

Caracterización *in silico* de la duración de la repolarización y su variabilidad en el síndrome de QT Largo Tipo1 bajo estimulación β adrenérgica

D.A. Sampedro-Puente¹, F. Raphel², J. Fernandez-Bes¹, P. Laguna¹, D. Lombardi², E. Pueyo¹

¹ Universidad de Zaragoza, IIS Aragón y CIBER-BBN, Zaragoza, España, {sampedro, jfbes, laguna, epueyo}@unizar.es

² INRIA y LJLL Sorbonne Université, París, Francia, {damiano.lombardi, fabien.raphel}@inria.fr

Resumen

El aumento de la variabilidad temporal de la repolarización se ha relacionado con el desarrollo de arritmias ventriculares en el síndrome de QT largo tipo 1 (LQT1), en particular bajo estimulación β -adrenérgica (β -AS). Sin embargo, los mecanismos iónicos subyacentes no se conocen completamente. La investigación computacional de tales mecanismos requiere primero del desarrollo de métodos capaces de reproducir las observaciones experimentales. En este trabajo se propone un método para la identificación de modelos computacionales de potencial de acción (AP) a partir de trazas de voltaje y se aplica a la investigación de la variabilidad de la repolarización en LQT1. El enfoque presentado combina el método Double Greedy Dimension Reduction (DGDR) junto con Unscented Kalman Filter (UKF) para la estimación de conductancias iónicas y niveles de fosforilación de modelos acoplados de AP y β -AS. La aplicación de este método DGDR-UKF sobre trazas de AP sintéticamente generadas para una población de células LQT1 permite, estimar con precisión los parámetros del modelo, con valores reducidos de incertidumbre y tiempo de convergencia en la estimación. Además, se comprueba que DGDR-UKF es capaz de replicar de forma fiable la distribución estadística de la duración del AP y de su variabilidad a corto plazo, tanto en condiciones basales como bajo β -AS, siendo los errores relativos inferiores al 4%. Finalmente, la estimación DGDR-UKF puede reproducir fenómenos arritmogénicos como las alternancias de AP. En conclusión, el método propuesto permite la caracterización de la duración de la repolarización y su variabilidad en LQT1, lo que se espera pueda ayudar a dilucidar los mecanismos subyacentes al desarrollo de arritmias inducidas por β -AS en LQT1.

1. Introducción

El síndrome de QT largo (LQT) es una enfermedad congénita que genera una prolongación anormal del intervalo QT y predispone a un alto riesgo de desarrollar arritmias potencialmente mortales. La variante más común de LQT es LQT tipo 1 (LQT1), en la cual más del 90% de los eventos letales ocurren durante episodios de estrés físico o emocional, generalmente asociados a una elevada estimulación simpática [1]. Diferentes estudios *in vivo* e *in vitro* de LQT1 han descrito un vínculo entre el aumento de la variabilidad espacio-temporal de la repolarización y el mayor riesgo de sufrir arritmias ventriculares y muerte cardíaca súbita, en particular en respuesta a la estimulación adrenérgica (β -AS) [2]. Se requiere una mayor investigación acerca de los mecanismos iónicos implicados en estas observaciones para poder establecer marcadores capaces de anticipar el riesgo de arritmias, y desarrollar terapias específicas para el síndrome LQT1.

El modelado y la simulación computacional se han convertido en una herramienta de gran valor para complementar la investigación experimental y clínica, contribuyendo a avanzar en la comprensión de la electrofisiología cardíaca, tanto en condiciones fisiológicas como patofisiológicas. En particular, se ha demostrado que las metodologías para la estimación de parámetros de modelos computacionales de potencial de acción (AP) a partir de datos experimentales tienen gran potencial en el desarrollo de modelos personalizados *in silico*. Estos modelos permiten investigar mecanismos iónicos que subyacen a ciertas propiedades electrofisiológicas y su relación con el riesgo arritmico, reduciendo así el número de experimentos, que se guiarán de acuerdo con las predicciones obtenidas mediante simulación computacional. En estudios recientes, se ha demostrado que los métodos de estimación de parámetros basados en Double Greedy Dimension Reduction (DGDR) [3] y Kalman Filter (UKF) [4] pueden identificar, con altos niveles de precisión, los parámetros y variables de estado de modelos ventriculares humanos de AP con estocasticidad [5, 6].

