



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

Curso Académico:

AGRADECIMIENTOS

Agradezco, ante todo, la dedicación de mi tutor D. José María de Loma-Osorio, su infinita paciencia, su incondicional ayuda y sobre todo su incansable entusiasmo por hacer llegar a sus alumnos la pasión de adquirir conocimientos sobre el maravilloso mundo de la Ingeniería Biomédica.

A mi familia, por su ayuda y eterno apoyo en cada paso que doy, y, sobre todo, por su gran esfuerzo para que yo cumpla mi sueño.

Por último, a mis amigos y amigas, por acompañarme en este trayecto y tenderme una mano con una sonrisa cuando estoy lejos de mi familia.

RESUMEN

En el presente Trabajo Fin de grado se ha llevado a cabo el desarrollo un software que permite el estudio, mediante simulación computacional, de las causas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda en corazón humano. La hiperkalemia se define como la acumulación de potasio en el medio extracelular en los primeros instantes tras la obstrucción de una arteria coronaria; es decir, entre 15 y 20 minutos, aproximadamente, tras este taponamiento, se inicia un proceso de isquemia miocárdica aguda.

El aumento de la concentración de potasio en el medio extracelular en isquemia miocárdica aguda es un proceso conocido y fuertemente proarrítmico. La hiperkalemia favorece la despolarización parcial del potencial de membrana en reposo, así como la reducción en la duración del potencial de acción (PA) y un acortamiento en la velocidad de ascenso del mismo. La combinación de estos cambios a nivel electrofisiológico puede llegar a ser el desencadenante de una arritmia mortal y, en situaciones más graves, el de una muerte súbita por infarto agudo de miocardio. Por este motivo, el estudio de este efecto es de gran relevancia a pesar de que, hoy en día, las causas bioeléctricas que producen la acumulación de potasio extracelular son en parte desconocidas.

En este trabajo se ha desarrollado un software que permite al usuario realizar diversas simulaciones isquémicas en entorno Matlab®. De esta forma, se pueden estudiar las causas de la hiperkalemia en un modelo computacional de cardiomiocito ventricular humano aislado. Para ello, se ha utilizado el modelo de potencial de acción desarrollado por T. O'Hara en 2011 para miocito ventricular humano. A este modelo se han añadido modificaciones para poder tener en cuenta las condiciones de isquemia aguda. También se ha incluido en este software un módulo para poder realizar un cálculo de la variación de la concentración de potasio extracelular a través de una familia concreta de canales de potasio.

Una vez desarrollado el software y realizadas las simulaciones isquémicas, se ha realizado un análisis e interpretación de los resultados obtenidos. De esta forma, se han intentado conocer los mecanismos que influyen en la acumulación de potasio extracelular y conocer cuáles son los canales de potasio que colaboran a la hiperkalemia.

Palabras Clave: hiperkalemia, isquemia aguda, corazón humano, simulación computacional, potencial de acción, corriente iónica, canal iónico, arritmias de origen eléctrico.

RESUM

En el present Treball Fi de Grau s'ha desenvolupat un software per l'estudy, mitjà de simulació computacional, de les causes de la hiperkalemia en cors humans. La hiperkalemia és l'acumulació extracel·lular de potassi en els primers instants després de l'oclusió d'una artèria coronària, és a dir, durant els primers 15-20 minuts, aproximadament, després d'este tapament, s'inicia un procés d'isquèmia miocárdica aguda.

L'acumulació extracel·lular de potassi durant la isquèmia miocárdica aguda es un procés conegut y altament proarrítmic. La hiperkalemia contribuïx a la despolarizació del potencial de membrana en repòs, a l'acurtament de la duració del potencial d'acció (PA), i a la disminució de la velocitat d'ascens del PA. Estos canvis són claus para desenvolupar arítmies mortals y mort sobtada de pacents amb infar agut de miocardi. Per este motiu, l'estudi d'este fenomen és de gran importància, a pesar que, hui en día, les causes que produïxen la hiperkalemia són, part, desconegudes.

All llarg del treball s'ha desenvolupat un software que permet la realització de simulacions ocmputacionals en Matlab®. D'esta manera es pot estudiar les causes d'este fenomen en cor humà. Per això, s'ha utilitzat el model de potencial d'acció desenvolupat per T. O'Hara en 2011. A este model s'ha agut de ralitzar una sèrie de modificacions per a introduir les condicions de la isquèmia aguda. També s'ha inclòs en este software un mòdul per a poder realitzar un càlcul de la variació de la concentració de potassi extracel·lular a través d'una familia concreta de canals de potassi.

Paraules clau: hiperkalèmia, isquèmia aguda, cor humà, simulació computacional, potencial d'acció, corrent iónica, canal iónico, arítmies d'origen elèctric.

ABSTRACT

The aim of this project is to develop a software to study the causes of hiperkalemia in human hearts using computer simulation, during acute myocardial ischemia. Hiperkalemia is the extracellular accumulation after the occlusion of a coronary artery, during the first 15-20 minutes of this situation, subsequently, a process of acute myocardial ischemia appears.

The extracellular accumulation of the potassium concentration during acute myocardial ischemia is a well-know process and highly arrhythmogenic factor. Hiperkalemia is related to the contribution in the depolarization of membrane potential at rest (AP), it facilitates the decreasing of its rate and also shortens the AP duration. The combination of this changes in electrophysiology can cause serious situations, like sudden arrhythmic death syndrome. All of that, hence the importance of study the hiperkalemia effect. However, today the causes of hiperkalemia are still partially unknown.

Through this project, a software toll has been developed to perform computer simulations in Matlab®. With this, the causes of hiperkalemia in a computer model can be studied. For this purpose, the action potential model to human ventricle myocyte developed by T. O'Hara in 2011 has been used. This model has been modified to introduce the conditions of acute myocardial ischemia. It has been included as well a section to calculate the variation of extracellular potassium concentration caused by specific potassium channels.

After the development of the software program and the implementation of the simulations, an analysis and interpretations of results have been conducted. This analysis has led to know the mechanism that influences in the accumulation of extracellular potassium and to know which channels collaborate to that.

Keywords: hiperkalemia, acute ischemia, human heart, computer simulation, action potential, ionic current, ionic channel, arrhythmias of electrical origin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Estructura interna del corazón humano (Fuente: modificado de Ministerio de Educación y Cultura, 2017).....	5
Figura 2.2: Representación esquemática de la bicapa lipídica de la membrana celular (Fuente: Wikipedia, 2016).	7
Figura 2.3: Representación gráfica de la fracción de compuertas abiertas en función del potencial. A representa la probabilidad de encontrar una compuerta de activación abierta en función del potencial. B representa la probabilidad de encontrar una compuerta de inactivación abierta en función del potencial. Fuente: modificado de Ferrero, 2014	10
Figura 2.4: Variación de la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando. A representa la variación de la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando en canales desactivados por ligando. B representa la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando en canales activados por ligando (Fuente: Ferrero, 2014)	12
Figura 2.5: Representación esquemática del circuito eléctrico equivalente de un canal iónico abierto (Fuente: Ferrero,2014)	12
Figura 2.6: Representación del circuito equivalente de una célula (Fuente: Ferrero, 2014).....	14
Figura 2.7: Fases del potencial de acción (Fuente: Ferrero, 2014)	15
Figura 2.8: Acumulación de potasio extracelular durante isquemia temprana (Fuente: adaptado de Weiss & Shine, 1982).....	17
Figura 2.9: Efecto de la hiperkalemia en la duración del potencial de acción (Kazabanov et al., 2014)	21
Figura 2.10: Efecto de la hiperkalemia en la velocidad de conducción (Kazabanov et al., 2014)	22
Figura 4.1: Diagrama esquemático del modelo de miocito ventricular humano (Fuente: O'Hara et al., 2011)	24
Figura 4.2: Diagrama de flujo de la interfaz gráfica diseñada para el software desarrollado, concretamente para el módulo main y model.....	26
Figura 4.3: Evolución de los parámetros isquémicos. De izquierda a derecha: concentración intracelular de ATP, concentración intracelular de ADP, pH y factor de la corriente lenta de sodio	35
Figura 4.4: Diagrama de flujo de la interfaz gráfica diseñada para el software desarrollado, concretamente para el módulo ion_quantification	36
Figura 4.5: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario completa diseñada mediante el programa visual GUIDE con la herramienta de programación Matlab®	39
Figura 4.6: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario para el bloque Ischemic simulation correspondiente con el módulo main y model	39

Figura 4.7: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario para el bloque Ion_quantification correspondiente con el código ion_quantification desarrollado.....	41
Figura 5.1: Evolución temporal del potencial de acción tras la modificación del código al añadir ecuaciones que regulan los cambios dinámicos del potasio extracelular. El número de estímulos es de 1320 mientras que el BCL es de 1000.....	42
Figura 5.2: Evolución temporal del potasio extracelular tras la modificación del código al añadir ecuaciones que regulan los cambios dinámicos del potasio extracelular. El número de estímulos es de 1320 mientras que el BCL es de 1000.....	43
Figura 5.3: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia completa, la traza II representa la simulación de control (traza negra gruesa), la traza III representa la activación de la corriente I_{KATP} , la traza IV representa la activación de la corriente de la bomba Na^+/K^+ , la traza V representa la activación de la corriente de la bomba SERCA, la traza VI representa la activación de la corriente de la bomba de calcio del sarcolema, la traza VII representa la activación de la acidosis y la traza VIII representa la activación de la corriente I_{NaL}	45
Figura 5.4: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia, la traza II (traza gruesa negra) representa la simulación de control, la traza III representa la desactivación de la corriente I_{KATP} , la traza IV representa la desactivación de la corriente de la bomba Na^+/K^+ , la traza V representa la desactivación de la corriente de la bomba SERCA, la traza VI representa la desactivación de la corriente de la bomba de calcio del sarcolema, la traza VII representa la desactivación de la acidosis y la traza VIII representa la desactivación de la corriente I_{NaL}	49
Figura 5.5: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia, la traza II representa la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada.....	52
Figura 5.6: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica, la traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada	52
Figura 5.7: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica donde se ve aprecia la aparición de alternantes. La traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada.....	53
Figura 5.8: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica, la traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada y la aparición de potenciales alternantes	54
Figura 5.9: Representación de la cuantificación de iones que salen a través de los 8 canales de potasio que se han escogido	55
Figura 8.1: Captura de pantalla de la ventana principal de Matlab® en la que se puede ver seleccionado el directorio de la capeta en la que se encuentra la interfaz.....	60

Figura 8.2: Captura de pantalla del módulo "Ischemic parameters"	61
Figura 8.3: Captura de pantalla del módulo "Settings"	61
Figura 8.4: Captura de pantalla del módulo "Graphic representation"	62
Figura 8.5: Captura de pantalla del módulo "Ion_quantification"	63

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1: Valor de la concentración de potasio extracelular durante la fase de meseta. Se incluye el tiempo que dura la fase inicial de aumento de potasio y el nivel de la concentración del mismo antes de interrumpirse el flujo coronario entre otras especificaciones 18
- Tabla 2: Tabla esquemática de las simulaciones realizadas. La parte superior de la tabla representa un número correspondiente con la simulación. En la parte izquierda aparecen los parámetros isquémicos usados. La palabra 'No' significa que el factor isquémico no está actuando, se ha dejado con su valor inicial constante. La palabra 'Si' significa que se ha dejado que el factor se ha dejado que evolucione de forma isquémica. Las simulaciones 1 y 8 se corresponden con la simulación de control y de corazón isquémico respectivamente 44
- Tabla 3: parámetros representativos de cada factor. $[K^+]_o$ máx representa el valor máximo de potasio, es decir, el valor que se alcanza antes de la aparición de potenciales de acción alternantes. $[K^+]_o$ final es el valor final de potasio, es decir, cuando termina la simulación. $\Delta[K^+]_o$ máx es el incremento de potasio máximo, resultado de la diferencia entre la concentración de potasio máxima y la concentración de potasio en normoxia. $\Delta[K^+]_o$ final es el incremento de potasio final, que viene dado por la diferencia entre la concentración de potasio final y la de normoxia 47
- Tabla 4: Tabla esquemática de las simulaciones realizadas. La parte superior de la tabla representa un número correspondiente con la simulación. En la parte izquierda aparecen los parámetros isquémicos usados. La palabra 'No' significa que el factor isquémico no está actuando, se ha dejado con su valor inicial constante. La palabra 'Si' significa que se ha dejado que el factor se ha dejado que evolucione de forma isquémica. Las simulaciones 1 y 8 se corresponden con la simulación de control y de corazón isquémico respectivamente 48
- Tabla 5: Parámetros representativos de cada factor. $[K^+]_o$ máx representa el valor máximo de potasio, es decir, el valor que se alcanza antes de la aparición de potenciales de acción alternantes. $[K^+]_o$ final es el valor final de potasio, es decir, cuando termina la simulación. $\Delta[K^+]_o$ máx es el incremento de potasio máximo, resultado de la diferencia entre la concentración de potasio máxima y la concentración de potasio en normoxia. $\Delta[K^+]_o$ final es el incremento de potasio final, que viene dado por la diferencia entre la concentración de potasio final y la de normoxia 51
- Tabla 6: De cada una de las corrientes escogidas para la cuantificación iónica se puede ver la cantidad de iones que atraviesan los canales (mmol/L/s) para cada situación (sano e isquemia) 57
- Tabla 7: Presupuesto inicial para coste de personal. Se incluye el perfil del trabajador, el número de horas trabajadas, el coste unitario, el coste por perfil y la justificación y tareas desarrolladas. 68
- Tabla 8: Presupuesto inicial para coste de software. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción 69
- Tabla 9: Presupuesto inicial para coste de hardware. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción 69

Tabla 10: Presupuesto inicial total en el que se tiene en cuenta el coste total de personal, el coste total de software y el coste total de hardware.....	70
Tabla 11: Presupuesto para coste de personal. Se incluye el perfil del trabajador, el número de horas trabajadas, el coste unitario y el coste por perfil.....	70
Tabla 12: Presupuesto para coste de software. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno y su periodo de uso	71
Tabla 13: Presupuesto para coste de hardware. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción.	71
Tabla 14: Presupuesto final del proyecto.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

γ	Parámetro de la corriente I_{NaCa} dependiente del voltaje
a_{rel}	I_{rel} máxima dependiente de Ca_{SR}
ADP	Adenosín Difosfato
AMP	Adenosín Monofosfato
ATP	Adenosín Trifosfato
b_{rel}	Constante de saturación media de Ca_{SR} de la I_{rel}
Ca^{2+}	Ion Calcio
Cl^{-}	Ion Cloro
DPA	Duración del potencial de acción
E_s	Potencial de equilibrio del ion S
F	Constante de Faraday
f_s	Fracción de compuertas/canales abiertos del ion S
H^{-}	Ion hidrógeno
I_{CaL}	Corriente de Ca^{2+} a través de los canales de calcio tipo L
I_{K1}	Corriente de K^{+} independientes del tiempo
I_{KATP}	Corriente de K^{+} dependientes del ATP
I_{Kr}	Corriente de K^{+} rápida rectificadora
I_{Ks}	Corriente de K^{+} lenta rectificadora retardada
I_{Na}	Corriente rápida de sodio
I_{to}	Corriente de K^{+} saliente transitoria
I_{NaCa}	Corriente a través del intercambiador Na^{+}/Ca^{2+}
I_{NaK}	Corriente a través de la bomba Na^{+}/K^{+}
I_{pCa}	Corriente de meseta del ion Ca^{2+}
I_{pk}	Corriente de meseta del ion K^{+}
K^{+}	Ion potasio
K_i	Concentración de potasio intracelular
K_o	Concentración de potasio extracelular
min	Minutos
ms	Milisegundos
mV	Milivoltios
Na_i	Concentración de sodio intracelular

Na_o	Concentración de sodio extracelular
PA	Potencial de acción
R	Constante de gases ideales
T	Temperatura absoluta en Kelvins
V	Potencial en mV
V_e	Potencial extracelular
V_i	Potencial intracelular
V_m	Potencial de membrana
V_{SR}	Potencial del retículo sarcoplásmico

ÍNDICE GENERAL

- MEMORIA
- PRESUPUESTO



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

MEMORIA

CONTENIDO

1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	3
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1. EL CORAZÓN	5
2.1.1. Anatomía del corazón	5
2.1.2. Mecanismo de bombeo: ciclo cardíaco	6
2.2. ELECTROFISIOLOGÍA DE LA CÉLULA EXCITABLE.....	7
2.2.1. Membrana celular: estructura y propiedades	7
2.2.2. Corrientes iónicas: modelo matemático.....	9
2.2.3. Potencial de acción	14
2.3. ISQUEMIA MOCÁRDICA.....	15
2.3.1. Fundamento.....	15
2.3.2. Alteraciones metabólicas.....	16
2.4. ISQUEMIA MIOCÁRDICA: HIPERKALEMIA	17
2.4.1. Posibles causas de la acumulación de potasio extracelular	19
2.4.2. Los efectos de la hiperkalemia.....	20
3. OBJETIVOS	23
4. DESARROLLO DEL SOFTWARE.....	24
4.1. MODELO DE O'HARA	24
4.2. ESTRUCTURA DEL SOFTWARE DE SIMULACIÓN	25
4.2.1. Módulo main.....	26
4.2.2. Módulo model.....	27
4.2.3. Modelo de O'Hara original.....	28
4.2.4. Modificaciones del modelo de O'Hara para simular isquemia	31
4.2.5. Protocolo de simulación	35
4.2.6. Módulo ion_quantification	36
4.3. INTERFAZ DE USUARIO	39
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
5.1. CONSIDERACIONES INICIALES	42
5.2. ACTIVACIÓN DE PARÁMETROS ISQUÉMICOS.....	43
5.3. DESACTIVACIÓN DE PARÁMETROS ISQUÉMICOS	48
5.4. EFECTO SOBRE EL POTENCIAL DE ACCIÓN: APARICIÓN DE ALTERNANTES.....	51
5.5. CUANTIFICADOR DE IONES POTASIO	55
6. CONCLUSIONES	58

7. LÍNEAS FUTURAS	59
8. ANEXOS.....	60
8.1. ANEXO 1: MANUAL PARA LA INTERFAZ DE USUARIO	60
8.2. ANEXO 2: REQUISITOS DE SOFTWARE Y HARDWARE	63
8.3. ANEXO 3: CÓDIGOS DESARROLLADOS	63
9. REFERENCIAS	64

1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La hiperkalemia es la acumulación anómala de potasio en el medio extracelular de las células cardiacas. Se trata de una situación que se produce durante la isquemia miocárdica aguda y de la cual se conocen sus consecuencias arritmogénicas. Sin embargo, sus causas siguen siendo en parte desconocidas. Esta acumulación de potasio en el medio extracelular provoca cambios electrofisiológicos importantes en las células afectadas. Ante estos cambios, el comportamiento eléctrico de los cardiomiocitos ventriculares se altera, pudiendo producirse arritmias causadas por reentradas y, en algunos casos, muerte súbita por fibrilación ventricular. Es por este motivo que el estudio de los mecanismos que dan lugar a la hiperkalemia es un tema de gran interés biomédico.

De entre las enfermedades que causan muerte natural, la isquemia miocárdica aguda es la primera en todo el mundo. En Europa, cada año, casi un 50% de las muertes naturales son causadas por isquemia miocárdica (Townsend et al., 2015). Estos datos tienen una gran repercusión en la economía del ámbito sanitario, ya que las enfermedades cardiovasculares en Europa suponen un coste de alrededor de 190.000 millones de euros al año (Townsend et al., 2015). Esta situación obliga a remarcar la necesidad de realizar estudios para conocer cuáles son los mecanismos que provocan arritmogenicidad en una situación de hiperkalemia derivada de una isquemia miocárdica, pues es la hiperkalemia el factor más proarrítmico de cuantos se producen en esta situación patológica.

En el año 2002, Rodríguez y Ferrero publicaron un modelo computacional de isquemia aguda en corazón de cobaya (Rodríguez & Ferrero, 2002). Este modelo, desarrollado a partir de una modificación del modelo de acción de Luo-Rudy (Luo & Rudy, 1994), sirvió para estudiar las causas de la hiperkalemia en un modelo animal durante la fase aguda (14 minutos) de la isquemia miocárdica.

Los modelos hasta entonces desarrollados no contenían características esenciales para realizar una representación de un corazón humano, como el comportamiento eléctrico de un cardiomiocito ventricular humano o los tipos de canales que componen estas células; es decir, no existían modelos matemáticos para simular un corazón humano.

Por este motivo, es necesario actualizar los modelos existentes o desarrollar otros en los que, partiendo de los conocimientos que se tienen sobre el comportamiento eléctrico del corazón y la morfología y actividad de los canales iónicos en corazón humano, se puedan obtener resultados que puedan arrojar luz sobre las causas de la hiperkalemia. Es por ello que el desarrollo de una herramienta informática para la simulación de la hiperkalemia en isquemia sobre cardiomiocitos ventriculares es una tarea muy relevante. Esto implicaría el desarrollo de un código de simulación y el desarrollo de una interfaz gráfica que permita el fácil uso de esta herramienta para realizar diversos estudios. Gracias a esto se podrán determinar las principales causas que provocan el aumento de la concentración de potasio extracelular, y, por consiguiente, sobre este conocimiento, se podrá desarrollar un tratamiento adecuado a los pacientes que padecen este tipo de enfermedad cardíaca.

El antecedente más reciente de este Trabajo Final de Grado es otro trabajo de ese tipo que se presentó en el curso 2015-16 y que fue realizado por la entonces alumna Dña. Mireia García Darás y dirigido por el mismo tutor del presente Trabajo Final de Grado. En dicho trabajo, se utilizó un modelo de simulación computacional basado en el propuesto por Ten Tusscher (Ten Tusscher et al., 2004). Sin embargo, existe un modelo más reciente que describe el comportamiento eléctrico de los cardiomiocitos ventriculares humanos: el modelo de O'Hara-Rudy (O'Hara et al., 2011). Así, el Trabajo

Final de Grado que aquí se presenta se decidió desarrollar un modelo nuevo basado en el modelo de O'Hara con el que poder profundizar más en el estudio de las causas de la hiperkalemia, llevando a cabo simulaciones con un modelo más reciente y realizando nuevos experimentos *in silico* diseñados exprofeso para este trabajo.

Todo ello constituye una tarea propia de la Ingeniería Biomédica y es objeto de este Trabajo Fin de Grado. Entre las competencias específicas descritas en el título de Grado en Ingeniería Biomédica impartido por la Universidad Politécnica de Valencia aparece, el número 14, se describe la siguiente competencia:

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

Entre otras capacidades asociadas a la Ingeniería Biomédica es la competencia 14 la se desarrolla y se justifica en el presente Trabajo Fin de Grado.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. EL CORAZÓN

2.1.1. Anatomía del corazón

El sistema cardiovascular está formado esencialmente por un órgano principal, el corazón, y por los vasos sanguíneos. El corazón es el encargado de bombear la sangre hacia los pulmones, responsables de oxigenar la sangre. Esta sangre oxigenada regresa al corazón y se impulsa, en este caso, para llegar al resto del cuerpo.

En la Figura 2.1 se puede ver la representación anatómica de un corazón humano, con las principales cavidades, venas, arterias y dirección de la circulación de la sangre.

