemos hacer.
- *Istim* – Describe la corriente de estimulación en $\mu A/\mu F$. También cambiará su valor en función de la simulación.
- *celltype* – Muestra el tipo de célula cardíaca sobre el que se realiza la simulación. El valor 0 indica endocardio, 1 es para epicardio y 2 hace referencia al midmiocardio.

Como resultado final de cada simulación, independientemente del modelo que se haya empleado, se obtiene:

- ➔ *Vm* – Matriz que muestra la evolución temporal del potencial de acción a lo largo de la fibra. Se distribuye en tiempo a lo largo de las filas y en espacio a lo largo de las columnas. La primera columna es el vector tiempo y la primera fila el vector espacio.

- ➔ *Ko* – Igual que la anterior, pero mostrando la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular a lo largo de la fibra.
- ➔ *primernodo* y *nodocentral* – Matrices que incluyen el transitorio de todas las variables de estado del primer nodo y el nodo central, respectivamente, organizadas por columnas. La primera columna es el vector tiempo.
- ➔ *primernodo_cur* y *nodocentral_cur* - Matriz que incluye el transitorio de todas las corrientes iónicas y otras variables que se han considerado de interés (ADPi, ATPi, factores multiplicativos que simulan los efectos isquémicos, etc.) del primer nodo y el nodo central, respectivamente, organizadas por columnas. La primera columna es el vector tiempo.

Ambos modelos tienen la misma estructura y están formados por 6 módulos: *main*, *propagate*, *model*, *setinitial_conditions*, *setDefaultSettings*, *setDefaultIsqAct* y *setDefaultCorrAct*. La función de cada uno de ellos viene descrita en los siguientes apartados.

4.2.1. Módulo *main*

El módulo *main* es el módulo principal del modelo a partir del cual se llama a los otros módulos, y su ejecución devuelve los resultados de los cálculos deseados. Las variables de entrada de este módulo son aquellas que se han considerado parámetros de entrada del modelo y son definidas en un fichero aparte que es el que se ejecuta. Este fichero tiene el nombre de *launch_bg*.

Este módulo comienza estableciendo las dimensiones de las diferentes estructuras que se van a emplear e inicializando los parámetros de configuración necesarios ejecutando los módulos *setinitial_conditions* y *setDefaultSettings*. A este paso le siguen varias líneas de código que definen las zonas de borde isquémicas que se desea tener. En este TFM se ha simulado una fibra homogénea con condiciones de isquemia en la totalidad de sus nodos, por lo tanto, los parámetros correspondientes a la configuración de la zona de borde (*nnormox* y *nph*) han sido igualados a cero. Una vez definidas estas condiciones, se ejecutan los módulos *setDefaultIsqAct* y *setDefaultCorrAct* y se imprimen por pantalla los parámetros básicos de la simulación.

A continuación, se crean las variables de salida y se inicia el bucle principal de este módulo. Este bucle empieza definiendo la corriente de estimulación, que se aplicará solamente en el primer nodo, ya que el resto de nodos son excitados por la corriente que simula el transporte iónico proveniente de las células vecinas a través de las uniones estrechas. Seguidamente, se ejecutan el módulo *model* y el módulo *propagate* y los resultados obtenidos con estas ejecuciones se guardan en las variables de salida. Cuando esto finaliza, se vuelve de nuevo al inicio del bucle y se inicia este proceso de nuevo repetidas veces aumentando el valor de la variable *t* hasta que esta alcanza la duración final de la simulación.

4.2.3. Módulo *propagate*

En este módulo se definen las ecuaciones correspondientes a la propagación del potencial de acción entre células adyacentes y a la difusión del potasio extracelular. Las dos ecuaciones de reacción-difusión tienen la siguiente forma:

$$D_k * \frac{\partial^2 [K^+]_o}{\partial x^2} = \frac{\partial [K^+]_o}{\partial t} - \frac{Acap}{F * v_o} * \sum_x I_{Kx} + \frac{[K^+]_o - [K^+]_{o,bulk}}{\tau_K} \quad (23)$$

$$D_v * \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} = \frac{\partial V_m}{\partial t} - \frac{Acap}{F * v_i} * \sum_x I_x \quad (24)$$

Donde D_v y D_k son constantes de difusión con un valor de $1.5 \cdot 10^{-8}$ y $2.6 \cdot 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$, respectivamente.

A lo largo de este módulo se discretizan las derivadas parciales por medio del método de los elementos finitos. Se ensamblan las matrices correspondientes y luego se invierten, calculando así el potencial de membrana y el potasio extracelular para cada uno de los nodos.

4.2.4. Módulo *model*

Este módulo es en el que se definen los cambios dinámicos en los metabolitos y las funciones isquémicas para después ser aplicados en las ecuaciones de las corrientes iónicas que atraviesan la membrana celular y las paredes de los compartimentos celulares, las cuales definen a su vez las variaciones en las concentraciones iónicas y en el potencial de membrana. A continuación, se describe el proceso que sigue este módulo, que podría dividirse en 4 bloques diferenciados.

Tabla 2. Variables de estado definidas en cada modelo.

Descripción	ORd	ToR-ORd	Descripción	ORd	ToR-ORd
Vm	v	v	Compuertas I_{CaL}	d	d
Concentraciones	nai	nai		ff	ff
	nass	nass		fs	fs
	ki	ki		fcaf	fcaf
	kss	kss		fcas	fcas
	cai	cai		jca	jca
	cass	cass		nca	nca
	cansr	cansr		ffp	ncai
	cajsr	cajsr		fcafp	ffp
Compuertas I_{Na}	m	m			fcafp
	hf	hp	Compuertas/Estados I_{Kr}	xrf	ikrc0
	hs	h		xrs	ikrc1
	j	j			ikrc2
	hsp	jp			ikro
	jp				ikri
Compuertas I_{NaL}	mL	mL	Compuertas I_{Ks}	xs1	xs1
	hL	hL		xs2	xs2
	hLp	hLp	Compuerta I_{K1}	xk1	
Compuertas I_{to}	a	a	Variables J_{rel}	Jrelnp	Jrelnp
	iF	iF		Jrelp	Jrelp
	iS	iS	Concentración CaMkt	CaMkt	CaMkt
	ap	ap	Concentración ko	ko	ko
	iFp	iFp	Variables de la propagación	lax	lax
	iSp	iSp		laxKo	laxKo

En el primer bloque se empieza definiendo algunas constantes del modelo como concentraciones extracelulares, constantes físicas y valores de la geometría celular tales como el volumen celular y los volúmenes de los compartimentos. A continuación, se da nombre a las variables de estado, que varían ligeramente en función del modelo debido a los cambios en la formulación de ciertas corrientes. En la Tabla 2 se definen las variables de estado que tiene cada modelo. Con ellas y las constantes definidas previamente, se calculan los potenciales de equilibrio de los iones.

En este punto comienza el segundo bloque, en el que se ocurren los cambios dinámicos en los metabolitos. Estos son el ATPi, el ADPi, el pHi, el pHo y la LPC. Como se verá en el subapartado “4.2.6. Módulo *setDefaultSettings*”, será en el módulo indicado en el propio nombre del apartado donde se deberán cambiar los valores de inicio y fin de estos metabolitos, así como el modelo de ADP a emplear. Cabe destacar que se han definido tres modelos diferentes de cambios en el ADP intracelular durante la isquemia, introducidos por Ana González en su TFM (González Ascaso, 2019) y que se explicarán en el apartado “4.3. Simulación de los efectos isquémicos”.

El tercer bloque es aquel que define las funciones isquémicas, formulando los factores que afectan a cada corriente y que también vienen explicados en el apartado “4.3. Simulación de los efectos isquémicos”.

Empleando los parámetros formulados en cada uno de los bloques anteriores, en el cuarto bloque es donde se incluyen las ecuaciones de las corrientes iónicas y los flujos. La definición de cada corriente suele tener la siguiente forma:

1. Cálculo, si procede, de las fracciones de apertura en estado estacionario (f_{∞}) y la constante de tiempo de apertura (τ_f) para cada una de las compuertas que tiene el canal.
2. Cálculo del porcentaje de compuertas fosforiladas, en caso de haberlas.
3. Cálculo, si procede, de otros factores multiplicativos de dependencia.
4. Definición del valor de la conductancia máxima.
5. Definición de la ecuación de la corriente o flujo.
6. Definición de las ecuaciones diferenciales de cada compuerta, en caso de haberlas, que siguen la forma:

$$x = x_{\infty} - (x_{\infty} - x) * e^{-dt/\tau_x} \quad (25)$$

Cabe remarcar que, exceptuando la corriente I_{Kr} en el modelo ToR-ORd, el resto de las corrientes han sido formuladas empleando el Formalismo de Hodgkin y Huxley.

A continuación, se listarán las ecuaciones de cada una de las corrientes iónicas que se incluyen en cada modelo, resumiendo brevemente cada uno de los factores multiplicativos. Para estas corrientes se considera:

- Que f_{pHo} , f_{pHi} , f_{ATP} y f_{LPC} son los factores de modificación de las conductancias de la corriente que están multiplicando según el valor de los parámetros isquémicos pHo, pHi, ATPi y LPC, respectivamente
- Que G_X es la conductancia máxima del canal x, v el potencial de membrana y E_s el potencial de equilibrio del s ion que atraviesa la membrana.
- Que Z_s es la valencia del ion s.
- Que f_s es un factor multiplicativo que indica que la conductancia de ese canal depende de la concentración del ion s.
- Que $f_{ix,i}$ es el porcentaje de canales de tipo x que hay en la membrana celular y $f_{ix,ss}$ el porcentaje de canales de tipo x que hay en el subespacio.

- Que f_{Ix_p} es el porcentaje de compuertas del canal x que están alteradas (fosforiladas) y que tiene la siguiente forma:

$$f_{Ix_p} = \frac{1}{1 + k m c a M K / c a M K a} \quad (26)$$

La mayoría de las corrientes iónicas que atraviesan un canal iónico han sido formuladas siguiendo la estructura de la ecuación (20) que se encuentra en el apartado que define el modelo eléctrico de una célula. Estas son:

$$I_{Na} = f_{pHo} * f_{pHi} * f_{LPC} * G_{Na} * (v - E_{Na}) * m^3 * ((1 - f_{INap}) * h * j + f_{INap} * hp * jp) \quad (27)$$

$$I_{NaL} = f_{pHo} * f_{LPC} * G_{NaL} * (v - E_{Na}) * mL * ((1 - f_{INaLp}) * hL + f_{INaLp} * hLp) \quad (28)$$

$$I_{to} = G_{to} * (v - E_K) * ((1 - f_{Itop}) * a * i + f_{Itop} * ap * ip) \quad (29)$$

$$I_{Kr} = f_{pHo} * f_{LPC} * f_{Ko} * G_{Kr} * (v - E_K) * xr * rkr \quad \text{en ORd} \quad (30)$$

$$I_{Kr} = f_{pHo} * f_{LPC} * f_{Ko} * G_{Kr} * (v - E_K) * ikr \quad \text{en ToR-ORd} \quad (31)$$

$$I_{Ks} = f_{Ca_i} * G_{Ks} * (v - E_{Ks}) * xs1 * xs2 \quad (32)$$

$$I_{K1} = f_{Ko} * G_{K1} * (v - E_K) * xk1 * rk1 \quad \text{en ORd} \quad (33)$$

$$I_{K1} = f_{Ko} * G_{K1} * (v - E_K) * K1ss \quad \text{en ToR-ORd} \quad (34)$$

$$I_{KATP} = f_{Ko} * f_{Mg} * f_{Na} * f_{ATP} * G_{KATP} * (v - E_K) \quad (35)$$

$$I_{Kb} = G_{Kb} * (v - E_K) * kb \quad (36)$$

$$I_{ClCa} = f_{Ca_{ss}} * G_{ClCa} * (v - E_{Cl}) \quad \text{solo en ToR-ORd} \quad (37)$$

$$I_{Clb} = G_{Clb} * (v - E_{Cl}) \quad \text{solo en ToR-ORd} \quad (38)$$

Donde m , mL , a , xr , $xs1$, $xs2$ e $xk1$ son variables de estado que definen la probabilidad de apertura de compuertas de activación y h , j , hp , jp , hL , hLp , a , i , ap e ip son variables de estado que definen la probabilidad de apertura de compuertas de inactivación. Los parámetros rkr , $rk1$ y $K1ss$ también definen la probabilidad de apertura de compuertas de inactivación, pero no son variables de estado porque son compuertas inmediatas, lo que implica que su constante de tiempo de apertura es igual a cero.

Cabe destacar que en la corriente I_{Ks} el potencial de equilibrio que se emplea no es del potasio, sino una combinación del potencial de equilibrio del potasio y del sodio, ya que un 2% de los iones que atraviesan este canal son de sodio.

El resto de corrientes que describen el paso de iones a través de un canal iónico se ha formulado empleando la ecuación de voltaje Goldman–Hodgkin–Katz (Goldman, 1943), que es una solución de la ecuación de Nernst-Plank cuando se asume que la membrana es una sustancia homogénea, que el potencial de membrana varía de forma lineal a lo largo de la membrana porque el campo eléctrico es constante, que los iones permeables no interactúan y que el movimiento de iones se ve afectado por las diferencias de concentración y voltaje.

La formulación de la corriente que atraviesa un canal iónico aplicando la ecuación de Goldman–Hodgkin–Katz tiene la siguiente forma:

$$I_s = f * P_s * Z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[S]_i * e^{v * F / RT} - [S]_o}{e^{v * F / RT} - 1} \quad (39)$$

Donde $f_{engloba}$ a todos los factores multiplicativos que afecten a la conductancia de la corriente (incluidas las probabilidades de apertura de las compuertas, en caso de haberlas), P_s es la permeabilidad para ese ion, z_s es la valencia del ion s , v es el potencial de membrana, F la constante de Faraday, R la constante de los gases ideales, T la temperatura (310 K), $[S]_i$ la concentración intracelular del ion y $[S]_o$ la concentración extracelular del ion.

La corriente I_{CaL} se ha formulado en el modelo ORd empleando esta ecuación, pero considerando que este canal se encuentra únicamente en el subespacio. Las corrientes I_{CaNa} y I_{CaK} representa los iones de Na^+ y K^+ que atraviesan también estos canales.

$$I_{CaL} = f_{pHi} * f_{pHo} * PhiCaL * d * \left((1 - f_{IcaLp}) * PCa * ((1 - nca) * f + nca * jca * fca) + f_{IcaLp} * PCa_p * ((1 - nca) * fp + nca * jca * fcap) \right) \quad (40)$$

$$I_{CaNa} = f_{pHi} * f_{pHo} * PhiCaNa * d * \left((1 - f_{IcaLp}) * PCaNa * ((1 - nca) * f + nca * jca * fca) + f_{IcaLp} * PCaNa_p * ((1 - nca) * fp + nca * jca * fcap) \right) \quad (41)$$

$$I_{CaK} = f_{pHi} * f_{pHo} * PhiCaK * d * \left((1 - f_{IcaLp}) * PCaK * ((1 - nca) * f + nca * jca * fca) + f_{IcaLp} * PCaK_p * ((1 - nca) * fp + nca * jca * fcap) \right) \quad (42)$$

Donde PCa , PCa_p , $PCaNa$, $PCaNa_p$, $PCaK$ y $PCaK_p$ son permeabilidades, d una variable de estado que define la probabilidad de apertura de una compuerta de activación y f , fp , fca , $fcap$ y jca variables de estado que definen la probabilidad de apertura de compuertas de inactivación.

$$PhiCaL = z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[Ca^{2+}]_{ss} * e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - [Ca^{2+}]_o}{e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - 1} \quad (43)$$

$$PhiCaNa = z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[Na^+]_{ss} * e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - [Na^+]_o}{e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - 1} \quad (44)$$

$$PhiCaK = z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[K^+]_{ss} * e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - [K^+]_o}{e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - 1} \quad (45)$$

En el modelo ToR-ORd se emplea la misma estructura, pero considerando que un 80% de estos canales se encuentran en el subespacio y el otro 20% en el mioplasma.

