



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial

Estudio mediante simulación de la insuficiencia cardíaca
con fracción de eyección preservada

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Biomédica

AUTOR/A: Rodríguez Lastras, Lucía

Tutor/a: Trénor Gomis, Beatriz Ana

Cotutor/a: Mora Fenoll, M^a Teresa

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial

ESTUDIO MEDIANTE SIMULACIÓN DE LA INSUFICIENCIA CARDÍACA CON FRACCIÓN DE EYECCIÓN PRESERVADA

Trabajo Fin de Grado
Grado en Ingeniería Biomédica

AUTORA: Rodríguez Lastras, Lucía
Tutora: Trénor Gomis, Beatriz Ana
Cotutora: Mora Fenoll, M^a Teresa
CURSO ACADÉMICO: 23/24

AGRADECIMIENTOS

A Bea y a Maite,

Por vuestra implicación conmigo y en el proyecto, gracias por la tranquilidad que me habéis transmitido a lo largo de estos meses.

A mi madre y a mi padre,

Por haber confiado en mi desde que soy pequeña y haberme dado todas las facilidades para llegar hasta aquí.

A mis amigos,

Por haber hecho de estos 4 años un camino mucho más fácil y una bonita etapa que siempre recordaré. Nada hubiera sido igual sin vosotros.

RESUMEN

La insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (HFpEF) es un síndrome en el cual el corazón no puede satisfacer las demandas metabólicas del cuerpo a pesar de tener una fracción de eyección normal (>50%). Para tratar esta condición de alta morbilidad, es crucial entender las anomalías estructurales y funcionales implicadas. No obstante, a diferencia de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida, las alteraciones en HFpEF son menos conocidas. Este trabajo implementa un remodelado del modelo computacional electromecánico del cardiomiocito ventricular sano ToR-ORD-Land con el objetivo de simular las características del fenotipo HFpEF.

Para lograr el objetivo, se tienen en cuenta una amplia variedad de experimentos *in vivo* e *in silico* de cardiomiocitos HFpEF. Además, se realiza un análisis de sensibilidad del modelo para identificar los parámetros más influyentes en los biomarcadores patológicos. El modelo generado se caracteriza por una elevación del calcio y de la tensión en la diástole, una ligera reducción en la sístole, y un aumento en la duración del transitorio de calcio, de la relajación de la tensión y del potencial de acción. El remodelado incluye la reducción de los parámetros J_{SERCA} , J_{Leak} y CaT_{50} , y, por otro lado, un aumento de I_{NCX} , I_{Cab} , J_{Rel} , I_{CaL} e I_{NaK} en comparación a su valor en cardiomiocitos sanos. Por otro lado, en el estudio se profundiza en la respuesta del modelo ante cambios de frecuencia y propone terapias para la patología que pueden guiar la investigación farmacológica en este tipo de insuficiencia cardíaca.

En resumen, el modelo generado en este trabajo contribuye significativamente a la investigación y comprensión de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.

Palabras clave: Insuficiencia cardíaca; modelos matemáticos; simulación; optimización; análisis de sensibilidad; población de modelos; estudio frecuencial; terapias.

RESUM

La insuficiència cardíaca amb fracció d'ejecció preservada (HFpEF) és un síndrome en el qual el cor no pot satisfer les demandes metabòliques del cos a pesar de tindre una fracció d'ejecció normal (>50%). Per tractar aquesta condició d'alta morbiditat, és crucial entendre les anomalies estructurals i funcionals implicades. No obstant això, a diferència de la insuficiència cardíaca amb fracció d'ejecció reduïda, les alteracions en HFpEF són menys conegudes. Aquest treball implementa un remodelat del model computacional electromecànic del cardiomiòcit ventricular saludable ToR-ORd-Land amb l'objectiu de simular les característiques del fenotip HFpEF.

Per aconseguir l'objectiu, es tenen en compte una àmplia varietat d'experiments *in vivo* i *in silico* de cardiomiòcits HFpEF. A més a més, es realitza una anàlisi de sensibilitat del model per a identificar els paràmetres més influents en els biomarcadors patològics. El model generat es caracteritza per una elevació del calci i de la tensió en la diàstole, una lleugera reducció en la sístole, i un augment en la duració del transitori de calci, de la relaxació de la tensió i del potencial d'acció. El remodelat inclou la reducció dels paràmetres J_{SERCA} , J_{Leak} i CaT_{50} , i, per un altre costat, un augment de I_{NCX} , I_{CaB} , J_{Rel} , I_{CaL} i I_{NaK} en comparació al seu valor en cardiomiòcits sans. D'altra banda, l'estudi aprofundeix en la resposta del model davant canvis de freqüència i proposa teràpies per a la patologia que poden guiar la investigació farmacològica en aquest tipus d'insuficiència cardíaca.

En resum, el model generat en aquest treball contribueix significativament a la investigació i comprensió de la insuficiència cardíaca amb fracció d'ejecció preservada.

Paraules clau: Insuficiència cardíaca; models matemàtics; simulació; optimització; anàlisi de sensibilitat; població de models; estudi freqüencial; teràpies.

ABSTRACT

Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) is a syndrome in which the heart cannot meet the body's metabolic demands despite having a normal ejection fraction (>50%). Understanding the structural and functional abnormalities involved in treating this high-morbidity condition is crucial. However, unlike heart failure with reduced ejection fraction, the alterations in HFpEF are less well-known. This work implements the remodelling of the ToR-ORD-Land computational electromechanical model of the healthy ventricular cardiomyocyte to simulate the characteristics of the HFpEF phenotype.

To achieve this goal, a wide variety of *in vivo* and *in silico* experiments of HFpEF cardiomyocytes were considered. Additionally, a sensitivity analysis was performed on the model to identify the most sensitive parameters related to pathological biomarkers. The generated model is characterised by elevated calcium and tension during diastole, a slight reduction during systole, and an increase in the duration of the calcium transient, tension relaxation, and action potential. The remodelling includes the decrease of the parameters J_{SERCA} , J_{Leak} y CaT_{50} and, on the other hand, the increase of I_{NCX} , I_{Cab} , J_{Rel} , I_{CaL} e I_{NaK} compared to their values in healthy cardiomyocytes. Furthermore, the study delves into how the model responds to changes in frequency and suggests treatments for this type of heart failure, which can guide pharmacological research.

In summary, the model generated in this work significantly contributes to the research and understanding of heart failure with preserved ejection fraction.

Keywords: Heart failure; mathematical models; simulation; optimisation; sensitivity analysis; models population; frequency study; therapies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Circulación mayor y menor y cavidades cardíacas. (https://enfermeria.top/apuntes/anatomia/conceptos-basicos/sistema-cardiovascular/ , s.f.)	4
Figura 2.2. Estructuras del sistema específico de conducción cardíaco. (Guindo Soldevilla, 2004).....	4
Figura 2.3. Estructura de las miofibrillas y los sarcómeros de un cardiomiocito. (Klabunde, 2021).....	5
Figura 2.4. Miofilamentos de los cardiomiocitos: filamento delgado y filamento grueso. (Hershel Raff, 2013).....	6
Figura 2.5. Estructura del sarcolema del cardiomiocito. (Biology Online Dictionary, s.f.).....	6
Figura 2.6. Potencial de acción ventricular y corrientes iónicas que los generan (Tsumoto et al., 2022)	8
Figura 2.7. Corrientes iónicas que participan en la generación automática de la PA en las células del nódulo sinoauricular (Andrew Tinker, 2018)	9
Figura 2.8. Ciclo Cardíaco (Fahim Faisal, 2022)	11
Figura 2.9. Relación entre el volumen ventricular izquierdo y la presión intraventricular durante la diástole y la sístole. (Hall, 2016)	12
Figura 2.10. Esquema representativo de los mecanismos durante el acoplamiento de excitación-contracción en el sarcolema y el retículo plasmático (M. Koeppen, 2008).....	13
Figura 2.11. Diferencias anatómicas y celulares entre un corazón sano, dos con HFpEF con diferentes comorbilidades, y otro con HFrEF (Frisk et al., 2021).....	15
Figura 2.12. Circuito eléctrico equivalente a la membrana celular. (Ferrero de Loma-Osorio, 2021)...	16
Figura 4.1. Representación del modelo del cardiomiocito ventricular ToR-ORd. (Tomek et al., 2019).	20
Figura 4.2. Modelo mecánico empleado para reproducir la respuesta viscoelástica (Tensión Pasiva) .	21
Figura 4. 3. Extracto del código "main" para ejecutar la simulación del modelo HFpEF.....	24
Figura 4.4. Instrucciones en formato texto (.txt) para ejecutar las poblaciones de modelos a través del clúster Rigel.	25
Figura 4.5. Representación de los biomarcadores empleados en el estudio de HFpEF del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión	26
Figura 4.6. Código que permite ejecutar la optimización	31
Figura 4.7. Extracto de código correspondiente a la generación de la población de modelos, en forma de matriz con nombre "variation"	32
Figura 5.1. Biomarcadores CaTD (Duración del Transitorio de Calcio) y CaTA (Aplitud del Transitorio de Calcio) obtenidos con el modelo ToR-ORd-Land en una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo), según las modificaciones que lleva a cabo Gong et al. (2020) en su artículo	35

Figura 5.2. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, en condiciones sanas y con HFpEF, obtenidos con el modelo ToR-ORd-Land y las modificaciones propuestas por Gong et al.(2020)	35
Figura 5.3. Representación de las sensibilidades relativas de cada biomarcador (eje Y) con cada uno de los parámetros seleccionados del modelo (eje X), en forma de mapa de calor (Heatmap)	36
Figura 5.4. Representación de las sensibilidades relativas intermedias de cada uno de los biomarcadores al variar los diferentes factores de escala de cada parámetro.....	38
Figura 5.5. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, en condiciones sanas (negro) y con el modelo HFpEF obtenido en la optimización (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.....	41
Figura 5.6. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de una población de 8 células HFpEF (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.....	44
Figura 5.7. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de la población HFpEF final de 6 células (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.....	46
Figura 5.8. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de una célula HFpEF, obtenida a través del modelo optimizado y definitivo, (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.....	49
Figura 5.9. Representación de la tensión (arriba) y el transitorio de calcio (abajo) durante 4 latidos a 2 Hz, en un modelo de célula sana (negro) y en el modelo HFpEF creado (rojo)	51
Figura 5.10. Representación de la tensión (arriba) y el transitorio de calcio (abajo) de una célula sana (negro) y una HFpEF (rojo) superpuestas tras un cambio repentino de 1 Hz a 2 Hz.....	52
Figura 5.11. Representación por medio de un gráfico de barras del incremento normalizado, entre control y HFpEF, en la tensión diastólica al cambiar a una frecuencia mayor, de los experimentos llevados a cabo por Runte et al. (2017) y nuestro modelo HFpEF	53
Figura 5.12. Relación Fuerza-Frecuencia de los modelos de cardiomiocito sano (negro), HFrEF (amarillo) y HFpEF (rojo). La tensión, medida en kPa, representa la amplitud de la fuerza (diferencia entre tensión máxima y mínima) y se grafica a distintas frecuencias (0.5, 0.7, 1, 1.5 y 2) en Hz.....	54
Figura 5.13. Representación de los 8 biomarcadores (APD ₉₀ , Calcio Diastólico, Calcio Sistólico, CaTD ₉₀ , Fuerza Máxima, Fuerza Mínima, RT ₉₀ , TTPT) en una célula sana (negro), una célula HFpEF (rojo) y en 8 células con una terapias distinta cada una (azul). En el eje Y se presentan los valores de los biomarcadores normalizados, mientras que en el eje X se muestran, además de las condiciones de la célula sana (CONTROL) y enferma (HFpEF), los parámetros a los que corresponden cada una de las terapias aplicada (J _{SERCA} , J _{Leak} , I _{NCX} , CaT ₅₀ , I _{CaB} , J _{Rel} , I _{CaL} , I _{NaK})	55
Figura 5.14. Representación del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión en una célula HFpEF con la terapia J _{SERCA} + I _{CaL} (azul), una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo)..	56
Figura 5.15. Representación del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión en 3 células con terapias diferentes (azul), una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo).....	57

LISTA DE TABLAS

Tabla 4.1. Resumen de las referencias bibliográficas extraídas de experimentos <i>in vivo</i> e <i>in silico</i> , divididas en biomarcadores y en parámetros del modelo. Un aumento de estos se indica con una flecha hacia arriba, asimismo una disminución con una flecha hacia abajo; en el caso de no variar se marca con el símbolo igual y si la variación es ligera el tamaño de la flecha es menor.	29
Tabla 5.1. Parámetros del modelo modificados por Gong et al. (2020) para la creación de su modelo HFpEF, con sus respectivas definiciones y el factor de escala por el que son multiplicados.....	34
Tabla 5.2. Objetivos de los biomarcadores empleados para la optimización respecto al valor de control (100%)	40
Tabla 5.3. Rangos de los parámetros a modificar para la optimización respecto al valor de control (100%)	40
Tabla 5.4. Rangos de variación de los biomarcadores que definen una célula HFpEF respecto al valor de control (100%).	42
Tabla 5.5. Primera modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la población respecto al valor de control (100%)	43
Tabla 5.6. Segunda modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la nueva población, tras observar los parámetros de 7 células HFpEF obtenidas en la anterior población.....	43
Tabla 5.7. Rangos de variación de los biomarcadores que definen la población de células HFpEF, respecto al valor de control (100%), tras añadir los nuevos parámetros I_{CaL} e I_{NaK}	45
Tabla 5.8. Tercera modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la población final, respecto al valor de control (100%), tras observar los parámetros de células HFpEF obtenidas en la anterior población	46
Tabla 5.9. Rangos definitivos de los factores de escala aplicados en la optimización para cada uno de los parámetros a modificar en el modelo final HFpEF, respecto al valor de control (100%).....	47
Tabla 5.10. Objetivos de los biomarcadores introducidos en la optimización, respecto al valor de control (100%), para obtener el modelo HFpEF final	48
Tabla 5.11. Valores definitivos de los factores de escala de cada uno de los parámetros y de los biomarcadores que definen el modelo celular HFpEF, respecto al valor de control (100%).....	49
Tabla 1. Presupuesto desglosado de la mano de obra.	66
Tabla 2. Coste desglosado sin IVA del hardware	67
Tabla 3. Coste desglosado sin IVA del software.....	67
Tabla 4. Coste total del proyecto	68
Tabla 5. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS

$[X]_e$	Concentración de un ion X en el medio extracelular
$[X]_i$	Concentración de un ion X en el medio intracelular
τ_{hf}	Constante de tiempo de la compuerta de inactivación de la corriente de Na^+
τ_{jCa}	Constante de tiempo de la compuerta de inactivación del Ca^{2+} tipo L
$[Ca^{2+}]_i$	Concentración del ion calcio en el medio intracelular
$[Na^+]_i$	Concentración del ion sodio en el medio intracelular
AD	Aurícula Derecha
AI	Aurícula Izquierda
APD ₉₀	Duración del potencial de acción hasta el 90% de la repolarización
AV	Auriculo-ventricular
Ca^{2+}	Ion Calcio
Ca_i	Calcio en el medio intracelular
CaMKII	Proteína quinasa II dependiente del complejo Ca^{2+} /calmodulina
CaT ₅₀	Sensibilidad de la unión del calcio a la troponina C
CaTA	Amplitud de la corriente de calcio
CaTD ₉₀	Duración del Transitorio de Calcio al 90% de reestablecerse
CICR	<i>Calcium Induced Calcium Release</i>
CL	Longitud del ciclo de estimulación o <i>Cycle Length</i>
Cl^-	Ion Cloro
C_m	Capacidad eléctrica de la membrana
$D_{c,p,x}$	Porcentaje de cambio
ECG	Electrocardiograma
E_x	Potencial de equilibrio del ion X
F_1	Parámetro exponencial del modelo viscoelástico pasivo
F_2	Parámetro lineal del modelo viscoelástico pasivo
F_d	Parámetro del modelo viscoelástico pasivo
G_x	Conductancia del canal del ion X
HFimpEF	<i>Heart Failure with improved Ejection Fraction</i>
HFmeEF	<i>Heart Failure mildly reduced Ejection Fraction</i>
HFpEF	<i>Heart Failure with preserved Ejection Fraction</i>
HFReEF	<i>Heart Failure with reduced Ejection Fraction</i>

HHD	<i>Heart Hypertension Disease</i>
$I_{(Ca)Cl}$	Corriente de Cl^- activada con Ca^{2+}
IC	Insuficiencia Cardíaca
I_{Cab}	Corriente de Ca^{2+} de fondo
I_{CaK}	Corriente K^+ que pasa por los canales lentos de Ca^{2+} (tipo L)
I_{CaL}	Corriente de Ca^{2+} que pasa por los canales lentos de Ca^{2+} (tipo L)
I_{CaNa}	Corriente de Na^+ que pasa por los canales lentos de Ca^{2+} (tipo L)
I_{Clb}	Corriente de Cl^- de fondo
I_{K1}	Componente de rectificación interna
I_{kb}	Corriente de K^+ de fondo
I_{Kr}	Componente rápida de la corriente de rectificación tardía de K^+
I_{Ks}	Componente lenta de la corriente de rectificación tardía de K^+
I_{Na}	Corriente rápida de Na^+
I_{Nab}	Corriente de Na^+ de fondo
I_{NCX}/I_{NaCa}	Corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+}
I_{pCa}	Corriente de Ca^{2+} de la bomba del sarcolema (<i>Pump current</i>)
I_{to}	Corriente transitoria de K^+
J_{Leak}	Flujo de fuga de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico a través de la bomba SERCA
J_{Rel}	Flujo de liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico al citoplasma por los receptores de rianodina
J_{up}/J_{SERCA}	Flujo de Ca^{2+} que pasa del citosol al retículo atravesando la bomba SERCA
K^+	Ion Potasio
LVEF	<i>Left Ventricle Ejection Fraction</i>
Na^+	Ion Sodio
ORd	Modelo computacional de un cardiomiocito sano de O'Hara et al. (2011)
PA	Potencial de acción
RS	Retículo Sarcoplásmico
RT_{90}	Tiempo de relajación de la tensión al 90% de reestablecerse.
R_x	Resistencia eléctrica del canal del ion X
RyR2	Receptores de Rianodina
SA	Sinoauricular
$S_{c,p}$	Sensibilidad
SFTP	<i>SSH File Transfer Protocol</i>

T_a	Tensión Activa
TnC	Troponina C
ToR-ORd	Modelo computacional de un cardiomiocito sano de Tomek et al. (2019)
ToR-ORd- Land	Modelo computacional electromecánico constituido por el acoplamiento del modelo ToR-ORd, de Tomek et al. (2019), y Land, de Land et al. (2017).
T_p	<i>Tensión Pasiva</i>
TTPT	Tiempo al pico de tensión
VD	Ventrículo Derecho
VI	Ventrículo Izquierdo
V_m	Potencial de membrana

ÍNDICE

ÍNDICE DE LA MEMORIA

RESUMEN	III
RESUM	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IX

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN.....	2
------------------------------------	----------

CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN	3
---------------------------------------	----------

2.1. Anatomía Cardíaca	3
2.1.1. Estructuras a Nivel de Órgano.....	3
2.1.1.1. Estructuras internas	3
2.1.1.2. Estructuras externas	3
2.1.1.3. Estructuras del sistema de conducción	4
2.1.1. Estructuras a Nivel Celular	5
2.2. Electrofisiología Cardíaca	7
2.2.1. Potencial de Membrana	7
2.2.2. Potencial de Acción	7
2.2.3. Automaticidad y Propagación del Impulso Eléctrico.....	9
2.2.4. Electrocardiograma	10
2.3. Mecánica Cardíaca.....	10
2.3.1. Ciclo Cardíaco.....	10
2.3.2. Mecanismos de Bombeo del Ventrículo Izquierdo	11
2.3.3. Acoplamiento Excitación-Constracción	12
2.4. Insuficiencia Cardíaca	13
2.4.1. Insuficiencia Cardíaca con Fracción de Eyección Reducida (HFrEF).....	14
2.4.2. Insuficiencia Cardíaca con Fracción de Eyección Preservada (HFpEF)	14
2.5. Modelo Cardíaco Numérico	15
2.5.1. Modelado Eléctrico Celular	15
2.5.2. Modelos Cardíacos Actuales	17

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	18
CAPÍTULO 4. MÉTODOS	19
4.1. Modelos Numéricos	19
4.1.1. Modelo ToR-ORd	19
4.1.2. Modelo Land	21
4.1.3. Acoplamiento de los Modelos ToR-ORd y Land	22
4.1.4. Lanzamiento de una Simulación Básica en ToR-ORd-Land	23
4.1.4.1. Protocolos de ejecución en el estudio frecuencial.....	24
4.1.4.2. Protocolos de ejecución en el clúster Rigel.....	24
4.2. Medida de Biomarcadores	25
4.3. Modelado HFpEF	26
4.3.1. Modificación de Parámetros	26
4.3.2. Análisis de Sensibilidad	26
4.3.3. Comportamiento de un Cardiomiocito con HFpEF	27
4.3.4. Optimización	30
4.3.5. Población de Modelos	31
4.3.6. Terapias	32
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	33
5.1. Comparación del Modelo HFpEF en ORd Y ToR-ORd-Land	33
5.2. Análisis de Sensibilidad.....	36
5.3. Optimización.....	39
5.4. Poblaciones Celulares.....	41
5.5. Optimización Final	47
5.6. Estudio Frecuencial.....	50
5.6.1. Respuesta Frecuencial del Modelo HFpEF	50
5.6.2. Respuesta ante un Cambio Frecuencial Brusco del Modelo HFpEF.....	51
5.6.3. Comparación de la Relación Fuerza-Frecuencia entre el Modelo Sano, HFpEF y HFrEF	53
5.7. Terapias	54
CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN	59
CAPÍTULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61

ÍNDICE DEL PRESUPUESTO

1. INTRODUCCIÓN	66
2. PRESUPUESTO DETALLADO	66
2.1. Coste de <i>Mano de Obra</i>	66
2.2. Coste de <i>Hardware</i>	67
2.3. Coste de <i>Software</i>	67
2.4. Coste Total	68

ANEXO I. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030.....	69
--	-----------

MEMORIA

CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo, entre ellas se encuentra la insuficiencia cardíaca, un síndrome cuya prevalencia aumenta con la edad, siendo progresivo y letal (Rodríguez-Artalejo et al., 2004).

Son muchos los tipos de insuficiencia cardíaca, es por ello por lo que es importante entender los mecanismos que caracterizan a cada uno de estos, de modo que puedan ser diagnosticados y tratados con eficacia. Entre ellas se encuentra la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (conocida por sus siglas en inglés como HFpEF), esta impide satisfacer las demandas metabólicas del organismo a pesar de tener una fracción de eyección dentro de rangos normales. A diferencia de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida, su conjunto de alteraciones electrofisiológicas y mecánicas en HFpEF son menos conocidas. El uso de modelos para la simulación computacional permite realizar análisis mecanísticos que pueden ayudar a revelar las causas de dichas alteraciones.

El estudio mediante simulación de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada que se realiza en el presente TFG permite desarrollar un modelo computacional que simula la actividad de un cardiomiocito con HFpEF. Asimismo, permite llevar a cabo otros estudios sobre dicho modelo, como son su respuesta frecuencial y la búsqueda de terapias. Todo ello abre las puertas a una investigación más profunda en este tipo de insuficiencia cardíaca, motivando a la búsqueda de una terapia que permita tratar a las personas que sufren HFpEF.

El hecho de contribuir a la investigación de una enfermedad cardiovascular poco conocida lo convierte en mi principal motivación a la hora de desarrollar este estudio. Además, que ello sea aplicando los conocimientos adquiridos a lo largo de estos 4 años, en especial los de bioelectricidad y programación en Matlab, así como los aprendidos en fisiología humana, me ha motivado aún más a sacar adelante este estudio en colaboración con el instituto de investigación CI2B, en particular, gracias a la gran ayuda de las doctoras Beatriz Trénor y Maite Mora.

Por último, la elaboración de modelos computacionales cuyo fin es simular comportamientos bioeléctricos y el desarrollo de softwares que permiten resolver dichos modelos, forman parte de una labor propia de la Ingeniería Biomédica y se abordan en este TFG. Dentro de las competencias específicas del Grado en Ingeniería Biomédica que tiene lugar en la Universidad Politécnica de Valencia, se trata de la número 14 y está descrita como: “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”. Esta competencia será la desarrollada a lo largo del presente Trabajo Fin de Grado. Además de todo ello, el trabajo se alinea con el Objetivo de Desarrollo Sostenible “Salud y bienestar” recogido en la Agenda 2030, cuya meta es garantizar una vida saludable y promover el bienestar universal, contribuyendo con la investigación de las enfermedades cardiovasculares.

CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

2.1. Anatomía Cardíaca

El corazón es un órgano vital hueco, ubicado en el mediastino medio y ligeramente inclinado hacia la izquierda que descansa sobre el diafragma. Su función es impulsar la sangre oxigenada al cuerpo.

2.1.1. Estructuras a Nivel de Órgano

2.1.1.1. Estructuras internas

El corazón se compone de 4 compartimentos, la aurícula derecha y la izquierda (parte posterosuperior) y el ventrículo derecho y el izquierdo (parte anteroinferior). Cada aurícula se comunica con el ventrículo correspondiente a partir de una válvula, la tricúspide en el lado derecho y la mitral en el izquierdo, con el objetivo de mantener el flujo sanguíneo de manera unidireccional. Asimismo, otras dos válvulas más se sitúan conectando cada ventrículo con la red de vasos sanguíneos, en el lado derecho se encuentra la válvula pulmonar, la cual da paso a los pulmones, y en el izquierdo la aortica, la cual da paso al resto del cuerpo. Por otro lado, las cavidades situadas a la derecha están aisladas de aquellas en la izquierda por medio del tabique interauricular e interventricular (Real Academia Nacional de Medicina de España., 2012).

Por otro lado, la pared del corazón está compuesto por 3 capas distintas. En primer lugar, la más interna, el endocardio, una capa fina que envuelve el interior de las cámaras cardíacas y constituye, además, la superficie de las válvulas. En segundo lugar, el miocardio, la capa intermedia y de mayor grosor, esta está compuesta por tejido muscular cardíaco y, por tanto, es la que permite la contracción y relajación del órgano. Por último, la capa más externa, el pericardio, dividido en parietal y visceral, tiene una función de protección y sujeción del corazón con las estructuras que le rodean.

