



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial

Estudio y mejora de las estrategias para la credibilidad de modelos matemáticos biomédicos: Validación del efecto de fármacos en ensayos de seguridad farmacológica cardíaca

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Biomédica

AUTOR/A: Ortigosa Calatayud, Carla

Tutor/a: Trénor Gomis, Beatriz Ana

Cotutor/a: Mora Fenoll, M<sup>a</sup> Teresa

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

## AGRADECIMIENTOS

---

A Bea y Maite,

por su implicación y compromiso con el proyecto, y por su paciencia conmigo. Por ser unas tutoras maravillosas, de las que no podría haber pedido más. Por ser una inspiración y un ejemplo a seguir.

A mis padres,

por ser mi referencia, mi ánimo y mi todo. Por esa confianza ciega en que lograré siempre lo que me proponga. Por ser los pilares sobre los que me apoyo a cada paso que doy. Espero que estéis tan orgullosos de ser mis padres como yo lo estoy de ser vuestra hija.

A Raquel,

por ser el espejo en el que me miro, por ser mi cómplice y mi testigo a cada etapa.

A mis abuelos,

por el orgullo que sienten de sus nietas universitarias y por lo mucho que se alegran cada vez que apruebo un examen, siempre.

A mi iaia,

porque me habría encantado contarte que por fin acabé este trabajo y que ya tienes una nieta ingeniera.

A mis amigas,

por todo el tiempo que han tenido que escucharme hablar sobre este trabajo y por estar siempre a mi lado.

Este trabajo no habría sido posible sin todos vosotros, es tan mío como vuestro.

# ÍNDICE

---

## DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto

## ÍNDICE DE LA MEMORIA

RESUMEN .....	I
RESUM .....	II
ABSTRACT .....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABLAS .....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS .....	VII
<b>CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
2.1. ANATOMÍA CARDÍACA.....	3
2.1.1. <i>Morfología externa</i> .....	3
2.1.2. <i>Morfología interna</i> .....	3
2.1.3. <i>Sistema cardiovascular</i> .....	5
2.1.4. <i>Sistema de conducción eléctrico</i> .....	6
2.2. ELECTROFISIOLOGÍA DEL CORAZÓN .....	7
2.2.1. <i>El potencial de acción y la membrana celular</i> .....	7
2.2.2. <i>Propagación del potencial de acción</i> .....	10
2.2.3. <i>Electrocardiograma</i> .....	11
2.3. SEGURIDAD FARMACOLÓGICA.....	13
2.3.1. <i>Torsade de Pointes</i> .....	14
2.3.2. <i>Iniciativa CiPA</i> .....	14
2.4. MODELADO ELÉCTRICO CELULAR.....	15
2.5. VERIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MODELADO CARDÍACO .....	18
<b>CAPÍTULO 3. OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO 4. MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
4.1. MODELOS COMPUTACIONALES CARDÍACOS.....	21
4.1.1. <i>Modelo O'Hara et al. (2011) modificado (ORdmm)</i> .....	21
4.1.2. <i>Poblaciones de modelos: hombre y mujer</i> .....	23
4.1.3. <i>Modelos 3D de ventrículo sano: hombre y mujer</i> .....	24
4.2. MODELADO DEL EFECTO FARMACOLÓGICO .....	26
4.2.1. <i>Descripción del modelado farmacológico</i> .....	26
4.2.2. <i>Validación experimental y ajuste</i> .....	27
4.2.3. <i>Protocolo de estimulación y ejecución de las simulaciones</i> .....	28
4.3. CÁLCULO DE BIOMARCADORES.....	29
4.4. GENERACIÓN DEL CLASIFICADOR EN MATLAB .....	31
4.4.1. <i>Métricas de evaluación de modelos</i> .....	33

<b>CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
5.1. VALIDACIÓN CELULAR .....	35
5.1.1. <i>Ibutilide</i> .....	35
5.1.2. <i>Bepridil</i> .....	36
5.1.3. <i>Astemizole</i> .....	38
5.1.3. <i>Terfenadine</i> .....	39
5.1.5. <i>Nitrendipine</i> .....	40
5.1.6. <i>Verapamil</i> .....	40
5.2. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN MODELOS POBLACIONALES.....	42
5.2.1. <i>Herramienta de clasificación</i> .....	51
5.2.2. <i>Modelos de regresión</i> .....	57
5.3. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN MODELOS 3D .....	60
5.3.1. <i>Verapamil</i> .....	62
5.3.2. <i>Bepridil</i> .....	63
<b>CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>65</b>
<b>CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>66</b>
<b>CAPÍTULO 8. ANEXOS.....</b>	<b>70</b>
ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030 .....	70
ANEXO II. VALORES IC <sub>50</sub> Y H: MEDIANAS .....	71
ANEXO III. VALORES IC <sub>50</sub> Y H: INICIATIVA CIPA.....	72

## **ÍNDICE DEL PRESUPUESTO**

<b>PRESUPUESTO DETALLADO.....</b>	<b>74</b>
COSTE DE MANO DE OBRA .....	74
COSTE DE EJECUCIÓN .....	74
COSTE TOTAL.....	75

---

**MEMORIA**

---

## RESUMEN

---

La arritmia conocida como *Torsade de Pointes* (TdP) es una taquicardia ventricular potencialmente mortal que puede ser inducida por fármacos. Este hecho ha conllevado la retirada de ciertos medicamentos del mercado, perjudicando a la industria farmacéutica. Por ello, se han desarrollado ensayos de seguridad farmacológica para evaluar el riesgo de TdP y detener a tiempo el desarrollo y uso de moléculas proarrítmicas. La baja precisión mostrada por los primeros tests desarrollados para identificar adecuadamente el riesgo de TdP en fármacos es el punto de partida de iniciativas como CiPA (Comprehensive in-vitro Proarrhythmic Assays), que surgen con la intención de promover, en parte, el uso de modelos y la simulación computacional para mejorar las clasificaciones.

Las agencias reguladoras y la industria farmacéutica son reticentes a implementar los modelos matemáticos, a pesar de las ventajas que ofrece esta metodología, por lo que demostrar la verosimilitud de los resultados predichos por los modelos sería una manera de ganar mayor credibilidad y fomentar su uso.

El objetivo del presente trabajo es la validación de una serie de fármacos incluidos en la iniciativa CiPA para garantizar la correcta evaluación *in silico* del riesgo de TdP en las moléculas y definir las pautas a seguir. Para este propósito se utiliza un modelo ventricular humano de potencial de acción y se validará con datos experimentales obtenidos de la literatura.

Los resultados muestran que los modelos computacionales son capaces de reproducir los experimentos escogidos de la literatura, obteniéndose valores similares a todos los niveles de simulación, resultando esencial realizar un ajuste de los modelos para simular adecuadamente el comportamiento electrofisiológico de los medicamentos. Respecto a la clasificación en función de su riesgo torsadogénico, se consigue predecir correctamente la clase de 12 de los 15 fármacos empleados.

En conclusión, los modelos matemáticos pueden resultar una herramienta útil a la hora de predecir el riesgo torsadogénico de los fármacos, contribuyendo al desarrollo de nuevos medicamentos, y las pautas a seguir para evaluar la efectividad de estos recursos podría ser la desarrollada en el presente documento.

Este trabajo se enmarca dentro del proyecto europeo SimCardioTest (*Simulation of Cardiac Devices & Drugs for in-silico Testing and Certification*).

**Palabras clave:** Simulación; modelos matemáticos; arritmias; seguridad farmacológica; validación; electrofisiología

## RESUM

---

L'arrítmia coneguda com a *Torsade de Pointes* (TdP) és una taquicàrdia ventricular potencialment mortal que pot ser induïda per fàrmacs. Aquest fet ha comportat la retirada de certs medicaments del mercat, perjudicant la indústria farmacèutica. Per això, s'han desenvolupat assajos de seguretat farmacològica per avaluar el risc de TdP i aturar a temps el desenvolupament i ús de molècules proarrítmiques. La baixa precisió mostrada pels primers tests desenvolupats per identificar adequadament el risc de TdP en fàrmacs és el punt de partida d'iniciatives com CiPA (Comprehensive in-vitro Proarrhythmic Assays), que sorgeixen amb la intenció de promoure, en part, l'ús de models i la simulació computacional per millorar les classificacions.

Les agències reguladores i la indústria farmacèutica són reticents a implementar els models matemàtics, malgrat els avantatges que ofereix aquesta metodologia, per la qual cosa demostrar la versemblança dels resultats predits pels models seria una manera de guanyar més credibilitat i fomentar-ne l'ús.

L'objectiu del present treball és la validació d'una sèrie de fàrmacs inclosos en la iniciativa CiPA per garantir la correcta avaluació *in silico* del risc de TdP en les molècules i definir les pautes a seguir. Per a aquest propòsit s'utilitza un model ventricular humà de potencial d'acció i es validarà amb dades experimentals obtingudes de la literatura.

Els resultats mostren que els models computacionals són capaços de reproduir els experiments escollits de la literatura, obtenint-se valors similars a tots els nivells de simulació, resultant essencial realitzar un ajust dels models per simular adequadament el comportament electrofisiològic dels medicaments. Respecte a la classificació en funció del seu risc torsadogènic, s'aconsegueix predir correctament la classe de 12 dels 15 fàrmacs emprats.

En conclusió, els models matemàtics poden resultar una eina útil a l'hora de predir el risc torsadogènic dels fàrmacs, contribuint al desenvolupament de nous medicaments, i les pautes a seguir per avaluar l'efectivitat d'aquests recursos podria ser la desenvolupada en el present document.

Aquest treball es troba dins del projecte europeu SimCardioTest (*Simulation of Cardiac Devices & Drugs for in-silico Testing and Certification*).

**Paraules clau:** Simulació; models matemàtics; arrítmies; seguretat farmacològica; validació; electrofisiologia

## ABSTRACT

---

The arrhythmia known as *Torsade de Pointes* (TdP) is a life-threatening ventricular tachycardia that can be induced by drugs. This has led to the withdrawal of certain medicines from the market, harming the pharmaceutical industry. Therefore, drug safety assays have been developed to assess the risk of TdP and stop the development and use of proarrhythmic molecules in time. The low accuracy shown by the first tests developed to adequately identify the risk of TdP in drugs is the starting point for initiatives such as CiPA (Comprehensive in-vitro Proarrhythmic Assays), which arise with the intention of promoting, in part, the use of models and computational simulation to improve classifications.

Regulatory agencies and the pharmaceutical industry are reluctant to implement mathematical models, despite the advantages offered by this methodology, so demonstrating the plausibility of the results predicted by the models would be a way to gain greater credibility and encourage their use.

The aim of this work is the validation of a series of drugs included in the CiPA initiative to ensure the correct *in silico* assessment of the risk of TdP in molecules and to define the guidelines to be followed. For this purpose, a human ventricular model of action potential is used and validated with experimental data obtained from the literature.

The results show that the computational models are able to reproduce the experiments chosen from the literature, obtaining similar values at all simulation levels, making it essential to adjust the models to adequately simulate the electrophysiological behavior of the drugs. Regarding the classification according to their torsadogenic risk, it is possible to correctly predict the class of 12 of the 15 drugs used.

In conclusion, mathematical models can be a useful tool when predicting the torsadogenic risk of drugs, contributing to the development of new drugs, and the guidelines to be followed to evaluate the effectiveness of these resources could be the one developed in this document.

This work is part of the European SimCardioTest project (*Simulation of Cardiac Devices & Drugs for in-silico Testing and Certification*).

**Keywords:** Simulation; mathematical models; arrhythmias; drug safety; validation; electrophysiology

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfología interna del corazón: pared, cavidades y válvulas (Marieb, 2008).....	4
Figura 2. Circuitos del sistema cardiovascular. (Marieb, 2008).....	5
Figura 3. Sistema de conducción eléctrico cardíaco. (Chiu, 2017).....	6
Figura 4. Canales iónicos, bombas y co-transportadores principales. Modificado de Rudy et al. (2012)....	8
Figura 5. Potencial de acción de cardiomiocito ventricular y los canales iónicos implicados (Deplón Mosquera, 2018) .....	9
Figura 6. Propagación del potencial de acción en el tejido cardíaco (Mohrman and Heller, 2007) .....	10
Figura 7. Posición de los electrodos de un ECG estándar y el triángulo de Einthoven. Modificado de Saini & Gupta (2021).....	12
Figura 8. Ondas del electrocardiograma (ECG). Modificado de Antonio López Farré & Carlos Macaya Miguel, D. (2007). .....	12
Figura 9. Relación entre el potencial de acción (PA) y el electrocardiograma (ECG) (Deplón Mosquera, 2018).....	13
Figura 10. Mecanismo de aparición de la Torsade de Pointes (TdP). Modificado de Höjer & Seger (2017) .....	14
Figura 11. Los cuatro componentes de la iniciativa CiPA. Modificado de Vicente et al. (2017).....	15
Figura 12. Modelo eléctrico de un canal iónico para determinado ion S. Elaboración propia.....	16
Figura 13. Modelo eléctrico de una población de canales iónicos para determinado ion S. Elaboración propia. ....	17
Figura 14. Modelo eléctrico del cardiomiocito. Elaboración propia. ....	17
Figura 15. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (O'Hara et al., 2011). ....	22
Figura 16. Potencial de acción de las poblaciones de modelos de hombre y mujer calibradas antes de aplicar el fármaco (control) .....	24
Figura 17. Medidas sobre el PA y el transitorio de calcio para la obtención de los biomarcadores. Elaboración propia.....	30
Figura 18. Medidas sobre el pseudoECG para la obtención del biomarcador empleado en las simulaciones 3D. Elaboración propia.....	31
Figura 19. Representación esquemática del método para construir el clasificador. ....	32
Figura 20. Efecto de 1000 nM de Ibutilide sobre el potencial de acción.....	36
Figura 21. Efecto de 1000 nM de Bepridil sobre el potencial de acción.....	38
Figura 22. Efecto de 0,3 nM de Astemizole sobre el potencial de acción .....	39
Figura 23. Efecto de 10 nM de Terfenadine sobre el potencial de acción.....	40
Figura 24. Efecto de 3,02 nM de Nitrendipine sobre el potencial de acción.....	40
Figura 25. Efecto de 100 nM de Verapamil sobre el potencial de acción .....	41
Figura 26. Efecto del Ibutilide (riesgo alto) en el potencial de acción a concentración de 1000 nM.....	43
Figura 27. Efecto del Bepridil (riesgo alto) en el potencial de acción a concentración de 1000 nM.....	44
Figura 28. Efecto del Astemizole (riesgo intermedio) en el PA a concentración de 0,3 nM.....	45
Figura 29. Efecto del Terfenadine (riesgo intermedio) en el PA a concentración de 10 nM.....	45
Figura 30. Efecto del Nitrendipine (riesgo bajo) en el PA a concentración de 3,02 nM.....	46

<i>Figura 31. Efecto del Verapamil (riesgo bajo) en el PA a concentración de 100 nM .....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 32. APD<sub>90</sub> relativo tras la aplicación de los fármacos en la población de modelos de hombre .....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 33. APD<sub>90</sub> relativo tras la aplicación de los fármacos en la población de modelos de mujer.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 34. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo alto .....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 35. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo intermedio.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 36. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo bajo .....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 37. TdP scores del entrenamiento inicial .....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 38. TdP scores iniciales del conjunto de test para hombre.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 39. Porcentajes de modelos clasificados inicialmente en las diferentes categorías de riesgo para los fármacos de test en la población de hombre .....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 40. APD<sub>90</sub> de los fármacos de entrenamiento a las 3 concentraciones.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 41. CA<sub>I-SYST</sub> de los fármacos de entrenamiento a las 3 concentraciones .....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 42. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos empleando los datos de entrada iniciales normalizados .....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 43. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos incluyendo los datos de mujer como entrada .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 44. TdP scores del conjunto de test de hombre con datos de hombre y mujer como entrada normalizados .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 45. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos empleando los datos de entrada iniciales reducidos y normalizados .....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 46. Porcentajes de modelos obtenidos del último clasificador.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 47. Resultados de TdP scores para los modelos de regresión escogidos .....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 48. Clasificación obtenida tras emplear un modelo de regresión (Fine Tree).....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 49. pseudoECG de control para hombre .....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 50. pseudoECG de control para mujer .....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 51. Modelo bi-ventricular de hombre en control en diversos instantes del último latido simulado</i>	<i>61</i>
<i>Figura 52. Derivaciones estándar del ECG para el control de hombre.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 53. pseudoECG tras la aplicación de Verapamil para el modelo de hombre .....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 54. pseudoECG tras la aplicación de Verapamil para el modelo de mujer .....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 55. pseudoECG tras la aplicación de Bepridil para el modelo de hombre.....</i>	<i>64</i>

## LISTA DE TABLAS

---

<i>Tabla 1. Canales y corrientes principales que intervienen en el PA</i> .....	8
<i>Tabla 2. Modificaciones de las conductancias de los canales en el modelo ORdmm (Dutta et al., 2016).</i> 22	
<i>Tabla 3. Modificaciones en la corriente de sodio INa. Comparación entre las ecuaciones de ORd y ORdmm. (Mora et al., 2017)</i> .....	23
<i>Tabla 4. Modificaciones en las conductancias empleadas en las simulaciones 3D</i> .....	25
<i>Tabla 5. Fármacos CiPA de entrenamiento y test. El riesgo real asociado a los fármacos CiPA se muestra por colores: riesgo alto en rojo, riesgo intermedio en amarillo y riesgo bajo en verde.</i> .....	32
<i>Tabla 6. Fármacos CiPA seleccionados para la validación</i> .....	35
<i>Tabla 7. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Ibutilide. Las columnas, de izquierda a derecha, contienen: la concentración experimental, los periodos de estimulación, los resultados experimentales, los resultados de las simulaciones empleando como parámetros los valores de Medianas (Anexo 2) y CiPA (Anexo 3) y los resultados finales tras ajustar los parámetros.</i> .....	36
<i>Tabla 8. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Bepridil</i> .....	37
<i>Tabla 9. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Astemizole</i> .....	38
<i>Tabla 10. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Terfenadine</i> .....	39
<i>Tabla 11. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Verapamil</i> .....	41
<i>Tabla 12. Valores de IC<sub>50</sub> (nM) y h finales tras el ajuste</i> .....	41
<i>Tabla 13. Matriz de confusión y métricas de desempeño de los clasificadores</i> .....	57
<i>Tabla 14. Métricas de desempeño de los modelos de regresión escogidos</i> .....	59
<i>Tabla 15. Factores de escala aplicados al modelo de ORdmm para simular el efecto del bloqueo del Verapamil en una geometría bi-ventricular</i> .....	62
<i>Tabla 16. Factores de escala aplicados al modelo de ORdmm para simular el efecto del bloqueo del Bepridil en una geometría bi-ventricular</i> .....	64
<i>Tabla 17. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)</i> .....	70
<i>Tabla 18. Valores de IC<sub>50</sub> (en nM) y h obtenidos como la mediana de los valores existentes en la literatura</i> .....	71
<i>Tabla 19. Valores de IC<sub>50</sub> (en nM) y h establecidos por la iniciativa CiPA.</i> .....	72
<i>Tabla 20. Coste desglosado de la mano de obra.</i> .....	74
<i>Tabla 21. Coste de ejecución imputable sin IVA desglosado: hardware.</i> .....	74
<i>Tabla 22. Coste de ejecución imputable sin IVA desglosado: software.</i> .....	75
<i>Tabla 23. Coste total del proyecto</i> .....	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

AD	Aurícula derecha
AI	Aurícula izquierda
APD <sub>x</sub>	Duración del potencial de acción tras un X% de repolarización
ASME	<i>American Society of Mechanical Engineers</i>
AV	Auriculo-Ventricular
BCL / CL	Duración del ciclo cardíaco ( <i>Basic Cycle Length</i> )
CA <sub>i-SYST</sub>	Calcio sistólico
CA <sub>i-DIAST</sub>	Calcio diastólico
CaMKII	Proteína quinasa II dependiente del complejo Ca <sup>2+</sup> /calmodulina
C <sub>m</sub>	Capacidad eléctrica de la membrana celular
[C] <sub>fármaco</sub>	Concentración del fármaco
CiPA	<i>Comprehensive in-vitro Proarrhythmia Assay</i>
CM&S	Modelado computacional y simulación
COU	Contexto de uso específico
CTD <sub>x</sub>	Duración del transitorio de calcio tras un X% de recuperación
E <sub>s</sub>	Potencial de equilibrio de un ion S
EAD	Despolarización temprana ( <i>Early After Depolarization</i> )
EFTPC	Concentración plasmática terapéutica libre efectiva ( <i>Effective Free Therapeutic Plasma Concentration</i> )
EM <sub>w</sub>	Ventana electromecánica
FDA	Administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos ( <i>Food and Drug Administration U.S.</i> )
FV	Fibrilación ventricular
G <sub>s</sub>	Conductancia de la población de canales del ion S
G <sub>canal,fármaco</sub>	Conductancia de la población de canales tras la aplicación de un fármaco
h	Coeficiente de Hill
h <sub>ss</sub>	Inactivación de la corriente de Na <sup>+</sup>
h <sub>ssp</sub>	Inactivación de la corriente de Na <sup>+</sup> por fosforilación de la CaMK
hERG	Gen codificante del canal de potasio I <sub>Kr</sub> ( <i>Human Ether-à-go-go Related Gene</i> )
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
ORd	Modelo de O'Hara-Rudy
ORdmm	Modelo de O'Hara-Rudy modificado
IA	Inteligencia Artificial

$[IC_{50}]_{\text{canal}}$	Concentración inhibitoria del 50% del canal ( <i>Half-Maximal Inhibitory Concentration</i> )
$I_s$	Corriente del ion S a través de un canal
$I_C$	Corriente del condensador de membrana
$I_{CaL}$	Corriente de $Ca^{2+}$ de los canales de tipo L (canales lentos de $Ca^{2+}$ )
$I_f$	Corriente marcapasos o <i>funny current</i>
$I_{Na}$	Corriente rápida de $Na^+$
$I_{NaL}$	Corriente lenta de $Na^+$
$I_{K1}$	Componente rectificadora interna de la corriente de $K^+$
$I_{Kr}$	Componente rápida de la corriente de $K^+$ de rectificación tardía
$I_{Ks}$	Componente lenta de la corriente de $K^+$ de rectificación tardía
$I_p$	Corriente generada por intercambiadores, bombas iónicas y cotransportadores
$I_{stim}$	Corriente de estimulación externa
$I_{to}$	Corriente transitoria de $K^+$
JSR	Unión del retículo sarcoplásmico
$j_{ss}$	Inactivación de la corriente rápida de $Na^+$
MAE	Error absoluto medio ( <i>Mean Absolute Error</i> )
ML	Aprendizaje automático ( <i>Machine Learning</i> )
MSE	Error cuadrático medio ( <i>Mean Square Error</i> )
$m_{ss}$	Activación de la corriente rápida de $Na^+$
Myo	Mioplasma / Sarcoplasma
NSR	Red sarcoplásmica reticular
ORd	Modelo O'Hara-Rudy del potencial de acción del cardiomiocito humano sano
ORdmm	Modelo O'Hara-Rudy modificado del potencial de acción del cardiomiocito humano sano
PA	Potencial de acción
qNet	Corriente de red
R	Constante de los gases ideales
RMSE	Raíz del error cuadrático medio ( <i>Root Mean Squared Error</i> )
SA	Sinusal / Sinoauricular
SimCardioTest	<i>Simulation of Cardiac Devices &amp; Drugs for in-silico Testing and Certification</i>
SS	Subespacio
T	Temperatura
TdP	<i>Torsade de Pointes</i>

TFG	Trabajo Final de Grado
TRI <sub>x-x</sub>	Triangulación APD
V	Potencial eléctrico
VD	Ventrículo derecho
VI	Ventrículo izquierdo
V <sub>e</sub>	Potencial extracelular
V <sub>i</sub>	Potencial intracelular
V <sub>m</sub>	Potencial de membrana
V&V	Verificación y validación
V&V40	Estándar de ASME para la V&V de modelos computacionales con uso biomédico
Z <sub>s</sub>	Valencia del ion S
γ <sub>s</sub>	Conductancia unitaria de un canal iónico específico de un ion S

# CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

---

La industria farmacéutica, responsable de la investigación, desarrollo, elaboración y distribución de medicamentos, es uno de los sectores más potentes a nivel mundial. Aun con ello, el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos es costoso, transcurriendo entre diez y quince años desde la investigación inicial al lanzamiento del compuesto al mercado, donde entre seis u ocho años se destinan a las tareas comprendidas entre los ensayos de Fase I hasta el lanzamiento (Saldívar-González et al., 2017).

El riesgo de aprobar fármacos con el potencial de producir *Torsade de pointes* (TdP), una arritmia sumamente peligrosa, ha conllevado la retirada de determinados medicamentos del mercado, perjudicando a la industria farmacéutica. La TdP se define como un tipo de taquicardia ventricular polimórfica, asociada a un intervalo QT prolongado y que puede degenerar en fibrilación ventricular (FV) y muerte súbita; producida por alteraciones en los canales iónicos de la membrana celular (Camm et al., 2000).

Este efecto adverso que presentan determinados compuestos conlleva que la relación riesgo-beneficio pueda resultar desfavorable y deba ser tenida en cuenta, tanto a la hora de prescribir estos medicamentos como en la autorización de la salida al mercado de nuevos fármacos. Por ello, las agencias reguladoras exigen la identificación del posible riesgo de prolongación de QT durante la investigación preclínica y clínica en el desarrollo de medicamentos (Hernández-Arroyo et al., 2015).

Tras la baja precisión mostrada por los primeros tests desarrollados para identificar el riesgo de TdP en las moléculas, surgen iniciativas como CiPA (*Comprehensive in-vitro Proarrhythmia Assay*), que pretende conseguir una evaluación integrada y mecanicista del riesgo torsadogénico, empleando para ello la simulación y los modelos computacionales (Colatsky et al., 2016).

La reticencia de las agencias reguladoras y la industria farmacéutica a implementar esta metodología, a pesar de sus beneficios, es el punto de partida de este trabajo, que tiene como finalidad constatar la fiabilidad del uso de modelos matemáticos para el estudio del efecto de fármacos en el ventrículo humano. Un enfoque para que los modelos computacionales ganen mayor credibilidad puede ser demostrar la verosimilitud de los resultados predichos por estos. De esta idea se comienzan a desarrollar nuevas directrices establecidas por el estándar ASME (*American Society of Mechanical Engineers*) para la evaluación de la credibilidad de modelos computacionales de uso biomédico.

En estas ideas se fundamenta el desarrollo del presente TFG, que pretende mostrar una estrategia de validación de los modelos in silico para el estudio y predicción de la seguridad torsadogénica de los compuestos farmacológicos. El objetivo del presente trabajo, por tanto, será la validación de una serie de fármacos CiPA para demostrar la verosimilitud de los resultados de las herramientas predictivas y definir las pautas a seguir, empleando para este propósito el modelado computacional y simulación y tomando datos experimentales de la literatura.

La correcta evaluación in silico del riesgo de TdP en los estudios en fases tempranas de nuevos medicamentos permitirían extraer conclusiones complementarias a los ensayos clínicos en animales y humanos, pudiendo convertirse en una alternativa viable a estos ensayos, agilizando el proceso de aprobación de nuevos fármacos y estimulando la industria farmacéutica. Esto conlleva beneficios tanto sociales como económicos, pues se pretende que estas herramientas predictivas contribuyan al aumento de la producción de medicamentos seguros.

El desarrollo de modelos matemáticos que describen fenómenos bioeléctricos y de programas de software que resuelven dichos modelos son objeto de este Trabajo Fin de Grado y constituyen una tarea propia de la Ingeniería Biomédica. Las competencias específicas descritas en el título de Grado en Ingeniería Biomédica impartido por la Universidad Politécnica de Valencia son numerosas y para este trabajo se destaca la número 14, que es la que se desarrolla y justifica precisamente, y que describe lo siguiente:

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

Respecto a los Objetivos y metas de Desarrollo Sostenibles (ODS), aprobados como parte de la Agenda 2030 por todos los Estados Miembros de Naciones Unidas, este Trabajo Fin de Grado se alinea con el objetivo 3 de Salud y Bienestar (Anexo I: *Tabla 17*).

## CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

---

### 2.1. ANATOMÍA CARDÍACA

El sistema cardiovascular se define como el sistema de principal de transporte e intercambio de nutrientes, oxígeno, hormonas y otras sustancias de interés, entre otras funciones, como encargarse de mantener la temperatura corporal. Este sistema se constituye de la sangre, tejido líquido que funciona como medio de transporte de sustancias; el corazón, órgano propulsor de este líquido, y los vasos sanguíneos, que actúan como conductos por los que repartir la sangre por el cuerpo.

El corazón, por tanto, se define como órgano que impulsa la sangre por el interior del organismo a través de los vasos sanguíneos, y se encuentra compuesto en esencia por tejido muscular (miocardio) y, en menor proporción, por tejido conectivo y fibroso (tejido de soporte, válvulas, etc.) (Saturno Chiu, 2017). Este órgano se encuentra situado en el tórax, por detrás del esternón y delante del esófago, la aorta y la columna vertebral y descansa sobre el diafragma, músculo que separa las cavidades torácica y abdominal, en el espacio entre ambos pulmones (Antonio López Farré & Carlos Macaya Miguel, 2007).

#### 2.1.1. Morfología externa

El corazón tiene forma de cono invertido con la punta, llamada ápex, dirigida hacia la izquierda; y en la base de este cono invertido se encuentran los vasos sanguíneos que conducen la sangre al corazón y también los que la transportan desde el corazón hasta otros órganos.

Los vasos que se ocupan de llevar la sangre al corazón son las venas cavas superior e inferior y las venas pulmonares: las primeras, que recogen la sangre venosa de todo el cuerpo, desembocan en la aurícula derecha (AD); mientras que las segundas, que transportan la sangre oxigenada desde los pulmones, terminan en la aurícula izquierda (AI).

Los vasos encargados de la salida de la sangre del corazón hacia el resto del organismo son la arteria pulmonar y la aorta: la primera, que comienza en el ventrículo derecho (VD), se encarga de transportar la sangre del corazón a los pulmones, para ser oxigenada; la segunda, que sale del ventrículo izquierdo (VI), distribuye la sangre a los vasos que suministrarán esta al resto del cuerpo.

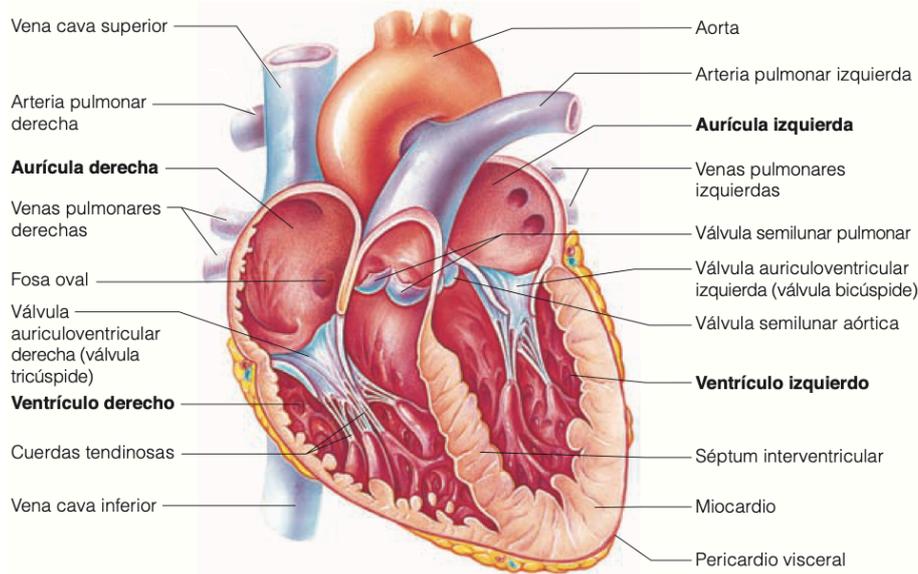
En la superficie cardíaca se halla la grasa por la que avanzan las arterias y las venas que irrigan el corazón, conocidas como las arterias coronarias, que transportan la sangre oxigenada al músculo cardíaco, y las venas coronarias, que la sustraen.

El peso del corazón varía según la edad, tamaño y el propio peso de la persona, considerándose que este pesa el 0,45% del peso corporal en el hombre, y el 0,40% en la mujer. Por tanto, en el caso de un adulto de estatura media, el peso del corazón oscilará entre 250-350 g en hombres y 200-300 g en mujeres (Ortega Reyes et al., 2021).

#### 2.1.2. Morfología interna

La parte interna del corazón está constituida por cuatro cavidades: dos en el lado derecho y dos en el izquierdo. Las cavidades dispuestas en la parte superior se denominan aurículas, y las situadas en la parte inferior, ventrículos.

En condiciones normales, las cavidades derechas y las izquierdas no se comunican entre sí, pues se encuentran divididas por un tabique muscular: el que divide las aurículas es denominado tabique interauricular y el tabique interventricular se corresponde con el que separa ambos ventrículos.



**Figura 1. Morfología interna del corazón: pared, cavidades y válvulas (Marieb, 2008)**

#### **2.1.2.1. Pared cardíaca**

Las aurículas y ventrículos están constituidos, de fuera hacia dentro, por el pericardio, la hoja interna o miocardio y una capa muy fina o endocardio. Esta última capa reviste toda la superficie interna del corazón, incluidas las válvulas. La pared de las aurículas es más fina que la de los ventrículos, debido a que en las segundas cavidades la sangre debe impulsarse hacia al resto del cuerpo.

La diferencia de grosor de la capa muscular se acentúa entre los ventrículos: mientras que el ventrículo derecho tiene un espesor de 3-4 mm, el izquierdo alcanza aproximadamente los 10 mm. Esta diferencia se debe a que, al expulsar la sangre durante la sístole, el VI impulsa la sangre hacia toda la periferia del organismo mientras que el VD lo hace hacia los pulmones.

