

Análisis paramétrico del efecto de las concentraciones iónicas en el funcionamiento del nodo sinusal

Parametric analysis of the ionic concentrations effects in the behavior of the sinoatrial node

*Daniel Alfredo Sierra, Oscar Leonel Rueda, Carlos Rodrigo Correa**

Universidad Industrial de Santander, UIS Apartado Aéreo 678, Bucaramanga, Santander, Colombia

(Recibido el 15 de noviembre de 2007. Aceptado el 9 de mayo de 2008)

Resumen

Se realizó un estudio de sensibilidad del funcionamiento del nodo sinusal debido al cambio de concentraciones iónicas presentes en él. Se partió del modelo matemático propuesto por H. Zhang, A. V. Holden y M.R. Boyett, el cual se simplificó mediante el uso de conceptos de diseño de experimentos. Se propusieron para el análisis ocho características que describen al potencial de acción generado por el nodo sinusal, tanto en células centrales como en células periféricas. El análisis de sensibilidad indica que las concentraciones iónicas de sodio y potasio deben ser controladas para mantener el normal desempeño del nodo. De otro lado, los cambios simulados en concentraciones de calcio, no producen efectos significativos sobre la operación del nodo. Finalmente, se desarrolló un modelo de superficie de respuesta como una simplificación del modelo original. Este modelo es potencialmente útil en el seguimiento en tiempo real, de las características de operación del nodo sinusal *in vitro*. Desde el punto de vista computacional y mediante la simplificación mencionada, se logró una disminución en el tiempo de procesamiento del modelo en una relación aproximada de 1 a 50.

----- **Palabras Clave:** Concentración iónica, modelado, potenciales de acción, sensibilidad paramétrica, superficies de respuesta.

* Autor de correspondencia: teléfono + 57 +7 + 634 40 00, ext. 2366, correo electrónico: crcorrea@uis.edu.co (C. R. Correa)

Abstract

A sensibility study on the effect of ionic concentrations in the behavior of the sinoatrial node was carried out. The study was based on the model proposed by H. Zhang, A. V. Holden and M.R. Boyett. It was simplified using concepts of experimental design. The study was developed on a set of eight characteristics that describe the action potential generated by the sinoatrial node, for both the central and peripheral cells. The sensibility analysis shows that the sodium and potassium ionic concentrations should be controlled to maintain the normal behavior of the node. On the other hand, the simulated changes in calcium concentrations do not produce significant effects on the node operation. Finally, a response surface model was developed as a simplification of the original model. This response surfaces simplified model may be used in the on-line estimation of the operation characteristics of the *in vitro* sinoatrial node. From the computational point of view, and using the simplification strategy described above, the processing model time was decreased as a 1 to 50 ratio.

----- *Keywords:* Ionic concentrations, modeling, action potentials, parametric sensitivity, response surfaces.

Introducción

El estudio de los potenciales de acción generados dentro del corazón tiene una historia relativamente larga debido a los efectos fisiológicos de su operación anómala y con impacto sobre la salud como las arritmias cardíacas [1, 2]. Contar con un modelo matemático detallado de la operación del nodo sinusal permite un estudio más profundo de los efectos de diferentes agentes sobre su normal funcionamiento y la búsqueda de estrategias para lograr una disminución de las patologías relacionadas con su disfunción. En este artículo se presentan los resultados del estudio de sensibilidad paramétrica realizado a uno de los modelos matemáticos más recientes y completos del nodo sinusal [3]. El análisis se realizó teniendo como parámetros las concentraciones iónicas de sodio, potasio y calcio al interior y exterior de la célula. Como contribuciones importantes se tienen: a) Descripción de la respuesta de la operación del nodo sinusal por medio de ocho características del potencial de acción; b) La descripción del efecto de cada una de las concentraciones iónicas sobre estas características y c) La representación de los efectos de variación simultánea de los cuatro parámetros más importantes por medio de superficies de respuesta. El análisis de sensibilidad fue desarrollado en cuatro etapas: La primera fue la programación y verificación del modelo original, y su adaptación para permitir múltiples simulaciones con diferentes parámetros y condiciones iniciales. El segundo paso consistió en la determinación de características cuantificables para describir el potencial de acción. El tercer paso estuvo enfocado en el estudio de variaciones individuales en los parámetros sobre cada una de las características del potencial de acción. La última fase fue un diseño factorial 3^k , para evaluar los efectos de variación simultánea de parámetros, considerando tres niveles en cada uno.

Modelo Analizado

Se tomó el modelo multicelular planteado por H. Zhang *et al.* [3]; en este se utiliza una ecuación diferencial parcial unidimensional (1) y una serie de corrientes iónicas.

$$\frac{\partial V^s(x,t)}{\partial t} = -\frac{1}{C_m^s(x)} \cdot i_{tot}^s(x,t) + D^s \frac{\partial^2 V^s(x,t)}{\partial x^2} \quad (1)$$