También se ha empleado esta función para formular las corrientes I_{Cab} y I_{Nab} .

$$I_{Cab} = P_{Cab} * z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[Ca^{2+}]_i * e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - [Ca^{2+}]_o}{e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - 1} \quad (46)$$

$$I_{Nab} = P_{Nab} * z_s^2 * \left(\frac{v * F^2}{R * T} \right) * \frac{[Na^+]_i * e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - [Na^+]_o}{e^{\frac{z_s * v * F}{RT}} - 1} \quad (47)$$

Siguiendo la misma nomenclatura anterior, las bombas e intercambiadores están formulados de la siguiente manera:

$$I_{pCa} = f_{ATP} * f_{Ca_i} * G_{pCa} \quad (48)$$

$$I_{NaCa_i} = f_{pHi} * f_{pHo} * f_{Ca_i} * G_{NCX} * f_{INaCa_i} * (z_{Na} * J_{ncx_{Na}} + z_{Ca} * J_{ncx_{Ca}}) \quad (49)$$

$$I_{NaCa_{ss}} = f_{pHi} * f_{pHo} * f_{Ca_i} * G_{NCX} * f_{INaCa_{ss}} * (z_{Na} * J_{ncx_{Na}} + z_{Ca} * J_{ncx_{Ca}}) \quad (50)$$

$$I_{NaK} = f_{pHi} * f_{ATP} * P_{NaK} * (z_{Na} * J_{NaK_{Na}} + z_K * J_{NaK_K}) \quad (51)$$

Donde P_{NaK} es la permeabilidad, J_{ncxNa} , J_{ncxCa} , J_{NaKNa} y J_{NaKK} son los flujos de sodio y calcio y de sodio y potasio que atraviesan el intercambiador NCX y la bomba Na^+/K^+ , respectivamente.

$$J_{up} = f_{pHi} * f_{ATP} * \left((1 - f_{Jupp}) * J_{upnp} + J_{upp} * J_{upp} \right) - J_{leak} \quad (52)$$

$$I_{rel} = f_{pHi} * P_{CaRel} * \left((1 - f_{Jrelp}) * J_{relnp} + J_{relp} * J_{relp} \right) \quad (53)$$

Donde P_{CaRel} es la permeabilidad y J_{upnp} , J_{upp} , J_{relnp} y J_{relp} son las variables de estado que definen la probabilidad de apertura de la bomba SERCA y los canales RyR del JSR, respectivamente. Los dos primeros dependen del calcio intracelular y los dos últimos del calcio presente en el JSR. La corriente J_{leak} es la corriente de fuga que depende de la concentración de calcio en el NSR.

Por último, los flujos de difusión se definen con la siguiente fórmula:

$$J_{sc1c2} = \frac{[S]_{c1} - [S]_{c2}}{\tau} \quad (54)$$

Donde c1 es el compartimento de origen, c2 el compartimento destino y τ la constante de tiempo.

Los flujos presentes en estos modelos son:

$$J_{diffNa} = \frac{[Na^+]_{ss} - [Na^+]_i}{\tau_{diffNa}} \quad (55)$$

$$J_{diffK} = \frac{[K^+]_{ss} - [K^+]_i}{\tau_{diffK}} \quad (56)$$

$$J_{diffCa} = \frac{[Ca^{2+}]_{ss} - [Ca^{2+}]_i}{\tau_{diffCa}} \quad (57)$$

$$J_{tr} = \frac{[Ca^{2+}]_{NSR} - [Ca^{2+}]_{JSR}}{\tau_{tr}} \quad (58)$$

Es importante tener en cuenta que, aunque las corrientes iónicas se obtienen mediante la combinación de variables de estado, las corrientes iónicas por sí mismas no son variables de estado, ya que no siguen una ecuación diferencial.

Por último, en el quinto bloque se emplea el valor de estas corrientes y flujos para actualizar los valores del potencial de membrana y de las concentraciones iónicas. A continuación, se definen sus ecuaciones diferenciales siguiendo la estructura de la ecuación (25).

De la ecuación (22) se obtiene que el potencial de membrana en función del tiempo se define como:

$$\frac{dV_m}{dt} = \frac{(-1) * \Sigma I_s}{Cm} \quad (59)$$

Donde I_s son las corrientes iónicas que atraviesan la membrana y Cm la capacidad de la membrana.

Y para el cálculo de las concentraciones, la ecuación que describe la variación temporal de la concentración de un ion S en un compartimento A es la siguiente:

$$\frac{d[S]_A}{dt} = \frac{\Sigma_{AB}}{z_s * F * V_A} * \Sigma I_{AB} + \frac{[S]_B - [S]_A}{\tau_{AB}} * \frac{V_B}{V_A} \quad (60)$$

Donde Σ_{AB} es la superficie en común entre los compartimentos A y B, z_s la valencia del ion s , F la constante de Faraday, I_{AB} las corrientes que pasan de un compartimento A a un compartimento B, $[S]_A$ y $[S]_B$ las concentraciones del ion en cada uno de los compartimentos, V_A el volumen del compartimento A y V_B el volumen del compartimento B.

Empleando las ecuaciones (57) y (58), se definen las siguientes ecuaciones:

$$\frac{dv}{dt} = (-1) * (I_{Na} + I_{NaL} + I_{to} + I_{CaL} + I_{CaNa} + I_{CaK} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{KATP} + I_{NaCa_i} + I_{NaCa_{ss}} + I_{NaK} + I_{Nab} + I_{Kb} + I_{pCa} + I_{Cab} + I_{stim}) / C_m \quad (61)$$

En el modelo ToR-ORD se incluyen también I_{CaCl} e I_{Clb} .

$$\frac{d[Na^+]_i}{dt} = (-1) * (I_{Na} + I_{NaL} + 3 * I_{NaCa_i} + I_{NaK} + I_{Nab}) * \frac{Acap}{z_{Na} * F * v_{myo}} + J_{diffNa} * \frac{v_{ss}}{v_{myo}} \quad (62)$$

$$\frac{d[Na^+]_{ss}}{dt} = (-1) * (I_{CaNa} + 3 * I_{NaCa_{ss}} + 3 * I_{NaK} + I_{Nab}) * \frac{Acap}{z_{Na} * F * v_{ss}} - J_{diffNa} \quad (63)$$

$$\frac{d[K^+]_i}{dt} = (-1) * (I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{KATP} + I_{Kb} - 2 * I_{NaK} - I_{ax}) * \frac{Acap}{z_K * F * v_{myo}} + J_{diffK} * \frac{v_{ss}}{v_{myo}} \quad (64)$$

$$\frac{d[K^+]_o}{dt} = (I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{KATP} + I_{Kb} - 2 * I_{NaK} + I_{CaK}) * \frac{Acap}{z_K * F * v_o} + wash_out \quad (65)$$

Donde $wash_out = (5.4 - [K^+]_o)$ simula la corriente de barrido de potasio que es cero en isquemia.

$$\frac{d[K^+]_{ss}}{dt} = (-1) * (I_{CaK}) * \frac{Acap}{z_K * F * v_{ss}} - J_{diffK} \quad (66)$$

$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = (-1) * (I_{pCa} + I_{Cab} - 2 * I_{NaCa_i}) * \frac{Acap}{z_{Ca} * F * v_{myo}} - J_{up} * \frac{v_{NSR}}{v_{myo}} + J_{diffCa} * \frac{v_{ss}}{v_{myo}} \quad (67)$$

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{ss}}{dt} = (-1) * (I_{CaL} - 2 * I_{NaCa_{ss}}) * \frac{Acap}{z_{Ca} * F * v_{ss}} + J_{rel} * \frac{v_{JSR}}{v_{ss}} - J_{diffCa} * \frac{v_{ss}}{v_{myo}} \quad (68)$$

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{NSR}}{dt} = J_{up} - J_{tr} * \frac{v_{JSR}}{v_{NSR}} \quad (69)$$

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{JSR}}{dt} = J_{tr} - J_{rel} \quad (70)$$

Este módulo finaliza con la actualización del vector de variables de estado y el vector de variables de salida. De modo que, con cada ejecución de este módulo, el módulo *main* graba una nueva fila de datos en cada matriz de salida del modelo correspondiente al instante de tiempo t que se ha introducido al lanzar dicha ejecución.

4.2.5. Módulo *setinitial_conditions*

En este bloque se establecen los valores iniciales (correspondientes a $t = 0$) para cada una de las variables de estado. Para hacerlo, se requiere como parámetros de entrada el número de nodos (*nnod*), el tipo de célula (*celltype*) y las estructuras dimensionadas del vector variables de estado (*STATES*), del vector potencial de membrana (V_k) y del vector de variación de la concentración de potasio extracelular (K_o).

En el caso del modelo ToR-ORd se hace una distinción en función del tipo de célula que se vaya a simular, es decir, la inicialización es diferente si queremos simular epicardio, endocardio o midmiocardio. Además, los valores son notablemente más precisos, ya que poseen un gran número de decimales y están basados en datos experimentales.

En el modelo ORd los valores no varían en función del modelo celular y son aproximaciones. Por ejemplo, las probabilidades de apertura de las compuertas quedan designadas directamente a 0 y 1 en función de si son de activación o inactivación, respectivamente.

4.2.6. Módulo *setDefaultSettings*

En este módulo se da valor a los 16 parámetros que forman el vector *settings* y que son necesarios para definir las configuraciones básicas del cálculo computacional. El valor de algunos de ellos proviene de la literatura y se han mantenido fijos en todas las simulaciones. En cambio otros, como los minutos de isquemia, el BCL o el tipo de modelo de ADP, han sido modificados en cada una de ellas para representar las diferentes condiciones isquémicas deseadas.

En la Tabla 3 se describen estos parámetros junto a su valor.

Tabla 3. Parámetros de configuración definidos en el módulo *setDefaultSettings*.

Parámetro	Definición	Valor
minIsqTotal	Minutos de isquemia simulados	Depende de la simulación
minIsqIni	Minutos de normoxia simulados	5 min
BCL	Duración de cada ciclo	Depende de la simulación
ATPi_ini	Valor inicial del ATPi	10 $\mu\text{M/L}$
ATPi_fin	Valor final del ATPi	1 $\mu\text{M/L}$
ADP_type	Selección del modelo de ADP	1 – Weiss 2 – Clarke 3 – Smith
ADPi_ini	Valor inicial del ADPi	15 $\mu\text{M/L}$
ADPi_fin1	Primer valor final del ADPi	Depende del modelo de ADP
ADPi_fin2	Segundo valor final del ADPi	Depende del modelo de ADP
pHi_ini	Valor inicial del pH _i	7.2
pHi_fin	Valor final del pH _i	5.9
pHo_ini	Valor inicial del pH _o	7.4
pHo_fin	Valor final del pH _o	6.1
LPC_ini	Valor inicial del LPC	2 $\mu\text{M/L}$
LPC_fin	Valor final del LPC	20 $\mu\text{M/L}$
minDT_LPC	Minuto en que cambia la dinámica LPC	30 min
tau_washout	Constante de tiempo para washout de K _o ⁺	15000 ms
conductance	Conductancia eléctrica efectiva	0.0026 cm ² /s
ko_diffusion	Difusión del K _o ⁺ en agua a 25°C	1.5 e-08
Conductance increment	Incremento en conductancia eléctrica	5
minDT_conexin	Lo que dura el incremento de conexín	2 min
minIni_conexin	Minuto en que incrementa conexín	35 min
Flag BZ	Indicador zona de borde	0 – no se considera 1 – sí se considera

4.2.7. Módulo *setDefaultIsqAct*

En este módulo se definen las configuraciones de los componentes isquémicos con una serie de factores (*isq_act*), cosa que permite decidir cuáles de esos efectos simular. Aquellos que estén a 1 serán tenidos en cuenta en la simulación y aquellos que estén a 0 estarán desactivados. Esto proporciona un gran número de posibilidades a la hora de analizar cada uno de los efectos por separado o la combinación de solamente algunos de ellos. Los componentes isquémicos mencionados son: ATPi, ADPi, pHi, pHo y LPC.

Como parámetros de entrada requiere el número de nodos (*nmod*), el número de efectos isquémicos (*nisq*), los parámetros que definen la zona de borde (*nnormox* y *nph*) y por último el vector *isq_act* dimensionado.

En el presente TFM no se ha modificado ningún parámetro de este bloque porque todas las simulaciones han sido realizadas combinando todos los efectos que presenta la isquemia sobre el potencial de acción de una fibra de células cardiacas. Además, la totalidad de la fibra ha sido sometida a las mismas condiciones, por lo que no ha sido necesario tampoco representar una zona de borde ni una zona no isquémica.

4.2.6. Módulo *setDefaultCorrAct*

Este módulo permite controlar el efecto que tiene la isquemia sobre algunas corrientes. En él se definen una serie de factores (*corr_act*) asociados a las corrientes $I_{K(ATP)}$, I_{NaK} , J_{up} , I_{pCa} , I_{Na} , I_{NaL} , I_{CaL} , I_{NaCa} , I_{Kr} , J_{rel} e I_{to} . De igual modo que en el bloque anterior, solamente aquellos factores que estén igualados a 1 permitirán que los efectos de la isquemia actúen sobre la corriente.

La posibilidad de activar o desactivar los efectos isquémicos sobre ciertas corrientes permite estudios como, por ejemplo, el impacto de un fármaco en esta enfermedad.

Para poder ejecutar este módulo, los parámetros de entrada necesarios son número de nodos (*nmod*), el número de factores de corrección (*ncorr*), los parámetros que definen la zona de borde (*nnormox* y *nph*) y por último el vector *corr_act* dimensionado.

En el presente TFM tampoco se ha desactivado el efecto de la isquemia en ninguna de las corrientes ya que, como se ha comentado previamente, se buscaban simulaciones donde estuviera representado el efecto total de la isquemia sobre la fibra.

4.3. SIMULACIÓN DE LOS EFECTOS ISQUÉMICOS

Tal y como se ha comentado en el apartado anterior, la versión del modelo ORd de la que se partió fue la última modificación realizada por Ana González Ascaso en su TFG (González Ascaso, 2019), nombrada como ORd-GoF. Este trabajo consistió en la inclusión de algunas variaciones en los valores iniciales y finales de las concentraciones de los parámetros que definen los efectos isquémicos y también algunos cambios dinámicos en su evolución temporal, dando lugar a dos nuevos modelos: ORd-EF y ToR-EF.

En la Figura 4.3 se muestra la evolución temporal de los factores isquémicos, incluyendo su valor inicial, que se mantiene constante durante todo el periodo de normoxia (5 min), y final, que corresponde a una duración de isquemia de 30 minutos. Cabe destacar que la evolución temporal del $[ADP]_i$ puede seguir tres dinámicas diferentes (Figura 4.3B), en función de diferentes estudios.

Estudio mediante modelado matemático y simulación computacional de los efectos de la isquemia miocárdica aguda en el tejido cardíaco humano

Los datos de todos estos cambios se obtuvieron de estudios experimentales y computacionales, los cuales se encuentran recogidos en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores iniciales y finales de los efectos isquémicos.