#### **2.1.2.2. Válvulas**

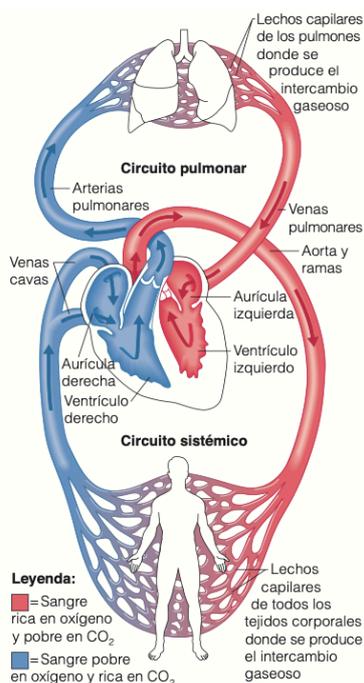
Las válvulas tricúspide y mitral, situadas en los orificios que comunican las aurículas y los ventrículos, tienen una morfología diferente de las válvulas pulmonar y aórtica, que se encuentran entre los ventrículos y las arterias, aunque la función para todas ellas es la misma: permitir el paso de la sangre a su apertura e impedir que la sangre retroceda a su cierre. Las válvulas están constituidas por un tejido membranoso fino y están revestidas por el endocardio, al igual que las demás cavidades del corazón.

Las válvulas tricúspide y mitral, por su lado, constan de un anillo que las sujeta al orificio situado entre la aurícula y el ventrículo. Desde el anillo surgen los velos, de cuyo borde salen unas finas prolongaciones, cuerdas tendinosas, que se insertan en la musculatura del ventrículo. Estas cuerdas sirven para sujetar el tejido valvular, de tal manera que, cuando se cierran las válvulas, impiden que los velos se prolapsen hacia las aurículas. La válvula tricúspide tiene tres velos de diferentes tamaños, separados por una zona más estrecha denominada comisura. La válvula mitral presenta dos velos, anterior y posterior, y muestra dos comisuras.

Las válvulas pulmonar y aórtica, por otro lado, constan también de una zona de unión con el orificio situado, en este caso, entre el ventrículo y la arteria pulmonar o la arteria aorta, respectivamente. Estas válvulas se componen asimismo de tres velos situados uno al lado del otro, denominados sigmoideos, y que tienen forma de bolsillo con la apertura en la cavidad de la arteria pulmonar o de la aorta y los fondos hacia el ventrículo. Esta disposición permite, durante la sístole, que la válvula se pueda abrir completamente, y los bolsillos se cierran y queden pegados a la pared, permitiendo así el paso de la sangre del ventrículo a la arteria. Durante la diástole los bolsillos se llenan de sangre, adosándose unos velos a los otros, cerrando el orificio valvular e impidiendo que la sangre retroceda a los ventrículos.

### 2.1.3. Sistema cardiovascular

El sistema cardiovascular se compone de dos circuitos: el mayor (o sistémico) y el menor (o pulmonar).



**Figura 2. Circuitos del sistema cardiovascular. (Marieb, 2008)**

Por un lado, el circuito mayor es el que se inicia en el VI, saliendo por la arteria aorta hasta llegar a la aurícula derecha (AD), llegando a esta por las venas cavas. La sangre circula por la arteria aorta, que se bifurca en arterias, que se van haciendo más pequeñas, llegando a las arteriolas, y ramificándose en capilares, donde se realiza el intercambio de sustancias con las células. De aquí, la sangre se transporta a través de las vénulas, que se agrupan en venas hasta llegar a las venas cavas.

Por otro lado, el circuito menor es el que comienza en el VD, conectando con los pulmones y retornando al corazón por las venas pulmonares a la AI. La sangre sale del VD por la arteria pulmonar y se ramifica hasta llegar a los pulmones, donde ocurre el intercambio gaseoso entre los capilares arteriales y los alvéolos pulmonares. Tras ello, la sangre oxigenada es conducida por las vénulas, que se agrupan hasta llegar a las venas pulmonares, y desemboca en la AD.

El movimiento coordinado de aurículas y ventrículos permite que la sangre circule por ambos circuitos a cada latido, conocido como ciclo cardíaco. Este proceso presenta dos fases diferenciadas: la sístole y la diástole.

La diástole se define como la fase en la que las cavidades están relajadas y las válvulas entre aurículas y ventrículos se encuentran abiertas, permitiendo el llenado de los segundos. El 70% de la capacidad de esta cámara se realiza de forma pasiva, mientras que el 30% restante ocurre por la contracción de las aurículas.

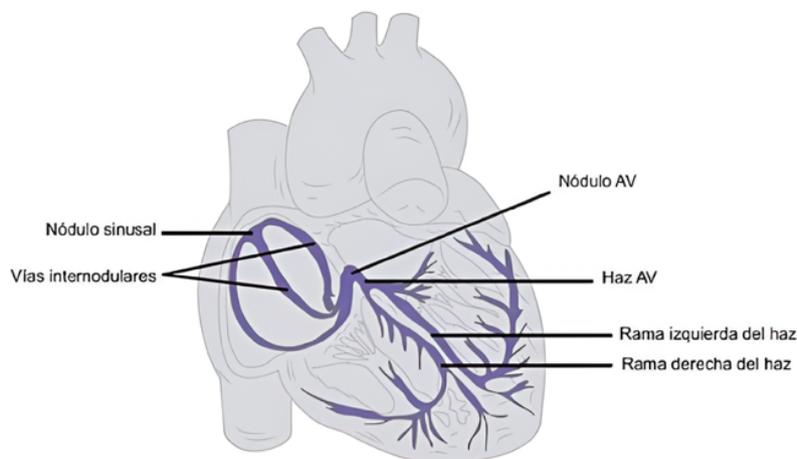
La sístole se conoce como la fase de contracción de las cavidades: la sístole auricular, contracción de las aurículas y sístole ventricular, la de los ventrículos. La primera precede a la segunda; la sístole auricular es la que permite el llenado completo de los ventrículos, con el consecuente vaciado de las aurículas; mientras que la sístole ventricular es la que permite impulsar la sangre por ambos circuitos: del VD la sangre circulará hacia los pulmones, mientras que del VI la sangre partirá hacia el resto del organismo.

#### 2.1.4. Sistema de conducción eléctrico

Las células miocárdicas son células excitables y su contracción se asocia a un potencial de acción (PA), que es un cambio reversible en el potencial de membrana que se transmite de célula a célula en forma de impulso eléctrico.

En el tejido cardíaco, existen además un conjunto de células miocárdicas capaces de disparar PA de manera autónoma y periódica. Estas células serán consideradas el marcapaso natural del corazón, y serán sus potenciales los que generen corrientes axiales que estimulen los cardiomiocitos del miocardio auricular. Estas células se reconocen como nodo sinusal (SA), cuyo estímulo provocará que los cardiomiocitos auriculares se despolaricen y disparen PA que se propaguen hacia la zona del anillo auriculoventricular, dando lugar a la sístole auricular (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

Este impulso pasa por el nodo auriculoventricular (AV), localizado en la zona de unión entre la aurícula y ventrículo derechos, y cuya función principal es retrasar la transmisión del impulso eléctrico emitido por el SA para posibilitar que la sangre llegue a los ventrículos antes de que estos se contraigan. Este nodo constituye la única vía de paso del estímulo eléctrico desde las aurículas a los ventrículos, pues el anillo auriculoventricular está constituido por células no excitables. El estímulo se transmite por el nodo AV y viaja al Haz de His, que atraviesa el tabique auriculoventricular y que se encuentra bifurcado en dos ramas (derecha e izquierda), que descienden por el tabique interventricular hasta el ápex, extendiéndose por sus respectivos ventrículos. Estas dos bifurcaciones se ramifican en la pared de los ventrículos, hasta pequeñas fibras llamadas fibras de Purkinje, encargadas de propagar el impulso a las células contráctiles del miocardio. Los puntos de conexión entre estas fibras y los cardiomiocitos se conocen como uniones Purkinje-músculo, propagándose así los potenciales de acción a lo largo del miocardio y generando el latido (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).



**Figura 3. Sistema de conducción eléctrico cardíaco. (Chiu, 2017)**

## 2.2. ELECTROFISIOLOGÍA DEL CORAZÓN

La contracción sincronizada del corazón a cada latido se da gracias a la propagación del potencial de acción a lo largo de todo el miocardio, a través del sistema de conducción especializado y transmitiéndose al resto de cardiomiocitos mediante las uniones Purkinje-músculo y la generación de un frente de onda de despolarización. Los mecanismos que subyacen al correcto funcionamiento de este proceso se definen en este apartado, atendiendo a la importancia de la conducción de los iones a través de la membrana, que generan las diferencias de potencial, pudiendo desencadenar los PA que provocan la contracción del órgano.

### 2.2.1. El potencial de acción y la membrana celular

Las células musculares cardiacas o cardiomiocitos son células excitables que en respuesta a un estímulo generan un potencial de acción (PA) asociado a una respuesta contráctil. Un PA es un cambio reversible en el potencial de membrana producido por la activación secuencial de diversas corrientes iónicas generadas por la difusión de iones a través de la membrana a favor de su gradiente electroquímico (Deplón Mosquera, 2018).

La membrana plasmática o membrana celular se conoce por ser una bicapa lipídica semipermeable que delimita el dominio de la célula. En esta se incluyen múltiples proteínas, la mayoría implicadas en regular el transporte de sustancias a través de ella, entre el medio intracelular (interior de la célula) y el extracelular (exterior de la célula). Estas proteínas, que constituyen los mecanismos de conducción iónica a través de la membrana, toman el nombre de canales iónicos, intercambiadores, co-transportadores y bombas de transporte. Estos pueden ser activos o pasivos según necesiten o no aporte energético externo para su funcionamiento.

La conducción iónica, es decir, el intercambio de iones entre medios intra y extracelular, se explica por dos principios básicos: la difusión y el campo eléctrico. La difusión, por un lado, explica que las partículas tienden a desplazarse de una zona mayor concentración a otra con menor concentración de estas. El campo eléctrico, por otro lado, define que las fuerzas debidas a las cargas eléctricas, que pueden ser positivas o negativas, provocan tendencias en el movimiento de las partículas cargadas, donde estas tendrán afinidad por zonas de carga opuesta. Así pues, estos dos fenómenos provocan que, ambos espacios, el intracelular y el extracelular, con sus concentraciones de iones con carga eléctrica, intercambien estos con tal de equilibrar ambos medios. Las diferencias entre estos generan el denominado potencial eléctrico o voltaje (V) como medida escalar, y se denomina potencial de membrana a la diferencia de potencial medido a ambos lados de la membrana.

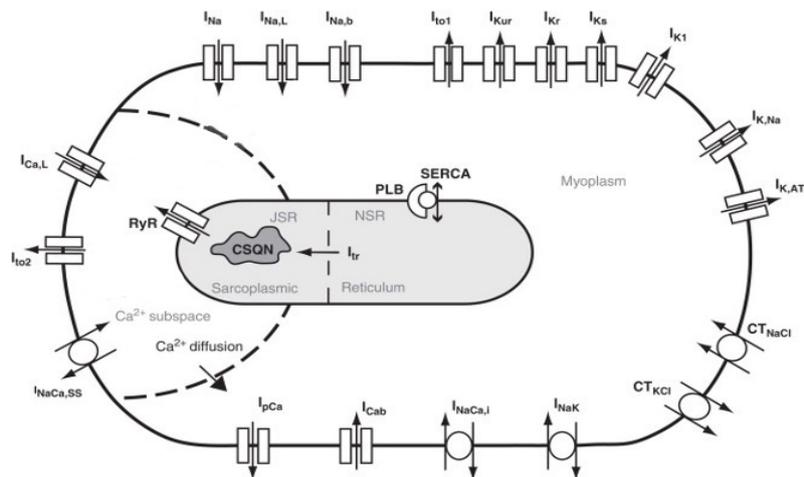
El potencial de membrana ( $V_m$ ) se calcula como la diferencia entre el potencial intracelular ( $V_i$ ) y el extracelular ( $V_e$ ), tal que:

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

Las células auriculares, ventriculares y del sistema de conducción His-Purkinje, cuando están en reposo, se encuentran a un potencial de membrana muy negativo, de en torno a -85/-80 mV. Así, cuando la célula es excitada, la membrana de esta se despolariza, y si se supera el potencial umbral, de  $\approx$ -65 mV, se genera un PA. Durante el potencial de acción, en la fase de despolarización, el potencial celular pasa de ser muy negativo a estar cargado positivamente, alcanzando +20 ó +30 mV, para posteriormente recuperar de nuevo los -85 mV durante el proceso de repolarización celular.

Los iones que intervienen principalmente en el cambio de potencial de membrana que induce el PA son: el sodio ( $\text{Na}^+$ ), el calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), el cloro ( $\text{Cl}^-$ ) y el potasio ( $\text{K}^+$ ); por lo que los canales iónicos y demás mecanismos de transporte de interés serán los relacionados con el transporte de estos iones de un medio a otro, y se corresponden con:

- **Canales iónicos de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ :** específicos para cada ion, estos canales poseen un poro central a través del cual pueden circular los iones de forma selectiva, siempre que el canal se encuentre en estado abierto.
- **Intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ :** extrae un ion de  $\text{Ca}^{2+}$  de la célula e introduce tres iones de  $\text{Na}^+$ . No necesita de un aporte de energía externa para funcionar, pues aprovecha el gradiente de concentración favorable del  $\text{Na}^+$  para desplazar el  $\text{Ca}^{2+}$  en contra de su gradiente de difusión. Este proceso supone el principal mecanismo de extracción de  $\text{Ca}^{2+}$  de la célula.
- **Co-transportador  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$ :** se encarga de introducir un ion de  $\text{Cl}^-$  en contra de gradiente aprovechando el gradiente de concentración favorable del  $\text{K}^+$ , extrayendo un ion de este tipo, convirtiéndose en el mecanismo básico de extracción de  $\text{Cl}^-$  de la célula.
- **Bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ :** extrae tres iones de  $\text{Na}^+$  de la célula e introduce dos iones de  $\text{K}^+$ , en ambos casos en contra del gradiente de concentración, por lo que necesita energía obtenida a través de la desfosforilación del ATP. Esta bomba supone el mecanismo básico de extracción de  $\text{Na}^+$  e introducción de  $\text{K}^+$  en la célula.



**Figura 4. Canales iónicos, bombas y co-transportadores principales. Modificado de Rudy et al. (2012)**

Los canales iónicos más importantes que intervienen en el PA se muestran a continuación, junto a la corriente que generan y su implicación en el potencial de acción, así como el mecanismo de apertura y cierre de estos:

Corriente	Canal	Mecanismo de puerta
$I_{K1}$	Canal $\text{K}^+$ (rectificador hacia el interior)	Voltaje
$I_{Ks}$	Canal $\text{K}^+$ (rectificador retrasado)	Voltaje
$I_{Kr}$	Canal $\text{K}^+$ (componente rápida del rectificador tardío)	Voltaje
$I_{Na}/I_{NaL}$	Canal $\text{Na}^+$ (componente rápida / lenta)	Voltaje
$I_{to}$	Canal $\text{K}^+$ (transitorio hacia fuera)	Voltaje
$I_{CaL}$	Canal $\text{Ca}^{2+}$ (lento hacia dentro)	Voltaje
$I_f$	Canal $\text{Na}^+$ (corriente de marcapasos)	Voltaje y Ligando

**Tabla 1. Canales y corrientes principales que intervienen en el PA**

Los canales iónicos específicos a cada ion pueden estar formados por compuertas dependientes del potencial de membrana (del voltaje) o dependientes de ligandos. Los canales voltaje-dependientes presentan compuertas que pueden ser de activación o de inactivación, según si con el incremento del potencial aumenta o disminuye la probabilidad de apertura de la compuerta, respectivamente. Respecto a los canales iónicos específicos a cada ion dependientes de ligandos, también llamados canales operados por receptor, estos presentan compuertas que son activadas por algunos retrotransmisores u otras moléculas específicas de señalización.

El PA se caracteriza por 5 fases diferenciadas: la *fase 0* de despolarización de la membrana; las *fases 1-3* de repolarización; y finalmente la *fase 4*, que se corresponde con el estado de reposo:

- **Fase 0:** llamada primera fase de rápida despolarización del PA, ocurre como consecuencia de la entrada masiva de iones  $\text{Na}^+$  a través de los canales de  $\text{Na}^+$  voltaje-dependientes que generan la corriente rápida de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ). Estos canales se activan-abren con la despolarización, permiten el paso de  $\text{Na}^+$  durante 1 ó 2 ms, para pasar a estado inactivo (estado cerrado no conductor).

- **Fase 1:** o de repolarización rápida inicial, es debida a la disminución de la corriente  $I_{\text{Na}}$  al pasar sus canales a estado inactivo, y a la aparición de la corriente transitoria de  $\text{K}^+$  ( $I_{\text{to}}$ ).

- **Fase 2:** llamada también de meseta, esta representa un equilibrio entre dos corrientes de entrada y tres de salida.

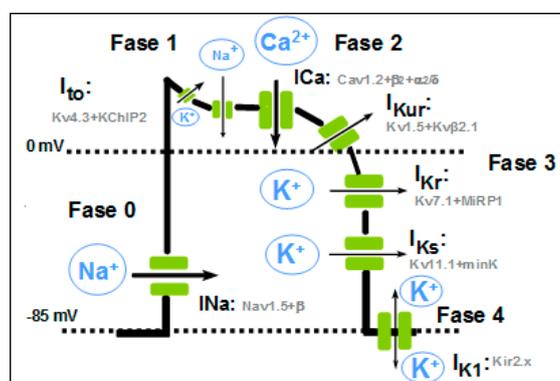
Las dos corrientes de entrada son: una corriente lenta de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{NaL}}$ ), a través de la pequeña fracción de canales que no se han inactivado completamente al final de la fase 0 y la de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de canales tipo-L que genera la corriente  $I_{\text{CaL}}$ .

Por otro lado, las tres corrientes de salida se conocen como rectificadoras tardías de  $\text{K}^+$ , con tres componentes entendidas como: la corriente de activación ultrarrápida ( $I_{\text{Kur}}$ ), la corriente rápida ( $I_{\text{Kr}}$ ) y la lenta ( $I_{\text{Ks}}$ ).

- **Fase 3:** la repolarización se acelera debido a la inactivación de las corrientes de entrada de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ ; por lo que esta fase se explica por un predominio de las corrientes repolarizantes de  $\text{K}^+$  activadas durante la *fase 2*.

Al final esta fase se activa una corriente de  $\text{K}^+$  denominada de rectificación interna ( $I_{\text{K1}}$ ), que determina la fase final de la repolarización y restaura el nivel del potencial de membrana ( $V_m$ ) a su valor en reposo durante la *fase 4* o diástole.

- **Fase 4:** conocida como reposo, el  $V_m$  permanece estable, en torno a los -80 mV hasta que la célula es despolarizada de nuevo. Así, esta fase será isoelectrica para las células musculares auriculares y ventriculares, al no ser automáticas, y se corresponderá con el periodo entre dos PA. En esta fase se restituyen las concentraciones iónicas a ambos lados de la membrana gracias al funcionamiento de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  y el intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ .



**Figura 5. Potencial de acción de cardiomiocito ventricular y los canales iónicos implicados (Deplón Mosquera, 2018)**

El potencial de acción no presentará la misma morfología exacta en todas las células cardíacas y esta dependerá de la densidad de canales y la dominancia de unas corrientes frente a otras. Así, por ejemplo, aquellas células cardíacas en las que la corriente  $I_{to}$  predomina (como en His-Purkinje y epicardio ventricular) presentan una *fase 1* muy marcada.

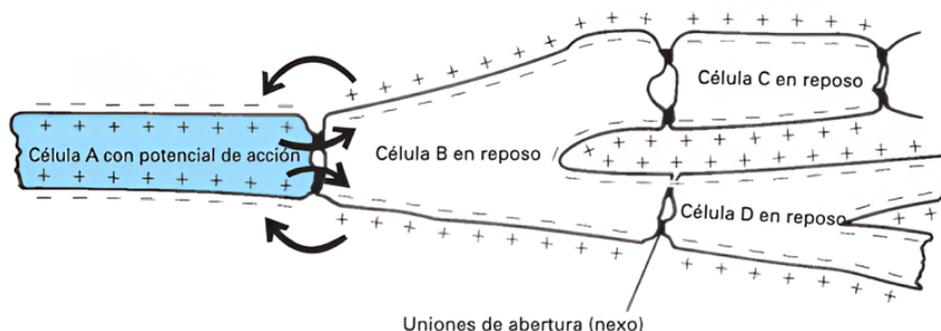
### 2.2.2. Propagación del potencial de acción

Los potenciales de acción se conducen sobre las superficies celulares debido a que la despolarización activa de cualquier región de la membrana genera corrientes locales en los medios intra y extracelulares. Estas corrientes, a su vez, despolarizan de manera pasiva las áreas inmediatas adyacentes de la membrana hasta alcanzar el umbral de voltaje necesario para desencadenar la despolarización activa.

En el corazón, las células del músculo cardíaco funcionan como un sincitio funcional gracias a que estas se encuentran conectadas extremo con extremo mediante estructuras de discos intercalados (Chen, 2017). Estos discos contienen: desmosomas, que suponen unas inserciones mecánicas sólidas entre las membranas celulares adyacentes por proteínas; y uniones intercelulares comunicantes o *gap junctions*, que son canales formados por la proteína conexina, que permiten la conexión eléctrica de baja resistencia entre las células adyacentes (Mohrman and Heller, 2007).

En la *Figura 6* más adelante se muestra de forma esquemática la manera en que estas uniones permiten la propagación del potencial de acción de célula a célula. La célula A se ilustra en la fase de meseta de un potencial de acción, con más cargas positivas dentro que fuera, mientras que el resto de células se encuentran en reposo, con mayor carga negativa en el interior celular.

En las *gap junctions*, la acción electrostática causa un flujo de corriente local (movimiento de iones) entre la membrana despolarizada de la célula A activa y la membrana de la célula B en reposo, indicado por las flechas en la figura. Este movimiento de ion tiende a eliminar la diferencia de carga a través de la membrana en reposo, por ejemplo, despolariza la membrana de la célula B. Las corrientes locales de la célula A activa terminan despolarizando la membrana de la célula B a nivel del umbral, cerca de la *gap junction*, desencadenando un PA en esta región, que se conducirá sobre la célula B. Este proceso continúa a través de todo el miocardio, por lo que, un potencial de acción que se inicia en cualquier lugar en el músculo cardíaco se conduce de célula a célula a través de todo este (Deplón Mosquera, 2018).



**Figura 6. Propagación del potencial de acción en el tejido cardíaco (Mohrman and Heller, 2007)**

### 2.2.3. Electrocardiograma

El cuerpo humano se considera un conductor de volumen finito y homogéneo donde el vector cardíaco dipolar que contiene forma un campo eléctrico variable en la superficie del cuerpo. Los potenciales medidos por un electrocardiógrafo en la superficie como deflexiones tanto en dirección positiva como negativa se denominan electrocardiograma (ECG), ideado por Einthoven.

El ECG es, por tanto, una prueba que registra la actividad eléctrica del corazón desde la superficie corporal del paciente gracias al electrocardiógrafo (Chen, 2017). La actividad eléctrica del corazón recogida en el ECG presenta las diferentes ondas o deflexiones que se corresponden con el recorrido de los impulsos eléctricos a lo largo de las estructuras cardíacas.

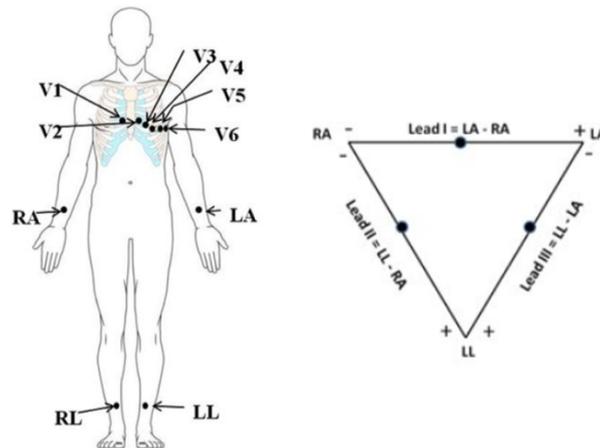
Como medio para conectar la superficie del cuerpo y un electrocardiógrafo, se utiliza un par de electrodos, o una combinación de varios electrodos a través de cables, que forman una red resistiva. Siempre que dos electrodos se encuentren en diferentes líneas de igual potencial del campo eléctrico generado por el vector cardíaco, se medirá un gradiente de potencial, que se conocerá como derivación del ECG. Una combinación de diferentes pares de electrodos en diferentes posiciones generalmente producirá diferentes gradientes de potencial debido a la dependencia espacial del campo eléctrico generado por el vector cardíaco, obteniéndose varias derivaciones.

Por tanto, para poder establecer criterios para la evaluación clínica del ECG se toman ciertas posiciones estratégicas de los electrodos que darán lugar a las derivaciones estándar del ECG:

- Las derivaciones bipolares I, II y III: medidas entre los electrodos de los brazos derecho e izquierdo y el del pie izquierdo; dando lugar al triángulo de Einthoven.
- Las derivaciones aumentadas unipolares aVL, aVR y aVF: medidas entre los brazos derecho e izquierdo y el pie izquierdo respecto a los promedios de las derivaciones I, II y III.
- Las derivaciones precordiales V1-V6: medidas de los electrodos del tórax respecto al centro terminal de Wilson.

El centro terminal de Wilson se define como el baricentro del triángulo de Einthoven y actúa como tierra de referencia, lo que permite colocar un electrodo en cualquier parte del cuerpo para medir una derivación unipolar del ECG.

El conjunto de derivaciones comentado da lugar al conocido sistema estándar de 12 derivaciones, empleado con mayor frecuencia en las clínicas actuales, aunque en la actualidad se han propuesto muchos otros esquemas de derivaciones.

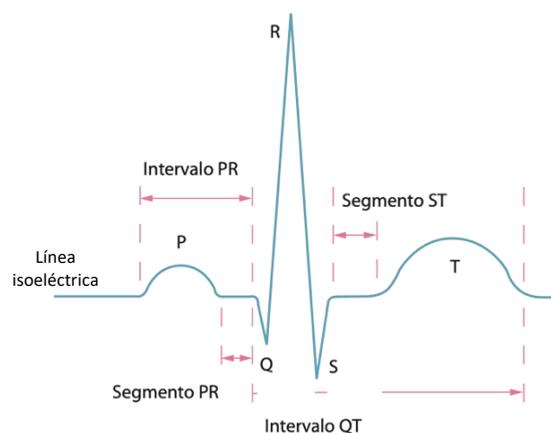


**Figura 7. Posición de los electrodos de un ECG estándar y el triángulo de Einthoven. Modificado de Saini & Gupta (2021)**

Respecto al análisis del trazado del ECG, este presenta una línea basal llamada también línea isoelectrica, reconocible entre cada latido como línea horizontal. Los latidos se muestran en el ECG como oscilaciones de esta línea isoelectrica, estas son:

- La onda P, se corresponde con la sístole auricular, es ascendente en la mayoría de derivaciones.
- La onda Q, definida como la primer deflexión negativa, no siempre está presente.
- La onda R, que se define como la primera deflexión positiva.
- La onda S, de magnitud negativa y posterior a la onda R.
- La onda T, consiste en una deflexión normalmente positiva y representa el momento de relajación cardíaca, durante la repolarización ventricular.

En conjunto, las ondas Q, R y S forman el llamado complejo QRS que se corresponde con la despolarización ventricular.



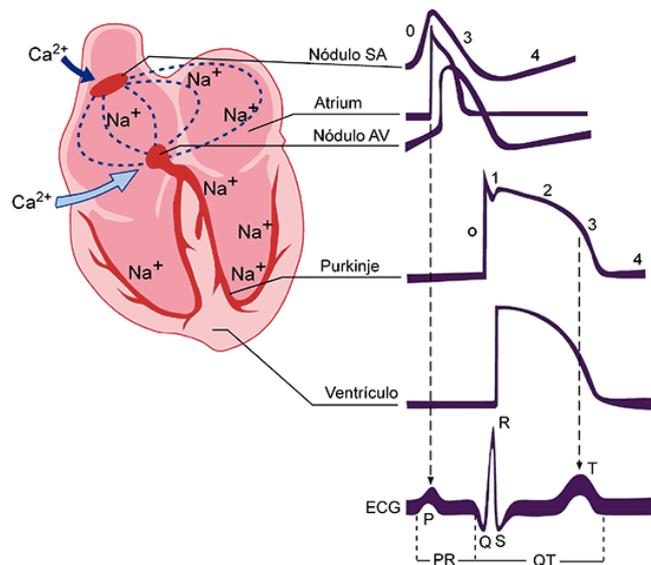
**Figura 8. Ondas del electrocardiograma (ECG). Modificado de Antonio López Farré & Carlos Macaya Miguel, D. (2007).**

Estas ondas dan lugar a intervalos y segmentos de valores conocidos como el segmento PR, segmento ST o intervalo QT.

- El segmento PR se define como el tramo que se encuentra entre el final de la onda P y la siguiente deflexión del ECG.

- El segmento es el trazado acotado desde el final de la onda S y el comienzo de la onda T.
- El intervalo QT se corresponde con el tramo entre el inicio de la onda Q y el final de la onda T.

Las fases del ECG, por tanto, se corresponden con las del potencial de acción cardiaco (*Figura 9*). La onda P refleja la despolarización auricular (fase 0), mientras que el complejo QRS se explica por la despolarización ventricular, y la onda T se corresponde con la repolarización. Por tanto, se deduce que el intervalo PR refleja la velocidad de conducción a través del nódulo AV, mientras que el complejo QRS representa la velocidad de conducción intraventricular y el intervalo QT la duración del potencial de acción (APD) ventricular.



**Figura 9. Relación entre el potencial de acción (PA) y el electrocardiograma (ECG) (Deplón Mosquera, 2018)**

### 2.3. SEGURIDAD FARMACOLÓGICA

La seguridad farmacológica se define como el campo científico cuyo objetivo es la predicción de los efectos adversos causados por los fármacos, a fin de determinar su peligrosidad (su nivel de riesgo). Así pues, esta disciplina se basa en la investigación preclínica antes de la Fase I de pruebas en humanos, lo que lo hace susceptible a la incertidumbre de si los modelos preclínicos en animales tendrán un comportamiento similar o si proporcionan detecciones exactas.

Por ello, los objetivos de la seguridad farmacológica se definen como:

- La protección de los efectos adversos a los participantes voluntarios en ensayos clínicos.
- La protección de los futuros pacientes.
- La reducción máxima de los riesgos tras el desarrollo y comercialización del fármaco.

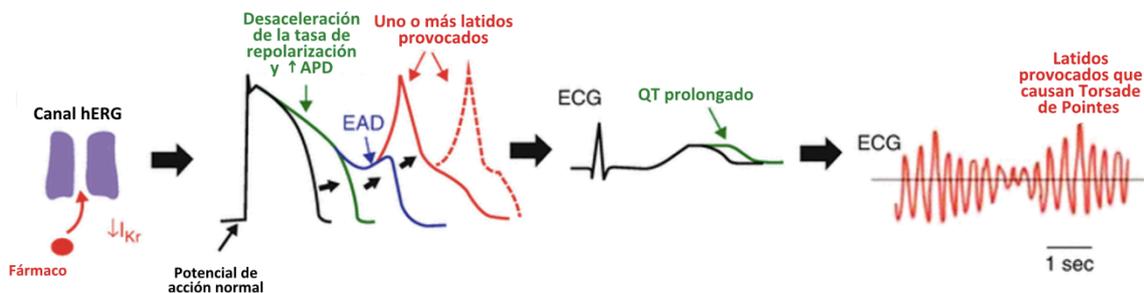
Los efectos farmacológicos se suelen analizar en los sistemas de órganos primarios, entre los que se encuentran el sistema nervioso central, el sistema cardiovascular y el sistema respiratorio. Asimismo, también existen otros sistemas cuyo estudio resulta de interés, conocidos como los sistemas secundarios, como pueden ser el sistema renal y el sistema gastrointestinal.

En el caso del sistema cardiovascular, es importante evaluar el fármaco frente a la inducción de eventos cardíacos letales, tales como las arritmias ventriculares que pueden desencadenar fibrilación ventricular.

### 2.3.1. Torsade de Pointes

La arritmia conocida como *Torsade de Pointes* (TdP) es una arritmia taquicárdica ventricular polimorfa potencialmente mortal. Esta genera un prolongamiento en el intervalo QT con una variación tanto en forma como en amplitud del intervalo QRS.

La aparición de esta arritmia se asocia a la administración de ciertos fármacos que producen un bloqueo de los canales de  $K^+$  codificados por el gen humano *ether-à-go-go* (hERG), que disminuye la componente rápida de la corriente de rectificación tardía ( $I_{Kr}$ ), que contribuye a la repolarización, por lo que este decremento en la actividad de estos canales provoca un retraso en esta fase, con un consecuente alargamiento en la duración del potencial de acción (APD). Esto se traduce en una prolongación del QT en el electrocardiograma, lo que aumenta el riesgo de sufrir una fibrilación ventricular, derivando en una posible muerte súbita.



**Figura 10. Mecanismo de aparición de la Torsade de Pointes (TdP). Modificado de Höjer & Seger (2017)**

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

Las EADs son despolarizaciones tempranas producto de la desaceleración de la repolarización, ya que al aumentar la corriente de entrada neta es posible superarla e invertirla, siendo el inicio a nivel celular de la TdP.