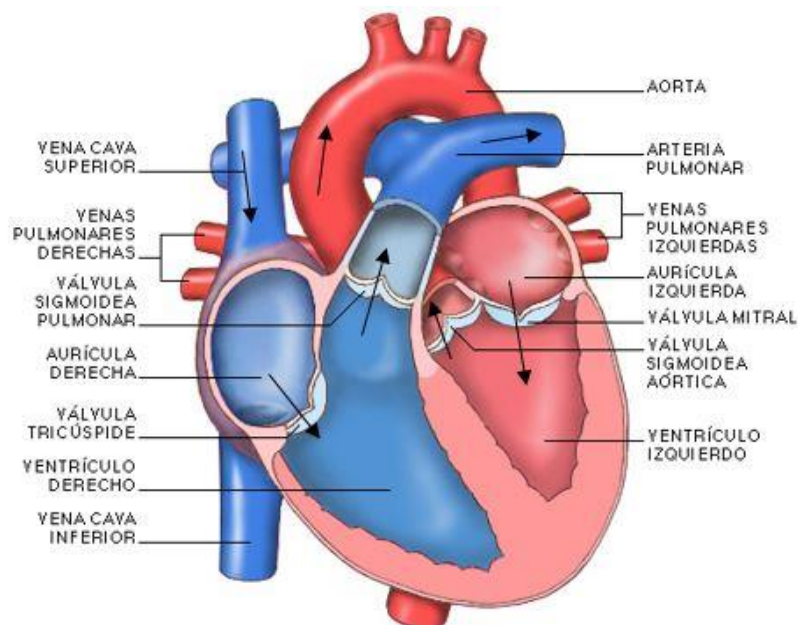


Figura 2.1: Estructura interna del corazón humano (Fuente: modificado de Ministerio de Educación y Cultura, 2017).

Anatómicamente, el corazón está compuesto por cuatro cavidades. Las dos cavidades superiores se denominan aurículas y las cavidades inferiores reciben el nombre de ventrículos. El paso de la sangre entre una aurícula y un ventrículo se realiza a través de una válvula, la cual permite que la circulación se realice de forma unidireccional. La aurícula derecha y el ventrículo derecho están conectados mediante la válvula tricúspide, con dirección del flujo de aurícula a ventrículo. La aurícula izquierda y el ventrículo izquierdo se comunican a través de la válvula mitral, siendo el flujo en la misma dirección que en el caso anterior.

En las cavidades inferiores, los ventrículos, existen dos válvulas más, denominadas válvula pulmonar y válvula aórtica. La primera permite el bombeo de la sangre desde el ventrículo derecho a los pulmones y la segunda permite el paso de la sangre desde el ventrículo izquierdo a la aorta para que la sangre llegue a todo el organismo.

El mecanismo por el cual la sangre se oxigena comienza en la aurícula derecha, lugar inicial a donde llega la sangre del organismo pobre en este elemento. De esta forma, la presión que se ejerce en la cámara superior derecha del corazón, obliga a la válvula tricúspide a abrirse y dejar que la sangre pase al ventrículo derecho. Como las válvulas son unidireccionales, una vez se produce el llenado de este ventrículo, la válvula se cierra impidiendo el retorno sanguíneo. Gracias a la contracción del corazón, la presión que ejerce la sangre sobre la válvula pulmonar la obliga a abrirse, haciendo que la sangre llega, mediante la arteria pulmonar izquierda, hasta los pulmones, responsables de realizar la oxigenación sanguínea. Una vez realizado este proceso, la sangre vuelve al corazón a través de las venas pulmonares izquierdas, dos superiores y dos inferiores, llenando la aurícula izquierda y provocando la apertura de la válvula mitral, permitiendo así el paso de la sangre al ventrículo izquierdo. Como en el caso de la válvula tricúspide, la válvula mitral se cierra impidiendo que la sangre regrese a la aurícula. Por último, la sangre atraviesa la válvula aórtica y sale a través de la aorta para llegar a todo el organismo. Una vez la sangre cumpla su función, regresará al corazón para ser oxigenada de nuevo a través del circuito que se ha explicado.

2.1.2. Mecanismo de bombeo: ciclo cardíaco

El proceso explicado en el apartado anterior mediante el cual la sangre es bombeada no sería posible sin la contracción, y correspondiente relajación, del corazón. Este proceso se denomina ciclo cardíaco, definido como el periodo de tiempo que se sucede desde el inicio de un latido hasta el comienzo del siguiente. Cada uno de estos latidos está compuesto por dos partes: sístole (contracción) y diástole (relajación).

La diástole se caracteriza por la relajación de las aurículas, lo que permite que la sangre que llega desde el organismo y desde los pulmones, entra en las aurículas derecha e izquierda respectivamente, ejerciendo una presión que hace que se abran las válvulas tricúspide y mitral, permitiendo el paso de la sangre a los ventrículos. Es en este momento cuando entra en escena el marcapasos natural del corazón, el nodo sinoauricular (nodo SA). Por él viajan un tipo de corrientes encargadas de elevar el potencial hasta alcanzar un umbral de disparo, provocando la contracción de las células de las aurículas y facilitando el vaciado completo de las mismas.

Como se ha mencionado al principio, un latido está compuesto por sístole y diástole. La sístole comienza cuando los ventrículos se llenan de sangre. El vaciado de éstos se produce a través de la contracción celular generada en el nodo SA. El viaje que realiza el frente de onda provocado en el marcapasos natural del corazón llega a una zona de miocito no excitable, el límite que separa aurículas y ventrículos, por lo que tiene que encontrar otro camino. La contracción de los ventrículos, o sístole ventricular, se da gracias al nodo aurículo-ventricular, el cual permite el paso de la corriente eléctrica hasta el haz de His, situado en medio de los dos ventrículos, y de ahí a las fibras de Purkinje, una red de fibras con ramificaciones que distribuyen la corriente excitatoria hacia los ventrículos para poder contraerlos de forma rápida y sincronizada. En este momento se produce el cerrado de las válvulas que comunican los ventrículos con las aurículas para que la sangre no regrese a éstas últimas. Con la contracción de los ventrículos la sangre desoxigenada va hacia los pulmones y la oxigenada hacia el

resto del organismo. Al mismo tiempo, durante la sístole ventricular, se produce la diástole auricular, estas cavidades se relajan y dejan paso a la sangre, iniciándose así el ciclo cardíaco.

2.2. ELECTROFISIOLOGÍA DE LA CÉLULA EXCITABLE

2.2.1. Membrana celular: estructura y propiedades

En la Figura 2.2 se puede ver la estructura de la membrana, la cual delimita toda la célula. Está formada por una bicapa lipídica, donde cada lípido tiene dos partes: una hidrófoba (repele al agua) direccionada al interior de la membrana, y una hidrófila (afín al agua) situada hacia el exterior de la membrana, es decir, en contacto con el medio intracelular y extracelular.

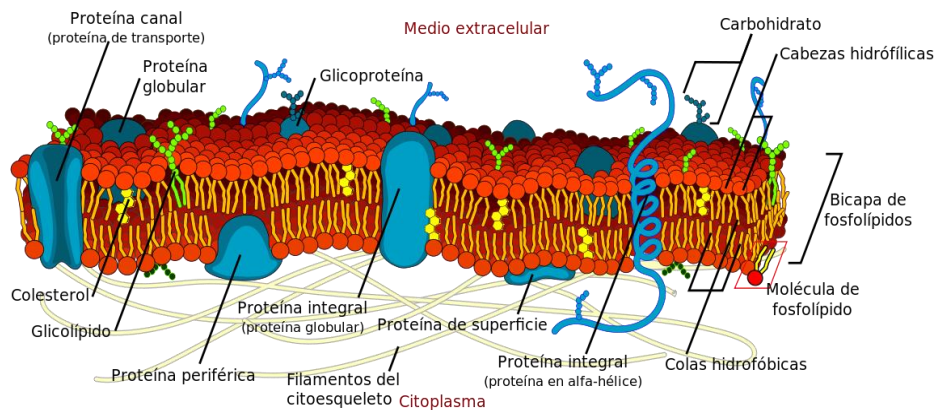


Figura 2.2: Representación esquemática de la bicapa lipídica de la membrana celular (Fuente: Wikipedia, 2016).

La membrana tiene varias propiedades. Una de ellas es la impermeabilidad ante el paso de ciertas sustancias polares, hidrófilas o sustancias con carga eléctrica. Otra de las características más representativas de esta bicapa es la variedad de mecanismos de transporte selectivo de sustancias que posee. En el caso de las sustancias solubles en lípidos (como oxígeno o dióxido de carbono), el paso a través de la bicapa se produce por difusión directa. Los iones, por el contrario, solo pueden atravesar la membrana a través de ciertas estructuras proteicas, llamadas canales iónicos, bombas, intercambiadores y co-transportadores. Estas proteínas específicas que se encuentran incrustadas en la membrana dejan pasar (o facilitan el paso de) determinados iones por dos mecanismos de transporte: pasivo y activo. El transporte pasivo se realiza sin necesidad de aporte de energía externa, por lo que los iones pasan de forma libre a través de los canales, los intercambiadores y los co-transportadores. Las bombas, sin embargo, son mecanismos de transporte activo; es decir, necesitan aporte de energía externa en forma de ATP.

Otra de las propiedades más características de la membrana celular es que actúa como un condensador. Esto es así porque la membrana es aislante y está rodeada por dos medios conductores (el medio extracelular e intracelular).

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

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

Para que los iones puedan pasar de un lado a otro de la membrana, es necesario que los canales estén abiertos y que exista una fuerza capaz de moverlos. Éstas fuerzas se dividen en dos tipos: fuerzas de difusión y fuerzas de campo eléctrico. En el caso de transporte mediante difusión, los iones se moverán en función de la diferencia de concentración entre los medios que separa la membrana; es decir, a favor del gradiente de concentración (de donde la concentración es mejor a donde es mayor). Por otro lado, las fuerzas debidas a campo eléctrico hacen que las cargas se mueven acorde a la polaridad del campo, por lo que, si el medio intracelular tiene un potencial positivo y el extracelular un potencial negativo, los iones positivos se sentirán atraídos hacia el exterior, al contrario que los iones negativos, que serán arrastrados al interior de la célula. En el caso de que ambas fuerzas, difusión y campo eléctrico, sean contrarias, el ion se moverá de acuerdo a la fuerza resultante, que constituirá un gradiente electroquímico.

Bombas, intercambiadores y co-transportadores

Las bombas son unas estructuras proteicas que permiten el paso de sustancias cargadas en contra del gradiente de difusión y campo eléctrico gracias al aporte de energía; es decir, es un medio de transporte activo. Esta energía se obtiene del ATP que se encuentra en el interior de la célula, de tal forma que la bomba lo va utilizando y consumiendo. Este ATP se puede regenerar por varias vías y requiere del aporte de oxígeno, glucosa y nutrientes. Existen tres bombas principales: la bomba Na^+/K^+ y la bomba de Ca^{2+} (presentes en la membrana celular) y bomba SERCA (presente en la membrana del retículo sarcoplásmico).

La bomba Na^+/K^+ se encuentra en todas las células del organismo y es el principal medio de intercambio activo de iones. El paso selectivo a través de este medio se realiza para dos iones concretos, los cuales dan nombre a la bomba: el sodio (Na^+) y el potasio (K^+). Mediante la bomba se extraen tres iones de sodio del medio intracelular y se introducen dos de potasio al interior de la célula. La bomba de calcio (Ca^{2+}) es la encargada de mover calcio en contra de su gradiente de difusión (concretamente, del medio intracelular al extracelular). Por último, la bomba SERCA se diferencia de las demás principalmente en que no se encuentra en la membrana, sino que está situada en el retículo sarcoplásmico, lugar hacia donde desplaza de manera activa los iones de calcio desde el citoplasma.

Los intercambiadores, como se ha mencionado anteriormente, son medios de transporte pasivo, por lo que no necesitan aporte de energía para permitir el movimiento de distintos iones en diferentes sentidos. Usan el gradiente de difusión y/o de campo eléctrico favorable de una sustancia iónica para mover otro ion en contra de éstos. En cuanto a este tipo de transporte en células cardíacas, el intercambiador más importante es el de Na^+/Ca^{2+} , el cual actúa extrayendo un ion de calcio del

interior de la célula e introduciendo tres de sodio. Este intercambiador tiene una velocidad menor que la bomba Na^+/K^+ , por lo que la concentración de Na^+ será mayor en el medio extracelular.

Los co-transportadores, a diferencia que los intercambiadores, mueven los iones en un mismo sentido, pero de igual forma, son medios de transporte pasivo, por lo que usan el gradiente de difusión o campo eléctrico para mover los iones.

Los gradientes de concentración de Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- se mantienen gracias a la actuación de los medios de transporte que se han descrito brevemente en este apartado. La concentración de los iones es mayor en el medio extracelular para todos menos para el K^+ en todas las células excitables (y, en particular, en los cardiomiocitos). En reposo, el potencial de membrana de este tipo de células cardíacas es de aproximadamente -85 mV.

2.2.2. *Corrientes iónicas: modelo matemático*

Como se ha descrito anteriormente, los canales iónicos son estructuras proteicas transmembrana que poseen poros acuosos, los cuales se pueden cerrar o abrir para dejar pasar iones de forma selectiva. Atendiendo a la dependencia de funcionamiento de estos canales, se pueden clasificar en dos tipos: dependientes del potencial de membrana y dependientes de ligandos. Esta distinción se realiza aquí a efectos de simplificar la explicación, puesto que un mismo canal iónico puede ser a la vez dependiente del potencial y de ligandos.

Los canales dependientes del potencial de membrana tienen unas estructuras llamadas compuertas que pueden ser de activación o de inactivación. Una compuerta es una hélice alfa de la proteína-canal que puede desplazarse y/o girar en relación al resto de la proteína. Los canales pueden estar compuestos por un tipo de compuerta o por los dos, a la vez que pueden tener una, dos o varias de cada una de ellas. El paso de corriente a través de estos canales se explica a través de las características de estas compuertas. Las compuertas de activación tienden a abrirse con la subida del potencial y las de inactivación, por el contrario, tienden a cerrarse. Además, las compuertas de activación son, en general, más rápidas que las de inactivación. Como el potencial de reposo de una célula cardíaca es negativo, inicialmente, las compuertas de activación estarán cerradas. Conforme el potencial aumente, y puesto que estas compuertas son muy sensibles a los cambios de potencial, tenderán a abrirse rápidamente, mientras que las de inactivación se irán cerrando paulatinamente. Debido a la diferencia de velocidad de reacción entre los dos tipos de compuertas, llega un momento que, con la variación de potencial, las dos compuertas estarán abiertas al mismo tiempo, permitiendo así el paso de corriente hasta que una de las dos compuertas se cierre.

El comportamiento descrito es típico de canales de entrada, como los de sodio o los de calcio. Los canales de potasio tienen comportamientos diferentes al carecer, en la mayoría de los casos, de compuertas de inactivación, o al ser las de inactivación más rápidas que las de activación.

La ecuación diferencial lineal de coeficientes variables mostrada a continuación determina la apertura o cierre de las compuertas que son dependientes del potencial de membrana (Luo & Rudy, 1952).

$$\frac{df_s}{dt} = \frac{f_\infty(V_m) - f_s(t)}{\tau_s(V_m)} \quad (2)$$

donde f_∞ es la fracción estacionaria de compuertas abiertas, $f_s(t)$ es la fracción de compuertas abiertas en el instante de tiempo t (medido en tanto por uno), el rango en el que se sitúan ambos es de 0 a 1. τ_s es la constante de tiempo de cierre o apertura de una compuerta en función del potencial de membrana.

La probabilidad de encontrar una compuerta de activación abierta en función del potencial se puede observar en la gráfica representada en la Figura 2.3(A), donde se puede ver que la probabilidad aumenta al aumentar el potencial. Por otro lado, en la Figura 2.3(B) se puede ver la probabilidad de encontrar una compuerta de inactivación abierta en función del potencial, la cual disminuye a medida que el potencial aumenta.

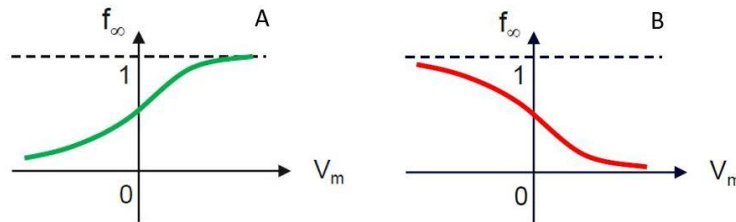


Figura 2.3: Representación gráfica de la fracción de compuertas abiertas en función del potencial. A representa la probabilidad de encontrar una compuerta de activación abierta en función del potencial. B representa la probabilidad de encontrar una compuerta de inactivación abierta en función del potencial. Fuente: modificado de Ferrero, 2014.

Si un canal iónico posee N compuertas, la probabilidad de encontrar abierta una de ellas vendrá dada por:

$$\frac{df_i}{dt} = \frac{f_{i,\infty}(V_m) - f_i(t)}{\tau_{f_i}(V_m)} \quad (3)$$

Por último, si el estado de una compuerta es independiente del estado de las otras, la probabilidad de que el canal esté abierto (lo que ocurrirá si todas sus compuertas lo están) será el producto de las diferentes probabilidades f_i dadas por la ecuación (3).

Es importante hacer notar que, puesto que los coeficientes de las ecuaciones (3) dependen del potencial de membrana y éste, a su vez, varía como consecuencia de la propia apertura y cierre de los canales, el sistema de ecuaciones diferenciales resultante es no lineal.

Como se ha nombrado anteriormente, existen otro tipo de dependencia de los canales iónicos: la dependencia de ligandos. En este caso, la probabilidad de que las compuertas estén abiertas no solo

depende del potencial de membrana, sino de ciertas partículas llamadas ligandos (L) y que están presentes en una concentración [L]. Algunos ejemplos de estas partículas son los protones de H^+ o el ATP. Definiendo H como el número de partículas unidas a una canal necesarias para que éste se abra, este canal tendrá cierta probabilidad de abrirse dependiendo del número de partículas de ligando que se le unan, el cual no suele ser mayor de 3. Este canal no estará abierto siempre, dependerá de la tasa de apertura y de cierre (α y β correspondientemente).

Al igual que en los canales dependientes del potencial existen compuertas de activación e inactivación, en los canales dependientes de ligandos encontramos los activados por ligando y los desactivados por ligando. Los primeros, los activados por ligando, tiene una probabilidad mayor de estar abiertos cuanto mayor es la concentración de ligando unido. A continuación, se muestra una ecuación que describe la probabilidad de encontrar este tipo de canales abiertos, donde [L] es la concentración de partículas de ligando, H es el número de partículas necesarias para que el canal se abra y K_m es la concentración de partículas de ligando cuando están abiertos la mitad de los canales de una familia; es decir, cuando f_s es de 0.5 y depende de la tasa de apertura y cierre (α y β).

$$f_s = \frac{1}{1 + \left(\frac{K_m}{[L]}\right)^H} \quad (4)$$

Los canales desactivados por ligando tienen una probabilidad de estar abiertos menor, la cual disminuye conforme aumenta la concentración de ligando unido. Esta probabilidad viene dada por la siguiente expresión:

$$f_s = \frac{1}{1 + \left(\frac{[L]}{K_m}\right)^H} \quad (5)$$

La fracción de canales abiertos, la cual se ha descrito en las ecuaciones anteriores, se muestra en función de la concentración de ligando en la Figura 2.4. La Figura 2.4 (A) se corresponde con los canales desactivados por ligando, mientras que la Figura 2.4 (B) lo hace con los activados por ligando.

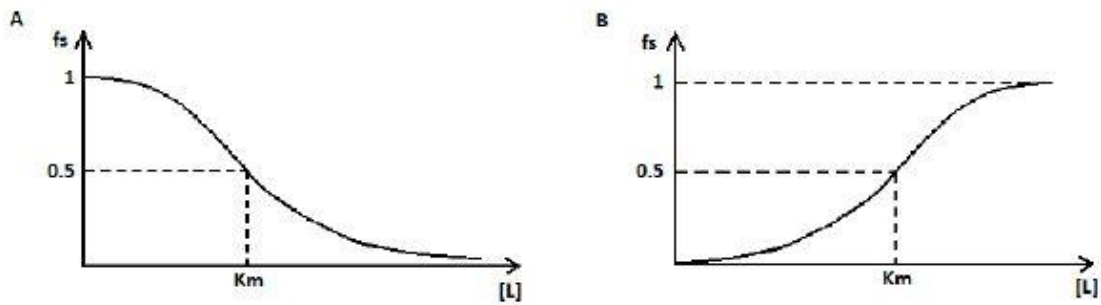


Figura 2.4: Variación de la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando. A representa la variación de la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando en canales desactivados por ligando. B representa la fracción de canales abiertos en función de la concentración de ligando en canales activados por ligando (Fuente: Ferrero, 2014) .

Conducción a través de los canales

El circuito equivalente de un canal iónico se muestra en la Figura 2.5 y está formado por una fuente de tensión continua (E_s), cuyo valor es el del potencial de equilibrio del ion (Ferrero, 2014). En serie con ésta se encuentra una conductancia correspondiente al canal de valor dependiente de las concentraciones del ion en el citosol y el medio extracelular, así como del potencial de membrana, entre otros factores.

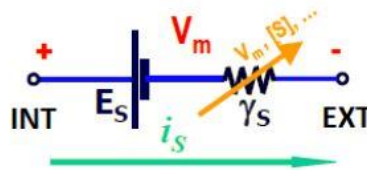


Figura 2.5: Representación esquemática del circuito eléctrico equivalente de un canal iónico abierto (Fuente: Ferrero,2014).

La corriente iónica que atraviesa el canal cuando éste está abierto, se puede ver en la siguiente ecuación:

$$i_s = \gamma_s(V_m - E_s) \quad (6)$$

donde i_s es la corriente iónica, γ_s es la conductancia unitaria del canal abierto, E_s es el potencial de equilibrio de la membrana (del canal S) y V_m es el potencial de membrana.

La corriente iónica que atraviesa una población de canales iónicos se puede ver en la siguiente expresión:

$$I_s = N_s \gamma_s f_s (V_m - E_s) \quad (7)$$

siendo I_s la intensidad de corriente iónica, N_s el número de canales de una población o familia y f_s la fracción de canales abiertos.

Como se ha dicho al principio, el modelo está formado por una fuente de tensión y una conductancia en serie, cuyo valor viene dado por la suma de la conductancia de todos los canales que están abiertos en un instante determinado. Por esto mismo, el valor de esta conductancia depende de las concentraciones de los iones fuera y dentro de la célula, del tiempo y del potencial de membrana. El valor de la conductancia en un instante de tiempo de la población de canales ($G_s(t)$) se define como el producto del número de canales que forman una familia (N_s) por la conductancia unitaria (γ_s) por la fracción de canales abiertos en ese mismo instante de tiempo ($f_s(t)$):

$$G_s(t) = N_s \gamma_s f_s(t) \quad (8)$$

También se puede expresar la conductancia específica g_s en un instante de tiempo como el producto de la densidad de canales σ_s por la conductancia unitaria por la fracción de canales abiertos en el mismo instante de tiempo:

$$g_s = N_s \gamma_s f_s \quad (9)$$

Este circuito equivalente descrito se puede expresar también por unidad de superficie de membrana:

$$j_s = \sigma_s \gamma_s f_s (V_m - E_s) \quad (10)$$

siendo j_s la densidad de corriente iónica.

La célula: modelo eléctrico equivalente

Anteriormente se ha descrito que el paso de sustancias a través de la membrana se realiza mediante bombas, intercambiadores, co-transportadores y los recientemente explicados canales iónicos. La equivalencia eléctrica de todos estos componentes, así como la membrana, que actúa como un condensador, se tiene que tener en cuenta a la hora de realizar un modelo eléctrico que pueda representar a la célula, tal y como muestra la Figura 2.6.

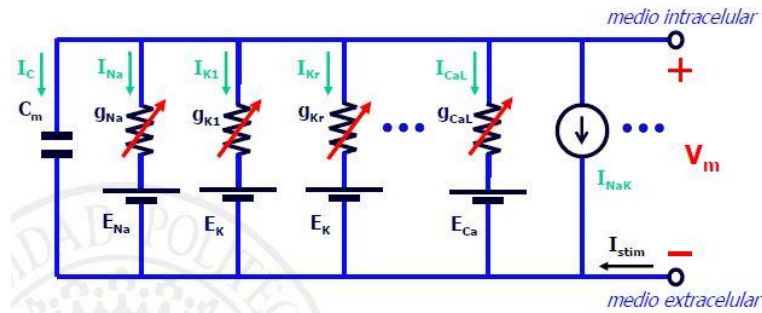


Figura 2.6: Representación del circuito equivalente de una célula (Fuente: Ferrero, 2014).

