

Simulación de los efectos de fármacos antiarrítmicos en la electrofisiología auricular

V. Puche-García¹, L. Romero¹, J. Saiz¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, España

jsaiz@ci2b.upv.es

Resumen

La terapia farmacológica es la primera línea contra la fibrilación auricular; aunque los mecanismos no se comprenden por completo. Nuestro objetivo es comparar datos experimentales a nivel unicelular de varios fármacos con la respuesta de tres modelos computacionales diferentes: Courtemanche (CRN), Grandi y Skibbye (SKI) empleando un modelo de bloqueo de poro simple, así como una variante de modelo dinámico para los fármacos flecainida y vernakalant en CRN (+I_{Na,Marvok}). La mayoría de las simulaciones consiguen reproducir la dependencia del aumento del APD₉₀ y la disminución de la dV/dt_{max} con la frecuencia y la concentración. Además, las respuestas de CRN, CRN+I_{Na,Marvok} y SKI reprodujeron de manera más adecuada las tendencias encontradas en los resultados experimentales. El análisis realizado contribuye a la mejora de la simulación de fármacos antiarrítmicos.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia sostenida más común en humanos, afectando a casi el 2% de la población. Aunque no se considera una arritmia mortal, conlleva riesgos potencialmente mortales para el paciente [1].

A pesar de las implicaciones relacionadas, los mecanismos subyacentes a esta patología no se comprenden completamente y los tratamientos existentes no son completamente efectivos. La terapia de ablación y la farmacoterapia son las dos estrategias principales contra la FA; sin embargo, aproximadamente en un tercio de todos los pacientes los resultados no son óptimos.

La administración de agentes antiarrítmicos es la primera línea de tratamiento contra la FA. Los fármacos actúan sobre canales iónicos específicos de manera que se modifica la electrofisiología y la propagación del impulso en el tejido cardíaco, provocando la terminación de las múltiples ondas de actividad eléctrica que mantienen la FA y eventualmente restaurando el ritmo sinusal. Sin embargo, los fármacos actuales tienen una eficacia limitada y en algunos casos se han identificado efectos secundarios graves como favorecer arritmias potencialmente mortales en los ventrículos tipo *torsades de pointes*.

Debido a la alta incidencia y a la baja efectividad de las estrategias actuales, existe un gran interés en estudiar en profundidad los mecanismos de acción de los agentes antiarrítmicos para poder entender mejor su efecto y conseguir desarrollar biomarcadores que ayuden al clínico a elegir la terapia óptima.

En este trabajo se lleva a cabo un estudio computacional para evaluar y entender mejor el efecto de cuatro fármacos

comúnmente utilizados en el tratamiento de la FA (amiodarona, dofetilide, flecainida, vernakalant) sobre el potencial de acción auricular (PA).

2. Métodos

2.1. Modelo de miocito humano auricular

Para reproducir la electrofisiología presente en las aurículas se implementaron tres modelos computacionales de miocito humano auricular: Courtemanche-Ramirez-Nattel [2], Grandi [3] y Skibbye [4].

2.2. Modelado del bloqueo por fármaco

Los fármacos actúan interaccionando con ciertas familias de canales bloqueando parte de su corriente. Este efecto se puede modelar a través de un modelo de poro simple o mediante un modelo dinámico mediante una formulación de Markov. El modelo de poro simple se implementó para todos los fármacos en los modelos CRN, GRND y SKI. Adicionalmente, también se implementó el modelo dinámico para los fármacos vernakalant y flecainida en el modelo CRN (CRN+I_{NaMarvok}).

Para simular el efecto del fármaco mediante el modelo de poro simple, la conductancia máxima de las corrientes iónicas se redujo de acuerdo con la ecuación de Hill:

$$g_{i,drug} = g_i \cdot \left[1 + \left(\frac{D}{IC_{50,i}} \right)^{nH} \right]^{-1}$$

donde $g_{i,drug}$ es la conductancia máxima de la corriente i en presencia del fármaco, $IC_{50,i}$ es la concentración inhibitoria media máxima del fármaco, D la concentración de fármaco libre y nH el coeficiente de Hill indicando el número de moléculas del fármaco que se supone que son suficientes para bloquear el canal. Para cada fármaco, los valores de IC_{50} y nH para las diferentes corrientes se muestran en la Tabla 1, publicados por Llopis-Lorente et al. [5].

