

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
BACHARELADO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

Métodos Numéricos Aplicados a Modelos Complexos da Fisiologia de Células Cardíacas

Johnny Moreira Gomes

JUIZ DE FORA
AGOSTO, 2013

Métodos Numéricos Aplicados a Modelos Complexos da Fisiologia de Células Cardíacas

JOHNNY MOREIRA GOMES

Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Ciência da Computação
Bacharelado em Ciência da Computação

Orientador: Rodrigo Weber dos Santos

JUIZ DE FORA
AGOSTO, 2013

MÉTODOS NUMÉRICOS APLICADOS A MODELOS COMPLEXOS DA FISILOGIA DE CÉLULAS CARDÍACAS

Johnny Moreira Gomes

MONOGRAFIA SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS
EXATAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA, COMO PARTE INTE-
GRANTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE
BACHAREL EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO.

Aprovada por:

Rodrigo Weber dos Santos
Doutor

Marcelo Lobosco
Doutor

Carlos Cristiano Hasenclever Borges
Doutor

JUIZ DE FORA
15 DE AGOSTO, 2013

Resumo

A modelagem computacional da fisiologia cardíaca é uma ferramenta importante que auxilia o desenvolvimento de técnicas de tratamento e o diagnóstico de doenças cardíacas. A busca por modelos celulares mais realistas tem incentivado o uso de Cadeias de Markov para a modelagem de estruturas subcelulares, por exemplo, para os canais iônicos que permeiam a membrana celular. Porém, a presença de Cadeias de Markov nos modelos baseados em equações diferenciais ordinárias aumenta os custos computacionais de resolução numérica.

Neste trabalho, avaliamos combinações de metodologias numéricas para a solução de tais modelos, de modo que o custo computacional adicionado por modelos de Markov seja atenuado por técnicas incondicionalmente estáveis, como o método de Uniformização, porém mantendo a utilização de tradicionais métodos condicionalmente estáveis, visando o baixo consumo em termos de memória RAM e a viabilização da simulação de complexos tecidos cardíacos.

Palavras-chave: Eletrofisiologia Cardíaca, Modelagem Computacional, Equações Diferenciais Ordinárias, Métodos Numéricos, Cadeias de Markov

Abstract

The computational modeling of cardiac physiology is an important tool for development of new techniques of treatment and diagnosis of cardiac disease. The research on realistic cellular models has encouraged the usage of Markov Chains for modeling cell substructures, i.g. the ionic channels that permeate the cell membrane.

In this work, we combine different numerical techniques for these models' evaluation, so the computational cost associated with the Markov models is softened by unconditionally stable methods, such as the Uniformization method. Besides, we search for solvers that keep a low memory consumption to enable the simulation of complex cardiac tissue.

Keywords: Cardiac Electrophysiology, Computational Modeling, Ordinary Differential Equations, Numerical Methods, Markov Chains

Sumário

Lista de Figuras	4
Lista de Tabelas	5
Lista de Abreviações	6
1 Introdução	7
1.1 Justificativa	7
1.2 Objetivos	10
1.2.1 Métodos	11
1.2.2 Sumário	12
2 Modelagem da Eletrofisiologia Cardíaca	13
2.1 Introdução	13
2.1.1 Estruturas Subcelulares	15
2.2 Potencial de Ação e Excitabilidade	16
2.3 Modelo Elétrico para a Membrana Celular	18
2.4 Modelos para a Corrente Iônica	21
2.5 Modelos para os Canais Iônicos	22
2.5.1 Modelo de Dois Estados	22
2.5.2 Modelo de Subunidades	23
2.5.3 Cadeias de Markov	25
2.6 O Modelo de Hodgkin-Huxley (1952)	27
2.7 O Modelo de Bondarenko (2004)	31
3 Metodologia de Resolução Numérica	34
3.1 Métodos Numéricos	34
3.1.1 Método de Euler Explícito	34
3.1.2 Método Runge-Kutta de 2 ^a Ordem	35
3.1.3 Método de Rush-Larsen	35
3.1.4 Método de Sundnes <i>et al.</i>	36
3.1.5 Método de Uniformização	37
3.2 Experimentos Numéricos	38
3.2.1 Modelos Utilizados	38
3.2.2 Esquemas Híbridos de Resolução Numérica	40
3.2.3 Implementação	42
3.2.4 Cálculo de Erro	43
3.2.5 Ambiente Computacional	43
4 Resultados e Discussão	44
4.1 Resultados	44
4.2 Discussão	46
5 Considerações Finais	49
Referências Bibliográficas	50

Lista de Figuras

2.1	Estrutura do coração de um mamífero (adaptado de Guyton (2005))	14
2.2	Origem e propagação do estímulo elétrico no coração de um mamífero (adaptado de Constanzo (2007))	15
2.3	Estrutura básica da membrana celular e fluxo de íons através de um canal iônico (extraído de Campos, F. (2008))	16
2.4	Dinâmica de abertura e fechamento de canais iônicos sensíveis ao potencial transmembrânico (extraído de Aires (2004))	16
2.5	Potencial de ação medido sobre a membrana sarcoplasmática de um miócito cardíaco (adaptado de (Sachse, 2004)).	18
2.6	Visualização das quatro fases de um Potencial de Ação (adaptado de Costa, C. M. (2011))	19
2.7	Modelo elétrico para a membrana celular	19
2.8	Modelo de dois estados	23
2.9	Espaço de estados para o modelo de duas subunidades distintas	24
2.10	Espaço de estados para o modelo de duas subunidades idênticas	24
2.11	Cadeia de Markov com os estados aberto (O), fechado (C) e inativo (I)	26
2.12	Cadeia de Markov para os Canais Iônicos da <i>Corrente Rápida de Sódio</i> (Bondarenko, 2004)	27
2.13	Esquematização da membrana celular e dos canais iônicos considerados no modelo de Hodgkin-Huxley (1952)	28
2.14	Potencial de ação do modelo de Hodgkin-Huxley (1952) (adaptado de Keener (1998)).	29
2.15	Variação das condutividades g_{na} e g_k do modelo Hodgkin-Huxley durante um potencial de ação (adaptado de Keener (1998)).	29
2.16	Ilustração esquemática dos fluxos iônicos e compartimentos celulares considerados pelo modelo de Bondarenko <i>et al.</i> (Extraído de Bondarenko (2004)).	33
4.1	Comparativo entre potenciais obtidos para o modelo de Bondarenko (2004) pelo método de Euler (Tabela 4.1) e pelo método SAST1 + UNI (Tabela 4.4)	48

Lista de Tabelas

2.1	Diferenças entre as concentrações dos íons Na^+ e K^+ nos meios intracelular e extracelular de um axônio gigante de lula	17
4.1	Resultados das Simulações (A)	45
4.2	Resultados das Simulações (B)	45
4.3	Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (A)	45
4.4	Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (B)	46
4.5	Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (C)	46
4.6	Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (D)	46
4.7	Ganhos em tempo de computação obtidos pelo método SAST1 + UNI: Caso de passo de tempo único	47
4.8	Ganhos em tempo de computação obtidos pelo método SAST1 + UNI: Caso de diferentes passos de tempo	48

Lista de Abreviações

API	<i>Application Programming Interface</i>
DCC	Departamento de Ciência da Computação
EDO	Equação Diferencial Ordinária
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Potencial de Ação
RAM	<i>Random Access Memory</i>
RL	Método de Rush-Larsen
SAST1	Método de Sundnes <i>et al.</i> de 1 ^a ordem
SAST2	Método de Sundnes <i>et al.</i> de 2 ^a ordem
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UNI	Método de Uniformização

1 Introdução

A modelagem da fisiologia cardíaca é hoje uma área de pesquisa extremamente ativa, envolvendo múltiplas áreas do conhecimento científico. Depois da publicação de Hodgkin e Huxley (Hodgkin-Huxley, 1952) os modelos celulares têm evoluído constantemente. O desenvolvimento recente da Genética tem auxiliado a formulação destes modelos através da identificação das proteínas que formam os diversos canais iônicos que permeiam a membrana celular (Schram, 2002).

Os canais iônicos possuem um papel essencial na geração do potencial de ação (PA). Pesquisas recentes têm permitido a compreensão minuciosa acerca dos canais iônicos, das suas funções e das conformações das proteínas que compõem sua estrutura. Muitas doenças alteram as propriedades eletrofisiológicas das correntes iônicas associadas a canais iônicos, por exemplo, de células do coração. Essas alterações podem ser descritas matematicamente por cadeias de Markov.

Modelos da eletrofisiologia cardíaca são compostos por sistemas de equações diferenciais de difícil resolução numérica (Rush, 1978). As equações derivadas dos modelos de Markov aumentam a complexidade do sistema como um todo, demandando a utilização de pequenos passos de tempo em métodos numéricos condicionalmente estáveis - por exemplo, o método de Euler -, os quais são largamente utilizados para a simulação de tecidos cardíacos, devido à sua intrínseca utilização de memória reduzida. Portanto, é de grande importância a busca por técnicas numéricas que venham a aumentar o desempenho de métodos numéricos para os modelos baseados em cadeias de Markov.

1.1 Justificativa

As doenças cardíacas são responsáveis por um terço do total de mortes registradas em todo o mundo (OMS). Acredita-se que mais de 300 mil pessoas morrem anualmente no Brasil vítimas de patologias relacionadas principalmente à atividade elétrica do coração. Muitos esforços têm sido feitos para compreender as causas das doenças cardíacas, de

modo a proporcionar, para a comunidade científica, sólidas bases para o desenvolvimento de novas formas de tratá-las e de detectá-las.

Para o cumprimento de tais objetivos, faz-se necessária uma profunda compreensão acerca do funcionamento do coração. Entretanto, a sua grande complexidade, desde o nível molecular até o nível dos tecidos, torna a tarefa extremamente difícil. Todavia, alguns de seus aspectos podem ser melhor compreendidos através da modelagem computacional (Martin, 1968), que permite aos pesquisadores realizarem um vasto número de experimentos em um curto período de tempo, sem que sejam necessários estudos *in vivo* ou *in vitro*. Espera-se que, a longo prazo, possa-se vislumbrar um cenário em que todo o sistema circulatório humano poderá ser simulado computacionalmente, permitindo aos cientistas desenvolverem e testarem medicamentos contra as mais diversas doenças que atacam o coração através de experimentos virtuais - *in silico* -, ou seja, sem riscos e em tempo menor do que em situações de experimentação com cobaias.

A utilização de modelos computacionais para a descrição matemática de complexos sistemas naturais foi incluída pela Sociedade Brasileira de Computação (SBC) na lista dos Grandes Desafios da Computação para o período 2006/2016 (Carvalho, 2006). O Comitê de Pesquisa em Computação do Reino Unido e a Sociedade Britânica de Computação estabeleceram em 2004 (Hoare, 2004) a personificação computacional de animais, plantas e organismos unicelulares como um dos Grandes Desafios da Computação para os próximos anos. As sociedades de computação inglesa e brasileira estão cientes de que a complexidade envolvida na modelagem dos sistemas naturais irá impor a necessidade de melhorias nas atuais técnicas de solução numérica e de um grande suporte computacional para sua simulação.

Em virtude das grandes demandas computacionais inerentes à simulação dos complexos sistemas naturais, faz-se necessária a utilização de técnicas eficientes para a solução numérica de sistemas de equações diferenciais. Além disso, a simulação de extensos sistemas celulares demanda a utilização de agregados computacionais (*clusters*), que fornecem a possibilidade da computação em paralelo de tais sistemas.

Sobre a simulação da eletrofisiologia do órgão cardíaco, o elevado número de células presentes nos tecidos do coração implica na simulação de malhas computacionais

com elevada quantidade de nós, sendo que cada um dos mesmos representa um diferente sistema de equações diferenciais ordinárias a ser resolvido numericamente. Deste modo, é de extrema importância a utilização de métodos numéricos com baixa demanda de memória RAM no processo de solução de cada um desses sistemas. Por isso, métodos condicionalmente estáveis, como o método de Euler, o método de Runge-Kutta e o método de Rush-Larsen (Rush, 1978) são amplamente utilizados em simulação eletrofisiológica de tecidos cardíacos.

Tais técnicas, por sua natureza, limitam o tamanho dos passos de tempo tomados no processo de simulação, devido às suas condições de estabilidade. Tal limitação é acentuada com a presença de equações do tipo *stiff* (rígidas), que são equações diferenciais ordinárias em que as complicações de instabilidade por tamanho do passo de tempo são consideravelmente elevadas. O método de Rush-Larsen (Rush, 1978) busca atenuar o problema de instabilidade sobre determinados tipos de equações presentes em modelos eletrofisiológicos. Quando tais equações constituem a parte mais rígida do sistema como um todo, como no caso do modelo proposto por Tusscher (2006), o método permite a utilização de passos de tempo consideravelmente maiores, diminuindo o tempo de computação de forma acentuada (MacLachlan, 2005).

Determinados modelos celulares de eletrofisiologia cardíaca, como o modelo para miócitos de camundongos proposto por Bondarenko (2004) e o modelo para células cardíacas humanas proposto por Iyer (2004), utilizam modelos de Markov (Jensen, 1953) para descrever o comportamento de canais iônicos. Tal modelagem permite uma descrição mais completa do funcionamento de tais estruturas, fornecendo a possibilidade da simulação dos efeitos de drogas e de toxinas sobre tais canais e, conseqüentemente, sobre a atividade elétrica do coração.

A presença de equações derivadas de cadeias de Markov em modelos celulares de eletrofisiologia cardíaca frequentemente faz com que o tamanho do passo de tempo utilizado em simulação seja limitado pelas condições de estabilidade de tais equações, pois as mesmas geralmente figuram-se como a parte mais rígida do modelo de MacLachlan (2005), que é o caso dos modelos descritos em Bondarenko (2004); Iyer (2004). Conseqüentemente, o método de Rush-Larsen, quando aplicado a tais modelos, passa a não

oferecer ganho em desempenho computacional.

A técnica de uniformização (Melamed, 1984) é um método incondicionalmente estável para a solução numérica de sistemas de equações diferenciais ordinárias derivadas de cadeias de Markov. Segundo recentes experimentos (Gomes, 2011), sua utilização, em conjunto com o método de Euler, em modelos de eletrofisiologia cardíaca, permite considerável aumento de tamanho em passos de tempo e diminuição nos tempos de computação, mantendo a reduzida utilização de memória característica do método de Euler.