En la Figura 2.6 se puede ver que el modelo está formado por un conjunto de ramas en paralelo que representan las diferentes familias de canales, bombas, intercambiadores, y co-transportadores, así como la capacidad de la membrana (C_m).

El modelo eléctrico de una célula se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum I_s(t) + \sum I_{B,I}(t) + I_{stim}(t) = 0 \quad (11)$$

donde C_m como la capacidad de membrana de la célula, $I_s(t)$ la corriente iónica de las familias de canales iónicos en un instante de tiempo t , $I_{B,I}$ la corriente que pasa por las bombas e intercambiadores en ese instante de tiempo t e $I_{stim}(t)$ que es la corriente de estimulación externa en el mismo instante de tiempo.

Cuando la célula está en reposo, hay ciertos canales que están abiertos y son estos los que determinan el potencial de reposo de la célula, que es el potencial de membrana cuando la célula no está excitada. En las células del corazón, los canales que permanecen abiertos durante el reposo celular son de potasio, por lo que el potencial de reposo en este tipo de células es muy cercano al potencial de equilibrio del potasio K^+ , que tiene un valor de aproximadamente -85 mV.

2.2.3. Potencial de acción

Cuando la célula está en reposo, la corriente que pasa a través de los canales de potasio que están abiertos hace que el potencial se mantenga constante, con un valor de aproximadamente -85 mV. Los miocitos con células excitables y pueden desarrollar un potencial de acción cuando reciben corriente entrante.

En la Figura 2.7 se puede ver la forma típica de un potencial de acción y las fases que lo caracterizan. Inicialmente se puede ver una zona de ascenso del potencial llamada despolarización, una fase de estabilización llamada meseta y una final de bajada llamada repolarización. En algunos casos, esta fase final puede llegar a valores de potencial más bajos que el potencial de reposo, en este caso esta fase

se denomina hiperpolarización. Por el contrario, si el descenso hacia el potencial de reposo sigue una pendiente menor, se le denomina hipopolarización.

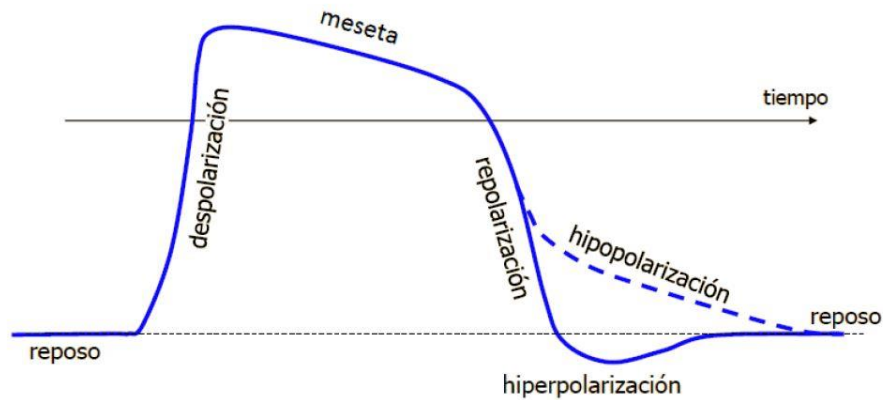


Figura 2.7: Fases del potencial de acción (Fuente: Ferrero, 2014).

En el caso de los miocitos ventriculares las fases no son las mismas que en la figura pues, en este caso, solo tienen tres fases principales: reposo, despolarización, meseta y repolarización.

2.3. ISQUEMIA MOCÁRDICA

2.3.1. Fundamento

Dentro de las enfermedades cardíacas, la isquemia miocárdica es una de las más comunes. Esta enfermedad se origina por una obstrucción del flujo arterial que hace que llegue menos sangre al músculo cardíaco, provocando un aporte de oxígeno menor, así como de nutrientes, lo cual genera un estrés metabólico celular. Si el estrés que sufren las células es muy intenso, se puede sufrir diversos efectos, desde una angina de pecho hasta un infarto de miocardio.

Las consecuencias que desencadena la isquemia miocárdica se suceden debido a cambios metabólicos provocados por la disminución del aporte de oxígeno y nutrientes a las células. Estos cambios metabólicos se traducen en cambios electrofisiológicos importantes cuando hablamos de miocitos ventriculares.

La isquemia miocárdica aguda se produce cuando la disminución de aporte de oxígeno tiene lugar de manera repentina, lo cual puede desencadenar, en tan solo unos minutos, arritmias potencialmente mortales, como puede ser la fibrilación ventricular.

2.3.2. Alteraciones metabólicas

La hiperkalemia, la acidosis y la hipoxia son varios de los mecanismos que se desarrollan durante la isquemia miocárdica. La contribución simultánea de estos factores no se puede discernir in vivo, por lo que se dejan abiertas muchas preguntas relacionadas con esta enfermedad.

La hiperkalemia se define como el aumento de la concentración de potasio extracelular, lo que provoca cambios en el potencial de reposo celular y, por ende, en el potencial de acción. La acidosis es la disminución de los valores de pH, la cual provoca una reducción en las corrientes rápidas de sodio y calcio tipo lentas (L) durante la fase de despolarización. Por último, la hipoxia se da cuando se produce un descenso del aporte de oxígeno en las células.

A causa de la reducción de oxígeno y nutrientes en las células durante la isquemia, los niveles de ATP intracelular disminuyen ya que el oxígeno y la glucosa son esenciales para la formación de ATP. El descenso de la concentración de ATP provoca el deterioro del metabolismo celular ya que, la energía que las células necesitan para su funcionamiento, la consiguen a través de la degradación del ATP a ADP, AMP y adenosina.

Diversos estudios han intentado arrojar luz sobre las alteraciones metabólicas que provoca la isquemia miocárdica. La evolución de la concentración intracelular de sodio ($[Na^+]_i$) durante esta enfermedad, así como su valor final muestran variaciones dependiendo de la especie sobre la cual se realice el estudio, las condiciones de experimentación y las técnicas de medida, por lo que, a día de hoy, no existen resultados concretos sobre la alteración de la concentración intracelular de sodio (Ingwall, 1995; Wilde y Aksnes, 1995).

En cuanto al calcio, se puede decir que, durante la isquemia miocárdica, la concentración intracelular de este ión ($[Ca^{2+}]_i$) aumenta. En este caso, una de las posibles causas sería la inhibición de la actividad del intercambiador de sodio calcio, Na^+/Ca^{2+} , el cual actúa como una de las principales fuentes de salida de calcio hacia el medio extracelular (Carmeliet, 1999)

Como se ha nombrado antes, se produce un bloqueo del metabolismo oxidativo por falta de oxígeno y, como consecuencia se reduce la formación de ADP a partir de ATP, lo que afecta de forma directa al metabolismo de los lípidos, generando liberación de catecolaminas y estrés oxidativo (Carmeliet, 1999)

La principal causa de los cambios que se producen durante una isquemia miocárdica es el aumento de la concentración de potasio en el medio extracelular $[K^+]$. La despolarización celular, la reducción de la duración del potencial de acción, la menor amplitud del mismo, la pendiente de despolarización más suave de la curva del potencial, la disminución de la velocidad de conducción y la reducción de la capacidad de excitabilidad de la célula son los cambios más comunes que se dan a nivel electrofisiológico durante una isquemia miocárdica al aumentar la concentración de potasio extracelular.

2.4. ISQUEMIA MIOCÁRDICA: HIPERKALEMIA

En el anterior apartado ya se ha definido la hiperkalemia como la acumulación de potasio en el medio extracelular durante la isquemia miocárdica. Debido a los cambios electrofisiológicos que esto puede desencadenar, la hiperkalemia se sitúa como un factor proarrítmico muy importante, pudiendo provocar arritmias mortales. Es por ello que la hiperkalemia es objeto importante de estudio en cuanto a los factores que la provocan y su desarrollo durante esta enfermedad. Actualmente no se conocen completamente las causas que provocan esta acumulación de iones potasio.

Un corazón en condiciones normales (es decir, en condiciones de normoxia) tiene una mayor concentración de potasio en el medio intracelular en relación al extracelular. Durante el reposo celular existen canales abiertos por los cuales el potasio puede salir fuera de la célula a través de la membrana. Para compensar este proceso, la bomba Na^+/K^+ compensa el flujo saliente de potasio generando un flujo entrante del mismo.

En la Figura 2.8 se puede ver un gráfico en el que se muestra cómo el equilibrio dinámico descrito se ve afectado durante la isquemia. En este gráfico se puede ver la evolución con el tiempo de la concentración intracelular de potasio durante un proceso de isquemia miocárdica aguda. Como bien se ha demostrado mediante varios estudios hasta la fecha (Hill y Gettes, 1980; Kleber, 1984; Knopf et al., 1990; Sato et al., 1999; Weiss y Shine, 1982a; Weiss y Shine, 1986; Wilde y Aksnes, 1995; -Wilde et al., 1990), y como se observa claramente en la figura, $[K^+]_e$ comienza a aumentar en los primeros instantes tras la oclusión coronaria ($t=0$), alcanza una meseta tras aproximadamente 5 minutos y vuelve a aumentar después del minuto 10 aproximadamente. Esta subida secundaria, más lenta que la primera (Wilde y Aksnes, 1995), no tiene relevancia para nuestro estudio pues corresponde a la fase subaguda de la isquemia y sus causas son muy distintas a las de la primera subida, que es la que se ha tratado de explicar en el presente Trabajo Fin de Grado.

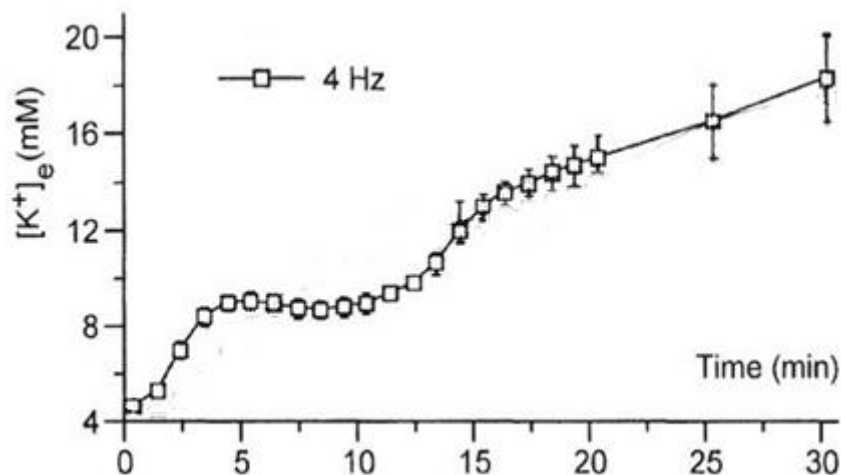


Figura 2.8: Acumulación de potasio extracelular durante isquemia temprana (Fuente: adaptado de Weiss & Shine, 1982)

El tiempo que transcurre desde que la isquemia comienza hasta que se alcanza la fase de meseta es muy variable dependiendo de la especie, el pH, la frecuencia cardíaca, la temperatura y la severidad del caso. Si se entra en la tercera fase de la isquemia, el daño provocado a las células es irreversible y provoca la muerte celular (Carmeliet, 1999; Rodríguez, 2002).

Estudios realizados sobre diversas especies y en condiciones diferentes (ver Tabla 1) reflejan que el nivel de concentración extracelular de potasio $[K^+]_o$ que se obtiene durante la segunda fase (meseta), dependen en gran medida de la especie sobre la cual se está realizando el estudio. Los niveles más bajo de concentración de este ion se pueden observar en el caso del cerdo (Fleet et al., 1985) o tejido perfundido de rata (Wilde et al., 1990), aumentando los niveles hasta llegar a los mayores para el caso de cobaya (Kleber, 1983). Es notorio que, hasta la fecha, no existe ningún estudio realizado en corazón humano.

Tabla 1: Valor de la concentración de potasio extracelular durante la fase de meseta. Se incluye el tiempo que dura la fase inicial de aumento de potasio y el nivel de la concentración del mismo antes de interrumpirse el flujo coronario entre otras especificaciones.

Autor, año	Especie animal	T^a (°C)	Frecuencia (lpm)	$[K^+]_o$ inicial (mmol/L)	$[K^+]_o$ meseta (mmol/L)	t_o (min)
Weiss, 1982	Conejo	37	60-72	4,0	12,1	12,3
Weiss, 1986	Conejo	37	125	4,0	12	7,0
	(septum)		150		12	5,0
Wilde, 1988	Conejo	37	200	4,3	12	8,0
Wilde, 1990	Conejo	34	210	0,5	10,4	7,5
Kleber, 1987	Cobaya	32		0,5	20	5,0
Wilde, 1990	Cobaya	34	240	0,3	14	5,0
Sakamoto, 19998	Cobaya	37	250	5,8	12	6,0
Sato, 1999	Cobaya	37	180-240	2,0	11	5,0
Wilde, 1990	Rata	34	240	4,3	9	4,0
Knopf, 1990	Rata	37	265	4,0	7	5,0
Mitani, 1992	Rata	37			9	2,9

Los niveles de potasio extracelular en la segunda fase marcada (meseta) tienen dependencia también del tamaño de tejido. En diversos estudios se ha concluido que el potasio extracelular acumulado es mayor cuando el experimento se realiza sobre un tamaño pequeño de tejido.

Otro factor que también afecta al valor de $[K^+]_o$ es el pH. En este caso, los estudios de Vanheel y Van de Voorde (1995) muestran la influencia de este factor sobre la acumulación de potasio fuera de la célula, haciendo que éste aumente cuando la concentración de pH intracelular ($[pH]_i$) se reduce. Aunque estos resultados son claros, no se sabe ciencia cierta la razón por la cual la reducción de pH en el interior de la célula da lugar a un aumento de $[K^+]_o$.

Por otro lado, el aumento de la frecuencia cardíaca hace variar la velocidad con la que se produce el aumento de concentración de potasio extracelular, siendo la velocidad mayor cuando se da en isquemia (Hirche et al., 1980; Kleber, 1983; Weiss y Shine, 1982a; Weiss y Shine, 1986).

En cuanto al efecto de la temperatura sobre la acumulación de $[K^+]_o$, éste es directo, pues diferentes estudios (Weiss y Shine, 1982a; Weiss y Shine, 1982b; Wilde y Aksnes, 1995) han obtenido resultados en los cuales se puede ver que el aumento de potasio extracelular es mayor cuanto más alta es la temperatura a la que se realiza el experimento.

Por último, otro factor de importancia es la severidad de esta enfermedad, la cual afecta también al valor final de la concentración de potasio. En los estudios realizados por Regan et al. (1980) sobre corazón de perro, se observa que la acumulación de potasio fuera de la célula es mayor cuanto más severa es la hipoxia, es decir, cuanto menor es el aporte de oxígeno a las células, por lo que, cuanto mayor sea la gravedad de la isquemia, mayor será el valor de $[K^+]_o$.

2.4.1. Posibles causas de la acumulación de potasio extracelular

Las hipótesis principales que explicarían la acumulación de potasio extracelular durante isquemia miocárdica son tres: la contracción de espacio extracelular, la reducción del flujo entrante de potasio y el creciente flujo de salida de potasio (Carmeliet, 1999).

En primer lugar, la reducción del espacio extracelular se debe al crecimiento (“hinchamiento”) de la célula, pudiendo ser esto una causa que afecta de forma directa al aumento de la concentración de potasio extracelular. Este aumento de volumen celular (y por lo tanto esta reducción del espacio extracelular) se debe a que, durante la isquemia, como se ha mencionado con anterioridad, se producen ciertos cambios metabólicos que provocan otras variaciones osmóticas responsables de este aumento de tamaño. Durante la isquemia, aproximadamente a los 10 minutos de su inicio, se produce una reducción del espacio extracelular de más o menos un 15% (Carmeliet, 1999; Fiolet et al., 1993; Knopf et al., 1990; Trandum-Jensen, 1981; Yan et al., 1996)

En cuanto a la reducción del flujo entrante de sodio, se considera que está relacionado con la actividad de la bomba Na^+/K^+ , la cual se ve reducida por la disminución de ATP por la falta de oxígeno y nutrientes que sufren las células durante la isquemia. En los estudios realizados por Carmeliet (1999) se demuestra que no es necesario que la actividad de la bomba como factor isquémico, se reduzca en su totalidad, sino que basta con que la actividad disminuya entre un 5-10% para que la concentración

de potasio extracelular aumente. La actividad de la bomba también afecta a la concentración de sodio, puesto que este medio de transporte saca tres iones de sodio y mete dos de potasio durante su funcionamiento. Durante la isquemia, la reducción de la actividad de esta bomba provoca un aumento en la concentración intracelular de sodio $[Na^+]_i$.

Por último, para poder entender la salida de potasio a través de los diferentes canales de potasio de la membrana, se tiene que conocer la expresión que explica el movimiento de estos iones entre los medios celulares. Este movimiento se define como el producto de la conductancia (g_K) por el gradiente electroquímico, según la siguiente ecuación (presentada en el apartado 2.2.2):

$$I_K = g_K \cdot (V_m - E_K) \quad (12)$$

Según la expresión (12), la corriente de iones de potasio que atraviesa un canal de K^+ aumenta (en valor absoluto) conforme aumenta la conductancia del mismo ya que son directamente proporcionales. A causa de la activación de la corriente de potasio dependiente de ATP (I_{KATP}), la corriente de potasio activada por sodio (I_{KNa}) y la corriente de potasio dependiente de ácidos grasos (I_{KFFA}) también se produce un aumento de la corriente de salida de K^+ (Carmeliet, 1999).

Utilizando únicamente la vía experimental, es imposible comparar directamente y cuantitativamente los efectos de las tres hipótesis mencionadas. Además, es imposible saber qué canales de potasio están más implicados en la salida isquémica de este ion. Es por ello que el uso de simulación computacional es una herramienta útil en el esclarecimiento de las causas de la hiperkalemia.

2.4.2. Los efectos de la hiperkalemia

En las células cardíacas, el potencial de reposo es muy similar al potencial de equilibrio del potasio. Esto se debe a que, en esta situación, la permeabilidad de las células de este órgano, es mucho mayor para los iones de potasio, por lo que el potencial de reposo celular será cercano a -86 mV y se define mediante la ley de Nerst:

$$E_K = \frac{RT}{z_s F} \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i} \quad (13)$$

Cuando la célula está en reposo, las fuerzas de campo eléctrico y difusión hacen que salga un flujo de corriente de potasio a través de los canales que permanecen abiertos en esta situación. Para contrarrestar esta salida de potasio, la bomba Na^+/K^+ actúa introduciendo iones de potasio en contra de su gradiente electroquímico. Por este motivo, en condiciones de reposo, los niveles de K^+ se mantienen constantes, siempre y cuando el corazón esté en situación normal. En condiciones de

normoxia, la concentración extracelular de potasio es del orden de 5.4 mmol/L, mientras que la intracelular es de unos 145 mmol/L.

En isquemia aguda, al acumularse potasio en el medio extracelular, aumenta el potencial de equilibrio del potasio, por lo que el potencial de reposo de la célula también se verá incrementado, provocando la despolarización de la célula antes de lo normal. El aumento del valor del potencial de reposo provoca a su vez una inactivación (completa o parcial) de la corriente rápida de sodio (I_{Na}), la corriente transitoria saliente de potasio (I_{to}) y la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}). Al reducirse estas corrientes, se reduce también la capacidad de excitación de la célula, se ralentiza la conducción del potencial y aumenta el periodo refractario, que también se ve afectado por la disminución de la corriente de Na^+ (Carmeliet, 1999). Algunas de las corrientes salientes de potasio afectan de forma principal al potencial de acción, haciendo que su amplitud que se vea reducida (Rodríguez, 2001).

En los canales de potasio se observa un aumento de la conductancia, sobre todo en la corriente de potasio independiente del tiempo (I_{K1}) (Carmeliet, 1982), aunque no es la única, puesto que la corriente rectificadora retardada (I_{to}) (Scamps y Carmeliet, 1989) y la saliente transitoria (I_{to}) (Firek y Giles, 1995), así como ciertos canales de potasio activados por ligandos, ven su conductancia aumentada.

En los estudios más actuales, realizados por Kazbanov et al. (2014) se observa que el potencial de acción se ve reducido a medida que aumenta $[K^+]_o$. Esta reducción se explica a través del aumento de las corrientes I_{K1} e I_{Kr} y también a la disminución de la conductancia de sodio. Estos factores obligan a que se acelere la repolarización del potencial, disminuyendo su duración. Este efecto se puede ver en la Figura 2.9.

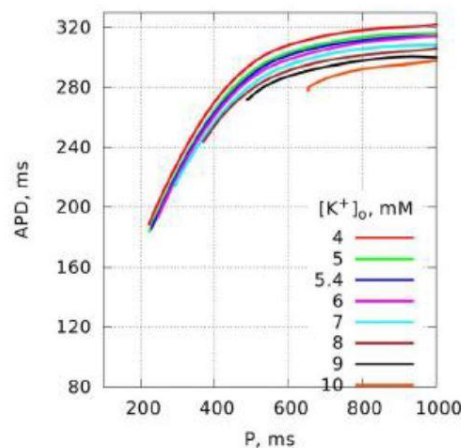


Figura 2.9: Efecto de la hiperkalemia en la duración del potencial de acción (Kazabanov et al., 2014)

En la Figura 2.10 se puede ver el efecto que tiene el aumento de la concentración de potasio extracelular en la velocidad de conducción, ya que hacen que ésta se reduzca. Esto se debe a la disminución de la corriente de sodio, que provoca que las células tengan una menor excitabilidad. Esto genera heterogeneidad en el tejido, provocando la aparición de una especie de bloqueadores unidireccionales que no permiten el paso del potencial, provocando así arritmias por reentrada.

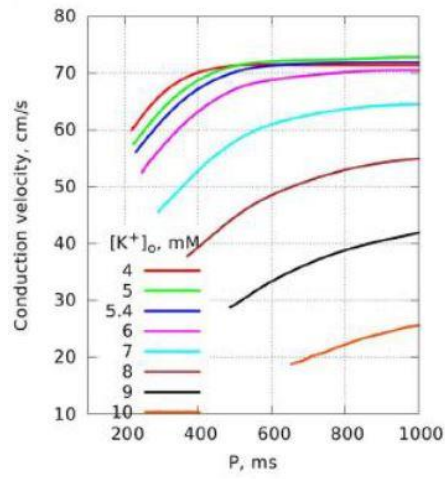


Figura 2.10: Efecto de la hiperkalemia en la velocidad de conducción (Kazabanov et al., 2014)

3. OBJETIVOS

A través de la simulación computacional, y mediante el uso de modelos matemáticos de potencial de acción en miocitos ventriculares de corazón humano, se puede arrojar luz sobre los mecanismos de acumulación extracelular de potasio en isquemia miocárdica aguda.