Efecto isquémico	Valor inicial	Valor final		Referencia	
[ATP] _i	10 mM/L	1 mM/L		(Sakamoto, Ishikawa, Koga, Urushidani, & Nagao, 2000)	
[ADP] _i	Weiss	15 μM/L	30 μM/L	180 μM/L	(Weiss, Venkatesh, & Lamp, 1992)
	Clarke	15 μM/L	180 μM/L	180 μM/L	(Clarke, O'Connor, & Willis, 1987)
	Smith	15 μM/L	80 μM/L	80 μM/L	(Terkildsen, Crampin, & Smith, 2007)
pH _i	7.2	5.9		(Sakamoto et al., 2000)	
pH _o	7.4	6.1		(Sakamoto et al., 2000)	
[LPC]	2 μM/L	20 μM/L		(Deleau, 1999; Gautier, Zhang, & Fearon, 2007)	

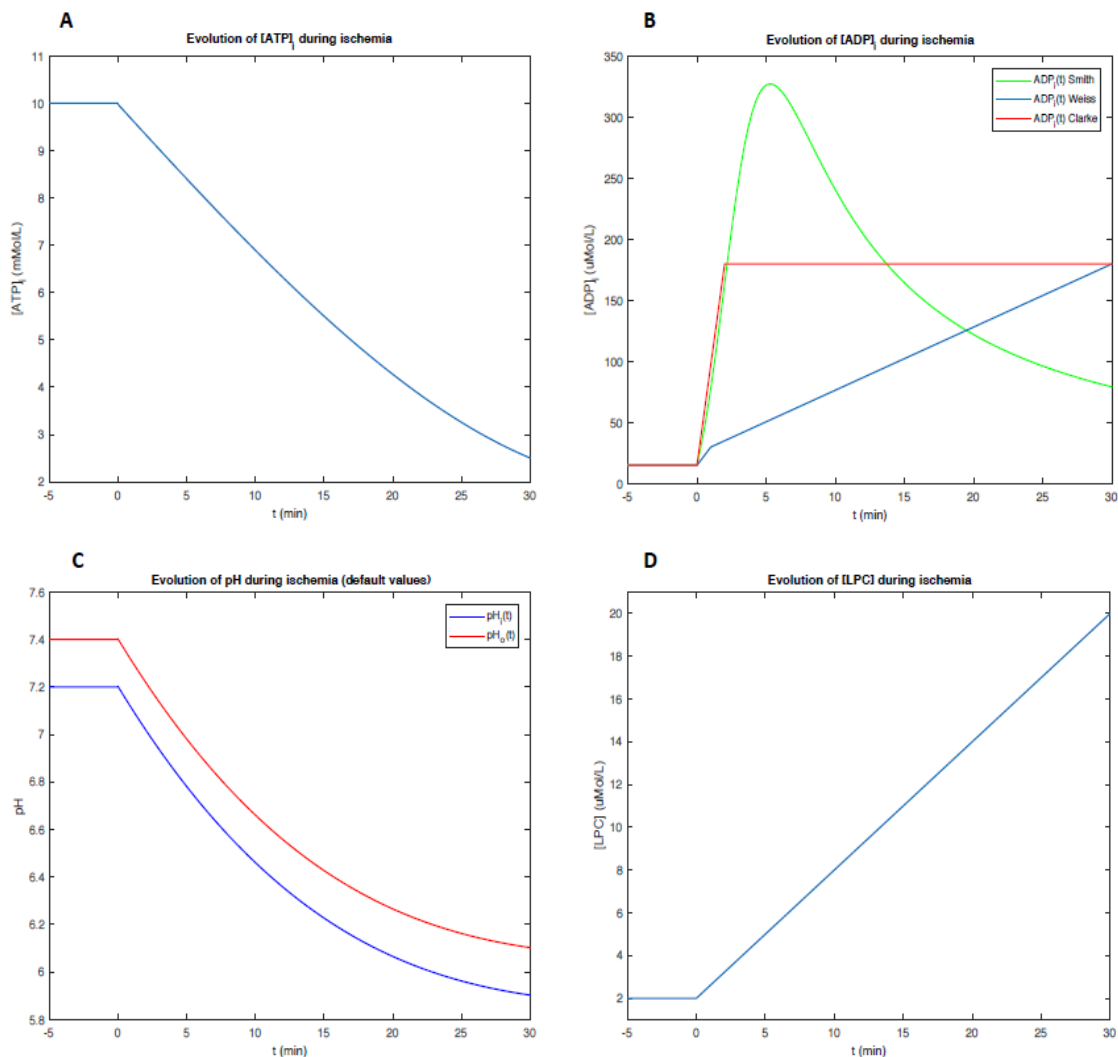


Figura 4.3. Evolución temporal de los parámetros isquémicos: (A) ATP_i; (B) ADP_i; (C) pH_i y pH_o; (D) LPC. Fuente: (González Ascaso, 2019)

Además, en el modelo ORd-GoF también se añadieron o modificaron algunos factores que describían como estos efectos isquémicos afectaban a las corrientes iónicas.

En el presente trabajo se han mantenido todos los cambios realizados sobre este modelo y se han formulado nuevos factores, tanto de modificación de conductancias ($f_EfectoIsquemico_Is$) como de modificación de curvas de activación ($da_EfectoIsquemico_Is$) e inactivación ($di_EfectoIsquemico_Is$), que incluye desplazamiento y cambio de pendiente de dichas curvas.

En la Tabla 5 se listan todos estos factores, aquellos que se encuentran subrayados con una línea discontinua son los que ya habían sido formulados en el modelo ORd-GoF.

Tabla 5. Factores de modificación de conductancias y de curvas de activación e inactivación en función de los efectos isquémicos.

Corriente	[ATP] _i	[ADP] _i	pH _i	pH _o	[LPC]	Ref
I_{Na}			da_pHi_INa di_pHi_INa	f_pHo_INa da_pHo_INa	f_LPC_INa	[1]
I_{NaL}				f_pHo_INaL	f_LPC_INaL	[2]
I_{to}				da_pHo_Ito di_pHo_Ito		[3]
I_{CaL}			f_pHi_ICaL	f_pHo_ICaL		[4]
I_{Kr}				f_pHo_IKr da_pHo_IKr	f_LPC_IKr da_LPC_IKr	[5]
I_{NaCa_i} I_{NaCa_ss}			f_pHi_INaCa	f_pHo_INaCa		[6]
I_{NaK}	f_ATP_INaK	f_ADp_INaK	f_pHi_INaK			[7]
I_{pCa}	f_ATP_IpCa	f_ADp_IpCa				[8]
I_{KATP}	f_ATP_IKATP	f_ADp_IKATP				[9]
J_{rel}			f_pHi_Jrel			[10]
J_{up}	f_ATP_Jup	f_ADp_Jup	f_pHi_Jup			[11]

Los valores necesarios para formular los factores han sido obtenidos de los siguientes estudios:

[1] El efecto de la LPC sobre la conductancia de I_{Na} se define en (Deleau, 1999; Gautier et al., 2007; Undrovinas, Fleidervish, & Makielski, 1992); mientras que el efecto del pH_o sobre la corriente I_{Na} se define en (Murphy, Renodin, Antzelevitch, Di Diego, & Cordeiro, 2011) y el efecto de pH_i, en (Watson & Gold, 1995). En ambos artículos se define el efecto del pH tanto sobre la conductancia del canal como sobre la curva de activación m en el caso del pH_o y las curvas de activación m y de inactivación h y j para el caso del pH_i.

[2] El efecto del pH_o sobre la conductancia de I_{NaL} se define en (Murphy et al., 2011) y el de la LPC, en (Deleau, 1999; Gautier et al., 2007; Undrovinas et al., 1992).

[3] El efecto del pHo sobre las curvas de activación a y de inactivación i del canal que atraviesa la corriente I_{to} , se define en (Stengl, Carmeliet, Mubagwa, & Flameng, 1998).

[4] El efecto del pH_i y el pHo tanto sobre la conductancia de I_{CaL} como sobre sus curvas de activación d y de inactivación f , f_{ca} y j_{ca} , viene definido en (Saegusa, Moorhouse, Vaughan-jones, & Spitzer, 2011).

[5] El efecto del pHo sobre la curva de activación x_{rs} y la conductancia de I_{Kr} , se define en (Anumonwo, Horta, Delmar, Taffet, & Jalife, 1999); mientras que el efecto de la LPC se define en (Bai et al., 2007).

[6] El efecto del pH_i sobre el intercambiador NCX se define en (Doering, Eisner, & Lederer, 1996) y el del pHo en (Egger & Niggli, 2000).

[7] El efecto del ATP_i y ADP_i sobre la conductancia de I_{NaK} se presenta en (Cortassa et al., 2006; N. P. Smith & Crampin, 2004; Terkildsen et al., 2007) y el efecto del pH_i en (Friedrich, Bamberg, & Nagel, 1996).

[8] El efecto del ATP_i y ADP_i sobre la bomba de calcio de la membrana celular se define en (Cortassa et al., 2006)

[9] El efecto del ATP_i y ADP_i sobre la corriente de potasio dependiente de ATP se define en (Babenko, Gonzalez, Aguilar-Bryan, & Bryan, 1998)

[10] El efecto del pH_i sobre la conductancia del flujo J_{rel} , se define en (Xu & Rozanski, 1997)

[11] El efecto del ATP_i y ADP_i sobre la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico se define en (Cortassa et al., 2006) y el del pH_i en (Kentish & Xiang, 1997).

Por último, también se ha introducido una nueva regulación del efecto del lavado (*wash-out*) del potasio en el medio extracelular, el cual se encuentra ausente durante el tiempo de isquemia debido a la desaparición del flujo sanguíneo.

En los dos modelos desarrollados a lo largo de este trabajo (ORD-EF y ToR-EF) se incluyeron los mismos efectos isquémicos.

4.4. CÓDIGOS DE LOS MODELOS

Los códigos de los modelos ORD-EF y ToR-EF desarrollados en el presente TFM no se han podido incluir en la memoria debido a las limitaciones de extensión establecidas. Sin embargo, se encuentran disponibles para su consulta en el siguiente enlace: https://drive.google.com/drive/folders/10BF_XBa6k_ol-O9RNYY6Ve-buF4iV2bq?usp=sharing

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. RESULTADOS DE LOS MODELOS EN NORMOXIA

El primer paso, antes de abordar las simulaciones de manera sistemática, fue comprobar que los modelos de potencial de acción cardíaco ORd-EF y ToR-EF desarrollados en el presente TFM funcionaban correctamente. Para ello, se realizaron diferentes simulaciones en normoxia (efectos isquémicos desactivados), cuyos resultados se muestran en la Figura 5.1 y la Figura 5.2.

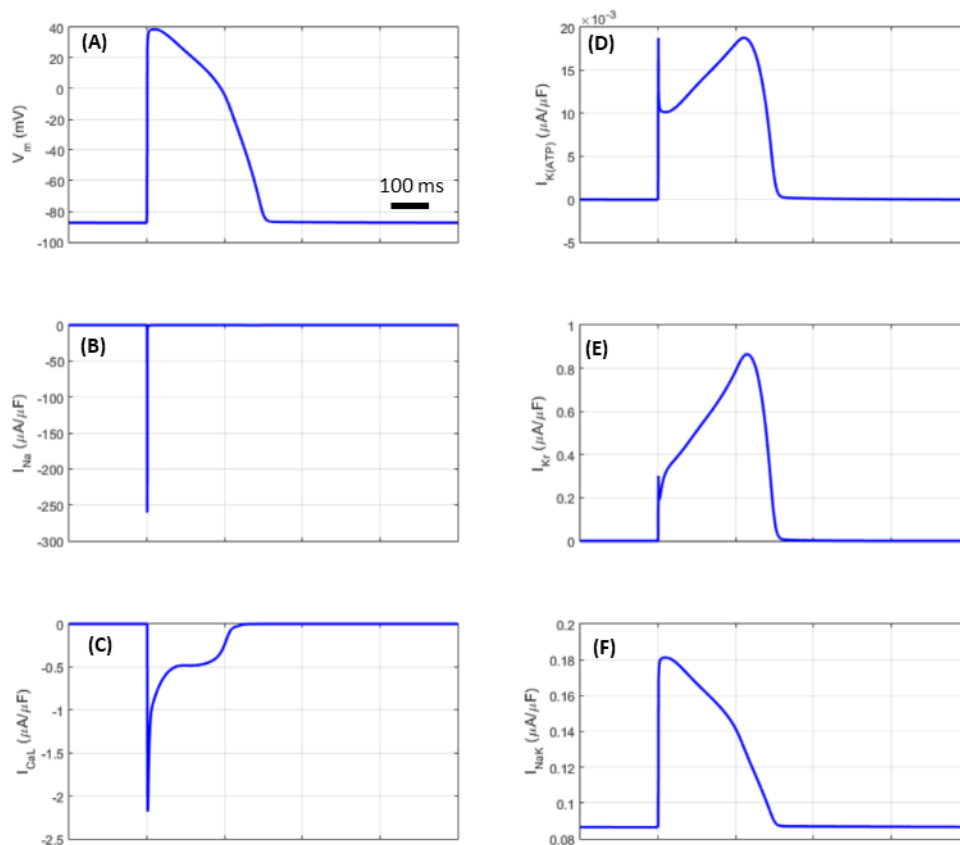


Figura 5.1. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ORd-EF en condiciones de normoxia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$.

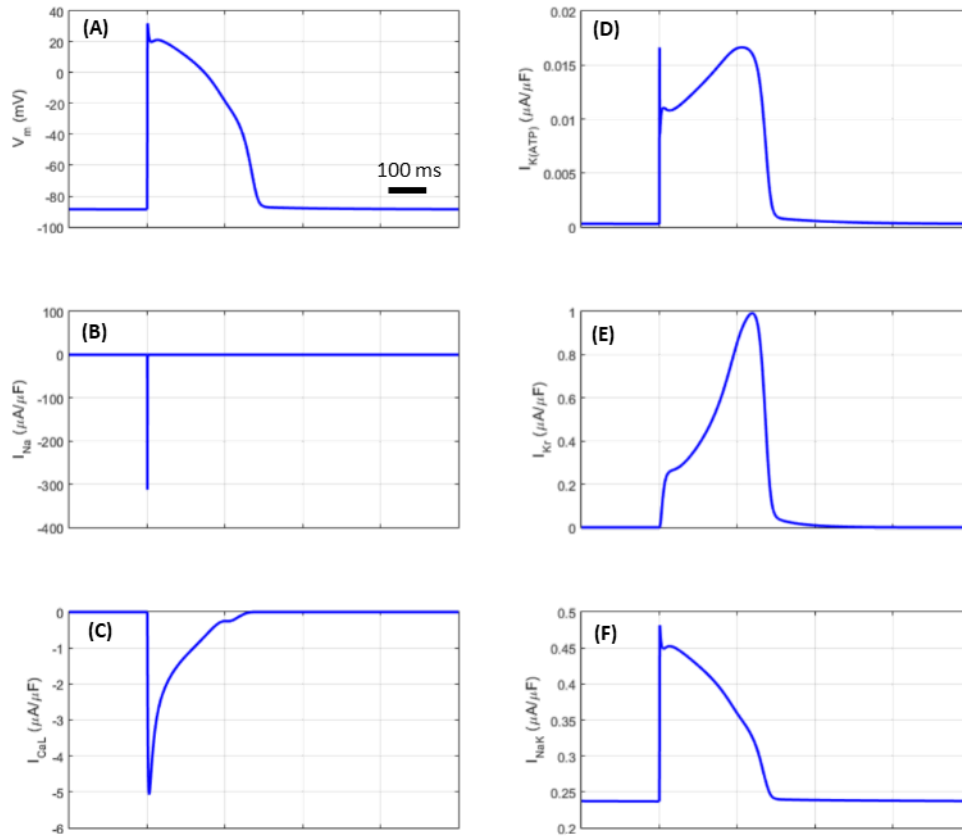


Figura 5.2. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ToR-EF en condiciones de normoxia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$.

Ambas figuras muestran los resultados esperados:

- (A) El potencial de membrana sufre una rápida despolarización seguida de un periodo de estabilidad conocido como meseta y después una repolarización progresiva, hasta alcanzar de nuevo el potencial de reposo de aproximadamente -87 mV.
- (B) La corriente de sodio I_{Na} es la principal causante de la despolarización, por lo que tiene su pico máximo al inicio del PA con una pendiente prácticamente vertical y disminuye también rápidamente justo después de alcanzar el pico de potencial cuando se cierran sus compuertas de inactivación. Es negativa porque es entrante.
- (C) La corriente de calcio I_{CaL} también participa en la despolarización celular, por lo que tiene un rápido aumento al inicio del potencial de acción. A continuación, disminuye a menudo que se van cerrando sus compuertas de inactivación, pero como son más lentas que en los canales de sodio, esta disminución se realiza de manera progresiva. Ello permite que la entrada de calcio “compita” con la salida de potasio y crea el periodo de estabilidad de la meseta. Es negativa porque es entrante.
- (D) La corriente de potasio $I_{K(ATP)}$ se mantiene a valores muy bajos en condiciones de normoxia. Sus compuertas son ligando-dependientes y se mantienen cerradas siempre que actúen sobre ellas moléculas de ATP. Dado que se está simulando condiciones de

normoxia, los niveles de ATP permiten que estos canales estén cerrados y el aporte de esta corriente sobre el PA es insignificante.