La ecuación (1) muestra que el potencial de membrana $V(x,t)$ está determinado por la inyección de corrientes iónicas a la célula $i_{tot}^s(x,t)$, además de los efectos de interacción electrotónica entre las células. Las células son modeladas como capacitancias. La corriente $i_{tot}^s(x,t)$ es la suma de las diferentes corrientes iónicas presentes en la célula debido a la existencia de canales iónicos, los cuales tienen selectividad al sodio, al potasio y al calcio (Na^+ , K^+ , Ca^{++}). Cada una de estas corrientes depende directamente de la conductancia del canal iónico y de la diferencia de potencial respecto al de equilibrio de Nernst, según se indica en (2). El valor de conductancia es el producto de la conductancia máxima por dos variables que representan la apertura y el cierre del canal, denominadas variable de activación (z_a) y variable de desactivación (z_d),

$$i = g_{\max} z_a z_d (V - E_{Nernst}) \quad (2)$$

El modelo para las variables de activación y desactivación es de tipo Hodgkin-Huxley, [2]. Por cada variable se utiliza una ecuación diferencial ordinaria de primer orden de la forma (3),

$$\frac{dz(V,t)}{dt} = \frac{z_{\infty}(V) - z(V,t)}{\tau_z(V)} \quad (3)$$

En (3), $z_{\infty}(V)$ es el valor de estado estacionario de la variable genérica de activación/desactivación z para un valor de potencial de transmembrana V y $\tau_z(V)$ es la constante de tiempo asociada. Además de las corrientes iónicas presentes en el modelo se cuenta con algunas corrientes que no operan en función de canales iónicas, estas son las corrientes de respaldo (background), bomba Na^+/K^+ e intercambio Na^+/Ca^{++} .

Características de una Onda de Potencial

Se definieron ocho características asociadas a cada potencial de acción, consideradas las salidas del modelo [4]. Las características, ilustradas en las figuras 1 y 2, son:

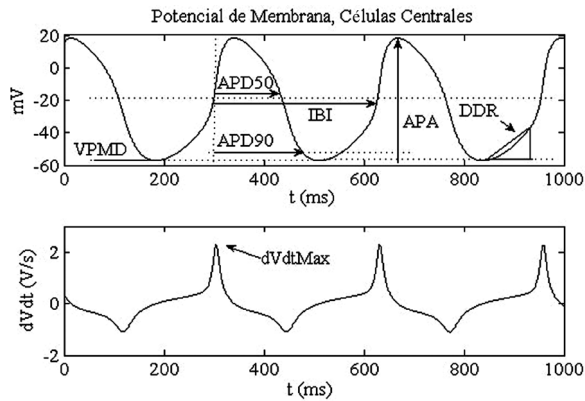


Figura 1 Características Asociadas al Potencial de Acción, Células Centrales

- 1) *Potencial Máximo Diastólico (VPMD)*: Es el valor más negativo del potencial de acción.
- 2) *Amplitud del Potencial de Acción (APA)*: Medida como la diferencia entre el pico positivo del potencial menos el potencial máximo diastólico.
- 3) *Intervalo Interpulsos o Interlatidos (IBI)*: Es el tiempo transcurrido entre el 50% de despolarización en un ascenso del potencial y el 50% de despolarización en el siguiente.
- 4) *Duración del Potencial de Acción al 50% de Repolarización (APD50)*: Es el tiempo transcurrido entre el 50% de despolarización y el 50% de repolarización del potencial de acción.
- 5) *Duración del Potencial de Acción al 90% de Repolarización (APD90)*: Es el tiempo transcurrido entre el 50% de despolarización y el 90% de repolarización del potencial de acción.
- 6) *Tasa de Despolarización Diastólica (DDR)*: Es $\frac{\Delta V_m}{\Delta t}$, donde ΔV_m es el cambio en el potencial de membrana (V_m) durante un intervalo de 75 ms ($\Delta t = 75 \text{ ms.}$) empezando en el momento en el cual el potencial de membrana es 1 mV más positivo que el VPMD. Esta característica fue redefinida con un $\Delta t = 30 \text{ ms}$ para las células de la periferia.

Este cambio se debe a que el potencial de acción tiene un IBI de $161,3203 \pm 0,0454 \text{ ms}$ (Promedio \pm SD); con este IBI un intervalo de 75 ms abarcaría tanto la fase de despolarización como el inicio de la repolarización.

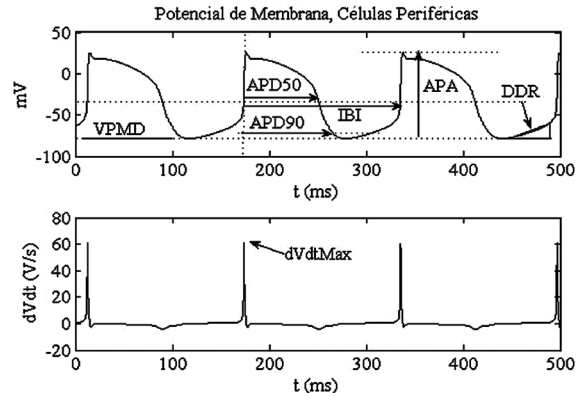


Figura 2 Características Asociadas al Potencial de Acción, Células Periféricas

- 7) *Velocidad de Ascenso Máxima (\dot{V}_{\max})*: Es la máxima tasa de cambio en el potencial de membrana obtenida durante el ascenso del potencial de acción, es decir, el máximo valor de $(dV/dt)_{\max}$.
- 8) *Error Cuadrático Medio (ERMS)*: Permite comparar la forma de onda del potencial de acción respecto a la Oscilación de Referencia (Condiciones iniciales y valores de parámetros iguales a los de Zhang, [3]). Corresponde al error cuadrático medio entre la oscilación de referencia y aquella bajo estudio; se toma como instante de sincronismo el momento en el cual se alcanza el VPMD.