En este trabajo evaluamos los métodos UKF y DGDR, tanto de manera combinada como independiente, para la identificación de parámetros de modelos acoplados de electrofisiología y señalización β -AS a partir de trazas de voltaje AP de entrada. Sobre la base de esta identificación, establecemos la capacidad de los métodos para reproducir la variabilidad de la repolarización espacio-temporal en el síndrome LQT1 y caracterizar fenómenos arritmogénicos relacionados con el aumento de la variabilidad.

2. Materiales y Métodos

2.1. Población de modelos de AP estocásticos

Tomando como base el modelo ventricular humano de O'Hara *et al.* [7], se construyó una población de modelos AP estocásticos, con representación de variabilidad espacio-temporal, variando las conductancias de las ocho principales corrientes iónicas (I_{Ks} , I_{Kr} , I_{to} , I_{CaL} , I_{K1} , I_{Na} , I_{NaCa} e I_{NaK}) en el rango $\pm 100\%$ de sus valores nominales. Inicialmente se generaron 8000 modelos por el método de Monte-Carlo, los cuales se redujeron a 2373 modelos tras un proceso de calibración basado en rangos fisiológicos de propiedades electrofisiológicas [6]. Cada uno de estos modelos calibrados representa una célula virtual con distintas propiedades iónicas.

La respuesta a β -AS se introdujo en los modelos computacionales utilizando la formulación descrita por Xie *et al.* [8, 9], junto con las actualizaciones posteriores descritas en [10]. Consideramos que los efectos de β -AS son iguales para todas las células, excepto por la fosforilación de los tres sustratos celulares con un impacto más notable en el AP, es decir, I_{Ks} , I_{CaL} e I_{NaK} [10]. Los factores de multiplicación aplicados a los niveles de fosforilación por PKA de estos tres sustratos, denominados f_{CaL} , f_{Ks} y f_{NaK} , se variaron en rangos que iban desde los valores de referencia (sin β -AS) hasta los valores alcanzados tras la aplicación de una dosis de isoproterenol de $1\mu\text{M}$, la cual produce efectos máximos en el AP. Para la generación de esta población de factores multiplicadores también se usó el método de Monte-Carlo.

Por medio de la combinación de las variaciones descritas en las 8 conductancias iónicas y en 3 niveles de fosforilación, se construyó una población de 2373 modelos celulares estocásticos que representaban tanto las condiciones basales como las de respuesta a β -AS. Además, se modeló el síndrome LQT1 a través de la reducción en un 90% de la conductancia de la corriente de I_{Ks} .

2.2. Estimación de parámetros

Para cada traza de voltaje de entrada, que podría haber sido eventualmente obtenida de forma experimental o generada sintéticamente, se aplicó el método de estimación que combina DGDR y UKF para inferir los parámetros del modelo computacional subyacente. Tal y como se ha descrito en la sección 2.1, estos parámetros representan las diferentes conductancias iónicas y niveles de fosforilación de un modelo electrofisiológico de AP con representación de β -AS.

DGDR es un método diseñado para el análisis de datos de alta dimensión [3]. En este trabajo se aplicó en una primera etapa para la estimación de los parámetros del modelo AP por medio de la proyección de los datos de entrada en un sub-espacio a través de una combinación *sparse* lineal de las entradas de un diccionario previamente definido. Este diccionario estaba formado por diversos marcadores derivados del AP, entre los que se incluían la duración del AP para diferentes porcentajes de repolarización, la variabilidad a corto plazo (STV) de la duración del AP, el voltaje máximo, el potencial de reposo o las diferentes componentes de la descomposición *wavelet*, así como las combinaciones lineales de estos marcadores [6].

