

# Estudio de simulación del efecto del dofetilide en un modelo 3D del corazón humano

L. Dux-Santoy<sup>1</sup>, R. Sebastián<sup>2</sup>, E. Heidenreich<sup>3</sup>, J.F. Rodríguez<sup>4</sup>, J.M. Ferrero<sup>1</sup>, B. Trénor<sup>1</sup>, J. Saiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Bioelectrónica (GBIO), I3BH, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, {lduxsantoy,cferrero,btrenor,jsaiz}@gbio.i3bh.es

<sup>2</sup> Departamento de Informática, Universidad de Valencia, Valencia, España, rafael.sebastian@uv.es

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas para la Defensa, Buenos Aires, Argentina, elvioh@unizar.es.

<sup>4</sup> Grupo de Estructuras y Modelado de Materiales (GEMM), Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, jfrodrig@unizar.es

## Resumen

*El uso de fármacos antiarrítmicos es frecuente en el tratamiento de trastornos del ritmo cardíaco. Las técnicas de modelado y simulación por computador de fármacos se están presentando como alternativas potentes para el estudio del efecto de los fármacos sobre la electrofisiología cardíaca. En este trabajo se construye un modelo anatómico del corazón para estudiar el efecto del dofetilide en las células cardíacas. Se realiza un estudio multiescala del efecto del fármaco simulando la propagación eléctrica en tejido acoplado. Para analizar el efecto de la heterogeneidad celular, se consideran las distintas poblaciones de células del endocardio, miocardio y epicardio. Los resultados confirman el efecto del dofetilide: la duración del potencial de acción aumenta con la dosis de fármaco, al tiempo que el segmento QT se alarga en los pseudo-ECGs simulados.*

## 1. Introducción

La fase de repolarización en las células cardíacas es un proceso fisiológico complejo que depende de numerosas corrientes de membrana, incluyendo corrientes de potasio y de calcio. Entre ellas está la componente rápida de la corriente rectificadora de potasio,  $I_{Kr}$ . La proteína que forma el poro de esta corriente, codificada por el gen Ether-a-go-go (hERG), es el objetivo de los compuestos que prolongan la repolarización ventricular.

Actualmente el riesgo potencial de un fármaco se estima testeando su capacidad de reducir la corriente del hERG y calculando el  $IC_{50}$ , es decir, la concentración de fármaco que bloquea la corriente del hERG un 50%, lo que implica un impacto significativo en la repolarización celular. Aunque el  $IC_{50}$  puede utilizarse como indicador en los primeros estadios de desarrollo del fármaco, no es determinante para predecir el efecto proarrítmico de un compuesto.

La identificación de biomarcadores específicos y robustos es compleja, dado que existen numerosos escenarios, como son el bloqueo de múltiples canales iónicos por la acción de un compuesto, la diferencia entre las corrientes en distintos tejidos y especies, el distinto comportamiento de las células aisladas frente a los preparados

multicelulares o la influencia de los factores de riesgo en cada paciente. El modelado de electrofisiología cardíaca es a día de hoy una disciplina madura que permite el estudio de los mecanismos del corazón. Los modelos computacionales constituyen una herramienta que brinda nuevas posibilidades en el estudio de la interacción de los compuestos farmacológicos con los canales iónicos.

El objetivo principal de este artículo es mostrar el potencial de los modelos computacionales para la evaluación de compuestos farmacológicos en modelos 3D del corazón humano. En particular, se ha estudiado el efecto del dofetilide, fármaco que bloquea específicamente la componente rápida de la corriente rectificadora de potasio, sobre un modelo personalizado del corazón. La geometría del modelo se ha reconstruido a partir de un estudio de imágenes clínicas. Posteriormente se han incluido las estructuras funcionales, no visibles in vivo, utilizando modelos matemáticos. Para la simulación de la cinética de los canales de la célula y del efecto del dofetilide a diferentes concentraciones se ha empleado un complejo modelo biofísico humano [1] que incluye un gran número de corrientes. El modelo tiene en cuenta las particularidades de las distintas poblaciones celulares (endocárdica, miocárdica y epicárdica) puesto que presentan diferencias a nivel iónico y diferente respuesta a los fármacos.

