

Modificación de un modelo de miocito ventricular humano para representar el papel de los canales SK en insuficiencia cardíaca

M.Gómez¹, J. Carro¹, E. Pueyo^{3,4}, V. Monasterio¹

¹ Universidad San Jorge, Villanueva de Gállego, España {magomez,jcarro,vmonasterio}@usj.es

² Aragón Institute for Engineering Research, University of Zaragoza, IIS Aragón, Spain, epueyo@unizar.es

³ CIBER in Bioengineering, Biomaterials & Nanomedicine (CIBER-BBN), Spain, epueyo@unizar.es

Resumen

Los canales SK son canales de potasio activados por calcio de conductancia individual alrededor de 10 pS. En los últimos años han cobrado importancia, ya que, aunque no tienen un papel determinante en la electrofisiología ventricular en corazones sanos, se ha comprobado que en condiciones de insuficiencia cardíaca aparecen sobreexpresados, lo que puede tener efectos relevantes en la repolarización ventricular.

En este trabajo se propone la ampliación de un modelo electrofisiológico de miocito ventricular humano mediante la introducción de las ecuaciones que representan la actividad de los canales SK, con el fin de obtener una herramienta que nos permita estudiar el papel de estos canales en la repolarización ventricular en condiciones de insuficiencia cardíaca. Para ello, se parte de un modelo ventricular capaz de representar las condiciones de insuficiencia cardíaca. Dicho modelo se amplía añadiendo una formulación para la corriente generada por estos canales I_{SK} . Para el ajuste de la conductancia máxima, G_{SK} , se realizan simulaciones que se comparan con datos experimentales de duración del potencial de acción obtenidos de la literatura. Los resultados obtenidos con el nuevo modelo son coherentes con la prolongación del potencial de acción producida por el bloqueo farmacológico de los canales SK que se observa experimentalmente en miocitos humanos con insuficiencia cardíaca.

1. Introducción

El desarrollo de modelos matemáticos que describan la actividad eléctrica del corazón y ayuden a comprender mejor la electrofisiología cardíaca es importante ya que, hoy en día, las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de mortalidad en el mundo [1]. La insuficiencia cardíaca (IC) es una afección crónica y progresiva en la que el músculo cardíaco no puede bombear suficiente sangre para satisfacer las necesidades corporales de sangre y oxígeno. Puede ocurrir porque el corazón se ha vuelto demasiado débil o rígido. Además, suele aparecer asociada a otras patologías metabólicas y/o cardíacas como la fibrilación auricular (FA), que es la arritmia más común en la práctica clínica, caracterizada por una activación rápida y descoordinada de las aurículas. Avances recientes en la búsqueda de terapias contra la FA apuntan a que la modulación de los canales SK, canales de potasio activados por calcio de conductancia individual pequeña (del orden de 10 pS), podría tener efectos beneficiosos en estos pacientes. Es por eso por lo que, en los últimos años, los canales de

potasio activados por calcio han cobrado importancia en el campo de la electrofisiología cardíaca. Estos canales regulan el potencial de membrana y el tono vascular en los vasos sanguíneos. De acuerdo con su conductancia (pequeña, media o alta), son clasificados de tres formas diferentes. En concreto, los canales SK (conductancia pequeña) carecen del sensor de voltaje común de otros canales iónicos y, por lo tanto, están activados puramente por calcio. Cuando el calcio intracelular aumenta durante la descarga repetida del potencial de acción (AP), la activación de los canales SK genera una hiperpolarización de larga duración, denominada “post-hiperpolarización lenta”, que reduce la excitabilidad. Por lo tanto, los canales SK proporcionan un vínculo crítico entre el calcio intracelular y el potencial de membrana [2,3]. Se ha comprobado que los canales SK contribuyen notablemente a la fase de repolarización tardía del AP auricular, pero hasta hace poco se consideraba que no desempeñaban un papel relevante en la repolarización ventricular. Sin embargo, estudios recientes en miocitos y tejidos ventriculares han demostrado que los canales SK responden de forma diferente en ciertos estados patológicos, destacando estos canales como un posible mecanismo de respaldo en circunstancias patológicas [4].

En concreto, se ha observado experimentalmente que el bloqueo de los canales SK produce una prolongación de la duración del potencial de acción (APD) ventricular en condiciones de IC, pero no tiene efecto en condiciones fisiológicas [4]. Estos resultados sugieren, que la sobreexpresión de los canales SK en condiciones patológicas podría ser una respuesta fisiológica adaptativa para acortar el APD bajo una reserva de repolarización reducida [5]. Sin embargo, las condiciones bajo las cuales la acción de estos canales puede considerarse proarrítmica o antiarrítmica aún no se comprenden bien.