Análisis de Sensibilidad

Los sistemas físicos y especialmente los biológicos operan teniendo en cuenta una gran cantidad de parámetros y variables para su desempeño, lo cual los hace mucho más difíciles de analizar en sentido general. Esta naturaleza de algunos factores dentro de un modelo se conoce con el nombre de “incertidumbre”. Además, algunas cantidades varían con el tiempo, con el espacio o a través de individuos en

una población, lo cual se llama “variabilidad”. La variabilidad es la heterogeneidad entre individuos de una población de un tipo, y está típicamente caracterizada a través de una distribución de frecuencia [5]. En el modelo del nodo sinusal, a pesar de contar con valores conocidos para cada una de las variables o parámetros, es bien sabido que estos tienen un alto grado de incertidumbre y variabilidad por ser el resultado de pruebas de laboratorio realizadas en diferentes grupos e incluso en diferentes especies [4, 6, 7]. Para llevar a cabo un análisis de sensibilidad se pueden seguir varios métodos, dependiendo de la medida de sensibilidad que se quiera tomar, de la precisión requerida en la misma sensibilidad y del costo computacional involucrado. Isukapalli describe cada uno de los enfoques que se pueden tomar para este proceso [5].

Para el análisis de sensibilidad del modelo del nodo sinusal no se cuenta con información estructurada de los rangos de variación de los parámetros, para situaciones reales. También se cuenta con una estructura del modelo que involucra ecuaciones no lineales altamente acopladas y hacen muy difícil de tratarlo por medios analíticos; debido a lo anterior se escogió el método de análisis basado en el muestreo. Estos métodos involucran correr el modelo original para un conjunto de combinaciones de parámetros de entrada (puntos de muestreo) y estimar la sensibilidad/incertidumbre usando las salidas del modelo en estos puntos. Normalmente se utilizan técnicas estadísticas para lograr ubicar puntos de muestreo significativos y generar resultados integrados como superficies de respuesta.

El análisis se inició con una caracterización del sistema por medio de variación extrema de parámetros para seis concentraciones iónicas, al interior y al exterior de la célula. Los seis parámetros considerados para llevar a cabo el análisis preliminar fueron $[Na^+]_o$, $[Na^+]_i$, $[Ca^{++}]_o$, $[Ca^{++}]_i$, $[K^+]_o$, $[K^+]_i$, debido a que existe una posibilidad real de controlarlos en laboratorio y tienen significado físico directo [8]. Después de llevar a cabo la caracterización del modelo para variación extrema en estas seis concentraciones se dejaron como relevantes cuatro, ya que las variaciones en

concentraciones de calcio no ocasionaron cambios significativos en las respuestas del modelo. Para las cuatro concentraciones finales se llevó a cabo un análisis factorial del tipo 3^k para finalizar generando las superficies de respuesta correspondientes a variación en cada uno de estos parámetros en un rango de $\pm 5\%$ del valor original.

Implementación y verificación del modelo original

Las condiciones iniciales para una simulación en particular fueron tomadas como los valores finales de la simulación original de Zhang [3, 9]. Este tiempo final corresponde a cualquier instante de simulación en el intervalo $t = [1, 2]$ s. El paso de simulación fue de $\Delta t = 0,1$ ms y el método de integración RK4. Posteriormente se calculan las características descritas en la sección II, se consideró para análisis el intervalo $t = [1,2]$ s. con el objetivo de permitir que desaparezcan los transitorios durante el primer segundo de simulación. Se lograron reproducir los resultados dados por el autor del modelo en sus artículos [3, 7], después de encontrar algunos errores de tipografía en estos artículos y corroborarlos con el propio autor. Se obtuvo una variabilidad muy pequeña en el potencial de acción en experimentos con las condiciones iniciales indicadas y parámetros en su valor original.

Resultados del análisis de sensibilidad

En la sección anterior se planteó que el método de análisis de sensibilidad consistía de una prueba de sensibilidad de rango amplio para variaciones individuales de parámetros y un diseño factorial 3^k para variaciones simultáneas de parámetros. Se mostrarán los resultados de ambas partes del análisis.

Prueba de Sensibilidad

Se realizaron experimentos para investigar la variación de respuesta del sistema respecto de seis parámetros de relativamente fácil control o monitoreo: Las concentraciones iónicas en el interior y exterior de las células. Estas concentraciones se listan en la tabla 1.

Tabla 1. Valores y siglas de parámetros utilizados en el análisis

Sigla	Parámetro	Valor original
Conc_Na_i	Concentración Interna de Sodio	8 mM
Conc_Ca_i	Concentración Interna de Calcio	0,1 μ M
Conc_K_i	Concentración Interna de Potasio	140 mM
Conc_Na_o	Concentración Externa de Sodio	140 mM
Conc_Ca_o	Concentración Externa de Calcio	2 mM
Conc_K_o	Concentración Externa de Potasio	5,4 mM

Para el análisis del efecto de cada uno de los parámetros se tomaron variaciones porcentuales de $\pm 3\%$, $\pm 5\%$, $\pm 25\%$, $\pm 50\%$, $\pm 75\%$ y $+100\%$, respecto al valor original de concentración.

El número de réplicas para cada caso fue de 20. Para aquellos casos en los cuales se obtuvieron oscilaciones normales los valores de las características tuvieron un grado de repetibilidad bastante alto, medido según desviación estándar. En este artículo se presentan los principales resultados para variación individual de parámetros en células centrales y en células periféricas. Una descripción más completa se da en [8].

