

Daniele Pires Magalhães

Modelagem de Extrassístole Associada a Transiente de Cálcio Estocástico

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito à obtenção do grau de Doutora em Modelagem Computacional.

Orientador: Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos

Coorientador: Prof. D.Sc. Rafael Sachetto Oliveira

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Magalhães, Daniele Pires .
Modelagem de Extrassístole Associada a Transiente de Cálcio Estocástico / Daniele Pires Magalhães. -- 2021.
140 f. : il.

Orientador: Rodrigo Weber dos Santos
Coorientador: Rafael Sachetto Oliveira
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional, 2021.

1. Arritmia. 2. Estímulo Beta Adrenérgico. 3. Fibrose. 4. Potencial de Ação Espontâneo. I. Santos, Rodrigo Weber dos, orient. II. Oliveira, Rafael Sachetto, coorient. III. Título.

Daniele Pires Magalhães

Modelagem de Extrasístole Associada a Transiente de Cálcio Estocástico

Tese apresentada ao
Programa de Pós-
Graduação em
Modelagem
Computacional da
Universidade Federal
de Juiz de Fora como
requisito parcial à
obtenção do título
de Doutor(a) em
Modelagem
Computacional. Área
de concentração:
Modelagem
Computacional

Aprovada em 29 de novembro de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Weber dos Santos - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rafael Sachetto Oliveira - Coorientador

Universidade Federal de São João Del Rei

Prof. Dr. Antônio José Natali

Universidade Federal de Viçosa

Profa. Dra. Carolina Ribeiro Xavier

Universidade Federal de São João Del Rei

Prof. Dr. Rafael Alves Bonfim de Queiroz

Universidade Federal de Ouro Preto

Prof. Dr. Bernardo Martins Rocha

Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 22/11/2021.



Documento assinado eletronicamente por **Bernardo Martins Rocha, Coordenador(a)**, em 29/11/2021, às 14:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Sachetto Oliveira, Usuário Externo**, em 29/11/2021, às 14:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carolina Ribeiro Xavier, Usuário Externo**, em 29/11/2021, às 14:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antônio José Natali, Usuário Externo**, em 29/11/2021, às 21:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Alves Bonfim de Queiroz, Usuário Externo**, em 30/11/2021, às 00:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Weber dos Santos, Professor(a)**, em 01/12/2021, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0586722** e o código CRC **76A4B4CE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me dar a força interior necessária para superar as dificuldades.

Aos meus pais e ao meu irmão pelo apoio emocional nos momentos mais complicados.

À minha amiga Fernanda por me ouvir quando eu mais precisei.

À minha amiga Isabela por me trazer a razão de volta e não permitir que eu desistisse.

Ao meu amigo Lucas por me fazer sorrir mesmo quando o fardo estava pesado, através de seus áudios repletos de ensinamentos de vida.

À minha amiga Bárbara que sempre me apoiou, foi um dos principais motivos de eu entrar no PGMC, além de ser exemplo, ela sempre me fez acreditar que eu iria conseguir.

À minha prima Tarci e ao meu compadre Sandro que sempre estiveram na torcida me encorajando e me apoiando.

Ao meu afilhado Miguel, que me faz querer ser exemplo para que um dia ele se orgulhe da sua madrinha.

À Camila que se tornou uma grande amiga, ouvia minhas aflições e tinha sempre uma palavra de conforto para me fazer acreditar que daria certo.

À minha amiga Érica, que sempre torceu por mim, me ajudou, resolveu vários problemas do Latex e estava sempre ali para o que der e vier.

Ao Reginaldo por tamanha confiança e por estar sempre pronto para ajudar.

À Renata por cuidar tão bem do nosso espaço físico e estar sempre com um sorriso carinhoso para aquecer a nossa alma.

À Natália e a Ana Márcia pela amizade fiel e companheira de sempre.

À corrida que me ajudou a equilibrar as emoções e me permitiu ter a paciência de esperar o momento certo para defender a tese.

Ao Rodrigo que me orientou e extraiu o melhor que eu poderia produzir, mesmo em situações bastante adversas.

Ao Rafael Sachetto por tamanha disponibilidade e paciência.

À todos os amigos do PGMC, à Capes e à UFJF.

*“Tudo o que é seu encontrará
uma maneira de chegar até
você.”*

(Chico Xavier)

RESUMO

A propagação elétrica do coração é um fenômeno complexo que resulta na contração do órgão. São diversos os fatores que operam em uma propagação normal para garantir a homeostase celular e de todo o miocárdio. Uma propagação anormal pode surgir devido a diversos fatores, um deles é a extrassístole, que pode ser o precursor de arritmias fatais. Esse trabalho possui como objetivo o desenvolvimento de um modelo matemático capaz de descrever alguns mecanismos associados a extrassístoles ventriculares. Um dos focos deste estudo está na compreensão da gênese de um Potencial de Ação Espontâneo após a ocorrência de um Pulso de Cálcio Espontâneo, que ocorre devido à Liberação Espontânea de Cálcio pelo Retículo Sarcoplasmático no nível celular. Além disso, estudamos as condições necessárias para que um Potencial Espontâneo celular consiga propagar em um tecido cardíaco e de fato gerar uma extrassístole. Diversas simulações são apresentadas para representar a atividade elétrica com as características estocásticas, tanto a nível de uma única célula quanto a nível do tecido. Os resultados sugerem que, no nível celular, Potenciais Espontâneos só foram observados em resposta a um estímulo beta-adrenérgico e em condições de aumento da atividade do trocador de sódio-cálcio. No tecido, a propagação do potencial de ação só ocorreu quando aumentamos a excitabilidade celular, por exemplo via diminuição da expressão de canais iônicos do tipo I_{K1} . Além disso, só observamos a propagação de Potenciais Espontâneos no tecido em condições particulares, onde células ativas estavam cercadas por tecido não condutivo (fibrose ou necrose), formando uma configuração estrutural que denominamos de funil selado. Finalmente, observamos que todas essas condições para a geração de uma extrassístole podem ser satisfeitas em cardiopatias bem descritas e conhecidas, como no do infarto e da cardiomiopatia hipertrófica, em particular nas bordas de regiões fibróticas ou necróticas. Assim, nossos estudos resultam em uma melhor compreensão dos complexos mecanismos que contribuem para a gênese de arritmias fatais que são comumente observadas nessas cardiopatias.

Palavras-chave: Arritmia. Estímulo Beta Adrenérgico. Fibrose. Potencial de Ação Espontâneo.

ABSTRACT

The electrical propagation of the heart is a complex phenomenon that results in the contraction of the organ. There are several factors that operate in a normal propagation to ensure cellular homeostasis and the entire myocardium. An abnormal propagation can arise due to several factors, one of which is extrasystole, which can be the precursor of fatal arrhythmias. This work aims to develop a mathematical model capable of describing some mechanisms associated with ventricular extrasystoles. One of the focuses of this study is on understanding the genesis of a Spontaneous Action Potential after the occurrence of a Spontaneous Calcium Pulse, which occurs due to the Spontaneous Calcium Release by the Sarcoplasmic Reticulum at the cellular level. Furthermore, we studied the conditions necessary for a cellular Spontaneous Potential to propagate in a cardiac tissue and in fact generate an extrasystole. Several simulations are presented to represent electrical activity with stochastic characteristics, both at the level of a single cell and at the tissue level. The results suggest that, at the cellular level, Spontaneous Potentials were only observed in response to a beta-adrenergic and under conditions of increased activity of the sodium-calcium exchanger. In tissue, action potential propagation only occurred when we increased cellular excitability, for example via decreased expression of type I_{K1} ion channels. Furthermore, we only observed the propagation of Spontaneous Potentials in the tissue under particular conditions, where active cells were surrounded by non-conductive tissue (fibrosis or necrosis), forming a structural configuration that we called a sealed funnel. Finally, we observed that all these conditions for the generation of an extrasystole can be satisfied in well-described and known cardiopathies, such as infarction and hypertrophic cardiomyopathy, particularly at the edges of fibrotic or necrotic regions. Thus, our studies result in a better understanding of the complex mechanisms that contribute to the genesis of fatal arrhythmias that are commonly observed in these cardiopathies.

Keywords: Arrhythmia. Beta Adrenergic Stimulos. Fibrosis. Spontaneous Action Potential.

SUMÁRIO

1	Introdução	28
1.1	Justificativa	30
1.2	Objetivos da tese	30
2	O processo de contração do miocárdio e algumas patologias	32
2.1	Eletrofisiologia Cardíaca	32
2.1.1	<i>O Sistema Nervoso e o Coração</i>	32
2.1.2	<i>Estimulação β- Adrenérgica</i>	34
2.2	Estrutura e Mecanismos dos Cardiomiócitos	34
2.3	PA e o acoplamento excitação-contração do coração	36
2.4	Miofilamentos	40
2.5	Liberação de Ca induzida por Ca - LCIC	43
2.6	Liberação de Ca Espontânea - LCE	44
2.7	Estimulação β - Adrenérgica	45
2.8	Características da corrente trocadora I_{NCX}	47
2.8.1	<i>Sincronismo dos Cardiomiócitos</i>	48
2.9	Fisiopatologias Cardíacas	51
2.9.1	<i>Alterações nas correntes iônicas e mutações genéticas</i>	51
2.9.2	<i>Propagação de PA's pelo miocárdio</i>	52
2.9.3	<i>Características da Fibrose no tecido cardíaco</i>	53
2.9.4	<i>Heterogeneidades</i>	55
2.9.5	<i>Espirais</i>	56
2.9.6	<i>Zona Peri-infarto</i>	58
3	Modelagem Matemática	59
3.1	A implementação de Magalhães (2014)	59
3.2	Cadeias de Markov	60
3.3	Simulação estocástica de LCEs	62
3.4	Estimativa do número de sarcômeros vizinhos ativos adjacentes: m_{NSA}	66

3.5	Velocidade de propagação do Potencial de Ação	68
4	MÉTODOS USADOS PARA AS IMPLEMENTAÇÕES E SIMULAÇÕES.....	69
4.1	Implementação e Ambiente Computacional - Modelos Celulares	69
4.2	Implementação e Ambiente Computacional - Modelagem do tecido - 2D	70
4.2.1	<i>MonoAlg3D</i>	71
4.3	ADAPTAÇÃO DA MODELAGEM ESTOCÁSTICA PARA Bondarenko (2014)	71
4.4	Esquema de realização da Análise de Sensibilidade do Modelo celular	76
4.4.1	<i>Teste das 5 configurações</i>	76
4.4.2	<i>Teste das 2 configurações com reduções de I_{K1}</i>	76
4.5	Mecanismo do Funil Selado	77
4.6	Estrutura do Funil Selado saindo do cabo e atingindo regiões em duas dimensões	79
5	RESULTADOS	81
5.1	Análise de sensibilidade do Modelo Celular	81
5.2	Análise de Sensibilidade para as configurações C1 e C4 variando a corrente I_{K1} :	89
5.3	Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C1 + redução de I_{K1} à metade	96
5.4	Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C1 + redução de I_{K1} à quarta parte	98
5.5	Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C4 + redução de I_{K1} à metade	101
5.6	Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas: configuração C4 + redução de I_{K1} à quarta parte	103
5.7	Resultados da Geometria do Funil Selado estendido para 2 dimensões	105
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	112
6.1	Trabalhos Futuros	114
6.2	Publicações	115

APÊNDICES	127
A.1 O modelo de Bondarenko (2014)	128
A.2 Detalhes sobre a implementação do modelo adaptado por Magalhães (2014) em uma frequência de 5Hz	130
A.3 O modelo de Chen et al. (2011)	133
B.1 Características do tecido cardíaco	138
B.2 Modelo do Monodomínio	138

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

2.1	Inervação Simpática e Parassimpática do coração. Adaptado de (Baker, 2014)	33
2.2	Esquema de proteínas relevantes na estrutura de um sarcômero. Extraído de Santos (2016)	35
2.3	PA ventricular cardíaco e suas fases: (A) Repouso, (B) Despolarização, (C) Repolarização Inicial, (D) Platô, (E) Repolarização, e as correntes iônicas relacionadas com a mudança de potencial em cada fase. Adaptado Barros (2013)	37
2.4	Canais iônicos e estruturas subcelulares responsáveis pela excitação contração. Adaptado de Santos (2016)	39
2.5	Organização dos miofilamentos. Adaptado de Sachse (2004)	41
2.6	Ligação actina-miosina. Adaptado de Cooper (2000).	42
2.7	Contração do sarcômero. Adaptado de Cooper (2000).	42
2.8	Ciclo da Liberação de Ca Induzida por Ca. Adaptado de Ibrahim et al. (2011)	44
2.9	Ativação do receptor adrenérgico e alvos de fosforilação relevantes para o acoplamento excitação-contração cardíaco. AC, adenilato ciclase; ACh, acetilcolina; PKA, proteína quinase A; AKAP, proteína de ancoramento de quinase A; β -AR, receptor β -adrenérgico; PLB, fosfolambam; Reg, PKA subunidade regulatória; SR, retículo sarcoplasmático. Adaptado de (Bers, 2002b)	47
2.10	PCEs, PDA e PAE. Adaptado de (Faber and Rudy, 2007)	52
2.11	Coração. Adaptado de Magalhães (2014)	53
2.12	A região do tecido em vermelho representa as células saudáveis e condutoras, a região em azul representa a fibrose representando as células apoptóticas e não condutoras. Adaptado de (Danciu et al., 2014)	55

3.1	Variação das concentrações das subunidades catalíticas PKA durante o tempo. A linha fina representa a concentração: na caveolae, a linha tracejada na extracaveolar, a linha pontilhada nos compartimentos citosólicos, e a linha sólida em negrito representa todo o volume da célula. A concentração foi observada após a aplicação de $1\mu M$ de Isoproterenol. Adaptado de Bondarenko (2014)	60
3.2	Cadeia de Markov com 3 estados. Adaptado de Keener and Sneyd (1998). . .	61
3.3	Diagrama de estados que representa a ativação e desativação dos 150 sarcômeros. A taxa $\lambda(n_{NSA})$ é a taxa de ativação, calculada pela Equação (3.5). A taxa $\mu(150)$ corresponde a taxa de desativação dos sarcômeros, que desativam-se todos ao mesmo tempo. $\mu(150)$ é igual a $\frac{1}{\tau_d}$ como será visto posteriormente.	64
3.4	Representação do bloco de sarcômeros vizinhos ativos.	66
4.1	Ajuste da Equação A.4, em A tem-se o valor da função p_{CaJSR} versus a concentração de cálcio no RS de acordo com o número de sarcômeros ativos, usando a modelagem de Chen et al. (2011). Em B tem-se o valor da função adaptada ao limiar da modelagem de Bondarenko (2014) que varia de $200\mu M$ a $1800\mu M$. Em C foi realizada uma alteração no limiar, parâmetro x_0 , para $750\mu M$. Em D foi realizada uma alteração no limiar, parâmetro x_0 , para $700\mu M$ Fonte: Próprio autor(2020).	73
4.2	Latência. Adaptado de Chen et al. (2011)	75

4.3	<p>Visualização do potencial transmembrana de uma das simulações realizadas usando o malha biventricular específica do paciente (para facilitar a visualização, apenas metade dos ventrículos é mostrada na figura). A simulação apresenta reentradas sustentadas com (a) Estímulos múltiplos foram aplicados a diferentes regiões subendocárdicas para simular uma ativação através da rede Purkinje. (b) Ambos os ventrículos são totalmente despolarizados. Nenhuma atividade elétrica dentro da pequena região do infarto na região superior do VE é encontrada. (c) Os ventrículos começam a se repolarizar. Dentro as micro-reentradas da grande região do infarto levam à formação de duas ondas espirais fracionadas. (d) Um batimento ectópico é gerado no lado direito da grande região do infarto e se propaga para o tecido saudável. (e) parte da região ZP ampliada em que pode ocorrer o PAE, em um determinado caminho de células sem saída, conhecido como funil selado. (e) Representação do cabo de 100 células, simulando um labirinto que pode ser formado na região ZP. Adaptado de Oliveira et al. (2018a)</p>	77
4.4	<p>Esquema de representação do mecanismo do funil selado, considerando frações do cabo com modelagem estocástica e o restante do cabo modelagem determinística. 4 execuções do código foram realizados com 1/2 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/4 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/8 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/16 do cabo com a modelagem estocástica. Fonte: Próprio Autor (2021)</p>	78
4.5	<p>Geometria do Funil Selado estendida para 2 dimensões de forma gradual. A geometria é dividida em 4 partes diferentes. A primeira contém 6 células (aproximadamente 0,625 cm). A segunda parte possui uma região em duas dimensões de 5 células por 3 células. A terceira possui 5 células por 5 células. A quarta e última região possui 10 células por 7. Fonte: Próprio Autor (2021)</p>	79

5.1	Curva correspondente à equação A.4 de acordo com a concentração de Cálcio no interior do RS segundo Chen et al. (2011), em que a concentração varia de $200\mu M$ a $2500\mu M$	82
5.2	Representação do gráfico da Equação A.4 com variações para o valor do limiar 2, testando $limiar_2 = 320\mu M$, $limiar_2 = 420\mu M$, $limiar_2 = 520\mu M$ e comparando com o original $limiar_2 = 1000\mu M$ pode-se notar que a curva correspondente ao $limiar_2 = 520\mu M$ atinge o valor de probabilidade igual a 0,0005 com uma concentração de Cálcio de RS igual a $400\mu M$. Em contrapartida, a curva correspondente ao $limiar_2 = 320\mu M$ atinge o valor de probabilidade igual a 0,0005 com uma concentração de Cálcio de RS igual a $200\mu M$	83
5.3	Boxplot de representação das configurações para verificação do menor valor para a latência. O código referente ao modelo celular estocástico foi executado 40 vezes com as 5 configurações diferentes, cada execução do código simulando 2 segundos da modelagem estocástica, cada boxplot representa as estatísticas em relação a latência. A configuração 1: corresponde a $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 320\mu M / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 2: $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 3: $limiar_1 = 700\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00001$. A configuração 4: $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 5: $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$. Pode-se observar que a configuração 1 possui o menor valor para a latência, seguidas da configuração 2 e 4	84

- 5.4 Boxplot de representação da frequência média de ocorrência dos PAE's na modelagem estocástica. O código referente ao modelo celular estocástico foi executado 40 vezes com as 5 configurações diferentes, cada execução do código simulando 2 segundos da modelagem estocástica, sendo a configuração 1: corresponde a $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. configuração 2: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. configuração 3: $limiar_1 = 700 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00001$. configuração 4: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. configuração 5: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$. Pode-se observar que a configuração 1, a 2 e a 4 apresentam maiores valores para a frequência de ocorrência dos PAE's. A configuração 4 apresenta a mediana mais próxima de 4 ainda. 85
- 5.5 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 87
- 5.6 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 2, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 87
- 5.7 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 3, $limiar_1 = 700 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00001$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 88
- 5.8 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 88

5.9	Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 5, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.	89
5.10	Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, em que pode-se observar uma variação da amplitude, em alguns instantes menor do que 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, cálcio intracelular associado ao PAE.	90
5.11	Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, observando um variação da amplitude, em alguns instantes bem menor do que 20 mV. A partir deste gráfico assume-se que a amplitude máxima de um PAE será -10mV. O gráfico da direita representa o TCE, cálcio intracelular associado ao PAE.	91
5.12	Representação da latência em relação a configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a latência aumenta e a mediana fica em 500 ms para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.	92
5.13	Representação da frequência de ocorrência de PAE's em relação a configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a frequência de ocorrência dos pulsos também aumenta e a mediana fica em torno de 4 para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.	93

- 5.14 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV, comparado aos gráficos antes da redução de I_{K1} . O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 94
- 5.15 Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, observando uma variação da amplitude, em alguns instantes bem menor do que 20 mV. A partir deste gráfico assume-se que a amplitude máxima de um PAE será -10mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE. 94
- 5.16 Representação da latência em relação a configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a latência aumenta e a mediana fica em 500 ms para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte. 95
- 5.17 Representação da frequência de ocorrência de PAE' em relação a configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a frequência de ocorrência dos pulsos também aumenta e a mediana fica em torno de 3,5 para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte. 96

5.18	Instantes de tempo de um teste realizado com a configuração 1 referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do cabo e redução de I_{K1} à metade. O tamanho do cabo para esta simulação foi de 1 cm e o tempo de duração foi 2 segundos. A imagem comprova que não há propagação de PAE nem DAD em quatro instantes de tempo diferentes, $t = 282$ ms, $t = 1139$ ms, $t = 1593$ ms e $t = 1995$ ms.	97
5.19	Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada não reproduz PAE nem PDA's.	98
5.20	Momento da propagação de um PAE pelo cabo de células que totaliza 1 cm de comprimento em uma simulação de 2s, ou seja, instantes da formação da extrassístole. No tempo igual 422 ms na fração de aproximadamente $\frac{1}{3}$ do cabo tem-se o início da propagação de um PAE. No tempo igual a 427 ms o PAE vai expandindo e propagando pelo restante do cabo, mantendo na fração do cabo com modelagem estocástica. Instantes depois o PAE divide-se em dois, como pode ser visto no tempo 440 ms, sendo que a parte correspondente à direita da propagação expande para a fração do cabo que possui a modelagem determinística da modelagem. No tempo igual a 467 ms observa-se que ocorre a formação da extrassístole, a partir do momento que o PAE propaga do meio do cabo até a direção e sentido do final do cabo. Em 492 ms a parte da propagação da direita expande até o final da parte direita do cabo. No tempo acima 492 ms não há mais propagação deste PAE que percorreu o cabo por aproximadamente 70 ms, resultando em uma velocidade de 14,29 cm/s.	100
5.21	PAE de uma célula do cabo para verificar a amplitude e formato. Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada no cabo reproduziu 3 PAE's com amplitude em torno de aproximadamente -20 mV e 2 DAD's	101
5.22	Instantes de tempo de um teste realizado com a configuração 4 referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do cabo do cabo e redução de I_{K1} à metade. O tamanho do cabo para esta simulação foi de 1 cm e o tempo de duração foi 2 segundos. A imagem comprova que não há propagação de PAE nem DAD em quatro instantes de tempo diferentes, $t = 0$ ms, $t = 500$ ms, $t = 1000$ ms $t = 1500$ ms e $t = 2000$ ms.	102
5.23	Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada não reproduz PAE nem PDA's.	103

- 5.24 Momento da propagação de um PAE pelo cabo de células de 1 cm de extensão em uma simulação de 2s, ou seja, instantes da formação da extrassístole. No tempo igual 477 ms na parte inicial esquerda do cabo tem-se o início da propagação de um PAE. No tempo igual a 482 ms o PAE vai expandindo e propagando pelo restante do cabo, mantendo na fração do cabo com modelagem estocástica. No tempo igual a 497 ms a propagação se mantém ainda na fração do cabo que está sendo executada a modelagem estocástica. No tempo igual a 524 ms o PAE propaga para a fração do cabo que está com a modelagem determinística, instante da formação da extrassístole. No tempo igual a 578 ms ocorre o final desta propagação pelo cabo. A onda ectópica propaga pelo cabo numa velocidade de 10,2 cm/s. 104
- 5.25 PAE de uma célula do cabo para verificar a amplitude e formato. Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada no cabo reproduziu 3 PAE's com a amplitude em torno de aproximadamente 10 mV e no $t = 1700$ ms um DAD. 105
- 5.26 Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 1204 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 1215 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 1215 ms até 1249 ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 7, 22 cm/s. 107

- 5.27 Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 1328 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 1352 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 1364 ms até 1386 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 7,76 cm/s. 108
- 5.28 Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 417 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 436 ms o PAE se divide em dois e uma parte propaga para a esquerda e a outra parte propaga para a direita. No tempo igual a 450 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 450 ms até 480 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 11, 11 cm/s. 109
- 5.29 Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 376 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 404 ms o PAE se divide em dois e uma parte propaga para a esquerda e a outra parte propaga para a direita. No tempo igual a 444 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 444 ms até 467 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 13, 19 cm/s. 110