Abordagens como o método de Euler e o método de Runge-Kutta de 2ª ordem, utilizando-se passo de tempo adaptativo, também resultaram em ganhos de desempenho na simulação de vários modelos desta natureza (Campos, 2011). Portanto, a pesquisa sobre a utilização do método de uniformização em conjunto com essas demais técnicas pode vir a trazer resultados bastante relevantes no que se refere ao aumento de desempenho no processo de simulação numérica de tecidos cardíacos.

1.2 Objetivos

A modelagem matemática da eletrofisiologia de células cardíacas tem por objetivo principal fornecer a pesquisadores da área da saúde ferramentas computacionais capazes de auxiliar na busca por novas técnicas de tratamento e de diagnóstico de doenças cardíacas, as quais, segundo a Organização Mundial da Saúde, constituem a principal causa de mortes em todo o mundo nos dias de hoje. A pesquisa por técnicas eficientes para a solução numérica de tais modelos é fundamental para que tais ferramentas possam ser geradas e efetivamente utilizadas, uma vez que a complexidade envolvida é considerável.

Vários modelos dessa natureza possuem formulação para o comportamento dos canais iônicos baseada em cadeias de Markov, sendo esses os modelos mais indicados para a simulação do efeito de drogas e de toxinas que afetam a dinâmica dos íons existentes em nossas células, em especial, os miócitos cardíacos. As equações derivadas de tal modelagem são consideradas altamente *stiff* (MacLachlan, 2005), ou seja, trazem problemas de estabilidade quando resolvidas por métodos condicionalmente estáveis (como os métodos de Runge-Kutta), demandando a utilização de pequenos passos de tempo, o que aumenta de forma considerável o tempo de computação na simulação de tais modelos.

Os métodos de Euler e Runge-Kutta são largamente utilizados na simulação de tecidos celulares, uma vez que apresentam baixo custo em utilização de memória RAM. O método de Uniformização (Melamed, 1984), tradicionalmente utilizado para a solução de problemas computacionais (por exemplo, teoria de filas), é um método incondicionalmente estável para a solução de sistemas de equações diferenciais ordinárias baseadas em modelos de Markov. Sua aplicação aos modelos de eletrofisiologia, em conjunto com métodos condicionalmente estáveis, provê aumentos consideráveis de desempenho na solução de tais modelos, sem no entanto acarretar num considerável aumento de custo em utilização de memória RAM.

O estudo proposto busca aplicar o método de uniformização conjugado a métodos tradicionalmente utilizados de modo a diminuir o tempo de computação na solução dos modelos de eletrofisiologia baseados em cadeias de Markov.

1.2.1 Métodos

Levando-se em consideração os objetivos apresentados em relação ao trabalho proposto, iremos realizar experimentos computacionais quantitativos, visando a obtenção da maneira mais eficiente de se empregar métodos numéricos em associação ao método de uniformização (Melamed, 1984) para a simulação de modelos de eletrofisiologia cardíaca baseados em cadeias de Markov.

Como ferramenta de auxílio no desenvolvimento do trabalho, iremos utilizar a plataforma AGOS (Barbosa, 2006), desenvolvida pelo Laboratório de Fisiologia Computacional da UFJF (Fisiocomp), cujo conjunto de funcionalidades permite a geração de códigos fonte C++ a partir de modelos de equações diferenciais ordinárias descritos sob o padrão CellML (Cuellar, 2003). Tais códigos fonte possibilitam a simulação dos modelos em questão com a utilização de alguns métodos numéricos amplamente utilizados, como o Método de Euler e o método de Runge-Kutta (2ª ordem).

Deste modo, empregaremos o método de uniformização em diferentes versões de *solvers*, combinando-o com diferentes métodos condicionalmente estáveis. Implementaremos a simulação de vários modelos de eletrofisiologia cardíaca sob cada um dos *solvers* produzidos. Posteriormente, avaliaremos erros numéricos e tempos de computação obti-

dos em tais versões, para que então façamos comparações quantitativas entre os métodos propostos e as técnicas comumente utilizadas.

1.2.2 Sumário

Nesta seção, descreveremos brevemente a organização do conteúdo deste trabalho através dos capítulos que compõem este documento de monografia.

O primeiro capítulo foi de introdução, onde os aspectos gerais e objetivos do trabalho foram apresentados, bem como a justificativa para a pesquisa desenvolvida na área do conhecimento em questão.

No capítulo 2, iremos apresentar o conteúdo teórico básico para a formulação de modelos eletrofisiológicos para células cardíacas, introduzindo conceitos fundamentais para a formulação geral das equações envolvidas.

O terceiro capítulo aborda, em maiores detalhes, os métodos numéricos utilizados nos experimentos realizados neste trabalho, incluindo as técnicas empregadas para a conjugação de diferentes métodos na resolução numérica de modelos de eletrofisiologia cardíaca, bem como o método e a implementação do processo de experimentação.

O quarto capítulo apresenta os resultados obtidos e uma discussão com base nos mesmos, levando-se em consideração o objetivo de comparar a eficiência computacional das técnicas propostas com os métodos classicamente utilizados.

O quinto capítulo inclui a conclusão e a citação de trabalhos futuros cabíveis.

2 Modelagem da Eletrofisiologia Cardíaca

A modelagem da eletrofisiologia cardíaca parte, fundamentalmente, de formulações matemáticas para fenômenos evidenciados no nível celular. Neste capítulo apresentaremos conceitos básicos em relação à eletrofisiologia de células excitáveis e estabeleceremos os passos fundamentais para a formulação matemática de modelos que descrevem o comportamento elétrico das estruturas envolvidas.

2.1 Introdução

O coração é um órgão muscular, cuja principal função é fornecer oxigênio e nutrientes para as células por meio do bombeamento de sangue para todo o corpo do indivíduo. Tal processo se dá pelo mecanismo periódico de contração (sístole) e de relaxamento (diástole) do músculo cardíaco (Constanzo, 2007).

A Figura 2.1 ilustra a estrutura básica do coração de um mamífero, composta por dois átrios e dois ventrículos. Os átrios são as estruturas que recebem o sangue, enquanto os ventrículos são as estruturas que expulsam o sangue para o restante do organismo.

A visão geral do ciclo cardíaco é relativamente simples: o átrio direito recebe o sangue desoxigenado do corpo, leva-o para o ventrículo direito, de onde será levado para os pulmões com a finalidade de receber oxigênio. Após esse processo, o sangue retorna ao coração pelo átrio esquerdo e é levado ao ventrículo esquerdo, para finalmente ser bombeado para o restante do corpo.

Os tecidos musculares que compõem o músculo cardíaco são compostos de células musculares denominadas *miócitos*. Tais células, ao serem submetidas a um pequeno estímulo elétrico, sofrem um processo de variação temporal do seu potencial transmembrânico, que é a diferença de potencial elétrico entre os meios intracelular e extracelular. Tal processo é denominado potencial de ação (PA), o qual é dividido nas fases de despolarização e repolarização. Na situação de repouso, o potencial transmembrânico é negativo. Com a aplicação de um estímulo elétrico, tal potencial varia rapidamente para um valor positivo,

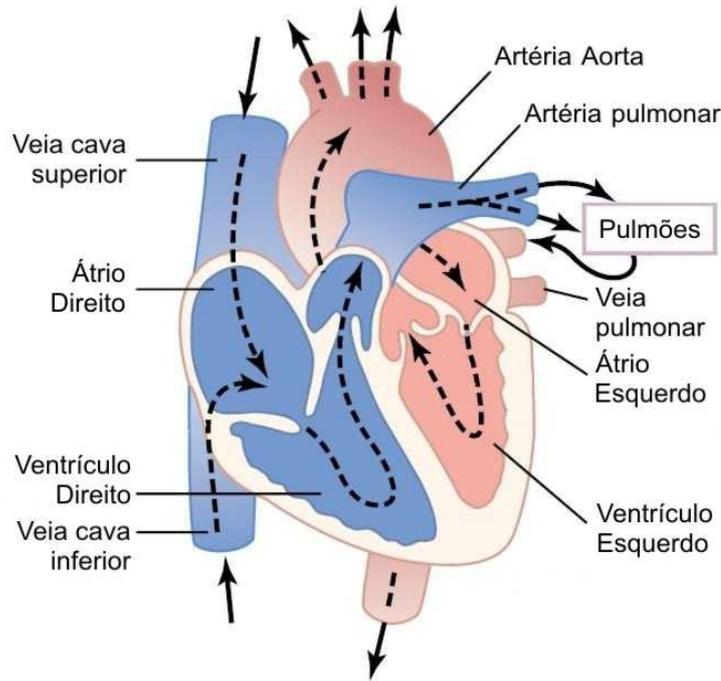


Figura 2.1: Estrutura do coração de um mamífero (adaptado de Guyton (2005))

o que caracteriza a fase de despolarização. Posteriormente, o potencial de repouso será retomado através de uma diminuição lenta e gradativa do potencial transmembrânico, o que consiste na fase de repolarização.

Os miócitos cardíacos são considerados células excitáveis e contráteis, sendo que o processo de contração é sempre precedido pelo advento do potencial de ação. Para garantir o sincronismo entre miócitos no processo de contração, o PA é propagado entre todos os miócitos cardíacos, tendo sua origem no chamado *nodo sinoatrial* (veja a Figura 2.2). O sinal elétrico percorre o órgão cardíaco através de fibras de alta condutividade, sendo que o mesmo atinge os ventrículos em tempo suficientemente posterior à sua chegada aos átrios, de modo que os ventrículos sofram contração após o sangue ter sido devidamente bombeado pelos átrios (Jenkins, 2002).

Os processos biofísicos envolvidos na geração e na propagação do PA celular são de elevada complexidade e de natureza não linear, sendo sua compreensão fundamental para o entendimento e para a exploração dos complexos fenômenos da fisiologia celular (Campos, F., 2008). Portanto, diversos modelos computacionais para a descrição do PA em células cardíacas vêm sendo formulados desde a segunda metade do século XIX, com o objetivo de auxiliar no processo de compreensão do funcionamento do coração e na busca

por novas técnicas de tratamento e de diagnóstico de doenças cardíacas.

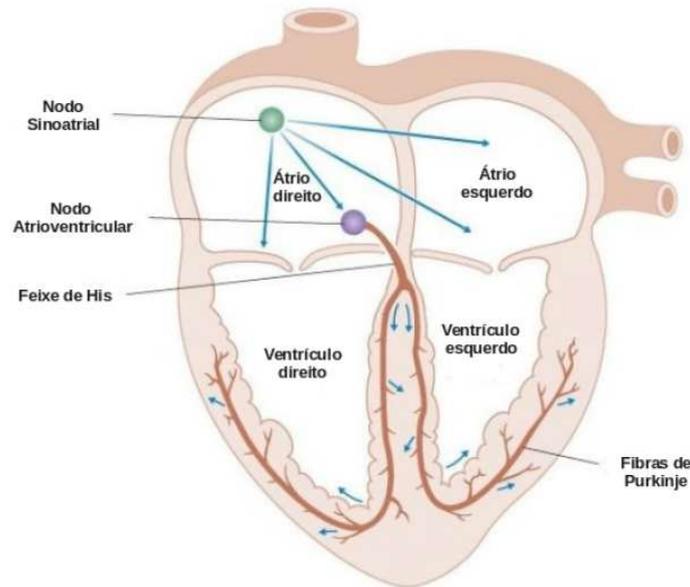


Figura 2.2: Origem e propagação do estímulo elétrico no coração de um mamífero (adaptado de Constanzo (2007))

2.1.1 Estruturas Subcelulares

Conforme mostrado em Alberts (2003), a célula tem seu interior delimitado por uma membrana que controla o fluxo das substâncias que entram e saem do citoplasma. A membrana é constituída de uma bicamada fosfolipídica contínua que mantém uma relação ambivalente com a água (Figura 2.3). Ambos os meios intracelular e extracelular são soluções aquosas compostas por sais dissolvidos, principalmente NaCl e KCl , os quais se dissociam em íons Na^+ , K^+ e Cl^- . A bicamada fosfolipídica age como uma barreira ao livre fluxo desses íons, mantendo assim uma diferença de concentração e de potencial elétrico entre os meios.

O transporte de íons e de moléculas entre os meios intracelular e extracelular pode ocorrer por meio de processos ativos (com gasto energético) e passivos (sem gasto energético) (Alberts, 2003). O transporte passivo de íons ocorre pelo processo de difusão através de estruturas altamente seletivas denominadas canais iônicos. Os canais iônicos são altamente sensíveis a determinadas variáveis do sistema celular, sendo que a maior parte tem seu comportamento regulado pelo potencial transmembrânico. A Figura 2.4 ilustra determinado canal iônico tendo seu estado de condutividade alterado pelo potencial

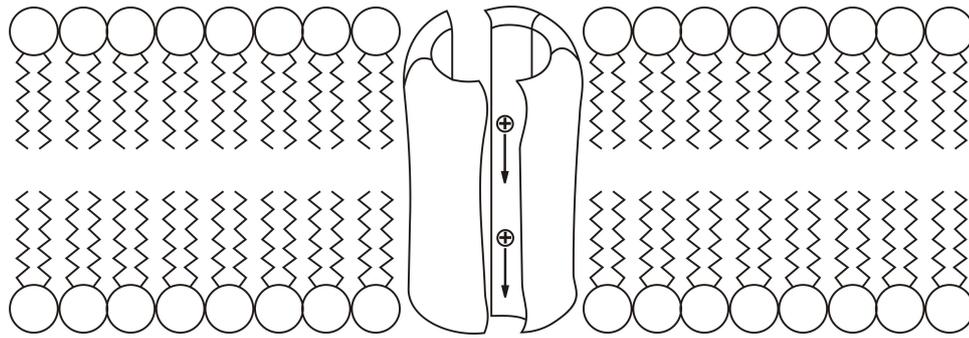


Figura 2.3: Estrutura básica da membrana celular e fluxo de íons através de um canal iônico (extraído de Campos, F. (2008))

transmembrânico.