En isquemia miocárdica, la acumulación de potasio extracelular es un proceso del cual las causas siguen siendo en parte desconocidas. Es de gran interés conocer estas causas, puesto que el aumento de esta concentración fuera de la célula puede provocar la aparición de obstáculos para la propagación del potencial de acción y esto, a su vez, puede desencadenar arritmias potencialmente mortales. Por ello, en el presente trabajo final de grado se busca lograr los objetivos que se especifican a continuación:

- Adaptar el modelo de potencial de acción y corrientes iónicas de O'Hara et al. (2011) para que sea capaz de simular isquemia miocárdica aguda. Para ello, deberán incluirse nuevas ecuaciones que permitan simular el efecto de la apertura de los canales de potasio sensibles a ATP, el efecto del ATP y el ADP sobre la actividad de las bombas activas y el efecto del pH sobre las corrientes de entrada de sodio y calcio.
- Desarrollar un software capaz de simular el potencial de acción y las corrientes iónicas en un cardiomiocito ventricular aislado de corazón humano, tanto en situaciones normales como durante un proceso dinámico de isquemia miocárdica aguda, mediante el uso del modelo de potencial de acción de O'Hara modificado. De esta forma, se intentará arrojar luz en la comparación entre la evolución temporal de la concentración extracelular de potasio en un corazón isquémico y uno sano. Además, se diseñará una interfaz gráfica para que el usuario pueda realizar simulaciones seleccionando los parámetros isquémicos de los que quiera conocer los efectos, así como la corriente determinada de la cual quiera saber la cantidad de iones que se salen por los canales de potasio.
- Desarrollar una metodología, implementada en un software específico, para cuantificar el número de iones que salen de la célula por cada una de las familias de canales de potasio presentes en la membrana durante un proceso dinámico de isquemia aguda. Dicho software utilizará como entradas los resultados de las simulaciones llevadas a cabo por el software de simulación de potenciales de acción y corrientes iónicas.
- A partir de las simulaciones realizadas con el software desarrollado, determinar las causas del aumento de la concentración de potasio extracelular en corazón humano durante la isquemia miocárdica aguda. Para ello se dividirán los resultados en dos bloques, en los que se podrá ver los efectos separados de la activación y desactivación de diferentes alteraciones isquémicas y su peso relativo en la acumulación isquémica de potasio.
- Utilizando los resultados de las simulaciones, se observará cuáles son las corrientes de potasio más implicadas en la salida de potasio al medio extracelular durante la isquemia miocárdica, mediante la cuantificación de los iones que atraviesan los canales específicos de K^+ .

4. DESARROLLO DEL SOFTWARE

4.1. MODELO DE O'HARA

A través de la simulación computacional se pueden obtener resultados relevantes que son difíciles (o imposibles) de obtener de forma experimental o clínica por las diversas limitaciones inherentes a dichos métodos de investigación. Por ello, la simulación computacional ha sido en las últimas décadas una herramienta complementaria a la investigación experimental. En 2004 se publicó el primer modelo de potencial de acción de miocitos ventriculares humanos para simulación computacional. Sin embargo, para superar las limitaciones de este primer modelo, Thomas O'Hara publicó un artículo en 2011 en el que se muestra el desarrollo y resultados de una simulación realizada con un nuevo modelo desarrollado para corazón humano basado en nuevos datos experimentales que no estaban disponibles en 2004 (O'Hara et al., 2011). De esta forma, O'Hara pretendía reproducir de forma clara, y lo más cercana posible a la realidad, las propiedades eléctricas de una célula del corazón, intentando que las simulaciones fueran lo más eficientes posibles para trabajar a nivel computacional con resultados fiables para comprender mejor los mecanismos que producen arritmias cardíacas.

En la Figura 4.1 se puede ver un esquema gráfico del modelo matemático desarrollado por O'Hara et al. (2011).

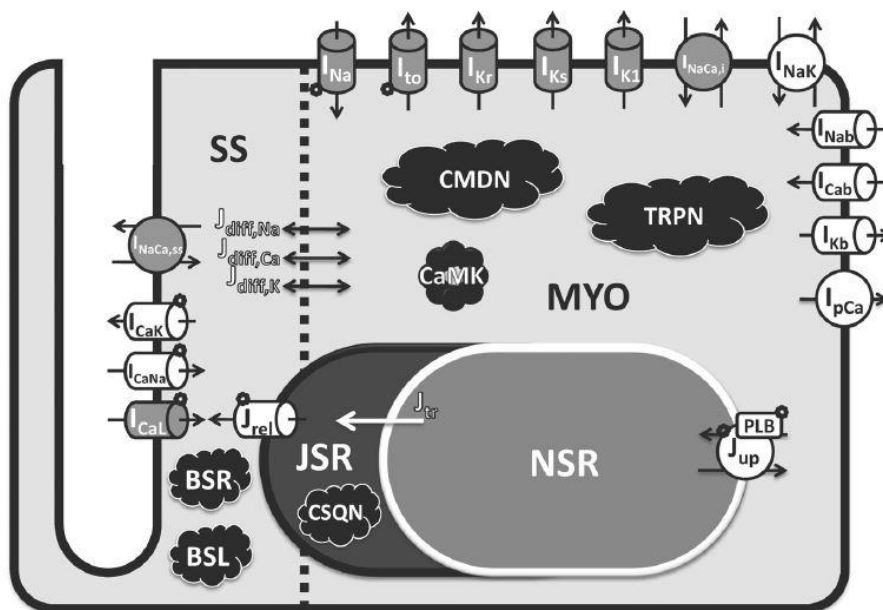


Figura 4.1: Diagrama esquemático del modelo de miocito ventricular humano (Fuente: O'Hara et al., 2011).

En el modelo se incluyen cuatro compartimentos: el mioplasma (myo), el retículo sarcoplásmico de unión (JSR), el retículo sarcoplásmico de red (NSR) y el subespacio (SS) presente entre los túbulos-T y la membrana del retículo sarcoplásmico. A su vez, de entre las diferentes corrientes, bombas e intercambiadores que el modelo desarrollado tiene en cuenta, se puede ver representadas las corrientes significativas de potasio (I_{Kr} , I_{Ks} , I_{to} , I_{Kb} , I_{K1}), las corrientes representativas del ion de sodio

(I_{Na} , I_{Nab}), las del ion calcio (I_{Cab} , I_{CaL} , I_{CaNa} , I_{CaK}), y las corrientes de las tres bombas nombradas anteriormente: bomba Na^+/K^+ , bomba SERCA (J_{up}) y la bomba de Ca^{2+} (I_{pCa}).

Todas las corrientes mencionadas están descritas matemáticamente descritas por sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias acopladas y no lineales como las mencionadas en el apartado 2.2.2.

Más adelante (apartado 4.2) se detallarán las ecuaciones del modelo y su implementación informática en el software de simulación desarrollado.

4.2. ESTRUCTURA DEL SOFTWARE DE SIMULACIÓN

Dentro de los objetivos de este trabajo final de grado se encuentra desarrollar un software de simulación de la actividad eléctrica de una célula cardiaca isquémica. Para ello, se ha partido del modelo propuesto por O'Hara et al. (2011) basado en miocitos ventriculares de corazón humano, sobre el que se han realizado ciertas modificaciones para incluir factores isquémicos importantes a tener en cuenta para obtener conclusiones sobre las causas del acúmulo de potasio extracelular durante esta patología. El software se ha desarrollado en entorno Matlab®. En la Figura 4.2 se puede ver el diagrama de flujo que representa el software desarrollado para el estudio de las causas eléctricas de la acumulación de potasio extracelular, más concretamente el diagrama correspondiente con el módulo *main* y *model*.

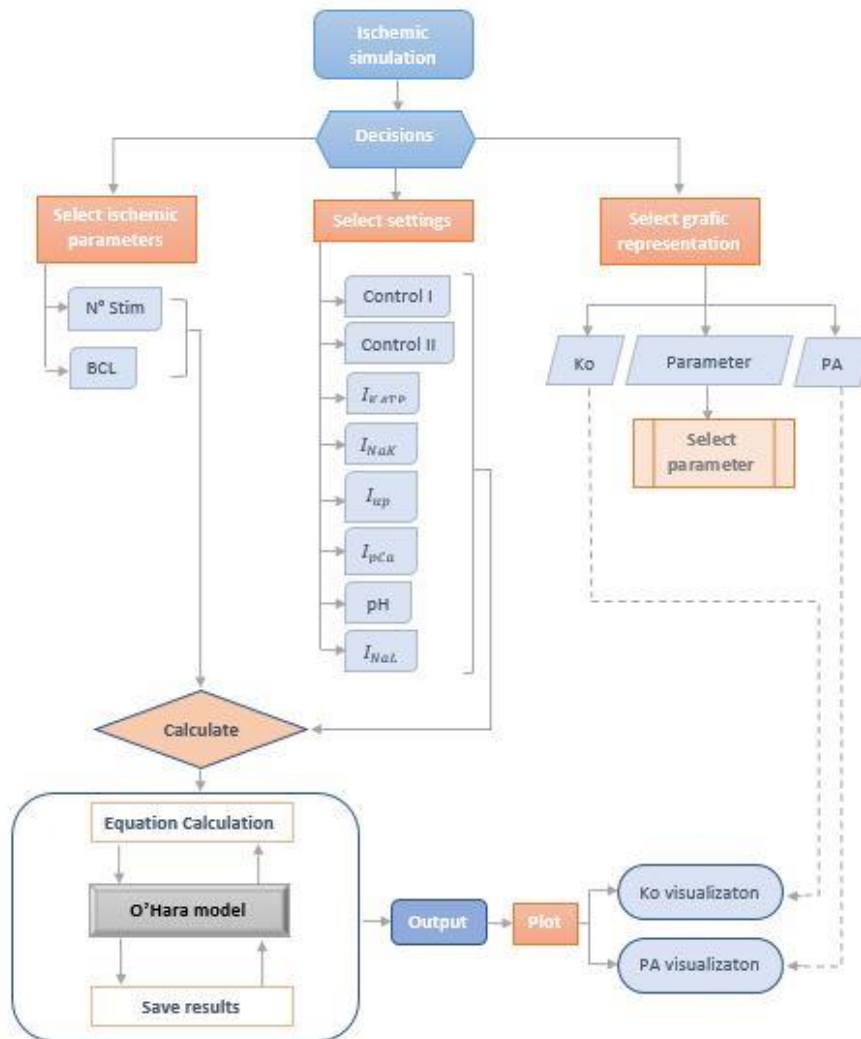


Figura 4.2: Diagrama de flujo de la interfaz gráfica diseñada para el software desarrollado, concretamente para el módulo *main* y *model*.

El código está compuesto por dos módulos: el módulo *main* y el módulo *model*. A parte de estos dos módulos, se ha desarrollado un tercero, el módulo *ion_quantification*, el cual se describirá por separado más adelante.

4.2.1. Módulo *main*

El módulo *main* se encarga del control del flujo de datos de entrada/salida del programa y controla también la resolución de las ecuaciones diferenciales que forman el sistema que se intenta resolver. Todas estas ecuaciones se encuentran en el módulo *model*, que se describirá más abajo. La salida del módulo *main* incluye dos estructuras de datos importantes: el vector tiempo T_i y una matriz denominada *StateVars*, que se compone de columnas que corresponden a las variables de estado del sistema de ecuaciones diferenciales y de filas correspondientes con los valores de estas variables en cada uno de los instantes de tiempo contenidos en el vector T_i . Inicialmente, el modelo de O'Hara

estaba compuesto por 41 variables de estado que formarían las columnas de la matriz StateVars. A este grupo de variables, entre las que se encuentran algunas de gran interés, como es el potencial de acción o la concentración intracelular de potasio, se le ha añadido la variable número 42, que se corresponde con la concentración de potasio extracelular, objetivo principal de este trabajo. Para ello, se ha incluido una nueva ecuación en el modelo que cuantifica la variación en la concentración de potasio en el tiempo (Rodríguez & Ferrero, 2002):

$$\frac{d[K^+]_o}{dt} = \frac{A_m}{V_{cleft} \cdot F} \cdot I_{K,total} \quad (14)$$

Donde A_m es el área del miocito V_{cleft} es el volumen del medio extracelular, F es la constante de Faraday e $I_{K,total}$ es la corriente transmembrana total de potasio.

La resolución de las ecuaciones con este módulo se realiza siguiendo el método de diferencias finitas. Como se ha dicho al principio, las ecuaciones y los valores de las constantes están definidos en el módulo *model*, por lo que *main* hace llamadas a este módulo. Los cálculos se realizan mediante la función de Matlab® *ode15s*.

Inicialmente, en el modelo *main* se definen los valores iniciales de las variables de estado. A continuación, se define un vector formado por estas variables para que vayan tomando los valores pertinentes según la simulación que se realice. Por otro lado, para poder realizar el cálculo es necesario definir ciertos parámetros de configuración los cuales se han ajustado para el tiempo de simulación que se deseaba realizar y de forma que permanezcan constantes durante todas las simulaciones, como el número de latidos y el periodo de estimulación (BCL, del inglés *basic cycle length*).

Tras finalizar la resolución del sistema de ecuaciones y, por tanto, una vez conocidos los valores de las variables de estado en los instantes de tiempo de simulación, el módulo *main* realiza un cálculo de todas las corrientes iónicas presentes en el modelo.

4.2.2. Módulo *model*

El modelo *model* contiene todas las constantes, variables y ecuaciones necesarias para realizar las simulaciones y simular el comportamiento eléctrico de un miocito ventricular humano aislado. Cada una de las corrientes que se han tenido en cuenta en este modelo y que atraviesan la membrana de la célula y del retículo sarcoplásmico definidos en el modelo de O'Hara están descritas mediante ecuaciones diferenciales y/o algebraicas.

En el apartado siguiente se va a detallar el modelo matemático de potencial de acción que propone O'Hara y en el cual se han basado las simulaciones realizadas. Tras esto, se explicarán las modificaciones que se han realizado para poder alcanzar los objetivos y resultados deseados en cuanto a los cambios metabólicos y electrofisiológicos que se dan duran la isquemia, los cuales no estaban presentes en el modelo original del cual se parte.

4.2.3. Modelo de O'Hara original

En este modelo se define la membrana celular como un condensador conectado en paralelo con resistencias variables y baterías, las cuales representan las corrientes que atraviesan la bicapa, las bombas, los co-transportadores y los intercambiadores. La ecuación que representa el comportamiento electrofisiológico de la célula se puede ver en la siguiente expresión:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \cdot I_x \quad (15)$$

Siendo C_m la capacidad de membrana de valor igual a $1.0 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ e I_x todas las corrientes que atraviesan la membrana tenidas en cuenta, incluyendo la corriente de estímulo necesaria para desencadenar un potencial de acción:

$$I_x = I_{Na} + I_{to} + I_{CaL} + I_{CaNa} + I_{CaK} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{Nab} + I_{Cab} + I_{Kb} + I_{pCa} + I_{stim} \quad (16)$$

donde I_{Na} es la corriente rápida de sodio, I_{to} la corriente de potasio saliente transitoria, I_{CaL} la corriente de calcio a través de los canales de tipo L (lento), I_{CaNa} la componente de sodio de la corriente anterior, I_{CaK} la componente de potasio de la misma, I_{Kr} la corriente de potasio rápida rectificadora retardada, I_{Ks} la corriente de potasio lenta rectificadora retardada, I_{K1} la corriente de potasio independiente del tiempo, I_{NaCa} la que circula a través del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, I_{NaK} la corriente que se mueve a través de la bomba Na^+/K^+ . I_{Nab} , I_{Cab} e I_{Kb} son corrientes llamadas de "background" que sirven para ajustar el modelo, I_{pCa} es la corriente de la bomba de calcio del sarcolema y, por último, I_{stim} es la corriente necesaria para generar un potencial de acción, llamada corriente de estímulo.

Cada una de las corrientes viene definida por su correspondiente expresión en este modelo, las cuales se definen a continuación.

Para la corriente rápida de sodio, el modelo usa la siguiente expresión:

$$I_{Na} = I_{Na,fast} + I_{Na,late} \quad (17)$$

En esta corriente se tiene en cuenta la corriente rápida y tardía de sodio. A su vez, en las ecuaciones que se desarrollan en el modelo para estos dos tipos de corrientes, se tiene en cuenta la conductancia de la familia de canales de este ion ($G_{Na,fast}$ y $G_{Na,late}$) y la fracción de compuertas tipo m, h y j, siendo

estas las compuertas de activación, inactivación rápida e inactivación lenta correspondientemente. También se incluye el potencial de membrana y el potencial de equilibrio de sodio.

La corriente de potasio saliente transitoria viene representada en la siguiente ecuación:

$$I_{to} = \overline{G_{to}} \cdot (V - E_K) \cdot f_s \cdot f_r \quad (18)$$

donde f_s y f_r son los factores en los que se representa el papel de las compuertas de activación e inactivación dependientes del voltaje correspondientemente, cuyas expresiones se desarrollan con más detalle a lo largo del código.

La corriente de calcio tipo L, la corriente que pasa a través del intercambiador Ca^{2+}, Na^+ y la del intercambiador Ca^{2+}/K^+ , vienen definida a través de un bloque de ecuaciones en las que se tiene en cuenta la conductancia de los canales, las compuertas de inactivación y activación dependientes del voltaje y dependientes del calcio intracelular y la fuerza electromotriz que los forman:

$$I_{CaL} = \overline{I_{CaL}} \cdot d \cdot (1 - \emptyset_{ICaL, CaMK}) \cdot (f \cdot (1 - n) + f_{Ca} \cdot n \cdot j_{Ca}) + \overline{I_{CaL, CaMK}} \cdot d \cdot \emptyset_{ICaL, CaMK} \cdot (f_{CaMK} \cdot (1 - n) + f_{Ca, CaMK} \cdot n \cdot j_{Ca}) \quad (19)$$

$$I_{CaNa} = \overline{I_{CaL}} \cdot d \cdot (1 - \emptyset_{ICaL, CaMK}) \cdot (f \cdot (1 - n) + f_{Ca} \cdot n \cdot j_{Ca}) + \overline{I_{CaNa, CaMK}} \cdot d \cdot \emptyset_{ICaL, CaMK} \cdot (f_{CaMK} \cdot (1 - n) + f_{Ca, CaMK} \cdot n \cdot j_{Ca}) \quad (20)$$

$$I_{CaK} = \overline{I_{CaK}} \cdot d \cdot (1 - \emptyset_{ICaL, CaMK}) \cdot (f \cdot (1 - n) + f_{Ca} \cdot n \cdot j_{Ca}) + \overline{I_{CaK, CaMK}} \cdot d \cdot \emptyset_{ICaL, CaMK} \cdot (f_{CaMK} \cdot (1 - n) + f_{Ca, CaMK} \cdot n \cdot j_{Ca}) \quad (21)$$

La corriente de potasio rápida rectificadora retardada I_{Kr} se describe en el modelo mediante la siguiente expresión:

$$I_{Kr} = G_{Kr} \cdot \sqrt{\frac{K_o}{5.4}} \cdot xr \cdot R_{Kr} (V - E_K) \quad (22)$$

Donde se tienen en cuenta la compuerta de activación y la de inactivación (xr), la dependencia de la corriente de potasio extracelular (K_o) y la conductancia de estos canales (G_{Kr}).

La corriente rectificadora lenta retardada de potasio, I_{KS} , viene descrita en la siguiente fórmula:

$$I_{KS} = \overline{G_{KS}} \cdot \left(1 + \frac{0.6}{1 + \left(\frac{3.8 \cdot 10^{-5}}{[Ca^{2+}]_i} \right)^{1.4}} \right) \cdot x_{s1} \cdot x_{s2} \cdot (V - E_{KS}) \quad (23)$$

donde $x_{s1} \cdot x_{s2}$ son las compuertas de activación y E_{KS} es un potencial que viene dado por una alta permeabilidad al potasio y una baja permeabilidad a los iones de sodio.

Seguidamente, en el modelo se describe la corriente rectificadora I_{K1} a través de la siguiente expresión:

$$I_{K1} = \overline{G_{K1}} \cdot \sqrt{[K^+]_o} \cdot x_{k1} \cdot R_{K1} \cdot (V - E_K) \quad (24)$$

Donde se tiene en cuenta la conductancia de los canales y la dependencia de estos a la corriente de potasio extracelular.

En cuanto a la corriente que se mueve gracias al intercambiador Na^+/Ca^{2+} , se puede ver que la expresión que la define tiene en cuenta tanto la corriente que se mueve dentro de la célula, como el subespacio cercano a los túbulos t, así como su conductancia:

$$I_{NaCa} = I_{NaCa,i} + I_{NaCa,ss} \quad (25)$$

La ecuación que se incluye en el modelo original para la bomba de sodio potasio Na^+/K^+ , viene representada en la siguiente ecuación:

$$I_{NaK} = P_{NaK} \cdot (z_{Na} \cdot J_{NaK,Na} + z_K \cdot J_{NaK,K}) \quad (26)$$

Donde P_{NaK} es una constante de valor 30 y z_{Na} y z_K de valor igual a 1. En este caso se tienen en cuenta numerosos parámetros que afectan a la bomba mediante ecuaciones desarrolladas en el modelo y que aquí se representan mediante los factores J.

Las fórmulas para las corrientes denominadas de "background" se han tomado del modelo de H. D. Rudy publicado por H. D. Rudy et al. (2009). Como bien se ha comentado anteriormente, estas corrientes son I_{Nab} , I_{Cab} e I_{Kb} , las cuales se definen según las siguientes ecuaciones:

$$I_{Nab} = P_{Nab} \cdot z_{Na}^2 \cdot \frac{VF^2}{RT} \cdot \frac{[Na^+]_i \cdot \exp\left(\frac{z_{Na}VF}{RT}\right) - [Na^+]_o}{\exp\left(\frac{z_{Na}VF}{RT}\right) - 1.0} \quad (27)$$

$$I_{Cab} = P_{Cab} \cdot z_{Ca}^2 \cdot \frac{VF^2}{RT} \cdot \frac{[Ca^{2+}]_i \cdot \exp\left(\frac{z_{Ca}VF}{RT}\right) - \gamma_{Ca} [Ca^{2+}]_o}{\exp\left(\frac{z_{Ca}VF}{RT}\right) - 1.0} \quad (28)$$

$$I_{Kb} = \overline{G_{Kb}} \cdot x_{Kb} \cdot (V - E_K) \quad (29)$$

La corriente de calcio que fluye durante el periodo de la meseta (I_{pCa}) viene expresada mediante la ecuación siguiente:

$$I_{pCa} = \overline{G_{pCa}} \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_{pCa} + [Ca^{2+}]_i} \quad (30)$$

donde se tiene en cuenta la conductancia y la constante K_{pCa} tiene un valor de 0.0005.

Por último, la corriente de estímulo (I_{stim}) tiene una amplitud de -80 mV y una duración de 0.5 ms. Esta corriente está descrita en el modelo de tal forma que, si el estímulo no llega a la duración determinada, el valor de esta corriente sería 0.

4.2.4. Modificaciones del modelo de O'Hara para simular isquemia

Para tener en cuenta las condiciones isquémicas en cada simulación y la evolución de las corrientes de interés en esta misma situación, se han añadido al modelo cuatro parámetros que afectan a seis factores que dependen del tiempo y que se pueden activar o desactivar según se quiera que las corrientes o factores de interés evolucionen o no de forma isquémica en las simulaciones.

Estos parámetros son los siguientes: la concentración de ATP, la concentración de ADP, el pH, y el factor multiplicativo de la corriente tardía de sodio I_{NaL} .

La concentración de ADP y ATP afecta a la corriente de potasio dependiente del ATP, a la bomba Na^+/K^+ , a la bomba SERCA y a la bomba de calcio del sarcolema. El pH afecta a dos factores, al factor de la corriente de sodio ($f_{pH,INa}$) y al factor de la corriente de calcio ($f_{pH,ICa}$). Por último, el factor libre multiplicativo de la corriente de sodio tardía, afecta a dicha corriente (f_{INaL}).

