Alma Mater Studiorum · Università di Bologna

SCUOLA DI SCIENZE

Corso di Laurea Magistrale in Matematica

EVOLUZIONE TEMPORALE di MODELLI MATEMATICI per le CELLULE CARDIACHE

Tesi di Laurea in Analisi Matematica

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa MARIA CARLA TESI Presentata da: MARINA GRANIERI

Sessione Unica Anno Accademico 2021/2022

A chi è caduto e non è riuscito a rialzarsi, a chi ha rinunciato perchè non si è sentito all'altezza, a chi si è sentito piccolo e schiacciato dai doveri imposti da questa società... questo è per me, che non ho mai mollato, ma soprattutto è per voi.

Indice

Introduzione			\mathbf{v}
-1	па		-1
T	Il Sistema Cardiovascolare		
	1.1	Anatomia cardiaca	
		1.1.1 Il sistema di conduzione nel cuore	3
		1.1.2 Caratteristiche della membrana cellulare \ldots .	5
		1.1.3 Il potenziale d'azione nel miocardio $\ldots \ldots \ldots \ldots$	6
	1.2	Aritmie Cardiache	10
2	Mo	delli Cardiaci per il potenziale d'azione	13
	2.1	Modello di Hodgkin-Huxley	13
		2.1.1 Modificazione del modello di Hodgkin-Huxley $\ . \ . \ .$	15
	2.2	Modello di Beeler e Reuter	17
	2.3	Modelli di Luo-Rudy	
	2.4	Modello di Tusscher, Noble e Panfilov	27
3	\mathbf{Sim}	ulazioni numeriche sul modello ORd	33
	3.1	Il Modello di O'Hara - Rudy	33
	3.2	Risultati Numerici	36
	3.3	Tachicardia e Fibrillazione Ventricolare	46
4 Appendice A		pendice A	51
	4.1	Equazioni per i modelli descritti	
		4.1.1 Modello di Hodgkin-Huxley	51

	4.1.2	Modificazione del modello di Hodgkin-Huxley $\ . \ . \ .$	52		
	4.1.3	Modello di Beeler e Reuter	52		
	4.1.4	Modello di Luo e Rudy	54		
5	5 Conclusione				
Bi	Bibliografia				
$\mathbf{R}^{\mathbf{i}}$	Ringraziamenti				

Elenco delle figure

1.1	Sistema di conduzione del cuore $([17])$	3
1.2	Potenziale d'azione di una cellula cardiaca contrattile ([17]). $% \left(\left[17\right] \right) \left[17\right] \left[1$	7
1.3	Periodo refrattario e contrazione muscolare cardiaca ([17])	9
1.4	Potenziale d'azione nelle cellule autoritmiche cardiache $([17])$.	10
2.1	Circuito elettrico equivalente per la membrana delle fibre di	
	Purkinje ([12]). \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	16
2.2	Diagramma del modello di Luo e Rudy (L-R Fase 2, [9])	21
3.1	Diagramma del modello di O'Hara-Rudy ([12]).	34
3.2	Meccanismo degli EADs ([13]).	36
3.3	Grafico del potenziale d'azione V_m per CL=1000ms e CL=300ms.	38
3.4	Grafico della corrente del sodio veloce I_{Na} per CL=1000ms e	
	CL=300ms	39
3.5	Grafico della corrente del sodio lenta I_{NaL} per CL=1000ms e	
	CL=300ms	39
3.6	Grafico della corrente di potassio transitoria I_{to} per CL=1000ms	
	e CL=300ms	40
3.7	Grafico della corrente rapida ritardata rettificante I_{Kr} per	
	CL=1000ms e CL=300ms	40
3.8	Grafico della corrente lenta ritardata rettificante I_{Ks} per CL=1000	\mathbf{ms}
	e CL=300ms	41
3.9	Grafico della corrente di potassio rettificante verso l'interno	
	I_{K1} per CL=1000ms e CL=300ms	41

3.10	Grafico della corrente dello scambiatore sodio-calcio $I_{NaCa,i}$	
	per CL=1000ms e CL=300ms. $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots 42$	
3.11	Grafico della corrente dello scambiatore sodio-calci o ${\cal I}_{NaCa,ss}$	
	per CL=1000ms e CL=300ms. $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots 42$	
3.12	Grafico della corrente della pompa sodio-potassi o ${\cal I}_{NaK}$ per	
	$CL=1000ms e CL=300ms. \dots \dots$	
3.13	Grafico delle correnti di background I_{Nab} , $I_{Kb} \in I_{Cab}$ per CL=1000ms.	43
3.14	Grafico della corrente della pompa sarcolemmale di calci o ${\cal I}_{pCa}$	
	per CL=1000ms. $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots 44$	
3.15	Grafico della corrente di calcio attraverso i canali di tipo-L	
	I_{CaL} per CL=1000ms	
3.16	Grafico dei flussi di diffusione da SS al MYO per $J_{diff,Na}$,	
	$J_{diff,K} \in J_{diff,Ca}$ per CL=1000ms	
3.17	Grafico dei flussi ionici per J_{rel} , J_{up} e J_{tr} per CL=1000ms 45	
3.18	Illustrazione della rottura della spirale d'onda causata dalla	
	dinamica del calcio intracellulare ([3]). $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots 48$	

Introduzione

La modellistica matematica nasce dall'esigenza di fondere l'utilità dello strumento matematico alla rappresentazione di un determinato fenomeno naturale. Al giorno d'oggi, la scienza utilizza modelli matematici in svariati campi di applicazione, che possono andare da un sistema fisico, ad un sistema chimico o biologico. Gli scopi possono essere molteplici, come ad esempio quello di fornire una descrizione delle relazioni presenti all'interno del fenomeno in modo da spiegarne la sua dinamica oppure poter ipotizzare previsioni future sull'evoluzione di esso. In questa trattazione porremo l'attenzione su alcuni meccanismi di una specifica branca della biologia, ossia la fisiologia umana. Il fine sarà quello di descrivere il sistema altamente complesso della conduzione dell'impulso nel muscolo cardiaco umano.

Nel primo capitolo introdurremo i concetti anatomici riguardanti il cuore, con una particolare attenzione alle cellule del miocardio; tratteremo il sistema di conduzione dell'impulso cardiaco, che avrà la peculiarità di essere un sistema specializzato intrinseco; descriveremo le varie fasi che caratterizzano il potenziale d'azione nel miocardio, distinguendo i processi che avvengono per le cellule contrattili miocardiche e le cellule autoritmiche miocardiche, sottolineando l'importanza degli ioni calcio (Ca^{2+}) ; infine illustreremo due aritmie cardiache, ossia la Tachicardia Ventricolare e la Fibrillazione Ventricolare.

Nel secondo capitolo presenteremo alcuni modelli del tipo Hodgkin-Huxley,

che rappresenta il punto di partenza per lo sviluppo e la formulazione di modelli di trasmissione del segnale elettrico, con opportune modificazioni tali da porter essere applicati ai potenziali d'azione cardiaci. Queste modificazioni vedranno una scomposizione della corrente del sodio in due canali diversi; l'introduzione del calcio e il suo fondamentale contributo attraverso una corrente per il calcio. Tutto ciò andrà ad influire sulla dinamica del potenziale d'azione cardiaco. Il modello maggiormente approfondito in questa sezione sarà il Modello di Luo e Rudy (fase 2), in cui si andrà a ricostruire il potenziale d'azione per le cellule ventricolari dei mammiferi (porcellino d'india) e fornirà la base per i successivi studi incentrati sulla simulazione del potenziale d'azione cardiaco umano.

Nel terzo capitolo, infine, andremo a trattare più specificatamente il Modello di O'Hara-Rudy, il quale rappresenta tutt'ora uno dei principali e più recenti modelli sulle cellule cardiache ventricolari umane. Andremo ad osservare il comportamento delle principali correnti che vanno a definire le equazioni del modello attraverso delle simulazioni numeriche. Infine faremo una considerazione sulle aritmie cardiache, e precisamente cercheremo di valutare il meccanismo che è alla base della transizione da Tachicardia Ventricolare a Fibrillazione Ventricolare, analizzando la dinamica intracellulare del Ca^{2+} . Nell'appendice finale saranno inserite tutte le equazioni e i parametri utilizzate nei modelli sopra descritti.

Capitolo 1

Il Sistema Cardiovascolare

1.1 Anatomia cardiaca

Il sistema cardiovascolare è un circuito chiuso costituito da cuore, vasi sanguigni e sangue. In questo contesto, il cuore è l'organo principale poichè agisce come una "pompa" trasportando il sangue in ogni parte del corpo. Di conseguenza verranno raccolti l'ossigeno dai polmoni e i nutrienti dall'intestino e in seguito verranno rilasciate le sostanze nutritive alle varie cellule dell'organismo. Il sangue scorre nell'organismo in un'unica direzione, grazie ad un sistema di valvole presente nel cuore e nelle vene che impediscono cambi di direzione. Il cuore è un organo muscolare sito al centro della cavità toracica, sul lato ventrale, in mezzo ai polmoni, dietro lo sterno, davanti la colonna vertebrale e sopra il diaframma. Esso ha una grandezza di circa un pugno ed ha una forma di tronco di cono capovolto con l'apice appuntito in basso, a contatto con il diaframma, e la base in alto dietro lo sterno. E avvolto in una sacca membranosa, il pericardio, al cui interno è presente un liquido che ne lubrifica la superficie esterna durante la contrazione. Il cuore è diviso verticalmente da una parete centrale, il setto, in una metà destra e una metà sinistra. Ognuna di esse lavora indipendentemente dall'altra ed esse sono ulteriormente suddivise in un atrio, posto nella parte superiore e con pareti più sottili, ed un vetricolo, posto nella parte inferiore e di dimensioni

maggiori con pareti muscolari spesse. Il lato destro del cuore riceve il sangue (con una bassa quantità di ossigeno) dai tessuti e giunge prima nell'atrio destro e poi nel ventricolo; da quest'ultimo, attraverso le arterie polmonari, viene inviato ai polmoni per l'ossigenazione. In seguito, il sangue ossigenato giungerà nel lato sinistro del cuore e attraverso il ventricolo sinistro verrà pompato a tutti i tessuti dell'organismo.

Il cuore è principalmente composto dal muscolo cardiaco o miocardio, ricoperto da strati interni ed esterni di epitelio e tessuto connettivo. Esso è un muscolo innervato dal sistema nervoso autonomo, il quale però non produce lo stimolo per la contrazione poichè il cuore ha un meccanismo miogeno, ossia intrinseco, nel generare l'impulso. Si contrae continuamente e riposa solo qualche millisecondo nelle pause tra un battito e l'altro. La contrazione, detta sistole, avviene grazie all'attivazione elettrica del miocardio ed il tessuto connettivo fibroso permette ai segnali elettrici di scorrere verso l'apice e di far partire la contrazione dal basso verso l'alto. Il miocardio possiede sia caratteristiche del tessuto muscolare striato sia del tessuto muscolare liscio, e ciò permette una rapida azione del muscolo nel pompaggio di sangue a tutto l'organismo ma anche la sua involontarietà di movimento. In esso possiamo distinguere le cellule autoritmiche miocardiche, dette anche pacemaker, e le cellule contrattili miocardiche. Le prime sono quelle che regolano la ritmicità del battito cardiaco e le diverse velocità di conduzione, sono cellule più piccole e anche se non contribuiscono alla potenza della contrazione del cuore, a causa delle loro scarse proprietà contrattili, sono quelle che generano spontaneamente potenziali d'azione e dunque rappresentano il sistema per l'eccitazione del cuore; le seconde, invece, hanno una muscolatura striata, simile a quella dei muscoli scheletrici, ma si differenziano da quest'ultimi ad esempio nell'essere fibre muscolari più piccole con le singole cellule che si diramano e si connettono alle cellule adiacenti tramite giunzioni cellulari, dette dischi intercalari, composte da desmosomi e giunzioni comunicanti; queste sono quelle che connettono elettricamente le cellule del miocardio e permettono alle onde di depolarizzazione di diffondersi rapidamente in modo

1.1. ANATOMIA CARDIACA

da ottenere una contrazione quasi simultanea.

1.1.1 Il sistema di conduzione nel cuore

Come abbiamo detto, il cuore possiede un sistema intrinseco specializzato nel generare gli impulsi elettrici e nel propagarli. Il tutto ha inizio attraverso un potenziale d'azione che si origina in una cellula autoritmica; la depolarizzazione si propaga rapidamente a tutte le cellule contrattili adiacenti attraverso le giunzioni comunicanti nei dischi intercalari e a seguito di ciò si avrà la contrazione del muscolo cardiaco, precisamente quella atriale avverrà circa 0.17 secondi prima di quella ventricolare. Nella Figura 1.1 possiamo ossservare tutto il sistema di conduzione cardiaca che ora descriveremo nel dettaglio.



Figura 1.1: Sistema di conduzione del cuore ([17]).

Lo stimolo ha origine da alcune cellule pacemaker poste nell'atrio destro e chiamate cellule del nodo senoatriale (nodo SA). Queste sono in grado di autoeccitarsi a causa della scarsa capacità della membrana delle fibre del nodo SA nel trattenere gli ioni sodio. L'onda di depolarizzazione si propaga tramite un sistema di conduzione di fibre autoritmiche non contrattili e la via internodale connette il nodo SA al nodo atrioventricolare (nodo AV), dove vi è un insieme di cellule autoritmiche non contrattili. Qui l'impulso rallenta prima di passare ai ventricoli, in modo che si possa completare il riempimento ventricolare prima che inizi la contrazione. Da qui la depolarizzazione continua attraverso le fibre di Purkinje, ossia fibre di conduzione presenti nei ventricoli che trasmetto i segnali molto velocemente lungo il fascio atrioventricolare (fascio AV o fascio di His) nel setto interventricolare. Qui il fascio si divide in una branca destra e una branca sinistra, le cui fibre si continuano a diramare verso l'apice del cuore e diventano fibre di Purkinje sempre più piccole. Queste sono fibre che trasmettono rapidamente il segnale, infatti si ha una velocità di 4m/s, probabilmente grazie ad una alta permeabilità nelle giunzioni dei dischi intercalari posti tra le varie cellule che permette il facile passaggio degli ioni da una cellula all'altra e dunque un'alta velocità di trasmissione. A questo punto, la contrazione dall'apice alla base spinge il sangue a fuoriuscire dalle aperture poste nella parte superiore dei ventricoli.