Resultados y análisis para células centrales del nodo

La Figura 3 muestra un ejemplo de gráfica comparativa de variación del valor del potencial máximo diastólico (VPMD) respecto a cambios individuales de concentración. Se puede observar en esta figura que mientras para variaciones de pequeña señal la relación es casi lineal, para cambios grandes se encuentran comportamientos de saturación (por ejemplo para aumentos de concentración interna de potasio). Algunas de las líneas no tienen datos para variaciones extremas debido a que estos niveles de concentración anulan el potencial de acción y por tanto es fundamental mantener estas concentraciones por fuera de estos valores extremos.

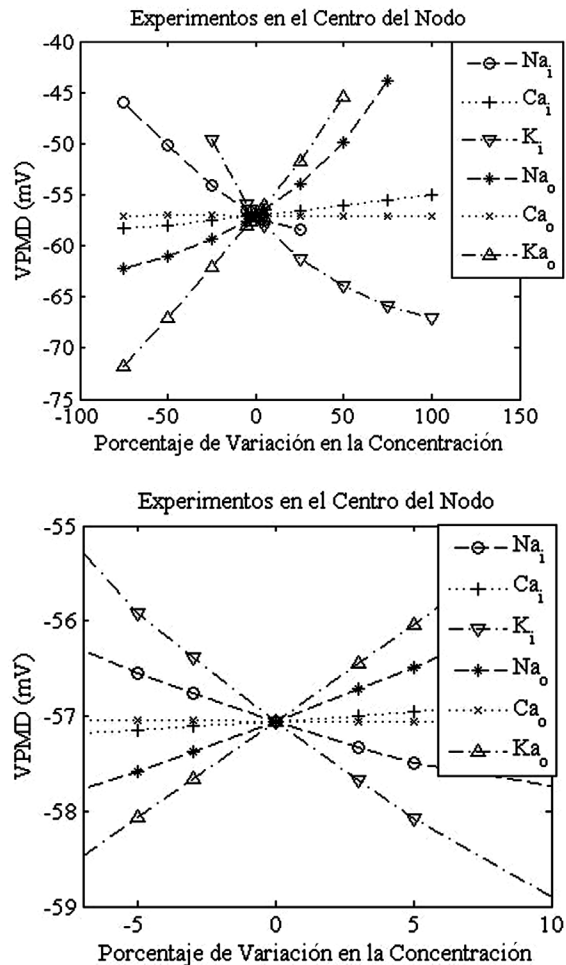


Figura 3 Efectos de la variación de concentraciones iónicas individuales en células centrales (Izquierda, variación amplia; derecha: variación fina). Variable: Potencial Máximo Diastólico, VPMD.

Concentración interna de sodio

La variación en la concentración interna de sodio influye fuertemente sobre las características del potencial de acción; un aumento de esta a 12 mM (50% de su valor normal) ocasiona oscilaciones anormales en las células centrales. Por otra parte, la disminución al 50% de su valor normal (a 4mM) ocasiona valores de características alejados de las de operación normal y mayores a las de las demás concentraciones. Las características que se ven más fuertemente afectadas por esta variación de concentración son: potencial máximo diastólico (VPMD: aumento de -57 a -50 mV, extremo en la Figura 3), duración del potencial al 50% de repolarización, duración del potencial de acción al 90% de repolarización y la tasa de despolarización diastólica. Variaciones a pequeña escala de la concentración interna de sodio ($\pm 5\%$) ocasionan cambios aproximadamente lineales en cada una de las características e incluso por debajo de los efectos producidos por la concentración interna de potasio. Por lo tanto, se recomienda permitir solamente variaciones leves en la concentración interna de sodio para garantizar la buena operación del nodo sinusal, según lo predicho por el modelo de Zhang. En caso de variación significativa es más tolerable la disminución de la concentración que su aumento, la cota superior propuesta es $+25\%$.

Concentración externa de sodio

La variación en la concentración externa de sodio (valor normal 140 mM) produce efectos amplios: un aumento al 200% ocasiona oscilaciones anormales. Para aumento del 50% ocasiona variación significativa en características como VPMD (aumento extremo a -49 mV), disminución de la APA, disminución del IBI de 326 a 263 ms, aumento en la DDR a 414,25 mV/s. La variación en la concentración interna de sodio presenta el efecto más significativo después del de la concentración externa de potasio, para la mayoría de las características. En consecuencia, para la concentración externa de sodio también se recomienda un control riguroso, especialmente para evitar un aumento que lleve a condiciones no adecuadas; se plantea como cota límite de $\pm 50\%$.

De forma similar se analizaron los efectos ocasionados por variaciones en las concentraciones de calcio y potasio, pero por motivos de espacio no se incluyen. Se invita al lector a consultar la referencia [8].

Todas las simulaciones realizadas con variaciones en la concentración interna o externa de calcio reportaron oscilaciones normales en el centro del nodo sinusal, lo cual la hace la variable menos crítica para la operación del nodo. Por su parte, para la concentración interna de potasio se debe controlar su disminución, ya que una reducción del 50% ocasiona oscilaciones anormales. Finalmente, la concentración externa de potasio debe ser controlada, especialmente evitando su aumento a más de 50% de su valor normal, para no producir variaciones anormales. Los efectos de la variación en la concentración externa de potasio son los más significativos respecto a los encontrados con las variaciones de los demás parámetros.