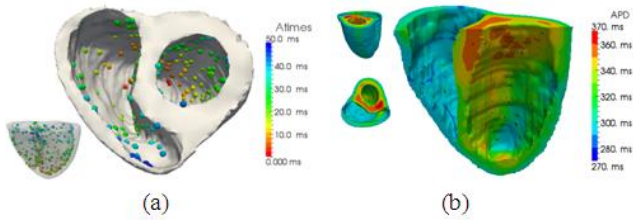
Las simulaciones 3D han permitido caracterizar la dispersión de la activación y de la repolarización en un gran número de puntos. Además, se han calculado los pseudo-ECGs para estudiar el efecto global del fármaco y su relación con los resultados a nivel celular.

## 2. Material y métodos

### 2.1. Modelo del ventrículo

Para el estudio de las secuencias de activación eléctrica se ha utilizado un modelo volumétrico 3D del corazón humano. La geometría se obtuvo a partir de un estudio de imagen de resonancia magnética (RM) adquirido en John Hopkins University [2]. El volumen posee una resolución de  $0,4297 \times 0,4297 \times 1,0\text{mm}^3$  y fue segmentado utilizando

un umbral fijo. A partir del volumen segmentado se construyó una malla regular de hexaedros con una resolución de  $0,5 \times 0,5 \times 0,5 \text{ mm}^3$ , dando como resultado un total de 1,43 millones de nodos y 1,29 millones de elementos hexaédricos [3] (Figura 1(a)). Para mejorar la exactitud numérica en las simulaciones se emplearon elementos finitos enriquecidos con funciones burbuja de segundo orden. Esta formulación incrementa enormemente la eficiencia del algoritmo manteniendo la exactitud numérica [3]. El modelo se etiquetó diferenciando regiones con distintas propiedades eléctricas e incluyendo las regiones de endocardio, miocardio y epicardio. Para poner de manifiesto el efecto de la heterogeneidad transmural se ha variado el porcentaje de la pared ventricular dado a cada una de estas regiones.



**Figura 1.** Modelo de los ventrículos. (a) los puntos de estimulación utilizados para excitar el tejido se muestran como esferas. El color de las esferas indica el tiempo de activación. (b) Mapa de duración del AP (ms).

En el modelo se incluyó la orientación de las fibras, obtenida mediante técnicas de DTMRI (Tensor de Difusión MRI), permitiendo cuantificar la anisotropía de los diferentes tejidos a lo largo de la pared ventricular [2]. La activación eléctrica del corazón depende de la distribución de las fibras, de modo que esta parte de la microestructura del corazón considerada en el modelo tiene una gran relevancia. El corazón se consideró transversalmente isotrópico.

La heterogeneidad celular transmural ha sido modelada considerando tres tipos de células: epicárdicas, miocárdicas y endocárdicas [4-6]. Estas células difieren en la morfología y duración del potencial de acción. Se modelaron dos distribuciones de heterogeneidad con las siguientes proporciones para cada población: (1) 0% endocardio, 67,5% miocardio y 32,5% epicardio; y (2) 17% endocardio, 41% miocardio y 42% epicardio. El escenario (1) se incluyó para compensar la ausencia en el modelo de fibras de Purkinje, cuya presencia debería prolongar la duración del potencial de acción (AP) dando lugar a simulaciones más realistas del pseudo-ECG.

## 2.2. Simulación de la electrofisiología

La electrofisiología cardíaca se modeló y simuló con el solver de elementos finitos ELVIRA [7]. Para representar la cinética celular a nivel iónico se utilizó el modelo de Ten Tusscher [8], que permite bloquear las corrientes afectadas por fármacos, como  $I_{Kr}$ , obteniendo respuestas electrofisiológicas adecuadas en los distintos tipos de células. La activación eléctrica a lo largo del tejido ventricular se simuló empleando la ecuación de reacción-difusión monodominio [9,10]. Las ODEs del modelo iónico se resolvieron utilizando un método directo con un

paso temporal adaptativo entre  $20 \mu\text{s}$  y  $100 \mu\text{s}$ . Se empleó discretización homogénea de  $500 \mu\text{m}$  con elementos finitos enriquecidos [3] y conductividades longitudinal y transversal de  $0,0016$  y  $0,0006 \text{ S/m}$  respectivamente.

El efecto del dofetilide se modeló introduciendo un factor (1-b) en la formulación de la corriente  $I_{Kr}$ , donde b es la fracción de canales bloqueados por el fármaco. Las ecuaciones resultantes de esta modificación son:

$$I_{Kr}(D) = I_{Kr}(1 - b) \quad (1)$$

$$\frac{I_{Kr}(D)}{I_{Kr}} = \frac{1}{1 + \frac{[D]}{IC_{50}}} = 1 - b \quad (2)$$

con  $IC_{50}=7 \text{ nmol/l}$ .