A.1 Representação esquemática do sistema de sinalização β -adrenérgica em miócitos ventriculares de camundongos. As correntes transmembranares são: a corrente de Na rápida (I_{NaCa}), os dois componentes da corrente de Ca do tipo L nos compartimentos caveolae e extracaveolae ($I_{Ca_{cav}}$ e $I_{Ca_{ecav}}$ respectivamente), a bomba de Ca sarcolemmal (I_{pCa}), o permutador Na/Ca (I_{NaCa} ou I_{NCX}), a corrente K transitória para fora rapidamente recuperável (I_{Ktof}), a corrente de K retificadora retardada (I_{Kr}), a corrente de ativação ultrarápida (I_{Kur}), a corrente de tensão de K não ativada no estado estacionário (I_{Kss}), a corrente K independente do tempo (I_{K1}), a bomba Na/K (I_{NaK} é regulada por fosfolemam, PLM), as correntes de fundo de Cálcio e Sódio (I_{Cab} e I_{Nab}). Os fluxos de Ca que são a captação de Ca do citosol para o RS da rede (NSR) (J_{up}) pela bomba SERCA e Liberação de Ca do retículo sarcoplasmático juncional (JSR) (J_{rel}) através dos receptores rianodina (RRs). Existem três compartimentos intracelulares no sistema de sinalização β -adrenérgico: caveolae, extracaveolae e citosol. O volume subespaço (V_{ss}) está localizado no domínio da extracaveolae. Os componentes do sistema de sinalização β -adrenérgico são os receptores β -adrenérgicos (β -AR), a subunidade a da proteína G estimulante (G_{sa}), a (G_{bc}), as adenilil-ciclases de tipo 5/6 ou 4/7 (AC5 / 6 ou AC4 / 7, respectivamente), as fosfodiesterases de tipo 2, 3, Ou 4 (PDE2, PDE3 ou PDE4, respectivamente), as subunidades cíclicas AMP (cAMP), reguladoras (R) e catalíticas (C) da holoenzima da proteína quinase A, a proteína Quinase A (PKA), a quinase de receptor acoplada a proteína G de tipo 2 (GRK2), as proteínas fosfatases de tipo 1 ou 2A (PP1 ou PP2A, respectivamente) O inibidor-1 (I-1). As proteínas citosólicas que são os substratos do sistema de sinalização β -adrenérgico são o fosfolambano (PLB) e a troponina I (TnI). As ligações estimuladoras são mostradas por setas pretas e as ligações inibitórias são mostradas por linhas tracejadas vermelhas com bolas. $[Ca^{2+}]_i$, $[Na^+]_i$, e $[K^+]_i$ são as concentrações intracelulares de Cálcio, Sódio e Potássio na caveolae, extracaveolae e citosol, respectivamente; $[Ca^{2+}]_o$, $[Na^+]_o$, e $[K^+]_o$ são os grupos Ca, Na e K extracelulares. Adaptado de Bondarenko (2014) 129

A.2	Em A observa-se as correntes plotadas por Bondarenko (2014) após aplicar $1\mu M$ de Isoproterenol. O PA correspondente a estas curvas estava a uma frequência de 5 Hz. Em B e C estão plotadas as curvas da implementação de Magalhães (2014). A corrente de sódio, I_{Na} foi plotada a parte pois a sua escala está diferente.	131
A.3	Em A observa-se as correntes plotadas por Bondarenko (2014) após aplicar $1\mu M$ de Isoproterenol. O PA correspondente a estas curvas estava a uma frequência de 5 Hz. Em B estão plotadas as curvas da implementação de Magalhães (2014).	132
A.4	Ilustração de distribuição espacial dos canais iônicos e compartimentos envolvidos no ciclo de Ca^{2+} . A concentração de Ca^{2+} na junção diádica, o espaço submembranar, a região citoplasmática, o espaço juncional do retículo sarcoplasmático e o espaço correspondente à rede do retículo sarcoplasmático, são denotadas como c_p^k , c_s^k , c_i^k , $c_{j_{sr}}^k$ e c_{sr}^k respectivamente, k escrito nos índices superiores correspondem a cada unidade de liberação do Ca^{2+} . Adaptado de Chen et al. (2011).	134

LISTA DE TABELAS

- 5.1 A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a frequência de ocorrência de PAE's. As configurações 1 e 4 apresentam uma maior frequência de ocorrência de PAE's e menores valores para o desvio padrão. 86
- 5.2 A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a latência dos PAE's. As configurações 1, 2 e 4 apresentam um menor valor para a latência dos PAE's e menores valores para o desvio padrão. 86
- 5.3 A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a frequência de ocorrência dos PAE's de acordo com as reduções de I_{K1} nos testes realizados com o modelo celular. 90
- 5.4 A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a latência dos PAE's de acordo com as reduções de I_{K1} nos testes realizados com o modelo celular. 90
- 5.5 Estatísticas de propagação do PAE corresponde à configuração C1 com redução da corrente I_{K1} à quarta parte. As simulações foram realizadas em um cabo de células totalizando 1 cm, cada célula do cabo contendo $100\mu m$ durante o tempo de 2 ms. Na primeira coluna do quadro observa-se a variação da porção do cabo que é simulada com a modelagem estocástica. A segunda coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando da ponta do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo. 99

5.6	Estatísticas de propagação do PAE corresponde à configuração C4 com redução da corrente I_{K1} à quarta parte. As simulações foram realizadas em um cabo de células com 1 cm, cada célula do cabo contendo $100\mu m$ por 2 ms. Na primeira coluna da tabela observa-se a variação da porção do cabo que é simulada com a modelagem estocástica. A segunda coluna da Tabela contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando da ponta do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo.	104
5.7	Estatísticas da quantidade de simulações da propagação do PAE correspondente as simulações realizadas com a geometria do Funil Selado. A primeira coluna da Tabela informa o tamanho inicial do cabo com modelagem estocástica. A segunda coluna contabiliza quantas simulações do FS reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir do inicio do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do FS reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo. A quarta coluna informa quantas simulações não geraram PAE.	111

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AC	Adenilil ciclase
ADPRc	<i>Cyclic Adenosine Diphosphate-Ribose</i>
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
ATPase	<i>Adenylpyrophosphatase</i>
CaM	Calmodulina
cAMP	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
CASQ	Calsequestrina
Casq2	Calsequestrina 2
CD	Contração Diástolica
CE	Contração Estimulada
DA	Despolarização Atrasada
DC	Débito Cardíaco
ddp	Diferença de Potencial
DHP	Dihidropiridina
EDOs	Equações Diferenciais Ordinárias
GDP	Guanosina Difosfato
GTP	Guanosina Trifosfato
ISO	Isoproterenol
JSR	<i>Junctional Sarcoplasmic Reticulum</i>
LCIC	Liberação de Ca^{2+} induzida por Ca^{2+}
LCE	Liberação de Ca^{2+} Espontânea
MyBCP Ser 282	<i>Myosin Binding Protein-C</i> do tipo Ser 282
Na/Ca	Sódio Cálcio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaK-ATPase	<i>Sodium-potassium adenosine triphosphatase</i>
NSR	<i>Network Sarcoplasmic Reticulum Space</i>
KCl	Cloreto de Potássio

NAV	Nodo Atrioventricular
NCX	Na^+/Ca^{2+} exchanger
NCX-Tg	<i>Cardiomyocyte-directed overexpression of NCX</i>
NSA	Nodo Sinoatrial
PA	Potencial de Ação
PAE	Potencial de Ação Espontâneo
PCE	Pulso de Ca^{2+} Espontâneo
PDA	Pós despolarizações atrasadas
PDT	Pós despolarizações precoces
PDE	<i>Phosphodiesterases</i>
PDA	Pós despolarização atrasada (PDA)
PDI	Pós despolarização inicial (PDI)
PKA	<i>Protein kinase A</i>
PLB	<i>Phospholamban</i>
PMCA	<i>Plasma Membrane Ca^{2+} ATPase</i>
PP	<i>Protein Phosphatases</i>
PP1	<i>Protein Phosphatase 1</i>
PP2A	<i>Protein Phosphatase 2A</i>
PO_4	Grupo Fosfato
RE	Retículo Endoplasmático
RS	Retículo Sarcoplasmático
RR	Receptor Rianodina
RR2	Receptor Rianodina do tipo 2
RyR	<i>Ryanodine Receptor</i>
RyR 2	<i>Type 2 Ryanodine Receptor</i>
RUs	<i>Regulatory Units</i>
SAP	<i>Spontaneous Action Potential</i>
Ser/Thr	<i>Serine/Threonine Protein Kinase</i>
SERCA	<i>Sarco(Endo)plasmic Reticulum Ca-ATPase</i>
SERCA2a	<i>Sarco(Endo)plasmic Reticulum Ca-ATPase of type 2a</i>

SCR	<i>Spontaneous Ca²⁺ release</i>
SCT	<i>Spontaneous Calcium Transiente</i>
SERCA	Bomba de Ca ²⁺ do RS
SNA	Sistema Nervoso Autonômico
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TCE	Transiente de Ca ²⁺ Espontâneo
TnI Ser 23/24	Troponina I do tipo Ser 23/24
WT	<i>Wild-Type</i>

1 Introdução

De acordo com uma pesquisa realizada entre os anos de 2015 a 2018 nos EUA, aproximadamente 6 milhões de pessoas tiveram alguma insuficiência cardíaca (Yang et al., 2012).

A modelagem e simulações computacionais são ferramentas essenciais e têm sido cada vez mais usadas para estudar a eletrofisiologia cardíaca de arritmias ocasionadas por diferentes distúrbios. Modelagens multi-escala de eletrofisiologia cardíaca fornecem uma estrutura para integração experimental vinculando fenômenos de microescala a simulações de comportamentos que representam o órgão inteiro. Atualmente a modelagem computacional é uma parte essencial da pesquisa mecanística em estudos de eletrofisiologia, porque pode complementar observações experimentais e sugerir novos mecanismos de estudo. Além disso, contribui para os esforços contínuos em direção à medicina de precisão em cardiologia, sugerindo estratégias de tratamento personalizadas para os pacientes diagnosticados com alguma falha (Aronis et al., 2019).

Arritmias cardíacas podem ser desencadeadas por vários fatores diferentes e na maioria das vezes estão associadas e são iniciadas pelos batimentos ectópicos. A localização destes batimentos pode variar, mas normalmente começam em áreas de infarto, regiões de microfibrose e outros tecidos heterogêneos. Mecanismos que ligam focos ectópicos em tecidos heterogêneos ainda estão sendo compreendidos. A composição de um tecido numa região de infarto é repleta de miócitos isquêmicos e células não condutoras (fibrose, por exemplo). A região do miocárdio que ficar lesionada após um infarto é também conhecida como zona Peri-infarto (PZ), uma interface entre a região lesada e o tecido saudável circundante. Estudos anteriores revelam claramente que as batidas ectópicas emergem de micro-reentradas que são sustentadas pela estrutura heterogênea da zona PZ (Oliveira et al., 2018a).

Reproduzir computacionalmente uma batida ectópica é algo desafiador, principalmente porque exige a compreensão do fenômeno a nível multi-escala. Primeiramente é preciso

entender como os mecanismos bioquímicos funcionam a nível celular para posteriormente construir a modelagem na escala de tecido. A nível celular torna-se necessário aprofundar a pesquisa sobre a gênese de um PAE. De acordo com experimentos realizados por diversos autores como Brunello et al. (2013), somente seria possível reproduzir um PAE sob o estímulo β - adrenérgico. A partir disso, surgiu a necessidade de um modelo celular capaz de simular a estimulação β - adrenérgica como o modelo de Bondarenko (2014) que reproduz o comportamento bioquímico das proteínas que compõem os canais iônicos acoplado ao comportamento eletrofisiológico envolvido na estimulação β -adrenérgica. O sistema de sinalização β -adrenérgica altera cinco dessas correntes: I_{CaL} , I_{Na} , I_{Ktof} , I_{Kur} e I_{K1} . Em termos de dinâmica de Cálcio, os RRs, phospholamban e troponina também são afetados pela aplicação de isoproterenol (ISO). Uma das maiores modificações do modelo de Bondarenko (2014) foram realizadas nas cadeias de Markov de I_{CaL} , I_{Na} e RRs. Os experimentos realizados por Magalhães (2014) comprovaram que só é possível reproduzir o PAE com a modelagem da estimulação β -adrenérgica. Além disso, a implementação de Magalhães (2014) foi uma versão reduzida de Bondarenko (2014) considerando todas as 102 Equações Diferenciais Ordinárias (EDOs) associadas à parte da eletrofisiologia, mas mantém as constantes de concentração de espécies bioquímicas relevantes.

O efluxo de Ca^{2+} pelos RS correspondente à liberação de Ca^{2+} espontânea (LCE) que ocorre devido às flutuações do Receptores Rianodina (RRs). Estas flutuações podem induzir pulsos de Ca^{2+} espontâneos (PCE's), que se propagam em formas de ondas de Ca^{2+} . A LCE pode induzir pós despolarizações atrasadas (PDAs), levando à atividade arritmogênica do coração. No trabalho de Chen et al. (2011) foi apresentado um modelo baseado em dados experimentais de LCE, reproduzindo a distribuição de tempo dos pulsos espontâneos de Ca^{2+} e as principais características da propagação de Ca^{2+} que são reproduzidas através de (PCE's). Chen et al. (2011) fizeram implementações para estudar e reproduzir a formação da batida ectópica em um cabo unidimensional de cardiomiócitos, simulando LCE e PDAs, desenvolveram um modelo estocástico que considera os detalhes do esquema representado na Figura (A.4). Magalhães (2014) baseou as suas implementações na modelagem feita por Chen et al. (2011) usando a modelagem

celular de Bondarenko (2014) simplificada.

1.1 Justificativa

Estudos clínicos tem mostrado que a morte súbita é iniciada por um batimento inoportuno (extrassístole) que leva a fibrilação (Xie et al., 2010), (Wit and Rosen, 1983), (Gilmour and Moïse, 1996)(Janse, 2004). Há uma questão chave que ainda não é bem compreendida, como a Liberação Espontânea de Cálcio (LCE) nos miócitos individuais pode causar uma despolarização da membrana suficientemente grande para provocar um evento ectópico em todo o miocárdio, particularmente porque se espera que uma corrente despolarizadora local seja absorvida pelos miócitos vizinhos ligados eletricamente e servem como sumidouros de correntes (Xie et al., 2010).

Segundo (Oliveira et al., 2018a) os mecanismos ligados a focos ectópicos ainda estão sendo compreendidos. Estudos capazes de simular a microestrutura de uma região propensa a desenvolver pulsos ectópicos, com características semelhantes a uma estrutura heterogênea como a de uma zona PZ, irão trazer a possibilidade de análises mais profundas no que se refere ao estudo de uma extrassístole desencadeada por este cenário.

1.2 Objetivos da tese

Ao observar a propagação elétrica no tecido, várias características são notadas, como os efeitos de fonte e sumidouro. Quando ocorre o fenômeno fonte, uma célula reproduz o Potencial de Ação (PA) e ele se propaga por todas as outras células. Já no caso do fenômeno sumidouro, um célula reproduz o PA e ele não se propaga pelas suas células vizinhas, é absorvido por elas. Pumir et al. (2005) comenta em seus estudos que para uma onda ectópica se propagar pelo tecido é necessário que exista um número mínimo de células gerando PAE, ou seja, apenas uma célula gerando PA não irá promover o efeito fonte no tecido. A principal questão que se tem como objetivo explorar é se em um tecido com fibrose, o modelo adaptado de Bondarenko (2014) apresenta uma probabilidade maior de gerar extrassístole, ou se apenas uma única célula da região no tecido gerar o Potencial de

Ação Espontâneo - PAE, ela será suficientemente capaz de desencadear uma extrassístole?

Brunello et al. (2013) e Shiferaw et al. (2012) estudaram a sincronia dos cardiomiócitos e a capacidade de reproduzir o PAE em várias células do tecido propagando como uma onda. Um dos questionamentos feitos no presente estudo é se a probabilidade de propagação do PAE em um tecido com regiões fibróticas é maior e como é a gênese desta propagação.

O objetivo geral da tese é desenvolver um modelo celular com um mecanismo estocástico capaz de simular a extrassístole, que será chamado de Funil Selado (FS), representando um caminho sem saída, caminho este que é delimitado pelas células mortas, pela fibrose.

Os objetivos específicos da tese são:

- Realizar uma análise de sensibilidade no modelo celular estocástico adaptado em trabalhos anteriores por Magalhães (2014) para escolher os melhores parâmetros afim de acoplar o modelo celular em uma modelagem a nível de tecido, considerando um conjunto maior de células.
- Utilizar o modelo celular de Oliveira et al. (2018b) para fazer o acoplamento celular à uma modelagem a nível de tecido.
- Realizar uma nova análise de sensibilidade para a modelagem estocástica adaptada afim de simular um conjunto maior de células, distribuídas geometricamente em um cabo, com a finalidade de simular a propagação de PAE's pela extensão desta geometria, avaliando o surgimento da extrassístole.
- Responder a questão científica: 1 único cardiomiócito gerando PAE pode influenciar todo o tecido?

2 O processo de contração do miocárdio e algumas patologias

2.1 Eletrofisiologia Cardíaca

Um cardiomiócito tem a propriedade de contração devido às trocas iônicas intracelulares. O miocárdio é o tecido cardíaco e tem na sua composição milhares de cardiomiócitos que dão ao coração a característica muscular contrátil com a finalidade de bombear o sangue por todo o corpo. O órgão possui duas bombas particionadas pelo septo vertical. As bombas são divididas em quatro câmaras separadas entre a esquerda e a direita superiores e a esquerda e a direita inferiores, que são denominadas por átrio esquerdo, átrio direito, ventrículo esquerdo e ventrículo direito, respectivamente. Após a excitação dos cardiomiócitos ocorre a variação do PA transmembrânico, que ocorre devido aos fluxos iônicos que passam pelos canais presentes na membrana.

2.1.1 O Sistema Nervoso e o Coração

O sistema nervoso autonômico (SNA) é uma estrutura integrante eferente do sistema nervoso visceral. Pode ser dividido em Sistema Nervoso Simpático (SNS) e Sistema Nervoso Parassimpático (SNP). Dispara estímulos com diferentes funcionalidades em tecidos e órgãos de todo o corpo, incluindo também a contração do músculo liso ou relaxamento, modificações da atividade cardíaca, e aumento ou redução da secreção glandular. De acordo com Davini et al. (2004) e Powers et al. (2000) o SNA, através dos seus componentes simpático e parassimpático, desempenha um importante papel nos ajustes do sistema cardiovascular. O coração tem um padrão de contração congênito, mas o SNA também influencia a eletrofisiologia cardíaca. A inervação simpática e a parassimpática inervam o nodo sinoatrial (NSA), o nodo atrioventricular (NAV) e o músculo cardíaco como pode ser observado na Figura 2.1.

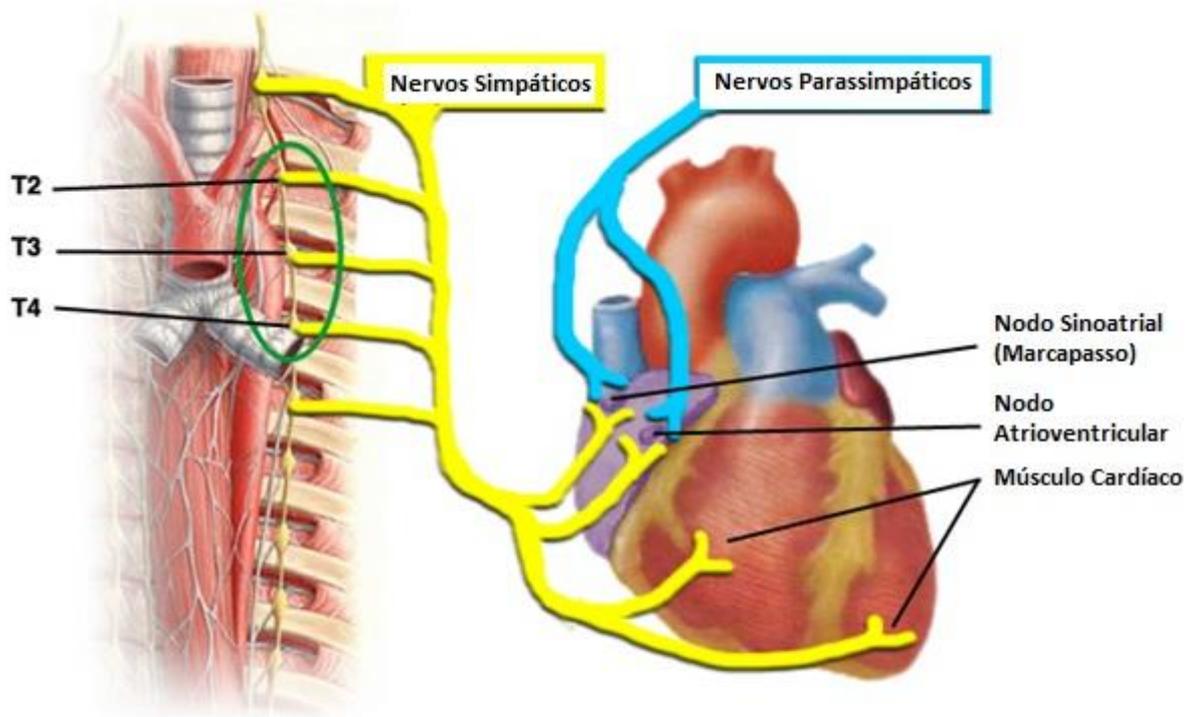


Figura 2.1: Inervação Simpática e Parassimpática do coração. Adaptado de (Baker, 2014)

Foss et al. (2000) concluiu que em uma situação de emergência ou estresse do corpo, a estimulação simpática é acionada e sinaliza informações para o coração através de proteínas sinalizadoras. Em jovens adultos a frequência do coração pode subir, através da estimulação simpática intensa, de 70 batimentos/minuto para 180 a 200 e até 250 batimentos/minuto. Substâncias, como a acetilcolina, a noradrenalina (ou norepinefrina) e a adrenalina (ou epinefrina) conhecidas como catecolaminas (compostos químicos) são secretadas no sangue devido à estimulação simpática (Mcardle et al., 1998). Todas são hormônios, a acetilcolina foi o primeiro neurotransmissor descoberto produzido pelo sistema nervoso (central e periférico), promove a abertura de canais iônicos e uma resposta rápida que ocasiona a contração muscular, a noradrenalina é produzida na medula da glândula suprarrenal, já a adrenalina é um hormônio produzido e estocado pela medula da suprarrenal que é liberado após estímulos de terminações nervosas, prepara o organismo

para realizar atividades físicas e esforços físicos. As células possuem propriedades bioquímicas que variam de acordo com a distribuição de seus receptores, como os segundos mensageiros e as enzimas presentes no citoplasma. As catecolaminas provocam diversas reações bioquímicas que alteram as propriedades celulares (?), (McCorry, 2007). Segundo Guyton and Hall (2002), a permeabilidade dos íons de sódio e cálcio aumenta em resposta aos neurotransmissores como a norepinefrina. Fibras que secretam a norepinefrina são denominadas adrenérgicas.

2.1.2 Estimulação β - Adrenérgica

Os receptores adrenérgicos dividem-se em duas classificações para norepinefrina e epinefrina: alfa (α) e beta (β). E ainda, há pelo menos 2 subtipos de receptores em cada classe, respectivamente: α_1 , α_2 , β_1 e β_2 . Todos estes receptores estão ligados a proteínas G, proteínas envolvidas na transdução de sinais celulares, e sistemas de segundo mensageiro que realizam reações intracelulares. Dos receptores adrenérgicos, os receptores α são os mais abundantes dos receptores adrenérgicos (Bousquet et al., 1984; Lohse et al., 2003; Madamanchi, 2007; Marks, 2003; McCorry, 2007).

2.2 Estrutura e Mecanismos dos Cardiomiócitos

Os cardiomiócitos são estruturas essenciais para a contração do miocárdio e em sincronia bombeiam o sangue de forma eficaz a fim de permitir uma adequada perfusão sanguínea dos vários tecidos e órgãos (Woodcock and Matkovich, 2005).

De acordo com Guatimosim et al. (2002) pode-se dizer que o comprimento, a largura e a altura de um cardiomiócito é de aproximadamente 100-150 μm , 10-20 μm e 10 μm respectivamente.

Ao observar o músculo cardíaco através de um microscópio óptico é possível notar um padrão de estriações transversas (McNutt, 1975).

O padrão estriado do sarcômero se deve à disposição das linhas Z verifique a Figura 2.2 . Cada sarcômero é denominado por uma estrutura composta por duas linhas Z. O

sarcômero é definido como a unidade funcional do conjunto de miofilamentos capaz de gerar força no músculo e a fisionomia e microanatomia de um conjunto de sarcômeros é semelhante entre eles (Guatimosim et al., 2002).

A banda I e a banda A ficam entre as linhas Z. Há uma linha Z onde os miofilamentos de actina-F finos (70 \AA) estão interconectados, numa região centralizada da banda I. Os filamentos compostos de actina e miosina sobrepostos formam a banda A. Os filamentos grossos (150 \AA) constituem a zona H localizada em uma região mediana da banda A (Fawcett and McNutt, 1969) e (McNutt, 1975).