Análisis global para pequeñas variaciones

Los efectos de pequeñas variaciones en la concentración producen un comportamiento casi lineal. Las concentraciones que más efectos producen para pequeñas variaciones son: i) Para VPMD, APA, IBI: Conc_K_i Conc_K_o; permite inferir que el potasio presenta efectos a largo plazo. ii) Para APD50, APD90, dV/dt_{max} : Conc_Na_i y en menor medida las de potasio; la concentración interna de sodio define en mayor proporción la duración del potencial de acción; por su parte es conocido que la tasa máxima de despolarización se debe a una corriente iónica de sodio y por esto encontramos una fuerte incidencia de la concentración interna de sodio. iii) DDR: Conc_Na_i, Conc_Na_o: Se corrobora que la tasa de despolarización depende del flujo de iones sodio y por tanto de las concentraciones interna y externa del mismo.

Resultados y análisis para células periféricas del nodo

A manera de ilustración se muestran los resultados y análisis para células periféricas: para este caso se muestra en la figura 4 el comportamiento de la duración del potencial de acción al 90% de

repolarización (APD90). Para esta variable se observa un comportamiento de variación altamente no lineal para cambios grandes en las concentraciones. El efecto de saturación en la variable muestra la complejidad que puede aparecer en el desempeño del nodo sinusal para variaciones abruptas de parámetros. De nuevo es fundamental tener en cuenta que hay valores de concentración que deben ser evitados.

Concentraciones de sodio

La variación en la concentración interna de sodio ya no presenta una influencia tan significativa como en el caso de las células centrales, en su lugar cobran especial importancia las concentraciones internas y externas de potasio. Solamente constituye un caso extremo respecto a variaciones de otras concentraciones para la determinación del intervalo interlatidos, IBI, el cual aumenta de 161 ms en operación normal a 173 ms en caso de aumento al 200%; es decir para una concentración de 16 mM. Si se disminuye la concentración interna de sodio en 50% hay una disminución en IBI hasta 156.2 ms. Si es necesario garantizar un intervalo interlatidos fijo (IBI) se debe prestar atención especial a la concentración interna de sodio, en caso contrario no resulta muy crítica su variación a gran escala.

En cuanto a las variables de velocidad, la tasa de despolarización DDR varía inversamente con la concentración, mientras que la velocidad máxima de ascenso muestra un comportamiento contrario al de DDR, variando en el mismo sentido que la variación en la concentración. Esto podría explicarse en que la velocidad máxima de ascenso depende del sodio, mientras que la DDR depende del potasio.

Por su parte, La variación en la concentración externa de sodio (valor normal 140 mM) produce efectos intermedios sobre características como VPMD, APD50 y APD90, por lo general en dirección contraria a la de las variaciones equivalentes en la concentración interna de sodio. La concentración externa de sodio influye de manera significativa sobre características de velocidad (IBI, DDR, dV/dtmax). Este factor ocasiona que la medida del error ERMS sea la más alta para

este caso, ya que las dos ondas de potencial comparadas tienen periodos bastante diferentes.

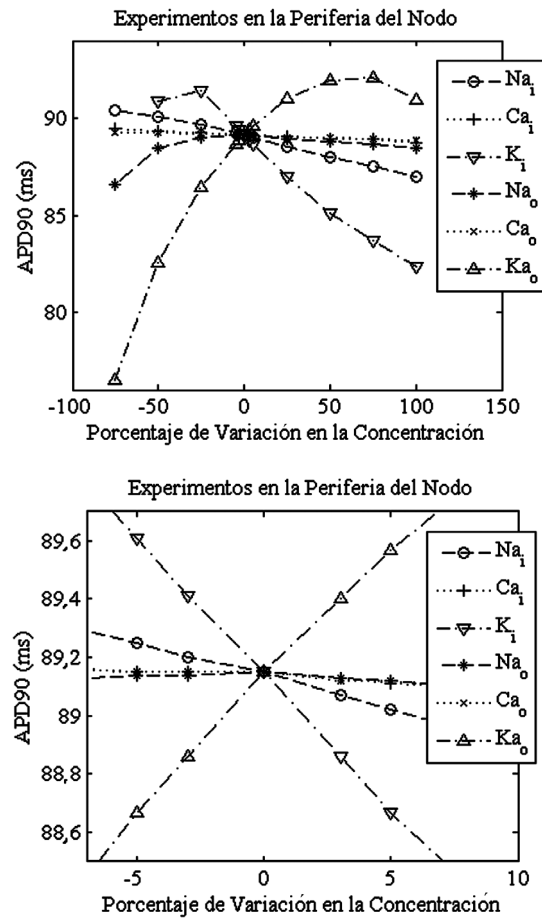


Figura 4 Efectos de la variación de concentraciones iónicas individuales en células periféricas, (Izquierda, variación amplia; derecha: variación fina). Variable: Duración del PA al 90%, APD90

Concentraciones de calcio

Las variaciones en las concentraciones interna y externa de calcio producen efectos insignificantes sobre el potencial de acción debido a que su valor normal es bastante pequeño ($1 \cdot 10^{-4}$ mM y 2 mM respectivamente); las variaciones de hasta 100% en el valor de esta concentración producen efectos bajos para las características del potencial de acción. Las dos concentraciones de calcio son las dos variables que menores efectos producen sobre las características del potencial de acción.