- (E) La corriente I_{K_r} alcanza su máximo valor al inicio de la repolarización, tiene un aumento progresivo y una caída muy rápida. Es positiva porque es saliente.
- (F) La corriente de la bomba Na^+/K^+ tiene un balance iónico positivo al extraer dos moléculas de sodio e introducir una de potasio. Su actividad es proporcional al potencial de membrana y aumenta cuando este lo hace; por lo tanto, alcanza su máximo al inicio del PA y después reduce progresivamente a medida que la célula repolariza.

A pesar de que la tendencia de cada corriente es igual en los dos modelos, hay que tener en cuenta que la forma de onda varía ligeramente entre ambos así como el pico de amplitud máxima. Esto se debe a que el modelo ToR-ORd introduce ciertas mejoras que lo acercan más a los resultados experimentales.

Comprobando el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo de una fibra de 2 cm como se muestra en la Figura 5.3, se puede calcular que la velocidad de propagación. En estas condiciones de normoxia la velocidad de propagación que se obtiene es de 0.9090 m/s.

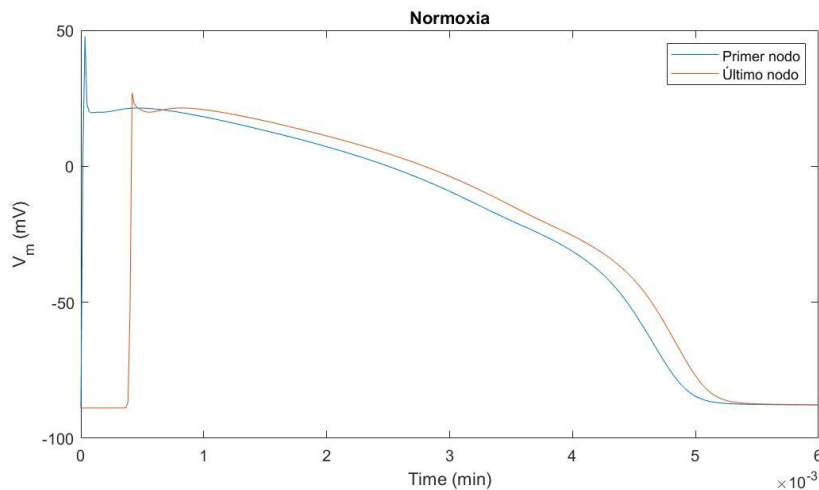


Figura 5.3. Diferencia entre el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo de la fibra simulada en condiciones de normoxia.

Con este análisis se pudo afirmar que ambos modelos computacionales funcionan correctamente en condiciones de normoxia.

5.2. RESULTADOS DE LOS MODELOS EN ISQUEMIA

A continuación, se quiso comprobar que los efectos isquémicos introducidos reflejaban correctamente los cambios electrofisiológicos que produce la IMA sobre el potencial de acción cardíaco.

Los dos modelos ORd-EF y ToR-EF se emplearon para simular el efecto de la isquemia miocárdica sobre un tejido unidimensional que representaba el epicardio ventricular. Concretamente, una fibra de 2 cm de longitud formada por 80 nodos separados los unos de otros 250 μm . Las células se han representado como un cilindro de largo 10 veces mayor que su radio, el cual mide 11 μm .

La formulación de los efectos isquémicos fue igual en los modelos ORd-EF y ToR-EF, dado que el objetivo establecido era comparar cómo reaccionaba cada uno de ellos frente a la introducción de dichos efectos.

Para ello, en la Figura 5.4 y la Figura 5.5 se muestran el PA y las principales corrientes afectadas por estos efectos tras 2 minutos de isquemia. Se mantuvieron las condiciones de simulación del apartado anterior (Figura 5.1 y Figura 5.2) para una mejor comparación.

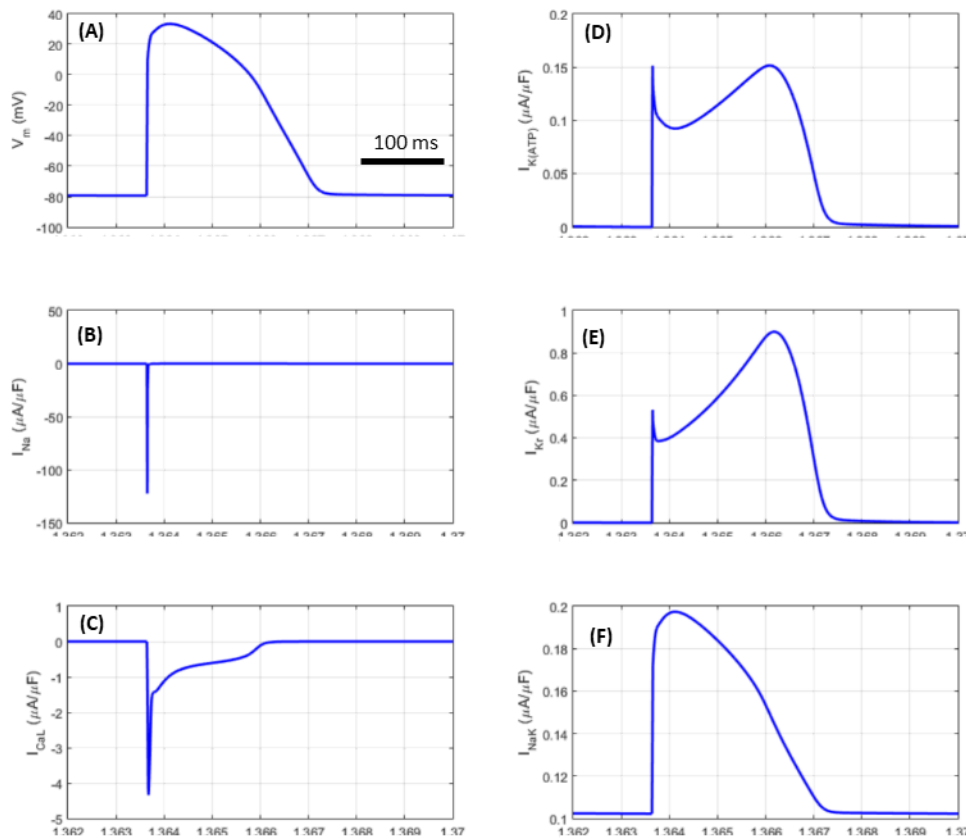


Figura 5.4. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ORd-EF tras 2 minutos de isquemia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes (diferentes además a las de la Fig. 5.1) con el fin de apreciar claramente la forma de onda de las mismas. Condiciones de simulación: BCL 500 ms, modelo ADP Smith y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$.

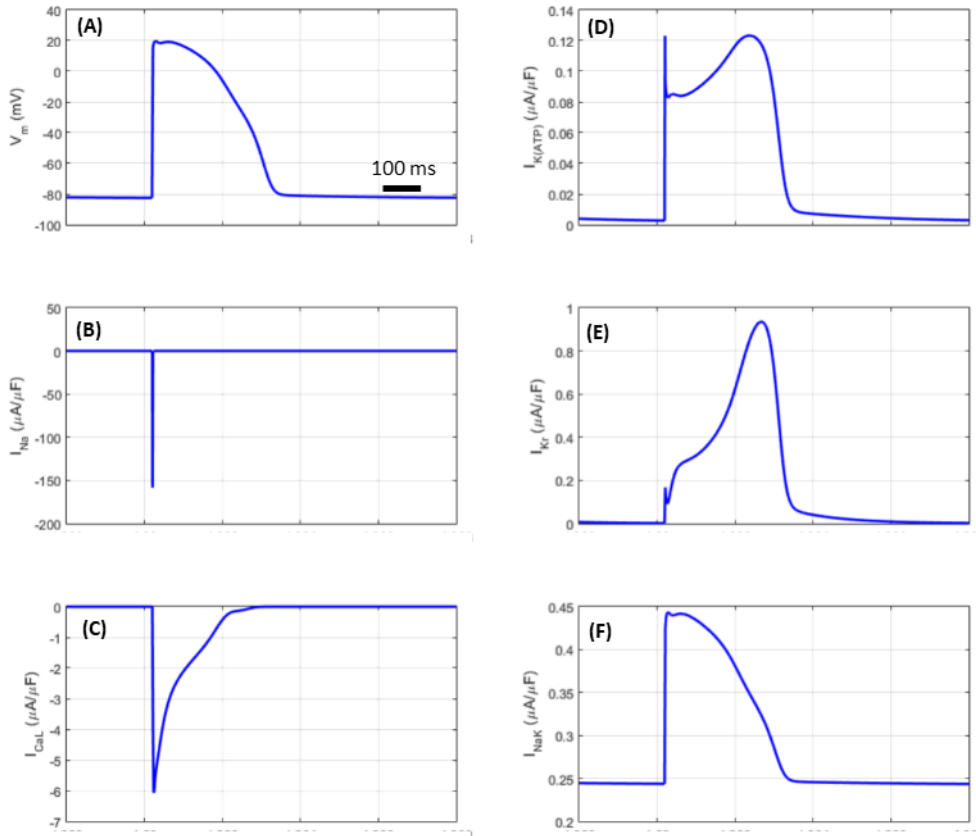


Figura 5.5. Forma de onda del potencial de acción (A), la corriente de sodio I_{Na} (B), la corriente de calcio I_{CaL} (C), las corrientes de potasio $I_{K(ATP)}$ (D) e I_{Kr} (E) y la corriente de la bomba sodio/potasio (F) empleando el modelo ToR-EF tras 2 minutos de isquemia. Nótese que se han representado las corrientes iónicas con escalas diferentes (diferentes además a las de la Fig. 5.2) Condiciones de simulación: BCL 500 ms, modelo ADP Smith y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu A/\mu F$.

Los resultados observados son los siguientes:

- (A) La forma del potencial de acción se mantiene, pero se ven reducidos ligeramente el pico de amplitud máxima y la velocidad de despolarización. También es ligeramente superior el potencial de reposo. El cambio más notable a simple vista es una disminución en la duración del potencial de acción.
- (B) La corriente I_{Na} se ve afectada por diferentes factores isquémicos. Su curva de activación sufre un desplazamiento positivo por el efecto del pH_i y uno negativo por el efecto del pH_o , además, ambos pH disminuyen su pendiente. Su curva de inactivación tiene un desplazamiento positivo y un aumento de la pendiente a causa de la acidosis intracelular. Por último, tanto el pH_o como la LPC hacen disminuir la conductancia máxima de estos canales. Electrofisiológicamente, todo esto se traduce en una disminución de la amplitud de pico máxima aproximadamente a la mitad, hecho que afecta directamente sobre la fase de despolarización del PA, disminuyendo la velocidad de despolarización y su amplitud de pico máxima.
- (C) La corriente I_{CaL} se ve afectada por dos factores multiplicativos dependientes de pH_i y pH_o que aumentan y disminuyen su conductancia, respectivamente. Dado que el factor dependiente de pH_i es mayor, el balance es positivo y la conductancia aumenta. Ello implica un aumento de la corriente.
- (D) La corriente $I_{K(ATP)}$ aumenta a lo largo de la isquemia porque le afecta el ADP y el ATP intracelulares. En condiciones de isquemia, sus concentraciones varían (en normoxia se

mantienen estables) y, cuando disminuye la cantidad de ATP_i , se activan estos canales. La corriente que atraviesa estos canales es la principal causante del acortamiento del potencial de acción porque supone una salida extra de potasio que acelera la repolarización de la membrana.

- (E) La corriente I_{Kr} ve afectada su conductancia y su curva de activación por los cambios en las concentraciones de pH_o y LCP. La corriente mantiene la misma forma que en condiciones de normoxia, con el pico máximo durante la repolarización, pero como la repolarización es más rápida por la aparición de la corrientes $I_{K(ATP)}$, los canales I_{Kr} también se inactivan antes.
- (F) La corriente I_{NaK} posee tres factores dependientes de ADP, ATP y pH_i que afectan a la conductancia máxima, disminuyéndola a medida que avanza la isquemia. Electrofisiológicamente, puede verse la diferencia en el pico máximo que alcanza esta corriente, el cual es menor en isquemia. Dado que nos encontramos al principio de la isquemia (minuto 2), esta reducción no es todavía muy grande. Respecto a la forma de la onda, sigue manteniendo una muy parecida al potencial de acción, por lo tanto, también reduce su amplitud longitudinal con el acortamiento del APD.

Los factores a los que se ha hecho referencia son los recogidos en la Tabla 5.

Como es conocido, la isquemia miocárdica también tiene un efecto sobre la velocidad de propagación del PA a lo largo de un tejido. Comprobando de nuevo el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo para 2 minutos de isquemia como se muestra en la Figura 5.6, se puede calcular que la velocidad de propagación es de 0.6173 m/s. Tal y como se esperaba, el valor ha reducido respecto a las condiciones de normoxia.

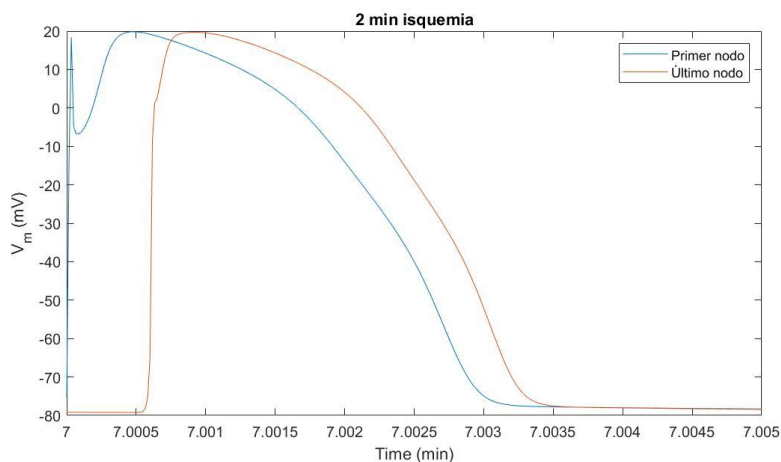


Figura 5.6. Diferencia entre el instante de inicio del primer potencial de acción del primer y último nodo de la fibra simulada en condiciones de normoxia.

Con estas conclusiones se confirma que los efectos isquémicos formulados en los modelos ORD-EF y ToR-EF reproducen correctamente los efectos reales de la IMA sobre la electrofisiología cardíaca.

5.3. VALIDACIÓN DEL MODELO ISQUÉMICO CON DATOS EXPERIMENTALES

Una vez comprobados que los efectos isquémicos formulados en el modelo representaban los cambios producidos por dicha patología correctamente,

Para ello, se diseñaron 6 simulaciones diferentes variando los parámetros de estimulación y el modelo de ADP. En la Tabla 6 se definen los parámetros principales de las 6 simulaciones, que fueron ejecutadas con cada modelo, es decir, se realizaron un total de 12 simulaciones.

Tabla 6. Definición de los parámetros de simulación.

Nº	BCL	Duración estimulación	Corriente estimulación		Modelo ADP
			ORd-EF	ToR-EF	
1	500	2 ms	-200 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-190 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Smith
2	500	2 ms	-400 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-380 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Smith
3	500	2 ms	-200 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-190 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Weiss
4	500	2 ms	-400 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-380 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Weiss
5	333	0.5 ms	-500 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-520 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Smith
6	333	0.5 ms	-500 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	-520 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$	Weiss

Las condiciones de las cuatro primeras simulaciones se definieron para poder validar los modelos con los valores experimentales de (Sutton et al., 2000), en los cuales la corriente de estimulación se definió como el doble y el cuádruple de la corriente de estimulación umbral preisquémica. Las dos últimas simulaciones están diseñadas para validar los modelos con los valores experimentales de (Kazbanov et al., 2014), donde la corriente de estimulación empleada es el doble de la corriente de estimulación umbral preisquémica. Como se puede deducir de la Tabla 6, las corrientes de estimulación varían para cada uno de los dos modelos desarrollados porque las corrientes de estimulación umbral preisquémica son diferentes: -100 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$ y -250 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$ en el modelo ORd-EF y -95 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$ y -260 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$ en el modelo ToR-EF. El resto de parámetros no varían según el modelo.

A continuación, se mostrarán y analizarán los resultados obtenidos con cada una de las simulaciones, centrandose especial atención en la duración del potencial de acción y la variación de la concentración extracelular de potasio a lo largo del periodo isquémico.

