

Estudio mediante modelado y simulación del efecto de la isquemia miocárdica aguda en las fibras de Purkinje de corazón humano

A García-Escolano¹, MT Mora¹, V Monasterio², JF Rodríguez³, JM Ferrero¹

¹Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Univ. Politécnica de Valencia, España (cferrero@ci2b.upv.es)

²Universidad San Jorge, Villanueva de Gállego, España

³Politecnico di Milano, Milán, Italia

Resumen

Es sabido que la isquemia miocárdica, en su fase aguda, provoca cambios electrofisiológicos que predisponen al miocardio a sufrir arritmias reentrantes tales como la fibrilación ventricular. Sin embargo, el papel arritmogénico de las fibras de Purkinje es todavía desconocido. El objetivo del presente trabajo es estudiar, mediante simulación computacional, el efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre el potencial de acción de las fibras de Purkinje humanas y su influencia en los potenciales de acción de los cardiomiocitos a los que éstas están acopladas. Para ello se modificaron los modelos de fibra de Purkinje de Stewart y de cardiomiocito ventricular de Ten Tusscher para incluir los efectos de la isquemia. Se sometió al sistema formado por el acoplamiento entre los dos modelos a condiciones variables de hipoxia, hiperkalemia y acidosis, los tres componentes de la isquemia. Los resultados muestran un aumento de la automaticidad de las fibras de Purkinje en condiciones de isquemia moderada, que en algunos casos indujo actividad ectópica en los cardiomiocitos acoplados. El factor más influyente en este fenómeno es la hiperkalemia, mientras que la hipoxia y la acidosis tienden a reducir la automaticidad anormal. Los resultados del estudio enfatizan el posible papel de las fibras de Purkinje en la generación del estímulo prematuro que inicia una fibrilación ventricular.

1. Introducción

Según la OMS, la mortalidad causada por cardiopatías coronarias fue de 7.4 millones de personas en el año 2012 [1]. Por un lado, muchas de estas patologías están relacionadas con la oclusión de una arteria coronaria y, por tanto, con la isquemia miocárdica. Por otro lado, existe una relación entre el cese de flujo sanguíneo a través de un vaso coronario y la generación de arritmias malignas [2].

Las arritmias son originadas por un agente causante, que inicia una reentrada, y un factor de mantenimiento, que perpetúa la circulación eléctrica anómala en el tiempo. Los latidos prematuros propagados durante un período crítico son capaces de generar reentradas [3] y la investigación al respecto se ha centrado en el pasado en los cardiomiocitos ventriculares, estableciéndose relaciones entre la actividad bioeléctrica de las células en isquemia miocárdica y el origen de las arritmias.

Sin embargo, existen escasos estudios acerca de los fenómenos bioeléctricos de las fibras de Purkinje humanas en condiciones de isquemia miocárdica aguda y su posible implicación en la generación de latidos prematuros. El

hecho de que las fibras de Purkinje tengan carácter marcapasos (es decir, muestren disparos espontáneos) las convierte hipotéticamente en posibles focos arritmogénicos. La caracterización de la actividad eléctrica de estas células mediante experimentación *in silico* con modelos computacionales y simulaciones supondría por consiguiente una contribución para ampliar el conocimiento de los mecanismos proarrítmicos en el tejido cardíaco.

Adicionalmente, debido a que las fibras de Purkinje propagan potenciales de acción (PA) hacia los cardiomiocitos ventriculares mediante la unión Purkinje-músculo, también resulta relevante el estudio del funcionamiento de dichas uniones durante la isquemia miocárdica aguda.

El objetivo del presente trabajo es analizar, mediante simulación computacional, el posible efecto arritmogénico, por generación de latidos prematuros de manera espontánea, de las fibras de Purkinje de corazón humano durante los diez primeros minutos posteriores a la oclusión de una arteria coronaria.

