



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA
SUPERIOR INGENIEROS
INDUSTRIALES VALENCIA

TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA

**ESTUDIO MEDIANTE MODELADO Y
SIMULACIÓN DEL EFECTO DE LA
ISQUEMIA MIOCÁRDICA AGUDA EN LAS
FIBRAS DE PURKINJE DE CORAZÓN
HUMANO**

AUTORA: ALBA GARCÍA ESCOLANO

TUTOR: JOSÉ MARÍA FERRERO DE LOMA- OSORIO

Curso Académico: 2015-16

Agradecimientos

Con estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han influido en el desarrollo de este Trabajo Fin de Grado y sin las cuales esta experiencia no habría sido tan enriquecedora.

En primer lugar, dar las gracias a mi tutor D. José María Ferrero de Loma-Osorio, por su apoyo y supervisión, pero sobre todo por su forma de transmitir la pasión por la ciencia y fomentar la curiosidad.

En segundo lugar, extender mi gratitud a mi familia y amigos/as por su paciencia y comprensión recibidas incluso en los momentos más arduos, y por su interés en conocer y entender los detalles de este trabajo.

Por último, quisiera reconocer la labor de todos los ingenieros/as (y no ingenieros/as), que dedican su vida y esfuerzo a desentrañar los misterios de la actividad eléctrica del corazón y que realizan una aportación realmente importante para el mundo: salvar vidas.

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares constituyen una de las principales causas de muerte en el mundo. Dentro de este tipo de patologías destaca la isquemia miocárdica como consecuencia de la oclusión de una arteria coronaria. Dicha condición aumenta la predisposición al inicio y mantenimiento de arritmias malignas, como la fibrilación ventricular, que tienen su origen en reentradas. Por ello, es necesario estudiar los mecanismos biológicos que son alterados durante la isquemia y producen tales arritmias. A pesar de que los efectos de la isquemia miocárdica sobre el potencial de acción en cardiomiocitos han sido ampliamente analizados, la investigación análoga sobre las fibras de Purkinje ha sido escasa. Para contribuir a ampliar dichos estudios, en este Trabajo Fin de Grado se ha desarrollado un programa informático para la simulación computacional de la actividad eléctrica de las fibras de Purkinje y de las uniones Purkinje-miocardio. Utilizando este programa, se han analizado las consecuencias de la isquemia aguda sobre la amplitud, la duración y la frecuencia de autoestímulo del potencial de acción de estas células. En concreto, se han establecido condiciones virtuales de hiperkalemia, hipoxia y acidosis sobre modelos celulares para demostrar la generación de latidos prematuros en las fibras de Purkinje durante la isquemia aguda. Los resultados han arrojado que, en tales condiciones, las fibras de Purkinje pueden iniciar reentradas mediante la transmisión de extrasístoles, constituyendo la hiperkalemia el factor más proarrítmico. La aplicación de dichas conclusiones podría permitir optimizar el diseño de tratamientos farmacológicos empleados en pacientes que sufren isquemia miocárdica aguda.

Palabras Clave: Fibras de Purkinje, Isquemia Aguda, Electrofisiología

Resum

Les malalties cardiovasculars constitueixen una de les principals causes de mort al món. Dins d'aquesta classe de patologies destaca la isquèmia miocàrdica com a conseqüència de la oclusió d'una artèria coronària. Aquesta condició augmenta la predisposició al inici i manteniment d'arítmies malignes, com la fibril·lació ventricular, que troben el seu origen en reentrades. Per aquest motiu, es necessari estudiar els mecanismes biològics que son alterats durant la isquèmia y produeixen arítmies. A pesar que els efectes de la isquèmia miocàrdica sobre el potencial d'acció en cardiomiòcits han estat ampliament analitzats, la investigació anàloga sobre les fibres de Purkinje ha resultat escassa. Amb la finalitat de contribuir a l'ampliació d'aquests estudis, en aquest Treball Fi de Grau s'ha desenvolupat un programa informàtic per a la simulació computacional de l'activitat elèctrica de les fibres de Purkinje i de les unions Purkinje-miocardí. Utilitzant aquest programa, s'han analitzat les conseqüències de la isquèmia aguda sobre l'amplitud, la duració y la freqüència d'autoestímul del potencial d'acció d'aquestes cèl·lules. En concret, s'han establert condicions virtuals d'acidosis, hiperkalèmia i hipoxia sobre models cel·lulars per a demostrar la generació de batecs prematurs a les fibres de Purkinje durant la isquèmia aguda. El resultats han demostrat que, en tals condicions, les fibres de Purkinje poden iniciar reentrades mitjançant la transmissió d'extrasístoles, constituint la hiperkalèmia el factor més proarítmic. L'aplicació d'aquestes conclusions podria permetre optimitzar el disseny de tractaments farmacològics utilitzats en pacients que pateixen isquèmia miocàrdica aguda.

Paraules clau: Fibres de Purkinje, Isquèmia Aguda, Electrofisiologia

Abstract

Cardiovascular diseases constitute one of the main causes of death in the world. Into this kind of pathologies, myocardial ischemia stands out as a consequence of the occlusion of a coronary artery. This condition increases the predisposition of malignant arrhythmias' onset and maintenance, which find their sources in reentries. For this reason, studying biological processes altered during ischemia is necessary. Although the effects of myocardial ischemia on cardiomyocyte's action potential have been studied in depth, the analogous research on Purkinje fibers have been neglected. In order to contribute to increase those studies, in this project a computer programme has been developed so as to simulate computationally the electrical activity of Purkinje fibers and Purkinje- muscle junctions. Using this programme, the consequences of acute ischemia on size, duration and self-stimulus frequency of action potentials in these cells have been analysed. In detail, virtual conditions of hyperkalemia, hypoxia and acidosis have been established in order to prove the generation of premature beats in Purkinje fibers under acute ischemia. Results have showed that Purkinje fibers are able to start reentries with extrasystoles spread during acute ischemia, and hyperkalemia is the most proarrhythmic factor. The implementation of these conclusions could let researchers optimize the myocardial ischemia drug design.

Keywords: Purkinje Fibres, Acute Ischemia, Electrophysiology

Lista de tablas

Tabla 1. Potenciales de reposo de los iones más relevantes durante el desarrollo de los potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.	13
Tabla 2. Concentración de ATP, ADP y Mg^{2+} en condiciones isquémicas y no isquémicas. Fuente: elaboración propia.	28
Tabla 3. Condiciones de las diferentes serie de simulaciones: hiperkalemia, hiperkalemia- acidosis, hiperkalemia- hipoxia e isquemia.	40
Tabla 4. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde se ha visualizado latidos prematuros; en verde se aprecian los registro donde la fibra de Purkinje se ha estimulado de acuerdo al ritmo sinusal.	47
Tabla 5. Intervalos de concentraciones de K^+ , ADP, ATP y Mg^+ , junto con los correspondientes a los factores de pH de INa e ICaL , para diferentes intervalos temporales del registro. Fuente: elaboración propia.	49
Tabla 6. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde ninguna célula desarrolla potenciales de acción; en verde se aprecian los registros donde ambas células se estimulan; en naranja, se observan situaciones con comportamientos intermedios; y en azul, sólo la fibra de Purkinje desarrolla potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.	50
Tabla 7. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde se ha visualizado latidos prematuros tanto en la fibra de Purkinje como en el cardiomiocito; en verde se aprecian los registros donde los potenciales de acción de la fibra de Purkinje y el cardiomiocito son gobernado por el ritmo sinusal; en morado, se simbolizan los registros donde la fibra de Purkinje desarrollaba extrasístoles, pero el cardiomiocito no recibía suficiente estímulo; en naranja, aparecen los registros donde la fibra de Purkinje actuaba según el ritmo sinusal, pero el cardiomiocito no desarrollaba potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.....	56
Tabla 8. Intervalos de concentraciones de K^+ , ADP, ATP y Mg^+ , junto con los correspondientes a los factores de pH de INa e ICaL , para diferentes intervalos temporales del registro escogidos según la evolución del potencial de acción en el cardiomiocito. Fuente: elaboración propia.....	58
Tabla 9. Presupuesto inicial estimado para el personal. Aparecen la categoría, la remuneración en euros por hora, el número de horas totales ejercidas y el coste total. Fuente: elaboración propia.	1
Tabla 10. Presupuesto inicial estimado para el material. Aparece el nombre del producto, el precio, el período de amortización, las horas de uso y el coste. Fuente: elaboración propia.	1
Tabla 11. Coste total del trabajo como suma de los costes de personas y materiales. Fuente: elaboración propia.	2
Tabla 12. Presupuesto final estimado para el personal. Aparecen la categoría, la remuneración en euros por hora, el número de horas totales ejercidas y el coste total. Fuente: elaboración propia.....	2
Tabla 13. Presupuesto inicial estimado para el material. Fuente: elaboración propia.	2
Tabla 14. Coste total del trabajo como suma de los costes de personas y materiales. Fuente: elaboración propia.	2

Tabla 15. Corrientes iónicas de membrana con sus respectivos mecanismos de transporte en el modelo de Stewart et al. En rojo, las corrientes añadidas al modelo de Ten Tusscher. En azul, las corrientes modificadas sobre el mismo modelo. Fuente: elaboración propia.....	1
Tabla 16. Corrientes iónicas que forman parte de la dinámica del Ca ²⁺ con sus respectivos mecanismos de transporte. Fuente: elaboración propia.....	1
Tabla 17. Parámetros de entrada de las funciones main . Fuente: elaboración propia.....	2
Tabla 18. Posibles parámetros de entrada especificables dentro de la estructura <i>settings</i> . Fuente: elaboración propia.	2
Tabla 19. Variables de salida del modelo de <i>Stewart et al.</i> con sus condiciones iniciales. Fuente: elaboración propia.	3
Tabla 20. Elementos gráficos que aparecen en función del tipo de ejecución. Para los casos 3.2. y 3.4. aparecerán representaciones en función del tiempo. En las situaciones 3.1. y 3.3., el potencial de membrana se reflejará en función del tiempo, mientras que el resto de parámetros lo hará según otras variables si se llevan a cabo series de simulaciones. Fuente: elaboración propia.....	7

Lista de figuras

Figura 1. Componentes del corazón con la dirección de circulación de la sangre. Imagen tomada de (Moore, Dalley, & Agur, 2010).....	6
Figura 2. Célula eucariótica animal. Imagen tomada de (Paniagua, 2007).....	7
Figura 3. Composición de un sarcómero. Imagen tomada de (Guyton & Hall, 2011).....	7
Figura 4. Representación de los distintos tipos de proteína de la membrana celular. Imagen tomada de (Paniagua, 2007).....	8
Figura 5. A la izquierda, haz de fibras de Purkinje junto al miocardio adyacente. A la derecha, corte longitudinal del músculo cardíaco. Imágenes tomadas de (Young & Heath, 2000).....	9
Figura 6. Electrocardiograma con sus diferentes ondas. Imagen tomada de (Guyton & Hall, 2011)....	10
Figura 7. Fuerzas eléctricas y de difusión en una situación de potencial de reposo. Concentraciones basadas en (Ferrero Corral, 1994). Fuente: elaboración propia.....	11
Figura 8. Fuerzas eléctricas y de difusión en una situación de potencial de acción. Concentraciones basadas en (Ferrero Corral, 1994). Fuente: elaboración propia.....	12
Figura 9. Algunos de las moléculas de membrana transportadoras. En negro, el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, mecanismo básico de extracción de Ca^{2+} intracelular; en azul oscuro, el cotransportador K^+/Cl^- , encargado de extraer Cl^- y K^+ del medio intracelular, descompensando el equilibrio iónico del primero; en rojo, la bomba Na^+/K^+ , principal garante del equilibrio en las concentraciones intra y extracelular de Na^+ y K^+ ; en verde, el intercambiador H^+/Na^+ , regulador del pH; en amarillo, un canal iónico de K^+ . Fuente: elaboración propia.....	12
Figura 10. Circuito eléctrico que modeliza el funcionamiento de un canal iónico. Fuente: elaboración propia.....	14
Figura 11. Circuito eléctrico que modeliza el funcionamiento de la membrana celular. Fuente: elaboración propia.....	15
Figura 13. Parámetros del potencial de acción. Fuente: elaboración propia.....	17
Figura 12. Fases del potencial de acción en el cardiomiocito. La zona 1 representa el reposo celular; la zona 2, la despolarización de la membrana; la zona 3, la meseta y la repolarización; y la zona 4, el retorno al potencial de reposo. Fuente: elaboración propia.....	16
Figura 14. Potenciales de acción en función del tejido. Imagen tomada de http://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm	17
Figura 15. Progresión del potencial de acción de cardiomiocito durante los primeros 12 minutos de isquemia miocárdica. Se observa disminución de la amplitud máxima del potencial de acción, la pendiente de despolarización, el potencial de reposo y el APD. Imagen tomada de (Rodríguez, Trayanova, & Noble, 2006).....	19
Figura 16. Modelo de fibra de Purkinje de Stewart. Imagen tomada de https://models.cellml.org/exposure/38cf8387b0707f0ef6947f009710aeb5/stewart_aslanidi_noble_noble_boyett_zhang_2009.cellml/view	20
Figura 17. Principales corrientes del modelo de fibra de Purkinje de Stewart junto con el potencial de acción. Imagen tomada de (Stewart, y otros, 2009).....	21
Figura 18. Modelo de endocardio de ten Tusscher de 2004. Imagen tomada de https://models.cellml.org/exposure/c7f7ced1e002d9f0af1b56b15a873736/view	25
Figura 19. Tiempo en ms que el impulso eléctrico tarda en traspasar la unión Purkinje- músculo en función de la conductancia para una amplificación del estímulo de 200. Comienza en un valor de 0.00014 debido a que con cifras inferiores no se desencadenaban potenciales de acción en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.....	26

Figura 20. Diagrama eléctrico de la unión Purkinje- músculo. I_{linkP} , E refleja la densidad de corriente procedente de la fibra de Purkinje que estimula al cardiomiocito. Durante su recorrido sufre dos modificaciones: un retraso dependiente de la conductancia G_{link} , que es la inversa de una impedancia resistiva, y la amplificación por el factor APV, simbolizado por el amplificador. Fuente: elaboración propia.	26
Figura 21. Posibles combinaciones de condiciones isquémicas. Fuente: elaboración propia.	28
Figura 22. Representación de las funciones continuas de cada variable de entrada en un tiempo de $1.6 \cdot 10^5$ ms, donde 1000 s ocurren en condiciones de control y 600 s suceden en situación de isquemia aguda progresiva. Fuente: elaboración propia.	29
Figura 23. Pantalla principal de la GUI.....	34
Figura 24. Ventana de comprobación para modelo con parámetros ambientales estáticos. Fuente: elaboración propia.	37
Figura 25. Ventana emergente de petición del número de simulación que se desea visualizar. Fuente: elaboración propia.	37
Figura 26. Ventana emergente para almacenar los resultados. Fuente: elaboración propia.	38
Figura 27. Pantalla de ejecución con sus diversos componentes. Fuente: elaboración propia.	38
Figura 28. Pantalla de visualización. Fuente: elaboración propia.....	39
Figura 29. Frecuencia de autoestímulo en la fibra de Purkinje en condiciones de hiperkalemia, hiperkalemia con acidosis, hiperkalemia con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.	42
Figura 30. APD en la fibra de Purkinje en condiciones hiperpotasémica, hiperpotasémica con acidosis, hiperpotasémica con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.	43
Figura 31. Amplitud máxima del potencial de acción en la fibra de Purkinje en condiciones hiperpotasémica, hiperpotasémica con acidosis, hiperpotasémica con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.	44
Figura 32. Registro del potencial de acción de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.7	45
Figura 33. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.....	45
Figura 34. Amplitud máxima del potencial de acción de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.	46
Figura 35. Potenciales de acción de fibra de Purkinje para condiciones de normoxia y pH fisiológico con una concentración de K^+ extracelular de 8.4 Mm. Fuente: elaboración propia.....	48
Figura 36. Patrones de potencial de acción a lo largo del registro con variación continua. A la izquierda, potenciales de acción para condiciones fisiológicas; a la derecha, potenciales de acción para situación isquémica progresiva. Fuente: elaboración propia.	48
Figura 37. Potencial de acción de fibra de Purkinje en el segundo 1367 para una variación continua de los parámetros isquémicos. Fuente: elaboración propia.....	49
Figura 38. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.	51
Figura 39. APD para la fibra de Purkinje en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.....	52
Figura 40. Amplitud máxima del potencial de acción para la fibra de Purkinje del modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.	52
Figura 41. Potenciales de acción de la fibra de Purkinje (azul) y el cardiomiocito (verde) en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Fuente: elaboración propia.	53
Figura 42. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Fuente: elaboración propia.	54

Figura 43. Frecuencia de contracción del cardiomiocito del modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Para tiempos superiores, la frecuencia es de 0 Hz. Fuente: elaboración propia.	54
Figura 44. Amplitud máxima del potencial de acción de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua y en el rango de tiempo durante el cual se produce la isquemia. Fuente: elaboración propia.	55
Figura 45. Amplitud máxima del potencial de acción del cardiomiocito en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua y en el rango de tiempo isquémico en el que desarrolla potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.....	55
Figura 46. Presencia de potenciales de acción prematuros tanto en la fibra de Purkinje como en el cardiomiocito para la condición hiperpotasémica con 8.4 mM. Fuente: elaboración propia.	56
Figura 47. Registro de la actividad del modelo acoplado ante la recepción de estímulos de frecuencia sinusal. Fuente: elaboración propia.....	57
Figura 48. A la izquierda, potenciales de acción de cardiomiocito (verde) y fibra de Purkinje (azul), para condiciones no isquémicas; a la derecha, potenciales de acción prematuros en fibra de Purkinje y ausencia de potenciales de acción en cardiomiocito. Fuente: elaboración propia.	58
Figura 49. Ventana principal de Purkinje Lab. Fuente: elaboración propia.	4
Figura 50. Pantalla de inserción de parámetros, y ejecución, comprobación y almacenamiento de resultados. Fuente: elaboración propia.....	5
Figura 51. Comprobación de resultados para una simulación tipo 3.1. de fibra de Purkinje. Fuente: elaboración propia.	8
Figura 52. Ventana emergente de almacenamiento de resultados. Fuente: elaboración propia.	8
Figura 53. Ventana emergente de apertura de datos. Fuente: elaboración propia.	9
Figura 54. Visualización del potencial de membrana, la frecuencia, el APD y la amplitud del registro denominado "hiperkalemia".7. Visualización de dos o más paquetes de resultados. Fuente: elaboración propia.	10
Figura 55. Superposición de diferentes campos del registro "acidosis" sobre los gráficos del registro "hiperkalemia". Fuente: elaboración propia.	10

Lista de abreviaturas

APD	Duración del potencial de acción
ATP	Adenosín trifosfato
ADP	Adenosín difosfato
K^+	Ion potasio
Cl^-	Ion cloro
Ca^{2+}	Ion calcio
Na^+	Ion sodio
K_x	Constante
V_M	Potencial de membrana
F	Constante de Faraday
z	Valencia del ion
C	Concentración del ion
μ	Coefficiente de movilidad en el medio

Índice

Los documentos contenidos en este TFG son:

- Memoria
- Presupuesto
- Anexos

Índice de la memoria

1. Motivación y antecedentes	1
1.2. Antecedentes	2
2. Objetivos	4
2.1. Objetivos generales	4
2.2. Objetivos específicos.....	4
3. Introducción.....	5
3.1. Enfoque anatómico: el corazón como conjunto de cámaras	5
3.2. Enfoque biológico-celular: el corazón como conjunto de células	6
3.2.1. El citoplasma	7
3.2.2. La membrana celular	8
3.2.3. El tejido muscular cardíaco y sus especializaciones	9
3.3. Enfoque fisiológico: el corazón como bomba rítmica	10
3.3.1. Bioelectricidad del cardiomiocito: la célula excitable como circuito	11
3.3.2. El potencial de acción como intercambio iónico entre compartimentos	16
3.4. Enfoque fisiopatológico.....	18
3.4.1. Las fibras de Purkinje como foco arritmogénico durante la isquemia aguda	19
4. Desarrollo de software	20
4.1. Modelos computacionales celulares	20
4.1.1. Modelo de fibra de Purkinje.....	20
4.1.2. Modelo modificado de fibra de Purkinje	21
4.1.3. Ejecución computacional del modelo modificado de fibra de Purkinje.....	24
4.1.4. Modelo de fibra del endocardio.....	25
4.1.5. Modelo modificado de fibra del endocardio	25
4.1.6. Modelo de Purkinje- endocardio acoplado.....	25
4.1.7. Ejecución computacional del modelo de Purkinje- endocardio acoplado.....	27
4.1.8. Modelos de Purkinje y Purkinje-endocardio con estímulo sinusal	27
4.1.9. Ejecución del modelo de Purkinje y Purkinje-endocardio con estímulo sinusal	27

4.2. Diseño experimental <i>in silico</i>	28
4.2.1. Condiciones de simulación	28
4.2.2. Parámetros de análisis.....	30
4.3. Descripción de la interfaz gráfica de usuario	33
4.3.1. Funcionalidades	33
4.3.2. Pantalla de inicio	34
4.3.3. Pantalla de ejecución de simulaciones	34
4.3.4. Pantalla de visualización	39
5. Resultados	40
5.1. Estudio sobre el modelo de fibras de Purkinje.....	40
5.1.1. Modelo no estimulado	40
5.1.2. Modelo estimulado por corrientes de las ramas del haz	46
5.2. Modelo acoplado Purkinje-cardiomiocito.....	50
5.2.1. Modelo no estimulado por corrientes de las ramas del haz.....	50
5.2.2. Modelo estimulado por corrientes de las ramas del haz	56
6. Conclusiones.....	59
7. Limitaciones y posibles mejoras.....	60
8. Bibliografía.....	61

Índice del presupuesto

1. Presupuesto.....	1
1.1. Presupuesto inicial.....	1
1.1.1. Coste de personal.....	1
1.1.2. Coste de materiales: hardware y software.....	1
1.1.3. Coste total del proyecto	2
1.2. Presupuesto final	2
1.2.1. Coste de personal.....	2
1.2.2. Coste de materiales: hardware y software.....	2
1.2.3. Coste total del proyecto	2

Índice de los anexos

Anexo I. Tablas de modelos bioeléctricos.....	1
Anexo II. Guía de usuario de la GUI Purkinje Lab.....	4
1. Requisitos de software.....	4
2. Apertura de la GUI.....	4
3. Ejecución de modelos bioeléctricos	4
3.1. Ejecución de modelos bioeléctricos sin estimulación externa y con parámetros ambientales constantes	5
3.2. Ejecución de modelos bioeléctricos sin estimulación externa y con parámetros ambientales de evolución continua	6
3.3. Ejecución de modelos bioeléctricos con estimulación externa y parámetros ambientales constantes	6
3.4. Ejecución de modelos bioeléctricos con estimulación externa y parámetros ambientales de evolución continua	7
3.5. Ejecución de series de simulaciones	7
4. Comprobación de resultados.....	7
5. Almacenamiento de resultados	8
6. Visualización de un paquete de resultados	9

MEMORIA

1. Motivación y antecedentes

Actualmente, entre las enfermedades más prevalentes se sitúan las cardiovasculares, causantes de 17.5 millones de muertes en el mundo en el año 2012 (OMS, 2015). En concreto, de esas muertes 1.9 millones se produjeron en la Unión Europea (eurostat, 2015). Tanto los infartos de miocardio como los accidentes cerebrovasculares, prevenibles en un 80% de los casos según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2015), constituyen una consecuencia directa de este tipo de patologías. La investigación de los mecanismos subyacentes al desarrollo de cardiopatías isquémicas constituirá, por lo tanto, un campo útil para la salud pública.

El estudio de los procesos isquémicos en el corazón se puede realizar a partir de modelos biológicos, como animales, órganos o células, y/o modelos computacionales extraídos a partir de los anteriores. La última alternativa presenta una serie de ventajas respecto a la primera, ya que permite la reproducción o simulación de diferentes situaciones sobre un mismo sujeto (modelo), que representa el funcionamiento medio de un conjunto de organismos vivos sin implicar el gasto vital que supone la experimentación animal.

Además, los mecanismos isquémicos pueden ser analizados desde diferentes perspectivas. Por tratarse el tejido cardíaco de un conjunto de células excitables, un enfoque de estudio interesante es el que propone la disciplina de la Bioelectricidad, especializada en el comportamiento de este tipo de células capaces de generar y propagar fenómenos eléctricos. Añadiendo una visión ingenieril a este campo, surgen modelos matemáticos computacionales que describen la fisiología o funcionamiento eléctrico del cuerpo humano de una manera jerárquica: molecular, celular, tisular y a nivel de órgano. Con todo ello, es posible alcanzar una comprensión profunda del funcionamiento de órganos como el corazón, a través de sistemas de ecuaciones que describen situaciones normales o patológicas y permiten realizar predicciones sobre la evolución de determinadas enfermedades.

Como se ha mencionado anteriormente, los modelos bioeléctricos son susceptibles de jerarquías o escalas. Ello alude a que un mismo fenómeno biológico puede ser estudiado desde una perspectiva celular o, con un incremento de la complejidad del sistema, como sucesivas agrupaciones celulares en tejidos y órganos. Esta característica posibilitará, por lo tanto, el hallazgo de las causas de los procesos patológicos isquémicos a nivel de órgano, que encuentran su origen en los mecanismos moleculares que se producen en la célula. Es por ello que en el presente trabajo serán objeto de estudio las simulaciones realizadas sobre modelos de célula de Purkinje y cardiomiocito, con la finalidad de probar el papel proarrítmico de las primeras durante el infarto de miocardio.

La utilización de modelos eléctricos celulares implica la explotación de recursos de computación, hecho que permite aumentar la velocidad de experimentación respecto al uso de modelos vivos. Por añadidura, facilita la creación y acoplamiento de software de análisis para la extracción de información representativa. Ya que en este tipo de estudios se produce una generación masiva de datos, se ha desarrollado una interfaz GUI asociada a un *solver* encargado de resolver los sistemas de ecuaciones diferenciales que reduce la complejidad en la interacción usuario-modelo y permite el cálculo de parámetros que sintetizan la información más relevante.

En síntesis, en este trabajo se procede a contribuir al desarrollo de las herramientas de simulación de los fenómenos bioeléctricos asociados al funcionamiento del corazón en condiciones patológicas mediante la puesta en práctica de una serie de competencias específicas adquiridas durante el estudio

del Grado en Ingeniería Biomédica: la “*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*”; y la “*capacidad para adquirir, analizar, interpretar y gestionar información*”. Ambas competencias citadas aparecen descritas como competencia 14 y competencia 17, respectivamente, en el listado de competencias específicas del grado impartido en la Universidad Politécnica de Valencia.

1.2. Antecedentes

El origen de los modelos bioeléctricos se encuentra en los planteamientos matemáticos realizados por Hodgkin y Huxley acerca de las corrientes iónicas y el potencial de acción del axón de calamar (Hodgkin & Huxley, 1952). Posteriormente, su enfoque se adaptó al modelado de los cardiomiocitos con el trabajo de Noble, resultando en la primera descripción computacional de fibra de Purkinje de mamífero con tres corrientes iónicas (Noble, 1962). El número de corrientes aumentó a nueve con el modelo de McAllister et al. (McAllister, Noble, & Tsien, 1975), que surgió como respuesta a la riqueza de datos provenientes tanto de los experimentos de *voltaje clamp* como del descubrimiento de nuevas corrientes, entre ellas, las de Ca^{2+} (Reuter, 1967). En 1985, DiFrancesco y Noble presentan un modelo de fibra de Purkinje que incorpora cambios en las concentraciones iónicas intra y extracelulares, además de nuevas corrientes iónicas, como las de las bombas de Na^+/K^+ y Na^+/Ca^{2+} o la corriente marcapasos activada por hiperpolarización y responsable de la automaticidad de estas células (DiFrancesco & Noble, 1985). Durante dos décadas, mientras la modelización de otros tipos de cardiomiocitos progresaba para células ventriculares, la caracterización computacional de las fibras de Purkinje fue ignorada. Recientemente, han vuelto a proliferar diversos modelos de este tipo celular como el Djabella y Sorine (Djabella & Sorine, 2006), Stewart (Stewart, y otros, Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells, 2009) o Aslanidi (Aslanidi, Stewart, Boyett, & Zhang, 2009), siendo el más actual el de Sampson (Sampson, Iyer, Marks, & Kass, 2010).

La escasez de modelos se une a una reducida cantidad de estudios computacionales de los efectos de la isquemia miocárdica sobre la fibra de Purkinje como célula individual, en contraposición a los realizados sobre las células del miocardio. Resultan interesantes las descripciones de simulaciones acerca de las variaciones que sufre la unión Purkinje-músculo en situaciones de isquemia (Ramírez, Saiz, Romero, Ferrero, & Trénor, 2014) (Behradfar, Nygren, & Vigmond, 2014).

Eludiendo los estudios computacionales, la investigación de la fibra de Purkinje durante la isquemia también es escasa. En 2004, Marrouche y su equipo describen a este tipo de células como desencadenantes de latidos prematuros ventriculares que causan fibrilación ventricular durante la enfermedad isquémica (Marrouche, y otros, 2004). Anteriormente, el carácter arritmogénico de las fibras de Purkinje se había comprobado para pacientes que habían sufrido infarto de miocardio (Bansch, Oyang, & Antz, 2003) y enfermedades no isquémicas, como el síndrome del QT largo (Haissaguerre, Extramiana, & Hocini, 2003), el síndrome de Brugada (Haissaguerre, Extramiana, & Hocini, 2003) y la fibrilación ventricular idiopática (Haissaguerre, Shoda, & Jais, 2002; Haissaguerre, Shah, & Jais, 2002).

En general, el número de referencias es mayor para la relación entre arritmogénesis y fibras de Purkinje. En 2010, se demostró que una postdespolarización temprana en el sistema de Purkinje distal podía generar latidos ectópicos y arritmias reentrantes (Makarand, Boyle, Kim, & Vigmond, 2010). Además, las células de Purkinje son descritas como agentes capaces de mantener la fibrilación ventricular (Murakawa, 2009). La mayoría de arritmias relacionadas con la fibra de Purkinje pueden ser apreciadas en diversas revisiones (Ideker, Kong, & Pogwizd, 2009; Scheinman, 2008; Nogami, 2011; Nogami, 2011).

En lo relativo a software específico de análisis de potenciales de acción, destacan las herramientas orientadas a la caracterización de datos provenientes de estudios neurocientíficos como sigTOOL, un paquete ejecutable en el entorno MATLAB (Lidieth, 2009). Acerca de software específico de análisis de potencial de acción, su presencia en publicaciones resulta nula.

2. Objetivos

Dados los motivos y antecedentes expuestos anteriormente, a continuación, se concretarán tanto los objetivos generales como los específicos.

2.1. Objetivos generales

Los objetivos generales incluyen las ideas principales que pretende cubrir el presente trabajo de fin de grado. En síntesis son dos:

- Desarrollo de software de simulación adaptado a la finalidad del estudio.
- Estudio del posible efecto arritmogénico de las fibras de Purkinje de corazón humano durante los diez primeros minutos posteriores a la oclusión de una arteria coronaria.

2.2. Objetivos específicos

Profundizando en la realización de cada objetivo general, se pueden describir diferentes objetivos específicos:

- La realización del estudio a través de simulaciones de modelos celulares ejecutados en el entorno MATLAB en un software desarrollado *ad hoc*.
- La adaptación de modelos eléctricos celulares preexistentes de Purkinje y cardiomiocito para comprobar su comportamiento en condiciones isquémicas mediante simulaciones computacionales.
- El acoplamiento de modelos eléctricos pertenecientes a distintas categorías celulares con la finalidad de reproducir la heterogeneidad del tejido cardíaco.
- El diseño de las condiciones virtuales de experimentación, formulando una situación de isquemia miocárdica aguda a través de la progresión en la concentración de diferentes sustancias en los medios extra e intracelulares.
- El establecimiento de aquellos parámetros capaces de sintetizar la información relevante para la aceptación o rechazo de las hipótesis planteadas.
- La programación con MATLAB de una interfaz GUI orientada al estudio, que permita la introducción de parámetros y la visualización y síntesis de resultados.

3. Introducción

El cuerpo humano se compone de aproximadamente 37 billones de células especializadas en diferentes funciones y organizadas en tejidos, órganos y sistemas (National Geographic, 2015). La vida de la célula se basa en el metabolismo, es decir, en una serie de mecanismos físicos y químicos que convierten, producen o utilizan energía para llevar a cabo acciones como la contracción muscular o la regulación térmica. Generalmente, la energía procede del consumo de sustancias como la glucosa y el oxígeno durante un proceso aeróbico denominado respiración celular (Paniagua, 2007). El aparato encargado del transporte de dichas sustancias hasta toda célula es el sistema circulatorio, compuesto por vasos de diferente naturaleza, la sangre y el corazón, bomba creadora de flujo y presión sanguínea mediante fenómenos eléctricos, y protagonista de este trabajo (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

A continuación, para comprender la forma y función de este órgano, se realizará una descripción desde las perspectivas anatómica, histológica y fisiológica; abordando concretamente el modelado electrofisiológico de un tipo especializado de célula cardíaca (la fibra de Purkinje) y las alteraciones bioquímicas provocadas por la oclusión de una arteria coronaria y traducidas en isquemia aguda.