El objetivo de este trabajo es proponer un modelo matemático de electrofisiología celular para investigar los posibles efectos arrítmicos ventriculares de los canales SK en condiciones de IC. Se ha partido de un modelo ventricular capaz de representar condiciones de IC y se ha ampliado añadiendo una formulación para la corriente generada por los canales I_{SK} basada en datos disponibles en la literatura. Los resultados del modelo se han comparado con datos experimentales para comprobar su validez.

2. Métodos

2.1. Modelo ventricular humano

Se utilizó como punto de partida el modelo de miocito ventricular humano O'Hara-Rudy (ORd) [6]. Es el modelo ventricular humano más ampliamente utilizado y validado en la literatura. Se modificó para representar las condiciones de IC según [7]. También se sustituyó la formulación original de I_{Na} por la formulación de tenTuscher et al. [8] para representar mejor la pendiente máxima del inicio del AP, de manera similar al método utilizado en [9].

Para incluir la formulación de la corriente I_{SK} , se utilizaron las ecuaciones propuestas en [10], es decir:

$$\begin{cases} I_{SK} = G_{SK} x_{SK} (V - E_K) \\ \frac{dx_{SK}}{dt} = \frac{x_{SK,\infty} - x_{SK}}{\tau_{SK}} \\ x_{SK,\infty} = \frac{1}{1 + (K_d / cass)^n} \\ \tau_{SK} = \tau_0 + \frac{\tau_1}{1 + (cass / 0.1)} \end{cases}$$

donde G_{SK} representa la conductancia de la corriente, x_{SK} la compuerta de activación por calcio, τ_{SK} la constante de tiempo de dicha compuerta, $x_{SK,\infty}$ el valor de la compuerta en estado estacionario y $cass$ la concentración de calcio en la zona en la que se encuentran los canales SK.

Se tomaron como referencia datos experimentales publicados en la literatura [10,11] para obtener el valor de los distintos parámetros de los canales SK: $\tau_0 = 4$ ms, $\tau_1 = 20$ ms, $n = 3.14$, $K_d = 0.000345$ mM.

En la literatura no se encontraron valores experimentales para el valor de la conductancia G_{SK} en miocitos ventriculares humanos. Por lo tanto, se decidió realizar un ajuste para estimar un valor óptimo en función de datos experimentales.

2.2. Valores experimentales de referencia

Para llevar a cabo el ajuste de la conductancia, se consideraron los datos experimentales publicados en [4], donde se estudiaron células endocárdicas de 7 pacientes con IC y se midieron los marcadores APD₅₀ (duración al 50% de la repolarización) y APD₉₀ (duración al 90% de la repolarización) en condiciones con y sin bloqueo de la corriente I_{SK} , para tres frecuencias de estimulación distintas: 0.5, 1 y 2 Hz (ver Figura 1). El bloqueo se llevó a cabo con 100 nM de apamina.

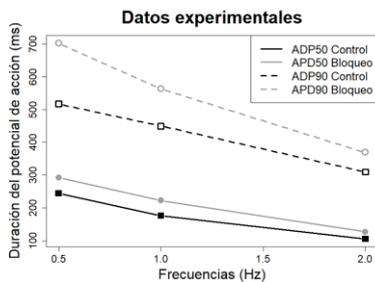


Figura 1. Valores de APD₅₀ y APD₉₀ en condiciones de bloqueo de los canales SK frente a condiciones de control. Figura replicada de [4].

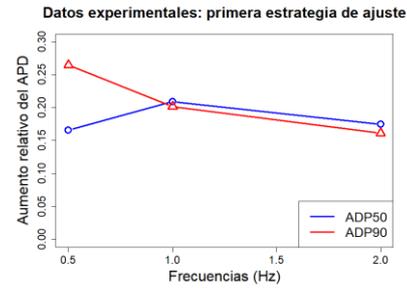


Figura 2. Aumento relativo en APD₅₀ y APD₉₀ sin I_{SK} frente a condiciones con I_{SK} .

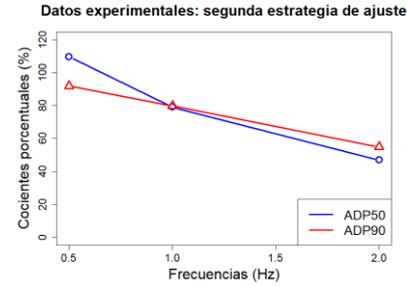


Figura 3. Cocientes porcentuales del APD₅₀ y el APD₉₀ sin I_{SK} frente a condiciones con I_{SK} .