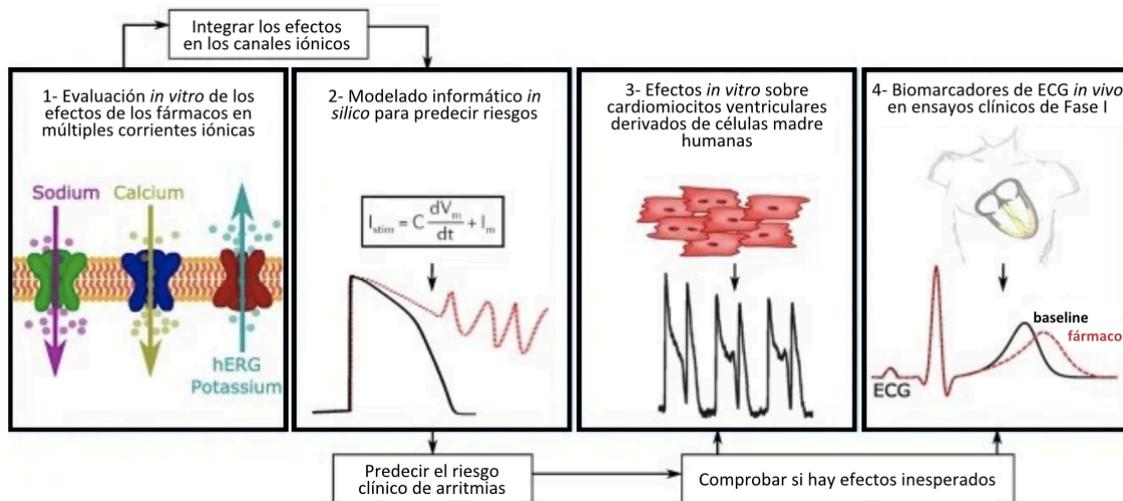
### 2.3.2. Iniciativa CiPA

La iniciativa CiPA (*Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay*) surge de la necesidad de desarrollar un enfoque estandarizado y mecanicista que permita determinar el riesgo torsadogénico real, en lugar del enfoque actual que se basa en biomarcadores inespecíficos, y que esto pudiera aplicarse en las primeras etapas del desarrollo de medicamentos para ayudar en la selección de compuestos (Vicente et al., 2017).

Desde 2013, cuando la iniciativa CiPA se introdujo por primera vez, esta ha evolucionado hasta convertirse en un esfuerzo global entre las principales agencias reguladoras (FDA, Agencia Europea de Medicamentos, Health Canada, etc.), la industria y el ámbito académico. La iniciativa CiPA propone el uso de modelos predictivos para la evaluación de la seguridad cardíaca de nuevos medicamentos, enfoque plausible gracias a una comprensión más completa de las corrientes iónicas que desempeñan un papel en la prolongación del intervalo QT y el consiguiente desarrollo de la arritmia TdP.

Esta compleja tarea ha sido dividida en cuatro líneas de estudio (Vicente et al. 2017):

- Ensayos *in vitro* para la observación de los efectos farmacológicos en los canales iónicos de los cardiomiocitos, siendo elegidas para este fin las siete corrientes iónicas con mayor influencia en la generación del potencial de acción:  $I_{Na}$ ,  $I_{NaL}$ ,  $I_{CaL}$ ,  $I_{to}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  e  $I_{K1}$ .
- Incorporación de los efectos de múltiples canales iónicos en un modelo informático *in silico* del cardiomiocito ventricular humano, capaz de reproducir los procesos electrofisiológicos de las células cardíacas, y que contribuya a la valoración de riesgo proarrítmico.
- Uso de cardiomiocitos procedentes de células madre pluripotentes inducidas por humanos, para la confirmación de los descubrimientos en los ensayos *in vitro* e *in silico* y el análisis de efectos imprevisibles.
- Evaluación de la respuesta de exposición farmacológica en estudios clínicos en Fase I, realizando una investigación con el fin de comparar y estudiar las disparidades entre la electrofisiología humana y los datos obtenidos mediante los ensayos preclínicos.



**Figura 11. Los cuatro componentes de la iniciativa CiPA. Modificado de Vicente et al. (2017)**

## 2.4. MODELADO ELÉCTRICO CELULAR

El modelado eléctrico celular tiene como finalidad la comprensión profunda del comportamiento eléctrico en las células excitables, a través de la obtención de un conjunto de ecuaciones que permitan aproximar estos procesos en estos sistemas biológicos.

El modelado eléctrico celular tiene en cuenta los distintos componentes de una célula que intervienen en los procesos eléctricos. Así, se considera tanto la capacidad eléctrica de la membrana ( $C_m$ ) como las diferentes poblaciones de canales iónicos y demás proteínas de transporte (intercambiadores, co-transportadores y bombas iónicas):

- Membrana celular: la bicapa lipídica que constituye esta estructura presenta propiedades eléctricas equivalentes a un condensador de capacidad  $1\mu\text{F}/\text{cm}^2$ , llamada capacidad de membrana ( $C_m$ ). Este condensador genera una corriente que viene regida por la siguiente expresión:

$$I_C = C_m \cdot \frac{dV_m}{dt} \quad (2)$$

Donde  $I_C$  es la corriente de membrana,  $C_m$  es la capacidad de membrana y  $V_m$  es el potencial de membrana.

- Poblaciones de canales iónicos: el modelado eléctrico de una población de canales de un determinado ion S es equivalente a la unión en paralelo de los modelos eléctricos de cada canal individual de la población.

El modelo eléctrico de un canal individual viene determinado por la conductancia unitaria ( $\gamma_s$ ) y el potencial de equilibrio ( $E_s$ ).

Por un lado, la conductancia unitaria, entendida como la inversa de la resistencia, mide la capacidad de conducción de corriente eléctrica y depende tanto del potencial de membrana como de las concentraciones del ion que atraviesa el canal. Por otro lado, el potencial de equilibrio se define como el potencial de membrana para el cual el gradiente de concentración de un ion se equilibra, lo que resulta en una corriente neta nula por el canal. El potencial de equilibrio se obtiene por la ecuación de Nernst:

$$E_S = \frac{R \cdot T}{z_s \cdot F} \cdot \ln \frac{[S]_e}{[S]_i} \quad (3)$$

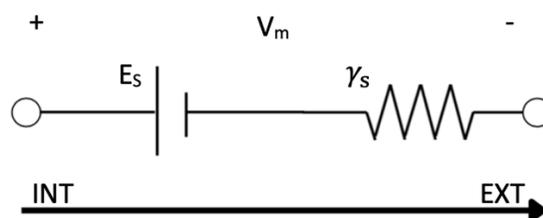
Donde R es la constante universal de los gases ideales, T la temperatura,  $z_s$  la valencia del ion S, F la constante de Faraday,  $[S]_e$  la concentración extracelular del ion S y  $[S]_i$  la concentración intracelular.

Si se aplica la Ley de Ohm, que establece que:

$$V = R_e \cdot I \quad (4)$$

Con V el voltaje, R una resistencia e I la corriente. De lo que se obtiene la siguiente expresión para la corriente de un canal de determinado ion S:

$$I_S = \gamma_s \cdot (V_m \cdot E_S) \quad (5)$$

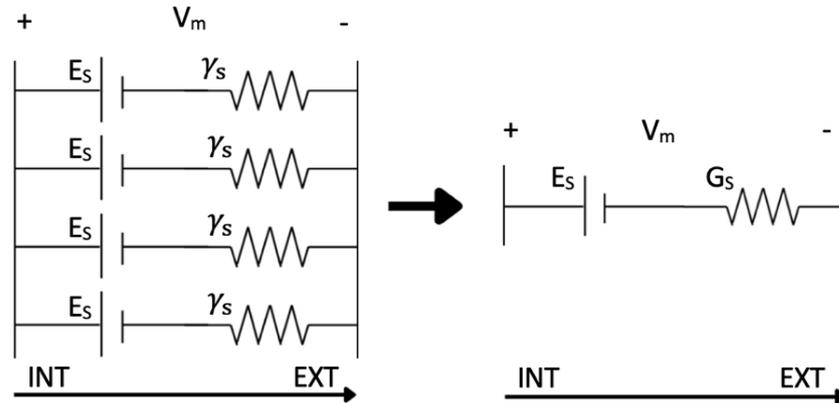


**Figura 12. Modelo eléctrico de un canal iónico para determinado ion S. Elaboración propia.**

Por tanto, para una población de canales, conocido el comportamiento eléctrico de un canal individual, equivaldrá a disponer los modelos de cada canal en paralelo. Así pues, la ecuación que describirá el comportamiento eléctrico de la población de canales vendrá dada por:

$$I_s = G_s \cdot (V_m \cdot E_s) \quad (6)$$

Donde, en lugar de tener la conductancia unitaria  $\gamma_s$  se tendrá la conductancia máxima de la población de canales del ion S,  $G_s$ .

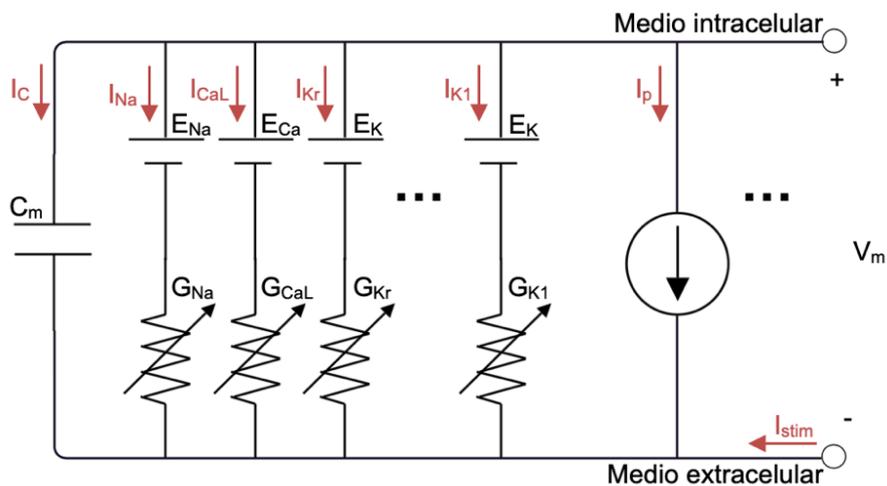


**Figura 13. Modelo eléctrico de una población de canales iónicos para determinado ion S. Elaboración propia.**

- Intercambiadores, bombas iónicas y co-transportadores: se representan como una fuente de corriente  $I_p$ .

Teniendo en cuenta todos estos elementos, sumando el estímulo externo que dispara el potencial de acción, descrito como  $I_{stim}$  y atendiendo a la primera Ley de Kirchoff, que establece que los circuitos eléctricos cerrados cumplen con que la suma de corrientes entrantes a un nodo debe ser igual al sumatorio de las corrientes salientes, se obtiene la expresión final:

$$C_m \cdot \frac{dV_m}{dt} + \sum G_s \cdot (V_m \cdot E_s) + \sum I_p + I_{stim} = 0 \quad (7)$$



**Figura 14. Modelo eléctrico del cardiomiocito. Elaboración propia.**

## 2.5. VERIFICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL MODELADO CARDÍACO

El modelado computacional se puede utilizar, en el caso de los dispositivos médicos, durante todo el ciclo de vida de estos, proporcionando información tanto sobre el rendimiento técnico como de la seguridad y la eficacia. Además, los modelos computacionales también pueden emplearse para evaluar aspectos del desempeño *in vitro* e *in vivo* sin tener que someter a pacientes o animales a daños potenciales y/o riesgos innecesarios o cuando las evaluaciones no son posibles experimental o clínicamente, ya sean injustificadamente invasivas, prohibitivas y/o se consideren irrazonables.

Así pues, resulta esencial establecer la credibilidad de un modelo computacional para poder evaluar el desempeño, garantizando que estos modelos representan adecuadamente la realidad, debido al riesgo potencial que presenta un dispositivo para los pacientes y/o proveedores de atención médica.

La credibilidad del modelo se puede determinar mediante actividades de Verificación y Validación (V&V). Aunque los métodos de V&V se están consolidando, es cierto que faltan directrices a la hora de evaluar la relevancia y adecuación de estas actividades para los modelos computacionales orientados a respaldar el desarrollo y la evaluación de dispositivos médicos.

El riesgo inherente de hacer uso de un modelo computacional como base para predecir el rendimiento de los dispositivos médicos, hace necesario el desarrollo de un marco de evaluación de credibilidad basado en el riesgo. De esta necesidad surgen estándares como el propuesto por la *American Society of Mechanical Engineers* (ASME), que define el estándar V&V40, donde se describe el proceso a seguir para tomar determinaciones informadas acerca del riesgo en cuanto a si el modelado computacional y simulación (CM&S) es creíble para la toma de decisiones para un contexto de uso específico (COU, por sus siglas en inglés). El contexto de uso define el papel específico y el alcance del modelo computacional utilizado para informar esa decisión (ASME, 2018).

En este marco el centro es establecer que la credibilidad del modelo sea proporcional al riesgo asociado con las decisiones influenciadas por el modelo computacional, por lo que la intención de este estándar es brindar una guía de los procedimientos para estandarizar así la V&V del modelado computacional usado en la evaluación de dispositivos médicos, atendiendo a la credibilidad del modelo para informar una decisión.

La decisión podría ser tanto interna de una organización como parte de una actividad regulatoria, investigación o revisión, por lo que este estándar también puede ser utilizado por los organismos reguladores para evaluar la idoneidad y adecuación de las actividades de credibilidad y la credibilidad general del modelo.

El objetivo de V&V40 es evaluar el grado en que el modelo computacional es una representación precisa de la realidad de interés mediante la comparación de los resultados de la simulación con la teoría, experimentos cuidadosamente diseñados y controlados u otras fuentes de información relevantes. información. El hecho de que la relevancia y adecuación de las actividades de V&V y, por tanto, la credibilidad del modelo computacional sea subjetiva puede crear una falta de comprensión común de las expectativas entre las partes interesadas sobre lo que constituye un modelo computacional suficientemente verificado y validado. Por ello, en este marco se integran conceptos de dos documentos fundamentales: el Modelo de Madurez de Capacidad Predictiva (PCMM) para Modelado y Simulación Computacional y el Estándar de la NASA para Modelos y Simulaciones (ASME, 2018).

El procedimiento marcado por el estándar V&V40 será el empleado en el siguiente trabajo en el contexto del efecto de fármacos en la electrofisiología cardíaca para evaluar el riesgo de TdP. Tras un proceso de verificación riguroso del modelo numérico para su utilización en el proyecto SimCardioTest, este TFG se centra en continuar con el proceso de validación ya iniciado previamente.

La validación es el proceso de evaluar el grado en que el modelo computacional es capaz de representar adecuadamente la realidad, por lo que las actividades de validación se centran principalmente en demostrar la exactitud de los supuestos subyacentes del modelo y el grado en que se comprenden las sensibilidades e incertidumbres del modelo computacional y los comparadores asociados (Musuamba et al., 2021; Pathmanathan y Gray, 2018).

La validación generalmente se demuestra comparando las predicciones del modelo computacional con los resultados de los comparadores, que pueden ser *in vitro*, como pueden ser pruebas de banco, y/o *in vivo* (por ejemplo, ensayos clínicos o experimentos con animales). Así pues, las actividades de validación apropiadas requieren de atención tanto al modelo computacional como al comparador, con una evaluación rigurosa de los resultados de la simulación (Musuamba et al., 2021).

## CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

---

En el presente TFG se evalúa el riesgo arritmogénico de una serie de fármacos mediante modelado y simulación computacional. El objetivo principal es validar este efecto realizando una comparación con datos experimentales obtenidos de la literatura, para asegurar la credibilidad de los modelos computacionales empleados.

Este trabajo se enmarca en el proyecto europeo SimCardioTest (*“Simulation of Cardiac Devices & Drugs for in-silico Testing and Certification”*), donde la verificación del software y los modelos empleados ya ha sido realizada, por lo que el presente TFG se centra en la parte de validación del modelado cardíaco. Este procedimiento de verificación y validación (V&V) es crucial para dar credibilidad a las herramientas de simulación desarrolladas por la comunidad científica (Musumba et al., 2021; Pathmanathan y Gray, 2018; U.S. Food And Drug Administration, 2023).

En particular, se pretende contribuir a la iniciativa CiPA (Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay, Colatsky et al., 2016) mediante el modelado y la simulación matemática del efecto electrofisiológico de fármacos en las células cardíacas para la predicción de la *Torsade de Pointes* (TdP), taquicardia ventricular que puede originarse como efecto adverso tras la administración de medicamentos. De esta manera, se pretende catalogar los fármacos en función de su potencial arritmogénico, aportando información concluyente para la seguridad farmacológica. Para lograrlo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Determinar los experimentos a reproducir in silico, realizando una búsqueda bibliográfica extensiva de resultados experimentales del efecto de fármacos, aplicando para ello criterios de exclusión frente a experimentos poco fiables y priorizando los realizados en muestras humanas.
- Simular la actividad eléctrica cardíaca mediante el modelo de potencial de acción ventricular humano modificado de O’Hara-Rudy et al. (2011).
- Comprender los parámetros claves del modelo para replicar las condiciones de cada experimento y ajuste de estos.
- Cálculo y procesado de biomarcadores para homogeneizar las comparaciones.
- Simular el efecto de fármacos teniendo en cuenta la variabilidad biológica con simulaciones poblacionales, considerando también la variabilidad debida al sexo.
- Ajustar una herramienta de clasificación basada en técnicas de aprendizaje automático para realizar predicciones del riesgo de TdP con el modelo celular validado.
- Simular la electrofisiología cardíaca tras la aplicación de un fármaco en el modelo 3D de ventrículo humano tanto de hombre como de mujer.
- Ajustar los parámetros necesarios para obtener resultados similares a la clínica con el modelo 3D.

## CAPÍTULO 4. MÉTODOS

---

### 4.1. MODELOS COMPUTACIONALES CARDÍACOS

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

Para lograr los objetivos de este trabajo se ha realizado la experimentación y el análisis mediante el modelo O'Hara Rudy et al. (2011) modificado (ORdmm) por Mora et al. (2017), que nos permite reproducir de forma precisa el potencial de acción en cardiomiocitos ventriculares humanos sanos.

Este modelo se encuentra implementado ya en *Matlab*, y las simulaciones se llevarán a cabo en este entorno de simulación, salvo en el caso de los modelos 3D, que se resolverán en el software de electrofisiología *Elvira* (Heidenreich et al., 2010).

Para las simulaciones a nivel poblacional y el entrenamiento de la herramienta de clasificación se hace uso del clúster Rigel de la UPV, sistema de cálculo científico de la universidad que permite ejecutar las simulaciones en paralelo y agilizar el proceso de obtención de resultados al reducir el tiempo de ejecución.

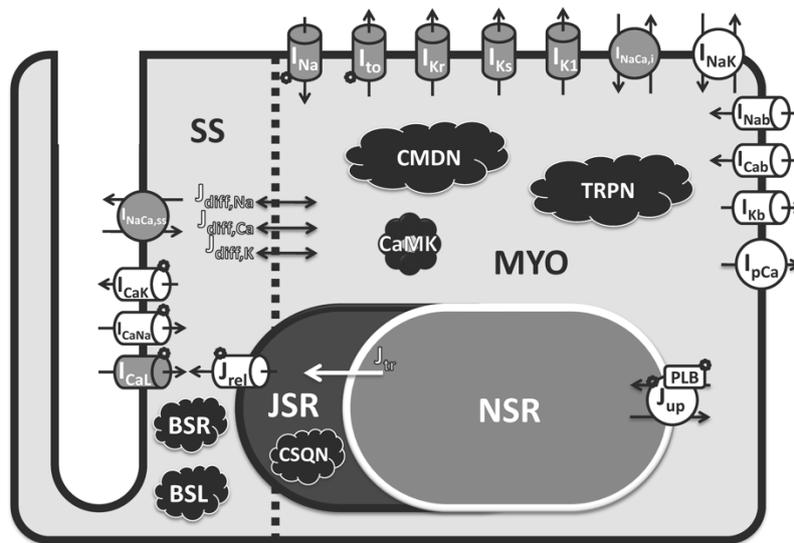
#### 4.1.1. Modelo O'Hara et al. (2011) modificado (ORdmm)

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

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

El modelo ORd básico fue desarrollado a partir de datos provenientes de más de 100 corazones humanos sanos, obtenidos mediante técnicas de patch-clamp en los cardiomiocitos aislados; y se propuso para servir como punto de partida en el estudio y prevención de arritmias humanas, dadas las limitaciones en el entendimiento de las arritmias ventriculares a nivel de canal iónico y PA. Estas limitaciones se relacionan con la obtención de miocitos ventriculares para el estudio de los mecanismos de las arritmias, que resulta técnicamente desafiante, lo que lleva a emplear para los estudios células no ventriculares o células no humanas, que presentan diferencias funcionales importantes en las proteínas.

En el propio documento de O'Hara donde él y su equipo exponen el modelo, se encuentra la *Figura 15*, que representa de forma esquemática el miocito humano sano, en el que se destacan las corrientes de los diferentes canales iónicos, bombas e intercambiadores. Además, se representan las corrientes intracelulares entre los diferentes compartimentos celulares, estos son: el sarcoplasma (MYO), el retículo sarcoplásmico de unión (JSR), red del retículo sarcoplásmico (NSR) y el subespacio (SS, es el espacio cerca de los túbulos T).



**Figura 15. Esquema del modelo de cardiomiocito ventricular (O'Hara et al., 2011).**

Este modelo se destaca por la obtención de simulaciones donde se reproduce el efecto de fármacos bloqueantes de corrientes y patologías, y la predicción de arritmias mediante la eficiente representación de EADs, focalizándose principalmente en la respuesta de la fase repolarizante.

El modelo de O'Hara-Rudy ha sido modificado con la intención de perfeccionar el comportamiento electrofisiológico y ajustar los efectos farmacológicos. Por ello, en este trabajo se emplea el modelo O'Hara-Rudy modificado (ORdmm), que presenta los siguientes cambios respecto al modelo ORd original, y que se proponen en el trabajo de Llopis-Lorente et al. (2020) y Mora et al. (2017):

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

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

**Tabla 2. Modificaciones de las conductancias de los canales en el modelo ORdmm (Dutta et al., 2016)**

- Se modifica la corriente de sodio  $I_{Na}$ , con la intención de alcanzar una mejor velocidad de propagación mediante la alteración de las compuertas de activación e inactivación. Además, para preservar los valores empíricos de la derivada máxima se disminuyó la conductancia de su población de canales al 60%. A continuación, se detallan las modificaciones de las compuertas de activación e inactivación de los canales de sodio:

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

**Tabla 3. Modificaciones en la corriente de sodio  $I_{Na}$ . Comparación entre las ecuaciones de ORd y ORdmm. (Mora et al., 2017)**

Con estas modificaciones se obtiene una respuesta más adecuada y dentro de los rangos óptimos, por lo que se consideran válidas y se emplea este modelo para la simulación.

#### 4.1.2. Poblaciones de modelos: hombre y mujer

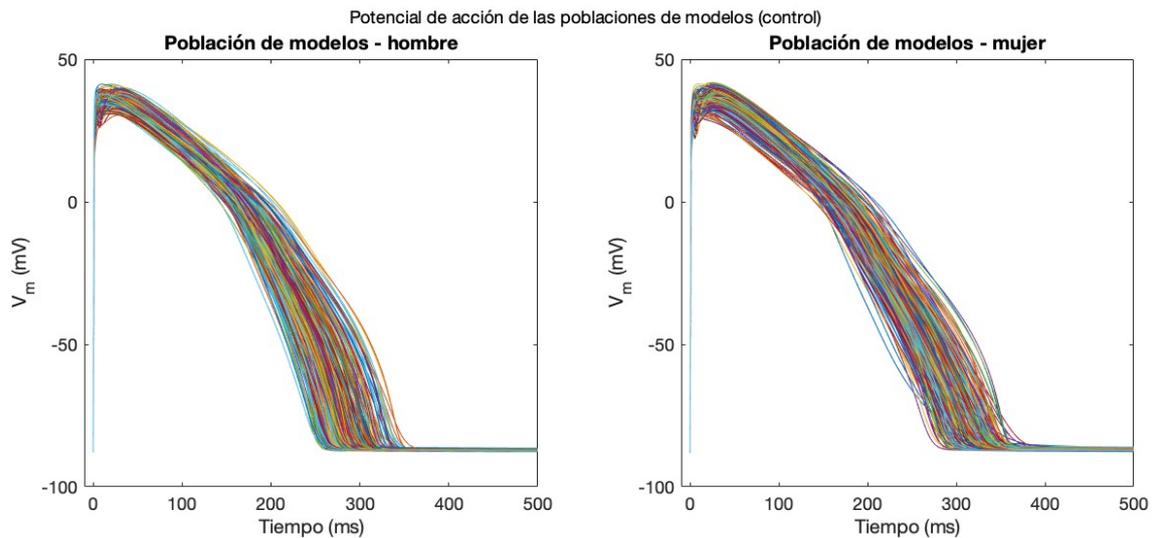
Los procesos fisiológicos de los seres vivos presentan variabilidad biológica existente entre los organismos. Incluso entre individuos de la misma especie existen estas diferencias en la fisiología, las cuales pueden llegar a exteriorizarse como predisposición a distintas patologías.

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

Además de la variabilidad inherente a los individuos, existen diferencias en el PA debidas al sexo. Así, para tener en cuenta también estas diferencias, se emplean dos poblaciones de modelos ya calibradas: una de hombre y otra de mujer. Para la creación de ambas poblaciones de las que se hace uso en este trabajo, generadas en el trabajo de Llopis- Lorente et al. (2023), y tal y como se expone en este, se deben obtener distribuciones normales específicas del sexo de la expresión del mRNA de los canales basadas en la media y desviación estándar de los niveles medidos experimentalmente de la expresión de los genes para las familias de canales iónicos considerados. De estas distribuciones generadas, se crearon inicialmente 50000 sets de posibles niveles de expresión de canales para hombre y 50000 sets para mujer, cada set conteniendo los valores de mRNA de los canales, que fueron seleccionados de forma aleatoria de las distribuciones generadas.

Estos valores de expresión de los genes fueron traducidos en factores de escala de 12 canales iónicos ( $G_{Na}$ ,  $G_{tos}$ ,  $G_{CaL}$ ,  $G_{Kr}$ ,  $G_{Ks}$ ,  $G_{K1}$ ,  $G_{NCX}$ ,  $P_{NaK}$ ,  $G_{Kb}$ ,  $G_{pCa}$ ,  $G_{Jup}$ ,  $calm$ ) expresándolos para ello de forma relativa a la media de niveles de mRNA de las células endocárdicas, descrito en Yang et al. (2012). Y siguiendo este trabajo, las diferencias en las propiedades electrofisiológicas debidas a niveles hormonales fueron reproducidos modificando  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  e  $I_{CaL}$ . En el caso de la población de hombres, se simula con una modificación en las conductancias de  $I_{Kr}$  e  $I_{Ks}$  escaladas con un factor de 1,4 y 0,82, respectivamente, para reflejar así una concentración de 35 nM de dihidrotestosterona, rango normal en hombres post-pubescentes y pre-senescentes (Yang et al., 2017a). En el caso de la población de mujeres, se simulan durante la fase folicular temprana, ya que la susceptibilidad a arritmias aumenta durante este estadio, y para ello, se escalan  $I_{Kr}$  e  $I_{Ks}$  con factores de 0,86 y 1,19, respectivamente (Yang et al., 2017b).

Los factores de escala obtenidos permiten modificar de forma aleatoria y simultánea las conductancias del modelo computacional ORdmm de PA, generándose así la población. La aleatoriedad con la que se han obtenido los factores de escala para construir la población hace que sea posible que en algún modelo se produzcan combinaciones de conductancias no fisiológicas, pues no hacen viable el disparo del potencial o se obtiene una duración demasiado reducida o prolongada, por lo que estos modelos son eliminados de la población y no se tienen en cuenta, proceso denominado como calibración de la población. Así pues, trabajamos con dos poblaciones de modelos ya calibradas, una de hombre y otra de mujer, constituidas por 300 individuos viables cada una.



**Figura 16. Potencial de acción de las poblaciones de modelos de hombre y mujer calibradas antes de aplicar el fármaco (control)**

### 4.1.3. Modelos 3D de ventrículo sano: hombre y mujer

Los procesos estudiados con los modelos celulares son los que provocan el latido a nivel de órgano, por lo que, la actividad a esta escala también es posible (y necesario) modelarla. Así, se hace uso de un modelo 3D bi-ventricular a fin de simular la actividad electrofisiológica a mayor escala, midiendo el alargamiento del intervalo QT del ECG simulado para evaluar el efecto farmacológico, y se validan los resultados con experimentos escogidos de la clínica.

Los modelos bi-ventriculares 3D empleados en este trabajo para evaluar el efecto de fármacos son los utilizados en Llopis et al. (2023). La geometría se obtuvo a partir de imágenes de resonancia magnética, a partir de la cual se creó una malla volumétrica compuesta por elementos hexaédricos. El modelo bi-ventricular utilizado se caracteriza por incorporar transmuralidad (células endocárdicas, midmiocárdicas y epicárdicas), anisotropía debido a la orientación de fibras, y una red de Purkinje que activa el miocardio.

Las propiedades electrofisiológicas celulares del modelo se asignan a cada nodo de la malla. Los nodos son los puntos donde deben resolverse las ecuaciones del modelo iónico que permitirán obtener el potencial en cada punto del miocardio para cada instante de tiempo, obteniendo, en conjunto, un mapa de potencial a nivel de órgano. A los nodos correspondientes al miocardio se les asigna un único modelo de potencial de acción de ORdmm seleccionado de las poblaciones, uno para hombre y otro para mujer (Tabla 4).

Individuo	G <sub>Na</sub>	G <sub>to</sub>	G <sub>CaL</sub>	G <sub>Kr</sub>	G <sub>Ks</sub>	G <sub>K1</sub>	G <sub>NcX</sub>	P <sub>NaK</sub>	G <sub>Kb</sub>	G <sub>pCa</sub>	G <sub>Jup</sub>	calm
Hombre	1,4378	1,3478	0,8462	0,8638	1,0578	1,0628	1,0253	0,3018	0,7998	0,9706	0,9594	1,0496
Mujer	1,1395	0,8499	1,5798	0,9298	0,7910	0,5367	0,8128	0,2958	1,7695	1,0027	0,9383	1,4384

**Tabla 4. Modificaciones en las conductancias empleadas en las simulaciones 3D**

La propagación eléctrica en los ventrículos se calcula mediante la ecuación del monodominio (Ecuación 8).

$$\nabla \cdot (\mathbf{D}\nabla V_m) = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion} + I_{stim} \quad (8)$$

Donde  $\mathbf{D}$  representa el tensor de difusión de conductividad;  $V_m$  denota el potencial de membrana; la capacidad de membrana es expresada como  $C_m$  e  $I_{ion}$  e  $I_{stim}$  representan la corriente iónica transmembrana y la corriente de estímulo, respectivamente.

En cuanto a las conductividades del tejido, la conductividad longitudinal será siempre mayor que la transversal, pues esta dirección es la del vector que define la orientación de las fibras, por lo que es la dirección de conducción preferente. El hecho de asignar dos valores de conductividades diferentes en las direcciones mencionadas representa la anisotropía en la propagación del estímulo en el miocardio. Las conductividades longitudinal y transversal del tejido se asignaron a 0,24 S/m y 0,0456 S/m, respectivamente. En consecuencia, las velocidades de conducción tomaron valores de 0,68 m/s en la dirección de la fibra y 0,26 m/s en dirección transversal, datos consistentes con las medidas experimentales tomadas en ventrículos humanos (Taggart et al., 2000).

A pesar de utilizar un modelo de órgano sin torso, se pudo calcular el pseudoECG obteniendo el potencial eléctrico a una distancia del corazón similar a la ubicación de los electrodos.

El software *Elvira* (Heidenreich et al., 2010) empleado en este trabajo, desarrollado por el Ci2B en colaboración con la Universidad de Zaragoza, fue concebido concretamente para simulaciones de electrofisiología cardíaca y se encarga de resolver el problema utilizando el método de elementos finitos.

## 4.2. MODELADO DEL EFECTO FARMACOLÓGICO

### 4.2.1. Descripción del modelado farmacológico

El origen de la potencial peligrosidad de los fármacos reside en la asociación y bloqueo de los canales iónicos por parte de estas moléculas. Este mecanismo de funcionamiento es el perseguido en la creación de medicamentos para el tratamiento de arritmias, pero se considera un efecto indeseado en los compuestos con otras finalidades.

Esta asociación a los canales iónicos y su consecuente bloqueo se debe fundamentalmente a la concentración del fármaco y a la afinidad de este por cierta población de canales. El grado de bloqueo provocado se traduce en una disminución de las conductancias máximas de los canales, alterando las corrientes iónicas que los atraviesan, lo que afecta, por tanto, a la morfología y duración del potencial de acción.

Para la validación del efecto farmacológico en células ventriculares empleando modelado y simulación computacional se seleccionan 6 fármacos de la iniciativa CiPA y se emplean los datos de los 28 fármacos CiPA para la clasificación de medicamentos según el riesgo torsadogénico: alto, medio y bajo riesgo. Se escogen estos compuestos por haber sido altamente investigados con anterioridad, por lo que de estos se conoce su comportamiento y su efecto sobre las diferentes poblaciones de canales iónicos, gracias a la información científica verificada y los datos experimentales existentes en la literatura (Colatsky et al., 2016).

El efecto farmacológico se simula introduciendo en los modelos computacionales el bloqueo producido, que afectan a la conductancia original de cada población de canales, empleando para ello la ecuación de Hill:

$$G_{canal,fármaco} = \frac{1}{1 + \left(\frac{[C]_{fármaco}}{[IC_{50,canal}]}\right)^h} \cdot G_{canal} \quad (9)$$

Siendo  $G_{canal}$  la conductancia original de la población de canales y  $G_{canal,fármaco}$  la nueva conductancia tras la aplicación del fármaco.  $[C]_{fármaco}$  hace referencia a la concentración del fármaco aplicado y  $[IC_{50,canal}]$  es la concentración inhibitoria del 50% de canal. Este último parámetro caracteriza la capacidad del fármaco de bloquear una población concreta de canales iónicos, y se obtiene de forma experimental. Así pues, un fármaco será, para una población de canales, más potente cuanto menor sea esta concentración inhibitoria  $[IC_{50,canal}]$ , y se considerará que no afecta a estos canales cuando el valor sea muy elevado. El parámetro  $h$  se conoce como coeficiente de Hill, y su valor se asocia con el número de moléculas del compuesto necesarias para poder bloquear un canal iónico.