3.1. Enfoque anatómico: el corazón como conjunto de cámaras

El corazón es un órgano en forma de pirámide invertida situado en el mediastino, zona localizada entre los pulmones y en el centro de la cavidad torácica. Su ápex o vértice se orienta hacia la izquierda y anteroinferiormente (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

Como se puede observar en la Figura 1, se compone de cuatro cavidades: dos aurículas o atrios, encargadas de conducir la sangre hacia los ventrículos, y dos ventrículos, cuyo cometido es impulsar el flujo sanguíneo hacia el resto del cuerpo. Las aurículas se localizan por encima de los ventrículos y, junto con estos, se organizan en dos pares aurícula-ventrículo separados bilateralmente mediante los tabiques interauricular e interventricular (también llamados *septos*), formados por músculo y membranas. De esta manera, la sección derecha del corazón conduce sangre con escaso oxígeno procedente de dos venas cavas y la conduce a los pulmones a través de las arterias pulmonares en un circuito denominado pulmonar. Tras su oxigenación, la sangre alcanza la aurícula izquierda mediante las venas pulmonares y, finalmente, es propulsada por el ventrículo izquierdo a través de la arteria aorta al resto del cuerpo. Este recorrido se conoce como circuito sistémico (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

A su vez, cada cavidad ventricular está formada por tres capas musculares. De más interna a más externa reciben el nombre de endocardio, midmiocardio y epicardio. En conjunto, las tres capas constituyen el miocardio o músculo cardíaco. Las fibras del miocardio se disponen en una estructura helicoidal que durante el bombeo de sangre genera las fuerzas de compresión necesarias (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

Como estructura separadora de las cavidades unilateralmente, aparece el esqueleto o anillo fibroso del corazón, que constituye una barrera aislante que impide la conexión eléctrica entre células musculares auriculares y ventriculares, delimita los orificios por lo que se transmite la sangre de aurículas a ventrículos, y permite la inserción del miocardio (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

En cuanto al trasvase sanguíneo de aurículas a ventrículos, se produce a través de unos orificios controlados por unas válvulas sincronizadas con el movimiento del músculo cardíaco: mitral y

tricúspide. Además de estas válvulas, aparecen otras asociadas a las arterias conectadas al corazón: la pulmonar y la aórtica, constituidas por subunidades semilunares (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

Los episodios rítmicos de compresión que originan el flujo sanguíneo en aurículas y ventrículos son causados y propagados por estímulos eléctricos dominados por los sistemas de estimulación, conducción y regulación. La fuente de estímulos eléctricos autónomos, el nódulo sinoauricular, está compuesta por tejido nodal (especialización de las células musculares cardíacas) y tejido conectivo fibroblástico, y localizada en la unión de la vena cava superior con la aurícula derecha. Este nodo transmite el impulso a las aurículas y a un segundo nódulo, el auriculoventricular, que conduce el impulso con cierto retraso hasta el fascículo o haz aurículo ventricular, conexión eléctrica de aurículas y ventrículos. El fascículo se divide en dos ramas, que pasan profundas al endocardio junto a la porción muscular del tabique interventricular, y dan lugar a ramas subendocárdicas formadas por fibras de Purkinje, que transmiten el estímulo a las paredes ventriculares, los músculos del tabique interventricular y los músculos papilares. Como mecanismo de regulación, se encuentran las inervaciones simpática y parasimpática, que controlan la frecuencia de estimulación y conducción (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

Finalmente, la circulación coronaria se encarga de irrigar las células cardíacas. Una subdivisión principal vendría representada por las arterias coronarias derecha e izquierda, que se ramifican progresivamente (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

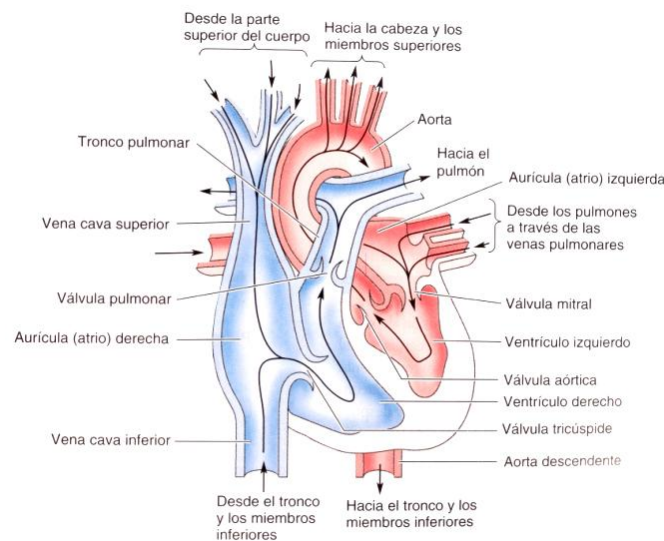


Figura 1. Componentes del corazón con la dirección de circulación de la sangre. Imagen tomada de (Moore, Dalley, & Agur, 2010).

3.2. Enfoque biológico-celular: el corazón como conjunto de células

La diversidad de elementos funcionales y estructurales presentes en el corazón provoca la aparición de una extensa variedad de tipos celulares y tisulares. Con la finalidad de sintetizar información, serán descritas con mayor profundidad las células musculares cardíacas (a las que se denominará cardiomiocitos en este texto) especializadas en la actividad contráctil, y aquellas especializadas en la propagación terminal del impulso eléctrico (fibras de Purkinje).

Al igual que el resto de células del cuerpo humano, las células musculares constituyen unidades microscópicas formadas por un núcleo que contiene el ADN o información heredable, un citoplasma (sarcoplasma) donde tiene lugar la mayoría del metabolismo celular y una membrana que separa el

interior celular del medio extracelular (sarcolema) (Paniagua, 2007; Guyton & Hall, 2011). Sin embargo, son células especializadas, excitables y capaces de generar y propagar corrientes iónicas, por lo que presentan particularidades que serán remarcadas a continuación.

3.2.1. El citoplasma

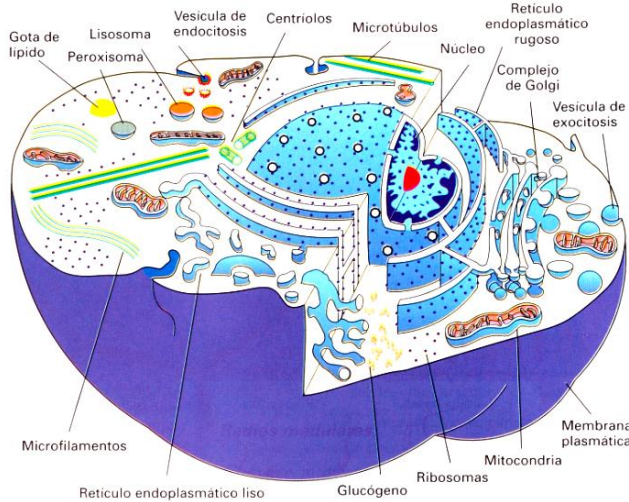


Figura 2. Célula eucariótica animal. Imagen tomada de (Paniagua, 2007)

El citoplasma se compone de un coloide denominado citosol y un conjunto de orgánulos encargados de diferentes funciones, como se aprecia en la Figura 2. Entre esos orgánulos es necesario destacar las mitocondrias, donde tiene lugar la respiración celular. Este es un proceso que implica el consumo de oxígeno, glucosa y adenosín difosfato (ADP), entre otras sustancias, para la producción de moléculas con enlaces altamente energéticos: el adenosín trifosfato o ATP. El ATP posee un papel relevante en la contracción muscular, por lo que las mitocondrias son abundantes en las células musculares cardíacas (Paniagua, 2007; Guyton & Hall, 2011).

A través del microscopio, son observables un conjunto de estrías en las fibras musculares cardíacas; por ello, estas pertenecen al subconjunto estriado de las células musculares, junto con el músculo esquelético. Dichas estrías se deben a la presencia en el citoplasma de miofibrillas compuestas de microfilamentos de actina y miosina, moléculas que posibilitan la contracción muscular mediante su agrupación en unidades contráctiles: los sarcómeros (Guyton & Hall, 2011).

Como se observa en la Figura 3, los sarcómeros se componen de filamentos gruesos de miosina y filamentos delgados de actina, tropomiosina y troponina. Los filamentos constituyen bandas con diferentes propiedades ópticas al microscopio (Guyton & Hall, 2011).

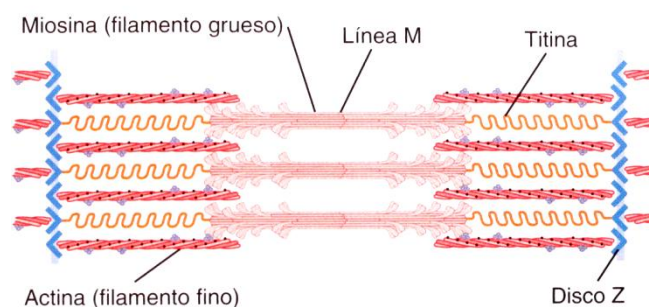


Figura 3. Composición de un sarcómero. Imagen tomada de (Guyton & Hall, 2011).

A nivel molecular, la contracción es causada por el deslizamiento de los filamentos de actina sobre los de miosina; acción que conlleva a una disminución de la longitud del sarcómero, incluso llegando a desaparecer la zona H. En estado de reposo, la actina se encuentra en un ángulo de 45° respecto al filamento delgado más cercano, siendo capaz de unirse a una molécula de ATP e hidrolizarla. Al utilizar ATP, la miosina constituye un puente de 90° con la actina y libera un fosfato producto de la descomposición del ATP que conduce a un cambio conformacional de la miosina. Ello causa una

fuerza que empuja el filamento delgado hacia la línea M. Finalmente, la miosina libera ADP y permanece dispuesta a un nuevo ciclo de contracción (Guyton & Hall, 2011).

Otra molécula indispensable para la consecución de cada contracción es el calcio. Cuando se produce entrada de calcio en el sarcoplasma, se producen uniones calcio-troponina que dan lugar a los sitios de unión actina-miosina (Guyton & Hall, 2011).

En relación a los sarcómeros y al calcio, aparece en las células musculares el retículo sarcoplásmico, un reservorio con una alta concentración de este ion. Cuando un impulso eléctrico es transmitido a la membrana celular, se produce una propagación del mismo hasta el retículo sarcoplásmico, que comienza a liberar calcio en el citoplasma para dar lugar a la contracción de los sarcómeros (Guyton & Hall, 2011).

3.2.2. La membrana celular

La membrana celular consiste en una fina capa inmisible de entre 7.5 y 10 nm de espesor que delimita la célula y adopta una estructura de mosaico fluido representada en la Figura 4. Se compone de una superficie lipídica organizada en una bicapa de fosfolípidos. Los fosfolípidos poseen un extremo polar e hidrófilo y otro apolar e hidrófobo, por lo que se disponen enfrentando sus partes apolares y presentando sus zonas polares hacia los líquidos intra y extracelular para constituir dos superficies. Como resultado, la bicapa lipídica no puede ser atravesada por moléculas de agua y sustancias insolubles, sino únicamente por moléculas liposolubles (Paniagua, 2007).

Otro lípido relevante en la membrana es el colesterol. Se trata de una molécula que influye en la permeabilidad de la membrana y controla su fluidez (Paniagua, 2007).

Adheridos a lípidos y proteínas, en la superficie externa de la membrana se encuentran una gran diversidad de glúcidos que dan lugar al glucocáliz. Entre sus funciones destacan las de componente de receptor para la unión de hormonas, la mediación en reacciones inmunitarias, la adhesión entre células o la repulsión de elementos con carga negativa (Paniagua, 2007).

En mayor proporción que el resto de biomoléculas, aparecen en la membrana las proteínas periféricas e integrales. Las primeras están adheridas a una de las superficies de la membrana sin traspasarla totalmente, mientras que las segundas penetran la bicapa lipídica contactando con los medios intra y extracelulares (Paniagua, 2007).

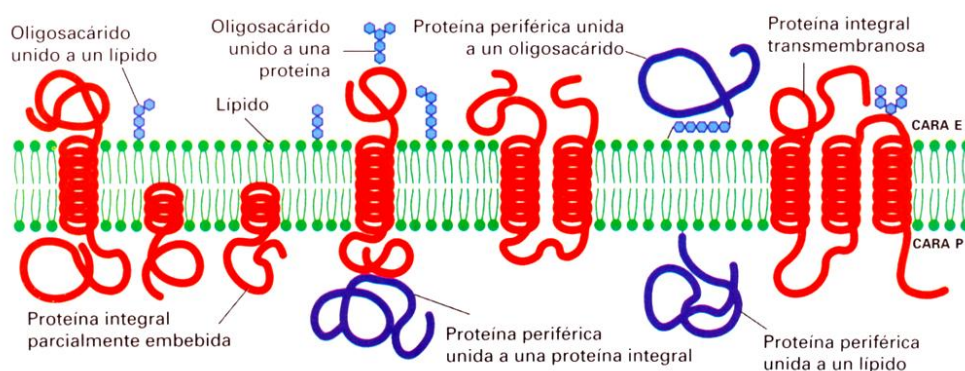


Figura 4. Representación de los distintos tipos de proteína de la membrana celular. Imagen tomada de (Paniagua, 2007).

Las proteínas integrales pueden formar parte de canales iónicos, que permiten el paso de agua e iones a través de la membrana; proteínas transportadoras; enzimas catalizadoras de reacciones, o receptores. En muchas ocasiones, las proteínas periféricas actúan como enzimas o controlando el transporte de sustancias a través de los canales iónicos (Paniagua, 2007; Guyton & Hall, 2011).

3.2.3. El tejido muscular cardíaco y sus especializaciones

En general, las fibras musculares cardíacas se agrupan formando redes denominadas sincitios funcionales, como se aprecia en el entramado celular representado en la imagen derecha de la Figura 5. En estos retículos, las asociaciones aparecen tanto en paralelo como en serie, interconectándose las células mediante discos intercalares, es decir, a través de la unión de sus membranas. Esta relación permite la propagación de los potenciales eléctricos generados en el nodo sinusal a través de uniones comunicantes o *gap junctions* que posibilitan el flujo de iones a través del citoplasma de distintos cardiomiocitos (Guyton & Hall, 2011).

En el corazón, se pueden distinguir dos sincitios, el auricular y el ventricular, separados por el esqueleto fibroso y unidos eléctricamente por las fibras de conducción especializadas. En síntesis, los tipos de cardiomiocitos se pueden agrupar en auricular, ventricular, y de excitación y conducción. Las células de los dos sincitios son capaces de generar contracciones de mayor intensidad que las fibras de excitación y conducción, porque poseen un mayor contenido en fibras contráctiles. Sin embargo, la automaticidad es un rasgo único de los especializados en excitación (Guyton & Hall, 2011). En la imagen izquierda de la Figura 5 se pueden observar dos tipos de cardiomiocitos: las fibras de Purkinje y aquellas encargadas de la función contráctil en el miocardio.

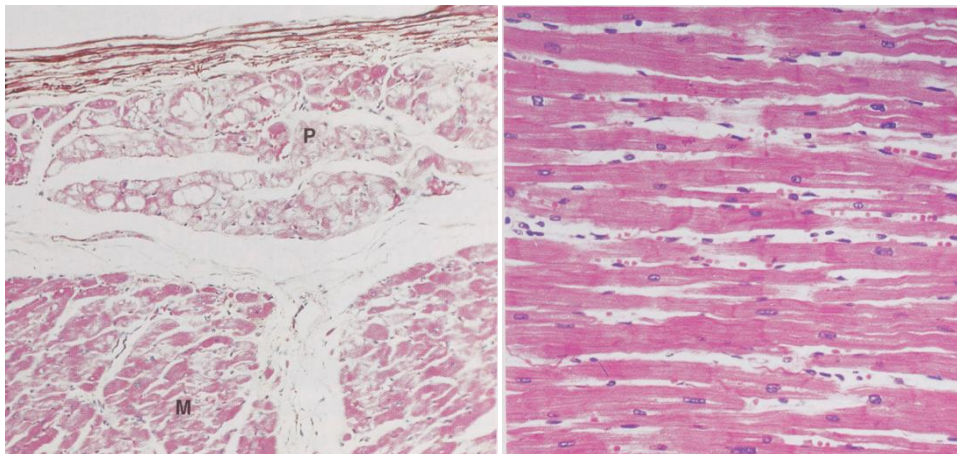


Figura 5. A la izquierda, haz de fibras de Purkinje junto al miocardio adyacente. A la derecha, corte longitudinal del músculo cardíaco. Imágenes tomadas de (Young & Heath, 2000).

En la pared de aurículas y ventrículos se encuentran tres capas tisulares: endocardio, midmiocardio y epicardio, como se ha mencionado con anterioridad. En lo relativo al tejido de conducción y excitación, se encuentran las células que componen el nódulo sinoauricular, el nódulo auriculoventricular, el haz auriculoventricular con sus ramas y las fibras de Purkinje (Guyton & Hall, 2011). Para este trabajo, serán relevantes tanto las fibras de Purkinje como el miocardio y la unión de ambos.

En general, los cardiomiocitos poseen una forma alargada y cilíndrica, siendo las fibras de Purkinje células de mayor tamaño que las encargadas de las contracciones (Guyton & Hall, 2011). La unión fibra de Purkinje- músculo es establecida por una relación una a muchos: una célula de mayor tamaño propaga los impulsos hacia varias células de menor tamaño. Esta unión ha sido modelada en base a

diversas hipótesis. Por un lado, se ha propuesto que la parte cónica terminal de las fibras de Purkinje se une progresivamente a un mayor número de células musculares alimentando a una masa tridimensional de ventrículo. Por otro lado, también se ha planteado una red de Purkinje bidimensional que se une en sitios concretos al músculo. Entre fibras de Purkinje y cardiomiocitos contráctiles se han hallado células transicionales que actúan como intermediarios eléctricos resistivos entre ambos tipos celulares (Macfarlane, Oosterom, & Pahlm, 2010).

3.3. Enfoque fisiológico: el corazón como bomba rítmica

A nivel macroscópico, el corazón funciona como una bomba doble: su mitad derecha impulsa sangre escasamente oxigenada hacia los pulmones, mientras que su mitad izquierda propulsa sangre oxigenada al resto del cuerpo humano. Ambos circuitos deben mantener una presión y flujo determinados con la finalidad de asegurar una irrigación eficiente. Estos factores están relacionados con una ritmicidad en la contracción que se adapta a los requerimientos de los sistemas (Guyton & Hall, 2011).

La ritmicidad del corazón implica ciclos de contracción y relajación a una frecuencia concreta que en condiciones normales adquiere un valor de entre 50 y 100 latidos por minuto, y que es establecida por el nódulo sinusal, foco de estímulos eléctricos. A nivel de cavidades, cada contracción sigue un orden de manera que las aurículas se excitan antes que los ventrículos para asegurar el llenado de los mismos antes de enviar la sangre a otros órganos. Esta sincronización es asegurada por los sistemas de conducción. De esta forma, tras la generación de un estímulo en el nódulo sinusal, este es propagado a través de las aurículas y de las vías internodulares hasta el nódulo auriculoventricular. Las vías internodulares contiene células especializadas en la conducción, por lo que la velocidad de propagación a través de ellas es mayor que la de los cardiomiocitos de las aurículas. El estímulo del nódulo sinusal llega al nódulo sinoauricular con un retraso de 0.03s, al que se suman los 0.09s que tarda el impulso en alcanzar el haz auriculoventricular. A través de este haz, se vuelve a producir un nuevo retraso de 0.04s; por lo tanto, la diferencia de tiempo entre la excitación de aurículas y la llegada del estímulo a los ventrículos es de aproximadamente 0.16s. Finalmente, el impulso recorre las ramas izquierda y derecha hasta las fibras de Purkinje, con un retraso total de 0.03s. Las fibras de Purkinje estimulan las paredes ventriculares de manera casi instantánea debido a que su velocidad de propagación se sitúa entre 1.5 y 4 m/s por una mayor permeabilidad y número de uniones entre células. Tras la estimulación de los ventrículos, el impulso seguirá un recorrido en doble espiral debido a la disposición de las fibras en el miocardio (Guyton & Hall, 2011).

Los fenómenos eléctricos cardíacos y su progresión pueden ser identificados mediante el registro de potenciales extracelulares, como es el caso del electrocardiograma (ECG), observable en la Figura 6.

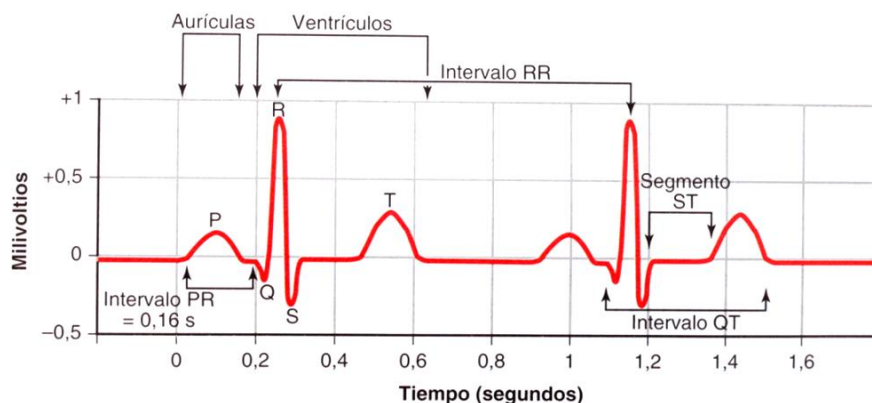


Figura 6. Electrocardiograma con sus diferentes ondas. Imagen tomada de (Guyton & Hall, 2011).

En el ECG se distinguen cinco tipos de ondas. La onda P corresponde a la transmisión del impulso eléctrico y contracción de las aurículas o sístole auricular, mientras que el complejo QRS se asocia a la transmisión del impulso y contracción de los ventrículos o sístole ventricular. Por último, la onda T se encuentra relacionada con la relajación de los ventrículos o diástole ventricular (Guyton & Hall, 2011).

Esta señal cardíaca es el resultado de la integración de las señales de múltiples cardiomiocitos y, por lo tanto, para encontrar su justificación es necesario analizar la electrofisiología celular a nivel de membrana, es decir, la bioelectricidad celular.

3.3.1. Bioelectricidad del cardiomiocito: la célula excitable como circuito

La presencia de agua e iones disueltos es propia de los medios extra e intracelular. Ello induce un carácter conductor en ambas soluciones, separadas por la membrana celular del cardiomiocito. La naturaleza lipídica de la membrana provoca en ella un comportamiento aislante respecto a los fluidos. En conjunto, la membrana celular y los medios extra e intracelulares equivaldrían a un condensador eléctrico con distintos potenciales a cada lado, ya que la concentración de iones positivos y negativos es diferente en ambos fluidos. Los iones más relevantes en los fenómenos eléctricos cardíacos aparecen en Figura 7 con sus respectivas concentraciones (Ferrero Corral, 1994).

La diferencia de concentraciones iónicas genera, a su vez, una diferencia de potencial a ambos lados de la membrana celular denominada potencial de membrana. Por definición, es el resultado de sustraer al potencial intracelular el extracelular. Este orden determina, además, que las corrientes que atraviesen la membrana hacia el medio extracelular deban ser consideradas positivas y viceversa. En situación de reposo, el potencial de membrana es negativo, mientras que el cardiomiocito se contrae cuando la polaridad de membrana se invierte como resultado del intercambio iónico entre medios en un proceso denominado potencial de acción (Ferrero Corral, 1994).

A la existencia de esta polaridad se vincula la presencia de un campo eléctrico, esto es, los iones positivos tenderán a estar en el medio de menor potencial, mientras que los negativos serán atraídos por el medio de mayor potencial. Además de por el campo eléctrico, los iones son gobernados por fuerzas asociadas a los gradientes de concentración y a la difusión. De ello se deriva, que una determinada clase de ion tenderá a viajar hacia el medio con menor concentración del mismo ion. Ambas fuerzas se describen en la Figura 7 para una situación de reposo y en la Figura 8, para una polaridad invertida (Ferrero Corral, 1994).

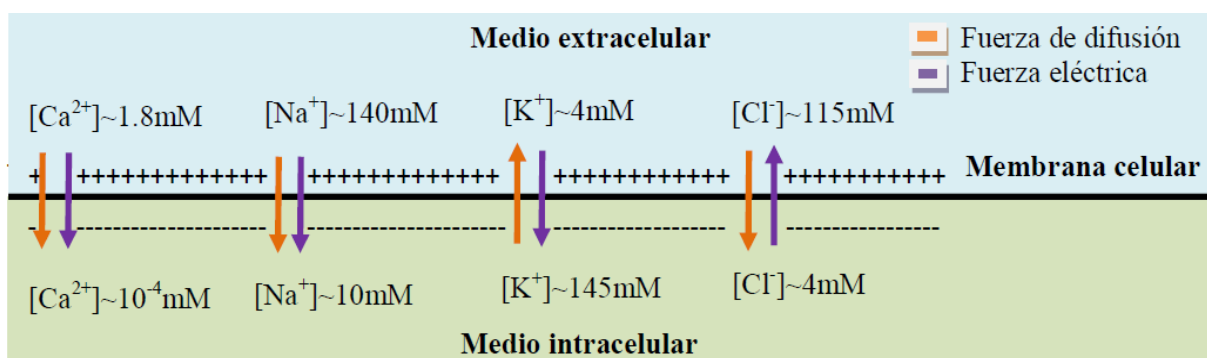


Figura 7. Fuerzas eléctricas y de difusión en una situación de potencial de reposo. Concentraciones basadas en (Ferrero Corral, 1994). Fuente: elaboración propia.

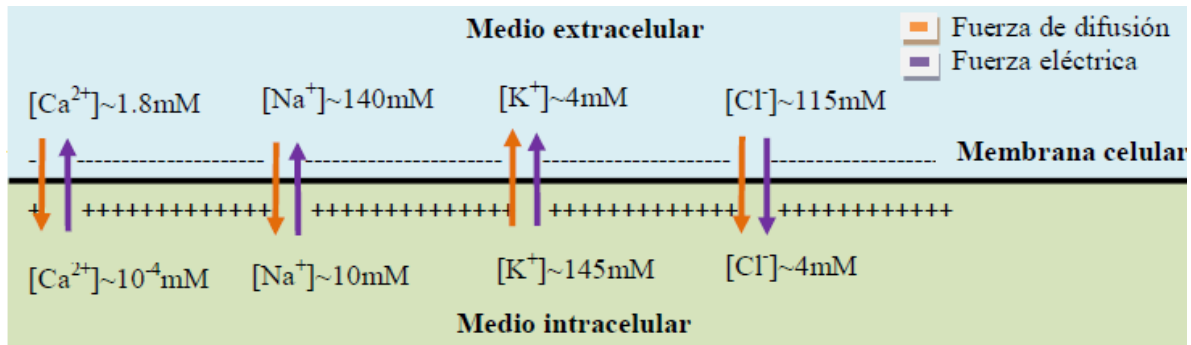


Figura 8. Fuerzas eléctricas y de difusión en una situación de potencial de acción. Concentraciones basadas en (Ferrero Corral, 1994). Fuente: elaboración propia.

A pesar de las fuerzas eléctricas y de difusión, para que los iones puedan circular entre las áreas extra e intracelular son necesarias unas vías distintas a la bicapa lipídica, que es aislante. Las vías conductoras son constituidas por parte de las proteínas integrales de la membrana celular: canales iónicos, intercambiadores, cotransportadores y bombas, algunos de los cuales son representados en la Figura 9. Los tres primeros constituyen mecanismos pasivos que no utilizan ATP para el transporte intermembrana, mientras que las bombas llevan a cabo procesos con gasto energético debido al intercambio iónico en el sentido contrario al indicado por las fuerzas (Ferrero Corral, 1994; Guyton & Hall, 2011).

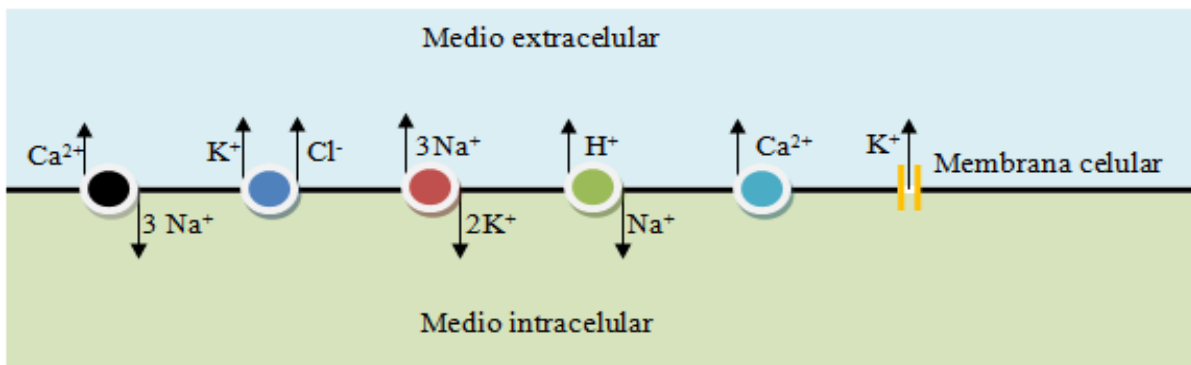


Figura 9. Algunos de las moléculas de membrana transportadoras. En negro, el intercambiador Na^+/Ca^{2+} , mecanismo básico de extracción de Ca^{2+} intracelular; en azul oscuro, el cotransportador K^+/Cl^- , encargado de extraer Cl^- y K^+ del medio intracelular, descompensando el equilibrio iónico del primero; en rojo, la bomba Na^+/K^+ , principal garante del equilibrio en las concentraciones intra y extracelular de Na^+ y K^+ ; en verde, el intercambiador H^+/Na^+ , regulador del pH; en amarillo, un canal iónico de K^+ . Fuente: elaboración propia.

Al igual que en la membrana plasmática, en el retículo sarcoplásmico existen mecanismos de transporte encargados de regular la concentración de Ca^{2+} y asegurar la disponibilidad de este ion durante los procesos de contracción. Ejemplo son la bomba de Ca^{2+} y canales iónicos de Ca^{2+} llamados “receptores de ryanodina” (Guyton & Hall, 2011).

Dentro de cada mecanismo de transporte a través de membrana existen especializaciones en función del tipo de iones transportados y de la estructura y características funcionales de la proteína. De esta manera, los canales iónicos a través de los cuales el potasio atraviesa la membrana pueden agruparse en familias como las de I_{Ks} o I_{Kr} , entre otras (Ferrero Corral, 1994).

Profundizando en el funcionamiento de los canales iónicos, la densidad de corriente para un ion que atraviesa la membrana a través de uno de ellos viene representada por la ecuación (Ferrero Corral, 1994):

$$\vec{j} = z \cdot F \cdot C \cdot \mu \cdot \frac{d\vec{F}}{dm} \quad (1)$$

donde z es la valencia del ion; F , la constante de Faraday o carga transportada por un mol de partículas con valencia ± 1 en valor absoluto; C es la concentración del ion; μ , la movilidad en el medio, y $\frac{d\vec{F}}{dm}$ la velocidad.

Con la participación de las fuerzas difusivas y eléctricas, la densidad de corriente total se desglosa en la suma de las densidades de corrientes fomentadas por cada fuerza (Ferrero Corral, 1994):

$$\overrightarrow{J_{D,s}} = z \cdot F \cdot C \cdot \mu \cdot \frac{d\overrightarrow{F_D}}{dm} = -z \cdot F \cdot R \cdot T \cdot \mu \cdot \vec{\nabla} C \quad (2)$$

$$\overrightarrow{J_{E,s}} = z \cdot F \cdot C \cdot \mu \cdot \frac{d\overrightarrow{F_E}}{dm} = -z^2 \cdot F^2 \cdot \mu \cdot C_s \cdot \vec{\nabla} U \quad (3)$$

$$\vec{J}_s = \overrightarrow{J_{D,s}} + \overrightarrow{J_{E,s}} = -\mu_s \cdot F \cdot z_D (R \cdot T \cdot \vec{\nabla} C + F \cdot z_D \cdot C_s \cdot \vec{\nabla} U) \quad (4)$$

donde R es la constante universal de los gases $J \cdot \text{mol}/K$; T , la temperatura en grados Kelvin y $\vec{\nabla}$ simboliza tanto los gradientes de concentración (C) como de potencial (U).

Según la ecuación 4, el potencial de equilibrio de un ion se alcanzaría cuando la densidad de corriente fuese cero, es decir, cuando ambas fuerzas alcanzasen el mismo valor con sentidos opuestos (Ferrero Corral, 1994). La fórmula resultante sería:

$$E_s = u_i - u_e = \frac{R \cdot T}{z_s \cdot F} \cdot \ln \frac{[S]_e}{[S]_i} \quad (5)$$

donde $[S]_e$ y $[S]_i$ son las concentraciones del ion en los medio extra e intracelular, respectivamente y, u_i y u_e representan los potenciales intra y extracelulares.

Para cada uno de los iones representados en la Ilustración 1, los potenciales de reposo son los referenciados en la Tabla 1. De ellos, se deduce que la membrana sólo puede estar en equilibrio para un ion:

Ion	Potencial de reposo (mV)
Na ⁺	35
Ca ²⁺	52
K ⁺	-88
Cl ⁻	-91

Tabla 1. Potenciales de reposo de los iones más relevantes durante el desarrollo de los potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.