5.2.1. Efecto de la isquemia sobre la duración del potencial de acción

Tal y como se ha explicado en el subapartado “2.3.2. Modelado electrofisiológico de la isquemia miocárdica”, la IMA provoca un acortamiento de la duración del potencial de acción. Esta consecuencia se debe a la hipoxia, ya que cuando hay una deficiencia de glucosa y O_2 (moléculas generadoras de ATP) debido a la isquemia, los niveles de ATP se reducen y se activan algunos de los canales $\text{I}_{\text{K(ATP)}}$ de la membrana celular. Este aumento de actividad hace que se acelere la salida de K^+ y ello conduce a una repolarización celular más rápida.

Para estudiar cómo reproducen nuestros modelos dicho acortamiento del PA se han empleado los resultados obtenidos al ejecutar las cuatro primeras condiciones de simulación de la Tabla 6. Los datos experimentales para la validación del modelo se han obtenido de (Sutton et al., 2000), donde

se midió el APD₉₀ (duración del PA al 90% de repolarización) en el epicardio ventricular de 26 pacientes sometidos a cirugía de arteria coronaria. La técnica de estimulación empleada fue la de extraestímulo con un BCL de 500 ms, pulsos de corriente de 2 ms y una corriente de estimulación de cuatro (grupo 1, 15 pacientes) y dos veces (grupo 2, 11 pacientes) el umbral diastólico preisquémico. El periodo de isquemia de 3 minutos se indujo mediante un pinzamiento aórtico cruzado entre la entrada la bomba de oxigenación y el corazón.

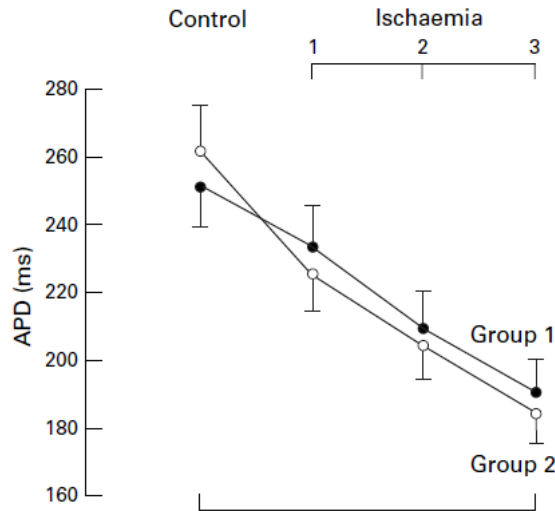


Figura 5.7. Duración del potencial de acción al 90% de repolarización en el epicardio ventricular de 26 pacientes con enfermedades de arteria coronaria en condiciones de control y después de uno, dos y tres minutos de isquemia (BCL 500 ms). Las barras de error corresponden al error estándar. Fuente: modificado de (Sutton et al., 2000)

La Figura 5.7 de este trabajo corresponde a la Figura 2 del artículo (Sutton et al., 2000), de donde se han extraído los datos experimentales de APD₉₀. Tal y como se concluye en dicho artículo, en la figura se puede ver que los valores de APD₉₀ del grupo 1 (estímulo de mayor intensidad) no difieren en gran medida de los valores del grupo 2 (estímulo de menor intensidad). Por lo tanto, teniendo en cuenta que la muestra es de 26 pacientes, se puede considerar que no hay diferencias significativas en lo que a acortamiento de PA se refiere al duplicar la corriente de estimulación, pero sí se observa claramente una disminución del APD conforme avanza la isquemia. Sin embargo, sí se puede observar cierta tendencia de un menor acortamiento en el caso del grupo 1.

Los resultados obtenidos al simular las mismas condiciones experimentales con los modelos ORD-EF y ToR-EF muestran también un acortamiento del APD a medida que avanzan los tiempos de isquemia. En la Figura 5.8 y la Figura 5.9 se muestran, como ejemplo, los potenciales logrados al emplear las condiciones de la primera simulación definida en la Tabla 6 con cada uno de los dos modelos.

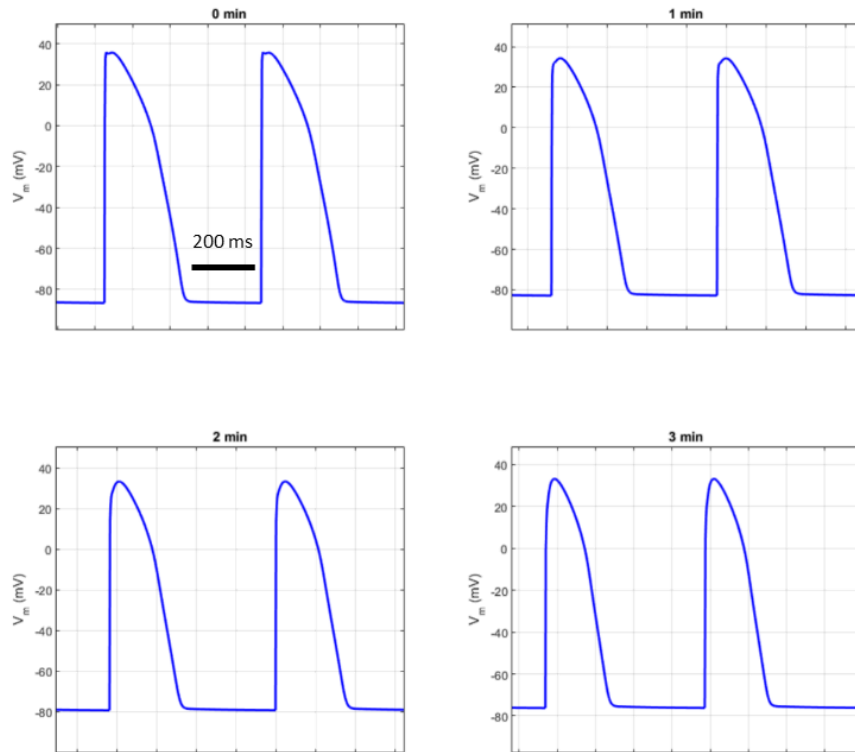


Figura 5.8. Representación gráfica del potencial de acción en condiciones de control y tras 1, 2 y 3 minutos de isquemia. La simulación se ha realizado empleando el modelo ORd-EF con el modelo de ADP Smith, un BCL de 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-200 \mu\text{A}/\mu\text{F}$.

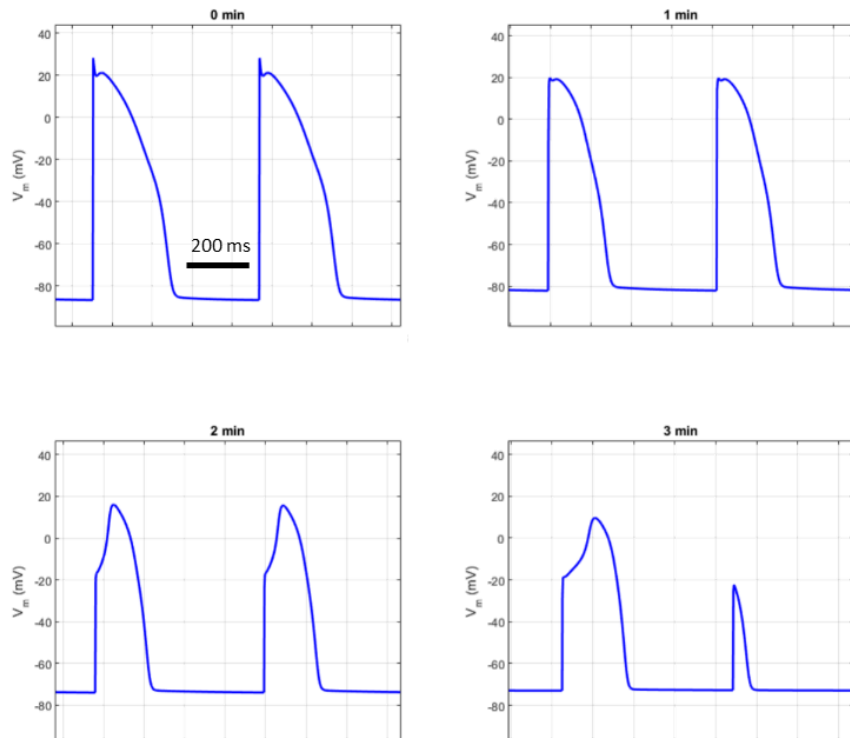


Figura 5.9. Representación gráfica del potencial de acción en condiciones de control y tras 1, 2 y 3 minutos de isquemia. La simulación se ha realizado empleando el modelo ToR-EF con el modelo de ADP Smith, un BCL de 500 ms y pulsos de estimulación de 2 ms y $-190 \mu\text{A}/\mu\text{F}$.

En la Tabla 7 y la Tabla 8 se encuentran recogidos los valores de APD_{90} en condiciones de control y el acortamiento del PA respecto a dicho valor en los minutos 1, 2 y 3 de isquemia. En la primera tabla se encuentran los resultados correspondientes a las simulaciones 1 y 2 y en la segunda tabla, los correspondientes a las simulaciones 3 y 4. Se muestra la comparación entre los resultados experimentales de (Sutton et al., 2000) y los obtenidos a partir de los modelos computacionales ORd-EF y ToR-EF.

Todos estos datos fueron obtenidos empleando un software específico de medición de APD_{90} desarrollado por la autora del presente trabajo. En aquellos casos en los que surgen alternantes, se ha medido el promedio de las duraciones del PA de mayor duración y el de menor duración.

Tabla 7. Comparación entre los acortamientos en la duración del potencial de acción obtenidos en las simulaciones 1 y 2 ($BCL=500ms$; $tdur_stm=2ms$; ADP Smith) y los datos experimentales de (Sutton et al., 2000). El error corresponde al error estándar.

MODELO ADP: SMITH	SIMULACIÓN 1. Corriente estimulación 2xumbral			SIMULACIÓN 2. Corriente estimulación 4xumbral		
	Sutton, 2000	ORd-EF	ToR-EF	Sutton, 2000	ORd-EF	ToR-EF
	APD_{90} Control	256 ms	239 ms	227 ms	256 ms	240 ms
ΔAPD_{90} 1 min	25 ± 15 ms	23 ms	28 ms	25 ± 15 ms	16 ms	26 ms
ΔAPD_{90} 2 min	47 ± 13 ms	38 ms	59 ms	47 ± 13 ms	36 ms	56 ms
ΔAPD_{90} 3 min	67 ± 12 ms	48 ms	82 ms	67 ± 12 ms	50 ms	78 ms

Tabla 8. Comparación entre los acortamientos en la duración del potencial de acción obtenidos en las simulaciones 3 y 4 ($BCL=500ms$; $tdur_stm=2ms$; ADP Weiss) y los datos experimentales de (Sutton et al., 2000). El error corresponde al error estándar.

MODELO ADP: WEISS	SIMULACIÓN 3. Corriente estimulación 2xumbral			SIMULACIÓN 4. Corriente estimulación 4xumbral		
	Sutton, 2000	ORd-EF	ToR-EF	Sutton, 2000	ORd-EF	ToR-EF
	APD_{90} Control	256 ms	239 ms	227 ms	256 ms	240 ms
ΔAPD_{90} 1 min	25 ± 15 ms	10 ms	18 ms	25 ± 15 ms	10 ms	20 ms
ΔAPD_{90} 2 min	47 ± 13 ms	30 ms	40 ms	47 ± 13 ms	28 ms	40 ms
ΔAPD_{90} 3 min	67 ± 12 ms	47 ms	68 ms	67 ± 12 ms	48 ms	65 ms

Los valores mostrados en estas dos tablas se han empleado para elaborar la Figura 5.10, la Figura 5.11, la Figura 5.12 y la Figura 5.13; obteniendo así una mejor representación gráfica que favorece al análisis de los resultados.

Viendo estas gráficas podemos confirmar que la duración del potencial de acción se reduce en todos los casos, tal y como cabría esperar dados los datos experimentales y los conocimientos teóricos sobre la hipoxia.

Computacionalmente, como está mostrado en la Tabla 5, este efecto se ha representado con un factor multiplicativo dependiente de ATP_i y ADP_i que hace aumentar la actividad del canal $I_{K(ATP)}$. Esta condición provoca un aumento en la salida de K^+ hacia el medio extracelular que acelera la repolarización celular, siendo así el factor principal que provoca el acortamiento de la duración del potencial de acción.

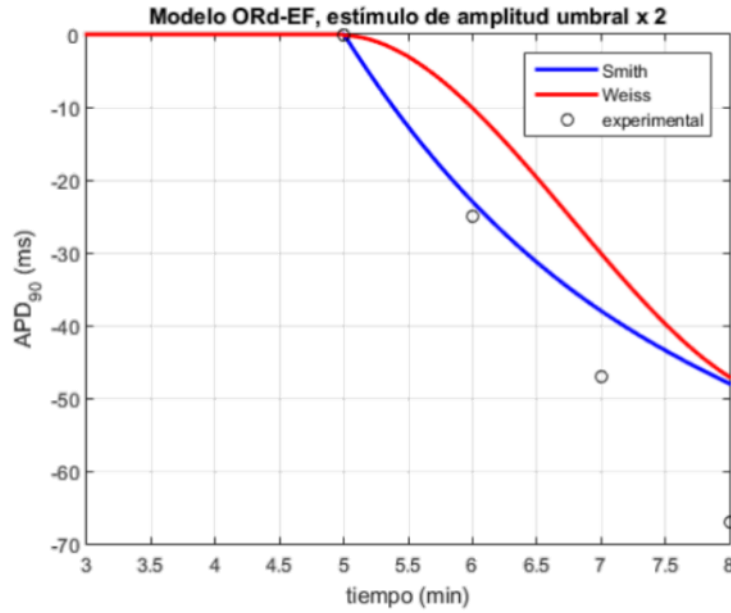


Figura 5.10. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 1 (Smith) y 3 (Weiss) según la Tabla 6 para el modelo ORd-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000).

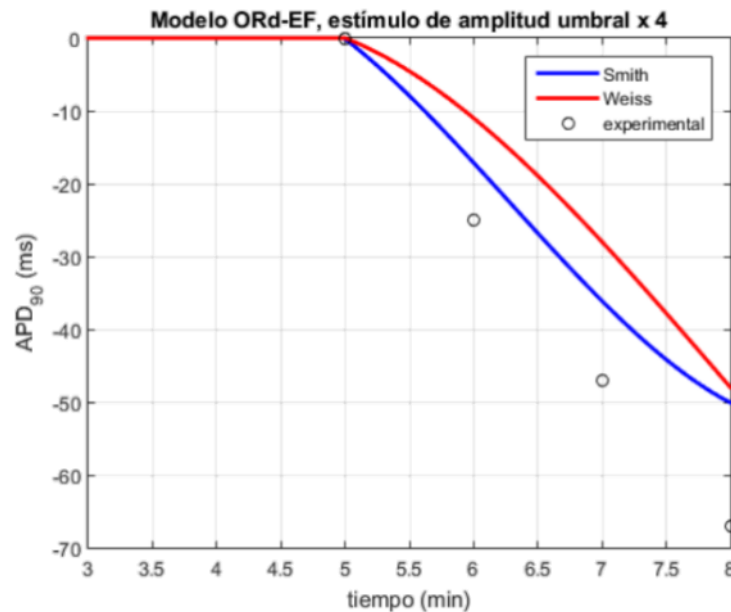


Figura 5.11. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 2 (Smith) y 4 (Weiss) según la Tabla 6 para el modelo ORd-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000).