Tabla 1. Valores experimentales de IC_{50} (μM) y coeficiente de Hill para los diferentes fármacos antiarrítmicos.

Fármaco	IC ₅₀ de la corriente iónica (μM) (Coeficiente de Hill si es distinto de 1)					
	I _{CaL}	I _{Kr}	I _{Ks}	I _{Kur}	I _{to}	I _{Na}
<i>Amiodarona</i>	1.59 (0.65)	0.56 (1.32)	1.74 (0.72)	-	3.76 (0.4)	0.48 (0.7)
<i>Dofetilide</i>	2.3 (5.4)	0.01	100	-	-	1460 (5.1)
<i>Flecainida</i>	26.35 (1.19)	1.5 (0.88)	20	-	9.26 (0.7)	5.8
<i>Vernakalant</i>	84	20	-	15	15	90

El modelo dinámico permite simular la afinidad y dependencia del fármaco al estado del canal. Para simular la inhibición de la corriente rápida de sodio (I_{Na}) producida por el vernakalant y la flecainida en el modelo CRN, se incluyó el modelo de Markov publicado por Moreno et al. [6] y modificado por Sutanto et al. [7].

Las respuestas de los modelos en presencia de los diferentes fármacos se compararon y validaron frente a datos experimentales publicados en la literatura [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

2.3. Protocolo de simulación

Las ecuaciones diferenciales ordinarias de los modelos unicelulares CRN, GRND y SKI se resolvieron utilizando el *solver* de paso de tiempo variable *ode15s* en MATLAB.

Los modelos de PA auricular fueron estimulados aplicando una corriente 1.5 veces la umbral y una duración de 2 ms. Los modelos se estabilizaron estimulándolos a 1 y 2.5 Hz, durante 20 s en el caso de CRN y 500 s para GRND y SKI. A continuación, se aplicaron 150 pulsos más añadiendo el efecto del fármaco, manteniendo la misma frecuencia.

En las simulaciones se reprodujeron los efectos de diferentes concentraciones de fármacos y diferentes periodos de estimulación (BCL, *Basic Cycle Length*) sobre los PAs, la duración del PA al 90% de repolarización (APD_{90}) y sobre la velocidad máxima de despolarización (dV/dt_{max}). Estos biomarcadores se calcularon en el pulso número 150 tras la aplicación del fármaco.

3. Resultados y discusión

3.1. Simulaciones unicelulares

La Figura 1 muestra el PA para los 4 modelos electrofisiológicos (CRN, GRND, SKI, $CRN+I_{Na,Markov}$) tras la aplicación de los 4 fármacos (amiodarona, dofetilide, flecainida, vernakalant) para 1 y 2.5 Hz. Se han utilizado sus concentraciones terapéuticas (EFTPC, *Effective Therapeutic Concentration*) [5, 7]: amiodarona = 0.063 μ M, dofetilide = 0.002 μ M, flecainida = 1.448 μ M, vernakalant = 3 μ M. De manera general, los fármacos consiguen aumentar el APD_{90} y reducir la dV/dt_{max} .

La flecainida consigue el mayor aumento en la prolongación del APD_{90} ; por ejemplo, en el caso de CRN (BCL = 1000 ms) consigue incrementar el APD_{90} en un 17.03%, mientras que dofetilide lo aumenta un 4.40% y vernakalant, un 1.61%. Esto se debe a que el bloqueo de la corriente de potasio rectificadora de activación rápida (I_{Kr}), la cual contribuye principalmente en la repolarización del PA, es mayor en el caso de la flecainida (bloqueo de un 49%) mientras que para el resto de los fármacos el bloqueo no supera el 20%, teniendo en cuenta para cada fármaco el IC_{50} y la EFTPC. El bloqueo de corrientes de potasio salientes (I_K) actúa como principio antiarrítmico ayudando a reducir la vulnerabilidad a la FA ya que provoca el aumento en la duración del potencial y, por lo tanto, favorece la refractariedad, generando un aumento en el período refractario efectivo.

El modelo GRND no consigue reproducir adecuadamente el alargamiento en el APD_{90} debido a que la sensibilidad

de este modelo a la corriente I_{Kr} es muy baja (datos no mostrados), por lo que el bloqueo de esta corriente no produce un cambio significativo en la prolongación del PA.