Las estimaciones de parámetros obtenidas mediante la aplicación de DGDR se utilizaron en una segunda etapa para inicializar las estimaciones del método basado en el UKF. Este método UKF permite estimar los parámetros del modelo AP por medio de la formulación de representaciones estado-espacio no lineales y de la aproximación de las distribuciones a posteriori de dichos estados mediante la propagación de los denominados *Sigma-Points* [11]. Además, al final de cada latido, las estimaciones obtenidas por UKF se actualizaron, en términos de media y desviación estándar, combinándolas con la estimación por DGDR, evitando así que la

estimación pudiera caer en mínimos locales lejanos de los valores reales de los parámetros.

Se evaluó el comportamiento del método combinado DGDR-UKF en la población calibrada experimentalmente de modelos AP, previamente descrita en la sección 2.1, comparándose con los obtenidos por DGDR y UKF individualmente, tanto en condiciones basales como en respuesta a β -AS. Para este fin, la población de modelos AP se dividió en una subpoblación de entrenamiento de 2.000 células virtuales y una subpoblación de validación de 373 células virtuales. En un paso posterior, se aplicaron las condiciones LQT1 a las poblaciones de entrada y a las generadas a partir de las estimaciones obtenidas, comparando los resultados en términos de reproducción de los marcadores derivados del AP descritos en la siguiente sección.

2.3. Marcadores del AP

Los marcadores derivados del AP se calcularon a partir de N latidos de las trazas de AP de entrada y las estimadas e incluyeron: APD, calculada como la media de las duraciones de AP al 90% de repolarización (APD_{90}) de los latidos individuales, y STV, calculada como la distancia media perpendicular a la línea de identidad en el gráfico de Poincaré del APD_{90} [5]:

$$APD = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N APD_{90}(n)$$

$$STV = \sum_{n=1}^{N-1} \frac{|APD_{90}(n+1) - APD_{90}(n)|}{(N-1)\sqrt{2}}$$

3. Resultados y Discusión

3.1. Variabilidad de repolarización en LQT1

La Fig. 1 muestra las gráficas de Poincaré del APD_{90} para dos células virtuales de la población de modelos descrita en la Sección 2 (modelos #5 y #330) en los cuatro escenarios considerados: basal, β -AS, LQT1 y LQT1 con β -AS. A partir de las trazas de voltaje de cada una de estas células se obtuvieron las diferentes estimaciones de las conductancias iónicas y de los niveles de fosforilación, tanto en situación basal como en respuesta a β -AS, para cada uno de los métodos de estimación DGDR, UKF y DGDR-UKF descritos en la Sección 2.2. A partir de dichas estimaciones se generaron nuevas trazas de AP estimadas, para las cuales se presentan los gráficos de Poincaré de APD_{90} en la misma figura. Como puede observarse, el método combinado DGDR-UKF permitió estimar con mayor precisión los datos de entrada que los métodos DGDR o UKF individualmente. Esta mejor estimación puede apreciarse no solo en términos del APD_{90} medio, sino también de su variabilidad temporal. Tal como puede observarse en la figura, el método combinado DGDR-UKF proporcionó unas nubes de puntos de los datos estimados mucho más semejantes a las de los datos de entrada. Tras la simulación de condiciones de LQT1 por medio de la inhibición de la corriente I_{Ks} , las diferencias entre los distintos métodos de estimación se acentuaron todavía más, pudiendo observarse que el método DGDR-UKF