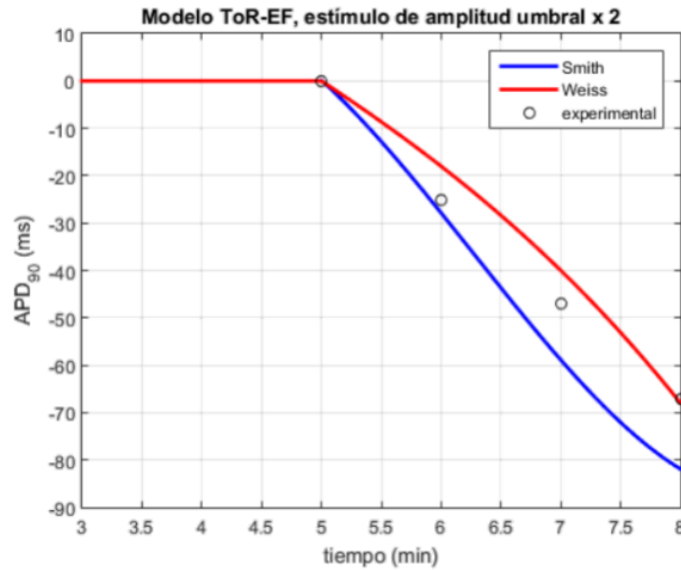


Figura 5.12. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 1 y 3 según la Tabla 6 para el modelo ToR-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000). En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.

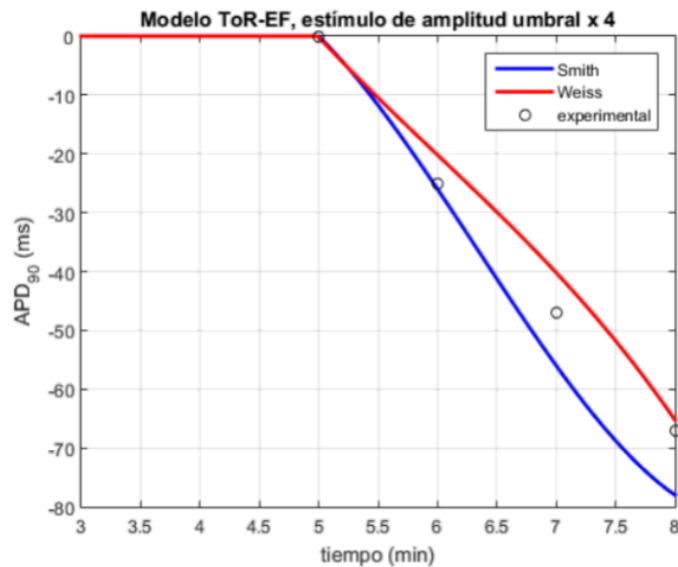


Figura 5.13. Variación de la duración del potencial de acción al 90% de repolarización durante los 3 primeros minutos de isquemia con respecto al valor control. Resultados de las simulaciones 2 y 4 según la Tabla 6 para el modelo ToR-EF. Los círculos indican los valores experimentales (Sutton et al., 2000). En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.

Ambos modelos muestran acortamientos de APD dentro de los rangos de los resultados experimentales en todas las condiciones, pero el que más se acerca a los valores medios establecidos en (Sutton et al., 2000) es el modelo de ToR-EF. Se observa que, con este modelo, en el minuto 1 de isquemia las simulaciones realizadas con el modelo de ADP de Smith son las que muestran un acortamiento más parecido a los resultados experimentales medios, sin embargo, en los minutos 2 y 3 se acercan más las simulaciones que han empleado el modelo de ADP Weiss. En todos los casos, los resultados obtenidos con el modelo ORd-EF muestran acortamientos de APD menores a los experimentales, pero es en las simulaciones que han empleado el modelo de ADP Smith donde más se acerca a ellos.

También se observa que los resultados obtenidos con los modelos computacionales tampoco muestran diferencias significativas entre las simulaciones a diferentes corrientes de estimulación. Pero sí puede verse reflejada en la mayoría de los casos la tendencia que se comentaba anteriormente de que, al emplear una corriente de estimulación mayor, el acortamiento es ligeramente inferior.

Hay que tener en cuenta que las medidas de (Sutton et al., 2000) se tomaron en un solo punto del ventrículo izquierdo en cada paciente y la duración del PA puede variar en función de la localización (Campbell-Cowan, Hilton, & Griffiths, 1988; Franz, Bargheer, & Rafflenbeul, 1987). Además, los efectos de la isquemia también son heterogéneos (Coronel, Fiolet, & Wilms-Schopman, 1988). Con todo ello, se puede confirmar que los dos modelos computacionales desarrollados en el presente TFM simulan correctamente los efectos isquémicos a efectos del acortamiento de la duración del potencial de acción.

5.2.2. Efecto de la isquemia sobre la concentración de potasio extracelular

Otro de los efectos que provoca la IMA es la hiperkalemia, es decir, el aumento de $[K^+]_o$ dado que el torrente sanguíneo no lo equilibra.

Para estudiar cómo reproducen nuestros modelos computacionales dicha acumulación de $[K^+]_o$ se han empleado los resultados obtenidos al ejecutar las dos últimas condiciones de simulación de la Tabla 6. Los datos experimentales para la validación del modelo se han obtenido de (Kazbanov et al., 2014), donde se estudiaron 10 pacientes sometidos a cirugía cardíaca y a los que se les indujo una isquemia miocárdica mediante pinzamiento aórtico durante 2.5 minutos.

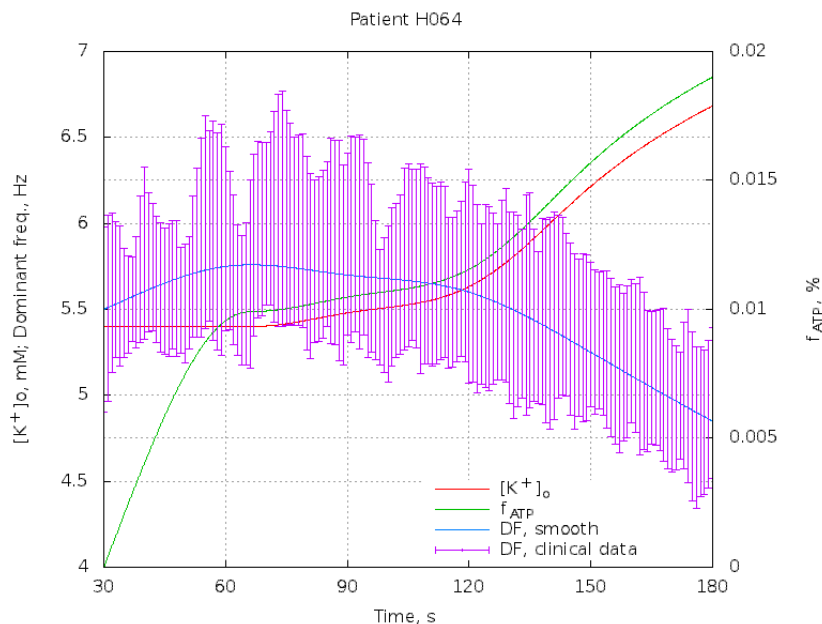


Figura 5.14. Representación de cómo la hipoxia y la hiperkalemia avanzan durante 2.5 minutos de isquemia. En rosa se muestra la frecuencia dominante en ventanas de 1s con desviación estándar; en azul se muestra la curva suavizada usada para el ajuste, en rojo se muestra la concentración extracelular de potasio y en verde la fracción de canales $I_{K(ATP)}$ activados. Fuente: (Kazbanov et al., 2014)

La Figura 5.14 del presente TFM corresponde a los resultados de uno de los diez pacientes que componían el estudio de (Kazbanov et al., 2014), donde se muestra la evolución de la concentración extracelular del potasio durante 2.5 min de isquemia. Cada paciente tiene su propia gráfica y es de ellas de donde se ha sacado la información de los valores experimentales para esta validación.

Dado que los pacientes se encontraban en estado de fibrilación ventricular antes de inducirles la isquemia miocárdica, para las simulaciones se estableció un BCL con la mayor frecuencia que permitía el modelo computacional. Es por eso que se fijó un BCL de 333 ms y los pulsos de estimulación se fijaron acorde a esas condiciones a 0.5 ms y con una corriente de dos veces el valor de la corriente umbral.

En la Tabla 9 se encuentran recogidos los valores de $[K^+]_o$ en condiciones de control y el aumento de dicha concentración en el minuto 2.5 de isquemia. Se muestra la comparación entre los resultados experimentales de (Kazbanov et al., 2014) y los obtenidos a partir de los modelos computacionales ORd-EF y ToR-EF. Cabe destacar que en los dos primeros se considera 5.4 mmol/L la concentración de partida del K^+ extracelular mientras que en ToR-EF este valor se fija en 5.0 mmol/L.

Tabla 9. Comparación entre los valores de concentración de potasio extracelular obtenidos en las simulaciones 5 y 6 (BCL 333 ms; $t_{dur_stm}=0.5ms$; corriente de estimulación $2x_{umbral}$) y los datos experimentales de (Kazbanov et al., 2014).

	Modelo ADP	Kazbanov, 2011	ORd-EF	ToR-EF
Valor Control	----	5.4 mmol/L	5.4 mmol/L	5.0 mmol/L
$\Delta [K^+]_o$ 2.5 min	Smith (Simulación 5)	[1.3-3.4] 2.2 mmol/L	4.4 mmol/L	3.5 mmol/L
$\Delta [K^+]_o$ 2.5 min	Weiss (Simulación 6)	[1.3-3.4] 2.2 mmol/L	3.6 mmol/L	2.6 mmol/L

En la Figura 5.15 y la Figura 5.16 se han representado los transitorios de concentración extracelular de potasio para ver el efecto de la hiperkalemia durante los primeros 2.5 minutos de isquemia.

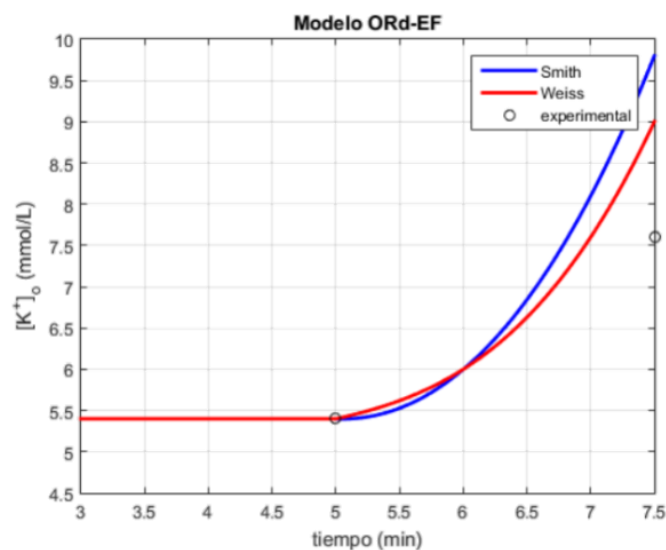


Figura 5.15. Variación de la concentración de potasio extracelular durante 2.5 minutos de isquemia empleando el modelo ORd-EF. Las condiciones de simulación son la 4 y la 5 de la Tabla 6: BCL 333 ms y pulsos de estimulación de 0.5 ms y -500 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$. En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.

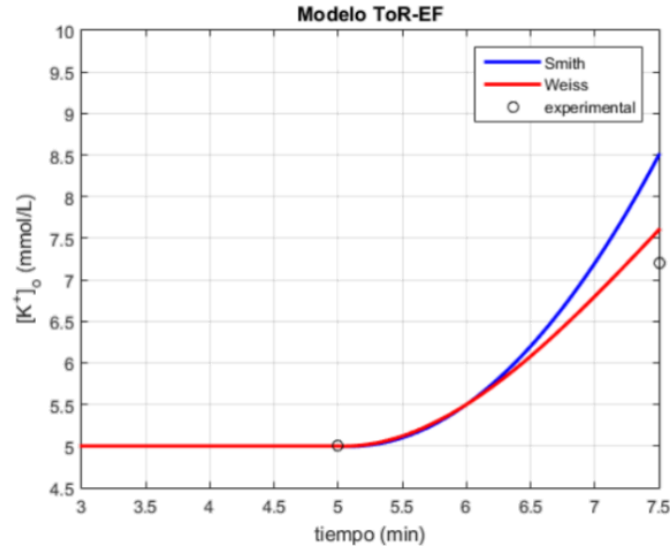


Figura 5.16. Variación de la concentración de potasio extracelular durante 2.5 minutos de isquemia empleando el modelo ToR-EF. Las condiciones de simulación son la 4 y la 5 de la Tabla 6: BCL 333 ms y pulsos de estimulación de 0.5 ms y -520 $\mu\text{A}/\mu\text{F}$. En azul se muestra el modelo de APD Smith y en rojo el de APD Weiss.

Como se puede observar en las gráficas, ambos modelos presentan unos efectos de hiperkalemia bastante similares, desde el inicio de la isquemia la concentración extracelular de potasio aumenta dado que no hay un flujo sanguíneo que lo equilibre. Comparando los valores finales (2.5 min de isquemia) con los valores experimentales observamos que ambos modelos computacionales presentan un incremento mayor con respecto a (Kazbanov et al., 2014). Sin embargo, se observa que las concentraciones obtenidas con el modelo ORd-EF son notablemente mayores que las experimentales, mientras que las del modelo ToR-EF, a pesar de ser también mayores, entran dentro de los rangos definidos. En ambos casos, empleando el modelo de ADP Weiss es cuando más se acerca la simulación al resultado experimental.

Igual que en el caso de la validación anterior, hay ciertas limitaciones con respecto a la obtención de estos valores experimentales que se deben tener en cuenta. Por ejemplo, se ha empleado un modelo de corazón homogéneo que no diferencia entre los diferentes tipos celulares y, además, solamente se considera el efecto del ATP sobre el canal $I_{K(ATP)}$. Mientras tanto, nuestros modelos computacionales han sido formulados para simular células epicárdicas y el efecto del ATP ha sido formulado también para las corrientes I_{NaK} , I_{pCa} y J_{up} .

La no consideración del efecto del ATP sobre la corriente I_{NaK} en el modelo experimental podría explicar los valores mayores de potasio extracelular obtenidos en los valores experimentales. Como se ha visto en el apartado “5.2. Resultados de los modelos en isquemia”, la bomba Na^+/K^+ reduce su actividad debido a un factor multiplicativo dependiente de ATP_i y ADP_i , lo que disminuye la entrada de K^+ del medio extracelular hacia el interior de la célula e impide que la concentración de K^+ extracelular disminuya.

Considerando esto último, podríamos justificar parcialmente ese incremento de concentración de potasio extracelular máxima obtenido en los modelos computacionales y confirmar que los resultados obtenidos simulan correctamente los efectos isquémicos a efectos de hiperkalemia.

5.5. LIMITACIONES DEL MODELO

Como cualquier modelo matemático desarrollado hasta ahora, los modelos ORd-EF y ToR-EF tienen ciertas limitaciones inherentes solamente por el hecho de simular la actividad cardiaca de forma computacional. De forma adicional, estos modelos también presentan otras limitaciones.

En primer lugar, en relación al desarrollo de los dos modelos isquémicos, el objetivo principal era reproducir los efectos electrofisiológicos que produce la isquemia miocárdica sobre una fibra 1D de epicardio cardíaco humano. Sin embargo, se han formulado únicamente los efectos que generan la variación de cinco metabolitos o partículas: el ATP y ADP intracelulares, el pH intracelular y extracelular y la lisofosfatidilcolina intracelular. Además, sus efectos isquémicos se han incluido solo en ciertas corrientes iónicas seleccionadas.

Un modelo más completo debería incluir otras sustancias celulares que también varían durante el periodo de isquemia como las acilcarnitinas de cadena larga, la fosfocreatina, el peróxido de hidrógeno o la fosfatidilcolina, entre otros. Además, su efecto debería ser considerado en la totalidad de las corrientes iónicas a las que afecte. No obstante, debe ser aclarado que en los modelos desarrollados en el presente trabajo se han excluido los efectos sobre aquellas corrientes que, a priori, tienen una menor importancia en el desarrollo del potencial de acción.

En segundo lugar, tal y como sucede en muchos modelos en humanos, a menudo la cantidad de datos experimentales que se poseen en células cardíacas humanas no son suficientes para desarrollar un modelo completo y se ha de recurrir a datos de otras especies. En este caso, para desarrollar un modelo isquémico cardíaco se ha recurrido en algunas ocasiones a datos de conejo, perro y cobaya.