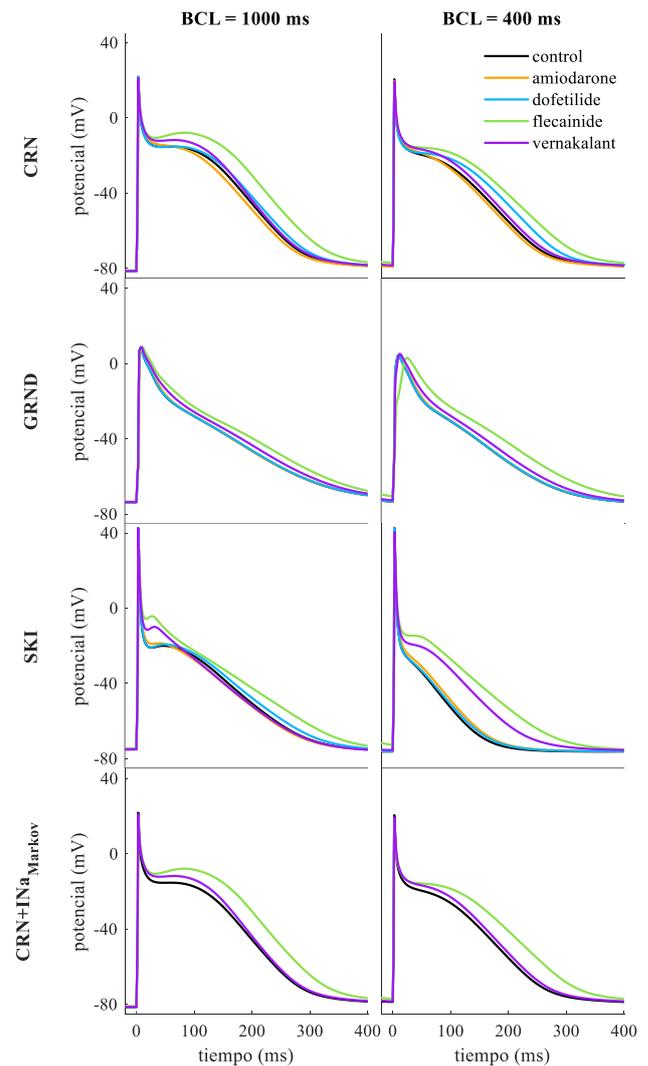


Figura 1. PAs para los 4 modelos y los dos periodos de estimulación bajo condiciones control y bajo el efecto de los fármacos a su concentración terapéutica.

Para el modelo CRN, el aumento en el APD_{90} es mayor para la frecuencia rápida obteniendo un aumento de 4.40% en frecuencia normal frente un 4.51% en frecuencia rápida en el caso de dofetilide, un 17.03% frente un 21.06% en el caso de flecainida y un 1.61% frente a un 3.27% en el caso de vernakalant por lo que la prolongación del APD_{90} es dependiente de la frecuencia.

La amiodarona casi no varía el APD_{90} , pero sí logra reducir la dV/dt_{max} produciendo una disminución del 3.97% para frecuencia normal y 4.46% para la frecuencia rápida para el modelo SKI. De la misma forma, el resto de fármacos reducen la dV/dt_{max} de manera dependiente a la frecuencia consiguiendo un decremento en frecuencia normal de 0.08% frente a un 0.66% en frecuencia rápida en el caso de dofetilide, un 16.53% frente un 36.28% en el caso de flecainida y un 1.75% frente a un 6.91% en el caso de vernakalant para el modelo SKI.

En líneas generales, la dependencia del bloqueo y sus efectos sobre el APD_{90} y la dV/dt_{max} con la frecuencia es

coherente con estudios experimentales y se observa que los fármacos producen una acción selectiva en ritmos fibrilatorios.

3.2. Modulación del efecto de fármacos en función del periodo de estimulación

La Figura 2 muestra las variaciones de APD_{90} y dV/dt_{max} en función del BCL comparado con resultados experimentales. La concentración utilizada en la simulación para cada fármaco coincide con aquella usada en los experimentos referidos.