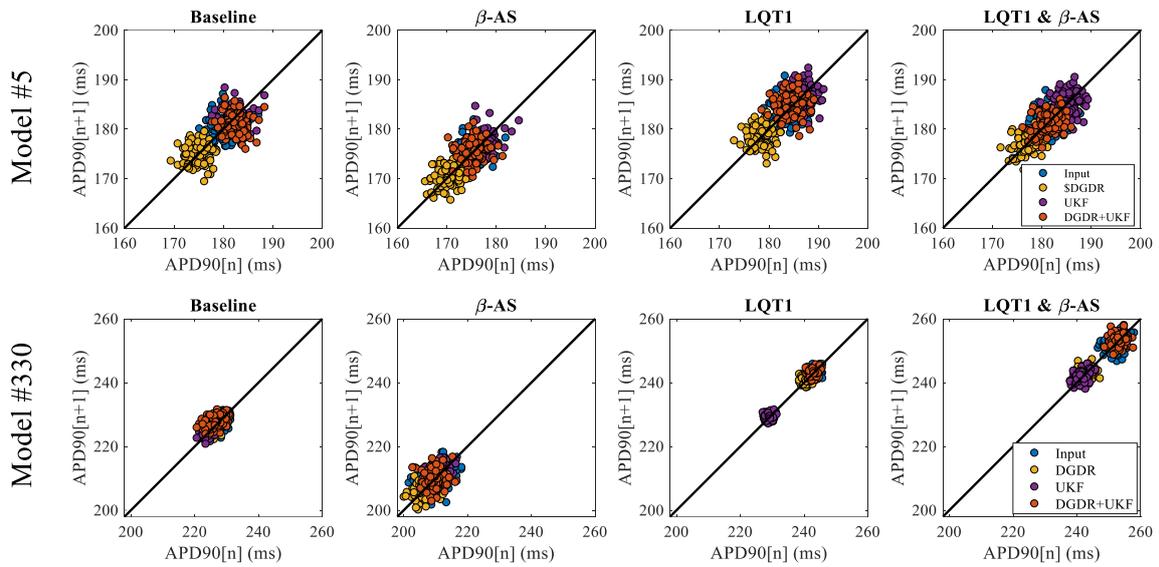


Figura 1. Gráficos de Poincaré del APD90 para dos células virtuales diferentes (modelo #5 y #330 de la población definida en la sección 2.1), calculados a partir de la traza de voltaje de entrada (azul) y a partir de las trazas generadas a partir de las estimaciones por DGDR (amarillo), UKF (morado) y DGDR-UKF (naranja) bajo cuatro condiciones: basal, β -AS, LQT1 y LQT1 con β -AS

reproduce con más alta fiabilidad tanto la duración, APD, como la variabilidad, STV, de la repolarización ventricular.

El rendimiento superior del método combinado DGDR-UKF ilustrado en la Fig. 1 para dos células particulares, se confirmó de forma generalizada en toda la población de células del estudio. La Fig. 2 muestra la función de densidad de probabilidad del error calculado como la diferencia del APD medio (análogamente para STV) de las trazas de AP de entrada y las trazas de AP estimadas. En el caso de LQT1 con β -AS se produjo una reducción del error absoluto medio del APD de 45% y 25% con respecto a los métodos individuales DGDR y UKF, respectivamente, y de

47% y 27% para la desviación estándar de dicho error absoluto. También en la evaluación de STV se produjo una disminución notable del error. Estas funciones de densidad se presentan para dos de los escenarios analizados: condición β -AS y condición LQT1 con β -AS. A partir de estos resultados, puede concluirse que la metodología DGDR-UKF es capaz de representar con mayor precisión la duración y la variabilidad de la repolarización del AP en comparación con los métodos individuales DGDR y UKF. Es importante resaltar que otros métodos propuestos en la literatura, como los basados en Moment-Matching, Genetic Algorithms o Gaussian Process Emulators, no permiten la estimación de los valores óptimos de los parámetros del modelo para cada individuo (célula) de la población. Por otra parte, métodos basados en Markov Chain Monte Carlo, que sí permiten la estimación individual, tienen como gran desventaja el alto coste computacional asociado a la estimación.

Es interesante destacar que la combinación DGDR-UKF pudo reproducir fielmente los valores de APD y STV en todos los modelos de la población, independientemente de si β -AS y LQT1 se asociaron con un aumento, disminución o preservación del APD. Esto es relevante, particularmente considerando el alto nivel de variabilidad inter-individual en tales respuestas, con cambios en el APD que van desde los -86 ms a 12 ms en respuesta a β -AS en comparación con condiciones basales, de 1 ms a 196 ms en LQT1 en comparación con la condición basal y de -24 ms a 178 ms bajo LQT1 con β -AS en comparación con basal sin β -AS.