2. Métodos

Los modelos matemáticos utilizados se basan en los de fibra de Purkinje de Stewart et al. [4] y cardiomiocito ventricular de Ten Tusscher et al. [5]. Con la finalidad de simular las condiciones de isquemia aguda, consistentes en hiperkalemia, acidosis e hipoxia, ambos modelos fueron modificados para incluir factores multiplicativos dependientes del pH sobre las corrientes I_{Na} e I_{CaL} , y del ATP, el ADP y el ion magnesio sobre las corrientes de las bombas I_{pCa} , I_{up} e I_{NaK} [6]. Además, se introdujo la corriente $I_{K(ATP)}$ de acuerdo al modelo de Ferrero et al. [7].

Para definir un modelo conectado de fibra de Purkinje y cardiomiocito, se acoplaron los modelos antedichos mediante una conductancia de 0.155 pS en serie con un factor de amplificación de magnitud 200, de acuerdo con la formulación de Vigmond et al. [8].

Las condiciones experimentales y ambientales se establecieron para el pH y las concentraciones de ADP, ATP, Mg^{2+} y K^+ . Su rango abarca desde situaciones no isquémicas (control) hasta condiciones de isquemia aguda severa, como se puede observar en la Tabla 1, en la que los

subíndices i y e indican intracelular y extracelular, respectivamente. La evolución temporal de las variables se formuló, por un lado, como una función lineal continua para realizar simulaciones dinámicas durante 10 minutos y analizar los cambios en el potencial de acción con la evolución conjunta de todas las condiciones en el tiempo. Por otro lado, se modelizaron las variables como valores fijos para llevar a cabo simulaciones estáticas y estudiar el efecto por separado de cada condición. Las simulaciones estáticas abarcaron el estudio de cuatro condiciones: hiperkalemia, hiperkalemia con hipoxia, hiperkalemia con acidosis e isquemia.

Parámetro	Valor en isquemia	Valor en control
$[K^+]_e$	6.4-15.4 mM	5.4 mM
$[ATP]_i$	4.6 mM	-6.8 mM
$[ADP]_i$	0.099 mM	0.015 mM
$[Mg^{2+}]_i$	2.5 mM	0.5 mM
pH _i	1	0.5

Tabla 1. Valores de los diferentes parámetros ambientales representativos de la isquemia miocárdica aguda [9].

Debido a que las fibras de Purkinje son estimuladas de manera natural desde el nodo AV y, en última instancia, el nodo SA, también se llevaron a cabo simulaciones con y sin la influencia del nodo SA tanto para fibra de Purkinje como para el modelo acoplado, de forma dinámica y estática. Las corrientes provenientes del nodo SA se introdujeron como estímulos negativos de $-25 \mu A$ con frecuencia de 1 Hz y duración de 1 ms.

En síntesis, surgieron ocho conjuntos de simulaciones: las combinaciones de fibra de Purkinje con y sin estimulación sinusal, de manera estática o dinámica, y un proceso idéntico para el modelo acoplado fibra de Purkinje-endocardio, en el que se registraron los potenciales de acción de ambas células.

La ejecución de las simulaciones se realizó en entorno MATLAB utilizando el solver ode15s. Para analizar los registros de potenciales de acción de simulaciones con modelos no estimulados, se midieron la duración del potencial de acción al 90% de la repolarización (APD), la frecuencia de auto-estimulación espontánea de las fibras de Purkinje y la amplitud máxima de los potenciales acción. El software de análisis se también fue implementado en entorno MATLAB.

3. Resultados

En primer lugar, se llevaron a cabo simulaciones estáticas en ausencia de estimulación, en las que se combinaron los componentes de la isquemia tal como se explicó en el apartado de "Métodos", utilizando el modelo de fibra de Purkinje aislada.