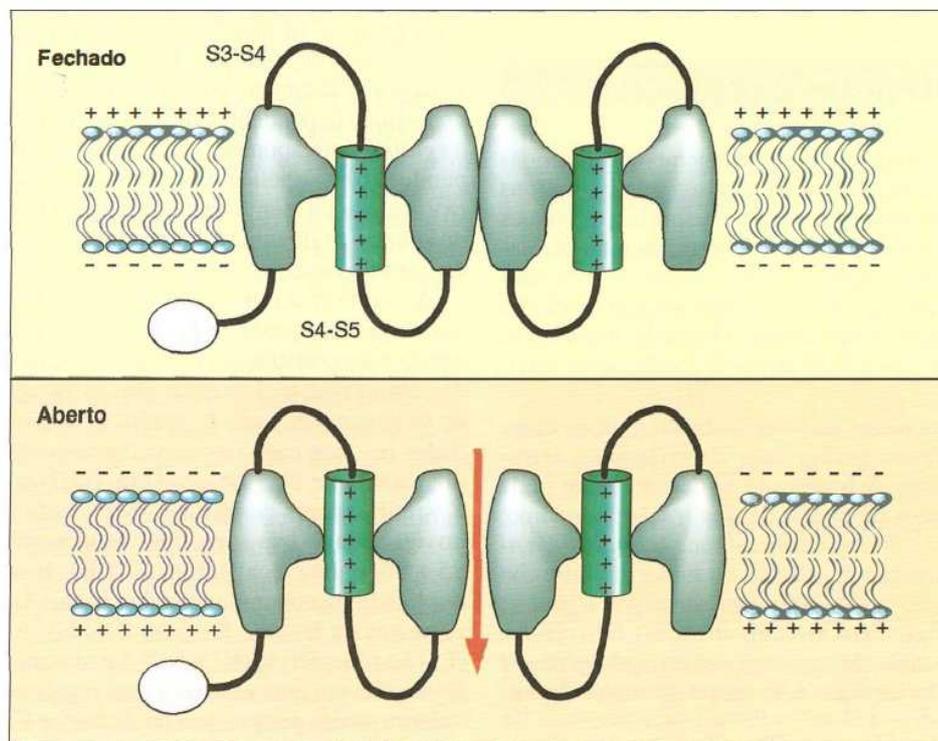


Figura 2.4: Dinâmica de abertura e fechamento de canais iônicos sensíveis ao potencial transmembrânico (extraído de Aires (2004))

2.2 Potencial de Ação e Excitabilidade

Conforme visto na seção anterior, a membrana plasmática admite a existência de fluxos iônicos através de estruturas proteicas presentes em toda a sua extensão. A regulação do potencial transmembrânico (a diferença de potencial entre os meios intracelular e extracelular) pelos canais iônicos é uma das funções mais importantes da célula (Alberts,

2003). Vários tipos de células, como neurônios e células musculares, usam este potencial como forma de comunicação intercelular. Assim, o funcionamento do sistema nervoso e da contração muscular, por exemplo, dependem da geração e da propagação de sinais elétricos, isto é, do chamado potencial de ação.

Para que possamos estudar os sinais elétricos nas células, precisamos classificá-las em dois grupos distintos: células excitáveis e células não-excitáveis. Muitas células mantêm um potencial de equilíbrio estável. Para algumas delas, se correntes elétricas são aplicadas em um período curto de tempo, o potencial retorna diretamente para o equilíbrio depois que a corrente é removida. Tais células são chamadas de não-excitáveis.

Por outro lado, as chamadas células excitáveis, ao receberem uma corrente elétrica de intensidade suficiente através de sua membrana, percorrem um longo caminho de variação do seu potencial transmembrânico, ou seja, o Potencial de Ação (PA). Tais células, quando na situação de repouso, possuem um potencial transmembrânico negativo, em torno de $-80mV$ para células nervosas. Essa diferença de potencial é mantida devido a uma grande diferença de concentração iônica entre os meios intracelular e extracelular. A Tabela 2.1 mostra as concentrações de repouso dos íons de sódio e de potássio em um axônio gigante de lula.

Tabela 2.1: Diferenças entre as concentrações dos íons Na^+ e K^+ nos meios intracelular e extracelular de um axônio gigante de lula

Íon	Conc. meio intracelular (mM)	Conc. meio extracelular (mM)
K^+	397	20
Na^+	50	497

A Figura 2.5 ilustra esquematicamente um potencial de ação medido na membrana de um miócito cardíaco. Um miócito cardíaco em estado de repouso é submetido a uma corrente elétrica de estímulo. Imediatamente após tal evento, o potencial transmembrânico sofre uma rápida elevação, ou seja, sofre o processo de despolarização. Após uma rápida queda no potencial, uma fase relativamente longa, denominada fase *Plateau*, é iniciada. Finalmente, a repolarização leva a célula novamente ao potencial de repouso.

Na literatura, o PA é dividido em quatro fases distintas (Aires, 2004), as quais são mostradas na Figura 2.6. A fase de repouso é aquela em que a membrana diz-se polarizada, com o potencial transmembrânico constante em um valor menor que zero.

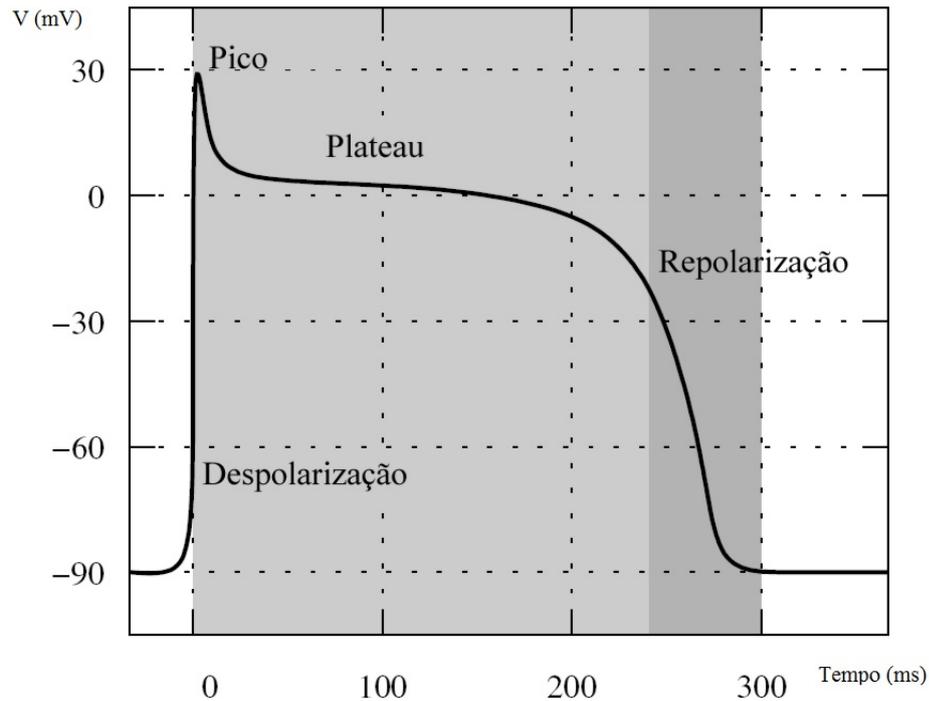


Figura 2.5: Potencial de ação medido sobre a membrana sarcoplasmática de um miócito cardíaco (adaptado de (Sachse, 2004)).

A fase de despolarização, conforme descrito anteriormente, ocorre imediatamente após à aplicação de uma corrente elétrica que eleva o potencial para um valor acima do chamado *potencial limiar*. Nessa fase, a membrana subitamente torna-se fortemente permeável aos íons de sódio, os quais dirigem-se para o interior da célula em um grande fluxo que eleva o potencial transmembrânico a um valor positivo. Na fase de repolarização, ocorre a inativação dos canais de sódio e um considerável aumento na condutividade dos canais de potássio, gerando um fluxo de potássio para o meio extracelular, o que leva ao lento restabelecimento do potencial de repouso. A fase de hiperpolarização ocorre quando a fase de repolarização leva o potencial a um valor inferior ao potencial de repouso.

2.3 Modelo Elétrico para a Membrana Celular

A membrana celular, sendo composta por uma camada separadora e isolante elétrica, além de estruturas pelas quais ocorrem fluxos de cargas (ou correntes elétricas), pode ser modelada por um circuito elétrico composto por um capacitor e várias resistências em paralelo (Figura 2.7). Conforme veremos adiante, as resistências associadas aos canais iônicos são funções não lineares da diferença de potencial entre os meios intracelular e

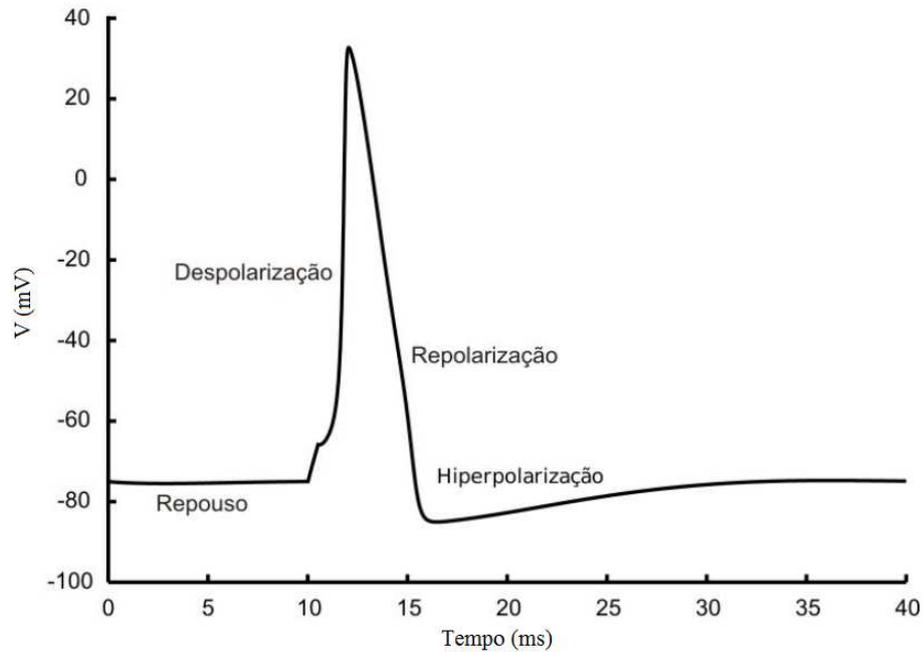


Figura 2.6: Visualização das quatro fases de um Potencial de Ação (adaptado de Costa, C. M. (2011))

extracelular (Hodgkin-Huxley, 1952). Por definição, tal diferença de potencial é chamada potencial transmembrânico, o qual é dado por $V = V_{Intracelular} - V_{Extracelular}$.

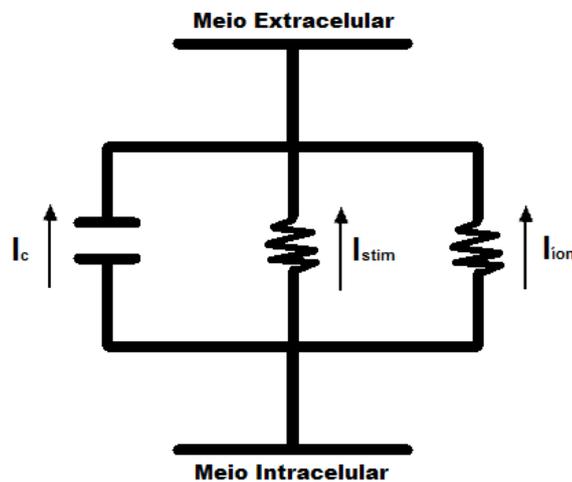


Figura 2.7: Modelo elétrico para a membrana celular

A partir do modelo elétrico apresentado na Figura 2.7, podemos extrair uma equação diferencial para o potencial transmembrânico, a qual é obtida da lei de Kirchhoff para correntes elétricas, ou seja, o somatório de correntes que saem de um nó pertencente a um circuito elétrico é nula.

Para um capacitor de capacitância C_m , sabe-se que $q = C_m V_c$, onde q é a carga

elétrica acumulada no capacitor e V_c é a tensão sobre os seus terminais. Derivando-se ambos os membros de tal equação em relação ao tempo, obtemos a Equação 2.1. Como $\frac{dq}{dt} = I_c$, tem-se a Equação 2.2.

$$\frac{dq}{dt} = C_m \frac{dV_c}{dt} \quad (2.1)$$

$$I_c = C_m \frac{dV_c}{dt} \quad (2.2)$$

Aplicando-se a lei de Kirchoff para correntes elétricas sobre o nó inferior do circuito da Figura 2.7, obtemos a Equação 2.3, onde C_m é a capacitância elétrica da membrana plasmática, I_{ion} é o somatório das correntes iônicas que atravessam os canais iônicos e I_{stim} é uma corrente de origem externa, denominada *corrente de estímulo*.

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m}(I_{ion} + I_{stim}) \quad (2.3)$$

As diferenças nas concentrações fazem com que os íons se movam no sentido contrário ao dado pelo gradiente de concentração. Em contrapartida, a força do campo elétrico gerada pelo potencial transmembrânico dirige os íons no sentido contrário ao movimento de difusão. Um equilíbrio será alcançado quando o fluxo difusivo dos íons se igualar ao fluxo devido à diferença de potencial elétrico. O valor do potencial transmembrânico para tal equilíbrio, relativo a um íon isolado, é dado pela equação de Nernst (Equação 2.4), onde R é a constante dos gases (8,314 J/Kmol), T é a temperatura absoluta, z é a valência do íon, F é a constante de Faraday (9,648x10⁴ C/mol), c_e e c_i denotam as concentrações externa e interna do íon, respectivamente.

$$v_{eq} = \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{c_e}{c_i}\right) \quad (2.4)$$

A Equação 2.4 é válida para o caso em que um único tipo de íon pode atravessar a membrana. Neste caso, na situação de equilíbrio, ou seja, $V = v_{eq}$, o fluxo do íon em questão através da membrana será nulo. Para o caso em que a membrana é permeável para dois ou mais íons diferentes, é utilizada a formulação de Goldman-Hodgkin-Katz (Keener,

1998), também chamada de equação GHK. A título de exemplo, considerando-se os íons K^+ e Na^+ , a equação GHK é dada por 2.5.

$$v_{eq} = -\frac{RT}{F} \ln\left(\frac{P_{Na}[Na^+]_i + P_K[K^+]_i}{P_{Na}[Na^+]_e + P_K[K^+]_e}\right) \quad (2.5)$$

2.4 Modelos para a Corrente Iônica

Os modelos para a relação corrente-voltagem (I-V) em determinado canal iônico mais utilizados em formulações de eletrofisiologia cardíaca são o Modelo Linear (Equação 2.6) e a equação GHK, cuja demonstração pode ser encontrada em Keener (1998). O modelo linear para o íon S , dado pela Equação 2.6, estabelece que a corrente iônica I_S é função linear da diferença entre o potencial transmembrânico e o potencial de repouso E_S do íon S , sendo g a condutância do canal iônico em questão.

$$I_S = g(V - E_S) \quad (2.6)$$

A equação GHK estabelece uma relação não-linear entre a corrente iônica e o potencial transmembrânico, sendo obtida a partir da hipótese de campo elétrico constante sobre a membrana sarcoplasmática (Keener, 1998). Sendo I_s a corrente relativa ao íon S , P_S a permissividade da membrana ao íon S , c_i e c_e as concentrações interna e externa, respectivamente, do íon S , temos que a equação GHK, para a situação de todos os canais iônicos abertos, é dada por 2.7.

$$I_s = P_s \frac{z^2 F^2}{RT} V \frac{(c_i - c_e) e^{-\frac{zFV}{RT}}}{1 - e^{-\frac{zFV}{RT}}} \quad (2.7)$$

Geralmente, a condutância g associada a uma corrente iônica é função do potencial transmembrânico ou de determinadas concentrações iônicas, sendo usualmente descrita através de modelos para o comportamento do canal iônico associado. Tais modelos são descritos na próxima seção.