A partir de los datos experimentales se estudió cómo variaba el APD en presencia de los canales SK. Se siguieron dos estrategias diferentes para estudiar esta variación, en función de qué valor se tomaba como referencia.

Para la primera estrategia, se calculó el aumento relativo (A) producido por el bloqueo de los canales, en APD₅₀ y APD₉₀ para cada una de las frecuencias de estimulación, según la siguiente ecuación:

$$A = \frac{APD_{\sin I_{SK}} - APD_{\text{con } I_{SK}}}{APD_{\sin I_{SK}}}$$

Los datos de referencia de esta primera estrategia se presentan en la Figura 2.

Como referencia para la segunda estrategia, se tomaron los cocientes porcentuales (C) de los datos en control, respecto de los valores de referencia de APD₅₀ y APD₉₀ a 1 Hz en condiciones de bloqueo de los canales SK. Se tomó esa frecuencia de referencia al considerarse situación de control (a nivel de frecuencia). Es decir:

$$C = \frac{APD_{i-\text{con } I_{SK}}(j \text{ Hz})}{APD_{i-\text{sin } I_{SK}}(1 \text{ Hz})} \cdot 100 \quad i = 50, 90 \text{ y } j = 0.5, 1, 2$$

Los datos de referencia de esta segunda estrategia se muestran en la Figura 3.

2.3. Ajuste de la conductancia G_{SK}

Para hallar el valor de G_{SK} , se realizó una minimización por superficies de respuesta de la siguiente función de error que representa el error cuadrático medio de la

diferencia entre los valores experimentales y los resultados del modelo [13]:

$$f(G_{SK}) = \sum_{i=1}^M (err_{m_i}(G_{SK}))^2 = \sum_{i=1}^M (\mu_i - m_i(G_{SK}))^2$$

donde μ_i representa cada uno de los $M = 6$ valores obtenidos experimentalmente (los valores de A o C representados en las Figuras 2 y 3 según la estrategia de ajuste) y $m_i(G_{SK})$ representa los valores simulados con el modelo computacional para cada valor de conductancia G_{SK} .

Siguiendo la metodología de [13], para no tener que simular el modelo y calcular todos los parámetros en cada iteración de la búsqueda del mínimo, se realizaron 20 simulaciones para diferentes valores de G_{SK} y con esos resultados se aproximaron los valores de A y C mediante polinomios de grado 2. Con estos polinomios y la función de error indicada anteriormente, se realizó la búsqueda del mínimo mediante el método de *Brent* [14], tomando como punto inicial para el algoritmo el valor de G_{SK} asociado con menor error de entre los 20 valores simulados. Una vez obtenido el mínimo, se comprobó que las simulaciones del modelo con ese valor de G_{SK} devolvían los valores esperados.

Las simulaciones se llevaron a cabo utilizando DENIS [15], un simulador de electrofisiología cardiaca basado en el estándar CellML, que utiliza una red de computación voluntaria. Se utilizó *Forward Euler* (FE) para la integración con un paso temporal de 0.01 ms. Se utilizó una estimulación monofásica, para la cual se estableció un valor de $-80 \mu\text{A}/\mu\text{F}$, correspondiente a dos veces el umbral diastólico. Tras una exploración inicial considerando valores de conductancia entre 0 y 0.5, según referencias de la literatura [10], se estableció un rango de búsqueda para G_{SK} óptimo de 0 a $0.006 \mu\text{S}$. Para cada valor de G_{SK} , el modelo se estimuló con frecuencias de 0.5 Hz, 1 Hz y 2 Hz, durante 20 ciclos cada vez bajo condiciones de control y con bloqueo por apamina. El bloqueo experimental con apamina se simuló como un bloqueo total de la corriente I_{SK} , es decir, $G_{SK} = 0$, ya que la concentración utilizada (100 nM) es un orden de magnitud mayor que la IC_{50} reportada en la literatura [16].

3. Resultados

3.1. Resultados de la primera estrategia de ajuste

Como resultado de la primera estrategia de ajuste, se obtuvo un error mínimo para un valor de conductancia de $G_{SK} = 0.004356 \mu\text{S}$. La Figura 4 muestra gráficamente la comparativa de los valores obtenidos.