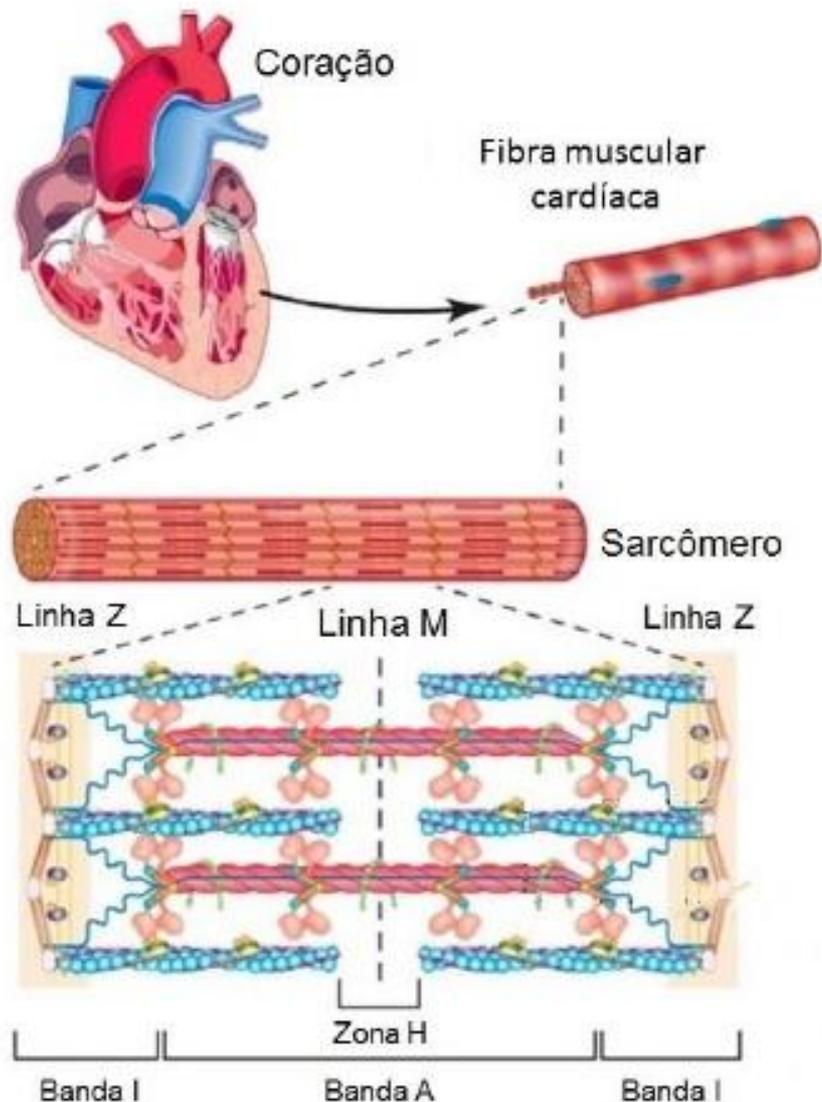


Figura 2.2: Esquema de proteínas relevantes na estrutura de um sarcômero. Extraído de Santos (2016)

2.3 PA e o acoplamento excitação-contração do coração

Os meios intra e extracelulares possuem uma dissociação iônica de sais. A membrana celular separa os meios intra e extracelulares e no estado de equilíbrio seu potencial é negativo em torno de -80 mV. No miocárdio os cardiomiócitos estão interconectados pelas junções comunicantes, ou também conhecidas por *gap junctions*. Através das *gap junctions*, o estímulo vai se propagando célula a célula por todo o miocárdio. A membrana plasmática é constituída por uma bicamada fosfolipídica e possui canais responsáveis pelas trocas iônicas. A estrutura do canal iônico é formada por proteínas, que mudam sua conformação quando a célula é estimulada pelo PA, ou quando também reagem com alguns estimulantes. Esta mudança de conformação permite a abertura e fechamento do canal iônico, e daí o fluxo segue ou não através da membrana. A regulação do potencial transmembrânico (a diferença de potencial entre os meios intracelular e extracelular) é considerada uma das funções mais importantes da célula (Alberts et al., 2003). Pode-se dizer que o ativador de todo o processo de contração muscular é o PA.

Para um melhor entendimento da variação do PA, a curva que representa esta variação é dividida em fases como pode ser visto na Figura 2.3 a seguir. Em cada fase têm-se uma polaridade e trocas iônicas diferentes. Na fase A têm-se a entrada de íons de Na^+ e saída de K^+ com a polaridade da célula negativa. Em B, a polaridade da célula vai ficando mais positiva permanecendo somente com a entrada de Na^+ . Na fase C os canais transitórios de K^+ abrem-se e permitem a saída deste íon, porém a polaridade celular é ainda positiva. Isto permite a formação de um pico na fase C auxiliando a repolarização. Durante a fase D a entrada de cálcio forma uma corrente despolarizadora da célula, têm-se também a saída do íon de K^+ nesta fase que é conhecida como platô. Durante a fase de platô é que dá-se início ao processo de contração do cardiomiócito, pois a entrada do Ca^{2+} no meio intracelular provoca a liberação de cálcio através do RS, conhecida por Liberação de cálcio Induzida por cálcio (LCIC). A fase E é reconhecida por fase de repolarização em que um número maior de canais de K^+ é aberto, a polaridade da célula volta a ser

negativa. Desta maneira, o ciclo vai se repetindo de acordo com o estímulo.

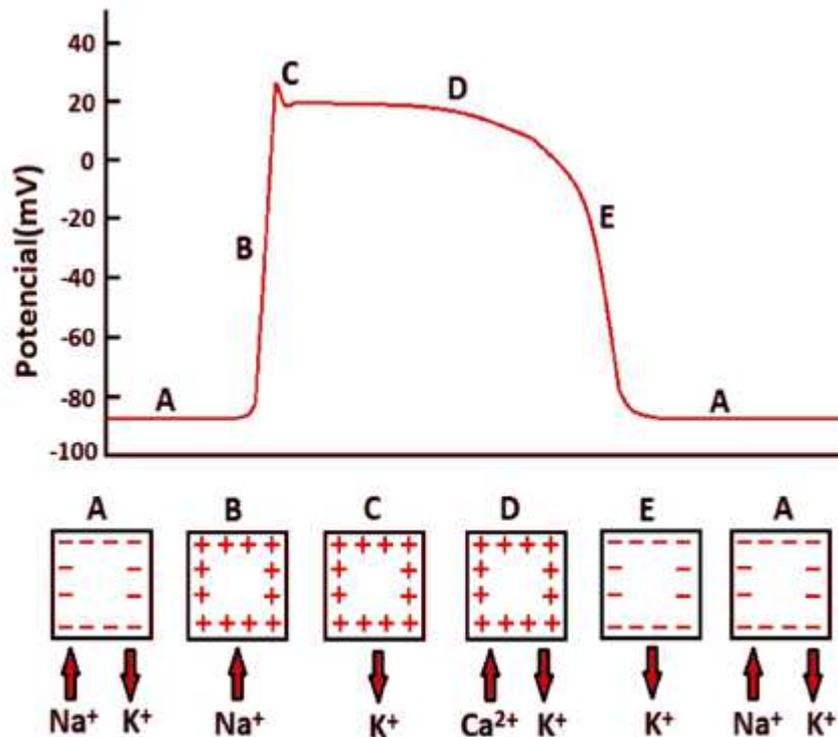


Figura 2.3: PA ventricular cardíaco e suas fases: (A) Repouso, (B) Despolarização, (C) Repolarização Inicial, (D) Platô, (E) Repolarização, e as correntes iônicas relacionadas com a mudança de potencial em cada fase. Adaptado Barros (2013)

O conjunto de reações que ocorre desde a despolarização da membrana excitável até a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático (RS) e a contração da célula muscular é denominado como acoplamento excitação contração. (Bers, 2002b)

É interessante observar a seletividade variada dos canais iônicos presentes na membrana celular. A grande maioria dos canais iônicos possuem uma subunidade α responsável pela composição do canal, muitos canais têm a sua isoforma operada pela voltagem, ou seja, são sensíveis ao PA.

Sabe-se que a inotropia do coração é totalmente ligada à dinâmica de cálcio. Pode-se separar os tipos de canais de cálcio no coração como canais de Ca do tipo L e do tipo T. Em relação a condutância o canal de cálcio do tipo L (*large conductance*) possui

aproximadamente 25 pS que é considerada alta e o canal de cálcio do tipo T possui em torno de aproximadamente 8 pS . O canal de cálcio do tipo L ativa-se em voltagens mais positivas e a duração da abertura é longa. Já o canal de cálcio do tipo T trabalha de forma oposta, ativando-se em voltagens mais negativas e sua abertura é transitória (Bers, 2002b; Nowycky et al., 1985).

O processo de regulação da expressão gênica celular e o mecanismo de regulação da contração da célula são extremamente dependentes do influxo de cálcio nos cardiomiócitos (Benitah et al., 2010). Em roedores, os canais de cálcio do tipo L são predominantes (Nerbonne and Kass, 2005).

Os canais de cálcio do tipo L são formados por subunidades como a $\alpha 1C$, a subunidade possui uma região denominada de carboxi terminal que funcionam como sítios de ligação para proteínas. A calmodulina (CaM) é uma proteína mediadora da inativação do canal de cálcio do tipo L agindo na subunidade $\alpha 1C$. A ativação dos canais de cálcio permite o influxo do íon e aciona a LCIC a partir do RS, posteriormente o cálcio se liga à CaM produzindo a inativação do canal. Um dos tipos de CaM possui uma dependência à proteína quinase II (CaMKII) e também participa do funcionamento da corrente I_{CaL} (Bers, 2002b).

As proteínas são responsáveis por vários eventos de sinalização que ocorrem na célula e a CaM é um mensageiro crítico que participa deste processo. A proliferação celular, a expressão de proteínas quinases, a expressão gênica, o metabolismo celular, a contração celular, os canais iônicos, e as proteínas responsáveis pelo transporte de cálcio são atividades coordenadas pela interação entre o cálcio e a CaM (Bers, 2002b).

A corrente de cálcio do tipo L denotada por I_{CaL} é a responsável pela entrada da maior parte de cálcio no miócito cardíaco durante a contração. A inativação da I_{CaL} está totalmente interligada ao aumento intracelular da concentração de cálcio e provavelmente há uma sinalização direta no canal para começar a inativar-se (Bers, 2001).

Outra característica importante sobre a I_{CaL} é que ela contribui na manutenção do platô, que é uma das fases do PA. É importante destacar mais uma vez que ela é a corrente que permite a entrada do cálcio no meio intracelular permitindo o disparo de LCIC pelo

RS. O cálcio liberado por esta LCIC ativa os miofilamentos (Roden et al., 2002).

Uma pequena quantidade de cálcio que entra na célula leva a uma grande elevação da concentração de cálcio citosólico e isto se deve à capacidade de amplificação da informação recebida que é uma característica do mecanismo de LCIC. O aumento de cálcio intracelular ativa os Receptores Rianodina (RRs) numa proporção maior criando um efeito positivo elevando ainda mais a concentração de cálcio livre no citoplasma (Niggli, 1999).

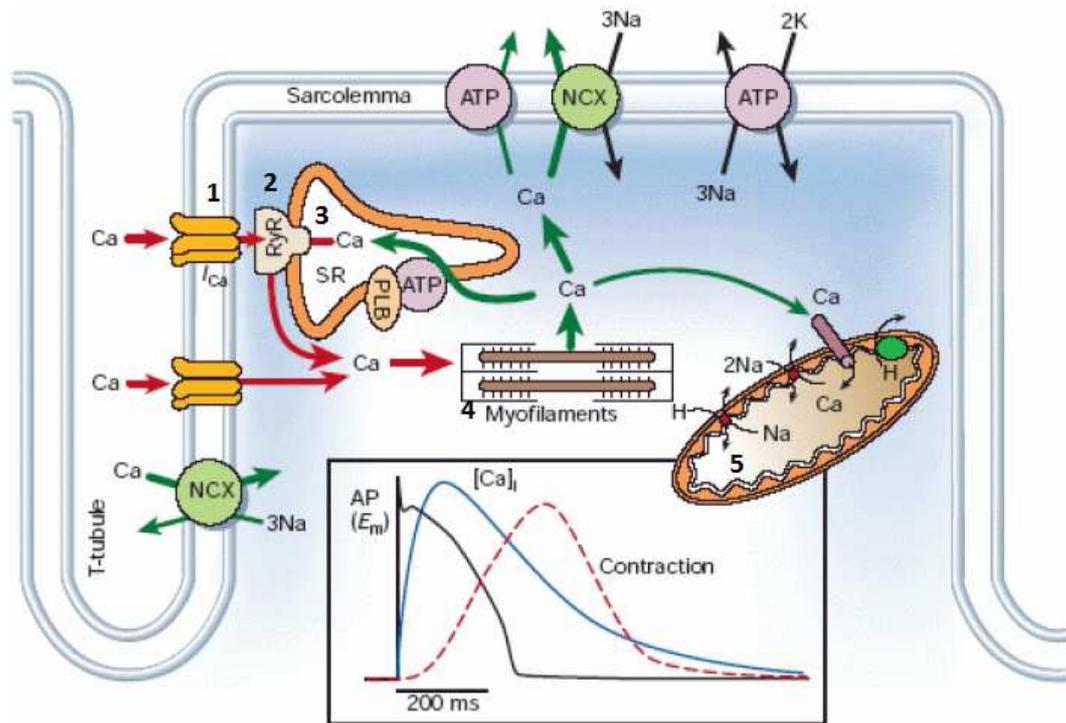


Figura 2.4: Canais iônicos e estruturas subcelulares responsáveis pela excitação contração. Adaptado de Santos (2016)

As estruturas subcelulares que estão diretamente ligadas ao processo de contração cardíaca estão representadas na Figura 2.4 pelos números a seguir: 1 e 2 são canais iônicos (Sendo 1 o canal de cálcio do tipo L e 2 o Receptor Ryanodina (RR)), 3 é o Retículo Sarcoplasmático (RS), 4 corresponde aos Miofilamentos e o 5 a Mitocôndria.

Sobre os canais de cálcio do tipo L e os RRs já foram vistos alguns detalhes. A seguir poderão ser observados características do Retículo Sarcoplasmático, dos Miofilamentos e um pouco sobre a Mitocôndria.

O Retículo Endoplasmático (RE) é uma organela altamente versátil e multifuncional presente em praticamente todas as células. O RE possui dois componentes: RE liso e

RE rugoso. O RE liso tornou-se especializado principalmente em células musculares, nas quais recebeu a denominação de RS, onde possui como função primordial, a qual já foi citada muitas vezes, que é a função de sequestro do cálcio no citoplasma, e assim auxilia a contração muscular (Michalak and Opas, 2009). Possui na sua estrutura os RRs e a bomba SERCA.

O equilíbrio espacial e temporal dos níveis citoplasmáticos de cálcio é feita também pelas mitocôndrias em resposta ao aumento intracelular do íon. A recaptção e a liberação de cálcio intracelular também tem participação da organela e contribui para a recarga de cálcio existente no RS. A complexidade e a regulação dada pelos numerosos canais de cálcio, bombas e trocadores garante a homeostase mitocondrial de cálcio.

As mitocôndrias respondem à elevação do cálcio intracelular e contribuem para a regulação espacial e temporal dos níveis citoplasmáticos deste íon, sobretudo durante os picos dos transientes de cálcio intracelular livre. Por conseguinte, a mitocôndria está também envolvida na recaptção e na liberação do cálcio intracelular, contribuindo assim para a recarga de cálcio existente no RS. A homeostase mitocondrial de cálcio é complexa e regulada por numerosos canais para cálcio, bombas e trocadores (Graier et al., 2007). Ela é responsável por gerar energia para a contração do cardiomiócito, mas seu papel é pequeno no acoplamento excitação contração da célula cardíaca, poucos modelos computacionais abordam o papel da mitocôndria, assim por estes motivos não serão dados muitos detalhes sobre a organela. A seguir será dado um destaque para os miofilamentos afim de compreender mais detalhes o processo de contração no cardiomiócito.

2.4 Miofilamentos

Inicialmente, pode-se classificar os miofilamentos em finos e grossos. As proteínas que participam do processo de contração compõem os miofilamentos. Longos polímeros estruturados por uma dupla hélice de monômeros de actina formam os filamentos finos. A miosina compõe os filamentos mais espessos. A nebulina é uma proteína de ancoramento que fixa a actina nos discos Z, e a titina é uma longa proteína elástica, responsável por manter a integridade estrutural dos sarcômeros. E desta forma os miofilamentos fazem

parte da composição do sarcômero que possui uma estrutura organizada e repetitiva como pode ser visto no esquema da Figura 2.5 a seguir.

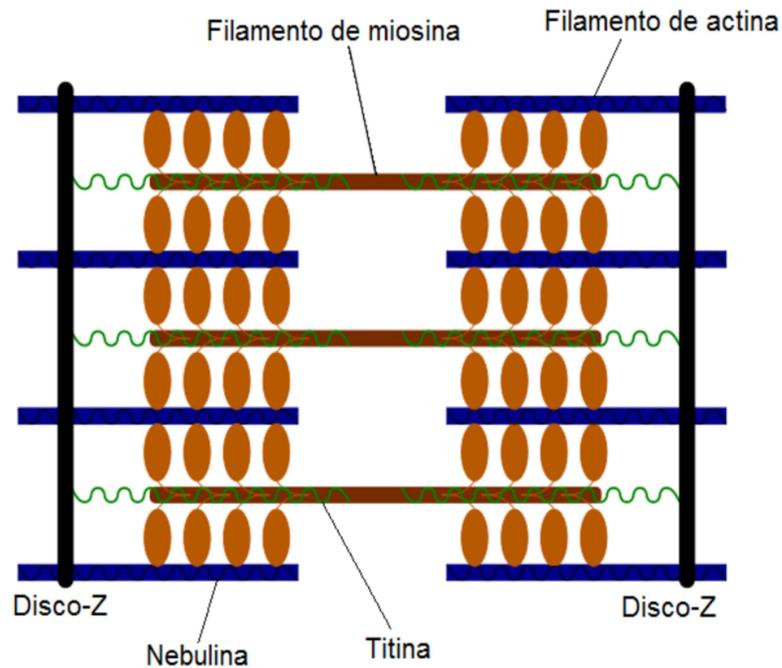


Figura 2.5: Organização dos miofilamentos. Adaptado de Sachse (2004)

As proteínas regulatórias controlam a interação entre os filamentos de actina e miosina. O filamento fino de actina tem em sua composição complexos das proteínas troponina e tropomiosina. A troponina e a tropomiosina impedem que a cabeça da miosina se ligue à actina e isto mantém o repouso da célula. Quando a célula é estimulada e a concentração de Ca^{2+} aumenta, os íons de Ca^{2+} ligam-se à troponina C, o que provoca uma mudança de conformação da proteína, abrindo o sítio de ligação na actina para a miosina Figura 2.6. Pontes cruzadas são formadas devido à ligação da miosina com a actina. Após o consumo do ATP a cabeça da miosina se deforma e, assim, um filamento desliza sobre o outro. A partir disso ocorre o processo de contração devido ao encurtamento dos miofilamentos aproximando os discos Z, veja a ilustração do fenômeno na Figura 2.7.

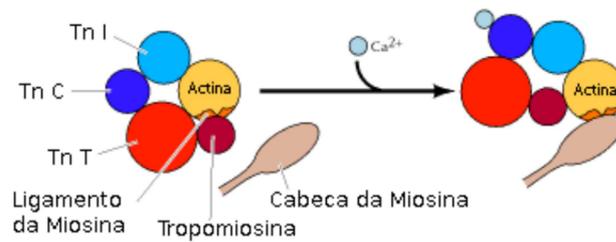


Figura 2.6: Ligação actina-miosina. Adaptado de Cooper (2000).

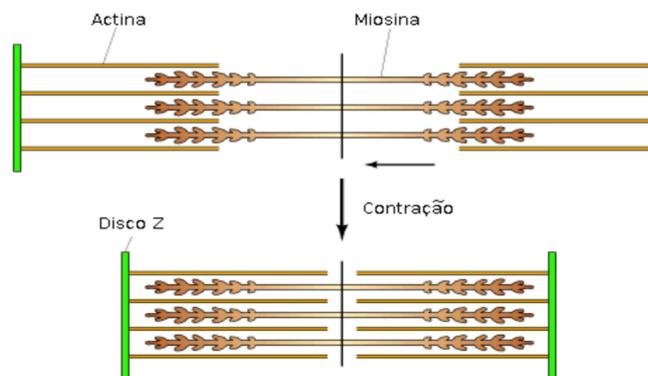


Figura 2.7: Contração do sarcômero. Adaptado de Cooper (2000).

O processo de relaxamento muscular cardíaco ocorre logo após a contração muscular, o miocárdio retorna à sua condição inicial. A adaptação cardíaca para mudanças nas condições de carga, estimulação inotrópica ou alteração na frequência do coração têm como pré-requisito o relaxamento rápido e completo. Para a ocorrência do relaxamento é necessário que o cálcio intracelular reduza para valores de repouso (Bers, 2002a). Os miofilamentos iniciam a dissociação do cálcio e assim o relaxamento é iniciado de acordo com os mecanismos de redução de cálcio do citosol que são: 1) ativação da Ca-ATPase do retículo sarcoendoplasmático (SERCA) na membrana do RS, permitindo a recaptação do cálcio para o interior do RS; 2) ativação da Ca-ATPase da membrana celular, que bombeia este íon para o meio extracelular; 3) a bomba de Na-Ca ou trocador NCX também presente na estrutura da membrana celular, utiliza a energia proveniente do gradiente eletroquímico do íon sódio, acrescenta três íons de Na no meio intracelular e retira um íon cálcio do

citosol. O trocador NCX apresenta duas propriedades, quando está no modo reverso permite a entrada de cálcio e modula a intensidade da contração. Em seu modo normal o trocador NCX modula a velocidade de relaxamento; 4) inativação dos canais de cálcio do tipo-L, que ocorre com a repolarização celular, impedindo o influxo deste íon para o sarcoplasma; 5) o sistema uniporte da mitocôndria, que remove o cálcio do citoplasma, sequestra os íons no interior das mitocôndrias, mas como já foi dito anteriormente a contribuição deste sistema para o relaxamento é pequena (Bers, 2006; Chemla et al., 2000; Maack and O'Rourke, 2007).

2.5 Liberação de Ca induzida por Ca - LCIC

A Figura 2.8 é um esquema dos principais envolvidos no ciclo de cálcio e está enumerada de acordo com a ordem que o ciclo ocorre. Em 1, após o início do PA, o canal de cálcio do tipo L abre e permite a passagem de cálcio. Em 2, o RR que é localizado numa região próxima ao canal de cálcio do tipo L abre devido à sensibilidade ao íon de cálcio e permite a entrada de Ca no interior do RS. A concentração de cálcio no RS aumenta porque SERCA também capta o cálcio como vemos em 6. Em 3, os RyRs começam a liberar um pouco de cálcio para o meio intracelular. Em 4, os íons de cálcio que são liberados por RyR caem nos miofilamentos e um pouco desta concentração já é recaptada por SERCA. Em 5, os miofilamentos liberam cálcio. Em 6, SERCA vai captando o cálcio e em 7 a bomba NCX extrai um pouco da concentração de cálcio para o meio extracelular.

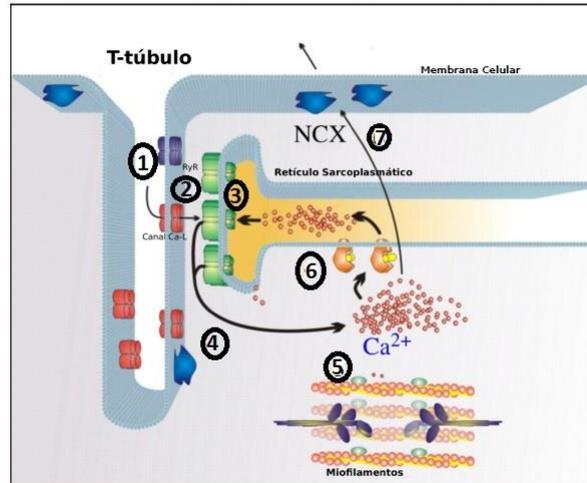


Figura 2.8: Ciclo da Liberação de Ca Induzida por Ca. Adaptado de Ibrahim et al. (2011)

2.6 Liberação de Ca Espontânea - LCE

As liberações de cálcio do RS, que operam para manutenção da homeostase celular, ocorrem via LCIC. Sabe-se que a LCIC ocorre através do estímulo dado pelo PA. Existem liberações que ocorrem através do RR na ausência de qualquer estímulo (Cheng et al., 1993; Wier et al., 1987). Não é possível saber exatamente ao certo o motivo de LCEs, muitas ocorrem sob estímulo β -Adrenérgico ou mutações dos RRs, induzem pulsos de cálcio espontâneos (PCEs) conhecidos também por *sparks* de cálcio. Altas concentrações de cálcio permitem que a LCE propague-se como uma onda pela célula (Orchard et al., 1983). Como já foi discutido anteriormente o cálcio liberado através de LCE é liberado para o meio extracelular pela corrente I_{NCX} (Mechmann and Pott, 1986). Uma atividade anormal de marcapasso resulta através da extração de cálcio pela I_{NCX} , porém a corrente trocadora NCX retira 1 íon de cálcio e acrescenta três íons de Na no meio intracelular. O influxo deste Na no citosol induz uma despolarização transitória (Ferrier et al., 1973). A despolarização transitória pode formar tanto o PAE quanto o PDA. As LCEs atrapalham a homeostase celular e ocasionam diversos problemas arrítmicos principalmente se as LCEs estiverem correlacionadas à mutações tanto nos RRs quanto em qualquer outro canal.