A partir de las ecuaciones anteriores, se puede concluir que la corriente en pA que atraviesa un canal iónico, se puede modelizar de acuerdo a (Ferrero Corral, 1994), según la Figura 10 y la siguiente ecuación:

$$i_s = \frac{z_s^2 F^2}{\int_i^e \frac{dx}{A_c(x) \mu_s(x) C_s(x)}} (V_m - E_s) = \gamma_s (V_m - E_s) \quad (6)$$

donde A_c es el área transversal del canal iónico y γ_s es la conductancia unitaria del canal.

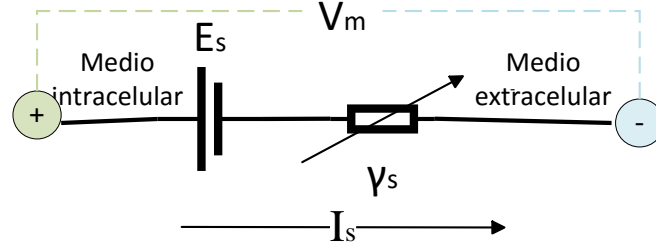


Figura 10. Circuito eléctrico que modeliza el funcionamiento de un canal iónico. Fuente: elaboración propia.

En los cardiomiocitos, como en el resto de células excitables, las corrientes iónicas de membrana no son las atravesadas por un único canal sino por una población. Realizando una analogía y suponiendo que todos los canales iónicos de una misma clase son idénticos, una población equivaldría a un circuito en paralelo del modelo de la Figura 11. En la población, algunos canales se encontrarían abiertos (por ellos circularía corriente), mientras que el resto estaría en estado cerrado. Para una situación donde el potencial de membrana fuese de igual valor al potencial de reposo de un ion, la fracción funcional de canales abiertos sería de cero (Ferrero Corral, 1994). La probabilidad de que un canal esté abierto dado un potencial de membrana, es decir, la fracción de canales abiertos, es representada por la expresión y el circuito:

$$f_s(V_m, t) = \frac{N^\circ \text{ canales iónicos abierto}(V_m, t)}{N^\circ \text{ total de canales iónicos de un tipo}} \quad (7)$$

Con la fórmula de probabilidad de apertura de una clase de canales iónicos f_s y el número de canales de la familia N_s es posible obtener la conductancia de la población de canales $g_s(V_m, t)$. Con este dato, se puede deducir la corriente para un tipo de ion a través de toda la membrana, partiendo de la corriente abarcada por un único canal (Ferrero Corral, 1994):

$$I_s = N_s * \gamma_s(V_m) * f_s(V_m, t) = g_s(V_m, t) * (V_m - E_s) \quad (8)$$

De la expresión matemática 8, se deduce que cuando el potencial de membrana sea superior al de equilibrio del ion, la corriente iónica para ese ion será saliente, y viceversa.

Calculando los parámetros para las fórmulas de corrientes iónicas en poblaciones de canales iónicos y estudiando la capacidad de la membrana celular C_m , las corrientes de estímulo procedentes de otras células y las leyes que gobiernan el resto de mecanismos de transporte a través de la membrana, es posible modelizar el comportamiento de membrana de una célula completa:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} + \sum_s g_s(V_m, t) * (V_m - E_s) + \sum_{B,I} j_{B,I} + j_{estímulo} = 0 \quad (9)$$

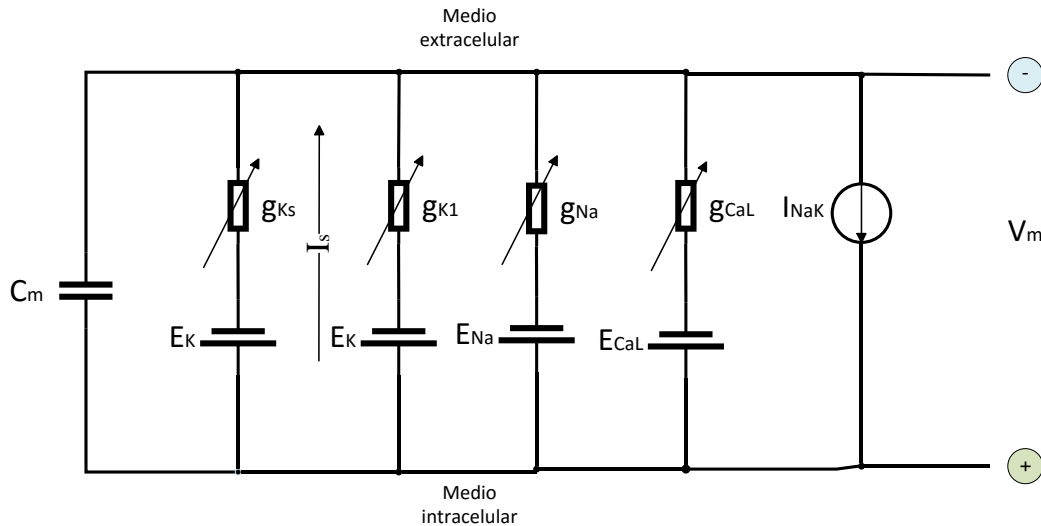


Figura 11. Circuito eléctrico que modeliza el funcionamiento de la membrana celular. Fuente: elaboración propia.

Si en la ecuación anterior, el término diferencial se iguala a cero, la célula se encontrará en su **potencial de reposo**. Este potencial de membrana se producirá cuando la densidad de corriente neta que atraviesa la membrana sea cero; es decir, cuando el potencial de membrana sea constante en el tiempo (Ferrero Corral, 1994). En los cardiomiocitos, el potencial de reposo alcanza un valor similar al potencial de equilibrio del potasio, indicador de que los canales de esta clase permanecen abiertos durante el reposo celular. La expresión que gobierna el potencial de reposo es la siguiente:

$$V_0 = \frac{\sum_S g_{s,0}(V_m, t) \cdot E_s + \sum_S j_{s,0}}{\sum_S g_{s,0}(V_m, t)} \quad (10)$$

donde $j_{s,0}$ simboliza las corrientes procedentes de mecanismos de transporte diferentes a los canales iónicos.

Con la finalidad de comprender la contracción celular, que sucede cuando la polaridad de membrana se invierte durante los llamados potenciales de acción, es necesario alcanzar un grado mayor de complejidad en la descripción bioeléctrica del cardiomiocito. Con anterioridad, se describió la expresión de las corrientes iónicas que atraviesan una fracción de una población de canales iónicos. El cálculo de dicha fracción es posible gracias a la teoría de que la circulación de corriente iónica se produce con la apertura de una serie de compuertas que forman parte del canal iónico.

La primera descripción del mecanismo de compuertas fue planteada en el formalismo matemático de Hodgkin y Huxley (Hodgkin & Huxley, 1952), que corresponde a una familia de canales iónicos gobernados por compuertas. La probabilidad de apertura de una compuerta se describió como una ecuación diferencial:

$$\frac{df_s}{dt} = \alpha_s * (1 - f_s) - \beta_s * f_s \quad (11)$$

donde α_s es la tasa de apertura del canal en aperturas/ms y β_s es la tasa de cierre del canal en cierres/ms. Definiendo la fracción estacionaria de canales iónicos abiertos $f_\infty(V_m)$, que tiene lugar cuando la ecuación se iguala a cero, y una constante temporal de apertura en ms $\tau_f(V_m)$, se obtienen las siguientes fórmulas:

$$f_{\infty}(V_m) = \frac{\alpha_s(V_m)}{\alpha_s(V_m) + \beta_s(V_m)} \quad (12)$$

$$\tau_f(V_m) = \frac{1}{\alpha_s(V_m) + \beta_s(V_m)} \quad (13)$$

Las compuertas de los canales iónicos se pueden clasificar en compuertas de activación, cuya fracción estacionaria aumenta de manera directamente proporcional al potencial de membrana, y compuertas de inactivación, cuya fracción estacionaria aumenta de manera inversamente proporcional al potencial de membrana. Ambos tipos de compuertas se pueden encontrar combinados en función de la familia de canales iónicos. Finalmente, la fracción de canales abiertos se define como una multiplicación de las probabilidades de apertura de cada una de las compuertas características de la familia de canales:

$$f_s(t) = f_1(t) * f_2(t) * f_3(t) * f_4(t) * f_n(t) \quad (17)$$

3.3.2. El potencial de acción como intercambio iónico entre compartimentos

Con las nociones teóricas necesarias, es posible definir el potencial de acción como una sucesión de aperturas de diferentes familias de canales iónicos que, junto con otros mecanismos de transporte, posibilitan el trasvase de corrientes iónicas positivas y negativas que invierten la polaridad de la membrana para, finalmente, devolverla a su estado inicial de reposo. Esencialmente, en el cardiomiocito se desencadena de acuerdo a cuatro fases (Ferrero Corral, 1994), expresadas en la Figura 12:

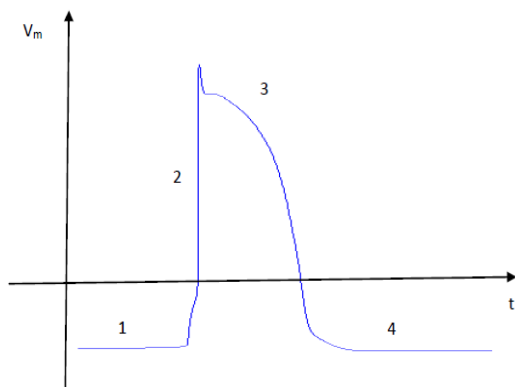


Figura 12. Fases del potencial de acción en el cardiomiocito. La zona 1 representa el reposo celular; la zona 2, la despolarización de la membrana; la zona 3, la meseta y la repolarización; y la zona 4, el retorno al potencial de reposo. Fuente: elaboración propia.

de Na^+ se cierran, mientras que tiene lugar la apertura de las compuertas de activación de K^+ , que provoca una salida de este ion. Sin embargo, la entrada de Ca^{2+} , provoca la prolongación del potencial de acción y la proyección de una meseta.

4. Finalmente, la célula vuelve a su estado de reposo cuando las corrientes de salida de K^+ son superiores a las de entrada de Ca^{2+} , reinstaurando el potencial de equilibrio celular en un proceso llamado repolarización.

Algunos de los parámetros que es posible medir en el potencial de acción son la amplitud máxima $V_{\text{máx}}$, que depende de la magnitud de entrada de Na^+ y el valor del potencial de reposo; la pendiente de ascenso de la despolarización, asociada a los incrementos en la corriente de entrada de Na^+ ; el potencial de reposo V_r , relacionado con el potencial de equilibrio de determinados canales iónicos según el tipo celular; la duración del potencial de acción (*action potential duration* o APD) que

1. Cuando la célula se encuentra en estado de reposo y en su potencial de equilibrio, funcionalmente la mayor parte de los canales iónicos se encuentran cerrados.

2. Al incrementarse el potencial de membrana a causa de un estímulo eléctrico externo o de corrientes internas de activación, se produce una apertura en cascada de los canales iónicos de sodio. En primer lugar, se abrirán sus compuertas de activación y, con ello, se producirán una entrada masiva de Na^+ que despolarizará la membrana hasta alcanzar un valor máximo de potencial. Además, a la célula entran iones de Ca^{2+} que provocan la contracción de la fibra junto con los iones calcio liberados del retículo sarcoplásmico.

3. En el valor máximo del potencial de acción, las compuertas de inactivación de los canales iónicos

depende del equilibrio entre las corrientes salientes y entrantes; o la frecuencia de desencadenamiento del potencial de acción ($1/\text{período de disparo}$ o $1/T_{\text{disparo}}$) (Figura 13).

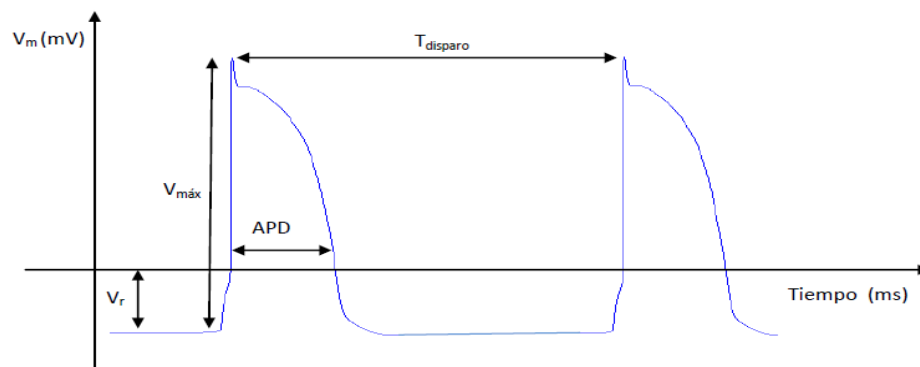


Figura 13. Parámetros del potencial de acción. Fuente: elaboración propia.

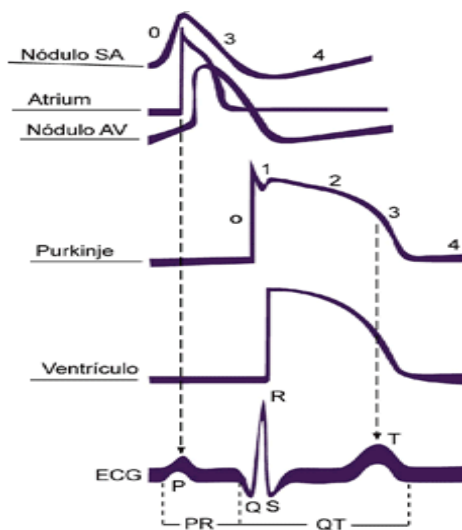


Figura 14. Potenciales de acción en función del tejido. Imagen tomada de <http://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm>.

Debido a que cada tipo celular posee diferentes características y proteínas de membrana de acuerdo a su función específica, los potenciales de acción presentan particularidades a pesar de ciertos rasgos comunes como los referenciados en la descripción anterior (Figura 14). De esta forma, es posible discernir entre los fenómenos eléctricos de aurículas o ventrículos, células contráctiles o pertenecientes al sistema de conducción; y potenciales adquiridos en el epicardio, endocardio o midmiocardio (Ferrero Corral, 1994).

En el caso de la fibra de Purkinje, cualidades distintivas son la presencia de una corriente extraordinaria de Na^+ que provoca automaticidad en ausencia de estímulo eléctrico externo o la actuación de corrientes de K^+ tras la despolarización, que causan una rápida negativización del potencial de membrana para aumentar, posteriormente, y mantenerse en la meseta (Stewart, y otros, Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells, 2009).

Asociados al potencial de acción y a los mecanismos de compuertas, aparecen los conceptos de período refractario absoluto y período refractario relativo. El período refractario absoluto es el tiempo necesario para que en la célula se pueda desarrollar un nuevo potencial de acción y su origen se relaciona con la disponibilidad de apertura de los canales iónicos de Na^+ . El período refractario relativo es un período de tiempo adicional al absoluto en el que es posible desencadenar un potencial de acción celular si se produce un estímulo de suficiente amplitud o duración (Ferrero Corral, 1994).

Como se ha mencionado, para el desarrollo del potencial de acción es necesario proporcionar un estímulo eléctrico despolarizador de fuente externa o corrientes internas de activación que aumenten el potencial de membrana y permitan la apertura de las compuertas de activación del Na^+ . En el caso de los cardiomiocitos encargados de la actividad mecánica contráctil, el potencial de acción se debe a la recepción de estímulos por parte del nódulo sinusal en las aurículas y de las fibras de Purkinje en los

ventrículos. La amplitud del estímulo deberá proveer una cantidad de corriente que permita que el potencial de membrana supere un potencial umbral. La duración del estímulo también deberá poseer un valor lo suficientemente largo para desencadenar el potencial de acción. A pesar de que ambos parámetros se pueden compensar para desencadenar un potencial de acción, siempre deberán superar un valor mínimo para que este efecto se produzca (Ferrero Corral, 1994).

En cuanto a las células del nódulo sinusal, el nódulo aurículo-ventricular y las fibras de Purkinje, son células excitables capaces de autoestimularse mediante corrientes de Na^+ que aumentan tras terminar cada potencial de acción; por lo tanto, estas células no alcanzan un potencial de reposo constante como los cardiomiocitos. Debido a que la frecuencia de autoestímulo es inferior a la del nódulo sinusal, tanto el nódulo aurículo-ventricular como las fibras de Purkinje actuarán conduciendo los estímulos producidos por el mismo sin llegar a desarrollar autoritmia, ya que los estímulos externos alcanzarán a la célula antes de que sea posible que las corrientes internas la autoestimen (Stewart, y otros, Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells, 2009).

3.4. Enfoque fisiopatológico

Entre las múltiples causas de las arritmias, se encuentran las extrasístoles, latidos que se producen de manera extraordinaria y prematura a los originados en el nódulo sinusal (Cascio, 2001). Una de las posibles causas de las extrasístoles tiene lugar cuando la frecuencia de autoestímulo de las fibras de Purkinje o el nódulo sinoauricular aumenta hasta superar la frecuencia sinusal. El origen de este incremento podría estar relacionado con la influencia de fármacos y condiciones patológicas, como las mutaciones o la isquemia miocárdica, que provocan alteraciones en los canales iónicos y sus corrientes.

Las condiciones isquémicas, estudiadas en el presente trabajo, implican una serie de cambios químicos en los medios intra y extracelular, como el ascenso de la concentración extracelular de potasio o hiperkalemia (Weiss JN, 1982), la disminución de ATP intracelular o el aumento de la cantidad de protones en el tejido (acidosis) (Kagiyama Y, 1982; Sato R, 1985; Irisawa H, 1986). A pesar de que se desconocen algunos de los mecanismos exactos de variación de dichas sustancias, en el caso del ATP, el descenso es consecuencia de la reducción de oxígeno intracelular que impide la generación de energía por parte de la mitocondria.

La causa directa de la isquemia en el corazón es la falta de irrigación sanguínea por la oclusión de una vena o arteria coronaria. En un plazo de tiempo que depende de factores como la vulnerabilidad a la hipoxia del tipo celular o la naturaleza de la irrigación en el órgano, la situación isquémica puede ocasionar un área de necrosis o muerte celular denominada infarto de miocardio. El infarto conllevará una pérdida funcional en el músculo cardíaco y podrá contribuir también al desarrollo de arritmias. El tejido cardíaco evolucionará hasta cicatrizar la zona necrosada, remodelar las áreas influenciadas por la isquemia e hipertrofiar el músculo sano (Kumar, Abbas, & Aster, 2015).

La necrosis y remodelación del tejido provocan heterogeneidad en la repolarización y los períodos refractarios, por lo que, además de las células de los sistemas de conducción, áreas isquémicas de cardiomiocitos de las paredes ventriculares y auriculares podrían actuar como focos ectópicos (no sinusales) de latidos. Sin embargo, en el presente trabajo se analizarán únicamente los resultados asociados a la isquemia miocárdica aguda, que incluye los 10 primeros minutos tras la oclusión de la arteria coronaria y durante la cual no se produce remodelación ni necrosis celular.

La isquemia, en su denominada fase aguda, provoca cambios arritmogénicos en el potencial de acción de los cardiomiocitos, observándose patrones de variación en diversos parámetros (Figura 15). Entre

ellos destaca una disminución en el potencial de reposo celular debido, principalmente, al ascenso de la concentración de potasio extracelular. Además, la amplitud máxima del potencial de acción decrece por la reducción de las densidades de corriente I_{Na} e I_{CaL} que contribuyen a la despolarización de la membrana. La negativización del potencial de reposo también contribuye a este rasgo. En cuanto a la duración del potencial de acción (APD), la activación de las corrientes I_{KATP} disminuye la meseta. El período refractario decrecerá durante los primeros minutos como consecuencia del acortamiento del APD y la hiperkalemia extracelular. Posteriormente, aumentará debido al ascenso de la concentración de potasio extracelular. Por último, el acoplamiento entre cardiomiocitos también se verá afectado, puesto que la conductividad de las uniones comunicantes es reducida por los cambios e incluso destrucción de las proteínas que conforman dichas uniones. Estas alteraciones en las proteínas de transporte serán destacables a partir de los 20 minutos de isquemia (es decir, una vez terminada la fase aguda) y, por lo tanto, en este trabajo se considerará que las *gap junctions* permanecen inalterables durante la fase aguda (Ošt'ádal & Kolář, 1999).

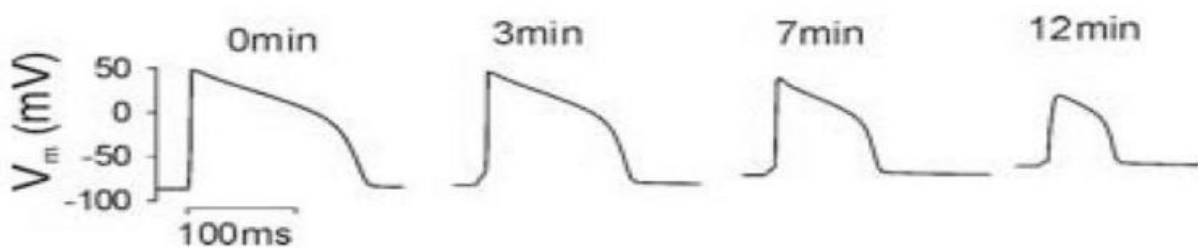


Figura 15. Progresión del potencial de acción de cardiomiocito durante los primeros 12 minutos de isquemia miocárdica. Se observa disminución de la amplitud máxima del potencial de acción, la pendiente de despolarización, el potencial de reposo y el APD. Imagen tomada de (Rodríguez, Trayanova, & Noble, 2006).

3.4.1. Las fibras de Purkinje como foco arritmogénico durante la isquemia aguda

Los efectos de la isquemia miocárdica aguda sobre los cardiomiocitos contráctiles han sido ampliamente investigados, tanto con modelos animales como computacionales. Sin embargo, la influencia de este estado sobre las fibras de Purkinje no ha protagonizado la misma cantidad de estudios, por lo que en este trabajo se ha procedido a simular sobre modelos computacionales diferentes situaciones isquémicas, con la ayuda de una interfaz de usuario específica, para investigar los posibles efectos arritmogénicos de la isquemia miocárdica aguda mediados por las fibras de Purkinje.

Con ello, se espera demostrar o refutar la generación de latidos prematuros por parte de dichas células, puesto que estos constituyen uno de los posibles motivos de inicio de reentradas y, por lo tanto, de arritmias como la fibrilación ventricular. Las reentradas son propagaciones repetitivas de la onda despolarizante, que vuelve a su lugar de origen para volver a estimular una zona ya activada; es decir, un grupo de células en condiciones patológicas propaga el potencial de acción hacia otras células que ya se han contraído según la secuencia fisiológica natural, provocando una descoordinación en el músculo (Gaztañaga, Marchlinska, & Betensky, 2012).

Para que una reentrada dé lugar a una arritmia es necesario que comience y se mantenga. Como criterio de inicio se incluye la estimulación durante un intervalo crítico que abarca desde la llegada del propio estímulo hasta el fin de un bloqueo unidireccional, que puede estar constituido por tejido circundante isquémico. De ello se deduce que los estímulos prematuros pueden dar lugar a arritmias.

4. Desarrollo de software

En este apartado, se describe tanto la metodología como los recursos utilizados para diseñar una interfaz gráfica de usuario (GUI) con el entorno MATLAB®. Debido a que la finalidad de la interfaz es constituir una herramienta para el estudio y simulación de las fibras de Purkinje durante la isquemia miocárdica aguda ha sido necesario, en primer lugar, seleccionar modelos celulares tanto para fibra de Purkinje como para endocardio. La elección del modelo de endocardio supone una ampliación de los objetivos iniciales para conocer la influencia de la fibra de conducción sobre este tejido.

En segundo lugar, se han introducido variaciones sobre los modelos celulares iniciales para reproducir de manera más fidedigna los efectos de la isquemia sobre las células. Asimismo, a partir de las condiciones isquémicas referenciadas en la introducción, se han diseñado los experimentos *in-silico* y elegido los valores de concentraciones determinantes de dicha situación. Como parámetros de descripción de la evolución celular, se han utilizado la frecuencia de autoestimulación, la duración y la amplitud máxima del potencial de acción.

En tercer lugar, mediante la herramienta GUIDE de MATLAB se ha creado una GUI personalizada que permite introducir los parámetros de experimentación, ejecutar los modelos celulares y obtener las características descriptivas del estado celular, reflejando los resultados mediante gráficos.

Todos los modelos celulares, así como la GUI, se podrán visualizar en la documentación adjunta.

4.1. Modelos computacionales celulares

4.1.1. Modelo de fibra de Purkinje

Para simular la fibra de Purkinje se ha utilizado el modelo de Stewart (Stewart, y otros, 2009), basado en los modelos de célula de endocardio humano de ten Tusscher (ten Tusscher, Noble, Noble, & Panfilov, 2004; ten Tusscher & Panfilov, 2006), con la inserción de las corrientes iónicas activadas por hiperpolarización y la corriente de potasio sostenida, y la modificación de cuatro corrientes de potasio. El modelo permite reproducir, por lo tanto, la automaticidad de la fibra de Purkinje, así como sus características de potencial de acción. Visualmente, todos los mecanismos de transporte de la membrana celular se representan en la Figura 16. Se observa, además, la modelización de las corrientes de calcio que atraviesan la membrana del retículo sarcoplásmico.

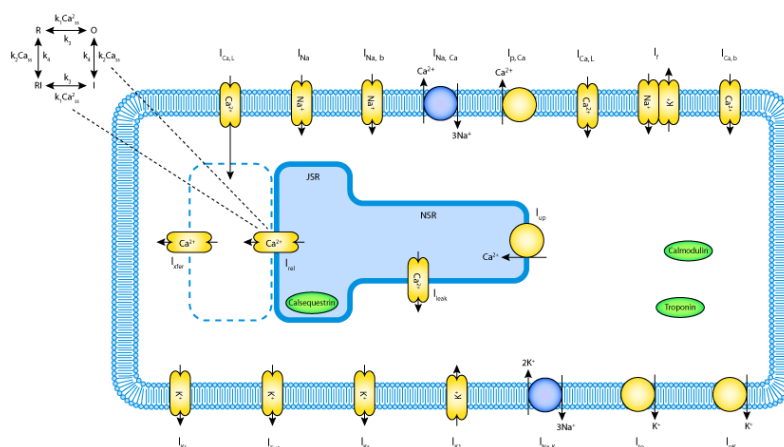


Figura 16. Modelo de fibra de Purkinje de Stewart. Imagen tomada de https://models.cellml.org/exposure/38cf8387b0707f0ef6947f009710aeb5/stewart_aslanidi_noble_noble_boyyett_zhang_2009.cellml/view.

Electrofisiológicamente, la fibra de Purkinje es descrita según la siguiente ecuación de membrana:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = -(I_{ion} + I_{estímulo}) \quad (18)$$

donde C_m es la capacidad de membrana, V_m es el potencial de membrana, t representa el tiempo, $I_{estímulo}$ simboliza las corrientes de estímulo procedentes de otras células y las corrientes iónicas I_{ion} aparecen descritas en las Tablas 15 y 16 del Anexo I. La influencia de las corrientes sobre el potencial de membrana se puede visualizar en la Figura 17.

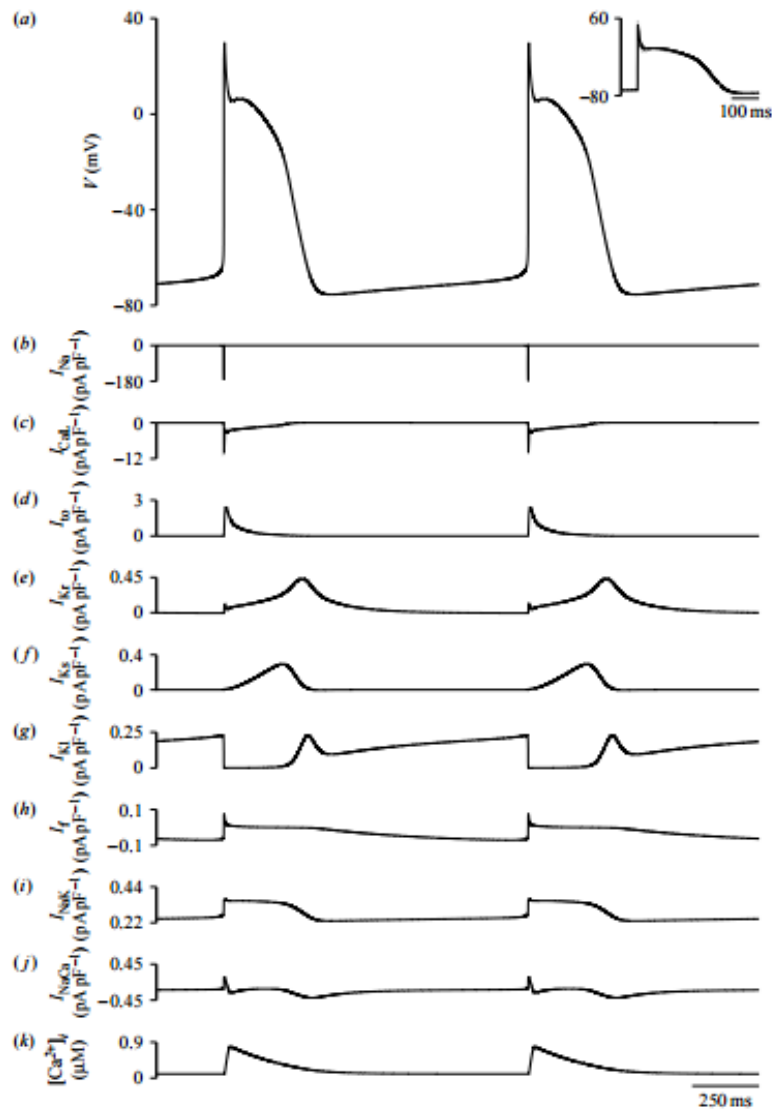


Figura 17. Principales corrientes del modelo de fibra de Purkinje de Stewart junto con el potencial de acción. Imagen tomada de (Stewart, y otros, 2009)

4.1.2. Modelo modificado de fibra de Purkinje

Para estudiar la influencia de la isquemia sobre la fibra de Purkinje, se ha introducido un conjunto de variaciones en el modelo de Stewart, asociadas a la influencia de la hiperkalemia, la acidosis y la hipoxia.

En lo relativo a las corrientes pertenecientes a la dinámica del Ca^{2+} intracelular, se han multiplicado la corriente de la bomba de Ca^{2+} del sarcolema y la corriente de la bomba del retículo sarcoplásmico

por sendos factores dependientes de la concentración de ATP intracelular, puesto que ambos son mecanismos ligando- dependientes y activos. Para realizar dichas modificaciones, se extrajo información del modelo computacional de miocito ventricular de Cortassa (Cortassa, y otros, 2006). Las corrientes se definieron de la siguiente forma:

- Densidad de corriente de la bomba de Ca^{2+} del sarcolema:

$$I_{pCa} = G_{pCa} * \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_{pCa} + [Ca^{2+}]_i} * f_{pCa}^{ATP} \quad (19)$$

donde el factor introducido en el modelo original es:

$$f_{pCa}^{ATP} = \frac{1}{1 + \frac{K_{m1-pCa}^{ATP}}{[ATP]_i} * \left(1 + \frac{[ADP]_i}{K_{i-pCa}^{ADP}}\right)} + \frac{1}{1 + \frac{K_{m2-pCa}^{ATP}}{[ATP]_i}} \quad (20)$$

- Densidad de corriente de la bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico;

$$I_{up} = \frac{V_{maxup}}{1 + \frac{K_{up}^2}{[Ca^{2+}]_i}} * f_{up}^{ATP} \quad (21)$$

donde el factor introducido en el modelo original es:

$$f_{up}^{ATP} = \frac{1}{\frac{K_{m-up}^{ATP}}{[ATP]_i} * \left(1 + \frac{[ADP]_i}{K_{i-up}}\right) + \left(1 + \frac{[ADP]_i}{K'_{i-up}}\right)} \quad (22)$$

Como aclaración, en ambas densidades de corriente cualquier elemento precedido de la letra K es una constante, mientras que las concentraciones aparecen entre corchetes y la letra G simboliza la conductancia de la población de canales iónicos. Esta nomenclatura se extiende a cualquier modelo descrito en el apartado de *Desarrollo de software*, pudiéndose consultar los valores de los parámetros en la documentación adjunta.