3.2. Resultados de la segunda estrategia de ajuste

Como resultado de la segunda estrategia de ajuste, se obtuvo un error mínimo para un valor de conductancia de $G_{SK} = 0.00507 \mu\text{S}$. Los valores obtenidos se muestran en la Figura 5.

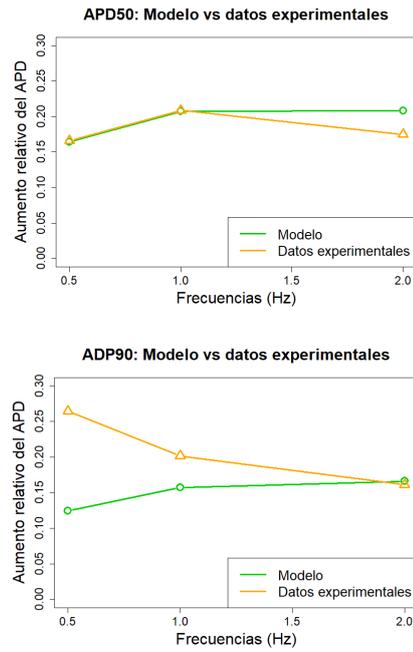


Figura 4. Comparativa de los resultados entre el modelo y los datos experimentales del APD₅₀ y APD₉₀.

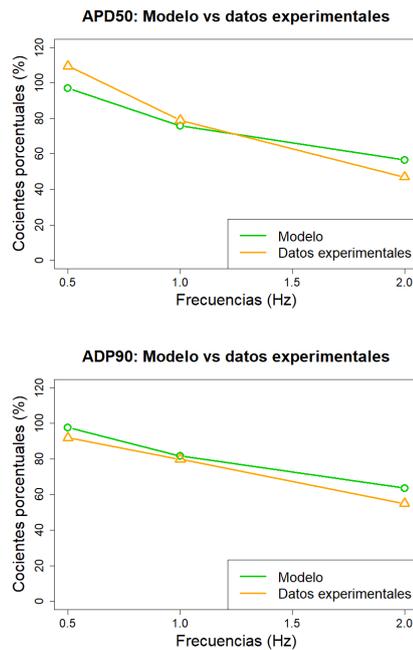


Figura 5. Comparativa de los resultados entre el modelo y los datos experimentales del APD₅₀ y APD₉₀.

4. Discusión y conclusiones

En este trabajo se propone un modelo matemático celular para investigar el efecto de los canales SK en ventrículo humano en condiciones de insuficiencia cardiaca. Para ello, se amplió un modelo electrofisiológico existente añadiendo las ecuaciones para la corriente I_{SK} . Para esta corriente se eligió una formulación sin rectificación, ya que formulaciones alternativas con rectificación [12] requerirían estimar un mayor número de parámetros y,

dada la falta de datos experimentales, podría introducirse un grado de incertidumbre elevado en el modelo. En la formulación elegida, los valores para las constantes de tiempo y para la constante de disociación se extrajeron de la literatura. No fue posible encontrar un valor para la conductancia G_{SK} , por lo que se realizó un ajuste mediante dos estrategias diferentes.

En primer lugar, se intentó replicar la prolongación de APD_{50} y APD_{90} producida por el bloqueo de los canales SK para cada frecuencia de estimulación. Los resultados del modelo se acercaron más a los experimentales en el caso de APD_{50} que en el caso de APD_{90} (Figura 4). La variación con la frecuencia de APD_{90} simulado no siguió la tendencia descendente de los resultados experimentales. Cabe destacar que dicha tendencia descendente puede no ser significativa, ya que en el estudio original no se comparan estadísticamente las diferencias en la prolongación del APD en función de la frecuencia.

A la vista de estos resultados, se decidió adoptar una segunda estrategia tomando como referencia la variación de los marcadores con respecto a la situación de bloqueo con estimulación a 1 Hz.

Los resultados obtenidos con la segunda estrategia basada en cocientes porcentuales muestran que los marcadores simulados tienen un comportamiento similar al de los marcadores experimentales (Figura 5).

Se encontró que las dos estrategias para la determinación de G_{SK} produjeron valores muy similares, aportando fiabilidad al valor propuesto. Por lo tanto, se considera que el ajuste puede ser aceptable para estudios posteriores, y que un valor fisiológicamente razonable podría estar bastante cercano al que se ha encontrado en este estudio. No obstante, el modelo resultante deberá ser validado en simulaciones 1D y 2D para comprobar si permite reproducir propiedades observadas experimentalmente en tejido.