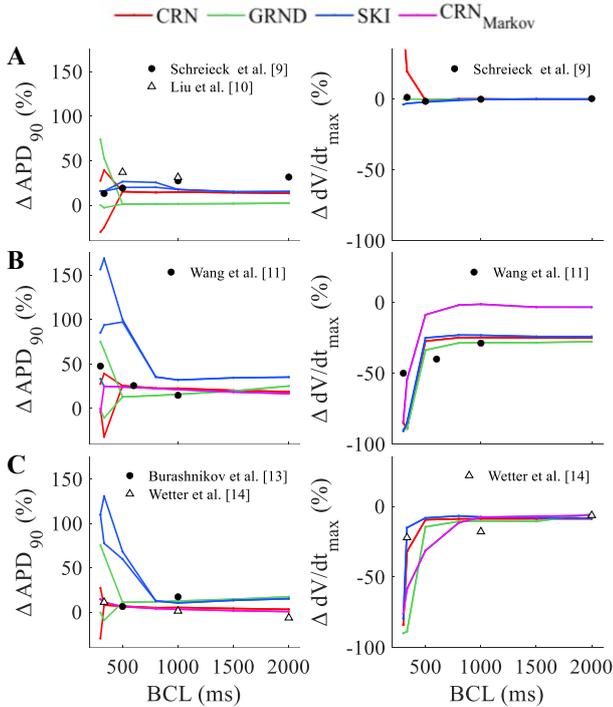


Figura 2. Simulación de la variación porcentual del APD_{90} y dV/dt_{max} en función del BCL para (A) dofetilide ($0.01 \mu M$), (B) flecainida ($2.25 \mu M$) y (C) vernakalant ($10 \mu M$) para los diferentes modelos comparados con datos experimentales (●, Δ) publicados en la literatura.

El dofetilide (Figura 2-A) produce un incremento en el APD_{90} que se mantiene estable para diferentes BCLs de forma coherente con los registros experimentales, excepto en el caso de GRND donde no hay apenas variación debido a la baja sensibilidad del modelo a la I_{Kr} . De la misma manera, este fármaco no genera una variación significativa de la dV/dt_{max} para diferentes frecuencias debido a que el fármaco actúa principalmente sobre la corriente I_{Kr} la cual actúa fuera de la despolarización. Este efecto se consigue reproducir con GRND y SKI, mientras que para CRN aumenta bastante a ritmos rápidos. Aun así, en los registros experimentales publicados por Schreieck et al. [9] se muestra un ligero incremento de la dV/dt_{max} de 0.28% a una frecuencia de 3Hz comparado con el incremento de 8.24% para CRN.

Tanto flecainida (Figura 2-B) como vernakalant (Figura 2-C) aumentan su efecto con la frecuencia: mayor incremento del APD_{90} y mayor reducción de la dV/dt_{max} . Ambos fármacos bloquean la I_{Na} reduciendo con ello la dV/dt_{max} y consecuentemente aumentando el umbral de excitación de manera que se consigue reducir la excitabilidad y

automaticidad ectópica auricular. La mayor potencia de estos fármacos a ritmos rápidos conduce a una mayor inhibición de la I_{Na} en estas condiciones, como es el caso de la FA, lo que ayuda a limitar la actividad de reentrada y restaurar el ritmo sinusal en esta patología. Para estos fármacos, los modelos CRN y $CRN+I_{Na,Markov}$ reproducen las tendencias de los fármacos de manera óptima tanto para la variación en la dV/dt_{max} como en el APD_{90} . Para el modelo SKI, el APD_{90} se acerca bastante a la respuesta experimental, aunque muestra incrementos demasiado elevados a la hora de reproducir el efecto de flecainida y vernakalant en ritmos rápidos.

3.3. Modulación del efecto de fármacos en función de su concentración

Estudios experimentales muestran un efecto de los fármacos dependiente de la concentración aplicada. Los resultados simulados se representan en la Figura 3. El BCL implementado en la simulación para cada fármaco coincide con aquel empleado en el protocolo experimental. En este caso, todas las simulaciones se realizaron a 1Hz .