2.1.1.2. Estructuras externas

La sangre llega a todo el cuerpo gracias a la circulación sanguínea, que viene facilitada por dos circuitos, los cuales pueden observarse en la Figura 2.1. Por un lado, el pulmonar o menor, constituido por las arterias y venas pulmonares, que parte del ventrículo derecho (VD) y acaba en la aurícula izquierda (AI). Por otro lado, el sistémico o mayor, formado por las arterias y venas sistémicas, que parte del ventrículo izquierdo (VI) y acaba en la aurícula derecha (VD).

Asimismo, el miocardio también precisa de oxígeno para llevar a cabo su función de bombeo, es por ello por lo que está rodeado por un sistema vascular propio llamado circulación coronaria. Se trata de unos vasos sanguíneos, arterias y venas coronarias, que se ramifican desde la arteria aorta, de modo que la sangre oxigenada pueda llegar a todo el tejido muscular cardíaco, y vuelven por el seno coronario a la aurícula derecha.

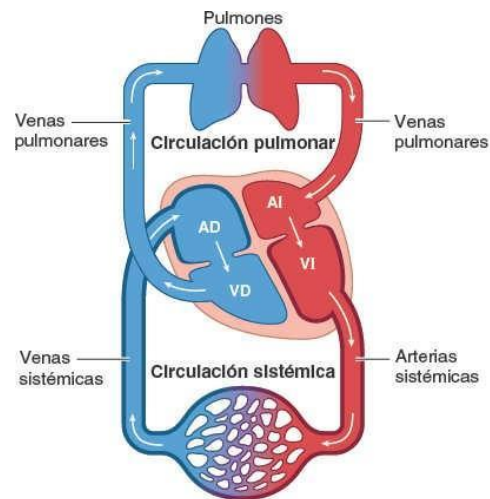


Figura 2.1. Circulación mayor y menor y cavidades cardíacas.
(<https://enfermeria.top/apuntes/anatomia/conceptos-basicos/sistema-cardiovascular/>, s.f.)

2.1.1.3. Estructuras del sistema de conducción

El sistema de conducción eléctrico cardíaco permite una coordinación adecuada entre la contracción de las aurículas y los ventrículos. Está compuesto por distintas estructuras representadas en la Figura 2.2.

El **nodo sinoauricular** (SA). Un conjunto de células, ubicadas en la aurícula derecha, que dan comienzo automáticamente al impulso eléctrico propagándose por las vías internodales, gracias a la influencia del sistema nervioso autónomo que inerva al corazón. Estos miocitos diferenciados del resto se denominan células marcapasos o de respuesta lenta.

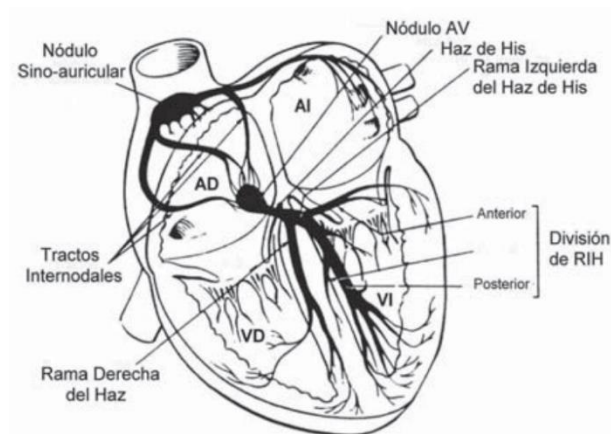


Figura 2.2. Estructuras del sistema específico de conducción cardíaco. (Guindo Soldevilla, 2004)

El **nodo auriculoventricular (AV)**. Agrupación de células especializadas ubicadas entre la aurícula y el ventrículo derecho, siendo esta la única conexión entre los sistemas de conducción de dichas cámaras. Se encargan de retrasar el impulso eléctrico, permitiendo el llenado del ventrículo y la protección de este ante arritmias ventriculares.

El **haz de His**. Estructura formada por células automáticas que conduce el impulso del nodo AV hasta el ápex del corazón, dividiéndose en dos ramas que permiten alcanzar ambos ventrículos.

El **sistema de Purkinje**. Constituido por las ramificaciones del haz de His que posibilitan la propagación de la corriente eléctrica a las células contráctiles, contribuyendo a la despolarización y, por tanto, la contracción ventricular de manera casi inmediata.

2.1.2. Estructuras a Nivel Celular

El miocardio se compone de células de músculo liso, fibroblastos y miocitos cardíacos. Estos últimos, también llamados cardiomiocitos, son las células contráctiles del corazón y conforman las fibras musculares del mismo.

Los cardiomiocitos están unidos entre sí por medio de los discos intercalares, un conjunto de complejos de unión, que permiten que el impulso eléctrico se propague a lo largo de las fibras. Cada célula cardíaca está formada por miofibrillas, que a su vez cuentan con sarcómeros, la unidad básica contráctil del cardiomiocito. Esta unidad está limitada por dos discos Z y compuesta por 2 tipos de miofilamentos. Todo ello se observa con detalle en la Figura 2.3.

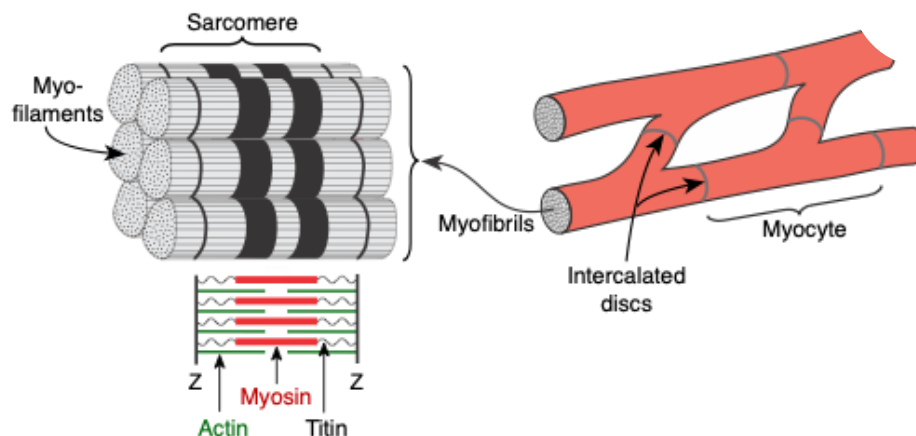


Figura 2.3. Estructura de las miofibrillas y los sarcómeros de un cardiomiocito. (Klabunde, 2021)

Por un lado, los filamentos gruesos, en el centro del sarcómero, están formados por miosina. Esta molécula consta de una cola y dos cabezas globulares que protruyen hacia el exterior conformando los puentes cruzados. Por otro lado, los filamentos delgados, formados por la proteína globular actina y por el complejo de proteínas tropomiosina-troponina. Ambos se observan en la Figura 2.4.

Estos dos filamentos, al encontrarse interdigitados en el sarcómero, interaccionarán entre ellos, dando lugar a su deslizamiento y, por tanto, al acortamiento del sarcómero, lo que implica la contracción del músculo.

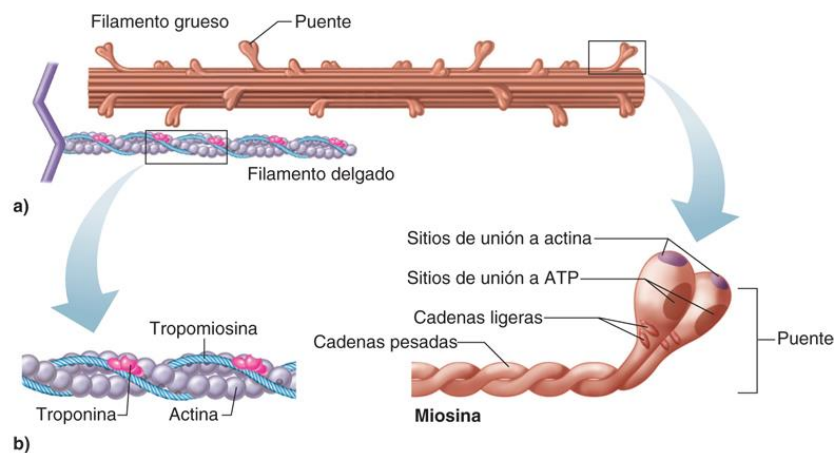


Figura 2.4. Miofilamentos de los cardiomiocitos: filamento delgado y filamento grueso. (Hershel Raff, 2013)

Por otro lado, el sarcolema, la membrana plasmática de los cardiomiocitos que define la fibra muscular, su estructura básica se muestra en la Figura 2.5. Su naturaleza lipídica permite el transporte selectivo de partículas del interior al exterior celular y viceversa, es por ello por lo que consta de canales y bombas de iones que permitirán el paso de estos para poder transmitir el impulso eléctrico.

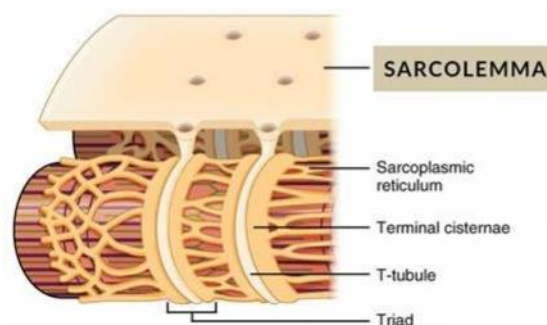


Figura 2.5. Estructura del sarcolema del cardiomiocito. (Biology Online Dictionary, s.f.)

A lo largo de dicha membrana se encuentra un sistema tubular de invaginaciones llamado Túbulos T, que llega al interior de las fibras musculares y conducirán dicha señal eléctrica a las proximidades del retículo sarcoplásmico. Este último orgánulo se compone de una gran red de membranas que rodean a cada miofibrilla, agrupadas en cisternas terminales, las cuales junto a los túbulos T forman las denominadas triadas. Será clave en el acoplamiento excito-contráctil del cardiomiocito, explicado posteriormente.

2.2. Electrofisiología Cardíaca

La activación eléctrica del corazón es fundamental para el desarrollo del ciclo de contracción y relajación. A continuación, se describen los mecanismos que participan en la generación y propagación del impulso eléctrico.

2.2.1. Potencial de Membrana

La membrana plasmática cardíaca o sarcolema, está formada por una bicapa fosfolipídica a través de la cual se lleva a cabo el transporte de sustancias entre el medio intracelular y el extracelular. Ello se da gracias a los canales iónicos, bombas e intercambiadores, proteínas transmembrana cuya función es permitir el flujo de iones.

Dicho movimiento de aniones y cationes será el desencadenante de los estímulos que se propagan como potenciales eléctricos y viene dado por dos fenómenos. Por un lado, la difusión, que tiende a generar un movimiento de partículas cargadas de las zonas de mayor a menor concentración. Por otro lado, el campo eléctrico, que moverá las partículas de las zonas de mayor a menor potencial eléctrico.

Los principales iones que encontramos en movimiento a través de la membrana plasmática son: el potasio (K^+) cuya concentración, en reposo, predomina en el interior celular, y el calcio (Ca^{2+}), el cloro (Cl^-) y el sodio (Na^+), los cuales se encuentran en mayor cantidad fuera del cardiomiocito, también en reposo. Esta diferencia de concentraciones y de cargas provocará, por tanto, un movimiento de estas partículas, generando un potencial de membrana, medido en mV como la diferencia entre el potencial intracelular y el extracelular.

En reposo, el sarcolema presenta un valor de potencial negativo, de alrededor de -85 mV, el cual se debe a el equilibrio existente entre el gradiente por concentración y el electrostático, mantenido por la actividad de la ATPasa Na^+/K^+ y el intercambiador Na^+Ca^{2+} .

2.2.2. Potencial de Acción

El potencial de acción (PA) se define como el cambio repentino del potencial negativo en reposo de la membrana de células excitables, tras la llegada de un estímulo suficientemente intenso (Real Academia Nacional de Medicina de España., 2012).

Dicho cambio de potencial se debe a una variación de los iones tanto dentro como fuera de la célula, por lo que los canales iónicos adquieren gran importancia en este proceso. Estas proteínas transmembrana presentan diferentes probabilidades de activación o inactivación de sus compuertas, en función del potencial de membrana y/o la concentración de ligando.

Son 4 las fases del potencial de acción en un cardiomiocito ventricular, se puede ver en la Figura 2.6.

Despolarización - Fase 0

El potencial de membrana pasa del reposo (-80 mV) a valores positivos en pocos milisegundos. Es la llegada del estímulo la que provoca una apertura de los canales rápidos de sodio (Na^+) y permite la entrada del catión. La amplitud y la corta duración de esta fase serán decisivas en la propagación del impulso.

Repolarización inicial - Fase 1

Se trata del pequeño descenso en el potencial de membrana previo a la meseta. Su causa viene dada por la inactivación de los canales de Na^+ y la activación de la corriente transitoria rápida de salida de K^+ , I_{to} .

Meseta - Fase 2

El potencial de membrana se mantiene entre los 0 y los 20 mV, se trata de un equilibrio dado por la entrada y salida de diferentes corrientes.

Por un lado, la entrada de Na^+ (I_{Na}) y la entrada de Ca^{2+} por los canales de calcio tipo L, caracterizada por una lenta activación e inactivación de las compuertas de sus canales. Por otro lado, la salida del K^+ , la cual viene dada por la corriente de potasio rápida (I_{Kr}).

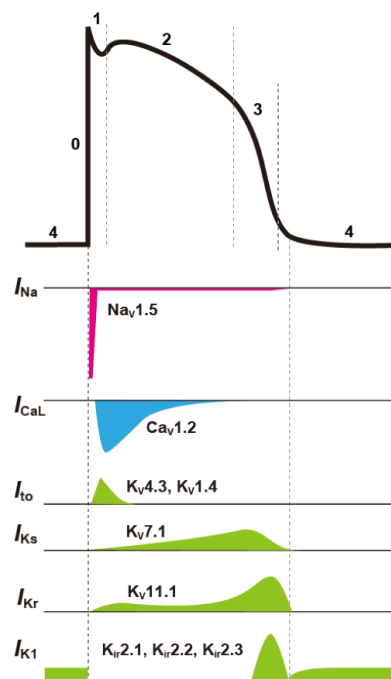


Figura 2.6. Potencia de acción ventricular y corrientes iónicas que los generan (Tsumoto et al., 2022).

Repolarización - Fase 3

Los canales correspondientes a las corrientes de entrada de Na^+ y de Ca^{2+} se inactivan, por lo que al permanecer únicamente los canales de K^+ activos y no presentar estas compuertas de inactivación, el potencial de membrana desciende a valores negativos. A la corrientes iónica de salida de K^+ que ya estaba activa en la fase anterior se une la corriente de potasio lenta I_{Ks} .

Finalmente, aparece la corriente I_{K1} , la cual siempre presenta sus canales abiertos y mantiene el potencial de reposo.

Reposo - Fase 4

El cardiomiocito se mantiene en valores de -80 mV, gracias a la ya nombrada I_{K1} y al cierre de las compuertas de activación de I_{Kr} e I_{Ks} .

2.2.3. Automaticidad y Propagación del Impulso Eléctrico

Las células cardíacas se excitan por un estímulo que genera un cambio de potencial en su membrana, generando así el impulso eléctrico, el cual se transmite hacia las membranas de las células vecinas, excitándolas y propagando así el potencial de acción (PA). No obstante, el potencial se inicia automáticamente, sin recibir dicho estímulo, para que se dé su comienzo en unas células específicas. Son las células marcapasos, situadas en el nodo sinoauricular (SA), las encargadas de generar de manera espontánea el potencial de acción, gracias a su capacidad de autoexcitación. Dicho PA se diferencia del de los cardiomiocitos ventriculares por su inexistente fase de reposo y de meseta, entre otras cosas.

En primer lugar, durante la diástole, las células del nodo SA presentan una fase 4 de despolarización lenta, que aumenta el potencial de membrana al nivel umbral de despolarización. Esto se debe a que los canales de I_{K1} , encargados de mantener el potencial de reposo, no se expresan apenas en estos cardiomiocitos. Será la corriente entrante de sodio o corriente Funny (I_f) la que gobierne dicha fase 4, por medio de los canales de Na^+ . Cuanto mayor sea dicha corriente, mayor será la pendiente de la despolarización y por tanto mayor será la frecuencia cardíaca.

Por otro lado, la fase de repolarización tendrá origen en la activación de los canales Ca^{2+} tipo L y tipo T, y la de despolarización por medio de la desactivación de la misma y de la activación de varias corrientes de potasio, mostradas en la Figura 2.7.

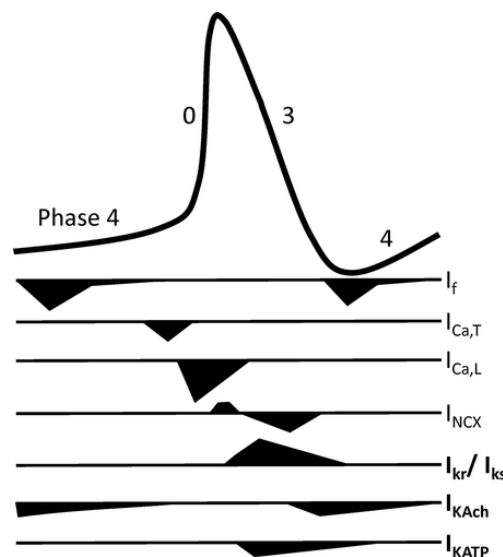


Figura 2.7. Corrientes iónicas que participan en la generación automática del PA en las células del nódulo sinoauricular (Andrew Tinker, 2018)

Una vez las células del nodo SA generan el estímulo inicial, este se propaga a través de las aurícula hacia el nodo auriculoventricular (AV). Las células de esta región también presentan automaticidad, es decir, despolarización diastólica, no obstante, su frecuencia es menor por lo que siempre vendrán excitadas por el PA proveniente del nodo SA, a no ser que este falle y tengan que actuar de marcapasos cardíaco en su lugar. También presentan actividad automática los tractos internodales auriculares y el sistema de His-Purkinje, pero no las fibras musculares auriculares y ventriculares.

La conducción a través de las fibras musculares del impulso eléctrico ya generado tiene lugar, por tanto, a través de las uniones GAP, unos canales situados en los discos intercalares que comunican el interior de una célula con el de su célula vecina y permiten el desplazamiento de los iones. Este movimiento no se dará por difusión, sino que tendrá lugar por la diferencia de potencial entre las células contiguas.

2.2.4. Electrocardiograma (ECG)

La actividad eléctrica del conjunto de cardiomiocitos resulta en la excitación del corazón entero, comenzando desde el nodo SA, en las aurículas, pasando por el nodo AV, haz de His y fibras de Purkinje hasta llegar a los ventrículos. La propagación del PA por todo el corazón da lugar a una variación de potencial que se registra en el torso del paciente y en sus extremidades, la cual puede representarse en forma de onda a partir de la señal del electrocardiograma (ECG).

Se trata de la señal más empleada en el ámbito clínico, ya que permite evaluar la eficiencia eléctrica y mecánica del corazón. Las diferentes ondas de la señal que se van generando durante el ciclo cardíaco permiten evaluar el ritmo cardíaco, así como la contracción y relajación del órgano.

Gracias al ECG se puede comprender de mejor modo el efecto a nivel de órgano que genera cada uno de los cardiomiocitos que componen el tejido muscular cardíaco.

2.3. Mecánica Cardíaca

2.3.1. Ciclo Cardíaco

La función principal del corazón es la de bombear la sangre hacia el sistema circulatorio, esta viene dada por una secuencia de mecanismos, repetidos en cada ciclo cardíaco.

El ciclo cardíaco, generado por el potencial de acción, permite la contracción y relajación, sístole y diástole respectivamente, de las cámaras cardíacas (ventrículos y aurículas). A continuación, se describe detalladamente la mecánica de un ciclo cardíaco completo, la cual se puede dividir en dos fases:

Sístole ventricular

Se trata de la contracción isovolumétrica de los compartimentos ventriculares, la cual tiene que ver con el cambio en el volumen de estos, en verde oscuro en la Figura 2.8.

Tiene comienzo tras el cierre de las válvulas auriculoventriculares y se genera rápidamente una elevada presión intraventricular. Lo que genera la apertura de las válvulas semilunares y da comienzo a la segunda fase de la sístole o eyección, donde la sangre se expulsa hacia los grandes vasos. Entorno a un

70% de la sangre es expulsada durante esta fase. Se trata de la contracción isotónica, donde la longitud de las fibras disminuye, la presión de la cámara disminuye y las válvulas se cierran.

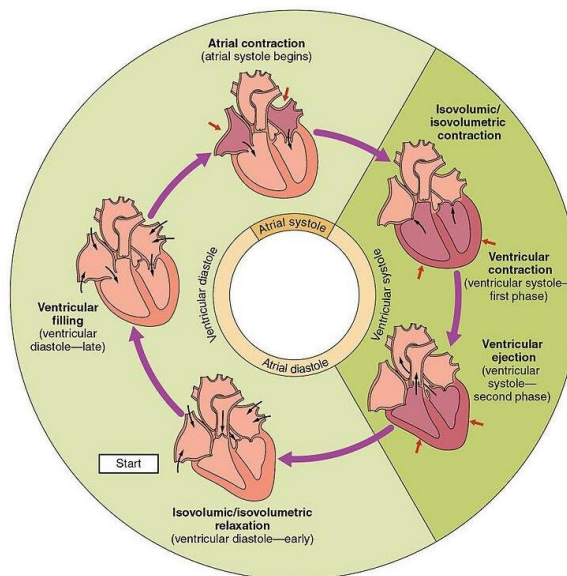


Figura 2.8. Ciclo Cardíaco (Fahim Faisal, 2022)

Diástole Ventricular

Tiene comienzo con una rápida fase de relajación en la cual la presión intraventricular cae, es la relajación isovolumétrica. Posteriormente, tras la apertura de las válvulas auriculoventriculares, la sangre fluye hacia los ventrículos para dar lugar al llenado de estos. Este último suceso tiene lugar gracias a la sístole auricular, único momento en el cual dichas cámaras superiores se contraen, estando el resto del ciclo relajadas.

2.3.2. Mecanismos de Bombeo del Ventrículo Izquierdo

Durante la diástole y la sístole ventricular se puede medir tanto el volumen como la presión de la cavidad, ello permite obtener las curvas de volumen-presión del ciclo cardíaco, observadas en la Figura 2.9. Este diagrama consta de 4 fases:

1. **Periodo de llenado.** Aumenta el volumen ventricular hasta el máximo, aproximadamente 120 ml, mientras que la presión sigue a niveles mínimos.
2. **Periodo de contracción isovolumétrica.** Aumenta la presión intraventricular, sin variar el volumen, debido al cierre de las válvulas.
3. **Periodo de eyección.** El volumen disminuye debido a la fuerza aplicada, la presión sistólica o máxima se alcanza.
4. **Periodo de relajación isovolumétrica.** El cierre de la válvula aórtica y el volumen vuelve al valor mínimo de llenado y de presión diastólica.

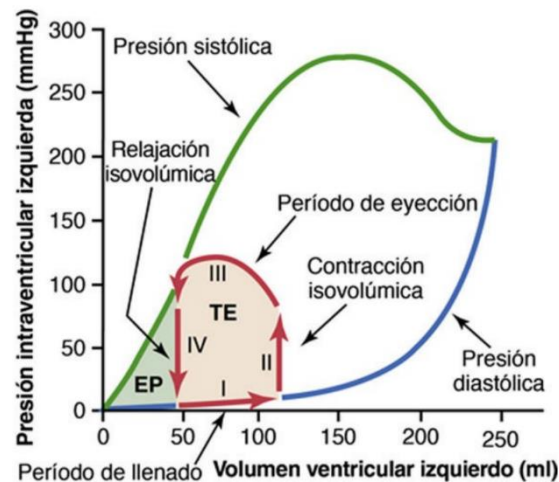


Figura 2.9. Relación entre el volumen ventricular izquierdo y la presión intraventricular durante la diástole y la sístole. (Hall, 2016)

La curva de presión diastólica representa la presión generada antes de la contracción ventricular o presión telediastólica, fase 2. De mismo modo, la curva de la presión sistólica muestra la presión generada durante la contracción del ventrículo.

2.3.2. Acoplamiento Excitación-Contracción.

La contracción de cada miocito es consecuencia de un conjunto de fenómenos que comienzan con la despolarización de la membrana celular o sarcolema y culmina a nivel de los miofilamentos con la contracción. A continuación, se explican en detalle.

Son dos las estructuras principales que participan en el proceso. En primer lugar, el sarcolema, formado por los canales de calcio tipo L, los intercambiadores $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, la bomba Ca^{2+} -ATPasa, los cuales contribuyen a los niveles de Ca^{2+} intracelular. Por otro lado, el retículo sarcoplásmico (RS) se encarga de almacenar Ca^{2+} en su interior, función regulada por la bomba SERCA2 (Ca^{2+} -ATPasa del RS), y los canales de liberación J_{Rel} , también conocidos como canales de rianodina (RyR2).

Cuando el impulso eléctrico se propaga a través de las fibras musculares despolariza la membrana plasmática, dando lugar a una entrada de calcio por los canales de I_{CaL} y el intercambiador NCX. A su vez esta entrada de calcio provoca la liberación de este desde el RS al medio intracelular, por medio de los canales de RyR2 , ya que son directamente dependientes al voltaje y al ligando Ca^{2+} . A este proceso se le denomina liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} o CICR (*Calcium Induced Calcium Release*).

A continuación, la alta concentración de este catión favorece su unión a la troponina C (TnC), en los filamentos delgados de las miofibrillas, dando lugar a la interacción de las proteínas actina y miosina, formando los puentes cruzados. Este complejo genera una tensión celular que provoca el acortamiento de los filamentos, ya que los estos se desplazan unos sobre otros, desembocando en la contracción de las fibras.

Posteriormente, tiene lugar la relajación o repolarización celular. El calcio debe ser extruido del citosol y para ello contribuyen, por una parte, la corriente I_{NCX} y la bomba Ca^{2+} -ATPasa del sarcolema y, por otro lado, en mayor cantidad, la bomba SERCA2, que secuestra al ion de nuevo hacia el RS.