2.5 Modelos para os Canais Iônicos

A ampla variedade de canais iônicos presentes na membrana celular demanda a realização de experimentos sofisticados para se avaliar quantitativamente seu comportamento. A metodologia mais utilizada atualmente é denominada *patch-clamp* (Keener, 2002), na qual se mede correntes iônicas através dos canais sob valores constantes de potencial transmembrânico. Através de observações experimentais, verifica-se que os canais iônicos alternam-se entre estados condutivos e não condutivos, o que leva à formulação de diversos tipos de modelos estocásticos para os mesmos.

2.5.1 Modelo de Dois Estados

Muitos modelos para o comportamento de canais iônicos descrevem um espaço de estados discreto para os mesmos, de modo que algumas configurações permitem a passagem de corrente iônica e outras não. O modelo mais simples para ilustrar esse conceito é o chamado *modelo de dois estados*, que estabelece dois possíveis estados para um canal iônico: aberto (O) e fechado (C) (Figura 2.8). Sendo n a proporção de canais no estado O , pode-se formular a EDO 2.8 em função das taxas de transição $\alpha(V)$ (O para C) e $\beta(V)$ (C para O), as quais usualmente são modeladas como funções não lineares de V .

$$\frac{dn}{dt} = \alpha(V)(1 - n) - \beta(V)n \quad (2.8)$$

Fazendo-se

$$n_{\infty}(V) = \frac{\alpha(V)}{\alpha(V) + \beta(V)} \quad (2.9)$$

e

$$\tau_n(V) = \frac{1}{\alpha(V) + \beta(V)}, \quad (2.10)$$

temos que a equação diferencial 2.8 toma a forma:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_{\infty}(V) - n}{\tau_n(V)} \quad (2.11)$$

A Equação 2.11 torna conveniente o ajuste de parâmetros a ser realizado, uma vez que as funções $n_\infty(V)$ e $\tau_n(V)$, respectivamente chamadas de *valor assintótico de n* e *constante de tempo de n*, são mais facilmente obtidas através de procedimentos experimentais (Keener, 1998).

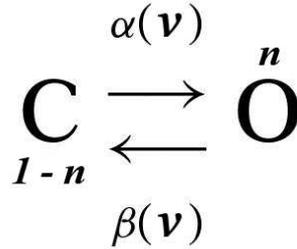


Figura 2.8: Modelo de dois estados

Seja $g_{max,S}$ a condutância para a população de canais iônicos do íon S no caso de todos os canais estarem no estado O . Se n , dado por 2.8, é a proporção dos canais que encontram-se no estado O , temos que I_S é dada pela Equação 2.12 (utilizando-se o modelo linear para a relação entre corrente e potencial transmembrânico).

$$I_S = ng_{max,S}(V - E_S) \quad (2.12)$$

2.5.2 Modelo de Subunidades

Podemos assumir, como uma generalização do modelo de dois estados para o canal iônico, a existência de múltiplas subunidades idênticas como componentes estruturais do canal, sendo cada uma delas sujeita aos estados *aberto* (O) ou *fechado* (C). Suponha, por exemplo, que determinado canal iônico seja composto de duas subunidades. Deste modo, o canal pode assumir qualquer um dos quatro estados E_{00} , E_{11} , E_{10} e E_{01} , onde os índices denotam as diferentes subunidades, com 1 e 0 denotando a subunidade aberta e fechada, respectivamente. No entanto, tal espaço de quatro estados somente é utilizado quando consideramos que as subunidades são distintas entre si, sendo que as taxas de transição α e β são características de cada subunidade (veja a Figura 2.9). Assumindo as subunidades idênticas entre si, podemos concluir que os estados E_{01} e E_{10} são equivalentes, de modo que é possível uma representação que gere um espaço de estados mais compacto.

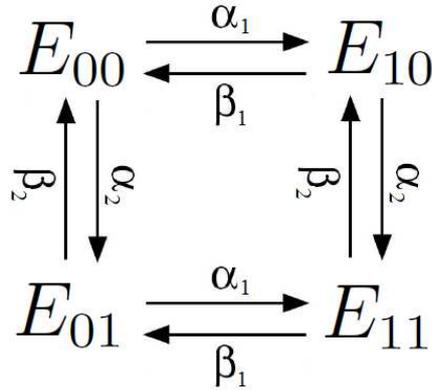


Figura 2.9: Espaço de estados para o modelo de duas subunidades distintas

Considerando E_i o estado em que exatamente i subunidades encontram-se abertas, nosso exemplo tem seu espaço de estados reduzido para E_0 , E_1 e E_2 . A Figura 2.10 mostra o espaço de estados com as transições possíveis e suas respectivas taxas, sendo α a taxa de transição $C \rightarrow O$ de uma subunidade e β a taxa de transição $O \rightarrow C$ de uma subunidade do canal iônico.

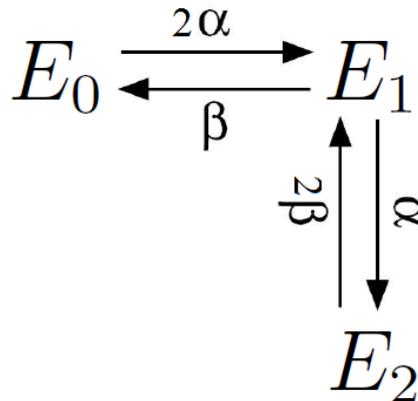


Figura 2.10: Espaço de estados para o modelo de duas subunidades idênticas

Ambos os modelos representados nas Figuras 2.9 e 2.10 tratam-se de cadeias de Markov (veja a Seção 2.5.3), que resultam em equações com certa complexidade de resolução. Pode-se mostrar (Keener, 1998) que, sendo x_0 e x_2 as variáveis adimensionais associadas aos estados E_0 e E_2 , respectivamente, temos que $x_0 = (1 - n)^2$ e que $x_2 = n^2$, onde n é a variável adimensional dada pela Equação 2.8. De modo geral, tem-se que a condutância máxima em um canal iônico que contém k subunidades idênticas é dada por $n^k g_{max}$, onde n satisfaz a Equação Diferencial 2.8.

Observa-se em determinados canais iônicos, por exemplo os chamados *canais de*

corrente rápida de sódio, uma rápida resposta condutiva à elevação do potencial transmembrânico, seguida de uma lenta fase de transição para o estado não-condutivo. Tais fases, para os canais de sódio, são chamadas, respectivamente, de *ativação* e *inativação*. Conforme proposto por Hodgkin-Huxley (1952), consideram-se três subunidades idênticas m para a ativação e uma subunidade h relacionada à inativação, sendo as equações resultantes dadas por 2.13.

$$\begin{aligned}
 I_S &= m^3 h g_{max} (V - E_S) \\
 \frac{dm}{dt} &= \frac{m_\infty(V) - m}{\tau_m(V)} \\
 \frac{dh}{dt} &= \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h(V)}
 \end{aligned} \tag{2.13}$$

2.5.3 Cadeias de Markov

Uma cadeia de Markov é uma forma particular de um processo estocástico em que considera-se um conjunto discreto de estados (ou seja, uma variável aleatória discreta) tal que a predição de estados futuros independe dos estados anteriores. Diversos dos novos modelos para células excitáveis têm empregado cadeias de Markov como alternativa ao modelo de subunidades para descrever o comportamento dos canais iônicos (Bondarenko, 2004; Iyer, 2004; Clancy and Rudy, 2002; Wang, 1997), pois no último, o processo de ativação e o processo de inativação são modelados de forma independente. Contudo, experimentos revelam que a inativação de um canal iônico é um processo intrinsecamente acoplado à ativação (ALDRICH, 1983; ARMSTRONG, 1977), o que pode ser levado em consideração na modelagem de canais iônicos por cadeias de Markov.

A título de exemplo, consideremos um simples modelo de Markov, no qual o canal iônico pode estar em um dos três estados: aberto (O), fechado (C) ou inativo (I). Consideraremos neste exemplo que, uma vez no estado inativo, o canal não pode retornar para os estados aberto ou fechado. A Figura 2.11 ilustra o conjunto de estados e as possíveis transições, com suas respectivas taxas.

Ainda para o exemplo considerado, sendo i , o e c as proporções de canais iônicos do íon S nos estados inativo, aberto e fechado, respectivamente, a corrente iônica I_S para

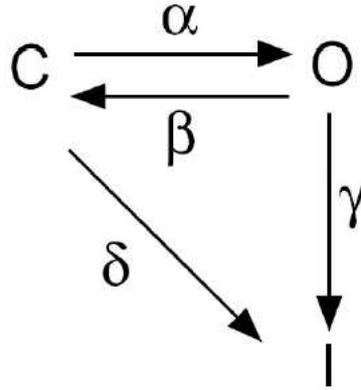


Figura 2.11: Cadeia de Markov com os estados aberto (O), fechado (C) e inativo (I)

tal íon pode ser modelada pelo conjunto de EDOs 2.14, onde α , β , γ e δ são as taxas de transição entre os estados, representadas na Figura 2.11.

$$\begin{aligned}
 I_S &= og_{S,max}(V - E_S) \\
 \frac{dc}{dt} &= -(\alpha + \delta)c + \beta o \\
 \frac{do}{dt} &= \alpha c - (\beta + \gamma)o \\
 \frac{di}{dt} &= \delta c + \gamma o
 \end{aligned} \tag{2.14}$$

Os estados inativo e fechado produzem o mesmo efeito de não permitirem a passagem de íons, ou seja, conferem estados não condutivos para o canal iônico em questão. Contudo, a transição do estado aberto para o estado inativo é geralmente favorecida em situações de valores positivos para o potencial transmembrânico, enquanto a transição do estado aberto para o estado fechado ocorre com mais frequência em potenciais mais negativos (Wang, 1997).

A biologia molecular tem sido fundamental na compreensão de fenômenos fisiológicos e na obtenção de informações acerca da estrutura e da função dos canais iônicos. Graças a tal área do conhecimento, é possível capturar detalhes sobre a conformação proteica dos canais iônicos e as alterações morfológicas promovidas por drogas ou por doenças genéticas.

As alterações das propriedades eletrofisiológicas decorrentes das doenças cardíacas

podem se refletir em mudanças nas taxas de transição de modelos de Markov para os canais iônicos. Portanto, a utilização de tal formalismo na modelagem do comportamento de canais iônicos pode vir a ser adequada em futuros estudos sobre consequências fisiológicas associadas a patologias cardíacas, bem como no processo de desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento de tais doenças. Maiores detalhes sobre a relação entre a estrutura molecular dos canais iônicos e as cadeias de Markov podem ser encontrados em Wang (1997).

Modelos baseados em cadeias de Markov para os canais iônicos podem assumir elevada complexidade, levando em consideração um grande número de estados e, conseqüentemente, demandando o ajuste de uma grande quantidade de parâmetros (taxas de transição), os quais podem ser determinados somente com a utilização das mais avançadas técnicas de medição experimental. Ilustramos essa possível complexidade com a Figura 2.12, que mostra a cadeia de Markov para os canais iônicos da chamada *corrente rápida de sódio*, considerada no modelo para miócitos de camundongo proposto por Bondarenko (2004).

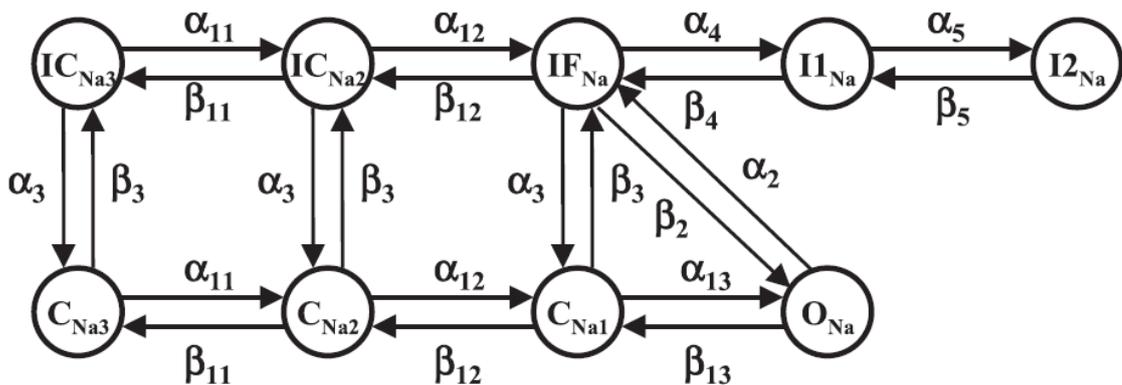


Figura 2.12: Cadeia de Markov para os Canais Iônicos da *Corrente Rápida de Sódio* (Bondarenko, 2004)

2.6 O Modelo de Hodgkin-Huxley (1952)

O modelo de Hodgkin e Huxley descreve a eletrofisiologia da membrana do axônio gigante de lula e foi desenvolvido a partir de medidas do comportamento elétrico passivo e ativo da célula (Hodgkin-Huxley, 1952). A base da descrição do potencial de ação proposto

por Hodgkin e Huxley é o comportamento dos canais de sódio e de potássio, conforme ilustrado pela Figura 2.13.