2.7 Estimulação β - Adrenérgica

A estimulação de cada tipo de receptor β ocasiona um aumento da produção de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) intracelular via adenilil ciclase (AC). Receptores via AC tem uma afinidade significativamente maior para a epinefrina em relação a norepinefrina. Os receptores β_1 têm função adrenérgica primária, no coração uma pequena porcentagem dos receptores adrenérgicos no miocárdio são do tipo β_2 , aproximadamente 70 a 80 % é a porcentagem dos receptores β_1 encontrados no miocárdio. Ambos os subtipos de receptores β promovem estimulação excitatória sobre o coração resultando em aumento da atividade cardíaca.

O inotropismo positivo, a aceleração do relaxamento (lusitropismo) e a redução de cálcio intracelular podem ser ocasionados pela estimulação fisiológica simpática no coração através dos receptores β -adrenérgicos.

Proteínas G são compostos de alto peso molecular formadas por três polipeptídios distintos, α , β e γ , formando o melhor complexo transdutor de sinais dos mamíferos. Levam este nome por interagir com grupos guanílicos Guanosina Difosfato (GDP) e Guanosina Trifosfato (GTP) (Moura and Vidal, 2011). A estimulação β -adrenérgica ativa a proteína de ligação ao GTP (GS), que estimula a AC para produzir cAMP, e isto posteriormente ativa a proteína quinase A (PKA), que fosforila várias proteínas relacionadas ao acoplamento excitação-contração, entre elas a fosfolambam, canais de cálcio do tipo L, RR e troponina I (Bers, 2002b). A fosforilação é a adição de um grupo fosfato (PO₄) a uma proteína ou outra molécula qualquer e é um dos principais participantes nos mecanismos de regulação e sinalização intracelulares. Uma proteína chave reguladora da SERCA é fosfolambam (PLB). PKA fosforila PLB e mantém a SERCA ativa por mais tempo estimulando a taxa e a quantidade de cálcio armazenado pelo RS. Este mecanismo melhora o relaxamento e o carregamento do RS no miocárdio, isto aumenta a força de contração e também a concentração de cálcio no período da sístole (Simmerman and Jones, 1998).

De acordo com Kobayashi and Solaro (2005), o relaxamento dos miofilamentos é acelerado pela fosforilação via PKA da troponina I e da proteína C de ligação à miosina

(MyBPC).

O fosfolema é outra proteína em que a PKA atua, em ensaios de fosforilação é reconhecida como uma fosfoproteína regulada em uma fração do cardiomiócito (Palmer et al., 1991). A fosforilação da fosfolema que é encontrada na estrutura da bomba NCX estimula a I_{NCX} .

A inotropia provocada pela ativação da PKA é um mecanismo que ocorre através da combinação do aumento da I_{Ca} e maior liberação de cálcio a partir do RS. Isto aumenta a amplitude do transiente de cálcio, e compensa a redução da sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio. O efeito depressor da PKA nos miofilamentos parece ser devido a fosforilação da troponina I (Viatchenko-Karpinski and Györke, 2001).

A PKA aumenta a probabilidade de abertura dos RR. O RyR cardíaco é um alvo da PKA (onde PKA e fosfatases 1 (PP1) e 2A (PP2A) são todos ligados ao RR através de proteínas de ancoragem). A ação de PKA/cAMP contrabalançada por fosfodiesterases (PDE) e as proteínas fosfatases PP. A proximidade física intracelular pode ser de extrema importância funcional. A ativação dos receptores β -adrenérgicos em miócitos ventriculares produz inotropia e lusitropia, em paralelo à fosforilação dos canais de cálcio, fosfolamban e troponina I (Mazzeo et al., 1998; Li et al., 2013).

Observe o ciclo ocasionado pela estimulação β -adrenérgica na Figura 2.9 a seguir. Agonistas como o isoproterenol provocam a estimulação β -Adrenérgica em cardiomiócitos isolados.

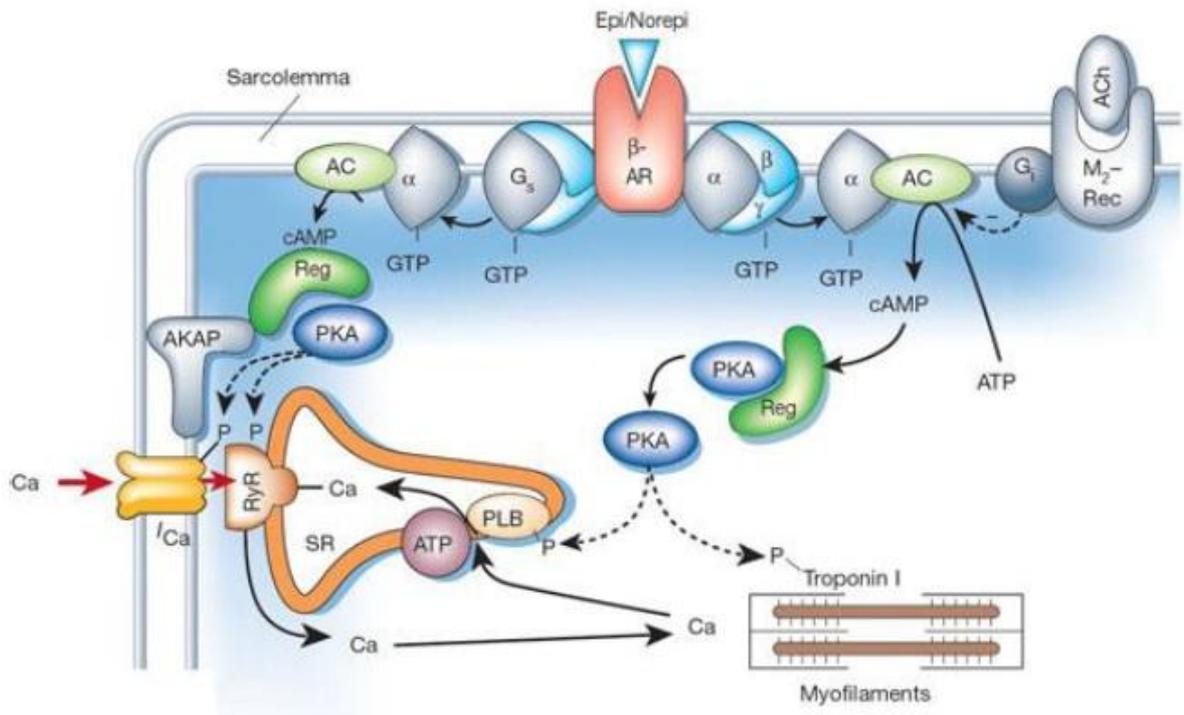


Figura 2.9: Ativação do receptor adrenérgico e alvos de fosforilação relevantes para o acoplamento excitação-contracção cardíaco. AC, adenilato ciclase; ACh, acetilcolina; PKA, proteína quinase A; AKAP, proteína de ancoramento de quinase A; β -AR, receptor β -adrenérgico; PLB, fosfolambam; Reg, PKA subunidade regulatória; SR, retículo sarcoplasmático. Adaptado de (Bers, 2002b)

2.8 Características da corrente trocadora I_{NCX}

A observação de que o aumento da atividade NCX prolongaria o potencial de ação é plausível pois a bomba NCX gera uma corrente elétrica interna que retardaria a repolarização celular (Adachi-Akahane et al., 1997; Noble, 2002; Spencer and Sham, 2003). O mesmo é observado com destaque em cardiomiócitos de camundongos transgênicos com mutação genética na estrutura do canal que corresponde a corrente trocadora dos íons de sódio e cálcio (Pott et al., 2007, 2005).

A atividade interna da bomba NCX depende diretamente do substrato de cálcio e, portanto, pode ser modificada pela concentração de cálcio alterada durante a sístole. A atividade de I_{Ca} pode prolongar a duração do PA (DPA), sob certas condições, a bomba

NCX opera em modo inverso e aí um íon de Ca^{2+} entra na célula em troca de 3 íons de Na^+ para fora (Sipido et al., 2006). Em modo reverso a bomba NCX não parece desempenhar um papel significativo, uma vez que gera uma corrente elétrica para fora e, portanto, tende a reduzir a duração do PA em vez de prolongá-lo. O mecanismo proarrítmico sugerido por Pott et al. (2012) aumenta a atividade do trocador NCX resultando em uma repolarização celular retardada com prolongamento do intervalo QT (parâmetro eletrocardiográfico que representa a duração da sístole elétrica - contração cardíaca). Ele mede a quantidade de tempo requerida para a despolarização e repolarização ventricular e promoção de pós despolarizações iniciais (conhecidas por EADs, do inglês, *early afterdepolarizations*).

2.8.1 Sincronismo dos Cardiomiócitos

A principal característica observada dentre as células do miocárdio é a sincronia. Para a eficácia da comunicação elétrica no miocárdio há um grande sincronismo entre seus cardiomiócitos. Foi observado que, quando essas células se tocavam o valor da resistência era alto ($100M\Omega$) e quando elas contraíam ao mesmo tempo, a resistência caía ($20M\Omega$). Dessa forma, confirmou-se que a baixa impedância existente entre as células tornava a comunicação entre elas eficiente (Clapham et al., 1980).

O mecanismo de LCIC têm a capacidade para amplificar a informação recebida, pois uma pequena entrada do íon de Cálcio na célula leva a uma grande elevação da concentração de Cálcio presente no citoplasma. A elevação do Cálcio no citoplasma contribui para que, num mecanismo de “feedback” positivo, ocorra uma maior ativação dos RyRs, elevando, assim, rapidamente a concentração de Cálcio intracelular livre (Niggli, 1999).

Um questionamento que se faz é sobre como a LCE nos miócitos individuais pode causar uma despolarização da membrana suficientemente grande para provocar um pulso ectópico que se propague por todo o miocárdio, particularmente porque normalmente uma corrente de despolarização local deve ser absorvida pelos miócitos vizinhos ligados eletricamente que funcionam como correntes conhecidas como sumidouros (Xie et al., 2010). O miocárdio possui correntes sumidouros na tentativa de garantir a homeostase dos

cardiomiócitos que o compoem. Consequentemente, foi sugerido que a atividade, em vez de surgir em miócitos ventriculares individuais, origina-se no sistema Purkinje, que tem uma fonte menor-coletor em relação à rede ventricular 3D (Herron et al., 2010). Assim, é incerto afirmar como as arritmias focalmente ativadas podem originar a partir do miocárdio ventricular. Brunello et al. (2013) demonstrou que a mutação na proteína calsequestrina 2 (*CASQ2*) conhecida como mutação *CASQ2^{R33Q}* que provoca uma redução da desativação do Receptor Rianodina do tipo 2 (RR2) que ocorre através da dependência da quantidade de Cálcio armazenada no RS. Tal redução altera a refractariedade da liberação de Cálcio, o que por sua vez proporciona um mecanismo para a sincronização de LCEs, PDAs e contrações diastólicas (CDs) através do miocárdio intacto.

Conforme o demonstrado por Maltsev et al. (2011) em células de marcapasso com fortes alterações de Cálcio, a alta sincronicidade do disparo espontâneo de locais de liberação é atribuível à sincronização de períodos refratários. Assim como foi verificado por Brunello et al. (2013) o atraso de tempo de 200 ms antes do primeiro LCE em cardiomiócitos *CASQ2^{R33Q}* proporciona uma métrica consistente de RR2 com o período refratário. Em contrapartida, as LCEs em cardiomiócitos normais denotados por cardiomiócitos WT, ocorrem de forma mais aleatória com um tempo mediano de 751 ms, que é nitidamente bem mais longo em relação aos cardiomiócitos *CASQ2^{R33Q}*. Com base em trabalhos anteriores de Maltsev et al. (2011), o aumento da sincronicidade dos eventos de liberação nas células *CASQ2^{R33Q}* poderia ser atribuído a uma maior magnitude de liberação de Cálcio através dos RR2s e/ou propriedades refratárias de RR2s o que facilita a Liberação de Cálcio induzida por Cálcio (LCIC). Foi visto também que a amplitude em cardiomiócitos *CASQ2^{R33Q}* diminuiu comparada à amplitude dos cardiomiócitos WT, uma alteração na refractariedade da liberação é o fator provável por trás do aumento da sincronicidade de uma LCE.

Diante de vários experimentos realizados por Brunello et al. (2013) é possível concluir que a contração estimulada (CE) é maximamente sincronizada pelo estímulo elétrico. Para determinar a sincronicidade intrínseca dos CDs Brunello et al. (2013) fez uma comparação da amplitude dos CDs com a das CEs. Observou que o pulso de CDs é similar ou até

mais elevado do que CEs. Isso sugeriu que a maioria dos CDs recruta a grande maioria das células musculares e provavelmente estão associadas à um PA ectópico.

Brunello et al. (2013) mostra que a dinâmica temporariamente uniforme estimulada pela liberação/recaptação desempenha um papel chave na sincronização de LCEs e no músculo *CASQ2^{R33Q}*. As ondas de Ca são capazes de cruzar os limites celulares aparentemente através das junções gap (Lamont et al., 1998). Desta forma, pode-se afirmar que para a LCE ser a causa da arritmia, deve gerar um PA ectópico que desencadeia a patologia.

Di Barletta et al. (2006); Terentyev et al. (2003) mostraram que a mutação *CASQ2^{R33Q}* e outras comprometem a regulação de RyR e causam CDs e PDAs nos cardiomiócitos.

O alinhamento temporal de LCE pode proporcionar uma base para a sincronização da sinalização de Cálcio proarrítmica no miocárdio, como observado anteriormente por Stern et al. (1983).

Mais uma vez os estudos de Brunello et al. (2013) revelam que LCEs e CDs ocorreram de forma muito regular em cardiomiócitos *CASQ2^{R33Q}*, porém nos cardiomiócitos WT pareciam muitos aleatórios. Notavelmente, a maioria dos CDs tinham características de amplitude e duração semelhantes às das contrações provocadas pela estimulação elétrica. Isto sugere que semelhante às CEs a maioria das CDs envolveu despolarizações rápidas de muitas células dentro do tecido e provavelmente está associada a um PA ectópico. Essa afirmação foi confirmada diretamente pelo monitoramento intracelular de Cálcio e por imagens do potencial da membrana (MP) na preparação muscular e também com microscopia focal. Essas experiências revelaram que a sincronização de LCE em cardiomiócitos foi realmente capaz de originar a atividade desencadeada. Tomados em conjunto, os dados demonstram a capacidade da LCE se sincronizar no músculo ventricular e assim desencadear atividade ectópica.

Como o sugerido por Maltsev et al. (2011), a refractariedade da sinalização de Cálcio prejudicada aumenta a propensão dos locais da liberação a disparar de forma mais sincronizada facilitando LCIC e o recrutamento de locais vizinhos. Isto resulta em uma transição de eventos de liberação local espontânea para ondas globais em células propensas

a liberar Cálcio (Knollmann et al., 2006).

2.9 Fisiopatologias Cardíacas

A arritmia cardíaca é uma das fisiopatologias responsáveis por diversos distúrbios cardíacos, ocorre quando as contrações do coração não estão sincronizadas corretamente. Pode provocar fibrilações, infartos e etc. A Fibrose é uma heterogeneidade acentuada e pode ser observada em áreas de fronteira de infartos cicatrizados com algumas cadeias de miócitos misturados com áreas que possuem grande parte fibroblastadas ou regiões de miócitos apoptóticos (Dispensyn et al., 2002; Wong et al., 1982). A fibrose pode aparecer em vários formatos, podendo possuir algumas células condutoras misturadas à células não condutoras. Dependendo da quantidade de fibrose há propagação ou não por aquela área, no trabalho de Alonso and Bär (2013); Gouvêa de Barros et al. (2015) eles comentam sobre a existência de um labirinto e muitas vezes uma propagação natural pode ficar presa neste labirinto e gerar um novo estímulo para o tecido (S2). E assim como pode ser visto na pesquisa de Alonso and Bär (2013) regiões fibróticas aumentam a probabilidade de ocorrência das reentradas.

2.9.1 Alterações nas correntes iônicas e mutações genéticas

Pós despolarizações atrasadas (PDAs), ou também conhecidas por DAD, do inglês (delayed afterdepolarizations) ocorrem devido à LCE que acionam a corrente I_{NCX} Para além dos EADs do inglês (early afterdepolarizations) que ocorrem durante o platô ou repolarização do PA, os PDAs são despolarizações temporárias que ocorrem após repolarização completa do sarcolema. Acredita-se que o evento inicial que leva a um PDA consiste numa LCE a partir do RS. Este aumento no cálcio citosólico conduziria então a uma súbita ativação da corrente interna trocadora NCX, que despolarizaria a membrana sarcolemal para um potencial de onde um novo PA espontâneo (PAE) é acionado. De acordo com esta hipótese, quanto maior a expressão de NCX, mais facilmente um determinado evento espontâneo de liberação de cálcio se traduzirá em

DAD ou até PAE. De fato, sob condições basais, observa-se eventos de LCE em tanto em cardiomiócitos de camundongos normais (WT) quanto de camundongos transgênicos com mutação NCX (NCX-Tg). PAEs são observados exclusivamente em camundongos com mutação NCX. Em cardiomiócitos mutados a hipótese de que a probabilidade da LCE a partir do RS se traduzir em DADs depende do nível de expressão NCX. Os dados de Pott et al. (2012) mostraram que mesmo sem a redução da corrente de K ou outras alterações observadas em insuficiência cardíaca, o aumento da expressão da bomba NCX é suficiente para aumentar a probabilidade de PDAs. Em seu estudo Pott et al. (2012) mostra que na presença de isoproterenol o número de eventos de PDAs aumenta em ambos os genótipos (cardiomiócitos WT ou NCX-Tg) como pode ser visto na Figura 2.10.

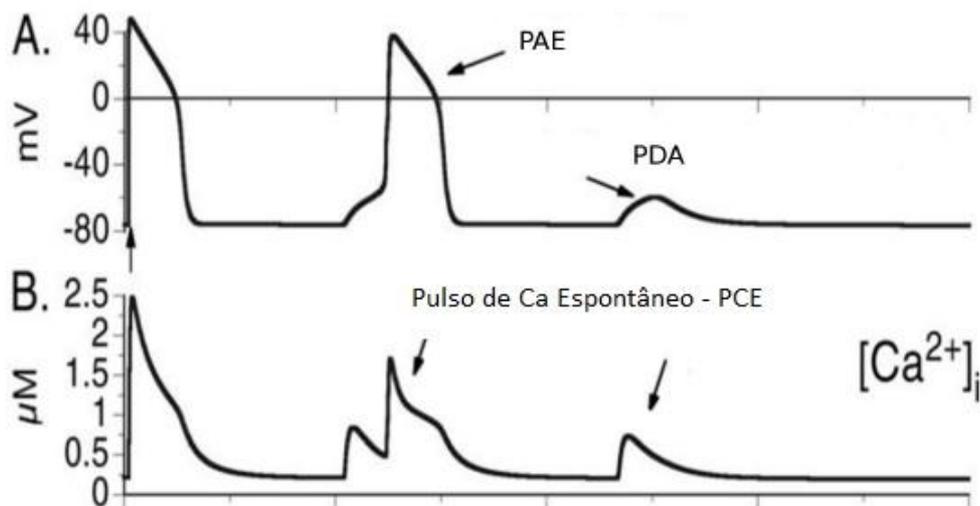


Figura 2.10: PCEs, PDA e PAE. Adaptado de (Faber and Rudy, 2007)

2.9.2 Propagação de PA's pelo miocárdio

O nodo sinoatrial tem a função de gerar impulsos cardíacos normais sincronizados. Estes impulsos dão início ao processo elétrico de excitação dos cardiomiócitos e eles geram o Potencial de Ação (PA). Sabe-se que os meios intra e extracelulares possuem uma dissociação iônica de sais. A membrana celular separa os meios intra e extracelulares e no estado de equilíbrio o PA assume valores em torno de -80mV.

Na Figura 2.11 pode-se acompanhar o ciclo que corresponde ao bombeamento

do sangue pelo coração. Dividindo o ciclo em partes para compreender o esquema representado pela Figura 2.11 temos na parte 1: o sangue desoxigenado chega do corpo pelo átrio direito; parte 2: o sangue recebido pelo átrio direito é bombeado para o ventrículo direito; parte 3: do ventrículo direito ele é bombeado aos pulmões para o processo de oxigenação; parte 4: o sangue oxigenado oriundo dos pulmões chega ao átrio esquerdo; parte 5: do átrio esquerdo o sangue oxigenado é bombeado para o ventrículo esquerdo; parte 6: do ventrículo esquerdo o sangue é bombeado para aorta com sentido ao cérebro e todo o restante do corpo.

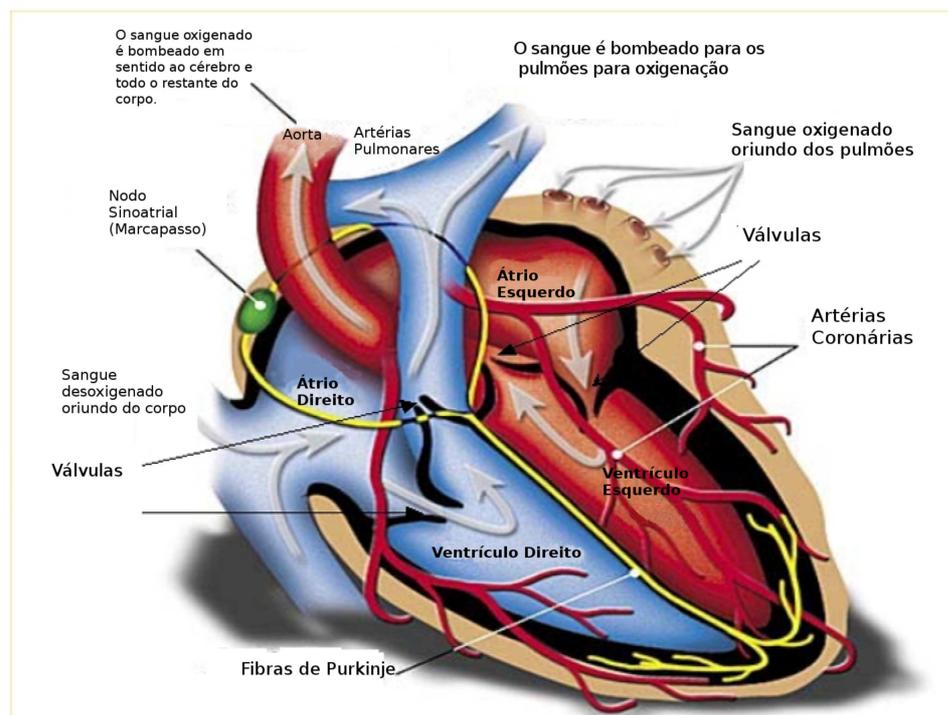


Figura 2.11: Coração. Adaptado de Magalhães (2014)

Pode-se caracterizar e dividir as funções do coração por funções mecânicas, elétricas e bioquímicas. O bombeamento do sangue é uma função mecânica que também pode ser dividida por sístoles (contrações) e diástoles (relaxamentos).

2.9.3 Características da Fibrose no tecido cardíaco

Uma região do tecido cardíaco com fibrose difusa pode desencadear extrassístoles no tecido, nas seções a seguir é possível compreender alguns detalhes sobre este fenômeno. De acordo com os experimentos de Shiferaw et al. (2012) com base na imagem física,

a distribuição de tempo da probabilidade até o primeiro evento de propagação de LCE (conhecida por primeira distribuição da latência) determina como as ondas de Cálcio são coordenadas entre as células do tecido. Para quantificar essa distribuição de probabilidade, a média e a primeira distribuição da latência foi medida por Wasserstrom et al. (2010). Verificou-se assim que essas quantidades diminuíram com o aumento da taxa de estimulação da concentração externa de Cálcio explicando a latência reduzida e o aumento da sincronização de LCE em grandes populações celulares. A quebra de onda elétrica de um PA natural ocorre quando a excitação ectópica se propaga no tecido cardíaco com uma distribuição de um PA não uniforme (DPA). Em particular, se houver grandes gradientes em DPA, então uma excitação desencadeada (aquelas que ocorrem devido aos eventos de LCIC) pode se propagar em uma região onde ocorreu um DPA curto, enquanto o bloco ocorre em uma região refratária após um DPA longo. As ondas desencadeadas podem levar a uma distribuição heterogênea de DPA, uma vez que ocorrem durante um PA, e portanto, alteram significativamente o DPA numa fase de batimento a batimento. Assim, se uma região de tecido exibe uma fração maior do que a média de ondas desencadeada numa determinada batida, então a DPA nesta região pode ser significativamente maior do que nas regiões vizinhas. Outro mecanismo para a formação de um substrato de DPA heterogêneo é que, uma vez que o Cálcio e a tensão são acoplados bidirecionalmente, as ondas desencadeadas desestabilizam a resposta periódica do DPA. Este efeito, em seguida, irá alimentar de volta cálcio para a próxima batida, uma vez que um maior DPA em uma próxima batida tenderá a levar à redução da corrente que passa pelo canal de Cálcio do tipo L. Além disso uma onda de cálcio induzida irá esgotar o RS e impedir a liberação do íon na próxima batida.