Otra mecanismo alterado fue el de la bomba Na^+ / K^+ . Por tratarse de una proteína cuyo funcionamiento está relacionado con el gasto energético, fue asociada a un factor multiplicativo relacionado con el ATP y al ADP procedente del modelo de Cortassa (Cortassa, y otros, 2006):

- Densidad de corriente de la bomba Na^+ / K^+ :

$$I_{NaK} = \frac{P_{NaK} * [K^+]_o * [Na^+]_i * f_{NaK}^{ATP}}{([K^+]_o + K_{mK}) * ([Na^+]_i + K_{mNa}) * \left(1 + 0.1245 * e^{\frac{-0.1 * V_m * F}{R * T}} + 0.0353 * e^{\frac{V_m * F}{R * T}}\right)} \quad (23)$$

donde el factor introducido en el modelo original es:

$$f_{NaK}^{ATP} = \frac{1}{1 + \frac{K_{NaK}^{1,ATP}}{[ATP]_i} * \left(1 + \frac{[ADP]_i}{K_{NaK}^{i,ADP}}\right)} \quad (24)$$

Además, se introdujo un canal iónico que actúa principalmente cuando existe carencia de ATP: los canales iónicos K_{ATP} . Sus fórmulas matemáticas descriptivas fueron elaboradas a partir del modelo de Ferrero (Ferrero, Sáiz, Ferrero, & Thakor, 1996). Las ecuaciones insertadas aparecen a continuación:

- Potencial de reposo del potasio:

$$E_{K,ATP} = \frac{R * T}{F} * \log \left(\frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} \right) \quad (25)$$

- Fracción de canales K_{ATP} activados:

$$H = 1.3 + 0.74 * e^{-0.09 * [ADP]_i} \quad (27)$$

$$K_m = 35.8 + 17.9 * [ADP]_i^{0.256} \quad (29)$$

$$f_{ATP} = \frac{1}{1 + \left(\frac{[ATP]_i}{K_m} \right)^H} \quad (31)$$

- Rectificación causada por el Na^+ :

$$K_{h,Na} = K_{h,Na}^0 * e^{-\frac{\delta_{Na} * F}{R * T} * V_m} \quad (33)$$

$$f_N = \frac{1}{1 + \left(\frac{[Na^+]_i}{K_{h,Na}} \right)^2} \quad (35)$$

- Efecto de la temperatura:

$$f_T(T) = Q_{10}^{\frac{(T-T_0)}{10}} \quad (26)$$

- Rectificación causada por el K^+ :

$$K_{h,Mg}([K^+]_o) = 0.651 * \sqrt{[K^+]_o + 5} \quad (28)$$

$$K_{h,Mg} = K_{h,Mg}([K^+]_o) * e^{-\frac{2 * \delta_{Mg} * F}{R * T} * V_m} \quad (30)$$

$$f_M = \frac{1}{1 + \frac{[Mg^{2+}]_i}{K_{h,Mg}}} \quad (32)$$

- Conductancia unitaria en ausencia de Na^+ y Mg^{2+} intracelular:

$$\gamma_0 = 35.375 * \left(\frac{[K^+]_o}{5.4} \right)^{0.24} \quad (34)$$

- Conductancia unitaria:

$$g_0 = \gamma_0 * f_M * f_N * f_T \quad (36)$$

- Densidad de corriente total en la población de canales K_{ATP} :

$$I_{K,ATP} = \sigma * g_0 * p_0 * f_{ATP} * (V_m - E_{K,ATP}) \quad (37)$$

Todas las constantes del modelo de Ferrero fueron extrapoladas al modelo de fibra de Purkinje a excepción de la proporción de canales iónicos de $I_{K,ATP}$, parámetro variable en función del tipo celular. En ausencia de información bibliográfica acerca de dicha constante para fibra de Purkinje de corazón humano, se procedió a realizar una aproximación. Para ello, se partió de los datos arrojados en el artículo de *Ferrero et al.*, en el que se referencia la reducción en un 50% del APD en situación isquémica a causa de la apertura de los canales $I_{K,ATP}$. No fue posible reducir el APD en un 50% debido a que el potencial de acción en el modelo de Stewart desaparecía, por lo que, finalmente se utilizó un valor límite de 0.26 canales/ μm^2 .

Las anteriores modificaciones se realizaron con la finalidad de posibilitar el estudio de la influencia de la hipoxia sobre los mecanismos de transporte. Para comprobar las alteraciones causadas por la acidosis, se procedió a multiplicar las densidades de corrientes iónicas I_{Na} e $I_{Ca,L}$ del modelo de Stewart por sendos factores que adoptan el valor 1 para un pH en situación natural y progresan hasta un valor de 0.5 en situación isquémica:

- Densidad de corriente del canal iónico Na:

$$I_{Na} = f_{ph_INa} * G_{Na} * m^3 * h * j * (V_m - E_{Na}) \quad (38)$$

donde el factor multiplicativo es f_{ph_INa}

- Densidad de corriente del canal iónico CaL:

$$I_{CaL} = f_{ph_ICAL} * G_{CaL} * d * f * f_2 * f_{Cass} * 4 * \frac{(V_m - 15) * F^2}{R * T} * \frac{0.25 * [Ca^{2+}]_{ss} * e^{\frac{2*(V_m-15)*F}{R*T}} - [Ca^{2+}]_o}{e^{\frac{2*(V_m-15)*F}{R*T}} - 1} \quad (39)$$

donde el factor multiplicativo es f_{ph_ICAL}

4.1.3. Ejecución computacional del modelo modificado de fibra de Purkinje

Con la finalidad de simular el comportamiento celular, es necesario un motor de resolución (*solver*) de sistemas de ecuaciones diferenciales que permita extraer valores en el tiempo del modelo celular. Además, resulta indispensable la introducción de las variables de concentración de las sustancias que reproducen la isquemia miocárdica aguda, así como el período de tiempo que se desea simular.

Como solución a ambos problemas, se ha diseñado una función MATLAB (función *purkinje_main*) cuya labor es ejecutar la función *ode15s* a partir de una serie de parámetros de entrada (Tablas 17 y 18 de Anexo I) y que, mediante un método implícito, resuelve problemas *stiff* con una exactitud de primer a quinto orden. Los resultados de *ode15s* se agrupan en el vector temporal *time* y la matriz con las variables de estado *StateV*, cuyo contenido es reflejado en la Tabla 19 del Anexo I. El fragmento de código de *purkinje_main* que ejecuta la función *ode15s* es el siguiente:

```
for p=1:settings.TSim
[t,X]=ode15s('purkinje',[0
settings.BCL],x0,opts,settings,sigma_K_ATP,K,ATP,ADP,Mg_i,f_ph_INa,f_ph_ICaL);

    waitbar(p/settings.TSim,h4)
    x0=[X(end,1:end)];

    if p > settings.TSim - settings.storeLast
        Ti=[Ti; t+(settings.BCL*(p-1-(settings.TSim -
settings.storeLast)))]];
        StateVars=[StateVars; X];
    end
end
```

Cabe destacar que el desarrollo de la función *purkinje_main* se ha basado en una función denominada *TT_endo_Ko_main*, que permite realizar simulaciones con el modelo de endocardio de ten Tusscher (ten Tusscher, Noble, Noble, & Panfilov, 2004) y ha sido utilizada para resolver el modelo de cardiomiocito contráctil. La principal adaptación ha consistido en ejecutar la función *ode15s* cada segundo durante un período de tiempo establecido, permitiendo que la fibra de Purkinje desarrolle su propia automaticidad. Originalmente, la función *ode15s* resolvía el sistema de ecuaciones diferenciales para un número de estímulos eléctricos externos, ya que los modelos de cardiomiocitos los precisan para desencadenar potenciales de acción como se observa en el próximo apartado.

Para la ejecución de la función *purkinje* se utiliza la sentencia con los parámetros de entrada, algunos de los cuales serán presentados posteriormente, y salida:

```
[StateV,time]=purkinje_main(settings,sigma_K_ATP,K,ATP,ADP,Mg_i,f_ph_INa,f_ph_ICaL)
```

4.1.4. Modelo de fibra del endocardio

La fibra de Purkinje no es una célula que actúe de forma aislada en el corazón, sino que se relaciona con un conjunto de células tanto de conducción, como encargadas de la contracción de las paredes ventriculares. La influencia que ejerce sobre su entorno motiva el estudio de la transmisión de corriente y la estimulación del endocardio ventricular por parte de las fibras de Purkinje. Con el fin de simular el comportamiento del endocardio ventricular en un modelo dual posterior *Purkinje- endocardio*, se ha escogido el modelo de ten Tusscher (ten Tusscher, Noble, Noble, & Panfilov, 2004), mencionado anteriormente.

Las densidades de corriente participantes son las reflejadas en la Tabla 15 del Anexo I. Además, se pueden visualizar los mecanismos de transporte en la Figura 18.

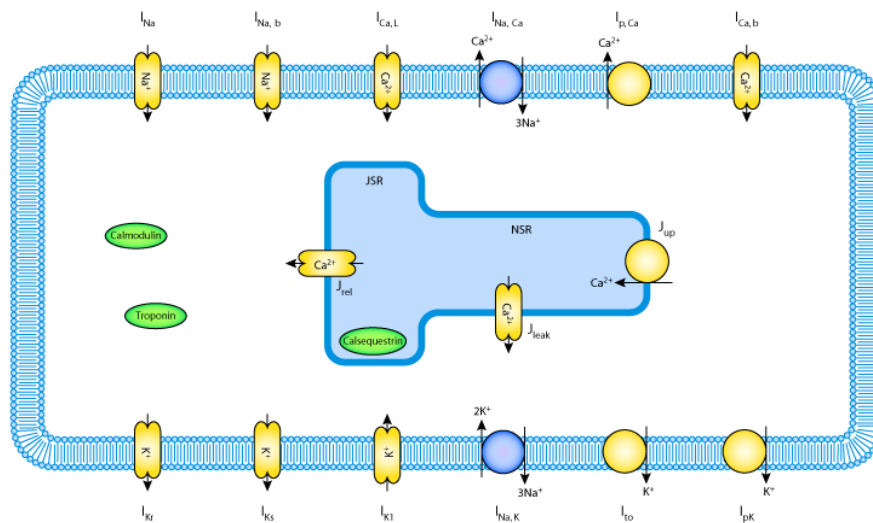


Figura 18. Modelo de endocardio de ten Tusscher de 2004. Imagen tomada de <https://models.cellml.org/exposure/c7f7ced1e002d9f0af1b56b15a873736/view>.

4.1.5. Modelo modificado de fibra del endocardio

En el modelo de ten Tusscher se alteraron las mismas densidades de corriente que en el modelo de fibra de Purkinje, es decir, se multiplicaron las expresiones de las bombas de Ca^{2+} del sarcolema y del retículo sarcoplásmico por un factor relacionado con el ATP y el ADP, se insertó el modelo de canal K_{ATP} de Ferrero y se modularon las densidades de corriente I_{Na} e I_{CaL} .

4.1.6. Modelo de Purkinje- endocardio acoplado

Para relacionar los modelos computacionales de fibra de Purkinje y endocardio, se incluyeron ambos en una única función denominada *endopurk*, donde se cambiaron los nombres de variables y constantes para impedir coincidencias en su cálculo. La unión Purkinje- músculo se simuló mediante una impedancia resistiva, causante de un retraso entre la sucesión de los potenciales de acción de ambas células, en serie con un elemento amplificador de la corriente, necesario para estimular al cardiomiocito.

De acuerdo a datos experimentales, el valor del mencionado retardo es de aproximadamente 20 ms, pero según determinados artículos, puede alcanzar un valor de entre 2 y 7 ms. Para calcular la magnitud resistiva, se procedió a realizar una serie de simulaciones de las que se extrajo el tiempo de retardo en función de la conductancia (Figura 19) permitiendo, posteriormente, extraer diferentes conductancias y realizar estudios comparativos cuyos gráficos se presentan en el apartado *Resultados*. Las simulaciones se realizaron para un factor de amplificación de la corriente entrante al cardiomiocito de 200.

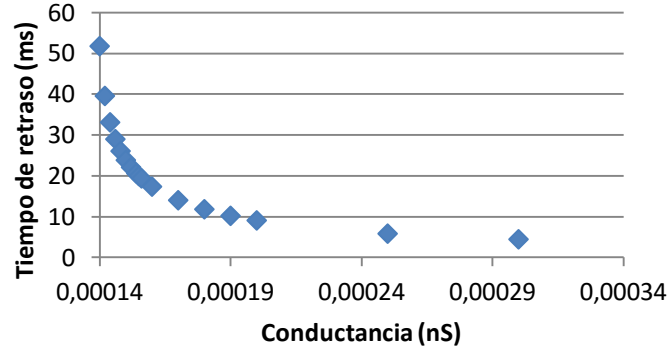


Figura 19. Tiempo en ms que el impulso eléctrico tarda en traspasar la unión Purkinje- músculo en función de la conductancia para una amplificación del estímulo de 200. Comienza en un valor de 0.00014 debido a que con cifras inferiores no se desencadenaban potenciales de acción en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.

En lo relativo al factor amplificador de la corriente entrante en el endocardio, su inclusión se debe a que la corriente traspasada por la fibra de Purkinje era insuficiente para desencadenar un potencial de acción. La amplificación de corriente fue propuesta por Vigmond (Vigmond & Clements, 2007), como respuesta a la compleja geometría cardíaca, donde las células no se encuentran aisladas sino formando parte de un entramado. Para el modelo acoplado, se propuso un valor de 200 para este elemento. Finalmente, el acoplamiento de ambos modelos quedaría representado como en la Figura 20:

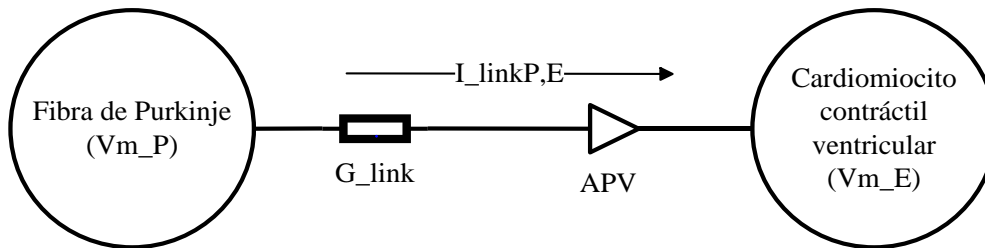


Figura 20. Diagrama eléctrico de la unión Purkinje- músculo. $I_{linkP, E}$ refleja la densidad de corriente procedente de la fibra de Purkinje que estimula al cardiomiocito. Durante su recorrido sufre dos modificaciones: un retraso dependiente de la conductancia G_{link} , que es la inversa de una impedancia resistiva, y la amplificación por el factor APV, simbolizado por el amplificador. Fuente: elaboración propia.

Computacionalmente, las ecuaciones introducidas para acoplar ambos modelos fueron:

- Densidad de corriente saliente de la fibra de Purkinje

$$I_{linkP} = G_{link} * (V_m^P - V_m^E) \quad (40)$$

donde G_{link} es la conductancia de la unión Purkinje- músculo, V_m^P es el potencial de membrana en la fibra de Purkinje y V_m^E es el potencial de membrana en endocardio. La densidad de corriente I_{linkP} se sumó a las corrientes de K^+ y las de membrana como positiva o saliente.

- Densidad de corriente entrante en el endocardio

$$I_{linkE} = APV * I_{linkP} \quad (41)$$

donde APV es la amplificación Purkinje- músculo. La densidad de corriente I_{linkE} se suma como negativa o entrante junto con las corrientes de K^+ y las de membrana.

Tanto la conductancia de la unión Purkinje- músculo, como la amplificación de la corriente traspasada entre ambas células, constituyen parámetros de entradas de la función *endopurk*, para dotar al modelo de una mayor cantidad de grados de libertad en la simulación.

4.1.7. Ejecución computacional del modelo de Purkinje- endocardio acoplado

La simulación del modelo *endopurk* requiere modificaciones en la función de ejecución temporal *purkinje_main*, por lo que se ha desarrollado una nueva función, denominada *endopurk_main*. Se trata de una función idéntica a *purkinje_main*, pero con la inserción de los parámetros de entrada *APV* y *G_link*.

4.1.8. Modelos de Purkinje y Purkinje-endocardio con estímulo sinusal

Si los modelos de fibra de Purkinje aislada y acoplada permitían reproducir la actividad automática de la célula, los modelos *endopurk_sin* y *purkinje_sin* proporcionan un sustrato para estudiar la influencia de las corrientes generadas por el nódulo sinusal y conducidas a lo largo del sistema de conducción hacia la célula de Purkinje.

En las funciones *endopurk_sin* y *purkinje_sin* se han introducido las siguientes variaciones respecto a *endopurk* y *purkinje*:

- Definición de un estímulo de cierta amplitud negativa settings. Amp_stim en mV y duración settings. Dur_stim en ms.

```
if time<settings.Dur_stim
    i_Stim=settings.Amp_stim;
else
    i_Stim=0;
end
```

- Adición del estímulo a la suma de corrientes de K^+ y membrana como densidad de corriente positiva, ya que es introducido con un valor negativo.

4.1.9. Ejecución del modelo de Purkinje y Purkinje-endocardio con estímulo sinusal

La ejecución de *endopurk_sin* y *purkinje_sin* se realiza mediante las funciones *endopurk_sin_main* y *purkinje_sin_main*, alteraciones de *endopurk_main* y *purkinje_main*. En ellas, el único cambio introducido respecto a la función original es la ejecución de *ode15s* cada estímulo en lugar de cada unidad temporal:

```
for p=1:settings.NumStim

    [t,X]=ode15s('endopurk',[0
settings.BCL],x0,opts,settings,sigma_K_ATP,K,atp,adp,mg_i,constant_ph_INa,constant_ph_ICaL,G_link,APV);

    waitbar(p/settings.TSim,h4)
    x0=[X(end,1:end)];

    if p > settings.TSim - settings.storeLast
        Ti=[Ti; t+(settings.BCL*(p-1-(settings.TSim -
settings.storeLast)))]];
        StateVars=[StateVars; X];
    end
end
```

Como parámetros de entrada se establecerán las concentraciones de todas las sustancias involucradas en la isquemia, la densidad de canales K_{ATP} , la amplificación y la conductancia de la unión Purkinje-músculo, la amplitud del estímulo externo, la duración del estímulo, el número de estímulos y el intervalo de tiempo transcurrido entre cada estímulo o período.

4.2. Diseño experimental *in silico*

El diseño experimental *in silico* hace referencia a las condiciones de simulación, los parámetros de análisis, así como a las diferentes etapas necesarias para obtener resultados esclarecedores. De acuerdo a los modelos definidos, las fases generales necesarias son cuatro: experimentación con las funciones *purkinje*, *purkinje_sin*, *endopurk* y *endopurk_sin*.

4.2.1. Condiciones de simulación

Cada modelo computacional podrá ser sometido a unos parámetros constantes que incluyen la amplificación y conductancia de la unión Purkinje- músculo y la densidad de canales K_{ATP} , aunque es posible variar sus valores para analizar su efecto sobre los resultados. Además, se establecerán una serie de parámetros variables que definirán las condiciones isquémicas a las que se somete al modelo.

Entre los parámetros variables, se incluye la concentración de potasio extracelular en mM, que permitirá simular desde una situación no isquémica hasta otra hiperpotasémica. Su valor variará entre las concentraciones 4.4 mM y 15.4 mM, donde la concentración de control es 5.4 mM.

Con el propósito de reproducir la hipoxia que conlleva la isquemia, será necesario establecer las concentraciones de ATP, ADP y Mg^{2+} intracelulares. De acuerdo al saber científico, adquirirán los valores referenciados en la Tabla 2.

Molécula/Ion	Concentración en isquemia	Concentración de control
ATP	6.8	4.6
ADP	0.015	0.099
Mg^{2+}	0.5	2.5

Tabla 2. Concentración de ATP, ADP y Mg^{2+} en condiciones isquémicas y no isquémicas. Fuente: elaboración propia.

En lo relativo a la acidosis, las constantes f_{ph_INa} y f_{ph_ICaL} adoptarán el valor de 1 en situación no isquémica y el valor de 0.5 en situación isquémica.

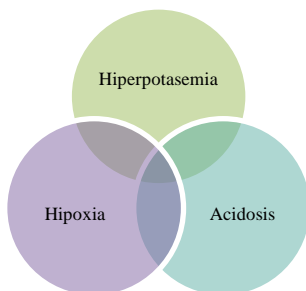


Figura 21. Posibles combinaciones de condiciones isquémicas. Fuente: elaboración propia.

Los efectos de la acidosis, la hiperkalemia y la hipoxia se podrán estudiar por separado, de manera que la variable estudiada adquiera valores patológicos, o en conjunto, constituyendo un entorno isquémico (Figura 21). La simulación en conjunto será susceptible de ser realizada mediante una función continua en el tiempo para todas las variables o mediante la inserción manual de valores discretos. Las funciones continuas, representadas en la Figura 22, se han definido linealmente de acuerdo a la expresión genérica:

$$variable = valor(control) + \frac{valor(isq) - valor(control)}{tiempo_duración_isq} * (tiempo - tiempo_ini_isq) \quad (42)$$

donde *tiempo_duración_isq* o tiempo de duración de la isquemia será de $6 \cdot 10^5$ ms (10 minutos), y el *tiempo* se introducirá en ms.

A partir de dicha fórmula, se han diseñado las funciones de evolución de las variables de entorno, representadas también en la Figura 22:

- Evolución del potasio intracelular

$$[K^+]_o = 5.4 \text{ mM} + \left(\frac{12.4 - 5.4}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (43)$$

- Evolución de las concentraciones de ATP, ADP y Mg intracelulares.

$$[ATP]_i = 6.8 \text{ mM} + \left(\frac{4.6 - 6.8}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (44)$$

$$[ADP]_i = 0.015 \text{ mM} + \left(\frac{0.099 - 0.015}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (45)$$

$$[Mg^{2+}]_i = 0.5 \text{ mM} + \left(\frac{2.5 - 0.5}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (46)$$

- Evolución de los factores multiplicativos asociados a la acidosis.

$$f_{ph_{INa}} = 1 \text{ mM} + \left(\frac{0.5 - 1}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (47)$$

$$[K^+]_o = 1 \text{ mM} + \left(\frac{0.5 - 1}{6 * 10^5} \right) \frac{\text{mM}}{\text{ms}} * (t - \text{tiempo_inicio_isquemia}) \quad (48)$$

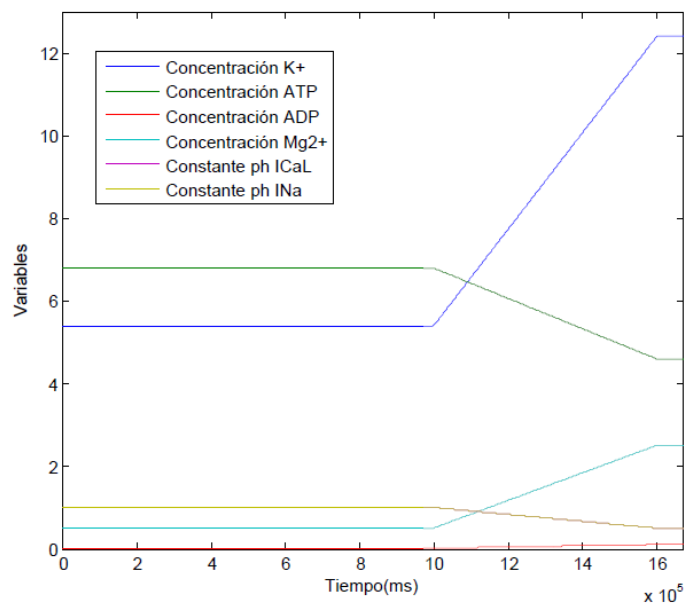


Figura 22. Representación de las funciones continuas de cada variable de entrada en un tiempo de $1.6 \cdot 10^5$ ms, donde 1000 s ocurren en condiciones de control y 600 s suceden en situación de isquemia aguda progresiva. Fuente: elaboración propia.

La inserción de las funciones continuas sobre los modelos ha requerido el diseño de la función *isquemia*, que a partir del tiempo en ms devuelve los valores de los parámetros ambientales. Esta función contiene las funciones continuas enunciadas anteriormente y las ejecuta para un tiempo de inicio de isquemia de 1000 s para asegurar la estabilización de los potenciales de acción en condiciones de control, aunque este valor es modificable.

Para realizar simulaciones con *isquemia* se han llevado a cabo cambios en todas las funciones de ejecución y modelado, que incluyen la eliminación de las variables de entorno y la inclusión de *isquemia* dentro de los modelos. Como *ode15s* resuelve los modelos en pasos de 0 al tiempo deseado, ha sido necesario crear como entrada para la función *isquemia* una variable nueva que represente el tiempo real y no el transcurrido durante cada intervalo de resolución:

- En el modelo no estimulado, el tiempo real depende de *p* (cada segundo transcurrido):

```
time_real = time+1000*(settings.p-1);
[K_o,atp,adp,mg_i,constant_ph_INa,constant_ph_ICaL ] = isquemia(time_real);
```

- En el modelo estimulado, el tiempo real depende de *BLC* o intervalo transcurrido entre estímulos:

```
time_real = time+settings.BCL*(settings.p-1);
[K_o,atp,adp,mg_i,constant_ph_INa,constant_ph_ICaL ] = isquemia(time_real);
```

Como resultado, se han creado las funciones *endopurk_con_sin_main*, *endopurk_con_sin*, *purkinje_con_sin_main* y *purkinje_con_sin*.

4.2.2. Parámetros de análisis

Con el objeto de extraer la información más relevante de las sucesiones de potenciales de acción resultantes de las simulaciones, se han definido como parámetros la frecuencia de autoestímulo, el APD y la amplitud del potencial de acción. Se han definido dos funciones: *param*, para las simulaciones con parámetros de entrada constantes, y *param2*, para analizar los registros que dependen de parámetros variables en el tiempo. A continuación, se explican algunos de sus fragmentos.

Cabe destacar que para las simulaciones no realizadas con funciones continuas de entrada, la medida de características se debe realizar sobre los últimos potenciales de acción de cada registro (en este caso los pertenecientes a los últimos 50 s), asegurando que el sistema se haya estabilizado y no existan variaciones significativas entre cada uno de los mismos:

```
tiempo_min,tiempo_min_indice]=min(abs(time_sim*1000-50000-time));%Índice para
iniciar el análisis
tiempo=time(tiempo_min_indice:length(time));%Vector tiempo de análisis
variable=potencial(tiempo_min_indice:length(time));%Vector potencial de
análisis
```

Para las simulaciones con variables de entrada continua, se calcularán los parámetros de cada potencial de acción para analizar su evolución en el tiempo, por lo que el código anterior no se utilizará.

- **Frecuencia de autoestímulo**

La medida de la ritmicidad de la fibra de Purkinje se ha llevado a cabo mediante la búsqueda del máximo valor de dos potenciales de acción consecutivos, computando el período existente entre ambos o distancia temporal en ms y calculando la inversa del resultado para obtener la frecuencia de estímulo. A continuación, se describen los algoritmos utilizados para el uso de funciones de entrada continuas y no continuas.

Registros dependientes de parámetros constantes

Con el objeto de encontrar todos los máximos de los últimos potenciales de acción, ya estabilizados en cada registro, se ha utilizado la función *findpeaks*:

```
[picos_max,indices_max]=findpeaks(variable);
```

Puesto que los potenciales de acción en las células de Purkinje presentan dos máximos asociados a la despolarización de la membrana y la meseta, respectivamente; se han filtrado los vectores *picos_max* e *indices_max*, de manera que sólo son considerados aquellos máximos con una distancia menor a 5 mV con respecto al pico de mayor valor en todos los potenciales:

```
v_high=max(picos_max);%Valor máximo de todos los picos
index_v_high=find(picos_max==v_high);%índice del pico máximo

%Sólo se adquieren los máximos cuya distancia al valor máximo sea menor que
5 mV.
picos_maximos=picos_max(picos_max>(v_high+5));
indices_picos_maximos=indices_max(picos_max>(v_high+5));
```

El período se obtiene a través de la distancia temporal entre dos potenciales de acción estabilizados. Se han escogido el penúltimo y el antepenúltimo debido a que el último potencial no siempre se desarrolla de forma completa y ambos son utilizados como referencia para el cálculo del APD. Además, el período en ms se ha dividido por 1000 para que la frecuencia resulte en Hz al computar su inversa:

```
Periodo= (tiempo(indices_maximos(end-1))-tiempo(indices_maximos(end-
2)))/1000;
frecuencia=1/Periodo;
```

Registros dependientes de la evolución temporal de los parámetros de entorno

Para calcular la frecuencia, se ha escogido el máximo de despolarización como localización de referencia de cada potencial de acción con la función *findpeaks*. Posteriormente, se ha realizado un filtrado de las amplitudes máximas con la finalidad de eliminar los máximos relativos pertenecientes a la meseta del potencial de acción, en caso de que existan. Los valores seleccionados deben ser superiores a 6 mV para el caso de registros de fibra de Purkinje, de acuerdo a la visualización de datos experimentales en los que se observa que la amplitud de los picos de despolarización nunca es inferior a este valor para las simulaciones realizadas con las funciones continuas de parámetros. En el caso de los cardiomiocitos deberá ser superior a 20 mV.

```
%Sólo se adquieren los máximos mayores que 6 mV
picos_maximos=picos_max(picos_max>=6);
indices_maximos=indices_max(picos_max>=6);
```

El cómputo del período de tiempo entre cada máximo se ha llevado a cabo restando los tiempos en los que se producen y dividiéndolos por 1000, generando un vector en segundos. La inversa de cada elemento del vector será la frecuencia de cada pico con respecto al pico anterior en Hz:

```
%Cálculo de la frecuencia de disparo
Periodo= (tiempo(indices_maximos(2:end))-tiempo(indices_maximos(1:(end-
1))))/1000;
frecuencia=1./Periodo;
```

- **Amplitud máxima del potencial de acción**

La amplitud máxima del potencial de acción se computa escogiendo el valor de los picos máximos utilizados como referencia en el cálculo de la frecuencia.

Registros dependientes de parámetros de entorno constantes

En estos casos, la amplitud se calcula como la media de los máximos registrados:

```
amplitud=mean(picos_maximos);
```

Registros dependientes de la evolución temporal de los parámetros de entorno

La amplitud consiste en un vector cuyos elementos dependen del tiempo:

```
amplitud=picos_maximos;
```

- **Duración del potencial de acción (APD)**

El APD implica un proceso de cálculo más complejo que el resto de parámetros, debido a la variación de morfología del potencial de acción durante las condiciones isquémicas y la dificultad de elaborar un algoritmo genérico. Por estas dificultades, sólo ha sido posible programar su cálculo para simulaciones con parámetros estables.

En primer lugar, se han invertido los registros de manera que los mínimos se convierten en máximos. La finalidad de esta acción es utilizar la función *findpeaks* para hallar los mínimos relativos:

```
%Buscar mínimo de la variable  
DataInv = 1.01*max(variable) - variable  
[picos_min,indices_min] = findpeaks(DataInv);
```

Obteniendo una variable de referencia como el valor mínimo de potencial, se pueden filtrar el resto de mínimos relativos estableciendo una distancia de 5 mV de manera análoga al proceso de eliminación de máximos relativos no deseados para la frecuencia:

```
v_low=max(picos_min);  
picos_minimos=picos_min(picos_min>v_low-5);  
indices_minimos=indices_min(picos_min>v_low-5);
```

Puesto que el APD sólo se calculará para un potencial de acción del registro debido a la estabilidad del mismo, el siguiente procedimiento es encontrar un mínimo situado entre los dos últimos máximos pertenecientes a la despolarización de la membrana:

```
posicion_minima=indices_minimos(find(indices_minimos>indices_maximos(end-1) &  
indices_minimos<indices_maximos(end)));
```

El mínimo anterior al pico máximo se calculará de la misma forma. Permitirá encontrar el punto de corte del potencial de acción con el eje de abscisas como el valor mínimo entre ese mínimo relativo y el máximo posterior:

```
%Encontramos la posición del mínimo antes del pico  
posicion_minima_2=indices_minimos(find(indices_minimos>indices_maximos(end-2)  
& indices_minimos<indices_maximos(end-1)));
```

```
%Encontramos la posición del mínimo en el vector  
[value_cero,posicion_cero]=min(abs(variable(posicion_minima_2:indices_maximos  
(end-1))));
```

```
%Cómo la posición resultante se refiere a una ventana de tiempo, ampliamos
dicho segmento para poderlo comparar posteriormente
tiempo1=tiempo(posicion_minima_2:posicion_minima);
```

A partir de la variable *posición_minima*, se calcula la diferencia entre el valor del máximo despolarizante y el mínimo posterior. Al 90% de la distancia del pico máximo se encontrará el punto de referencia posterior para el cálculo del APD:

```
%Calcular el descenso del 90% del pico (amplitud)
diferencia=variable(indices_maximos(end-1))-variable(posicion_minima);
apd_90=variable(indices_maximos(end-1))-0.9*diferencia;
```

Para obtener el valor discreto más cercano, se resta al punto de referencia posterior un rango de potenciales desde el máximo despolarizante hasta el mínimo:

```
%Buscamos la posición de apd90
tiempo2=tiempo(indices_maximos(end-1):posicion_minima);
variable1=variable(indices_maximos(end-1):posicion_minima);
[apd90,apd90_indice]=min(abs(apd_90-variable1));
```

Los dos valores de referencia son restados para conseguir la duración del potencial de acción:

```
%Calculamos el APD
APD=tiempo2(apd90_indice)-tiempo1(posicion_cero);
```

4.3. Descripción de la interfaz gráfica de usuario

El diseño de la interfaz gráfica de usuario (GUI por sus siglas en inglés), se ha llevado a cabo con la herramienta GUIDE de MATLAB® con la finalidad de responder a las necesidades básicas de las simulaciones que componen el estudio acerca de la fibra de Purkinje.

