

Estudio mediante simulación computacional del acoplamiento eléctrico entre miocitos auriculares y fibroblastos en condiciones fisiológicas y de fibrilación auricular crónica

J. Sánchez Arciniegas, B. Trénor, J. Saiz

Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, 46022, España

Resumen

El tejido cardíaco durante la fibrilación auricular crónica experimenta un remodelado electrofisiológico y estructural. La fibrosis en el tejido auricular tiene un impacto importante sobre los potenciales de acción de los miocitos y su propagación. El objetivo de este trabajo es explorar las características de la fibrosis y su impacto en el potencial de acción del miocito. Para ello se han llevado a cabo simulaciones de modelos matemáticos electrofisiológicos de miocitos auriculares humanos y de fibroblastos propuesto por Koivumaki et al. en condiciones fisiológicas y de fibrilación auricular crónica. A nivel celular las simulaciones se han realizado acoplando diferentes números de fibroblastos a un miocito, también se varió el potencial de reposo del fibroblasto en tres valores diferentes. En 1D se han evaluado los efectos sobre la velocidad de conducción en una fibra. Los resultados de las simulaciones a nivel celular muestran como la duración del potencial de acción del miocito depende tanto del número de fibroblastos como de su potencial de reposo. En simulaciones 1D, se observa cómo la velocidad de conducción depende del valor que tome el potencial de reposo del fibroblasto y su densidad en la fibra. Los miocitos afectados por el remodelado durante la fibrilación auricular crónica son menos sensibles a la variación del potencial de reposo de los fibroblastos.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más común. Representa un gran problema para la carga asistencial mundial e incrementa la morbilidad y mortalidad del paciente. Los mecanismos de generación y mantenimiento de la FA no están totalmente esclarecidos [1].

Durante la etapa crónica de la fibrilación auricular (FAC), el tejido auricular sufre un remodelado electrofisiológico y estructural. La densidad de fibroblastos existentes en el tejido aumenta, lo que ocasiona una heterogeneidad en las propiedades eléctricas del tejido auricular que alteran la propagación del potencial de acción, favoreciendo la generación y mantenimiento de reentradas [2].

Distintos estudios sugieren la existencia de acoplamiento eléctrico entre miocitos y fibroblastos, siendo capaz de modificar las características del potencial de acción del miocito [3,4]. También muestran la existencia de un canal iónico que permite un flujo entrante de iones sodio (I_{Na}) en la membrana del fibroblasto [5].

La simulación computacional electrofisiológica celular, brinda la oportunidad de estudiar el impacto de los fibroblastos en la propagación eléctrica. Igualmente brinda la flexibilidad de modificar características de la

electrofisiología celular y analizar sus impactos sobre el potencial de acción del miocito acoplado eléctricamente durante el comportamiento fisiológico normal y durante el remodelado que ocurre en FAC.

En este estudio, se ha actualizado la corriente de sodio del fibroblasto de acuerdo a estudios experimentales recientes y se ha variado su potencial de reposo para analizar su impacto sobre el potencial de los miocitos. Este estudio analiza el efecto del acoplamiento entre miocito y fibroblastos en ritmo sinusal normal (RSn) y en FAC a nivel celular y de tejido 1D.

2. Métodos

2.1. Modelos celulares

En el presente trabajo se han utilizado modelos celulares auriculares de humano de miocitos y fibroblastos [6, 7]. En el modelo celular de fibroblasto se ha actualizado la corriente entrante de sodio de acuerdo a resultados experimentales recientes. El remodelado eléctrico debido a FAC en un miocito es introducido en el modelo mediante una modificación en las conductancias de las corrientes de Ca^{2+} tipo L (I_{CaL}), corriente transiente de salida de K^+ (I_{to}), corriente sostenida saliente de K^+ (I_{sus}), corriente independiente de K^+ (I_{K1}), receptores de ryanodina (RyR) y en el intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCX), en la bomba del retículo sarcoplásmico Ca^{2+} ATPase (SERCA) y en los parámetros de las constantes de tiempo de I_{CaL} , I_{to} y I_{Na} , según se describe en los modelos propuestos por Koivumaki et al. [8]