Desta forma espera-se que uma onda desencadeada interrompa a dinâmica de Cálcio e a tensão em condições de estimulação rápida. No ajuste do tecido, isso levará a gradientes espaciais no DPA, uma vez que diferentes células irão responder de forma diferente o ritmo rápido, impedindo a sincronização espaço-temporal da tensão e da resposta do cálcio. Esse mecanismo é semelhante ao alternativo espacialmente discordante de DPA, onde uma região do tecido se alterna em um padrão longo-curto-longo-curto, enquanto

uma região vizinha se alterna de fase (curto-longo-curto-longo). Sendo assim, espera-se um padrão dinâmico ainda mais complexo, uma vez que as ondas desencadeadas irão perturbar a resposta não linear da tensão e do ciclo de cálcio.

Além disso, Pumir et al. (2005) relata que a geração de arritmias ectópicas está associada a uma transição da atividade ectópica de células individuais para propagação lenta de ondas com essas características. Estas ondas englobam um grande número de células (de dezenas a centenas), mas permanecem confinadas à área local de lesão.

2.9.4 *Heterogeneidades*

Alonso et al. (2016b) afirma que o coração possui áreas não conectadas, não condutoras de estímulos elétricos. A Figura 2.12 a seguir ilustra como seria uma região fibrótica do miocárdio.

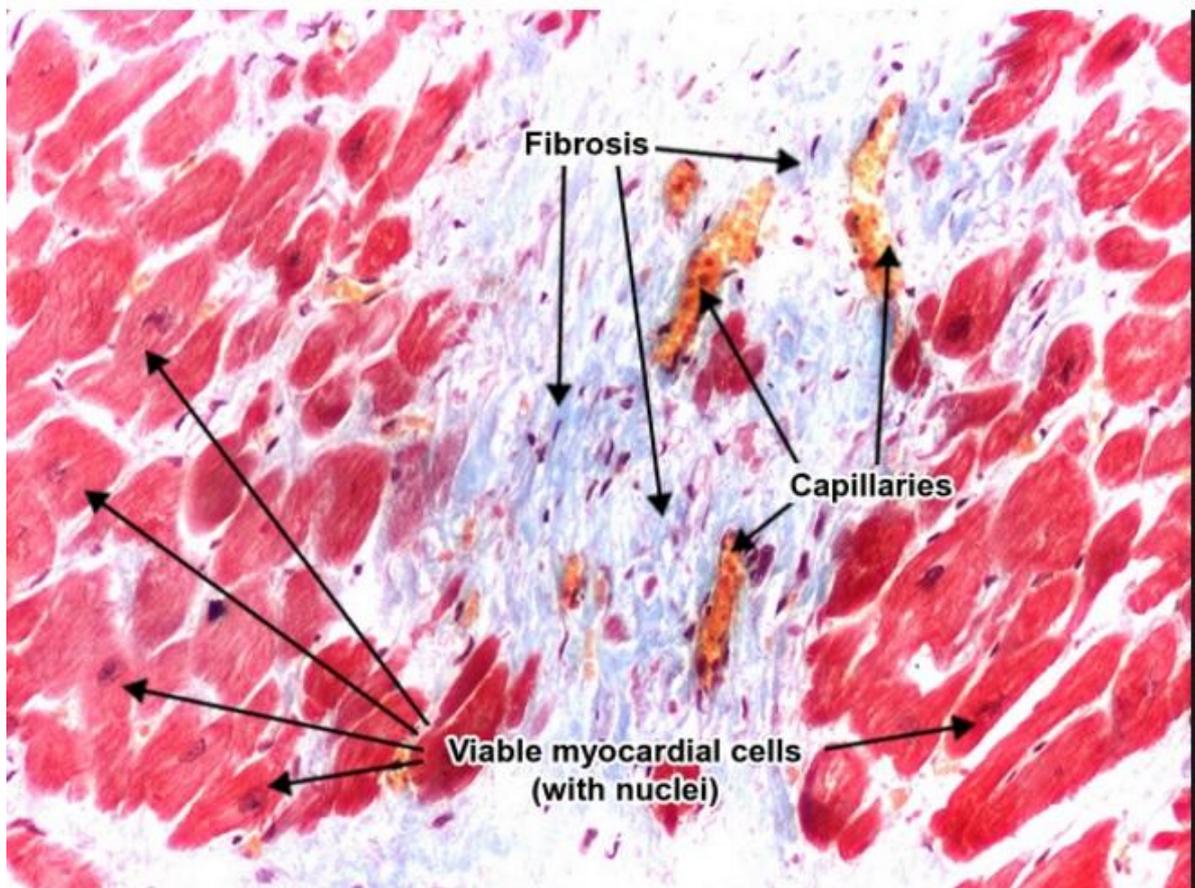


Figura 2.12: A região do tecido em vermelho representa as células saudáveis e condutoras, a região em azul representa a fibrose representando as células apoptóticas e não condutoras. Adaptado de (Danciu et al., 2014)

A questão da heterogeneidade é frequentemente discutida no contexto da formação de reentrada (Ursell et al., 1985). Entretanto, seu papel nas arritmias ectópicas permanece mal compreendido. Pumir et al. (2005) classifica a quantificação da heterogeneidade da rede como um fator na iniciação de ondas ectópicas. Concluindo que, experimentalmente, não é possível eliminar as diferenças intrínsecas existentes entre os miócitos individuais ou na forma como eles são acoplados aos seus vizinhos imediatos. Teoricamente, no entanto, é possível.

Pumir et al. (2005) conclui que a heterogeneidade diminui o limiar de automaticidade e que, em condições de acoplamento idênticas, é necessário um aumento muito menor na automaticidade para gerar atividade de rede. Similarmente, em condições de automaticidade idênticas, uma gama muito mais vasta de valores de acoplamento está associada a ondas ectópicas espontâneas. Os estudos de Alonso et al. (2016b) demonstraram que em simulações de modelos discretos bidimensionais de tecido cardíaco, uma onda ao atravessar uma região fibrótica e heterogênea pode produzir reentrada e atividade ectópica transitória ou persistente desde que a fração de conexões condutoras esteja logo acima do limiar de percolação. Microfibrose é conhecida devido à escala microscópica das heterogeneidades (Jacquemet and Henriquez, 2009; Campos et al., 2013). Segundo (Alonso et al., 2016b), a fibrose aumenta a vulnerabilidade do ritmo acelerado. Ela entre outras heterogeneidades microestruturais podem facilitar o a formação e sustentação de reentradas, e o mesmo ocorre no caso da fibrilação. Pode-se concluir que em simulações bidimensionais de células marcapasso, se apenas um único estímulo é usado, as interações usuais entre ondas subsequentes não estão presentes. Desta forma é possível relacionar a gênese das microreentradas dentro da fibrose com a heterogeneidade específica do tecido, isto é com a microestrutura em vez de com características funcionais (como as interações de ondas).

2.9.5 Espirais

A geração de atividade espiral em meios excitáveis tem sido estudada extensivamente por Pumir et al. (1994); Winfree (2001); Chen et al. (1997). A formação *in vivo* de

ondas espirais também foi observada por Allesie et al. (1977); Davidenko et al. (1992); Efimov et al. (1999). A novidade do estudo de Pumir et al. (2005) é o fato de que existe atividade espiral na definição das regiões de espaço onde a mesma pode ser gerada espontaneamente. Seus estudos numéricos sugeriram, e os experimentos confirmaram, que as espirais do sistema observado podem ocorrer através de dois mecanismos diferentes dentro de duas regiões diferentes do espaço funcional uma que é considerada como fontes ectópicas propagando versus fontes ectópicas não-propagando. O tamanho físico da rede é considerado um fator essencial. Foi possível verificar que existem semelhanças e diferenças importantes entre estes dois casos. As similaridades incluem um evento real que inicia uma espiral. É um fenômeno, bem descrito no passado, quando uma frente de onda contínua interage com detritos. Na pesquisa realizada por Pumir et al. (2005), a frente de onda vem do que é chamado de fonte ectópica de propagação. Os detritos são: um agrupamento ectópico não propagante (caso A) ou uma onda ectópica que está sendo desligada à medida que aumenta o acoplamento celular (caso B). Outra semelhança entre os casos A e B é a natureza probabilística da formação espiral. Especificamente, embora em ambos os casos as espirais possam acontecer nestas regiões do espaço de parâmetros, sua ocorrência real dependerá de uma distribuição particular de células heterogêneas. A principal diferença entre os casos A e B é que no caso de atividade espiral em B é um resultado de uma transição, com a taxa de transição desempenhando um papel essencial. A geração e o desdobramento em espiral de acordo com os autores Panfilov and Hogeweg (1993), Karma (1993), Bär and Eiswirth (1993) e Fenton et al. (2002) tem sido extensivamente estudado pela modelagem computacional como pode ser visto nos trabalhos de Qu et al. (2006) e Alonso et al. (2016a). A geração de uma onda espiral pode resultar do impacto de uma batida ectópica: um estímulo adicional prematuro (Alonso et al., 2016b) que gera uma segunda onda que interage com a onda sinusal (Alonso et al., 2009) dando origem a uma onda espiral (Qu et al., 2006). Um segundo mecanismo comum para a geração de onda espiral é a alternância cardíaca, a alternância de pulsos curtos e grandes em resposta a uma estimulação de alta frequência (Alonso et al., 2016a; Pastore et al., 1999).

2.9.6 Zona Peri-infarto

As extrassístoles podem ser desencadeadas por regiões do tecido cardíaco que possuem uma morfologia mista de um meio de duas fases composto de condutores (miócitos saudáveis) e materiais não condutores (fibrose difusa), conhecida como Zona Peri-infarto (ZP). A mistura dos meios pode formar labirintos por onde pode ocorrer a propagação de PAE's. A região ZP pode ter diferentes topologias de labirintos e circuitos intrincados podem ser formados permitindo a ativação sustentada, por meio de reentradas. A atividade elétrica gerada dentro da ZP pode cruzar esta região e propagar para partes saudáveis do miocárdio, de forma contínua ou transitória, gerando batimentos ectópicos. A região isquêmica se torna uma fonte anormal de estímulos de ritmo rápido, ou seja, um marca-passo ectópico (Oliveira et al., 2018a).

3 Modelagem Matemática

A modelagem matemática a nível celular precisou de várias adaptações para simular o PAE. As próximas seções foram elaboradas com a finalidade de esclarecer um pouco o processo da modelagem desenvolvida até chegar na microestrutura do Funil Selado.

3.1 A implementação de Magalhães (2014)

Magalhães (2014) implementou uma versão reduzida e simplificada do modelo de Bondarenko (2014). Considerou todas as 102 Equações Diferenciais Ordinárias (EDOs) associadas à parte da eletrofisiologia, mas manteve as constantes de concentração de espécies bioquímicas relevantes, isto é, independentemente do tempo, sem as EDO's implementadas por Bondarenko (2014). Portanto, para simular os efeitos da aplicação de 1.0 micromolar (μM) de ISO assumindo concentrações de acordo com Bondarenko (2014) em que as concentrações correspondentes da subunidade catalítica de PKA na caveolae (responsável pela fosforilação), extracaveolae e compartimentos citosólicos (cyt) são ajustados para 0,38 μM , 0,78 μM e 0,3 μM , respectivamente. Uma das proteínas responsáveis pelo processo de desfosforilação é a PP1 e ela está localizada na caveolae(cav) e extracaveolae (ecav), outra delas é a PP2A que está localizada na caveolae e no citosol, as concentrações utilizadas foram respectivamente: $[PP1]_{cav} = 0.1 \mu M$, $[PP1]_{ecav} = 0.1 \mu M$ $[PP2A]_{cav} = 0.1 \mu M$ e $[PP2A]_{cyt} = 0.0607843 \mu M$. A concentração total de fosfatase foi ajustada para $[PP]_{cav} = 0.2 \mu M$. Estas proteínas assumem estes valores na presença de 1.0 μM de ISO, tal como descrito descrito na Figura 15 do documento original de Bondarenko (2014).

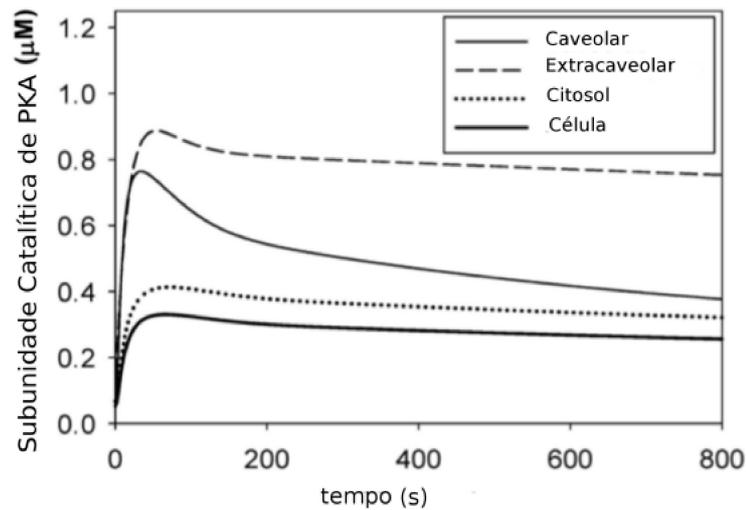


Figura 3.1: Variação das concentrações das subunidades catalíticas PKA durante o tempo. A linha fina representa a concentração: na caveolae, a linha tracejada na extracaveolar, a linha pontilhada nos compartimentos citosólicos, e a linha sólida em negrito representa todo o volume da célula. A concentração foi observada após a aplicação de $1\mu M$ de Isoproterenol. Adaptado de Bondarenko (2014)

Após a adaptação Magalhães (2014) realizou uma modelagem baseada em Chen et al. (2011) para modelar o PAE, detalhes sobre este modelo celular podem ser vistos na seção de Apêndice A3. O presente estudo reformula algumas partes desta modelagem conforme a seção a seguir:

3.2 Cadeias de Markov

Cadeias de Markov é o nome dado a uma certa classe de processos estocásticos que tomam valores discretos e possuem a chamada propriedade de Markov. Esta é assim chamada em homenagem ao matemático russo Andrei Andreyevich Markov. Um Processo Estocástico é definido como uma coleção de variáveis aleatórias $X(t)$ indexadas por um parâmetro $t \geq 0$, geralmente este parâmetro é entendido como tempo. Isto é, para cada valor $t \geq 0$, $X(t)$ é uma variável aleatória tomando valor em um conjunto E , denominado de espaço de estados. Geralmente, a variável aleatória representa o estado do sistema de interesse no instante t .

Um processo estocástico $X(t)$ é chamado de Cadeia de Markov se o espaço de estados

E é discreto e satisfaz a seguinte propriedade, denominada propriedade de Markov:

$$\begin{aligned} P[X(t_{k+1}) = X_{k+1} | X(t_k) = x_k, X(t_{k-1}) = x_{k-1}, \dots, X(t_1) = x_1, X(t_0) = x_0] = \\ P[X(t_{k+1}) = x_{k+1} | X(t_k) = x_k], \end{aligned} \quad (3.1)$$

para todo, $k \in \mathbb{N}$, $t_0 \leq t_1 \leq \dots \leq t_k \leq t_{k+1}$ e estados $x_0, x_1, \dots, x_{k+1} \in E$. Em relação ao tempo, uma cadeia de Markov pode possuir tempo discreto se t é finito ou enumerável, e tempo contínuo é o caso contrário. Resumindo-se na ideia de que os estados anteriores, $X_{k-n}, \dots, X_{k-2}, X_{k-1}$ são irrelevantes para a predição do estado seguinte X_{k+1} , desde que o estado atual X_k seja conhecido. Na cinética de canais iônicos, a cadeia de Markov é uma cadeia de parâmetro contínuos que permite observar um fenômeno durante o tempo de sua duração, o espaço de estados discretos e os estados cinéticos. Num modelo com essas características, as probabilidades de transições, por unidade de tempo, entre os estados cinéticos dependem unicamente do estado presente do canal e não dos estados anteriores pelo qual o canal transitou (propriedade de Markov) (Kochetkov et al., 1999; Rothberg and Magleby, 1999). A cinética dos canais iônicos tem sido modelada considerando-se que os tempos nos quais a proteína formadora do canal permanece nos seus diferentes estados cinéticos obedece a um processo estocástico Markoviano.

A Figura (3.2) mostra um modelo de Markov mais simples para que se possa entender melhor a modelagem da cinética dos canais iônicos. No modelo em questão, um canal iônico pode estar em um de três possíveis estados: aberto (O), fechado (C) ou inativo (I). Uma vez que o canal entrar no estado inativo, o mesmo não poderá retornar para os estados aberto ou fechado.

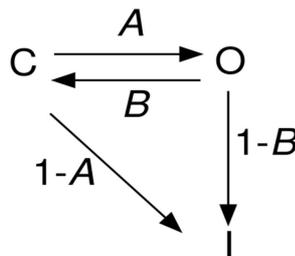


Figura 3.2: Cadeia de Markov com 3 estados. Adaptado de Keener and Sneyd (1998).

Seja i , o e c as proporções de canais iônicos do íon S nos estados inativo, aberto e fechado, respectivamente, e também a corrente iônica I_S que é modelada pelo conjunto de EDOs a seguir:

$$\begin{aligned}
 I_s &= og_{S,max}(V - E_S) \\
 \frac{dc}{dt} &= -(A)c - (1 - A)c + (B)o \\
 \frac{do}{dt} &= (A)c - (B)o - (1 - B)o \\
 \frac{di}{dt} &= (1 - A)c + (1 - B)o,
 \end{aligned} \tag{3.2}$$

onde, A , B , $(1-A)$ e $(1-B)$ são as taxas de transição entre os estados.

Os modelos atuais são desenvolvidos com intenções de reproduzir cada vez melhor os efeitos das correntes iônicas, e para isto levam em consideração um número muito maior de estados. Tamanha complexidade demanda o ajuste de uma grande quantidade de parâmetros (taxas de transição), os quais são ajustados com dados experimentais.

3.3 Simulação estocástica de LCEs

Para simular a LCE de forma estocástica acoplado o modelo de Chen et al. (2011) ao modelo de Morotti et al. (2014), e a célula foi particionada em 150 sarcômeros. Também foi criada uma nova variável $J_{liberacao_2}$ que corresponde ao fluxo extra que o RS libera, devido à indução por intermédio de PCEs. Para isto viu-se a necessidade de calcular taxas de liberação espontânea e de influência do vizinho para que o novo fluxo $J_{liberacao_2}$ esteja ativo ou inativo na mesma proporção em que os sarcômeros se ativam ou se inativam.

Foi criada uma função $Espontaneo()$ que calcula o número de sarcômeros abertos ou ativos n_{NSA} naquele dado instante de tempo de acordo com a taxa representada pela Equação (3.5). Após o cálculo de n_{NSA} que varia de 0 a 150, o fluxo de $J_{liberacao_2}$ é atualizado de acordo com a seguinte Equação:

$$J_{liberacao_2} = (v_1 \times (n_{NSA}/150) \times ([Ca]_{RS} - [Ca]_j)). \tag{3.3}$$

onde $v_1 = 0.1565$ é um ajuste para amplitude do PAE, $[Ca]_{RS}$ é a concentração de Ca^{2+} no espaço juncional do RS, $[Ca]_j$ é a concentração de Ca^{2+} no subespaço do RS. Esta Equação foi baseada na Equação $J_{release}$ de Morotti et al. (2014). Após a atualização de $J_{liberacao_2}$ ele é acrescentado ao $J_{release}$ no cálculo de $[Ca]_j$ e subtraído do cálculo de $[Ca]_{RS}$. E assim

$$J_{liberacao} = (J_{liberacao} + J_{liberacao_2}). \quad (3.4)$$

A função $Esponaneo()$ calcula o valor de n_{NSA} de acordo com a variável ran que assume valores aleatórios entre $[0, 1]$ calculados conforme a função $rand$. Desta forma, o valor de n_{NSA} é incrementado de acordo com a taxa $\lambda(n_{NSA}) \times dt$, ou seja se o valor de n_{NSA} for menor ou igual a 150 e se ran for menor ou igual à taxa $\lambda(n_{NSA}) \times dt$ o valor de n_{NSA} é incrementado.

Os sarcômeros são desativados quando n_{NSA} for maior do que 0 e se o tempo atual menos o tempo do início da ativação dos sarcômeros $(t_{atual} - t_{inicial}) > \tau_d$, ou seja, se isto ocorrer $n_{NSA} = 0$, onde $\tau_d = 60ms$ é o tempo médio de duração da onda de Ca^{2+} .

O modelo que temos para a abertura e fechamento dos sarcômeros corresponde ao seguinte diagrama de estados:

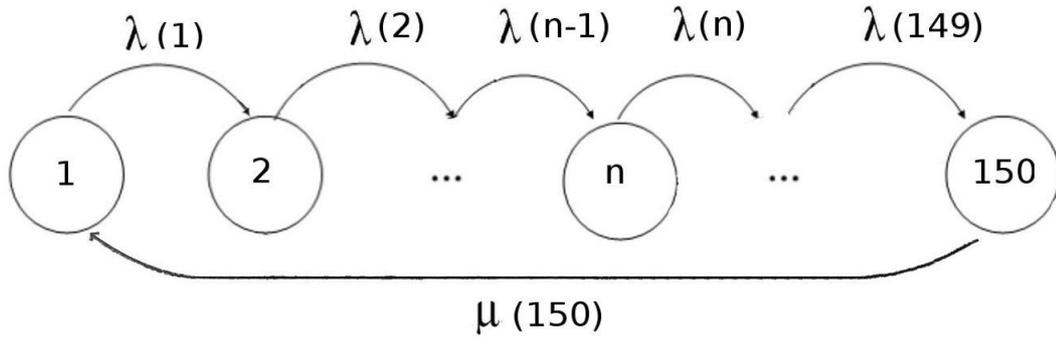


Figura 3.3: Diagrama de estados que representa a ativação e desativação dos 150 sarcômeros. A taxa $\lambda(n_{NSA})$ é a taxa de ativação, calculada pela Equação (3.5). A taxa $\mu(150)$ corresponde a taxa de desativação dos sarcômeros, que desativam-se todos ao mesmo tempo. $\mu(150)$ é igual a $\frac{1}{\tau_d}$ como será visto posteriormente.

O cálculo da taxa $\lambda(n_{NSA})$ foi efetuado com base no diagrama de estados a seguir Figura (3.3), em termos da modelagem da cadeia de Markov $N = N(t), t \geq 0$. A variável $N(t)$ representa o número de sarcômeros abertos da estrutura celular, e toma valor no espaço de estados $E = \{0, 1, \dots, 150\}$, cujas taxas de transição são dadas através do diagrama Figura (3.3). De acordo com o diagrama a taxa de ativação espontânea mais a taxa de ativação via influência do vizinho é dada por:

$$\lambda(n_{NSA}) = (150 - n_{NSA}) \times \Gamma_s + (150 - n_{NSA}) \times LCE_{IV}. \quad (3.5)$$

A desativação dos sarcômeros é feita de forma determinística por enquanto, todos eles são fechados de acordo com um tempo médio de duração do transiente de Ca^{2+} espontâneo. Para o modelo de Morotti et al. (2014) a taxa correspondente ao tempo médio $\tau_d = 60ms$ do PCE foi ajustada para $\mu(150) = \frac{1}{\tau_d}$. A taxa de abertura espontânea foi escolhida de acordo com a taxa Γ_s do modelo de Chen et al. (2011) Equação (A.1). No modelo de Chen et al. (2011) a taxa foi escolhida de acordo com dados experimentais de coelhos,

entretanto como o modelo de Morotti et al. (2014) é para camundongos e foram feitos ajustes para reproduzir os dados experimentais de Brunello et al. (2013), como pode ser observado na Equação 3.6 a seguir:

$$\Gamma_s = \begin{cases} 0 & \text{se } x \leq \min \\ 6,498 \times 10^{-9} & \text{se } x \geq \max, \end{cases} \quad (3.6)$$

onde os valores de $\max = 1700$ e $\min = 1000$ foram estipulados para ajuste de parâmetros. Para o cálculo da taxa de influência dos vizinhos denominada por, LCE_{IV} , foram realizados os seguintes cálculos:

$$LCE_{IV} = m_{NSA} \times (1/\tau_w) \times p, \quad (3.7)$$

onde m_{NSA} é o número médio de vizinhos abertos adjacentes, τ_w é o tempo médio de espera que um sarcômero leva até ativar uma unidade vizinha, e p é a probabilidade de um transiente de Ca^{2+} espontâneo acontecer em um sarcômero e ativar uma unidade vizinha, ambos os valores utilizados para τ_w e p foram calculados de acordo com as Equações (A.2) e (A.4) respectivamente, conforme Chen et al. (2011). O cálculo de m_{NSA} é realizado de acordo com a expressão:

$$m_{NSA} = \frac{2}{(N - n_{NSA})}. \quad (3.8)$$

n_{NSA} corresponde ao número de sarcômeros abertos.