El bloqueo producido por las moléculas del compuesto es multicanal en la mayoría de casos, es decir, que el fármaco afecta al comportamiento de diversos canales iónicos. Por ello, se tienen datos del bloqueo de los fármacos de hasta 7 canales iónicos:  $I_{CaL}$ ,  $I_{to}$ ,  $I_{Na}$ ,  $I_{NaL}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  e  $I_{K1}$ .

Cuando no se conoce la concentración del fármaco que interacciona con los canales, pero sí su concentración plasmática, generalmente expresada en mg/L, se aplica la siguiente fórmula de conversión:

$$[C]_{\text{fármaco}}(\text{nM}) = \frac{10^6 \cdot (1 - \text{bound fraction}) \cdot \text{drug blood concentration (mg/l)}}{\text{molecular weight (g/mol)}} \quad (10)$$

Donde la *bound fraction* se refiere al grado en el que el medicamento es capaz de unirse a las proteínas del plasma sanguíneo, lo que puede afectar a la eficacia del fármaco. Tanto este parámetro como el valor del peso molecular se obtienen de Drugbank (*Database for Drug and Drug Target Info*), base de datos que contiene información sobre fármacos y dianas farmacológicas. La concentración plasmática del fármaco, por otro lado, se obtiene del experimento escogido, y se toma el valor más alto de este por considerarse que es la situación de mayor riesgo de inducir TdP.

#### 4.2.2. Validación experimental y ajuste

Primero se buscó en la literatura datos de experimentos con cada uno de los fármacos a validar que midieran la variación del potencial de acción celular. Los experimentos para la validación se escogieron en función de varios criterios, atendiendo tanto a la fiabilidad de los datos como a las condiciones del experimento, y se eligieron los ensayos con mayor cantidad de experimentos. Se priorizaron los experimentos que trabajasen a diferentes concentraciones del fármaco y lo más cercanas a su EFTPC (*Effective Free Therapeutic Plasma Concentration*), que es la concentración plasmática efectiva libre, es decir, la que interacciona con los canales iónicos cuando se utiliza una dosis terapéutica. También se priorizaron los estudios que trabajasen con células preferiblemente humanas o de mamíferos como cobaya o perro, con comportamientos electrofisiológicos cardíacos más similares al humano.

Para la simulación de los fármacos se emplea el modelo de O'Hara modificado (ORdmm), cuyas modificaciones permiten obtener una respuesta mejorada tras la aplicación del fármaco. Para todos los experimentos se realiza una simulación de 1000 latidos (*beats*, en inglés), con tal de estabilizar el modelo y obtener una respuesta similar y fiable para los potenciales de acción, y se estudia el último potencial simulado. Por otro lado, las frecuencias de estimulación (*cycle length*, CL o BCL) y las concentraciones se replican tomando las del experimento a reproducir computacionalmente.

Las simulaciones celulares se llevarán a cabo empleando dos conjuntos de valores iniciales diferentes para los parámetros que influyen en las conductancias de las poblaciones de los diferentes canales iónicos ( $IC_{50}$  y  $h$ ): los marcados por la iniciativa CiPA, indicados en las tablas de resultados por este nombre; y las nombradas como Medianas, que corresponden con la mediana de todos los valores de ese parámetro existentes en ToxPortal para ese fármaco y ese canal concreto (las tablas con los valores mencionados se encuentran en los Anexos II: *Tabla 18* y Anexo III: *Tabla 19*). Para cada compuesto, se seleccionará el conjunto de valores que mejor resultado inicial obtenga y, partiendo de este punto, se procederá al ajuste.

Los resultados computacionales pueden diferir en algunos casos de los experimentales, es por ello que se propone un ajuste de las simulaciones variando los parámetros de  $IC_{50}$  y  $h$  para los 7 canales que considera el modelo.

El rango de valores conocidos para estos dos parámetros se obtiene de ToxPortal (*Toxicity prediction for drug development*), web que contiene datos farmacológicos acerca de la inhibición de los diferentes canales, además de resultados de estudios QT (TQT) e informes de casos de torsades de pointes (TdP) relacionados con fármacos.

Adicionalmente se hizo una segunda búsqueda bibliográfica de experimentos que midieran la prolongación del ECG con los fármacos a validar. Por una parte, se pretende validar aquellos con los que no se consigue una validación óptima a nivel celular, como es el caso del Bepridil, y por otra parte comprobar que el ajuste celular también es válido a nivel de órgano.

### 4.2.3. Protocolo de estimulación y ejecución de las simulaciones

Las simulaciones celulares, como se ha comentado, emplean el modelado de bloqueo de poro simple y aplican la ecuación de Hill para las 7 corrientes determinadas como las que más contribuyen al PA:  $I_{CaL}$ ,  $I_{to}$ ,  $I_{Na}$ ,  $I_{NaL}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  e  $I_{K1}$ . Se ejecutan simulaciones de 1000 latidos y se analiza el último latido simulado, donde el resto de parámetros replica el experimento escogido, con tal de reproducir las condiciones en las que se llevó a cabo y poder establecer comparaciones para las actividades de validación.

En el caso de las simulaciones poblacionales de hombre y mujer, a concentración experimental, para la validación de estos modelos, estas se ejecutan de forma similar a las simulaciones de una única célula, empleando el modelado de bloqueo de poro simple y aplicando la ecuación de Hill a las corrientes que contribuyen en mayor medida al PA. Se simulan en este caso 500 latidos y se utiliza una frecuencia de estimulación de 1 Hz (1000 ms) en todos los casos salvo para el Bepridil, donde se asigna un valor de BCL de 500 ms (2 Hz), reproduciendo así las características de los experimentos escogidos. Se emplea la concentración experimental con la intención de obtener resultados similares a los experimentos seleccionados y se mantienen los ajustes realizados, es decir, que se incluyen las conductancias escogidas en la validación celular.

Para las simulaciones 3D ventriculares, al ser muy costosas computacionalmente, se aplica un protocolo de estabilización diferente al utilizado en células. Se ejecutan primero las simulaciones de control (sin fármaco), donde los valores de las conductancias para las diferentes familias de canales se corresponden con las del modelo de ORdmm, tanto para hombre como para mujer, con los factores de escala debidos al sexo, mostrados en la *Tabla 4*.

Se simulan 5 latidos del corazón con tal de estabilizar la simulación en los ventrículos. A continuación, se aplica el fármaco y se simulan otros 5 latidos, del cual analizamos solo el último. El efecto farmacológico se implementa en el modelo de PA a través de la modificación de las conductancias, cuya respuesta se escalará a nivel de órgano.

Para incluir estos valores de modificación de las conductancias originales, se proporciona al software *Elvira* un archivo en el que se incluyen estos factores de escala de modificación de conductancias inducidas por el fármaco. La información relativa al análisis, con las características concretas de la simulación se indican en el fichero de ejecución de la simulación, configurando en este también los parámetros relativos a las opciones de resolución del problema, desde el punto de vista computacional: el número de procesadores a utilizar, teniendo en cuenta que el software permite la computación paralela, así como el tiempo de integración, el esquema de integración temporal, las variables que deben almacenarse y adjuntarse como salida de la ejecución, etc.

Al finalizar la simulaciones, *Elvira* genera una serie de ficheros de resultados en formato propio de *EnSight* (Computational Engineering International, Inc., Apex, Carolina del Norte, USA), software específico para visualización, análisis y comunicación de datos procedentes de simulaciones computacionales. Este formato es típica y ampliamente usado en áreas como la dinámica de fluidos, el diseño de estructuras mecánicas, etc. y es perfectamente compatible con *ParaView*, por lo que se utiliza esta aplicación para visualizar gráficamente los resultados de la simulación bi-ventricular realizada.

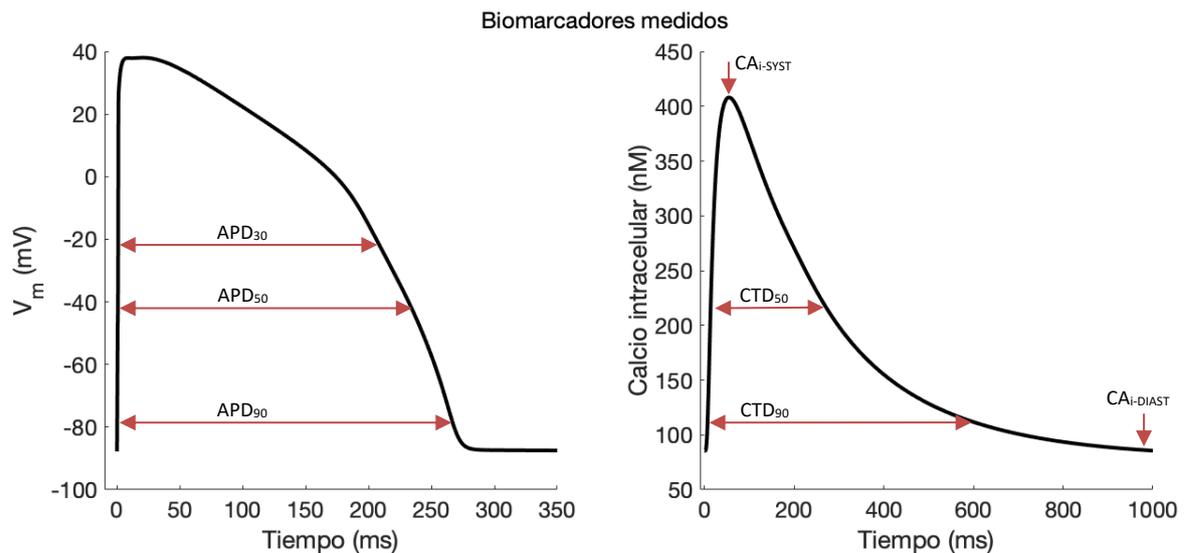
Para la comparación de los resultados tras la simulación y los valores de los experimentos, se tomará uno de los ficheros .dat generado por Elvira que contiene el potencial extracelular en cada uno de los puntos indicados (aiso.dat). Se utilizará un código de *Matlab* para visualizar la señal del ECG y calcular la duración del intervalo QT del ECG.

### 4.3. CÁLCULO DE BIOMARCADORES

Los biomarcadores son medidas numéricas que se obtienen para caracterizar y estudiar la respuesta de los modelos computacionales. Estos pueden ser muy variados y permiten valorar la calidad de los modelos y las respuestas obtenidas, pudiendo realizar ajustes para mejorar la reproducibilidad de estos modelos y ayudar así a lograr la mayor similitud posible con los resultados experimentales en células humanas.

En este trabajo se han tenido en cuenta 9 biomarcadores para las simulaciones celulares y poblacionales, que se consideran los de mayor relevancia para este tipo de estudios:

- **Duración del potencial de acción (APD<sub>x</sub>):** se corresponde con el tiempo transcurrido entre el inicio del PA, en el momento de máxima despolarización, hasta que se produce la repolarización total (APD) o hasta un porcentaje de repolarización (APD<sub>x</sub>). En este trabajo se utiliza como medida el APD<sub>90</sub>, que mide el tiempo transcurrido desde el inicio del PA hasta el 90% de la repolarización completa.
- **Triangulación APD (TRI<sub>x-x</sub>):** parámetro que mide la diferencia de duración entre dos valores de APD obtenidos a diferentes porcentajes de repolarización. En este TFG se emplean las triangulaciones TRI<sub>90-30</sub> y TRI<sub>90-50</sub>, que miden las diferencias entre los valores de APD<sub>90</sub> y APD<sub>30</sub> y entre APD<sub>90</sub> y APD<sub>50</sub>, respectivamente.
- **qNet:** propuesto por Dutta et al. (2016), este parámetro calcula el área bajo la curva trazada por la corriente neta  $I_{net} = I_{Na} + I_{NaL} + I_{CaL} + I_{K1} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{to}$  durante todo el latido.
- **Calcio sistólico (CA<sub>i-SYST</sub>):** es el valor más elevado de concentración de calcio, obtenido durante la contracción del músculo cardíaco o sístole cardíaca.
- **Calcio diastólico (CA<sub>i-DIAST</sub>):** es el valor más reducido de concentración de calcio, ocurrido durante la relajación del músculo cardíaco o diástole cardíaca.
- **Duración del transitorio de calcio (CTD<sub>x</sub>):** corresponde al tiempo que transcurre desde el inicio de la contracción hasta que se reestablece la concentración inicial de calcio intracelular (CTD) o hasta que se reestablece un porcentaje de esta (CTD<sub>x</sub>). En el contexto de este trabajo se emplean el CTD<sub>90</sub> y el CTD<sub>50</sub>, esto es, el tiempo transcurrido desde el inicio del PA hasta que se reestablece el 90% y el 50% de la concentración inicial de calcio intracelular, respectivamente.
- **EM<sub>w</sub>:** o ventana electromecánica, parámetro definido en Passini et al. (2019) se calcula como la diferencia entre las duraciones del PA y el transitorio de Ca<sup>2+</sup> al 90%, esto es, CTD<sub>90</sub> - APD<sub>90</sub>.



**Figura 17. Medidas sobre el PA y el transitorio de calcio para la obtención de los biomarcadores. Elaboración propia.**

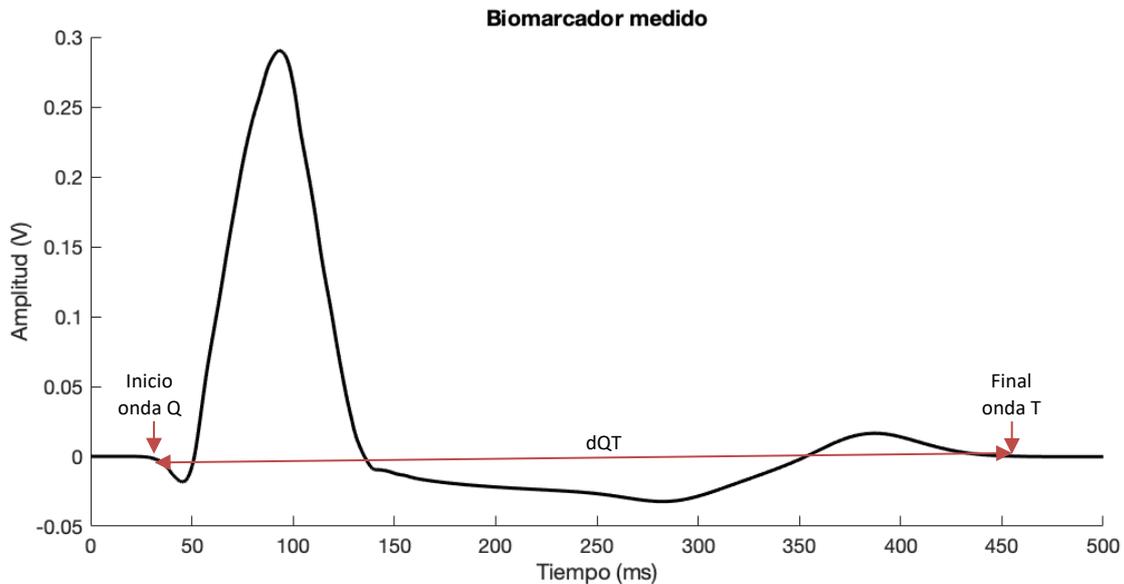
Todos los potenciales de acción fueron analizados para detectar anomalías en la repolarización (RA, por sus siglas en inglés *repolarization abnormalities*). Se considera RA:

- Una despolarización temprana (EAD, *Early After Depolarization*)
- Cualquier evento donde el gradiente del potencial de membrana se mantenga positivo 100 ms tras del comienzo del PA ( $dV/dt > 0$  mV/ms)
- Una repolarización fallida, por ejemplo, donde el potencial de membrana al final del latido sea mayor que el potencial de reposo ( $V_m > -40$  mV)
- Cualquier evento con un gradiente del transitorio de  $Ca^{2+}$  positivo 300 ms tras comenzar el PA ( $dCa^{2+}/dt > 0$  nM/ms)

En el caso donde ocurriesen RAs en los últimos 3 latidos de las simulaciones, no se midió ninguno de los biomarcadores.

Para las simulaciones 3D, se toma como biomarcador la duración del intervalo QT en el pseudoECG:

- **Duración del intervalo QT (dQT):** se corresponde con el tiempo transcurrido desde el inicio de la onda Q hasta el final de la onda T. Así pues, se mide como la diferencia de ambos instantes de tiempo, esto es,  $final_T - inicio_Q$ .



**Figura 18. Medidas sobre el pseudoECG para la obtención del biomarcador empleado en las simulaciones 3D. Elaboración propia.**

#### 4.4. GENERACIÓN DEL CLASIFICADOR EN MATLAB

Tras la validación experimental de los fármacos se va a crear una herramienta que clasifique los fármacos CIPA en función de su riesgo de TdP. Para ello se hará uso de diferentes técnicas de *machine learning* por lo que se es necesario generar múltiples datos a partir de nuevas simulaciones. Las técnicas utilizadas están basadas en un trabajo previo del grupo de investigación (Llopis-Lorente et al., 2022).

Cada fármaco se simula a tres concentraciones en las dos poblaciones disponibles (hombre y mujer): a la EFTPC, a 5 veces la EFTPC (EFTPCx5) y a 10 veces la EFTPC (EFTPCx10). Todas las simulaciones se realizan a BCL de 1000 ms (1 Hz) y a un estímulo 1.5 la amplitud umbral diastólica, con una duración de 0,5 ms. Los biomarcadores se midieron tras 500 latidos desde los valores iniciales de control (sin fármaco), pues en este punto las diferencias medidas entre biomarcadores de dos latidos consecutivos eran menores del 0,5%. Para cada concentración se miden 9 biomarcadores relacionados con el riesgo torsadogénico, que se comentarán más adelante: la duración del potencial de acción al 90% de repolarización ( $APD_{90}$ ), la triangulación 90-30 ( $TRI_{90-30}$ ), la triangulación 90-50 ( $TRI_{90-50}$ ), la carga neta a lo largo del PA ( $q_{Net}$ ), la concentración intracelular de calcio sistólica y diastólica ( $CA_{i-SYST}$ ,  $CA_{i-DIAST}$ ), la duración del transitorio de calcio al 90% y 50% de repolarización ( $CTD_{90}$  y  $CTD_{50}$ ) y la ventana electromecánica ( $EM_w$ ).

Para la evaluación del riesgo torsadogénico inducido por fármacos, se emplean los datos de los 9 biomarcadores simulados a las 3 concentraciones mencionadas anteriormente, esto es, a EFTPC, EFTPCx5 y EFTPCx10, por lo que el efecto farmacológico se encuentra caracterizado por 27 parámetros para cada modelo celular, y la matriz compuesta por estos datos se utiliza como entrada de los clasificadores a construir.

En caso de que se desencadenara una RA durante los últimos 3 latidos simulados, ninguno de los biomarcadores sería medido y se considera que, para ese compuesto, y ese modelo en específico, el fármaco presenta un riesgo alto de inducir TdP.

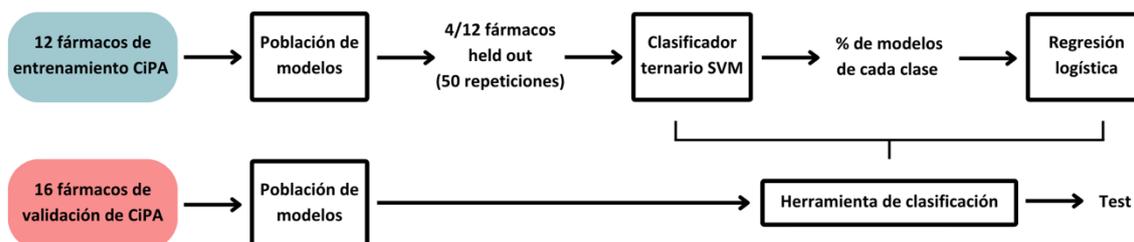
Así pues, utilizando estos datos como input, se crea un clasificador ternario (riesgo alto, intermedio y bajo), empleando para ello un modelo ternario de *Support Vector Machine* (SVM). Se emplearon 27 de los 28 fármacos CiPA, donde se descartó el Quinidine, al no estar validado y no conseguir reproducir computacionalmente el comportamiento de este fármaco. Así, los 27 fármacos CiPA utilizados se dividieron en dos conjuntos: uno para el entrenamiento del clasificador y otro para test; empleando la división que la propia iniciativa CiPA realiza, con un ligero cambio debido a no considerar el Quinidine, que se sustituye por el Vandetanib en el entrenamiento. El conjunto de entrenamiento lo componen 4 fármacos de cada categoría de riesgo (alto, medio y bajo), para evitar un desbalanceo de las clases, y durante el entrenamiento se emplea un *cross-fold* de 5 particiones para evitar el posible *overfitting* o sobreajuste del modelo a los datos de entrenamiento.

FÁRMACOS CiPA			
Entrenamiento		Test	
Bepiridil	Terfenadine	Azimilide	Pimozide
Dofetilide	Ondansetron	Disopyramide	Risperidone
Sotalol	Diltiazem	Ibutilide	Metoprolol
Vandetanib	Loratadine	Astemizole	Nifedipine
Cisapride	Mexiletine	Clarithromycin	Nitrendipine
Chlorpromazine	Ranolazine	Clozapine	Tamoxifen
		Domperidone	Verapamil
		Droperidol	

**Tabla 5. Fármacos CiPA de entrenamiento y test. El riesgo real asociado a los fármacos CiPA se muestra por colores: riesgo alto en rojo, riesgo intermedio en amarillo y riesgo bajo en verde.**

Para la optimización de los hiperparámetros del clasificador SVM se realiza una *leave-p-out cross-validation* (siendo p igual al tercio de todas las simulaciones de entrenamiento) con 50 repeticiones *Bootstrap*, donde la fase de entrenamiento fue repetida 50 veces para eliminar la influencia de la partición de los datos. Además, cada entrenamiento se realizó con 1/3 de *hold out cross-validation*, que se aplica usando los datos de los compuestos en todos los modelos de la población, es decir, que la partición de la validación cruzada dejaría en el conjunto de entrenamiento 8 fármacos \* número de modelos de la población.

Tras la clasificación, se obtienen los porcentajes de modelos que han sido clasificados como riesgo alto, intermedio o bajo para cada medicamento. Para determinar la peligrosidad del fármaco, se realizan dos regresiones logísticas sobre estos porcentajes (una para la predicción de riesgo alto-vs.- no alto y otra para riesgo bajo-vs.-no bajo), de manera que la herramienta de clasificación se base en la determinación del riesgo de TdP según el porcentaje de modelos en cada categoría.



**Figura 19. Representación esquemática del método para construir el clasificador.**

Así pues, para interpretar los resultados de clasificación con la metodología aplicada, se define el llamado *TdP-score*. Este score es calculado como el valor de la regresión riesgo alto-vs.- no alto menos el valor de la regresión riesgo bajo-vs.-no bajo, normalizado ente 1 y -1, con tal de definir de forma global la categoría de riesgo torsadogénico de los fármacos. Por tanto, se define como el mayor riesgo alto el 1, que indicaría que todos los modelos han sido predichos como de riesgo alto; y el -1 se asociaría con el riesgo bajo, cuando todos los modelos son predichos como de riesgo bajo. Por tanto, el riesgo intermedio se asociará con los valores cercanos a 0 de TdP-score y se pondrán como umbrales de clasificación entre clases para los fármacos el 0,5 y -0,5, valores intermedios entre las clases definidas en el TdP-score.

Con la intención de mejorar los resultados iniciales tras este proceso, se realiza un estudio exploratorio de los datos, y se generan nuevos clasificadores para evaluar la utilidad de normalizar los datos de entrada y el uso de los datos combinados de hombre y mujer en el entrenamiento.

Se entrenan también modelos de regresión para evaluar la utilidad de tomar otra perspectiva en la evaluación del riesgo torsadogénico y en la creación de nuevas herramientas para definir el potencial riesgo de TdP de los fármacos.

#### 4.4.1. Métricas de evaluación de modelos

Para evaluar el desempeño de los diferentes modelos generados, se emplearán varias métricas. En el caso de los modelos de clasificación, se opta por las matrices de confusión, la *accuracy* y la MCE; y para los modelos de regresión, se escogen como métricas el MAE, el MSE y el RMSE.

Para los modelos de clasificación, se toman:

- Matriz de confusión: en el campo de la inteligencia artificial (IA) y el aprendizaje automático, la matriz de confusión sirve como herramienta que permite la visualización del desempeño de un algoritmo de aprendizaje supervisado determinado. La matriz de confusión se construye con las predicciones en las filas y las columnas representando las instancias de la clase real, posibilitándose así observar en conjunto cuántos aciertos y errores está teniendo el modelo.
- *Accuracy*: término conocido en inglés en IA, traducido como exactitud, hace referencia a lo cercano de un resultado al valor real de la medición. Se obtiene como la cantidad de predicciones correctas frente a la totalidad de casos.
- MCE (*Mean Classification Error*): se define como la media del error producido entre clases, comparando así las predicciones del modelo con los valores reales de los datos de test.

En los modelos de regresión, se utilizan como métricas de desempeño en este trabajo:

- El Error Absoluto Medio (MAE, por sus siglas en inglés) se define como la distancia media entre los valores predichos y los reales, permitiendo tener una orientación sobre cómo el modelo es capaz de predecir. Esta métrica, al realizar un promediado de errores, asigna el mismo peso a todos los errores sin tener en cuenta su magnitud, no ofreciendo, por tanto, información sobre la dirección del error. La expresión matemática de esta métrica es la siguiente:

$$MAE = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^N |y_j - \hat{y}_j| \quad (11)$$

- El Error Cuadrático Medio (MSE) es similar al error absoluto medio, pero tomando en este caso el cuadrado de la media entre los valores previstos y los originales, lo que pronuncia los errores de mayor magnitud frente a los errores más pequeños. Su cálculo se realiza con la siguiente fórmula:

$$MSE = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^N (y_j - \hat{y}_j)^2 \quad (12)$$

- La Raíz del Error Cuadrático Medio (RMSE) es la métrica que se obtiene calculando la raíz cuadrada del valor MSE, pudiendo hacer la métrica más robusta frente a valores atípicos:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^N (y_j - \hat{y}_j)^2}{N}} \quad (13)$$

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos durante la elaboración del trabajo, siguiendo los diferentes pasos establecidos para la validación de los fármacos seleccionados.

Los 6 fármacos empleados en la validación se inscriben dentro de la iniciativa CiPA, tomando 2 fármacos para cada categoría de riesgo torsadogénico: Alto, Intermedio y Bajo. Los fármacos elegidos se muestran en la siguiente tabla:

FÁRMACOS SELECCIONADOS		
Riesgo alto	Riesgo intermedio	Riesgo bajo
Bepidil	Astemizole	Nitrendipine
Ibutilide	Terfenadine	Verapamil

**Tabla 6. Fármacos CiPA seleccionados para la validación**

Primeramente, se presentan los resultados obtenidos tras la simulación y ajuste a nivel celular, reproduciendo los experimentos extraídos de la literatura, para valorar la capacidad de los modelos a la hora de simular la electrofisiología del cardiomiocito ventricular humano sano.

A continuación, se realiza el mismo estudio, sobre la capacidad de los modelos de reproducir los resultados experimentales de los fármacos escogidos, esta vez a nivel poblacional. Se emplean poblaciones de modelos para hombre y mujer, con tal de considerar la variabilidad generada por el factor sexo, y atendiendo a las variaciones intrínsecas de las células. Tras ello, se muestran los resultados obtenidos de los ajustes realizados en *SimCardioTest* para los 28 fármacos de CiPA en los modelos poblacionales para hombre y mujer, y que serán los datos que se empleen para el entrenamiento y test de la herramienta de clasificación que se propone en este trabajo. Por último, se analizan los resultados tras la simulación en modelos 3D, tanto en hombre como en mujer, y se pretenderá en uno de los casos el ajuste al valor experimental, al no disponer de valores fiables de estudios celulares que permitan el ajuste a nivel OD.

### 5.1. VALIDACIÓN CELULAR

Para el estudio del efecto de fármacos en modelos computacionales, se deberá confirmar que estos modelos son capaces de reproducir los efectos farmacológicos observados empíricamente, en laboratorio. Por ello, se procede en este apartado al análisis y comparación de los resultados obtenidos tras el ajuste de los parámetros del modelo con los resultados de los diferentes ensayos experimentales extraídos de la literatura, para los 6 fármacos seleccionados.

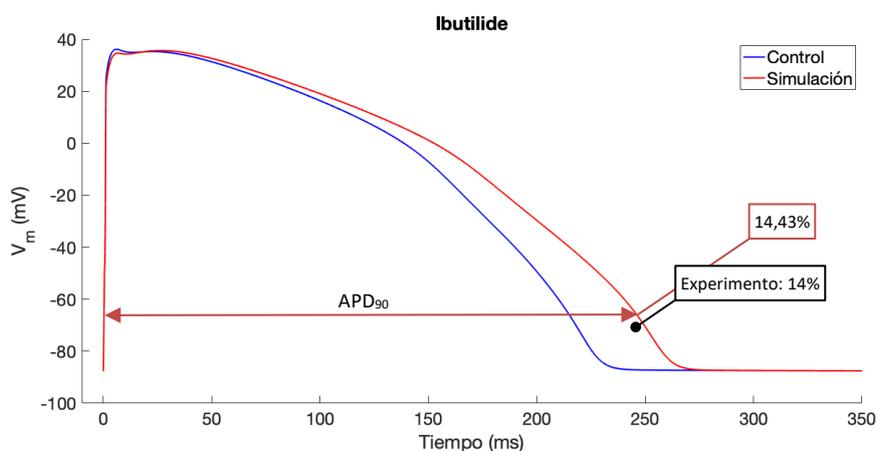
#### 5.1.1. Ibutilide

Para el caso del Ibutilide, de riesgo alto, se escoge el experimento de *Verduyn et al. (2004)* al trabajar en su ensayo con cardiomiocitos ventriculares de perro. Los distintos experimentos se realizan a la misma concentración, de  $1\mu\text{M}$ , y se trabaja a diferentes periodos de estimulación (500, 1500 y 4000 ms), con lo que se obtienen los resultados mostrados en la *Tabla 7* tras la simulación computacional.

[C] <sub>fármaco</sub> (nM)	BCL	EXPERIMENTO	SIMULACIÓN		SIMULACIÓN
		Verduyn et al. (2004)	Medianas	Valores CiPA	Ajuste Valores CiPA
1000	500 ms	14%	123,43%	105,18%	14,43%
	1500 ms	59%	430,08%	168,27%	14,88%
	4000 ms	108%	60,91%	73,77%	15,09%

**Tabla 7. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Ibutilide. Las columnas, de izquierda a derecha, contienen: la concentración experimental, los periodos de estimulación, los resultados experimentales, los resultados de las simulaciones empleando como parámetros los valores de Medianas (Anexo 2) y CiPA (Anexo 3) y los resultados finales tras ajustar los parámetros.**

Tras la simulación, los resultados se alejan en gran medida de los datos experimentales, por lo que se procede a un ajuste de los valores de IC<sub>50</sub> y *h* para mejorar el resultado, tomándose los IC<sub>50</sub> y *h* iniciales de CiPA por obtenerse resultados más cercanos a los experimentales. Así, se modifican los valores de la corriente de potasio I<sub>Kr</sub>, corriente repolarizante que más afecta al APD, a un valor intermedio de los presentes en la literatura (Tabla 12), aunque bastante superior al valor inicial de CiPA, consiguiendo reducir así en gran medida la prolongación del APD simulada hasta el 14,43%. Aun acercándose al resultado para este experimento, no consigue ajustarse para el resto de resultados, pudiendo deberse a que el modelo celular es demasiado simple y no modela adecuadamente los efectos de la frecuencia de estimulación en los resultados que se obtienen, pues, parece que la modificación de la frecuencia no genera una diferencia significativa en las variaciones obtenidas.



**Figura 20. Efecto de 1000 nM de Ibutilide sobre el potencial de acción**

### 5.1.2. Bepridil

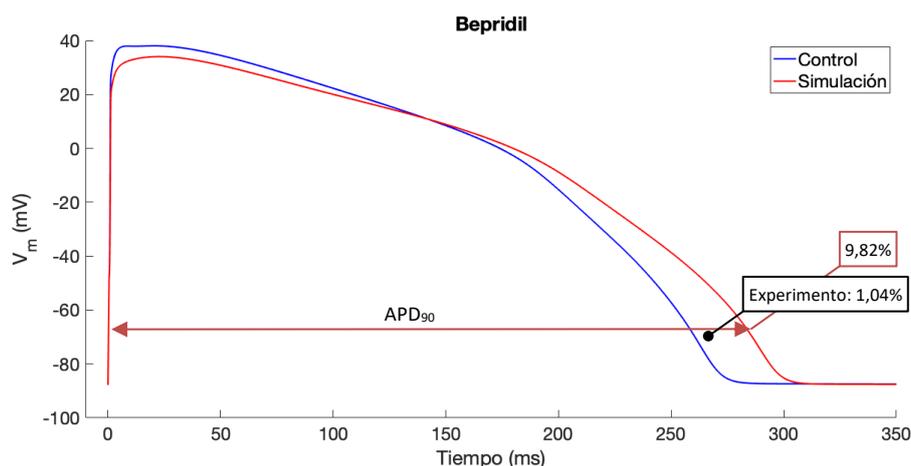
Para el caso del Bepridil, de riesgo alto, se reproduce computacionalmente el experimento de Nobe et al. (1993) por su cantidad de experimentos y por emplear células de cobaya. Se procede a la simulación a diferentes frecuencias y concentraciones, obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 8.