Efecto del ATP y el ADP sobre las bombas iónicas

Uno de los cambios isquémicos más relevantes es el descenso de la concentración intracelular de ATP y un aumento en la de ADP. Ello afecta directamente a las bombas que utilizan ATP para funcionar. Para investigar de qué forma afecta la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ en la acumulación de potasio extracelular, se ha añadido al modelo un factor dependiente de ATP y ADP (f_{NaK}) para la corriente que se mueve a través de esta bomba. De esta forma, la ecuación que describe la corriente de la bomba Na^+/K^+ queda expresada en la siguiente ecuación:

$$I_{NaK} = f_{NaK} \cdot P_{NaK} \cdot (z_{Na} \cdot J_{NaK,Na} + z_K \cdot J_{NaK,K}) \quad (31)$$

$$f_{ATP,NaK} = 1.1776 \cdot \left(1 + \left(\frac{K_{ATP,NaK}}{f_{ADP,NaK}} \right) \cdot \left(1 + \frac{f_{ADP,NaK}}{K_{ATP,NaK}} \right) \right)^{-1} \quad (32)$$

El factor dependiente el ADP y ATP para la bomba SERCA se muestra en la siguiente ecuación:

$$f_{ATP,up} = 4.1 \cdot \left(\left(\frac{K_{ATP,up}}{[ATP_{up}]_i} \right) \cdot \left(\frac{1 + [ATP_{up}]_i}{K_{1ATP,up}} \right) + \left(\frac{1 + [ATP_{up}]_i}{K_{2ATP,up}} \right) \right)^{-1} \quad (33)$$

El factor dependiente de ATP y ADP que afecta a la bomba de calcio del sarcolema se puede ver en la siguiente ecuación:

$$f_{ATP,pCa} = 0.5155 \cdot \left(1 + \left(\frac{K_{1ATP,pCa}}{[ATP_{pCa}]_i} \right) \cdot \left(\frac{1 + [ATP_{pCa}]_i}{K_{1ATP,pCa}} \right)^{-1} + \left(\frac{1 + K_{1ATP,pCa}}{[ATP_{pCa}]_i} \right)^{-1} \right) \quad (34)$$

Efecto de la acidosis sobre las corrientes iónicas

Otro de los cambios más importantes que se producen en isquemia es el descenso paulatino del pH intracelular, por lo que resulta muy importante tenerla en cuenta en el modelo. Por ello, se ha creado un factor de pH para la corriente de sodio ($f_{pH,Na}$) y para la corriente de calcio tipo L ($f_{pH,CaL}$), que son las corrientes iónicas más afectadas por la acidosis. Esos factores vienen definidos por las siguientes ecuaciones:

$$f_{pH,Na} = \frac{1}{0.9} \cdot \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{pHo}{pHH}\right)^{pHH}\right)} \quad (35)$$

$$f_{pH,CaL} = \frac{1}{0.9} \cdot \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{pHo}{pHH}\right)^{pHH}\right)} \quad (36)$$

Siendo pHo el valor inicial de pH, 6.2 y pHH es 14.7.

Efecto de la activación de la corriente de potasio sensible a ATP

Uno de los objetivos principales de este presente trabajo final de grado es conocer las causas de la acumulación de potasio extracelular y ver cómo afectan diferentes parámetros. En el modelo original no se tenía en cuenta una de las corrientes de interés en este caso, que es la corriente de potasio dependiente del ATP. Esta corriente es prácticamente nula en una célula normóxica, pero crece paulatinamente durante la isquemia miocárdica (Ferrero et al., 1996). Es por ello que se han tomado las ecuaciones que describen esta corriente (I_{KATP}) del modelo de Ferrero et al (1996).

La ecuación que describe la corriente de potasio dependiente del ATP se puede ver descrita según la siguiente expresión:

$$I_{KATP} = G_{KATP} \cdot \left(\frac{[K^+]_o}{5.4}\right)^{0.24} \cdot f_{Mg} \cdot f_{Na} \cdot f_{ATP} \cdot (V - E_K) \quad (38)$$

Los detalles de los diversos factores presentes en esta ecuación se encuentran en el artículo seminal de Ferrero et al (1996). A efectos del presente trabajo, el factor más relevante es el que muestra la dependencia de la corriente de estos canales con el ATP y que viene dado por la siguiente ecuación:

$$f_{ATP} = \left(\frac{1}{\left(1 + \left(\frac{1000 \cdot f_{ATP,NaK}}{Km}\right)^{H_{ATP}}\right)} \right) \quad (39)$$

$$H_{ATP} = 1.3 \cdot 0.74 \cdot \beta_{ATP} \cdot e^{(-0.09 \cdot f_{ADP,NaK})} \quad (40)$$

$$Km = \alpha_{ATP} \cdot (35.8 + 17.9 \cdot (f_{ADP,NaK}^{0.256})) \quad (41)$$

Además, para adaptar la corriente de potasio dependiente de ATP a célula humana (el modelo original era para cobaya), se ha incluido dos constantes (α y β) necesarias para ajustar el modelo (Heidenreich et al, 2011).

Efecto de la potenciación de la corriente tardía de sodio

En isquemia aguda, es sabido que la corriente tardía de sodio aumenta significativamente su valor durante la isquemia miocárdica aguda, llegándose a multiplicar por 8 su valor en 10 minutos de isquemia (Jihua Ma et al., 2014). Para simular este efecto de aumento de I_{NaL} , también se introdujo un factor (f_{INaL}) similar a los anteriormente descritos del siguiente modo:

$$I_{NaL} = f_{INaL} \cdot G_{NaL} \cdot (V - E_{NaL}) \cdot mL \cdot ((1 - f_{INaLp}) \cdot hL + f_{INaLp} \cdot hLp) \quad (42)$$

El factor libre multiplicativo de la corriente de sodio tardía es el siguiente:

$$f_{INaL} = \left(\frac{1}{1 + \frac{KmCaMK}{CaMKa}} \right) \quad (37)$$

4.2.5. Protocolo de simulación

Como ya se ha explicado, la isquemia aguda es un proceso dinámico durante el cual ciertos parámetros varían con el tiempo. Estos parámetros, descritos en el apartado anterior, son las concentraciones intracelulares de ATP y ADP y el pH. Además, la corriente tardía de sodio también varía (aumenta) progresivamente. A su vez, dichas variaciones afectan a las bombas y a los canales de potasio sensibles a ATP mediante los factores explicados en el apartado anterior.

Para simular los cambios progresivos en las bombas y las dos corrientes afectadas, el software simula, en primer lugar, 8 minutos de normoxia durante los cuales los parámetros isquémicos no varían, manteniéndose en sus valores normales. La razón de ser de este periodo normóxico es permitir a las variables del modelo alcanzar valores estables. En el inicio del octavo minuto de simulación (es decir, en $t = 480,000$ milisegundos), se simula el inicio abrupto de la isquemia (lo que correspondería, por ejemplo, a una oclusión coronaria que se produciría en ese instante). A partir de ese momento, las concentraciones de ATP y ADP, el pH y el factor multiplicativo de la corriente tardía de sodio comienzan a variar de manera lineal (Weiss & Shine, 1982a). La evolución temporal de estos parámetros, tomada de Weiss & Shine (1982a), se muestra en la Figura 4.3.

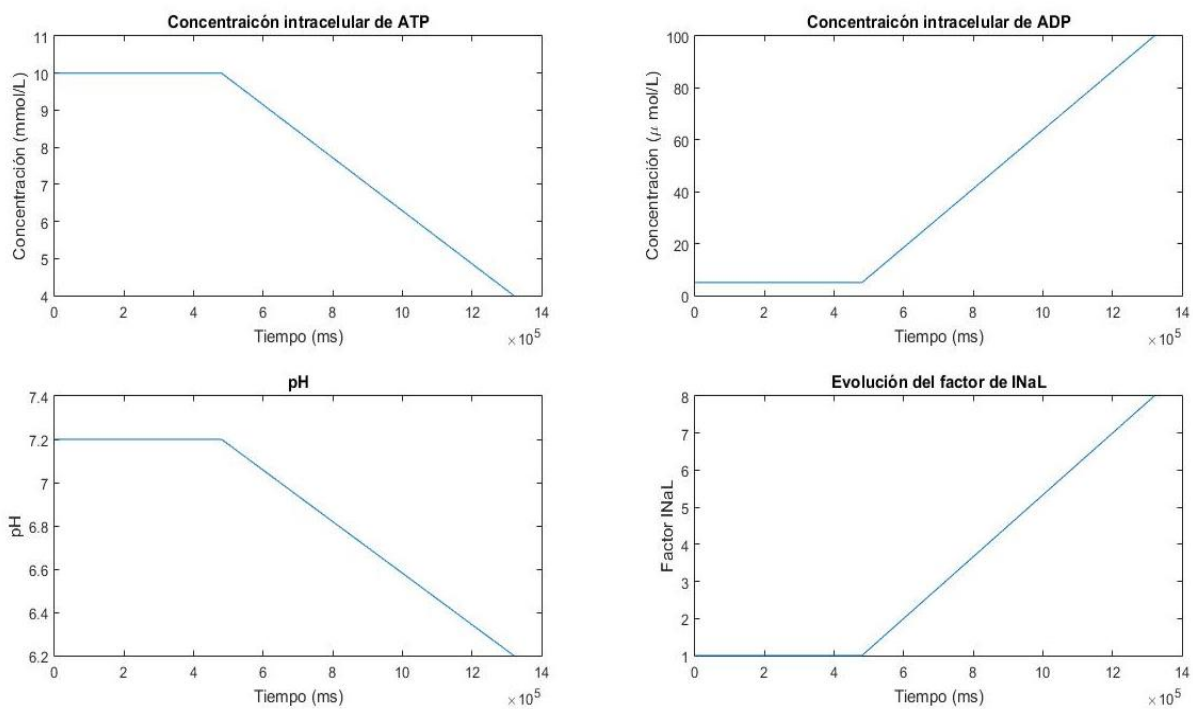


Figura 4.3: Evolución de los parámetros isquémicos. De izquierda a derecha: concentración intracelular de ATP, concentración intracelular de ADP, pH y factor de la corriente lenta de sodio.

Con el fin de estudiar el efecto por separado de los diferentes cambios isquémicos en la acumulación extracelular de potasio (uno de los objetivos del presente Trabajo Fin de Grado), el software permite “activar” o “desactivar” estas variaciones. Por ejemplo, para estudiar el efecto de la acidosis sobre la acumulación de potasio, puede simularse una situación en la cual el pH varíe a partir del octavo minuto de simulación mientras los otros parámetros (concentraciones de ATP y ADP y factor multiplicativo de la corriente tardía de sodio) se mantienen constantes. El software permite variar a voluntad qué factores se mantienen constantes (se “desactivan”) y qué factores evolucionan de manera isquémica (se “activan”). De este modo, pueden obtenerse resultados cuantitativos en los que se compare el peso de cada factor isquémico en la acumulación de potasio, revelándose así sus diferentes causas.

4.2.6. Módulo *ion_quantification*

Dentro del software creado en entorno Matlab® se ha añadido una nueva sección correspondiente a un módulo nuevo desarrollado para poder medir la variación de concentración extracelular de potasio causada por una familia de canales de potasio en concreto. En la Figura 4.4 se puede ver el diagrama de flujo que representa el software desarrollado para el módulo *ion_quantification*.

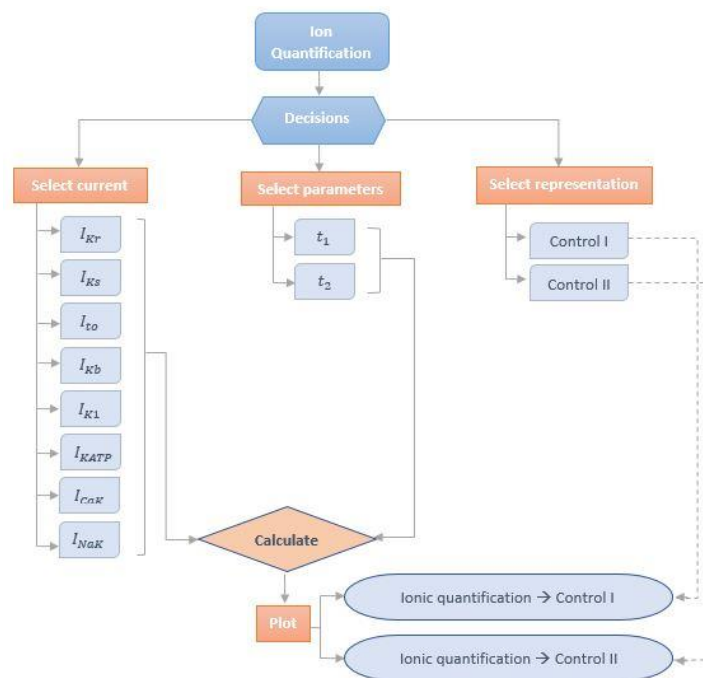


Figura 4.4: Diagrama de flujo de la interfaz gráfica diseñada para el software desarrollado, concretamente para el módulo *ion quantification*.

Para cada simulación, la variable de estado 42 revela la evolución temporal de la concentración extracelular de potasio que resulta de las condiciones de simulación (“activaciones” y “desactivaciones” de parámetros isquémicos) utilizadas. Con los resultados ya obtenidos (es decir, en modo post-proceso), resulta interesante cuantificar el número de iones que han salido por cada familia específica de canales de potasio para ver qué canales son “actores principales” en la salida isquémica de potasio. Para este fin, se ha desarrollado también un módulo de post-proceso llamado `ion_quantification`.

Este módulo se basa en la integración de las corrientes de potasio que circulan por los canales específicos de este ion. Para el desarrollo del código, en primer lugar, se tiene que plantear cómo se cuantifican estas corrientes. Esto se hace a través del incremento de concentración de potasio extracelular por cada latido, que sigue la siguiente expresión:

$$\Delta[K^+]_{o,lat} = [K^+]_o(t_2) - [K^+]_o(t_1) = \frac{Acap}{F} - V_o \cdot \int_{t_1}^{t_2} IK_x(t) \cdot dt \quad (43)$$

Siendo *Acap* la capacidad de membrana, *F* la constante de Faraday, *Vo* el potencial de membrana e *IK_x* la corriente específica de potasio que se quiere cuantificar.

El código desarrollado en Matlab® se compone de una función que necesita cuatro entradas: el vector de tiempo *Ti* (dado por módulo *model*), la corriente específica de potasio de la cual se quiere conocer la cantidad de iones que atraviesan un determinado canal (*IK_x*), y dos instantes de tiempo como límites de integración (*t₁* y *t₂*). Estos tres últimos parámetros se dejan a elección del usuario, pues se puede elegir de entre ocho corrientes diferentes por las que puede salir o entrar potasio (*IK_r*, *IK_s*, *I_{to}*, *IK_b*, *IK₁*, *IK_{ATP}*, *ICaK*, *INaK*) y dos instantes de tiempo dentro del vector de tiempo dado *Ti*.

Una vez definidas las constantes que se necesitan para realizar los cálculos, se usa un bucle “while” para que, al escoger los límites de integración en la función, estos queden bien definidos.

En este módulo se implementa la integración mediante el método de los trapecios. Se trata de un medio de cálculo aproximado de una integral definida. Para poder realizar este cálculo, es necesario aproximar el valor de dicha integral a través de una función lineal que pasa por dos puntos correspondientes a los límites de la integral. La integración se corresponderá con el área del trapecio que se sitúa bajo la gráfica definida por la función lineal de la aproximación. Para realizar este cálculo, se usa una función de la herramienta Matlab® llamada “trapz” a la cual se le tiene que facilitar un vector que contenga los valores de tiempo entre los límites de integración (en este caso definido como *T*) y un vector que contenga la dimensión a integrar, en este caso la variación de potasio para un canal determinado entre los límites de tiempo definidos (definida como *IK*).

```

% TRAPEZOIZAL NUMERICAL INTEGRATION TRAPZ%
function [DCIKX]=calcula_integrales(Ti,IKX,t1,t2)

%definimos las variables
L=0.01;
rad=0.0011;
Ageo=2*3.14*rad*rad+2*3.14*rad*L;
Acap=2*Ageo;
vcell=1000*3.14*rad*rad*L;
vo=0.12*vcell;
F=96485.0;

%creamos C como los términos constantes que salen fuera de la integral
C=Acap/(F*vo);

% Para establecer los límites de integración -> i1
i=1;
i1=1;
while i1==1;
    if Ti(i)<= t1 && Ti(i+1)> t1;
        i1=i;
    else
        i=i+1;
    end
end

% Para establecer los límites de integración -> i2
i=1;
i2=1;
while i2==1;
    if Ti(i)<= t2 && Ti(i+1)> t2;
        i2=i;
    else
        i=i+1;
    end
end

%definimos la función de integración
%incremento [K]o.lat=[K]o(t2)-[K]o(t1)= Acap/F-Vo*integral
%entre t1 y t2)IKx(t)dt
T=Ti(i1:i2);
IK=IKX(i1:i2);
DCIKX=C*(trapz(T,IK));

```

4.3. INTERFAZ DE USUARIO

De acuerdo con los diagramas de flujo mostrados en las Figuras 4.4 y 4.2, y con el objetivo de completar el software facilitando su uso, se desarrolló la interfaz gráfica mediante la programación visual GUIDE que facilita Matlab®. Esta interfaz se puede ver en la Figura 4.5 donde vienen representadas las dos secciones principales que abarcan, por un lado, el módulo *main* y *model*, y por el otro, el módulo *ion_quantification*.

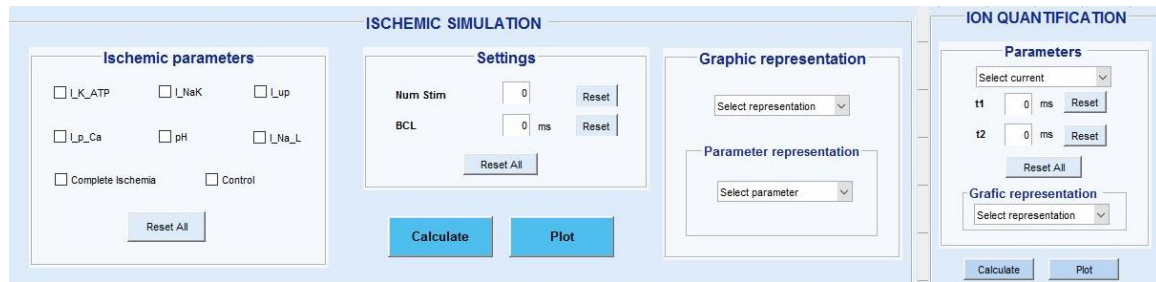


Figura 4.5: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario completa diseñada mediante el programa visual GUIDE con la herramienta de programación Matlab®.

En la Figura 4.6 se pueden ver los bloques que contiene la sección *Ischemic simulation*, que se usa para realizar simulaciones isquémicas basadas en las ecuaciones descritas en el módulo *main* y los parámetros definidos en el módulo *model*.

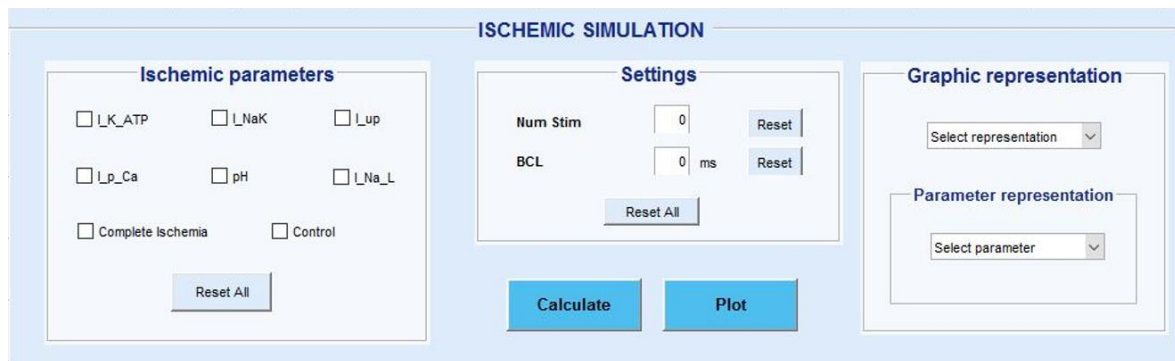


Figura 4.6: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario para el bloque *Ischemic simulation* correspondiente con el módulo *main* y *model*.

En la sección *Ischemic parameters* se han incluido todos los parámetros isquémicos de interés sobre los cuales se querían obtener resultados de cómo afectaban al aumento de la concentración de potasio extracelular. Estos parámetros pueden activarse o desactivarse para poder ver el efecto que produce cada uno de ellos, de forma aislada o conjunta, sobre la concentración del ion K^+ . Los parámetros que se incluyen son: I_{KATP} (corriente de potasio dependiente del ATP), I_{NaK} (corriente de la bomba Na^+/K^+), I_{up} (Corriente de la bomba SERCA), I_{pCa} (corriente de la bomba de calcio del sarcolema),

I_{NaL} (corriente de sodio lenta), pH (acidosis). También se incluye “Complete Ischemia” y “Control” que se corresponden con la simulación en condiciones de isquemia (con todos los parámetros activados) y con simulación de un corazón sano (con todos los parámetros desactivados) respectivamente. El botón “Reset All” devuelve todos los parámetros a su valor inicial, que por defecto es desactivado.

En el bloque *Settings* se incluyen dos parámetros modificables. El primero, “Num Stim”, se corresponde con el número de estímulos con los que se excita a la célula en la simulación. El segundo, “BCL”, hace referencia a la duración del periodo de estimulación en milisegundos. Durante la obtención de los resultados para este Trabajo Fin de Grado, ambos parámetros se han mantenido constantes. Estos dos parámetros poseen un botón de “Reset” que los devuelven al valor por defecto, el cual es cero, pudiendo devolver de forma rápida ambos valores a cero con el botón “Reset All” también disponible.

El bloque *Graphic representation* permite realizar una representación gráfica de la evolución temporal del potencial de acción (PA) y de la concentración extracelular de potasio ($[K^+]_o$). Para ello se ha incluido un menú desplegable con el nombre “Select representation”, donde, al pulsar, se dan las dos opciones a escoger. En este bloque también es posible seleccionar que parámetros se quieren ver representados para que sea más fácil ver la influencia individual de cada uno de ellos sobre el potencial de acción y sobre $[K^+]_o$. Para ello también se ha incluido un menú desplegable con el nombre “Select parameter” en el que se puede elegir el parámetro que se desea visualizar.

El botón “Calculate” permite calcular las ecuaciones del modelo. Una vez realizados los cálculos, el botón “Plot” permite la representación gráfica según la selección que se haya realizado en el módulo “Graphic representation”.

En la Figura 4.7 se puede ver la sección *Ion_quantification*, desarrollado para la representación gráfica de las corrientes de potasio que afectan al aumento de la concentración de potasio extracelular. Las corrientes escogidas para ver su influencia son ocho: I_{Kr} , que es una corriente de potasio rápida rectificadora retardada, I_{Ks} , que es la corriente de potasio lenta rectificadora retardada, I_{to} , como corriente transitoria saliente, I_{Kb} , que es la corriente que se ha definido con anterioridad como corriente de “background”, I_{K1} como la corriente independiente del tiempo, I_{KATP} , como corriente de potasio dependiente del ATP, I_{CaK} , la componente de potasio de la corriente a través de los canales de calcio de tpo Ly, por último, I_{NaK} , que es la corriente que se mueve a través de la bomba Na^+/K^+ .

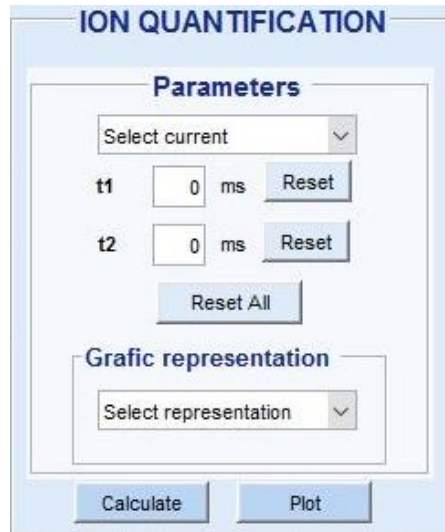


Figura 4.7: Captura de pantalla de la interfaz gráfica de usuario para el bloque `ion_quantification` correspondiente con el código `ion_quantification` desarrollado.