A seção a seguir explica como foi feita a estimativa da taxa m_{NSA} , Equação (3.14).

3.4 Estimativa do número de sarcômeros vizinhos ativos adjacentes: m_{NSA}

Para fazer a estimativa para o cálculo do número de sarcômeros vizinhos ativos (ou abertos) adjacentes de um sarcômero inativo (ou fechado) foi considerada apenas a segunda hipótese da modelagem realizada anteriormente por Magalhães (2014) que será denominada como hipótese de ativação dos sarcômeros, considerando que se 1 vizinho é ativado todos os outros tem probabilidade de se ativar por influência deste que foi ativado inicialmente e isso pode ocorrer em blocos. Imagine como exemplo um determinado bloco de sarcômeros vizinhos, suponha que inicialmente um deles é ativado espontaneamente. Cada sarcômero vizinho a este ativa-se agora por influência dele, e através desta influência todo o bloco de vizinhos se ativa, como na Figura 3.4. Suponha agora que todos os sarcômeros ativos estão próximos, sendo N o número de sarcômeros e n_{NSA} o número de sarcômeros abertos.

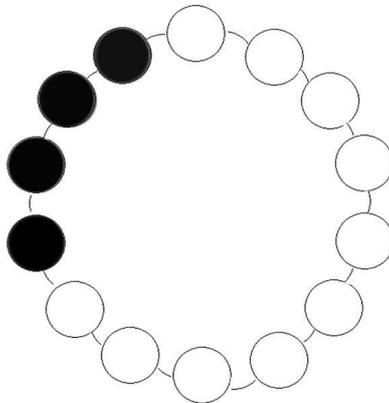


Figura 3.4: Representação do bloco de sarcômeros vizinhos ativos.

Para este caso o cálculo é bem simples: i) Se $x < N - 2$, então cada sarcômero fechado somente poderá ter no máximo um vizinho aberto. Somente dois dos $N - n_{NSA}$ fechados possuem um vizinho aberto.

ii) Se $x = N - 1$, então o sarcômero fechado possui dois vizinhos abertos. O número

esperado de vizinhos abertos de um sarcômero fechado escolhido de forma aleatória é:

$$\begin{aligned}
 m_{NSA} = & 0 \times P(\text{zero vizinhos abertos}) + \\
 & 1 \times P(\text{um vizinho aberto}) + \\
 & 2 \times P(\text{dois vizinhos abertos}).
 \end{aligned} \tag{3.9}$$

Sabe-se que:

$$P(\text{zero vizinhos abertos}) = \begin{cases} \frac{N-n_{NSA}-2}{N-n_{NSA}} & \text{se } 0 < n_{NSA} < N - 1 \\ 0 & \text{se } n_{NSA} = N - 1 \end{cases} \tag{3.10}$$

e,

$$P(\text{um vizinho aberto}) = \begin{cases} \frac{2}{N-n_{NSA}} & \text{se } 0 < n_{NSA} < N - 1 \\ 0 & \text{se } n_{NSA} = N - 1 \end{cases} \tag{3.11}$$

e,

$$P(\text{dois vizinhos abertos}) = \begin{cases} 0 & \text{se } 0 < n_{NSA} < N - 1 \\ 1 & \text{se } n_{NSA} = N - 1 \end{cases} \tag{3.12}$$

Portanto,

$$m_{NSA} = \begin{cases} \frac{2}{N-n_{NSA}} & \text{se } 0 < n_{NSA} < N - 1 \\ 2 & \text{se } n_{NSA} = N - 1, \end{cases} \tag{3.13}$$

Ou melhor:

$$m_{NSA} = \frac{2}{(N - n_{NSA})}. \tag{3.14}$$

em que $N = 150$, dado que 1 sarcômero foi ativado espontaneamente, ele possui 149 vizinhos a serem ativados.

Substituindo a Equação 3.14 na Equação 3.5 tem se:

$$\lambda(n_{NSA}) = (150 - n_{NSA}) \times \Gamma_s + \frac{2p}{\tau_w}. \quad (3.15)$$

Sabendo que p é a Equação A.4 é a probabilidade da influência do vizinho e a Equação 3.15 é a probabilidade total de ativação de um sarcômero, levando em conta a ativação espontânea e a influência dos sarcômeros vizinhos.

3.5 Velocidade de propagação do Potencial de Ação

Para avançar os estudos partindo do modelo celular para o tecido é preciso dar atenção a velocidade de propagação, a condutividade e outras particularidades da simulação em mais de uma dimensão. De acordo com Keener and Sneyd (1998) a geração e propagação do potencial de ação foi descrita usando a seguinte equação diferencial:

$$C_m \frac{\partial V}{\partial t} = I_{ion} + I_{stim} + D\Delta V \quad (3.16)$$

onde C_m é a capacitância da membrana, V é o potencial transmembrânico, I_{stim} é o potencial externo da corrente transmembrânica aplicada, I_{ion} é a soma de todas as correntes iônicas transmembrana e D é o coeficiente de difusão. O modelo de Ten Tusscher and Panfilov (2006) usa $D = 0,00154cm^2/ms$ em simulações 1D e 2D para obter uma velocidade de condução planar máxima (CV) de $68cm/s$ consistente com as medições de tecido ventricular humano de Taggart et al. (2000). A modelagem realizada neste estudo foi desenvolvida baseada em camundongos, portanto a velocidade de propagação do PAE a princípio fica um pouco distante de $68cm/s$, a seguir será possível verificar os resultados obtidos.

4 MÉTODOS USADOS PARA AS IMPLEMENTAÇÕES E SIMULAÇÕES

4.1 Implementação e Ambiente Computacional - Modelos Celulares

As simulações foram executadas em um processador Intel Core i7 (1.6 GHz, 8 GB RAM). O modelo de Bondarenko (2014) foi implementado através da linguagem de programação C. Como os sistemas de EDOs são altamente *stiff*, principalmente porque possuem EDOs resultantes das cadeias de Markov modeladas para os canais iônicos, foi utilizado o método de integração BDF através da biblioteca CVODE da interface SUNDIALS, que é uma biblioteca específica para a resolução de EDOs .

Primeiramente é importante destacar que a implementação do modelo determinístico realizada no trabalho de Magalhães (2014) foi utilizada para dar sequência nas implementações posteriores. A seguir é possível observar o Algoritmo 1 que corresponde a implementação da adaptação do modelo de Bondarenko (2014) realizada por Magalhães (2014).

Algorithm 1 Pseudocódigo Bondarenko Determinístico.

```

inicializa o  $dt$  e o  $tempo_{final}$  ;
inicializa parâmetros e as condições iniciais das  $EDO's$ ;
enquanto  $t < tempo_{final}$  faça
|   calcula o lado direito das  $EDO's$ ;
|   resolve as  $EDO's$ ;
|    $t += dt$ ;
fim
retorna solução do sistema de  $EDO's$ 

```

É possível compreender melhor como foi feita a implementação ao visualizar o

pseudocódigo da resolução do modelo celular, Algoritmo 2, que contém o cálculo da liberação espontânea de forma estocástica.

Algorithm 2 Pseudocódigo Bondarenko 1.

inicializa o dt e o $tempo_{final}$;
 inicializa parâmetros e as condições iniciais das $EDO's$;
enquanto $t < tempo_{final}$ **faça**
 | calcula o lado direito das EDO's;
 | chama a função $Esponaneo()$ para realizar o cálculo estocástico;
 | $n_{NSA} \leftarrow$ cálculo estocástico;
 | atualiza $J_{liberacao_2}$ de acordo com o cálculo de n_{NSA} ;
 | resolve as EDO's;
 | $t += dt$;
fim
retorna *solução do sistema de EDO's*

Como já foi dito anteriormente o cálculo estocástico de sarcômero é realizado de acordo com a função $Esponaneo()$, a seguir podemos observar o Pseudocódigo (3):

Algorithm 3 Pseudocódigo de $Esponaneo()$.

calcula $p(x) = \{tanh[\lambda(x - limiar_2) + 1]/2\}$;
 calcula $LCE_{IV} = m_{NSA} \times (1/\tau_w) \times p$;
 calcula $\Gamma_s = \begin{cases} 0 & \text{se } x < limiar_1 \\ 2 \times 10^{-5} & \text{se } x \geq limiar_1 \end{cases}$
 calcula $\lambda(n_{NSA}) = (150 - n_{NSA}) \times \Gamma_s + (150 - n_{NSA}) \times LCE_{IV}$
 calcula $ran \leftarrow$ cálculo aleatório entre $[0,1]$;
 calcula $\lambda(n_{NSA}) \times dt \leftarrow$ **se** $n_{NSA} < 150 \ \&\& \ ran \leq \lambda(n_{NSA}) \times dt$ **então**
 | $n_{NSA}++$;
fim
se $n_{NSA} > 0 \ \&\& \ (t_{atual} - t_{inicial}) > \tau_d$ **então**
 | $n_{NSA} = 0$;
fim
retorna *o valor de n_{NSA}*

4.2 Implementação e Ambiente Computacional - Modelagem do tecido - 2D

A realização das simulações no tecido cardíaco foram realizadas através do programa de computador MonoAlg3D. Este programa pode ser utilizado para resolver a equação

do Monodomínio em até 3 dimensões, usando o Método dos Volumes Finitos e foi desenvolvido por Oliveira et al. (2018b). O modelo celular adaptado por Magalhães (2014) foi configurado no MonoAlg3D com a finalidade de reproduzir extrassístoles numa região do tecido com fibrose difusa. Nas próximas seções há alguns detalhes sobre o MonoAlg3D e outras características das simulações no tecido.

4.2.1 MonoAlg3D

Oliveira et al. (2018b) relata em seu trabalho que a onda elétrica propaga no coração através de inúmeros processos biofísicos e químicos que matematicamente são sistemas não lineares de alta complexidade. Um fenômeno multiescala que permite compreender o movimento iônico e conformação dinâmica de proteínas e fenômenos centimétricos, em nanoescala, associado à contração do coração inteiro (Oliveira et al., 2018b). Quanto mais próximo da realidade se deseja chegar mais complexo se torna o modelo matemático e mais cara é computação envolvida. As modelagens cardíacas utilizadas atualmente são descritas por sistemas não lineares de equações diferenciais parciais (PDE) acoplados a um conjunto não linear de equações diferenciais ordinárias (ODE), resultando em formulações matemáticas com milhões de variáveis e centenas de parâmetros (Oliveira et al., 2018b). Afim de reproduzir simulações cardíacas cada vez mais precisas, a computação paralela e métodos numéricos sofisticados trabalham juntos. Compreender a combinação dessas técnicas é algo extremamente importante para que elas trabalhem sempre a favor do sucesso das simulações.

4.3 ADAPTAÇÃO DA MODELAGEM ESTOCÁSTICA PARA Bondarenko (2014)

Wasserstrom et al. (2010) apresenta em seu trabalho dados sobre a LCE com um ritmo cardíaco de 200 ms (conhecido como BCL, do inglês, *basic cycle length*) relata sobre a alta variabilidade de ocorrências de LCE com este BCL. A latência é o tempo em que o primeiro PCE ocorre. O estudo realizado por Wasserstrom et al. (2010) demonstrou

que a latência para as primeiras ondas de SCR diminui e o DP (desvio padrão), da primeira latência também diminui à medida que a concentração de cálcio extracelular e a taxa de estimulação aumentam. De acordo com esses fatores o resultado é que a LCE, entre muitos miócitos, ocorre mais cedo e por um período mais curto de tempo, também à medida que a concentração de cálcio extracelular aumenta. Isso apresenta um motivo para reduzir o BCL para 200 ms. Ao longo deste trabalho, os testes realizados anteriormente foram com um BCL de 1000 ms. A simulação computacional no tecido é muito cara. Portanto, para que se tornasse possível observar fenômenos no tecido, tornou-se extremamente necessário ajustar o modelo celular com um BCL de 200 ms, para que fosse viável realizar uma simulação no tecido de aproximadamente 1000 ms. A modelagem estocástica usada por Magalhães (2014) anteriormente, foi aplicada em Bondarenko (2014) e o próximo passo deve ser a adaptação do BCL, com uma frequência de 5 Hz. Um conjunto de variação nos parâmetros ocorre até mesmo quando se trata do limiar da concentração de cálcio no Retículo Sarcoplasmático. Além dos ajustes apenas por conta da alteração do BCL, torna-se de extrema importância adaptar todas as funções utilizadas de Chen et al. (2011), que foi um modelo desenvolvido para coelhos diferente da modelagem de Bondarenko (2014) que foi desenvolvida para camundongos. Para fazer essa adaptação tornou-se necessário realizar um processo em várias etapas. A primeira etapa foi o ajuste do modelo celular para o BCL de 200 ms. É possível comprovar que a adaptação realizada mantém as propriedades do modelo original, o que pode ser verificado no Apêndice A2, que contém a comparação das curvas das correntes geradas pelo modelo original e o modelo atual adaptado para 5 Hz. A segunda foi uma série de execuções do código afim de verificar se após a redução do BCL os dados experimentais de Brunello et al. (2013) foram realmente reproduzidos e mantidos. Porém, nessa segunda etapa aproveitou-se também para a verificação das funções estocásticas utilizadas da modelagem de Chen et al. (2011). Desta maneira foi feita uma análise de sensibilidade para a verificação dos parâmetros ideais para reproduzir a ocorrência de Pulsos de cálcio Espontâneos em uma margem de três por cento a 5 por cento das vezes. Tal análise de sensibilidade levava em conta a média e o desvio padrão da frequência de ocorrências dos PCE's. Além de simular

aproximadamente 40 vezes 18 tipos de configurações diferentes, essas configurações foram esquematizadas para alterar 3 parâmetros diferentes de maneira combinada. A análise de sensibilidade será feita para escolher três parâmetros, o primeiro é o limiar da concentração de cálcio presente no interior do RS, que será denominado de limiar 1. Chen et al. (2011) adaptou a Equação A.1 que varia de $200\mu M$ a $2500\mu M$. Esse limiar precisa ser readaptado para camundongos, uma vez que Chen et al. (2011) é uma modelagem desenvolvida para coelhos. Além disso tem a redução do BCL que implicará na variação da concentração de cálcio do RS. O parâmetro que corresponde ao limiar da função Γ_s deve ser escolhido com cuidado e combinado com o limiar da função dada pela Equação A.4 que também depende do cálcio no RS. Pode-se definir como limiar 2, o limiar 1 corresponde a taxa de ativação espontânea dos sarcômeros. O limiar 2 corresponde a função p_{CaJSR} , Equação A.4, que representa a probabilidade de ativação de um sarcômero vizinho. No modelo de Chen et al. (2011) utiliza-se um limiar de $1000\mu M$, para camundongos será diferente. Inclusive essa função influencia muito na latência também, observe a Figura 4.1

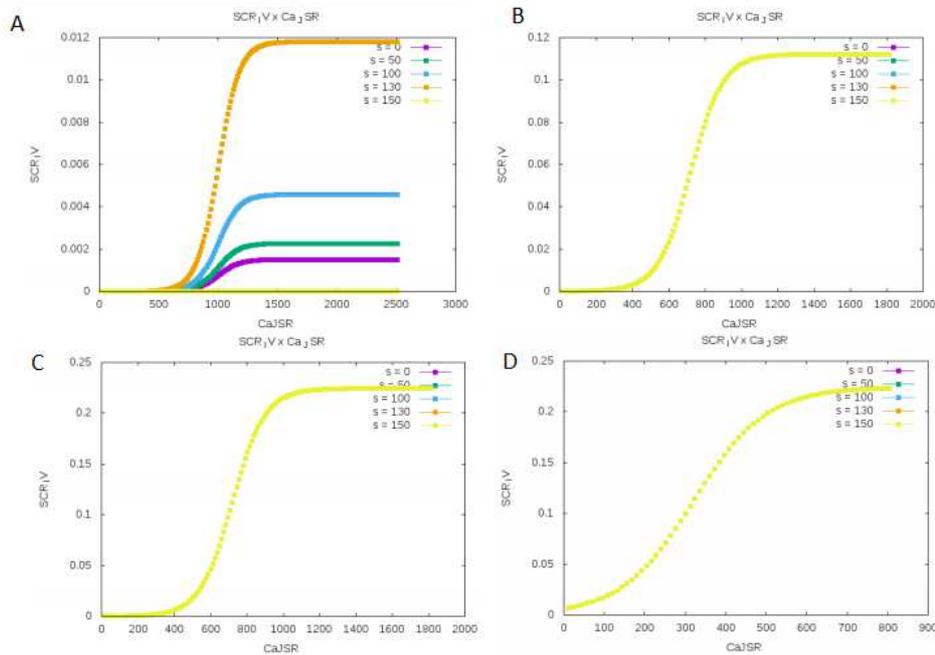


Figura 4.1: Ajuste da Equação A.4, em A tem-se o valor da função p_{CaJSR} versus a concentração de cálcio no RS de acordo com o número de sarcômeros ativos, usando a modelagem de Chen et al. (2011). Em B tem-se o valor da função adaptada ao limiar da modelagem de Bondarenko (2014) que varia de $200\mu M$ a $1800\mu M$. Em C foi realizada uma alteração no limiar, parâmetro x_0 , para $750\mu M$. Em D foi realizada uma alteração no limiar, parâmetro x_0 , para $700\mu M$ Fonte: Próprio autor(2020).

A função plotada nos gráficos da Figura 4.1 é uma função sigmoide e pode-se observar que o valor que ela assume começa a assumir valores maiores após uma concentração de aproximadamente $700\mu M$. Ao aplicar a mesma função no modelo de Bondarenko (2014) pode-se perceber que ela começa a assumir valores mais altos após o RS estar com uma concentração de cálcio em torno de $400\mu M$. Após a realização de alguns testes com o modelo de Bondarenko (2014) já adaptado para um BCL de 200 ms, verificou-se que era preciso que a função dada pela equação A.4 assumisse valores mais altos com uma concentração de cálcio menor, isso porque a concentração de cálcio no RS reduziu muito. Sendo assim alteramos o parâmetro x_0 que corresponde a concentração de cálcio no RS, o limiar 2 definido neste trabalho. Na Figura 4.1 C e D, é possível observar como ficou a curva ao considerar $x_0 = 720\mu M$ e $x_0 = 320\mu M$. Na Figura 4.1 C a função sigmoide começou a subir quando a concentração de cálcio no RS estava em aproximadamente $400\mu M$. Já na Figura 4.1 D a função sigmoide começou a subir quando a concentração de cálcio estava em aproximadamente $100\mu M$. A Equação A.1 é uma função por partes, que assume valores diferentes de acordo com a concentração de cálcio do RS. No intervalo em que começa a assumir valores diferentes de zero, ela possui uma equação que corresponde a uma função exponencial:

$$\Gamma_s = 8 \times 10^{-9} \exp(13,1(x-1)) \text{ se } 1 < x < 2,5 \quad (4.1)$$

A Equação 4.1 é usada para suavizar a curva, visto que a Equação A.1 é uma função degrau. Se usarmos os valores que esta equação assume para a nova modelagem adaptada, não é possível reproduzir os dados experimentais de Brunello et al. (2013). Para tentar reproduzi-los, também houve a necessidade de alterar a função representada pela Equação 4.1. A mesma foi substituída por uma função constante (retirando a suavização da curva). Esse é o terceiro parâmetro que está sendo avaliado na análise de sensibilidade.

A terceira etapa de ajustes do modelo está relacionada com a latência do PCE. Para ela foi necessário escolher os melhores parâmetros de acordo com outra análise de sensibilidade. Simulando o modelo em 40 execuções para 18 tipos de configurações diferentes. Posteriormente foi necessário montar um gráfico de bloxplot para escolher os

parâmetros ideais para cada cenário no tecido.

A quarta etapa é a simulação da modelagem celular acoplada ao tecido usando os parâmetros selecionados através da análise de sensibilidade.

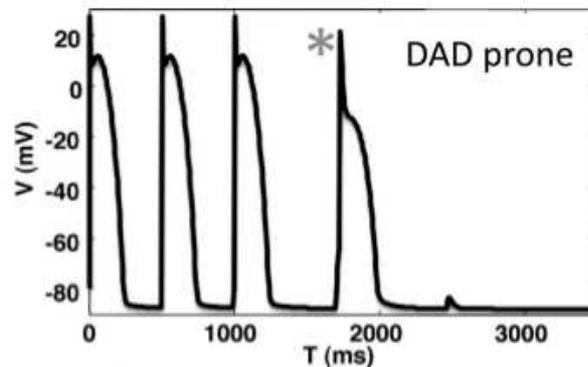


Figura 4.2: Latência. Adaptado de Chen et al. (2011)

Tanto Chen et al. (2011) quanto Wasserstrom et al. (2010) fazem análises da latência em seus estudos. Veja na Figura 4.2 anterior a formação de um PAE. É o primeiro que ocorre após o bloqueio da corrente de estímulo. Os três primeiros são estimulados, o quarto é o PAE e ocorreu em $t = 1800$ ms aproximadamente que corresponde a sua latência. Ela é um critério de extrema importância, que deve ser avaliado para o estudo em questão com muito cuidado. Ao aumentar a probabilidade de falha cardíaca, seja pela aumento de LCE, pela mutação NCX, aumento de cálcio intracelular ou extracelular tem-se uma tendência de redução da latência, ou seja a probabilidade que um PCE, ou PAE ocorra é cada vez maior e é provável que ocorra o quanto antes. A modelagem celular com isoproterenol e a mutação NCX produz uma latência curta, o que é o ideal para a simulação que deve ser realizada no tecido. Porém, a frequência de ocorrência de PCE's e PAE's resultante da modelagem celular estava maior do que o que se têm de dados experimentais na bibliografia. Como já foi comentado anteriormente Brunello et al. (2013) verificou em seus trabalhos a ocorrência de PCE's numa frequência que varia de três a cinco por cento das vezes. Para comprovar esses dados experimentais, que tem uma frequência de ocorrências de PCE's pequena com uma latência curta, é imprescindível combinar essas duas características, o que tornou-se um trabalho extremamente delicado, pelo fato de ser características opostas. Afinal, quando a latência é curta a frequência

de ocorrência de PCE's tende a aumentar. Quando a frequência de PCE's é pequena a latência tende a ser maior, ou seja, o tempo para ocorrer um PCE é maior.

4.4 Esquema de realização da Análise de Sensibilidade do Modelo celular

4.4.1 *Teste das 5 configurações*

Foram escolhidas 5 configurações diferentes, variando os 3 parâmetros: $limiar_1$, $limiar_2$, e Γ_s para verificar a latência e a frequência de ocorrência dos PAE's. Para cada uma das 5 configurações foi feita uma análise de sensibilidade com 40 execuções do código, um total de 200 execuções. Foram definidas 40 execuções como métrica, pois em testes anteriores observou-se que ao realizar 100 execuções e comparar com 40 execuções, os valores de média e desvio padrão se mantêm próximos, desta forma para realizar os testes em tempo hábil, ficou definido como 40 um número de execuções capaz de contribuir de forma eficiente para a análise. A partir disso, foram escolhidas duas configurações que apresentaram menor valor para a média e desvio padrão da latência e maior valor para o número de ocorrência de PAE's com menor desvio padrão.

4.4.2 *Teste das 2 configurações com reduções de I_{K1}*

Foram escolhidas as configurações C1 e C4 para serem testadas em uma nova análise de sensibilidade que testa reduções da corrente I_{k1} à metade e à quarta parte. Desta forma foram realizadas mais 40 execuções do código com a configuração C1 reduzindo I_{k1} à metade e mais 40 execuções do código reduzindo à quarta parte. E mais 40 execuções do código com a configuração C4 reduzindo I_{k1} à metade e mais 40 execuções do código reduzindo à quarta parte. Um total de 160 execuções foi realizado para coletar o menor valor para a latência e o maior número de ocorrências de PAE's.