En tercer lugar, y teniendo en cuenta el proceso de validación realizado, se debe considerar que el conjunto de datos experimentales empleado en los estudios de (Sutton et al., 2000) y (Kazbanov et al., 2014) es bastante pequeño. A pesar de que no es una limitación propia de nuestros modelos, es un hecho a tener en cuenta para valorar los resultados obtenidos y la comparación que se ha realizado con ellos.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

En el presente TFM se han desarrollado dos modelos computacionales en lenguaje de programación C que buscan reproducir los efectos electrofisiológicos que produce la isquemia miocárdica sobre una fibra 1D de epicardio cardíaco. Tras numerosas simulaciones con diferentes condiciones de programación y un proceso de análisis y comparación de los resultados obtenidos con datos experimentales de corazón humano, se pudo afirmar que tanto el modelo ORd-EF como el modelo ToR-EF son válidos. Concretamente, también se concluyó que el modelo ToR-EF empleando la evolución de ADP de Weiss es el que mejor reproduce cómo afecta la IMA al potencial de acción cardíaco, tanto a efectos de la variación en la duración del potencial de acción como del aumento de potasio extracelular inducido por la isquemia.

Con este trabajo también se ha probado de forma teórica que las variaciones en las concentraciones de ADP_i, ATP_i, pHi, pHo y LPC que produce la isquemia llevan a efectos electrofisiológicos muy significativos sobre las corrientes iónicas y la concentración extracelular de K⁺. Como es de esperar, dichos efectos pueden verse reflejados en los biomarcadores vinculados al potencial de acción, especialmente en el APD₉₀.

En concreto, los resultados obtenidos con el modelo ToR-EF se ajustan a los resultados experimentales con alto grado de aproximación si se combinan con la variación temporal del ADP intracelular reportado por Weiss et al (Weiss et al., 1992). El análisis de la variación temporal de la duración del potencial de acción muestra una concordancia total con los datos de Sutton et al. (Sutton et al., 2000) a los 3 minutos de producirse la oclusión coronaria, tanto para un estímulo de amplitud doble del umbral (con una reducción de la duración del potencial de acción de 68 ms en el modelo frente a los 67 ms reportados experimentalmente) como cuádruple (65 frente a 67, respectivamente). Si se adopta la variación del ADP intracelular reportada por Smith (W. Smith et al., 1995), el ajuste es sensiblemente peor (82 ms frente a 67, y 78 frente a 67, respectivamente), aunque el resultado también está dentro del rango experimental. En el caso del modelo ORd-EF, los resultados no son óptimos, aunque también están dentro de los rangos experimentales publicados.

En cuanto a la elevación de la concentración de potasio extracelular (hiperkalemia), también es el modelo ToR-EF con variación de Weiss en el ADP el que mejor resultados ofrece (incremento de 2.6 mmol/L frente a los 2.2 mmol/L experimentales al cabo de 2.5 minutos de isquemia), estando en el límite del rango experimental los resultados del modelo con variación del ADP de Smith. El modelo ORd-EF, de nuevo, ofrece peores resultados aunque para una variación del ADP de Weiss está en el límite del rango experimental reportado.

Con estos resultados se puede observar que todas las simulaciones que se han realizado empleando la variación temporal del ADP intracelular reportado por Weiss reproducen mejor, en todos los casos, los efectos isquémicos sobre el potencial de acción y el potasio extracelular de corazón humano.

Por último, el TFG desarrollado por Marta Gironés sobre célula aislada (Gironés Sangüesa, 2020) planteaba como línea futura la posibilidad de simular los efectos isquémicos en tejido cardíaco y comprobar así si se reproducían los mismos resultados obtenidos. Con las conclusiones extraídas de este TFM, se confirma la existencia de algunas diferencias entre los modelos de célula aislada y los modelos de propagación en fibra. Específicamente, el modelo ToR-EF en fibra cardíaca se ajusta mucho mejor a los resultados experimentales en comparación con el modelo ToR-GiF planteado en el citado TFG.

CAPÍTULO 7. LÍNEAS FUTURAS

Una vez finalizado el presente trabajo de fin de máster, y basándonos en las limitaciones planteadas para los dos modelos computacionales desarrollados, se proponen las siguientes líneas futuras:

- Ampliar la cantidad de metabolitos cuya concentración varía a causa de la isquemia miocárdica y cómo ello afecta a las corrientes iónicas de ambos modelos.
- Incluir los efectos de los metabolitos sobre un número mayor de corrientes iónicas en los modelos, aunque su papel sobre el potencial de acción no sea tan relevante como las ya presentes.
- Sustituir, cuando se tenga la posibilidad, los datos experimentales extraídos de modelos animales incluidos en la formulación de ambos modelos por valores de corazón humano.
- Realizar una validación más extensa de los dos modelos cuando se amplíe la cantidad de datos experimentales que se disponen sobre el efecto eléctrico de la IMA en humanos.

CAPÍTULO 8. REFERENCIAS

- Anumonwo, J. M., Horta, J., Delmar, M., Taffet, S. M., & Jalife, J. (1999). Proton and zinc effects on HERG currents. *Biophysical Journal*, 77(1), 282–298. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76889-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76889-X)
- Babenko, A. P., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., & Bryan, J. (1998). Reconstituted human cardiac KATP channels: functional identity with the native channels from the sarcolemma of human ventricular cells. *Circulation Research*, 83(11), 1132–1143. <https://doi.org/10.1161/01.res.83.11.1132>
- Bai, Y., Wang, J., Lu, Y., Shan, H., Yang, B., & Wang, Z. (2007). Phospholipid lysophosphatidylcholine as a metabolic trigger and HERG as an ionic pathway for extracellular K accumulation and «short QT syndrome» in acute myocardial ischemia. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 20(5), 417–428. <https://doi.org/10.1159/000107526>
- Barret, K., Barman, S., Boitano, S., & Brooks, H. (2010). Capítulo 31. El corazón como bomba. In *GANON. Filosofía médica*. (23ª Edición, pp. 507–520).
- Becker, J., Honerkamp, J., Hirsch, J., Fröbe, U., Schlatter, E., & Gregor, R. (1994). Analysing ion channels with hidden Markov models. *Pflügers Archiv*, 426, 328–332. <https://doi.org/10.1007/BF00374789>
- Bezania, F., & Armstrong, C. (1977). Inactivation of the sodium channel. Sodium current experiments. *Journal of General Physiology*, 70(5), 549–566. <https://doi.org/10.1085/jgp.70.5.549>
- Bonow, R., Mann, D., Zipes, D., & Libby, P. (2012). *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Elsevier Saunders (9th edición).
- Campbell-Cowan, J., Hilton, C., & Griffiths, C. (1988). Sequence of epicardial repolarisation and configuration of the T wave. *British Heart Journal*, 60, 424–433. <https://doi.org/10.1136/hrt.60.5.424>
- Carbonell-pascual, B., Godoy, E., Ferrer, A., Romero, L., & Ferrero, J. M. (2016). Comparison between Hodgkin – Huxley and Markov formulations of cardiac ion channels. *Journal of Theoretical Biology*, 399, 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.03.039>
- Cardiovascular health: Heart anatomy. Retrieved September 8, 2020, from <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/anatomia-del-corazon/>
- Cardiovascular health: Heart valves. Retrieved September 23, 2020, from <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/las-valvulas-cardiacas/>
- Carmeliet, E. (1999). Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev*, 79, 917–1017. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.3.917>
- Chorro Gascó, F. J. (2005). Modelos matemáticos y simulaciones en el estudio de las arritmias

- cardíacas. *Revista Espanola de Cardiologia*, 58(1), 6–9. <https://doi.org/10.1157/13070501>
- Clancy, C., & Rudy, Y. (1999). Linking a genetic defect to its cellular phenotype in a cardiac arrhythmia. *Nature*, 400, 566–569. <https://doi.org/10.1038/23034>
- Clancy, C., & Rudy, Y. (2002). Na⁺ channel mutation that causes both Brugada and long-QT syndrome phenotypes: a simulation study of mechanism. *Circulation*, 105, 1208–1213. <https://doi.org/10.1161/hc1002.105183>
- Clarke, K., O'Connor, A. J., & Willis, R. J. (1987). Temporal relation between energy metabolism and myocardial function during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* ., 253, 412–421. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1987.253.2.H412>
- Coronel, R., Fiolet, J., & Wilms-Schopman, F. (1988). Distribution of extracellular potassium and its relation to electrophysiologic changes during acute myocardial ischemia in the isolated perfused porcine heart. *Circulation*, 77, 1125–1138. <https://doi.org/10.1161/01.cir.77.5.1125>
- Cortassa, S., Aon, M. A., O'Rourke, B., Jacques, R., Tseng, H.-J., Marbán, E., & Winslow, R. L. (2006). A computational model integrating electrophysiology, contraction, and mitochondrial bioenergetics in the ventricular myocyte. *Biophysical Journal*, 91(4), 1564–1589. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.076174>
- de Groot, J., Wilms-Schopman, F., Opthof, T., Remme, C., & Coronel, R. (2001). Late ventricular arrhythmias during acute regional ischemia in the isolated blood perfused pig heart. Role of electrical cellular coupling. *Cardiovascular Research*, 50, 362–372. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(01\)00222-x](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(01)00222-x)
- Decker, K. F., Heijman, J., Silva, J. R., Hund, T. J., & Rudy, Y. (2009). Properties and ionic mechanisms of action potential adaptation, restitution, and accommodation in canine epicardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 296(4), H1017–H1026. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01216.2008>
- Deleau, P. (1999). Lysophosphatidylcholine, a metabolite which accumulates early in myocardium during ischemia, reduces gap junctional coupling in cardiac cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 31(7), 1391–1401. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1999.0973>
- Doering, A. E., Eisner, D. A., & Lederer, W. J. (1996). Cardiac Na-Ca exchange and pH. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 779, 182–198. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb44786.x>
- Dutta, S., Mincholé, A., Quinn, T. A., & Rodriguez, B. (2017a). Electrophysiological properties of computational human ventricular cell action potential models under acute ischemic conditions. *Prog Biophys Mol Biol*, 129, 40–52. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.02.007>
- Dutta, S., Mincholé, A., Quinn, T. A., & Rodriguez, B. (2017b). Electrophysiological properties of computational human ventricular cell action potential models under acute ischemic conditions. *Prog Biophys Mol Biol*, 129, 40–52. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.02.007>
- Egger, M., & Niggli, E. (2000). Paradoxical block of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger by extracellular protons in guinea-pig ventricular myocytes. *The Journal of Physiology*, 523(Pt 2), 353–366. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00353.x>
- Electrocardiografia.es. Retrieved June 4, 2020, from http://www.electrocardiografia.es/a_electrica.html
- Ferrero Corral, J. M. (1994). *Bioelectrónica : señales bioeléctricas* (1ª edición). Valencia, España:

Universidad Politécnica de Valencia.

- Ferrero, J. M., Trenor, B., Montilla, F., & Saiz, J. (2006). Ischemia. In *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering* (pp. 2086–2103).
- Ferrero, J., Saiz, J., & Thakor, N. . (1996). Simulation of Action Potentials From Metabolically Impaired Cardiac Myocytes. *Circ. Res.*, 79(2), 208–221. <https://doi.org/10.1161/01.RES.79.2.208>
- Ferrero, J., Trenor, B., Rodriguez, B., & Saiz, J. (2003). Electrical activity and reentry during acute regional myocardial ischemia: insights from simulations. *Int J Bifurc Chaos*, 13, 3703–3715. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2003.1279483>
- Ferrero, Jose M, Trenor, B., & Romero, L. (2014). Multiscale computational analysis of the bioelectric consequences of myocardial ischaemia and infarction, 3877007, 405–415. <https://doi.org/10.1093/europace/eut405>
- Ferrero, Jose María. (2017). Tema 2. Conducción a través de la membrana celular. In *Bioelectricidad - Grado en ingeniería biomédica* (Grado en i). Universidad Politécnica de Valencia.
- Ferrero, Jose María. (2020). Chapter 2. Advanced ion channel models. In *Modelling and simulation of bioelectric systems - Biomedical engineering master*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Franz, M., Bargheer, K., & Rafflenbeul, W. (1987). Monophasic action potential mapping in human subjects with normal electrocardiograms: direct evidence for the genesis of the T wave. *Circulation*, 75, 379–386. <https://doi.org/10.1161/01.cir.75.2.379>
- Friedrich, T., Bamberg, E., & Nagel, G. (1996). Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase pump currents in giant excised patches activated by an ATP concentration jump. *Biophysical Journal*, 71(5), 2486–2500. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79442-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79442-0)
- Gautier, M., Zhang, H., & Fearon, I. M. (2007). Peroxynitrite formation mediates LPCinduced augmentation of cardiac late sodium currents. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 44(2), 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.09.007>
- Gironés Sangüesa, M. (2020). *Modelado y simulación computacional de los efectos electrofisiológicos de la isquemia miocárdica en células cardíacas humanas aisladas*. Universitat Politècnica de València.
- Goldman, D. (1943). Potential, impedance and rectification in membranes. *The Journal of General Physiology*, 27, 37–60. <https://doi.org/10.1085/jgp.27.1.37>
- González Ascaso, A. (2019). *Development of a computational model to simulate ischemia and hiperkalemia in human ventricular cardiomyocytes*. Universitat Politècnica de València.
- Grandi, E., Pasqualini, F., & Bers, D. (2010). A novel computational model of the human ventricular action potential and Ca transient. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 48(112–121). <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.09.019>
- Hall, J., & Guyton, A. (2011). Unidad 3. El corazón. In *Tratado de fisiología médica* (Duodécima, pp. 129–142). Jackson, Mississippi.
- Hara, T. O., Laszlo, V., Andras, V., & Yoram, R. (2011). Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential : Model Formulation and Experimental Validation. *PLoS Computational Biology*, 7(5), 1–29. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002061>
- Hille, B. (1975). Ionic selectivity, saturation, and block in sodium channels. A four-barrier model. *J Gen Physiology*, 66, 535–560. <https://doi.org/10.1085/jgp.66.5.535>

- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1939). Action Potentials Recorded from Inside a Nerve Fibre. *Nature*, *144*(3651), 710–711. <https://doi.org/10.1038/144710a0>
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its applications to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.*, *177*, 500–544. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1952.sp004764>
- Irvine, L. A., Jafri, M. S., & Winslow, R. L. (1999). Cardiac sodium channel Markov model with temperature dependence and recovery from inactivation. *Biophysical Journal*, *76*, 1868–1885. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77346-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77346-7)
- Janse, Michael, & Kléber, A. (1981). Electrophysiological Changes and Ventricular Arrhythmias in the Early Phase of Regional Myocardial Ischemia. *Circulation Research*, *49*(5), 1069–1081. <https://doi.org/10.1161/01.RES.49.5.1069>
- Janse, MJ, van Capelle, F., Morsink, H., Kleber, A., Wilms-Schopman, F., Cardinal, R., & Et, A. (1980). Flow of ‘injury’ current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms. *Circulation Research*, *47*, 151–165. <https://doi.org/10.1161/01.res.47.2.151>
- Kaplinsky, E., Ogawa, S., Balke, C., & Dreifus, L. (1979). Two periods of early ventricular arrhythmia in the canine acute myocardial infarction model. *Circulation*, *60*, 397–403. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.60.2.397>
- Kazbanov, I. V, Clayton, R. H., Nash, M. P., Bradley, C. P., Paterson, D. J., Hayward, M. P., ... Panfilov, A. V. (2014). Effect of Global Cardiac Ischemia on Human Ventricular Fibrillation: Insights from a Multi-scale Mechanistic Model of the Human Heart. *Computational Biology*, *10*(11), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003891>
- Kentish, J. C., & Xiang, J. Z. (1997). Ca²⁺- and caffeine-induced Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum in rat skinned trabeculae: effects of pH and Pi. *Cardiovascular Research*, *33*(2), 314–323. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(96\)00217-9](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(96)00217-9)
- Kodama, I., Wilde, A., Janse, M., Durrer, D., & Yamada, K. (1984). Combined effects of hypoxia, hyperkalemia and acidosis on membrane action potential and excitability of guineapig ventricular muscle. *J Mol Cell Cardiol*, *247–259*. [https://doi.org/10.1016/S0022-2828\(84\)80591-X](https://doi.org/10.1016/S0022-2828(84)80591-X)
- Leon Zulceta, R. (2019). Seminario ciclo cardiaco. Universidad de San Martín de Torres.
- López Farré, A., & Macaya Miguel, C. (2009). Capítulo 2. Anatomía del corazón. In *Libro de la salud cardiovascular* (1ª edición, pp. 35–40).
- Luo, C., & Rudy, Y. (1994). A dynamic model of the cardiac ventricular action potential: Simulations of ionic currents and concentration changes. *Circ. Res.*, *74*, 1071–1096. <https://doi.org/10.1161/01.RES.74.6.1071>
- Marban, E., Kitakaze, M., Koretsune, Y., Yue, D., Chacko, V., & Pike, M. (1990). Quantification of [Ca²⁺]_i in perfused hearts. Critical evaluation of the 5F-BAPTA and nuclear magnetic resonance method as applied to the study of ischemia and reperfusion. *Circulation Research*, *66*, 1255–1267. <https://doi.org/10.1161/01.RES.66.5.1255>
- Montero, G. U., & Campos, A. U. (2006). El calcio en los miocitos cardíacos y su papel en las miocardiopatías. *Revista Costarricense de Cardiología*, *8*, 1–7. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11764/222>
- Morena, H., Janse, M., Fiolet, J., Krieger, W., Crijns, H., & Durrer, D. (1980). Comparison of the effects of regional ischemia, hypoxia, hyperkalemia, and acidosis on intracellular and extracellular potentials and metabolism in the isolated porcine heart. *Circulation Research*,