Concentraciones de potasio

Los efectos de variación de concentraciones externa e interna de potasio son los más significativos respecto a los encontrados en las demás simulaciones. La concentración externa de potasio (valor normal 5,4 mM) opera en forma similar a la concentración externa de sodio, aunque en este caso sus efectos son mucho más significativos y por lo general inversos a los de la concentración interna de potasio. Para aumentos del 100% existen efectos extremos: VPMD máximo de -62,9 mV, APA mínimo de 87,512 mV, IBI casi invariable. La tasa de despolarización diastólica DDR se comporta de forma bastante no lineal, ya que cae a 319 mV/s para aumento del 50% y aumenta a 435 mV/s para aumentos del 100%. Por su parte la velocidad máxima de ascenso cae hasta 14,14 V/s. Aunque las duraciones APD50 y APD90 tienen un comportamiento no lineal con máximos en +50% y +75% respectivamente, la variación extrema en APD50 es de 1,6 ms y para APD90 es de 3 ms, lo que las hace despreciables. Como consecuencia, es necesario controlar la concentración externa de potasio; se consideraría adecuado no sobrepasar variaciones de $\pm 25\%$.

Finalmente, la concentración interna de potasio se debe controlar en ambas direcciones; no es tan crítico su efecto como lo es en las células centrales, pero presenta comportamientos extremos que podrían ser desventajosos en la práctica. Los cambios de tendencia para disminución de -50% hacen inferir que esta situación no es adecuada.

Para una descripción más extensiva de los efectos de variaciones individuales en los parámetros, se refiere al lector a [8].

Diseño factorial y superficies de respuesta

El diseño factorial de tres niveles o tipo 3^k es usado para investigar efectos de variación simultánea de múltiples parámetros o factores, cada uno de ellos con tres posibles valores o niveles [10]. Para el modelo del nodo sinusal se cuenta con valores normales o base de cada uno de los parámetros y la posibilidad tanto de aumentar como de disminuirlos. Por esto se prefirió el diseño de tipo 3^k y no el 2^k , más sencillo pero creado

para tratar modelos o sistemas con dos posibles niveles en los parámetros. Existen cuatro variables independientes o parámetros (*Conc_Na_i*, *Conc_K_i*, *Conc_Na_o* y *Conc_K_o*) y ocho variables dependientes o salidas (*VPMD*, *APA*, *IBI*, *APD50*, *APD90*, *DDR*, *dVdt_max*, *ERMS*). Se tuvieron en cuenta valores de variación en cada uno de los parámetros de 0% y $\pm 5\%$. Ya que para variaciones individuales de cada una de las concentraciones iónicas se obtienen oscilaciones normales con esta cantidad de variación y que por el momento no se tiene evidencia certera de los rangos experimentales. La Tabla 2 muestra los niveles a considerar para cada uno de los parámetros a variar.

Tabla 2 Parámetros considerados para el diseño 3^k

Parámetro	Valor [mM]			
	Nombre	-5%	0%	5%
Conc_Na_i		7,6	8	8,4
Conc_K_i		133	140	147
Conc_Na_o		133	140	147
Conc_K_o		5,13	5,4	5,67

Como se cuenta con cuatro parámetros y tres niveles en cada uno se tiene un total de 81 casos o tratamientos diferentes, cada uno de ellos se simuló con 35 réplicas. Para cada una de las regiones y variables se realizó análisis de varianza de cuatro vías con análisis de interacciones hasta de nivel cuatro, dependiendo del resultado obtenido en cada una de las tablas de anova se concluye cuál o cuáles interacciones no son estadísticamente significativas.

Una vez realizado el análisis de varianza se cuenta con información de qué factores influyen en el valor de cada una de las características y por lo tanto se puede plantear un modelo de interpolación para generar superficies de respuesta, según se indica en (4). El modelo permite interpolar y tener un estimado de cada una de las características del potencial de acción según el valor que tenga cada uno de los parámetros o concentraciones, dentro del rango de variación que ya se planteó.

$$\begin{aligned}
 C = & A_0 + A_1x_1 + A_2x_2 + A_3x_3 + A_4x_4 + \dots + A_{12}x_1x_2 + A_{13}x_1x_3 + A_{14}x_1x_4 + \dots \\
 & A_{23}x_2x_3 + A_{24}x_2x_4 + A_{34}x_3x_4 + \dots + A_{123}x_1x_2x_3 + A_{124}x_1x_2x_4 + A_{134}x_1x_3x_4 + \dots \\
 & + A_{234}x_2x_3x_4 + A_{1234}x_1x_2x_3x_4
 \end{aligned} \tag{4}$$

C: Característica a Interpoliar

$$\begin{aligned}
 x_1 = \text{Conc_Na_i} \quad [\Delta\%] & & x_2 = \text{Conc_K_i} \quad [\Delta\%] \\
 x_3 = \text{Conc_Na_o} \quad [\Delta\%] & & x_4 = \text{Conc_K_o} \quad [\Delta\%]
 \end{aligned}$$

En (4) se expresan los parámetros del modelo (concentraciones iónicas) como x_1 a x_4 y su valor se da en porcentaje de variación respecto al valor de concentración original. Si alguno de los efectos no tiene incidencia se tendrá en cuenta que el coeficiente del término correspondiente es igual a cero, antes de hacer la optimización; el objetivo entonces fue el de determinar estos coeficientes cuyos valores sirvieron para indicar el o los efectos de las interacciones sobre la característica bajo evaluación. Además del modelo calculado, se observaron los resultados para un modelo de tipo lineal con interacciones de orden dos (términos A_i y A_{ij}) y se encontró que los errores de interpolación son prácticamente iguales a los calculados teniendo presente un mayor número de interacciones.