Si può notare come anche il nodo AV e le fibre di Purkinje, in alcune determinate circostanze, possano generare eccitazioni ritmiche; però la loro frequenza risulta essere minore rispetto a quella del nodo SA. Infatti le fibre del nodo SA possono avviare dei potenziali d'azione con una frequenza di 70-80 impulsi/min; le fibre del nodo AV con una frequenza di 40-60 impulsi/min; infine le fibre di Purkinje con una frequenza di 15-40 impulsi/min. Questo fa sì che il nodo SA emetta un impulso che giungerà sia al nodo AV e sia alle fibre di Purkinje; si avrà uno stato di iperpolarizzazione che il nodo SA esaurisce in fretta per poter scaricare un nuovo impluso. Questo processo si ripete infinite volte e non permette né al nodo AV né alle fibre di Purkinje di poter autoeccitarsi. Dunque il nodo SA è considerato il pacemaker più veloce da cui si genera l'impulso e la frequenza cardiaca.

1.1.2 Caratteristiche della membrana cellulare

La membrana cellulare è un sottile rivestimento che avvolge ogni cellula dell'organismo, è composta da un doppio strato di fosfolipidi in cui sono presenti anche numerose proteine e alcuni glucidi. Sebbene una delle funzioni principali è quella di separare l'ambiente esterno da quello interno, essa risulta essere fondamentale nella regolazione degli scambi cellulari di sostanze che la attraversano. Difatti vi è una selettività nei confronti degli elementi, quali gli ioni, che crea una diversa concentrazione tra l'interno e l'esterno. Ogni cellula presenta un potenziale elettrico di membrana che subisce variazioni a seconda dello stato di attività svolto da essa. Vedremo nel capitolo successivo che un fondamentale contributo per lo studio del comportamento della membrana cellulare sarà fornito da Hodgkin e Huxley, i quali lavorarono sulla membrana che avvolge gli assoni dei calamari giganti ([6]).

Nella composizione della membrana cellulare notiamo la presenza di alcuni pori che possono rappresentare la presenza ad esempio di canali ionici, pompe ioniche o scambiatori.

I canali ionici sono delle proteine di membrana che possiedono una certa permeabilità specifica a determinati ioni. Ognuno di essi possiede una distinta probabilità di apertura e chiusura del gate che lo contraddistingue. Alcuni esempi di canali ionici sono: i canali del sodio, i canali del potassio e i canali del calcio. I canali del sodio (Na^+) sono sempre presenti nelle membrane di tessuti eccitabili (come neuroni e miociti) e sono voltaggio-dipendenti, talora anche dipendenti dal tempo. Essi sono ritenuti i responsabili della rapida depolarizzazione del potenziale d'azione, dunque visivamente osserviamo il cosiddetto spike; ugualmente in modo rapido avverrà la diminuzione dopo l'attivazione. I canali del potassio (K^+) sono presenti in diverse tipologie e nel cuore sono presenti quelli voltaggio-dipendenti e quelli dipendenti dal tempo (ad esempio le correnti ritardate rapide e lente rettificanti menzionate in seguito saranno del primo tipo). Tali canali sono quelli che agiscono nella fase di ripolarizzazione. Infine, i canali del calcio (Ca^{2+}) sono sia voltaggio che tempo dipendenti e si differenziano in due tipi: di tipo-L e di tipo-T. I primi sono caratterizzati da un flusso ionico ampio e di lunga durata dopo l'attivazione, al contrario di ciò che accade per i secondi.

Per quanto riguarda il comportamento delle pompe ioniche, invece, sappiamo che esse sono proteine che trasferiscono attraverso la membrana cellulare degli ioni con un meccanismo noto come antiporto, poichè sono in grado di far entrare ed uscire ioni contemporaneamente. Quelle che incontreremo saranno principalmente la pompa sodio-potassio, la quale trasporta fuori tre ioni sodio e fa entrare due ioni potassio, e la pompa del calcio sarcolemmale, che trasporta fuori ioni calcio a seconda di $[Ca^{2+}]_i$.

Infine, troveremo lo scambiatore sodio-calcio il quale agisce trasportando al di fuori della cellula uno ione calcio e introduce tre ioni sodio all'interno. Esso dipidente, oltre che dalle concentrazioni intra ed extracellulari, anche dalla tensione.

Un'altra figura importante che troveremo citata in seguito è il reticolo sarcoplasmatico. Essa è una struttura intracellulare circondata da una membrana che contiene proteine dei canali ionici quali calcio, potassio e della pompa del calcio. Esso risulta essere fondamentale per la gestione del calcio intracellulare assieme al sistema tampone di calcio. Infatti ci saranno correnti di assorbimento e di perdita di ioni calcio, processo CICR per regolare il rilascio di ioni calcio e il sistema tampone, quest'ultimo per regolare e stabilizzare la concentrazione di ioni calcio all'interno delle cellule.

1.1.3 Il potenziale d'azione nel miocardio

Per quanto detto precedentemente, il muscolo cardiaco è un tessuto eccitabile e le cellule che lo compongono possiedono dei potenziali d'azione distinti, in cui gli ioni calcio (Ca^{2+}) svolgono un ruolo fondamentale. Infatti in tale muscolo ha origine il cosiddetto accoppiamento eccitazione-contrazione, che prevede la conversione dello stimolo elettrico in contrazione muscolare. Quando il potenziale d'azione giunge ad una cellula contrattile provoca

1.1. ANATOMIA CARDIACA

l'apertura dei canali del calcio di tipo L (canali voltaggio-dipendenti long lasting) e vi è l'ingresso del Ca^{2+} nella cellula. Ciò causa il rilascio di ulteriore Ca^{2+} attraverso i canali recettori della rianodina e si avrà la scarica di Ca^{2+} . Ulteriori scariche sommate creano il segnale di Ca^{2+} che provoca la contrazione muscolare.

Dunque, osserviamo il comportamento del potenziale d'azione:

• Cellule contrattili miocardiche. In questo caso i potenziali d'azione sono molto simili a quelli del muscolo scheletrico e dei neuroni, con la principale differenza dovuta al fatto che vi è un prolungato potenziale d'azione dovuto all'ingresso di Ca^{2+} nella cellula. Presentiamo dettagliatamente le varie fasi presenti nel grafico della Figura 1.2.



Figura 1.2: Potenziale d'azione di una cellula cardiaca contrattile ([17]).

- Fase 4: Potenziale di membrana a riposo. Le cellule contrattili miocardiche hanno un potenziale di riposo stabile di circa -90mV. Solo se esso viene perturbato e supera un certo valore di soglia allora si avvia l'eccitazione.
- Fase 0: Depolarizzazione. Una volta che il potenziale supera il valore di soglia, un'onda di depolarizzazione si diffonde tramite

le giunzioni comunicanti e il potenziale cresce rapidamente raggiungendo un valore di circa +20mV. Ciò avviene poichè i canali voltaggio-dipendenti del Na^+ si aprono, l' Na^+ entra nella cellula e la depolarizza celermente.

- Fase 1: Ripolarizzazione iniziale. La cellula inizia a ripolarizzarsi mentre il K^+ esce attraverso i suoi canali aperti. Questa fase ha una durata molto breve.
- Fase 2: Plateau. In questa fase il potenziale d'azione si "stabilizza" su certi valori positivi, e ciò avviene sia per una diminuzione della permeabilità al K^+ , di circa 5 volte rispetto alla condizione di riposo, e sia per l'aumento della permeabilità al Ca^{2+} . Durante le fasi precedenti, 0 e 1, i canali voltaggio-dipendenti del Ca^{2+} si sono aperti lentamente; ad apertura completa il Ca^{2+} entra nella cellula mentre alcuni canali rapidi del K^+ si chiudono. Questo binomio di eventi crea la fase di plateau, che determina un prolungamento del potenziale d'azione cardiaco. Questa fase termina con la chiusura dei canali del Ca^{2+} e l'aumento della permeabilità al K^+ .
- Fase 3: Ripolarizzazione rapida. I canali lenti del K^+ sono molto simili a quelli dei neuroni: si attivano grazie ad una depolarizzazione ma hanno velocità di apertura decisamente lenta. Quando si giunge a completa apertura, il K^+ esce rapidamente e la cellula ritorna alla sua condizione iniziale con potenziale di riposo.

Inoltre, come accennato sopra, durante la fase di plateau avviene un allungamento del potenziale d'azione. Nello specifico, il potenziale d'azione nel miocardio è dovuto all'apertura dei canali rapidi per il sodio e dei canali lenti per il calcio. Proprio questi ultimi tengono tale condizione per parecchi decimi di secondo determinando la condizione descritta. Il potenziale d'azione nel miocardio raggiunge una durata di



Figura 1.3: Periodo refrattario e contrazione muscolare cardiaca ([17]).

circa 200*ms*, mentre quello tipico di un neurone va da 1 a 5*ms*. Questa durata maggiore impedisce che si possa verificare una contrazione mantenuta nel tempo, chiamata tetano. Questo è fondamentale in quanto il miocardio deve rilasciarsi tra una contrazione e l'altra per permettere ai ventricoli di riempirsi di sangue. Tale contrazione tetanica non può avvenire in quanto il periodo refrattario (ossia l'intervallo temporale durante il quale uno stimolo normale non può generare un altro potenziale d'azione) e la contrazione terminano quasi contemporaneamente, proprio dovuto al prolungato potenziale d'azione, e ciò è visibile nella Figura 1.3 sopra.

• Cellule autoritmiche miocardiche. Queste cellule possiedono un potenziale di membrana instabile, per cui verrà definito come potenziale pacemaker e non come potenziale di membrana a riposo, dato che il vuo valore non è mai fisso. Esso parte da un valore di -60mV e gradualmente cresce diventando sempre meno negativo, finchè non raggiunge un valore soglia. Questo innesca un potenziale d'azione per la cellula autoritmica. Queste cellule possiedono canali differenti rispetto ad altri tessuti eccitabili. I canali I_f sono permeabili sia al K^+ e sia al Na^+ , si aprono quando si è nel valore -60mV e permettono alla corrente di fluire. Questo permette l'ingresso di Na^+ , che supera la quantità di K^+ che esce, e determina una depolarizzazione della

cellula. Man mano che il potenziale di membrana diventa sempre più positivo, questi canali si chiudono e alcuni dei canali del Ca^{2+} si aprono. La depolarizzazione continua grazie all'ingresso di Ca^{2+} e si giunge al valore soglia. A questo punto, ulteriori canali del Ca^{2+} si aprono, gli ioni di Ca^{2+} entrano nella cellula e avviano la fase di depolarizzazione rapida. Una volta avuto lo spike, i canali del Ca^{2+} si chiudono e, invece, si aprono i canali lenti del K^+ . La fuoriuscita di K^+ determina la ripolarizzazione del potenziale d'azione.

Modificando la permeabilità ad alcuni ioni si può cambiare la frequenza dei potenziali d'azione autoritmici e di conseguenza anche il potenziale pacemaker. Una frequenza maggiore di scariche del pacemaker determina una frequenza cardiaca maggiore. Tale processo si osserva nella Figura 1.4 seguente.



Figura 1.4: Potenziale d'azione nelle cellule autoritmiche cardiache ([17]).

1.2 Aritmie Cardiache

Quando si è in presenza di un battito cardiaco con frequenza irregolare, si ha a che fare con delle aritmie cardiache. Esse si possono sviluppare in varie aree del muscolo cardiaco e possono essere molto pericolose per la salute dell'organismo. Le anomalie che determinano le aritmie sono legate sia al sistema di eccitazione che a quello di propagazione dell'impulso. Principalmente accade che vi è una ritmicità anomala dell'avviatore cardiaco: l'avviatore non è più il nodo SA ma è spostato in qualche altra parte del cuore; vi sono blocchi nella propagazione dell'impulso; si generano spontaneamente impulsi anomali in altre parti del cuore.

Tra le varie aritmie approfondiamo la Tachicardia Ventricolare e la Fibrillazione Ventricolare, che saranno oggetto di studio nell'ultima parte di questa tesi.

• Tachicardia Ventricolare (VT). Con tale termine si indica una condizione di elevata frequenza ventricolare dovuta ad una rapida scarica di impulsi che si diffondono in ogni direzione. Questo fenomeno improvviso può durare anche per un lasso temporale molto ampio per poi terminare. Attraverso studi sperimentali si sono potuti osservare tre meccanismi che determinano tale condizione: un anormale automatismo, per cui avviene uno spontaneo declino del potenziale durante la diastole che porta all'avvio di un potenziale d'azione e le fibre di Purkinje si comportano come dei pacemaker; anormali depolarizzazioni della membrana cellulare come le post-depolarizzazioni precoci, dovute ad un prolungamento della durata del potenziale d'azione, e le postdepolarizzazioni tardive, dovute ad un accumulo di Ca^{2+} intracellulare; e infine un'anormale conduzione dell'impulso, per cui vi sono delle onde di depolarizzazione da "vie rientranti" che generano un'autoeccitazione localizzata e ripetitiva.

La Tachicardia ventricolare è molto grave poichè inevitabilmente vi è un grave danno al muscolo cardiace e, inoltre, può precedere la Fibrillazione Ventricolare.

• Fribrillazione Ventricolare (VF). Questa è la più pericolosa tra le aritmie cardiache poichè determinata da continui impulsi cardiaci che provocano continue contrazioni del muscolo e dei ventricoli casuali, mai coordinate. Questo comporta un pompaggio di sangue quasi nullo nelle arterie e dunque al cervello, con conseguente stato di perdita di coscienza. Tale fenomeno non si arresta spontaneamente e se protratto nel tempo porta all'arresto cardiaco. I fattori scatentanti possono essere molteplici, soprattutto in soggetti predisposti, ma principalmente individuiamo: uno shock elettrico per il muscolo cardiaco e/o un'ischemia del miocardio o del sistema di conduzione degli impulsi.

Capitolo 2

Modelli Cardiaci per il potenziale d'azione

Il punto di partenza per poter parlare di modelli cardiaci è stato utilizzare il modello di Hodgkin-Huxley. Tale modello fu ideato nel 1952 per spiegare i meccanismi che sono alla base dell'avviamento e della propagazione di potenziali d'azione lungo gli assoni giganti dei calamari. Ne vedremo ora una breve esposizione, che sarà utile per poter descrivere i modelli cardiaci che negli anni si sono sempre più evoluti e arricchiti di numerose correnti, le quali hanno riprodotto sempre più fedelmente il fenomeno biologico preso in esame.