Para el cálculo del pseudo-ECG en una posición r se utilizó la ecuación

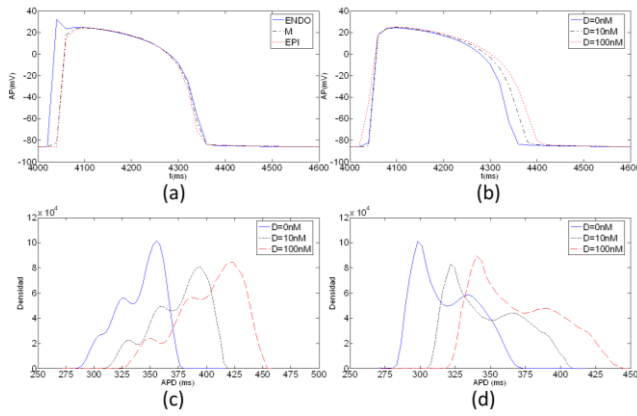
$$V_e(r) = -\frac{\gamma}{4\pi} \frac{\sigma_i}{\sigma_e} \int_{\Omega} \nabla V(r') \cdot \nabla \left[ \frac{1}{|r' - r|} \right] d\Omega \quad (3)$$

donde  $\sigma_i$  y  $\sigma_e$  son las conductividades intracelular y extracelular, V es el potencial de membrana y r la posición en que se calcula el potencial extracelular  $V_e$ .

## 3. Resultados y discusión

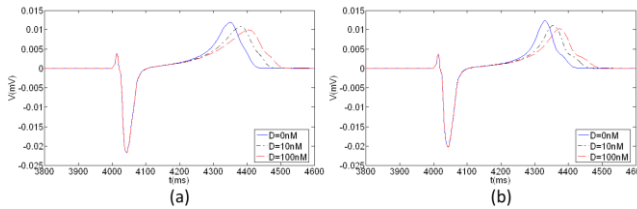
Se llevó a cabo un estudio de simulación empleando el modelo geométrico descrito. Con objeto de obtener secuencias de activación fisiológicas y debido a la falta del sistema de conducción rápido (Purkinje) en el modelo, se desarrolló un protocolo de estimulación para los ventrículos. A partir de los mapas de depolarización y descripciones de ambos ventrículos de Durrer [11], se eligieron un total de 100 puntos de estimulación distribuidos por el ventrículo derecho y 150 por el izquierdo. El instante de estimulación de cada punto se determinó en función de la distancia de cada punto al ápex, normalizando el instante máximo a 40ms para el punto más alejado. El tiempo de activación siguió, por tanto, una secuencia ápex a base y endocardio a epicardio. Los puntos de activación en el endocardio se muestran en la Figura 1(a). Se aplicaron cinco pulsos consecutivos de 2ms de duración con un BCL de 1000ms para estabilizar los canales iónicos y alcanzar el steady-state y se analizaron los AP y pseudo-ECGs correspondientes al último estímulo.

Para cada escenario se analizó la secuencia de activación y se obtuvieron los mapas de isócronas de tiempo de activación y de duración del potencial de acción (APD). No se observaron cambios significativos en la secuencia de activación entre las simulaciones sin y con bloqueo de  $I_{Kr}$ , tal y como se esperaba, puesto que esta corriente no contribuye en la fase de activación. En la orientación del frente de onda de activación se observaron pequeñas diferencias entre las distintas configuraciones de heterogeneidad del tejido. El tiempo de activación total medio fue de 90ms. El análisis de las secuencias de repolarización mostró diferencias notables entre las distintas poblaciones de células. La Figura 1(b) muestra el mapa de isócronas del APD local, donde puede verse la heterogeneidad a lo largo de la pared ventricular.