4.5 Mecanismo do Funil Selado

De acordo com o trabalho de Oliveira et al. (2018a) uma microestrutura celular que simule um labirinto formado em uma região ZP do miocárdio pode contribuir para o entendimento da formação das extrassístoles. Observe a Figura 4.3:

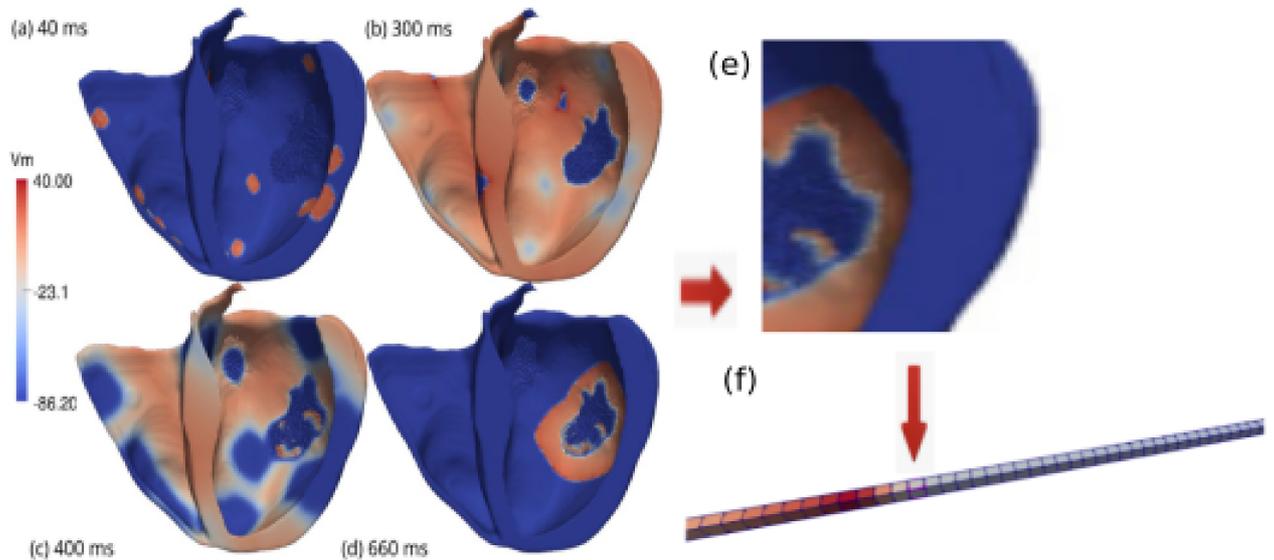


Figura 4.3: Visualização do potencial transmembrana de uma das simulações realizadas usando o malha biventricular específica do paciente (para facilitar a visualização, apenas metade dos ventrículos é mostrada na figura). A simulação apresenta reentradas sustentadas com (a) Estímulos múltiplos foram aplicados a diferentes regiões subendocárdicas para simular uma ativação através da rede Purkinje. (b) Ambos os ventrículos são totalmente despolarizados. Nenhuma atividade elétrica dentro da pequena região do infarto na região superior do VE é encontrada. (c) Os ventrículos começam a se repolarizar. Dentro as micro-reentradas da grande região do infarto levam à formação de duas ondas espirais fracionadas. (d) Um batimento ectópico é gerado no lado direito da grande região do infarto e se propaga para o tecido saudável. (e) parte da região ZP ampliada em que pode ocorrer o PAE, em um determinado caminho de células sem saída, conhecido como funil selado. (e) Representação do cabo de 100 células, simulando um labirinto que pode ser formado na região ZP. Adaptado de Oliveira et al. (2018a)

Para isto resolve-se simular o modelo celular acoplado ao MonoAlg3D que será usado para simular um cabo com células de $100 \mu M$ cada, totalizando 1 cm, que será denominado por funil selado, um caminho de células ativas numa região isolado do tecido. Com base em testes anteriores ficou definido um cabo de 1 cm, porque seria o menor tamanho de geometria suficiente para verificar a propagação do PAE e realizar simulações dentro do

menor tempo possível, com um custo computacional pequeno. O tempo total de cada simulação era de 2000 ms, o Δt da EDP foi de $0,05ms$ e o Δt da EDP foi de $0,01ms$, os valores utilizados para a condutividade sigma foram de $\sigma_x = 0,01336\mu S/\mu m$, $\sigma_y = 0,01336\mu S/\mu m$ e $\sigma_z = 0,01336\mu S/\mu m$. Além disso o cabo foi dividido em frações contendo partes com a modelagem estocástica e o restante com a modelagem determinística que pode ser compreendido com a Figura 4.4:

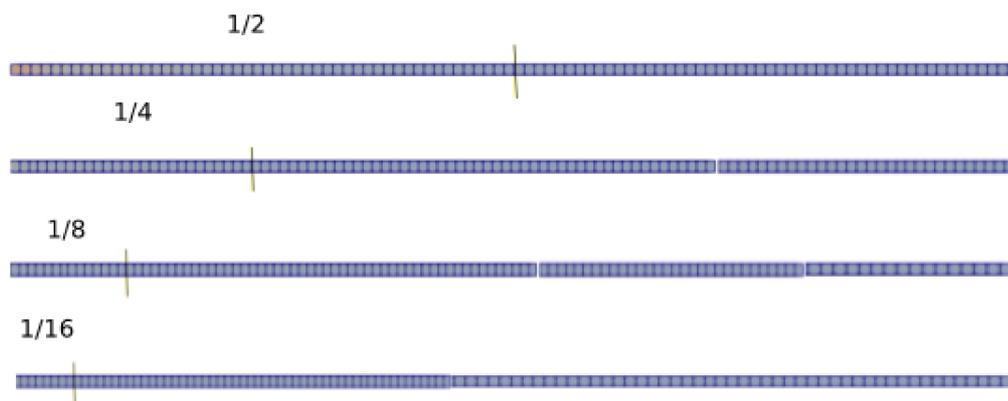


Figura 4.4: Esquema de representação do mecanismo do funil selado, considerando frações do cabo com modelagem estocástica e o restante do cabo modelagem determinística. 4 execuções do código foram realizados com 1/2 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/4 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/8 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/16 do cabo com a modelagem estocástica. Fonte: Próprio Autor (2021)

O mecanismo do funil selado foi testado com as Configurações C1 e C4, fazendo reduções da corrente I_{K1} a quarta parte e a metade. Variando as frações do cabo da seguinte forma: 4 execuções do código foram realizados com 1/2 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/4 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/8 do cabo com a modelagem estocástica, 4 execuções do código foram realizados com 1/16 do cabo com a modelagem estocástica. O cabo foi dividido em frações para verificar a quantidade de células com modelagem estocástica que irá influenciar na propagação pela parte determinística, na intenção de verificar o número mínimo de células que geraram PAE e foram necessárias para gerar a extrassístole. Totalizando 64 execuções do código para a verificação da

propagação do PAE e formação da extrassístole.

4.6 Estrutura do Funil Selado saindo do cabo e atingindo regiões em duas dimensões

Posteriormente, resolve-se simular uma região que começa com um cabo unidimensional de células e expande para regiões em 2 dimensões de forma gradual, formando a geometria que remete a ideia de um funil de acordo com a Figura 4.5:

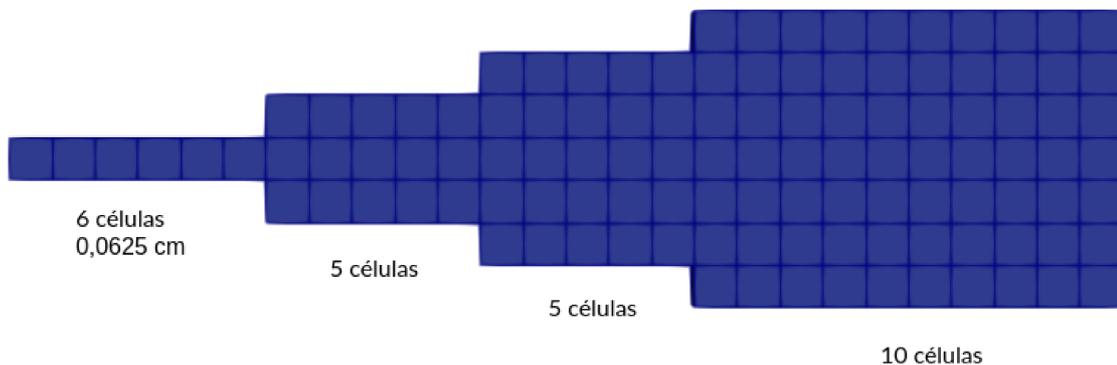


Figura 4.5: Geometria do Funil Selado estendida para 2 dimensões de forma gradual. A geometria é dividida em 4 partes diferentes. A primeira contém 6 células (aproximadamente 0,625 cm). A segunda parte possui uma região em duas dimensões de 5 células por 3 células. A terceira possui 5 células por 5 células. A quarta e última região possui 10 células por 7. Fonte: Próprio Autor (2021)

Com base em testes anteriores foi possível concluir que esta região representaria melhor a propagação da onda ectópica numa região ZP. A modelagem estocástica está apenas na porção inicial do cabo, região unidimensional. O restante do FS possui modelagem determinística. Foram realizadas 2 execuções do código para o FS com a geometria correspondente a Figura 4.5. A parte unidimensional do FS corresponde aos 1/16 do cabo da Figura 4.4. Posteriormente, mais duas execuções do código foram realizadas considerando 1/8 do cabo para FS estendido, mais duas execuções considerando 1/4 do cabo e mais duas execuções considerando 1/2 do cabo e mais duas execuções com 100

células (1 cm) iniciais totalizando 10 execuções do código.

5 RESULTADOS

5.1 Análise de sensibilidade do Modelo Celular

A primeira análise de sensibilidade foi realizada para adaptar as funções de Chen et al. (2011) com a finalidade de reproduzir os dados experimentais de Brunello et al. (2013), para isso tornou-se necessário fazer a combinação de 3 parâmetros diferentes, limiar 1, limiar 2 e o valor da função constante de Γ_s . O limiar 1 é referente ao parâmetro da função degrau Γ_s relacionado à concentração de Cálcio no RS para o cálculo da função Γ_s que assume um determinado valor Γ_s ou zero, tal equação é usada para ativar os sarcômeros de forma espontânea. O limiar 2 é o valor que o parâmetro da Equação A.4 em relação à concentração limite de Cálcio no RS para influenciar a ativação do sarcômero via influência do vizinho. Através das Figuras 5.1 e 5.2 é possível observar como é a curva que representa a probabilidade de influenciar o sarcômero vizinho a se ativar. A Figura 5.1 ilustra a curva da Equação A.4 de acordo com a concentração de Cálcio no interior de RS segundo Chen et al. (2011), em que a concentração varia de $200\mu M$ a $2500\mu M$.

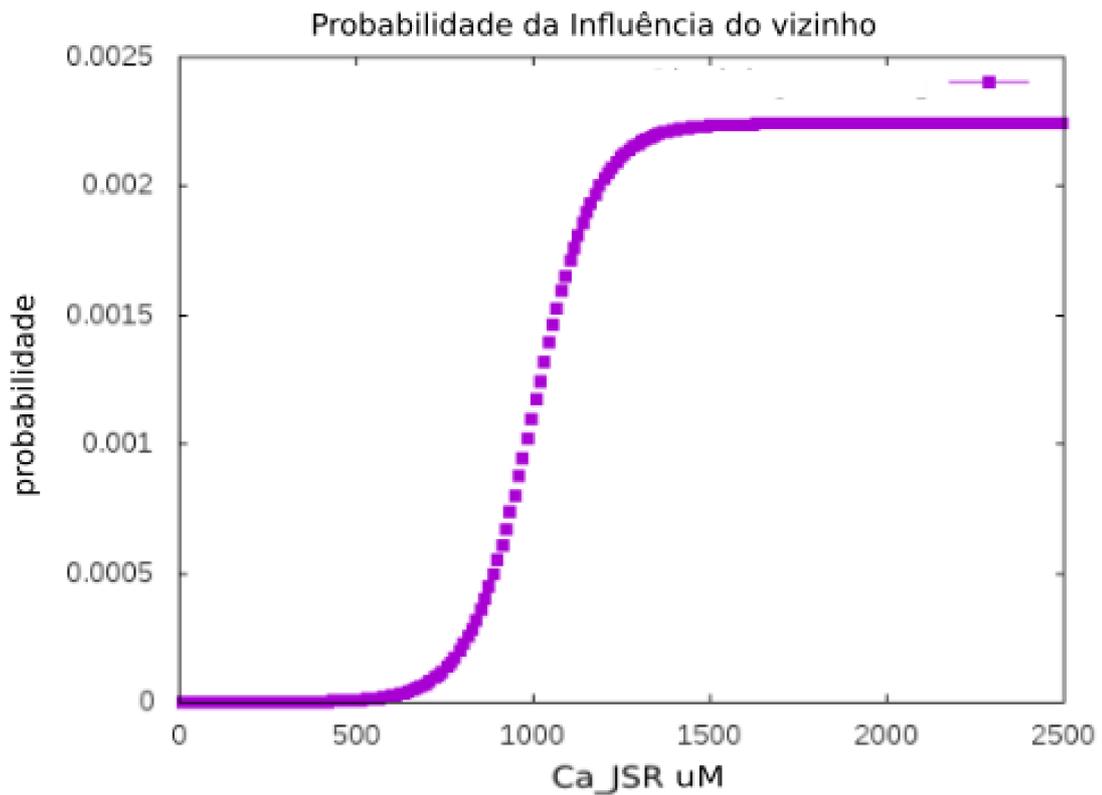


Figura 5.1: Curva correspondente à equação A.4 de acordo com a concentração de Cálcio no interior do RS segundo Chen et al. (2011), em que a concentração varia de $200\mu M$ a $2500\mu M$

A Figura 5.2 representa o gráfico da Equação A.4 com variações para o valor do limiar 2, testando $limiar_2 = 320\mu M$, $limiar_2 = 420\mu M$, $limiar_2 = 520\mu M$ e comparando com o original $limiar_2 = 1000\mu M$ observe a seguir:

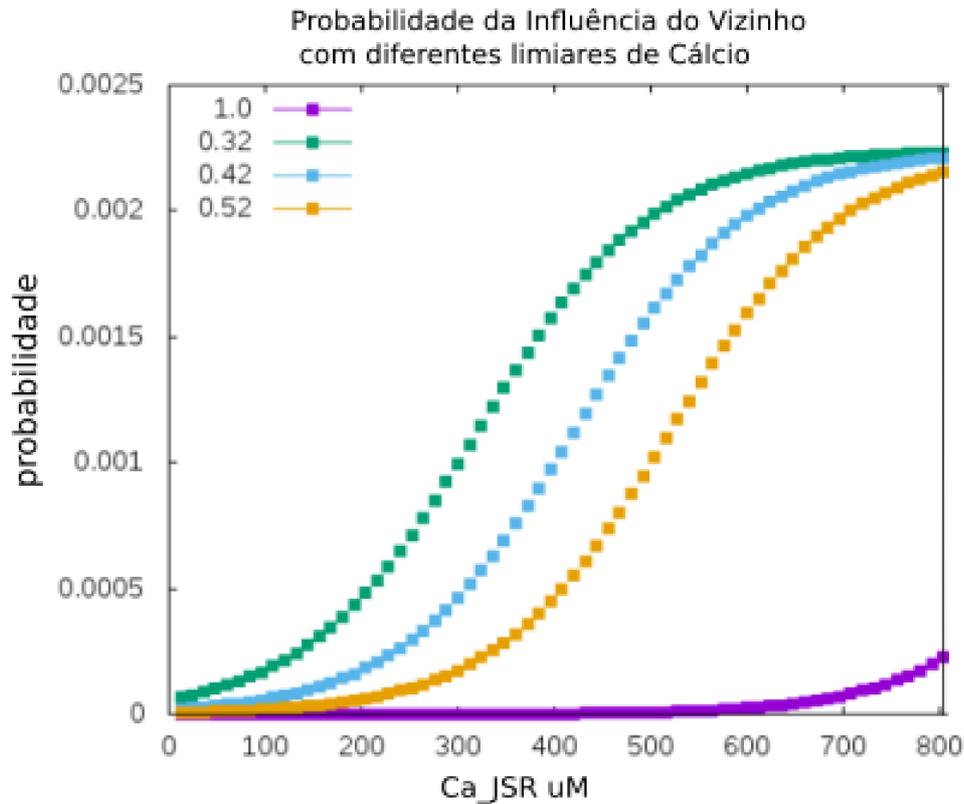


Figura 5.2: Representação do gráfico da Equação A.4 com variações para o valor do limiar 2, testando $limiar_2 = 320 \mu M$, $limiar_2 = 420 \mu M$, $limiar_2 = 520 \mu M$ e comparando com o original $limiar_2 = 1000 \mu M$ pode-se notar que a curva correspondente ao $limiar_2 = 520 \mu M$ atinge o valor de probabilidade igual a 0,0005 com uma concentração de Cálcio de RS igual a $400 \mu M$. Em contrapartida, a curva correspondente ao $limiar_2 = 320 \mu M$ atinge o valor de probabilidade igual a 0,0005 com uma concentração de Cálcio de RS igual a $200 \mu M$.

Observando os gráficos da Figura 5.2, mesmo que a probabilidade seja alta, se não tiver Cálcio suficiente no RS não ocorre a ativação de todos os sarcômeros, é possível concluir isso pois o PCE possui uma amplitude mais baixa. Para a probabilidade assumir o valor igual a 0,002, observa-se que a velocidade de subida $limiar_2 = 520 \mu M$ é maior do que a curva que representa $limiar_2 = 420 \mu M$, podendo-se concluir que o $limiar_2 = 520 \mu M$ é uma função mais rápida, gerando uma concentração de Cálcio com maior a probabilidade de formar um PCE de Cálcio com 150 sarcômeros ativos é maior, isso aumenta a velocidade de ativação dos sarcômeros via influência dos vizinhos, visto que a velocidade de propagação da onda de Cálcio $\tau_d = 60ms$. Portanto, quanto mais Cálcio no RS maior é a probabilidade de ativação via influência do vizinho. Assim, é possível

concluir ao avaliar a curva correspondente à Equação A.4 que quanto menor o limiar 2, menor a velocidade de aumento da probabilidade. Quanto maior o limiar 2, maior é a velocidade de aumento da probabilidade de influência do vizinho.

Foram escolhidas 5 configurações diferentes conforme os boxplots da Figura 5.3, variando os 3 parâmetros: $limiar_1$, $limiar_2$ e $gamma_s$ para verificar a latência e a frequência de ocorrência dos PAE's.

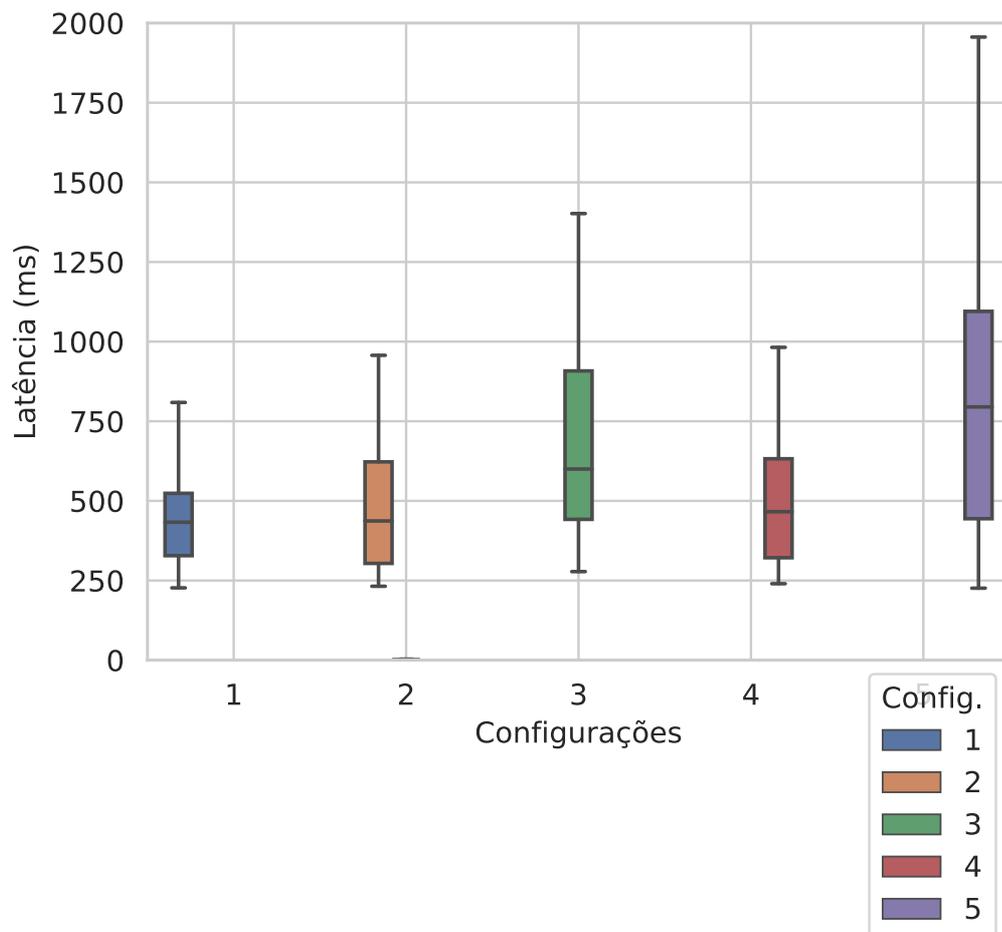


Figura 5.3: Boxplot de representação das configurações para verificação do menor valor para a latência. O código referente ao modelo celular estocástico foi executado 40 vezes com as 5 configurações diferentes, cada execução do código simulando 2 segundos da modelagem estocástica, cada boxplot representa as estatísticas em relação a latência. A configuração 1: corresponde a $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 2: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 3: $limiar_1 = 700 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00001$. A configuração 4: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. A configuração 5: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$. Pode-se observar que a configuração 1 possui o menor valor para a latência, seguidas da configuração 2 e 4

Além da latência é fundamental observar a frequência de ocorrência dos PAE's, a Figura 5.4 mostra os detalhes de cada configuração mencionada anteriormente.

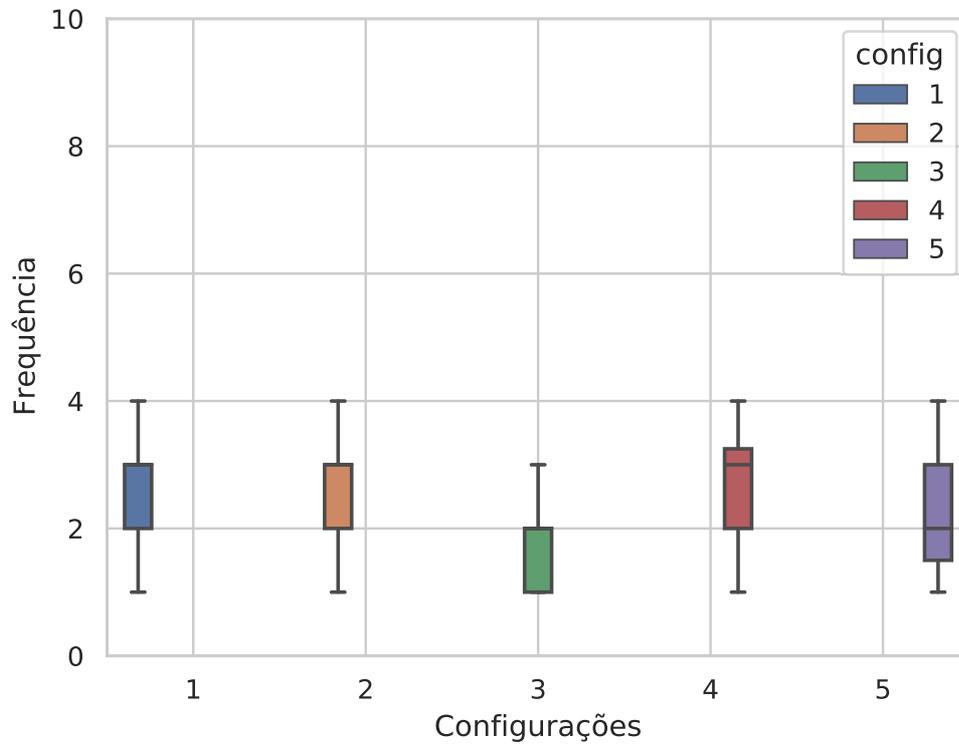


Figura 5.4: Boxplot de representação da frequência média de ocorrência dos PAE's na modelagem estocástica. O código referente ao modelo celular estocástico foi executado 40 vezes com as 5 configurações diferentes, cada execução do código simulando 2 segundos da modelagem estocástica, sendo a configuração 1: corresponde a $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. configuração 2: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. configuração 3: $limiar_1 = 700 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00001$. configuração 4: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. configuração 5: $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$. Pode-se observar que a configuração 1, a 2 e a 4 apresentam maiores valores para a frequência de ocorrência dos PAE's. A configuração 4 apresenta a mediana mais próxima de 4 ainda.

O cálculo da média e desvio padrão em relação a frequência de ocorrência de PAE's pode ser avaliado através da Tabela 5.1:

configuração	Média	Desvio Padrão
1	3	0,8
2	3	0,9
3	2	0,9
4	3	0,8
5	2	1,1

Tabela 5.1: A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a frequência de ocorrência de PAE's. As configurações 1 e 4 apresentam uma maior frequência de ocorrência de PAE's e menores valores para o desvio padrão.

O cálculo da média e desvio padrão em relação a latência dos PAE's pode ser avaliado através da Tabela 5.2:

configuração	Média	Desvio Padrão
1	433	279,03
2	437	269,3
3	600	421,1
4	462	321,4
5	795	447,4

Tabela 5.2: A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a latência dos PAE's. As configurações 1, 2 e 4 apresentam um menor valor para a latência dos PAE's e menores valores para o desvio padrão.