2.1 Modello di Hodgkin-Huxley

Attraverso sperimentazioni, Hodgkin e Huxley si accorsero che la membrana cellulare è composta da un bistrato di lipidi con all'interno delle proteine. Quest'ultime permettono la permeabilità selettiva per alcuni tipi di ioni, dunque la membrana poteva essere modellizzata come un circuito RC (resistenza-condensatore). Indicheremo con V_m il potenziale di membrana, il quale ha capacità C_m ; le correnti ioniche principali osservate sono sodio Na e potassio K; vi è anche una piccola corrente di perdita (o di leakeage) composta da cloro e altri ioni. Ogni corrente si può descrivere attraverso una forza motrice (driving force) esprimibile attraverso un coefficiente di permeabilità, con stesse dimensioni di una conduttanza g_x (dove x indica lo ione selezionato e dipendente dal tempo e dalla tensione), e una differenza di potenziale elettrico tra il potenziale di membrana e il potenziale di equilibrio dello ione considerato V_x^{eq} . I vari rami del circuito sono connessi in parallelo.

Utilizzando la legge di Ohm, di Faraday e il principio di conservazione della carica di Kirchhoff ricaviamo che:

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = -I_m + I_{ext} \tag{2.1}$$

dove I_m è data dalla somma delle correnti ioniche, mentre I_{ext} è una corrente esterna.

Dunque, per il modello preso in esame le equazioni diventano:

$$I_m = g_{N_a}(V - V_{N_a}^{eq}) + g_K(V - V_K^{eq}) + g_l(V - V_l^{eq})$$
(2.2)

La forma per le conduttanze è data dalle seguenti espressioni:

$$g_{N_a} = \bar{g}_{N_a} m^3 h$$

 $g_K = \bar{g}_K n^4$

dove le quantità \bar{g}_{Na} , \bar{g}_K e g_l precedenti sono delle costanti (di cui le prime due rappresentano il massimo valore raggiungibile per lo ione considerato), mentre le grandezze m, $n \in h$ sono adimensionali, assumono valori tra [0, 1]e nell'ordine rappresentano le variabili di attivazione/apertura dei canali del sodio, variabile di attivazione dei canali del potassio e variabile di inattivazione/chiusura dei canali del sodio. Queste quantità risultano essere soluzioni delle seguenti equazioni differenziali del primo ordine:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1-m) - \beta_m(V)m$$
$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1-m) - \beta_n(V)n$$
$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1-h) - \beta_h(V)h$$

dove α_x e β_x sono costanti di velocità dipententi dal potenziale V ai capi della membrana. Essi determinano il rate di trasferimento degli ioni attraverso la membrana, α dall'esterno all'interno e β viceversa, e ne possiamo osservare il loro valore esplicito nell'appendice finale.

2.1.1 Modificazione del modello di Hodgkin-Huxley

Con il passare degli anni, gli studi proseguirono e i dati ottenuti sperimentalmente diventarono sempre più precisi. Questo portò alla sperimentazione in nuovi campi di applicazione ed un primo risultato fu quello di trasferire lo studio su cellule cardiache umane, e non più su animali. Questo è ciò che viene discusso nel modello di Noble del 1962 ([12]) e che di seguito descriveremo.

Esso prevede una modificazione delle equazioni di Hodgkin-Huxley con il fine di verificare se siano utili per descrivere i potenziali d'azione di lunga durata e pacemaker delle fibre di Purkinje del cuore. In questo caso accade che la depolarizzazione diminuisce la permeabilità della membrana al potassio, ma durante grandi depolarizzazioni parte di questa diminuzione sembra essere solo transitoria e tale permeabilità ricomincia ad aumentare lentamente. Dunque sono state modificate le equazioni che descrivono la dipendenza della corrente di potassio dal potenziale e dal tempo; quelle della corrente di sodio, invece, sono molto simili a quelle del modello originale di H-H e si basano in parte sugli esperimenti di tensione-morsetto (voltage-clamp) di Weidman ([19]). Nella figura 2.1 seguente possiamo osservare il circuito elettrico equivalente per la membrana delle fibre di Purkinje.

La sostanziale differenza con il modello originale è data dal fatto che si assume che la corrente del potassio fluisca attraverso due resistenze non lineari parallele, poste in serie con la sua batteria. Nel primo tipo di canale la conduttanza g_{K_1} è assunta come una funzione istantanea del potenziale di membrana e termina quando la membrana è depolarizzata; dunque la corrente passa molto facilmente verso l'interno. Nel secondo tipo di canale, invece,



Figura 2.1: Circuito elettrico equivalente per la membrana delle fibre di Purkinje ([12]).

la conduttanza g_{K_2} cresce lentamente quando la membrana è depolarizzata e la corrente fluisce verso l'esterno. Osserviamo le equazioni che governano tali quantità:

$$g_{K_1} = 1.2exp\left[\frac{(-E_m - 90)}{50}\right] + 0.015exp\left[\frac{(E_m + 90)}{60}\right]$$
$$g_{K_2} = 1.2n^4$$
$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1-n) - \beta_n n$$

dove E_m rappresenta il potenziale di membrana, dato dalla differenza tra potenziale interno ed esterno, ed espresso in mV.

Per la prima espressione, in realtà, non ci sono evidenze per cui essa sia realmente una funzione istantanea di E_m , anzi si osserverà che ci potrebbe essere un piccolo ritardo nei cambiamenti in g_{K_1} a seguito dei cambiamenti in E_m . Per la seconda equazione, invece, vi sono due modifiche (rispetto al modello di H-H): il valore di \bar{g}_{K_2} sarà preso molto piccolo in modo che l'aumento in g_{K_2} prodotto dalla depolarizzazione non dovrebbe compensare la decrescita in g_{K_1} ; poi, le costati di velocità saranno divise per 100 per considerare l'insorgenza più lenta di questo effetto nelle fibre di Purkinje. Il potenziale di equilibrio per il potassio viene fissato a -100mV, ottenendo così la formulazione per la corrente totale:

$$I_K = (g_{K_1} + g_{K_2})(E_m + 100) \tag{2.3}$$

Per ciò che concerne il comportamento del sodio, invece, è stato mostrato da Weidmann che è molto simile al comportamento analizzato originariamente da H-H, con la differenza che la curva è spostata di circa 20mV sull'asse di tensione ([19]). Le equazioni diventano:

$$g_{Na} = m^3 g \bar{g}_{Na}$$
$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m (1-m) - \beta_m m$$
$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1-h) - \beta_h h$$

Ma allora, l'equazione che descrive la corrente per il sodio diventa:

$$I_{Na} = (400m^3h + 0.14)(E_m - 40) \tag{2.4}$$

2.2 Modello di Beeler e Reuter

Questo modello matematico fu il primo ad essere introdotto per descrivere i potenziali d'azione delle fibre miocardiche ventricolari nei mammiferi; una situazione molto più complessa dei casi precedenti. Si prevede l'introduzione di due correnti verso l'interno, che sono la corrente eccitatoria veloce del sodio I_{Na} , dipendente dal tempo e dal voltaggio, e una corrente lenta I_s , trasportata principalmente da ioni calcio; inoltre, vi sono una corrente di potassio esterna I_{K_1} , indipendente dal tempo, e una corrente esterna I_{x_1} trasportata da ioni di potassio, dipendente dal tempo e dalla tensione. Tutte le misurazioni delle correnti avvengono attraverso il metodo voltage-clamp, una tecnica in cui viene impostata una tensione costante al potenziale di membrana cellulare e si procede poi con il quantificare le correnti ioniche per mantenere tale valore costante. Utilizzando le quantità precedenti possiamo dire che, per tale modello, vale la formulazione:

$$I_m = I_{Na} + I_{K_1} + I_{X_1} + I_S \tag{2.5}$$

Analizzandole più nello specifico possiamo dire che la corrente entrante veloce del sodio sarà responsabile della rapida salita del potenziale d'azione, mentre le altre saranno responsabili delle fasi di plateau e di ripolarizzazione. Infatti l'antagonismo tra le correnti esterne I_{K_1} e I_{x_1} con la corrente interna I_S produce la fase di plateau del potenziale d'azione, che termina con l'attivazione di I_{x_1} (la quale innescherà la fase di ripolarizzazione della membrana) oppure con l'inattivazione lenta di I_S .

La forma della corrente veloce del sodio è:

$$I_{Na} = (\bar{g}_{Na}m^{3}hj + g_{NaC})(V_{m} + E_{Na})$$
(2.6)

dove $\bar{g}_{Na} = 4mmho/cm^2$ è la conduttanza massima per il sodio; m, j, h sono dei parametri adimensionali, il primo di attivazione e gli altri di inattivazione (le cui formulazioni troviamo nell'Appendice A); $g_{NaC} = 0,003mmho/cm^2$ è la conduttanza di background del sodio; $E_{Na} = 50mV$ è il potenziale di inversione.

Per quanto riguarda la corrente di potassio I_{K_1} uscente, la sua forma dipenderà dal voltaggio ed è:

$$I_{K_1} = 0.35 \left[\frac{4e^{0.04(V_m + 85)} - 1}{e^{0.08(V_m + 53)} + e^{0.04(V_m + 53)}} + \frac{0.2(V_m + 23)}{1 - e^{-0.04(V_m + 23)}} \right]$$
(2.7)

La corrente uscente I_{X_1} , principalmente veicolata da ioni di potassio, assume la forma:

$$\bar{I}_{X_1} = I_{X_1} x_1 \tag{2.8}$$

$$\bar{I}_{X_1} = 0.8 \left[\frac{e^{0.04(V_m + 77)} - 1}{e^{0.04(V_m + 35)}} \right]$$
(2.9)

dove x_1 è il parametro di attivazione per la corrente.

L'ultima corrente da esprimere è la corrente lenta entrante I_S , principalmente trasportata da ioni calcio, e dipendente da tempo e voltaggio:

$$I_S = \bar{g}_S df (V_m - E_S) \tag{2.10}$$

dove $\bar{g}_S = 0.09mmho/cm^2$ è la massima conduttanza; d ed f sono i parametri di attivazione e inattivazione per la corrente; $E_S = -82, 3-13, 0287ln[Ca^{2+}]_i$ è il potenziale di inversione. Quest'ultimo risulta essere dipendente dalla concentrazione intracellulare degli ioni calcio $[Ca^{2+}]$, per cui vale l'espressione:

$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = -10^{-7}I_S + 0.07(10^{-7} - [Ca^{2+}]_i)$$
(2.11)

Concludendo, l'equazione differenziale ottenuta per la variazione nel tempo del potenziale di membrana assumerà la forma:

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \left(I_{Na} + I_{K_1} + I_{X_1} + I_S - I_{ext} \right)$$
(2.12)

Si può dunque affermare che tale modello per la ricostruzione del potenziale d'azione del miocardio ventricolare dei mammiferi si basa sull'utilizzo di due sistemi di correnti entranti e due uscenti, visibili sperimentalmente; nonostante ciò il modello presenta ancora poche informazioni sulle proprietà cinetiche della corrente eccitatoria del sodio. Inoltre, qui si è considerato un accumulo rapido e transitorio di ioni calcio intracellulari, ma non sono state discusse le condizioni sotto le quali si possa verificare un accumulo intracellulare ed extracellulare oppure un esaurimento, oppure entrambi, di ioni calcio e non si sono considerati i moderni meccanismi di pompa elettrogenica. Le vere e proprio carenze del modello consistono nel non avere un carattere predittivo per il comportamento del potenziale d'azione durante la conduzione o durante i suoi possibili disturbi, come le aritmie.

2.3 Modelli di Luo-Rudy

Nel 1991 venne pubblicata una prima formulazione del modello di Luo e Rudy ([8]), la quale si basava su dati a singola cellula e a singolo canale e presentava una grande novità rispetto al modello B-R precedente: se in questo le concentrazioni extracellulari degli ioni erano fissate, ora si introduce la dipendenza delle correnti del potassio dalla sua concentrazione. Dunque, utilizzando sempre il formalismo H-H, si procede con la ricostruzione numerica del potenziale d'azione ventricolare e si utilizza la seguente equazione differenziale per descrivere il tasso di variazione del potenziale di membrana:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m} \cdot (I_i + I_{st}) \tag{2.13}$$

dove C_m è la capacità di membrana, I_{st} è una corrente di stimolo e I_i è la somma delle correnti ioniche attraverso la membrana. Ora, la corrente I_i assume la forma:

$$I_i = I_{Na} + I_{Si} + I_K + I_{K1} + I_{Kp} + I_b (2.14)$$

dove I_{Na} è una corrente rapida del sodio, I_{Si} una corrente lenta entrante (principalmente di ioni calcio), I_K una corrente del potassio dipendente dal tempo, I_{K1} una corrente del potassio indipendente dal tempo, I_{Kp} una corrente di potassio di plateau e I_b è una corrente di background indipendente dal tempo.

Nonostante la modifica di alcune di queste correnti, la I_{Si} viene usata come nel modello B-R precedente. Il maggior limite di questo modello è che non tiene in considerazione i cambiamenti dinamici delle concentrazioni e dei flussi ionici durante il potenziale d'azione.

Per sopperire a tale problema, nel 1994 verrà proposta una seconda versione del modello per il potenziale d'azione ventricolare cardiaco dei mammiferi, principalmente incentrato sulle cellule del porcellino d'india ([9]). Questo prevede la presenza di processi che regolano il Ca^{2+} intracellulare, una corrente di Ca^{2+} attraverso canali di tipo-L (I_{Ca}), uno scambiatore $Na^+ - Ca^{2+}$ (I_{NaCa}) , rilascio e assorbimento di Ca^{2+} dal reticolo sarcoplasmatico (SR), un sistema tampone di Ca^{2+} nel SR e nel mioplasma, una pompa $Na^+ - K^+$ (I_{NaK}) , una corrente non specifica di membrana attivata da Ca^{2+} $(I_{ns(Ca)})$ e una pompa Ca^{2+} nel sarcolemma $(I_{p(Ca)})$. Poichè il reticolo sarcoplasmatico è diviso in reticolo sarcoplasmatico di rete (NSR) e reticolo sarcoplasmatico giunzionale (JSR), accade che il calcio entra nell'NSR e trasloca nel JSR per cui troveremo la presenza di alcune correnti che regolano questi meccanismi, ossia: una corrente entrante in NSR per l'assorbimento di Ca^{2+} (I_{up}) , una corrente tra NSR e JSR per la traslocazione di ioni Ca^{2+} (I_{tr}) , una corrente uscente da NSR per la perdita di Ca^{2+} (I_{leak}) e una corrente uscente da JSR di ioni Ca^{2+} (I_{rel}) . Possiamo osservare lo schema di tali correnti nella seguente figura.



Figura 2.2: Diagramma del modello di Luo e Rudy (L-R Fase 2, [9]).