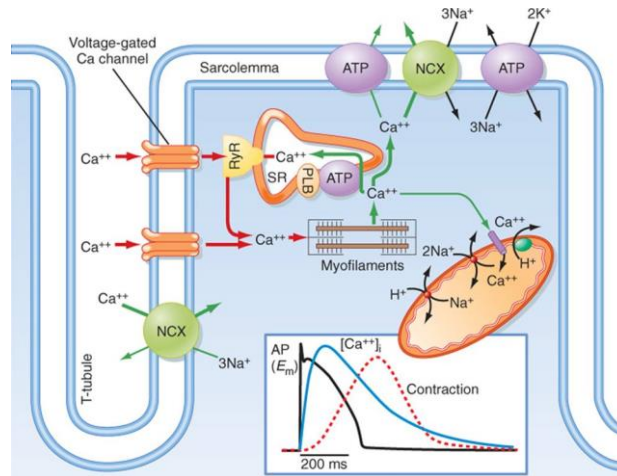


Figura 2.10. Esquema representativo de los mecanismos durante el acoplamiento de excitación-contracción en el sarcolema y el retículo plasmático (M. Koeppen, 2008)

2.4. Insuficiencia Cardíaca

La insuficiencia cardíaca (IC) es la patología en la cual el corazón bombea una cantidad de sangre insuficiente para mantener las necesidades del organismo. El inadecuado funcionamiento cardíaco da lugar a un gasto cardíaco disminuido, lo que supone la insuficiente llegada de oxígeno a los tejidos, y a un aumento de la presión venosa, lo cual implica la congestión pulmonar o sistémica, en función del ventrículo afectado.

Su origen suele presentar múltiples causas, en la mayoría de los casos la IC se presenta junto a otras enfermedades, llegando a coexistir tres o más condiciones de comorbilidad y siendo, en gran parte de casos, el estado final de enfermedades como la miocardiopatía isquémica o hipertrófica.

Además, la IC da lugar a mecanismos compensadores que tratan de mejorar la perfusión a los tejidos, estos efectos tendrán consecuencias a largo plazo, remodelando las propiedades electromecánicas del miocardio. Dichos cambios incluyen modificaciones estructurales y alteraciones en los canales iónicos y en el acoplamiento celular.

Este estado fisiopatológico puede clasificarse, en primer lugar, según el mecanismo alterado sea la contracción o la relajación del músculo cardíaco, dando lugar a la IC Sistólica o a la IC Diastólica, respectivamente. Por otro lado, según el tiempo necesario para restablecer los mecanismos de compensación se puede diferenciar entre IC aguda y crónica. Por último, la clasificación en función de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (LVEF) se divide en IC con Fracción de Eyección reducida (HFrEF), preservada (HFpEF), mejorada (HFimpEF) o levemente reducida (HFmeEF) (Paul A. Heidenreich, 2022). A continuación, se explican las dos primeras.

2.4.1. Insuficiencia Cardíaca con Fracción de Eyección Reducida (HFrEF)

Este tipo de IC también llamado HFrEF (Heart Failure with Reduced Ejection Fraction) se caracteriza por poseer una fracción de eyección del ventrículo izquierdo inferior o igual al 40%.

La principal alteración en este tipo de IC es el remodelado excéntrico, causado por el daño y pérdida del tejido muscular dando lugar a un desequilibrio en la estructura de la pared cardíaca, acompañado de la dilatación del ventrículo izquierdo. Además, sus cardiomiocitos se vuelven finos y elongados, mostrando una densidad baja de miofibrillas y, en consecuencia, una tensión pasiva disminuida. Todo ello lleva a un desarrollo de una disfunción sistólica.

Por último, a nivel celular, sus mecanismos de regulación del calcio se ven alterados debido a una baja densidad de t-túbulos que da lugar a una insuficiencia a la hora de retirar el calcio de los cardiomiocitos afectados.

2.4.1. Insuficiencia Cardíaca con Fracción de Eyección Preservada (HFpEF)

Esta insuficiencia cardíaca, conocida como HFpEF ("*Heart Failure with Preserved Ejection Fraction*"), se caracteriza por una fracción de eyección del ventrículo izquierdo mayor o igual al 50%. Se manifiesta con presiones de llenado elevadas, tanto en reposo como durante el ejercicio, y cambios estructurales, como el aumento del volumen y tamaño de la aurícula izquierda y la masa del ventrículo izquierdo.

HFpEF resulta de una interacción compleja de remodelación cardíaca y otras enfermedades asociadas como hipertensión, obesidad y diabetes. Aunque estos pacientes presentan una fracción de eyección normal (>50%), se caracterizan por hipertensión, hipertrofia ventricular izquierda y disfunción diastólica, con síntomas principales de disnea e intolerancia al ejercicio.

En cuanto al remodelado del tejido cardíaco, sus estructuras miocárdicas presentan un aumento en la rigidez pasiva debido a las propiedades viscoelásticas del miocardio y a las alteraciones en el colágeno fibrilar en la matriz extracelular. Por otro lado, la compensación de la disfunción diastólica del ventrículo izquierdo en etapas tempranas gracias a la aurícula izquierda (AI) que facilita el llenado del LV, puede empeorar si la enfermedad persiste. A medida que la IC avanza, una disfunción del LV prolongada conduce a la dilatación y disfunción de la LA, lo cual se asocia con hipertensión pulmonar y disfunción del ventrículo derecho. Esta progresión está fuertemente vinculada al desarrollo de fibrilación auricular.

Por último, a nivel celular, HFpEF presenta una densidad de T túbulos incrementada, debido a su dilatación y proliferación, en consecuencia, existe una alteración en las corrientes de calcio. No obstante, las distintas comorbilidades que pueden aparecer junto a HFpEF, llevan a distintos mecanismos de homeostasis del calcio (Frisk et al., 2017), lo que implica una dificultad a la hora de generar modelos y terapias generalizadas.

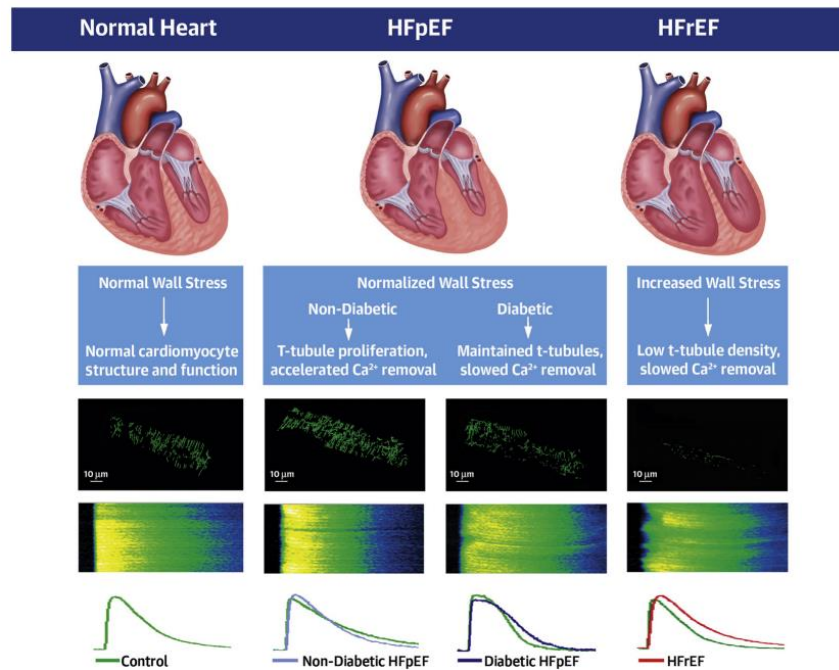


Figura 2.11. Diferencias anatómicas y celulares entre un corazón sano, dos con HFpEF con diferentes comorbilidades, y otro con HFrEF (Frisk et al., 2021)

2.5. Modelado Cardíaco Numérico

La integración de los modelos numéricos en el ámbito fisiológico surge de un interés por replicar comportamientos que tienen lugar en los seres vivos, de modo que estos puedan estudiarse y comprenderse mejor. Los primeros modelos matemáticos eran simples ecuaciones diferenciales, posteriormente han evolucionado a modelos complejos de múltiples ecuaciones y parámetros.

El modelado cardíaco numérico se basa en modelos electrofisiológicos celulares. Hodgkin y Huxley fueron los primeros en desarrollar el modelo de una célula única en 1952, describiendo el comportamiento de la membrana celular en términos de un circuito eléctrico en un sistema de 4 ecuaciones ordinarias de primer orden.

El objetivo final de la simulación cardíaca es, a partir de los modelos celulares, obtener modelos multiescala del corazón o, expresado de otro modo, modelos cardíacos en estructuras bidimensionales y tridimensionales, empleados para llevar a cabo investigación clínica y experimental.

2.5.1. Modelado Eléctrico Celular

La membrana plasmática está compuesta por múltiples canales iónicos que dan lugar a un potencial de membrana (V_m). Cada uno de estos canales equivale eléctricamente a una resistencia eléctrica (R_x), la cual es única para cada tipo de canal. La permeabilidad de la membrana a un determinado ion puede medirse a través de la conductancia (G_x), la inversa de la resistencia, siendo esta variable con el tiempo y el potencial de membrana.

Además, el canal iónico viene determinado por el potencial de equilibrio (E_X), aquel que existe cuando la corriente iónica es nula y viene definido por la ecuación de Nernst determinada por la concentración entre el medio intracelular ($[X]_i$) y el extracelular ($[X]_e$).

$$E_X = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{[X]_e}{[X]_i} \quad (1)$$

Por tanto, la corriente iónica que atraviesa cada canal vendrá definida, a través de la ley de Ohm, como un circuito en serie por la siguiente ecuación:

$$I_X = G_X * (V_m - E_X) \quad (2)$$

Por último, la membrana plasmática consta de una capacidad eléctrica (C_m), debido a las propiedades eléctricas de la bicapa lipídica. Esta estará conectada en paralelo con las diversas ramas correspondientes a las diferentes familias de canales iónicos, también dispuestas en paralelo entre ellas, formando así el modelo eléctrico.

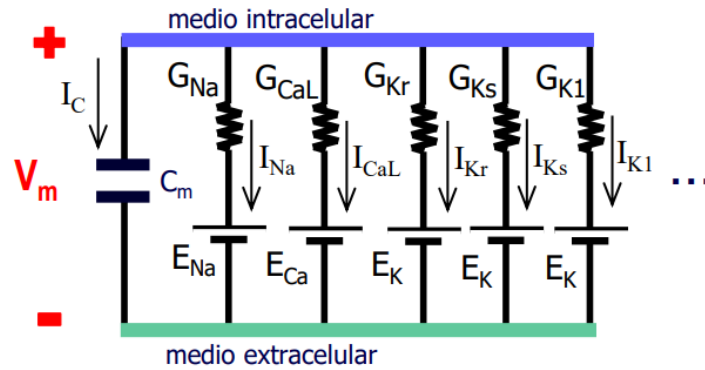


Figura 2.12. Circuito eléctrico equivalente a la membrana celular. (Ferrero de Loma-Orsorio, 2021)

En resumen, aplicando la 1ª Ley de Kirchoff, se puede definir el comportamiento eléctrico de la célula en una sola ecuación.

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum I_X + I_{est} = 0 \quad (3)$$

Siendo el primer término la corriente capacitiva, almacenada en la membrana, el segundo la corriente iónica correspondiente al flujo de iones a través de los canales, y, en último lugar, la corriente del estímulo externo necesario para desencadenar el potencial de acción.

2.5.2. Modelos Cardíacos Actuales

Actualmente, la mayoría de los modelos cardíacos continúan basándose en las ecuaciones de Hodgkin y Huxley, no obstante, la formulación se ha vuelto más compleja y detallada. Al modelo celular básico se añaden un número de corrientes y de ecuaciones diferenciales mucho mayor, lo que implica una resolución más compleja.

Modelos electrofisiológicos y del mecanismo de excitación-contracción de cardiomiocitos humanos incluyen las formulaciones de las corrientes más significativas, llegando hasta modelos de 14 corrientes, como es el caso del publicado por O'Hara et al. (2011), el modelo ORd.

Consecuentemente, surgen mejoras de estos, como el de ToR-Ord, publicado en Tomek et al. (2019), en el cual se reevalúan, reemplazan y añaden nuevas formulaciones de algunas corrientes.

Por otro lado, los mecanismos de la mecánica cardíaca se han implementado en otros modelos como por ejemplo el modelo Land, en Land et al. (2017), adaptado para la generación de tensiones activas. Este permite el acoplamiento con los modelos electrofisiológicos anteriores, utilizando la concentración de calcio intracelular como variable de acoplamiento, dando lugar a un modelo electromecánico.

A partir de modelos como los anteriores, los cuales reproducen la actividad de cardiomiocitos sanos, se pueden reproducir patologías mediante la modulación de parámetros del modelo. Estas modificaciones se realizan atendiendo al remodelado observado en miocitos y reproduciendo el fenotipo característico de la patología a estudiar. Esta metodología permite comprender su comportamiento, así como ayudar al desarrollo de terapias reduciendo el número experimentos *in vivo* y acelerando el proceso. De esta manera, ya se han implementado modelos de HFrEF (Mora et al., 2023) e hipertrofia (Margara et al., 2023) con los que se han analizado los mecanismos de la patología para orientar el diseño de los tratamientos.

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

El objetivo principal del TFG es implementar el remodelado característico de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (HFpEF) en un modelo computacional electromecánico de un cardiomiocito ventricular sano. El modelado y la simulación computacional permitirán investigar los mecanismos celulares implicados en el desarrollo de la patología.

Para lograr todo ello se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Llevar a cabo una extensa búsqueda bibliográfica que permita definir el fenotipo HFpEF a nivel celular.
- Realizar un análisis de sensibilidad del modelo computacional ToR-ORD-Land, el cual permita conocer cuáles son los parámetros más sensibles a los biomarcadores a estudiar.
- Generar un modelo HFpEF que se ajuste a los valores característicos de los biomarcadores de la patología mediante la variación de parámetros del modelo.
- Estudiar la respuesta frecuencial sobre el modelo final generado.
- Identificar posibles terapias que permitan dirigir la investigación en el ámbito farmacológico.

CAPÍTULO 4. MÉTODOS

4.1. Modelos Numéricos

Los modelos numéricos cardíacos a nivel celular permiten la simulación del comportamiento de un cardiomiocito en condiciones sanas, y, también, para simular distintos tipos de patologías. Gracias a ellos el estudio y comprensión de las patologías cardíacas pueden llevarse a cabo sin la necesidad de experimentos *in vivo*, es por ello por lo que a estos se les denomina *in silico*.

Dos modelos computacionales cardíacos han sido empleados durante el desarrollo del modelo de la patología estudiada, la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (HFpEF). Estos son el modelo ToR-Ord (Tomek et al., 2019) y Land (Land et al., 2017), los cuales se acoplan para dar lugar a un modelo electromecánico celular. Es decir, gracias a ellos se podrá reproducir el comportamiento eléctrico y mecánico de la patología estudiada a nivel celular.

4.1.1. Modelo ToR-ORD

El modelo matemático ToR-ORD se basa en la actividad electrofisiológica de un cardiomiocito ventricular sano, tratándose de una modificación del modelo previamente publicado por O'Hara et al. (2011) sobre el cual Tomek et al. (2019) realiza una serie de ajustes que mejoran el comportamiento electrofisiológico. Es por ello por lo que antes de centrarse en este último modelo, se hace una pequeña revisión del modelo de O'Hara-Rudy dynamic (ORD).

O'Hara et al. (2011) crea un modelo del potencial de acción en un cardiomiocito ventricular sano y del ciclado del Ca^{2+} , a partir de nuevos datos experimentales y previos publicados de miocitos cardíacos aislados, validado a diferentes frecuencias cardíacas. Su objetivo es una mejor comprensión de las patologías con ritmos cardíacos irregulares, como las arritmias, que dan lugar a muertes repentinas.

Se compone de 11 corrientes entrantes al mioplasma: I_{Na} componentes rápida y lenta, I_{to} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{K1} , el 80% de la corriente NCX (intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$) $I_{\text{CaNa,i}}$, I_{NaK} , 3 corrientes de fondo (*background*) ($I_{\text{Na,b}}$, $I_{\text{Ca,b}}$, $I_{\text{K,b}}$) y I_{pCa} . Por otro lado, 4 corrientes entrantes al subespacio SS (representa la zona del mioplasma cercana a los T túbulos): corrientes tipo-L de Ca^{2+} (I_{CaL} , I_{CaNa} , I_{CaK}), el 20% de la corriente NCX, $I_{\text{CaNa,ss}}$. Además, de 41 variables de estado y 6 flujos iónicos, entre los cuales se encuentran: J_{Rel} (Ca^{2+} a través de los receptores de rianodina) y J_{up} (secuestro de Ca^{2+} por medio de la bomba SERCA2 al retículo sarcoplásmico).

Por otro lado, Tomek et al. (2019) se centra en el diseño, desarrollo, calibración y validación independiente de un modelo ventricular humano para simulaciones electrofisiológicas y del acoplamiento excitación-contracción, desde el nivel celular hasta dinámicas del corazón completo. Su estructura sigue la del modelo ORD, separada en 3 compartimentos: el mioplasma, el subespacio SS y el retículo sarcoplásmico RS. No obstante, lleva a cabo una mejora de las incongruencias que presenta en comparación con datos experimentales. Para ello realiza las siguientes modificaciones:

- **Corriente de calcio tipo L (I_{CaL})**

Su papel principal tiene lugar en el potencial de acción y en el transitorio de calcio intracelular.

La fuerza de difusión de la corriente, definida en la mayoría de los modelos cardiacos basados en las ecuaciones de Hodgkin y Huxley como la diferencia entre el potencial de membrana y el potencial de equilibrio del ion, es reformulada a partir de las ecuaciones del flujo de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK).

Además, se implementa la estimación de la curva de activación de I_{CaL} , dividiendo la relación I-V, medida experimentalmente a partir de la corriente, entre la fuerza de difusión esperada en cada pulso.

Por último, un 20% de la corriente se resitua en el espacio mioplásmico, de modo que aumenta la capacidad para aguantar la fase de meseta, ya que en esta zona es menos dependiente de la inactivación por calcio que en el subespacio SS, donde se encontraba en el modelo ORd.

- **Corriente de rectificación tardía (I_{Kr})**

Es clave en la repolarización de la membrana, permitiendo la salida de K^+ del medio intracelular.

Un fallo en la activación de la corriente I_{Kr} en el modelo ORd, inconsistente con los datos experimentales, se identificaba al observar prolongaciones del APD al bloquear la I_{CaL} , cuando este hecho debería tener el efecto contrario. La reformulación de esta corriente se lleva a cabo por medio del modelo de Markov de Lu-Vanderberg, dando lugar a un acortamiento del APD al bloquear la I_{CaL} .

- **Otras corrientes: I_{Na} , $I_{(Ca)Cl}$, I_{Clb} y I_{K1}**

La corriente de sodio (I_{Na}) se actualiza como en el modelo de Grandi et al. (2010), añadiendo la fosforilación de la Calcio Calmodulina Cinasa II (CaMKII).

Por otro lado, se añaden las corrientes relativas al cloro, la sensible al calcio ($I_{(Ca)Cl}$) y la corriente de fondo (I_{Clb}), del modelo de Grandi. Su objetivo es reducir ligeramente el potencial en la fase de meseta y, durante la diástole, despolarizar levemente la membrana mejorando la reacción al bloqueo de I_{K1} .

Por último, una reformulación de la corriente de potasio, presente en la fase de reposo. Se ha demostrado que es fundamental para las simulaciones en condiciones de hiperpotasemia (niveles de potasio altos en sangre).

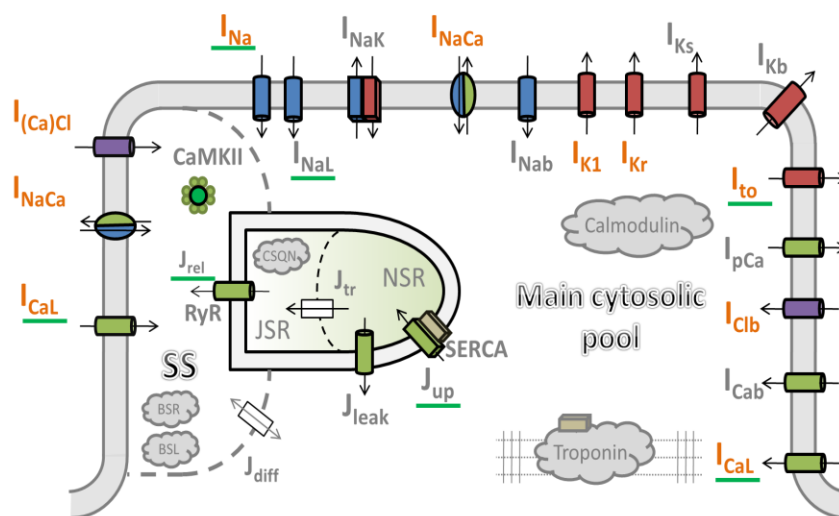


Figura 4.1. Representación del modelo del cardiomiocito ventricular ToR-ORD. (Tomek et al., 2019)

En la Figura 4.1 se observan las corrientes (I) y flujos (J) del modelo ToR-ORd. Las corrientes en naranja son aquellas que han sufrido una modificación respecto al modelo ORd.

4.1.2. Modelo Land

El modelo Land que presenta Land et al. (2017) se encarga de reproducir la mecánica de un cardiomiocito humano, que incluye propiedades pasivas y viscoelásticas de los miocitos aislados, la relación del estado estacionario entre la fuerza y el calcio con sarcómeros de diferentes longitudes y la respuesta ante cambios rápidos en la longitud de las células. Para el desarrollo del modelo, Land et al. (2017) incluyen la respuesta viscoelástica, la cinética de la troponina C y la tropomiosina, los cuales regulan la exposición de los sitios de unión de la actina, y, por tanto, también incluye un modelo para los tres estados de los puentes cruzados.

La tensión total generada en la célula será la suma de la tensión pasiva con la activa ($F_{tot} + T_a$). A continuación, se explican los modelos que genera Land et al. (2017) para reproducirlas a partir de sus datos experimentales.

Tensión pasiva (T_p)

La respuesta pasiva se formuló por medio de un simple modelo (Figura 4.1) de 3 parámetros, constituido por un amortiguador (F_d) y un muelle en serie (F_2) junto a otro muelle en paralelo (F_1).

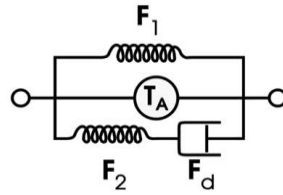


Figura 4.2. Modelo mecánico empleado para reproducir la respuesta viscoelástica (Tensión Pasiva) (Land et al. 2017)

Para reproducir la relación exponencial entre la fuerza y la frecuencia, añade un comportamiento de este tipo al muelle en paralelo, y, además, aplica la relación lineal (4) para el muelle en serie con el amortiguador. Dando lugar a una fuerza total pasiva (5). (Land et al. (2017))

$$F_d = F_2 \quad (4)$$

$$F_{tot} = F_1 + F_2 \quad (5)$$

Tensión activa (T_a)

La generación de la fuerza activa viene dada por los filamentos gruesos y delgados, los cuales generan la contracción al unirse los puentes cruzados de la miosina con los sitios de unión de la actina. Para modelar este proceso, Land et al. (2017) incluye: la cinética de los filamentos finos, el ciclo de los

puentes cruzados, y la dependencia entre la tensión y la longitud. Para ello se basan en un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias.

Dentro de la cinética de los filamentos finos, es importante destacar el modelado de la dinámica de la troponina C, la cual depende, entre otros parámetros, de la concentración de calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) y del parámetro CaT_{50} , que describe la sensibilidad del calcio a la troponina C, dicho de otro modo, la concentración necesaria de Ca^{2+} para que haya un 50% de unión Ca^{2+} - Troponina.

Por otro lado, el modelo de los puentes cruzados presenta tres estados: sin unir (U, unbound), antes de la contracción (W, pre-powerstroke) y tras la contracción (S, post-powerstroke). Además, este reproduce la cinética de la distorsión de los puentes cruzados y su decaimiento, a partir de los parámetros ζ_S y ζ_W .

Por último, el efecto del aumento proporcional de la longitud con la fuerza generada, basado en la ley de Frank-Starling, se caracteriza por un incremento en la sensibilidad de calcio intracelular y, por ende, un aumento en la tensión máxima producida, $h(\lambda)$, (Land et al. (2017)).

Por tanto, la ecuación de la tensión activa combina todos estos efectos resultando en:

$$T_a = h(\lambda) \frac{T_{ref}}{r_s} ((\zeta_S + 1)S + \zeta_W W) \quad (6)$$

Siendo T_{ref} la tensión activa máxima en longitud de reposo y r_s el ratio "Duty" del estado estacionario (constante).

4.1.3. Acoplamiento de los Modelos de ToR-ORd y Land

A partir de los dos modelos definidos con anterioridad, surge uno con mayor robustez que permite mejores simulaciones de la actividad electromecánica de un cardiomiocito humano. El acoplamiento de los modelos ToR-ORd y Land permite obtener un modelo electromecánico que reproduce el potencial de acción, el transitorio de calcio y la tensión de un cardiomiocito humano.

Dicho acoplamiento está basado en la concentración de calcio intracelular libre modelada en el modelo electrofisiológico ToR-ORd, la cual sirve como entrada para el modelo Land. Consecuentemente, el calcio unido al sitio activo de la troponina C es modelado y permite recalculer el calcio libre en el mioplasma.

Para implementar el acoplamiento electromecánico, en primer lugar, hay que tener en cuenta que el calcio total (7) está compuesto por: el calcio intracelular libre, el calcio unido a la calmodulina y el unido a la troponina C.

$$[Ca^{2+}]_{total} = [Ca^{2+}]_i + [Ca^{2+}]_{CMDN} + [Ca^{2+}]_{TRPN} \quad (7)$$

La unión del calcio a la calmodulina y a la troponina C son calculadas dentro del modelo electrofisiológico. Su expresión algebraica permite obtener una expresión de la dinámica del calcio intracelular, la cual nos permite obtener el calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$), valor de entrada necesaria para el modelo mecánico Land.