La Figura 1 muestra la dependencia de la frecuencia de auto-disparo de la fibra de Purkinje simulada frente a la concentración extracelular de potasio para las diferentes combinaciones isquémicas simuladas. Como puede

observarse, la frecuencia de auto-disparo de la fibra de Purkinje aislada y no estimulada aumenta al progresar la hiperkalemia, sufre un descenso para valores de $[K^+]_e$ moderados, y continúa aumentando para niveles de hiperkalemia más severos. Este patrón muestra diferencias cuantitativas en función de la combinación de componentes isquémicas simuladas. La máxima frecuencia de auto-disparo (1.32 Hz) se alcanza para $[K^+]_e = 8 \text{ mM}$ en ausencia de hipoxia y acidosis. La presencia adicional de hipoxia y acidosis reduce el valor de la frecuencia máxima (p.ej., 1.21 Hz en presencia de hipoxia) y/o cambia el nivel de hiperkalemia que proporciona la máxima frecuencia de auto-disparo (p.ej., $[K^+]_e = 7.4 \text{ mM}$ en presencia de acidosis). Por último, la presencia simultánea de las tres componentes de la isquemia inhibe por completo la automaticidad de las fibras de Purkinje para valores de $[K^+]_e$ inferiores a 9.6 mM.

Así, la situación de hiperkalemia progresiva resultó ser la más determinante en el ascenso de la frecuencia de auto-disparo, mientras que la presencia simultánea de hipoxia y/o acidosis tiende a reducir la excitabilidad espontánea de las fibras de Purkinje aisladas.

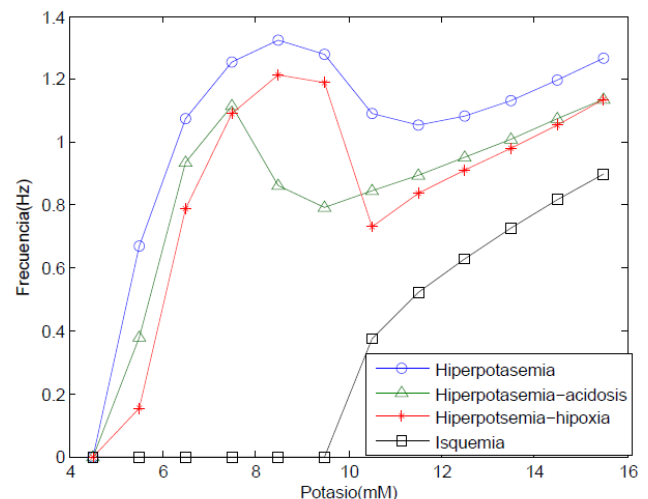


Figura 1. Evolución de la frecuencia de auto-disparo en una fibra de Purkinje aislada y no estimulada para cuatro condiciones patológicas.

En cuanto a los parámetros del PA medidos, se observó tanto para el APD como para la amplitud máxima del PA un aumento inicial seguido por un descenso a medida que el valor de $[K^+]_e$ se incrementaba.

En segundo lugar, se llevaron a cabo simulaciones sin estímulo sinusal y con parámetros ambientales dinámicos. Los resultados, mostrados en la Figura 2, muestran una supresión transitoria de la automaticidad alrededor del quinto minuto de isquemia (entre los segundos 1300 y 1400 de la simulación), mientras que el potencial de reposo se eleva y la amplitud máxima disminuye. Tras este cese transitorio de la automaticidad de la fibra de Purkinje, se reinstaura una frecuencia de auto-disparo inferior a la de condiciones de control.

En tercer lugar, se llevaron a cabo simulaciones con estímulo sinusal y parámetros ambientales estáticos. Los resultados, mostrados en la Figura 3, revelan la aparición

de PA prematuros para valores hiperkalémicos entre 6.4 y 10.4 mM y de hipoxia con hiperkalemia entre 7.4 y 9.4 mM. En la *Figura 3*, se puede observar un segmento del registro de PA para hiperkalemia de 8.4 mM. Estos latidos prematuros presentan intervalos de acoplamiento variable con los latidos regulares, y son el resultado de la alternancia entre potenciales de acción de origen sinusal (estimulados) y no sinusal (espontáneos).