2.2. Simulación celular (0D)

Para obtener el potencial de acción del miocito se utilizó la ecuación (1)

$$C_m \frac{dV}{dt} + I_{ion} + \sum_{k=1}^n G_{gap}(V_f - V) = 0 \quad (1)$$

Donde C_m es la capacidad de membrana, I_{ion} es el flujo iónico a través de los diferentes canales, V es el potencial de membrana del miocito, n es el número de fibroblastos acoplados a un miocito y G_{gap} es la conductancia del acople entre miocito y fibroblasto. El valor utilizado para G_{gap} fue de 0.5 nS [9]. De la misma manera se varió el número de fibroblastos acoplados un miocito, entre 0 y 9 [7], [10], [11]. También se estudió el efecto del potencial de reposo del fibroblasto (RMPf., por sigls en inglés) en tres valores diferentes (-30, -45 y -65 mV), ya que su valor muestra una gran dispersión en estudios experimentales y difieren entre

fibroblastos ventriculares y auriculares [5], [12], [10]. Para comparar los resultados se ha medido la duración del potencial de acción en el 90% de la repolarización (APD₉₀).

2.3. Simulación tejido (1D)

Para simular la propagación del potencial de acción a través del tejido auricular, se utilizó la ecuación (2) de reacción-difusión con una aproximación monodominio

$$\nabla(D\nabla V) = C_m \frac{dV}{dt} + I_{ion} \quad (2)$$

Donde D es el coeficiente de difusión, C_m es la capacidad de membrana, I_{ion} son las corrientes a través de la membrana celular. En la fibra, los fibroblastos fueron distribuidos aleatoriamente con dos diferentes densidades (10% y 20%), valores para los cuales la velocidad de conducción empieza a disminuir[4], se varió el potencial de reposo del fibroblasto. El coeficiente de difusión fue calculado utilizando las propiedades geométricas de la célula, y la conductancia de acoplamiento G_{gap} . La conductancia del medio intracelular fue variada para obtener una velocidad de conducción fisiológica en la fibra[13].

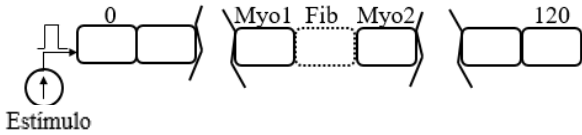


Figura 1. Configuración del modelo 1D. Se muestra el número de elementos de la fibra. El estímulo aplicado se introduce a través del primer elemento. Los elementos de medición de las características del potencial de acción son Myo1, Fib y Myo2.

La velocidad de despolarización del potencial de acción es calculada en el centro de la fibra para evitar los efectos de las condiciones de frontera. Fue medida en un fibroblasto y en el miocito de antes y después del mismo como se observa en la Figura 1.

2.4. Protocolos de simulación y métodos numéricos

En las simulaciones 0D se varió el número de fibroblastos acoplados a un solo miocito y el potencial de reposo del fibroblasto. Se aplicó un estímulo igual al doble de su umbral. Para la simulación 1D, la ecuación (2) fue resuelta mediante el método de diferencias finitas con una discretización espacial para el miocito de 100 μm y para el fibroblasto de 10 μm con un paso de tiempo de 10 μs . El primer elemento de la fibra fue estimulado con una amplitud el doble de su valor umbral. Ambas simulaciones fueron estimuladas a una frecuencia de 1Hz y partieron de un estado estable.

3. Resultados

3.1. Simulación 0D

De las simulaciones 0D, en la Figura 2, observamos el potencial de acción de un miocito auricular en RSn y en FAc. El valor de APD₉₀ de RSn es de 232 ms, con un potencial de reposo de -74.8 mV. Debido al remodelado eléctrico bajo condiciones de FAc, el miocito aislado presenta un APD₉₀ de 168 ms y un potencial de reposo de -79.04 mV.