Dentro de este bloque se pueden realizar varias selecciones. En primer lugar, se puede elegir de qué corriente, de las nombradas anteriormente, se quiere conocer su cuantificación iónica; es decir, la variación de concentración extracelular de potasio a partir de una familia de canales de potasio en concreto. Para ello se ha incluido un menú desplegable en el que sí incluyen estas ocho corrientes. También es posible seleccionar los instantes de tiempo entre los cuales se quiere conocer esta variación, pudiendo así ver diferencias claras entre distintos momentos del desarrollo de la isquemia o comparaciones con una situación de normoxia. Estos tiempos vienen representados por t_1 y por t_2 en milisegundos. El botón “Reset” del que dispone cada uno, devuelve los tiempos a su valor por defecto (0). El botón “Reset All” devuelve ambos valores a su valor por defecto. Por último, se incluye un módulo de representación gráfica, “Graphic representation”, con un menú desplegable en el que se incluyen las ocho corrientes, de forma que se puede una representación gráfica en barras de la cantidad de iones que pasa por la el canal de la corriente que se seleccione.

Finalmente se incluyen dos botones: el botón “Calculate”, que devuelve el valor de la cantidad de iones en mmol/L/s, y el botón “Plot”, que permite la representación iónica en forma de diagrama de barras.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. CONSIDERACIONES INICIALES

Antes de realizar las simulaciones necesarias para obtener los resultados deseados, es importante asegurarse de que se trabaja con un modelo estable. En este tipo de modelos es necesario que las condiciones que caracterizan a un corazón sano estén bien representadas puesto que, para poder realizar comparaciones entre distintos resultados, es necesario tener una simulación de control que represente la situación de un corazón no isquémico; es decir, sano. Para ello el modelo debe representar unas concentraciones iónicas prácticamente constantes para el medio extracelular e intracelular, las cuales, en condiciones de normoxia, tienen que ser iguales. Si el corazón es sometido a una situación de estrés o de esfuerzo físico, estas concentraciones pueden variar, pero siempre se regulan hasta llegar de nuevo al equilibrio. Es muy importante pues, que el modelo mantenga estas concentraciones iónicas constantes dentro de los valores normales antes de realizar la simulación isquémica.

Las Figuras 5.1 y 5.2 muestran, respectivamente, la evolución temporal del potencial de membrana (Figura 5.1) y de la concentración extracelular de potasio (Figura 5.2) durante dos minutos y medio de estimulación a una frecuencia de 1 Hz (equivalente a BCL = 1000 ms, o 60 latidos por minuto). Como era deseable, tanto el límite superior del potencial de acción como el potencial de reposo se mantienen estables, así como también es estable (tras una subida exponencial) la concentración extracelular de potasio, objeto principal de estudio en este Trabajo Final de Grado. El hecho de que en la Figura 5.2 la curva $[K]_o(t)$ aparente tener cierto grosor se debe al hecho de que, durante cada ciclo cardíaco (de duración 1000 milisegundos) y una vez alcanzado el régimen permanente, dicha concentración fluctúa entre un valor diastólico (de aproximadamente 5.77 mmol/L) y un valor sistólico (de aproximadamente 5.84 mmol/L).

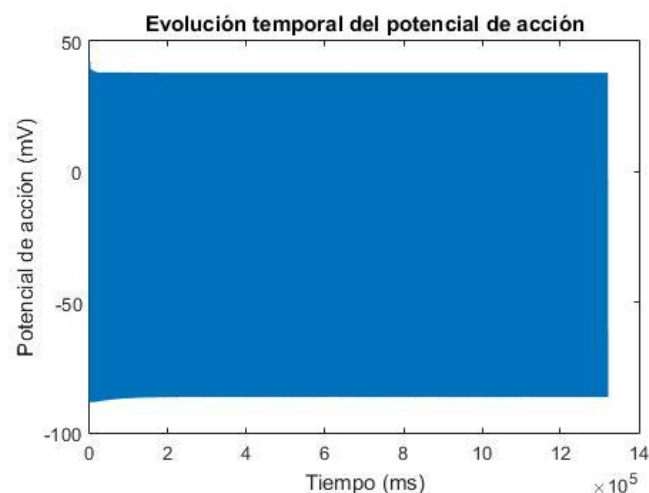


Figura 5.1: Evolución temporal del potencial de acción tras la modificación del código al añadir ecuaciones que regulan los cambios dinámicos del potasio extracelular. El número de estímulos es de 1320 mientras que el BCL es de 1000.

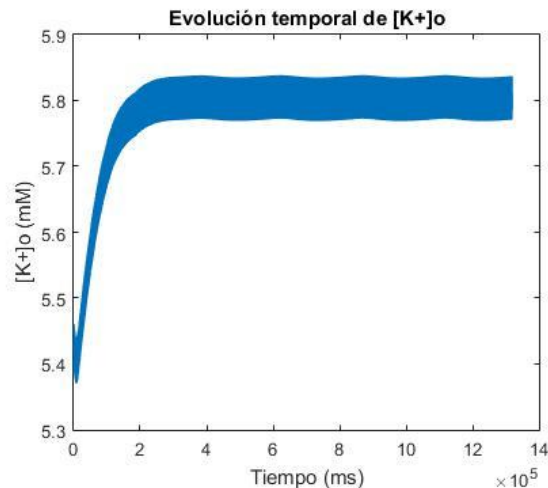


Figura 5.2: Evolución temporal del potasio extracelular tras la modificación del código al añadir ecuaciones que regulan los cambios dinámicos del potasio extracelular. El número de estímulos es de 1320 mientras que el BCL es de 1000.

Una vez comprobada la estabilidad del modelo, se procedió a utilizar el software para llevar a cabo distintas simulaciones de isquemia con activación y/o desactivación de diferentes parámetros isquémicos con el fin de valorar su contribución a la subida de potasio extracelular. El número de latidos en cada una de las simulaciones es de 1320, siendo el periodo de estimulación (BCL) de 1000 milisegundos. Ello supone que la duración de cada simulación es de 1320 segundos, equivalente a 22 minutos de isquemia. Como ya se ha explicado (ver Figura 2.8) los 8 primeros minutos de la simulación corresponden a condiciones de normoxia, mientras que los 14 siguientes corresponden a isquemia progresiva, periodo durante el cual los parámetros isquémicos que no han sido desactivados evolucionan según dicha figura.

5.2. ACTIVACIÓN DE PARÁMETROS ISQUÉMICOS

Para poder obtener resultados que indiquen cuáles son los parámetros isquémicos que provocan un aumento en la concentración de potasio extracelular, se han tenido en cuenta seis factores a partir de los cuales se han realizado catorce simulaciones.

Los parámetros (que varían durante la isquemia) escogidos son la corriente de potasio dependiente del ATP (I_{KATP}), la corriente de la bomba Na^+/K^+ (I_{NaK}), la corriente de la bomba SERCA (I_{up}), la corriente de la bomba de calcio del sarcolema (I_{pCa}), la acidosis (pH) y la corriente de sodio L (I_{NaL}).

En este apartado se han comparado los resultados obtenidos en la simulación de isquemia completa, correspondiente a una simulación realizada con todos los parámetros activados (situación real de isquemia), otra simulación de control con los parámetros desactivados (situación de un corazón sano o normóxico), y seis simulaciones más que se corresponden, cada una de ellas, con la activación de uno solo de los parámetros, dejando los demás desactivados. Los criterios de cada simulación se muestran a modo resumen en la Tabla 2:

Tabla 2: Tabla esquemática de las simulaciones realizadas. La parte superior de la tabla representa un número correspondiente con la simulación. En la parte izquierda aparecen los parámetros isquémicos usados. La palabra 'No' significa que el factor isquémico no está actuando, se ha dejado con su valor inicial constante. La palabra 'Sí' significa que se ha dejado que el factor se ha dejado que evolucione de forma isquémica. Las simulaciones 1 y 8 se corresponden con la simulación de control y de corazón isquémico respectivamente.

	1	2	3	4	5	6	7	8
I_{KATP}	No	Sí	No	No	No	No	No	Sí
I_{NaK}	No	No	Sí	No	No	No	No	Sí
I_{up}	No	No	No	Sí	No	No	No	Sí
I_{pCa}	No	No	No	No	Sí	No	No	Sí
PH	No	No	No	No	No	Sí	No	Sí
I_{NaL}	No	No	No	No	No	No	Sí	Sí

Para cada una de esas simulaciones se ha representado, en la Figura 5.3, la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. Este tipo de simulaciones son sencillas de interpretar puesto que en cada una de ellas (salvo la de control y la de isquemia completa) solo hay un efecto que se deja evolucionar de forma isquémica.

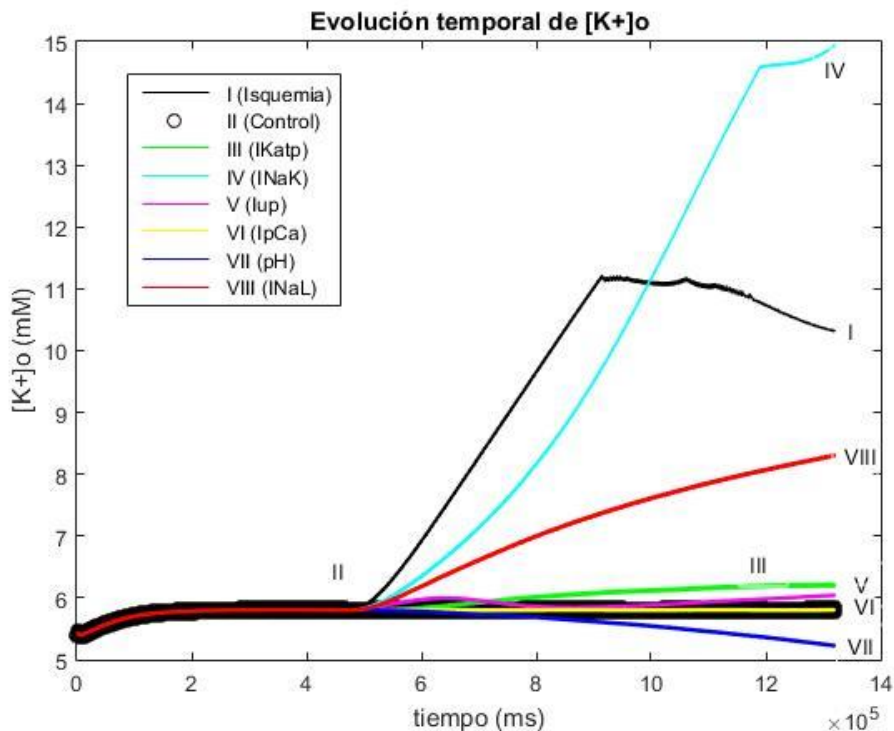


Figura 5.3: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia completa, la traza II representa la simulación de control (traza negra gruesa), la traza III representa la activación de la corriente I_{KATP} , la traza IV representa la activación de la corriente de la bomba Na^+/K^+ , la traza V representa la activación de la corriente de la bomba SERCA, la traza VI representa la activación de la corriente de la bomba de calcio del sarcolema, la traza VII representa la activación de la acidosis y la traza VIII representa la activación de la corriente I_{NaL} .

La traza I (en negro) corresponde a una situación de isquemia completa, mientras que la traza II (en negro y trazo grueso) corresponde a una situación de control (normoxia). En la traza control, el valor de la concentración extracelular de potasio se mantiene constante en un valor de 5.84 mmol/L, como correspondería a una situación de normoxia. Sin embargo, en la simulación de isquemia completa (traza I), la concentración extracelular de potasio comienza a aumentar desde el instante en el que se inicia la isquemia (minuto 8), alcanza un valor de 11.2 mmol/L alrededor del minuto YY de la simulación (es decir, ZZ minutos después del inicio de la isquemia), y se mantiene aproximadamente constante (aunque de hecho desciende lentamente hasta un valor de 10.3 mmol/L) hasta el final de la simulación. Este resultado es consistente con los resultados experimentales, como el mostrado en la Figura 2.8, en los que se aprecia como la concentración extracelular de potasio aumenta desde el primer instante y alcanza una meseta tras 10 minutos de isquemia. El hecho de que tanto el valor de la meseta como el instante en la que se alcanza no se correspondan exactamente con nuestra simulación se debe al hecho de que el resultado experimental es de corazón de conejo mientras que las simulaciones corresponden a cardiomiocito humano. Además, dichos valores dependen fuertemente de la frecuencia de estimulación. Lo relevante del resultado mostrado en la traza I de la Figura 5.3 es que predice que, en un cardiomiocito humano isquémico, la tendencia cualitativa de la concentración extracelular de potasio es similar a la obtenida experimentalmente en animales.

Una vez comprobado que el modelo reproduce el comportamiento isquémico esperado, se procedió a estudiar la contribución separada de los diferentes mecanismos isquémicos. La traza IV representa la evolución isquémica del corazón si se tiene solo en cuenta la variación isquémica de la bomba Na^+/K^+ , cuya actividad bomba reside en sacar 3 iones de sodio e introducir 2 de potasio. Es decir, la traza IV representa la hipotética evolución de la concentración extracelular de potasio si durante la isquemia se mantuviesen constantes el pH (7.2), la actividad de la bomba SERCA y la bomba de calcio del sarcolema, la corriente tardía de sodio (I_{NaL}) y la corriente de potasio sensible a ATP ($I_{K(ATP)}$) se mantuviese en cero (su valor normóxico). Durante la isquemia, la actividad de la bomba Na^+/K^+ se reduce puesto que ésta depende del ATP, el cual disminuye por la falta de oxígeno y nutrientes en estas condiciones. Además, su dependencia del ADP contribuye aún más a su descenso. Al reducirse su actividad, la cantidad de sodio que se saca y la cantidad de potasio que se introduce en la célula es menor, por lo que, si se deja evolucionar a la bomba de forma isquémica, aumentará la concentración de sodio intracelular y aumentará, a su vez, la concentración extracelular de potasio. Esta conclusión se puede ver bien reflejada en la traza de color azul claro (traza IV), donde el valor máximo de la concentración extracelular de potasio alcanzada (considerándose como valor máximo el valor de potasio antes de la estabilización temporal de la concentración de este ion) es mayor que la simulación 1 de isquemia, por lo que es el factor que más afecta, cuantitativamente, a la acumulación de potasio extracelular.

Otro aspecto a tener en cuenta sobre esta traza es el tiempo de estabilización de la concentración de potasio. En este caso el tiempo de estabilización se alcanza más tarde. En la simulación de isquemia (traza I), la estabilización se alcanza a los 15 min mientras que para la traza IV, donde se representa la actividad aislada de la bomba, el tiempo es de 20 min. Para ambos casos, la estabilización se alcanza por causa de la aparición de potenciales de acción alternantes; es decir, estos potenciales son un factor clave para que la concentración de potasio extracelular no siga aumentando en situaciones de isquemia. La aparición de alternantes se discutirá más adelante (apartado 5.4).

El potasio extracelular tarda más en acumularse si solo se tiene en cuenta la actividad de la bomba, y esto es así porque los alternantes tardan más en aparecer, favoreciendo que la cantidad de potasio extracelular sea mayor. Comparando esto con la situación isquémica (traza I), se puede pensar que los demás factores son necesarios para que los potenciales alternantes aparezcan antes y se establezca más pronto la acumulación de potasio extracelular.

La siguiente corriente tenida en cuenta que más afecta cuantitativamente es la corriente de sodio tardía (I_{NaL}), correspondiendo la traza VIII a su evolución isquémica en solitario. Esta corriente consigue que el potasio se acumule, pero no tanto como la bomba Na^+/K^+ . Este aumento de la concentración extracelular de potasio se realiza de forma suave y constante, sin llegar a alcanzar la estabilización al no aparecer potenciales de acción alternantes. La explicación de que en esta situación no aparezcan alternantes reside en que no basta con aumentar esta corriente de forma individual, sino que tienen que intervenir otros factores para que aparezcan este tipo de potenciales.

Por último, la corriente que, tras las dos explicadas, contribuye más al acúmulo de potasio en el medio extracelular es la corriente de potasio dependiente del ATP ($I_{K(ATP)}$), correspondiendo la traza III en verde a su activación isquémica en solitario. En este caso, el potasio acumulado con la activación individual de este factor, no es tan alto como en los dos casos anteriores, llegando a valores de K^+

cercanos a los 6 mmol/L. A pesar de tener una contribución menor, no significa que no sea un factor de importancia que influya con el resto de los que se tienen en cuenta en estas simulaciones.

Por último, llama la atención la traza VII que representa la acidosis en azul oscuro. En este caso, la cantidad de potasio acumulado sigue una evolución por debajo de la simulación de control correspondiente con un corazón sano. En este caso se puede ver que la acidosis es un factor que, si actúa solo, evita la acumulación de potasio extracelular.

En la Tabla 3 se pueden ver los valores representativos para cada uno de los parámetros que se han tenido en cuenta en estas simulaciones.

Tabla 3: parámetros representativos de cada factor. $[K^+]_o$ máx representa el valor máximo de potasio, es decir, el valor que se alcanza antes de la aparición de potenciales de acción alternantes. $[K^+]_o$ final es el valor final de potasio, es decir, cuando termina la simulación. $\Delta[K^+]_o$ máx es el incremento de potasio máximo, resultado de la diferencia entre la concentración de potasio máxima y la concentración de potasio en normoxia. $\Delta[K^+]_o$ final es el incremento de potasio final, que viene dado por la diferencia entre la concentración de potasio final y la de normoxia.

Parámetros	control	I_{KATP}	I_{NaK}	I_{up}	I_{Cap}	pH	I_{NaL}	isquemia
$[K^+]_o$ máx	5.8	6.2	14.6	6.002	5.8	5.8	5.8	11.21
$[K^+]_o$ final	-	6.9	14.94	6.043	-	5.227	8.309	10.32
$\Delta[K^+]_o$ máx	-	0.4	8.8	0.202	-	-	-	5.41
$\Delta[K^+]_o$ final	5.8	1.1	9.14	0.243	5.8	-0.573	2.509	4.52
descenso	No	No	No	Si	No	Si	No	Si
$t_{estabilización}$	-	-	$11.89 \cdot 10^5$	-	-	-	-	9.14

En este caso, se puede ver de forma numérica y más clara que la mayor contribución a la acumulación de potasio fuera de la célula viene de la reducción de la actividad de la bomba Na^+/K^+ , ya que tiene un valor de potasio máximo de 14.6, el mayor de todos.

5.3. DESACTIVACIÓN DE PARÁMETROS ISQUÉMICOS

En la desactivación de parámetros isquémicos, se han tenido en cuenta los mismos factores que en el apartado anterior. En este caso, las simulaciones se corresponden con la desactivación de uno de los factores, mientras que el resto están activos. De igual modo que en el punto anterior, se tienen dos simulaciones “base”: una simulación control, para corazón sano (simulación 1) y una simulación de “isquemia completa”, para corazón en condiciones isquémicas (simulación 2). Los criterios de cada simulación se muestran a modo resumen en la Tabla 4:

Tabla 4: Tabla esquemática de las simulaciones realizadas. La parte superior de la tabla representa un número correspondiente con la simulación. En la parte izquierda aparecen los parámetros isquémicos usados. La palabra ‘No’ significa que el factor isquémico no está actuando, se ha dejado con su valor inicial constante. La palabra ‘Sí’ significa que se ha dejado que el factor se ha dejado que evolucione de forma isquémica. Las simulaciones 1 y 8 se corresponden con la simulación de control y de corazón isquémico respectivamente.

	1	2	3	4	5	6	7	8
I_{KATP}	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
I_{NaK}	No	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
I_{up}	No	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí
I_{pCa}	No	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí	Sí
PH	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí
I_{NaL}	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí

Para cada una de esas simulaciones se ha representado, en la Figura 5.4, la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. Este tipo de simulación es sencilla de interpretar puesto que en cada una solo se inactiva un efecto.

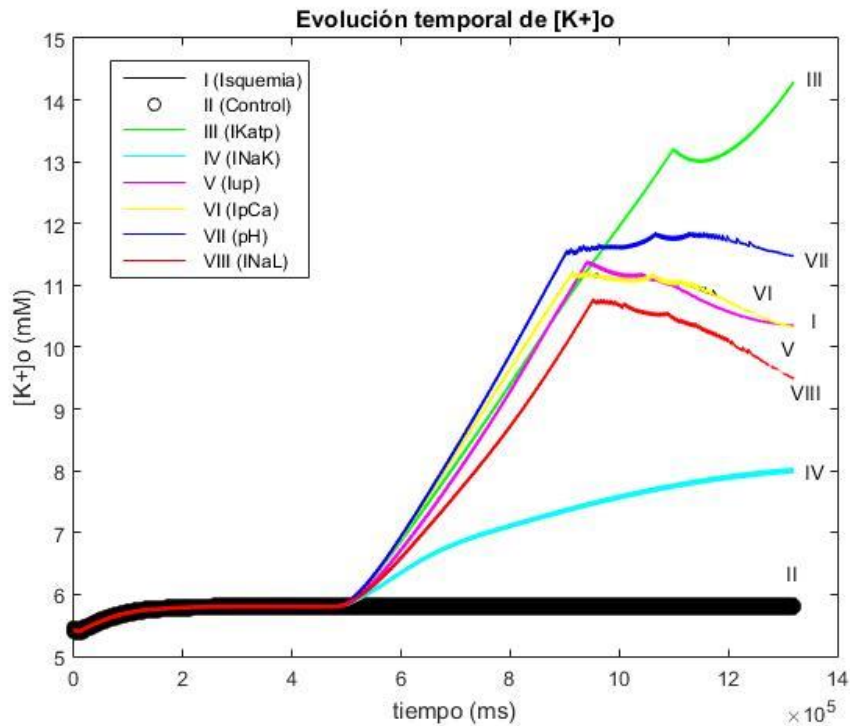


Figura 5.4: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia, la traza II (traza gruesa negra) representa la simulación de control, la traza III representa la desactivación de la corriente I_{KATP} , la traza IV representa la desactivación de la corriente de la bomba Na^+/K^+ , la traza V representa la desactivación de la corriente de la bomba SERCA, la traza VI representa la desactivación de la corriente de la bomba de calcio del sarcolema, la traza VII representa la desactivación de la acidosis y la traza VIII representa la desactivación de la corriente I_{NaL} .

Los resultados obtenidos en esta segunda serie de simulaciones complementan y, en la mayoría de los casos, ratifican las observaciones de la primera serie. La traza IV, por ejemplo, que se corresponde con la desactivación de la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ , muestra como éste es el mecanismo fundamental que provoca la salida de potasio. En este caso la evolución de la concentración extracelular de potasio es muy similar a la activación individual de la corriente I_{NaL} vista en el apartado anterior. Por tanto, la mayor responsabilidad en la acumulación de potasio procede de la bomba, pero con este resultado vemos que los demás factores también marcan un aumento que, a pesar de no ser muy alto, es significativo.

Observando la traza VIII en rojo (correspondiente a la corriente I_{NaL}) vemos que la pendiente de subida es muy similar a la activación individual de la bomba Na^+/K^+ y, del mismo modo, se alcanza la estabilización con la aparición de alternantes (ver apartado 5.4). Que en este caso aparezcan este tipo de potenciales y en la activación individual de esta corriente no lo hicieran, corrobora que es necesaria la activación de más mecanismos para que aparezcan potenciales de acción alternantes.

La traza III de color verde representa la corriente de potasio dependiente del ATP. En este caso, si se impide que esta corriente evolucione de forma isquémica, vemos que el resultado es muy diferente a cuando se deja evolucionar de forma individual. Por sí sola, esta corriente no afectaba al incremento

de potasio extracelular, pero ahora, observando la traza III, se puede comprobar que es importante puesto que si actúa se reduce el potasio extracelular. La mayoría de corrientes de potasio salen durante la zona de la meseta del potencial de acción, en este caso, la actuación de la I_{KATP} hace que el potencial dure menos, por lo que la cantidad de corriente de potasio que sale a través de la membrana hacia el medio extracelular será menor, lo cual es beneficioso.