**Figura 2.** Comportamiento de los distintos tipos de células ( $BCL=1000ms$ ). (a) Potenciales de acción en steady-state en condiciones normales en el endocardio, miocardio y epicardio. (b) prolongación del APD en células M en función de la concentración de dofetilide. (c) y (d) Dispersión del APD en función de la concentración de dofetilide para los casos de heterogeneidad (1) y (2)

En la Figura 2(a) se muestran las diferencias entre los AP en cada tipo de célula para el último estímulo. El bloqueo de  $I_{Kr}$  prolongó significativamente el APD en todos los tipos de células y en las dos configuraciones de heterogeneidad. La prolongación del APD en el caso de heterogeneidad (1) fue casi el doble que en el caso (2) tanto para las células del mid-miocardio como para las del epicardio (Tabla 1). Las Figura 2 (c) y (d) muestran los cambios en la dispersión del APD para las distintas concentraciones de dofetilide y configuraciones de heterogeneidad. La dispersión del APD cambia su media y su distribución según la configuración de heterogeneidad. La Tabla 1 recoge los parámetros medidos en cada simulación.



**Figura 3.** Pseudo-ECGs en la derivación V3. Se observa el efecto del dofetilide para (a) el caso de heterogeneidad (1) y (b) el caso de heterogeneidad (2). La prolongación del segmento QT al bloquear la corriente  $I_{Kr}$  es claramente visible y coherente con la prolongación del APD

Los pseudo-ECGs (Figura 3 (a) y (b)) se calcularon en las seis derivaciones precordiales y los resultados obtenidos fueron consistentes con los hallados a nivel celular. En condiciones normales se midió un intervalo QT de 450 ms, más largo del esperado, probablemente debido a la lenta activación de 90ms. La prolongación del QT medida en la derivación V5 para una concentración de dofetilide de 100nM se aproximó a 100ms en los dos casos de heterogeneidad. El caso de heterogeneidad (2) es consistente con los resultados obtenidos por ten Tusscher a nivel celular [12]. La prolongación del intervalo QT (20%) concuerda con mediciones empíricas de la prolongación del QT por la acción del dofetilide (15%) [13].

Dofetilide		0 nM	10 nM	100 nM
Repolarización (ms)		460/460	500/480	540/520
QT (ms)		450/439	500/505	544/537
	ENDO	-320	-340	-380
APD90 (ms)	M	330/300	385/320	410/340
	EPI	320/300	355/320	380/340
	ENDO	-	-6.3	-18.8
$\Delta APD$ (%)	M	-	16.7/6.7	24.2/13.3
	EPI	-	10.9/6.7	18.8/13.3

**Tabla 1.** Diferencias en los tiempos de repolarización, intervalo QT, APD90 medio y prolongación del APD para distintas concentraciones de dofetilide. En cada columna se recogen los resultados para los casos de heterogeneidad (1) / (2)

#### 4. Conclusiones

Se ha construido un modelo 3D del corazón humano e incluido las principales características anatómicas y funcionales para desarrollar estudios electrofisiológicos computacionales. Se diseñó un estudio de simulación para observar el efecto del bloqueo de canales inducido por fármacos a nivel multiescala, concretamente a nivel de célula, de tejido y de órgano completo. Se consideraron dos escenarios de heterogeneidad distintos. Para el estudio se consideró un fármaco que bloquea de forma selectiva los canales de  $I_{Kr}$ . Al bloquear estos canales se observó una prolongación del APD y del segmento QT. Se obtuvieron resultados más realistas en el escenario que incluyó células de endocardio, miocardio y epicardio. Los pseudo-ECGs obtenidos confirmaron los resultados observados a nivel celular y pusieron de manifiesto la importancia de modelar y personalizar los distintos tipos de tejidos, dado que la respuesta al fármaco depende del tipo de célula. Aunque la geometría global del corazón no debería producir cambios significativos en los resultados o en el efecto global del fármaco, posiblemente sea necesario considerar modelos distintos para corazones normales, dilatados o con hipertrofia.

La coherencia entre los resultados obtenidos en la simulación en modelo 3D y las medidas experimentales a nivel celular indica que el modelado computacional y las herramientas de simulación pueden ser útiles para la comprensión de las complejas interacciones no sólo entre el fármaco y la célula, sino también entre el fármaco y el órgano. Asimismo, la simulación con modelos anatómicos realistas permite obtener índices globales, como la prolongación del segmento QT, sin necesidad de realizar pruebas en animales o en humanos.

Si bien en este trabajo hemos considerado un fármaco que bloquea específicamente la corriente  $I_{Kr}$ , la consistencia de los resultados muestra que este tipo de estudios pueden ser muy importantes para la observación del efecto producido por el bloqueo de varios canales, tanto para explicar comportamientos observados en clínica, como

para testear otros fármacos antiarrítmicos más complejos y evaluar su seguridad farmacológica.