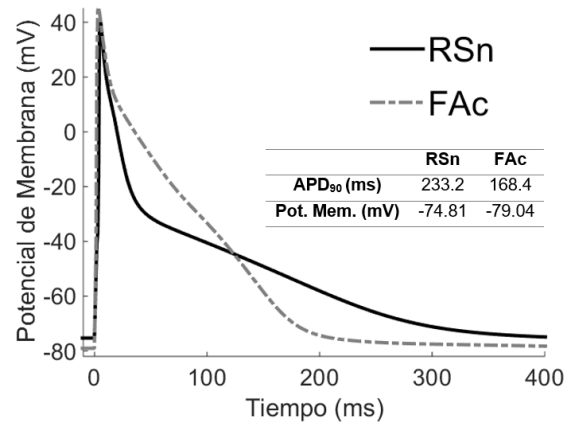


Figura 2. Características del potencial de acción de un miocito aislado en condiciones normales (RSn) y durante fibrilación auricular crónica (FAc).

Los resultados de las simulaciones en 0D muestran cómo los diferentes potenciales de reposo del fibroblasto y el número de fibroblastos acoplados a un miocito pueden alterar su potencial de acción.

Para condiciones de RSn, Figura 3 (panel A), al ser acoplado con 1 o 3 fibroblastos con un potencial de reposo de -65 mV, su APD₉₀ es reducido al 91.68% y al 78.04% respectivamente de su valor de control (sin fibroblastos acoplados) y su potencial de reposo es reducido al 99.18% y al 96.50% del valor de control. Para un potencial de reposo del fibroblasto de -45 mV, el APD₉₀ es reducido al 94.43% y 70.20% del valor de control y el potencial de reposos del miocito es el 97.36% y el 83.98% con respecto al valor control. En ambos casos el valor de APD₉₀ es reducido y el potencial de reposo del miocito es más despolarizado cuando el fibroblasto presenta un potencial de reposo menos negativo y el número de fibroblastos acoplados es mayor. Por otro lado, cuando el potencial de reposo del fibroblasto es -30 mV y el miocito es acoplado con 1 o 3 fibroblastos, el valor de APD₉₀ es mayor a su valor control (102% y 137% respectivamente), su potencial de reposo disminuye al 98.15% y 80.12% de su valor control. Cuando el miocito es acoplado a 9 fibroblastos su valor de APD₉₀ es reducido al 30% para todos los casos, de la misma manera el potencial de reposo del miocito se ve seriamente despolarizado cuando el potencial de reposo del fibroblasto es menos negativo.

Bajo condiciones de FAc, Figura 3 (panel B), y para un acoplamiento de 1 o 3 fibroblastos a un miocito y un RMPf de -65 mV, el APD₉₀ es el 90% y su RMP (Potencial de reposo, por sus siglas en inglés), es el 98.78% de su valor control. Sin embargo, cuando el miocito es acoplado a 1 o 3 fibroblastos con un RMPf de -45 mV, el APD₉₀ es 86.82% y 66.75% de valor control y su RMP es 98.14% y 88.86% con respecto al control. Es importante resaltar que cuando el acoplamiento se produce con 1 o 3 fibroblastos con un RMPf de -30 mV, todos los APD₉₀ del miocito se ven reducidos. Podemos observar cómo los miocitos que sufren un remodelado eléctrico debido a FAc, son menos sensibles a sufrir grandes cambios en su APD cuando el RMPf es más positivo.