3.2. Alternancias proarrítmicas de la repolarización bajo condiciones de LQT1

Para evaluar en mayor profundidad el rendimiento de los métodos de estimación analizados, se analizó su capacidad para reproducir alternancias en el APD inducidas por la estimulación adrenérgica en condiciones de LQT1. La Fig.

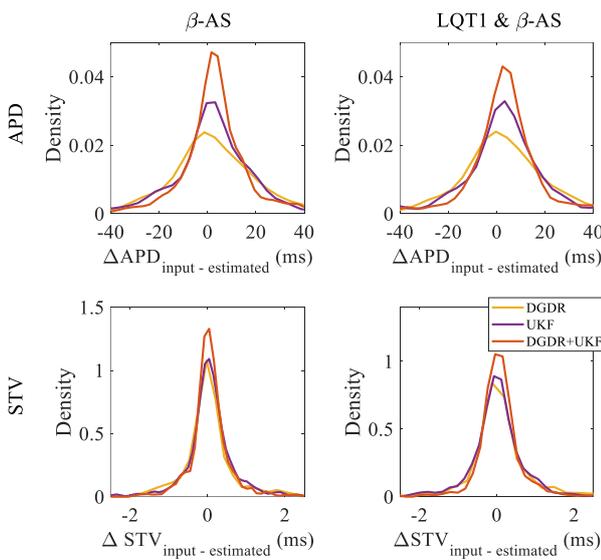


Figura 2. Funciones de densidad de probabilidad del error entre el APD (paneles superiores) y STV (paneles inferiores) de entrada y el estimado para dos diferentes escenarios, β -AS (izquierda) y LQT1 con β -AS (derecha)

3 muestra las trazas de entrada y las trazas de AP estimadas para una célula virtual de la población cuando se estimula a una frecuencia de 5.3Hz. Como puede observarse en dicha figura, los APD presentan valores alternados alto-bajo-alto-bajo a esta frecuencia. Para esa misma célula, se observaron alternancias de APD para todas las frecuencias en el rango de 4.5 a 5.5 Hz. Este fenómeno pudo reproducirse apropiadamente por el AP generado a partir de la estimación por DGDR-UKF, mostrando el patrón alterno de la serie temporal de APD y a su vez reproduciendo la morfología de los APs de la traza de entrada. Por otra parte, para esta misma célula virtual de la Fig. 3, los métodos individuales DGDR y UKF no produjeron alternancias para ninguna frecuencia de

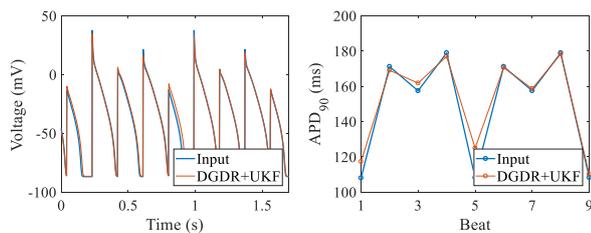


Figura 3. Izquierda: AP de Entrada (azul) y AP generado a partir de la estimación por DGDR (naranja) para una célula virtual de la población de modelos descrita en la Sección 2, mostrando las alternancias del APD inducidas por la β -AS bajo LQT1 al estimularse a 5.3Hz. Derecha: serie temporal de APD correspondiente.