Frecuencia	[C] <sub>fármaco</sub> (nM)	EXPERIMENTO	SIMULACIÓN		SIMULACIÓN
		Nobe et al. (1993)	Medianas	Valores CiPA	Ajuste Medianas
0.1 Hz	1000	1,06%	237,11%	162,07%	
	4000	1,06%	629,23%	2950,70%	
	10000	2,12%	837,61%	2951%	
	20000	3,70%	1148,20%	225,82%	
0.5 Hz	1000	1,01%	148,00%	104,63%	
	4000	0%	187,45%	585,21%	
	10000	1,52%	229,33%	585,54%	
	20000	1,52%	343,55%	254,55%	
1 Hz	1000	1,04%	125,17%	92,11%	9,82%
	4000	1,04%	152,84%	180,42%	91,85%
	10000	0,52%	187,79%	279,67%	174,34%
	20000	0%	279,67%	137,97%	279,49%
2 Hz	1000	2,58%	101,06%	85,12%	
	4000	5,80%	113,27%	40,61%	
	10000	7,74%	108,83%	126,33%	
	20000	8%	106,91%	79,34%	
5 Hz	1000	3%	15,42%	15,42%	
	4000	7%	2,84%	15,43%	
	10000	13%	0,48%	-2,26%	
	20000	14%	-1,57%	-4,35%	

**Tabla 8. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Bepridil**

Como se puede observar, los resultados iniciales tras la simulación difieren en gran medida con los obtenidos en el experimento de *Nobe et al. (1993)*, por lo que se escogen los valores iniciales de Medianas, seguido de un ajuste de los valores de IC<sub>50</sub> y *h* para mejorar el resultado, y cuyos resultados se muestran en la última columna. Para el ajuste, nos centramos en el experimento de 1 Hz a la menor concentración, de 1 μM, al ser el experimento más cercano a lo que sería el caso terapéutico (más cercano al valor de EFTPC de este fármaco, que es 33 nM).

Así, el resultado más cercano a los valores experimentales de variación del APD<sub>90</sub> se consigue tras modificar los valores de la corriente de potasio I<sub>Kr</sub> asignando como nuevos valores los del límite superior de estos parámetros, con tal de reducir la prolongación del APD y acercarla al valor experimental (*Tabla 12*). Aun mejorando en gran medida el resultado para concentraciones pequeñas, no consigue ajustarse al resultado esperado, que se encuentra en torno a una variación del 1%, aunque en este caso tampoco tiene sentido ajustarse a la variación indicada en los experimentos para un fármaco de riesgo alto. Dados estos resultados en las simulaciones, que difieren en gran medida de los experimentales, se decide no continuar simulando para todos los experimentos de este fármaco.



**Figura 21. Efecto de 1000 nM de Bepridil sobre el potencial de acción**

Para este caso, llama la atención que, a pesar de ser un fármaco de riesgo alto, experimentalmente se obtienen variaciones pequeñas en el  $APD_{90}$ . Este no es el único experimento que obtiene estos resultados, por lo que se deduce que el fármaco tiene un comportamiento anómalo dada la categoría a la que pertenece, y que su riesgo se debe a otros mecanismos subyacentes, que dificulta su reproducción computacionalmente. También puede deberse a las condiciones de los experimentos, o a las líneas celulares empleadas. Estos resultados pueden ser debidos también al modelo computacional empleado, que puede resultar demasiado simplista para reproducir el efecto farmacológico del Bepridil, por lo que sería interesante emplear modelos más sofisticados como los modelos de Markov.

Así pues, para este fármaco, se procederá a la simulación a mayor escala, con la intención de lograr una reproducción adecuada de su efecto en el corazón.

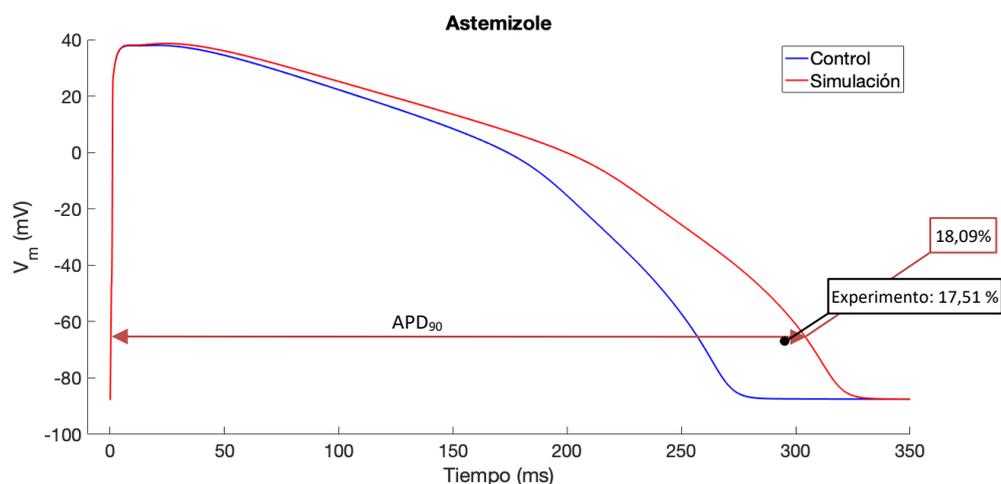
### 5.1.3. Astemizole

Para el Astemizole, fármaco de riesgo intermedio, se escoge el experimento de *Salata et al. (1995)* al trabajar con miocitos ventriculares de cobaya. En este caso se trabaja a dos frecuencias (1 y 3 Hz) y a dos concentraciones (0,3 y 1 nM), y los resultados de la simulación bajo estas condiciones se muestran en la *Tabla 9*.

		EXPERIMENTO	SIMULACIÓN		SIMULACIÓN
Frecuencia	[C] <sub>fármaco</sub> (nM)	Salata et al. (1995)	Medianas	Valores CiPA	Ajuste Valores CiPA
1 Hz	0,3	17,51%	2,92%	0,94%	18,09%
	1	46,69%	9,23%	3,07%	44,33%
3 Hz	0,3	10,10%	2,26%	0,70%	13,92%
	1	26,34%	7,16%	2,38%	33,10%

**Tabla 9. Resumen de valores de prolongación de  $APD_{90}$  experimentales y de simulaciones para el Astemizole**

Los resultados no se acercan lo suficiente a los datos experimentales, por lo que se procede al ajuste, tomando como valores iniciales, tras diversas pruebas, los de la iniciativa CiPA. El mejor resultado se muestra en la columna derecha, donde se consigue un ajuste bastante cercano a los datos experimentales para todos los experimentos, reduciendo para ello los valores de la corriente  $I_{Kr}$  a los valores mínimos de los existentes en la literatura (*Tabla 12*), consiguiendo así prolongar el  $APD$  hasta los valores experimentales.



**Figura 22. Efecto de 0,3 nM de Astemizole sobre el potencial de acción**

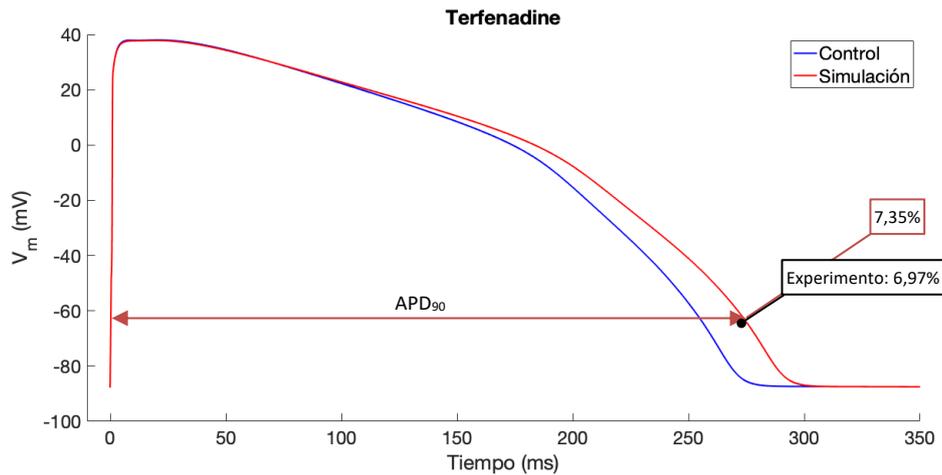
### 5.1.3. Terfenadine

En el caso del Terfenadine, el otro fármaco de riesgo intermedio, se escoge el experimento de *Gibson et al. (2014)* al trabajar en su ensayo con células miocárdicas ventriculares de humano. Los diferentes experimentos se realizan a la misma frecuencia, de 1 Hz, y se trabaja a diferentes concentraciones (3, 10, 30 y 100 nM), por lo que se procede a su simulación computacional, obteniéndose los resultados mostrados en la *Tabla 10*.

Frecuencia	[C] <sub>fármaco</sub> (nM)	EXPERIMENTO		SIMULACIÓN		SIMULACIÓN
		Gibson et al. (2014)	Medianas	Valores CiPA	Ajuste Medianas	
1 Hz	3	3,05%	3,21%	1,06%		2,22%
	10	6,97%	10,31%	3,31%		7,35%
	30	22,00%	26,87%	9,02%		19,68%
	100	42,05%	61,85%	24,94%		48,33%

**Tabla 10. Resumen de valores de prolongación de APD<sub>90</sub> experimentales y de simulaciones para el Terfenadine**

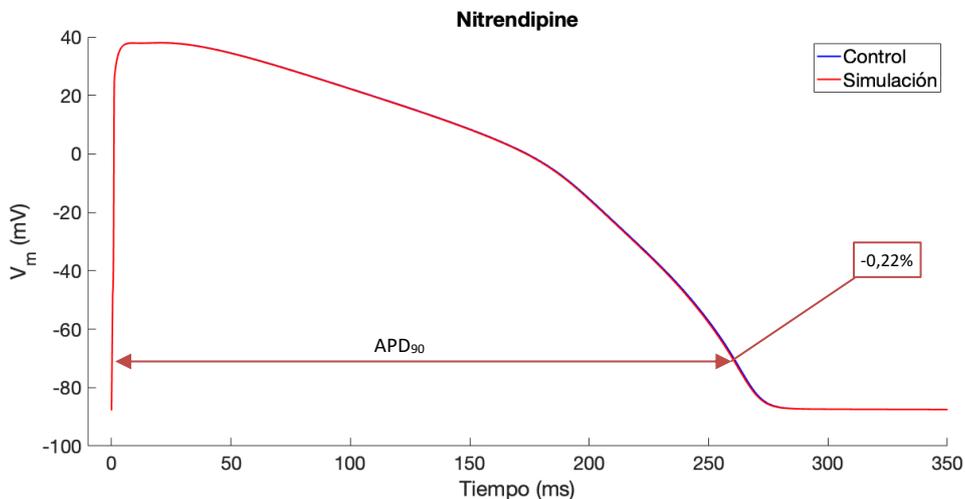
Tras la simulación, se observa cómo los resultados se acercan a los datos experimentales para concentraciones pequeñas, pero a medida que aumenta la concentración, parece que no consigue modelar correctamente la tendencia del efecto farmacológico, por lo que se procede al ajuste. Se toman como parámetros iniciales los de Medianas, al aproximarse mejor a los valores experimentales, y tras el ajuste, se obtiene el resultado mostrado en la columna de la derecha, que sí que se acerca en gran medida a los datos experimentales para todos los experimentos. Esto se consigue modificando los valores de la corriente  $I_{Kr}$  y la corriente de calcio  $I_{CaL}$ : para  $I_{Kr}$  se escogen valores intermedios (*Tabla 12*), ligeramente superior al valor inicial de Medianas, reduciendo así ligeramente la prolongación del APD simulada; y se modifica también la corriente tipo L de  $Ca^{2+}$ ,  $I_{CaL}$ , que influye en la fase de meseta, para la que se escogen valores intermedios, más reducidos que los iniciales, permitiendo prolongar ligeramente el APD y ajustarse mejor a los valores experimentales tras la modificación combinada de ambas corrientes.



**Figura 23. Efecto de 10 nM de Terfenadine sobre el potencial de acción**

### 5.1.5. Nitrendipine

El Nitrendipine, fármaco de riesgo bajo, no consta en experimentos celulares realizados, por lo que no existen referencias de su comportamiento y los cambios que induce en el potencial de acción, aunque sí en clínica, por lo que se conoce su seguridad cardiaca. A estos efectos, no podremos validar las simulaciones computacionales, al no disponer de datos experimentales con los que comparar a nivel celular. Por ello, no se realiza ajuste alguno y tomaremos como valores de  $IC_{50}$  y  $h$  para los 7 canales los establecidos por la iniciativa CiPA. Se simula a una frecuencia de 1 Hz y a EFTPC (3,02 nM), con la intención de visualizar los efectos electrofisiológicos del fármaco a concentración terapéutica y se muestra a continuación el PA obtenido:



**Figura 24. Efecto de 3,02 nM de Nitrendipine sobre el potencial de acción**

### 5.1.6. Verapamil

Para el Verapamil, el segundo fármaco de la categoría de riesgo bajo, se escoge de nuevo el experimento de *Gibson et al. (2014)*, al trabajar en su ensayo con células miocárdicas ventriculares de humano. Los diferentes experimentos se realizan a la misma frecuencia, de 1 Hz, y se trabaja a diferentes concentraciones, y tras la simulación computacional, se obtienen los resultados mostrados en la *Tabla 11*.



## 5.2. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN MODELOS POBLACIONALES

Tras el estudio del efecto de los compuestos en el modelo celular, se propone el análisis en población de modelos, para tener en cuenta la variabilidad presente en los cardiomiocitos, lo que justifica una respuesta variable ante la presencia de fármaco. Además, se propone el estudio en dos poblaciones de modelos, una de hombre y otra de mujer, para tener en cuenta las diferencias debidas al sexo.

Para estas simulaciones poblacionales se emplean las condiciones de los experimentos del apartado anterior más cercanas a la realidad: las concentraciones para cada fármaco serán las más cercanas a su EFTPC y la frecuencia será de 1 Hz salvo para el caso del Ibutilide, donde la frecuencia será de 2 Hz. Estos casos son los resaltados en azul en las tablas del apartado anterior, y fueron los escogidos también para el ajuste de los parámetros de  $IC_{50}$  y  $h$ , por la misma razón. Por ello, decidido por el análisis realizado anteriormente, se toman los valores de estos parámetros tras el ajuste, mostrados en la *Tabla 12*.

El PA de las poblaciones de modelos generados para hombre y mujer se pueden observar en la *Figura 16*, donde se aprecia una morfología ligeramente distinta para cada modelo, con diferencias especialmente significativas en la fase de repolarización, donde la duración de esta varía desde los 250 a los 350 ms en hombres y entre los 280 y 380 ms en mujeres, aproximadamente. Se aprecia cómo en el caso de hombres, los PA son ligeramente más cortos que los de mujer, lo que concuerda con lo conocido de la literatura (Ozcan & Curtis, 2014).

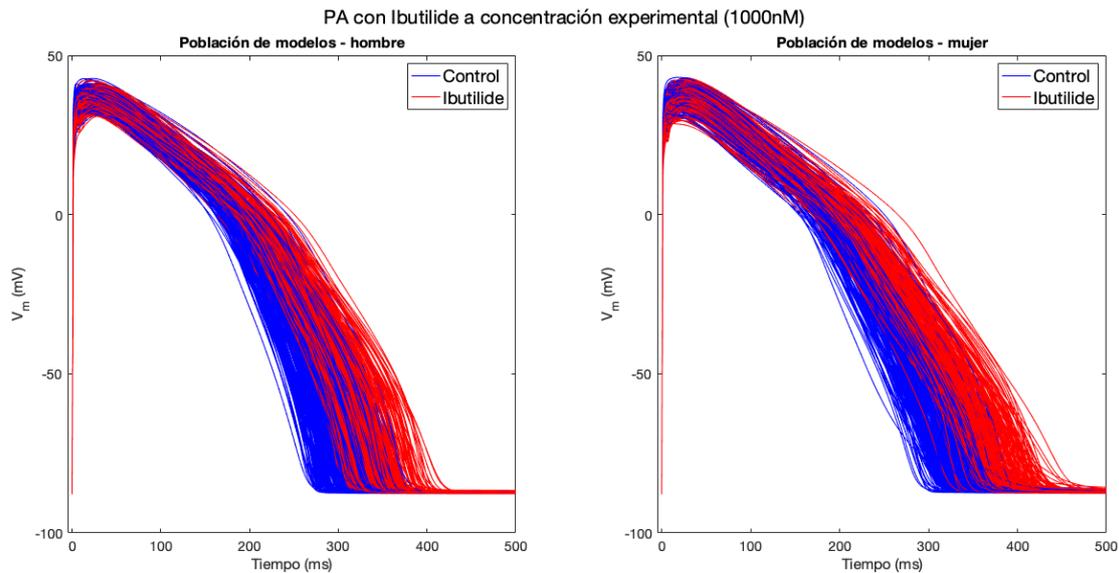
La media de duraciones de los PA al 90% de la repolarización ( $APD_{90}$ ) de la población de hombre es de  $278,18 \pm 21,86$  ms y la de la población de mujer es de  $302,58 \pm 18,56$  ms, con lo que la diferencia entre las medias entre poblaciones es de 24,4 ms, lo que concuerda con los valores reportados en la literatura, en estudios como los de Yang et al. (2017) o Verkerk et al. (2005).

Así pues, las diferencias en estos modelos influirán también en la respuesta de estos a la aplicación del fármaco, lo que permitirá obtener una variabilidad en los resultados que se ajustarán más a lo esperado en la experimentación y en la clínica.

La respuesta de los modelos frente a fármacos se ha obtenido para los 6 medicamentos escogidos de la iniciativa CiPA: Bepridil e Ibutilide, de riesgo torsadogénico alto; Astemizole y Terfenadine, de riesgo intermedio de TdP; y Nitrendipine y Verapamil, medicamentos de riesgo bajo.

Se muestran a continuación los resultados de ambas poblaciones de modelos (hombre y mujer) para los diferentes fármacos, indicándose en azul los PA de las células sin la aplicación del fármaco, y en rojo los PA afectados por la administración del medicamento.

En el caso del Ibutilide, de riesgo alto, cuyos resultados se muestran en la *Figura 26* más adelante, este provoca un alargamiento moderado del APD, con mayor variabilidad en la respuesta que en los siguientes casos, lo que se asocia a una mayor peligrosidad del compuesto. Aunque hay concentraciones para las cuales pueden desarrollarse despolarizaciones tempranas (EADs) con Ibutilide, en este caso que replica el valor experimental, no se observan EADs para los diferentes modelos, aunque sí se destaca una mayor prolongación, un mayor efecto, para la población de mujer.

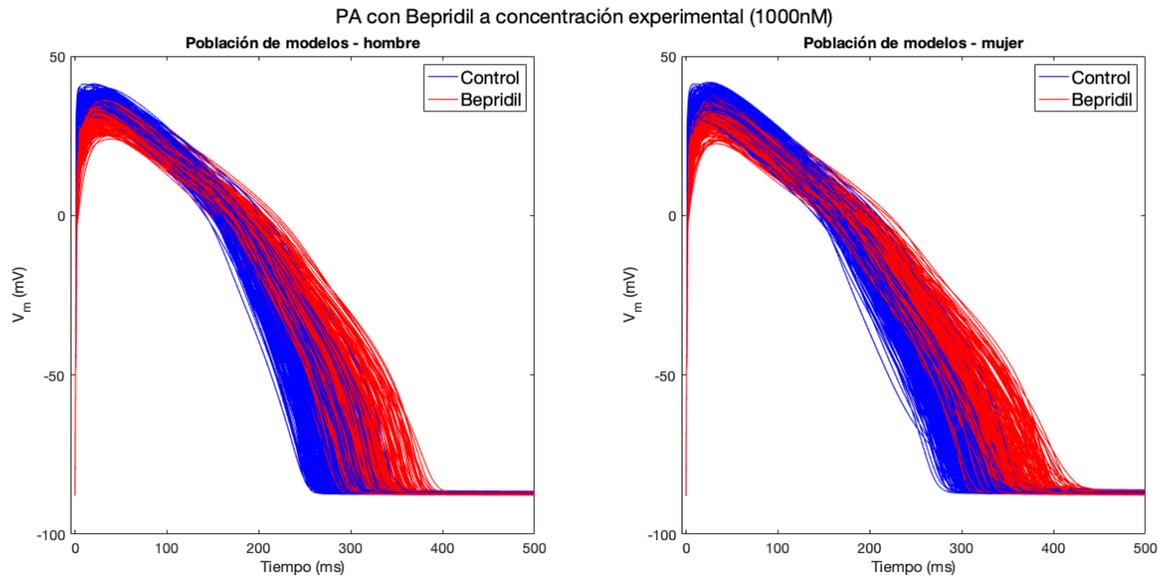


**Figura 26. Efecto del Ibutilide (riesgo alto) en el potencial de acción a concentración de 1000 nM**

Respecto al experimento reproducido, el de *Verduyn et al. (2004)*, los resultados computacionales muestran una mayor prolongación del PA, pues en el experimento, la  $\Delta APD_{90}$  relativa es de 14%, y como se puede observar para la población de modelos, la media de los porcentajes de variación del  $APD_{90}$  se sitúa en el 20,23% en hombre y 22,19% en mujer. Los valores mínimos de variación para las poblaciones son de 13,37% para hombre y 13,29% para mujer y los máximos se corresponden con 30,27% en hombre y 31,43% en la población de mujer, resultando llamativa la variabilidad de los resultados en función de la célula, lo que implica que la respuesta al fármaco difiere bastante entre los individuos de una población, una respuesta ciertamente imprevisible.

Para el caso del Bepridil, de riesgo alto, se muestran los resultados en la *Figura 27*, donde se observa un ligero alargamiento del APD, siguiendo el experimento escogido y los ajustes realizados, y que es más notable en el caso de mujeres. Este resultado es consistente con lo conocido en la literatura, donde, además de ser el APD ligeramente superior en mujeres respecto a hombres, en estas los efectos de los fármacos son mayores. En *Ozcan & Curtis (2014)* se expone cómo el PA en cardiomiocitos ventriculares humanos es más largo en mujeres, y que esto ocurre en otras especies, como cobaya, perro o conejo. Además, en el caso de los ventrículos humanos, en mujeres las células presentan una mayor heterogeneidad en la duración del PA y una mayor susceptibilidad a los EADs proarrítmicos.

En relación a esto último, a las despolarizaciones tempranas, debido al ajuste realizado se destaca que, a pesar de ser un fármaco de riesgo alto, las prolongaciones del APD no son excesivas, y no aparecen EADs para ningún modelo, comportamiento asociado a fármacos de esta categoría y que suelen evidenciar la potencial peligrosidad de los fármacos.

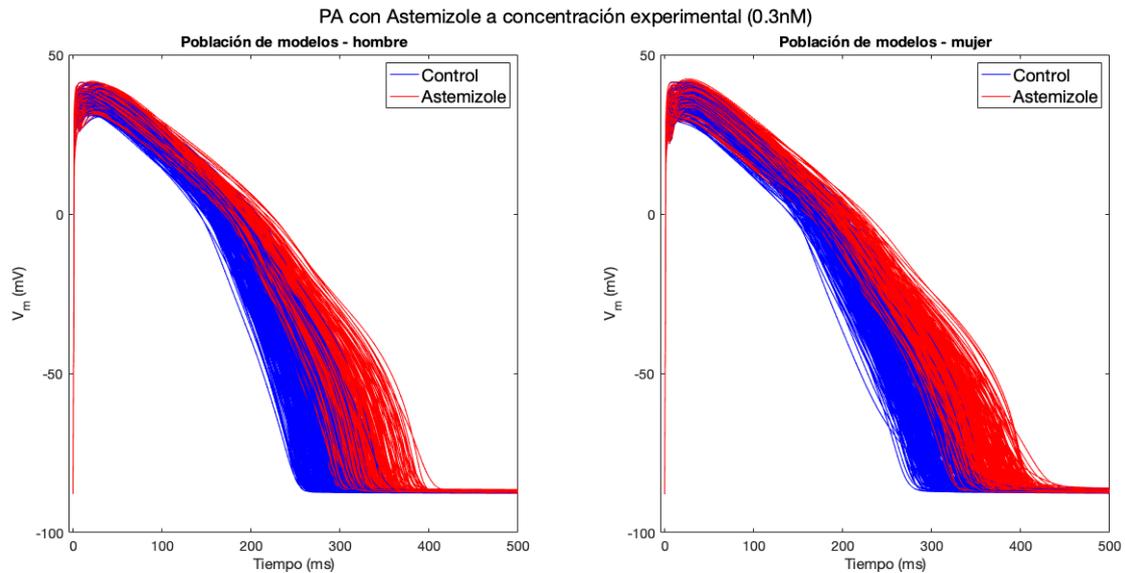


**Figura 27. Efecto del Bepridil (riesgo alto) en el potencial de acción a concentración de 1000 nM**

El experimento reproducido, *Nobe et al. (1993)*, muestra un resultado de variación del  $APD_{90}$  tras la aplicación de 1000 nM de Bepridil de 1,04%, y como se puede observar para la población de modelos, los valores obtenidos en la simulación difieren en gran medida del experimental, donde la media de variación porcentual del  $APD_{90}$  se sitúa en el 12,65%, en el caso de hombres, y en el 13,85% en mujeres, y el menor valor de variación para ambas poblaciones es de 9,04% en hombre y 6,78% en mujer, por lo que no existe en la población ningún caso que modele el resultado experimental.

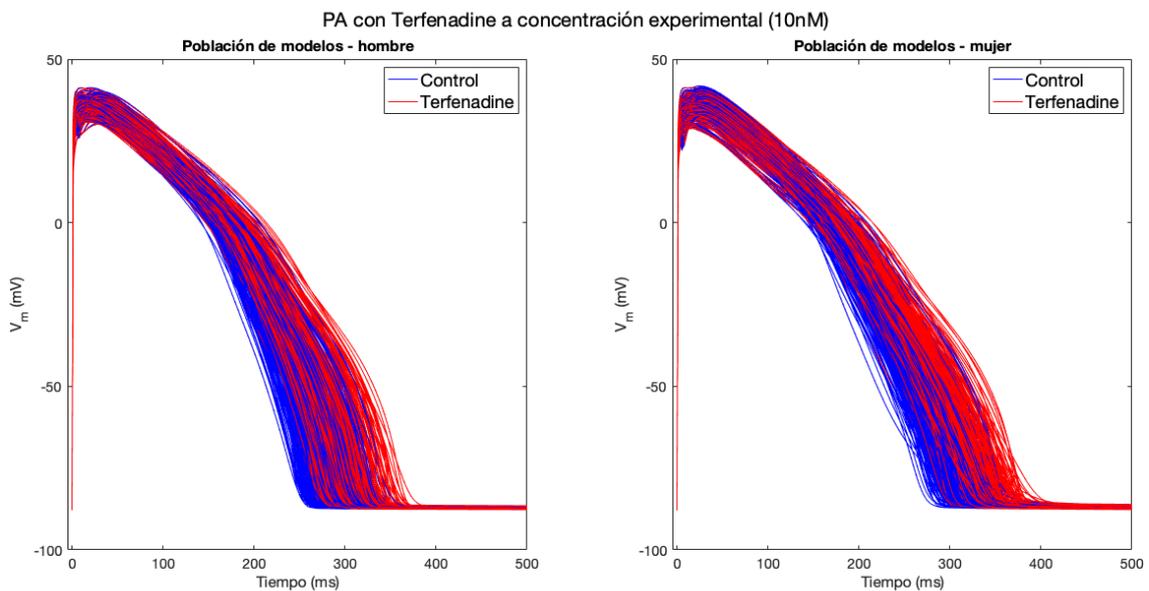
Así pues, al igual que en la validación celular, las simulaciones no consiguen ajustarse al dato experimental, por lo que este fármaco se intentará validar empleando simulación 3D, que presenta un mayor grado de complejidad y puede ser que consiga reproducir la respuesta electrofisiológica provocada por este fármaco.

En referencia a los fármacos de riesgo torsadogénico intermedio, esto son, el Astemizole y Terfenadine, los efectos inducidos en el APD de las poblaciones tras su aplicación se muestran en la *Figura 28* y la *Figura 29*, respectivamente. En ambos casos se obtiene una respuesta mucho más suave, con una variación del APD significativa, pero no suficiente para generar EADs, que no se dan en ningún modelo.



**Figura 28. Efecto del Astemizole (riesgo intermedio) en el PA a concentración de 0,3 nM**

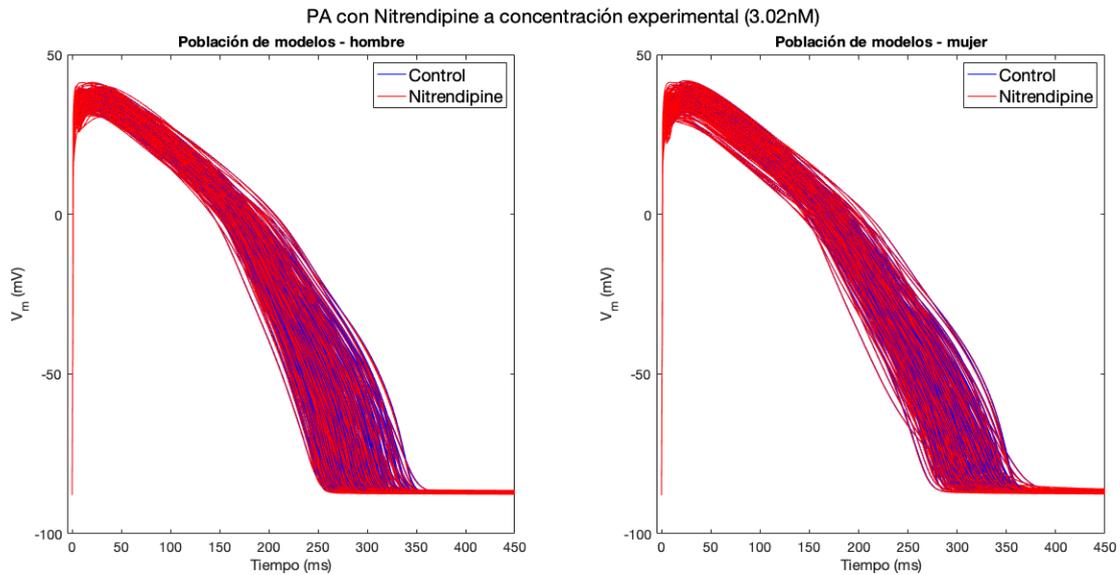
En el caso del Astemizole, cuyos resultados se grafican en la *Figura 28*, el incremento en el  $APD_{90}$  es de 15,98% para hombres y 17,24% para mujeres, mientras que en el experimento de *Salata et al. (1995)* el resultado para la aplicación de Astemizole concentración de 0,3 nM es de 17,51%.



**Figura 29. Efecto del Terfenadine (riesgo intermedio) en el PA a concentración de 10 nM**

El experimento de *Gibson et al. (2014)* muestra un incremento del  $APD_{90}$  tras la aplicación de 10 nM de Terfenadine del 6,97%. Las simulaciones computacionales, graficadas en la *Figura 29*, obtienen una media de variación en el  $APD_{90}$  de 6,72% para hombres y 7,19% para mujeres, valores muy similares al experimental.

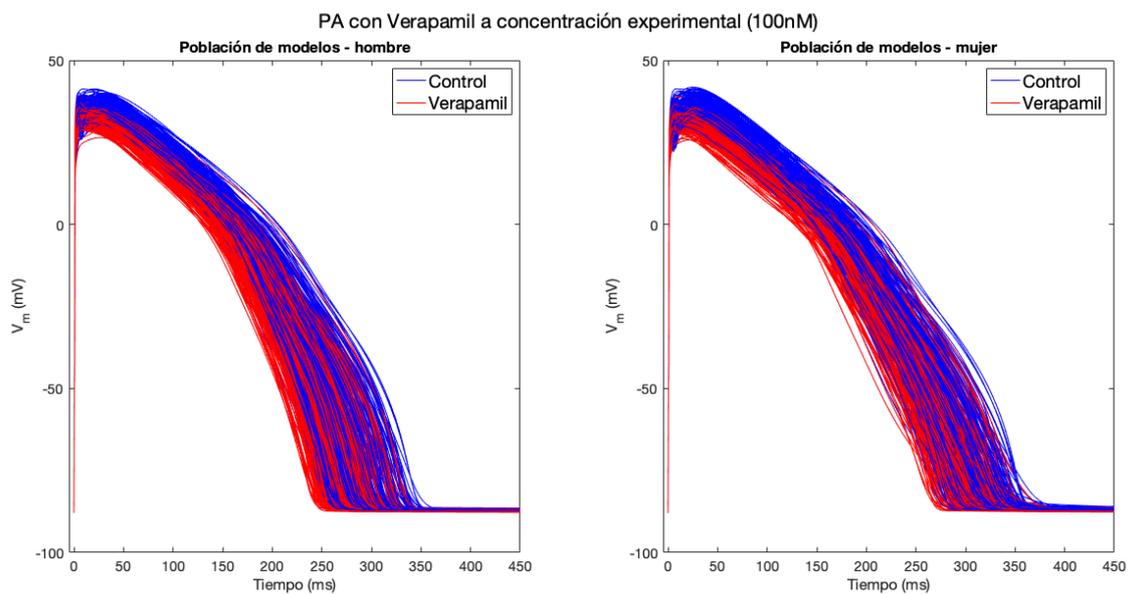
En cuanto a los fármacos de riesgo bajo de TdP, mostrados en la *Figura 30* y *Figura 31*, los efectos en el  $APD$  son muy reducidos. Así, en el caso del Nitrendipine los efectos son prácticamente nulos, lo que encaja con un fármaco de riesgo bajo.



**Figura 30. Efecto del Nitrendipine (riesgo bajo) en el PA a concentración de 3,02 nM**

Para el Nitrendipine no fue posible encontrar un experimento que se adecuara a las características de este trabajo, por lo que no se disponen de datos experimentales. Aun con ello, dado que es un fármaco de riesgo bajo, se espera que la variación del  $APD_{90}$  sea mínima o que acorte este valor, como se observa en los resultados obtenidos, donde la media de variación es de -0,21% para la población de hombre y -0,19% en mujer.

En el caso del Verapamil, el fármaco produce una ligera disminución del  $APD_{90}$ . Esto concuerda con experimentos como Britton et al. (2017), donde se obtenían respuestas similares en ensayos de células ventriculares humanas ex vivo.