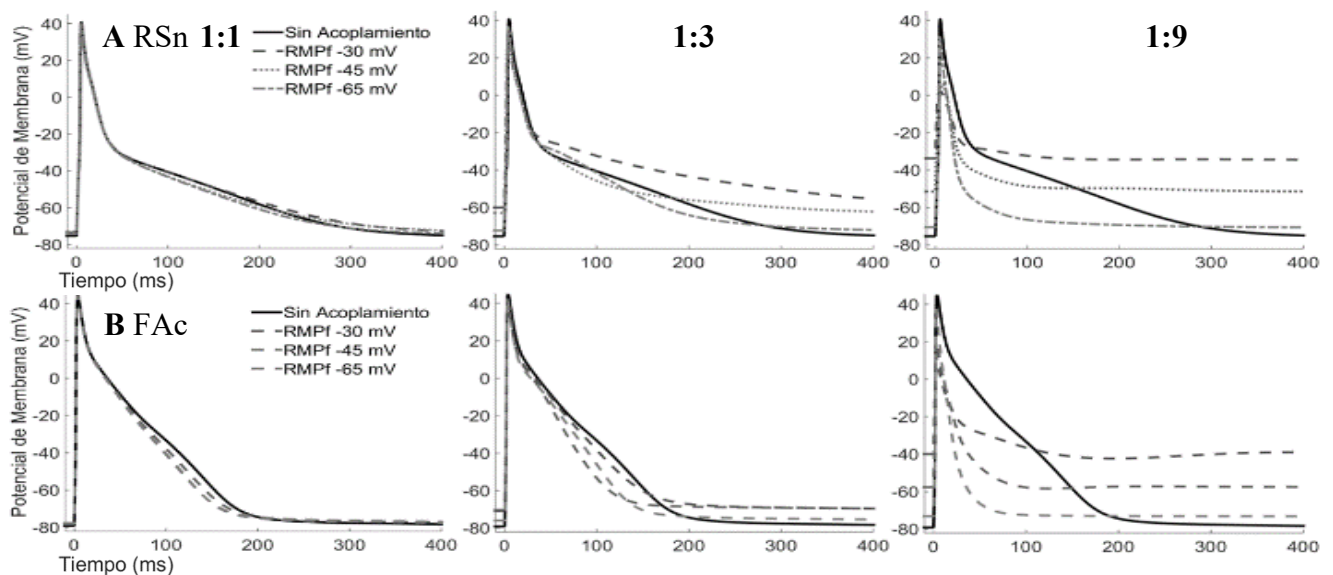


Figura 3. Potenciales de acción, acoplados a diferentes números de fibroblastos y diferentes RMPf. A) Bajo condiciones normales (RSn). B) Durante fibrilación auricular crónica (FAC).

3.2. Simulación 1D

Como se ha observado en las simulaciones en 0D, el acoplamiento de fibroblastos ejerce un efecto en el cambio del potencial de acción del miocito. En las simulaciones 1D, se analizaron las diferentes características del RMPf y su densidad a lo largo de la fibra. Cuando el miocito se encuentra en condiciones fisiológicas la velocidad de conducción a través de la fibra es de 70 cm/s y durante FAC la velocidad de conducción se reduce a 68.6 cm/s.

En la Figura 4 (columna A), se observa la influencia del acoplamiento de los fibroblastos con los miocitos durante el periodo de despolarización del potencial de acción del miocito. Los valores de dV/dt_{max} durante la despolarización del potencial de acción del miocito es de 103 mV/s y de 100 mV/s en RSn y FAC respectivamente en ausencia de fibroblastos en la fibra.

En RSn la dV/dt_{max} de un miocito localizado antes de un fibroblasto es reducida dependiendo de la densidad de fibroblastos distribuidos en la fibra. Para una densidad del

10% (columna B) y un RMPf de -30 mV, dV/dt_{max} es reducida al 57% de su valor control y el valor para el miocito ubicado luego del fibroblasto es de 47% del control. Con un RMPf de -45 mV (columna D), el valor de dV/dt_{max} es del 65% de su valor control para el Myo1 y del 53% para el Myo2. Cuando la densidad de fibroblastos distribuidos en la fibra es incrementada al 20%, para un RMPf de -30 mV (columna C) dV/dt_{max} en Myo1 es del 60% y en Myo2 es del 37% de su valor control, para un valor de RMPf de -45 mV (columna F) para el primer miocito dV/dt_{max} es del 25% y del 34% para el segundo miocito respecto a su valor control.

Como consecuencia del cambio de dV/dt_{max} , la velocidad de conducción se ve reducida con los valores de RMPf y con el incremento de la densidad de fibroblastos en la fibra. Los resultados de las simulaciones 1D en RSn muestran que para una densidad del 10% y con los tres valores de RMPf la velocidad se ve reducida (87%, 85%, and 63%, respectivamente) con respecto de su valor control sin fibrosis. Cuando la densidad de fibroblastos incrementa al