El estudio de fármacos mediante simulación posibilita considerar distintos comportamientos frente al fármaco de las diferentes poblaciones de células y la obtención de resultados difíciles de testear in-vivo.

Los resultados obtenidos son una prueba de concepto para proseguir las investigaciones empleando modelos de fármaco más complejos, cuyos resultados deberán validarse posteriormente.

## 5. Trabajo futuro

El modelo de ventrículo con el que se ha realizado el estudio de simulación carece del sistema de conducción rápida (Purkinje). Se pretende mejorar el modelo incorporando dicho sistema, de modo que el protocolo de estimulación implementado se sustituirá por una estimulación única en el origen de este sistema. Asimismo, se integrará el modelo ventricular en un modelo completo del corazón y se incorporará dicho modelo en un modelo realista del torso humano. Estas mejoras permitirán el estudio del efecto de los fármacos en estructuras más complejas y realistas a nivel multiescala. De otra parte, se realizarán estudios análogos al desarrollado en este trabajo para evaluar el efecto de otros fármacos cuyo efecto sobre los canales eléctricos sea menos específico.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto TEC-2008-02090 del Ministerio de Ciencia e Innovación, por el Programa de Apoyo a la Investigación y Desarrollo de la Universidad Politécnica de Valencia (PAID-06-09-2843) y por la Dirección General de Política Científica de la Generalitat Valenciana (GV/2010/078).

## Referencias

- [1] Ten Tusscher KHWJ, Panfilov AV. Eikonal formulation of the minimal principle for scroll wave filaments. *Physical Review Letters*, vol 93, no 10, Septiembre 2004, pp 108106
- [2] Helm P. A novel technique for quantifying variability of cardiac anatomy: application to the dyssynchronous failing heart. PhD Tesis. John Hopkins University, 2005.
- [3] Heidenreich E, Ferrero JM, DMRJF. Adaptive macro finite elements for the numerical solution of monodomain equation in cardiac electrophysiology. *Annals of Biomedical Engineering*, vol 38, 2010, pp 2331-2345.
- [4] Drouin EF, Charpentier F, Gauthier C, Laurent K, Marec HL. Electrophysiology characteristics of cells spanning the left ventricular wall of human heart: evidence of the presence of m cells. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 26, no 1, Julio 1995, pp 185-192.
- [5] Antzelevitch C, Sicouri S, Litovsky SH, Lukas A, Krishnan SC, Diego JMD, Gintant GA, Liu DW. Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial and M cells. *Circulation Research*, vol 69, no 6, Diciembre 1991, pp 1427-1449.
- [6] Sicouri S, Fish J, Antzelevitch C. Distribution of M cells in the canine ventricle. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, vol 5, no 10, Octubre 1994, pp 824-837.
- [7] Heidenreich EA. Algoritmos para ecuaciones de reacción-difusión aplicados a electrofisiología. PhD Tesis. Departamento de Ingeniería Mecánica, Universidad de Zaragoza, 2009.
- [8] Ten Tusscher KHWJ, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol 286, no 4, Abril 2004, pp H1573-H1589.
- [9] Plonsey R. Bioelectric sources arising in excitable fibers (alza lecture). *Annals of Biomedical Engineering*, vol 16, no 6, 1988, pp 519-546.
- [10] Potse M, Dub B, Richer J, Vinet A, Gulrajani RM. A comparison of monodomain and bidomain reaction-diffusion models for action potential propagation in the human heart. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 53, no 12 pt 1, Diciembre 2006, pp 2425-2435.
- [11] Durrer D, van Dam RT, Freud GE, Janse MJ, Meijler FL, Arzbaeher RC. Total excitation of the isolated human heart. *Circulation*, vol 41, no 6, Junio 1970, pp 899-912.
- [12] Ten Tusscher KHWJ, Panfilov AV. Cell model for efficient simulation of wave propagation in human ventricular tissue under normal and pathological conditions. *Physics in Medicine and Biology*, vol 51, no 23, Diciembre 2006, pp 2851-2856.
- [13] Okada Y, Ogawa S, Sadanaga T, Mitamura H. Assessment of reverse use-dependent blocking actions of class III antiarrhythmic drugs by 24-hour holter electrocardiography. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 27, no 1, Enero 1996, pp 84-89.