La precisión encontrada para el análisis con los primeros siete parámetros es bastante aceptable, pero para el error cuadrático medio no se encuentra el mismo grado de precisión debido a la naturaleza del modelo considerado, ya que al comparar siempre respecto a la onda de potencial original se presentarán errores crecientes tanto para variación positiva como para variación negativa del factor. Además la característica aleatoria asociada con los errores propuestos hace que no sea adecuado llevar a cabo un modelado de esta característica según el modelo planteado en (4). Se desarrollaron modelos de interpolación cuadrática como se muestran en (5)

$$\begin{aligned}
 ERMS = & A_0 + A_1x_1 + A_2x_2 + A_3x_3 + A_4x_4 + \dots + A_{12}x_1x_2 + A_{13}x_1x_3 + A_{14}x_1x_4 + \dots \\
 & A_{23}x_2x_3 + A_{24}x_2x_4 + A_{34}x_3x_4 + \dots \\
 & A_{11}x_1^2 + A_{22}x_2^2 + A_{33}x_3^2 + A_{44}x_4^2
 \end{aligned} \tag{5}$$

$$\begin{aligned}
 x_1 = \text{Conc_Na_i} \quad [\Delta\%] & & x_2 = \text{Conc_K_i} \quad [\Delta\%] \\
 x_3 = \text{Conc_Na_o} \quad [\Delta\%] & & x_4 = \text{Conc_K_o} \quad [\Delta\%]
 \end{aligned}$$

Los valores de los coeficientes encontrados para el modelo pueden ser consultados en [8].

Validación de los modelos de superficie de respuesta

Para probar la bondad de ajuste de los modelos de superficie de respuesta se llevó a cabo un conjunto de experimentos de validación; estos experimentos incluían variaciones aleatorias de los parámetros dentro del rango de predicción del modelo. Los resultados de los modelos de superficie de respuesta fueron contrastados con los obtenidos

por simulación completa del modelo original de Zhang.

Los residuos considerados fueron las diferencias entre los valores observados, en el modelo de Zhang, y los valores predichos por el modelo de superficie de respuesta. El residuo refleja el valor de discrepancia entre los valores observados y predichos una vez se ha hecho el ajuste del modelo por medio de mínimos cuadrados. Si el modelo es apropiado para aplicarse a los datos bajo análisis, es razonable esperar que los residuos exhiban propiedades que cumplan con las suposiciones de in-

dependencia, media cero, tener varianza común y distribuirse normalmente. Se realizaron 300 experimentos aleatorios para cada región. Los resultados teóricos u observados corresponden a los obtenidos del modelo de Zhang. Se contrastaron los valores de error máximo y cuadrático medio contra la media y el rango de variación de los valores teóricos, mostrados en la Tabla 3; se puede observar que las predicciones son bastante certeras para las primeras siete características. Se verifica que la característica ERMS no se ajusta de manera adecuada ni al modelo completo ni al modelo de interacciones hasta nivel dos. Los errores de estimación de superficie

de respuesta son bastante pequeños para las características de duración del potencial de acción y el peso de las colas en esta distribución está ligado con la poca variación de la característica desde el modelo teórico. Por su parte la velocidad máxima de ascenso en los modelos de células periféricas muestra un peso de las colas de la distribución significativo. En este caso la causa de este peso significativo se da porque la característica corresponde a la medida del máximo de una derivada, la cual es siempre dependiente de los métodos numéricos, y porque en células periféricas la corriente de sodio acelera fuertemente la despolarización.

Tabla 3 Resultados de validación teórica para los modelos de interpolación de segundo orden

Centro	Valores Teóricos			Modelo	
Característica	Media	Variación	Error Max	Error RMS	Varianza
VPMD (mV)	-56,997	4,961	0,0711	0,0415	0,0004
APA (mV)	75,055	5,587	0,1875	0,1073	0,0021
IBI (ms)	326,17	19,4	0,3813	0,1756	0,0133
APD50 (ms)	136,37	10,5	0,1948	0,0659	0,0027
APD90 (ms)	171,21	10,3	0,2155	0,0866	0,0038
DDR (mV/s)	255,61	58,83	1,9534	1,0184	0,2740
dVdtmax (V/s)	2,274	0,219	0,0147	0,0082	1,2e-5
ERMS (mV)	1,978	5,920	2,4996	1,0429	0,3734

Periferia	Valores Teóricos			Modelo	
Característica	Media	Variación	Error Max	Error RMS	Varianza
VPMD (mV)	-78,335	3,945	0,031	0,0149	0,0001
APA (mV)	103,507	4,634	0,035	0,0151	0,0002
IBI (ms)	161,31	3,8	0,036	0,0133	0,0002
APD50 (ms)	74,96	1,4	0,074	0,0188	0,0003
APD90 (ms)	89,11	1,7	0,082	0,0196	0,0003
DDR (mV/s)	348,730	36,515	0,774	0,3623	0,0419
dVdtmax (V/s)	59,905	16,240	0,582	0,2074	0,0323
ERMS (mV)	3,023	7,742	3,811	1,5931	1,5044

Conclusiones

Los reportes de la literatura definen las características del potencial de acción de manera precisa [9]; sin embargo como aporte del presente trabajo se redefinió la *Tasa de Despolarización Diastólica, DDR*, con el objetivo de permitir su medida en ondas de potencial para células periféricas del nodo. Las características encontradas para simulaciones con valores de parámetros iguales a los del modelo original y condiciones iniciales correspondientes a valores de oscilaciones normales presentaron valores muy similares. El error en cada una de las características, contrastado respecto al caso original de Zhang, siempre estuvo por debajo del 0,1%. El sistema es robusto frente a elección de diferentes conjuntos de condiciones iniciales, tomadas como valores durante una oscilación estable.