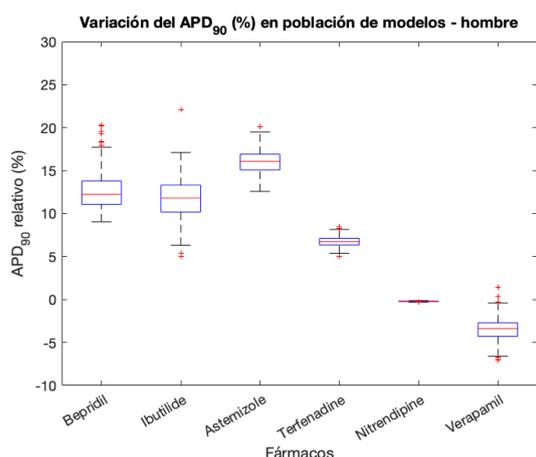


**Figura 31. Efecto del Verapamil (riesgo bajo) en el PA a concentración de 100 nM**

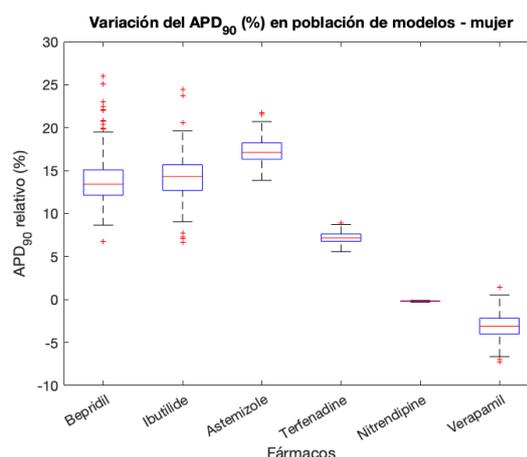
Respecto al experimento reproducido para el Verapamil, el de Gibson et al. (2014), que obtiene una variación porcentual del -5,83%, los resultados computacionales muestran una variación media del  $APD_{90}$  de -3,51% para hombres y un -3,06% en mujeres, valores más que aceptables que se asimilan en gran medida al experimental.

Se obtienen también diagramas de caja y bigotes representando la variación del  $APD_{90}$  para las poblaciones de modelos para cada fármaco, tanto para la población de hombre como la de mujer, a fin de ver la variabilidad de respuestas tras la aplicación de los compuestos.

En la *Figura 32* y la *Figura 33* se puede observar cómo para los fármacos de riesgo alto, estos son, el Bepridil e Ibutilide, las respuestas frente al fármaco se ubican en un rango mayor de valores que en el resto de casos, con un mayor número de *outliers* o valores anómalos, lo que implica una mayor imprevisibilidad de la respuesta de estos medicamentos dependiendo de la célula y sujeto, lo que puede estar asociado a este elevado riesgo de ambos compuestos.



**Figura 32.**  $APD_{90}$  relativo tras la aplicación de los fármacos en la población de modelos de hombre



**Figura 33.**  $APD_{90}$  relativo tras la aplicación de los fármacos en la población de modelos de mujer

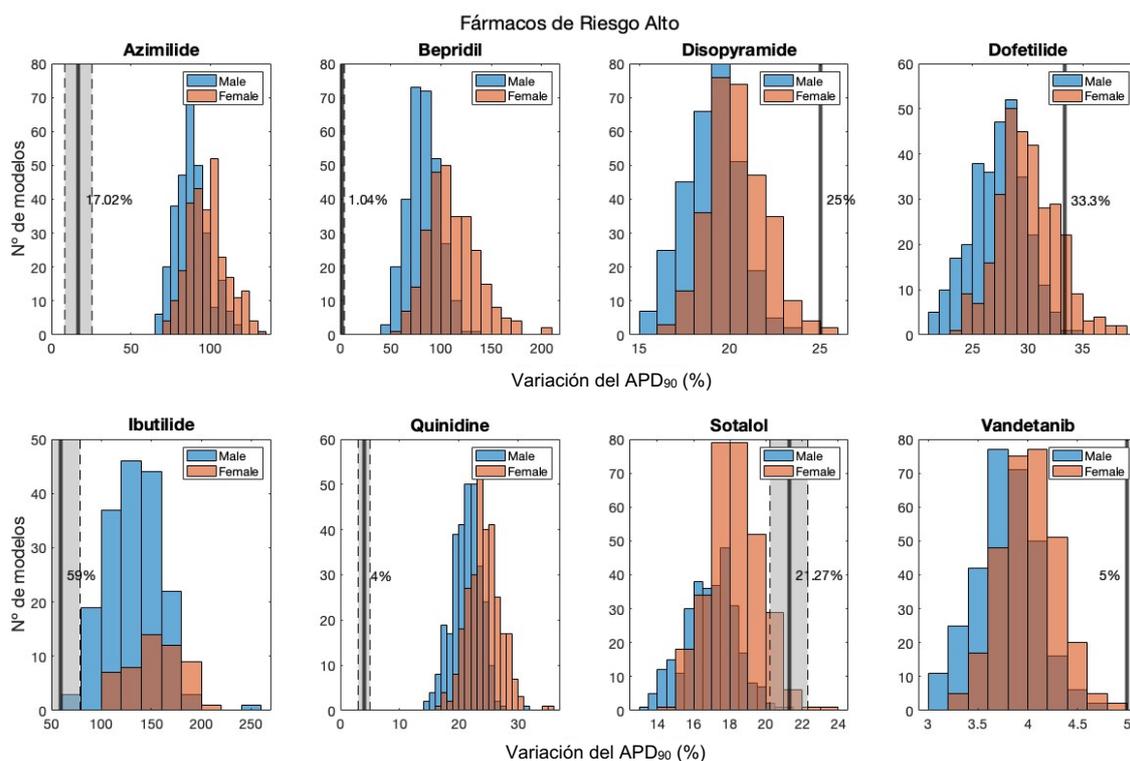
En comparación con los fármacos de riesgo alto, los compuestos de riesgo intermedio y bajo presentan una variación de  $APD_{90}$  más reducida, en un rango más pequeño de valores, tanto para hombres como para mujeres. Además, se aprecia cómo las variaciones son ligeramente mayores en mujeres, lo que se corresponde con un mayor alargamiento del PA para este sexo, comentado anteriormente. Se hace notar que el Astemizole presenta una media de variación mayor a los fármacos de riesgo alto, que no es más que por el valor de concentración experimental escogido de la literatura para los compuestos de alto riesgo, que conlleva una variación reducida del  $APD_{90}$ .

Este proceso de simulación y ajuste reproduciendo un experimento tomado de la literatura forma parte de las actividades de validación del modelo numérico implementadas en el proyecto *SimCardioTest*. De un total de 28 fármacos CiPA, 22 ya habían sido ajustados, por lo que estos 6 completan la lista.

A continuación, se analizarán los 28 fármacos CiPA, que servirán para la creación de la herramienta de clasificación. Se muestran los resultados de la aplicación del fármaco para las poblaciones de modelos, para los medicamentos de riesgo torsadogénico alto, intermedio y bajo en la *Figura 34*, la *Figura 35* y la *Figura 36*, respectivamente. Los histogramas muestran el porcentaje de variación en el  $APD_{90}$  para los modelos de hombre y mujer, mientras que la línea sitúa el porcentaje experimental (la ventana grisácea designa la desviación típica especificada en el experimento, en caso de que se indique en este).

Resulta importante mencionar la diferencia de escala en la representación de cada uno de los fármacos, ya que se ha elegido aquella que permite una mejor visualización individual. Al tener respuestas diferentes, puede provocar que la distribución sea más homogénea, o, por el contrario, más variable, provocando que los histogramas no sean directamente comparables entre sí al estar representados en diferente escala.

Para todos los casos puede observarse, para los modelos de hombre y mujer, que hay un ligero desplazamiento a la derecha de los valores de mujer, que se corresponde con un APD<sub>90</sub> ligeramente más largo en el caso de ellas.

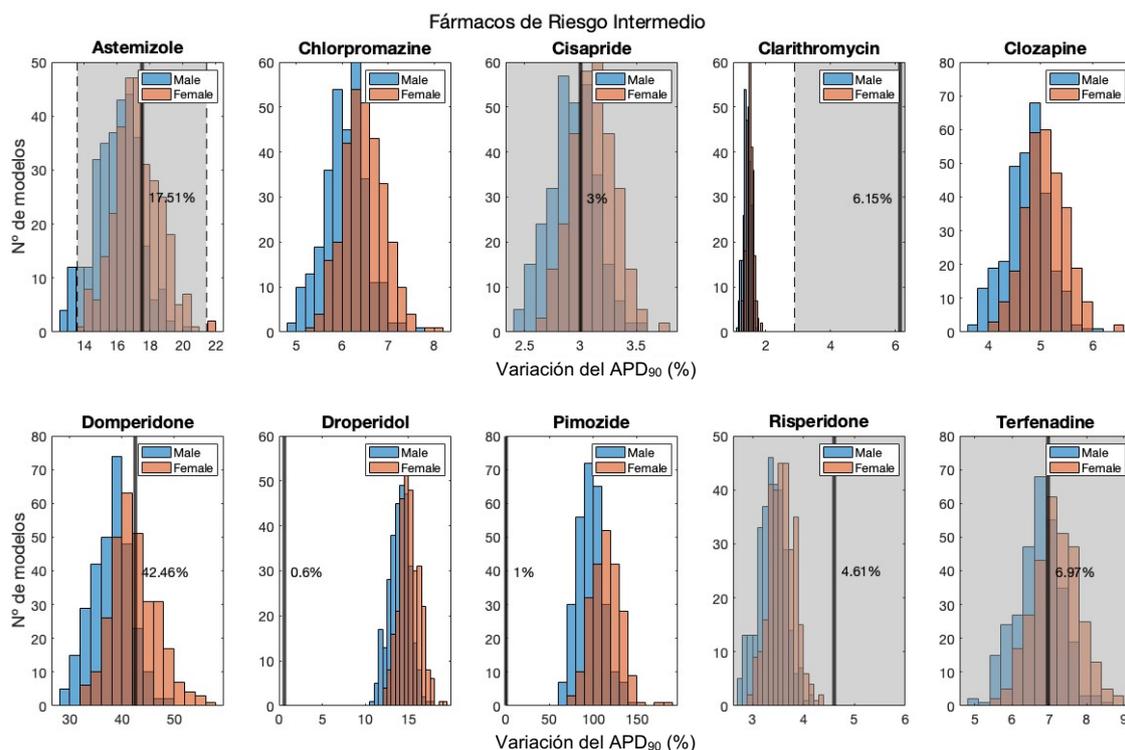


**Figura 34. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo alto**

En referencia a los compuestos de riesgo alto de TdP, para los que se disponen de datos experimentales en todos los casos, se observa en la *Figura 34* cómo existen, para algunos de los fármacos, un porcentaje de modelos que consigue ajustarse a los resultados, como el Disopyramide, Dofetilide, y Sotalol. En otros casos, como pueden ser el Ibutilide y el Vandetanib, únicamente los modelos con una respuesta más extrema dentro de la población consiguen acercarse al valor del experimento, aunque para el Vandetanib no resulta llamativo dada la pequeña variación entre respuestas de los diferentes modelos, que se sitúan entre el 3-5% de variación, frente al 5% experimental.

Como lo población de mujer presenta una mayor prolongación del APD que en hombres para todos los fármacos, los casos en que el valor experimental es elevado coinciden con un mayor número de células de sexo femenino. Por el contrario, si la prolongación observada es pequeña, hay más individuos hombres en torno a ese valor.

Por el contrario, resultan llamativos los resultados obtenidos para el Azimilide, Bepridil y Quinidine, que distan en gran medida de los valores experimentales. Así pues, no ha sido posible ajustar el efecto de estos fármacos para una simulación más precisa, y esto puede deberse a falta de conocimiento sobre el efecto de estos medicamentos en los canales, con rangos de valores de IC50 escasos que no permiten realizar un buen ajuste. Otra explicación posible es la variabilidad de respuesta intrínseca del fármaco, que dificulta su modelado y hace necesario el uso de modelos más complejos, como los modelos de Markov. Por último, otra razón puede ser la fiabilidad del valor experimental en sí mismo, pues llama la atención variaciones experimentales tan reducidas para fármacos de riesgo alto, como es el caso del Bepridil y Quinidine, con un 1.04% y un 4% de variación, respectivamente.



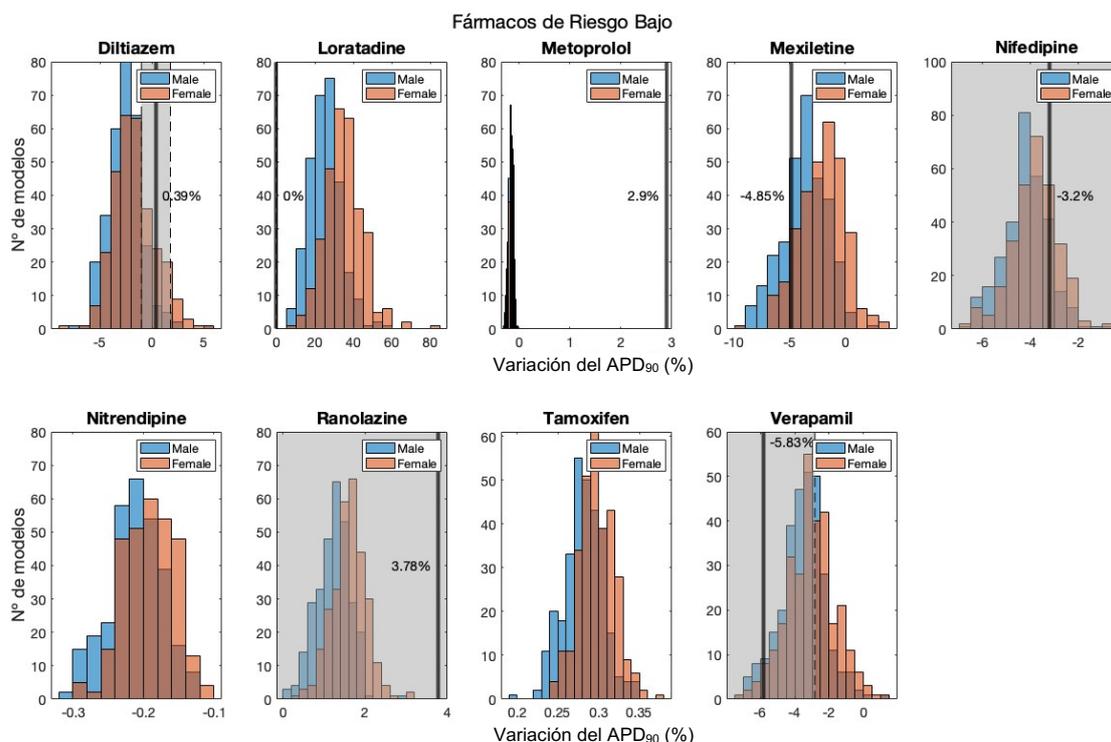
**Figura 35. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo intermedio**

Los fármacos intermedios, representados en la *Figura 35*, no disponen en todos los casos de datos experimentales, pues para el Chlorpromazine y el Clozapine no se encontraron experimentos que registraran el efecto de estos fármacos a nivel celular.

La mayoría de los fármacos consiguen ajustarse a los resultados, estos son: Astemizole, Cisapride, Domperidone, Risperidone y Terfenadine. En el caso del Clarithromycin, aunque el valor experimental no se encuentre dentro del rango de respuestas de los modelos, se aprecia cómo las simulaciones presentan valores muy similares entre sí, con un rango muy limitado, y que el valor experimental no difiere porcentualmente en gran medida, por lo que el resultado es más que admisible.

El caso del Pimozide resulta llamativo, pues en el experimento tomado, el de *Hayashi et al. (2005)*, la variación en el APD<sub>90</sub> es muy pequeña y no varía a diferentes concentraciones del fármaco. Además, la simulación muestra unos porcentajes muy elevados y no se pueden ajustar por falta de datos de IC50 de los diferentes canales.

Para el Droperidol, las simulaciones no consiguen ajustarse al valor experimental, y dado el rango reducido de IC50 disponible, no puede mejorarse el resultado. En el experimento, las diferentes frecuencias y concentraciones empleadas resultan en variaciones del APD<sub>90</sub> con diferencias ligeras, mientras que en las simulaciones las diferencias entre experimentos son más acusadas.



**Figura 36. Porcentaje de variación del APD<sub>90</sub> de poblaciones de modelos de hombre y mujer para fármacos de riesgo bajo**

Respecto a los medicamentos de riesgo bajo, tampoco se encuentran experimentos a estos efectos para todos ellos, como es el caso del el Nitrendipine y el Tamoxifen, de los que no se disponen de valores experimentales.

La mayoría de los fármacos de esta categoría consiguen ajustarse a los valores experimentales, y estos son: Diltiazem, Mexiletine, Nifedipine, Ranolazine y Verapamil. En el caso del Metoprolol, aunque el valor experimental no se encuentre dentro del rango de las simulaciones, se observa cómo las respuestas simuladas presentan un rango muy reducido, que se sitúa del 0.01%-0.03%, mientras que el experimento obtiene un 2.9% de variación, por lo que las diferencias entre experimento y simulación no son significativas y se considera que se consigue modelar adecuadamente el efecto de este fármaco.

Por último, las simulaciones del Loratadine no consiguen ajustarse a los valores experimentales. Es posible que debido a que el experimento de *Davie et al. (2004)* considera valores muy superiores al EFTPC del fármaco, el error asociado al modelo numérico aumente al alejarse de los valores habituales de concentración.

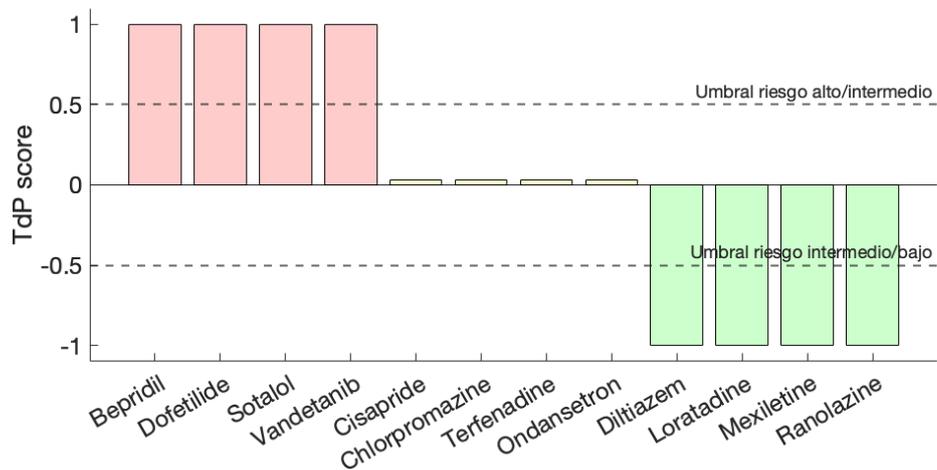
### 5.2.1. Herramienta de clasificación

Para la evaluación del riesgo torsadogénico inducido por fármacos se crea una herramienta de clasificación que permita predecir el posible riesgo proarrítmico asociado a los medicamentos.

La existencia de simulaciones no ajustadas a valores experimentales ya sea por falta de datos en la literatura, falta de valores de  $IC_{50}$  para realizar el ajuste, o el uso de un modelo demasiado simplista para modelar el efecto del fármaco, influirá negativamente en la clasificación, al no modelar correctamente el medicamento y no tener valores similares a los reales obtenidos en experimentos.

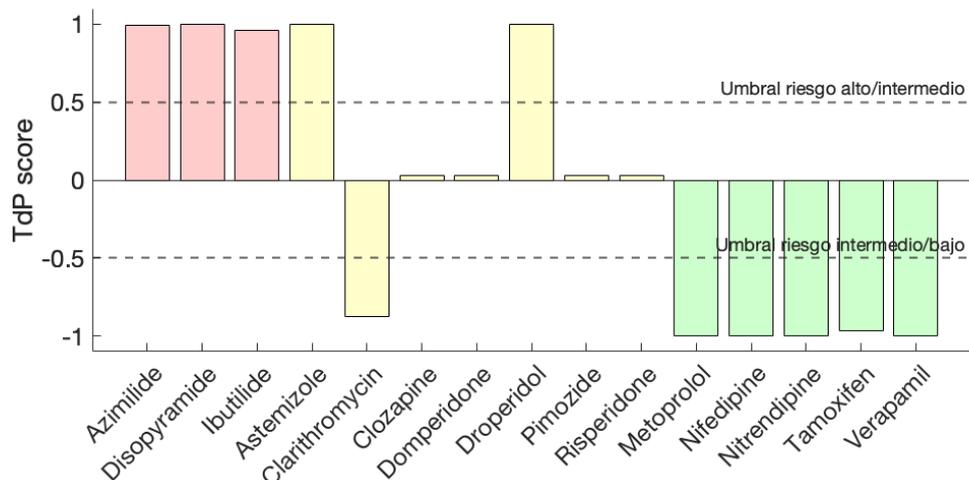
Primeramente, se crea un clasificador empleando los biomarcadores obtenidos en las simulaciones poblacionales únicamente de hombre, a tres concentraciones de los fármacos, estas son: EFTPCx1, EFTPCx5 y EFTPCx10.

Tras el entrenamiento, se obtienen los siguientes resultados:



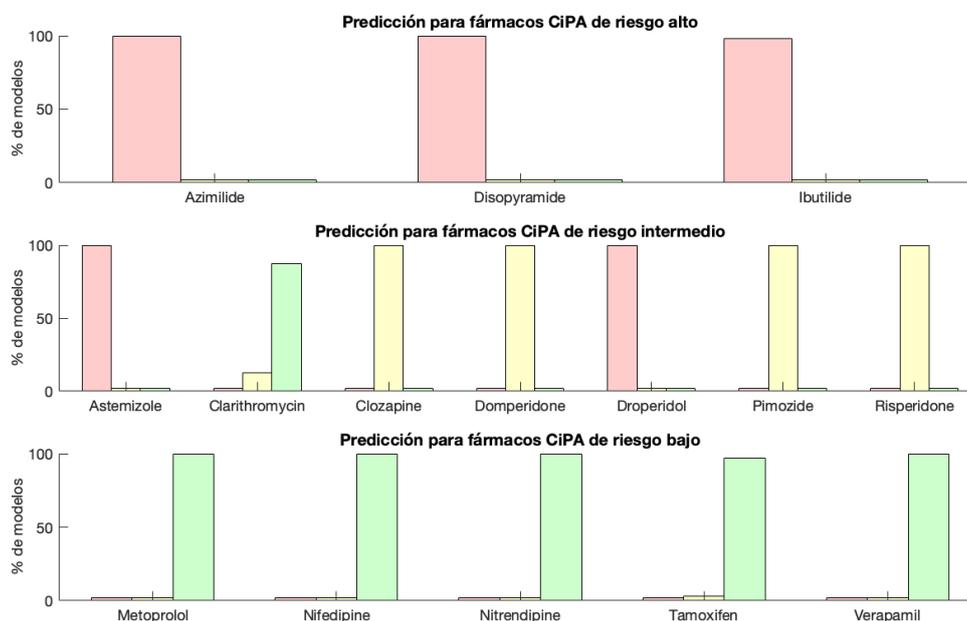
**Figura 37. TdP scores del entrenamiento inicial**

Como se puede apreciar, se consigue un 100% de acierto, donde los fármacos de riesgo alto (en rojo) se asocian a un valor de TdP-score de 1, el riesgo intermedio (en amarillo) con un valor 0 y los fármacos de riesgo bajo (en verde) con el -1. Al aplicar dicho clasificador sobre los fármacos de test, los resultados iniciales son los siguientes:



**Figura 38. TdP scores iniciales del conjunto de test para hombre**

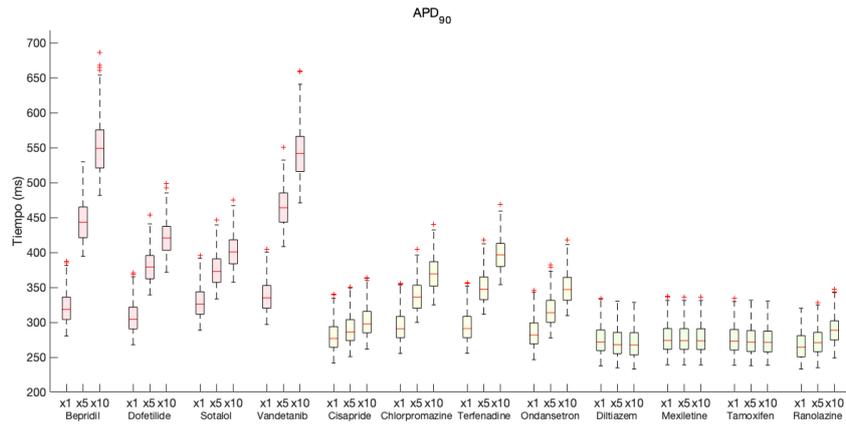
Donde, tomando como umbrales de clasificación los valores intermedios entre clases (0.5 y -0.5) se clasifican incorrectamente 3 fármacos: el Astemizole y Droperidol, que se predicen de riesgo alto siendo realmente de riesgo intermedio; y el Clarithromycin, siendo de riesgo torsadogénico intermedio también, que se clasifica de riesgo bajo. Así pues, todos los fármacos de riesgo de TdP alto y de riesgo bajo son predichos correctamente. El porcentaje de modelos asignados a cada clase, y que explica el TdP-score obtenido para cada fármaco, es el siguiente:



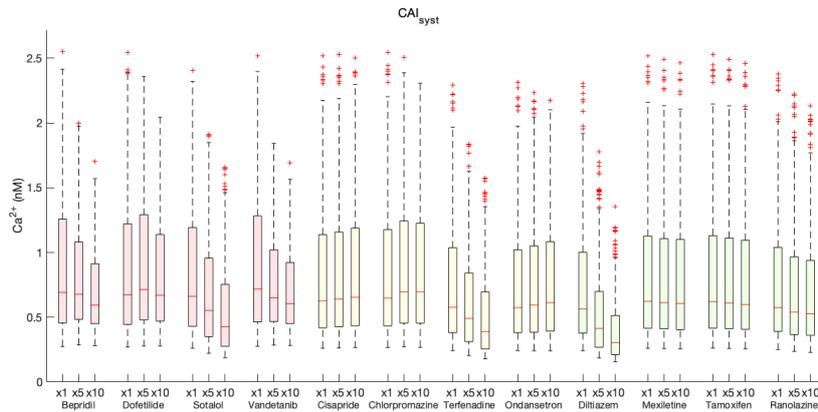
**Figura 39. Porcentajes de modelos clasificados inicialmente en las diferentes categorías de riesgo para los fármacos de test en la población de hombre**

Como se puede apreciar en la Figura, tanto para el Astemizole como el Droperidol, todos los modelos son considerados de riesgo alto y por ello se clasifican erróneamente. En el caso del Clarithromycin, de riesgo intermedio, un pequeño porcentaje de modelos se predice correctamente, pero la mayoría se clasifican como de riesgo bajo, provocando que el TdP-score para este fármaco sea más bajo que el umbral de riesgo intermedio/bajo.

Antes de pasar a clasificar el riesgo de los fármacos en mujeres, con la intención de mejorar los resultados, se realiza un estudio de los datos por si existe algún fármaco cuyo comportamiento sea errático, pudiendo comprometer el correcto entrenamiento de la herramienta y, con ello, la correcta clasificación de los fármacos. Se muestran a continuación, a modo de ejemplo, los datos de algunos de los biomarcadores, para los diferentes fármacos a las 3 concentraciones contempladas:



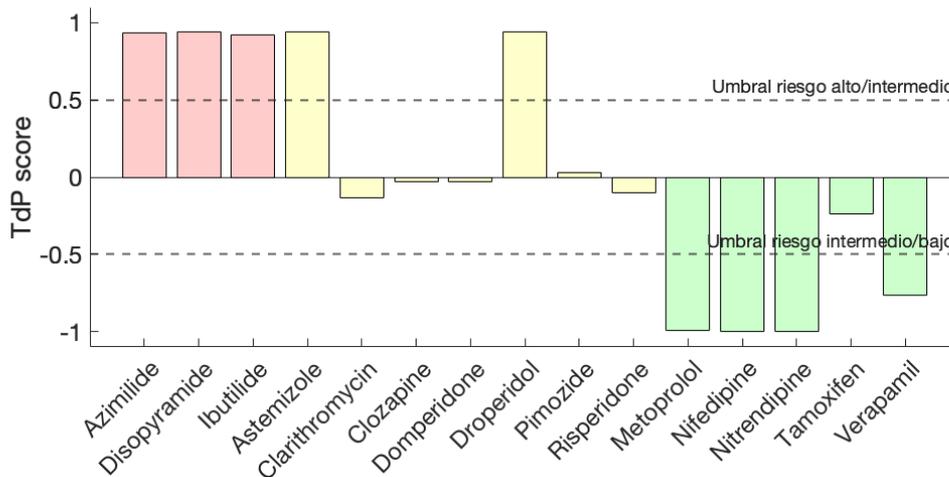
**Figura 40. APD<sub>90</sub> de los fármacos de entrenamiento a las 3 concentraciones**



**Figura 41. CA<sub>i-SYST</sub> de los fármacos de entrenamiento a las 3 concentraciones**

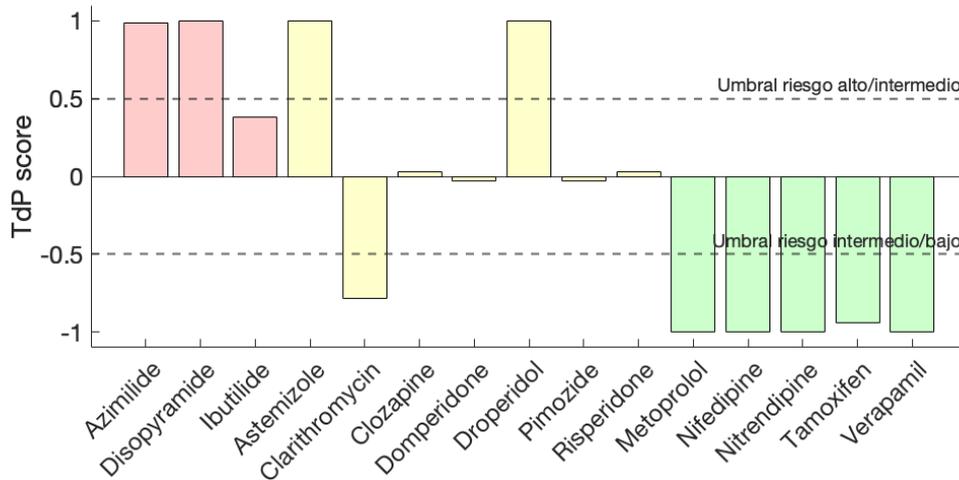
Tras comprobar que no sucede que algún fármaco se comporte de forma errática, pero debido a la diferente escala de los biomarcadores, se decide aplicar un preprocesado a los datos para intentar mejorar la clasificación inicial.

Se opta por una normalización de lo datos, con la que se pretende uniformizar los valores de entrada al clasificador para evitar que predominen los de mayor magnitud. Si se aplica este preprocesado, el nuevo resultado del clasificador en forma de TdP score para los fármacos de test es:



**Figura 42. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos empleando los datos de entrada iniciales normalizados**

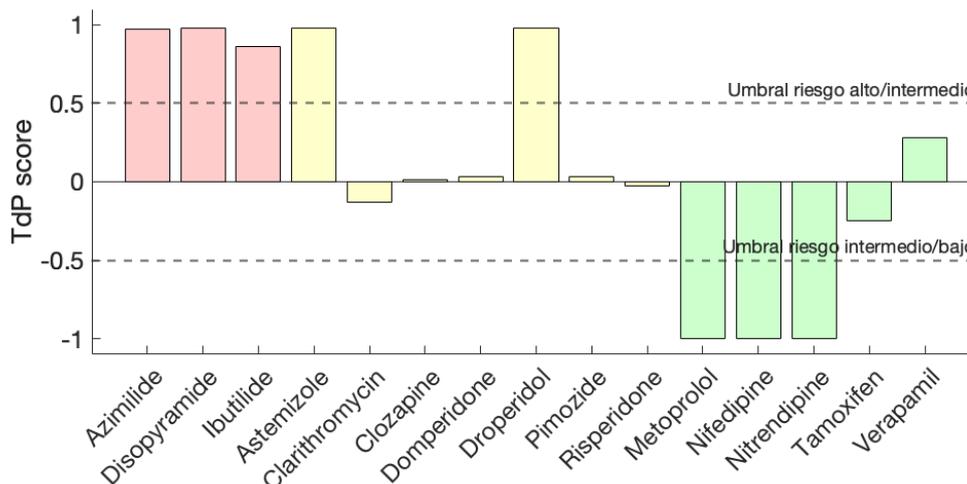
Como se puede apreciar en la *Figura 42*, al normalizar los datos se consigue clasificar correctamente el Clarithromycin, de riesgo intermedio. Para el resto de fármacos intermedios clasificados erróneamente, las predicciones se mantienen. Sin embargo, tras normalizar los datos el Tamoxifen ya no se predice de riesgo bajo, y se clasifica indebidamente como riesgo intermedio. Por ello, con la intención de poder mejorar estos resultados se prueba a cambiar los datos de entrada, en este caso empleando como datos los biomarcadores de ambas poblaciones, tanto de hombre como de mujer. Esta prueba se realiza sin normalizar, y tras ello, se obtienen los siguientes resultados:



**Figura 43. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos incluyendo los datos de mujer como entrada**

En este caso la predicción del Ibutilide, de riesgo alto, ya no es correcta, clasificándose como riesgo intermedio.