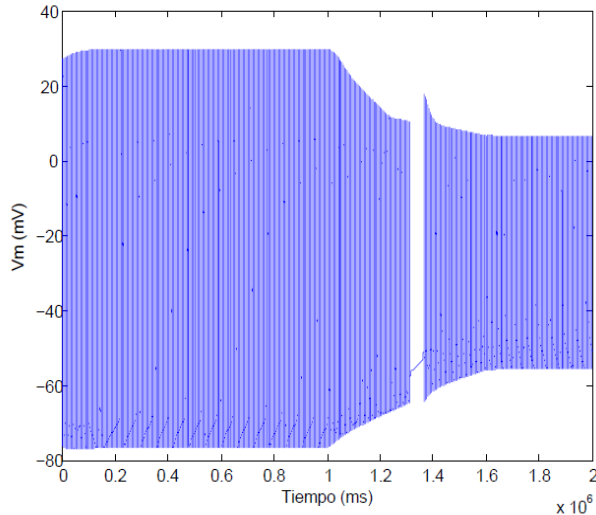


Figura 2. Registro de PA en la fibra de Purkinje para parámetros ambientales dinámicos. La isquemia se inicia tras 1000 segundos de estabilización celular en condiciones de control.

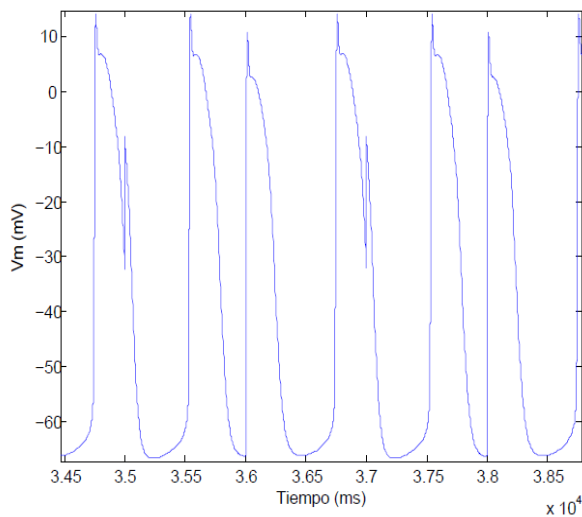


Figura 3. Registro de PA para simulación dinámica estimulada en la que se observan dos latidos prematuros.

El segundo bloque de simulaciones corresponde al modelo acoplado de fibra de Purkinje y cardiomiocito. Para simulaciones en ausencia de estímulo sinusal y parámetros ambientales estáticos (no mostrado en las figuras), el comportamiento electro-fisiológico de la fibra de Purkinje no mostró diferencias significativas con el caso aislado. Sin embargo, los PA en el endocardio sólo se desencadenaron en algunas de las condiciones isquémicas ensayadas, incluyendo valores hiperkalémicos entre 5.4 y 8.4 mM.

En el conjunto de simulaciones sin estímulo sinusal y parámetros ambientales dinámicos, los resultados mostraron un patrón similar al encontrado para el modelo de fibra de Purkinje aislada (ver *Figura 4*). Durante la etapa no isquémica y al inicio de la progresión de los parámetros isquémicos, la fibra de Purkinje fue capaz de disparar PAs en el cardiomiocito para valores moderados de isquemia (primer minuto). Sin embargo, la estimulación recibida por el cardiomiocito desde la fibra de Purkinje a partir del primer minuto de isquemia fue subumbral, produciéndose un bloqueo en la conducción.

En otro conjunto de simulaciones, la estimulación sinusal con parámetros ambientales estáticos presentaron PA prematuros en ambas células para valores hiperkalémicos entre 6.4 y 9.4 mM (ver *Figura 5*). Por último, en las simulaciones con estimulación sinusal y parámetros ambientales dinámicos, aparecieron PA prematuros en la fibra de Purkinje que no conseguían disparos de PA en el cardiomiocito (no mostrado).