Teniendo en cuenta que el modelo original contiene 27 parámetros, se realizó el estudio y descripción de la operación del nodo sinusal para variación en los seis parámetros más importantes y factibles de controlar; estos son las seis concentraciones iónicas de sodio, potasio y calcio al interior y al exterior de la célula; posteriormente se enfocó el análisis a cuatro de ellas.

Es necesario controlar las concentraciones de sodio y potasio para mantener el normal desempeño del nodo. Los cambios en las concentraciones de calcio dentro del rango definido por el presente estudio no producen efectos significativos sobre la operación del nodo. Se requiere a futuro realizar un análisis para variaciones más amplias en las concentraciones de calcio debido a que existen fenómenos en los cuales estas pueden tener variaciones muy grandes. Se pudo observar la fuerte influencia de las concentraciones de sodio durante la fase de despolarización en células periféricas; esta incidencia origina un valor bajo en el intervalo interlatidos; las concentraciones de potasio afectan significativamente las características de duración y amplitud del potencial de acción. En el centro del nodo se presenta un gran efecto por las concentraciones de potasio, mientras la concentración interna de sodio determina la duración del potencial de acción. El estudio de

sensibilidad en dos rangos diferentes de variación permite concluir hasta qué rangos es seguro variar las concentraciones iónicas al interior y exterior de la célula y cómo es la influencia local de la variación de parámetros sobre las características de operación.

Una ventaja fundamental del modelo de superficie de respuesta desarrollado corresponde al suministro de información sobre las características de operación del nodo sinusal en un tiempo mucho más reducido que mediante el modelo original de Zhang. El modelo de Zhang (15 ecuaciones diferenciales acopladas con 58 ecuaciones auxiliares) se debe simular por al menos dos segundos para determinar el valor de las características, con una demora en tiempo de cómputo de alrededor de 70 segundos (en un computador *Pentium IV* y *S. O. Windows*); en contraposición los modelos de superficie de respuesta son ocho polinomios de interpolación, los cuales se calculan en milisegundos. Esta simplificación es valiosa si se quiere hacer un estimado de la operación en tiempo real, con el objetivo de tener un monitoreo y control de su operación.

El modelo simplificado por medio de superficies de respuesta asume como variables de entrada la concentraciones iónicas de sodio y potasio al interior y al exterior de la célula y entrega como resultados el valor estimado de cada una de las ocho características que representan el potencial de acción.

Las predicciones ofrecidas por los modelos de superficie de respuesta permiten definir los factores claves que se deben tener presente para la realización de trabajos futuros dentro de esta línea de investigación. Específicamente, son fundamentales para establecer variables críticas en la operación del nodo sinusal y consecuentemente para el mantenimiento de cultivos de este tipo de células por períodos prolongados de tiempo. Dentro de las limitaciones del modelo, este describe solamente la actividad eléctrica del nodo sinusal, dejando de lado un número de aspectos fisiológicos como los sistemas de regulación externa. En consecuencia, el modelo no es adecuado como modelo predictivo para pacientes.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Universidad Industrial de Santander por la financiación del presente de trabajo de investigación. De igual manera, agradecemos al Dr. H. Zhang por enviarnos su modelo actualizado y corregido y al médico Dr. Luis A Gómez, por sus valiosos aportes.

Referencias

1. M. J. Ackerman, D. E. Clapham. "Ion channels – Basic science and clinical disease". *The New England Journal of Medicine*. Vol. 336. 1997. pp. 1575-1586.
2. A. Vega, R. Félix. "Fisiopatología de los canales iónicos sensibles al voltaje". *Rev. Avance y Perspectiva*. Vol. 20. 2001. pp. 83-96.
3. H. Zhang, A. Holden, I. Kodama, H Honjo, M Lei, T Varghese, M. Boyett. "Mathematical models of action potentials in the periphery and center of the rabbit sinoatrial node". *American Journal Physiology Heart And Circulatory Physiology*. Vol. 279. 2000. pp. H397-H421.
4. E. E. Verheijck, R. Wilders, R. W. Joyner, D.A. Golod, R. Kumar, H.J. Jonqsmá, L.N. Bouman, A. C. van Ginneken. "Pacemaker synchronization of electrically coupled rabbit sinoatrial node cells". *J. Gen Physiol*. Vol. 111. 1998. pp. 95-112.
5. S. S. Isukapalli. *Uncertainty Analysis of Transport-Transformation Models*. PhD Thesis, New Brunswick, New Jersey.1999. pp. 216 .
6. D. Difrancesco, D. Noble. "A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes". *Phil. Trans. R. Soc. Lond*. Vol. 307. 1985. pp. 353-398.
7. I. Kodama, M. R. Nikmaram, M. Boyett, R. Suzuki, H. Honjo, J. M. Owen. "Regional differences in the role of the Ca²⁺ and Na⁺ currents in pacemaker activity in the sinoatrial node". *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol*. Vol. 272. 1997. pp. H2793-806.
8. D. A. Sierra. *Modelado Matemático del Nodo Sinusal: Estudio de Sensibilidad Paramétrica*. M.Sc. Thesis. U. Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. 2004. pp. 130.
9. S. S. Demir, J. W. Clark, C. R. Murphy, W. R. Giles. "A mathematical model of a rabbit sinoatrial node cell". *Am. J. Physiol*. Vol. 266. 1994. pp. C832-C852.
10. D. Montgomery. *Design and Analysis of Experiments*. 4ª ed. John Wiley & Sons. 1996. pp. 704.