Para implementar la electromecánica se tiene por un lado la ecuación de la unión con la calmodulina y por otro la dinámica de la unión del calcio a la troponina C. Esta dinámica, descrita en el modelo de Land como (8), depende del calcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) obtenido anteriormente en el modelo electrofisiológico. Otros parámetros como la sensibilidad de la unión del calcio a la troponina C (CaT_{50}), y los parámetros k_{TRPN} y n_{TRPN} que representan el índice de disociación y el índice de cooperatividad del calcio con la troponina C, respectivamente, definen dicha dinámica.

$$\frac{dCaTRPN}{dt} = k_{TRPN} \left(\left(\frac{[Ca^{2+}]_i}{[Ca^{2+}]_{T50}} \right)^{n_{TRPN}} (1 - CaTRPN) - CaTRPN \right) \quad (8)$$

Por tanto, se podrá obtener la cantidad de calcio unido a la troponina C y servirá para actualizar el valor del calcio intracelular en el modelo electrofisiológico ToR-ORd. (Margara et al., 2021)

4.1.4. Lanzamiento de una Simulación Básica en ToR-ORd-Land

El modelo ToR-ORd-Land implementado en Matlab se llama desde el módulo “main”, desde donde todas las simulaciones lanzadas en el estudio han sido ejecutadas. Este módulo consta de las siguientes variables:

- **CL (Cycle Length):** La longitud del ciclo de estimulación. Determina la frecuencia a la que se estimula la célula, siendo la inversa de la frecuencia. Durante el trabajo se observan estimulaciones de 1 Hz (CL=1000 ms) y 2 Hz (CL=500 ms), entre otras.
- **beats:** Número de latidos en cada simulación. Se aplican 500 latidos ya que estos son suficientes para que el potencial de acción se estabilice.
- **settings:** Se trata de las diferentes configuraciones que existen dentro del modelo. Por ejemplo, “settings.cell” indica el tipo de tejido al que pertenece la célula simulada: endocardio, epicardio o miocardio; en nuestro caso se trabaja con un modelo de célula de endocardio.
- **Model:** modelo computacional sobre el cual se llevan a cabo las simulaciones, ToR-ORd-Land en nuestro estudio.
- **X0:** condiciones iniciales de las que parte la simulación.

Una vez definido lo anterior, se llama al modelo a través de la función basada en ecuaciones diferenciales “ode15s”, la cual permite obtener las variables de salida “time” y “X”. El primero es el vector tiempo, y “X” se trata de una matriz que contiene las 50 variables de estado, tanto del modelo electrofisiológico como del mecánico, cuyos valores se almacenan en columnas a lo largo del vector “time”. A continuación, dichas variables se asignan al vector X0, ya que serán las condiciones iniciales del siguiente latido. Todo ello se implementa dentro de un bucle “for”, donde se itera 500 veces, número de latidos escogido en nuestro caso.

Posteriormente, dentro del módulo “main”, se obtienen las variables de estado de interés correspondientes a la simulación del último latido, como son el potencial, el calcio intracelular y la tensión activa, los cuales nos permitirán obtener los biomarcadores empleados a lo largo del estudio, explicados en el siguiente apartado.

```

CL=1000; %pacing cycle length in ms
beats=500; %number of beats in the simulation

settings.cell='endo';

%% mechanical settings:
settings.isacs = 0; % 0 / 1: Isacs
settings.emcoupling = 1; % 0: ToR only; 1: ToR-Land interaction and feedback
    settings.mode = 'intact'; % 'skinned'/'intact'
    settings.lambda = 1; %1.1 max in Isacs; default Land: 1
    settings.dLambda = 0;
settings.calib = 1; %1: Margara calibration in ToR

model=@modelo_HFpEF;

%% endo 1 Hz
X0 = [-89.0831180378458,12.0590970262148,12.0594189998681,143.661564172166,143.661522837075

for n=1:beats
    [time X]=ode15s(@(t,y)model(t,y,settings,1),[0 CL],X0);
    X0=X(size(X,1),:);
    n %output beat number to the screen to monitor runtime progress
end

%%
%rename values in the state variables vector
v=X(:,1);
cai=X(:,6);

```

Figura 4. 3. Extracto del código "main" para ejecutar la simulación del modelo HFpEF.

4.1.4.1. Protocolos de ejecución el estudio frecuencial

En el estudio frecuencial se desea observar cómo afecta un cambio repentino de frecuencia en la célula, para ello se tienen en cuenta las siguientes consideraciones.

En primer lugar, el CL será diferente para cada frecuencia, por tanto, habrá que llamar a la función "model" tantas veces como frecuencias se quieran aplicar. Por otro lado, las condiciones iniciales tendrán que ser aquellas pertenecientes al último latido ejecutado, y no las inicializadas al principio como X0.

4.1.4.2. Protocolos de ejecución en el clúster Rigel

Tanto para ejecutar las poblaciones de modelos como la optimización se recurre al clúster de supercomputación Rigel, debido a la alta carga computacional y duración de dichas ejecuciones.

Para poder ejecutar funciones en este clúster se debe lanzar un fichero en formato de texto (Figura 4.4) que presenta comandos para su correcta ejecución, así como el tiempo de duración y el archivo que quiere ejecutarse en Matlab. Para transferir los archivos de una

forma segura entre el sistema local y el remoto (Rigel) se emplea el cliente SFTP (*SSH File Transfer Protocol*) gráfico para Windows “WinSPC”.

En nuestro caso, para las poblaciones no se precisan más de 4 horas, sin embargo, para la optimización se da un tiempo de 48 horas. Una vez el tiempo se agota, el clúster pone fin a la ejecución.

```
#!/bin/bash
#$ -cwd
#$ -N nohupD
#$ -j y
#$ -l c7
#$ -pe mp 30      #num cores: 4
#$ -l h_vmem=4g   #init: 4
#$ -l h_rt=4:00:00
matlab -nodisplay < main_pop.m
```

Figura 4.4. Instrucciones en formato texto (.txt) para ejecutar las poblaciones de modelos a través del clúster Rigel.

4.2. Medida de Biomarcadores

Los biomarcadores son medidas objetivas que permiten caracterizar la respuesta de las simulaciones llevadas a cabo por los modelos computacionales. En nuestro estudio, para el modelado de HFpEF, se han empleado 8 biomarcadores claves en esta patología para analizar distintos aspectos del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión. Representados en la Figura 4.5, se definen a continuación:

- **Duración del Potencial de Acción al 90% (APD₉₀).** Tiempo transcurrido, en ms, desde el comienzo del potencial de acción hasta el 90% de la repolarización.
- **Duración del Transitorio de Calcio al 90% (CaTD₉₀).** Tiempo transcurrido, en ms, desde el inicio de la entrada del calcio al medio intracelular hasta que se restablece el 90% del mismo.
- **Calcio Sistólico.** Valor máximo de concentración del calcio intracelular, en mM, ocurriendo en la sístole o contracción del corazón.
- **Calcio Diastólico.** Valor mínimo de concentración del calcio intracelular, en mM, ocurriendo en la diástole o relajación del corazón, después de la repolarización de la membrana.
- **Tiempo al pico de Tensión (TTPT).** Tiempo transcurrido, en ms, desde el inicio de la contracción del cardiomiocito hasta el valor máximo de tensión.
- **Tiempo de Relajación de la Tensión al 90% (RT₉₀).** Tiempo transcurrido, en ms, desde que comienza la relajación del cardiomiocito, o tras el punto máximo de tensión, hasta que se completa el 90% de dicha relajación.

- **Tensión Sistólica.** Valor de tensión máximo, en kPa, ocurriendo en la contracción o sístole del corazón.
- **Tensión Diastólica.** Valor de tensión mínimo, en kPa, ocurriendo en la relajación o diástole del corazón.

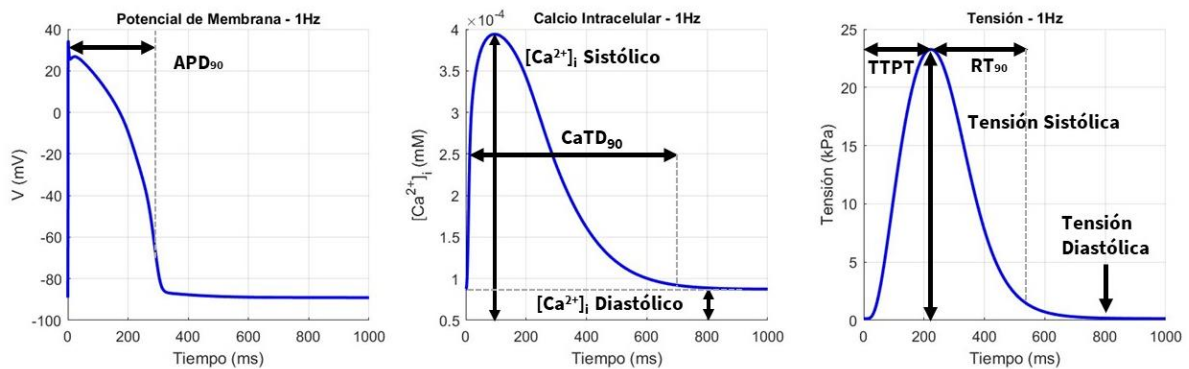


Figura 4.5. Representación de los biomarcadores empleados en el estudio de HFpEF del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión.

4.3. Modelado HFpEF

4.3.1. Modificación de Parámetros

Utilizando el modelo ToR-Land como base, se modifican los valores de parámetros para conseguir el fenotipo celular de HFpEF. Para ello se utilizan diferentes referencias bibliográficas que documentan los cambios en las proteínas celulares, la actividad celular observada en casos con HFpEF e incluso algunos cambios numéricos ya implementados en otros modelos.

Debido a la complejidad de modificar varios parámetros simultáneamente, se realizó un análisis de sensibilidad para analizar el efecto de parámetros clave en algunos de los principales biomarcadores.

4.3.2. Análisis de Sensibilidad

Se lleva a cabo un análisis de sensibilidad con el objetivo de estudiar la variabilidad del modelo ToR-ORD, a partir del cual obtendremos el modelado HFpEF. Son 6 los parámetros modificados con diferentes factores de escala que varían en un $\pm 75\%$ respecto al valor de control. Se examinará el efecto de las diferentes modificaciones en los 8 biomarcadores de interés: APD_{90} , Calcio Diastólico, Calcio Sistólico, $CaTD_{90}$, Tensión Máxima, Tensión Mínima, RT_{90} y $TTPT$.

Se hacen variar los siguientes parámetros J_{SERCA} , J_{Leak} , I_{NCX} , τ_h , τ_j y CaT_{50} , uno a uno, es decir, cada factor de escala se aplica a un solo parámetro en cada simulación, mientras el resto permanecen en los valores de control. Por otro lado, los diferentes factores de escala aplicados respecto al valor de control son: 25%, 50%, 150%, 175%.

Una vez llevadas a cabo todas las modificaciones correspondientes, se calculan las diferentes sensibilidades ($S_{c,p}$) con el objetivo de crear una matriz de sensibilidades que nos permita analizar el impacto de la variación de cada parámetro en cada uno de los biomarcadores. Para ello, estas se calculan a partir del índice de porcentaje de cambio ($D_{c,p,x}$), como se describe en Mora et al. (2017), del siguiente modo.

$$D_{c,p,x} = \frac{c_x - c_{control}}{c_{control}} \cdot 100 \quad (9)$$

$$S_{c,p} = \frac{D_{c,p,4} - D_{c,p,1}}{\Delta a} \quad (10)$$

Donde “c” corresponde a la magnitud del biomarcador, para cada uno de los cambios debidos a la aplicación de los factores de escala “p”. Por otro lado, “ $c_{control}$ ” será el valor del biomarcador cuando el factor de escala es el 100%, es decir, el valor de control. En nuestro caso se obtienen 4 valores del índice “D” por cada uno de los parámetros, ya que $p = [0.25, 0.5, 1.5, 1.75]$, es por ello por lo que el valor de “x” irá de 1 a 4.

En cuanto al cálculo de la sensibilidad absoluta, se calcula la diferencia entre el valor del biomarcador modificado por el último factor de escala ($x=4$), en nuestro caso 175%, y el modificado por el primero ($x=1$), 25%. Ello se divide entre la diferencia de estos dos factores de escala ($(p(4) - p(1))$). En el caso de querer obtener la sensibilidad intermedia, es decir la variabilidad entre los factores de escala más próximos a control, se escogerían los valores de “p” intermedios, correspondientes a los factores de escala 150% y 50%, respectivamente.

Posteriormente, se normalizan las sensibilidades respecto al valor máximo del índice “D” en cada uno de los parámetros, dando lugar a una matriz 8x6 con valores entre -1 y 1, significando el signo una dependencia inversa o directa, respectivamente.

Finalmente, para poder llevar a cabo un análisis más visual de la matriz de sensibilidades se emplea la representación de Matlab “*heatmap*”. Se trata de una tabla, en nuestro caso 8x6, con una escala de colores, desde el azul claro (mínima sensibilidad, 0) al oscuro (máxima sensibilidad, ± 1), en el cual cada recuadro representa la sensibilidad relativa entre un parámetro y un biomarcador.

4.3.3. Comportamiento de un Cardiomiocito con HFpEF

El objetivo principal del estudio es modelar la enfermedad HFpEF a nivel celular, por lo que una extensa búsqueda bibliográfica se ha realizado para llegar a un fenotipo lo más exacto posible por medio de experimentos en cardiomiocitos humanos. Esta tarea no ha sido fácil, ya que se dispone de muy poca información experimental en cardiomiocitos humanos, encontrando una mayor cantidad de experimentos en ratas u otros animales. La búsqueda se ha centrado en encontrar biomarcadores que definan la patología, así como cambios en canales iónicos, flujos y bombas debido al característico remodelado que sufren las insuficiencias cardíacas.

A continuación, se hace una recopilación de las características encontradas en los experimentos en células HFpEF. En primer lugar, se presentan las diferencias de los biomarcadores respecto a una célula cardíaca sana.

- **Duración del Potencial de Acción (APD_{90}).** Respecto a los valores de control, se ha observado un aumento de este en los experimentos sobre ratas de Jae Hyung Cho et al. (2017) y S. Rouhana et al. (2019). Asimismo, en el estudio *in silico* de Adeniran et al. (2015) se demuestra el aumento de dicho biomarcador en su modelo HFpEF, respecto a control.
- **Amplitud del transitorio de calcio (CaTA).** Gran cantidad de experimentos en ratas afirman un aumento de esta, no obstante, hay algunas incongruencias ya que también se encuentran algunos experimentos que dicen lo contrario. Es en el trabajo de Frisk et al. (2021) donde se observan diferentes valores del biomarcador en función de la comorbilidad asociada, aumentando en cardiomiocitos de ratas isquémicas y disminuyendo en aquellas con diabetes y con hipertensión. Es por ello por lo que este biomarcador no es tenido en cuenta posteriormente a la hora de validar el modelo.
- **Calcio Diastólico.** Uno de los biomarcadores más significativos debido a la característica insuficiencia en la relajación del corazón con HFpEF. Se demuestra en 3 experimentos sobre ratas que este aumenta respecto a células sanas. Por otro lado, se demuestra el mismo efecto en los estudios de HFpEF basados en células humanas (Eisner et al. (2020), Adeniran et al. (2015)).
- **Calcio Sistólico.** Otro biomarcador destacable debido a su relación con la fracción de eyección. Los mismos estudios que afirmaban el aumento del calcio diastólico demuestran diferentes resultados, en algunos experimentos aumenta respecto a control y en otros disminuye. No obstante, tal y como dice el nombre de la enfermedad, su fracción de eyección es preservada, por tanto, nos basaremos en aquellos estudios que demuestran un calcio sistólico ligeramente reducido.
- **Duración del transitorio de calcio ($CaTD_{90}$).** Tanto en experimentos en ratas (Rouhana et al. 2019) como en estudios *in silico* como el de Gong et al. (2017) esta duración se prolonga respecto a los valores de control.
- **Tensión Pasiva.** Del mismo modo que el calcio diastólico, la incapacidad de relajación durante la diástole provoca un aumento en su tensión pasiva, este hecho se demuestra en el experimento de Runte et al. (2017).
- **Tensión activa.** La leve disminución del calcio sistólico lleva, en consecuencia, a una ligera disminución de la tensión sistólica, demostrada en el estudio computacional hecho por Adeniran et al. (2015).
- **Tiempo de relajación de la tensión (RT_{90}).** Un aumento respecto a control es observado en experimentos en ratas y en humanos, Curl et al. (2017) y Runte et al. (2017), respectivamente.

A continuación, se expone la bibliografía encontrada con los cambios más significativos respecto a control de corrientes, flujos y bombas iónicas, que corresponden con los parámetros del modelo que se tratarán de modificar.

- **Bomba SERCA2 (J_{SERCA}).** Se refleja por medio de la expresión proteica y de la actividad de la bomba SERCA. En primer lugar, su expresión se mantiene igual o ligeramente por debajo de los valores de control en experimentos de cardiomiocitos humanos (Carol T. Bussey et al. (2015), R. D'Assante et al. (2021), Runte et al. (2017)). Es decir, no tiene cambios tan significativos como si se encuentran en el caso de HFrEF. No obstante, por otro lado, la actividad de la bomba SERCA2 se mide en experimentos en ratas, demostrando una ligera reducción (Frisk et al. (2021), P. J. Kilfoil et al. (2020)).
- **Corriente Intercambiadora de Na^+/Ca^{2+} (I_{NCX}).** Hay una falta de referencias en cardiomiocitos humanos, no obstante, en ratas se observa un aumento de su actividad en Frisk et al. (2021), un mantenimiento en Curl et al. (2018) y en Kilfoil et al. (2020), respecto a cardiomiocitos sanos.
- **Flujo de liberación (J_{Rel}).** Medida a través de los receptores RyR2, su expresión y fosforilación se ve significativamente aumentada en los experimentos sobre cardiomiocitos humanos de Runte et al. (2017); además, también se observa un aumento en experimentos en ratas (Rouhana et al. (2019), Curl et al. (2017), Kilfoil et al. (2020)).
- **Corriente de Calcio tipo L (I_{CaL}).** La expresión de sus canales y su actividad se muestra aumentada en ratas (Jae Hyung Cho et al. (2017), Curl et al. (2017), Kilfoil et al. (2020)).

Tabla 4.1. Resumen de las referencias bibliográficas extraídas de experimentos *in vivo* e *in silico*, divididas en biomarcadores y en parámetros del modelo. Un aumento de estos se indica con una flecha hacia arriba, asimismo una disminución con una flecha hacia abajo; en el caso de no variar se marca con el símbolo igual y si la variación es ligera el tamaño de la flecha es menor.

TABLA RESUMEN REFERENCIAS			Experimentos <i>in vivo</i>		Estudios <i>in silico</i>	Referencias
			Animales	Humanos		
BIOMARCADORES	APD ₉₀		↑↑		↑	(Jae Hyung Cho et al., 2017), (S. Rouhana et al., 2019), (Adeniran et al., 2015)
	CaTA		↓↓↓↑↑↑↑			(Hiemstra et al., 2014), (Frisk et al., 2021), (Curl et al., 2018), (S. Rouhana et al., 2019), (P. J. Kilfoil et al., 2020)
	Calcio Diastólico		↑↑↑		↑↑	(Curl et al., 2018), (S. Rouhana et al., 2019), (P. J. Kilfoil et al., 2020) (Eisner et al., 2020), (Adeniran et al., 2015)
	Calcio Sistólico		↑↓		↓	(Curl et al., 2018), (P. J. Kilfoil et al., 2020), (Adeniran et al., 2015)
	CaTD ₉₀		↑		↑	(S. Rouhana et al., 2019), (Gong et al., 2017)
	Tensión Pasiva		↑		↑	(Runte et al., 2017), (Adeniran et al., 2015)
	Tensión Activa		(=)			(S. Rouhana et al., 2019)
	RT ₉₀		↑	↑		(Curl et al., 2018), (Runte et al. 2017)
PARÁMETROS DEL MODELO	J_{SERCA}	Expresión Proteica	↓↓↓	↓↓(=)	↓	(Frisk et al. (2021), (Curl et al., 2018), (S. Rouhana et al., 2019), (R. D'Assante et al., 2021), (Runte et al., 2017), (Carol T. Bussey et al., 2015)
		Actividad	↓↓(=)			(Frisk et al., 2021), (Curl et al., 2018), (P. J. Kilfoil et al., 2020)
	I_{NCX}		↑↑(=)(=)		↑	(Frisk et al., 2021), (Curl et al., 2018), (P. J. Kilfoil et al., 2020)
	J_{Rel} (RyR2)		↑↑↑	↑		(S. Rouhana et al., 2019), (Curl et al., 2018), (P. J. Kilfoil et al., 2020), (Runte et al., 2017),
	I_{CaL}		↑↑↑			(Curl et al., 2018), (P. J. Kilfoil et al., 2020), (Jae Hyung Cho et al., 2017)

Los experimentos *in silico* que se tienen en cuenta como referencia para los parámetros del modelo son los de Gong et al. (2020). En su modelo estos resultan, en concordancia con los experimentos *in vivo*, en un aumento de la corriente NCX y una disminución de la bomba SERCA.

Todas las referencias quedan recogidas en una tabla (Tabla 4.1) que permite una visión más general del fenotipo HFpEF y que resulta de mucha utilidad a la hora de hacer el estudio.

4.3.4. Optimización

Para encontrar el modelo de HFpEF de forma más automatizada, se lleva a cabo una optimización, herramienta que proporciona Matlab con la cual se puede encontrar el mínimo o máximo de una función objetivo. Se busca un conjunto de variables de optimización que den lugar al valor óptimo de la función objetivo, siempre que este exista, y, además, si las hay, cumpliendo con las restricciones.

En nuestro caso, este método es empleado para encontrar los valores óptimos de los parámetros a modificar, restringidos dentro de unos rangos, a partir de los objetivos establecidos en los biomarcadores.

En primer lugar, se define la función objetivo, la cual toma como entrada 8 parámetros del modelo (J_{SERCA} , J_{Leak} , I_{NCX} , CaT_{50} , I_{Cab} , J_{Rel} , I_{CaL} , I_{NaK}), definidos en el vector “paramG”, y devuelve “MinObj”, la suma de los errores relativos entre los valores objetivo de los biomarcadores ($P_{Objetivo}$), definidos previamente, y los valores de los biomarcadores obtenidos a partir de los parámetros optimizados en cada iteración (P_{Optim}) (9).

$$MinObj = \sum_i \frac{|P_{Optim,i} - P_{Objetivo,i}|}{P_{Objetivo,i}} \quad (9)$$

Ahora bien, la función principal de optimización es GlobalSearch, que se utiliza para encontrar el mínimo global de dicha función objetivo. Para ello se crea el problema “createOptimProblem”, donde se especifica el solver “fmincon” (permite encontrar el mínimo de una función multivariable no lineal restringida), los parámetros iniciales, la función objetivo, los rangos superiores e inferiores de cada parámetro y se definen otras opciones de optimización. Estas son el uso del algoritmo “interior-point” y la visualización iterativa. El resto de las propiedades son las definidas por defecto por la función, como una tolerancia de 10^{-6} y un máximo de 1000 iteraciones. En cuanto a los parámetros “Param0”, estos son inicializados a partir de un valor aleatorio que se encuentre entre los límites superiores (“ub”) e inferiores (“lb”), los cuales acotan los valores de los parámetros que se buscan. Tanto X0, lb y ub, son vectores de 8 valores, cada uno correspondiente a uno de los parámetros especificados.

Durante la simulación se activa un contador del tiempo “tic” “toc” que nos permitirá saber cuánto ha durado la ejecución de la optimización. Por último, el vector “paramG” aporta la solución que buscábamos. Se trata de los parámetros limitados por los rangos impuestos, que dan lugar a un modelo cuyos biomarcadores se acercan el máximo posible a los objetivos impuestos, siendo MinObj el mínimo error posible.

```
% GLOBAL Optim

opts = optimoptions(@fmincon,'Algorithm','interior-point','Display','iter');

problem = createOptimProblem('fmincon', x0=Param0, objective=@ObjFunc_main,lb = lowerbound,ub = upperbound,options=opts);

tic
gs = GlobalSearch;
[paramG,MinG] = run(gs,problem);

tComp=toc;

%Solución:
[MinObj, biomark] = ObjFunc_main(paramG);
```

Figura 4.6. Código que permite ejecutar la optimización.

4.3.5. Población de Modelos

Dentro de una población de células, no todas presentan las mismas características biológicas, sino que existe una variabilidad natural entre individuos. Por consiguiente, estas diferencias pueden predisponer a una parte de la población a patologías.

De modo que se puedan encontrar cardiomiocitos que reproduzcan unas características concretas, se simulan poblaciones, en nuestro caso de 10000 células cardíacas, con variabilidad en aquellos parámetros que quieran ser modificados. Cada célula presentará diferentes combinaciones de los factores de escala, valores por los que se multiplican los parámetros, los cuales se encontrarán entre unos rangos predeterminados. El objetivo es, entre estas células, encontrar un número considerable que reproduzca el fenotipo buscado.

Para generar una población uniforme aleatoria que tenga en cuenta todas las combinaciones posibles de parámetros, se crea una matriz de factores de escala con la función “lhsdesign” definida por Matlab. Esta crea una matriz basada en el método de muestreo de hipercubo latino con un tamaño de “n” por “p”, donde para cada columna de “X” los valores “n” se distribuyen de forma aleatoria con uno de cada intervalo $(0,1/n)$, $(1/n,2/n)$, ..., $(1 - 1/n,1)$, y también se permutan de forma aleatoria. En nuestro caso, “n” será el número de células dentro de la población y “p” el número de parámetros que se quieren hacer variar dentro de un intervalo.

Inicialmente los valores oscilan entre 0 y 1, por lo que posteriormente, para cada columna de la matriz correspondiente a un parámetro diferente, se aplica el rango dentro del cual se quiere limitar el parámetro. De este modo, mediante la operación observada en la última línea de la Figura 4.7, se asignan diferentes valores para cada una de las células, repartidos de manera equitativa en cada uno de los intervalos creados en la función “lhsdesign”.

Finalmente, una vez obtenida la matriz de 10000 células, cada una con diferentes combinaciones de los parámetros, se simulan a través del clúster Rigel y calculan los biomarcadores para cada una de ellas. Finalizada la simulación, se buscan aquellas células que cumplan con el fenotipo HFpEF, es decir, que cumplan con los objetivos impuestos a los 8 biomarcadores al mismo tiempo.

```
%LHS -----
n_parameters = 8;
size_pop = 10000;
p=lhsdesign(size_pop,n_parameters);
    meanp = 0.5; halfp= 0.5;

%% SERCA
lowL_1=0.55; upL_1=0.7;

variation=p;
variation(:,1)=(upL_1-lowL_1)*(p(:,1)/1)+lowL_1;
```

Figura 4.7. Extracto de código correspondiente a la generación de la población de modelos, en forma de matriz con nombre “variation”.