4.3.1. Funcionalidades

Sus funcionalidades son las siguientes:

1. Introducción de parámetros ambientales de forma aislada o como función continua, es decir, las concentraciones de K^+ extracelular; ADP, ATP y Mg^{2+} intracelulares, y los factores multiplicativos relacionados con la acidosis.
2. Inserción de parámetros temporales y de estudio como el tiempo de simulación o, en caso de estimulación sinusal, el número, amplitud, duración y frecuencia de los estímulos.
3. Variación de parámetros establecidos en el presente trabajo, como la densidad de canales K_{ATP} , el factor de amplificación de la unión Purkinje- músculo o la conductancia de la misma unión.
4. Selección del modelo de fibra de Purkinje o el modelo acoplado fibra de Purkinje- cardiomiocito.
5. Ejecución de simulaciones, con posibilidad de realizar bucles en los que sólo uno de los parámetros ambientales varíe.
6. Comprobación de los resultados obtenidos, incluyendo el registro de potencial de membrana, la frecuencia de disparo, el APD y la amplitud máxima del potencial de acción.
7. Almacenamiento de los resultados en una estructura.
8. Visualización de resultados y posibilidad de superponer diversas simulaciones en un mismo gráfico.

Con el objeto de separar la ejecución de las simulaciones, de la comparación entre las obtenidas para diferentes condiciones, la GUI se compone de tres pantallas.

4.3.2. Pantalla de inicio

Para abrir la GUI será necesaria la apertura de MATLAB, el posicionamiento en la carpeta donde se almacena la interfaz y la escritura de su nombre en el panel de comandos del programa.

Tras realizar estas acciones, aparecerá una sencilla interfaz de inicio, representada en la Figura 23, que permitirá ingresar en el resto de pantallas de acuerdo a la actividad deseada:

1. Ejecución de simulaciones.
2. Representación y estudio de las simulaciones.

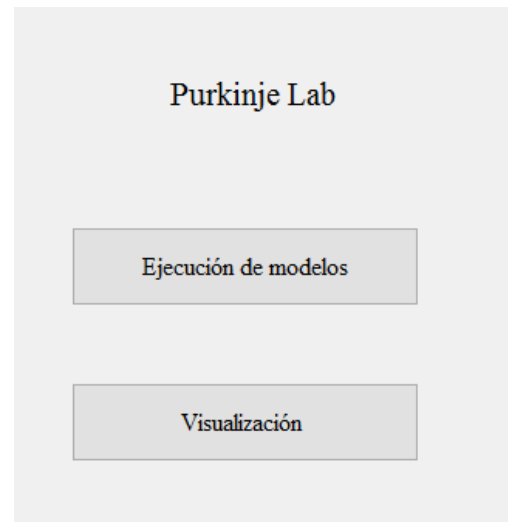


Figura 23. Pantalla principal de la GUI.

4.3.3. Pantalla de ejecución de simulaciones

La pantalla de ejecución de simulaciones cumple las funcionalidades 1-7 y, principalmente, se compone de un conjunto de casillas y listas desplegables de entrada de parámetros, como se puede observar en Figura 27:

1. En cuanto a parámetros ambientales, aparecen:
 - a) Tipo de función. Una de las posibilidades que contiene la lista desplegable es *continua*, cuya selección provoca la ejecución de las funciones *main* con prefijo *con*, como *purkinje_con_main*. La otra opción es *discreta* y su uso implicará el desarrollo de simulaciones con las funciones sin prefijo *con*, como *purkinje_main* o *endopurk_main*. Además, la selección de *discreta* hará necesaria la determinación de los parámetros b, c, d, e, f y g.
 - b) Concentración de K^+ extracelular. Su lista desplegable ofrece dos opciones: el valor por defecto para potasemia normal (5.4 mM), el valor en isquemia u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.
 - c) Factor multiplicativo de I_{Na} relacionado con el pH. Su lista desplegable muestra dos opciones: el valor por defecto para pH fisiológico (factor 1), el valor para acidosis u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.

- d) Factor multiplicativo de I_{CaL} relacionado con el pH. Su lista desplegable muestra dos opciones: el valor por defecto para pH fisiológico (factor 1), el valor para acidosis u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.
- e) Concentración de Mg^{2+} intracelular. Su lista desplegable ofrece tres opciones: el valor por defecto para normoxia (0.5 mM), el valor para hipoxia u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.
- f) Concentración de ADP intracelular. Su lista desplegable ofrece tres opciones: el valor por defecto para normoxia (0.015 mM), el valor para hipoxia u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.
- g) Concentración de ATP intracelular. Su lista desplegable ofrece tres opciones: el valor por defecto para normoxia (6.8 mM), el valor para hipoxia u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.

2. En lo relativo a parámetros temporales y de estudio se encuentran:

- a) Tiempo de simulación. Se inserta como variable *string* y en segundos para delimitar temporalmente la ejecución de los modelos.
- b) Estimulación. Su lista desplegable posee los valores *No*, que implica el uso de los modelos que no poseen el prefijo *sin*; o *Sí*, para el que se deberán introducir los parámetros c, d, e y f como entrada de las funciones *main* con prefijo *sin* como *purkinje_sin_main*. La elección de *Sí* permitirá llevar a cabo simulaciones con estímulos de ritmo sinusal.
- c) Número de estímulos. Se inserta como variable *string* y en mV para delimitar la ejecución de los modelos en término de estímulos. Por cada estímulo, se ejecutará la función *ode15sk*.
- d) Amplitud de estímulos. Se inserta como variable *string*, en mV y con valor negativo, ya que es una corriente entrante en la fibra de Purkinje.
- e) Duración de estímulo. Se inserta como variable *string* y en ms para delimitar temporalmente los estímulos.
- f) Frecuencia de estímulo. Se inserta como variable *string* y en Hz establecer la distancia temporal entre estímulos.

3. Como otros parámetros, se pueden introducir

- a) Densidad de canales iónicos K_{ATP} . Su lista desplegable muestra dos opciones: el valor por defecto de 0.26 canales/ μm^2 u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.

- b) Factor de amplificación de la unión Purkinje- músculo. Su lista desplegable ofrece dos posibilidades: el valor por defecto de 200 u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.
- c) Conductancia de la unión Purkinje- músculo. Su lista desplegable muestra dos opciones: el valor por de 0.00015 nS u otro valor. Al seleccionar *otro valor* y pulsar los botones 4 ó 5, aparecerá una ventana que requerirá la inserción del valor o valores deseados.

La inserción de múltiples valores de un parámetro de entrada de 1 ó 2 originará un bucle de simulaciones en el que dicho parámetro evolucionará, mientras que el resto permanecerá constante. No será posible, por lo tanto, introducir diferentes parámetros con valores múltiples para una serie de simulaciones.

Además, se podrán simular diferentes modelos computacionales, calcular sus características de salida, comprobar resultados y guardar variables:

- 4. Modelo de fibra de Purkinje. Botón que ejecuta en función de los parámetros de entrada las diferentes funciones relacionadas con la fibra de Purkinje: *purkinje_main*, *purkinje_con_main*, *purkinje_sin_main* y *purkinje_con_sin_main*
- 5. Modelo acoplado de fibra de Purkinje con cardiomiocito. Botón que ejecuta en función de los parámetros de entrada las diferentes funciones relacionadas con la fibra de Purkinje: *endopurk_main*, *endopurk_con_main*, *endopurk_sin_main* y *endopurk_con_sin_main*.

Ambos modelos devuelven una estructura de datos compuesta por el registro de potencial de membrana, los tiempos de simulación, las condiciones ambientales, las características de análisis, el identificador de la simulación y la posición del parámetro ambiental variante en el caso de bucles de simulaciones. En el caso de realizarse una serie de simulaciones, devolverá una estructura con múltiples componentes (una por simulación).

- 6. Comprobación de resultados. Botón que abre una nueva ventana con número variable de gráficos según el tipo de función ejecutada:
 - Para modelos con estímulo sinusal, con parámetros ambientales estáticos o gobernados por funciones continuas, presenta gráficos de potencial.
 - Para modelos continuos no sinusal, permite visualizar tres gráficos: de potencial, frecuencia y amplitud máxima.
 - Para modelos con parámetros ambientales estáticos, se podrán visualizar cuatro gráficos, de potencial, frecuencia, APD y amplitud máxima, como se puede observar en la Figura 24.

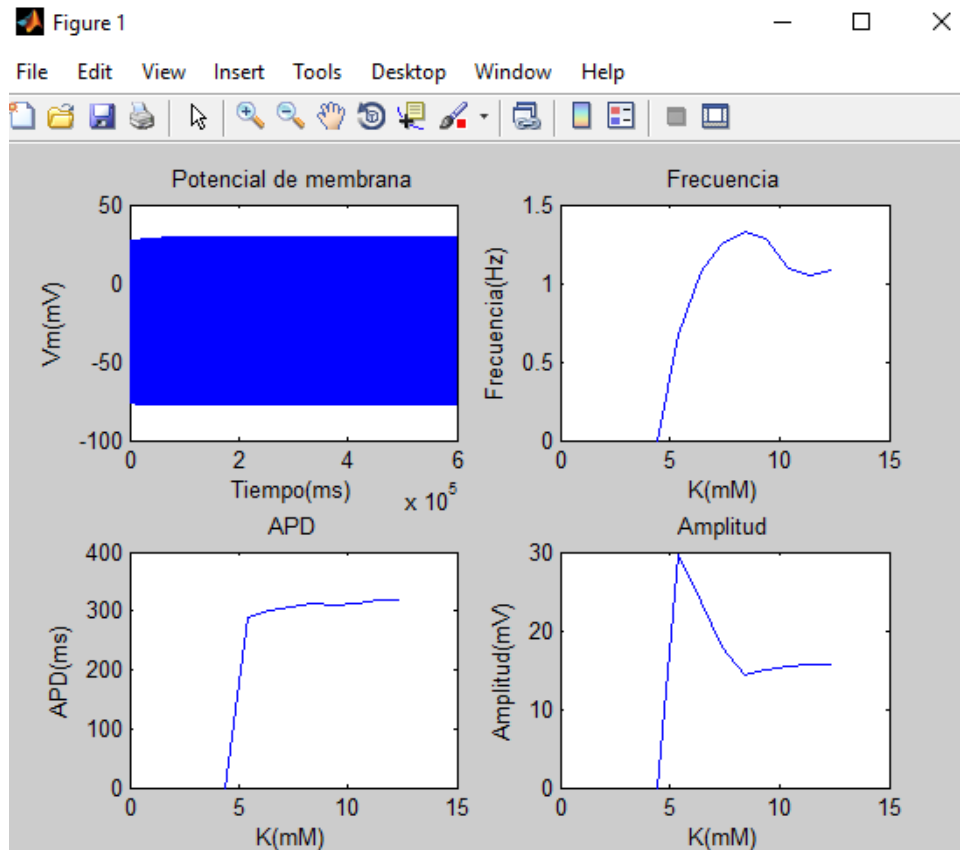


Figura 24. Ventana de comprobación para modelo con parámetros ambientales estáticos. Fuente: elaboración propia.

Antes de abrir la ventana, la GUI pedirá el número de simulación (Figura 25), puesto que es posible realizar una serie de ejecuciones, para representar el registro de potencial de membrana deseado.

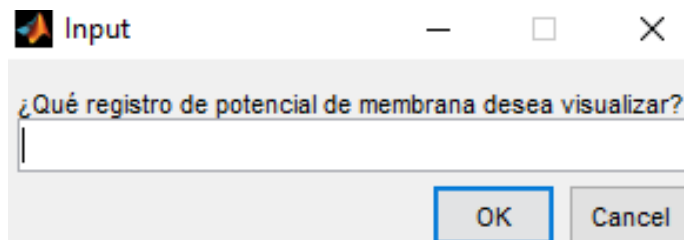


Figura 25. Ventana emergente de petición del número de simulación que se desea visualizar. Fuente: elaboración propia.

7. Almacenamiento de variables. Se trata de un botón que abre una ventana para guardar con un nombre y en una carpeta concreta la estructura de datos, como se puede apreciar en .

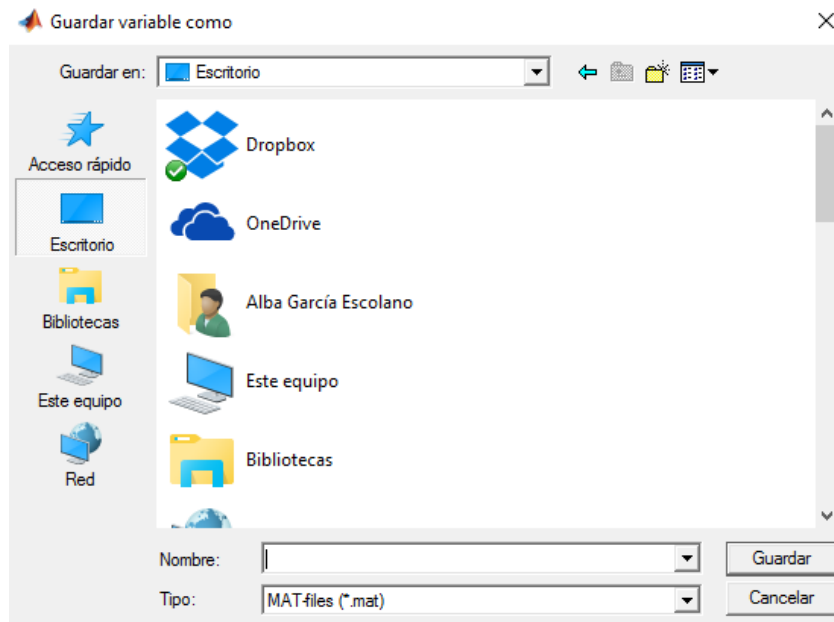


Figura 26. Ventana emergente para almacenar los resultados. Fuente: elaboración propia.

Variables de entrada

Parámetros ambientales

Tipo de función: Continua

<p>Potasemia y acidosis</p> <p>Concentración K⁺: Normoxia-5.4</p> <p>Factor multiplicativo I_{Na}: Normoxia-1</p> <p>Factor multiplicativo I_{CaL}: Normoxia-1</p>	<p>Oxigenación</p> <p>Concentración Mg⁺: Normoxia-0.5</p> <p>Concentración ADP: Normoxia-15</p> <p>Concentración ATP: Normoxia-6.8</p>
---	---

Parámetros temporales y de estímulo

Tiempo de simulación:

Estimulación: No

Nº de estímulos:

Amplitud de estímulo:

Duración de estímulo:

Frecuencia de estimulación:

Otros parámetros

Sigma IKATP: Defecto-0.26

APV: Defecto-200

Conductancia PVJ: Defecto-0.000...

Purkinje
Purkinje-endocardio

Comprobar resultados
Guardar variables

Figura 27. Pantalla de ejecución con sus diversos componentes. Fuente: elaboración propia.

4.3.4. Pantalla de visualización

La pantalla de visualización aporta la funcionalidad número 8 a la GUI y, para ello, posee un conjunto de casillas, listas desplegables, botones y cuatro gráficos:

1. Abrir. Se trata de un botón que permite la apertura de estructuras creadas en la GUI para su representación en los gráficos. Se pueden cargar tantos registros como se desee.
2. Casilla de nombre. Mediante un *string*, permite la introducción del nombre de la variable que se desea representar en la gráfica a la que corresponde.
3. Variable. Dispone de una lista desplegable con cuatro opciones: *potencial*, *frecuencia*, *APD* y *amplitud*. Establece el elemento de la estructura que aparecerá en la gráfica correspondiente.
4. Visualizar. Consiste en un botón para visualizar los datos asociados a la estructura y variables deseadas en el gráfico correspondiente.
5. Superponer. Permite visualizar diversos conjuntos de datos en el gráfico correspondiente. Para ello, se deberá introducir un nuevo nombre en 2. No se recomienda representar distintas variables sobre un mismo gráfico, puesto que sería incoherente nombrar sus ejes.
6. Gráficos. Aparecen cuatro gráficos para posibilitar la representación por separado de la amplitud, el APD, la frecuencia y el potencial de membrana, aunque permite múltiples combinaciones de variables. Los datos visualizados en cada gráficos son los insertados en sus propias casillas 2-5.

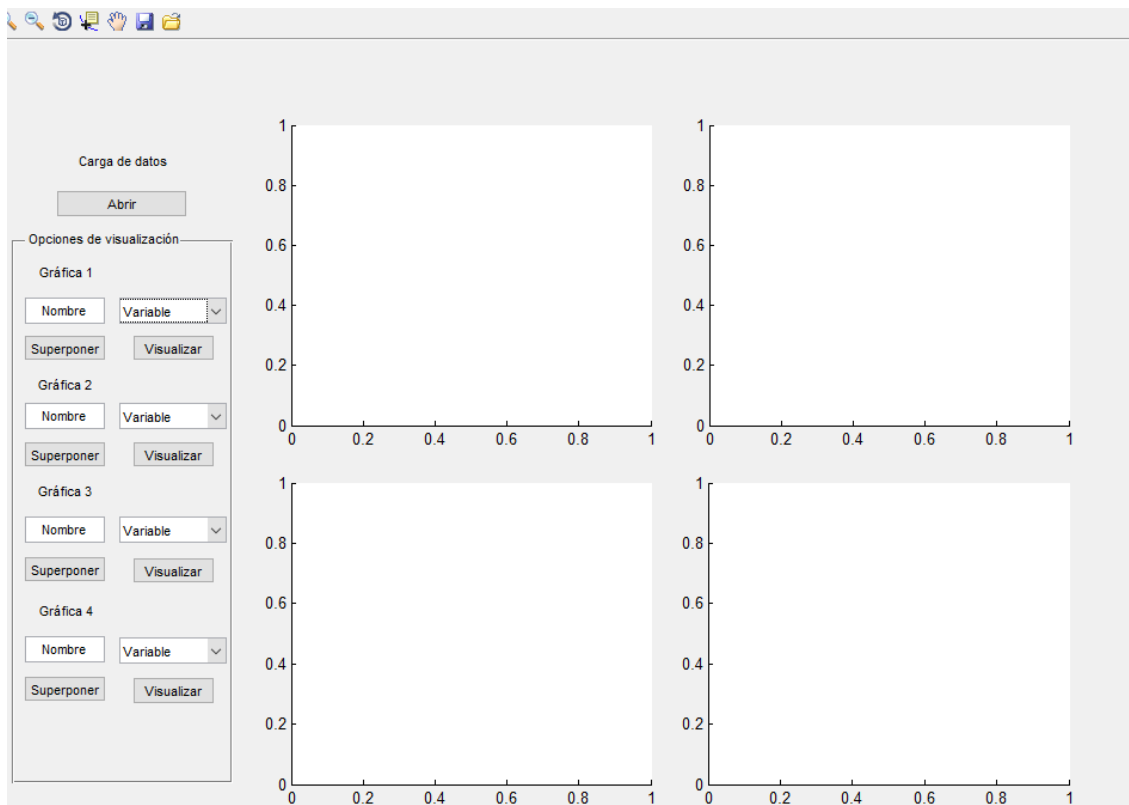


Figura 28. Pantalla de visualización. Fuente: elaboración propia.

5. Resultados

Con el soporte del software desarrollado en el apartado anterior, se realizaron diferentes series de simulaciones para comprobar los efectos por separado y en conjunto de la hiperkalemia, la acidosis y la hipoxia sobre la frecuencia, amplitud máxima y APD de los potenciales de acción del modelo de fibra de Purkinje, el modelo acoplado de fibra de Purkinje y endocardio, y ambos modelos estimulados según el ritmo sinusal.

Además, los resultados de las simulaciones constituyeron los cimientos del estudio de la influencia de las fibras de Purkinje como foco ectópico durante la isquemia, experimentando con dicha célula tanto de forma aislada como acoplada y estimulada.

5.1. Estudio sobre el modelo de fibras de Purkinje

Los resultados arrojados sobre la fibra de Purkinje aislada proceden del modelo de *Stewart et al* modificado sin estimular (función *purkinje*), y estimulado (función *purkinje_sin*) con sus respectivas variantes.

5.1.1. Modelo no estimulado

La fibra de Purkinje aislada es capaz de generar potenciales de acción de forma automática, característica reproducida por el modelo de *Stewart et al*. La forma en que la isquemia afecta al potencial de acción, permitirá realizar comparaciones posteriores con el modelo acoplado.

a) Simulación del efecto por separado de las diferentes variables

La influencia de las concentraciones de K^+ y H^+ extracelular; y ATP, ADP y Mg^{2+} intracelulares se ha estudiado variando los niveles de K^+ entre 4.4 y 15.4 mM en pasos de 1 mM y estableciendo como constantes el resto de parámetros de entrada. Por ello, el efecto del avance de la hiperkalemia está presente en todas las series de simulaciones, mientras que las concentraciones de ATP, ADP y Mg^{2+} son variables con dos valores (normoxia o hipoxia), al igual que las constantes de pH de las corrientes I_{Na} e I_{CaL} (acidosis y pH de control). En cada serie de simulaciones, se realizarán, por lo tanto, una prueba por valor de la concentración de K^+ , es decir, 12 simulaciones. Los valores de las diferentes condiciones aparecen sintetizados en la Tabla 3. Condiciones de las diferentes serie de simulaciones: hiperkalemia, hiperkalemia- acidosis, hiperkalemia- hipoxia e isquemia.

Condiciones	K^+ (mM)	ATP(mM)	ADP(mM)	Mg^{2+} (mM)	Constante de pH de I_{Na}	Constante de pH de I_{CaL}
Hiperkalemia	4.4-15.4	6.8	0.015	0.5	1	1
Hiperkalemia- acidosis	4.4-15.4	6.8	0.015	0.5	0.5	0.5
Hiperkalemia- hipoxia	4.4-15.4	4.6	0.099	2.5	1	1
Isquemia	4.4-15.4	4.6	0.099	2.5	0.5	0.5

Tabla 3. Condiciones de las diferentes serie de simulaciones: hiperkalemia, hiperkalemia- acidosis, hiperkalemia- hipoxia e isquemia.

A continuación, se reflejan gráficos de la evolución de la amplitud máxima, APD y frecuencia de autoestímulo del potencial de acción con la progresión en la concentración de K^+ y el resto de condiciones.

- Frecuencia de autoestímulo

De acuerdo a la Figura 29, la ritmicidad de la fibra de Purkinje evoluciona en función del potasio con un patrón ascendente- descendente y ascendente para hiperkalemia, hiperkalemia- acidosis e hiperkalemia- hipoxia, y un patrón ascendente tras el autoestímulo suprimido en isquemia.

La influencia de la **hiperkalemia** extracelular sobre la fibra de Purkinje radica en un descenso del potencial de reposo en valor absoluto a medida que la concentración de potasio aumenta. Ello causa que la I_f sea capaz de despolarizar la membrana en un intervalo de tiempo menor al de una situación normal (concentración de 5.4 mM), ya que el incremento de potencial necesario para alcanzar el potencial umbral y desencadenar el potencial de acción también lo es.

Sin embargo, la magnitud del estímulo necesario para que el potencial de acción se produzca también puede cambiar con la evolución de la hiperkalemia, por lo que el patrón ascendente- descendente- ascendente podría proceder de un equilibrio variante entre el potencial de reposo y la magnitud del estímulo despolarizante necesario para producir la apertura de las compuertas de activación de I_{Na} .

En cuanto al efecto de la adición de la **acidosis**, se observa que no se alcanzan frecuencias de autoestímulo tan elevadas como con la hiperkalemia y que el mínimo relativo de la curva es alcanzado para concentraciones menores de K^+ extracelular. Por un lado, la disminución de la frecuencia máxima se debe a la reducción de la densidad de corriente I_{Na} en un 50%, hecho que provoca que sea necesario un estímulo de mayor duración para que la célula despolarice su membrana y reúna un número mínimo de canales I_{Na} abiertos. Por otro lado, como el mínimo relativo precoz y de mayor valor, puede deberse a que el estímulo despolarizante necesario aumenta con mayor magnitud al evolucionar el potasio extracelular, debido a la menor disponibilidad de canales de Na^+ rápidos.

La **hiperkalemia con hipoxia** también reduce las frecuencias de autoestímulo en comparación con la hiperkalemia. Este efecto puede deberse a la acción de los canales K_{ATP} que contrarrestan las densidades de corriente entrantes de I_{Na} , por lo que para desencadenar el potencial de acción se necesita una mayor acumulación de corriente despolarizante en el tiempo. Además, el mínimo potencial de membrana se consigue tras un período de tiempo mayor posterior al potencial de acción; ello significa que corrientes repolarizantes se mantienen durante mayor tiempo, contrarrestando las corrientes de autoestímulo.

Es un hecho destacable que las curvas para las simulaciones con hiperkalemia e hiperkalemia con hipoxia posicionan sus máximos y mínimos relativos en concentraciones de K^+ extracelular similares, mientras que la acidosis varía la morfología de la curva adelantándola, pudiendo instaurar a la fibra de Purkinje como foco ectópico para diferentes concentraciones.

En las **condiciones isquémicas** completas se aprecia una supresión inicial de la automaticidad de la fibra. Las causas podrían encontrarse en la disminución de la corriente I_{Na} por acidosis, la actividad contrarrestante de los canales K_{ATP} para la despolarización debido a la hipoxia, y la necesidad de estímulos de elevada magnitud para desencadenar potenciales de acción. Para una concentración extracelular de K^+ de 10.4 mM, aparece una automaticidad de carácter ascendente, probablemente porque el valor de I_f y el aumento del potencial de reposo propician el alcance del estímulo necesario.

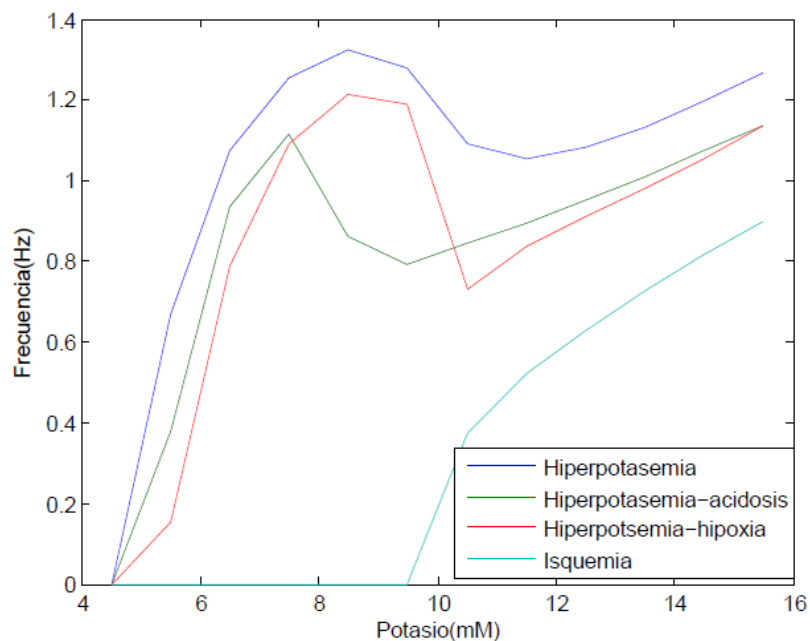


Figura 29. Frecuencia de autoestímulo en la fibra de Purkinje en condiciones de hiperkalemia, hiperkalemia con acidosis, hiperkalemia con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.

Como conclusiones preliminares, según el modelo utilizado, la fibra de Purkinje podría generar extrasístoles en condiciones isquémicas siempre que la frecuencia del nodo sinusal fuese menor que la de fibra de Purkinje. Sin embargo, es necesario comprobar la influencia que ejercen sobre esta célula, los cardiomiocitos a los que estimula.

- Duración del potencial de acción

La variación del APD presenta un patrón de ascenso para todas las condiciones a excepción de la situación de hiperkalemia con acidosis, donde existe un ascenso inicial proseguido de un descenso, como se puede visualizar en la Figura 30.

Las máximas duraciones del potencial de acción se han alcanzado para **hiperkalemia**, donde la progresión creciente no parece ser coherente, ya que el aumento de la concentración extracelular de K^+ es directamente proporcional a la densidad de corriente I_{Ks} ; por lo tanto, se debería esperar una reducción en el APD.

Para la condición **hiperkalemia combinada con acidosis**, los APDs son menores que los valores obtenidos para hiperkalemia. La causa podría estar relacionada con el descenso del 50% de la densidad de corriente I_{CaL} , ya que es la encargada de mantener la meseta del potencial de acción.

En lo relativo a la situación **hiperkalemia con hipoxia**, los APDs también poseen menores valores que los calculados para hiperkalemia. El origen de esta alteración podría encontrarse en la aportación de los canales K_{ATP} a la repolarización, con un aumento del gradiente de K^+ saliente.

En **isquemia**, se alcanzan los menores valores de APD debido al efecto conjunto de las tres condiciones, pero principalmente por la aportación de la hipoxia y la acidosis.

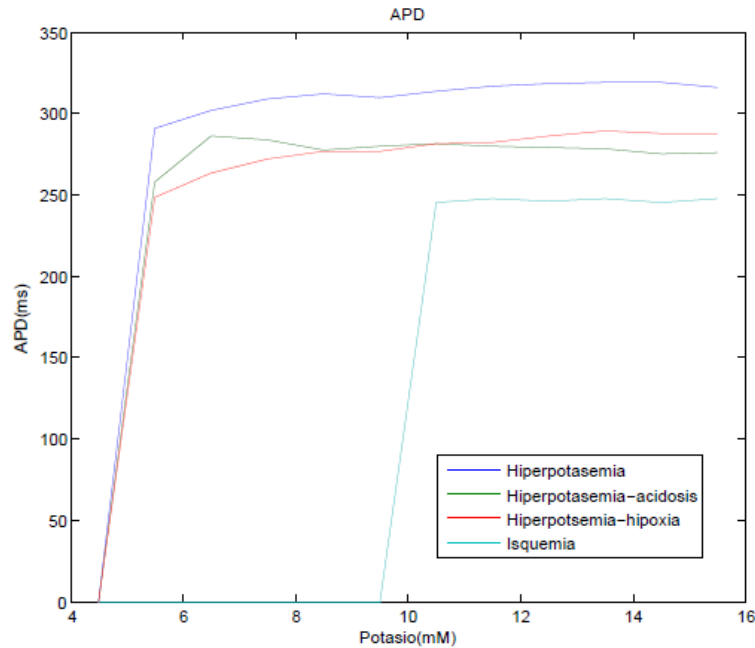


Figura 30. APD en la fibra de Purkinje en condiciones hiperpotasémica, hiperpotasémica con acidosis, hiperpotasémica con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.

En general, la reducción del APD en isquemia supone también un factor arritmogénico al generar heterogeneidad de potencial entre la fibra de Purkinje y el tejido circundante. De ello se deriva la posibilidad de recepción de corrientes que potenciales de acción no gobernados por el ritmo sinusal.

- **Amplitud máxima del potencial de acción**

De acuerdo a la Figura 31, la amplitud máxima del potencial de acción es descrita por una función con morfología descendente- ascendente- descendente, excepto para las condiciones isquémicas donde es descendente.

El efecto de la **hiperkalemia** provoca un descenso general que puede deberse a la disminución del potencial de reposo en valor absoluto, que influye en la apertura de las compuertas de inactivación de los canales de Na^+ responsables de la despolarización.

La influencia de la **hiperkalemia con hipoxia** se observa en una disminución de la amplitud similar a la obtenida para hiperkalemia. Las causas se pueden encontrar, principalmente, en los niveles de K^+ extracelular y, de manera secundaria, en las corrientes salientes provenientes de los canales K_{ATP} que contrarrestan las corrientes despolarizantes.

En cuanto a la **hiperkalemia con acidosis**, el descenso de la amplitud es mayor en comparación con las anteriores condiciones, ya que la reducción de las corrientes I_{Na} provoca una disminución directa de las corrientes despolarizantes entrantes.

En condiciones **isquémicas**, la amplitud máxima del potencial es reducida y de magnitud similar a las resultantes con la conjunción de la hiperkalemia con acidosis, constituyendo ambos los factores determinantes de la variación de la amplitud.

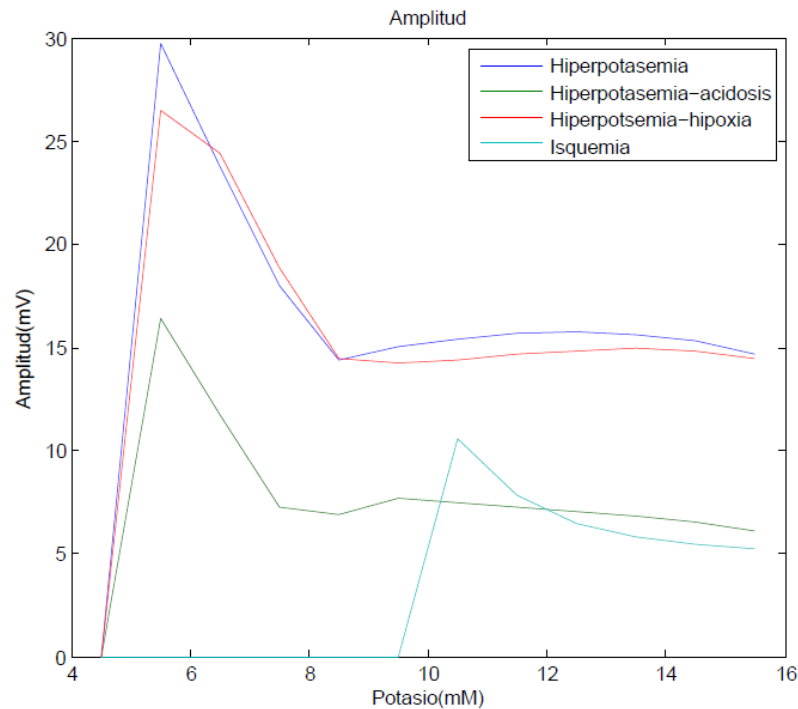


Figura 31. Amplitud máxima del potencial de acción en la fibra de Purkinje en condiciones hiperpotasémica, hiperpotasémica con acidosis, hiperpotasémica con hipoxia e isquemia. Fuente: elaboración propia.