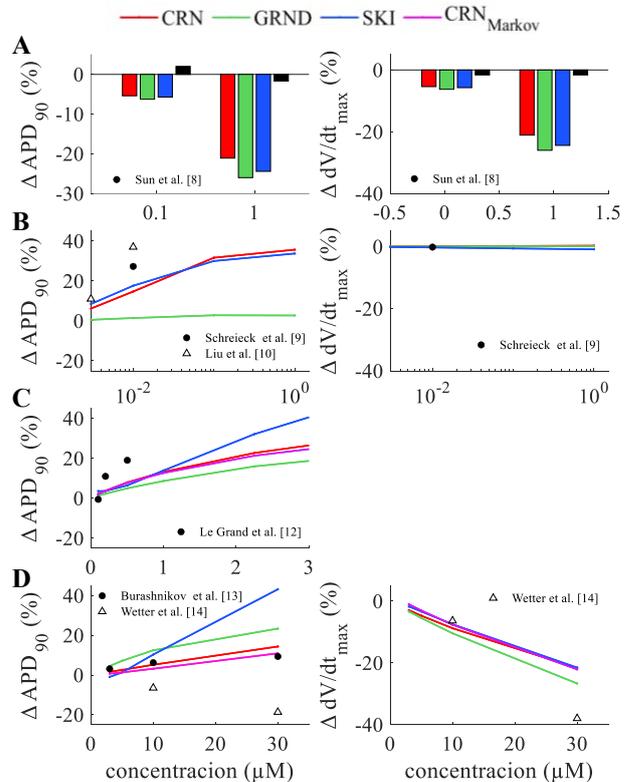


Figura 3. Simulación de la variación porcentual del APD_{90} y dV/dt_{max} en función de la concentración (μM) para (A) amiodarona (B) dofetilide, (C) flecainida y (D) vernakalant para los diferentes modelos a 1Hz comparados con datos experimentales (●, Δ) publicados en la literatura.

Excepto por el efecto de dofetilide en la dV/dt_{max} , los fármacos muestran un efecto dependiente a la concentración, de manera que, a mayor concentración, mayor es el grado de bloqueo sobre los canales y por lo tanto mayores son la prolongación del APD_{90} y la reducción de la dV/dt_{max} .

Como se adelantaba en las simulaciones bajo EFTPC, la amiodarona (Figura 3-A) produce poca variación sobre el

APD₉₀, teniendo un mayor efecto sobre la dV/dt_{max} . En el caso del dofetilide (Figura 3-B), el modelo GRND vuelve a fallar en representar el aumento del APD₉₀. Además, la dV/dt_{max} muestra apenas variación debido a que este fármaco no actúa sobre I_{Na} a diferencia del resto de fármacos simulados.

Nuevamente, el modelo CRN, CRN+ $I_{Na,Markov}$ y SKI reproducen las tendencias de forma similar a los resultados experimentales, aunque el modelo SKI genera un incremento elevado del APD₉₀ en el caso de vernakalant a concentraciones elevadas (Figura 3-D).

3.4. Limitaciones y líneas futuras

Para comprender mejor el efecto de los fármacos sobre la FA, las simulaciones unicelulares se pueden ampliar a modelos multidimensionales que permitan incluir las características anatómicas y electrofisiológicas. Debido a la disponibilidad de datos en la literatura, la acción de los fármacos se simuló mediante modelos de poro simple en algunos casos como en otros estudios similares [15]. Extender el modelo de Markov al resto de fármacos y modelos computacionales permitiría reproducir la dependencia en frecuencia y la inhibición de la I_{Na} de manera más realista.

4. Conclusiones

En este estudio *in-silico* se ha demostrado que los modelos computacionales resultan útiles a la hora de predecir el efecto de fármacos sobre la electrofisiología auricular. Se puede observar que los modelos que reproducen mejor los resultados experimentales son CRN y CRN+ $I_{Na,Markov}$ seguidos del modelo SKI, ya que este se aleja de los mismos para flecainida y vernakalant, especialmente para altas frecuencias. Respecto a los modelos dinámicos basados en CRN+ $I_{Na,Markov}$, es necesario tener en cuenta el coste computacional que conlleva simular con un esquema de Markov en el modelo para decidir cuál sería más indicado para simulaciones multicelulares, como aquellas que utilizarían modelos 3D realistas de la aurícula. Este trabajo constituye un paso previo al uso de la simulación computacional como herramienta para diseñar nuevos fármacos en el tratamiento de la FA.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Programa Prometeo de la Generalitat Valenciana (2020/043) y por el programa de investigación e innovación Horizon 2020 de la Unión Europea bajo subvención No 101016496 (SimCardioTest).