La corriente de sodio tardía tiene un efecto muy indirecto, como bien se puede apreciar en la traza VIII de color rojo. A pesar de no influir de forma muy significativa, esta corriente, si se potencia, provoca una mayor entrada de sodio en la célula, por lo que la bomba Na^+/K^+ aumenta su actividad sacando más sodio de la célula e introduciendo más potasio. Si este proceso se desactiva (es decir, si no se deja que la corriente I_{NaL} actúe isquémicamente – creciendo), la concentración extracelular de potasio se reduce, por lo que la explicación anterior no coincidiría con los resultados obtenidos. Sin embargo, puede que exista otra implicación que no se ha tenido en cuenta en estas simulaciones. Rodríguez & Ferrero (2002) barajaron la posibilidad de que este efecto tenga una relación directa con la electroneutralidad de la célula. Al aumentar la entrada de sodio a la célula, el medio intracelular se hace más positivo, por lo que el único mecanismo viable para mantener la neutralidad eléctrica de la célula es la expulsión de potasio al medio extracelular, ya que es el ion más abundante dentro de la célula (Rodríguez & Ferrero, 2002).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el punto anterior, la acidosis representada en la traza VII de color azul oscuro, representa un resultado lógico. Anteriormente habíamos visto que la actuación individual de la acidosis durante la isquemia tenía un efecto único en el que el potasio extracelular llegaba a valores más bajos que lo representados en una simulación de un corazón sano. En este caso, si la acidosis se inhibe, el potasio extracelular llega a valores por encima de los obtenidos en la simulación de situación isquémica (traza I). La aparición de alternantes en este caso, hace que la estabilización de la concentración extracelular de potasio se dé antes.

El efecto de la desactivación de la bomba de calcio del sarcolema es mínimo, como bien se puede apreciar en la traza VI que coincide con la traza I de control. Si disminuye la disponibilidad de ATP, la actividad de la bomba se reduce, por lo que se saca menos calcio del citosol. Este ion aumentaría su concentración en el citosol, y por ello, aumentaría la actividad del intercambiador Na^+/Ca^{2+} , haciendo que la cantidad de sodio que se mete a la célula se reduzca, efecto que interviene en la actividad de la bomba Na^+/K^+ , la cual acabaría sacando menos potasio al medio extracelular.

En la Tabla 5 se pueden ver los parámetros más representativos de cada uno de los parámetros que se han tenido en cuenta en estas simulaciones.

Tabla 5: Parámetros representativos de cada factor. $[K^+]_o$ máx representa el valor máximo de potasio, es decir, el valor que se alcanza antes de la aparición de potenciales de acción alternantes. $[K^+]_o$ final es el valor final de potasio, es decir, cuando termina la simulación. $\Delta[K^+]_o$ máx es el incremento de potasio máximo, resultado de la diferencia entre la concentración de potasio máxima y la concentración de potasio en normoxia. $\Delta[K^+]_o$ final es el incremento de potasio final, que viene dado por la diferencia entre la concentración de potasio final y la de normoxia.

Parámetros	sano	I_{KATP}	I_{NaK}	I_{up}	I_{Cap}	pH	I_{NaL}	isquemia
$[K^+]_o$ máx	5	13.21	-	11.38	11.21	11.56	10.77	11.21
$[K^+]_o$ final	-	14.28	8	10.34	10.32	11.47	9.49	10.32
$\Delta[K^+]_o$ máx	-	7.41	-	5.58	5.41	5.76	4.97	5.41
$\Delta[K^+]_o$ final	5.8	8.48	2.2	4.55	4.52	5.67	3.69	4.52
descenso	No	No	No	Si	Si	No	Si	Si
$t_{estabilización}$	-	$10 \cdot 10^5$	-	$9.407 \cdot 10^5$	$9.14 \cdot 10^5$	$9.05 \cdot 10^5$	$9.52 \cdot 10^5$	$9.14 \cdot 10^5$

5.4. EFECTO SOBRE EL POTENCIAL DE ACCIÓN: APARICIÓN DE ALTERNANTES

La estabilización de la concentración de potasio extracelular coincide con la aparición de potenciales de acción alternantes, como ya se ha anticipado en los resultados mostrados en los puntos 5.2 y 5.3. En la Figura 5.5 se ha representado la concentración de potasio extracelular en situación isquémica y cuando la bomba Na^+/K^+ se deja evolucionar isquémicamente de forma individual (cuando se desactiva su evolución isquémica). Como bien se ha comentado con anterioridad, la estabilización del potasio extracelular en la traza II (correspondiente con la activación individual de la bomba Na^+/K^+) se da más tarde que en la simulación de un corazón isquémico (traza I). Esto se debe a que la aparición de potenciales de acción alternantes se da más tarde para el primer caso.

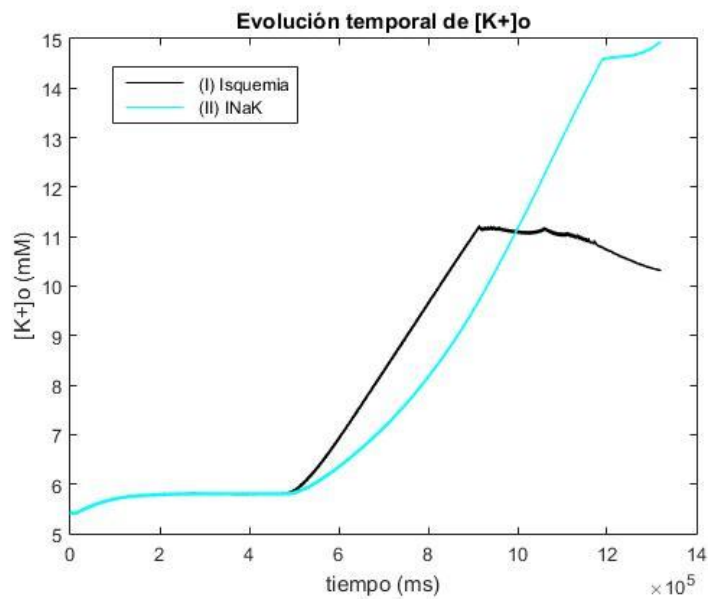


Figura 5.5: Representación de la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. La traza I representa la simulación para situación de isquemia, la traza II representa la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada.

En la Figura 5.6 se puede ver la representación del potencial de acción correspondiente a la simulación de un corazón en condiciones isquémicas (traza I) y la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ (traza II) para el tiempo completo que dura la simulación, es decir, 22 minutos.

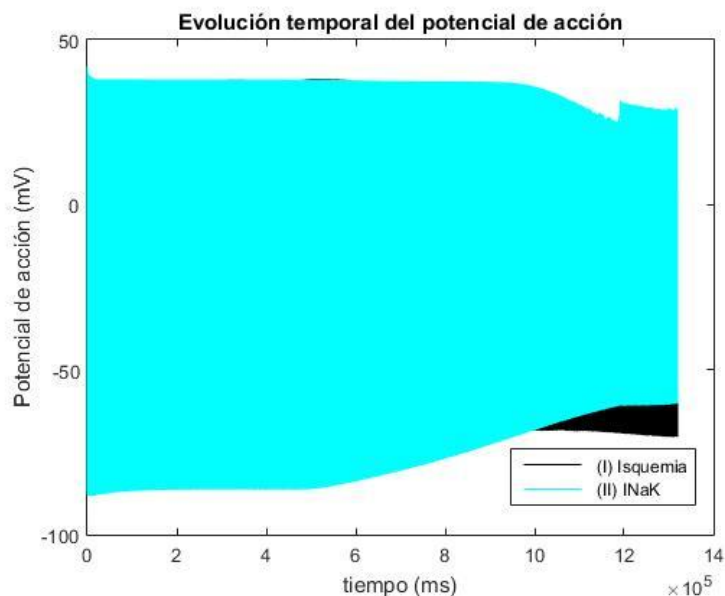


Figura 5.6: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica, la traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada.

Puesto que en la Figura 5.6 los potenciales e acción están demasiado “comprimidos” como para poder diferenciarse (observándose solo la evolución del potencial de reposo y del potencial máximo), es necesario ampliar la escala horizontal (tiempo) en algunos tramos clave de la simulación. Así, la Figura 5.7 muestra la evolución temporal del potencial de acción para un corazón isquémico y para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ en el instante 9.14×10^5 milisegundos (minuto 15.2 de la simulación) y posteriores. Más concretamente, en esta grafica se pueden ver representados dos potenciales de acción correspondientes con el inicio de la aparición de potenciales de acción alternantes para la simulación de situación isquémica (traza I).

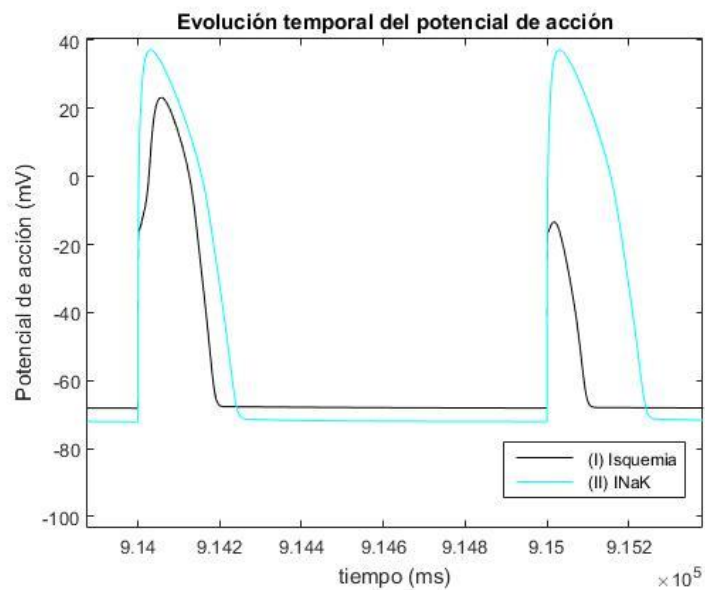


Figura 5.7: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica donde se ve aprecia la aparición de alternantes. La traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada.

En la Figura 5.8 se puede ver la evolución temporal del potencial de acción para un corazón isquémico y para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ . En este caso, se pueden ver representados dos potenciales de acción correspondientes con el inicio de la aparición de potenciales de acción alternantes para la simulación de la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma individual (traza II).

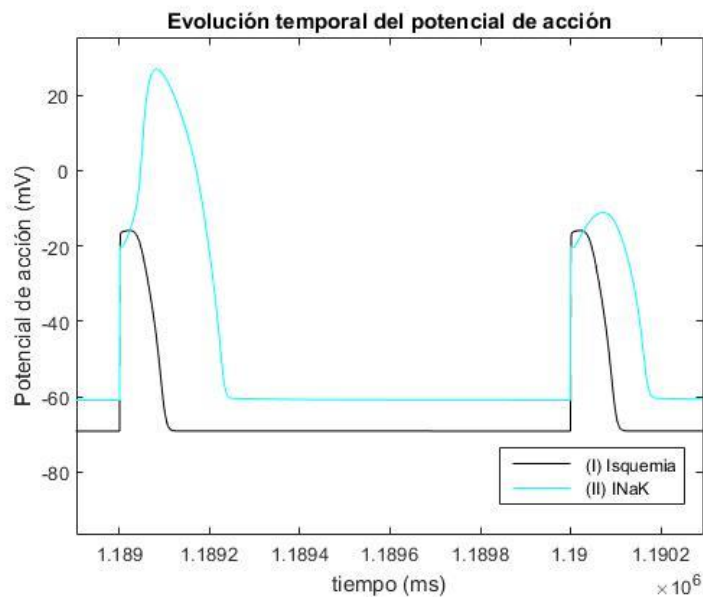


Figura 5.8: Representación de la evolución temporal del potencial de acción. La traza I representa el potencial de acción para la simulación para situación de isquémica, la traza II representa el potencial de acción para la evolución isquémica de la bomba Na^+/K^+ de forma aislada y la aparición de potenciales alternantes.

En la Figura 5.7 y 5.8 se puede ver de forma clara la diferencia temporal entre la aparición de potenciales de acción alternantes para la traza I (corazón isquémico) y la traza II (bomba Na^+/K^+). Para la traza I, la aparición de alternantes se produce más o menos a los 15 minutos de la simulación, 7 minutos después de comenzar la isquemia, coincidiendo esto con la estabilización de la concentración de potasio extracelular.

Por otro lado, en la traza II de la Figura 5.8 se puede observar que la aparición de los alternantes se da más tarde, sobre los 18 minutos; es decir, 10 minutos tras el comienzo de la isquemia. En ambos casos la estabilización de la concentración de potasio extracelular se da con la aparición de alternantes.

Un potencial de acción normal tiene una amplitud determinada. En cuanto aparecen potenciales de acción alternantes, los picos que alcanzan ciertos potenciales son más altos. Esto ocurre por la aparición de potenciales de menor amplitud de forma alterna. En estos potenciales, las corrientes que intervienen en la despolarización celular, es decir, en su gran mayoría la corriente de sodio, tienen más tiempo para poder recuperarse. Los canales de sodio están formados por compuertas de activación e inactivación. Éstas últimas se tienen que recuperar antes de poder dispararse un potencial de acción, al durar el potencial de acción menos en estos potenciales de menor amplitud, el canal tiene más tiempo para recuperarse, por lo que en el siguiente potencial se alcanza mayor amplitud.

Como se ha podido observar con anterioridad en las simulaciones representadas en los puntos 5.2 y 5.3, no existe un factor único que provoque la aparición de potenciales de acción alternantes. Hay varios factores que influyen en la aparición de este tipo de potenciales y, es más, estos factores determinan si el comienzo de los alternantes se da antes o después, sin embargo, con las simulaciones realizadas no se puede determinar las causas que provocan la aparición de potenciales alternantes.

Los resultados obtenidos se corresponden con los obtenidos por Ferrero et al. (2002), donde los potenciales de acción alterantes tienen la misma forma que los obtenidos en el apartado 5.4. Este tipo de potenciales se relaciona con el incremento de sodio. En isquemia, la corriente de Na^+ se ve reducida, lo que provoca que la subida del potencial sea más costosa. En ocasiones, la corriente de sodio no es suficiente y el potencial se queda más reducido en amplitud y en tiempo.

En este caso la acidosis juega un papel importante puesto que reduce la corriente de Na^+ , aunque, como bien se ha visto anteriormente, no es el único factor que influye. Así mismo, la corriente de potasio dependiente del ATP genera una corriente de potasio nada más comenzar la despolarización de la célula. Al ser el potasio saliente y el sodio entrante, se genera un conflicto que hace que la corriente de sodio suba mucho más despacio.

5.5. CUANTIFICADOR DE IONES POTASIO

Tal como se explicó en el capítulo de Desarrollo del Software, en este trabajo se ha desarrollado un código adicional (*ion_quantification*) para poder realizar un cálculo del incremento de potasio extracelular y de esta forma poder saber cuál o cuáles son las corrientes de potasio que contribuyen a aumentar la concentración extracelular de este ion durante la isquemia de miocardio.

La integral calculada es una cantidad proporcional a la cantidad de potasio que ha salido por un canal determinado de K^+ durante la simulación para un corazón sano y la simulación de un corazón isquémico. La comparación realizada entre estas dos situaciones se puede ver en la Figura 5.9.

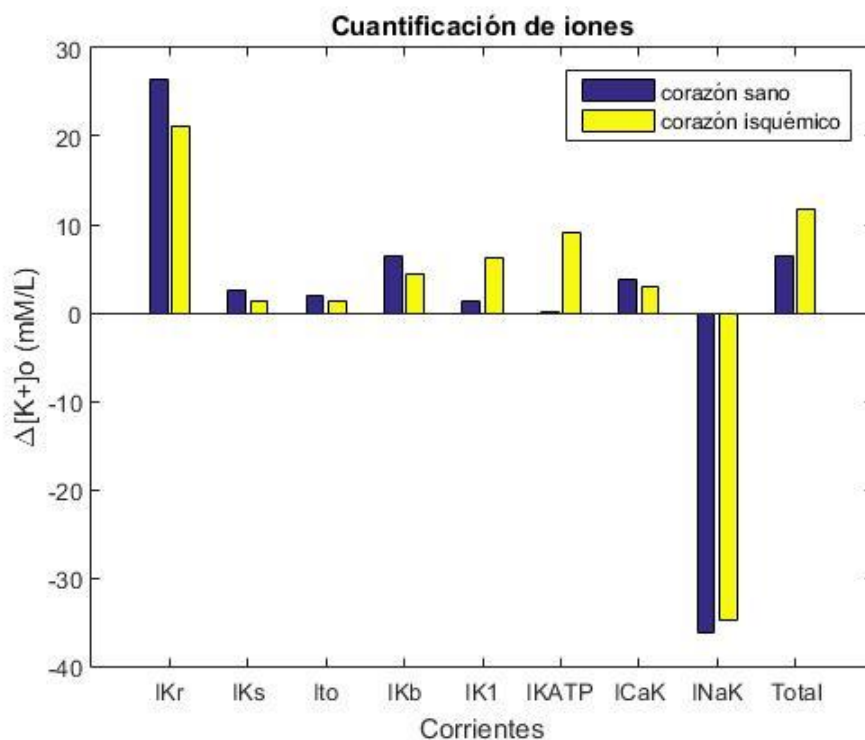


Figura 5.9: Representación de la cuantificación de iones que salen a través de los 8 canales de potasio que se han escogido.

En el gráfico se puede ver representada la cuantificación de iones que salen a través de 8 canales de potasio por los cuales pasan diferentes flujos de corriente de potasio. I_{Kr} , que es una corriente de potasio rápida rectificadora retardada, I_{Ks} , que es la corriente de potasio lenta rectificadora retardada, I_{to} , como corriente transitoria saliente, I_{Kb} , que es la corriente que se ha definido con anterioridad como corriente de "background", I_{K1} como la corriente entrante independiente del tiempo, I_{KATP} , como corriente de potasio dependiente del ATP, I_{CaK} , la componente de potasio a través de los canales de calcio tipo L y, por último, I_{NaK} , que es la corriente de la bomba Na^+/K^+ .

Las barras representan dos situaciones de las simulaciones realizadas. Las barras de color azul se corresponden con la simulación control (normoxia). Las barras de color amarillo, por el contrario, reproducen la cuantificación de iones que salen a través de los canales para un corazón con isquemia completa (es decir, con todos los mecanismos isquémicos activados).

En este caso, la función desarrollada para realizar la integración numérica trapezoidal, se ha utilizado para poder hacer una comparativa entre las diferentes corrientes de potasio y ver, de forma lo más clara posible, cuáles son las corrientes que más contribuyen al aumento de la concentración de potasio extracelular. Viendo el gráfico representado en la Figura 5.9 se puede ver que las corrientes que experimentan un incremento durante una situación isquémica son tres: la corriente entrante de potasio independiente del tiempo (I_{K1}), la corriente de potasio dependiente del ATP (I_{KATP}) y la corriente de la bomba Na^+/K^+ .

En cuanto a la corriente que se mueve a través de la bomba Na^+/K^+ , se puede ver que es la única negativa puesto que la bomba introduce iones K^+ en la célula. Durante una situación de isquemia, la actividad de la bomba se reduce, por lo que la cantidad de iones de potasio que entra en la célula será menor, contribuyendo al aumento de la concentración de potasio extracelular. Por este motivo, la representación gráfica de la cuantificación de iones para este caso será menor para un corazón en situación de isquemia como bien se puede ver en la Figura 5.9.

La corriente de potasio dependiente del ATP es una corriente saliente, por lo que en la representación gráfica aparece en positivo. Como es de esperar, en situación isquémica, esta corriente es mayor debido a que esta corriente va aumentando su actividad conforme avanza la isquemia.

La corriente que más llama la atención es la corriente de potasio independiente del tiempo (I_{K1}). En este caso, la corriente que fluye por estos canales es una corriente de K^+ es una corriente pasiva, puesto que estos canales no tienen compuertas y no existe una dinámica de apertura o cierre. Este resultado es muy clarificador, puesto que se puede ver de forma bastante evidente que, la corriente pasiva I_{K1} es de las corrientes que más colaboran a la acumulación de potasio extracelular, esto es porque, al no tener compuertas el canal, permite el paso de flujo de iones hacia el medio extracelular, no afectándole las condiciones isquémicas.

El resto de corrientes se oponen a la salida de potasio como bien se puede ver en el gráfico.

A continuación, en la Tabla 6 se muestran los resultados numéricos de la cuantificación de iones para el tramo de tiempo comprendido entre 8 y 15 minutos, que abarca todo el periodo isquémico, y a partir del cual se ha construido la gráfica representada en la Figura 5.9.

Tabla 6: De cada una de las corrientes escogidas para la cuantificación iónica se puede ver la cantidad de iones que atraviesan los canales (mmol/L/s) para cada situación (sano e isquemia).

Corrientes	Corazón sano	Corazón isquémico
I_{kr}	26,40960	21,16870
I_{ks}	2,56670	1,38310
I_{to}	1,97010	1,33590
I_{Kb}	6,45000	4,46840
I_{k1}	1,25820	6,18040
I_{KATP}	0,12590	9,08850
I_{caK}	3,75890	3,04550
I_{NaK}	-36,15080	-34,86120
Total	6.38860	11.80930

6. CONCLUSIONES

El objetivo principal de este Trabajo Final de Grado ha sido desarrollar un software para la realización de simulaciones en condiciones isquémicas a partir de una versión mejorada del modelo matemático de potencial de acción desarrollado por T. O'Hara et al. (2011). A partir de las simulaciones realizadas, se ha podido alcanzar otro de los objetivos de este trabajo: determinar las causas de la acumulación de potasio extracelular durante la isquemia miocárdica aguda. Para alcanzar estos resultados, se han realizado una serie de simulaciones en dos bloques diferenciados: uno relacionado con la activación aislada de los parámetros isquémicos que se ha elegido y otro con la desactivación individual de dichos parámetros (corriente de potasio dependiente del ATP (I_{KATP}), la corriente de la bomba Na^+/K^+ (I_{NaK}), la corriente de la bomba SERCA (I_{up}), la corriente de la bomba de calcio del sarcolema (I_{pCa}), la acidosis (pH) y la corriente de sodio L (I_{NaL})).

Según los resultados de las simulaciones del primer bloque, la reducción de la actividad de la bomba Na^+/K^+ es el factor aislado más determinante en la acumulación de potasio extracelular. Sin embargo, la activación única de este mecanismo por sí solo no es suficiente para explicar la acumulación de potasio extracelular en forma bifásica. Por otro lado, otro mecanismo que colabora de manera determinante en la acumulación de potasio es la corriente lenta de sodio (I_{NaL}), aunque no en la misma medida que la bomba Na^+/K^+ .

Los resultados de las simulaciones del segundo bloque corroboran que la bomba Na^+/K^+ es el factor que más contribuye a la acumulación isquémica de potasio, aunque si se desactiva este mecanismo el potasio extracelular también alcanza un valor elevado. Gracias a las simulaciones realizadas mediante la desactivación aislada de mecanismos, se ha podido observar que la corriente de potasio dependiente del ATP es muy necesaria, es decir, la evolución isquémica de este mecanismo ayuda a que salga menos corriente de potasio de la célula durante la fase de meseta del potencial de acción, por lo que, ayuda a que no aumente el potasio extracelular. La evolución isquémica de este mecanismo es, pues, antiarrítmica.

De los resultados puede concluirse también que la aparición súbita de alternantes es esencial para la estabilización de la concentración de potasio extracelular. Se puede concluir pues, que los potenciales alternantes, a pesar de ser elementos muy proarrítmicos, en isquemia son beneficiosos gracias a que estabilizan la concentración de potasio extracelular.

En referencia al código desarrollado por la cuantificación iónica, se ha podido ver que existen tres corrientes de potasio determinantes en el aumento de $[K^+]_o$: la corriente de la bomba Na^+/K^+ , la corriente de potasio dependiente del ATP, y la corriente entrante independiente del tiempo, I_{K1} .