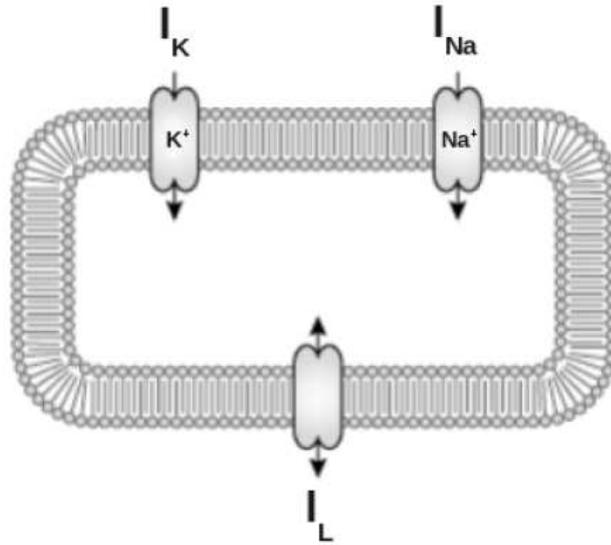


Figura 2.13: Esquematização da membrana celular e dos canais iônicos considerados no modelo de Hodgkin-Huxley (1952)

Conforme descrevemos em seções anteriores, o Potencial de Ação é dividido nas fases de repouso, despolarização, repolarização e hiperpolarização. Os principais componentes responsáveis pelo comportamento do potencial transmembrânico em tais fases são os canais iônicos de sódio e de potássio, os quais sofrem variações em suas condutividades durante a trajetória do PA. Esta relação entre potencial de ação e as variações das condutividades dos canais iônicos de sódio e de potássio pode ser observada nas Figuras 2.14 e 2.15.

Conforme discutido em seções anteriores, é possível a obtenção de uma equação diferencial para o potencial transmembrânico V em função da corrente de estímulo e do somatório de correntes que atravessam a membrana, conforme mostrado na equação abaixo:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m}(I_m + I_{stim}) \quad (2.15)$$

onde C_m é a capacitância da membrana, I_m é a corrente transmembrânica e I_{stim} é uma corrente de estímulo. O modelo de Hodgkin e Huxley leva em consideração apenas as correntes de sódio e de potássio, sendo sua corrente transmembrânica, portanto, dada

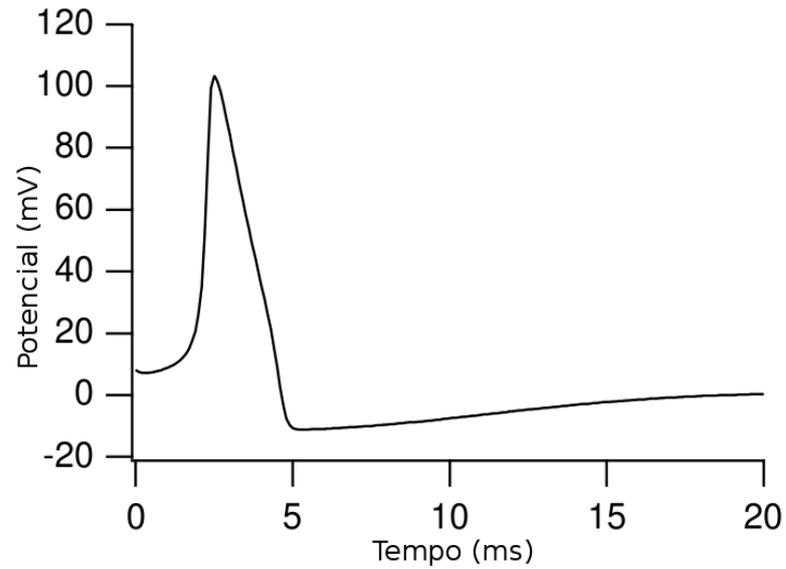


Figura 2.14: Potencial de ação do modelo de Hodgkin-Huxley (1952) (adaptado de Keener (1998)).

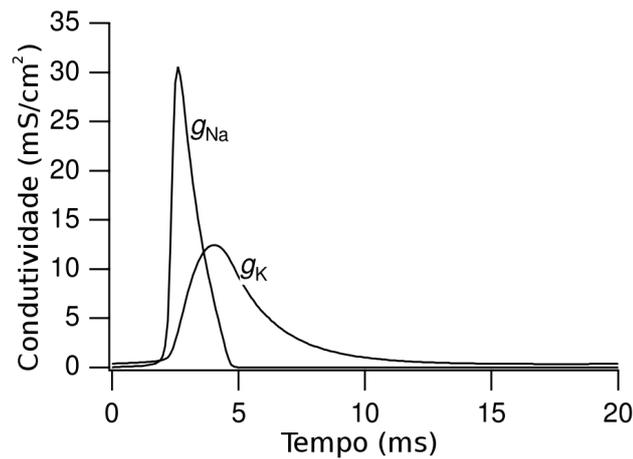


Figura 2.15: Variação das condutividades g_{Na} e g_K do modelo Hodgkin-Huxley durante um potencial de ação (adaptado de Keener (1998)).

por

$$I_m = I_{Na} + I_K + I_l ,$$

sendo I_{Na} a corrente de sódio, I_K a corrente de potássio e I_l uma corrente de fuga. A corrente de fuga I_l é um somatório de diferentes correntes iônicas, majoritariamente de cloro. As equações para as corrente iônicas são dadas por

$$I_{Na} = g_{Na}(V_m - E_{Na}) \quad (2.16)$$

$$I_K = g_K(V_m - E_K) \quad (2.17)$$

$$I_l = g_l(V_m - E_l) ,$$

onde g_{Na} , g_K e g_l são as condutâncias associadas às correntes e E_{Na} , E_K e E_l são os potenciais de Nernst relativos aos respectivos íons envolvidos. Assume-se que a condutividade g_l é constante e que as demais condutividades variam com tempo e são dependentes do potencial transmembrânico. Além disso, o modelo considera as concentrações iônicas constantes e, conseqüentemente, os potenciais de Nernst constantes.

A condutância associada à corrente de sódio g_{Na} é dada por

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

onde \bar{g}_{Na} é a condutividade máxima de sódio, m é a variável adimensional associada às subunidades de ativação do canal iônico e h é a variável adimensional de inativação. As taxas de transição α_m , β_m , α_h e β_h são funções não lineares do potencial transmembrânico. As equações diferenciais para as variáveis m e h são

$$\begin{aligned} \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(1 - h) - \beta_h h . \end{aligned}$$

A condutância associada à corrente de potássio g_k é dada por

$$g_k = \bar{g}_K n^4 ,$$

onde \bar{g}_K representa a condutividade máxima de potássio e n é a proporção de subunidades de canais de potássio no estado condutivo, sendo controlada pelas taxas de transição α_n e β_n :

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \quad (2.18)$$

As funções não lineares para as taxas de transição do modelo são dadas por:

$$\alpha_m = 0.1 \frac{25 - V_m}{\exp\left(\frac{25 - V_m}{10}\right) - 1}, \quad (2.19)$$

$$\beta_m = 4 \exp\left(\frac{-V_m}{18}\right), \quad (2.20)$$

$$\alpha_h = 0.07 \exp\left(\frac{-V_m}{20}\right), \quad (2.21)$$

$$\beta_h = \frac{1}{\exp\left(\frac{30 - V_m}{10}\right) + 1}, \quad (2.22)$$

$$\alpha_n = 0.01 \frac{10 - V_m}{\exp\left(\frac{10 - V_m}{10}\right) - 1}, \quad (2.23)$$

$$\beta_h = 0.125 \exp\left(\frac{-V_m}{80}\right). \quad (2.24)$$

2.7 O Modelo de Bondarenko (2004)

O modelo de eletrofisiologia cardíaca proposto por Bondarenko (2004) descreve quantitativamente a atividade iônica em miócitos ventriculares oriundos do ápice e do septo cardíacos de camundongos. O modelo busca explicar as variações regionais observadas na fase de repolarização dos miócitos de camundongos a partir das diferentes expressões das correntes de potássio em tais regiões. Através de um conjunto de 41 EDOs, o modelo simula correntes iônicas, bombas iônicas e a homeostase celular para a reprodução do Potencial de Ação. Os fluxos iônicos considerados pelo modelo estão representados na Figura 2.16, os quais determinam a seguinte EDO para o potencial transmembrânico:

$$\begin{aligned} -C_m \frac{dV}{dt} = & I_{CaL} + I_{p(Ca)} + I_{NaCa} + I_{Cab} + I_{Na} + I_{Nab} \\ & + I_{NaK} + I_{Ktof} + I_{K,tos} + I_{K1} + I_{Ks} + I_{Kur} \\ & + I_{Kss} + I_{Kr} + I_{Cl,Ca} + I_{app} \end{aligned} \quad (2.25)$$

Algumas das equações para o comportamento de canais iônicos são baseadas no formalismo de Hodgkin-Huxley (1952), porém estão presentes no modelo cadeias de

Markov que modelam, por exemplo, as correntes iônicas $I_{Ca,L}$, I_{Na} e I_{Kr} . A cadeia de Markov para a corrente I_{Na} (*fast Na⁺ current*) foi mostrada na figura 2.12. O conjunto completo de equações que modelam a corrente I_{Na} encontra-se abaixo:

$$I_{Na} = G_{Na}O_{Na}(V - E_{Na}) \quad (2.26)$$

$$E_{Na} = \frac{RT}{F} \ln \frac{0.9[Na^+]_o + 0.1[K^+]_o}{0.9[Na^+]_i + 0.1[K^+]_i} \quad (2.27)$$

$$C_{Na3} = 1 - (O_{Na} + C_{Na1} + C_{Na2} + IF_{Na} + I1_{Na} + I2_{Na} + IC_{Na2} + IC_{Na3}) \quad (2.28)$$

$$\begin{aligned} \frac{dC_{Na2}}{dt} = & \alpha_{Na11}C_{Na3} - \beta_{Na11}C_{Na2} + \beta_{Na12}C_{Na1} - \alpha_{Na12}C_{Na2} \\ & + \alpha_{Na3}IC_{Na2} - \beta_{Na3}C_{Na2} \end{aligned} \quad (2.29)$$

$$\begin{aligned} \frac{dC_{Na1}}{dt} = & \alpha_{Na12}C_{Na2} - \beta_{Na12}C_{Na1} + \beta_{Na13}O_{Na} - \alpha_{Na13}C_{Na1} \\ & + \alpha_{Na3}IF_{Na} - \beta_{Na3}C_{Na1} \end{aligned} \quad (2.30)$$

$$\frac{dO_{Na}}{dt} = \alpha_{Na13}C_{Na1} - \beta_{Na13}O_{Na} + \beta_{Na2}IF_{Na} - \alpha_{Na2}O_{Na} \quad (2.31)$$

$$\begin{aligned} \frac{dIF_{Na}}{dt} = & \alpha_{Na2}O_{Na} - \beta_{Na2}IF_{Na} + \beta_{Na3}C_{Na1} - \alpha_{Na3}IF_{Na} \\ & + \beta_{Na4}I1_{Na} - \alpha_{Na4}IF_{Na} + \alpha_{Na12}IC_{Na2} - \beta_{Na12}IF_{Na} \end{aligned} \quad (2.32)$$

$$\frac{dI1_{Na}}{dt} = \alpha_{Na4}IF_{Na} - \beta_{Na4}I1_{Na} + \beta_{Na5}I2_{Na} - \alpha_{Na5}I1_{Na} \quad (2.33)$$

$$\frac{dI2_{Na}}{dt} = \alpha_{Na5}I1_{Na} - \beta_{Na5}I2_{Na} \quad (2.34)$$

$$\begin{aligned} \frac{dIC_{Na2}}{dt} = & \alpha_{Na11}IC_{Na3} - \beta_{Na11}IC_{Na2} + \beta_{Na12}IF_{Na} - \alpha_{Na12}IC_{Na2} \\ & + \beta_{Na3}C_{Na2} - \alpha_{Na3}IC_{Na2} \end{aligned} \quad (2.35)$$

$$\frac{dIC_{Na3}}{dt} = \beta_{Na11}IC_{Na2} - \alpha_{Na11}IC_{Na3} + \beta_{Na3}C_{Na3} - \alpha_{Na3}IC_{Na3} \quad (2.36)$$

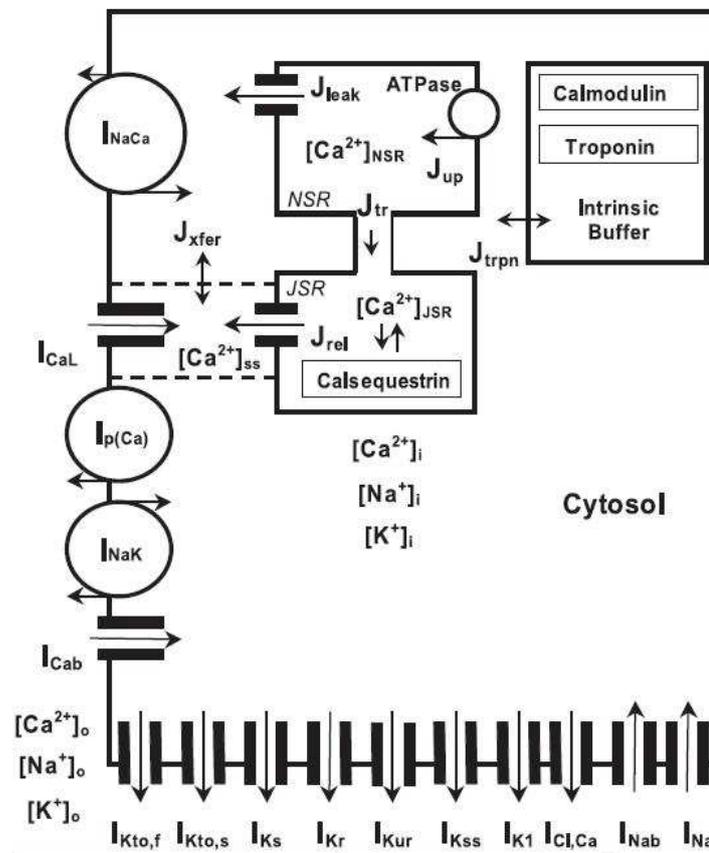


Figura 2.16: Ilustração esquemática dos fluxos iônicos e compartimentos celulares considerados pelo modelo de Bondarenko *et al.* (Imagem extraída de Bondarenko (2004)).