Referencias

- [1] Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, Schotten U, Savelieva I, Ernst S, Zupan I. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *European heart journal*, vol 31, sup 19, 2010, pp 2369-2429
- [2] Courtemanche M, Ramirez RJ, Nattel S. Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties: insights from a mathematical model. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol 275, sup 1, 1998, pp H301-H321
- [3] Grandi E, Pandit SV, Voigt N, Workman AJ, Dobrev D, Jalife J, Bers DM. Human atrial action potential and Ca²⁺ model: sinus rhythm and chronic atrial fibrillation. *Circulation research*, vol 109, sup 9, 2011, pp 1055-1066
- [4] Skibsbye L, Jespersen T, Christ T, Maleckar MM, van den Brink J, Tavi P, Koivumäki JT. Refractoriness in human atria: Time and voltage dependence of sodium channel availability. *Journal of molecular and cellular cardiology*, vol 101, 2016, pp 26-34
- [5] Llopis-Lorente J, Gomis-Tena J, Cano J, Romero L, Saiz J, Trenor B. In silico classifiers for the assessment of drug proarrhythmicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol 60, sup 10, 2020, pp 5172-5187
- [6] Moreno J, Zhu Z, Yang P, Bankston J, Jeng M, Kang C, Wang L, Bayer J, Christini D, Trayanova N, Ripplinger C, Kass R, Clancy C. A computational model to predict the effects of class I anti-arrhythmic drugs on ventricular rhythms. *Science translational medicine*, vol 3, sup 98, 2011, pp 98ra83
- [7] Sutanto H, Laudy L, Clerx M, Dobrev D, Crijns HJ, Heijman J. Maastricht antiarrhythmic drug evaluator (MANTA): A computational tool for better understanding of antiarrhythmic drugs. *Pharmacological research*, vol 148, 2019, pp 104444
- [8] Sun W, Sarma JS, Singh BN. Chronic and acute effects of dronedarone on the action potential of rabbit atrial muscle preparations: comparison with amiodarone. *Journal of cardiovascular pharmacology*, vol 39, sup 5, 2002, pp 677-684
- [9] Schreieck J, Wang Y, Gjini V, Korth M, Zrenner B, Schömig A, Schmitt C. Differential Effect of β -Adrenergic Stimulation on the Frequency-Dependent Electrophysiologic Actions of the New Class III Antiarrhythmics Dofetilide, Ambasilide, and Chromanol 293. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, vol 8, sup 12, 1997, pp 1420-1430
- [10] Liu G, Xue X, Gao C, Huang J, Qi D, Zhang Y, Dong JZ, Ma C, Yan GX. Synergistic effect of dofetilide and mexiletine on prevention of atrial fibrillation. *Journal of the American Heart Association*, vol 6, sup 5, 2017, pp e005482
- [11] Wang ZG, Pelletier LC, Talajic M, Nattel S. Effects of flecainide and quinidine on human atrial action potentials. Role of rate-dependence and comparison with guinea pig, rabbit, and dog tissues. *Circulation*, vol 82, sup 1, 1990, pp 274-283
- [12] Le Grand B, Le Heuzey JY, Perier P, Peronneau P, Lavergne T, Hatem S, Guize L. Cellular electrophysiological effects of flecainide on human atrial fibres. *Cardiovascular research*, vol 24, sup 3, 1990, pp 232-238
- [13] Burashnikov A, Pourrier M, Gibson JK, Lynch JJ, Antzelevitch C. Rate-dependent effects of vernakalant in the isolated non-remodeled canine left atria are primarily due to block of the sodium channel: comparison with ranolazine and dl-sotalol. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, vol 2, sup 400-408, 2012, pp 5
- [14] Wettwer E, Christ T, Endig S, Rozmaritsa N, Matschke K, Lynch JJ, Pourrier M, Gibson JK, Fedida D, Knaut M, Ravens U. The new antiarrhythmic drug vernakalant: ex vivo study of human atrial tissue from sinus rhythm and chronic atrial fibrillation. *Cardiovascular research*, vol 98, sup 1, 2013, pp 145-154
- [15] Dasí A, Roy A, Sachetto R, Camps J, Bueno-Orovio A, Rodriguez B. In-silico drug trials for precision medicine in atrial fibrillation: From ionic mechanisms to electrocardiogram-based predictions in structurally-healthy human atria. *Frontiers in physiology*, 2022, pp 1927