estimulación entre 2 y 10 Hz. Este resultado pone de relieve la necesidad de contar con métodos de identificación robustos y precisos, ya que pequeños errores en la estimación de las conductancias de las corrientes iónicas y/o de los niveles de fosforilación en respuesta a β -AS pueden dar lugar a que los modelos AP no sean capaces de reproducir los fenómenos proarrítmicos relevantes observados en los datos de entrada originales, como son las alternancias de repolarización, o de reproducirlos pero en un rango diferente de frecuencias de estimulación, como se observa en otras células de nuestra población calibrada experimentalmente. Finalmente es interesante resaltar que aunque el patrón de alternancias que se muestra en la Fig. 3 no es el típico patrón 1:1 de valores corto-largo, con todos los APD cortos (respectivamente, largos) teniendo valores similares, la serie temporal de APD muestra diferencias entre los APD de latidos consecutivos superiores a los 14 ms en todos los casos.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha evaluado una metodología que combina el método de reducción de dimensiones DGDR y el filtro UKF no lineal para la identificación robusta y fiable de modelos computacionales de electrofisiología y señalización β -adrenérgica a partir de trazas de voltaje de entrada. Se ha probado que el método propuesto permite la caracterización *in silico* de la duración de la repolarización y de su variabilidad espacio-temporal en condiciones que representan el síndrome LQT1. De manera importante, el método permite replicar fenómenos proarrítmicos observados en LQT1 bajo β -AS, tales como las

alternancias de APD. Este trabajo sienta las bases para futuras investigaciones encaminadas a dilucidar los mecanismos iónicos que subyacen a la generación de arritmias en el síndrome LQT1, particularmente en respuesta a β -AS.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos ERC-StG 638284 (ERC), PID2019-105674RB-I00 y PID2019-104881RB-I00 (MICINN), LMP124-18, y grupo T39-20R, por el contrato predoctoral personal (Gobierno de Aragón y FEDER 2014-2020 “Construyendo Europa desde Aragón”), las ayudas a la movilidad del Campus Iberus Erasmus+ y de la Fundación CAI-Ibercaja a D.A., y por la financiación del INRIA. Los cálculos se han realizado en el ICTS NANBIOSIS (Unidad HPC, U. Zaragoza).

Referencias

- [1] Toivonen L. *et al.* Genotype-Phenotype Correlation in the Long-QT Syndrome. *Circulation* 2001;103(1):89–95. ISSN 0009-7322.
- [2] Gallacher DJ. *et al.* In vivo mechanisms precipitating Torsades de Pointes in a canine model of drug-induced long-QT1 syndrome. *Cardiovas. Res.* 2007; 76(2):247–256.
- [3] Lombardi D, Raphael F. A greedy dimension reduction method for classification problems. *HAL* 2019;hal-02280502.
- [4] Julier SJ, Uhlmann JK. A new extension of the Kalman filter to Nonlinear systems. In *AeroSense '97. Proc. of AeroSense: The 11th Int. Symp. on Aerospace/Defence Sensing, Simulation and Controls.*, 1997; 182–193.
- [5] Sampedro-Puente DA. *et al.* Mechanisms Underlying Interactions Between Low-Frequency Oscillations and Beat-to-Beat Variability of Cellular Ventricular Repolarization in Response to Sympathetic Stimulation: Implications for Arrhythmogenesis. *Front. Physiol.* 2019;10:916.
- [6] Sampedro-Puente DA. *et al.* Characterization of spatiotemporal cardiac action potential variability at baseline and under β -adrenergic stimulation by combined unscented kalman filter and double greedy dimension reduction. *IEEE J. Biomed. Health Inform.* 2020;ISSN 2168-2194.
- [7] O'Hara T. *et al.* Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol* 2011;7(5):e1002061. ISSN 1553-7358.
- [8] Xie Y. *et al.* β -adrenergic stimulation activates early afterdepolarizations transiently via kinetic mismatch of PKA targets. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2013;58:153–161.
- [9] Soltis AR, Saucerman JJ. Synergy between CaMKII substrates and β -adrenergic signaling in regulation of cardiac myocyte Ca²⁺ handling. *Biophys. J.* 2010;99(7):2038–2047.
- [10] Pueyo E. *et al.* Interactive effect of beta-adrenergic stimulation and mechanical stretch on low-frequency oscillations of ventricular action potential duration in humans. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016;97:93–105.
- [11] Sampedro-Puente DA. *et al.* Data-driven identification of stochastic model parameters and state variables: Application to the study of cardiac beat-to-beat variability. *IEEE J. Biomed. Health Inform.* 2020;24(3):693–704.