Per cui la corrente I_i della formula 2.13 assumerà la forma:

$$I_{i} = I_{Na} + I_{Ca,t} + I_{K} + I_{K1} + I_{Kp} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{ns(Ca)} + I_{p(Ca)} + I_{Ca,b} + I_{Na,b}$$

$$(2.15)$$

dove I_{Na} è una corrente entrante veloce del sodio, $I_{Ca,t}$ è una corrente totale di calcio attraverso i canali di tipo-L (vale che $I_{Ca,t} = I_{Ca} + I_{Ca,Na} + I_{Ca,K})$, I_K una corrente di potassio dipendente dal tempo, I_{K1} una correte di potassio indipendente dal tempo, I_{Kp} una corrente di plateau del potassio, I_{NaCa} una corrente dello scambiatore sodio-calcio, I_{NaK} una corrente della pompa sodiopotassio, $I_{ns(Ca)}$ corrente non specifica attivata da Ca^{2+} , $I_{p(Ca)}$ una corrente della pompa sarcolemmale di Ca^{2+} , $I_{Ca,b}$ è una corrente background di calcio e $I_{Na,b}$ una corrente background di sodio.

Per evidenziare i cambiamenti dinamici delle concentrazioni ioniche durante il potenziale d'azione si utilizza la seguente espressione:

$$\frac{d[B]}{dt} = -\frac{I_B \cdot A_{cap}}{V_c \cdot z_B \cdot F} \tag{2.16}$$

dove [B] è la concentrazione dello ione, I_B è la somma delle correnti ioniche che trasportano lo ione, A_{cap} è l'area capacitiva della membrana, V_c è il volume del compartimento in cui [B] viene aggiornato, z_B è la valenza dello ione ed F è la costante di Faraday.

Nell'Appendice A finale possiamo osservare tutte le variabili coinvolte per descrivere le equazioni nel modello qui preso in esame. Più dettagliatamente possiamo di seguito osservare le varie formulazioni delle correnti.

La corrente veloce del sodio I_{Na} assume la stessa formulazione del modello precedente (L-R Fase 1), con solo una modificazione per il valore della conduttanza massima \bar{G}_{Na} ; per cui diviene:

$$I_{Na} = \bar{G}_{Na} m^3 h j (V - E_{Na})$$
(2.17)

dove m, h, j sono i parametri adimensionali di attivazione e inattivazione dei canali del sodio, \bar{G}_{Na} è la conduttanza massima del canale del sodio e E_{Na} è il suo potenziale di inversione.

La corrente totale $I_{Ca,t}$ attraverso il canale Ca^{2+} di tipo-L viene espressa come una somma di correnti in quanto questo tipo di canale risulta essere permeabile al passaggio di ioni calcio, sodio e potassio. In base al rapporto di permeabilità (rispettivamente di 2800:3.5:1), si ha che il maggior contributo

2.3. MODELLI DI LUO-RUDY

è dato da I_{Ca} . La formulazione è la seguente:

$$I_{Ca,t} = I_{Ca} + I_{Ca,Na} + I_{Ca,K}$$
(2.18)

$$I_{Ca} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot I_{Ca} \tag{2.19}$$

$$I_{Ca,Na} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,Na} \tag{2.20}$$

$$I_{Ca,K} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,K} \tag{2.21}$$

dove le equazioni seguono la formulazione data da *Campbell e altri*([2]) a campo costante; d è il parametro di attivazione (di un ordine più veloce rispetto al modello di B-R o L-R fase 1); f ed f_{Ca} sono i parametri di inattivazione dove il primo è esclusivamente dipendente dalla tensione mentre il secondo è dipendente dal $[Ca^{2+}]_i$.

La corrente di potassio I_K dipendente dal tempo si esprime come:

$$I_K = \bar{G}_K \cdot X_i \cdot X^2 \cdot (V - E_K) \tag{2.22}$$

dove si introduce la dipendenza della corrente dalla dinamica della concentrazione ionica del potassio, ossia la conduttanza massima \bar{G}_K sarà proporzionale alla $\sqrt{[K^+]_0}$; inoltre, si ha una dipendenza quadratica dal suo parametro di attivazione X^2 e una dipendenza lineare dal suo parametro di inattivazione X_i .

La corrente di potassio I_{K1} indipendente dal tempo mantiene lo stesso formalismo del modello L-R fase 1, con solo una modificazione del valore della conduttanza massima \bar{G}_{K1} . Tale corrente viene espressa da:

$$I_{K1} = \bar{G}_{K1} \cdot K1_{\infty} \cdot (V - E_{K1})$$
(2.23)

dove K1 è il parametro di inattivazione.

La corrente di plateau di potassio I_{Kp} viene considerata come nel modello L-R fase 1, per cui:

$$I_{Kp} = \bar{G}_{Kp} \cdot Kp \cdot (V - E_{Kp}) \tag{2.24}$$

La corrente dello scambiatore sodio-calcio I_{NaCa} è data da:

$$I_{NaCa} = k_{NaCa} \cdot \frac{1}{K_{m,Na}^{3} + [Na^{+}]_{o}^{3}} \cdot \frac{1}{K_{m,Ca} + [Ca^{2+}]_{o}} \cdot \frac{1}{1 + k_{sat} \cdot exp \left[(\eta - 1) \cdot V \cdot \frac{F}{RT}\right]} \cdot \left\{exp \left(\eta \cdot V \cdot \frac{F}{RT}\right) [Na^{+}]_{i}^{3} \cdot [Ca^{2+}]_{o} + exp \left[(\eta - 1) \cdot V \cdot \frac{F}{RT}\right] [Na^{+}]_{o}^{3} \cdot [Ca^{2+}]_{i}\right\}$$

$$(2.25)$$

dove k_{NaCa} è un fattore di scala per la corrente, $K_{m,Na}$ e $K_{m,Ca}$ sono delle concentrazioni di semi saturazione, k_{sat} è un fattore di saturazione a potenziali molto negativi, η è la posizione della barriera energetica che controlla la dipendenza della corrente dalla tensione. Inoltre, possiamo osservare come questa corrente dipenda dalle concentrazioni extracellulari di sodio e calcio, $[Na^+]_o$ e $[Ca^{2+}]_o$. La sua funzione è quella di rimuovere uno ione Ca^{2+} e di far entrare tre ioni Na^+ .

La formulazione della corrente della pompa sodio-potassio I_{NaK} mette in luce la dipendenza dalla tensione per tutti i valori della concentrazione $[Na^+]_o$. Essa è data da:

$$I_{NaK} = \bar{I}_{Nak} \cdot f_{Nak} \cdot \frac{1}{1 + (K_{m,Nai}/[Na^+]_i)^{1.5}} \cdot \frac{[K^+]_o}{[K^+]_o + K_{m,Ko}}$$
(2.26)

dove f_{NaK} è il parametro di dipendenza della tensione di I_{Nak} ; $K_{m,Nai}$ e $K_{m,Ko}$ sono le concentrazioni di semi saturazione. La funzione di tale pompa nel meccanismo in avanti consiste nello estrudere tre ioni Na^+ dalla cellula e far entrare due ioni K^+ .

Per quando riguarda la corrente non specifica attivata dal calcio $I_{ns(Ca)}$ si può affermare che essa è data dalla somma della corrente Na^+ e della corrente K^+ , poichè il canale è più permeabile a questi due tipi di ioni e molto

2.3. MODELLI DI LUO-RUDY

meno agli ioni calcio. Infatti vale che:

$$I_{ns(Ca)} = I_{ns,K} + I_{ns,Na} \tag{2.27}$$

$$I_{ns,K} = \bar{I}_{ns,K} \cdot \frac{1}{1 + (K_{m,ns(Ca)}/[Ca^{2+}]_i)^3}$$
(2.28)

$$I_{ns,Na} = \bar{I}_{ns,Na} \cdot \frac{1}{1 + (K_{m,ns(Ca)}/[Ca^{2+}]_i)^3}$$
(2.29)

dove le equazioni sono formulate a campo costante, e dipende dalla concentrazione di semi saturazione $K_{m,ns(Ca)}$.

La corrente della pompa sarcolemmale di calcio, $I_{p(Ca)}$, contribusce al meccanismo di estrusione di ioni Ca^{2+} dalla cella, come visto precedentemente anche dallo scambiatore sodio-calcio. La sua equazione è:

$$I_{p(Ca)} = \bar{I}_{p(Ca)} \cdot \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_{m,p(Ca)} + [Ca^{2+}]_i}$$
(2.30)

dove vi è una dipendenza dalla concentrazione di semi saturazione $K_{m,p(Ca)}$ e dalla concentrazione $[Ca^{2+}]_i$; infatti come viene affermato in [12] tale pompa è utile per tenere basso il livello di $[Ca^{2+}]_i$ a riposo.

Infine, vi sono le due correnti background $I_{Ca,b}$ e $I_{Na,b}$ date da:

$$I_{Ca,b} = \bar{G}_{Ca,b} \cdot (V - E_{Ca,N}) \tag{2.31}$$

$$I_{Na,b} = \bar{G}_{Na,b} \cdot (V - E_{Na,N}) \tag{2.32}$$

dove sono presenti le due conduttanze $\bar{G}_{x,b}$. Entrambe sono formulate come correnti di dispersione lineare, dove per la prima il contributo di $[Ca^{2+}]_i$ viene bilanciato dall'eliminazione di ioni calcio attraverso I_{NaCa} e $I_{p(Ca)}$ per mantenere il livello di riposo, mentre per la seconda $[Na^+]_i$ viene bilanciato dall'estrusione di ioni sodio attraverso I_{NaK} e dall'ingresso di tali ioni attraverso I_{NaCa} per tenere il livello di riposo.

Una differenza con il modello L-R fase 1 è che ora la corrente di background è data dalla somma di $I_{NaK} + I_{p(Ca)} + I_{Ca,b} + I_{Na,b}$ Analizzando il sistema tampone di calcio, questo è presente nel sarcolemma interno e nel mioplasma. Durante la contrazione muscolare, vengono trascurati i tamponi sarcolemmali e gli ioni calcio rilasciati da SR vengono tamponati nel mioplasma solo dalla calmodulina e dalla troponina. Il meccanismo di rilascio di Ca^{2+} da parte di SR è noto come processo CICR, mentre con CSQN indichiamo la calsequestrina tampone. Nell'Appendice A finale possiamo osservare la completa formulazione del processo che regola il flusso di calcio nel reticolo sarcoplasmatico.

Ciò che possiamo evidenziare qui sono le correnti di assorbimento e perdita di ioni calcio in NSR e la corrente di traslocazione di ioni calcio da NSR a JSR. Le loro equazioni sono:

$$I_{up} = I_{up} \cdot [Ca^{2+}]_i / ([Ca^{2+}]_i + K_{m,up}) \mod L \text{ per millisecondi}$$
(2.33)

$$I_{leak} = K_{leak} \cdot [Ca^{2+}]_{NSR} \quad \text{mmol/L per millisecondi}$$
(2.34)

$$I_{tr} = ([Ca^{2+}]_{NSR} - [Ca^{2+}]_{JSR})/\tau_{tr} \quad \text{mmol/L per millisecondi} \qquad (2.35)$$

dove vi è la concentrazione di semi saturazione $K_{m,up}$, una costante di velocià della perdita di Ca^{2+} da NSR, K_{leak} e una costante temporale per il trasferimento di calcio da NSR a JSR, τ_{tr} . Si noti come gli ioni calcio entrano in JSR solo attraverso il processo di traslocazione, in quanto viene trascurato l'assorbimento di calcio dal mioplasma da parte di JSR poichè il suo volume è troppo piccolo e il tasso di assorbimento è troppo lento.

Dunque, la peculiarità di questo modello consiste proprio nel simulare i cambiamenti dinamici delle correnti ioniche e dei processi che riguardano la variazione di concentrazione intracellulare del calcio, $[Ca^{2+}]_i$, durante il potenziale d'azione. Nonostante tale modello si basi sulla cellula ventricolare del porcellino d'india, esso fornisce un importante punto di riferimento anche per altri tipi di cellule ventricolari, con le dovute modifiche.
2.4 Modello di Tusscher, Noble e Panfilov

Sarà necessario fare un balzo temporale in avanti di una decina di anni per poter ritrovare un nuovo modello per le cellule ventricolari umane che si basi su dati e sperimentazioni recenti, in cui tutte le principali correnti ioniche si adattano ai dati sui miociti ventricolari umani. Tale modello è quello di Tusscher, Noble e Panfilov pubblicato nel 2003 ([18]), per il quale di seguito troviamo una breve presentazione delle principali correnti coinvolte e delle differenze con il modello precedente.

Così come nei casi visti sopra, la membrana cellulare viene modellata come un circuito RC dove le resistenze e le batterie rappresentano le vorrenti ioniche e le pompe utilizzate. Dunque, la corrente I_i dell'equazione 2.13 sarà:

$$I_{i} = I_{Na} + I_{K1} + I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{CaL} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{pCa} + I_{pK} + I_{bCa} + I_{bNa}$$
(2.36)

dove troviamo la corrente veloce del sodio I_{Na} , la corrente di potassio raddrizzatrice verso l'interno I_{K1} , la corrente transitoria verso l'esterno I_{to} , le correnti raddrizzatore ritardate rapida e lenta rispettivamente I_{Kr} e I_{Ks} , la corrente attraverso i canali del calcio di tipo-L I_{CaL} , la corrente dello scambiatore $Na^+ - Ca^{2+} I_{NaCa}$, la corrente della pompa $Na^+ - K^+ I_{NaK}$, le correnti di plateau di calcio e potassio rispettivamente I_{pCa} e I_{pK} , e infine le correnti di background del calcio e del sodio rispettivamente I_{bCa} e I_{bNa} .

La corrente veloce del sodio I_{Na} si assume con la formulazione introdotta precedentemente dal modello BR ([1]), per cui:

$$I_{Na} = G_{Na}m^{3}hj(V - E_{Na})$$
(2.37)

dove $G_{Na} = 14.838$ nS/pF è la conduttanza massima del sodio, m è il canale di attivazione, mentre h e j sono quelli di inattivazione veloce e lento, infine E_{Na} è il potenziale d'inversione. La corrente entrante raddrizzatrice I_{K1} ha la forma:

$$I_{K1} = G_{K1} \sqrt{\frac{K_o}{5.4}} x_{K1\infty} (V_{EK})$$
(2.38)

dove $G_{K1} = 5.405 \text{nS/pF}$ è la conduttanza massima, $K_o = 5.4 \text{mM}$ è la concentrazione extracellulare del potassio, $x_{K1\infty}$ è un fattore di rettifica verso l'interno, indipendente dal tempo ma dipendente dal voltaggio, E_K è il potenziale d'inversione.