4.3.6. Terapias

La búsqueda de una terapia que lleve al modelo HFpEF generado a los valores de una célula sana es el último objetivo de nuestro estudio.

Estas terapias serán simuladas llevando el valor de los parámetros modificados al valor de control (factor de escala 1), uno a uno, de modo que se obtenga una terapia por cada parámetro. Por ejemplo, si queremos aplicar una terapia que se base en la restitución de la bomba SERCA, se reestablece el factor de escala por el cual se multiplica el parámetro J_{SERCA} al original y el resto de los parámetros modificados del modelo HFpEF permanecen iguales; de este modo se pueden observar las diferentes mejoras que produce esa terapia individualmente.

Una vez evaluadas una por una las terapias, se puede considerar hacer combinaciones de estas para ajustarse a un mejor resultado. Esto implica llevar al valor de control a dos o más parámetros cuyos efectos individuales se compensen, de manera que den lugar a un fenotipo de cardiomiocito saludable.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el presente capítulo se mostrarán los resultados obtenidos a lo largo de la realización del estudio de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (HFpEF).

En primer lugar, se llevó a cabo una comparación del modelo HFpEF desarrollado por Gong et al. (2020), entre los modelos ORd (O'Hara-Rudy Dynamic) (O'Hara et al. 2011) y ToR-ORd (Tomek et al. 2019). Seguidamente, se realizó un análisis de sensibilidad del modelo ToR-ORd-Land, el cual introduce el comportamiento mecánico al modelo anterior. En tercer lugar, se desempeñó una optimización para llegar a los valores objetivos estimados tras la primera revisión bibliográfica. A continuación, se implementaron poblaciones de modelos de las cuales se seleccionaron aquellas células que cumplían las condiciones HFpEF. Una vez conseguido un pequeño número de células que se ajustaban a las características de HFpEF se realizó una optimización para obtener el modelo final definitivo. En sexto lugar, se llevó a cabo un estudio frecuencial a partir del modelo HFpEF creado. Por último, se analizaron las posibles terapias para recuperar las condiciones sanas en un sujeto HFpEF.

5.1. Comparación del Modelo HFpEF en ORd Y ToR-ORd-Land

Primeramente, partimos del remodelado realizado por Gong et al. (2020), que se aplica al modelo celular ORd (O'Hara-Rudy Dynamic) y se observa cómo afecta al nuevo modelo que incluye la mecánica celular (ToR-ORd-Land).

El modelo que Gong et al. (2020) muestra en su artículo no presenta un gran respaldo bibliográfico, ya que, según la autora, hasta ese momento había una falta de documentación experimental sobre la enfermedad. Por tanto, su modelo HFpEF se basa en una célula que cumple 3 condiciones que permiten que este se asimile al fenotipo de la insuficiencia cardíaca. A continuación, se explican dichas premisas.

En primer lugar, el tiempo de decaimiento del transitorio de calcio (CaTD) en una célula HFpEF es mayor que el de un cardiomiocito sano a todas las frecuencias. En segundo lugar, la amplitud del transitorio de calcio intracelular (CaTA) no debe ser menor que un 70% de la de una célula sana a una frecuencia de latido de 0.5 Hz. Por último, al aumentar la frecuencia, el aumento de la CaTA es menor que en la célula de control.

Al modelar la patología en el modelo ToR-ORd-Land se busca comparar, además de las premisas tenidas en cuenta por Gong et al. (2020), otras características que la definan mejor. Tras una primera revisión bibliográfica, se llega a la conclusión de que las características buscadas en nuestro modelo son:

- 1) CaTD es mayor que en control a todas las frecuencias. (Gong et al., 2020)
- 2) CaTA a 0.5Hz se reduce menos de un 70% comparado con control. (Gong et al., 2020)
- 3) El aumento de CaTA con la frecuencia es menor en HFpEF. (Gong et al., 2020)
- 4) El calcio diastólico es mayor que en control. (Eisner et al., 2020), (Adeniran et al., 2015)
- 5) El calcio sistólico es menor o igual que en control. (Eisner et al., 2020), (Adeniran et al., 2015)
- 6) APD se prolonga ligeramente respecto a control. (Adeniran et al., 2015)
- 7) La tensión diastólica es mayor que en control. (Eisner et al., 2020)

Tras determinar las condiciones que nuestro modelo necesita reproducir se aplican, en nuestro modelo electromecánico, las modificaciones de los parámetros que Gong et al. (2020) lleva a cabo en el modelo ORd, descritas en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Parámetros del modelo modificados por Gong et al. (2020) para la creación de su modelo HFpEF, con sus respectivas definiciones y el factor de escala por el que son multiplicados.

PARÁMETROS DEL MODELO	DEFINICIÓN	FACTOR DE ESCALA
J_{SERCA}	Flujo de Ca^{2+} que pasa del citosol al retículo atravesando la bomba SERCA	63%
J_{Leak}	Flujo de fuga de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico a través de la bomba SERCA	78%
I_{NCX}	Corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+}	125%
τ_{jCa}	Constante de tiempo de la compuerta de inactivación del Ca^{2+} tipo L	81%
τ_{hf}	Constante de tiempo de la compuerta de inactivación de la corriente de Na^+	83%
I_{Cab}	Corriente de fondo de calcio	119%

En primer lugar, se comprueba si las premisas con las que Gong et al. (2020) desarrolla su modelo también son válidas para el modelo ToR-ORd-Land. Se simula por tanto el calcio intracelular a tres frecuencias diferentes (0.5, 1 y 2 Hz) y se obtiene una representación en dos gráficos de barras del CaTD y el CaTA, respectivamente, ya que son los dos biomarcadores en los que Gong et al. (2020) basa sus condiciones.

Tal y como se ve en la Figura 5.1, las 3 primeras condiciones que se definen anteriormente se cumplen. Por lo que, según la definición fenotípica del artículo, el modelo celular de Gong et al. (2020) se satisface también en el modelo electromecánico ToR-ORd-Land. No obstante, queda observar si el resto de las condiciones definidas se cumplen.

Se reproduce, en la Figura 5.2, la respuesta respecto a control del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión en el último latido y con un CL (duración del ciclo) de 1000 ms, lo que equivale a una frecuencia de latido de 1Hz.

Se percibe cómo, en primer lugar, se consiguen las condiciones (5) y (6); el calcio sistólico menor que control y el APD mayor. No obstante, se puede ver una tensión diastólica similar a control, lo cual no es admisible, y tampoco se observa el aumento del calcio diastólico, una de las características más destacables en HFpEF.

Por tanto, a pesar de que el modelo de Gong et al. (2020) se adapte para algunas de las condiciones que se buscaban, no simula la patología en el modelo ToR-ORd-Land según las características que se imponen al principio. Es por ello por lo que se lleva a cabo un análisis de sensibilidad para proseguir con la búsqueda de un modelo HFpEF óptimo.

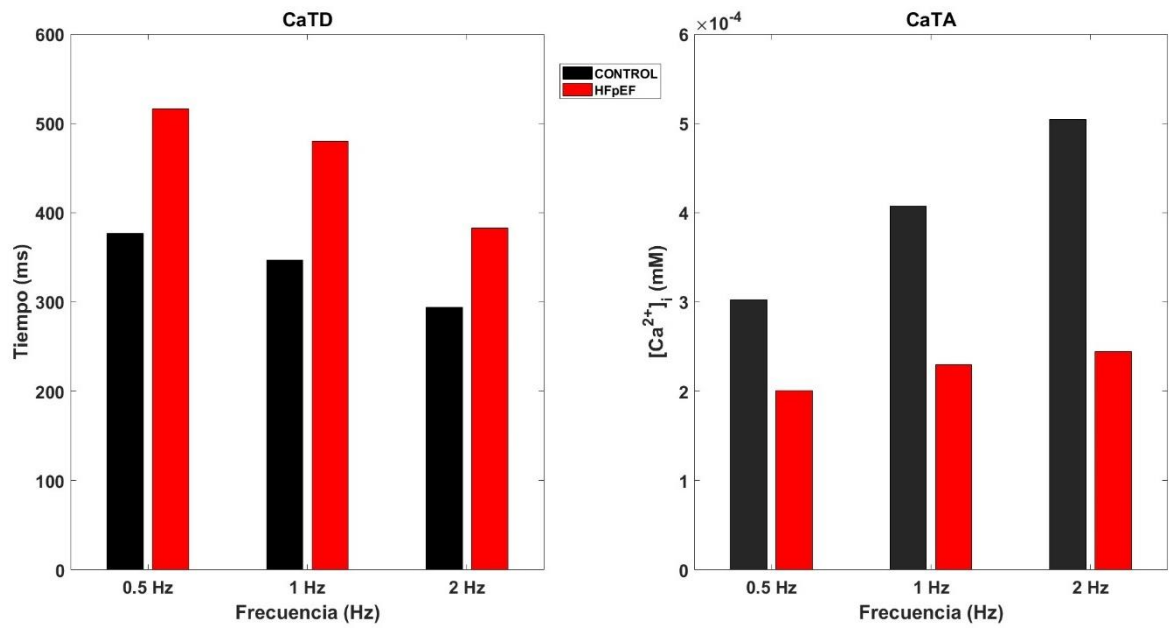


Figura 5.1. Biomarcadores CaTD (Duración del Transitorio de Calcio) y CaTA (Aplitud del Transitorio de Calcio) obtenidos con el modelo ToR-ORD-Land en una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo), según las modificaciones que lleva a cabo Gong et al. (2020) en su artículo.

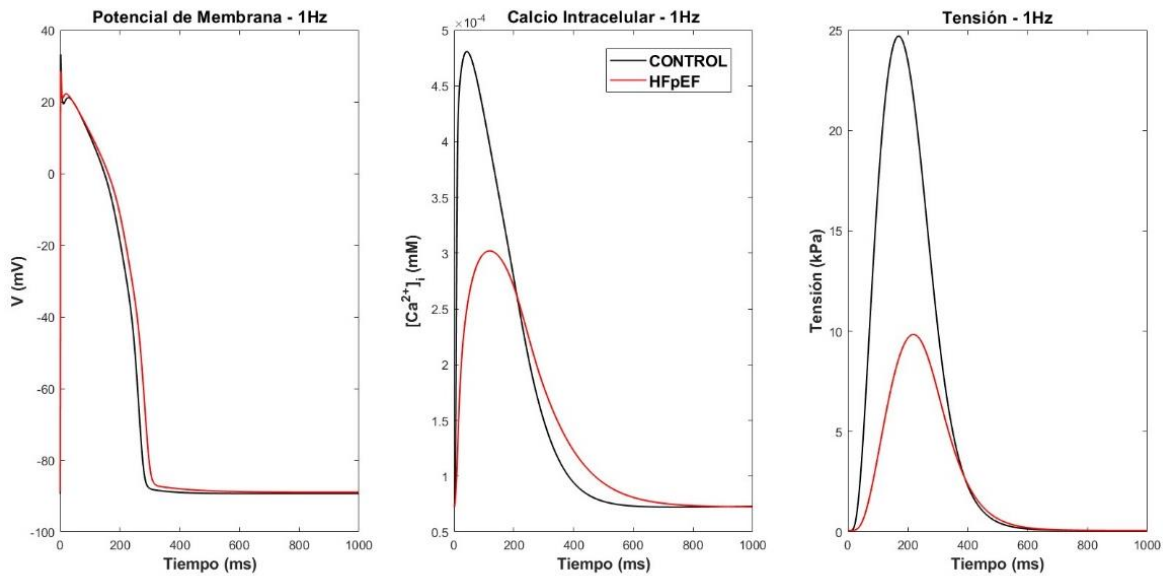


Figura 5.2. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, en condiciones sanas y con HFpEF, obtenidos con el modelo ToR-ORD-Land y las modificaciones propuestas por Gong et al.(2020) .

5.2. Análisis de Sensibilidad

El siguiente paso será hacer un análisis de sensibilidad para observar cuáles son los parámetros a modificar para cumplir aquellas premisas que el modelo HFpEF de Gong et al. (2020) no satisface.

Este análisis se desarrolla a partir de algunos de los parámetros que Gong et al. (2020) modifica (J_{SERCA} , J_{Leak} , $INCX$, τ_j , τ_h) y se añade el parámetro correspondiente al modelo mecánico para observar la respuesta de nuestro modelo (ToR-ORd-Land) ante cambios de este, se trata de CaT_{50} .

Se quiere observar cómo afectan dichos parámetros a los siguientes biomarcadores: APD_{90} , Ca_i Diastólico (Calcio Diastólico), Ca_i Sistólico (Calcio Sistólico), $CaTD_{90}$, Tensión Máxima (Tensión Activa o Sistólica), Tensión Mínima (Tensión Pasiva o Diastólica), RT_{90} y TTPT. De modo que se analizan 4 biomarcadores de interés electrofisiológico y otros 4 mecánicos.

Para ello, se analiza el efecto de la variabilidad en los diferentes parámetros estudiados, aplicando los siguientes factores de escala: 25%, 50%, 150% y 175%. De este modo se pueden obtener las sensibilidades relativas entre los parámetros y los biomarcadores de interés.

Los valores se muestran en la Figura 5.3 por medio de la representación tipo “HeatMap” que proporciona Matlab, una tabla con una escala de colores, desde el azul claro (mínima sensibilidad) al oscuro (máxima sensibilidad). Además, se indica el signo, positivo o negativo, para saber si la dependencia es directa o inversa, respectivamente.

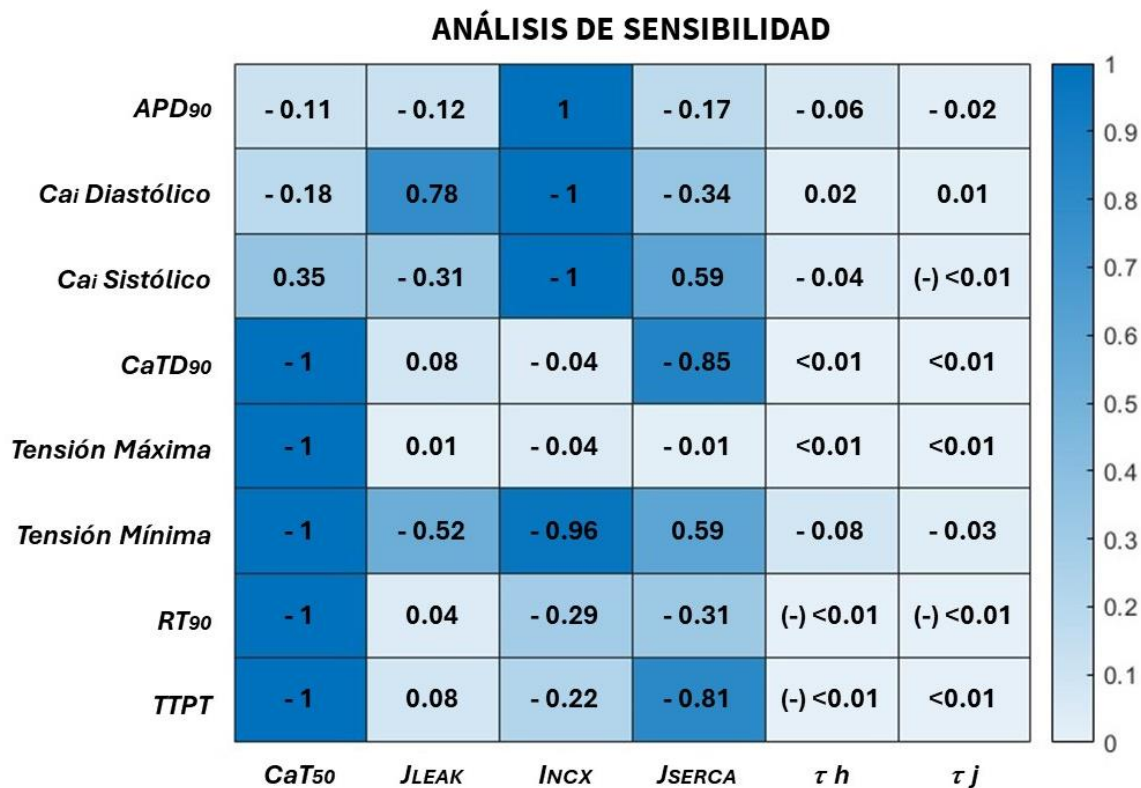


Figura 5.3. Representación de las sensibilidades relativas de cada biomarcador (eje Y) con cada uno de los parámetros seleccionados del modelo (eje X), en forma de mapa de calor (Heatmap).

En primer lugar, el parámetro CaT_{50} es el que más influye en los biomarcadores relacionados con la mecánica de la célula como era de esperar; no obstante, también es el máximo contribuyente en el biomarcador electrofisiológico $CaTD_{90}$. Asimismo, se observa que estas sensibilidades son negativas, es decir, cuando aumente este parámetro el valor de los biomarcadores disminuirá y viceversa.

En cuanto al resto de biomarcadores, APD_{90} y el calcio intracelular diastólico y sistólico, tienen sensibilidad máxima para el parámetro de la corriente del intercambiador sodio calcio (I_{NCX}). En este caso, cuando la corriente NCX aumente también lo hará el APD_{90} , no obstante, tanto el calcio diastólico como el sistólico son inversamente proporcionales a dicho parámetro. Cabe destacar también la influencia que tiene esta corriente en la tensión diastólica.

En tercer lugar, el parámetro J_{SERCA} presenta cierto impacto en la mayoría de los biomarcadores. De mismo modo, la corriente J_{Leak} también influye en la mayor parte de estos, aunque de manera menos significativa. Por el contrario, las constantes τ_j y τ_h no contribuyen en ninguno de los biomarcadores a estudiar.

En la Figura 5.4, se representan las sensibilidades relativas intermedias. Estas gráficas permiten visionar mejor cómo varían los biomarcadores en función del factor de escala aplicado a los parámetros, es decir, permiten observar su linealidad. A continuación, se analizan dichas gráficas para ver los parámetros que más influyen en los biomarcadores.

En primer lugar, el parámetro corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCX) tiene un impacto directo significativo en el aumento de la duración del potencial (APD_{90}). Sin embargo, los demás parámetros apenas modifican el APD_{90} al variarlos.

Con relación al calcio diastólico, aumentar la corriente J_{Leak} resulta en un aumento de este. Además, reducir la I_{NCX} por debajo de un factor de escala del 50% también incrementa el calcio en reposo. Sin embargo, este último parámetro influye de manera similar a la bomba J_{SERCA} cuando se ajusta entre el 50% y el 150%.

En tercer lugar, en cuanto al calcio sistólico, la I_{NCX} también se ve afectada inversamente. Una reducción de esta corriente por debajo del 50% provoca un aumento abrupto de la concentración de calcio sistólico, al igual que sucede con el calcio diastólico. De manera menos pronunciada, J_{Leak} produce una disminución del calcio sistólico al aumentarla. Por otro lado, incrementar la J_{SERCA} y el parámetro CaT_{50} resulta en un aumento del calcio diastólico, siendo el efecto de la bomba SERCA más notable.

Por último, se percibe como la duración del transitorio de calcio ($CaTD_{90}$) disminuye en el caso de un aumento de los parámetros J_{SERCA} y CaT_{50} .

En resumen, en cuanto a los biomarcadores con relación al potencial y a la dinámica del calcio, se puede deducir lo siguiente. Un aumento en la expresión de J_{Leak} generará un aumento en el APD_{90} y una disminución tanto en el calcio diastólico como en el sistólico. Por otro lado, una modificación de los parámetros J_{SERCA} y CaT_{50} producirá un aumento del calcio sistólico y una disminución del $CaTD_{90}$ o viceversa.

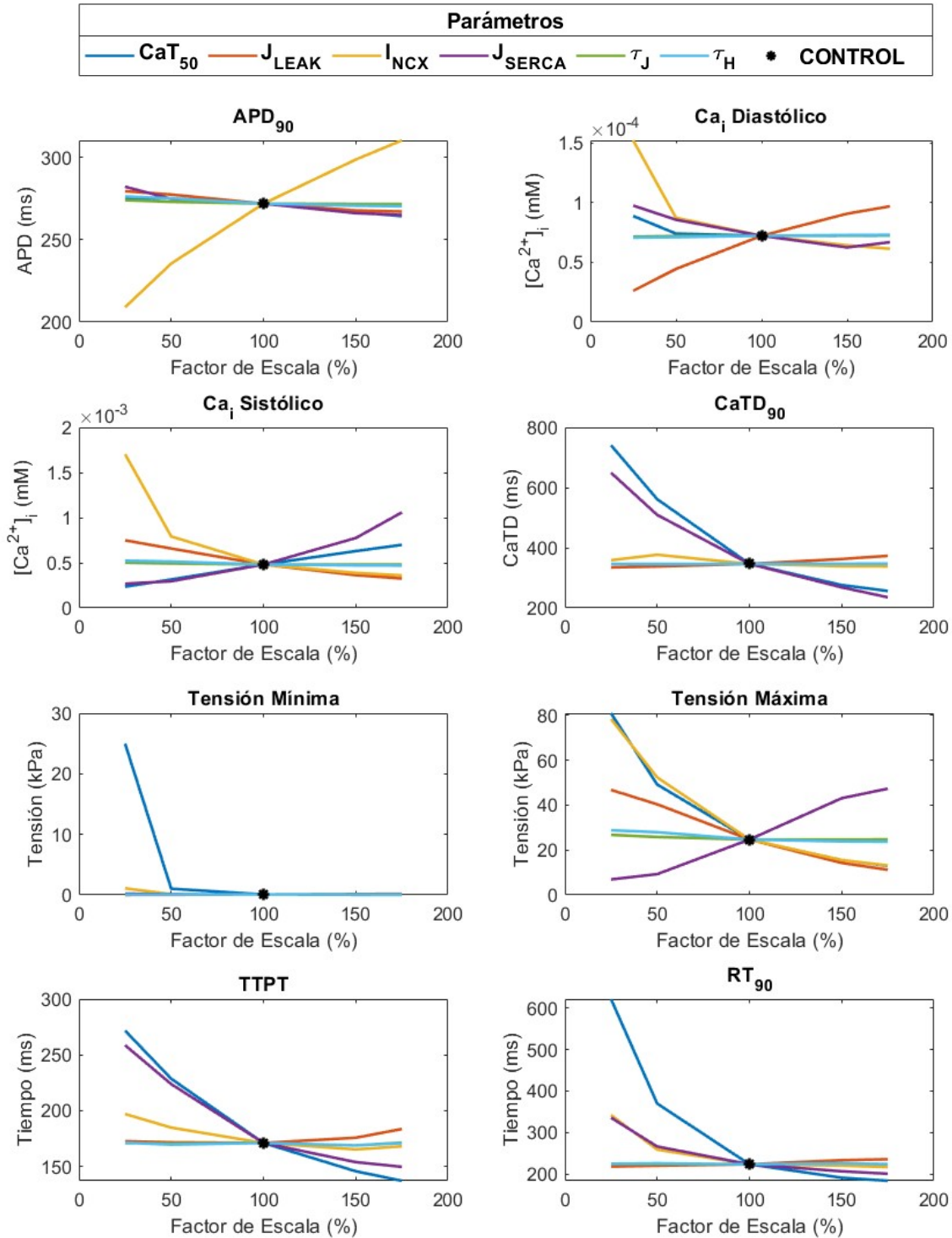


Figura 5.4. Representación de las sensibilidades relativas intermedias de cada uno de los biomarcadores al variar los diferentes factores de escala de cada parámetro.

Los siguientes biomarcadores analizados, correspondientes a las 2 filas inferiores de la Figura 5.4, son los relativos a la mecánica del modelo.

En primer lugar, la fuerza mínima aumenta significativamente con una disminución del parámetro CaT_{50} superior al 50%. En cuanto al resto de parámetros, una elevación en esta sería difícil de lograr debido a su baja sensibilidad respecto a estos.

En cuanto a la fuerza máxima, varios parámetros muestran sensibilidad. Por un lado, un aumento en la bomba J_{SERCA} tiene un efecto directo en el biomarcador, incrementando su valor. Por otro lado, los parámetros CaT_{50} , I_{NCX} y J_{Leak} , en menor medida, muestran una relación inversa, por lo que su aumento resultaría en una disminución de la fuerza máxima.

En tercer lugar, el tiempo hasta el máximo de tensión (TTPT) se ve influenciado de manera inversa por la bomba J_{SERCA} y el parámetro CaT_{50} , donde su reducción se traduce en un incremento del biomarcador.

En última instancia, se examina el biomarcador RT_{90} . Como era de esperar, el parámetro CaT_{50} muestra la mayor sensibilidad a este biomarcador, de modo que un aumento en este parámetro conduce a una disminución en el tiempo de relajación.

En conclusión, de los biomarcadores relativos a la mecánica del modelo se deduce que todos tienen una sensibilidad negativa al CaT_{50} , como ya veíamos en la Figura 5.3. Asimismo, la modificación del parámetro J_{SERCA} da lugar a un aumento de la fuerza máxima y una disminución del TTPT, o viceversa, lo cual es coherente. Por último, se puede reafirmar que los parámetros τ_J y τ_h que introduce Gong et al. (2020) no serán significativos en nuestro modelo.

5.3. Optimización

Una vez hecho el análisis de sensibilidad, se opta por llevar a cabo una optimización que pueda acercarnos al modelo HFpEF deseado, de manera que nos indique el factor de escala óptimo por el cual se deben multiplicar los parámetros para alcanzar las características impuestas. Para ello se precisan los objetivos a los que se quiere llegar en los biomarcadores y los rangos en los que puedan variar los parámetros del modelo escogidos.

En primer lugar, de los biomarcadores seleccionados en el análisis de sensibilidad, se hace una búsqueda bibliográfica experimental más extensa que la ya realizada en el apartado 5.1, de modo que se puedan establecer de manera más cuantitativa los valores a alcanzar para obtener un modelo HFpEF.

En la Tabla 5.2 se puede observar los objetivos que finalmente se aplicaron para la optimización. Una de las limitaciones a la hora de establecer estos es la escasez de experimentos en humanos, predominando los de ratas u otros animales; además de la falta de datos cuantitativos. Es por todo ello que los objetivos impuestos no se extrajeron directamente de una referencia en concreto, sino que se obtuvieron tras revisar diversos artículos, priorizando en todo momento los experimentos en cardiomiocitos humanos, y llegar a una conclusión lo más coherente posible mediante un análisis comparativo.