3 Metodologia de Resolução Numérica

3.1 Métodos Numéricos

Nesta seção, iremos apresentar cada um dos métodos numéricos utilizados no presente trabalho para a construção de técnicas de simulação numérica de diferentes modelos para a eletrofisiologia celular. Tais técnicas serão detalhadamente descritas na próxima seção.

3.1.1 Método de Euler Explícito

O método de Euler explícito é um método de 1ª ordem para a solução aproximada de equações diferenciais ordinárias (EDOs). Considere a EDO $\frac{dy}{dt} = f(y, t)$, onde $f(y, t)$ é uma função dada e $y(t)$ é uma função a ser determinada (ou aproximada). Expandindo-se $y(t)$ em uma série de Taylor em torno de t , tem-se

$$y(t+h) = y(t) + hf(y(t), t) + \frac{h^2}{2!} f^{(1)}(y(t), t) + \frac{h^3}{3!} f^{(2)}(y(t), t) + \dots, \quad (3.1)$$

onde h é um valor de pequena magnitude denominado *passo*. Tomando-se uma aproximação para $y(t+h)$ a partir do truncamento de termos cuja potência de h seja superior a 2, ou seja, termos de ordem superior a 2, temos

$$\bar{y}(t+h) = y(t) + hf(y(t), t) = y(t+h) + O(h^2). \quad (3.2)$$

Sejam $y_0 = y(t_0)$ e $y_1 = \bar{y}(t_0+h)$, para $n = 2, 3, \dots$ é estabelecido pelo método de Euler que

$$y_n = y_{n-1} + hf(y_{n-1}, t_{n-1}), \quad (3.3)$$

onde $t_n = t_0 + nh$. É possível demonstrar (Burden, 2008) que o erro cometido ao aproximar-se $y(t_0 + nh)$ por y_n é da ordem de h . Além disso, pode-se verificar que

o método de Euler explícito possui estabilidade condicionada ao passo utilizado e às características da EDO a ser aproximada, sendo classificado, portanto, como um método condicionalmente estável.

3.1.2 Método Runge-Kutta de 2^a Ordem

Os métodos de Runge-Kutta (Holmes, 2007) são métodos explícitos, também para a solução numérica de EDOs, com formulações para diferentes ordens de precisão. Neste trabalho, utilizaremos a versão de 2^a ordem, doravante referida por RK2, a qual é ilustrada pelas Equações 3.4, onde $a + b = 1$, $\alpha = \beta$ e $2b\alpha = 1$.

$$\begin{aligned} \frac{dy}{dt} &= f(y, t) \\ t_n &= nh + t_0 \\ y_0 &= y(t_0) \\ f_n &= f(y_n, t_n) \\ y_{n+1} &= y_n + h(af_n + bf(y_n + \beta hf_n, t_n + \alpha h)) \end{aligned} \tag{3.4}$$

3.1.3 Método de Rush-Larsen

O método proposto por Rush e Larsen (Rush, 1978) (denotaremos este método por RL) é largamente utilizado em *solvers* numéricos para modelos de eletrofisiologia que contém as chamadas *gating variables* provenientes da formulação de Hodgkin e Huxley (Hodgkin-Huxley, 1952) para canais iônicos. As equações associadas a tais variáveis possuem a forma da Equação 3.5 e são comumente chamadas de equações *quasi-lineares*.

$$\frac{dy^j}{dt} = \alpha_j(1 - y^j) - \beta_j y^j \tag{3.5}$$

Esse método assume que os coeficientes α_j e β_j da Equação 3.5 são aproximadamente constantes em um pequeno intervalo de tempo, embora sejam funções não lineares do potencial transmembrânico. Portanto, o método consiste na linearização local das

equações *quasi-lineares*, onde as mesmas são calculadas pela Equação 3.6, a qual é a solução exata das EDOs lineares resultantes.

$$y_{n+1}^j = \left(y_n^j - \frac{\alpha_j}{\alpha_j + \beta_j}\right)e^{-(\alpha_j + \beta_j)h} + \frac{\alpha_j}{\alpha_j + \beta_j} \quad (3.6)$$

As demais equações do modelo, ou seja, aquelas não *quasi-lineares* são resolvidas pelo método de Euler explícito, fazendo com que o método resultante seja de primeira ordem, com uma melhor estabilidade para modelos com um grande número de equações *quasi-lineares* (MacLachlan, 2005).

3.1.4 Método de Sundnes *et al.*

Em 2009, Sundnes *et al.* propuseram uma extensão do método de Rush-Larsen na qual equações semelhantes a 3.6 são utilizadas para a solução de todas as EDOs em modelos de eletrofisiologia (Sundnes, 2009). A partir de uma linearização local de todas as EDOs do sistema e através de uma simplificação por diagonalização do Jacobiano, pode-se chegar à equação 3.7, onde $t_n = t_0 + nh$, y_n^j representa a aproximação da j -ésima variável do sistema avaliada no tempo t_n , $\vec{Y}_n = (y_n^1, y_n^2, \dots, y_n^m)$ é o vetor aproximado de variáveis do sistema no instante t_n e $f^j(\vec{Y}, t)$ é o *lado direito* da EDO correspondente à variável y^j , ou seja, $\frac{dy^j}{dt} = f^j(\vec{Y}, t)$. A derivada parcial presente na formulação citada pode ser aproximada com uma diferença finita regressiva.

$$y_{n+1}^j = y_n^j + \frac{f^j(\vec{Y}_n, t_n)}{k_n}(e^{hk} - 1)$$

$$k_n = \frac{\partial f^j(\vec{Y}_n, t)}{\partial y^j} \quad (3.7)$$

A aplicação da Equação 3.7 sobre todas as EDOs do sistema constitui a versão de 1ª ordem do método de Sundnes, a qual chamaremos de método SAST1. Pode-se facilmente verificar que a Equação 3.7 aplicada às equações do tipo *quasi-linear* - ilustradas pela Equação 3.5 - é equivalente à formulação 3.6, o que dispensa, para tais equações, a

aproximação da derivada parcial de f^j .

Originalmente, o método proposto por Sundnes (2009) consiste na realização dos dois seguintes passos principais:

1. Seja \vec{Y}_n o vetor solução calculado mais recentemente, calculemos $\vec{Y}_{n+1/2}$ através da seguinte equação, para $i = 1, 2, \dots, m$:

$$y_{n+1/2}^i = y_n^i + \frac{f^i(\vec{Y}_n, t_n)}{k_n} (e^{\frac{h}{2}k} - 1) \quad (3.8)$$

2. Para cada uma das variáveis y^j , tomemos o vetor $\vec{W}^j = (y_{n+1/2}^1, y_{n+1/2}^2, \dots, y_n^j, \dots, y_{n+1/2}^m)$ e calculemos o valor de y_{n+1}^j através da equação:

$$y_{n+1}^j = y_n^j + \frac{f^j(\vec{W}^j, t_n)}{k_n} (e^{hk_n} - 1) \quad (3.9)$$

O método descrito pelos dois passos anteriores será referenciado neste trabalho por SAST2 o qual possui acurácia de segunda ordem, conforme mostrado experimentalmente em Sundnes (2009).

3.1.5 Método de Uniformização

O método de Uniformização (Melamed, 1984) é tradicionalmente utilizado para a análise da confiabilidade de redes e sistemas computacionais. Trata-se de um método incondicionalmente estável para a solução numérica de EDOs associadas a cadeias de Markov. Este método poderá ser referenciado neste texto como UNI.

Sejam Q a matriz de transições e $\vec{P}(t)$ o vetor de probabilidades da cadeia de Markov de tempo contínuo em questão (CMTC). Se considerarmos os termos $[Q]_{ij}$ constantes desde o instante 0 até o instante t , o sistema de EDOs associado à CMTC, $\vec{P}'(t) = Q\vec{P}(t)$, será localmente linear. Portanto, a solução do sistema é dada por $\vec{P}(t) = \vec{P}(0)e^{tQ}$, onde a exponencial matricial é definida pela série de Taylor da seguinte maneira:

$$e^{tQ} = \sum_{i=0}^{\infty} \frac{(tQ)^i}{i!}$$

A utilização direta da matriz Q leva a erros numéricos e a problemas de convergência para o cálculo da série, uma vez que os termos diagonais de Q são negativos e os demais termos são positivos. Além disso, pode haver termos com magnitude maior que 1, exigindo a normalização de Q . A técnica de Uniformização define $Q^* = Q/q + I$, onde $q \geq \max_{1 \leq i \leq n} |[Q]_{ii}|$ e n é o número de estados da CMTC. Como $Q = q(Q^* - I)$, segue que $\vec{P}(t) = \vec{P}(0)e^{qt(Q^* - I)} = \vec{P}(0)e^{-qt}e^{qtQ^*}$, então a solução resultante utilizando-se a série de Taylor é dada pela equação abaixo (Sidje, 1996).

$$\vec{P}(t) = \vec{P}(0)e^{-qt} \sum_{i=0}^{\infty} \frac{(qtQ^*)^i}{i!}$$

A formulação final para o tempo t até $t+h$ é ilustrada pelas Equações 3.10, 3.11 e 3.12, onde $Q(t)$ é a matriz de transição da CMTC avaliada no tempo t e $\vec{P}(t)$ é o vetor de probabilidades correspondente, contendo as variáveis da CMTC como suas componentes. O truncamento do somatório na Equação 3.10 é determinado pelo parâmetro N , o qual pode ser determinado pela Equação 3.13, dada uma tolerância λ . O valor λ é um limitante superior para o erro absoluto de truncamento obtido em cada componente de $\vec{P}(t+h)$.

$$\vec{P}(t+h) = \vec{P}(t)e^{-q(t)h} \sum_{i=0}^N \frac{(Q^*(t)q(t)h)^i}{i!} \quad (3.10)$$

$$Q^*(t) = \frac{Q(t)}{q(t)} + I \quad (3.11)$$

$$q(t) \geq \max_{1 \leq i \leq n} |[Q(t)]_{ii}| \quad (3.12)$$

$$\lambda \leq 1 - e^{-q(t)h} \sum_{i=0}^N \frac{(q(t)h)^i}{i!} \quad (3.13)$$

3.2 Experimentos Numéricos

3.2.1 Modelos Utilizados

Utilizamos quatro modelos eletrofisiológicos para células excitáveis em nossos experimentos numéricos, sendo que três deles possuem modelos baseados em cadeias de Markov para canais iônicos, enquanto que o modelo de Rudy (2006) possui apenas formulações de Hodgkin e Huxley. Tal modelo foi incluído em nossos experimentos para a constatação

experimental de que o método de Rush-Larsen é suficiente para melhorar a estabilidade apenas em modelos não baseados em cadeias de Markov, conforme será visto em seções subsequentes.

Modelo de Bondarenko (2004)

O modelo de Bondarenko (2004) descreve a atividade elétrica em miócitos do ventrículo esquerdo de camundongos. O mesmo consiste de 41 EDOs, sendo que 22 estão associadas a Cadeias de Markov e 3 são equações *quasi-lineares* associadas a variáveis do tipo *gate*. Para este modelo, simulamos 160ms de atividade elétrica.

Modelo de Iyer (2004)

O modelo proposto por Iyer (2004) representa matematicamente a eletrofisiologia dos miócitos do ventrículo esquerdo humano. É constituído de um extenso sistema de 61 EDOs, das quais 57 pertencem a modelos de Markov. Este modelo não apresenta variáveis do tipo *gate*. Simulamos 1s de atividade elétrica para este modelo nos experimentos do presente trabalho.

Modelo de Winslow (1999)

O último modelo baseado em cadeias de Markov que utilizamos neste trabalho é o modelo para o miócito do ventrículo canino, proposto por Winslow (1999). O mesmo é composto por 33 EDOs, sendo que 17 são provenientes de cadeias de Markov e apenas 3 são associadas a variáveis do tipo *gate*. As simulações deste modelo realizadas no presente trabalho, assim como no caso do modelo de Iyer (2004), foram de 1s.

Modelo de Luo-Rudy (1991)

O modelo proposto por Luo-Rudy (1991) descreve matematicamente o potencial de ação em miócitos do ventrículo cardíaco. É composto por 8 EDOs, sendo 6 do tipo *quasi-linear*, ou seja, associadas a variáveis do tipo *gate*. Neste trabalho, os experimentos realizados com este modelo foram simulações de 2s de atividade elétrica.

3.2.2 Esquemas Híbridos de Resolução Numérica

No presente trabalho, utilizamos combinações de diferentes métodos numéricos com o objetivo de explorar alternativas para a melhoria de estabilidade nos tradicionais *solvers* baseados em métodos explícitos, para a simulação de modelos da eletrofisiologia de células cardíacas. Ao todo, foram gerados 3 diferentes solvers híbridos, utilizando o método de Uniformização. Tal técnica foi associada somente a métodos de 1ª ordem, ou seja, ao método de Euler, ao método RL e ao método SAST1. A associação do método de Uniformização com métodos de 2ª ordem demandaria uma adaptação do mesmo para tal ordem de precisão.

Euler + UNI

O esquema de resolução numérica qual chamamos de **Euler + UNI** consiste na utilização do método de Euler explícito para a solução de EDOs não associadas a cadeias de Markov e na aplicação do método de Uniformização sobre as demais equações, uma vez que o último trata-se de um método específico para a solução numérica de cadeias de Markov.

Conforme vimos na Seção 3.1.5, do ponto de vista de utilização de memória, o método de Uniformização adiciona apenas a alocação de uma matriz quadrada, cuja ordem é o número de estados da cadeia de Markov considerada. Embora tal *overhead* em memória seja pequeno, tal método apresenta um considerável custo computacional, principalmente se realizado a cada passo de tempo em uma simulação (Gomes, 2011). Diante de tal fato, propomos a utilização do método de Uniformização com um passo de tempo maior que aquele utilizado pelo método de Euler, de modo que o mesmo seja aplicado em um menor número de iterações durante uma simulação. A forma para se implementar tal técnica é ilustrada pelo Algoritmo 1, onde h é o passo de tempo utilizado pelo método de Euler e Dh é o passo de tempo para o método de Uniformização.