La corrente transitoria uscente I_{to} si esprime con:

$$I_{to} = G_{to} rs(V - E_K) \tag{2.39}$$

dove G_{to} è la conduttanza massima, che assumerà valori diversi per le cellule epicariche ed endocardiche, r ed s sono i parametri di attivazione e inattivazione dipendenti dalla tensione, E_K è il potenziale d'inversione del potassio.

La corrente ritardata raddrizzatrice I_{Kr} viene descritta da:

$$I_{Kr} = G_{Kr} \sqrt{\frac{K_o}{5.4}} x_{r1} x_{r2} (V - E_K)$$
(2.40)

dove $G_{Kr} = 0.096$ nS/nF è la massima conduttanza, K_o è la concentrazione extracellulare del potassio, mentre x_{r1} e x_{r2} sono i parametri di attivazione e inattivazione.

Per quanto riguarda la corrente raddrizzatrice ritardata lenta I_{Ks} , invee, vale la forma:

$$I_{Ks} = G_{Ks} x_s^2 (V - E_{Ks})$$
(2.41)

dove G_{Ks} è sempre la massima conduttanza, x_s è il paramentro di attivazione ed E_{Ks} è il potenziale d'inversione ottenuto da una grande permeabilità agli ioni potassio ed una piccola agli ioni sodio.

La corrente I_{CaL} attraverso i canali di tipo-L del calcio è data da:

$$I_{CaL} = G_{CaL} df f_{Ca} 4 \frac{VF^2}{RT} \frac{Ca_i e^{2VF/RT} - 0.341Ca_o}{e^{2VF/RT} - 1}$$
(2.42)

dove $G_{CaL} = 1.75 \cdot 10^{-4} \text{nS/pF}$ è la conduttanza massima, d ed f sono i canali di attivazione e inattivazione dipendenti dal potenziale, f_{Ca} è un paramentro di inattivazione dipendente da Ca_i , mentre la forza motrice è modellata con l'equazione di Goldmann-Hodgkin-Katz, ignorando una piccola permeabilità per il sodio e il potassio, incentrando il tutto sugli ioni calcio.

La corrente dello scambiatore sodio-calcio I_{NaCa} assume una formulazione simile a quella vista nel modello precedente (L-R fase 2), per cui:

$$I_{NaCa} = P_{NaCa} \frac{e^{\gamma V F/RT} N a_i^3 C a_o - e^{(\gamma - 1)V F/RT} N a_o^3 C a_i \alpha}{(K_{mNa_i}^3 + N a_o^3)(K_{mCa} + C a_o)(1 + k_{sat} e^{(\gamma - 1)V F/RT})} \quad (2.43)$$

dove P_{NaCa} è la corrente massima, $\alpha = 2.5$ è un nuovo fattore qui introdotto, $\gamma = 0.35$ è un paramentro dipendente dal potenziale, $K_{mNa_i} = 87.5$ mM e $K_{mCa} = 1.38$ mM sono le costanti di semi saturazione per sodio e calcio, $k_{sat} = 0.1$ è un fattore di saturazione. Tramite tale scrittura si può sottolineare la maggior concentrazione del calcio vicino alla membrana sarcolemmale, dove risiede lo scambiatore.

Per la corrente delle pompa sodio-potassio I_{NaK} la formulazione resta simile al modello precedente (L-R fase 2), dunque:

$$I_{NaK} = P_{NaK} \frac{K_o Na_i}{(K_o + K_{mK})(Na_i + K_{mNa})(1 + 0.1245e^{-0.1VF/RT} + 0.0353e^{-VF/RT})}$$
(2.44)

dove P_{NaK} è la corrente massima, K_{mK} e K_{mNa} sono le costanti di semi saturazione per le concentrazioni K_o e Na_i .

Infine, per le correnti di plateau di calcio e potassio vale che:

$$I_{pCa} = G_{pCa} \frac{Ca_i}{K_{pCa} + Ca_i} \tag{2.45}$$

$$I_{pK} = G_{pK} \frac{V - E_K}{1 + e^{(25 - V)/5.98}}$$
(2.46)

dove $G_{pCa} = 0.025$ nS/pF e $G_{pK} = 0.0146$ nS/pF sono le conduttanze massime, $K_{pCa} = 0.0005$ mM è la costante di semi saturazione per Ca_i .

Mentre per le correnti di background di calcio e sodio si ha:

$$I_{bCa} = G_{bCa}(V - E_{Ca})$$
(2.47)

$$I_{bNa} = G_{bNa}(V - E_{Na})$$
 (2.48)

dove $G_{bCa} = 0.000592$ nS/pF e $G_{bNa} = 0.00029$ nS/pF sono le conduttanze massime.

Per quanto riguarda le dinamiche del calcio, invece, le correnti coinvolte sono una corrente di perdita dal reticolo sarcoplasmatico al citoplasma, I_{leak} ; una corrente di pompaggio che assrobe calcio in SR, I_{up} ; e una corrente di rilascio di calcio indotta dal calcio, I_{rel} . Le loro equazioni sono:

$$I_{leak} = V_{leak} (Ca_{sr} - Ca_i) \tag{2.49}$$

$$I_{up} = \frac{V_{maxsup}}{1 + K_{up}^2 / Cc_i^2}$$
(2.50)

$$I_{rel} = \left(a_{rel} \frac{Ca_{sr}^2}{b_{rel}^2 + Ca_{sr}^2} + c_{rel}\right) dg$$
(2.51)

dove $V_{l}eak = 0.00008ms^{-1}$ è la corrente massima di I_{leak} , $V_{maxsup} = 0.000425$ mM/ms è la corrente massima di I_{up} , $a_{rel} = 14.464$ mM/s è la massima I_{rel} dipendente da Ca_{sr} , $b_{rel} = 0.25$ mM è la costante di semi saturazione per I_{rel} , $c_{rel} = 8.232$ mM/s è la massima I_{rel} indipendente da Ca_{sr} , d è il parametro di attivazione di I_{CaL} e g è il parametro di inattivazione dipendente dal calcio.

Dunque, le equazioni per le variazioni del calcio intracellulare totale e calcio sarcoplasmatico totale valgono:

$$\frac{dCa_{itotal}}{dt} = -\frac{I_{CaL} + I_{bCa} + I_{pCa} - 2I_{NaCa}}{2V_C F} + I_{leak} - I_{up} + I_{rel} \qquad (2.52)$$

$$\frac{dCa_{srtotal}}{dt} = \frac{V_C}{V_{SR}} (-I_{leak} + I_{up} - I_{rel})$$
(2.53)

dove V_C e V_{SR} sono i volumi del mioplasma e del reticolo sarcoplasmatico.

Infine, vi sono anche delle equazioni che regolano la variazione temporale delle concentrazioni del sodio e del potassio:

$$\frac{dNa_i}{dt} = -\frac{I_{Na} + I_{bNa} + 3I_{NaK} + 3I_{NaCa}}{V_C F}$$
(2.54)

$$\frac{dK_i}{dt} = -\frac{I_{K1} + I_{to} + I_{Kr} + I_{Ks} - 2I_{NaK} + I_{pK} + I_{stim} + I_{ax}}{V_C F}$$
(2.55)

dove vi sono una corrente esterna di stimolo I_{stim} e un flusso di corrente assiale I_{ax} , al fine di evitare che il modello sia sovradeterminato.

Nonostante qui venga modellizzata una semplice dinamica per il calcio, questa produce risultati validi realisticamente, adattandosi al miocardio umano e andando ad approssimare cellule epicardiche, endocadiche e mediomiocardiche. Ciò permette di superare il modello di Priebe-Beuckelman ([14]) per le cellule ventricolari umane, che si basava sul modello L-R fase 2, ma che presentava delle limitazioni in quanto si basava ancora su alcuni dati animali.

Capitolo 3

Simulazioni numeriche sul modello ORd

3.1 Il Modello di O'Hara - Rudy

Il modello più recente che tratta il comportamento del potenziale d'azione ventricolare cardiaco umano è il modello dinamico di O'Hara e Rudy (ORd)([13]). Esso presenta ben 41 variabili di stato e mantiene il formalismo di H-H per la scrittura delle equazioni delle correnti coinvolte. Tale modello si basa su misurazioni effettuate su oltre 100 cuori umani non malati, per precisione sono stati utilizzati i dati di 140 cuori di cui il 56% proveniente da donatori maschi e con età media di 41 anni, con una deviazione standard di 12 anni. Lo scopo principale fu quello di studiare vari comportamenti fisiologici per poter comprendere la dipendenza del tasso di durata del potenziale d'azione (APD) e della restituzione dell'APD; gli effetti della calmodulina protein-kinasi II- Ca^{2+} dipendente (CaMK) sulle correnti ioniche; e i meccanismi alla base delle aritmie cardiache, come le post-depolarizzazioni precoci (EADs) e le alterns. Il modello preso in esame viene descritto dal seguente diagramma in Fig. 3.1, che si ottiene apportando alcune modifiche al modello di Decker et al.([4]). Come si può osservare dall'immagine sono presenti numerose correnti alcune delle quali sono di colore grigio poichè sono state



Figura 3.1: Diagramma del modello di O'Hara-Rudy ([12]).

riformulate, mentre altre sono di colore bianco poichè vengono mantenute come descritte nel modello di Decker, sopra citato, salvo alcuni aggiustamenti per le conduttanze. Inoltre, dallo schema si evince come tale modello sia suddiviso in quattro compartimenti: il mioplasma di massa (MYO), il reticolo sarcoplasmatico giunzionale (JSR), il reticolo sarcoplasmatico di rete (NSR) e il sottospazio (SS). Il MYO contiene la maggior parte delle correnti usate, tra cui la corrente del sodio I_{Na} , la corrente di potassio transitoria verso l'esterno I_{to} , la corrente rapida ritardata rettificante di potassio I_{Kr} , la corrente lenta ritardata rettificante di potassio I_{Ks} , la corrente di potassio rettificante verso l'interno I_{K1} , l'80% della corrente dello scambiatore sodiocalcio $I_{NaCa,i}$, la corrente della pompa sodio-potassio I_{NaK} , le correnti di background I_{Nab} , I_{Cab} e I_{Kb} e infine la corrente della pompa sarcolemmale di calcio I_{pCa} . Nel sottospazio invece sono presenti la corrente di Ca^{2+} attraverso i canali di tipo-L I_{CaL} , con le sue componenti I_{CaNa} e I_{CaK} , ed il 20% della corrente dello scambiatore sodio-calcio $I_{NaCa,ss}$. I flussi ionici sono rappresentati da Ca^{2+} attraverso il recettore della rianodina J_{rel} , la traslocazione di ioni calcio da NSR a JSR con J_{tr} , l'assorbimento di ioni

calcio in NSR tramite SERCA2a/PLB con J_{up} e infine flussi di diffusione da SS al MYO con $J_{diff,Na}$, $J_{diff,Ca}$ e $J_{diff,Na}$. Per quanto riguarda i sistemi tampone di Ca^{2+} vi sono la calmodulina (CMDN), la troponina (TRPN), la calsequestrina (CSQN), i siti di legame del reticolo sarcoplasmatico anionico per Ca^{2+} (BSR) e i siti di legame sarcolemmale anionico per Ca^{2+} (BSL). Infine è presente la calmodulina protein-kinasi II Ca^{2+} /-dipendente (CaMK) e sono stati evidenziati i suoi bersagli. Tutto quanto appena descritto va a comporre le 41 variabili di stato del modello, che useremo in seguito per le simulazioni e le cui formulazioni sono state prese dal testo supplementare S1 fornito assieme al modello ([13]).

Una novità introdotta dal modello è data dal fatto che per la corrente I_{CaL} si considera separatamente l'inattivazione calcio-dipendente (CDI) e l'inattivazione voltaggio-dipendente (VDI). Per poter fare ciò viene introdotta la variabile di gate n, che rappresenta la frazione di canali operanti in modalità CDI e che, dunque, assumerà un valore compreso tra 0 (completo VDI) e 1 (completo CDI): normalmente la combinazione dei due meccanismi di dipendenza causerà l'inattivazione.

Un'altra importante particolarità osservata è il poter riprodurre le postdepolarizzazioni precoci (EADs), le quali rappresentano un impulso di depolarizzazione precoce che blocca temporaneamente la ripolarizzazione. Esse si evidenziano in seguito ad una stimolazione lenta (CL=4000ms) e un blocco dell'85% della corrente I_{Kr} ; sono causate principalmente da una riattivazione della corrente I_{CaL} durante la fase di plateau; una volta che quest'ultima viene bloccata l'EAD scompare. Nella Fig. 3.2 seguente è possibile osservarne il meccanismo: difatti accade che osserviamo l'APs in alto, la sola stimolazione lenta non è in grado di sviluppare un EAD ma è necessario l'aggiunta del blocco della corrente I_{Kr} ; infine vi è mostrata la dipendenza degli EADs dalla corrente I_{CaL} .



B EAD mechanism: ORd endo simulations, CL = 4000 ms

Figura 3.2: Meccanismo degli EADs ([13]).

Sottolineiamo che la robustezza di questo modello sta proprio nell'utilizzo di una grande quantità di dati provenienti da soggetti umani non malati, i quali ne aumentano sensibilmente l'accuratezza.

3.2 Risultati Numerici

Come citato precedentemente, per effettuare alcune simulazioni sul modello ORd useremo i dati forniti dal testo supplementare S1 in ([13]), in cui le equazioni sono tutte funzioni che variano con continuità, prive di singolarità, per cui possono essere implementate con l'ambiente Matlab, utilizzando e modificando alcuni codici già forniti con il modello ORd. Le equazioni sono delle equazioni differenziali ordinarie (ODE) che vengono risolte attraverso il solutore *ode15s* di Matlab. I grafici presenti faranno riferimento all'analisi del modello per una cellula ventricolare endocardica singola, anche se modificando opportunamente il codice si può far riferimento anche a cellule epicardiche e cellule M (intramiocardiche).