En segundo lugar, en la Tabla 5.3, se muestran los rangos de factores de escala para los parámetros J_{SERCA} , J_{Leak} , I_{NCX} y CaT_{50} , consecuentes con la información que proporciona el análisis de sensibilidad.

Tabla 5.2. Objetivos de los biomarcadores empleados para la optimización respecto al valor de control (100%).

BIOMARCADOR	OBJETIVO HFpEF	REFERENCIAS
APD₉₀	120%	(Jae Hyung Cho et al., 2017), (S. Rouhana et al., 2018), (Adeniran et al., 2015)
Ca_i DIASTÓLICO	115%	(P. J. Kilfoil et al., 2020), (Curl et al., 2018), (S. Rouhana et al., 2018), (Eisner et al., 2020), (Adeniran et al., 2015)
Ca_i SISTÓLICO	90%	(P. J. Kilfoil et al., 2020), (Curl et al., 2018), (Adeniran et al., 2015)
CaTD₉₀	140%	(Gong et al., 2020), (S. Rouhana et al., 2018)
RT₉₀	140%	(Curl et al., 2018), (Runte et al., 2017)
Tensión_{MIN}	120%	(Runte et al., 2017), (Adeniran et al., 2015)

Tabla 5.3. Rangos de los parámetros a modificar para la optimización respecto al valor de control (100%).

PARÁMETROS DEL MODELO	RANGOS
J_{SERCA}	100% - 50%
J_{Leak}	110%-90%
I_{NCX}	100%-120%
CaT₅₀	100%-70%

Tras llevar a cabo la optimización, los resultados son insatisfactorios. Se observa en la Figura 5.5 como a pesar de conseguir una elevación del calcio diastólico y del CaTD₉₀, no se consigue la prolongación del 20% del APD₉₀. Además, ni el calcio sistólico ni la tensión diastólica se acercan al objetivo. Por otro lado, este método ha supuesto más de 100 horas de ejecución, por lo que el modelo más óptimo que ha encontrado no puede cumplir las expectativas con las restricciones impuestas, es decir, no existe ninguna combinación de los parámetros especificados que cumpla todos los objetivos planteados.

Es por todo ello por lo que se decide cambiar de método para definir una combinación de parámetros que constituya un buen modelo HFpEF.

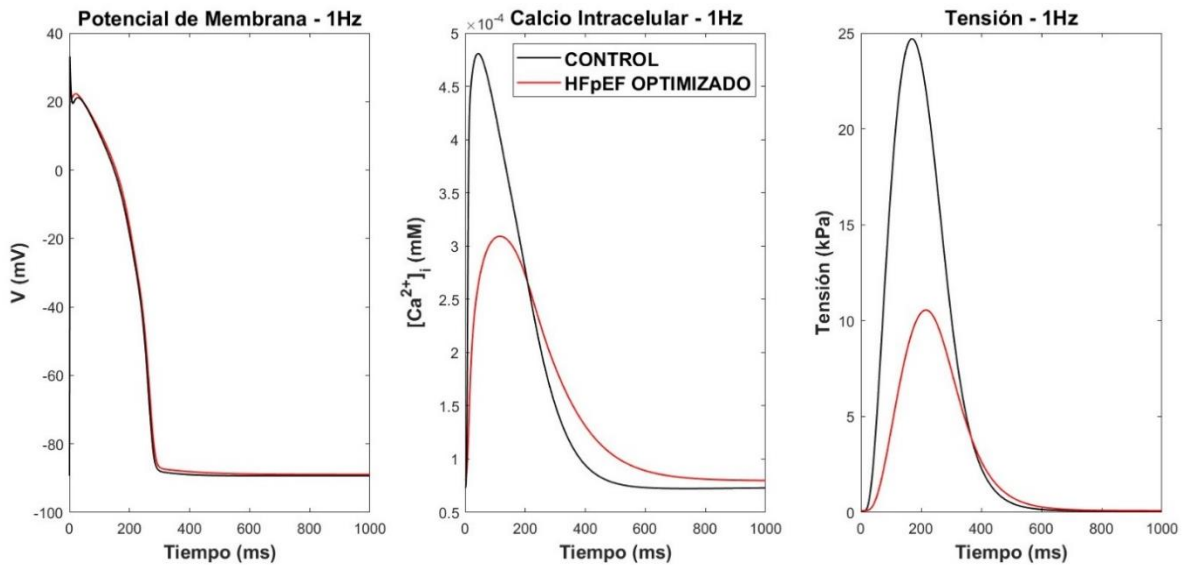


Figura 5.5. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, en condiciones sanas (negro) y con el modelo HFpEF obtenido en la optimización (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.

5.4. Poblaciones Celulares

Tras el resultado insatisfactorio de la optimización, se decide llevar a cabo la búsqueda del modelo HFpEF mediante la implementación de poblaciones de modelos. Este consiste en generar poblaciones de células con factores de escala aleatorios, dentro de rangos establecidos, de los parámetros que se quieren modificar, representando así la variabilidad propia de las poblaciones. De este modo, de entre todos los cardiomiocitos de la población se identificarán aquellos que se ajustan al fenotipo HFpEF. Este método permite obtener simulaciones acordes con la variabilidad natural de las células dentro de una población.

El objetivo será estudiar las células que cumplen todas las premisas impuestas en los biomarcadores, de este modo se podrán ir acotando los rangos de los factores de escala de los parámetros hasta conseguir los valores de dichos factores que mejor representan a un cardiomiocito acorde con la patología estudiada.

Antes de empezar, se establece una población de 10000 células tal y como se describe en el apartado 4.3.5 del capítulo anterior.

Como se ha dicho anteriormente, el propósito es quedarse con una combinación de factores de escala de los parámetros que reproduzcan el fenotipo HFpEF. Para ello, se eliminarán aquellos cardiomiocitos que no cumplen con las características propias de la patología y se observarán los rangos de los factores de escala dentro de los cuales se encuentran las células que sí que se ajustan a dichas particularidades.

En primer lugar, se comienza por introducir los factores de escala descritos en la Tabla 5.3, es decir, los mismos que para la optimización. De distinto modo, los objetivos de los biomarcadores ya no serán valores exactos, sino que se marcan unos rangos dentro de los cuales se pueden considerar células HFpEF, como puede observarse en la Tabla 5.4. Esto permite una mayor flexibilidad a la hora de encontrar cardiomiocitos de este tipo. Además, estos objetivos podrán ser reajustados en caso de

querer acotar la población o no encontrar células que se ajusten a las premisas. Por último, es importante precisar que los intervalos se aplican en función de la bibliografía experimental vista en la Tabla 5.2.

Tabla 5.4. Rangos de variación de los biomarcadores que definen una célula HFpEF respecto al valor de control (100%).

BIOMARCADOR	OBJETIVO HFpEF
APD ₉₀	110% - 130%
Ca _i DIASTÓLICO	110% - 120%
Ca _i SISTÓLICO	60% - 100%
CaTD ₉₀	110% - 140%
RT ₉₀	110% - 140%
Tensión _{MIN}	110% - 180%

Tras generar la población de modelos, observamos que ninguna de las 10000 células cumple los 6 objetivos buscados en los biomarcadores al mismo tiempo. Se obtiene, sobre todo, una ausencia de células con el APD₉₀ alargado más de un 10%, así como, una dificultad del calcio sistólico para llegar a un valor de más del 50% del valor de control.

Por lo tanto, se tiene el mismo problema que en la optimización, es por ello por lo que se decide lo siguiente: aumentar la variación de los factores de escala, de modo que la población de células no esté tan limitada y pueda haber más combinaciones que coincidan con el fenotipo HFpEF y, por otro lado, tras una nueva revisión bibliográfica más extensa, añadir dos nuevos parámetros, I_{Cab} y el flujo J_{Rel} .

Esta última decisión se basa, en primer lugar, en el artículo de Gong et al. (2020), el cual aumenta en un 19% la corriente de fondo (background) de calcio (I_{Cab}). Es por ello, que se decide introducirla, ya que en el análisis hecho en el apartado 5.1. se observaba que las modificaciones llevadas a cabo por Gong et al. (2020) favorecían un aumento del APD₉₀ mayor que control. En segundo lugar, la adición del flujo J_{Rel} . Tras haber observado referencias de un aumento de los receptores de rianodina (RyR2) en ratas y, posteriormente, una referencia en humanos (Runte et al. 2017), invita a pensar que la corriente de liberación de Ca^{2+} desde el RS al sarcoplasma (J_{Rel}) por medio de los receptores de rianodina puede estar afectada. Lo cual, además, presenta cierta coherencia con el aumento en el calcio en reposo en el sarcoplasma.

Es por todo ello que se procede a desarrollar una población con una mayor variabilidad de los factores de escala. Se puede observar en la Tabla 5.5 como tanto el parámetro J_{SERCA} como el de CaT_{50} serán modificados en un factor de escala entre 0.5 y 1, ya que gracias al análisis de sensibilidad realizado se sabe que estos han de disminuir. No obstante, el resto de los parámetros se varían con un factor de escala tanto por encima como por debajo de los valores de control, ya que buscamos la combinación que nos permita obtener un fenotipo HFpEF y, de este modo, podemos localizarlo más fácilmente y más tarde ir acotando dichos rangos.

Tabla 5.5. Primera modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la población respecto al valor de control (100%).

PARÁMETROS DEL MODELO	RANGOS DE LOS FACTORES DE ESCALA
J_{SERCA}	50% - 100%
J_{Leak}	50%-150%
I_{NCX}	50%-150%
CaT_{50}	50%-100%
I_{Cab}	50%-150%
J_{Rel}	50%-150%

Tras aplicar dichas variaciones, se escogen las células que cumplen con las premisas indicadas en la Tabla 5.4 y permitiendo un menor aumento del APD_{90} , es decir, que sea mayor que el valor de control y no que un 10%. De ello resultan 510 cardiomiocitos de los 10000 de la población.

Como se busca un calcio sistólico más elevado se restringe el valor mínimo del biomarcador a un 70%. Como consecuencia, obtenemos que solo 7 células cumplen todas las condiciones HFpEF al mismo tiempo. Esto permite, al examinar los valores de los parámetros de cada una de ellas, acotar más aun los rangos de los factores de escala.

A continuación, se desarrolla una nueva población ajustándose a rangos entre los que oscilan los factores de escala de los parámetros de 7 células “HFpEF” y aumentando el rango del parámetro I_{Cab} , ya que dichas células presentaban valores cercanos al factor de escala del 150%. De este modo se pueden obtener un mayor número de células y ajustar los valores de los biomarcadores. Las modificaciones se indican en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6. Segunda modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la nueva población, tras observar los parámetros de 7 células HFpEF obtenidas en la anterior población.

PARÁMETROS DEL MODELO	RANGOS DE LOS FACTORES DE ESCALA
J_{SERCA}	55% - 75%
J_{Leak}	75%-95%
I_{NCX}	100%-115%
CaT_{50}	80%-110%
I_{Cab}	130%-155%
J_{Rel}	50%-150%

El resultado que obtenemos es una población de 339 células que cumplen con las últimas restricciones probadas, es decir, aquellas de la Tabla 5.4, y con un APD_{90} mayor que control y el calcio sistólico mayor que un 70%. De estas, ninguna de ellas supera el 75% del calcio sistólico y solo 8 presentan dicho biomarcador entre un 73.5% y un 74.5% del valor de control. Tras obtener este grupo más reducido de células, se lleva a cabo una representación del potencial de membrana, el calcio intracelular y la tensión (Figura 5.6).

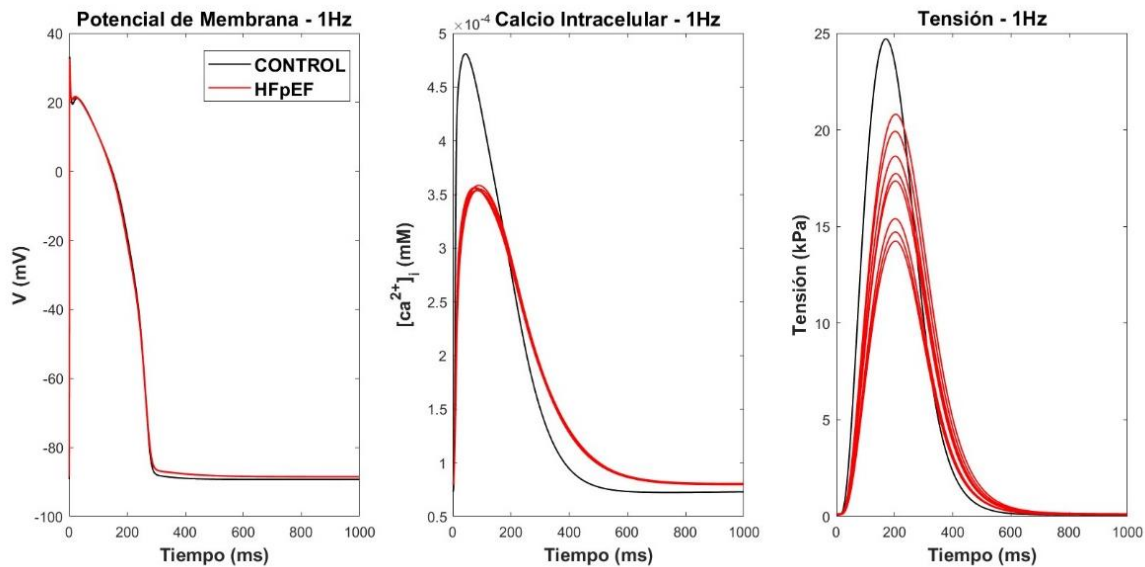


Figura 5.6. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de una población de 8 células HFpEF (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORD-Land.

En primer lugar, el APD_{90} no supera más del 101% del valor de control. Si recordamos las condiciones de un fenotipo HFpEF, este biomarcador debe situarse alrededor de un 20% más que en control (Jae Hyung Cho et al. 2017, S. Rouhana et al. 2018), por lo que se buscará un aumento de este.

En segundo lugar, nos fijamos en el calcio intracelular. Se consigue un aumento, comparado con células de poblaciones anteriores, del calcio sistólico de más del 70%, tal y como habíamos dicho anteriormente. Por otro lado, se obtiene el incremento deseado en el calcio diastólico, en este caso las 8 células se sitúan entre un 10% y 12% más que el valor de una célula sana. Por último, se consigue el aumento de $CaTD_{90}$ entre un 30% y 34% más que el cardiomiocito de control.

En último lugar, en cuanto a la electromecánica de las células seleccionadas, se obtienen valores del RT_{90} entre un 10% y un 18% más que la célula sana. Además, la tensión diastólica se sitúa entre un 16% y un 80% más, lo cual lo hace más flexible a la hora de encontrar células que cumplan dicha condición, a diferencia del resto de biomarcadores que se encuentran en rangos muy limitados, de menos de un 10% de variación. Por último, es importante destacar la gran variabilidad del valor de la fuerza máxima, como consecuencia a no haberlo introducido como condición de selección de la célula HFpEF.

A continuación, se proseguirá con las poblaciones para mejorar aquellos aspectos no conseguidos. Se tratará de llevar a cabo un mayor aumento del APD_{90} , aumentar el calcio sistólico, limitar la variabilidad del calcio diastólico y conseguir elevar la tensión sistólica dentro de un rango establecido, es decir, añadiéndola a las premisas que cumplen con el fenotipo HFpEF.

Para ello se seguirá con los rangos de los factores de escala más acotados que tenemos hasta el momento y que se ajustan a las condiciones HFpEF seleccionadas, obtenidos de la última población realizada. Por otro lado, se implementan dos corrientes a variar dentro de la población. Se quiere tratar de alargar el APD_{90} y el calcio sistólico, por ello se añaden las corrientes I_{CaL} e I_{NaK} , basándose en su relación con dichos biomarcadores.

En primer lugar, un bloqueo de la corriente I_{CaL} da lugar a un acortamiento del APD (Tomek et al. 2019), por lo que un aumento de esta corriente será útil para solucionar el problema de la duración del potencial de acción. Además, la intensidad de dicha corriente se ve aumentada en ratas con HFpEF (Jae Hyung Cho et al. 2017, P. J. Kilfoil et al. 2020) y también se percibe un aumento en la expresión de sus canales (Curl et al. 2018). En segundo lugar, la corriente I_{NaK} se encarga de mantener el $[Na^+]_i$ fisiológico y afecta al máximo de $[Ca^{2+}]_i$ (O'Hara et al., 2011), es decir, favorece un calcio sistólico mayor.

En cuanto a los biomarcadores que describen el fenotipo de la enfermedad, se incluye la Tensión Sistólica o Máxima limitándola a un valor ligeramente menor o igual que el de control (S. Rouhana et al., 2019) y, además, se acota a un rango más limitado el calcio diastólico. Todo ello aparece reflejado en una nueva tabla (Tabla 5.7) con nuevos cambios y valores que permanecen iguales que en la Tabla 5.4.

Tabla 5.7. Rangos de variación de los biomarcadores que definen la población de células HFpEF, respecto al valor de control (100%), tras añadir los nuevos parámetros I_{CaL} e I_{NaK}

BIOMARCADOR	OBJETIVO HFpEF
APD_{90}	110% - 130%
Ca_i DIASTÓLICO	110% - 130%
Ca_i SISTÓLICO	75% - 100%
$CaTD_{90}$	130% - 150%
RT_{90}	110% - 140%
Tensión _{MIN}	180% - 200%
Tensión _{MAX}	80% - 100%

Tras llevar a cabo una primera población con todos los cambios ya indicados, conseguimos una nueva agrupación de células que cumplen con los nuevos objetivos a los que no era posible llegar en poblaciones anteriores, es decir, un aumento de más del 10% del APD_{90} y una disminución del calcio sistólico por encima del 75% de control. Ello se debe al aumento de las corrientes I_{CaL} e I_{NaK} , las cuales se han modificado entre un factor de escala del 100% y del 150%. No obstante, se requiere una última

modificación, ya que las células seleccionadas presentan los factores de escala de los nuevos parámetros muy cercanos al 150%.

Es por ello por lo que se hace una nueva población aumentando el rango de dichos factores y acotando, por última vez, el resto para encontrar una población definitiva que represente el fenotipo HFpEF, dichos cambios se muestran en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8. Tercera modificación de los rangos de los factores de escala de los parámetros a variar dentro de la población final, respecto al valor de control (100%), tras observar los parámetros de células HFpEF obtenidas en la anterior población.

PARÁMETROS DEL MODELO	RANGOS DE LOS FACTORES DE ESCALA
J_{SERCA}	55% - 70%
J_{Leak}	80%-95%
I_{NCX}	100%-110%
CaT_{50}	85%-105%
I_{Cab}	160%-170%
J_{Rel}	100%-150%
I_{CaL}	130%-170%
I_{NaK}	130%-170%

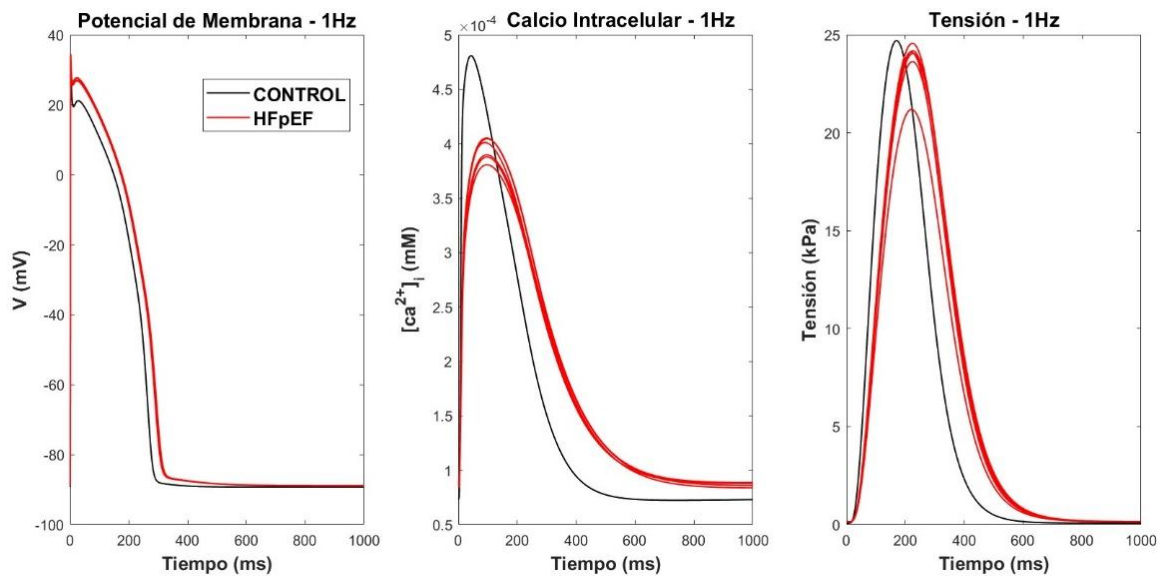


Figura 5.7. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de la población HFpEF final de 6 células (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORd-Land.

Esta última población, mostrada en la Figura 5.7, nos ofrece 6 células que satisfacen las características requeridas para tener fenotipo HFpEF, descritas en la Tabla 5.7. A simple vista podemos observar las características más relevantes de la patología, como un aumento del APD_{90} , una disminución del calcio sistólico y un aumento del diastólico, un aumento del CaT_{90} y un aumento de la tensión en reposo o diastólica.

En resumen, gracias a las poblaciones de células hemos podido encontrar la combinación de factores de escala de los 8 parámetros modificados que corresponden con un pequeño grupo de células que representan la enfermedad HFpEF dentro de una gran población de 10000 cardiomiocitos. Ahora que ya se sabe que si existe una combinación posible que dé lugar a este tipo de células, se puede llevar a cabo una optimización para llegar a objetivos exactos de los biomarcadores.

5.5. Optimización Final

Una vez alcanzado el modelo a partir de las sucesivas poblaciones, el objetivo es definir el valor de los factores de escala de modo exacto a partir de una optimización. La principal diferencia respecto a la primera optimización llevada a cabo en el apartado 5.3. es que, en este caso, la combinación de parámetros y biomarcadores, a partir de los cuales se pretende obtener el modelo, existe dentro de una población de cardiomiocitos. Sin embargo, la creada en el apartado anterior no podía darse en una población real de células cardíacas (hecho que se comprueba en la primera población realizada en el apartado 5.4) y, por ello mismo, el resultado no convergía en los objetivos impuestos.

Como ya es conocido que esta combinación puede darse satisfactoriamente dentro de una población celular, aplicamos los rangos de los factores de escala (Tabla 5.9) en los cuales se encuentran los parámetros de las 6 células HFpEF de la última población.

Tabla 5.9. Rangos definitivos de los factores de escala aplicados en la optimización para cada uno de los parámetros a modificar en el modelo final HFpEF, respecto al valor de control (100%).

PARÁMETROS DEL MODELO	RANGOS DE LOS FACTORES DE ESCALA
J_{SERCA}	55% - 61%
J_{Leak}	84%-95%
I_{NCX}	105%-110%
CaT_{50}	90%-100%
I_{Cab}	160%-170%
J_{Rel}	100%-145%
I_{CaL}	140%-160%
I_{NaK}	150-170%

Por otro lado, en el caso del método de la optimización, los biomarcadores deben ser valores exactos. Como ya es sabido, muchas de las referencias obtenidas de los experimentos no ofrecen un valor cuantitativo, y, si lo hacen, es relativo a cardiomiocitos en otros animales, como ratas o cerdos. Por tanto, se lleva a cabo una deliberación teniendo en cuenta las conocidas cualidades de dichos biomarcadores obtenidas a partir de la literatura ya mencionada y, por supuesto, los valores alrededor de los cuales oscilan las 8 células que conforman nuestro último modelo. Los objetivos finales de los biomarcadores que se buscarán en el modelo definitivo de una célula HFpEF se muestran en la Tabla 5.10.

Tabla 5.10. Objetivos de los biomarcadores introducidos en la optimización, respecto al valor de control (100%), para obtener el modelo HFpEF final.

BIOMARCADOR	OBJETIVO HFpEF
APD₉₀	120%
Ca_i DIASTÓLICO	115%
Ca_i SISTÓLICO	82.5%
CaTD₉₀	140%
RT₉₀	125%
Tensión_{MIN}	190%
Tensión_{MAX}	90%

Una vez llevada a cabo la optimización se tiene el modelo HFpEF definitivo; los resultados obtenidos tras llevar a cabo son los mostrados en la Tabla 5.11. Por último, se representa el potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión de una célula HFpEF, obtenida con el modelo final, y una célula sana (Figura 5.8).

Tabla 5.11. Valores definitivos de los factores de escala de cada uno de los parámetros y de los biomarcadores que definen el modelo celular HFpEF, respecto al valor de control (100%).

PARÁMETROS DEL MODELO	FACTORES DE ESCALA	BIOMARCADOR	VALOR HFpEF
J_{SERCA}	56.79%	APD ₉₀	110%
J_{Leak}	92.75%	Ca _i DIASTÓLICO	120%
I_{NCX}	108.46%	Ca _i SISTÓLICO	82%
CaT ₅₀	95.68%	CaTD ₉₀	143%
I_{Cab}	167.83%	RT ₉₀	122%
J_{Rel}	142.87%	Tensión _{MIN}	190%
I_{CaL}	146.15%	Tensión _{MAX}	94%
I_{NaK}	161.60%		

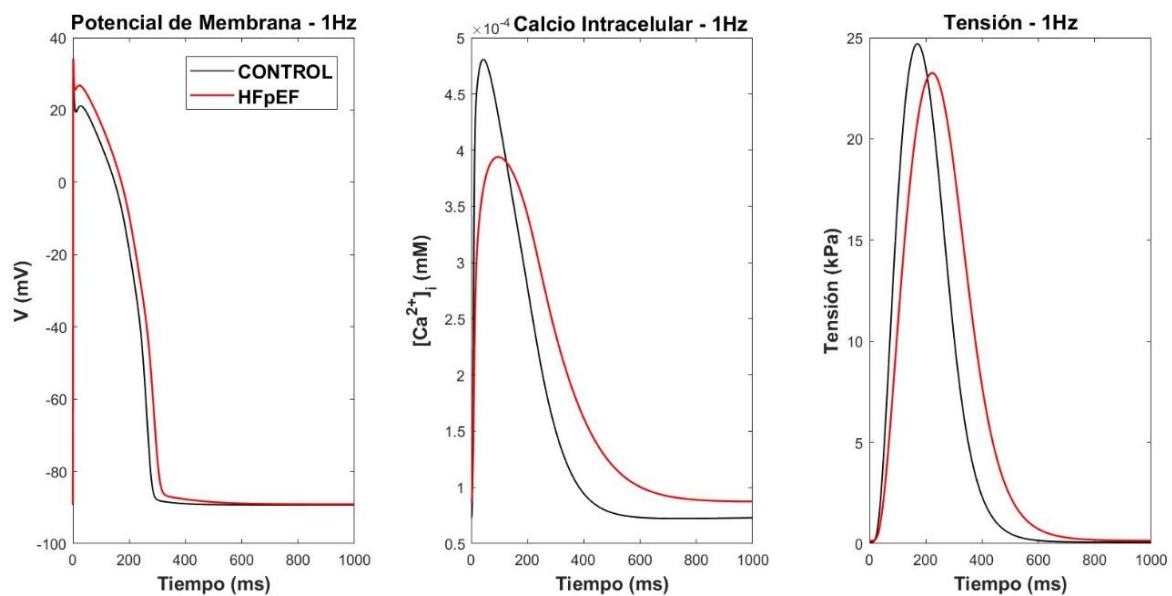


Figura 5.8. Potencial de membrana, transitorio del calcio intracelular y tensión a 1Hz, de una célula en condiciones sanas (negro) y de una célula HFpEF, obtenida a través del modelo optimizado y definitivo, (rojo), ambas a partir del modelo ToR-ORD-Land.