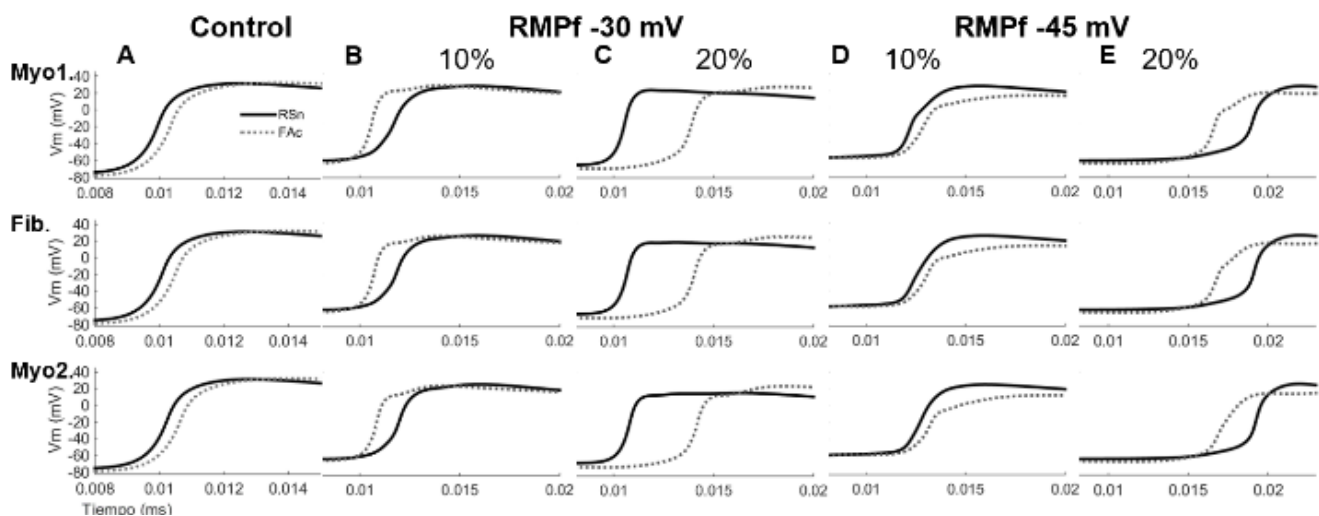


Figura 4. Curvas de despolarización para condiciones de RSn (Ritmo Sinusal normal) y FAC (Fibrilación Auricular crónica). Diferentes valores de RMPf y densidades de fibrosis en una fibra.

20%, la velocidad de conducción no sigue una tendencia de reducción. Para un valor de RMPf de -30 mV, la velocidad de conducción se reduce al 63% del control, para los valores de RMPf de -45 mV y -65 mV la reducción es del 74% y 75% del valor de control.

Durante FAc, los valores de dV/dt_{\max} en la fase de despolarización son afectados en menor porcentaje. Para una densidad del 10% y un valor de -30 mV para RMPf, el valor de dV/dt_{\max} en Myo1 es de 66% con respecto al control y con un valor de -45 mV de RMPf es del 43% y para Myo2 la reducción es de dV/dt_{\max} es del 43% y 41% con respecto al control.

La velocidad de conducción en FAc, para una densidad del 10% y con los tres valores de RMPf muestra un porcentaje de reducción similar que en condiciones fisiológicas. Cuando la densidad de fibroblastos aumenta, la velocidad de conducción disminuye conforme el valor de RMPf es más despolarizado (74%, 71%, and 67% con respecto al control). Adicionalmente, los valores de RMP para los miocitos no se ven afectados.

Los resultados de las simulaciones en 0D y en 1D, muestran que los fibroblastos tiene una gran influencia, tanto en condiciones fisiológicas como durante FAc. Los resultados obtenidos en las simulaciones, concuerdan con resultados experimentales donde la presencia de fibroblastos en tejido cardiaco afecta la despolarización y reducen la velocidad de conducción. Es interesante destacar que durante FAc, la velocidad de conducción tiene una menor variabilidad para diferentes RMPf.

3.3. Limitaciones

Una de las principales limitaciones de este estudio es la escasez de datos experimentales de fibroblastos auriculares humanos y de las propiedades del tejido fibrótico de los que se dispone para ajustar modelos realistas. Además, en las simulaciones no se ha considerado la dilatación del miocito durante FAc y su efecto sobre la difusión. Pese a estas limitaciones, los resultados obtenidos en este estudio pueden considerarse válidos y permiten explorar las características electrofisiológicas de la fibrosis, cuyo papel cobra gran importancia a nivel clínico, en los procedimientos de ablación auricular.