Le simulazioni sono state eseguite partendo da alcuni parametri iniziali forniti come:

- il valore del potenziale d'azione a riposo $V_m = -87.84mV$
- le concentrazioni esterne $[Na^+]_o = 140mM$, $[Ca^{2+}]_o = 1.8mM$ e $[K^+]_o = 5.4mM$
- le concentrazioni interne e nel SS $[Na^+]_i = [Na^+]_{ss} = 7.23mM$, $[K^+]_i = [K^+]_{ss} = 143.79mM$, $[Ca^{2+}]_i = 8.54 \cdot 10^{-5}mM$, $[Ca^{2+}]_{ss} = 8.43 \cdot 10^{-5}mM$, $[Ca^{2+}]_{nsr} = 1.61mM$ e $[Ca^{2+}]_{jsr} = 1.56mM$
- le variabili di attivazione/inattivazione dei gate m = 0.007461, $h_{fast} = 0.692591$, $h_{slow} = 0.692574$, j = 0.692477, $h_{CaMK,slow} = 0.448501$, $j_{CaMK} = 0.692413$, $m_L = 0.000194015$, $h_L = 0.496116$, $h_{L,CaMK} = 0.265885$, a = 0.00101185, $i_{fast} = 0.999542$, $i_{slow} = 0.589579$, $a_{CaMK} = 0.000515567$, $i_{CaMK,fast} = 0.999542$, $i_{CaMK,slow} = 0.641861$, $d = 2.43015 \cdot 10^{-9}$, $f_{fast} = 1.0$, $f_{slow} = 0.910671$, $f_{Ca,slow} = 0.99982$, $j_{Ca} = 0.999977$, n = 0.00267171, $f_{CaMK,fast} = 1.0$, $f_{Ca,CaMK,fast} = 1.0$, $x_{r,fast} = 8.26608 \cdot 10^{-6}$, $x_{r,slow} = 0.453268$, $x_{s1} = 0.270492$, $x_{s2} = 0.0001963$ e $x_{K1} = 0.996801$
- i flussi $J_{rel,NP} = 2.53943 \cdot 10^{-5} mM/ms$, $J_{rel,CaMK} = 3.17262 \cdot 10^{-7} mM/ms$ e la frazione $CaMK_{trap} = 0.0124065$.

Le simulazioni sono effettuate considerando il valore della lunghezza del ciclo (CL, cycle length) sia per CL=1000ms e sia per CL=300ms, con stimolazione di 1Hz in steady state (stato stazionario) dopo n=1000 battiti. Le seguenti figure riportano i risultati ottenuti.

Nella Figura 3.3 possiamo comparare i risultati ottenuti per il potenziale d'azione per i due valori di CL considerati.



Figura 3.3: Grafico del potenziale d'azione V_m per CL=1000ms e CL=300ms.

Nelle figure seguenti da 3.4 a 3.12 compariamo i risultati ottenuti per tutte le correnti che descrivono il modello ORd. Osserviamo come a causa dell'aumento della refrattarietà a velocità più elevante, i valore di I_{Na} , I_{NaL} e I_{to} diminuiscono. Le correnti I_{Na} veloce e I_{NaL} lenta verranno sempre considerante passanti da un unico canale di gate, e mai separate. Proprio tale corrente I_{Na} è quella che provoca lo spike e dunque la massima V_m . Quando CL decresce anche essa si comporta di conseguenza diminuendo, poichè il tempo ridotto impedisce il completo recupero dell'inattivazione. Le correnti I_{Kr} e I_{K1} sono in gran parte indipendenti dal tasso di cambiamento; un accumulo di I_{Ks} causa una aumento dipendente dalla velocità della corrente. Dalla figura riguardante I_{NaK} , invece, si può notare come esso abbia assunto valori più grandi, e ciò accade a causa dell'accumulo del sodio intracellulare per stimolazioni elevate. Infine, $I_{NaCa,i}$ e $I_{NaCa,ss}$ si riducono al ridurre di CL poichè hanno il compito di rimuovere il calcio in aumento.

Inoltre nelle Figure 3.13 e 3.14 possiamo osservare i grafici delle correnti di background e la corrente della pompa sarcolemmale ottenute per CL=1000ms. A seguire vi sono anche i grafici per le correnti di calcio attraverso i canali di tipo-L, dei flussi di diffussione che avvengono tra il sottospazio e il mioplasma, e dei flussi ionici con J_{rel} , J_{up} e J_{tr} .



Figura 3.4: Grafico della corrente del sodio veloce I_{Na} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.5: Grafico della corrente del sodio lent
a I_{NaL} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.6: Grafico della corrente di potassio transitoria I_{to} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.7: Grafico della corrente rapida ritardata rettificante I_{Kr} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.8: Grafico della corrente lenta ritardata rettificante I_{Ks} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.9: Grafico della corrente di potassio rettificante verso l'interno I_{K1} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.10: Grafico della corrente dello scambiatore sodio-calcio $I_{NaCa,i}$ per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.11: Grafico della corrente dello scambiatore sodio-calcio $I_{NaCa,ss}$ per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.12: Grafico della corrente della pompa sodio-potassio I_{NaK} per CL=1000ms e CL=300ms.



Figura 3.13: Grafico delle correnti di background I_{Nab} , I_{Kb} e I_{Cab} per CL=1000ms.



Figura 3.14: Grafico della corrente della pompa sarcolemmale di calcio I_{pCa} per CL=1000ms.



Figura 3.15: Grafico della corrente di calcio attraverso i canali di tipo-L I_{CaL} per CL=1000ms.



Figura 3.16: Grafico dei flussi di diffusione da SS al MYO per $J_{diff,Na}$, $J_{diff,K}$ e $J_{diff,Ca}$ per CL=1000ms.



Figura 3.17: Grafico dei flussi ionici per J_{rel} , $J_{up} \in J_{tr}$ per CL=1000ms.

3.3 Tachicardia e Fibrillazione Ventricolare

Come già accennato precedentemente, le aritmie cardiache rappresentano un potenziale grave pericolo per la salute dell'organismo. Tra queste troviamo la fibrillazione ventricolare (FV), che è la più pericolosa poichè può determinare una morte cardiaca improvvisa. Attraverso osservazioni cliniche si è potuto constatare che essa è quasi sempre preceduta da tachicardia ventricolare (TV), con durata variabile, ma il meccanismo di passaggio da TV a FV sono poco conosciuti. Dunque si è cercato di mettere in luce questi meccanismi al fine di poter sviluppare un'adeguata terapia farmacologica per poter fronteggiare questa malattia.

Un ruolo importante viene svolto dalla quantità di calcio intracellulare: infatti il suo accumulo può indurre alla formazione di attività elettriche anomale del miocardio quali le postdepolarizzazioni precoci o ritardate (EADs e DADs), come osservato in ([20]). Dato che esso agisce su alcune correnti come la corrente dello scambiatore sodio-calcio (I_{NaCa}) , la corrente attraverso i canali di tipo-L $(I_{Ca(L)})$ oppure la corrente non selettiva attivata dal calcio $(I_{ns(Ca)})$, esso modifica sia la forma che la durata del potenziale d'azione per cui potrebbe innescare il mutamento da tachicardia a fibrillazione ventricolare.

Lo studio di tale problema viene affrontato in ([3]) e prevede l'analisi su miociti ventricolari dei cuori di alcuni conigli bianchi neozelandesi adulti di circa 2-3kg, in cui la propagazione del potenziale d'azione è data da una equazione differenziale alle derivate parziali della forma

$$\frac{\partial V}{\partial t} = \frac{1}{C_m} (I_{memb} + I_{stim}) + D\left(\frac{\partial^2 V}{\partial^2 x} + \frac{\partial^2 V}{\partial^2 y}\right)$$
(3.1)

dove V è il potenziale di membrana, C_m la capacità di membrana, I_{memb} la corrente totale ionica transmembrana, I_{stim} la corrente esterna che fornisce lo stimolo e D un coefficiente di diffusione. Per ulteriori dettagli sulla formulazione di tali quantità si faccia riferimento al paper ([3]).

La complessa dinamica del Ca^{2+} viene simulata utilizzando come modello di base il modello di Luo e Rudy (L-R fase 2), descritto approfonditamente nel capitolo precedente, andando a riformulare oppurtunamente alcune quantità per la gestione del calcio intracellulare. Ciò che si ottiene quando tale modello viene incorporato in un tessuto cardiaco 2D è una forma di rottura dell'onda a spirale dovuto proprio alle dinamiche del calcio. Naturalmente, uno dei limiti di tale studio consiste proprio nel simulare con un tessuto cardiaco 2D omogeneo isotropo, mentre nella realtà i cuori sono 3D disomogenei e anisotropi.

Nonostante ciò, i risultati ottenuti sono matematicamente validi e simili a quelli ottenuti sperimentalmente. Nella seguente Figura 3.18 è messo in luce il meccanismo sopra citato.

Per ottenere un'onda a spirale rientrante si eccita la regione rettangolare posta dietro la coda di un'onda rettilinea; il punto q indica il punto di adiacenza tra la parte anteriore e la coda dell'onda considerata. I colori presenti nella figura stanno ad indicare i vari valori del potenziale di membrana, infatti il blu vale per V < -60mV, il verde per $V \ge -60mV$ e il rosso per il valore assoluto di $I_{membr} > 10 \mu A / \mu F$. Nelle fasi A e B si osserva l'inizio di un'onda a spirale dovuta ad uno stimolo prematuro. Nel fase C si ha la creazione della punta dell'onda a spirale e una sua stabilizzazione. A seguito di ciò inizieranno a verificarsi delle deformazioni (fase D) in cui il fronte d'onda si deteriora progressivamente. Questo si verifica perchè la complessa dimanica del calcio intracellulare provoca delle disomogeneità spaziali nella concentrazione $[Ca^{2+}]_i$ intracellulare, le quali amplificano la corrente dello scambiatore sodio-calcio e la corrente non specifica attivata dal calcio a produrre ulteriori disomogeneità e prolungando la durata del potenziale d'azione. Questo ci conduce nella fase E dove avviene la completa rottura dell'onda a spirale, in quanto si hanno le interruzioni d'onda quando vi sono interazioni tra fronte d'onda e onda posteriore. Infatti visivamente possiamo notare come avviene

48 CAPITOLO 3. SIMULAZIONI NUMERICHE SUL MODELLO ORD



Figura 3.18: Illustrazione della rottura della spirale d'onda causata dalla dinamica del calcio intracellulare ([3]).

una discontinuità della linea rossa, che indica una propagazione lenta data dalle correnti di calcio attraverso i canali di tipo-L oppure da un arresto della conduzione dell'onda. Così si ottiene uno stato molto simile al caso in cui avviene la fibrillazione. Quando il rilascio spontaneo di calcio viene bloccato, le onde rientranti si riuniscono a formare un'unica onda a spirale stazionaria (fase F). Si noti come il punto q che simboleggiava la punta dell'onda a spirale assume un'altra posizione spaziale a causa di una ridistribuzione a seguito del processo avvenuto.

Dunque, si può concludere che la dinamica del Ca^{2+} intracellulare svolge un ruolo di primaria importanza nella transizione da tachicardia a fibrillazione ventricolare, naturalmente non escludendo la possibilità per cui ci possano essere altre variabili ad intervenire.

Capitolo 4

Appendice A

4.1 Equazioni per i modelli descritti

4.1.1 Modello di Hodgkin-Huxley

• Costanti di attivazione e inattivazione.

$$\alpha_m = 0.1 \frac{(V+25)}{exp\frac{V+25}{10}-1}$$
$$\beta_m = 4exp\left(\frac{V}{18}\right)$$
$$\alpha_n = 0.01 \frac{(V+10)}{exp\frac{V+10}{10}-1}$$
$$\beta_n = 0.125exp\left(\frac{V}{80}\right)$$
$$\alpha_h = 0.07exp\left(\frac{V}{20}\right)$$
$$\beta_n = \frac{1}{exp\frac{V+30}{10}+1}$$

con unità di misura: per α e β espressa in $[msec]^{-1}$, per V in mV.

4.1.2 Modificazione del modello di Hodgkin-Huxley

• Correnti

$$I_K = (g_{K_1} + g_{K_2})(E_m + 100)$$
$$I_{Na} = (400m^3h + 0.14)(E_m - 40)$$

• Costanti di attivazione e inattivazione

$$\begin{aligned} \alpha_n &= \frac{0.0001(-E_m - 50)}{exp\left[\frac{(-E_m - 50)}{10}\right] - 1} \\ \beta_n &= 0.002exp\left[\frac{(-E_m - 90)}{80}\right] \\ \alpha_h &= 0.17exp\left[\frac{(-E_m - 90)}{20}\right] \\ \beta_n &= \left[exp\left(\frac{-E_m - 42}{10}\right) + 1\right]^{-1} \\ \alpha_m &= \frac{0.1(-E_m - 48)}{exp\left[\frac{(-E_m - 48)}{15}\right] - 1} \\ \beta_m &= \frac{0.12(E_m + 8)}{exp\left[\frac{(E_m + 8)}{5}\right] - 1} \end{aligned}$$

dove le unità di misura sono: per E_m è mV, per α e β in $[msec]^{-1}$, per le densità di corrente in $\mu A/cm^2$.

4.1.3 Modello di Beeler e Reuter

• Correnti

$$I_{Na} = (\bar{g}_{Na}m^{3}hj + g_{NaC})(V_{m} + E_{Na})$$

$$I_{K_{1}} = 0.35 \left[\frac{4e^{0.04(V_{m}+85)} - 1}{e^{0.08(V_{m}+53)} + e^{0.04(V_{m}+53)}} + \frac{0.2(V_{m}+23)}{1 - e^{-0.04(V_{m}+23)}} \right]$$

$$\bar{I}_{X_{1}} = I_{X_{1}}x_{1}$$

$$\bar{I}_{X_{1}} = 0.8 \left[\frac{e^{0.04(V_{m}+77)} - 1}{e^{0.04(V_{m}+35)}} \right]$$

$$I_{S} = \bar{g}_{S}df(V_{m} - E_{S})$$

con le unità di misura: per le conduttanze è $mmho/cm^2$, per E_{Na} è mV.

• Costanti di attivazione e inattivazione

$$\begin{aligned} \alpha_m &= \frac{-V_m + 47}{e^{-0.1(V_m + 47)} - 1} \\ \beta_m &= 40e^{-0.056(V_m + 72)} \\ \alpha_h &= 0.126e^{-0.25(V_m + 77)} \\ \beta_h &= \frac{1.7}{e^{-0.082(V_m + 22.5)} + 1} \\ \alpha_j &= \frac{0.055e^{-0.2(V_m + 78)}}{e^{-0.2(V_m + 78)} + 1} \\ \beta_j &= \frac{0.3}{e^{-0.1(V_m + 32)} + 1} \\ \alpha_{x_1} &= \frac{0.0005e^{0.083(V_m + 50)}}{e^{0.057(V_m + 50)} + 1} \\ \beta_{x_1} &= \frac{0.0013e^{-0.06(V_m + 20)}}{e^{-0.04(V_m + 20)} + 1} \\ \alpha_d &= \frac{0.095e^{-0.02(V_m - 5)}}{e^{-0.072(V_m - 5)} + 1} \\ \beta_d &= \frac{0.012e^{-0.008(V_m + 28)}}{e^{0.15(V_m + 28)} + 1} \\ \beta_f &= \frac{0.0065e^{-0.02(V_m + 30)}}{e^{-0.2(V_m + 30)} + 1} \end{aligned}$$

con le unità di misura per α
e β di $[msec]^{-1}.$

• Equazioni differenziali

$$\frac{dV_m}{dt} = -\frac{1}{C_m} \left(I_{Na} + I_{K_1} + I_{X_1} + I_S - I_{ext} \right)$$
$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = -10^{-7}I_S + 0.07(10^{-7} - [Ca^{2+}]_i)$$
$$\frac{dy}{dt} = \frac{y_\infty - y}{\tau_y}$$

dove \boldsymbol{y} rappresenta uno dei parametri sopra citati, per cui vale che

$$\tau_y = \frac{1}{\alpha_y + \beta_y}$$
$$y_{\infty} = \frac{\alpha_y}{\alpha_y + \beta_y}$$

dove le unità di misura sono: per la C_m è $/cm^2$, per i tempi t, τ è msec, per $[Ca^{2+}]_i$ è mole/1.