El descenso de la amplitud podría suponer una pérdida en la fuerza contráctil de la fibra, así como en la capacidad de transmitir potenciales de acción a los cardiomiocitos circundantes, ya que de la despolarización de la membrana depende el proceso en cascada de apertura y cierre de compuertas del resto de canales iónicos.

b) Simulación continua en el tiempo

La oclusión de una arteria coronaria implica alteraciones simultáneas y en cascada de diferentes sustancias químicas y parámetros electrofisiológicos en el tejido. Para reproducir de una forma más fidedigna los efectos de estos cambios, se ha llevado a cabo una simulación continua donde los diferentes parámetros evolucionan de acuerdo a las funciones lineales descritas en el *Desarrollo de software*.

En cada simulación, los potenciales de acción de los primeros 1000 s se desarrollarán según valores no isquémicos de los parámetros de entrada. Posteriormente, entre los 1000 s y los 1600 s, los parámetros adquirirán progresivamente valores isquémicos.

En el registro completo del potencial de membrana (Figura 32), se observa un descenso de la amplitud máxima del potencial de acción, así como un aumento del potencial de reposo. Además, durante 50 s, aparece una supresión de la automaticidad que puede ser causada por una insuficiente corriente I_{Na} despolarizante que no es apoyada por las corrientes I_{CaL} , cuya intensidad también disminuye debido a la acidosis. Este intervalo de tiempo constituiría una situación límite en la que las corrientes I_{CaL} adquirirían intensidades inestables que determinarían el desencadenamiento del potencial de acción.

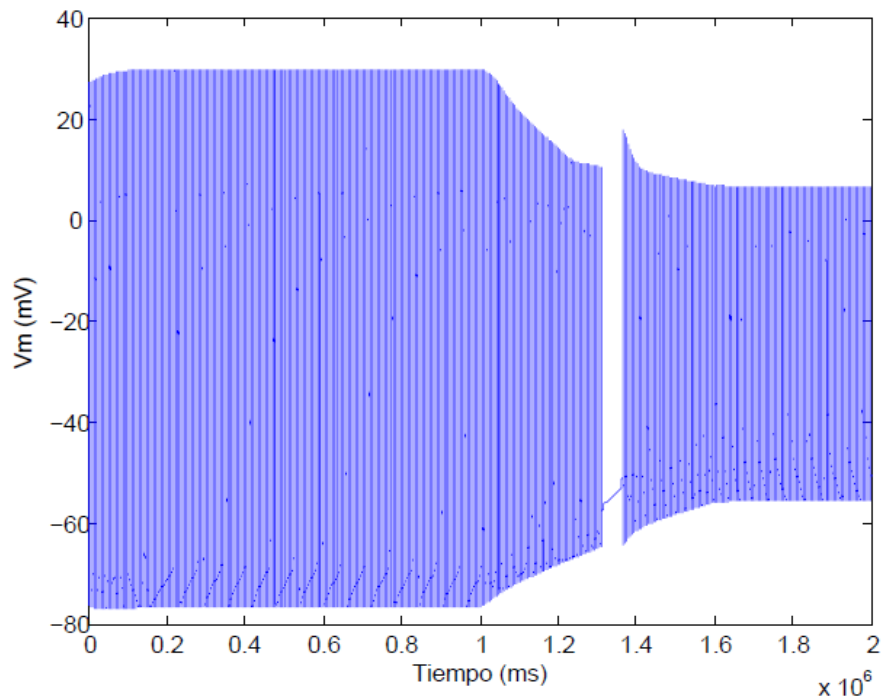


Figura 32. Registro del potencial de acción de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.⁷

- Frecuencia de estímulo

Tras la estabilización en condiciones no isquémicas en una frecuencia de 0.6674 Hz, la frecuencia de autoestímulo comienza a ascender hasta alcanzar los 1.19 Hz. El descenso posterior se debe a la interrupción de los potenciales de acción, cuya frecuencia se reinstaura con un valor inferior al dictado por las condiciones no isquémicas (Figura 33).

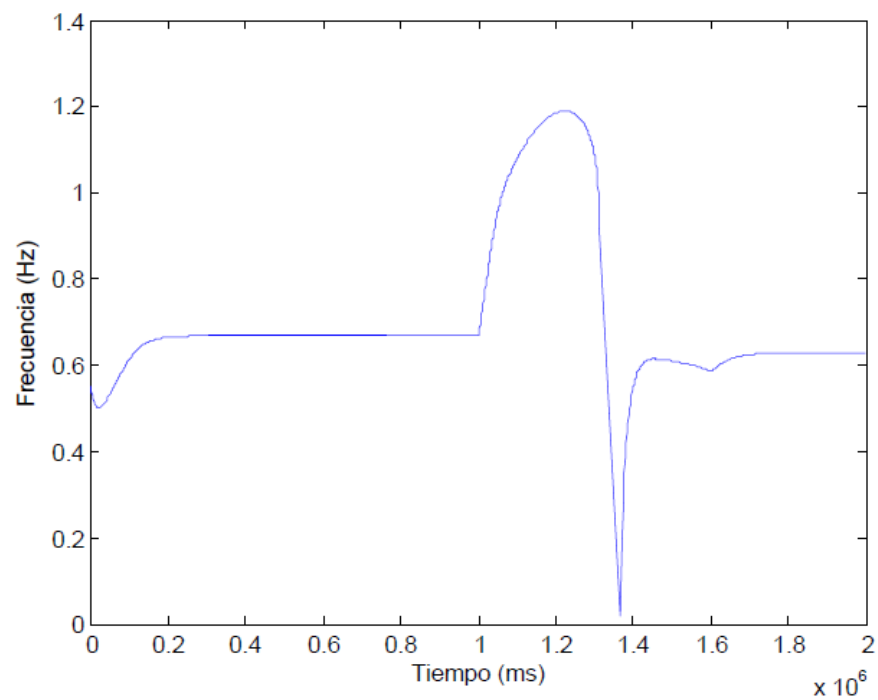


Figura 33. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.

La máxima frecuencia de autoestímulo sucede para una concentración de K^+ de 8 mM, valor similar al encontrado en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** para todas las condiciones excepto la de isquemia completa. Las causas podrían encontrarse en los mismos factores que los analizados para dicha ilustración.

Una diferencia destacable entre las Ilustraciones 1 y 5 es la presencia de automaticidad para niveles de ion potasio menores que 9.4 mM. El origen de este efecto es que tanto los valores de hipoxia como los de acidosis son estáticos en la simulación de la primera ilustración, evolucionando únicamente la magnitud de la concentración de potasio. En síntesis, en la Ilustración 1 se analiza la influencia de la hiperkalemia con hipoxia y acidosis estables, mientras que en la Ilustración 5 se estudia una situación de isquemia progresiva más fiel a la realidad.

- **Amplitud del potencial de acción**

Como se observa en la Figura 34, la amplitud máxima del potencial de acción desciende hasta un mínimo relativo correspondiente a la interrupción de la automaticidad y, posteriormente, aumenta para continuar disminuyendo.

La reducción de la amplitud tiene orígenes similares a los propuestos para los parámetros de entrada no continuos: la reducción de la corriente I_{Na} por acidosis, el aumento del potencial de reposo por hiperkalemia y la influencia de los canales K_{ATP} , abiertos en hipoxia.

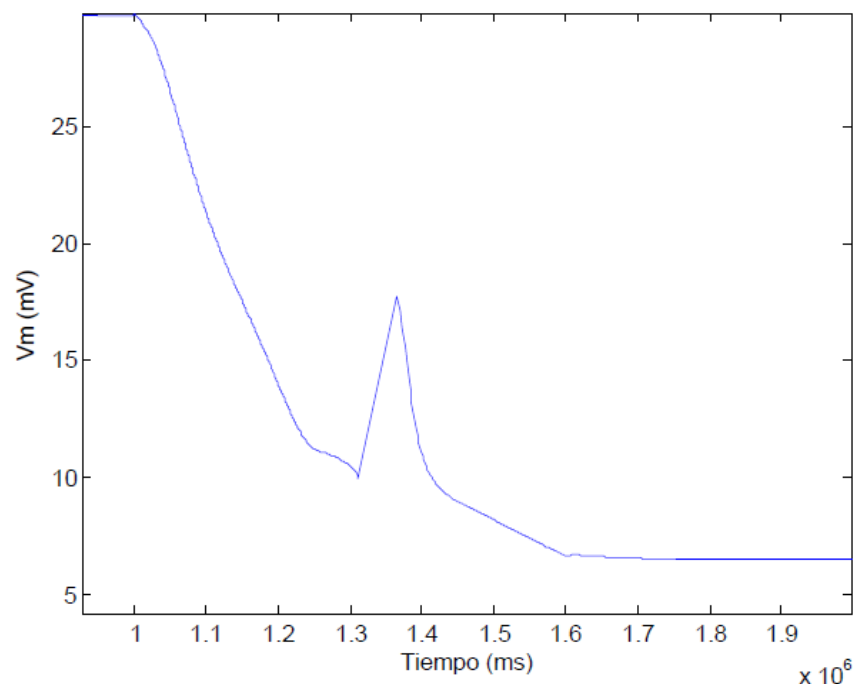


Figura 34. Amplitud máxima del potencial de acción de la fibra de Purkinje para condiciones isquémicas gobernadas por funciones continuas. Fuente: elaboración propia.

5.1.2. Modelo estimulado por corrientes de las ramas del haz

En condiciones normales, las fibras de Purkinje son estimuladas por corrientes entrantes controladas por el ritmo sinusal. Sin embargo, en condiciones isquémicas, a pesar de ser marcapasos terciarios, podrían generar extrasístoles. En estas series de simulaciones no se analizarán, por lo tanto, la

evolución de la frecuencia de autoestímulo, el APD o la amplitud máxima del potencial, sino que se buscarán aquellas situaciones para las que las fibras de Purkinje generen latidos prematuros.

Las condiciones de simulación incluyen un estímulo negativo de -25 mV que entra en la célula de Purkinje como corriente de K^+ con una frecuencia de 1 Hz y una duración de 1 ms.

a) Simulación del efecto por separado de las variables isquémicas

La serie de simulaciones se ha realizado con las funciones *purkinje_sin_main* y *purkinje_sin* con los parámetros relacionados con la hiperkalemia, la acidosis y la hipoxia, establecidos tanto de manera aislada según la Tabla 3.

Visualizando los gráficos de potenciales de acción para las situaciones de hiperkalemia, hiperkalemia con acidosis, hiperkalemia con hipoxia e isquemia se concluyen los resultados resumidos en la Tabla 4.

Condición	Concentración de K^+ extracelular											
	4.4	5.4	6.4	7.4	8.4	9.4	10.4	11.4	12.4	13.4	14.4	15.4
1	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Rojo
2	Verde	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Rojo	Verde	Verde	Verde	Verde	Rojo	Rojo
3	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
4	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde

Tabla 4. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde se ha visualizado latidos prematuros; en verde se aprecian los registro donde la fibra de Purkinje se ha estimulado de acuerdo al ritmo sinusal.

Según la Figura 29, la fibra de Purkinje supera la frecuencia de 1 Hz en todas las condiciones a excepción de la isquémica. En este apartado, para las situaciones de hiperkalemia e hiperkalemia con hipoxia se han obtenido resultados coherentes, puesto que para las concentraciones de K^+ extracelular en las que la frecuencia de autoestímulo era superior a 1 Hz, han aparecido latidos prematuros a pesar del estímulo externo. La causa se encuentra en que la corriente I_f es capaz de alcanzar el umbral de estímulo antes de recibir el impulso eléctrico externo.

En la Figura 35, se pueden observar los potenciales de acción prematuros, que aparecen previamente a aquellos estimulados cada segundo. La relación entre el número de extrasístoles por cada latido natural es variante en función de la hiperkalemia y está estrechamente relacionada con la frecuencia de autoestímulo, puesto que su aumento provoca un ascenso del registro de potenciales de acción prematuros.

En cuanto a la combinación de hiperkalemia con acidosis, no han aparecido potenciales de acción prematuros, incluso cuando la frecuencia de autoestímulo superaba 1 Hz. No se ha encontrado causa aparente de esta incongruencia.

La consecuencia directa de la presencia de extrasístoles es la falta de coordinación en la contracción del miocardio, puesto que mientras el resto del corazón late de acuerdo al nódulo sinusal, los cardiomiocitos a los que la fibra de Purkinje traspasa corriente podrían contraerse a otra frecuencia dando lugar a arritmias e ineficiencia en el bombeo sanguíneo.

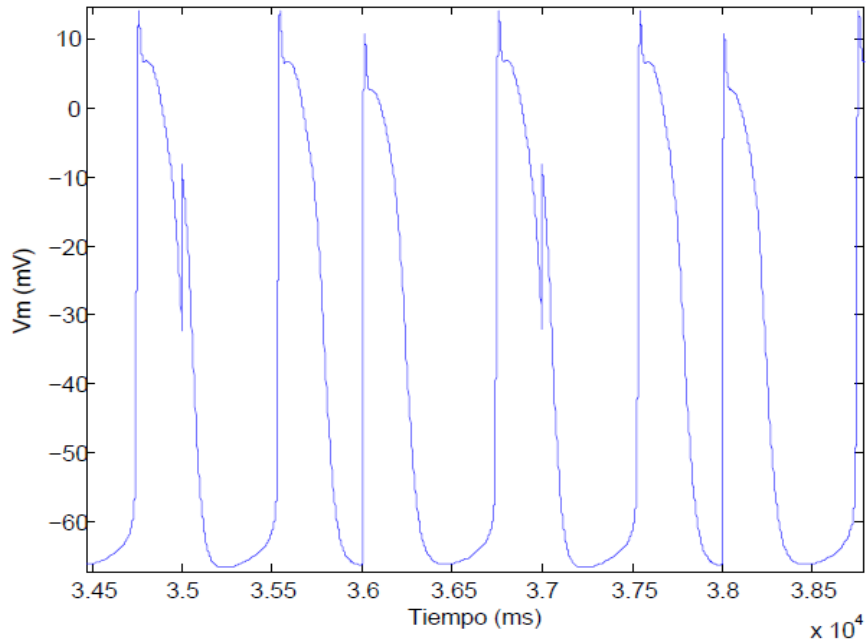


Figura 35. Potenciales de acción de fibra de Purkinje para condiciones de normoxia y pH fisiológico con una concentración de K^+ extracelular de 8.4 Mm. Fuente: elaboración propia.

b) Simulación continua en el tiempo

La serie de simulaciones con parámetros de entrada dictados por funciones continuas es similar a la realizada con la fibra de Purkinje sin estimular, con la diferencia del uso de las funciones *purkinje_con_sin* y *purkinje_con_sin_main*. El tiempo simulado es de 1700 s, donde el período transcurrido entre 1000 y 1600 s corresponde a una evolución de la isquemia.

A lo largo del registro se ha visualizado una evolución de patrones apreciable en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

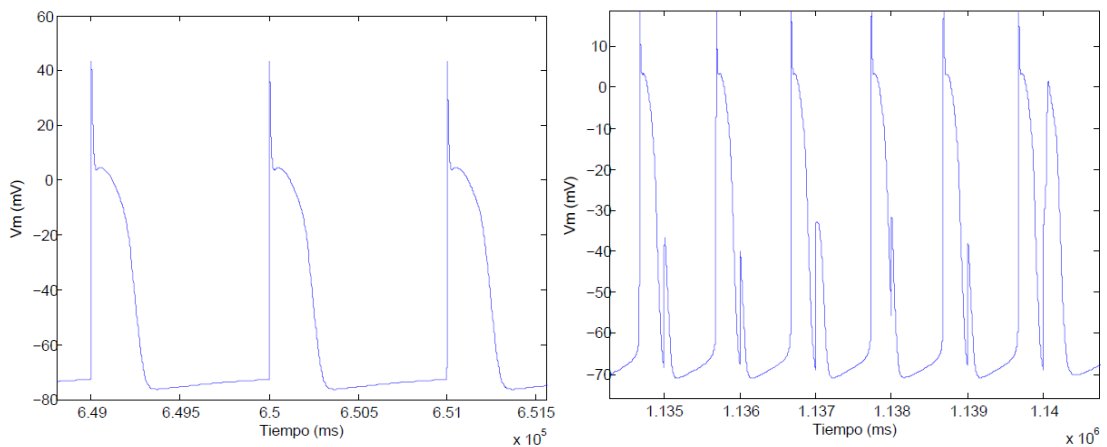


Figura 36. Patrones de potencial de acción a lo largo del registro con variación continua. A la izquierda, potenciales de acción para condiciones fisiológicas; a la derecha, potenciales de acción para situación isquémica progresiva. Fuente: elaboración propia.

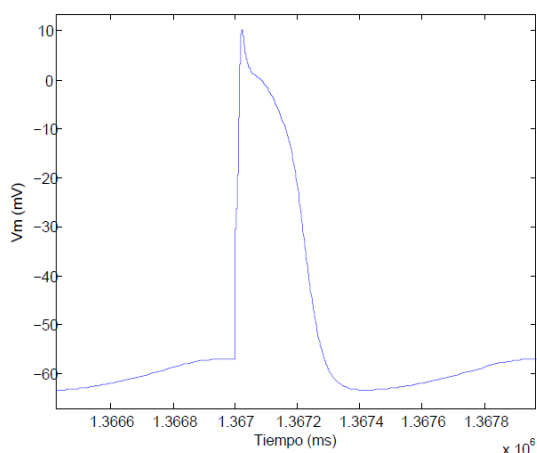


Figura 37. Potencial de acción de fibra de Purkinje en el segundo 1367 para una variación continua de los parámetros isquémicos. Fuente: elaboración propia.

En primer lugar, al inicio del registro aparece el potencial de acción natural de la fibra de Purkinje (Figura 36). Cuando la isquemia se inicia, el potencial de reposo comienza a ascender y la amplitud máxima a disminuir. La frecuencia de autoestímulo aumenta, ya que previamente a la transmisión del impulso externo, se producen potenciales de acción (Figura 36). Este efecto comienza a apreciarse a partir del segundo 1117 y aumenta su intensidad con el avance de la isquemia, puesto que se visualiza una mayor cantidad de extrasístoles. Aproximadamente en el segundo 1260, la frecuencia de autoestímulo inicia su descenso hasta adquirir un valor menor que 1 Hz. La morfología del potencial de acción varía con respecto al inicial, puesto que el mínimo relativo repolarizante posterior a la despolarización, desaparece (Figura 37).

El valor de los parámetros isquémicos para cada fase comentada del registro se refleja en la Tabla 5. Se observa que las fluctuaciones en la frecuencia de autoestímulo y en la presencia de potenciales de acción prematuros siguen los patrones establecidos por la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, puesto que la máxima frecuencia se alcanza en aproximadamente 8.4 mM de concentración de K^+ .

Intervalo temporal (s)	K^+ (mM)	ATP(mM)	ADP(mM)	Mg^{2+} (mM)	Factores de pH de INa e ICaL
0-1117	5.40-6.77	6.80-6.37	0.015-0.031	0.50-0.89	1.00-0.90
1117-1260	6.77-8.43	6.37-5.85	0.031-0.051	0.89-1.37	0.90-0.78
1260-1315	8.43-9.08	5.85-5.65	0.051-0.059	1.37-1.55	0.78-0.74
1315-1600	9.08-12.40	5.65-4.60	0.059-0.099	1.55-2.50	0.74-0.5

Tabla 5. Intervalos de concentraciones de K^+ , ADP, ATP y Mg^+ , junto con los correspondientes a los factores de pH de INa e ICaL, para diferentes intervalos temporales del registro. Fuente: elaboración propia.

5.2. Modelo acoplado Purkinje-cardiomiocito

Los resultados arrojados sobre la fibra de Purkinje acoplada proceden del modelo de *Stewart et al* modificado sin estimular y asociado al modelo de endocardio de *ten Tusscher* modificado (función *endopurk*); y de los mismos modelos acoplados y estimulados (función *endopurk_sin*) con sus respectivas variantes.

En este apartado, el retardo entre los potenciales de acción de ambos tipos celulares será de 20 ms, mientras que, posteriormente, se estudiará el efecto de variar dicho intervalo de tiempo.

5.2.1. Modelo no estimulado por corrientes de las ramas del haz

Al igual que para fibra de Purkinje aislada, las simulaciones se han desglosado en estimuladas y no estimuladas para estudiar y comparar el efecto de la isquemia en ambos casos

a) Simulación del efecto por separado de las diferentes variables

La serie de simulaciones con condiciones *hiperkalemia*, *hiperkalemia con hipoxia*, *hiperkalemia con acidosis* e *isquemia* se ha realizado según la Tabla 3 utilizando los modelos *endopurk* y *endopurk_main*.

Los resultados se presentan de manera cualitativa, a continuación, para la fibra de Purkinje y el cardiomiocito contráctil de la pared ventricular (Tabla 6).

Condición	Concentración de K ⁺ extracelular											
	4.4	5.4	6.4	7.4	8.4	9.4	10.4	11.4	12.4	13.4	14.4	15.4
1	Red	Verde	Verde	Verde	Verde	Naranja	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul
2	Red	Naranja	Verde	Red	Red	Red	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul
3	Red	Verde	Naranja	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul
4	Red	Red	Red	Red	Red	Naranja	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul	Azul

Tabla 6. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde ninguna célula desarrolla potenciales de acción; en verde se aprecian los registros donde ambas células se estimulan; en naranja, se observan situaciones con comportamientos intermedios; y en azul, sólo la fibra de Purkinje desarrolla potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.

La situación en la que ninguna célula ha disparado potenciales de acción se debe a que la fibra de Purkinje no los ha desarrollado autónomamente por sufrir hipokalemia, hipoxia o isquemia global. Las causas pueden estar asociadas a la reducción de las corrientes I_{Na} , el aumento del potencial de reposo y la actuación de los canales K_{ATP} , aunque se debe añadir el traspaso de corriente hacia el cardiomiocito a través de la unión virtual Purkinje-músculo. Ello implica que las densidades de corriente reservadas anteriormente a la fibra de Purkinje fluyen hacia zonas de menor potencial (el cardiomiocito).

Además, se visualizan situaciones límite donde se produce una alternancia en el funcionamiento de los mecanismos de transporte, necesitándose un estudio más amplio para conocer sus causas. De esta forma, en hiperkalemia con 9.4 mM, la fibra de Purkinje se autoestimula, a pesar de que el cardiomiocito desarrolla potenciales de acción en un ratio menor debido al descenso de excitabilidad y el aumento del umbral de estímulo necesario. En hipoxia, para niveles de potasio normales, el modelo de fibra de Purkinje tarda un intervalo de tiempo superior al del resto de simulaciones en estabilizarse. En acidosis con hiperkalemia, el cardiomiocito sólo desarrolla potenciales de acción en una etapa inicial, para después observarse únicamente los desencadenados por la fibra de Purkinje. Por último, en isquemia, se observan ráfagas de potenciales de acción de fibra de Purkinje similares a los desencadenados en las fibras nerviosas.

Las condiciones en que ambos modelos desencadenan potenciales de acción son escasas y se reducen progresivamente al añadir efectos isquémicos o aumentar su magnitud. La fibra de Purkinje pierde excitabilidad debido al traspaso de corriente hacia el cardiomiocito, como se ha mencionado con anterioridad, influyendo también la isquemia.

A partir de una concentración de K^+ extracelular de 10.4 mM, para ninguna condición el cardiomiocito recibe suficiente estímulo debido a su pérdida de excitabilidad por las condiciones isquémicas; por lo tanto, sólo se observan potenciales de acción para esta célula de conducción.

Debido a que, por lo general, el cardiomiocito no ha desarrollado potenciales de acción, se ha estudiado principalmente el efecto del acoplamiento sobre la frecuencia de autoestímulo, APD y amplitud máxima del potencial de acción, aunque no se ha observado ningún cambio aparente, si se comparan las siguientes ilustraciones con las del primer apartado.

Tanto la frecuencia (Figura 38. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.), como el APD (Figura 39) y la amplitud máxima (Figura 40) presentan valores idénticos a los del modelo de Purkinje individual, por lo que el acoplamiento y el correspondiente flujo de corriente a través de las uniones comunicantes hacia el cardiomiocito, no ha supuesto ninguna alteración relacionada con estas características.

- Frecuencia de autoestímulo

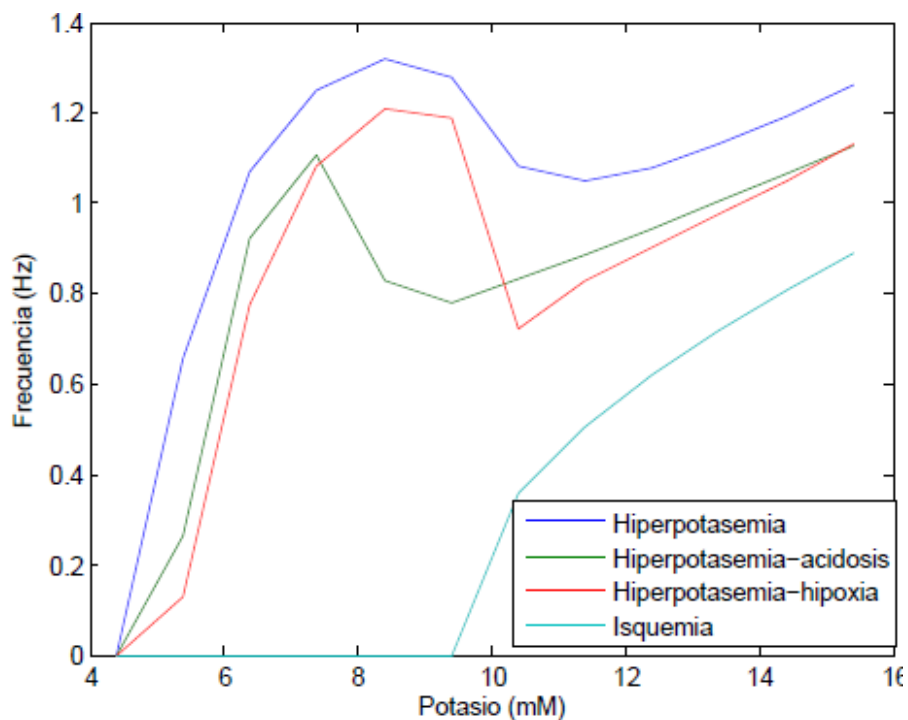


Figura 38. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.

- APD

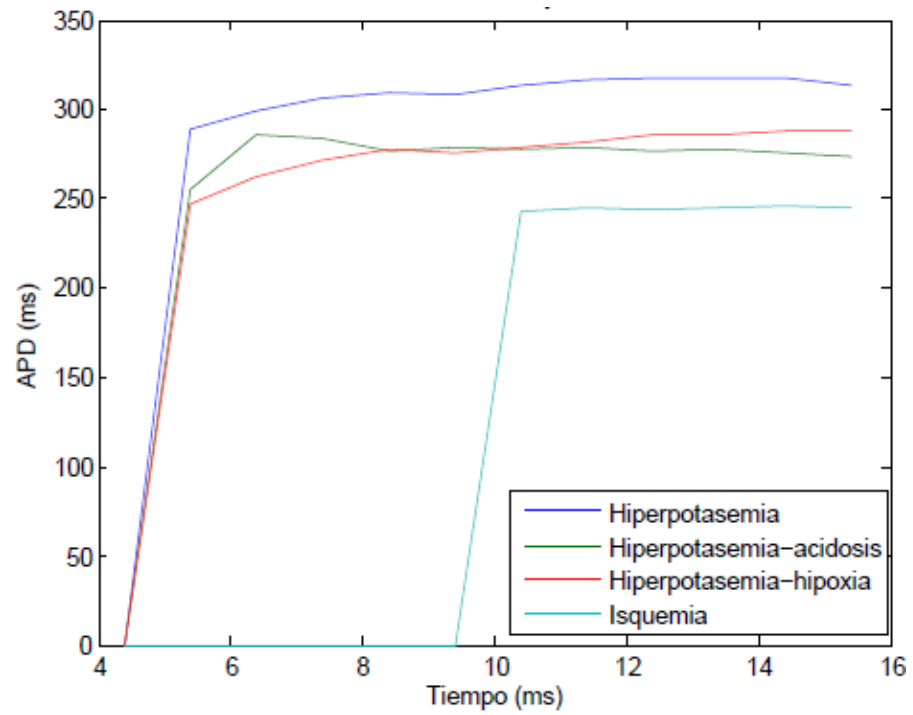


Figura 39. APD para la fibra de Purkinje en el modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.

- Amplitud del potencial de acción

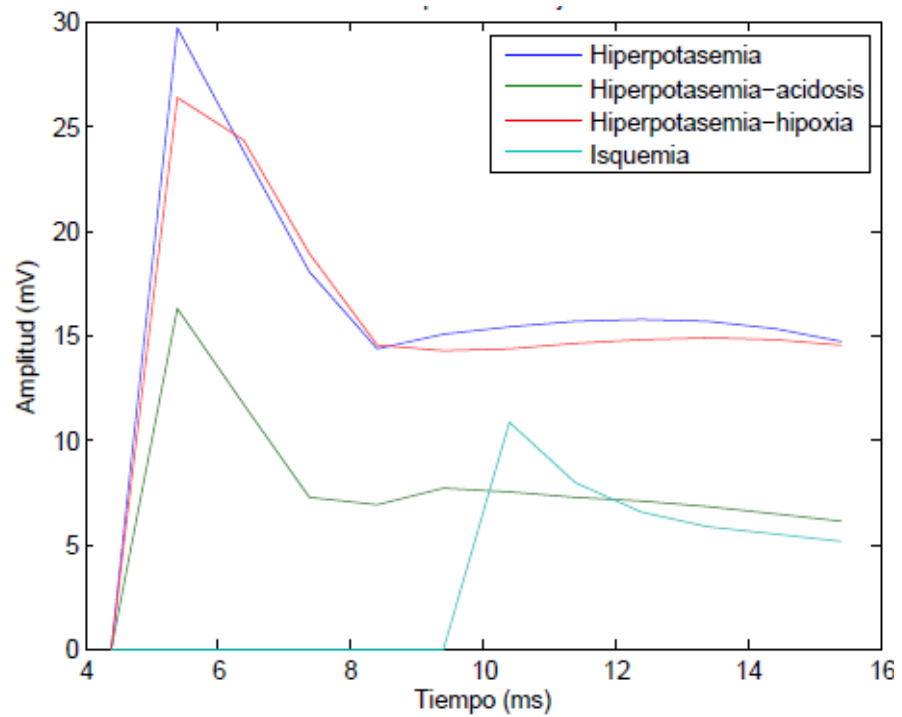


Figura 40. Amplitud máxima del potencial de acción para la fibra de Purkinje del modelo acoplado. Fuente: elaboración propia.

b) Simulación continua en el tiempo

La simulación con las variables ambientales según una función continua permite observar la influencia de los parámetros en conjunto sobre el modelo acoplado. Las funciones utilizadas son *endopurk_con* y *endopurk_con_main*, ejecutadas para 1700 s y con la evolución isquémica entre los segundos 1000 y 1600. El registro completo se observa en la Figura 41.

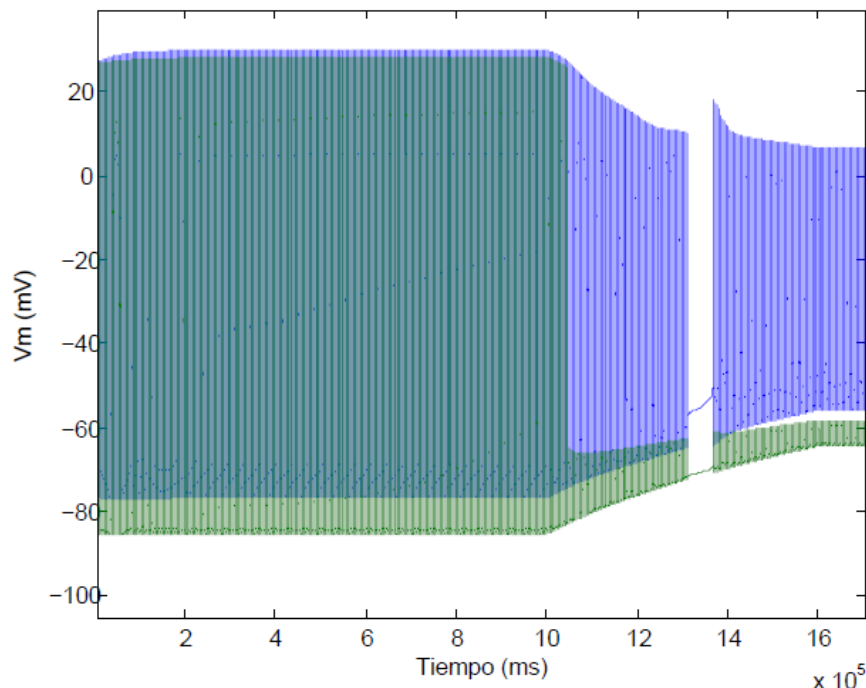


Figura 41. Potenciales de acción de la fibra de Purkinje (azul) y el cardiomiocito (verde) en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Fuente: elaboración propia.

De manera idéntica al registro de fibra de Purkinje del modelo aislado, en este registro aparece una interrupción de la automaticidad celular en un intervalo de tiempo de unos 50 s. Las causas pueden ser similares y provocar la ausencia de potenciales de acción en el cardiomiocito.