46, 634–646. <https://doi.org/10.1161/01.RES.46.5.634>

- Murphy, L., Renodin, D., Antzelevitch, C., Di Diego, J. M., & Cordeiro, J. M. (2011). Extracellular proton depression of peak and late Na⁺ current in the canine left ventricle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(3), H936–H944. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00204.2011>
- Noble, D. (2002). Modeling the heart - from genes to cells to the whole organ. *Science*, 295, 1678–1682. <https://doi.org/10.1126/science.1069881>
- Olmo, M., & Nave, R. (2017). Secuencia eléctrica del corazón. Retrieved August 14, 2020, from <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/index.html>
- Potencial de acción cardíaco. (2019). Retrieved September 30, 2020, from <https://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm>
- Ramírez, J. (2009). Fisiología cardíaca. *Revista Médica MD*, 1(3), 3–6. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2009/md093d.pdf>
- Ramon Romero, F., Mansilla Olivares, A., & Rivera Cruz, A. (2016). 2. Morfología del músculo esquelético. In *Neurofisiología*. Universidad Nacional Autónoma de México. Retrieved from <http://www.facmed.unam.mx/Libro-NeuroFisio/>
- Rodriguez, B., Trayanova, N., & Noble, D. (2006). Modeling cardiac ischemia. *Ann N Y Acad Sci*, 1080, 395–414. <https://doi.org/10.1196/annals.1380.029>
- Romero, L., Trenor, B., Yang, P. C., Saiz, J., & Clancy, C. E. (2014). In silico screening of the impact of hERG channel kinetic abnormalities on channel block and susceptibility to acquired long QT syndrome. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 72, 126–137. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.02.018>
- Rubira, C. (2009). Fisiología cardíaca. *Libro de La Salud Cardiovascular Del Hospital Clinico San Carlos y La Fundación BBVA*, 41–49. Retrieved from https://www.fbbva.es/microsites/salud_cardio/mult/fbbva_libroCorazon_cap3.pdf
- Saegusa, N., Moorhouse, E., Vaughan-jones, R. D., & Spitzer, K. W. (2011). Influence of pH on Ca²⁺ current and its control of electrical and Ca²⁺ signaling in ventricular myocytes, 537–559. <https://doi.org/10.1085/jgp.201110658>
- Saiz, J. (2020). Chapter 7. Pathological celular models. In *Modelling and simulation of bioelectric systems - Biomedical engineering master*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Sakamoto, K., Ishikawa, M., Koga, K., Urushidani, T., & Nagao, T. (2000). Energy preserving effect of l-cis diltiazem in isolated ischemic and reperfused guinea pig hearts: A 31P-NMR Study. *Jpn. J. Pharmacol.*, 83, 225–232. [https://doi.org/10.1016/S0021-5198\(19\)30588-8](https://doi.org/10.1016/S0021-5198(19)30588-8)
- Sigworth, F. (1999). Voltage gating of ion channels. *Quarterly Review of Biophysics*, 27(1), 1–40. <https://doi.org/10.1017/S0033583500002894>
- Silva, J. R., & Rudy, Y. (2005). Subunit interactiond etermines IKs participation in cardiac repolarization and repolarization reserve. *Circulation*, 112, 1384–1391. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.543306>
- Silva, J., & Rudy, Y. (2010). Multi-scale electrophysiology modeling: from atom to organ. *J Gen Physiol*, 135(575–581). <https://doi.org/10.1085/jgp.200910358>
- Smith, N. P., & Crampin, E. J. (2004). Development of models of active ion transport for whole-cell modelling: cardiac sodium-potassium pump as a case study. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 85(2–3), 387–405. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2004.01.010>
- Smith, W., Fleet, W., Johnson, T., Engle, C., & Cascio, W. (1995). The I_b phase of ventricular

- arrhythmias in ischemic in situ porcine heart is related to changes in cell-to-cell electrical coupling. *Circulation*, 92, 3051–3060. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.10.3051>
- Stengl, M., Carmeliet, E., Mubagwa, K., & Flameng, W. (1998). Modulation of transient outward current by extracellular protons and Cd²⁺ in rat and human ventricular myocytes. *The Journal of Physiology*, 511(3), 827–836. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1998.827bg.x>
- Sutton, P. M. I., Taggart, P., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., & Kallis, P. (2000). Repolarisation and refractoriness during early ischaemia in humans. *Heart*, 84, 365–369. <https://doi.org/10.1136/heart.84.4.365>
- Tamargo, J. (2013). Fármacos antiarrítmicos. In J. Flórez (Ed.), *Farmacología Humana* (6^a edición, pp. 615–632). Barcelona: Elsevier Masson.
- Tamargo, J., & Delpón, E. (2010). Capítulo 38. La función de bomba del corazón. In *Fisiología humana* (4^a edición). Mc Graw Hill.
- ten Tusscher, K. H. W. J., Noble, D., Noble, P. J., & Panfilov, A. . (20014). A model for human ventricular tissue. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 286, H 1573-H 1589. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00794.2003>
- Terkildsen, J. R., Crampin, E. J., & Smith, N. P. (2007). The balance between inactivation and activation of the Na⁺-K⁺ pump underlies the triphasic accumulation of extracellular K⁺ during myocardial ischemia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 393, H3036–H3045. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00771.2007>
- Thakor, N. V., Ferrero, J. M., Saiz, J., Gramatikov, B., & Ferrero, J. M. (1998). Electrophysiologic Models of Heart Cells and Cell Networks. *IEEE Engineering in Medicine and Biology*, 17, 73–83. <https://doi.org/10.1109/51.715490>
- Tomek, J., Bueno-Orovio, A., Passini, E., Zhou, X., Mincholé, A., Britton, O., ... Rodríguez, B. (2019). Development, calibration, and validation of a novel human ventricular myocyte model in health, disease, and drug block. *Cell Biology Computational and Systems Biology*, 8. <https://doi.org/10.7554/eLife.48890>
- Tortosa, A. (2015). Sistema cardiovascular: anatomía. *COL·LEGI OFICIAL INFERMERES I INFERMERS BARCELONA*, 1–21.
- Trayanova, N. (2011). Whole-heart modeling: applications to cardiac electrophysiology and electromechanics. *Circ Res*, 108(113–128). <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223610>.
- Trayanova, N., O'Hara, T., Bayer, J., Boyle, P., McDowell, K., & Constantino, J. (2012). Computational cardiology: how computer simulations could be used to develop new therapies and advance existing ones. *Europace*, 14, 82–89. <https://doi.org/10.1093/europace/eus277>
- Trayanova, N., & Tice, B. (2009). Integrative computational models of cardiac arrhythmias - simulating the structurally realistic heart. *Drug Discov Today Dis Models*, 6(85–91). <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2009.08.001>
- Trenor Gomis, B., Romero, L., Cardona, K., Gomis-Tena, J., Saiz, J., & Ferrero, J. J. (2011). Multiscale modeling of myocardial electrical activity: from cell to organ. *Applied Biomedical Engineering*, 3, 37–360. <https://doi.org/10.5772/22907>
- Ulam, S. (1952). Random processes and transformations. *Proceedings of the International Congress on Mathematics*, 2, 264–275.
- Undrovinas, A. I., Fleidervish, I. A., & Makielski, J. C. (1992). Inward sodium current at resting potentials in single cardiac myocytes induced by the ischemic metabolite

- lysophosphatidylcholine. *Circulation Research*, 71(5), 1231–1241. <https://doi.org/10.1161/01.res.71.5.1231>
- Valdez, A., Huaman, D., Grados, J., & Benites, N. (2019). Diseño e implementación de un dispositivo ECG para el autodiagnóstico de patologías mediante redes neuronales en Python y monitoreo inalámbrico en tiempo real. In *17th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: "Industry, Innovation, And Infrastructure for Sustainable Cities and Communities"* (pp. 1–6).
- Van der Pol, B., & Van der Mark, J. (1928). The heartbeat considered as a relaxation oscillation and an electrical model of the heart. *Edinburgh and Dublin Physiological Magazine and Journal of Science*, 6, 763–775. <https://doi.org/10.1080/14786441108564652>
- Von Neumann, J. (1951). *The General and Logical Theory of Automata. International Series in Operations Research and Management Science*. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6281-2_4
- Walker, M. L., & Rosenbaum, D. S. (2003). Repolarization alternans: implications for the mechanism and prevention of sudden cardiac death. *Cardiovascular Research*, 57(3), 599–614. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(02\)00737-x](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(02)00737-x)
- Watson, C. L., & Gold, M. R. (1995). Effect of intracellular and extracellular acidosis on sodium current in ventricular myocytes. *The American Journal of Physiology*, 268(4 Pt 2), H1749–H1756. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1995.268.4.H1749>
- Weiss, J. N., Venkatesh, N., & Lamp, S. T. (1992). ATP-sensitive K⁺ channels and cellular K⁺ loss in hypoxic and ischaemic mammalian ventricle. *J Physiol.*, 447, 649–673. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019022>
- Wilson, L. D., & Rosenbaum, D. S. (2007). Mechanisms of arrhythmogenic cardiac alternans. *Europace*, 9, vi77–vi82. <https://doi.org/10.1093/europace/eum210>
- Wit, A., Janse, M., & Mount, K. (1993). Ventricular arrhythmias in the acute phase of myocardial ischemia and infarction. *The Ventricular Arrhythmias of Ischemia and Infarction: Electrophysiological Mechanisms.*, Futura Publishing Co.
- Xu, Z., & Rozanski, G. J. (1997). Proton inhibition of transient outward potassium current in rat ventricular myocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 29(2), 481–490. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0292>
- Zygmunt, A. C., Nesterenko, V. V., Rajamani, S., Hu, D., Barajas-Martinez, H., Belardinelli, L., & Antzelevitch, C. (2011). Mechanisms of atrial-selective block of Na⁺ channels by ranolazine: I. Experimental analysis of the use-dependent block. *AJP Hear.Circ.Physiol.* <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00242.2011>

PRESUPUESTO

La valoración económica del presente trabajo de fin de máster se muestra en el siguiente presupuesto, resultado de un estudio económico en el que se han tenido en cuenta los costes de personal y los de ejecución.

1. COSTES DE PERSONAL

Los costes de personal representan el supuesto salario que recibirían las personas que han formado parte del proyecto a efectos de mano de obra. Este valor se obtiene del producto del número de horas trabajadas por su coste unitario, que se ha obtenido a partir de un salario base que variará en función del perfil profesional. A continuación, se ha calculado el coste imputable total considerando también la cuota patronal. Es decir, el coste total de cada trabajador es igual a su salario bruto más los costes de la empresa sobre la base de cotización.

Según el Ministerio de Trabajo, Migraciones y Seguridad Social (2019) los costes de la empresa sobre la base de cotización corresponden a un 31.4% y engloban:

- 23.6% de contingencias comunes tales como accidente no laboral, enfermedad común, permiso de maternidad o paternidad, jubilación, etc.
- 5.5% de tipo general por desempleo
- 0.2% de fondo de Garantía Salarial (FOGASA)
- 0.6% de formación profesional
- 1.5% de accidente de trabajo y enfermedades profesionales (adecuado a los perfiles según el Clasificador Nacional de Actividades económicas)

El presupuesto de este proyecto se ha realizado teniendo en cuenta que en él han trabajado una ingeniera biomédica, la cual se ha encargado de elaborar el trabajo, y un doctor ingeniero industrial, cuya misión era tutorizar y supervisar dicho trabajo.

Por una parte, el sueldo para el doctor ingeniero industrial, según las retribuciones correspondientes al profesorado universitario definidas en la ley de presupuestos para el ejercicio de 2019 y teniendo en cuenta los trienios correspondientes, sería aproximadamente 2800 €/mes. Por otra parte, el sueldo de la ingeniera biomédica será de 1400 €.

Una jornada laboral completa dispone de 40 horas semanales que, multiplicadas por 52 semanas que tiene el año, hacen un total de 2080 horas/año. Si restamos, por regla general, 21 días de vacaciones y 14 días de festivos, se queda un total de 1800 horas/año.

Con ambas consideraciones, se obtiene que los precios en bruto por hora trabajada serán 21.78€ y 10.98€. Por último, sumando el 31.4% correspondiente a los costes de la empresa sobre la base de cotización, que obtiene un total de 28,62 €/h para el doctor ingeniero industrial y 14.43€/h para la ingeniera biomédica.

Los costes de personal quedan detallados en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Costes de personal para cada individuo involucrado en el proyecto.

Descripción del recurso	Unidad	Precio unitario	Cantidad	Coste total
Ingeniero biomédico (estudiante)	€/h	14.43 €	450 h	6493.5 €
Doctor ingeniero industrial (tutor)	€/h	28.62€	60 h	1717.2 €
			TOTAL	8210.7 €

2. COSTES DE EJECUCIÓN

Los costes de ejecución todos aquellos costes que hagan referencia al material empleado, ya sean costes de software como programas informáticos o costes de hardware como equipos informáticos. Los valores de los precios quedan definidos para noviembre de 2020.

Para el cálculo del precio total se ha considerado el factor de amortización, correspondiente al periodo de uso de cada material entre su duración (ej. Licencia del software, vida útil del hardware).

En la Tabla 2.1. se han representado los costes de software y en la Tabla 2.2, los de hardware.

2.1. Costes de software

Tabla 2.1. Costes del software empleado en el proyecto teniendo en cuenta la duración de la licencia y el periodo de amortización.

Descripción del recurso	Unidad	Precio unitario	Cantidad	Duración licencia	Periodo de uso	Factor de amort.	Total
Microsoft Office 365	€/licencia	69 €	1	1 año	10 meses	10/12	57.5 €
MATLAB R2018b	€/licencia	800 €	1	1 año	12 meses	12/12	800 €
Windows 10 Home	€/licencia	145 €	1	4 años	12 meses	12/48	26.25 €
						TOTAL	883.75 €

2.2. Costes de hardware

Tabla 2.2. Costes del hardware empleado en el proyecto teniendo en cuenta su vida útil y el periodo de amortización.

Descripción del recurso	Unidad	Precio unitario	Cantidad	Vida útil	Periodo de uso	Factor de amort.	Total
Portátil ASUS TP 410	€	800 €	1	4 años	12 meses	12/48	200 €
						TOTAL	200 €

3. COSTE TOTAL DEL PROYECTO

La unión de los costes de personal y los costes de ejecución da lugar al coste final del proyecto, el cual se muestra en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Coste total del proyecto incluyendo los costes de personal y los costes de ejecución.

Concepto		Coste total	
Costes de personal	Concepto	Coste imputable	
	Ingeniero biomédico	6493.5	
	Doctor ingeniero industrial	1717.2	
	Total gastos de personal		8210.7 €
Costes de ejecución	Concepto	Coste imputable	
	Costes software	883.75	
	Costes hardware	200	
	Total gastos de ejecución		1083.75 €
COSTE TOTAL			9294.45 €