Agradecimientos

Este trabajo está financiado por los proyectos ERC-StG 638284 (ERC) y PID2019-105674RB-I00 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y por el Fondo Social Europeo (UE) y el Gobierno de Aragón a través del grupo BSICoS T39_20R. Los cálculos se realizaron utilizando la ICTS NANBIOSIS (HPC Unit, Univ. Zaragoza).

Referencias

- [1] Gómez, Luis Alberto "Las enfermedades cardiovasculares: un problema de salud pública y un reto global". *Biomédica*, vol. 31, no.4, 2011.
- [2] Skibbye L, Poulet C, Diness JG, Bentzen BH, Yuan L, Kappert U, Matschke K, Wettwer E, Ravens U, Grunnet M, Christ T, Jespersen T. "Small-conductance calcium-activated potassium (SK) channels contribute to action potential repolarization in human atria". *Cardiovasc Res.*, vol.103, no.1, pp. 156-167. 2014.
- [3] C. Celotto, C. Sánchez, P. Laguna and E. Pueyo, "Calcium-Activated Potassium Channels Inhibition in Autonomically Stimulated Human Atrial Myocytes," *Computing in Cardiology (CinC)*, Singapur, 2019, pp. 1- 4.
- [4] Bonilla, I. M., Long, V. P., 3rd, Vargas-Pinto, P., Wright, P., Belevych, A., Lou, Q., Mowrey, K., Yoo, J., Binkley, P. F., Fedorov, V. V., Györke, S., Janssen, P. M., Kilic, A., Mohler, P. J., & Carnes, C. A. "Calcium-activated potassium current modulates ventricular repolarization in chronic heart failure". *PLoS one*, vol.9, no.10, 2014.
- [5] Gu, M., Zhu, Y., Yin, X., & Zhang, D. M. "Small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels: insights into their roles in cardiovascular disease". *Experimental & molecular medicine*, vol.50, no.4, pp. 1-7, 2018.
- [6] O'Hara, T., Virág, L., Varró, A., & Rudy, Y. "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation". *PLoS computational biology*, vol.7, no.5, 2011.
- [7] Gomez, J. F., Cardona, K., Romero, L., Ferrero, J. M., Jr, & Trenor, B. "Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulation study". *PLoS one*, vol.9, no.9, 2014.
- [8] ten Tusscher, K. H., Noble, D., Noble, P. J., & Panfilov, A. V. "A model for human ventricular tissue". *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, vol.286, no.4, pp.73-89, 2004.
- [9] Mora, M. T., Ferrero, J. M., Romero, L., & Trenor, B. "Sensitivity analysis revealing the effect of modulating ionic mechanisms on calcium dynamics in simulated human heart failure". *PLoS one*, vol.12, no.11, 2017.
- [10] Landaw, J., Zhang, Z., Song, Z., Liu, M. B., Olcese, R., Chen, P. S., Weiss, J. N., & Qu, Z. "Small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels promote J-wave syndrome and phase 2 reentry". *Heart rhythm*, vol.17, no.9, pp. 82-90, 2020.
- [11] Chang, P. C., Turker, I., Lopshire, J. C., Masroor, S., Nguyen, B. L., Tao, W., Rubart, M., Chen, P. S., Chen, Z., & Ai, T. "Heterogeneous upregulation of apamin-sensitive potassium currents in failing human ventricles". *Journal of the American Heart Association*, vol.2, no.1, 2013.
- [12] Bronk, P., Kim, T. Y., Polina, I., Hamilton, S., Terentyeva, R., Roder, K., Koren, G., Terentyev, D., & Choi, B. R. "Impact of Isk Voltage and Ca^{2+}/Mg^{2+} -Dependent Rectification on Cardiac Repolarization". *Biophysical journal*, vol.119, no.3, pp. 690-704, 2020.
- [13] Carro, J., Pueyo, E., & Rodríguez Matas, J. F. "A response surface optimization approach to adjust ionic current conductances of cardiac electrophysiological models. Application to the study of potassium level changes". *PLoS one*, vol.13, no.10, 2018.
- [14] Brent, R. "Algorithms for Minimization without Derivatives". Englewood Cliffs N.J.: Prentice-Hall, 2002.
- [15] Monasterio, V., Castro-Mur, J., & Carro, J. "DENIS: Solving cardiac electrophysiological simulations with volunteer computing". *PLoS one*, vol 13, no.10, 2018.
- [16] Benton, D. C. H., Garbarg, M., & Moss, G. W. J. "The Relationship between Functional Inhibition and Binding for KCa_2 Channel Blockers". *PLoS one*, vol.8, no.9, 2013.