7. LÍNEAS FUTURAS

Una vez realizado el Trabajo de Fin de Grado, se plantean varias líneas futuras. En primer lugar, en el análisis de la evolución de la concentración de potasio extracelular con los parámetros isquémicos tenidos en cuenta, no se han incluido otros mecanismos que podrían clarificar los resultados relacionados con el estudio de las causas eléctricas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda en corazón humano. Aunque no es previsible que se trate de un mecanismo esencial, el intercambiador sodio-hidrógeno podría jugar un papel en la hiperkalemia. El estudio de la influencia de este mecanismo podría constituir una línea de trabajo futura.

En el campo de las enfermedades cardiovasculares, tanto el software como la interfaz que se han desarrollado en este trabajo son capaces de realizar simulaciones que permitirían obtener resultados sobre diferentes condiciones isquémicas y, así, poder visualizar la aportación de los parámetros isquémicos tenidos en cuenta. Por ejemplo, la utilización del software para analizar las causas de la aparición de alternantes en el potencial de acción podría ser una futura línea de trabajo.

Por último, las simulaciones se han llevado a cabo en un modelo de célula aislada. Un estudio similar, pero en un modelo de células interconectadas formando un tejido podría constituir también una línea de trabajo futura.

8. ANEXOS

8.1. ANEXO 1: MANUAL DE USUARIO DEL SOFTWARE

Para poder realizar simulaciones en condiciones de isquemia a partir del software desarrollado, se ha diseñado una interfaz gráfica muy intuitiva a partir de la herramienta Matlab®, más concretamente con el entorno de programación visual GUIDE.

En el apartado 4.3 se ha realizado una descripción detallada de esta interfaz. Para comprenderla y poder realizar un uso adecuado de la misma, a continuación, se explica qué pasos se deben seguir para realizar simulaciones isquémicas con las condiciones escogidas.

Primero de todo es necesario estar en la capeta adecuada dentro de la herramienta Matlab®. Para ello se debe copiar el directorio (como se muestra en la Figura 8.1) de la carpeta en la que esté guardada la interfaz en la barra de direcciones (“path”). En esta misma carpeta se tienen que encontrar las funciones que se tienen que ejecutar para la interfaz. Cuando el directorio sea el adecuado, se podrá ver el contenido en la ventana izquierda denominada “Current Folder”.

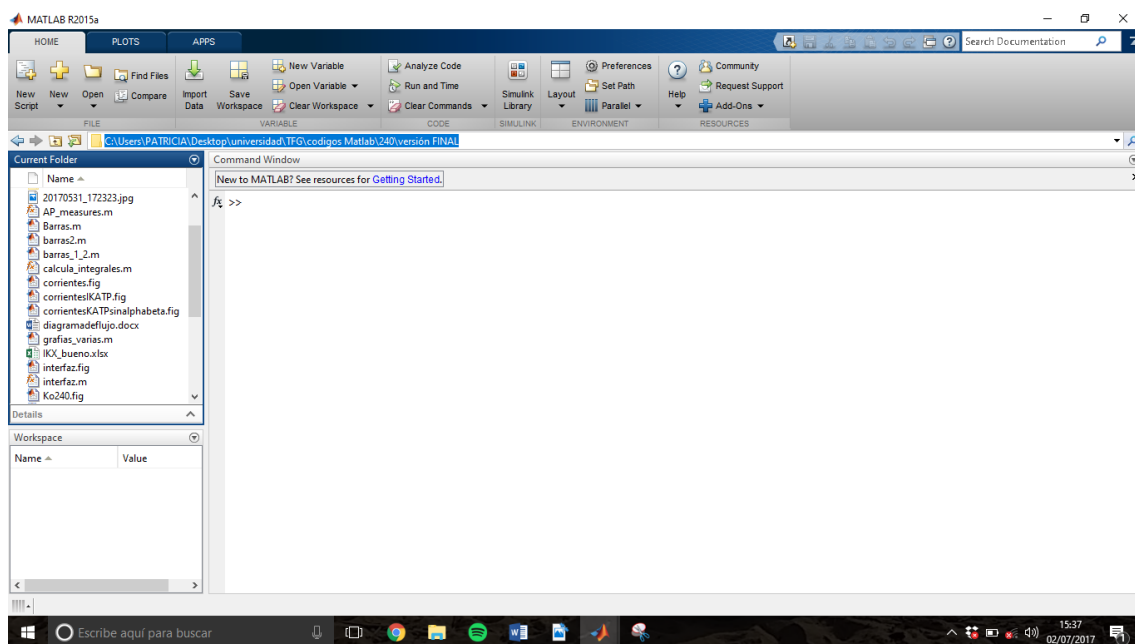


Figura 8.1: Captura de pantalla de la ventana principal de Matlab® en la que se puede ver seleccionado el directorio de la capeta en la que se encuentra la interfaz.

A continuación, en la ventana inferior de comandos de Matlab®, se escribe el nombre de la interfaz para que se cargue, es decir, el nombre con el que se ha guardado. Cuando el programa carga la interfaz, se abre una ventana paralela en que se puede ver la interfaz gráfica.

Simulación isquémica

En la ventana ya se pueden realizar las modificaciones que se desee dentro de los módulos que aparecen. Dentro del módulo “Ischemic parameters” se tiene que seleccionar al menos uno de los parámetros, siendo recomendable la selección de las simulaciones de “Control” y “Complete ischemia”, correspondientes con un corazón sano y uno isquémico respectivamente. En la Figura 8.2 se puede ver el módulo descrito.

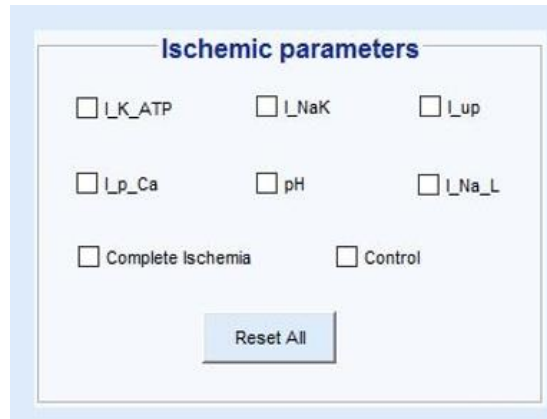


Figura 8.2: Captura de pantalla del módulo “Ischemic parameters”.

Es necesario que en el módulo “Settings” se rellenen ambos campos, los cuales tienen un valor igual a 0 por defecto. Para el módulo “Graphic representation” se tiene que seleccionar el tipo de representación que se desea, pudiendo ser esta la evolución del potencial de acción o la evolución temporal de la concentración de potasio extracelular. Este módulo se puede ver en la Figura 8.3.



Figura 8.3: Captura de pantalla del módulo “Settings”.

Seguidamente, en el apartado de “Parameter representation” se puede seleccionar el parámetro o parámetros que se desean visualizar de entre los escogidos para el desarrollo de esta interfaz para simulación isquémica. En la Figura 8.4 se puede ver el módulo para la representación gráfica.

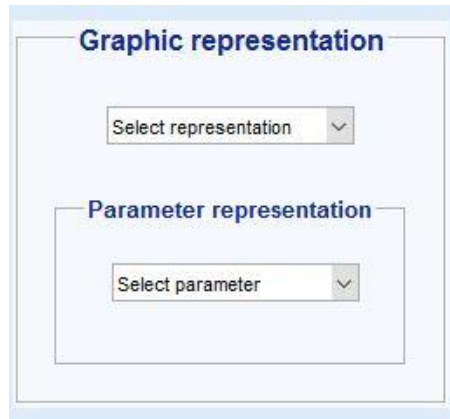


Figura 8.4: Captura de pantalla del módulo “Graphic representation”.

Una vez se han completado los datos de los tres módulos, queda la ejecución de la simulación que se ha elegido, correspondiente con los parámetros que se han seleccionado en cada uno de los módulos. Para poder realizar la ejecución del programa, se tiene que pulsar el botón “Calculate” situado en la parte central bajo el módulo “Settings”. Una vez pulsado el botón, una ventana emergente se encarga de mostrar la evolución de la simulación, cuando esta finaliza, significa que se tienen almacenados los datos de la simulación que se ha escogido. Existe la posibilidad de ver la representación gráfica elegida si se pulsa el botón “Plot” situado al lado derecho del botón “Calculate”.

Quantificación iónica

En la misma ventana que se ha abierto al llamar a la interfaz, se puede ver a la derecha un bloque denominado “Ion_quantification”. Este apartado se corresponde con el código desarrollado para realizar una cuantificación iónica de determinados canales, a través de los cuales pasa corriente de potasio, para conocer qué corriente afecta en mayor medida al aumento de la concentración de potasio extracelular.

En primer lugar, se tiene que seleccionar la corriente de la cual se quiere realizar la cuantificación iónica. Para ello existe un menú desplegable en el que se incluyen las corrientes escogidas, existiendo una opción (“All”) para seleccionar todas a la vez.

A continuación, es necesario definir los intervalos de tiempo (t_1 y t_2) entre los cuales se quiere realizar los cálculos, medidos en milisegundos y con la posibilidad de devolverlos a su valor por defecto (cero) con el botón “Reset”.

Por último, se tiene que escoger el tipo de representación que se desea. Para este menú desplegable (“Select representation”), solo se tienen dos opciones: Control I y Control II (corazón sano y corazón isquémico respectivamente).

En la Figura 8.5 se puede el bloque “Ion_quantification” con los apartados mencionados y explicados.

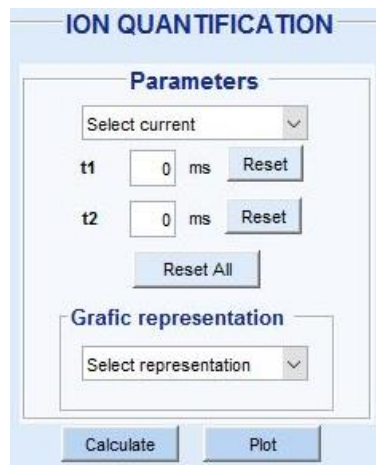


Figura 8.5: Captura de pantalla del módulo “Ion_quantification”.

8.2. ANEXO 2: REQUISITOS DE SOFTWARE Y HARDWARE

Requisitos software

- Software matemático Matlab® 2015.
- Sistemas operativos:
 - Windows 7 o posteriores.
 - Mac OS X o posteriores.
 - Linux 3.9 o posteriores.

Requisitos hardware

- Procesador: Intel® Core™ i3 o posteriores.
- Memoria: mínimo 1GB RAM.
- Disco duro: mínimo 640 GB.

8.3. ANEXO 3: CÓDIGOS DESARROLLADOS

A causa de la extensión de los mismos y la imposibilidad de entregarlos incluidos en la memoria, se han facilitado en formato CD-ROM.

9. REFERENCIAS

- Carmeliet, E. (1999). Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev*, 79: 917-1017.
- Ferrero, J.M. (2014). Apuntes Bioelectricidad. Universidad Politécnica de Valencia.
- Fiolet, J. W. T., Schumacher, C. A., Baartscheer, A., Coronel, R. (1993). Osmotic changes and transarcolemmal ion transport during total ischaemia of isolated rat ventricular myocytes. *Basic Res Cardiol*, 88: 396-410.
- Fleet, W. F., Johnson, T. A., Graebner, C. A., Gettes, L. S. (1985). Effects of serial brief ischemic episodes on extracellular K⁺, pH, and activation in the pig. *Circulation*, 72: 922-932.
- Hill, J. L., Gettes, L. S. (1980). Effect of acute coronary artery occlusion on local myocardial K⁺ activity in swine. *Circulation*, 61: 768-778.
- Hirche, H., Franz, C., Bos, L., Bissig, R., Lang, R., Schram, M. (1980). Myocardial extracellular K⁺ and H⁺ increase and noradrenaline release as possible causes of early arrhythmias following acute coronary artery in pigs. *J Mol Cell Cardiol*, 12: 579-593.
- Ingwall, J. S. (1995). How high does intracellular sodium rise during acute myocardial ischaemia? A view from NMR spectroscopy. *Cardiovasc Res*, 29: 279.
- Kazbanov, I. V., Clayton, R. H., Nash, M. P., Bradley, C. P., Paterson, D. J., Hayward, M. P., Taggart, P., Panfilov, A. V. (2014). Effect of Global Cardiac Ischemia on Human Ventricular Fibrillation: Insights from a Multi-scale Mechanistic Model of the Human Heart. *PLoS Comput Biol*, 10(11): e1003891.
- Kleber, A. G. (1983). Resting membrane potential, extracellular potassium activity and intracellular sodium activity during acute myocardial ischemia in the isolated guinea pig heart. *Circ Res*, 52: 442-450.
- Kleber, A. G. (1984). Extracellular potassium accumulation in acute myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol*, 16: 389-394.
- Knopf, H., Theising, R., Moon, C.H., Hirche, H. J. (1990). Continuous determination of extracellular space and changes of K, Na, Ca, and H during global ischaemia in isolated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol*, 22: 1259-1272.
- Lou, C. H., Rudy, Y. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. Simulations of ionic currents and concentration changes. *Circ Res*:1071-96.
- Ma, J., Song, Y., Shryock, J.C., Hu, L., Wang, W., Yan, X., Zhang, P., Belardinelli, L. (2014). Ranolazine attenuates hypoxia and hydrogen peroxide induced increases in sodium channel late openings in ventricular myocytes. *J Cardiovasc Pharmacol*. 64(1):60-8.
- Ministerio de Educación y Cultura de España (2017). Anatomía del corazón. Recuperado el 25 de 06 de 2017, de http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/3ESO/aparato_circulatorio/contenidos4.htm
- Muramatsu, H., Takayama, M. (2014). Revisiting Electrophysiological Mechanisms of VF/VT Arrest During Early Ischemia and Spontaneous Electrical Activity After Defibrillation: From Cell to ACLS. *Austin J Cerebrovasc Dis & Stroke*, 1(4): 1018.

- 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 Comput Biol.*, e1002061.
- Regan, T., Broisman, L., Haider, B., Eaddy, C. (1980). Dissociation of myocardial sodium and potassium alterations in mild versus severe ischemia. *Am J Physiol*, 238: 575-580.
- Rodríguez, B. (2001). Modelización de la actividad eléctrica de las células cardíacas. Estudio de la acumulación extracelular de K⁺ en la fase aguda de la isquemia miocárdica. Universidad Politécnica de Valencia.
- Rodríguez, B., Ferrero, J. M. Jr., Trénor, B. (2002). Mechanistic investigation of extracellular K⁺ accumulation during acute myocardial ischemia: a simulation study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283: H490–H500.
- Rodríguez, B., Ferrero, J. M. Jr., Trénor, B. (2002). Electrical activity and reentry during acute regional myocardial ischemia: Insights from simulations.
- Rodríguez B, Ferrero J. M. Jr, Trénor B. (2002). Mechanistic investigation of extracellular K⁺ accumulation during acute myocardial ischemia: a simulation study. *American Journal of Physiology (Heart Circ Physiol)* 2002 Aug;283(2):H490-500.
- Sato, R., Yamazaki, J., Nagao, T. (1999). Temporal differences in actions of calcium channel blockers on K⁺ accumulation, cardiac function, and high-energy phosphate levels in ischemic guinea pig hearts. *JPET*, 289: 831-839.
- Ten Tusscher, K. H. W. J., Noble, D., Noble, P. J., Panfilov, A. V. (2004). A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286: H1573–H1589.
- Texas Heart Institute. (2015). *Anatomía del corazón*. Recuperado el 10 de 06 de 2017, de http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/anato_sp.cfm
- Townsend, N., Nichols, M., Scarborough, P., Rayner, M. (2015). Cardiovascular disease in Europe 2015: epidemiological update. *Eur Heart J*, 36(40): 2673-2674.
- Tranum-Jensen, J., Janse, M. J., Fiolet, W. T., Krieger, W. J., D'Alnoncourt, C. N., Durrer, D. (1981). Tissue osmolality, cell swelling, and reperfusion in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine heart. *Circ Res*, 49: 364-381.
- Vanheel, B., Van de Voorde, J. (1995). Differential influence of extracellular and intracellular pH on K⁺ accumulation in ischaemic mammalian cardiac tissue. *J Mol Cell Cardiol*, 27(7): 1443-1455.
- Weiss, J. N., Shine, K. I. (1982a). Extracellular K⁺ accumulation during myocardial ischemia in isolated rabbit heart. *Am J Physiol*, 242: H619-H628.
- Weiss, J. N., Shine, K. I. (1982b). [K⁺]_o accumulation and electrophysiological alterations during early myocardial ischemia. *Am J Physiol*, 243: H318-H327.
- Weiss, J. N., Shine, K. I. (1986). Effects of heart rate on extracellular [K⁺] accumulation during myocardial ischemia. *Am J Physiol*, 250: H982-H991.
- Wikipedia. (2016). *Membrana plasmática*. Recuperado el 09 de 06 de 2017, de https://es.wikipedia.org/wiki/Membrana_plasm%C3%A1tica

Wilde, A. A. M., Aksnes, G. (1995). Myocardial potassium loss and cell depolarization in ischaemia and hypoxia. *Cardiovasc Res*, 29: 1-15.

Wilde, A. A. M., Escande, D., Schumacher, C. A., Thuringer, D., Mestre, M., Fiolet, J. W. T., Janse, M. Yan, G. X., Chen, J., Yamada, K. A., Kléber, A. G., Corr, P. B. (1996). Contribution of shrinkage of extracellular space to extracellular K⁺ accumulation in myocardial ischemia of the rabbit. *J Physiol (Lond)*, 490: 215-228. J. (1990). Potassium accumulation in the globally ischemic mammalian heart. *Circ Res*, 67: 835-843.



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

PRESUPUESTO

CONTENIDO

- 1. PRESUPUESTO 70
 - 1.1. PRESUPUESTO INICIAL..... 70
 - 1.1.1. Coste inicial de personal 70
 - 1.1.2. Coste inicial de software..... 71
 - 1.1.3. Coste inicial de hardware..... 71
 - 1.1.4. Coste total inicial..... 70
 - 1.2. COSTE FINAL 70
 - 1.2.1. Coste final de personal 70
 - 1.2.2. Coste final de software 71
 - 1.2.3. Coste final de hardware 71
 - 1.1.4. Coste total final.....72

1. PRESUPUESTO

En este apartado se presenta una estimación económica en relación al desarrollo del presente Trabajo Fin de Grado. Teniendo en cuenta la naturaleza de este trabajo, el presupuesto se ha desglosado en coste de personal, coste de software y coste de hardware.

En primer lugar, atendiendo a un planteamiento económico preliminar para determinar los objetivos del trabajo, se presenta un presupuesto inicial. Después, en relación con el desarrollo de dicho trabajo, se muestra un presupuesto final ajustado.

1.1. PRESUPUESTO INICIAL

En este subapartado se mostrarán los costes relacionados con el planteamiento económico inicial, es decir, el coste de personal, el coste de software y el coste de hardware.

1.1.1. COSTE INICIAL DE PERSONAL

Dentro del coste inicial se puede encontrar la remuneración de las personas implicadas en el desarrollo del trabajo. El coste de personal se compone de un ingeniero industrial, en este caso el tutor del proyecto, D. José María Ferrero de Loma-Osorio y una estudiante, D^a. Patricia Olcina González, ingeniera biomédica de este trabajo.

Tabla 7: Presupuesto inicial para coste de personal. Se incluye el perfil del trabajador, el número de horas trabajadas, el coste unitario, el coste por perfil y la justificación y tareas desarrolladas.

Perfil	Nº de horas	Coste unitario (€/h)	Coste (€)	Justificación y tareas
Ingeniero industrial	35	40	1400	Planteamiento del trabajo. Ayuda y resolución de dudas en el desarrollo del software informático y de la interfaz gráfica
Ingeniero Biomédico	300	45	13500	Resolución numérica del problema, realización de simulaciones y análisis de resultados. Desarrollo del software e interfaz gráfica
Coste Personal Total			14900	

1.1.2. COSTE INICIAL DE SOFTWARE

El coste de software hace referencia al coste planteado de forma inicial para los programas informáticos necesarios durante el desarrollo del trabajo.

Tabla 8: Presupuesto inicial para coste de software. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción.

Programa	Coste total de licencia (€)	Periodo de amortización (meses)	Periodo de uso (meses)	Coste (€)	Justificación y descripción
Matlab® 2015	1.652,89	24	8	550.96	Herramienta utilizada para el desarrollo del software de simulación e interfaz. Realización de simulaciones.
Windows® 10	230,58	24	8	76.86	Controlar procesos del ordenador y permitir el funcionamiento de los programas utilizados
Microsoft Office 2016	230,58	24	8	76.86	Incluye los programas Word, Excel, PowerPoint, Outlook y OneNote.
Coste software total				1233.18	

1.1.3. COSTE INICIAL DE HARDWARE

El coste de hardware hace referencia al coste planteado de forma inicial para materiales utilizados en el desarrollo del trabajo.

Tabla 9: Presupuesto inicial para coste de hardware. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción.

Descripción	Precio (€)	Periodo de amortización (meses)	Periodo de uso (meses)	Coste (€)
Ordenador portátil	785.36 €	40	8	157.1

1.1.4. COSTE TOTAL INICIAL

El coste total inicial se ha calculado teniendo en cuenta los costes iniciales de personal, software y hardware.

Tabla 10: Presupuesto inicial total en el que se tiene en cuenta el coste total de personal, el coste total de software y el coste total de hardware.

Coste total de personal	14900€
Coste total de hardware	157.1 €
Coste total de software	1233.18€
Coste inicial total	16290.25 €

1.2. COSTE FINAL

En este subapartado se muestran el presupuesto real del desarrollo del proyecto ajustado a las necesidades reales.

1.2.1. COSTE FINAL DE PERSONAL

Dentro del coste inicial se puede encontrar la remuneración de las personas implicadas en el desarrollo del trabajo.

Tabla 11: Presupuesto para coste de personal. Se incluye el perfil del trabajador, el número de horas trabajadas, el coste unitario y el coste por perfil.

Perfil	Nº de horas	Coste unitario (€/h)	Coste (€)
Ingeniero industrial	45	40	1800
Ingeniero Biomédico	320	45	14400
Coste Personal Total			16200

1.2.2. COSTE FINAL DE SOFTWARE

El coste de software hace referencia al coste de los programas informáticos necesarios para el desarrollo del trabajo.

Tabla 12: Presupuesto para coste de software. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno y su periodo de uso.

Programa	Coste total de licencia (€)	Periodo de amortización (meses)	Periodo de uso (meses)	Coste (€)
Matlab® 2015	1.652,89	24	8	550.96
Windows® 10	Gratuito (licencia universitaria)	24	8	0
Microsoft Office 2016	Gratuito (licencia universitaria)	24	8	0
Coste software total				550.96

1.2.3. COSTE FINAL DE HARDWARE

El coste de hardware hace referencia al coste de materiales utilizados en el desarrollo del trabajo.

Tabla 13: Presupuesto para coste de hardware. Se incluye el tipo de programa utilizado, el coste total de la licencia de cada uno, su periodo de uso y la justificación y descripción.

Descripción	Precio (€)	Periodo de amortización (meses)	Periodo de uso (meses)	Coste (€)
Ordenador portátil	874.98	40	8	174.99

1.1.4. COSTE TOTAL FINAL

Finalmente, se muestra una tabla resumen del presupuesto final del desarrollo del proyecto donde se tiene en cuenta el coste de persona y el coste de ejecución, es decir, el coste de software y hardware.

Tabla 14: Presupuesto final del proyecto.

CONCEPTO			Coste total (€)
Costes de Personal	Concepto	Coste (€)	
	Gastos de ingeniero programador	1800	
	Gastos de ingeniero biomédico	14400	
	Total Gastos Personal		16200
Costes de Ejecución	Concepto	Coste	
	Gasto de software	550.96	
	Gasto de hardware	174.99	
	Total Gastos Ejecución		725.95
		Total Costes	16925.95