4.1.4 Modello di Luo e Rudy

• Correnti ioniche nel sarcolemma

$$\begin{split} &I_{Na} = \bar{G}_{Na}m^{3}hj(V - E_{Na}) \\ &I_{Ca,t} = I_{Ca} + I_{Ca,Na} + I_{Ca,K} \\ &I_{Ca} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot I_{Ca} \\ &I_{Ca,Na} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,Na} \\ &I_{Ca,K} = d \cdot f \cdot f_{Ca} \cdot \bar{I}_{Ca,K} \\ &I_{K} = \bar{G}_{K} \cdot X_{i} \cdot X^{2} \cdot (V - E_{K}) \\ &I_{K1} = \bar{G}_{K1} \cdot K1_{\infty} \cdot (V - E_{K1}) \\ &I_{Kp} = \bar{G}_{Kp} \cdot Kp \cdot (V - E_{Kp}) \\ &I_{NaCa} = k_{NaCa} \cdot \frac{1}{K_{m,Na}^{3} + [Na^{+}]_{o}^{3}} \cdot \frac{1}{K_{m,Ca} + [Ca^{2+}]_{o}} \cdot \\ & \cdot \frac{1}{1 + k_{sat} \cdot exp \left[(\eta - 1) \cdot V \cdot \frac{F}{RT} \right]} \cdot \left\{ exp \left(\eta \cdot V \cdot \frac{F}{RT} \right) [Na^{+}]_{i}^{3} \cdot [Ca^{2+}]_{o} + \\ & - exp \left[(\eta - 1) \cdot V \cdot \frac{F}{RT} \right] [Na^{+}]_{o}^{3} \cdot [Ca^{2+}]_{i} \right\} \\ &I_{NaK} = \bar{I}_{Nak} \cdot f_{Nak} \cdot \frac{1}{1 + (K_{m,Nai}/[Na^{+}]_{i})^{1.5}} \cdot \frac{[K^{+}]_{o}}{[K^{+}]_{o} + K_{m,Ko}} \\ &I_{ns,K} = \bar{I}_{ns,Na} \cdot \frac{1}{1 + (K_{m,ns(Ca)}/[Ca^{2+}]_{i})^{3}} \end{split}$$

$$\begin{split} I_{ns(Ca)} &= I_{ns,K} + I_{ns,Na} \\ I_{p(Ca)} &= \bar{I}_{p(Ca)} \cdot \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_{m,p(Ca)} + [Ca^{2+}]_i} \\ I_{Ca,b} &= \bar{G}_{Ca,b} \cdot (V - E_{Ca,N}) \\ I_{Na,b} &= \bar{G}_{Na,b} \cdot (V - E_{Na,N}) \end{split}$$

dove per gli ioni S, come Ca^{2+}, Na^+, K^+ e per ns(Ca), vale che

$$\bar{I}_S = P_s \cdot z_S^2 \cdot \frac{VF^2}{RT} \cdot \frac{\gamma_{Si} \cdot [S]_i \cdot exp(z_S VF/RT) - \gamma_{So} \cdot [S]_o}{exp(z_S VF/RT) - 1}$$

• Concentrazioni ioniche

$$[K^{+}]_{o} = 5.4 \text{mmol/L}; \quad [K^{+}]_{i} = 145 \text{mmol/L};$$
$$[Na^{+}]_{o} = 140 \text{mmol/L}; \quad [Na^{+}]_{i} = 10 \text{mmol/L};$$
$$[Ca^{2+}]_{o} = 1.8 \text{mmol/L}; \quad [Ca^{2+}]_{i,rest} = 0.12 \mu \text{mol/L};$$

• Conduttanze

 $\bar{G}_{Na} = 16$ millisiemens/ μ F; $\bar{G}_K = 0.282 \cdot \sqrt{[K^+]_0/5.4}$ millisiemens/ μ F; $\bar{G}_{K1} = 0.75 \cdot \sqrt{[K^+]_0/5.4}$ millisiemens/ μ F; $\bar{G}_{Kp} = 0.0183$ millisiemens/ μ F $\bar{G}_{Ca,b} = 0.003016$ millisiemens/ μ F; $\bar{G}_{Na,b} = 0.00141$ millisiemens/ μ F

• Potenziali di inversione

$$E_{Na} = (RT/F) \cdot ln([Na^{+}]_{o}/[Na^{+}]_{i})$$

$$E_{K} = (RT/F) \cdot ln\{([K^{+}]_{o} + P_{Na,K}[Na^{+}]_{o})/([K^{+}]_{i} + P_{Na,K}[Na^{+}]_{i})\}$$

$$E_{K1} = (RT/F) \cdot ln([K^{+}]_{o}/[K^{+}]_{i}); \quad E_{Kp} = E_{K1}$$

$$E_{ns(Ca)} = (RT/F) \cdot ln[([K^{+}]_{o} + [Na^{+}]_{o})/([K^{+}]_{i} + [Na^{+}]_{i})]$$

$$E_{Ca,N} = (RT/2F) \cdot ln([Ca^{2+}]_{o}/[Ca^{2+}]_{i})$$

$$E_{Na,N} = E_{Na}$$

• Costanti di attivazione e inattivazione

(a) Corrente veloce del sodio

$$\begin{aligned} \alpha_h &= \alpha_j = 0.0 \\ \beta_h &= 1/\left(0.13\{1 + exp[(V + 10.66)/ - 11.1]\}\right) \\ \beta_j &= 0.3exp(-2.535 \cdot 10^{-7}V)/1 + exp[-0.1(V + 32)] \end{aligned}$$

Se V < -40mV

$$\begin{split} &\alpha_h = 0.135 \cdot exp \left[(80+V) / - 6.8 \right] \\ &\beta_h = 3.56 \cdot exp (0.079V) + 3.1 \cdot 10^5 \cdot exp (0.35V) \\ &\alpha_j = \left[-1.2714 \cdot 10^5 \cdot exp (0.2444V) - 3.474 \cdot 10^{-5} \cdot \\ & \cdot exp (-0.04391V) \right] \cdot (V + 37.78) / \{ 1 + exp [0.311 \cdot (V + 70.23)] \} \\ &\beta_j = 0.121 \cdot exp (-0.01052V) / \{ 1 + exp [-0.1378 \cdot (V + 40.14)] \} \end{split}$$

Per tutti gli altri valori di V vale che

$$\alpha_m = 0.32(V + 47.13) / \{1 - exp \left[-0.1(V + 47.13)\right]\}$$

$$\beta_m = 0.08exp(-V/11)$$

(b) Correnti attraverso il canale di Ca^{2+} di tipo-L

$$\alpha_d = d_{\infty}/\tau_d; \quad \beta_d = (1 - d_{\infty})/\tau_d$$
$$\alpha_f = f_{\infty}/\tau_f; \quad \beta_f = (1 - f_{\infty})/\tau_f$$

dove

$$\begin{aligned} &d_{\infty} = 1/\{1 + exp[-(V+10)/6.24]\} \\ &\tau_d = d_{\infty} \cdot \{1 - exp[-(V+10)/6.24]\}/[0.035 \cdot (V+10)] \\ &f_{\infty} = 1/\{1 + exp[(V+35.06)/8.6]\} + 0.6/\{1 + exp[(50-V)/20]\} \\ &\tau_f = 1/\left(0.0197 \cdot exp\{-[0.0377 \cdot (v+10)]^2\} + 0.02 \end{aligned}$$

4.1. EQUAZIONI PER I MODELLI DESCRITTI

(c) Corrente di potassio dipendente dal tempo

$$\alpha_X = 7.19 \cdot 10^{-5} \cdot (V+30) / \{1 - exp[-0.148 \cdot (V+30)]\}$$

$$\beta_X = 1.31 \cdot 10^{-4} \cdot (V+30) / \{-1 + exp[0.0687 \cdot (V+30)]\}$$

$$X_i = 1 / \{1 + exp[(V-56.26)/32.1]\}$$

(d) Corrente di potassio indipendente dal tempo

$$\alpha_{K1} = 1.02/\{1 + exp[0.2385 \cdot (V - E_{K1} - 59.215)]\}$$

$$\beta_{K1} = \{0.49124 \cdot exp[0.08032 \cdot (V - E_{K1} + 5.476)] + exp[0.06175 \cdot (V - E_{K1} - 594.31)]\}/\{1 + exp[-0.5143 \cdot (V - E_{K1} + 4.753)]\}$$

(e) Corrente di plateau di potassio

$$K_p = 1/\{1 + exp[(7.488 - V)/5.98]\}$$

• Altre costanti

 $C_m = 1\mu F/cm^2$ capacità di membrana $A_{cap} = 1.534 \cdot 10^{-4} cm^2$ area capacitiva di membrana V_c = volume del compartimento C $V_{cell} = \pi r^2 L = 38 \times 10^{-6} \mu L$ volume della cellula $V_{myo} = V_{cell} \cdot 68 = 25.84 \times 10^{-6} \mu L$ volume del mioplasma $V_{mito} = V_{cell} \cdot 26 = 9.88 \times 10^{-6} \mu L$ volume dei mitocondri $V_{SR} = V_{cell} \cdot 6 = 2.28 \times 10^{-6} \mu L$ volume del reticolo sarcoplasmatico $V_{NSR} = V_{cell} \cdot 5.52 = 2.098 \times 10^{-6} \mu L$ volume del reticolo sarcoplasmatico di rete $V_{JSR} = V_{cell} \cdot 0.48 = 0.182 \times 10^{-6} \mu L$ volume del reticolo sarcoplasmatico giunzionale $P_{Ca} = 5.4 \cdot 10^{-4} \text{cm/s}$ permeabilità della membrana allo ione calcio $\gamma_{Cai} = 1; \quad \gamma_{Ca0} = 0.341 \quad \text{coefficiente di attività dello ione}$ $P_{Na} = 6.75 \cdot 10^{-7} \text{ cm/s}$ permeabilità della membrana allo ione sodio $\gamma_{Nai} = \gamma_{Na0} = 0.75$ coefficiente di attività dello ione $P_K = 1.93 \cdot 10^{-7} \text{ cm/s}$ permeabilità della membrana allo ione potassio $\gamma_{Ki} = \gamma_{K0} = 0.75$ coefficiente di attività dello ione $f_{Ca} = 1/[1 + ([Ca^{2+}]_i/K_{m,Ca})^2]$ cancello di inattivazione

 z_S = valenza dello ione S considerato V =potenziale di membrana, mV F = 96500 coulombs/mol costante di Faraday R = 1.987 calories/mol/°K costante dei gas T =temperatura assoluta, °K $K_{m,Ca} = 0.6\mu \text{ mol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale Ca $P_{Na,K} = 0.01833$ rapporto di permeabilità dello ione Na allo ione K $k_{NaCa} = 200 \mu \text{ A}/\mu \text{ F}$ fattore di scala di I_{NaCa} $K_{m,Na} = 87.5 \text{mmol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale del sodio $K_{m,Ca} = 1.38$ mmol/L concentrazione di semi saturazione del canale del calcio $k_{sat} = 0.1$ fattore di saturazione $\eta = 0.35$ posizione della barriera di energia $\bar{I}_{NaK} = 1.5 \mu A/\mu F$ correcte massima attraverso il canale NaK $K_{m,Nai} = 10 \text{mmol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale Nai $K_{m,Ko} = 1.5 \text{mmol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale K0 $f_{NaK} = \frac{1}{1+0.1245 exp\left(-0.1\frac{VF}{BT}\right)+0.0365\sigma exp\left(-\frac{VF}{BT}\right)}$ parametro di dipendenza della tensione di I_{NaK} $\sigma = \frac{1}{7} \cdot \left[exp(\frac{[Na^+]_o}{67.3} - 1) \right]$ fattore di dipendenza di f_{Nak} da $[Na^+]_0$ $P_{ns(Ca)} = 1.75 \cdot 10^{-7} \text{ cm/s}$ permeabilità della membrana alla non-specifica corrente $K_{m,ns(Ca)} = 1.2 \mu \text{ mol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale ns(Ca) $\bar{I}_{p(Ca)} = 1.15 \mu A/\mu F$ correcte massima attraverso il canale p(Ca) $K_{m,p(Ca)} = 0.5 \mu \text{mol/L}$ concentrazione di semi saturazione del canale p(Ca)

• Sistema tampone di calcio nel mioplasma

buffered[TRPN] = $[TRPN] \cdot \{[Ca^{2+}]_i / ([Ca^{2+}]_i + K_{m,TRPN})\}$ buffered[CMDN] = $\overline{[CMDN]} \cdot \{[Ca^{2+}]_i / ([Ca^{2+}]_i + K_{m,CMDN})\}$ $\overline{[TRPN]} = 70\mu \text{mol/L}; \quad \overline{[CMDN]} = 50\mu \text{mol/L}$ $K_{m,TRPN} = 0.5\mu \text{mol/L}; \quad K_{m,CMDN} = 2.38\mu \text{mol/L}$

• Flussi di calcio nel reticolo sarcoplasmatico

(a) Rilascio di calcio indotto dal calcio di JSR $I_{rel} = G_{rel} \cdot ([Ca^{2+}]_{JSR} - [Ca^{2+}]_i) \text{mmol/L per millisecondi}$ Se $\Delta [Ca^{2+}]_{i,2} > \Delta [Ca^{2+}]_{i,th}$ 2 millisecondi dopo il tempo di \dot{V}_{max}