Además, se observa el característico ascenso del potencial de reposo en ambas células y la disminución de la amplitud máxima, hasta que, en el caso del cardiomiocito, la excitabilidad es tan reducida que impide el desarrollo del potencial de acción. En lugar de una línea basal continua, se observan pequeños potenciales de acción que constituyen el resultado de multiplicar el potencial de acción de la fibra de Purkinje por un factor de reducción compuesto por las impedancias de la unión Purkinje- músculo y la membrana del cardiomiocito.

A continuación, se presentan las frecuencias de estímulo y las amplitudes de los potenciales de acción de cada elemento del modelo acoplado.

- Frecuencia de estímulo

Se aprecia que la frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje sigue el mismo patrón que para el modelo individual (Figura 42).

En cuanto al cardiomiocito, como célula estimulada por la fibra de Purkinje, posee la misma frecuencia de disparo que ésta siempre que la corriente estimulante sea de suficiente amplitud como para superar el umbral de potencial (Figura 43). La frecuencia máxima de contracción alcanzada por el cardiomiocito es de 0.9138 Hz.

Pocos segundos después del comienzo de la isquemia, el cardiomiocito cesa de desarrollar potenciales de acción por el ascenso del potencial de reposo y la necesidad de estímulos de mayor magnitud.

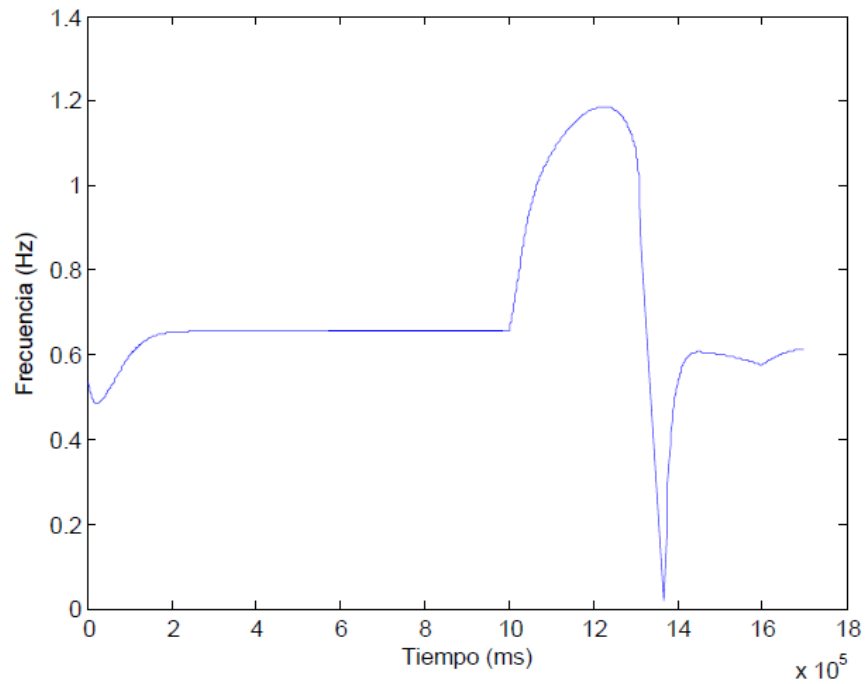


Figura 42. Frecuencia de autoestímulo de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Fuente: elaboración propia.

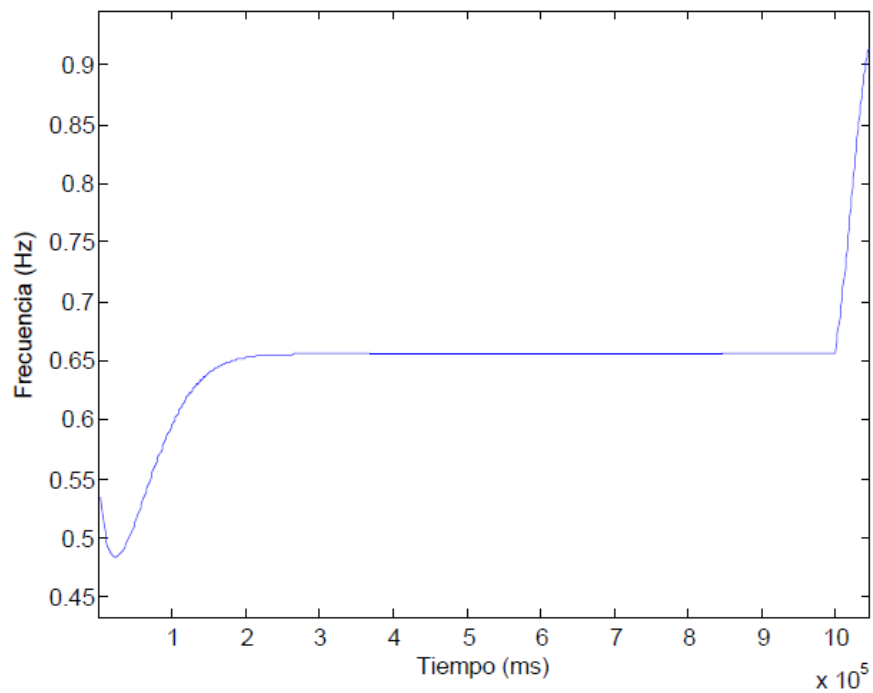


Figura 43. Frecuencia de contracción del cardiomiocito del modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua. Para tiempos superiores, la frecuencia es de 0 Hz. Fuente: elaboración propia.

- Amplitud del potencial de acción

La amplitud máxima del potencial de acción en la fibra de Purkinje evoluciona de la misma forma que en el modelo aislado (Figura 44) y por las mismas causas. El cardiomiocito presenta un comportamiento similar, como se puede observar en la Figura 45.

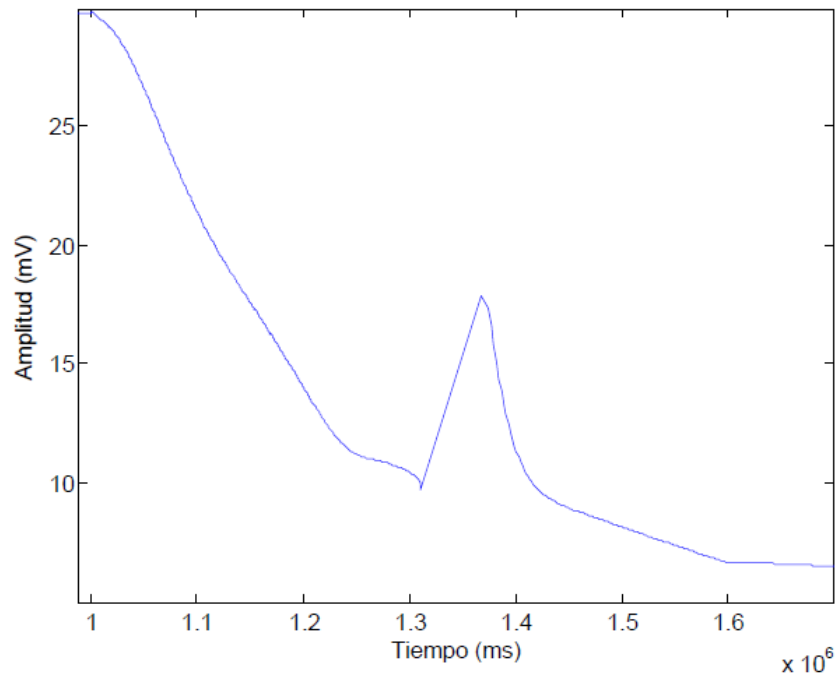


Figura 44. Amplitud máxima del potencial de acción de la fibra de Purkinje en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua y en el rango de tiempo durante el cual se produce la isquemia. Fuente: elaboración propia.

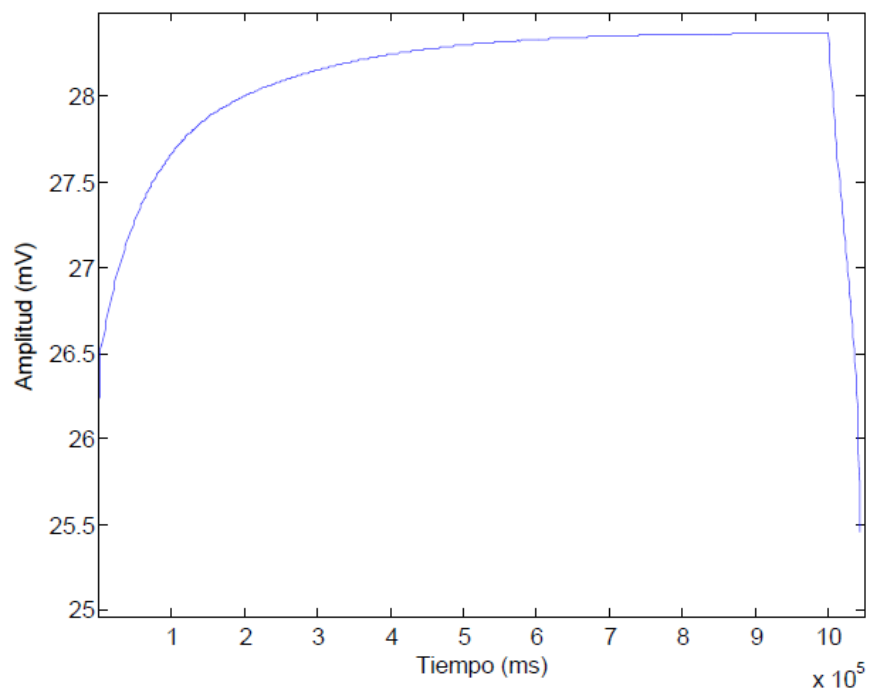


Figura 45. Amplitud máxima del potencial de acción del cardiomiocito en el modelo acoplado para variables que evolucionan según una función continua y en el rango de tiempo isquémico en el que desarrolla potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.

5.2.2. Modelo estimulado por corrientes de las ramas del haz

Con la finalidad de estudiar la capacidad de la fibra de Purkinje para transmitir estímulos que provoquen la contracción del cardiomiocito en presencia de actividad sinusal, se han insertado en la fibra de Purkinje corrientes entrantes de 25 mV y 1 ms de duración con frecuencia de 1 Hz. Se han obtenido resultados tanto para las series de simulaciones con combinaciones de variables, como para las simulaciones cuyos parámetros de entrada varían en función del tiempo.

a) Simulación del efecto por separado de las diferentes variables

El efecto de las diferentes variables de forma aislada y combinada se ha estudiado con simulaciones a partir de las funciones *endopurk_sin* y *endopurk_sin_main*. Una valoración cualitativa de los resultados obtenidos se puede observar en la Tabla 7.

Condición	Concentración de K ⁺ extracelular											
	4.4	5.4	6.4	7.4	8.4	9.4	10.4	11.4	12.4	13.4	14.4	15.4
1	Verde	Verde	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Morado	Morado	Morado	Morado	Morado	Morado
2	Naranja	Naranja	Naranja	Morado	Morado	Morado	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Morado	Morado
3	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja
4	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja	Naranja

Tabla 7. Resumen de los resultados obtenidos con las series de simulaciones 1 (hiperkalemia), 2 (hiperkalemia con hipoxia), 3 (hiperkalemia con acidosis) y 4 (isquemia). En rojo aparecen los registros donde se ha visualizado latidos prematuros tanto en la fibra de Purkinje como en el cardiomiocito; en verde se aprecian los registros donde los potenciales de acción de la fibra de Purkinje y el cardiomiocito son gobernado por el ritmo sinusal; en morado, se simbolizan los registros donde la fibra de Purkinje desarrollaba extrasístoles, pero el cardiomiocito no recibía suficiente estímulo; en naranja, aparecen los registros donde la fibra de Purkinje actuaba según el ritmo sinusal, pero el cardiomiocito no desarrollaba potenciales de acción. Fuente: elaboración propia.

En lo relativo a latidos prematuros en fibra de Purkinje y cardiomiocito (Figura 46), estos suceden para hiperkalemia sin hipoxia ni acidosis, por lo que sería la única condición arritmogénica de todas las series de simulaciones. Además, con la evolución de la concentración de K⁺ extracelular, la frecuencia a la que se producen extrasístoles aumenta y, con ello, la probabilidad de desencadenar arritmias.

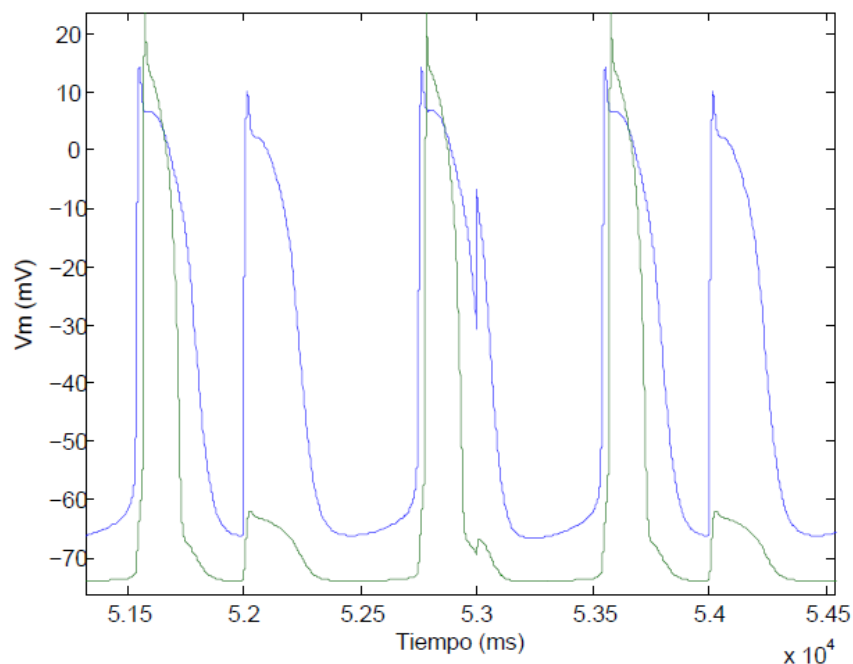


Figura 46. Presencia de potenciales de acción prematuros tanto en la fibra de Purkinje como en el cardiomiocito para la condición hiperpotasémica con 8.4 mM. Fuente: elaboración propia.

El estado más frecuente ha sido aquél en el que la célula de Purkinje desarrolla potenciales de acción según el ritmo sinusal, mientras que el cardiomiocito cesa su actividad. La causa de la primera consecuencia se puede encontrar en que la frecuencia de autoestímulo es menor que la sinusal, impidiendo el ascenso necesario de la corriente de Na^+ que origina la automaticidad. Sin embargo, en la situación *hiperkalemia con acidosis*, la frecuencia de autoestímulo es superior a 1 Hz en determinados rangos de potasio, por lo que la ausencia de extrasístoles es incoherente.

En cuanto a la presencia de contracción del cardiomiocito, sólo presente en condiciones no isquémicas y en hipokalemia con normoxia y pH fisiológico, se debe al descenso inmediato de la excitabilidad celular, observable en el resto de simulaciones del modelo acoplado. Sólo en dichas condiciones, ambas células poseen un funcionamiento esperado para un corazón sano

b) Simulación continua en el tiempo

El modelo acoplado estimulado por corrientes entrantes de ritmo sinusal, ha sido simulado con las funciones *endopurk_con_sin_main* y *endopurk_con_sin*. El tiempo de ejecución ha sido de 1700 s, desarrollándose la isquemia entre los segundos 1000 y 1600, por lo tanto, se ha estimulado la fibra de Purkinje 1700 veces. En la Figura 47, se puede visualizar el registro completo.

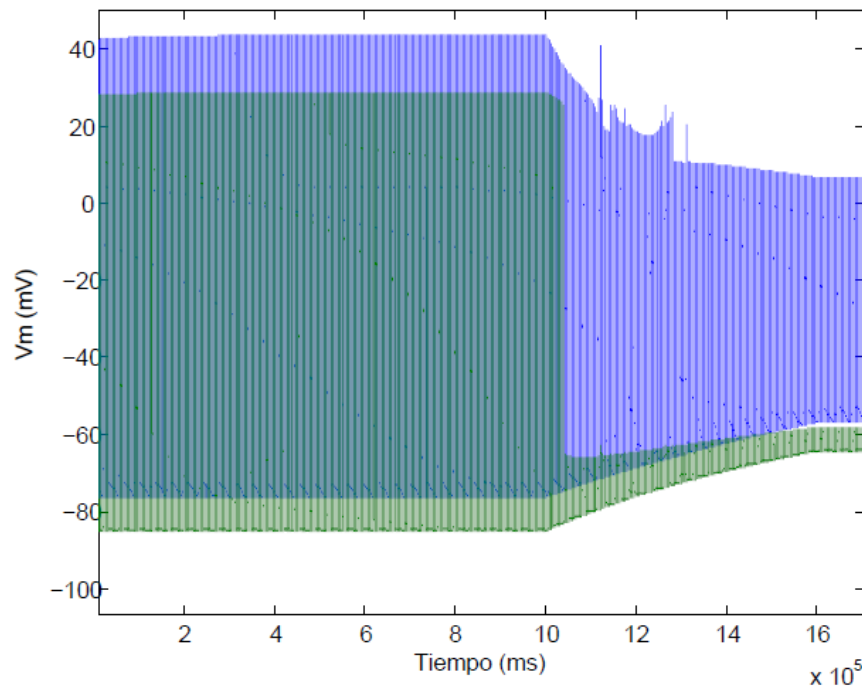


Figura 47. Registro de la actividad del modelo acoplado ante la recepción de estímulos de frecuencia sinusal. Fuente: elaboración propia.

En la fibra de Purkinje, la evolución temporal es similar a la acaecida para el modelo individual. Sin embargo, el cardiomiocito sólo recibe la suficiente estimulación para contraerse hasta pocos segundos después de iniciarse la isquemia, puesto que sus amplitudes comienzan a ser negativas y su morfología de onda un reflejo de la de la fibra de Purkinje (Figura 48). Antes de que la fibra de Purkinje incremente su frecuencia de autoestímulo por encima de 1 Hz, el cardiomiocito será incapaz de generar potenciales de acción con las corrientes recibidas. Las condiciones límite para el cardiomiocito se pueden observar en la Tabla 8.

Intervalo temporal (s)	K ⁺ (mM)	ATP(mM)	ADP(mM)	Mg ²⁺ (mM)	Factores de pH de INa e ICaL
0-1039	5.40-5.86	6.80-6.66	0.015-0.021	0.50-0.63	1.00-0.97
1039-1700	5.86-12.4	6.66-4.6	0.021-0.099	0.63-2.5	0.97-0.5

Tabla 8. Intervalos de concentraciones de K⁺, ADP, ATP y Mg⁺, junto con los correspondientes a los factores de pH de INa e ICaL , para diferentes intervalos temporales del registro escogidos según la evolución del potencial de acción en el cardiomiocito. Fuente: elaboración propia.

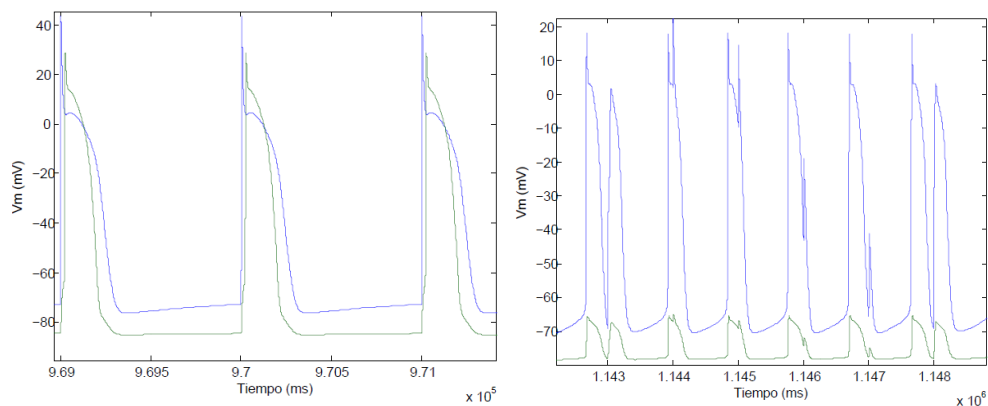


Figura 48. A la izquierda, potenciales de acción de cardiomiocito (verde) y fibra de Purkinje (azul), para condiciones no isquémicas; a la derecha, potenciales de acción prematuros en fibra de Purkinje y ausencia de potenciales de acción en cardiomiocito. Fuente: elaboración propia.

6. Conclusiones

De acuerdo a los modelos utilizados, los resultados obtenidos sugieren que la fibra de Purkinje, por lo general, disminuye su APD, frecuencia y amplitud máxima del potencial de acción al transcurrir 10 minutos de isquemia miocárdica aguda.

Sin embargo, la evolución en el tiempo de estos parámetros para el modelo individual resulta proarrítmica, sobre todo la hiperkalemia, porque la célula de Purkinje es capaz de superar el ritmo sinusal para ciertas condiciones de isquemia moderada, e imponer su frecuencia de estímulo a los cardiomiocitos circundantes. De ello se deduce que el uso de fármacos que ralenticen la autoritmicidad de las fibras de Purkinje podría tener un efecto antiarrítmico en isquemia aguda.

En lo relativo al modelo acoplado, el cardiomiocito no supera para ninguna simulación la frecuencia de 1 Hz (60 latidos/minuto), en torno a la cual se encuentra en condiciones normales la frecuencia sinusal. Ello implica que, aunque la fibra de Purkinje aumente su frecuencia de autoestímulo por encima de la sinusal, el cardiomiocito no se contraerá y no propagarán extrasístoles afectando al funcionamiento mecánico del corazón. Las causas se encuentran en la reducción de la excitabilidad del cardiomiocito como consecuencia, posiblemente, del incremento del potencial de reposo, la disminución de las corrientes despolarizantes y la presencia de K_{ATP} .

El problema a nivel fisiológico sobreviene como resultado de la escasez de excitabilidad del endocardio a pesar de los impulsos eléctricos enviados por la fibra de Purkinje, puesto que implica la ausencia de contracción en el cardiomiocito. La ausencia de potenciales de acción sería, según lo explicado, negativa, pero también evitaría la extensión de latidos prematuros generados en la fibra de Purkinje. En cualquier caso, la poca excitabilidad de los cardiomiocitos en isquemia aguda es algo inherente a ellos y no está provocado directamente por la autoritmicidad de las fibras de Purkinje.

Las tendencias presentadas tanto por la fibra de Purkinje como el cardiomiocito durante la isquemia pueden ser explicadas a través de la magnitud de las corrientes iónicas que influyen sobre cada etapa del potencial de acción. De hecho, durante la exposición de los resultados se han aportado diversas hipótesis para explicar la evolución de los parámetros en las distintas situaciones. Con la finalidad de alcanzar conclusiones coherentes, sería necesario demostrarlas o refutarlas mediante simulaciones ulteriores para conocer no sólo la expresión de la variación de los mecanismos de transporte a nivel de membrana, sino el funcionamiento patológico subyacente asociado a la teoría de compuertas.

En lo relativo al software desarrollado, su utilidad ha sido de decisiva para ejecutar los diferentes tipos de simulaciones y extraer conclusiones a través de gráficos. El resultado ha sido satisfactorio, puesto que, finalmente, ha cubierto la amplia gama de experimentos y ha cumplido su función como herramienta de apoyo a la investigación. Con este fin, ha permitido la extracción de las características de análisis, es decir, la amplitud, el APD y la frecuencia tanto en el modelo individual como en el modelo acoplado. En cuanto a la inserción de parámetros, no sólo ha posibilitado la modificación de variables ambientales, temporales o de estimulación, sino que ha permitido la variación de características estimadas a lo largo de este trabajo, como el factor de amplificación de la unión Purkinje-músculo.

7. Limitaciones y posibles mejoras

Las conclusiones expuestas establecen tendencias en el comportamiento celular ante la situación isquémica y no valores exactos idénticos a los que suceden en el ser humano ante la oclusión de una arteria coronaria. Esta condición implica que los modelos biológicos matemáticos pueden ser útiles, pero difícilmente reproducir la complejidad eléctrica y química de la vida.

En primer lugar, asociado al uso de modelos computacionales, se encuentra la limitación de que la fibra de Purkinje es una célula sobre la que se ha experimentado relativamente poco en comparación con el cardiomiocito. Como consecuencia de ello, no ha sido posible comparar nuestros resultados con otros derivados de la experimentación, por lo que las conclusiones de nuestro trabajo deben tomarse con cautela. Por otro lado, diversos parámetros de los modelos matemáticos adoptados proceden de otros tipos celulares cardíacos y especies animales, que poseen una expresión génica y código genético distintos a los de la fibra de Purkinje y, por lo tanto, diferentes proteínas de membrana en morfología y cantidad.

La escasez de modelado de la fibra de Purkinje ha causado que, para reproducir las condiciones isquémicas, se hayan extrapolado los factores multiplicativos relacionados con la hipoxia y la acidosis de datos para cardiomiocito. Dicha aproximación también originaría cambios en la magnitud de los resultados.

En cuanto a los parámetros calculados en el presente trabajo, como la densidad de canales K_{ATP} , la conductancia de la unión Purkinje-músculo o la amplificación en la misma unión, resultan solo hipotéticos, ya que se han deducido a partir del comportamiento de modelos computacionales y no modelos biológicos.

Con el propósito de obtener resultados de una forma más fiel a la realidad, sería necesario realizar los experimentos explicados para un volumen cardíaco alrededor de fibras de Purkinje. Estas simulaciones reproducirían la geometría y relaciones que ocurren tanto entre fibra de Purkinje, como en la unión Purkinje- músculo y los sincitios ventriculares, dando lugar a tendencias más certeras.

Por último, otra modificación que constituiría una posible mejora sería modelizar los parámetros ambientales según funciones no lineales e incluir nuevos factores, puesto que la isquemia no sólo abarca hiperkalemia, hipoxia y acidosis.

En lo relativo al software, entre sus limitaciones se encuentra la especificidad, puesto que su implementación fue orientada al desarrollo e interpretación de un conjunto concreto de simulaciones. Como optimización futura, se podría incorporar un mayor número de modelos computacionales, variables isquémicas, así como características de análisis para permitir la consecución de una variedad mayor de estudios.

Además, la evolución de la morfología de los potenciales de acción ha impedido, en ciertos casos, el desarrollo de funciones de análisis eficientes para medir la frecuencia, el APD o la amplitud. Ello implica un necesario cambio de paradigma en la forma de obtener dichos parámetros, que podrían conseguirse, por ejemplo, a través del cálculo de derivadas.

8. Bibliografía

Aslanidi, O. V., Stewart, P., Boyett, M. R., & Zhang, H. (2009). Optimal velocity and safety of discontinuous conduction through the heterogeneous Purkinje–ventricular junction. *Biophys J.*, 20–39.

Bansch, D., Oyang, F., & Antz, M. (2003). Successful catheter ablation of electrical storm after myocardial infarction. *Circulation*, 3011–3016.

Behradfar, E., Nygren, A., & Vigmond, E. (2014). The Role of Purkinje-Myocardial Coupling during Ventricular Arrhythmia: A Modeling Study. *PLOS ONE*.

Cascio, W. E. (2001). Myocardial ischemia: what factors determine arrhythmogenesis??. *J CardiovascElectrophysiol*, 726-729.

Cortassa, S., Aon, M. A., O'Rourke, B., Jacques, R., Tseng, H. J., Marbán, E., & Winslow, R. L. (2006). A computational model integrating electrophysiology, contraction, and mitochondrial bioenergetics in the ventricular myocyte. *Biophys J*, 1564-1589.

DiFrancesco, D., & Noble, D. (1985). A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 353–398.

Djabella, K., & Sorine, M. (2006). A reduced differential model of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.*, (pp. 4167–4170).

eurostat. (2015, Octubre). *Cardiovascular diseases statistics*. Retrieved from ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Cardiovascular_diseases_statistics

Ferrero Corral, J. M. (1994). *Bioelectrónica: Señales Bioeléctricas*. Universidad Politécnica de Valencia.

Ferrero, J. M., Sáiz, J., Ferrero, J. M., & Thakor, N. V. (1996). Simulation of action potentials from metabolically impaired cardiac myocytes. Role of ATP-sensitive K⁺ current. *Circ Res.*, 208-221.

Gaztañaga, L., Marchlinska, F. E., & Betensky, B. P. (2012). Mecanismos de las arritmias cardíacas. *Revista Española de Cardiología*.

Guyton, A. G., & Hall, J. E. (2011). *GUYTON & HALL: TRATADO DE FISILOGIA MEDICA*. Elsevier España.

Haissaguerre, M., Extramiana, F., & Hocini, M. (2003). Mapping and ablation of ventricular fibrillation associated with long-QT and Brugada syndromes. *Circulation*, 925–928.

Haissaguerre, M., Shah, D. C., & Jais, P. (2002). Role of Purkinje conducting system in triggering of idiopathic ventricular fibrillation. *Lancet*, 677–678.

Haissaguerre, M., Shoda, M., & Jais, P. (2002). Mapping and ablation of idiopathic ventricular fibrillation. *Circulation*, 962–967.

Hodgkin, A., & Huxley, A. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol.*, 500–544.

- Ideker, R. E., Kong, W., & Pogwizd, S. (2009). Purkinje Fibers and Arrhythmias. *Pacing Clin Electrophysiol.*, 283-285.
- Irisawa H, S. R. (1986). Intra- and extracellular actions of proton on the calcium current of isolated guinea pig ventricular cells. *Circ Res*.
- ITACA-CM. (2016, Junio). *Canalopatías. Conceptos. Potencial de acción cardíaco*. Retrieved from <http://www.itaca.edu.es/potencial-accion-cardiaco.htm>
- Iyer, V., Mazhari, R., & Winslow, R. (2004). A computational model of the human left-ventricular epicardial myocyte. *Biophys. J.*, 1507–1525.
- Kagiyama Y, H. J. (1982). Interaction of acidosis and increased extracellular potassium on action potential characteristics and conduction. *Circ Res*.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015). *Patología estructural y funcional*. Elsevier.
- Lidierth, M. (2009). sigTOOL: A MATLAB-based environment for sharing laboratory-developed software to analyze biological signals. *J Neurosci Methods*.
- Macfarlane, P. W., Oosterom, A. v., & Pahlm, O. (2010). *Comprehensive Electrocardiology*. Springer.
- Makarand, D., Boyle, P. M., Kim, A. M., & Vigmond, E. J. (2010). Arrhythmogenesis by single ectopic beats originating in the Purkinje system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.
- Marrouche, N. F., Verma, A., Wazni, O., Schweikert, R., Martin, D. O., Saliba, W., . . . Natale, A. (2004). Mode of initiation and ablation of ventricular fibrillation storms in patients with ischemic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*.
- McAllister, R., Noble, D., & Tsien, R. (1975). Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.*, 1–59.
- Moore, K. L., Dalley, A. F., & Agur, A. M. (2010). *Anatomía con orientación clínica*. Lippincott-Williams & Wilkins.
- Murakawa, Y. (2009). Role of Purkinje Fibers in the Maintenance of Ventricular Fibrillation. *Circ J*, 1793 – 1794.
- National Geographic. (2015, 12 2). *Investigadores italianos revelan cuántas células tiene el cuerpo humano... y cómo algunas de ellas no son realmente «nuestras»*. Retrieved from National Geographic España: http://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/y-tu-cuantas-celulas-tenes_9939
- Noble, D. (1962). A modification of the Hodgkin–Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. *J. Physiol.* , 317–352.
- Nogami, A. (2011). Purkinje-related arrhythmias part I: monomorphic ventricular tachycardias. *Pacing Clin Electrophysiol*.
- Nogami, A. (2011). Purkinje-related arrhythmias part ii: polymorphic ventricular tachycardia and ventricular fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol.* .

- OMS. (2015, Enero). *Enfermedades Cardiovasculares*. Retrieved from www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/
- Ošt'ádal, B., & Kolář, F. (1999). *Cardiac Ischemia: From Injury to Protection*. Springer US.
- Paniagua, R. (2007). *Biología Celular*. Mc Graw Hill- Interamericana.
- Ramírez, E., Saiz, J., Romero, L., Ferrero, J. M., & Trénor, B. (2014). In silico ischaemia-induced reentry at the. *Europace*.
- Reuter, H. (1967). The dependence of the slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium concentration. *J. Physiol.*, 479–492.
- Rodríguez, B., Trayanova, N., & Noble, D. (2006). Modeling Cardiac Ischemia. *Ann N Y Acad Sci.*, 395-414.
- Sampson, K. J., Iyer, V., Marks, A. R., & Kass, R. S. (2010). A computational model of Purkinje fibre single cell electrophysiology: implications for the long QT syndrome. *J Physiol.*, 2643–2655.
- Sato R, N. A. (1985). Effects of intracellular acidification on membrane currents in ventricular cells of the guinea pig. *Circ Res*.
- Scheinman, M. M. (2008). Role of the His-Purkinje system in the genesis of cardiac arrhythmia. *GORDON K. MOE LECTURE 2008: CARDIAC EP SOCIETY*.
- Stewart, P., Aslanidi, O. V., Noble, D., Noble, P. J., Boyett, M. R., & Zhang, H. (2009). *cellML*. Retrieved from https://models.cellml.org/exposure/38cf8387b0707f0ef6947f009710aeb5/stewart_aslanidi_noble_noble_boyett_zhang_2009.cellml/view
- Stewart, P., Aslanidi, O. V., Noble, D., Noble, P. J., Boyett, M. R., & Zhang, H. (2009). Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.*, 2225–2255.
- ten Tusscher, K. H., & Panfilov, A. V. (2006). Alternans and spiral breakup in a human ventricular tissue model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1088-1100.
- ten Tusscher, K. H., Noble, D., Noble, P. J., & Panfilov, A. V. (2004). A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* , 1573-1589.
- ten Tusscher, K. H., Noble, D., Noble, P. J., & Panfilov, A. V. (2004). *cellML*. Retrieved from <https://models.cellml.org/exposure/c7f7ced1e002d9f0af1b56b15a873736/view>
- Vigmond, E. J., & Clements, C. (2007). Construction of a computer model to investigate sawtooth effects in the Purkinje system. *IEEE transactions on bio-medical engineering* , 389-399.
- Weiss JN, S. K. (1982). [K⁺]_o accumulation and electrophysiological alterations during early myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.
- Young, B., & Heath, J. W. (2000). *Wheater's Histología Funcional*. Harcourt.