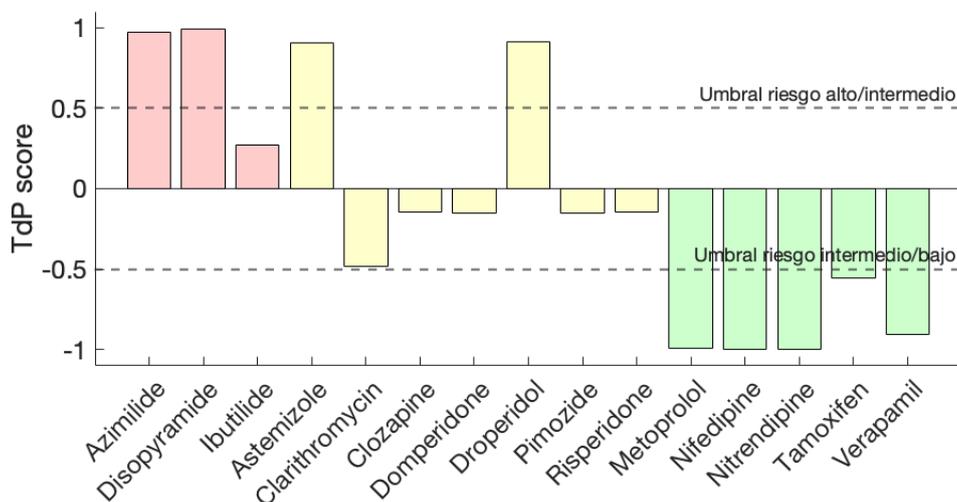
Los 3 fármacos intermedios que se han clasificado erróneamente en otros casos vuelven a predecirse en categorías equivocadas, y los fármacos de riesgo bajo son clasificados correctamente, aumentando la cantidad de modelos asignados como de riesgo bajo en el caso del Tamoxifen, que ya se predice de riesgo bajo, y el Verapamil. Decidido por los resultados positivos obtenidos anteriormente, con la intención de mejorar estos resultados, se normalizan los datos y se obtiene la siguiente clasificación:



**Figura 44. TdP scores del conjunto de test de hombre con datos de hombre y mujer como entrada normalizados**

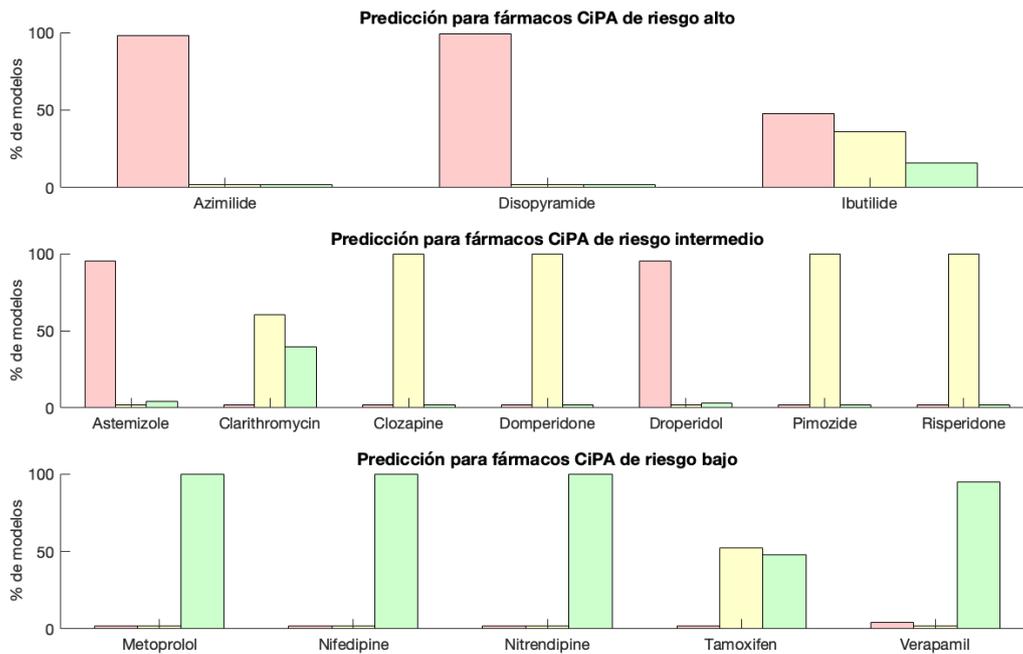
En este caso, respecto a su homólogo sin normalizar, se consigue predecir correctamente el riesgo del Ibutilide, de riesgo alto, y el Clarithromycin, de riesgo intermedio. El Astemizole y Droperidol continúan clasificándose equivocadamente como riesgo alto siendo de riesgo torsadogénico intermedio y el Tamoxifen y Verapamil, de riesgo bajo, se asignan indebidamente a riesgo intermedio.

Así pues, aunque los resultados son positivos, no son mejores que los clasificadores anteriores, por lo que se decide continuar empleando únicamente los datos de hombre para el entrenamiento y se plantea que la gran cantidad de variables introducidas para el entrenamiento de la herramienta de clasificación puede influir negativamente en la capacidad de clasificación de esta. Por ello, se propone una reducción de los datos de entrada, para mejorar la clasificación final, empleando esta vez los datos únicamente de dos concentraciones: EFTPCx1 y EFTPCx10; eliminando la concentración intermedia. Atendiendo a los resultados con el conjunto inicial, donde resulta positivo normalizar los datos, se decide continuar haciéndolo. Con esto, se obtiene como TdP scores para los fármacos de test:



**Figura 45. TdP scores del conjunto de test de hombre obtenidos empleando los datos de entrada iniciales reducidos y normalizados**

Con esta reducción de dimensionalidad de los datos de entrada se consigue clasificar correctamente de nuevo los fármacos de riesgo bajo. Se mantiene la clasificación errónea de los medicamentos Astemizole y Droperidol, que, siendo dos compuestos de riesgo intermedio, se continúan prediciendo como de riesgo torsadogénico alto y se predice erróneamente el Ibutilide, de riesgo alto, como riesgo intermedio. El porcentaje de modelos asignados a cada clase para cada fármaco en este último clasificador es el siguiente:



**Figura 46. Porcentajes de modelos obtenidos del último clasificador**

Así pues, los resultados de los diferentes clasificadores se muestran, a modo de resumen, en la ***¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***, donde se presentan tanto las matrices de confusión de las diferentes clasificaciones como las métricas de desempeño Accuracy y Mean Classification Error (MCE).

Clasificador inicial				Clasificador inicial normalizado			
	Alto	Int.	Bajo		Alto	Int.	Bajo
Pred. Alto	3	2	0	Pred. Alto	3	2	0
Pred. Int.	0	4	0	Pred. Int.	0	5	1
Pred. Bajo	0	1	5	Pred. Bajo	0	0	4
Accuracy:	80%			Accuracy:	80%		
MCE:	0,2			MCE:	0,2		

Clasificador con datos de hombre y mujer				Clasificador con datos de hombre y mujer norm.			
	Alto	Int.	Bajo		Alto	Int.	Bajo
Pred. Alto	2	2	0	Pred. Alto	3	2	0
Pred. Int.	1	4	1	Pred. Int.	0	5	2
Pred. Bajo	0	1	4	Pred. Bajo	0	0	3
Accuracy:	73,33%			Accuracy:	73,33%		
MCE:	0,267			MCE:	0,267		

Clasificador con reducción de variables norm.			
	Alto	Int.	Bajo
Pred. Alto	2	2	0
Pred. Int.	1	5	0
Pred. Bajo	0	0	5
Accuracy:	80%		
MCE:	0,2		

**Tabla 13. Matriz de confusión y métricas de desempeño de los clasificadores**

De acuerdo a los niveles de aceptación del desempeño de los modelos predictivos de CiPA, Li et al. (2018) establece un rendimiento excelente de la herramienta predictiva si el MCE es menor a 0,3. Como puede observarse, todos los clasificadores entrenados se pueden considerar aceptables para la predicción del riesgo de TdP.

Se observa como tres de los cinco clasificadores propuestos presentan las mismas métricas de desempeño. Así, se decide tomar como mejor clasificador el que sea capaz de clasificar mejor los fármacos de riesgo alto, y que los errores en la clasificación sean de riesgo mayor al riesgo real del medicamento, atendiendo a las necesidades reales a estos efectos. Por tanto, se decide que el mejor clasificador es el inicial normalizado.

Para el mejor clasificador, este es, el segundo clasificador entrenado, en la *Figura 42*, se consiguen clasificar 12 de 15 fármacos CiPA, clasificándose erróneamente el Astemizole, Droperidol y Tamoxifen. El Tamoxifen ha sido clasificado erróneamente en otros trabajos, como en Llopis-Lorente et al. (2022), donde se sugiere que esto puede deberse a que el modelo *in silico* parece incapaz de capturar los efectos de este fármaco en las corrientes  $I_{NaL}$  e  $I_{CaL}$ , insuficientes para contrarrestar la prolongación del APD provocada por el bloqueo de  $I_{Kr}$ .

Una posible explicación de estos errores a nivel general reside en las posibles dificultades en la caracterización de la potencia del fármaco, lo que conlleva una caracterización equivocada de los  $IC_{50}$ . Otra posible razón puede ser la sobre o infraestimación del rol de una corriente específica en el modelo, pudiendo representarse indebidamente el bloqueo de corrientes como  $I_{NaL}$  o  $I_{CaL}$  o la representación exagerada de los efectos en el bloqueo de  $I_{Kr}$  (Britton et al., 2017).

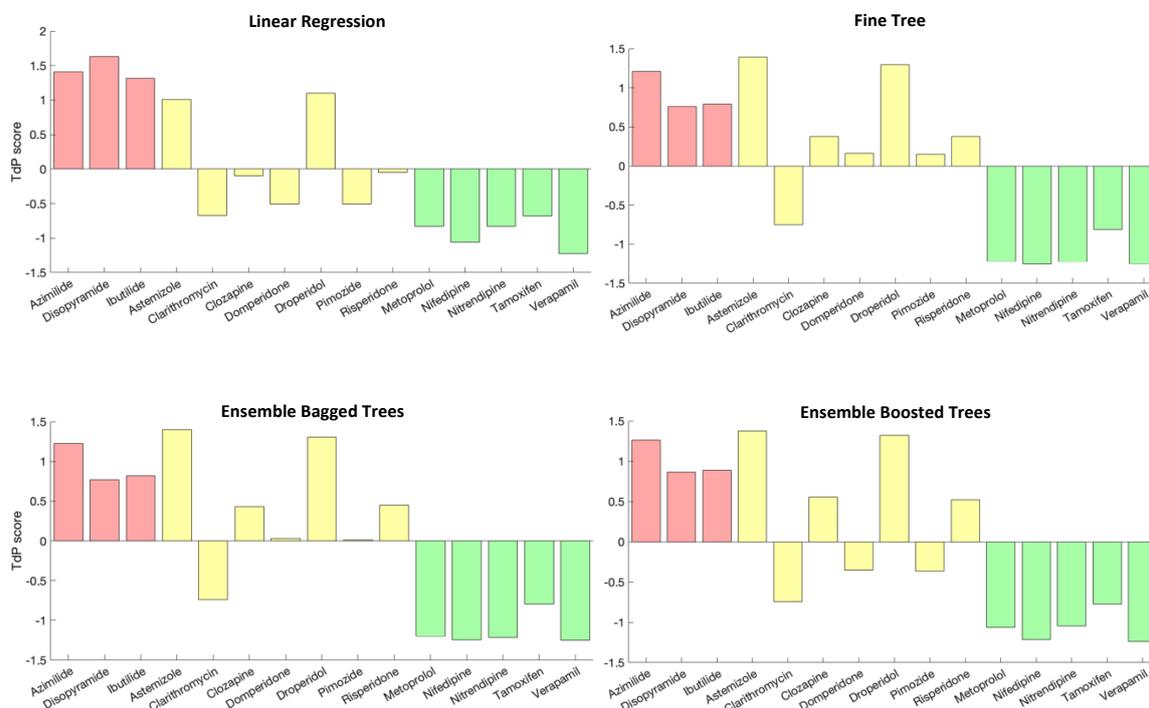
## 5.2.2. Modelos de regresión

La manera de evaluar el comportamiento de los fármacos y su efecto en la electrofisiología cardíaca no es única, y a la hora de asignar riesgos potenciales de provocar TdP a los diferentes compuestos se pueden tomar estrategias distintas. Se ha propuesto una herramienta de clasificación ternaria cuya finalidad es determinar a qué grupo de riesgo pertenece un fármaco: si es de riesgo alto, intermedio o bajo. Si la intención fuera obtener un score del riesgo torsadogénico de un fármaco concreto, se podría optar por el uso de modelos de regresión, y cuyos resultados podrían extrapolarse a un problema de clasificación posteriormente.

Los modelos escogidos se corresponden con los mejores resultados alcanzados tras entrenar todos los modelos disponibles en la herramienta de *Matlab* de *Regression Learner*, que incluye regresiones lineales, árboles de regresión, regresiones SVM y redes neuronales, entre otros. Se decide emplear como datos del set de datos de hombre y mujer con la reducción de variables para las concentraciones EFTPCx1 y EFTPCx10, para agilizar el proceso de entrenamiento.

Los modelos elegidos finalmente son una regresión lineal, y árboles de decisión, dos de ellos de tipo *Ensemble*. Una agrupación o *ensemble* de árboles es una técnica de aprendizaje supervisado donde se agregan varios árboles de decisión entrenados individualmente para obtener un modelo más robusto con mejores resultados. El *Bagged Ensemble Trees* emplea el *Bootstrap Aggregation*, donde cada árbol se entrena con un subconjunto aleatorio de los datos de entrenamiento y las predicciones se realizan combinando los resultados con estadísticos como la media. Por otro lado, el Boosted Ensemble Trees entrena los árboles de forma secuencial, asignando pesos a las clasificaciones, ponderando las clasificaciones erróneas.

Así pues, se proponen los siguientes modelos de regresión y se muestran los resultados obtenidos. Para la obtención del marcador de riesgo TdP, el TdP score, se promedian los valores asignados por la regresión a todos los modelos para cada fármaco, y se obtiene:

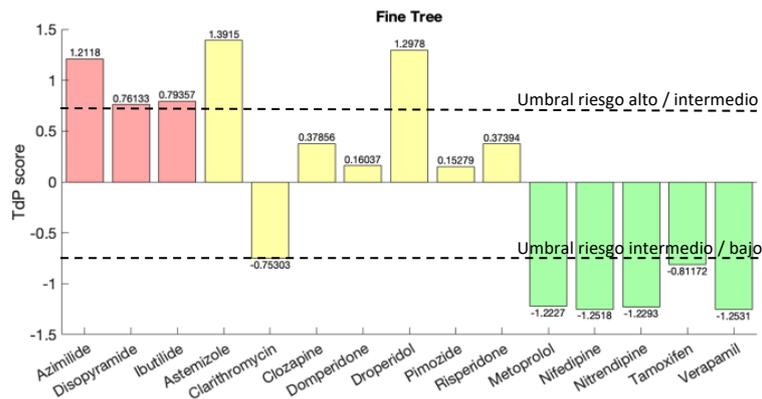


**Figura 47. Resultados de TdP scores para los modelos de regresión escogidos**

En la *Figura 47* se aprecia cómo los resultados son similares a los de las clasificaciones: los fármacos de riesgo alto se agrupan en los valores más altos de TdP score, mientras que los fármacos de riesgo bajo se centran en los valores más negativos; el Astemizole y Droperidol, aun siendo compuestos de riesgo intermedio, obtienen valores de riesgo de TdP mayores que los medicamentos propios de la categoría de riesgo alto. El Clarithromycin, también de riesgo intermedio, al igual que en las clasificaciones, obtiene valores negativos más cercanos a los fármacos de riesgo bajo que a los de su propia categoría.

Estos resultados nos proporcionan un valor dentro de una escala del potencial riesgo torsadogénico de los compuestos, aportando esta información adicional que puede resultar relevante.

Además, si se desea realizar clasificaciones tras seguir este enfoque, se pueden decidir los umbrales de clasificación para discriminar entre riesgo alto – riesgo intermedio – riesgo bajo. Así pues, se escogen como umbrales para cada caso el valor medio entre el extremo del rango y el 0. A modo de ejemplo, se toma el caso del modelo *Fine Tree* y el resultado es:



**Figura 48. Clasificación obtenida tras emplear un modelo de regresión (Fine Tree)**

Donde se situarían los umbrales en 0,75 y - 0,75 y tendríamos un problema de clasificación como los vistos anteriormente. Se clasificarían de nuevo, erróneamente, el Astemizole y Droperidol como riesgo alto, siendo de riesgo intermedio y el Clarithromycin como de riesgo bajo.

Se proporcionan a continuación los valores de las diferentes métricas de desempeño para el test de los cuatro modelos de regresión contemplados:

Modelo	MSE	RMSE	MAE
Regresión Lineal	0,306	0,553	0,425
Fine Tree	0,283	0,531	0,296
Ensemble Bagged Tree	0,248	0,498	0,392
Ensemble Boosted Tree	0,256	0,506	0,315

**Tabla 14. Métricas de desempeño de los modelos de regresión escogidos**

En relación a los resultados obtenidos en la *Tabla 14*, la Regresión Lineal muestra un desempeño moderado, donde existe una dispersión considerable de los errores atendiendo al MSE y RMSE. El MAE sugiere que los errores promedio absolutos son significativos, por lo que el modelo puede no ser especialmente adecuado.

El modelo *Fine Tree* mejora ligeramente respecto al anterior en MSE y RMSE, por lo que se deduce que este modelo es capaz de capturar mejor la variabilidad de los datos, con un MAE considerablemente menor. Así pues, los errores promedio absolutos también son menores y se concluye que este modelo es mejor a la hora de predecir, con menos errores grandes.

En cuanto al *Ensemble Bagged Tree*, muestra una mejora adicional en MSE y RMSE, lo que denota una mayor precisión en la predicción general. Sin embargo, el MAE es ligeramente superior al caso anterior, por lo que se deduce que existen algunos errores individuales grandes.

Respecto a el *Ensemble Boosted Tree*, muestra un rendimiento intermedio entre el *Fine Tree* y el *Ensemble Bagged Tree* en cuanto a MSE y RMSE. Por el contrario, el MAE es mejor que el del *Ensemble Bagged Tree*, de donde se deduce que en promedio los errores son menores en este caso.

Por todo ello, la elección del modelo dependerá de la prioridad que se brinde a cada una de las métricas, si se opta por una precisión general o si se pretende minimizar los errores promedio absolutos. En el primer caso, esto se puede conseguir con el *Ensemble Bagged Tree*, que presenta un mejor MSE y RMSE. Si se busca minimizar los errores individuales grandes, de cara a emplear el modelo como un problema de clasificación final, el *Fine Tree* podría ser la mejor

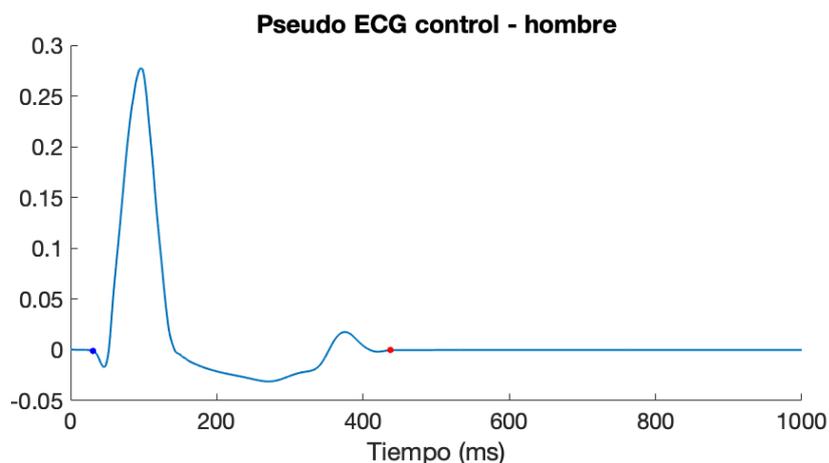
opción, con el mejor MAE. Si se busca un balance entre las métricas, el *Ensemble Boosted Tree* ofrece un equilibrio razonable.

### 5.3. EFECTOS FARMACOLÓGICOS EN MODELOS 3D

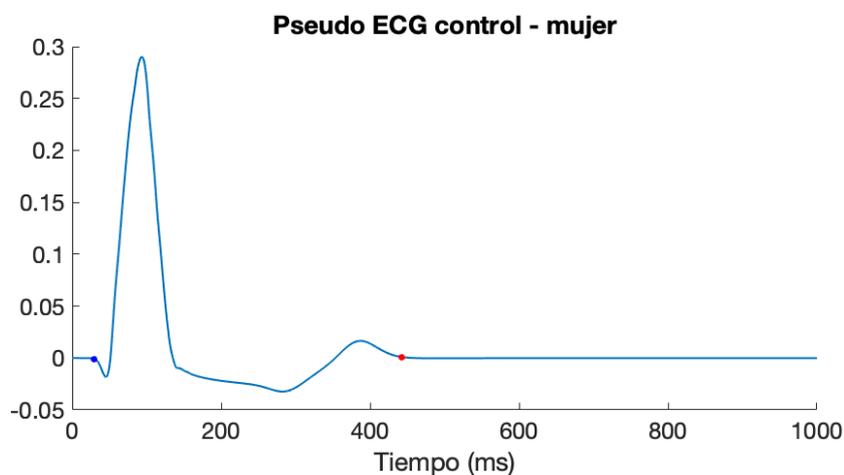
Para el uso de modelos computacionales en el estudio del efecto de fármacos en la electrofisiología cardíaca, se debe confirmar que estos modelos son capaces de reproducir los efectos observados en laboratorio y en clínica. Así pues, una vez comparados los resultados obtenidos en los modelos celulares con los de experimentos en laboratorio, en este apartado se procederá al análisis y comparación de los resultados en un modelo bi-ventricular con los resultados de diferentes ensayos clínicos extraídos de la literatura.

En este caso evaluaremos la capacidad de los modelos de reproducir el efecto farmacológico a nivel de órgano para dos de los fármacos ya empleados en otros apartados: el Verapamil, de riesgo bajo, cuyos buenos resultados pretenden extenderse a este nivel de simulación; y el Bepridil, de riesgo alto, para el que no fue posible ajustar las simulaciones para reproducir los experimentos a nivel celular, por lo que se pretenderá lograr con el modelo 3D.

Para ello, se evaluará la prolongación o acortamiento sobre el intervalo QT del ECG. Los valores simulados de duración del intervalo QT de control, es decir, sin aplicar el fármaco, y sobre los que mediremos el efecto en la duración del QT debido al fármaco, son de 407 ms para hombre y 413 ms para mujer. La señal de ECG del último latido simulado se muestra para ambos casos:



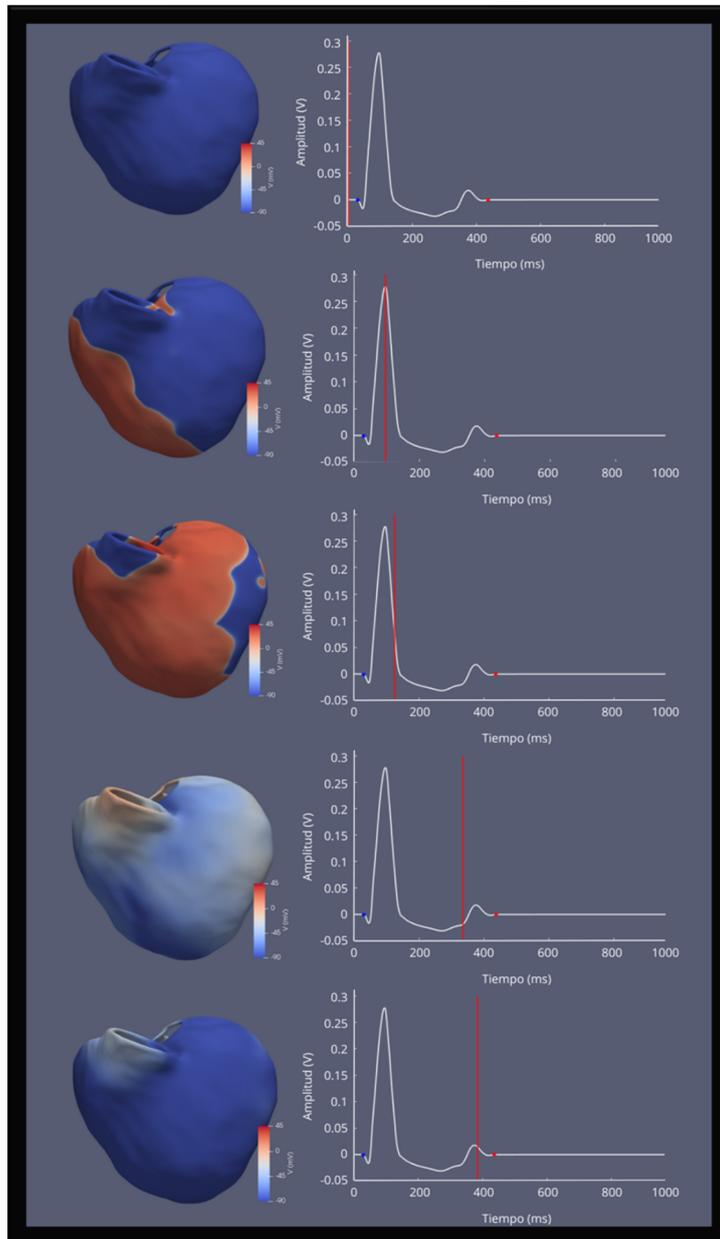
**Figura 49. pseudoECG de control para hombre**



**Figura 50. pseudoECG de control para mujer**

El punto azul se sitúa en el inicio de la onda Q, mientras que el punto rojo marca el final de la onda T. Así, se toman estos dos instantes de tiempo y la diferencia entre ambos se establece como la duración del intervalo QT.

Para comprender cómo se relaciona la electrofisiología cardíaca y la señal del pseudoECG, se muestran diversos instantes del último latido del modelo de hombre en situación de control:

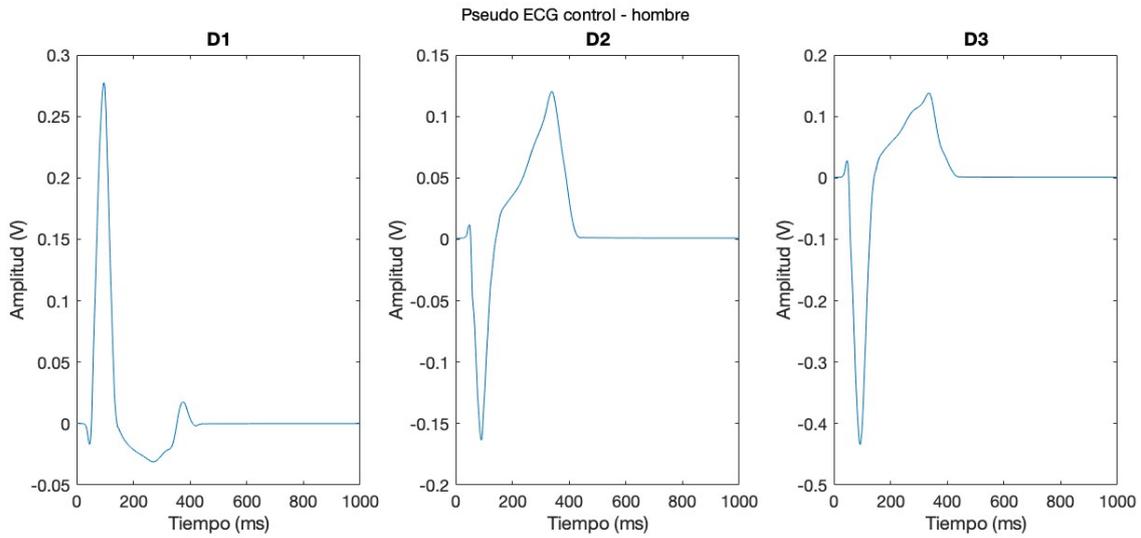


**Figura 51. Modelo bi-ventricular de hombre en control en diversos instantes del último latido simulado**

La despolarización de los ventrículos se traduce en el ECG como la onda QRS, que tiene una duración aproximada de 70-100 ms y con la repolarización de los ventrículos se forma la onda T, de amplitud variable y que tiende a adoptar la misma polaridad que el complejo QRS.

En este estudio se trabaja sobre la primera derivación estándar del ECG, aunque también se pueden obtener de las simulaciones las otras dos derivaciones estándar, mostradas a modo de ejemplo en la *Figura 52*.

Las principales diferencias entre estas tres derivaciones residen en: la polaridad del complejo QRS, que es positiva en la derivación I y se encuentra invertido en los otros dos casos; y la amplitud de la onda T, de mayor magnitud en las derivaciones II y III.



**Figura 52. Derivaciones estándar del ECG para el control de hombre**

### 5.3.1. Verapamil

Para el Verapamil, de riesgo bajo, se escoge el ensayo clínico de *Johannesen et al. (2014)*, donde se concluye que el Verapamil no causa un cambio significativo en el QT, donde se observa un aumento medio del intervalo de 5,2 (-1,8 – 12,2) ms, es decir, una variación en la duración del intervalo QT del 1,31%, con un valor máximo de variación de 3,08%.

Se toma la concentración plasmática pico registrada en el ensayo, pues sería la situación más desfavorable, que en este caso toma un valor de 130,3 ng/ml. Gracias a los datos obtenidos de *Drugbank* para el medicamento y a la conversión de la Eq. 10, se calcula la concentración de fármaco que interacciona con los canales iónicos transmembrana:

$$[C]_{\text{Verapamil}} = \frac{10^6 \cdot (1 - 0,91) \cdot 0,1303}{454,6016} = 25,796 \text{ nM} \quad (15)$$

La  $[C]_{\text{Verapamil}}$  registrada en el ensayo es, en este caso, menor al valor de EFTPC del fármaco, de 81 nM. Con la concentración del fármaco ya conocida, se calculan los factores de bloqueo para cada canal, que serán los factores de escala que introduciremos en las ecuaciones para cada conductancia modelada, de donde resultan los siguientes valores:

Fármaco	$G_{\text{Na}}$	$G_{\text{NaL}}$	$G_{\text{to}}$	$G_{\text{CaL}}$	$G_{\text{Kr}}$	$G_{\text{Ks}}$	$G_{\text{K1}}$
Verapamil	1	0,9875	0,9933	0,7555	0,9961	0,9986	0,9928

**Tabla 15. Factores de escala aplicados al modelo de ORdmm para simular el efecto del bloqueo del Verapamil en una geometría bi-ventricular**

Con esto ya se lanza la simulación en los modelos bi-ventriculares de hombre y mujer y los resultados obtenidos se muestran a continuación:

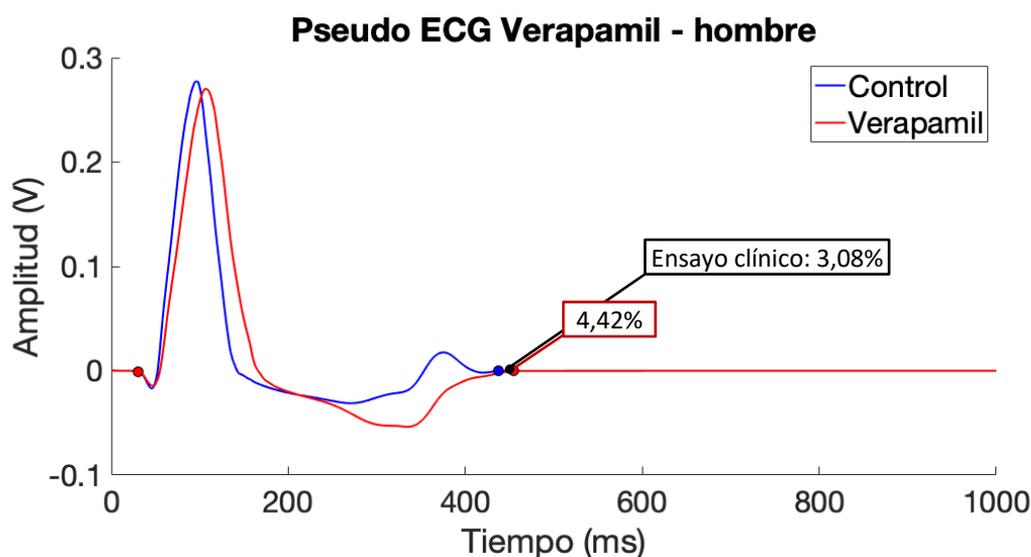


Figura 53. pseudoECG tras la aplicación de Verapamil para el modelo de hombre

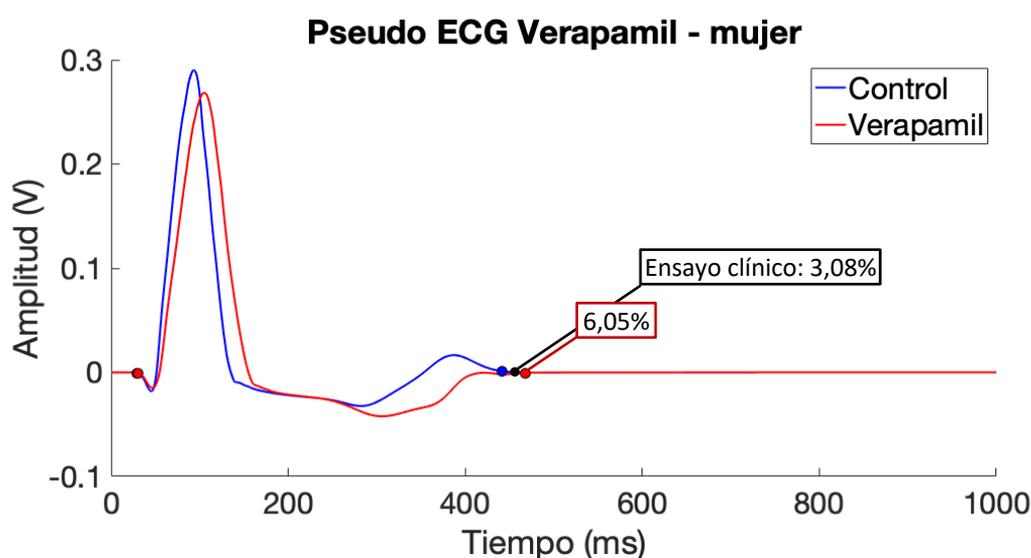


Figura 54. pseudoECG tras la aplicación de Verapamil para el modelo de mujer

Donde para el modelo de hombre el intervalo QT presenta una variación del 4,42% y para el modelo de mujer se incrementa la duración del intervalo QT en un 6,05%, por lo que los efectos del fármaco son ligeramente superiores en mujer, como se conoce de la literatura.

Así pues, los resultados computacionales no se alejan en gran medida a los datos clínicos, y se deja para futuras pruebas la posibilidad de modificar ligeramente los valores de  $I_{Kr}$  o  $I_{Na}$  para reducir levemente el incremento en la duración del intervalo, pudiendo ajustarse aún mejor al resultado clínico.