5.6. Estudio Frecuencial

Ya obtenido el modelo HFpEF, para ver si el modelo generado se comporta correctamente a distintas frecuencias se decide realizar un estudio frecuencial.

La insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada presenta como síntoma característico, dentro de otros, una intolerancia al ejercicio, es decir, la insuficiencia del corazón para bombear sangre se vuelve mayor al aumentar el ritmo cardíaco. Los pacientes con HFpEF muestran un aumento en la presión de llenado del ventrículo izquierdo cuando llevan a cabo una actividad con exigencia física (B. Pieske et al., 2019) (K. Omote et al., 2021) en otras palabras, la tensión diastólica aumenta al practicar ejercicio. En este apartado se busca determinar si el modelo celular creado también reproduce los síntomas de la patología detectados a nivel de órgano. Para ello, este apartado se basará principalmente en los experimentos realizados por Runte et al. (2017), en los cuales estudia el ciclo cardíaco a diferentes frecuencias en muestras de cardiomiocitos humanos sanos, con hipertensión (*Heart Hypertension Disease* o HHD) y con hipertensión y HFpEF al mismo tiempo (HFpEF + HHD). Es importante saber que la hipertensión es una enfermedad asociada a la disfunción diastólica y es una de las más comunes que presentan comorbilidad con HFpEF (Runte et al., 2017).

5.6.1. Respuesta Frecuencial del Modelo HFpEF

A continuación, realizaremos los estudios llevados a cabo por Runte et al. (2017) a partir del modelo HFpEF conformado.

Del mismo modo que Runte et al. (2017) y para poder analizar el mismo efecto en el modelo computacional HFpEF, se estudia la relajación y la contracción del miocardio a frecuencias de 1 Hz y 2 Hz. Como el modelo realizado se ha basado en estudios a 1 Hz ya se conoce su respuesta fisiológica a esta frecuencia, es por ello por lo que se estudia únicamente el comportamiento a 2 Hz.

En primer lugar, se grafican la tensión y el transitorio de calcio a 2 Hz de 4 latidos consecutivos (Figura 5.9). Se observa, el aumento del TTPT y de la tensión diastólica y, además, se percibe la imposibilidad de restablecer los niveles de Ca^{2+} durante la diástole.

Por otro lado, a parte de las representaciones gráficas, se realiza un pequeño análisis en el que se puede afirmar que la relajación miocárdica de la tensión en nuestro modelo HFpEF, medida a partir del biomarcador RT90, es un 16% mayor que control. Asimismo, se evidencia que al aumentar el ritmo cardíaco el biomarcador TTPT disminuye ligeramente.

En resumen, se puede afirmar que la respuesta a frecuencias mayores de los biomarcadores nombrados se comporta del mismo modo que en los experimentos que Runte et al. (2017) realiza.

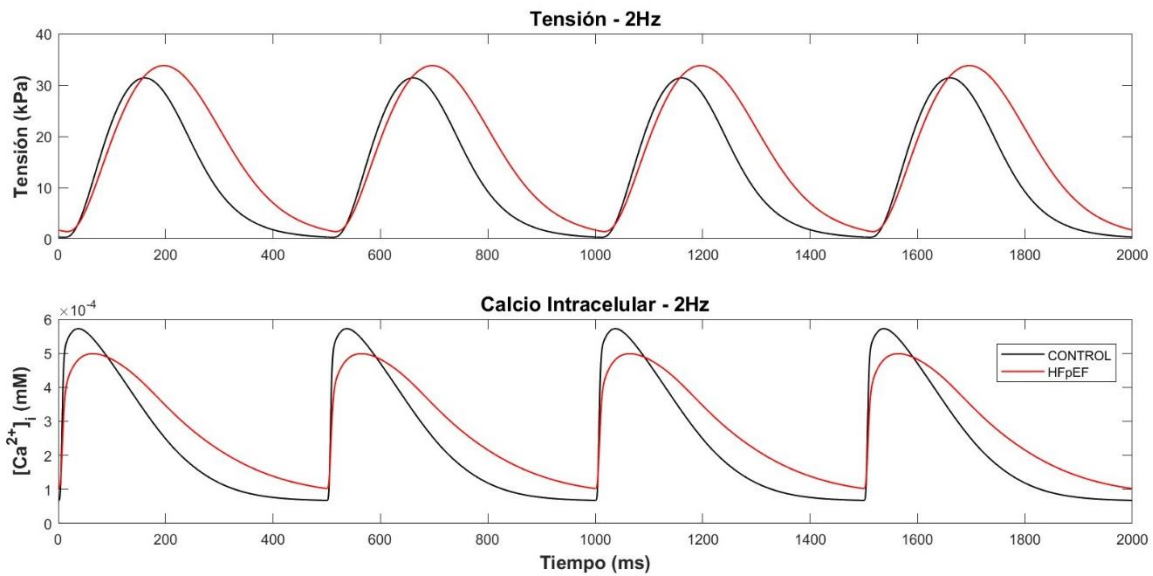


Figura 5.9. Representación de la tensión (arriba) y el transitorio de calcio (abajo) durante 4 latidos a 2 Hz, en un modelo de célula sana (negro) y en el modelo HFpEF creado (rojo).

5.6.2. Respuesta ante un Cambio Frecuencial Brusco del Modelo HFpEF

Análogamente a los experimentos de Runte et al. (2017), se lleva a cabo un estudio de cambio repentino de frecuencia. Consiste en someter a las células a un cambio brusco, de 1 a 2 Hz, para analizar la relajación incompleta y otros parámetros en relación con la mecánica celular y la dinámica del calcio.

En primer lugar, se grafican 50 latidos (ya estabilizados) a 1 Hz y, posteriormente, con las condiciones del último latido simulado a 1Hz, otros 100 latidos a 2 Hz. Gracias a esta representación podemos ver, superpuestas, la respuesta del calcio y de la tensión ante el cambio de frecuencias en células sanas y células con HFpEF (Figura 5.10).

La mayor demanda energética a altas frecuencia hace aumentar el calcio y tensión sistólica, pero en HFpEF también se observa claramente un aumento tanto del calcio diastólico como de la tensión diastólica al subir a 2Hz. Igualmente, se aprecia la diferencia respecto al cambio de ritmo que las células sanas (control) tienen al sufrir la misma alteración; en estas, los niveles diastólicos tanto de calcio como en la tensión se mantienen en valores fisiológicos. Este comportamiento coincide con las tendencias observadas por Runte et al. (2017), aunque debido al HHD las comparaciones directas con el modelo de HFpEF no son posibles.

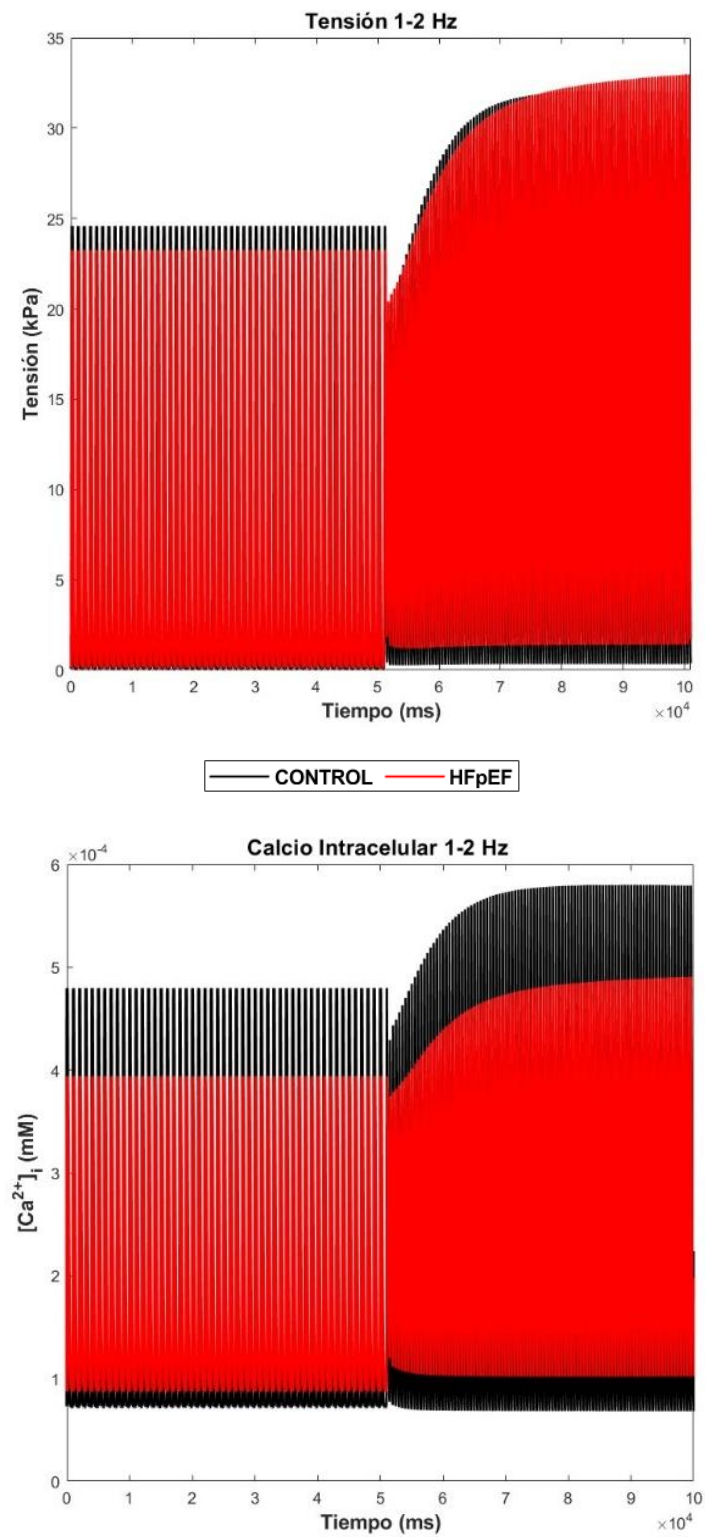


Figura 5.10. Representación de la tensión (arriba) y el transitorio de calcio (abajo) de una célula sana (negro) y una HFpEF (rojo) superpuestas tras un cambio repentino de 1 Hz a 2 Hz.

El aumento en la tensión diastólica tras el cambio de frecuencia se ha cuantificado y normalizado en la Figura 5.11. Se muestra que el aumento de la tensión en reposo debido al cambio de frecuencia al comparar una célula sana con una con HFpEF es equiparable al de los experimentos *in vivo* de Runte et al. (2017) de cardiomiocitos humanos.

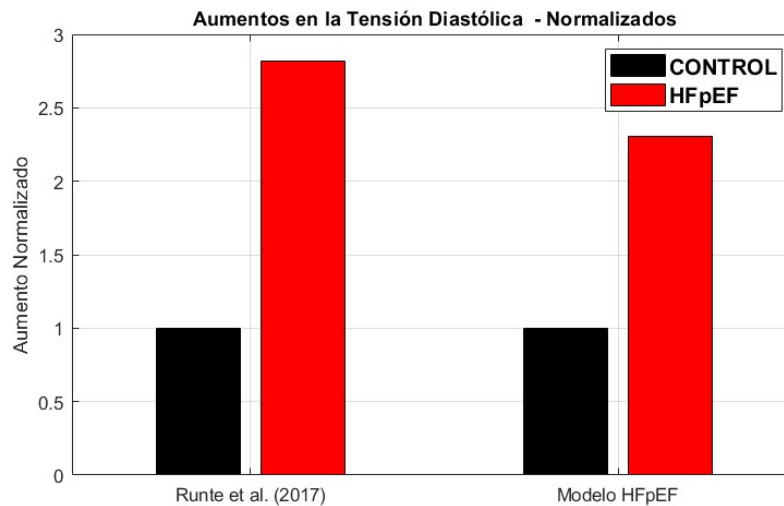


Figura 5.11. Representación por medio de un gráfico de barras del incremento normalizado, entre control y HFpEF, en la tensión diastólica al cambiar a una frecuencia mayor, de los experimentos llevados a cabo por Runte et al. (2017) y nuestro modelo HFpEF.

Por tanto, se puede decir que nuestro modelo de HFpEF simula de una manera correcta el aumento de frecuencia.

5.6.3. Comparación de la Relación Fuerza – Frecuencia entre el Modelo Sano, HFpEF y HFrEF

Para finalizar con el estudio frecuencial se lleva a cabo una comparativa de la relación de la fuerza con la frecuencia de nuestro modelo HFpEF, un modelo HFrEF (Mora et al., 2023) y el modelo de célula sana. Se simula la amplitud de la tensión a 5 frecuencias diferentes (0.5, 0.7, 1, 1.5 y 2 Hz) y se observa su evolución.

La enfermedad HFrEF se trata de la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (Heart Failure with reduced Ejection Fraction). Esta presenta una fracción de eyección del ventrículo izquierdo igual o menor al 40%, es decir, su capacidad para bombear sangre se ve limitada. Ello se refleja en la menor fuerza activa de los miofilamentos, debido a un calcio diastólico elevado y un calcio sistólico muy reducido. Además, el cambio de tensión que ejercen los cardiomiocitos no varía con la frecuencia como debería; en vez de una relación fuerza-frecuencia positiva estos presentan una curva más plana o incluso negativa, indicando la mala adaptación del corazón a ritmos elevados (Mashali et al. ,2021).

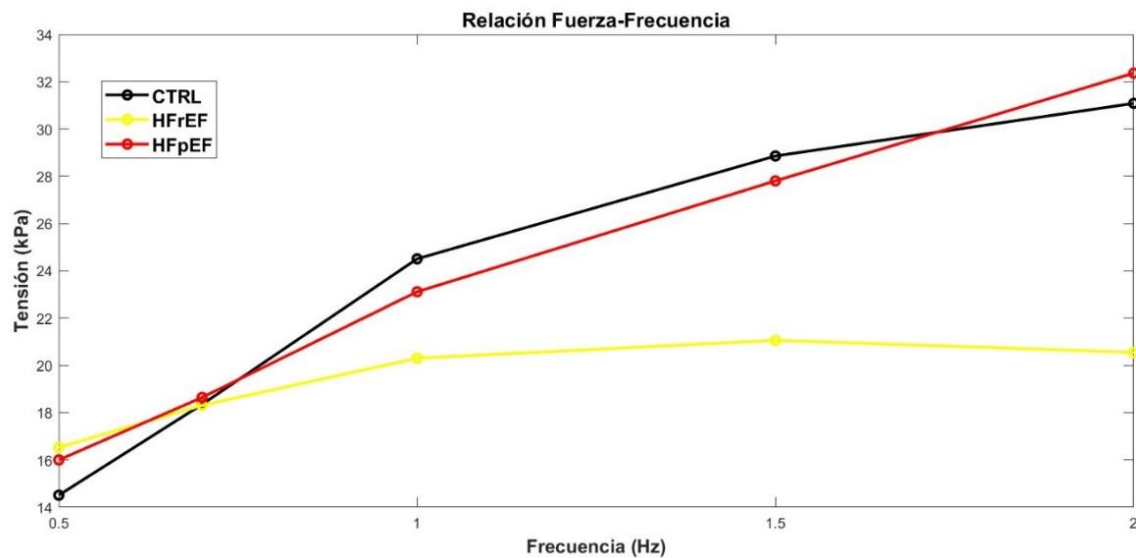


Figura 5.12. Relación Fuerza-Frecuencia de los modelos de cardiomiocito sano (negro), HFrEF (amarillo) y HFpEF (rojo). La tensión, medida en kPa, representa la amplitud de la fuerza (diferencia entre tensión máxima y mínima) y se grafica a distintas frecuencias (0.5, 0.7, 1, 1.5 y 2) en Hz.

Una vez se grafica la relación de cada uno de los modelos y se superponen (Figura 5.12), se puede apreciar lo siguiente. En comparación con el modelo de cardiomiocito sano, la amplitud de la tensión en HFrEF se ve mucho más reducida que la de HFpEF, como era de esperar, ya que la tensión sistólica de HFrEF se ve altamente disminuida en comparación con la de HFpEF. Por otro lado, a bajas frecuencias (0.5 Hz) se observa una similitud entre ambas insuficiencias cardíacas que desaparece con el aumento de hercios. Por último, a diferencia de HFrEF, el modelo HFpEF presenta un incremento positivo de la relación fuerza-frecuencia. Es por ello por lo que se puede afirmar que nuestro modelo no presenta el grave problema de adaptación a la frecuencia que sí se da en HFrEF.

5.7. Terapias

El último objetivo del presente TFG es encontrar una terapia a partir de los parámetros que han sido modificados, de modo que el fenotipo HFpEF cambie y alcance un fenotipo más propio de cardiomiocito sano. Se hablará de terapias en todo momento, no obstante, estas se proponen como una herramienta para guiar en la investigación de terapias reales y no como la solución definitiva a la enfermedad.

Se busca que el cardiomiocito enfermo recupere valores saludables, evaluando los biomarcadores utilizados durante el estudio del modelo. Para simular las terapias, se restituirán uno por uno los factores de escala que multiplican a los parámetros al factor de escala 1. Por tanto, al trabajar con 8 parámetros en el modelo, se generarán 8 terapias, cada una correspondiente a la modificación de uno de los parámetros al valor de control, manteniendo los demás con los valores originales del modelo HFpEF.

A continuación, se evalúa como cada terapia afecta a los biomarcadores del potencial de membrana (APD_{90}), de la dinámica del calcio ($CaTD_{90}$, Ca_i Sistólico y Ca_i Diastólico) y de la mecánica del cardiomiocito (Tensión Máxima, Tensión Mínima, RT_{90} , TTPT). Se llevan a cabo distintos gráficos de barras (Figura 5.13) para cada uno de los biomarcadores, de modo que se pueda hacer una comparativa entre las células sanas, las enfermas (HFpEF) y las que reciben las distintas terapias. Los valores de dichos biomarcadores son normalizados para poder apreciar mejor la variación entre las distintas condiciones. Se pone atención en aquellas terapias cuyo valor del biomarcador es similar al de control y se contempla lo siguiente.

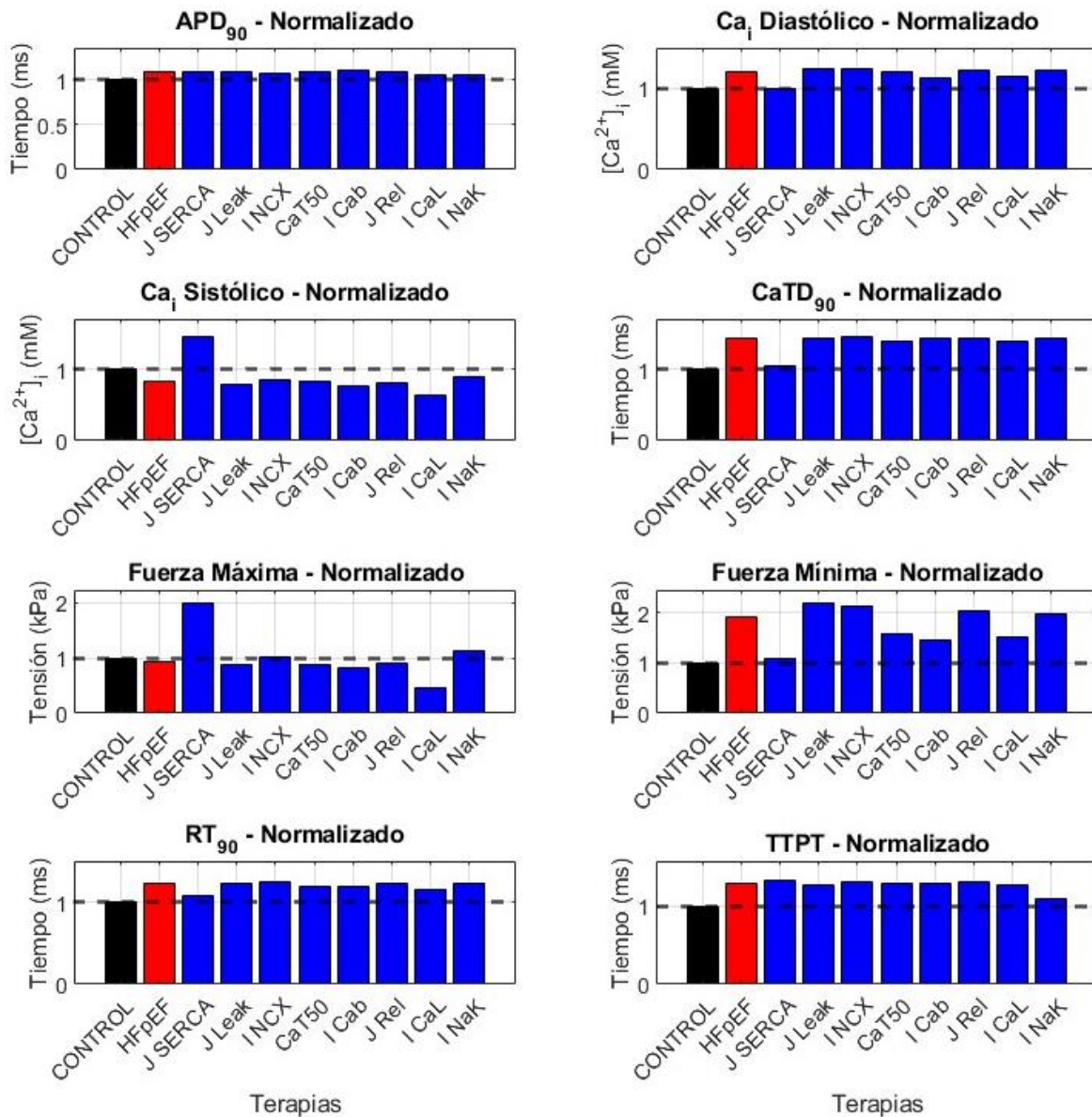


Figura 5.13. Representación de los 8 biomarcadores (APD_{90} , Calcio Diastólico, Calcio Sistólico, $CaTD_{90}$, Fuerza Máxima, Fuerza Mínima, RT_{90} , TTPT) en una célula sana (negro), una célula HFpEF (rojo) y en 8 células con una terapias distinta cada una (azul). En el eje Y se presentan los valores de los biomarcadores normalizados, mientras que en el eje X se muestran, además de las condiciones de la célula sana (CONTROL) y enferma (HFpEF), los parámetros a los que corresponden cada una de las terapias aplicada (J_{SERCA} , J_{Leak} , $INCX$, $CaT50$, $ICab$, J_{Rel} , $ICaL$, $INak$)

En primer lugar, en cuanto al potencial de membrana, podemos observar como el APD_{90} no resulta muy modificado respecto a control al aplicar las distintas terapias. Este hecho podía ser previsible, ya que nuestro modelo HFpEF no alcanza valores mucho más altos de este biomarcador en control. No obstante, si se tuviera que elegir una terapia para reducir el APD_{90} , sería bien la de I_{CaL} o la de I_{NaK} .

Por otro lado, en cuanto a la dinámica del calcio, se destaca el efecto de la terapia del parámetro J_{SERCA} , el cual mejora notablemente los valores del calcio diastólico y del $CaTD_{90}$, devolviéndolos a niveles cercanos al control. No obstante, dicha terapia tiene un efecto negativo en el calcio sistólico, ya que lo eleva más de lo requerido para alcanzar el fenotipo sano.

En tercer lugar, para la mecánica celular se distinguen diversas terapias que mejoran los biomarcadores. En cuanto a la fuerza máxima, la terapia que mejor funciona es la de I_{NCX} . Por otro lado, la terapia J_{SERCA} da lugar a valores fisiológicos en la fuerza mínima, así como en el RT_{90} . Sin embargo, esta misma terapia tiene efecto inverso en la tensión máxima, que aumenta al doble del valor de control al aplicarla, de modo similar al efecto que tenía en el calcio sistólico. Por último, para restablecer los valores del TTPT a un fenotipo saludable, la terapia de I_{NaK} es la que mejores resultados proporciona.

Tras el análisis de la Figura 5.13 se puede concluir que la terapia que tiene un impacto positivo en el tratamiento de la enfermedad es aquella en la que J_{SERCA} aumenta respecto al valor de control (factor de escala 1). No obstante, como ya se ha visto, si se aplicara esta terapia, tendría un efecto no deseado en la tensión y el calcio sistólico, elevándolos a valores demasiado altos. Es por ello por lo que, en vez de aplicar una sola terapia se puede valorar la posibilidad de aplicar dos o más, de modo que los valores se compensen. Si se observa con atención los gráficos de barras (Figura 5.13) de los biomarcadores perjudicados por la terapia J_{SERCA} , se puede apreciar como otras terapias tienen el efecto contrario. El caso más significativo es el de la terapia I_{CaL} , que es la que más reduce la fuerza mínima y el calcio sistólico. Se prueba a simular el efecto de una célula con la terapia de J_{SERCA} y de I_{CaL} al mismo tiempo. Para apreciar mejor el efecto terapéutico se representa, en la Figura 5.14, el potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión de las 3 células (sana, HFpEF y HFpEF con terapia).