PRESUPUESTO

1. Presupuesto

El desarrollo de este trabajo de fin de grado ha supuesto una inversión económica cuya estimación se presenta en este apartado. Debido a la naturaleza dual del mismo, se desglosará el presupuesto en actividades de análisis bioeléctrico y desarrollo de software. Además, se podrá distinguir entre costes de personal, software y hardware, apareciendo las características del hardware descritas en el último subapartado. No se referenciarán costes relacionados con desplazamientos, impresión y electricidad, y los precios aparecerán expresados en euros y con dos decimales.

Se presentarán tanto un presupuesto inicial, correspondiente al planteamiento económico que se realizó tras determinar los objetivos del trabajo, como un presupuesto final ajustado a las características y necesidades reales ocurridas durante el transcurso del proyecto.

1.1. Presupuesto inicial

En este subapartado se reflejarán los costes estimados al inicio del trabajo, explicando tanto el personal como los materiales necesarios.

1.1.1. Coste de personal

El coste de personal contiene la remuneración de todas las personas implicadas en el desarrollo del trabajo de acuerdo a los costes por hora medios definidos según los Estatutos.

Los participantes, visibles en la Figura 9, han sido el tutor del trabajo de fin de grado, D. José María Ferrero de Loma-Osorio, categorizado como ingeniero industrial en el proyecto, y encargado de la supervisión y resolución de consultas; y una estudiante de ingeniería biomédica, D^a Alba García Escolano, categorizada como ingeniería biomédica en el proyecto, y encargada de llevar a cabo el desarrollo del software y la investigación.

Puesto de trabajo		Euros/hora (€/h)	Horas totales (h)	Coste (€)
Ingeniero Industrial		40.00	26	1040.00
Ingeniera Biomédica	Desarrollo software	40.00	115	4600.00
	Análisis	40.00	175	7000.00
Total				12640.00

Tabla 9. Presupuesto inicial estimado para el personal. Aparecen la categoría, la remuneración en euros por hora, el número de horas totales ejercidas y el coste total. Fuente: elaboración propia.

1.1.2. Coste de materiales: hardware y software

El coste de material hace referencia tanto a los programas como equipos informáticos cuyo uso se planteó al inicio del trabajo. En la Tabla 10 se detallan sus características presupuestarias.

Producto	Precio (€)	Período de amortización (meses)	Uso (meses)	Coste (€)
Portátil	300.00	48	6	37.50
Licencia Matlab Student R2012a	69.00	36	6	11.50
Licencia Office 365 Universitarios	0.00	6	6	0.00
Total				49.00

Tabla 10. Presupuesto inicial estimado para el material. Aparece el nombre del producto, el precio, el período de amortización, las horas de uso y el coste, de acuerdo a los requisitos de software descritos en el Manual de Usuario del Anexo II. Fuente: elaboración propia.

1.1.3. Coste total del proyecto

El presupuesto total del trabajo de fin de grado constituye la suma de los costes estimados para el personal y los materiales. En la Tabla 11, se refleja el coste total.

Descripción	Coste (€)
Personal	12640.00
Materiales	49.00
Total	12689.00

Tabla 11. Coste total del trabajo como suma de los costes de personas y materiales. Fuente: elaboración propia.

1.2. Presupuesto final

En este subapartado se reflejarán los costes reales del trabajo.

1.2.1. Coste de personal

El coste de personal ha variado con respecto al presupuesto inicial en el número de horas ejercidas por cada persona implicada en el trabajo, como se puede apreciar en Tabla 12.

Puesto de trabajo	Euros/hora (€/h)	Horas totales (h)	Coste (€)
Ingeniero Industrial	40.00	40	1600.00
Ingeniera Biomédica	Desarrollo software	125	5000.00
	Análisis	175	7000.00
Total			13600.00

Tabla 12. Presupuesto final estimado para el personal. Aparecen la categoría, la remuneración en euros por hora, el número de horas totales ejercidas y el coste total. Fuente: elaboración propia.

1.2.2. Coste de materiales: hardware y software

El coste de material final hace referencia tanto a los programas como equipos informáticos utilizados durante el transcurso del trabajo. Con respecto a los requisitos iniciales, se ha añadido un disco duro, necesario para el almacenamiento de los datos procedentes de las simulaciones. En la Tabla 13 se detallan sus características presupuestarias.

Producto	Precio (€)	Período de amortización (meses)	Uso (meses)	Coste (€)
Portátil	300.00	48	6	37.50
Disco duro	70.00	2	2	70.00
Licencia Matlab Student R2012a	69.00	36	6	11.50
Licencia Office 365 Universitarios	0.00	6	6	0.00
Total				119.00

Tabla 13. Presupuesto inicial estimado para el material. Fuente: elaboración propia.

1.2.3. Coste total del proyecto

El presupuesto total final del trabajo de fin de grado es el descrito en la Tabla 14.

Descripción	Coste (€)
Personal	13600.00
Materiales	119.00
Total	13719.00

Tabla 14. Coste total del trabajo como suma de los costes de personas y materiales. Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

Anexo I. Tablas de modelos bioeléctricos

Corriente iónica de membrana	Mecanismo de transporte	Iones	Características
I_{Kr}	Canal iónico	K^+	Corriente rápida rectificadora con retraso. Actúa como corriente repolarizadora de la membrana.
I_{Ks}	Canal iónico	K^+	Corriente lenta rectificadora con retraso. Mismo efecto que I_{Kr} .
I_{K1}	Canal iónico	K^+	Corriente rectificadora entrante. Mismo efecto que I_{Kr} .
I_{to}	Canal iónico	K^+	Corriente de transición saliente. Provoca una rápida repolarización tras la despolarización de membrana y es frenada por la corriente $I_{Ca,L}$.
I_{sus}	Canal iónico	K^+	Corriente sostenida
I_{Na}	Canal iónico	Na^+	Corriente rápida de sodio. Impulsa la despolarización del potencial de acción y es su principal causante.
$I_{b,Na}$	Bomba electrogénica	Na^+	Corriente de fondo
$I_{Ca,L}$	Canal iónica	Ca^{2+}	Corriente de calcio tipo L. Actúa durante la meseta del potencial de acción, prolongándolo
$I_{b,Ca}$	Bomba electrogénica	Ca^{2+}	Corriente de fondo. Inserta Ca^{2+} en el medio intracelular.
I_{NaK}	Bomba electrogénica	K^+	Corriente de la bomba Na^+/K^+ . Promueve la restauración de las concentraciones fisiológicas de estos iones a ambos lados de la membrana.
I_{NaCa}	Bomba electrogénica	Na^+, Ca^{2+}	Corriente intercambiadora de iones. Se encarga de desequilibrar las concentraciones de Na^+ y equilibrar las de Ca^{2+} .
$I_{p,Ca}$	Bomba electrogénica	Ca^{2+}	Corriente de la bomba de Ca^{2+} . Se encarga de equilibrar las concentraciones de Ca^{2+} intra y extracelulares.
$I_{p,K}$	Bomba electrogénica	K^+	Corriente de la bomba de K^+ . Su función es transportar K^+ hacia el medio extracelular.
I_f	Canal iónico	Na^+	Corriente activada por hiperpolarización. Despolariza la membrana celular y origina la la automaticidad de las fibras de Purkinje.

Tabla 15. Corrientes iónicas de membrana con sus respectivos mecanismos de transporte en el modelo de Stewart et al. En rojo, las corrientes añadidas al modelo de Ten Tusscher. En azul, las corrientes modificadas sobre el mismo modelo. Fuente: elaboración propia.

Corriente iónica	Mecanismo de transporte	Iones	Características
I_{leak}	Canal iónico	Ca^{2+}	Retira Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico
I_{up}	Bomba electrogénica	Ca^{2+}	Inserta Ca^{2+} en el retículo sarcoplásmico.
I_{rel}	Canal iónico	Ca^{2+}	Retiran Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico.
I_{xfer}	Canal iónico	Ca^{2+}	

Tabla 16. Corrientes iónicas que forman parte de la dinámica del Ca^{2+} con sus respectivos mecanismos de transporte. Fuente: elaboración propia.

	Parámetros	Unidades	Descripción
Entrada	settings	En función del campo	Estructura que contiene campos como el tiempo de simulación o el número de estímulos que recibe un cardiomiocito ()
	sigma_K_ATP	canales/ μm^2	Densidad de canales K,ATP . Proporciona flexibilidad para el cálculo de la proporción correcta de este tipo de canales
	G_link	nS	Conductancia de la unión Purkinje- músculo.
	APV	Adimensional	Factor de amplificación de la corriente entrante en el cardiomiocito y procedente de la fibra de Purkinje.
	K_o	mM	Concentración de potasio extracelular. Permite introducir las condiciones de hiperkalemia que se producen durante la isquemia miocárdica aguda.
	ATP	mM	Concentración de ATP intracelular. Variable asociada a situaciones de normoxia e hipoxia durante las simulaciones.
	ADP	mM	Concentración de ADP intracelular . Variable asociada a situaciones de normoxia e hipoxia durante las simulaciones.
	Mg_i	mM	Concentración de Mg^{2+} intracelular. Variable asociada a situaciones de normoxia e hipoxia durante las simulaciones.
	f_ph_INa	Adimensional	Factor multiplicativo relacionado con la acidosis.
	f_ph_ICaL	Adimensional	Factor multiplicativo asociado a la acidosis.

Tabla 17. Parámetros de entrada de las funciones main . Fuente: elaboración propia.

	Parámetros	Unidades	Descripción
Entrada	dt	ms	Tiempo de paso para el método de Euler
	TSim	s	Tiempo de simulación
	storeLast	s	Tiempo para el que se almacenan el registro
	StimOffset	ms	<i>Offset</i> del primer estímulo
	BCL	ms	Período entre estímulos
	NumStim	Adimensional	Número de estímulos
	CI	ms	Similar a BCL
	Amp_Stim	mV	Amplitud del estímulo
	Dur_Stim	ms	Duración del estímulo
	Amp_extra	mV	Amplitud extra del estímulo
	Dur_extra	ms	Duración extra del estímulo
	K_o	mM	Concentración de K^+ extracelular
	Na_o	mM	Concentración de Na^+ extracelular
	Cl_o	mM	Concentración de Cl^- extracelular

Tabla 18. Posibles parámetros de entrada especificables dentro de la estructura settings. Fuente: elaboración propia.

Parámetro	Unidades	Descripción	Condiciones iniciales	
time	ms	Vector de tiempos devuelto por función <i>ode15s</i>	0	
StateV	d	Adimensional	Variable asociada a la compuerta d de I_{CaL}	0.000287906256206415
	f_2	Adimensional	Variable asociada a la compuerta f_2 de I_{CaL}	0.995474890442185
	f_{Cass}	Adimensional	Variable asociada a la compuerta f_{Cass} de I_{CaL}	0.999955429598213
	f	Adimensional	Variable asociada a la compuerta f de I_{CaL}	0.989328560287987
	Ca_{SR}	mM	Variable asociada a la dinámica del Ca^{2+}	3.10836886659417
	Ca_i	mM	Variable asociada a la dinámica del Ca^{2+}	0.000101878186157052
	Ca_{ss}	mM	Variable asociada a la dinámica del Ca^{2+}	0.000446818714055411
	R_{prime}	Adimensional	Variable asociada a la dinámica del calcio intracelular	0.991580051907845
	h	Adimensional	Variable asociada a la compuerta h de los canales I_{Na}	0.190678733735145
	j	Adimensional	Variable asociada a la compuerta j de los canales I_{Na}	0.238219836154029
	m	Adimensional	Variable asociada a la compuerta m de I_{Na}	0.0417391656294997
	y	Adimensional	Variable asociada a la compuerta y de I_f	0.0457562667986602
	V	mV	Potencial de membrana	-69.1370441635924
	K_i	mM	Concentración intracelular de potasio	136.781894160227
	X_{r1}	Adimensional	Variable relacionada con la compuerta X_{r1} de la corriente rápida de potasio.	0.00550281999719088
	X_{r2}	Adimensional	Variable relacionada con la compuerta X_{r2} de la corriente rápida de potasio.	0.313213286437995
	X_s	Adimensional	Variable relacionada con la compuerta X_s de la corriente lenta de potasio.	0.00953708522974789
	Na_i	mM	Concentración de sodio extracelular.	8.80420286531673
	r	Adimensional	Variable asociada a la compuerta r de la corriente transitoria saliente.	0.00103618091196912
s	Adimensional	Variable asociada a la compuerta s de la corriente de transición saliente.	0.96386101799501	

Tabla 19. Variables de salida del modelo de *Stewart et al.* con sus condiciones iniciales. Fuente: elaboración propia.

Anexo II. Guía de usuario de la GUI Purkinje Lab

1. Requisitos de software

Todos los ficheros necesarios para la ejecución de la GUI se encuentran disponibles en el CD ROM adjunto con el presente Trabajo Fin de Grado. Será necesaria para su apertura la posesión o instalación del entorno de trabajo MATLAB, aconsejablemente la versión de 2012.

2. Apertura de la GUI

Para utilizar la GUI, se debe ejecutar el programa MATLAB y referenciar su directorio a la carpeta que contiene los ficheros de Purkinje Lab. Se puede llevar a cabo desde el recuadro “Carpeta actual” o ejecutando la sentencia:

```
path('...\purkinje_lab')
```

Posteriormente, se escribir en la ventana de comandos:

```
purkinje_lab
```

Acto seguido, aparecerá la ventana principal de la GUI (Figura 49):

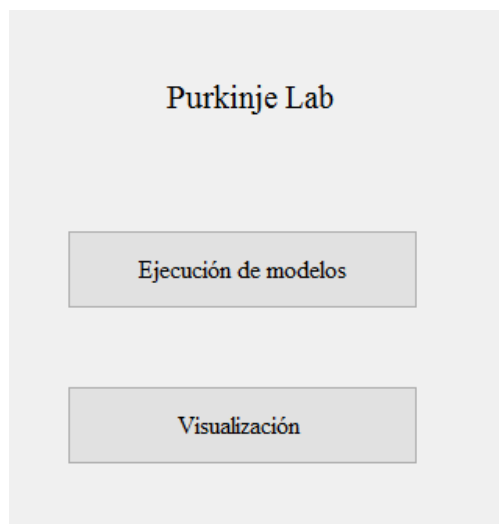


Figura 49. Ventana principal de Purkinje Lab. Fuente: elaboración propia.

3. Ejecución de modelos bioeléctricos

La realización de simulaciones será posible pulsando el botón “Ejecución de modelos” de la ventana principal. Con esta acción, aparecerá una nueva pantalla llamada “Ejecución de modelos” que permitirá la inserción de parámetros y la cómputo de simulaciones de fibra de Purkinje individual o acoplada con cardiomiocito, y estimulada o no por corrientes de ritmo sinusal.

A continuación, se presenta la interfaz en la Figura 50 y se describe la forma en que se han de llevar a cabo los diferentes tipos de simulación.

Variables de entrada

Parámetros ambientales

Tipo de función: Inserción de v... ▼

Potasemia y acidosis

Concentración K+: Normoxia-5.4 ▼

Factor multiplicativo I_{Na}: Normoxia-1 ▼

Factor multiplicativo I_{CaL}: Normoxia-1 ▼

Oxigenación

Concentración Mg⁺: Normoxia-0.5 ▼

Concentración ADP: Normoxia-15 ▼

Concentración ATP: Normoxia-6.8 ▼

Parámetros temporales y de estímulo

Tiempo de simulación:

Estimulación: No ▼

Nº de estímulos:

Amplitud de estímulo:

Duración de estímulo:

Frecuencia de estimulación:

Otros parámetros

Sigma I_{KATP}: Defecto-0.26 ▼

APV: Defecto-200 ▼

Conductancia PVJ: Defecto-0.000... ▼

Purkinje Purkinje-endocardio

Comprobar resultados Guardar variables

Figura 50. Pantalla de inserción de parámetros, y ejecución, comprobación y almacenamiento de resultados. Fuente: elaboración propia.

3.1. Ejecución de modelos bioeléctricos sin estimulación externa y con parámetros ambientales constantes

Los pasos recomendados son los siguientes:

1. Para indicar en la interfaz que los parámetros ambientales se requieren constantes, se escogerá en la lista desplegable de “Tipo de función” la opción “Inserción de variables”.
2. Posteriormente, se insertarán los distintos parámetros ambientales:
 - Para simular condiciones no isquémicas, es decir, fisiológicas, se dejarán todos los parámetros por defecto.
 - Si se desea realizar la simulación con condiciones isquémicas, se escogerá la opción “Isquemia” seguida por un valor en todos los parámetros.
 - La elección de ciertos parámetros isquémicos y no isquémicos servirá para estudiar la influencia de las diferentes variables sobre la simulación.

- Para computar simulaciones con valores no reflejados en la lista desplegable, se escogerá la opción “Otro valor”, que permite insertar uno o varios elementos mediante una ventana que emergerá al pulsar el botón del modelo deseado (paso 5). Se deberá considerar que las concentraciones se miden en mM, mientras que los factores multiplicativos del pH se reflejan en tanto por uno.
3. A continuación, en la agrupación titulada “Parámetros temporales y de estímulo”, se escribirá el tiempo de simulación en segundos (superior a 300 s para asegurar resultados estables) y se seleccionará la opción “No” de la lista desplegable de “Estimulación”.
 4. Los últimos parámetros introducidos serán “Otros parámetros”, donde se recomienda elegir la opción “Defecto” seguida de un valor. Dicha elección implica hacer uso de los parámetros deducidos durante el este trabajo, aunque seleccionando la opción “Otro valor”, se podrá analizar su efecto sobre las simulaciones.
 5. Finalmente, para ejecutar el modelo de fibra de Purkinje se pulsará el botón “Purkinje”, mientras que para simular con el modelo acoplado Purkinje- cardiomiocito, se pulsará el botón “Purkinje- endocardio”.

3.2. Ejecución de modelos bioeléctricos sin estimulación externa y con parámetros ambientales de evolución continua

Los pasos recomendados son los siguientes:

1. Para indicar en la interfaz que los parámetros ambientales se requieren dependientes de una función continua, se escogerá en la lista desplegable de “Tipo de función” la opción “Continua”.
2. En este caso, no se insertarán valores para ningún parámetro ambiental, porque van implícitos en cada función.
3. A continuación se realizarán las acciones 3-5 del apartado 3.1.

3.3. Ejecución de modelos bioeléctricos con estimulación externa y parámetros ambientales constantes

Los pasos recomendados son los siguientes:

1. Para indicar en la interfaz que los parámetros ambientales se requieren constantes, se escogerá en la lista desplegable de “Tipo de función” la opción “Inserción de variables”.
2. Posteriormente, se insertarán los distintos parámetros ambientales como en el apartado 3.1.
3. A continuación, en la agrupación titulada “Parámetros temporales y de estímulo”, no se establecerá “Tiempo de simulación” (se dejará en blanco), pero sí se definirá:
 - La opción “Sí” de la lista desplegable de “Estimulación”.
 - El número de estímulos, que debe ser entero y positivo.
 - La amplitud de los estímulos, que puede ser cualquier valor negativo en mV, puesto que la corriente estimulante es entrante en la fibra de Purkinje. Un valor de -25 mV es adecuado para desencadenar potencial de acción en la célula.

- La duración de los estímulos, una cifra en milisegundos que establecerá el tiempo durante el cual entra una corriente de amplitud negativa a la célula.
- La frecuencia de estimulación, en estímulos por minuto, que determinará la distancia temporal entre dos estímulos consecutivos.

4. Los últimos pasos serán idénticos a 4 y 5 del apartado 3.1.

3.4. Ejecución de modelos bioeléctricos con estimulación externa y parámetros ambientales de evolución continua

Los pasos recomendados son los siguientes:

1. Para indicar en la interfaz que los parámetros ambientales se requieren constantes, se escogerá en la lista desplegable de “Tipo de función” la opción “Continua”.
2. En este caso, no se insertarán valores para ningún parámetro ambiental, porque van implícitos en cada función.
3. A continuación, en la agrupación titulada “Parámetros temporales y de estímulo”, no se establecerá “Tiempo de simulación” (se dejará en blanco), pero sí se definirá el resto de parámetro de la forma indicada en el apartado 3.3.
4. Los últimos pasos serán idénticos a 4 y 5 del apartado 3.1.

3.5. Ejecución de series de simulaciones

En los casos 3.1. y 3.3, se podrán realizar serie de simulaciones en las que variará un único parámetro de los apartados “Parámetros ambientales” y “Otros parámetros”. Para ello, en el parámetro deseado se seleccionará “Otro valor” y se escribirán diferentes elementos separados por espacios.

No se recomienda insertar múltiples valores en diferentes parámetros, puesto que ello podría implicar incompatibilidades en la GUI.

4. Comprobación de resultados

Esta opción se ejecutará pulsando el botón “Comprobar resultados” de la ventana “Ejecución del modelo”, que implica la aparición de una nueva ventana con gráficos en función de las simulaciones realizadas (Tabla 20).

Ejecución	Gráficos			
	Potencial de membrana (mV)	Amplitud (mV)	APD (ms)	Frecuencia (Hz)
3.1.	X	X	X	X
3.2.	X	X		X
3.3.	X			
3.4.	X			

Tabla 20. Elementos gráficos que aparecen en función del tipo de ejecución. Para los casos 3.2. y 3.4. aparecerán representaciones en función del tiempo. En las situaciones 3.1. y 3.3., el potencial de membrana se reflejará en función del tiempo, mientras que el resto de parámetros lo hará según otras variables si se llevan a cabo series de simulaciones. Fuente: elaboración propia.

La ventana emergente adoptará la forma de la Figura 51.

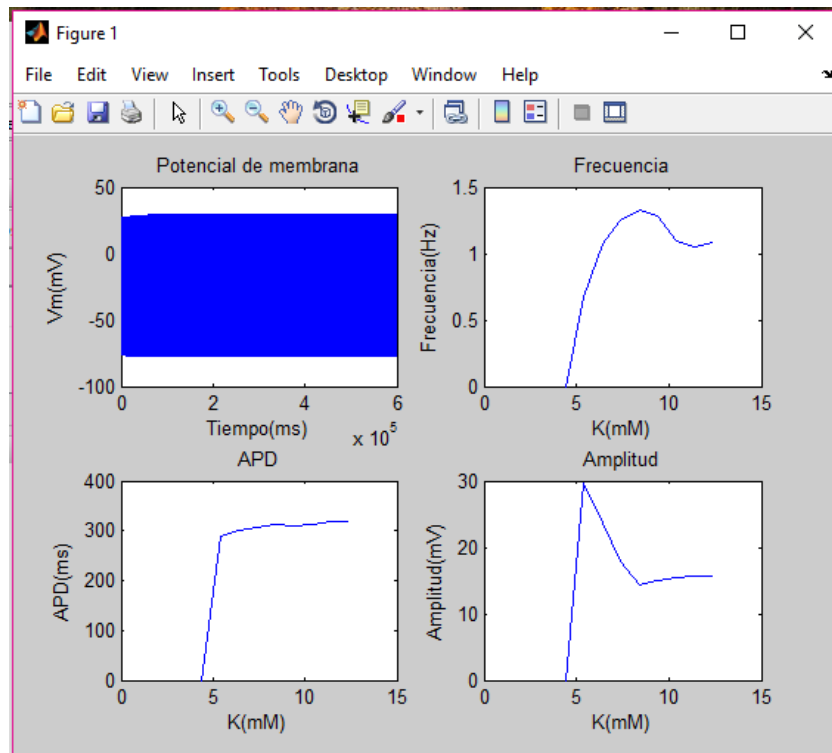


Figura 51. Comprobación de resultados para una simulación tipo 3.1. de fibra de Purkinje. Fuente: elaboración propia.

5. Almacenamiento de resultados

Para almacenar los resultados de las simulaciones, tras ejecutar la función, se pulsará el botón “Guardar variables” de la ventana “Ejecución del modelo”. Acto seguido, emergerá una ventana en la que se deberá indicar la carpeta y nombre con el que se desean guardar los datos (Figura 52).

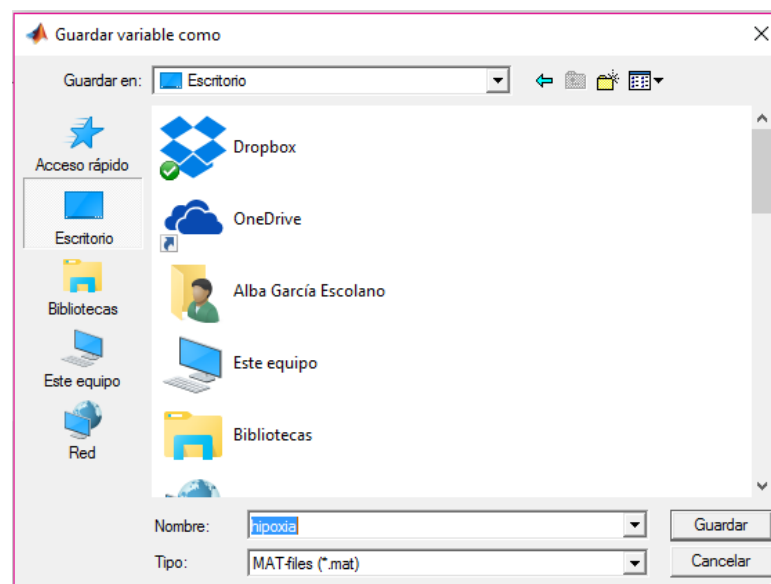


Figura 52. Ventana emergente de almacenamiento de resultados. Fuente: elaboración propia.

6. Visualización de un paquete de resultados

Al pulsar el botón “Visualización” de la pantalla inicial, se accederá a una ventana llamada “Visualización” en la que se podrán cargar los datos de simulaciones guardadas y representarlos. El procedimiento es el siguiente:

1. Apertura de datos en el espacio de trabajo. Se realizará pulsando el botón “Abrir” y seleccionando la variable en la ventana emergente que aparece. Se podrán cargar tantas variables como se desee (Figura 53).

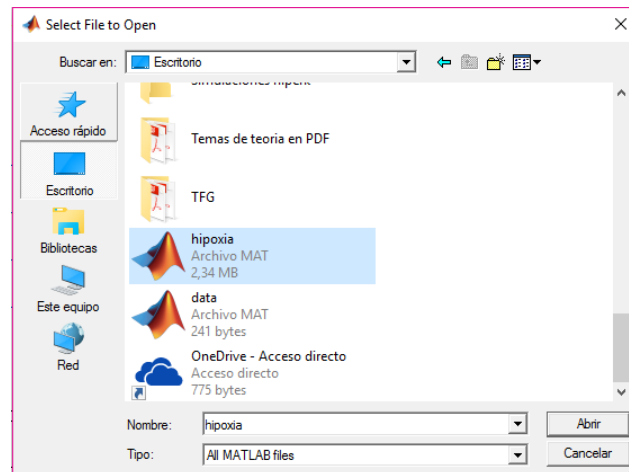


Figura 53. Ventana emergente de apertura de datos. Fuente: elaboración propia.

2. La representación de los datos cargados implicará para cada gráfico:
 - 2.1 Escritura del nombre de los datos que se desea representar.
 - 2.2 Selección en la lista desplegable de la variable. Se puede escoger entre “potencial”, “amplitud”, “APD” o “frecuencia”. Para evitar errores, se deberá considerar que no todos los datos de simulación poseen todas las variables definidas.
 - 2.3 Al pulsar el botón de “Visualizar”, se representará en el gráfico indicado la variable de los datos deseados.
3. Se podrán configurar hasta cuatro gráficos (Figura 54; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

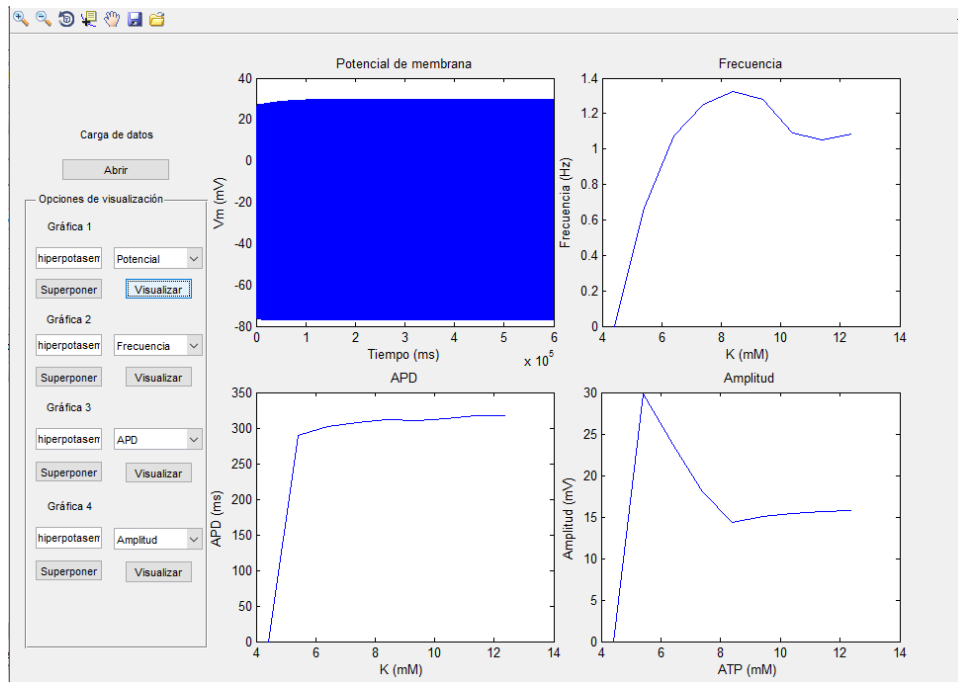


Figura 54. Visualización del potencial de membrana, la frecuencia, el APD y la amplitud del registro denominado "hiperkalemia".7. Visualización de dos o más paquetes de resultados. Fuente: elaboración propia.

Sobre cada gráfico de la ventana “Visualización”, se podrán representar variables de diferentes paquetes de datos. Ello se realizará con las acciones 1, 2.1. y 2.2. del apartado 6, para finalmente pulsar el botón “Superponer”. El resultado es el representado en la Figura 55.

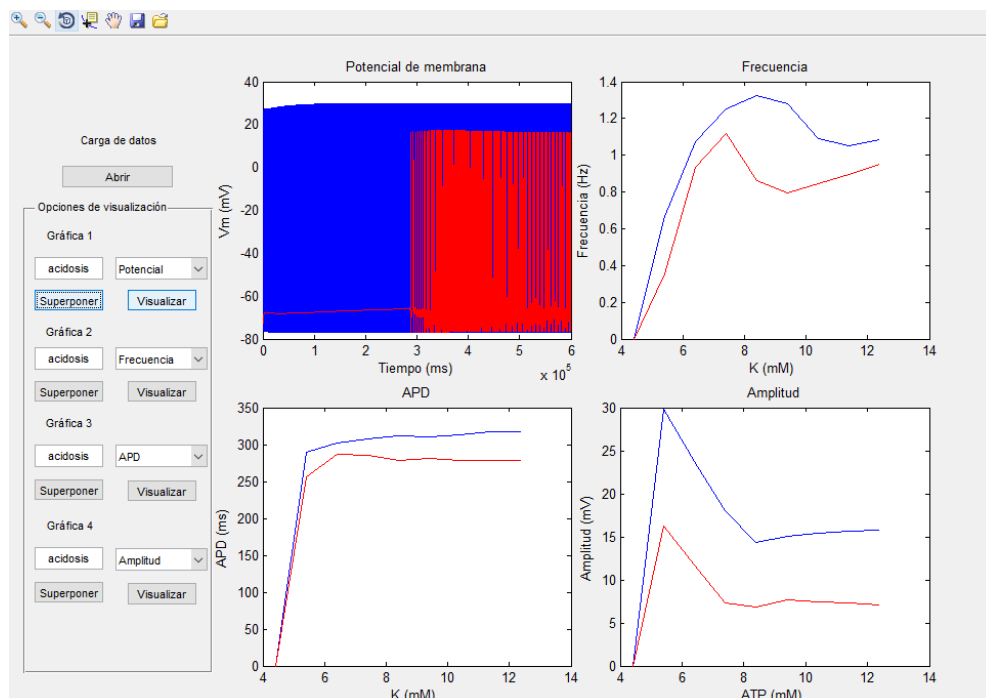


Figura 55. Superposición de diferentes campos del registro "acidosis" sobre los gráficos del registro "hiperkalemia". Fuente: elaboración propia.