4. Conclusiones

En conclusión, el potencial de acción del miocito es influenciado por el número de fibroblastos acoplados y los diferentes valores del potencial de reposo como se ha podido observar en los resultados y las simulaciones en 0D. En las simulaciones 1D observamos como la velocidad de conducción se ve afectada con la densidad de fibroblastos en la fibra y difieren entre condiciones normales y durante fibrilación auricular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el “Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016” del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España (DPI2016-75799-R) and AEI/FEDER, UE, y por el “Programa Prometeu

(PROMETEU/2016/088) de la Conselleria d'Educació, Formació i Ocupació, Generalitat Valenciana”.

Referencias

- [1] L. Staerk, J. A. Sherer, D. Ko, E. J. Benjamin, and R. H. Helm, “Atrial Fibrillation,” *Circ. Res.*, vol. 120, no. 9, pp. 1501–1517, 2017.
- [2] S. Nattel, “How does fibrosis promote atrial fibrillation persistence: In silico findings, clinical observations, and experimental data,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 110, no. 3, pp. 295–297, 2016.
- [3] K. S. McDowell, S. Zahid, F. Vadakkumpadan, J. Blauer, R. S. MacLeod, and N. A. Trayanova, “Virtual electrophysiological study of atrial fibrillation in fibrotic remodeling,” *PLoS One*, vol. 10, no. 2, pp. 1–16, 2015.
- [4] M. Miragoli, G. Gaudesius, and S. Rohr, “Electrotonic modulation of cardiac impulse conduction by myofibroblasts,” *Circ. Res.*, vol. 98, no. 6, pp. 801–810, 2006.
- [5] C. Poulet, S. Künzel, E. Büttner, D. Lindner, D. Westermann, and U. Ravens, “Altered physiological functions and ion currents in atrial fibroblasts from patients with chronic atrial fibrillation,” *Physiol. Rep.*, vol. 4, no. 2, p. e12681, 2016.
- [6] J. T. Koivumäki, T. Korhonen, and P. Tavi, “Impact of sarcoplasmic reticulum calcium release on calcium dynamics and action potential morphology in human atrial myocytes: A computational study,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 1, 2011.
- [7] J. Koivumäki et al., “Na⁺ current expression in human atrial myofibroblasts: Identity and functional roles,” *Front. Physiol.*, vol. 5 JUL, no. August, pp. 1–14, 2014.
- [8] J. T. Koivumäki, G. Seemann, M. M. Maleckar, and P. Tavi, “In Silico Screening of the Key Cellular Remodeling Targets in Chronic Atrial Fibrillation,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 10, no. 5, 2014.
- [9] V. Jacquemet and C. S. Henriquez, “Loading effect of fibroblast-myocyte coupling on resting potential, impulse propagation, and repolarization: insights from a microstructure model,” *AJP Hear. Circ. Physiol.*, vol. 294, no. 5, pp. H2040–H2052, 2008.
- [10] K. A. MacCannell, H. Bazzazi, L. Chilton, Y. Shibukawa, R. B. Clark, and W. R. Giles, “A mathematical model of electrotonic interactions between ventricular myocytes and fibroblasts,” *Biophys. J.*, vol. 92, no. 11, pp. 4121–32, 2007.
- [11] M. M. Maleckar, J. L. Greenstein, W. R. Giles, and N. A. Trayanova, “Electrotonic coupling between human atrial myocytes and fibroblasts alters myocyte excitability and repolarization,” *Biophys. J.*, vol. 97, no. 8, pp. 2179–2190, 2009.
- [12] R. Morgan, M. A. Colman, H. Chubb, G. Seemann, and O. V. Aslanidi, “Slow conduction in the border zones of patchy fibrosis stabilizes the drivers for atrial fibrillation: Insights from multi-scale human atrial modeling,” *Front. Physiol.*, vol. 7, no. OCT, pp. 1–15, 2016.
- [13] David M. Harrild, Craig S. Hen, “A Computer Model of Normal Conduction in the Human Atria,” *Circ. Res.*, vol. 87, no. 7, pp. e25–e36, 2000.