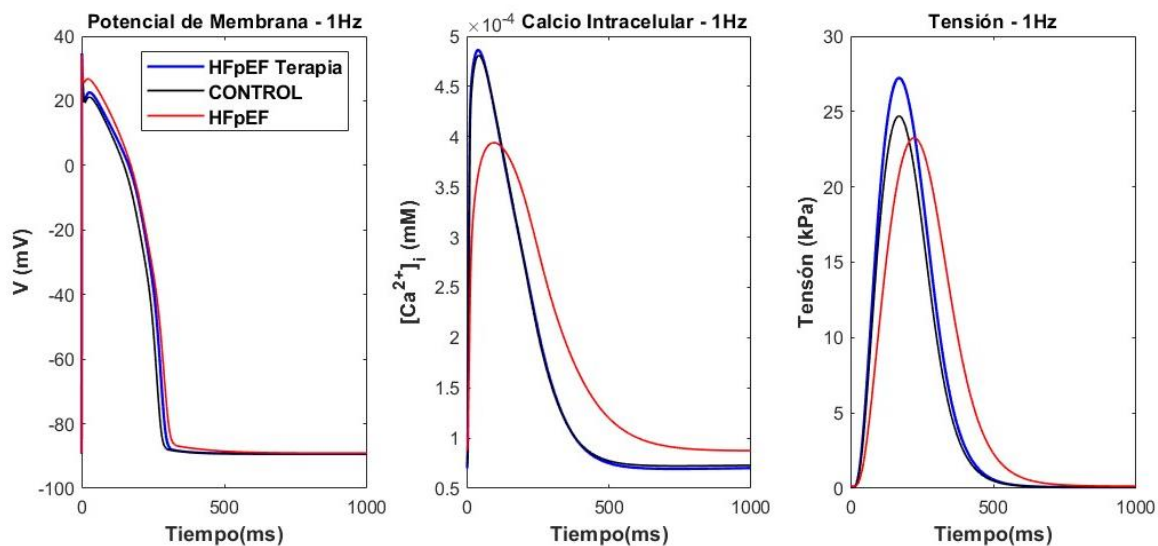


Figura 5.14. Representación del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión en una célula HFpEF con la terapia $J_{SERCA} + I_{CaL}$ (azul), una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo).

Se evidencia como la terapia aplicada da resultados favorables tanto para la dinámica del calcio como para el potencial de membrana, ya que su comportamiento se ajusta al de la célula sana. No obstante, la mecánica no satisface un fenotipo similar al de control. Por ello se prueba a aplicar otra modificación en la terapia del parámetro $J_{SERCA} + I_{CaL}$ para reducir este efecto de la tensión sistólica.

Prestando atención al gráfico de barras donde se representa la tensión máxima (Figura 5.13), se puede apreciar que las terapias J_{Leak} , CaT_{50} y J_{Rel} disminuyen dicho biomarcador. Se aplican por tanto tres terapias diferentes para contemplar su efecto por separado y se representa su actividad celular en la Figura 5.15.

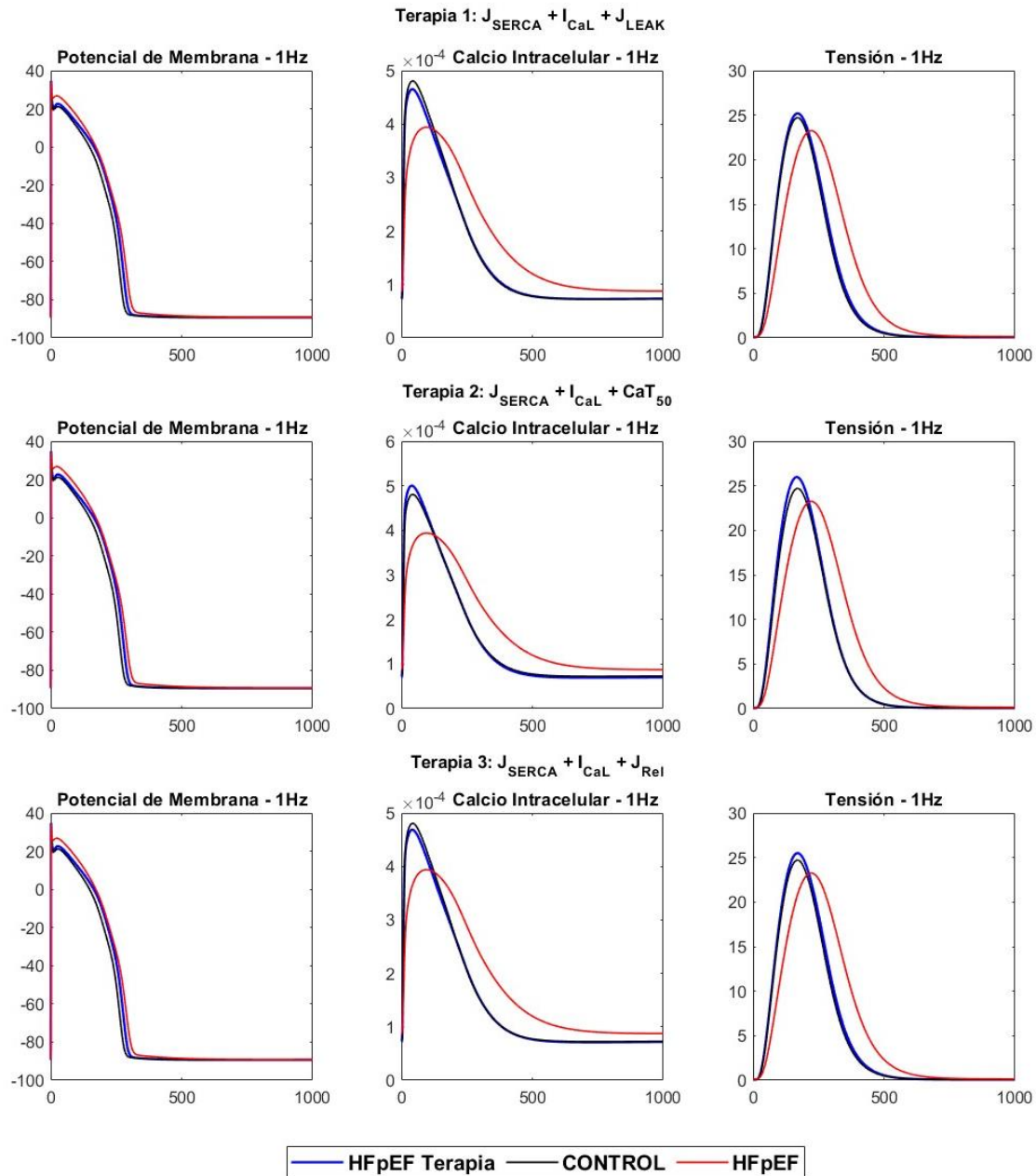


Figura 5.15. Representación del potencial de membrana, el transitorio de calcio y la tensión en 3 células con terapias diferentes (azul), una célula sana (negro) y una célula con HFpEF (rojo).

En primer lugar se observa la Terapia 1, $J_{SERCA} + I_{CaL} + J_{Leak}$, a continuación en la segunda fila la Terapia 2, $J_{SERCA} + I_{CaL} + CaT_{50}$, y por último la Terapia 3, $J_{SERCA} + I_{CaL} + J_{Rel}$. Las tres consiguen el objetivo que se buscaba: disminuir la tensión máxima a niveles fisiológicos. La Terapia 1 lo lleva a cabo de manera muy exacta, por otro lado, tanto la 2 como la 3, también ofrecen un resultado satisfactorio, a pesar de presentar una pequeña elevación de dicho biomarcador respecto a control.

Asimismo, la implementación de las nuevas terapias cambian ligeramente el comportamiento del calcio intracelular, elevándolo o disminuyéndolo ligeramente, sin embargo estos cambios no son significativos si lo comparamos con la enfermedad. Por último, el potencial de membrana mantiene valores inferiores al de HFpEF en todas las terapias, por lo que serán aceptables.

En resumen, estas tres terapias ofrecen una buena respuesta dentro de nuestro modelo HFpEF para devolver a la célula a un estado saludable. Como ya se ha recalcado al inicio del apartado, dichas terapias no son reales puesto que no existen como tal, pero son una guía para la investigación y búsqueda de tratamientos para el HFpEF.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIÓN

En este TFG se ha implementado una remodelación de la patología HFpEF en el modelo numérico electromecánico de un cardiomiocito ventricular sano de ToR-ORD-Land. Este nuevo modelo de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada ha permitido realizar un estudio exhaustivo sobre los mecanismos implicados en ella.

Primero, se definió el fenotipo de la patología HFpEF necesario para generar la remodelación. Para ello, tanto experimentos *in vivo* como *in silico* sirvieron de referencia, determinando las diferencias más significativas de los biomarcadores respecto a cardiomiocitos sanos. Además, los experimentos *in vivo* permitieron obtener las características del remodelado de corrientes, flujos y bombas que más tarde se implementaron en el modelo como parámetros.

En segundo lugar, basándose en los parámetros que el experimento *in silico* de Gong et al. (2020) aplicaba en su modelo HFpEF y otros de carácter mecánico, se desarrolló un análisis de sensibilidad que permitió identificar los parámetros más sensibles a los biomarcadores a estudiar. Destacaba el CaT_{50} , de carácter mecánico, que tenía un mayor impacto en los biomarcadores de dicho carácter. Por otro lado, corrientes como I_{NCX} y el flujo de la bomba SERCA (J_{SERCA}) indicaron una alta sensibilidad sobre el resto de los biomarcadores relacionados con el calcio y el potencial de membrana, incluso con algunos de carácter mecánico.

Una vez estudiada la sensibilidad del modelo ToR-ORD-Land, se pudo comenzar con la remodelación. El objetivo principal era modificar los parámetros aplicando factores de escala basados en el análisis de sensibilidad. Para ello, en primera instancia se trató de hacer una optimización; sin embargo, no se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que no se encontraron cardiomiocitos que cumplieran las condiciones aplicadas. Por ello, se optó por crear poblaciones de modelos que permitieran representar la variabilidad natural de los cardiomiocitos. A partir de estas, se localizaron los valores óptimos de los parámetros para encontrar células con fenotipo HFpEF. A lo largo del proceso, se realizaron más de 9 poblaciones de modelos, variando los rangos de los parámetros y biomarcadores para facilitar la búsqueda. Asimismo, se añadieron parámetros a los inicialmente propuestos en el análisis de sensibilidad, para poder alcanzar los objetivos establecidos.

Finalmente, una vez logradas las características de la patología que se buscaban, se aplicó una optimización que dio valores definitivos a los parámetros que remodelaron el modelo ToR-ORD-Land, conformando un modelo HFpEF. Este se caracterizó por: un transitorio de calcio y una tensión elevados en la diástole y ligeramente reducidos en la sístole y un aumento en la duración del transitorio de calcio, en la de la relajación de la tensión y en la del potencial de acción. Para conseguir estos resultados, la actividad de J_{SERCA} se redujo casi a la mitad del valor en control y J_{Leak} y CaT_{50} se redujeron ligeramente respecto al mismo. Por otro lado, la corriente I_{NCX} se elevó casi un 10% más que en células sanas y las corrientes I_{Cab} , J_{Rel} , I_{CaL} e I_{NaK} se incrementaron alrededor de un 50% más que en control.

Una vez constituido el modelo HFpEF, un estudio de frecuencia demostró las características de la insuficiencia cardíaca respecto a los cambios de frecuencia repentinos, incrementándose el calcio y la tensión diastólica, mostrando la inhabilidad de relajación en este tipo de patología.

Por último, se identificaron posibles terapias para guiar en la investigación y búsqueda de tratamientos para HFpEF. Las terapias que devolvieron a nuestro modelo de insuficiencia cardíaca a un fenotipo de cardiomiocito sano fueron aquellas que restauraron la actividad de la bomba SERCA y de la corriente

I_{CaL} a valores de control, pudiéndose combinar además con alguno de las terapias correspondientes a los parámetros J_{Leak} , CaT_{50} o J_{Rel} .

En resumen, este estudio ha permitido obtener un modelo que reproduce la actividad de un cardiomiocito con HFpEF. Siendo este de gran utilidad para el campo de la investigación, permitiendo una mejor comprensión de los mecanismos electromecánicos que tienen lugar en esta patología, así como proveyendo una útil herramienta para desarrollar nuevos fármacos que permitan mejorar las condiciones de vida de los pacientes que sufren la insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada.

CAPÍTULO 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Academia de Estudios MIR, S.L. (2023). *Manual AMIR* (Vol. Cardiología y Cirugía Cardiovascular).
- Adeniran, I., Maclaver, D., Hancox, J., & Zang, H. (2015). Abnormal calcium homeostasis in heart failure with preserved ejection fraction is related to both reduced contractile function and incomplete relaxation: an electromechanically detailed biophysical modeling study. *Frontiers in Physiology*, 6(78). Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00078>
- Alicia Mattiazzi, M. V. (2013). Fisiología del Miocito Cardíaco. Buenos Aires.
- Biology Online Dictionary*. (s.f.). Recuperado el 11 de Junio de 2024, de <https://www.biologyonline.com/dictionary/sarcolemma>
- Bragarda, J., Camarab, O., Echebarriac, B., Giorda, L. G., Pueyo, E., Saiz, J., . . . Vázquez, M. (2021). Modelización computacional cardíaca. *Sociedad Española de Cardiología*, 74(1), 65-71.
- Cho, J. H., Zhang, R., Kilfoil, P., Gallet, R., Couto, G., Bresee, C., . . . Cingolani, E. (2017). Delayed Repolarization Underlies Ventricular Arrhythmias in Rats With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *Circulation*. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028202
- Curl, C., R. Danes, V., R. Bell, J., J. A. Raaijmakers, A., T. K. Ip, W., Chandramouli, C., . . . J. Edgley, A. (2018). Cardiomyocyte Functional Etiology in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction Is Distinctive—A New Preclinical Model. *Journal of the American Heart Association*. doi:10.1161/JAHA.117.007451
- D'Assante, R., Arcopinto, M., Rengo, G., Salzano, A., Walser, M., Gambino, G., . . . Cittadini, A. (2021). Myocardial expression of somatotrophic axis, adrenergic signalling, and calcium handling genes in heart failure with preserved ejection fraction and heart failure with reduced ejection fraction. *ESC Heart Failure*, 8, 1681-1686. doi:10.1002/ehf2.13067
- Eisne, D. A., Caldwell, J. L., Trafford, A. W., & Hutchings, D. C. (2020). The Control of Diastolic Calcium in the Heart: Basic Mechanisms and Functional Implications. *Circulation Research*, 126:395–412. doi:10.1161/CIRCRESAHA.119.315891
- Fahim Faisal, F. F. (2022). RemECG: An IoT based Remote Electrocardiography System.
- Faisal, F., Faisal, F., & Khalilullah, I. (2022). RemECG: An IoT based Remote Electrocardiography System. doi:10.1109/ICOEI53556.2022.9777134
- Ferrero de Loma-Orsorio, Jose María (Universitat Politècnica de València). 2021. “Material Asignatura : Bioelectricidad, Grado de Ingeniería Biomédica.”
- Frisk, M., Le, C., Shen, X., Røe, Å., Hou, Y., Manfra, O., . . . Louch, W. E. (2021). Etiology-Dependent Impairment of Diastolic Cardiomyocyte Calcium Homeostasis in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(4). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.044>
- Guindo Soldevilla, J. (2004). *Apuntes de Cardiología*. Barcelona: J&C Ediciones Médicas.
- Hall, J. (2016). *Tratado de Fisiología Médica*. Elsevier.
- Heidenreich, P., Bozkurt, B., Aguilar, D., Allen, L., Byun, J., Colvin, M., . . . Yancy, C. (2022). AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American

- College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 145(18), 895-1032.
doi:<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001063>
- Hershel Raff, M. L. (2013). *Fisiología Médica. Un enfoque por aparatos y sistemas*. McGraw-Hill Education.
- Hiemstra, J., Gutierrez-Aguilar, M., Marshall, K., McCommis, K., Zgoda, P., Cruz-Rivera, N., . . . Emter, C. (s.f.). A new twist on an old idea part 2: cyclosporine preserves normal mitochondrial but not cardiomyocyte function in mini-swine with compensated heart failure. *Physiological Reports*, 2(6), 12050. doi: 10.14814/phy2.12050
<https://enfermeria.top/apuntes/anatomia/conceptos-basicos/sistema-cardiovascular/>. (s.f.).
- Jingqi Q.X. Gong, M. E., Gong, J., Susilo, M. E., Sher, A., Musante, C., & Sobie, E. (2020). Quantitative analysis of variability in an integrated model of human ventricular electrophysiology and β -adrenergic signaling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 143(96-106). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2020.04.009>
- Kilfoil, P., Lotteau, S., Zhang, R., Yue, X., Aynaszyan, S., Solymani, R., . . . Goldhaber, J. (2020). Distinct features of calcium handling and β -adrenergic sensitivity in heart failure with preserved versus reduced ejection fraction. *The Journal of Physiology*, 598.22, 5091-5108. Obtenido de <https://doi.org/10.1113/JP280691>
- Klabunde, R. E. (2021). *Cardiovascular Physiology Concepts*. Wolters Kluwer. Obtenido de <https://www.cvphysiology.com/Cardiac%20Function/CF020>
- Koeppen, M., & Stanton, A. (2008). *Berne & Levy Physiology*. Elsevier.
- Land, S., Park-Holohan, S.-J., Smith, N., dos Remedios, C., Kentish, J., & Niederer, S. (2017). A model of cardiac contraction based on novel measurements of tension development in human cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 106, 68-83. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.03.008>
- Miguel, D. I. (2007). Nociones básicas de anatomía, fisiología y patología cardíaca: Bradiarritmias y Taquiarritmias.
- Mora Fenoll, M. T. (2020). *In silico study of calcium handling in the human failing heart*. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia.
- National Heart, Lung, and Blood Institute. (2022). Obtenido de <https://www.nhlbi.nih.gov/es/salud/corazon/anatomia>
- National Heart, Lung, and Blood Institute. (2022). Recuperado el 2024 de Junio de 11, de <https://www.nhlbi.nih.gov/es/salud/corazon/flujo-sanguineo>
- O'Hara, T., Virág, L., Varró, A., & Rudy, Y. (2011). Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation. *PLoS Computational Biology*, 7(5). doi:10.1371/journal.pcbi.1002061
- Olivotto, I., Udelson, J. E., Pieroni, M., & Rapezzi, C. (2022). Genetic causes of heart failure with preserved ejection fraction: emerging pharmacological treatments. *European Heart Journal*, 44(656-667). Obtenido de <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac764>

- Omote, K., Verbrugge, F., & Borlaug, B. (2021). Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Mechanisms and Treatment Strategies. *Annual Review of Medicine*, 73(321-37). Obtenido de <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042220>
- Paul A. Heidenreich, B. B. (2022). AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines.
- Pieske, B., Tschöpe, C., A. de Boer, R., G. Fraser, A., D. Anker, S., Donal, E., . . . Ruschitzka, F. (2019). How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 40(3279-3317). doi:10.1093/eurheartj/ehz641
- Real Academia Nacional de Medicina de España. (2012). *Diccionario de términos médicos*. Editorial Médica Panamericana. <https://dtme.ranm.es/index.aspx>.
- Rodríguez-Artalejo, F., Banegas Banegas, J., & Guallar-Castillón, P. (2004). Epidemiología de la insuficiencia cardíaca. *Revista española de Cardiología*, 57(2), 163-170. Obtenido de <https://doi.org/10.1157/13057268>
- Rois Gonzalez, A. (2021). *Análisis numérico del modelo de Hodgkin-Huxley*. Trabajo Fin de Grado, Universidad de Santiago de Compostela.
- Rouhana, S., Farah, C., Roy, J., Finan, A., Rodrigues de Araujo, G., Bideaux, P., . . . Fares, N. (2018). Early calcium handling imbalance in pressure overload-induced heart failure with nearly normal left ventricular ejection fraction. *BBA - Molecular Basis of Disease*, 1865, 230-242. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.08.005>
- Runte, K., Bell, S., Selby, D., Häußler, T., Ashikaga, T., LeWinter, M., . . . Meyer, M. (2017). Relaxation and the Role of Calcium in Isolated Contracting Myocardium From Patients With Hypertensive Heart Disease and Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circ Heart Fail*. doi:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.004311
- Schwinger, R. H. (2021). Pathophysiology of heart failure. *Cardiovasc Diagn Ther*, 11(1), 263-276. doi:10.21037/cdt-20-302
- Simmonds, S., Cuijpers, I., Heymans, S., & Jones, E. A. (2020). Cellular and Molecular Differences between HFpEF and HFrEF: A Step Ahead in an Improved Pathological Understanding. *Cells*, 9(242). doi:10.3390/cells9010242
- T. Bussey, C., Hughes, G., Saxena, P., F. Galvin, I., W. Bunton, R., K. Noye, M., . . . R. Lamberts, R. (2015). Chamber-specific changes in calcium-handling proteins in the type 2 diabetic human heart with preserved ejection fraction. *International Journal of Cardiology*, 193(53-55). Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.05.053>
- Tamargo, J., & Valenzuela, C. (2013). *Farmacología Humana*. (Vol. Capítulo 38. Fármacos antiarrítmicos.).
- Tinker, A., Aziz, Q., Li, Y., & Specter, M. (2018). ATP-Sensitive Potassium Channels and Their Physiological and Pathophysiological Roles. 8(4). doi:10.1002/cphy.c170048
- Tomek, J., Bueno-Orovio, A., Passini, E., Zhou1, X., Mincholé1, A., Britton, O., . . . Severi, S. (2019). Development, calibration, and validation of a novel human ventricular myocyte model in

health, disease, and drug block. *Cell Biology Computational and Systems Biology*. Obtenido de <https://doi.org/10.7554/eLife.48890>

- Tsumoto, K., & Kurata, Y. (2022). Bifurcations and Proarrhythmic Behaviors in Cardiac Electrical Excitations. *Biomolecules*, 12(3), 459. doi:10.3390/biom12030459
- Vega, J. S., Luque, M., Salinas, G., & Gómez, J. (2021). Actualización Clínica: insuficiencia cardíaca, concepto y clasificación. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 13, 2011-2017. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.06.001>
- Woodcock, E. A., & Matkovich, S. J. (2005). Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 1746–1751. doi:10.1016/j.biocel.2005.04.011
- Zhan, Q., Peng, W., Wang, S., & Gao, J. (2022). Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Pathogenesis, Diagnosis, Exercise, and Medical Therapies. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 15, 310-326. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s12265-022-10324-y>

PRESUPUESTO

1. INTRODUCCIÓN

Se realiza una estimación de los costes que el presente trabajo ha supuesto, por medio de los presupuestos. Se dividirá en coste de mano de obra, coste de hardware y, por último, coste de software. Estos dos últimos serán calculados teniendo en cuenta el factor de amortización, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Factor de Amortización} = \frac{\text{Tiempo de uso}}{\text{Tiempo de vida útil}} \quad (10)$$

2. PRESUPUESTO DETALLADO

2.1. Coste de Mano de Obra

En la Tabla 1 se desglosan los costes asociados a la mano de obra que ha participado en el proyecto. A continuación, se detalla dicho personal:

- Beatriz Ana Trénor Gomis: Doctora Ingeniera Industrial, tutora del TFG.
- María Teresa Mora Fenoll: Doctora en Tecnologías para la Salud y el Bienestar, co-tutora del TFG.
- Lucía Rodríguez Lastras: Estudiante de Ingeniería Biomédica. Responsable de llevar a cabo las simulaciones y el análisis del TFG, así como su completa redacción.

Tabla 1. Presupuesto desglosado de la mano de obra.

Mano de Obra	Coste Unitario	Horas	Coste Total
Doctora ingeniera Tutora	25 €/h	32 h	800 €
Doctora ingeniera Co-tutora	25 €/h	40 h	1000 €
Ingeniera biomédica <i>junior</i>	15 €/h	300 h	4500€

Total mano de obra: 6300 €

2.2. Coste de Hardware

En la Tabla 2 se precisan los costes asociados al material electrónico necesario para llevar a cabo el proyecto, este se calcula teniendo en cuenta el factor de amortización (10).

Tabla 2. Coste desglosado sin IVA del hardware.

Hardware	Coste sin IVA	Cantidad	Factor de Amortización	Coste Total sin IVA
Ordenador portátil HP ENVY laptop 13-ba0009ns	950 €	1 u	8/48 meses	158,33 €
Nodos de computación	4132,23 €	1 u	4/120 meses	137,74 €

Total coste de hardware: 296.1 €

2.3. Coste de Software

A continuación, se especifican los costes de los programas informáticos empleados durante la realización del proyecto. Dichos programas son:

- Windows 11 Home: sistema operativo del ordenador utilizado, viene incluido en el precio de este.
- Microsoft Office 365: conjunto de programas informáticos que llevan a cabo tareas ofimáticas.
- Matlab R2022b: programa empleado para el desarrollo de los códigos del modelo y las respectivas simulaciones necesarias para el estudio.

Tabla 3. Coste desglosado sin IVA del software

Software	Coste sin IVA	Cantidad	Factor de Amortización según Duración Licencia	Coste Total sin IVA
Windows 11 Home	144.99 €	1 u	8/60 meses	0 €
Microsoft Office 365	75 €	1 u	8/12	46,67 €
Matlab R2022b	900 €	1 u	8/12 meses	600€

Total coste de software: 646,67 €

2.4. Coste Total

El coste total del proyecto se trata de la suma de los tres costes: de mano de obra, de *hardware* y de *software*, a los cuales hay que aplicar el Impuesto sobre el Valor Añadido (IVA) de un 21%.

Tabla 4. Coste total del proyecto.

<i>Tipo de Costes</i>	Coste sin IVA	Coste con IVA
Mano de Obra	6300 €	7623 €
Hardware	296,1 €	358,24 €
Software	646,67 €	782,47 €

Presupuesto Total: 8763,72 €

Finalmente, el presupuesto total del proyecto tiene un coste de 8763,72 €.

ANEXO I: Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030

El grado de relación del TFG con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030 viene determinado únicamente por el tercer ODS de la siguiente tabla (Tabla 5), se trata del objetivo de “Salud y bienestar” cuya meta es garantizar una vida saludable y promover el bienestar universal. El trabajo contribuye así con la investigación de las enfermedades cardiovasculares, primera causa de muerte en el mundo.

Tabla 5. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la agenda 2030.

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