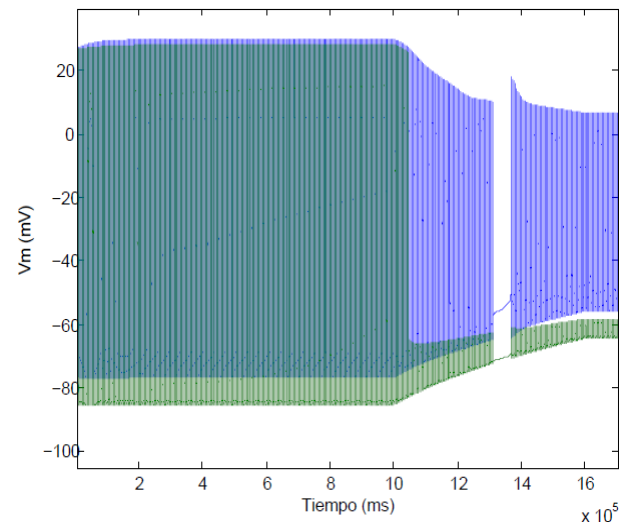


Figura 4. Registro de PA para el modelo acoplado fibra de Purkinje (azul) y endocardio (verde) en simulación dinámica sin estímulo sinusal.

4. Discusión

Con objeto de relacionar los efectos de la isquemia miocárdica aguda y la generación de latidos prematuros en las fibras de Purkinje como desencadenantes de arritmias, es necesario focalizar el análisis en su frecuencia de auto-disparo. Observando los resultados del modelo de fibra de Purkinje aislada, se sugiere que el efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre dichas células es proarrítmico, debido al ascenso de la frecuencia de auto-disparo, que podría resultar superior a la frecuencia sinusal y ocasionar PA prematuros en determinados rangos hiperkalémicos. La causa del aumento de la frecuencia podría encontrarse en el descenso del potencial de reposo en valor absoluto con la hiperkalemia. Ello provocaría que la corriente despolarizante I_f necesite un intervalo menor de tiempo para alcanzar el potencial umbral y desencadenar el PA. Sin embargo, la progresión hiperkalémica también puede provocar cambios en el potencial umbral que desencadena

la apertura masiva de canales iónicos I_{Na} , por lo que la frecuencia de auto-disparo finalmente dependería de un equilibrio variante entre los potenciales umbral y de reposo.

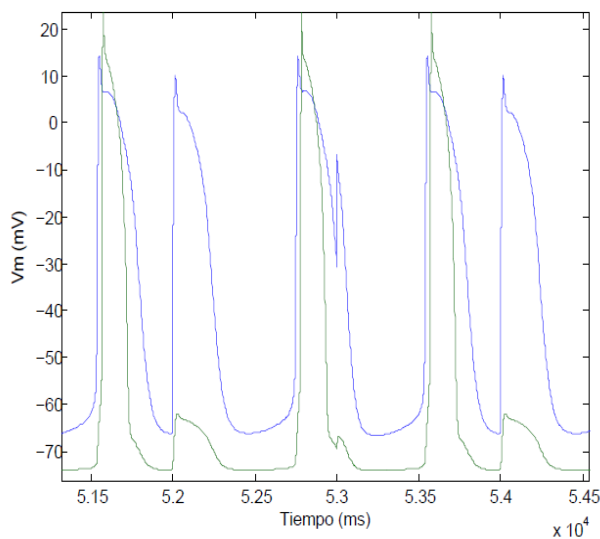


Figura 5. Registro de PA para el modelo acoplado durante una simulación estática y con estímulo sinusal y concentración de K^+ de 8.4 mM.