### 5.3.2. Bepridil

Para el Bepridil, de riesgo alto, se escoge el ensayo clínico de *Lecocq et al. (1990)*, donde se concluye que el Bepridil provoca un incremento medio en la duración del intervalo QT de 50 ms, es decir, una variación en la duración del intervalo QT del 12,5%.

Se toma la concentración plasmática pico registrada en el ensayo, pues sería la situación más desfavorable, que en este caso toma un valor de 860 ng/ml, para la que se calcula la concentración de fármaco que interacciona con los canales iónicos:

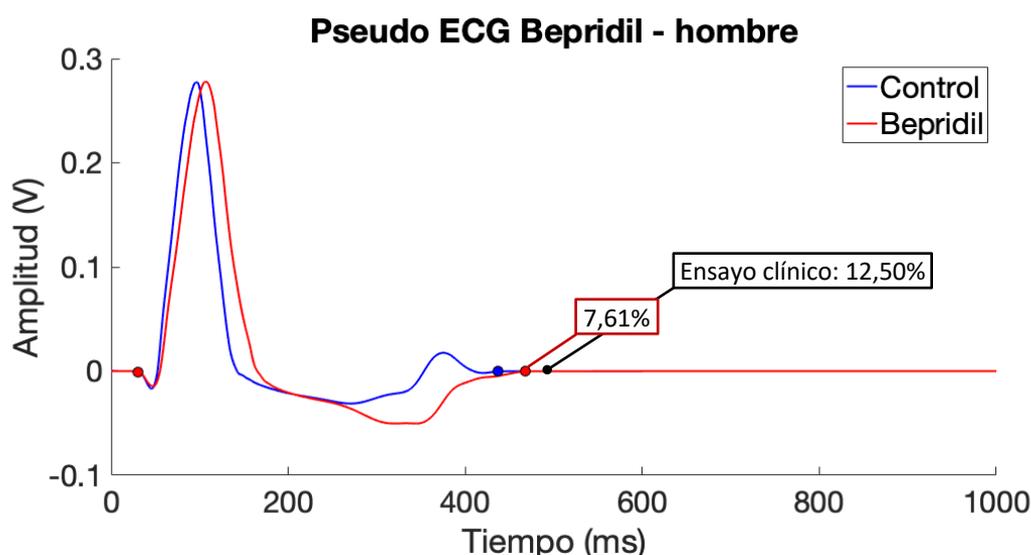
$$[C]_{\text{Bepridil}} = \frac{10^6 \cdot (1 - 0,99) \cdot 0,860}{366,5396} = 23,463 \text{ nM} \quad (16)$$

La  $[C]_{\text{Bepridil}}$  registrada en el ensayo, de nuevo, y como es lógico, es muy cercana, a la EFTPC de 33 nM. Con la concentración del fármaco ya conocida, se obtienen los factores de bloqueo para cada canal iónico considerado, que serán los factores de escala a introducir en las ecuaciones del modelo, de donde resultan los siguientes valores:

Fármaco	$G_{\text{Na}}$	$G_{\text{NaL}}$	$G_{\text{to}}$	$G_{\text{CaL}}$	$G_{\text{Kr}}$	$G_{\text{Ks}}$	$G_{\text{K1}}$
Bepridil	0,9714	0,9938	0,9999	1	0,9431	0,9962	1

**Tabla 16. Factores de escala aplicados al modelo de ORdmm para simular el efecto del bloqueo del Bepridil en una geometría bi-ventricular**

Con esto ya se lanza la simulación en el modelo bi-ventricular de hombre y los resultados obtenidos se muestran a continuación:



**Figura 55. pseudoECG tras la aplicación de Bepridil para el modelo de hombre**

El modelo de hombre para este fármaco presenta una variación del intervalo QT de 7,61%, valor similar al del ensayo clínico. Así pues, estos resultados no se alejan en gran medida a los datos clínicos, y la diferencia es admisible considerando la variabilidad entre individuos. Estos resultados computacionales se han conseguido modificando los valores de  $IC_{50}$  y  $h$  de la Tabla 12 de la corriente  $I_{\text{Kr}}$  de  $K^+$ , tomando para ello valores intermedios más reducidos que los mostrados en la tabla, y que habían sido escogidos inicialmente durante el ajuste celular.

Por tanto, finalmente, es posible reproducir los efectos farmacológicos de este medicamento de riesgo alto y se deja para futuras pruebas la posibilidad de mejorar los resultados de la simulación para obtener datos más cercanos a los del ensayo clínico.

## CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN

---

En el presente TFG se ha evaluado el efecto electrofisiológico de una serie de fármacos sobre cardiomiocitos ventriculares humanos sanos para determinar su potencial riesgo arritmogénico mediante modelado y simulación computacional. Esto se hizo con la intención de validar los modelos matemáticos y la simulación empleada y para ello se realizó una comparación con datos experimentales obtenidos de la literatura, contribuyendo a mejorar la credibilidad de los modelos computacionales.

Los resultados celulares muestran que los modelos computacionales son capaces de reproducir los experimentos escogidos de la literatura, obteniéndose valores similares para la mayoría de ellos, resultando esencial realizar un ajuste de los parámetros introducidos en los modelos para simular adecuadamente el comportamiento electrofisiológico de los compuestos simulados. Las simulaciones del Bepridil, fármaco de riesgo alto, no consiguen reproducir los valores de los experimentos, por lo que se opta por una validación más costosa computacionalmente empleando modelos 3D y valores experimentales obtenidos de ensayos clínicos. Las simulaciones a nivel de población de modelos muestran unos resultados positivos, tomando valores cercanos a los experimentales y mostrando la variabilidad poblacional, así como la variabilidad debida al sexo y la propia variabilidad en la respuesta provocada por el fármaco.

En cuanto a las herramientas de clasificación, se escogen dos perspectivas diferentes: empleando modelos de clasificación y modelos de regresión. Los primeros consiguen predecir correctamente el riesgo torsadogénico de 12 de los 15 fármacos empleados, y respecto a los segundos, estos nos permiten conocer un valor dentro de una escala sobre la potencial peligrosidad de un fármaco. Si se desease convertir el modelo de regresión en un problema de clasificación, se consiguen resultados muy similares a los clasificadores.

Con los modelos 3D se validan datos clínicos de los fármacos como es el intervalo QT del ECG. Se ha implementado con dos fármacos: el Bepridil, de riesgo alto, que no pudo ajustarse con modelos celulares, y el Verapamil, de riesgo bajo que muestra resultados positivos a nivel celular. Los resultados de los modelos 3D sobre el fármaco de riesgo bajo evidencian cómo los modelos son capaces de reproducir el comportamiento de este fármaco a varios niveles de simulación, donde se obtienen valores muy cercanos a los del ensayo clínico escogido; y en cuanto al Bepridil, con estos modelos más elaborados se ha conseguido reproducir su efecto electrofisiológico.

Respecto a las limitaciones, el uso de un modelo concreto de cardiomiocito ventricular, sin considerar otros modelos que puedan reproducir la morfología más adecuadamente, puede repercutir negativamente en los análisis realizados. Asimismo, se debe tener en cuenta que la cantidad de experimentos disponibles en la literatura y la calidad de estos influyen también en el desarrollo de este TFG. Además, se emplea una metodología concreta para la creación de las herramientas de clasificación, pero podría resultar interesante analizar otras metodologías y modelos de clasificación, como existe la posibilidad de emplear modelos más sofisticados y herramientas de aprendizaje profundo.

Por todo ello, los modelos matemáticos pueden resultar una herramienta útil a la hora de predecir el riesgo torsadogénico de los fármacos, contribuyendo al desarrollo de nuevos medicamentos y se deben explorar las pautas necesarias para evaluar la efectividad de estos recursos a fin de ser utilizados en el flujo normal de trabajo, complementando los ensayos clínicos y las pruebas de laboratorio, pudiendo sustituirlas en algún caso, y pudiendo agilizar el proceso de aprobación de nuevos fármacos, estimulando así la industria farmacéutica.

## CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFÍA

---

- Ackerman, M. J., & Clapham, D. E. (2001). Excitability and Conduction. In *Molecular Basis of Cardiovascular Disease* (pp. 311–335). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-9428-3.50023-8>
- Antonio López Farré & Carlos Macaya Miguel, D. (2007). *Libro de la salud cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos y la Fundación BBVA*.
- ASME. (2018). V&V40 - Assessing credibility of computational modeling through verification and validation: application to medical devices. *Asme V&V 40-2018*, 60. <https://www.asme.org/codes-standards/find-codes-standards/assessing-credibility-of-computational-modeling-through-verification-and-validation-application-to-medical-devices>
- Britton, O. J., Abi-Gerges, N., Page, G., Ghetti, A., Miller, P. E., & Rodriguez, B. (2017). Quantitative Comparison of Effects of Dofetilide, Sotalol, Quinidine, and Verapamil between Human Ex vivo Trabeculae and *In silico* Ventricular Models Incorporating Inter-Individual Action Potential Variability. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00597>
- Camm, A. J., Janse, M. J., Roden, D. M., Rosen, M. R., Cinca, J., & Cobbe, S. M. (2000). Congenital and acquired long QT syndrome. *European Heart Journal*, 21(15), 1232–1237. <https://doi.org/10.1053/euhj.2000.2222>
- Chen, W. (2018). Electrocardiogram. In *Seamless Healthcare Monitoring* (pp. 3–44). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-69362-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-69362-0_1)
- Chiu, G. S. (2017). *Cardiología*. El Manual Moderno.
- Colatsky, T., Fermini, B., Gintant, G., Pierson, J. B., Sager, P., Sekino, Y., Strauss, D. G., & Stockbridge, N. (2016). The Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) initiative — Update on progress. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 81, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2016.06.002>
- Deplón Mosquera, Eva (2018). Potencial de Acción Cardíaco. *Proyecto ITACA*. <https://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm>
- DrugBank Online | Database for Drug and Drug Target Info*. (n.d.). <https://go.drugbank.com/>
- Dutta, S., Chang, K. C., Beattie, K. A., Sheng, J., Tran, P. N., Wu, W. W., Strauss, D. G., Wu, M., Colatsky, T., & Li, Z. (2017). Optimization of an In silico Cardiac Cell Model for Proarrhythmia Risk Assessment. *Frontiers in Physiology*, 8(AUG). <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2017.00616>
- Ferrero Corral, J., María., Ferrero y de Loma-Osorio, J. M., Saiz Rodríguez, J., & Arnau Vives, A. (1994). *Bioelectrónica: señales bioeléctricas*.
- Gibson, J. K., Yue, Y., Bronson, J., Palmer, C., & Numann, R. (2014). Human stem cell-derived cardiomyocytes detect drug-mediated changes in action potentials and ion currents. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 70(3), 255–267. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.09.005>
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2012). *Compendio de fisiología médica*. EDICIÓN 14ª.

- Heidenreich, E. A., Ferrero, J. M., Doblaré, M., & Rodríguez, J. F. (2010). Adaptive Macro Finite Elements for the Numerical Solution of Monodomain Equations in Cardiac Electrophysiology. *Annals of Biomedical Engineering*, 38(7), 2331–2345. <https://doi.org/10.1007/s10439-010-9997-2>
- Hernández-Arroyo, M. J., Díaz-Madero, A., & Menacho-Miguel, D. (2015). Patient safety: prescription of drugs that prolong the QT interval. *Farmacia Hospitalaria: Órgano Oficial de Expresión Científica de La Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria*, 39(5), 227–239. <https://doi.org/10.7399/FH.2015.39.5.8381>
- Höger, J., & Seger, D. (2017). Toxicant-Induced Torsade de Pointes. In *Critical Care Toxicology* (pp. 509–518). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-17900-1\\_121](https://doi.org/10.1007/978-3-319-17900-1_121)
- Johannesen, L., Vicente, J., Mason, J. W., Sanabria, C., Waite-Labott, K., Hong, M., Guo, P., Lin, J., Sørensen, J. S., Galeotti, L., Florian, J., Ugander, M., Stockbridge, N., & Strauss, D. G. (2014). Differentiating Drug-Induced Multichannel Block on the Electrocardiogram: Randomized Study of Dofetilide, Quinidine, Ranolazine, and Verapamil. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 96(5), 549–558. <https://doi.org/10.1038/clpt.2014.155>
- Lecocq, B., Lecocq, V., Prost, P.-L., Fleurot, O., Boisson, P., & Jaillon, P. (1990). Effects of bepridil and CERM 4205 (ORG 30701) on the relation between cardiac cycle length and QT duration in healthy volunteers. *The American Journal of Cardiology*, 66(5), 636–641. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(90\)90494-L](https://doi.org/10.1016/0002-9149(90)90494-L)
- Li, Z., Ridder, B. J., Han, X., Wu, W. W., Sheng, J., Tran, P. N., Wu, M., Randolph, A., Johnstone, R. H., Mirams, G. R., Kuryshv, Y., Kramer, J., Wu, C., Crumb, W. J., & Strauss, D. G. (2019). Assessment of an *In Silico* Mechanistic Model for Proarrhythmia Risk Prediction Under the CiPA Initiative. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 105(2), 466–475. <https://doi.org/10.1002/cpt.1184>
- Llopis-Lorente, J., Baroudi, S., Koloskoff, K., Mora, M. T., Basset, M., Romero, L., Benito, S., Dayan, F., Saiz, J., & Trenor, B. (2023). Combining pharmacokinetic and electrophysiological models for early prediction of drug-induced arrhythmogenicity. In *Computer Methods and Programs in Biomedicine* (Vol. 242). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2023.107860>
- Llopis-Lorente, J., Gomis-Tena, J., Cano, J., Romero, L., Saiz, J., & Trenor, B. (2020). In silico classifiers for the assessment of drug proarrhythmicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(10), 5172–5187. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00201>
- Llopis-Lorente, J., Trenor, B., & Saiz, J. (2022). Considering population variability of electrophysiological models improves the *in silico* assessment of drug-induced torsadogenic risk. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 221, 106934. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2022.106934>
- Marieb, E. (2008). Anatomía y Fisiología Humana 9a Edición. Pearson Addison Wesley.
- Musuamba, F. T., Skottheim Rusten, I., Lesage, R., Russo, G., Bursi, R., Emili, L., Wangorsch, G., Manolis, E., Karlsson, K. E., Kulesza, A., Courcelles, E., Boissel, J. P., Rousseau, C. F., Voisin, E. M., Alessandrello, R., Curado, N., Dall'ara, E., Rodriguez, B., Pappalardo, F., & Geris, L. (2021). Scientific and regulatory evaluation of mechanistic in silico drug and disease models in drug development: Building model credibility. *CPT: Pharmacometrics and Systems Pharmacology*, 10(8), 804–825. <https://doi.org/10.1002/psp4.12669>

- Nobe, S., Aomine, M., & Arita, M. (1993). Bepridil prolongs the action potential duration of guinea pig ventricular muscle only at rapid rates of stimulation. *General Pharmacology: The Vascular System*, 24(5), 1187–1196. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(93\)90367-7](https://doi.org/10.1016/0306-3623(93)90367-7)
- O'Hara, T., Virág, L., Varró, A., & Rudy, Y. (2011). Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Computational Biology*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1002061>
- Ortega Reyes, V. A., Ocampo Moreira, P. O., Cherres García, T. B., Reyes Santana, L. G., Sánchez Vaca, M. S., Borja Jiménez, T. A., Carguacundo Avelino, F. E., Alzamora Arauz, C. S., Vásquez Gaibor, A. A., & Aldaz Ruano, D. C. (2021). *Medicina Cardiológica*. Mawil Publicaciones de Ecuador, 2021. <https://doi.org/10.26820/978-9942-826-81-7>
- Passini, E., Trovato, C., Morissette, P., Sannajust, F., Bueno-Orovio, A., & Rodriguez, B. (2019). Drug-induced shortening of the electromechanical window is an effective biomarker for in silico prediction of clinical risk of arrhythmias. *British Journal of Pharmacology*, 176(19), 3819–3833. <https://doi.org/10.1111/bph.14786>
- Pathmanathan, P., & Gray, R. A. (2018). Validation and trustworthiness of multiscale models of cardiac electrophysiology. In *Frontiers in Physiology* (Vol. 9, Issue FEB). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00106>
- Rudy, Y. (2012). 9.14 From Genes and Molecules to Organs and Organisms: Heart. In *Comprehensive Biophysics* (pp. 268–327). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374920-8.00924-3>
- Saini, S. K., & Gupta, R. (2022). Artificial intelligence methods for analysis of electrocardiogram signals for cardiac abnormalities: state-of-the-art and future challenges. *Artificial Intelligence Review*, 55(2), 1519–1565. <https://doi.org/10.1007/s10462-021-09999-7>
- Salata, J. J., Jurkiewicz, N. K., Wallace, A. A., Stupienski, R. F., Guinosso, P. J., & Lynch, J. J. (1995). Cardiac Electrophysiological Actions of the Histamine H<sub>1</sub>-Receptor Antagonists Astemizole and Terfenadine Compared With Chlorpheniramine and Pylamine. *Circulation Research*, 76(1), 110–119. <https://doi.org/10.1161/01.RES.76.1.110>
- Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. D., & Medina-Franco, J. L. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*, 28(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>
- Sánchez-Quintana, D., & Yen Ho, S. (2003). Anatomía de los nodos cardíacos y del sistema de conducción específico auriculoventricular. *Revista Española de Cardiología*, 56(11), 1085–1092. [https://doi.org/10.1016/S0300-8932\(03\)77019-5](https://doi.org/10.1016/S0300-8932(03)77019-5)
- Saturno Chiu, Guillermo. (2017). *Cardiología*. 791. <https://books.google.com/books/about/Cardiolog%C3%ADa.html?hl=es&id=-URGDgAAQBAJ>
- Taggart, P., Sutton, P. M., Opthof, T., Coronel, R., Trimlett, R., Pugsley, W., & Kallis, P. (2000). Inhomogeneous Transmural Conduction During Early Ischaemia in Patients with Coronary Artery Disease. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 32(4), 621–630. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1105>
- ToxPortal - toxicity prediction for drug development. (n.d.). <https://tox-portal.com/#/>

- U.S. Food And Drug Administration. (2023). *Assessing the Credibility of Computational Modeling and Simulation in Medical Device Submissions*. <https://www.fda.gov/media/154985/download>
- Verduyn, S. C., Jungschleger, J. G. M., Stengl, M., Spätjens, R. L. H. M. G., Beekman, J. D. M., & Vos, M. A. (2004). Electrophysiological and proarrhythmic parameters in transmural canine left-ventricular needle biopsies. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, *449*(1), 115–122. <https://doi.org/10.1007/s00424-004-1306-1>
- Verkerk, A. O., Wilders, R., Veldkamp, M. W., Geringel, W. de, Kirkels, J. H., & Tan, H. L. (2005). Gender Disparities in Cardiac Cellular Electrophysiology and Arrhythmia Susceptibility in Human Failing Ventricular Myocytes. *International Heart Journal*, *46*(6), 1105–1118. <https://doi.org/10.1536/ihj.46.1105>
- Vicente, J., Zusterzeel, R., Johannesen, L., Mason, J., Sager, P., Patel, V., Matta, M. K., Li, Z., Liu, J., Garnett, C., Stockbridge, N., Zineh, I., & Strauss, D. G. (2018). Mechanistic Model-Informed Proarrhythmic Risk Assessment of Drugs: Review of the “CiPA” Initiative and Design of a Prospective Clinical Validation Study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *103*(1), 54–66. <https://doi.org/10.1002/cpt.896>
- Yang, P. C., Perissinotti, L. L., López-Redondo, F., Wang, Y., DeMarco, K. R., Jeng, M. T., Vorobyov, I., Harvey, R. D., Kurokawa, J., Noskov, S. Y., & Clancy, C. E. (2017). A multiscale computational modelling approach predicts mechanisms of female sex risk in the setting of arousal-induced arrhythmias. *The Journal of Physiology*, *595*(14), 4695–4723. <https://doi.org/10.1113/JP273142>
- Yang, P.-C., & Clancy, C. E. (2012). In silico Prediction of Sex-Based Differences in Human Susceptibility to Cardiac Ventricular Tachyarrhythmias. *Frontiers in Physiology*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00360>

## CAPÍTULO 8. ANEXOS

### ANEXO I. RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030

Objetivos de Desarrollo Sostenibles	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza.				X
ODS 2. Hambre cero.				X
ODS 3. Salud y bienestar.	X			
ODS 4. Educación de calidad.				X
ODS 5. Igualdad de género.				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento.				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante.				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico.				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras.				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades.				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles.				X
ODS 12. Producción y consumo responsables.				X
ODS 13. Acción por el clima.				X
ODS 14. Vida submarina.				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres.				X
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas.				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

*Tabla 17. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)*

## ANEXO II. VALORES IC<sub>50</sub> Y h: MEDIANAS

Fármacos	EFTPC	IC <sub>Kr</sub>	h <sub>Kr</sub>	IC <sub>Na</sub>	h <sub>Na</sub>	IC <sub>NaL</sub>	h <sub>NaL</sub>	IC <sub>CaL</sub>	h <sub>CaL</sub>	IC <sub>Ks</sub>	h <sub>Ks</sub>	IC <sub>K1</sub>	h <sub>K1</sub>	IC <sub>to</sub>	h <sub>to</sub>
Azimilide (uM)	0,07	0,56	0,9	1,4	0,97	-	-	7,5	1	1,4	1	-	-	-	-
Bepriidil	33	84	1	2100	1,13	1814	1,4	1400	1	6200	1	-	-	8594	3,5
Disopyramide	4713	12900	1	235350	1,045	-	-	1036700	1	81800	1	-	-	-	-
Dofetilide	2	25	1	147900	1	753160	1	26700	1	100000	1	-	-	18,8	0,8
Ibutilide	22	23,5	1	42500	1,03	-	-	62500	1,16	-	-	-	-	-	-
Quinidine	2960	890	1	13600	1,345	9417	1,15	8865,5	0,912	58665	1,17	39589900	0,4	3487	1,3
Sotalol	18358	320000	1	2100000	1	-	-	193300	1	1100000	1	3050260	1,2	43143500	0,7
Vandetanib (uM)	0,11	0,4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astemizole	0,3	6	1	2300	1	-	-	1043,9	2,096	-	-	-	-	-	-
Chlorpromazine	66,4	1530,5	1,02	3000	1,14	4560	0,9	5796	1,265	10500	1	9270	0,7	17600000	0,4
Cisapride	4,9	21,5	1	2072	1,045	-	-	11800	1	6695	1	29498	0,5	219112	0,2
Clarithromycin	4011	107850	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clozapine	70,8	1639	1	15100	1,14	-	-	3600	1	-	-	-	-	-	-
Domperidone	5,79	162	1	5600	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Droperidol	16	64,7	1	22700	1,24	-	-	7600	1,16	-	-	-	-	-	-
Ondansetron	178,6	1151	1	54250	1	19181	1	22551	0,8	15000	1	-	-	1023380	1
Pimozide (uM)	0,00064	0,0034	1	0,7513	1,02	-	-	0,24	1,49	10	1	-	-	-	-
Risperidona	6,96	271,419	1	60000	1	-	-	53600	0,9	70979	1	-	-	-	-
Terfenadine	9	50,1	1	1600	1,4	20056	0,6	700	0,7	2000	1	-	-	239961	0,3
Diltiazem	120,6	21900	1,13	13350	1	21862,5	0,7	2095	1	63750	1	-	-	2800000000	0,2
Loratadine	0,4	5050	1,22	31250	1,32	-	-	11400	1,38	-	-	-	-	-	-
Metoprolol	0,45	145	1	40	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mexiletine	4129	56100	1	40500	1	8957	1,4	70000	1	-	-	-	-	-	-
Nifedipine	14,7	112250	1	61000	1	-	-	60,45	1	360000	0,97	-	-	-	-
Nitrendipine	0,003	19,73	0,94	26,4	1,08	-	-	0,017	0,93	-	-	-	-	-	-
Ranolazine	2311	12000	1	155595	0,965	7884	0,9	118304	0,894	345000	1	-	-	36155000	1
Tamoxifen (uM)	0,0195	1,3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Verapamile	81	499	1,1	32500	1,33	7028	1	201	1,1	29880	0,93	3,49E+08	0,3	13429,2	0,8

**Tabla 18. Valores de IC<sub>50</sub> (en nM) y h obtenidos como la mediana de los valores existentes en la literatura.**

### ANEXO III. VALORES IC<sub>50</sub> Y h: INICIATIVA CiPA

Fármacos	EFTPC	IC <sub>Kr</sub>	h <sub>Kr</sub>	IC <sub>Na</sub>	h <sub>Na</sub>	IC <sub>NaL</sub>	h <sub>NaL</sub>	IC <sub>CaL</sub>	h <sub>CaL</sub>	IC <sub>Ks</sub>	h <sub>Ks</sub>	IC <sub>K1</sub>	h <sub>K1</sub>	IC <sub>to</sub>	h <sub>to</sub>
Astemizole	0,26	19	1	2430	4,8	596	3,1	1080	5,9	-	-	-	-	-	-
Azimilide	70	380	1	18400	3,8	3690	1,4	12700	4,1	1400	1	-	-	-	-
Bepriidil	33	144	1	1,61E+06	5,4	339	1,9	6,38E+05	4,6	6200	1	-	-	8594	3,5
Chlorpromazine	38	650	1	21200	2,5	673	1,8	6350	2	10500	1	9270	0,7	17600000	0,4
Cisapride	2,6	72	1	16800	2,3	421	2,2	4,05E+06	5,6	6695	1	29498	0,5	219112	0,2
Clarithromycin	1206	1,50E+05	1	835000	4	173000	2,4	118000	3	-	-	-	-	-	-
Clozapine	71	1,50E+03	1	8210	3,4	2240	1,4	5330	4,7	-	-	-	-	-	-
Diltiazem	122	7,90E+03	1	19700	1,3	3040	1,1	31600	1,2	63750	1	-	-	2800000000	0,2
Disopyramide	4713	4,70E+03	1	192000	1,3	377000	2,1	86600	1,6	81800	1	-	-	-	-
Dofetilide	2	75	1	1,46E+06	5,1	837000	4,6	2,30E+03	5,4	100000	1	-	-	18,8	0,8
Domperidone	5,79	132	1	6930	2,6	225000	2,1	16900	2,2	-	-	-	-	-	-
Droperidol	6,33	118	1	8220	1,1	533	1	7630	0,93	-	-	-	-	-	-
Ibutilide	140	11	1	8020	0,78	820	0,96	18500	2,5	-	-	-	-	-	-
Loratadine	0,45	5,05E+03	1,22	31250	1,3	937	2,8	730	0,56	-	-	-	-	-	-
Metoprolol	1800	1,10E+05	1	150000	1	24500	0,77	398000	0,91	-	-	-	-	-	-
Mexiletine	4129	5,30E+04	1	67900	1,2	4690	0,99	164000	0,96	-	-	-	-	-	-
Nifedipine	7,7	7,10E+04	1	46300	2,5	793	0,81	34,5	0,86	360000	0,97	-	-	-	-
Nitrendipine	3,02	2,00E+04	1	11100	1,4	358	0,9	1200	1	-	-	-	-	-	-
Ondansetron	139	1,20E+03	1	1,90E+04	3,7	6870	1,2	9,31E+06	0,2	15000	1	-	-	1023380	1
Pimozide	0,431	19	1	4,11E+03	5,5	5030	0,59	437	2,2	10000	1	-	-	-	-
Quinidine	3237	971	1	13000	2,7	2360	0,91	5,10E+06	4,7	58665	1,17	39589900	0,4	3487	1,3
Ranolazine	1948,2	8,30E+03	1	83700	1,1	5950	0,99	6,54E+06	3,8	345000	1	-	-	36155000	1
Risperidone	1,81	451	1	9,76E+06	5,5	2930	2,7	5,73E+06	5,3	70979	1	-	-	-	-
Sotalol	14690	2,90E+05	1	4,95E+07	3,9	1,34E+08	5,9	5,80E+07	5,5	1100000	1	3050260	1,2	43143500	0,7
Tamoxifen	21	3,49E+03	1	9590	3,6	4310	4,8	3610	6,7	-	-	-	-	-	-
Terfenadine	4	129	1	1,95E+06	5,3	98,3	1,1	1,22E+06	5,2	2000	1	-	-	239961	0,3
Vandetanib	255,4	394	1	5840	3,3	4210	2,2	3360	4,9	-	-	-	-	-	-
Verapamil	81	452	1	2,48E+06	5,1	982	1,2	11200	0,8	29880	0,93	3,49E+08	0,3	13429,2	0,8

Tabla 19. Valores de IC<sub>50</sub> (en nM) y h establecidos por la iniciativa CiPA.

---

# PRESUPUESTO

---

## PRESUPUESTO DETALLADO

### COSTE DE MANO DE OBRA

En este apartado se incluyen los fondos necesarios para la contratación del personal necesario para la ejecución del trabajo. En la Tabla XX se detallan el número de horas invertidas por cada individuo, el coste unitario, es decir, el precio por hora; y, finalmente, el coste total por persona.

En este proyecto han participado las doctoras Dña. Beatriz Ana Trénor Gomis y Dña. María Teresa Mora Fenoll; y Dña. Carla Ortigosa Calatayud, estudiante de Ingeniería Biomédica. La estudiante ha sido la encargada de elaborar el trabajo y redactar la memoria, con la supervisión y corrección de la tutora y co-tutora.

Nº	Mano de obra	Coste unitario	Horas	Total
1	Ingeniero biomédico <i>junior</i>	20,00 €/h	300 h	6000,00 €
2	Doctor Ingeniero tutor	30,00 €/h	32 h	960,00 €
3	Doctor Ingeniero co-tutor	30,00 €/h	32 h	960,00 €
<b>Total mano de obra:</b>				<b>7920,00 €</b>

**Tabla 20. Coste desglosado de la mano de obra.**

### COSTE DE EJECUCIÓN

En este apartado se consideran los materiales empleados para el desarrollo del trabajo. Para determinar el coste de los recursos utilizados se tomará el concepto del factor de amortización, que establece lo siguiente:

$$\text{Factor de amortización} = \frac{\text{Periodo de uso}}{\text{Duración}} \quad (14)$$

Para el desarrollo de este TFG, los recursos son tanto el *hardware* como el *software*. Por ello, la duración en la expresión (Eq. 14) hace referencia a vida útil en el caso del *hardware* y a la duración de la licencia si es *software*.

Para calcular el coste imputable se multiplicará el factor de amortización obtenido por el coste, sin aplicar el Impuesto sobre el Valor Añadido (IVA), tal que:

$$\text{Coste amortizado} = \text{Factor de amortización} \cdot \text{Coste sin IVA} \quad (15)$$

La siguiente tabla muestra el desglose de los costes de recursos de tipo *hardware*:

Nº	Mano de obra	Coste sin IVA	Cantidad	Uso / Vida útil	Coste imputable sin IVA
1	Ordenador portátil MacBook Air 13" 2017	1499,00 €	1 u	10 / 60 meses	249,83 €
2	Disco duro externo 1 Tb	80,00 €	1 u	10 / 96 meses	8,33 €
3	Nodos de computación	5000,00 €	1 u	10 / 120 meses	416,67 €
<b>Total hardware:</b>					<b>674,83 €</b>

**Tabla 21. Coste de ejecución imputable sin IVA desglosado: hardware.**

El coste de software, por otro lado, engloba los costes de programas informáticos empleados para el desarrollo del trabajo. Aunque la estudiante ha podido disfrutar de licencias gratuitas proporcionadas por la universidad para varios de los programas empleados, con la intención de que el presupuesto sea lo más detallado posible, se considera que estas licencias han sido adquiridas de los distribuidores oficiales. A continuación, se detalla cada programa con su función:

- Microsoft Office 365 (Microsoft Corporation, Redmond (WA), EEUU): Paquete de aplicaciones informáticas con tareas principalmente ofimáticas. Se emplearon para la redacción del trabajo y reuniones online.
- Matlab R2023b (TheMathWorks Inc., Natick (MA), EEUU): Programa empleado para el desarrollo y la modificación de código de programación de los modelos computacionales, creación de gráficas y obtención de resultados.
- Cyberduck (David Kocher, Yves Langisch): cliente SFTP de código abierto y gratuito. Se emplea para la transferencia de archivos entre el ordenador y los nodos de computación.
- WinSCP (Martin Prikryl): aplicación libre y de código abierto, es un cliente SFTP gráfico para Windows que emplea SSH. Se emplea para la transferencia de archivos entre el ordenador y los nodos de computación.
- ELVIRA (Software propio): Software de cómputo propio empleado para las simulaciones 3D bi-ventriculares.
- Paraview (Kitware Inc., Clifton Park (NY), EEUU): Programa de visualización y análisis de datos de código abierto y gratuito, utilizado para la visualización de los modelos 3D.

Nº	Mano de obra	Coste sin IVA	Cantidad	Uso / Licencia	Coste imputable sin IVA
1	Microsoft Office 365	69,00 €	1 u	10 / 12 meses	57,50 €
2	Matlab R2023b	900,00 €	1 u	10 /12 meses	750 €
3	Cyberduck / WinSCP	Software libre	1 u	10 / -	0 €
4	Software ELVIRA	Software propio	1 u	5 / -	0 €
5	Paraview	Software libre	1 u	1 / -	0 €
<b>Total software:</b>					<b>807,50 €</b>

**Tabla 22. Coste de ejecución imputable sin IVA desglosado: software.**

## COSTE TOTAL

El coste total del proyecto se definirá como la suma de los costes de mano de obra y los de ejecución, tanto de hardware como de software, a los que se les debe aplicar el IVA del 21%.

Nº	Tipo de costes	Coste imputable sin IVA	Coste imputable con IVA
1	Mano de obra	7920,00 €	9583,20 €
2	Ejecución: <i>Hardware</i>	674,83 €	816,54 €
3	Ejecución: <i>Software</i>	807,50 €	977,10 €
<b>Presupuesto Total:</b>			<b>11376,84 €</b>

**Tabla 23. Coste total del proyecto**

El coste total del proyecto es de **ONCEMIL TRESCIENTOS SETENTA Y SEIS EUROS CON OCHENTA Y CUATRO.**