4.1. EQUAZIONI PER I MODELLI DESCRITTI

$$\begin{split} G_{rel} &= \bar{G}_{rel} \cdot \frac{\Delta [Ca^{2+}]_{i,2} - \Delta [Ca^{2+}]_{i,th}}{K_{m,rel} + \Delta [Ca^{2+}]_{i,2} - \Delta [Ca^{2+}]_{i,th}} \cdot (1 - exp[-t/\tau_{on}]) \cdot exp[-t/\tau_{off}] \\ \Delta [Ca^{2+}]_{i,th} &= 0.18 \mu \text{mol/L}; \quad K_{m,rel} = 0.8 \mu \text{mol/L}; \\ \tau_{on} &= \tau_{off} = 2 \text{millisecondi}; \quad t = 0 \text{ al tempo del CICR}; \\ \bar{G}_{rel} &= 18 m s^{-1} \text{ per simulazioni voltage-clamp}; \\ \bar{G}_{rel} &= 60 m s^{-1} \text{ per simulazioni di potenziale d'azione.} \\ \text{Se } \Delta [Ca^{2+}]_{i,2} < \Delta [Ca^{2+}]_{i,th} \text{ a 2 millisecondi allora } \bar{G}_{rel} = 0. \end{split}$$

- (b) Rilascio di calcio di JSR in condizioni di sovraccarico di calcio $I_{rel} = G_{rel} \cdot ([Ca^{2+}]_{JSR} - [Ca^{2+}]_i) \text{mmol/L per millisecondi}$ Se buffered[CSQN] $\geq [CSQN]_{th}$ $G_{rel} = \bar{G}_{rel} \cdot (1 - exp[-t/\tau_{on}]) \cdot exp[-t/\tau_{off}];$ $\bar{G}_{rel} = 4ms^{-1}; \ [CSQN]_{th} = 0.7 \text{ o superiore};$ $\tau_{on} = \tau_{off} = 2$ millisecondi; t = 0 al momento del rilascio spontaneo. Se buffered[CQSN] $< [CQSN]_{th}$ allora $\bar{G}_{rel} = 0.$
- (c) Sistema tampone di calcio in JSR e CSQN buffered[CSQN] = $\overline{[CSQN]} \cdot \{[Ca^{2+}]_{JSR}/([Ca^{2+}]_{JSR} + K_{m,CSQN})\}$ $\overline{[CSQN]} = 10$ mmol/L; $K_{m,CSQN} = 0.8$ mmol/L.
- (d) Assorbimento e perdita di calcio in NSR $I_{up} = I_{up} \cdot [Ca^{2+}]_i / ([Ca^{2+}]_i + K_{m,up}) \text{mmol/L per millisecondi};$ $I_{leak} = K_{leak} \cdot [Ca^{2+}]_{NSR} \text{mmol/L per millisecondi};$ $K_{m,up} = 0.92 \mu \text{mol/L}; \quad \bar{I}_{up} = 0.0054 \text{mmol/L};$ $K_{leak} = \bar{I}_{up} / \overline{[Ca^{2+}]}_{NSR} ms^{-1}; \quad \overline{[Ca^{2+}]}_{NSR} = 15 \text{mmol/L}.$
- (e) Traslocazione di ioni calcio da NSR a JSR $I_{tr} = ([Ca^{2+}]_{NSR} - [Ca^{2+}]_{JSR})/\tau_{tr} \text{mmol/L per millisecondi};$ $\tau_{tr} = 180 \text{millisecondi}.$
 - Equazioni differenziali

$$\begin{split} \frac{dV}{dt} &= -\frac{1}{C_m} \cdot \left(I_i + I_{st}\right) \\ I_i &= I_{Na} + I_{Ca,t} + I_K + I_{K1} + I_{Kp} + I_{NaCa} + I_{NaK} + I_{ns(Ca)} + I_{p(Ca)} + I_{Ca,b} + I_{Na,b} \\ \frac{d[B]}{dt} &= -\frac{I_B \cdot A_{cap}}{V_c \cdot z_B \cdot F} \end{split}$$

Capitolo 5

Conclusione

Nel lavoro svolto in questo elaborato viene posta l'attenzione sui modelli matematici che governano la fisiologia umana, e precisamente si è analizzato il sistema di conduzione dell'impulso elettrico nel muscolo cardiaco umano. Dopo un'introduzione sui concetti anatomici fondamentali per avere un quadro sull'argomento, si sono esposti una serie di modelli che, con il passare del tempo, sono divenuti sempre più complessi ma al contempo più precisi. Si parte con un breve richiamo al modello di Hodgkin-Huxley, il quale funge da modello base per il modello di Noble. Quest'ultimo si adatterà a poter descrivere i potenziali d'azione e pacemaker delle fibre di Purkinje del cuore. A seguire verranno proposti il modello di Beeler e Reuter (BR), i modelli di Luo-Rudy (LR fase 1 e fase 2) e il modello di Tusscher, Noble e Panfilov (TNP). Sebbene il modello BR sia stato introdotto temporalmente per primo e descrive i potenziali d'azione delle fibre miocardiche ventricolari nei mammiferi, questo avrà come grandi limitazioni l'avere poche informazioni sulle proprietà cinetiche della corrente eccitatoria del sodio e sul comportamento del calcio intracellulare ed extracellulare. Con i modelli LR, principalmente con la fase 2, verranno messi in evidenza i cambiamenti dinamici delle concentrazioni e dei flussi ionici, introducendo, ad esempio, meccanismi di pompa elettrogenica, scambiatori, sistema tampone di calcio. Il suo limite è dato dal fatto che si basa su cellule ventricolari del porcellino d'india e non

umane. Andando ancora avanti nel tempo, sarà il modello TNP a basare i studi sulle cellule ventricolari umane, adattandosi ai dati sui miociti ventricolari umani. Nonostante venga utilizzata una semplice dinamica per il calcio, esso produrrà risultati validi e simili agli esperimenti.

Nell'ultima parte, invece, viene trattato più approfonditamente il modello di O'Hara-Rudy (ORd), il quale sarà molto più complesso poichè presenta ben 41 variabili di stato, però sarà basato su cuori umani non malati. Attraverso alcune simulazioni svolte nell'ambiente Matlab abbiamo potuto osservare il comportamento delle correnti essenziali che descrivono tale modello, andando a sottolineare le loro differenze quando si attuano delle variazioni al cycle lenght.

Infine, basandoci sui risultati proposti dal paper ([3]), viene osservato il comportamento del calcio intracellulare nel poter innescare la fibrillazione ventricolare a seguito della tachicardia. Infatti esso può provocare attività elettriche anomale compatibili con tali aritmie.
Bibliografia

- Beeler, G.W. e Reuter, H.; Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres; The Journal of Physiology (1977), 268, pp.177-210.
- [2] Campbell, DL. e Giles, WR. e Hume, JR. e Noble, D.e Shibata, EF.; textitReversal potential of calcium currents in bull-frog atrial myocytes; The Journal of Physiology (1988), 403, pp.267-286.
- [3] Chudin, E. e Goldhaber, J. e Garfinkel, A. e Weiss, J. e Kogan, B.; *Intracellular Ca²⁺ Dynamics and the stability of ventricular tachycardia*; Biophysical Journal (1999), Vol 77, pp.2930-2941.
- [4] Decker, K.F. e Heijman, J. e Silva, J.R. e Hund, T.J. e Rudy, Y.; Properties and ionic mechanisms of action potential adaption, restitution, and accomodation in canine epicardium; Am J Physiology Heart and Circulatory Physiology (2009), 296:H1017-1026.
- [5] Guyton, Arthur C. e Hall, John E.; Fisiologia Medica, II edizione; EdiSES, 2002.
- [6] Hodgkin, A.L. e Huxley, A.F.; A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve; The Journal of Physiology (1952), 117, pp.500-544.
- [7] Keener, J. e Sneyd, J.; *Mathematical Physiology*, Second Edition; Springer, 2009.

- [8] Luo, CH. e Rudy, Y.; A model of the ventricular cardiac action potential, depolarization, repolarization, and their interaction; Circulation Research (1991), 68, pp.1501-1526.
- [9] Luo, CH. e Rudy, Y.; A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I. Simulation of ionic currents and concentration changes; Circulation Research (1994), 74, pp.1071-1096.
- [10] Mascia, C. e Montefusco, M. e Terracina, A.; BioMat 1.0; LaDotta, 2018.
- [11] McAllister, R. E. e Noble, D. e Tsien, R.W.; Reconstruction of the electrical activity od cardiac Purkinje fibres; The Journal of Physiology (1975), 251, pp. 1-59.
- [12] Noble, D.; A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pace-maker potentials; The Journal of Physiology (1962), 160, pp.317-352.
- [13] O'Hara, T. e Virág, L. e Varró, A. e Rudy, Y.; Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation; PloS Computational Biology (2011), volume 7, issue 5, e1002061.
- [14] Priebe, L. e Beuckelmann, D.; Simulation study of cellular electric properties in heart failure; Circulation Research (1998), 82, pp.1206-1223.
- [15] Rasmusson, RL. e Clark, JW. e Giles, WR. e Robinson, K. e Clark, RB. e Shibata, EF. e Campbell, DL,; A matematical model of electrophysiological activity in bullfrog atrial cell; American Journal of Physiology -Heart and Circulatory Physiology (1990), 255, pp.370-389.
- [16] Sachse, F.B.; Computational Cardiology. Modeling od Anatomy, electrophysiology and mechanics; Springer, 2004.

- [17] Silverthorn, Dee Unglaub ; Fisiologia Umana: un approccio integrato, Ottava edizione; Pearson, 2020.
- [18] ten Tusscher, K.H.W.J. e Noble, D. e Noble, P.J. e Panfilov, A.V.; A model for human ventricular tissue; Am J Physiology Heart and circulatory Physiology (2004), 286:H1573-H1589.
- [19] Weidmann, S.; The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system; The Journal of Physiology (1955), 127, pp.213-224.
- [20] Wit, A.L. e Janse, M.J.; The Ventricular Arrhythmias of Ischemia and Infarction: Electrophysiological Mechanisms.; Futura Publishing Co., Mount Kisco, NY, 1993.

Ringraziamenti

Giunta al termine di questo percorso vorrei ringraziare sia tutte le persone che sono state sempre presenti al mio fianco, ma anche tutti coloro che, incrociandosi con la mia vita, hanno contribuito ad arricchire la mia persona. Vorrei ringranziare tutti quei Professori che, con la loro competenza e professionalità, hanno saputo tirare fuori il meglio di me, incoraggiandomi nel percorso intrapreso e stimolando la mia curiosità verso gli argomenti trattati. In particolare ringrazio la mia relatrice, la Professoressa Maria Carla Tesi, per avermi affiancata nella stesura di questo elaborato con grande professionalità e disponibilità. Con il suo spirito sempre allegro ha saputo guidarmi nelle criticità che ho incontrato ed aiutarmi a trovare la giusta chiave di lettura.

Ringrazio i miei genitori Maria e Gaetano, che, in silenzio, sono sempre stati presenti e pazienti nei miei confronti. Grazie al vostro appoggio ho potuto scoprire il valore dello studio e del sacrificio, per poi poter gioire una volta giunta al traguardo.

Ringrazio la mia sorellina Serena, un pilastro importante della mia vita, che con la sua solarità ha saputo sempre risollevarmi il morale nei momenti difficili e con la sua determinazione e tenacia ha saputo spronarmi. Abbiamo potuto percorrere parallelamente questo cammino e il sostenerci sempre a vicenda, le nostre chiacchiere sul divano ed i tuoi film obbligatori la sera sono stati fondamentali per svagarci e goderci la spensieratezza di questi anni. Ringrazio Alessio, la mia dolce metà, presente sin dal primo giorno. C'eri quando i dubbi e le preoccupazioni nell'affrontare questo percorso erano così tanti per la mia età che a volte mi facevano vacillare; c'eri quando avevo necessità di sfogarmi e tu con la tua pazienza e il tuo umorismo hai sempre saputo strapparmi quel sorriso che mi faceva dimenticare tutto; e c'eri nei momenti di gioia post esami, con i tuoi "te l'avevo detto". Ma soprattutto, ci sei oggi. Hai sempre creduto in me e ti sono davvero grata, non sarebbe stato lo stesso senza il tuo costante appoggio. Spero di poter ricambiare tutto questo. Sei speciale.

Ringrazio le mie amiche di sempre, Giorgia e Alessandra, che sono state una spalla su cui poter contare costantemente. La lontananza è stato solo un modo per poter rafforzare la nostra amicizia. I weekend trascorsi assieme sono la necessaria dose di felicità e allegria per tenerci sempre unite. Siete come delle sorelle per me.

Ringrazio Martina, ormai sono tanti anni che ci supportiamo e sopportiamo. Sei sempre così solare e spumeggiante che mi contagi. Sono sicura che ci saremo sempre l'una per l'altra, tra una risata, un balletto e uno sclero.

Ringrazio Fabiana per esserci sin da quel fatidico giorno delle superiori. Nonostante le strade diverse intraprese, abbiamo sempre condiviso gioie, ansie e scleri. La tua ostinazione è sempre stata una grande fonte d'ispirazione per me.

Ringrazio la persona con cui ho più condiviso questi ultimi due anni universitari, Martina. Ci siamo tanto unite e abbiamo superato insieme molte difficoltà, spero che la vita ci regali altrettante gioie da poterci raccontare nelle nostre videochiamate. Ringrazio mia cugina Federica perchè da quando siam piccine abbiamo condiviso tanti momenti e siamo davvero cresciute assieme. La tua inconfondibile risata ha rallegrato tanti dei nostri giorni. Sono certa che seguiremo le orme dei nostri genitori e che noi tre saremo indissolubilmente legate dentro. Ringrazio Rosaria, Umberto e Simone per avermi dato sempre quella carezza giusta che mi ha accompagnato in tutti i momenti di questo percorso.

Ringrazio Giovanna, Giuseppe, Valentina e Raffaele per essere un grande punto di riferimento per me. Siete sempre stati presenti e discreti, e mi avete supportata anche solo con uno sguardo. E grazie anche a quei due piccoletti che inconsapevolmente con i loro sorrisi e abbracci, dopo pochi giorni che non ci vedevamo, mi hanno riempito il cuore e liberato la mente.

Ringrazio Valentina e Luigi, siete davvero due belle persone e sono grata di avervi incontrato nella mia vita. So che la nostra amicizia sarà davvero importante. Grazie Vale per aver sopportato i miei scleri e per avermi abbracciata nei momenti giusti con la tua inconfondibile delicatezza.

Ringrazio i miei nonni che con le loro chiamate hanno sempre dimostrato tutto l'amore che hanno per me e vederli gioire per gli esiti dei miei esami mi ha reso una persona orgogliosa.

Grazie davvero a tutto il resto della mia grande famiglia, le parole non saranno mai abbastanza. Spero che ogni giorno vi possa dimostrare la mia gratitudine. Non so cosa mi riserverà il futuro ma so che potrò sempre avere il vostro supporto.

Spero di avervi reso fieri di me.

RINGRAZIAMENTI