Mientras que la evolución de la hiperkalemia podría aumentar la probabilidad de arritmias, tanto la acidosis como la hipoxia contribuirían al descenso de la frecuencia de automaticidad. Uno de los motivos se podría encontrar en una disminución de la densidad de corriente I_{Na} debido a la acidosis, por lo que se necesitaría un estímulo de mayor duración para desencadenar el PA. Otra causa podría hallarse en la apertura de los canales $I_{K(ATP)}$ como consecuencia de la hipoxia, hecho que contrarrestaría la fuerza despolarizante de I_{Na} .

Si se analiza el acoplamiento del modelo de fibra de Purkinje con el de endocardio, mientras que la evolución de la fibra de Purkinje es similar para todas las simulaciones, el endocardio suprime su capacidad de desencadenar PA en la mayoría de condiciones isquémicas ensayadas. Ello se debe a que su excitabilidad sería más sensible a los cambios experimentados en la isquemia miocárdica aguda, como el incremento del potencial de reposo, la disminución de las corrientes despolarizantes o la presencia de $I_{K(ATP)}$. Esta diferencia celular supondría un factor protector de la arritmogénesis, debido a que los PA prematuros ocasionados en la fibras conductoras, no se propagarían al resto del tejido. Sin embargo, sobrevendría el problema de que el endocardio es incapaz de excitarse durante la fase aguda y, por lo tanto, de contraerse.

En todo caso, sería necesario investigar en concreto las causas de la evolución de cada parámetro a nivel de corrientes iónicas para determinar la influencia que ejercen sobre la proarritmicidad y permitir crear terapias con dianas concretas.

5. Conclusiones

Se han llevado a cabo simulaciones del efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre un modelo individual de fibra de Purkinje y un modelo acoplado de fibra de Purkinje y endocardio modificados. Al analizarse sus registros de potenciales de acción, APD, amplitud máxima y frecuencia de auto-disparo, se ha observado que dicha frecuencia es capaz de ascender a valores superiores a los dictados por el nodo SA. De ello se deduce que la fibra de Purkinje es capaz de generar y propagar PA prematuros y desencadenar arritmias.

Entre los factores analizados, la hiperkalemia ha sido el más influyente en la capacidad proarrítmica, mientras que la acidosis y la hipoxia han contribuido a reducir la frecuencia de auto-disparo.

Por ello, se concluye que la automaticidad exacerbada de las fibras de Purkinje en isquemia aguda moderada podría constituir un mecanismo de generación de PA ectópicos que actuaran como desencadenantes de arritmias reentrantes como la fibrilación ventricular.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por el “VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica” del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto TIN2012-37546-C03-01) y la Comisión Europea (fondos FEDER).

Referencias

- [1] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2015). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/> (Consultada: Julio 2016).
- [2] Kummur V, Abbas AK, Aster JC. Patología estructural y funcional. Elsevier, 2015.
- [3] Cascio WE. Myocardial ischemia: what factors determine arrhythmogenesis? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2001, pp. 726-729.
- [4] Stewart P, Aslanidi OV, Noble D, Noble PJ, Boyett MR, Zhang H. Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.*, 2009, pp 2225-2255.
- [5] ten Tusscher KH, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2004, pp. 1573-1589.
- [6] Cortassa S, Aon MA, O'Rourke B, Jacques R, Tseng HJ, Marbán E, Winslow RL. A computational model integrating electrophysiology, contraction, and mitochondrial bioenergetics in the ventricular myocyte. *Phil Trans R Soc Lond B.*, pp 353-398.
- [7] Ferrero JM, Sáiz J, Ferrero JM, Thakor NV. Simulation of action potentials from metabolically impaired cardiac myocytes. Role of ATP-sensitive K^+ current. *Circ Res.* pp. 208-221.
- [8] Vigmond EJ, Clements C. Construction of a computer model to investigate sawtooth effects in the Purkinje system. *IEEE transactions on biomedical engineering.* pp. 389-399.