RL + UNI

O *solver* **RL + UNI**, assim como o seu antecessor, aplica o método de Uniformização sobre as equações provenientes de cadeias de Markov. Porém, para as equações restantes, aplicamos o método de Rush-Larsen (ou RL) em substituição ao método de Euler. Para

Algoritmo 1: Ilustração do esquema numérico híbrido Euler + UNI

```

tempo ← 0
i ← 0
while  $i \leq \text{número de iterações}$  do
    Calcula as variáveis referentes ao método de Euler para  $\text{tempo} + h$ 
    if  $(i - 1) \% D = 0$  then
        Calcula as variáveis referentes ao método de Uniformização para
         $\text{tempo} + Dh$ 
    end if
    else
        if  $i \% D = 0$  then
            Salva variáveis em arquivo (aqui elas coincidem em tempo)
        end if
    end if
     $\text{tempo} \leftarrow \text{tempo} + h$ 
     $i \leftarrow i + 1$ 
end while

```

este esquema de resolução numérica, também aplicamos a estratégia de diferentes passos de tempo, procedendo de forma análoga à ilustrada pelo Algoritmo 1 para o *solver* Euler + UNI.

SAST1 + UNI

A versão de *solver* intitulada **SAST1 + UNI** utiliza o método de uniformização para as equações associadas às cadeias de Markov e a versão de primeira ordem do método proposto por Sundnes (2009) para as demais equações diferenciais dos modelos a serem simulados. Para este esquema de solução numérica, também utilizamos a técnica de diferentes passos de tempo, visando a utilização menos frequente do método de Uniformização durante as simulações.

Outros esquemas com passos de tempo distintos

Além dos esquemas citados utilizando diferentes passos de tempo para o método de Uniformização, desenvolvemos *solvers* com técnica semelhante para os métodos RL, SAST1 e SAST2. Em tais situações, passos de tempo maiores foram utilizados sobre as equações do tipo *quasi-linear*, uma vez que a formulação dada pela equação 3.6 é solução exata para tais equações, assumindo-se a hipótese de α e β constantes em um pequeno intervalo de tempo.

3.2.3 Implementação

Todos os *solvers* produzidos neste trabalho foram implementados na linguagem C++, com a utilização de algumas ferramentas para a obtenção de equações dos modelos e de algumas rotinas para o método de uniformização. Tais ferramentas são descritas nas seções a seguir.

O padrão CellML

O CellML (Cuellar, 2003) é um padrão baseado em XML, largamente utilizado para a representação de modelos celulares. Suas principais vantagens são o compartilhamento de modelos em um formato padronizado e a possibilidade de reaproveitamento de componentes em diferentes modelos, o que permite uma maior integração e aceleração no processo de desenvolvimento de modelos. O CellML inclui o padrão MathML (W3C, 2011) para a representação completa de equações matemáticas.

A ferramenta AGOS

Ambos os padrões CellML e MathML permitem a representação sistemática de modelos matemáticos. No entanto, a solução dos mesmos deve ser fornecida por ferramentas que traduzam suas equações para alguma linguagem de programação e que produzam métodos numéricos para resolvê-las. Com esta finalidade, utilizamos a ferramenta AGOS - *API Generator for ODE Solution* - (Barbosa, 2006; Costa, 2008) para extrair as equações dos modelos utilizados neste trabalho, além de utilizar as implementações do método de Euler e do método RK2 geradas pela ferramenta na linguagem C++. A ferramenta AGOS é capaz de gerar, em linguagem C++, *solvers* para modelos baseados em CellML utilizando o método de Euler Explícito, o método RK2, o método de passo adaptativo (Campos, 2011) e a coleção de métodos implícitos *Backward Differentiation Formula* (Holmes, 2007) providos pela biblioteca CVODE (Cohen, 1996).

A ferramenta Tangram II

A implementação do método de Uniformização foi realizada com a utilização de rotinas providas pela ferramenta Tangram II (LAND, 2010), versão 2.0, produzida pelo labo-

ratório LAND (*Laboratory for modeling, analysis and development of networks and computer systems*).

3.2.4 Cálculo de Erro

Os erros mostrados na Seção 4.1 foram calculados através da Equação 3.14, onde a solução considerada como exata foi aquela obtida pelo método RK2, executado com um passo de tempo de uma ordem de grandeza inferior ao menor passo de tempo utilizado para a obtenção das soluções aproximadas, para cada modelo separadamente. Deste modo, os valores de passos de tempo utilizados na resolução dos modelos com o RK2 para a geração das soluções de referência foram $10^{-5}ms$ para os modelos de Luo-Rudy (1991), de Iyer (2004) e de Bondarenko (2004) e $10^{-6}ms$ para o modelo de Winslow (1999). Em todos os casos, a variável utilizada para o cálculo do erro foi o potencial transmembrânico V .

$$erro = \frac{\sqrt{\sum (V_i^{Exato} - V_i)^2}}{\sqrt{\sum (V_i^{Exato})^2}} \quad (3.14)$$

3.2.5 Ambiente Computacional

Todos os experimentos numéricos realizados neste trabalho foram realizados em uma máquina com processador Intel(R) Core(TM) i7, 2.8 GHz, de 4 núcleos e com 8GB de memória RAM, cujo sistema operacional instalado é o Linux Fedora (Constantine).

4 Resultados e Discussão

Neste capítulo, apresentaremos os resultados obtidos com a simulação dos quatro modelos descritos na Seção 3.2.1, através do método de Euler Explícito, dos métodos RK2, RL, SAST1 e SAST2 e dos *solvers* híbridos apresentados na Seção 3.2.2. Além disso, apresentaremos uma discussão sobre o desempenho alcançado por cada uma das metodologias, levando em consideração cada modelo simulado.

4.1 Resultados

Primeiramente, consideraremos os experimentos de passo de tempo único, ou seja, aqueles em que os *solvers* híbridos utilizam o mesmo passo de tempo para os diferentes métodos numéricos aplicados. As Tabelas 4.1 e 4.2 mostram os resultados obtidos para essa categoria de experimentos, onde h é o passo de tempo utilizado (em ms), *Tempo* é o tempo de computação da simulação (em segundos) e *Erro* é o erro obtido pela Equação 3.14, dado em porcentagens. É importante observar que, para o modelo de Luo-Rudy (1991), não se aplica a utilização do método de Uniformização, uma vez que o mesmo não apresenta cadeias de Markov em sua formulação. Portanto, na Tabela 4.1 não evidenciamos sua simulação pelos métodos SAST1 + UNI, Euler + UNI e RL + UNI. Além disso, o modelo de Iyer (2004) não apresenta variáveis do tipo *gate*, o que justifica a não realização de experimentos com os métodos RL e RL + UNI para este modelo.

Com relação aos experimentos com a utilização de diferentes passos de tempo nos *solvers* híbridos, as Tabelas 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 mostram os resultados para os modelos de Luo-Rudy (1991), de Bondarenko (2004), de Winslow (1999) e de Iyer (2004), respectivamente, onde *Tempo* é o tempo de computação em segundos, h_2 (ms) é o passo de tempo utilizado pelo método de Uniformização ou para as equações do tipo *quasi-linear* nos métodos RL, SAST1 e SAST2, e h_1 (ms) é o passo de tempo aplicado na resolução das demais equações. Na Tabela 4.6 não estão presentes os métodos SAST1 e SAST2, uma vez que o modelo de Iyer (2004) não possui equações do tipo *quasi-linear*, não sendo

Tabela 4.1: Resultados das Simulações (A)

Método	Luo-Rudy			Bondarenko <i>et al.</i>		
	Erro(%)	h(ms)	Tempo(s)	Erro(%)	h(ms)	Tempo(s)
Euler	2.5e-1	1.2e-2	0.201	8.2e-3	1.9e-4	2.328
Euler + UNI	-	-	-	4.6e-1	1.0e-3	3.743
RL	7.3e-1	4.9e-2	0.064	8.3e-3	1.9e-4	2.461
RL + UNI	-	-	-	4.6e-1	1.0e-3	3.635
SAST1	7.2e-1	4.9e-2	0.092	9.5e-2	2.0e-4	5.240
SAST1 + UNI	-	-	-	5.6e-1	2.1e-2	0.215
RK2	2.2e-1	1.2e-2	0.405	6.0e-3	1.9e-4	4.614
SAST2	8.8e-1	2.0e-1	0.049	5.8e-1	1.3e-2	0.297

Tabela 4.2: Resultados das Simulações (B)

Método	Winslow <i>et al.</i>			Iyer <i>et al.</i>		
	Erro(%)	h(ms)	Tempo(s)	Erro(%)	h(ms)	Tempo(s)
Euler	9.3e-3	1.1e-4	28.91	1.2e-3	1.8e-4	17.18
Euler + UNI	4.8e-1	2.5e-3	8.315	8.6e-1	3.2e-3	21.32
RL	1.1e-2	1.1e-4	29.13	-	-	-
RL + UNI	4.7e-1	2.5e-3	8.317	-	-	-
SAST1	9.7e-1	9.4e-5	92.81	9.8e-1	4.3e-4	22.99
SAST1 + UNI	7.7e-1	1.4e-2	1.864	2.9e-1	4.4e-2	2.353
RK2	3.4e-3	1.1e-4	59.35	1.2e-5	1.8e-4	37.18
SAST2	9.6e-1	5.6e-4	38.57	9.0e-1	2.5e-3	8.388

Tabela 4.3: Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (A)

Luo-Rudy				
Método	Erro(%)	h1(ms)	h2(ms)	Tempo(s)
RL	7.9e-1	4.9e-2	9.8e-2	0.039
SAST1	8.3e-1	4.9e-2	1.5e-1	0.064
SAST2	9.1e-1	2.0e-1	6.0e-1	0.044

factível a utilização de um segundo passo de tempo em tais métodos para este modelo.

Em todas as tabelas desta seção, os experimentos exibidos são aqueles com os maiores passos de tempo utilizados, determinados empiricamente com o objetivo de manter os respectivos erros numéricos inferiores a 1%. Ou seja, para cada um dos modelos e para cada método utilizado foram realizadas várias simulações, com os respectivos erros numéricos calculados. A cada nova execução o passo de tempo foi gradativamente aumentado, até a situação em que o erro numérico fosse superior a 1% ou que problemas de instabilidade numérica fossem constatados. No caso dos métodos com dois passos de tempo distintos $h1$ e $h2$, o passo $h2$ foi incrementado somente após o passo $h1$ ter sido ajustado conforme descrito anteriormente.

Tabela 4.4: Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (B)

Bondarenko <i>et al.</i>				
Método	Erro(%)	h1(ms)	h2(ms)	Tempo(s)
Euler + UNI	9.8e-1	1.0e-3	2.5e-1	0.391
RL	8.8e-1	1.9e-4	1.3e0	1.905
RL + UNI	9.9e-1	1.0e-3	2.5e-1	0.191
SAST1	9.3e-1	2.0e-4	1.4e0	5.215
SAST1 + UNI	9.9e-1	2.1e-3	2.5e-1	0.089
SAST2	9.1e-1	1.3e-2	1.4e0	0.293

Tabela 4.5: Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (C)

Winslow <i>et al.</i>				
Método	Erro(%)	h1(ms)	h2(ms)	Tempo(s)
Euler + UNI	9.3e-1	2.5e-3	7.5e-2	1.140
RL	7.7e-1	1.1e-4	1.2e-1	27.55
RL + UNI	8.9e-1	2.0e-3	7.8e-2	1.188
SAST1	9.2e-1	9.4e-5	1.2e-1	89.37
SAST1 + UNI	5.0e-1	1.0e-2	5.0e-2	1.002
SAST2	9.3e-1	5.4e-4	1.2e-1	37.49

Tabela 4.6: Resultados das Simulações com Diferentes Passos de Tempo (D)

Iyer <i>et al.</i>				
Método	Erro(%)	h1(ms)	h2(ms)	Tempo(s)
Euler + UNI	9.4e-1	2.0e-3	1.7e-1	1.578
SAST1 + UNI	9.4e-1	1.1e-2	1.7e-1	1.369

4.2 Discussão

Podemos notar, a partir das Tabelas 4.1 e 4.2, que foi atingido um considerável ganho em desempenho pelo método RL em relação ao método de Euler para o modelo de Luo-Rudy (1991), diferentemente ao que pode ser observado com relação aos demais modelos. Isso foi possível devido ao fato de tal modelo não apresentar cadeias de Markov em sua formulação, além de uma considerável proporção de equações do tipo *quasi-linear*. Os demais modelos não apresentaram ganhos significativos com o RL por incluírem cadeias de Markov, cujas equações diferenciais contribuem mais fortemente com a *stiffness* de seu sistema de EDOs (MacLachlan, 2005).

O método SAST2 apresentou o segundo melhor desempenho para os modelos de Iyer (2004) e de Bondarenko (2004), enquanto mostrou-se menos eficiente que o método de Euler e mais eficiente que o método SAST1 para o modelo de Winslow (1999). Para os três modelos, os métodos RL e RL + UNI foram tão similares entre si quanto os métodos

Tabela 4.7: Ganhos em tempo de computação obtidos pelo método SAST1 + UNI: Caso de passo de tempo único

Método	Bondarenko <i>et al.</i>	Winslow <i>et al.</i>	Iyer <i>et al.</i>
Euler	10.83x	15.51x	7.30x
Rush-Larsen	11.45x	15.63x	-

Euler e Euler + UNI, uma vez que a utilização do método RL só produz ganho em relação ao método de Euler na presença significativa de equações do tipo *quasi-linear*.

O método Euler + UNI obteve um melhor desempenho em comparação ao método de Euler apenas no modelo de Winslow (1999), sendo computacionalmente mais caro que o método de Euler nos demais casos. Toda essa informação sugere que o método de Uniformização é capaz de aumentar o passo de tempo em simulações de modelos dessa natureza por fornecer estabilidade ao processo de solução das EDOs associadas às cadeias de Markov. Por outro lado, seu custo computacional mostrou-se consideravelmente expressivo.

Os melhores desempenhos para os modelos de Iyer (2004), de Bondarenko (2004) e de Winslow (1999), no caso de passo de tempo único, foram obtidos pelo método SAST1 + UNI. Este fato pode ser melhor evidenciado através da Tabela 4.7, na qual são mostrados os ganhos em tempo de computação obtidos por tal método em relação aos métodos de Euler e de Rush-Larsen.

Analisemos agora os resultados dos experimentos com a utilização de diferentes passos de tempo mostrados nas Tabelas 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6. Podemos notar, neste caso, um considerável ganho de desempenho dos métodos RL + UNI e Euler + UNI em comparação ao método RL e ao método de Euler (veja as Tabelas 4.1 e 4.2), respectivamente, para os três modelos baseados em cadeias de Markov. Esse ganho em desempenho se deu ao fato de contornarmos o custo computacional do método de Uniformização pela utilização de passos de tempo maiores na aplicação do mesmo.

Para os três modelos citados, o método mais eficiente foi o SAST1 + UNI, o qual reduziu de forma significativa o tempo de computação em comparação às técnicas numéricas usuais - método de Euler, RK2 e RL. A Tabela 4.8 exhibe os ganhos em desempenho obtidos pelo método SAST1 + UNI em relação aos métodos de Euler e de Rush-Larsen, no caso de diferentes passos de tempo. O melhor resultado obtido foi rela-

Tabela 4.8: Ganhos em tempo de computação obtidos pelo método SAST1 + UNI: Caso de diferentes passos de tempo

Método	Bondarenko <i>et al.</i>	Winslow <i>et al.</i>	Iyer <i>et al.</i>
Euler	26.16x	28.85x	12.55x
Rush-Larsen	27.65x	29.07x	-

tivo ao modelo de Winslow (1999), para o qual o método SAST1 + UNI reduziu o tempo de execução em cerca de 29 vezes em comparação ao método de Euler e ao método RL. A Figura 4.1 mostra, a título de ilustração, os potenciais obtidos pelo método SAST1 + UNI (Tabela 4.4) e pelo método de Euler para o modelo de (Bondarenko, 2004).

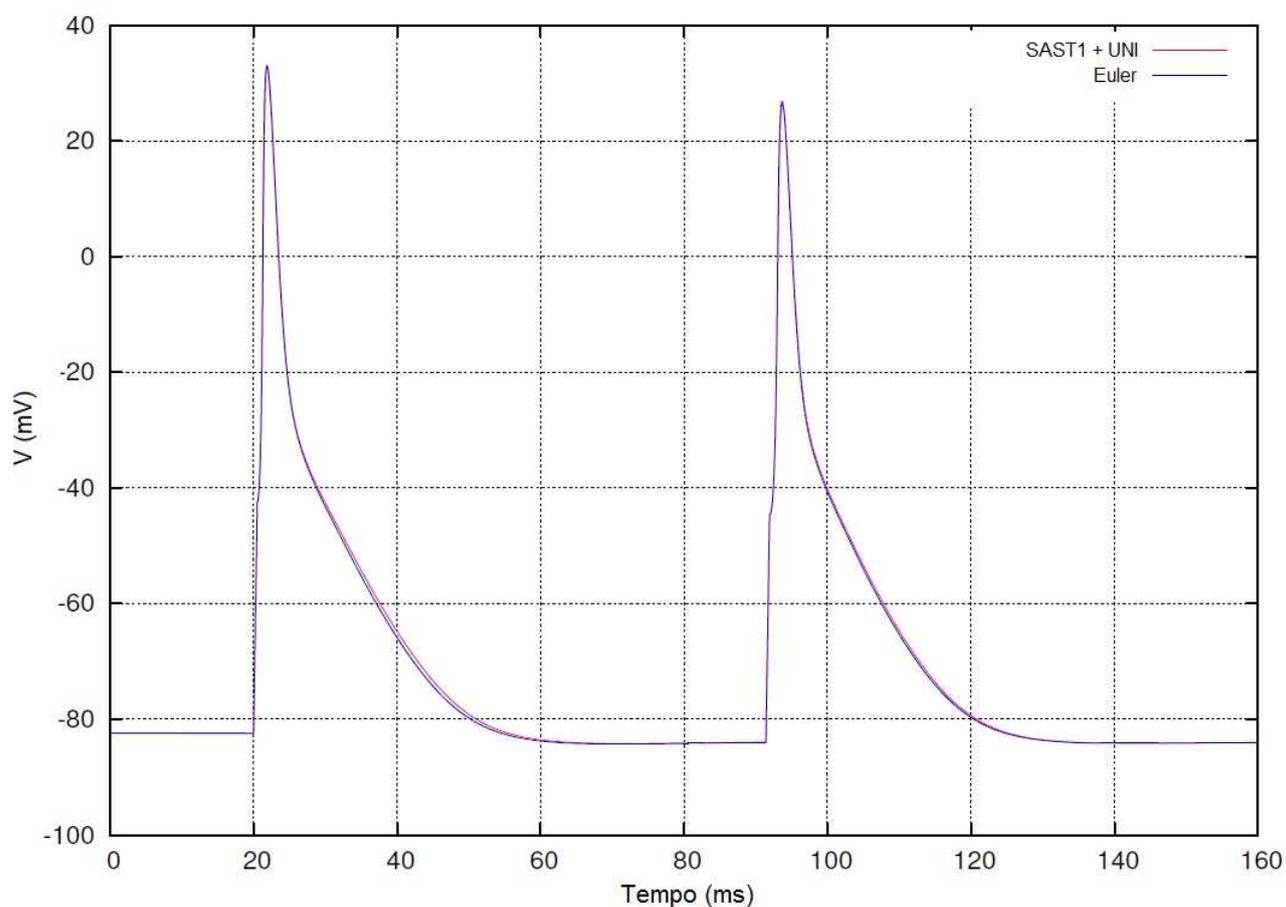


Figura 4.1: Comparativo entre potenciais obtidos para o modelo de Bondarenko (2004) pelo método de Euler (Tabela 4.1) e pelo método SAST1 + UNI (Tabela 4.4)

5 Considerações Finais

A partir da experimentação em simulações computacionais de diversos modelos celulares de eletrofisiologia cardíaca, utilizando-se diferentes metodologias de solução numérica e comparando-as com os *solvers* produzidos com a implementação do método de uniformização, obtivemos significativos ganhos em desempenho. Os resultados sugerem que tais melhorias de desempenho foram alcançadas devido ao emprego de um método incondicionalmente estável para a solução das equações derivadas de modelos de Markov, as quais são consideradas a parte mais *rígida - stiff* - dos sistemas de equações diferenciais ordinárias referentes aos modelos envolvidos.

Levando-se em consideração as características de implementação do método de uniformização, espera-se que o *overhead* em termos de utilização de memória RAM seja ínfimo ao empregarmos o mesmo em associação a métodos condicionalmente estáveis, proporcionando, assim, uma considerável vantagem sobre os métodos implícitos na solução numérica de tais modelos, principalmente nas situações de simulação de tecidos cardíacos. Como trabalhos futuros, poderemos implementar a técnica de Uniformização na simulação de tecidos cardíacos, associada às mais recentes técnicas de passo de tempo adaptativo (Campos, 2011) e de malhas espaciais adaptativas, buscando nos aproximar cada vez mais de simulações em tempo real, utilizando modelos realistas para a eletrofisiologia cardíaca.

Referências Bibliográficas

- Aldrich, R.; Corey, D. ; Stevens, C. A reinterpretation of mammalian sodium channel gating based on single channel recording. **Nature**, v.306, p. 436–441, 1983.
- Armstrong, C.; Bezanilla, F. Inactivation of the sodium channel. ii. gating current experiments. **The Journal of General Physiology**, v.70, p. 567–590, 1977.
- Aires, M. M. **Fisiologia**. 3. ed., Guanabara Koogan, 2007.
- Alberts, B.; Johnson, A. ; Lewis, J. **Essential Cell Biology**. 2nd. ed., Garland Publishing, 2003.
- Barbosa, C. B.; Santos, R. W.; Amorim, R.; Ciuffo, L. N.; Manfroi, F.; Oliveira, R. S. ; Campos, F. O. A transformation tool for ode based models. **Lecture Notes in Computer Science**, v.3991, p. 69–75, 2006.
- Bondarenko, V. E.; Gyula, P. S.; Glena, C. L. B.; Kim, S.-J. ; Rasmusson, R. L. Computer model of action potential of mouse ventricular myocytes. **American Journal of Physiology**, v.287, p. H1378–H1403, 2004.
- Burden, R. L.; Faires, J. D. **Análise Numérica**. Cengage Learning, 2008.
- Campos, F. O. **Modelagem computacional da eletrofisiologia cardíaca: O desenvolvimento de um novo modelo para células de camundongos e avaliação de novos esquemas numéricos**. 2008. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Juiz de Fora - Mestrado em modelagem computacional.
- Campos, R. S.; Lobosco, M. ; dos Santos, R. W. Adaptive time step for cardiac myocyte models. **Procedia Computer Science**, v.4, p. 1092–1100, 2011.
- Carvalho *et al.* **Grandes desafios da pesquisa em computação no brasil**. In: Seminário sobre os Grandes Desafios da Computação no Brasil. Sociedade Brasileira de Computação, 2006.
- Clancy, C.; Rudy, Y. Na⁺ channel mutation that causes both brugada and long-qt syndrome phenotypes: a simulation study of mechanism. **Circulation**, v.105, p. 1208–1213, 2002.
- Cohen, S. D.; Hindmarsh, A. C. Cvode, a stiff/nonstiff ode solver in c. **Computers in Physics**, v.10, p. 138–143, 1996.
- Constanzo, L. S. **Fisiologia**. 3. ed., Elsevier, 2007.
- Costa, C. M.; Campos, R. S.; Campos, F. O. ; dos Santos, R. W. Web applications supporting the development of models of chagas disease for left ventricular myocytes of adult rats. **Lecture Notes in Computer Science**, v.5103, p. 120–129, 2008.
- Costa, C. M. **Modelagem da microestrutura de tecidos cardíacos**. 2011. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Juiz de Fora - Mestrado em modelagem computacional.

- Cuellar, A.; Nielsen, P.; Halstead, M.; Bullivant, D.; Nickerson, D.; Hedley, W.; Nelson, M. ; Lloyd, C. **CellML 1.1 Specification**. Bioengineering Institute, University of Auckland, 2003.
- Gomes, J. M.; Campos, R. S.; Silva, A. P. C. ; dos Santos, R. W. **Uniformization technique applied to cardiac electrophysiology modelling**. In: XXXII CILAMCE, 2011.
- Guyton, A. C. **Textbook of Medical Physiology**. 11. ed., Saunders, 2005.
- Hoare, T.; Milner, R. Grand challenges in computing. **British Computing Society**, 2004.
- Hodgkin, A. F.; Huxley, A. L. A quantitative description of membrane current and its application to conduction in nerve. **Journal of Physiology**, v.117, p. 500–544, 1952.
- Holmes, M. H. **Introduction to Numerical Methods in Differential Equations**. Springer, 2007.
- Iyer, V.; Mazhari, R. ; R.L, W. A computational model of the human left-ventricular epicardial myocyte. **Biophysical Journal**, v.87, p. 1507–1525, 2004.
- Jensen, A. Markoff chains as aid in the study of markoff processes. **Skandinavisk Aktuarietidskrift**, v.36, p. 87–91, 1953.
- Jenkins, G. W.; Kemritz, C. P. ; Tortora, G. J. **Anatomy and Physiology: From science to life**. 2. ed., Lippincott Williams and Wilkins, 2002.
- Keener, J.; Sneyd, J. **Mathematical Physiology**. Springer, 1998.
- Keener, J.; Sneyd, J. **Patch Clamping: An Introductory Guide to Patch Clamp Electrophysiology**. Springer, 2002.
- LAND. **Tangram-ii**. <http://www.land.ufrj.br/tools/tools.html>, 2010.
- Luo, C.; Rudy, Y. A model of the ventricular cardiac action potential. depolarization, repolarization, and their interaction. **Circulation Research**, v.68, p. 1501–1526, 1991.
- MacLachlan, M. C.; Sundnes, J. ; Spiteri, R. J. A comparison of non-standard solvers for odes describing cellular reactions in the heart. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, , n.4, 2005.
- Martin, F. F. **Computer modeling and simulation**. 1. ed., John Wiley and Sons, 1968.
- Melamed, B.; Yadin, M. The randomization procedure in the computation of cumulative time distributions over discrete state markov processes. **Operations Research**, v.32, p. 929–943, 1984.
- Rudy, Y.; Silva, J. Computational biology in the study of cardiac ion channels and cell electrophysiology. **Q. Rev Biophys.**, v.39(1), p. 57–116, 2006.
- Rush, S.; Larsen, H. A practical algorithm for solving dynamic membrane equations. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v.25, p. 389–392, 1978.

- Sachse, F. **Computational Cardiology: Modeling of Anatomy, Electrophysiology and Mechanics**. Springer, 2004.
- Schram, G.; Pourrier, M.; Melnyk, P. ; S., N. Differential distribution of cardiac ion channel expression as a basis for regional specialization in electrical function. **Circ. Res.**, v.90, p. 939–950, 2002.
- Sidje, R. B.; Stewart, W. J. **A survey of methods for computing large sparse matrix exponentials arising in markov chains**. In: in Markov Chains, Computational Statistics and Data Analysis 29, p. 345–368, 1996.
- Sundnes, J.; Artebrant, R.; Skavhaug, O. ; Tveito, A. A second-order algorithm for solving dynamic cell membrane equations. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v.56, n.10, 2009.
- Tusscher, K. H. W. J. t.; Panfilov, A. V. Alternans and spiral breakup in a human ventricular tissue model. **American Journal of Physiology, Heart and Circulatory Physiology**, v.291, p. H1088–1100, 2006.
- W3C. **W3c math home**. <http://www.w3.org/Math/>, Março 2011.
- S. Wang, S. L.; Morales, M.; Strauss, H. ; Rasmusson, R. A quantitative analysis of the activation and inactivation kinetics of hERG expressed in xenopus oocytes. **The Journal of Physiology**, v.502, p. 45–60, 1997.
- Hille, B. **Ionic Channels of Excitable Membranes**. 3. ed., Sinauer Associates, 2001.
- Winslow, R. L.; J. Rice, S. J. E. M. ; O'Rourke, B. Mechanisms of altered excitation-contraction coupling in canine tachycardia-induced heart failure, ii : Model studies. **Circulation Research**, v.84, p. 571–586, 1999.