Para avaliar a configuração ideal afim de reproduzir a Extrassístole no tecido é importante fazer o acompanhamento do formato do Potencial de Ação Espontâneo juntamente com o formato do Cálcio Intracelular, observando a amplitude do PAE e outras características:

A seguir observa-se os Gráficos do PAE's e dos TCE's de todas as configurações mencionadas anteriormente. A Figura 5.5 mostra os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1 em que $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$:

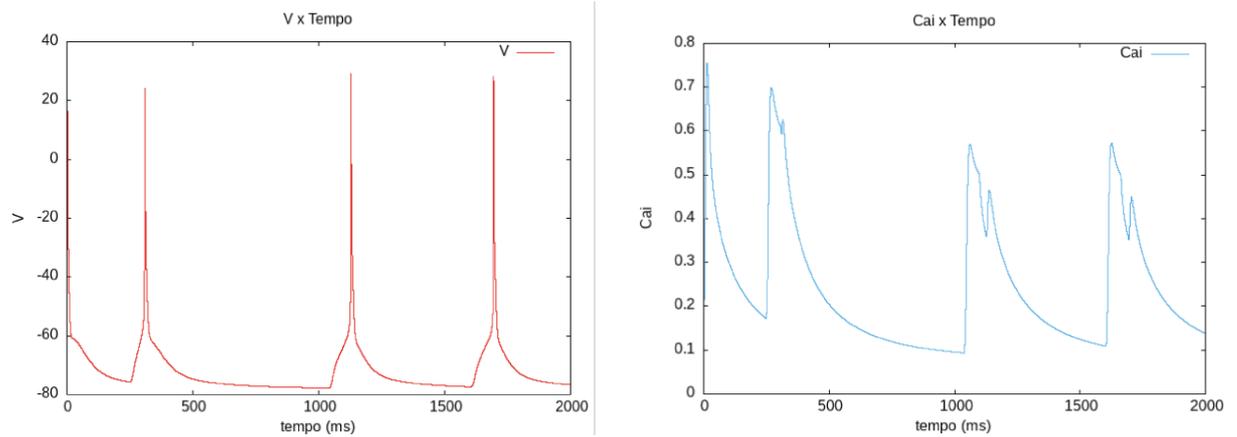


Figura 5.5: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

A Figura 5.6 apresenta os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 2, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$:

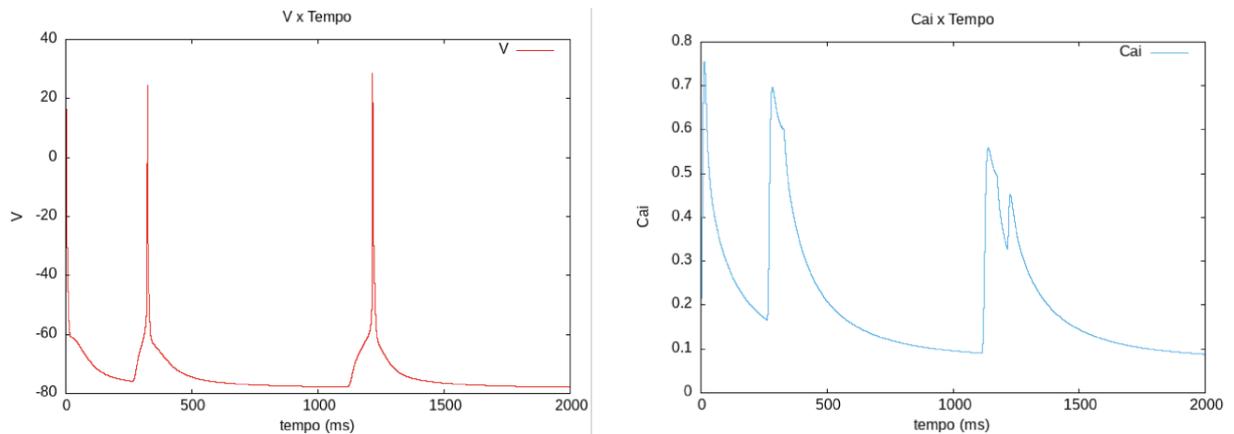


Figura 5.6: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 2, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 420 / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

A Figura 5.7 apresenta gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 3, $limiar_1 = 700 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00001$:

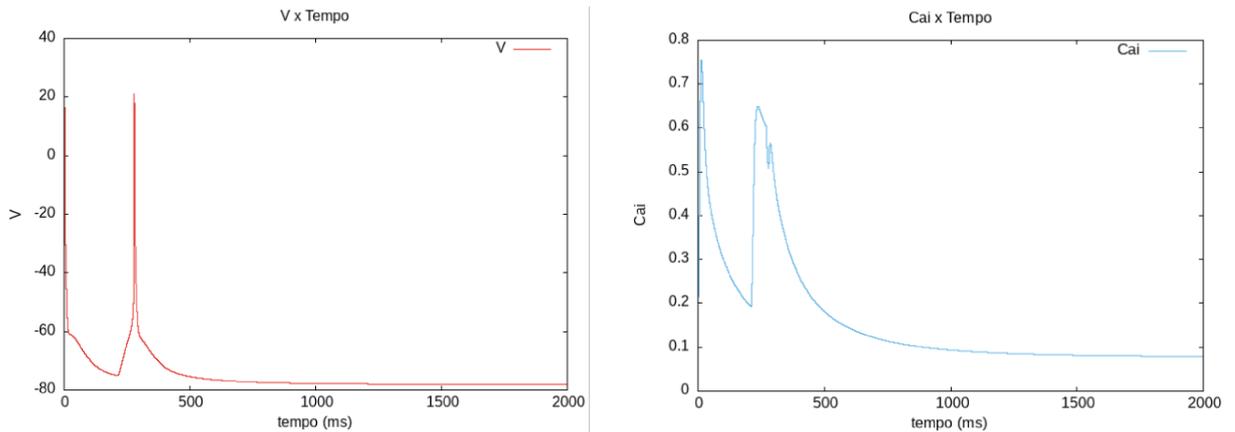


Figura 5.7: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 3, $limiar_1 = 700\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00001$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

A Figura 5.8 mostra os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$:

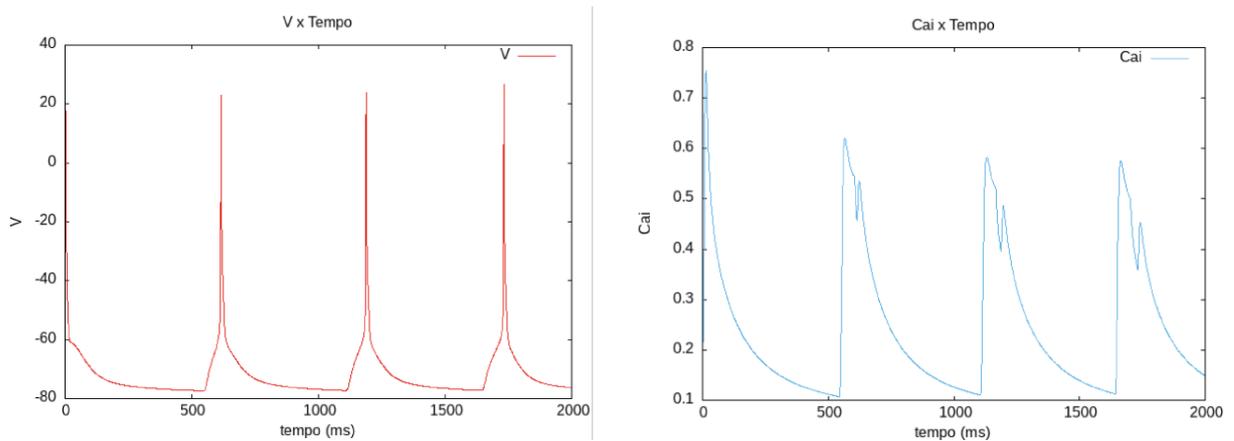


Figura 5.8: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

A Figura 5.9 apresenta os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 5, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 320 / Gamma_s = 0,00001$:

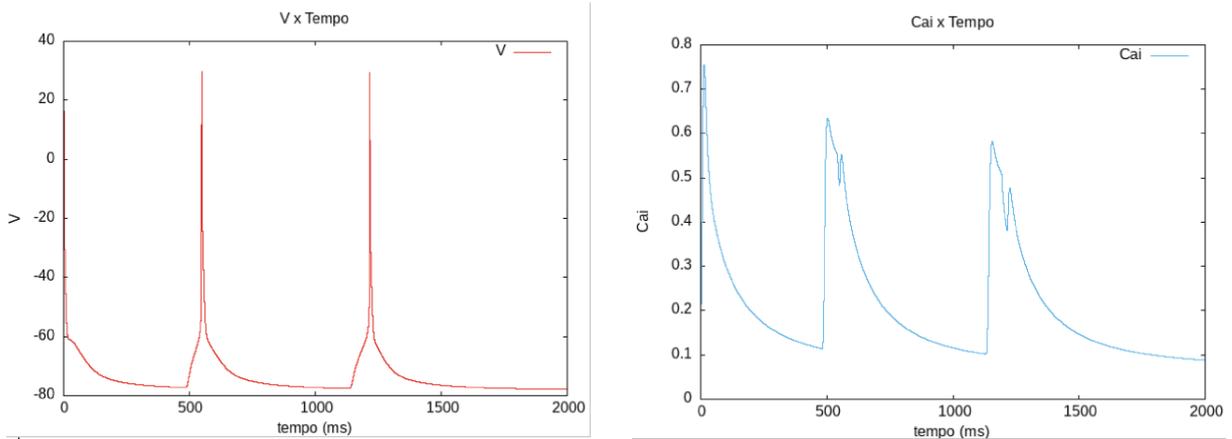


Figura 5.9: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 5, $limiar_1 = 600\mu M$ / $limiar_2 = 320$ / $\Gamma_{Ca_s} = 0,00001$. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

Nos estudos realizados por Campos et al. (2013) verifica-se a importância de alterar a corrente I_{K1} para simular a extrassístole no tecido, que foi reduzida à metade. No presente estudo, antes de iniciar os testes no tecido realizou-se outra análise de sensibilidade variando a corrente I_{K1} . Para isto foram escolhidas as Configurações C1 e C4, que apresentaram menor tempo de latência e maior ocorrência de PAE's na seção seguinte tem-se uma nova análise de sensibilidade com a redução da corrente I_{K1} .

5.2 Análise de Sensibilidade para as configurações C1 e C4 variando a corrente I_{K1} :

De acordo com a seção anterior, as Tabelas 5.3 e 5.4 apresentam as estatísticas, média e desvio padrão, em relação a frequência de ocorrência e a latência dos PAE's no modelo celular, de acordo com as reduções de I_{K1} no modelo celular:

A Figura 5.10 contém os gráficos dos PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M$ / $limiar_2 = 320 \mu M$ / $\Gamma_{Ca_s} = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade:

Configuração	Fração de redução da corrente I_{K1}	Média	Desvio Padrão
1	1/2	4	1,1
1	1/4	4	1,5
4	1/2	4	0,9
4	1/4	3	0,9

Tabela 5.3: A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a frequência de ocorrência dos PAE's de acordo com as reduções de I_{K1} nos testes realizados com o modelo celular.

Configuração	Fração de redução da corrente I_{K1}	Média	Desvio Padrão
1	1/2	376	289,5
1	1/4	492	339,9
4	1/2	385	223,5
4	1/4	386	221,1

Tabela 5.4: A tabela apresenta o cálculo da média e desvio padrão em relação a latência dos PAE's de acordo com as reduções de I_{K1} nos testes realizados com o modelo celular.

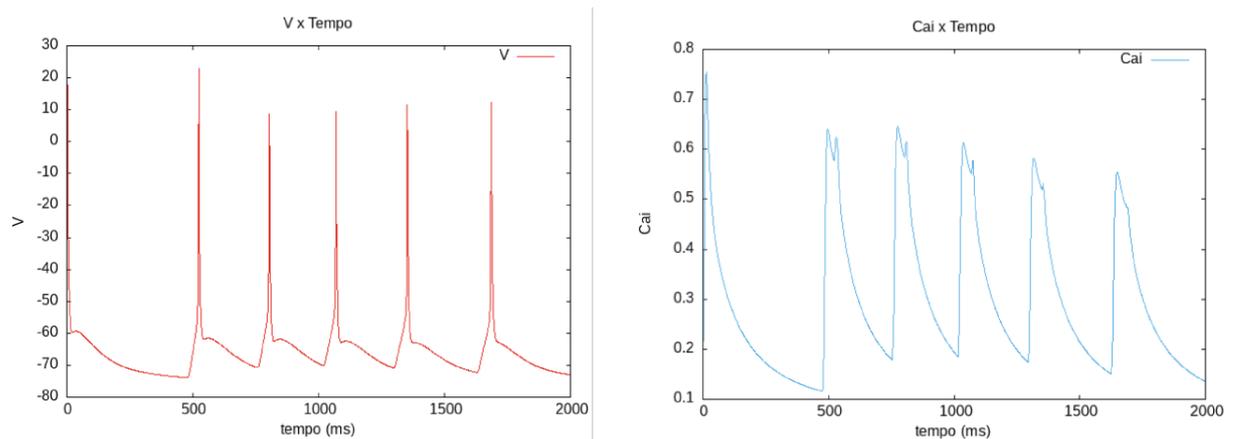


Figura 5.10: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, em que pode-se observar uma variação da amplitude, em alguns instantes menor do que 20 mV. O gráfico da direita representa o TCE, cálcio intracelular associado ao PAE.

Como já foi comentado anteriormente é sempre importante avaliar os gráficos dos PAE's e dos TCE's, portanto segue os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte, veja a Figura 5.11:

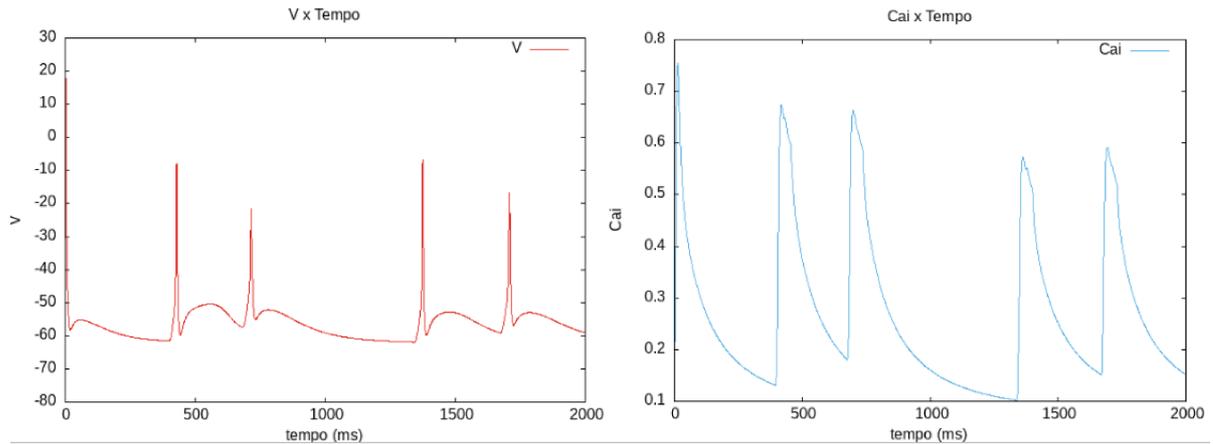


Figura 5.11: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M$ / $limiar_2 = 320 \mu M$ / $\Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, observando um variação da amplitude, em alguns instantes bem menor do que 20 mV. A partir deste gráfico assume-se que a amplitude máxima de um PAE será -10mV. O gráfico da direita representa o TCE, cálcio intracelular associado ao PAE.

É importante continuar a análise de sensibilidade para avaliar como as reduções da corrente I_{K1} influenciam na latência e frequência, para isso foram realizadas mais 40 execuções do código referente ao modelo celular com a configuração C1, variando I_{K1} conforme o gráfico da Figura 5.12 que faz uma avaliação da latência com diferentes configurações para a corrente I_{k1} posteriormente tem-se os respectivos gráficos se referindo à frequência de ocorrência de PAE's:

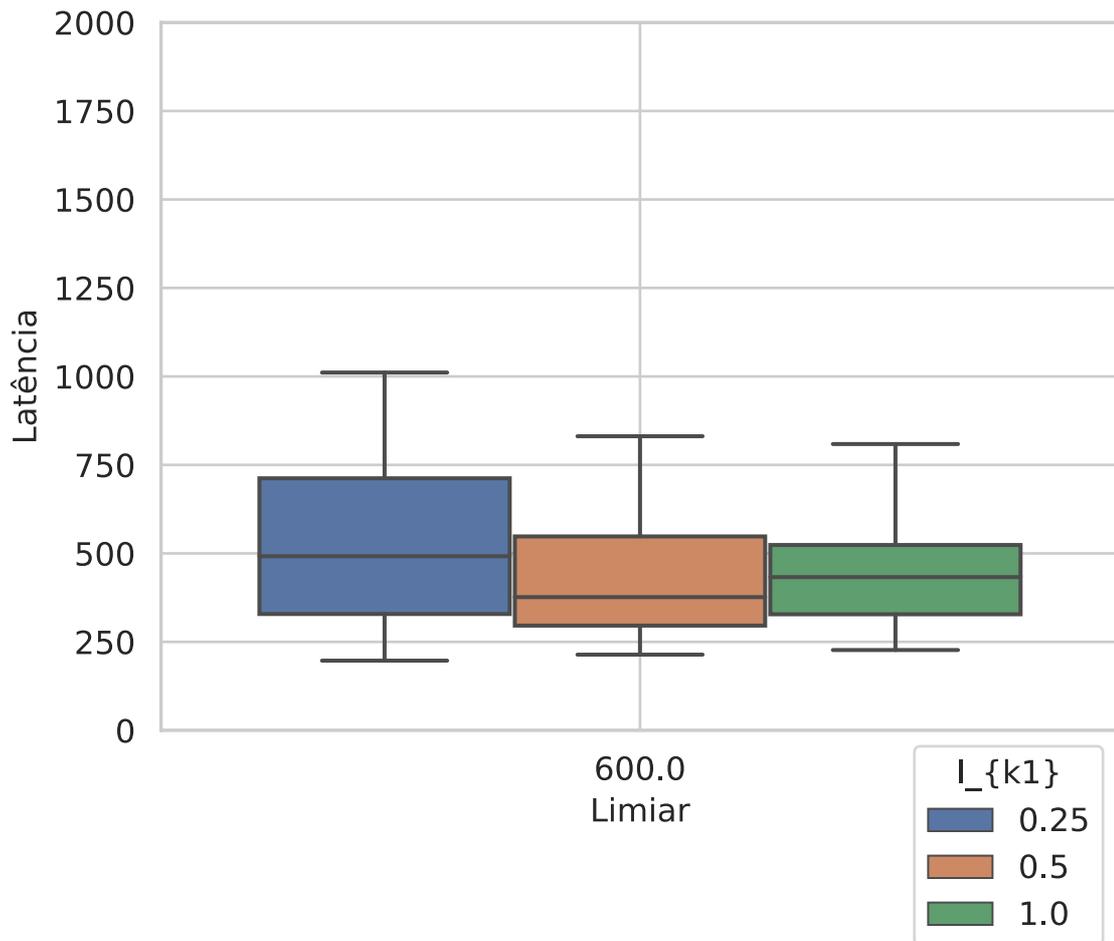


Figura 5.12: Representação da latência em relação a configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M$ / $limiar_2 = 320 \mu M$ / $\Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a latência aumenta e a mediana fica em 500 ms para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.

A Figura 5.13 ilustra a frequência de ocorrência de PAE's:

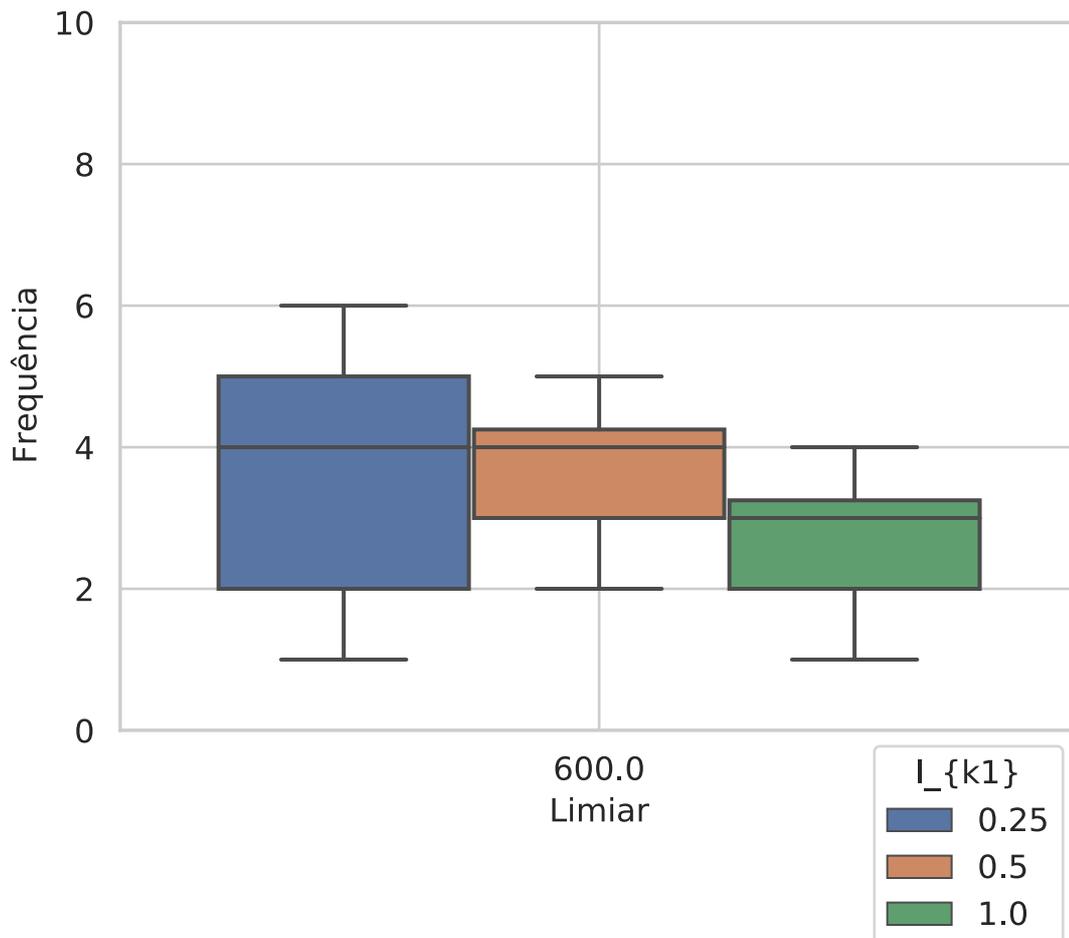


Figura 5.13: Representação da frequência de ocorrência de PAE's em relação a configuração 1, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 320 \mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a frequência de ocorrência dos pulsos também aumenta e a mediana fica em torno de 4 para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.

O aumento da frequência da ocorrência de PAE's é positivo para os testes que serão realizados no tecido.

A Figura 5.14 contém os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600 \mu M / limiar_2 = 520 \mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade:

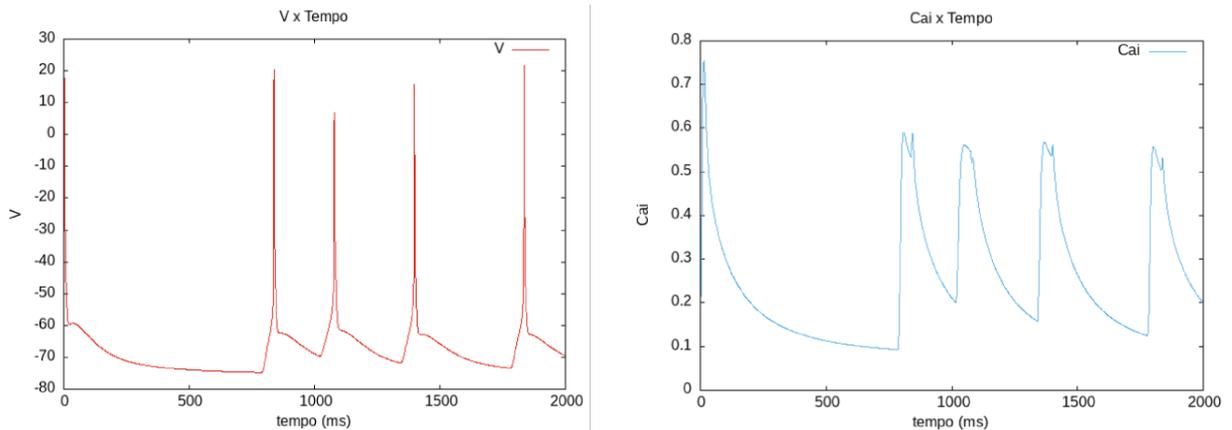


Figura 5.14: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à metade. O gráfico da esquerda corresponde ao Potencial de Ação espontâneo possuindo amplitude acima de 20 mV, comparado aos gráficos antes da redução de I_{K1} . O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

A Figura 5.15 apresenta os gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte:

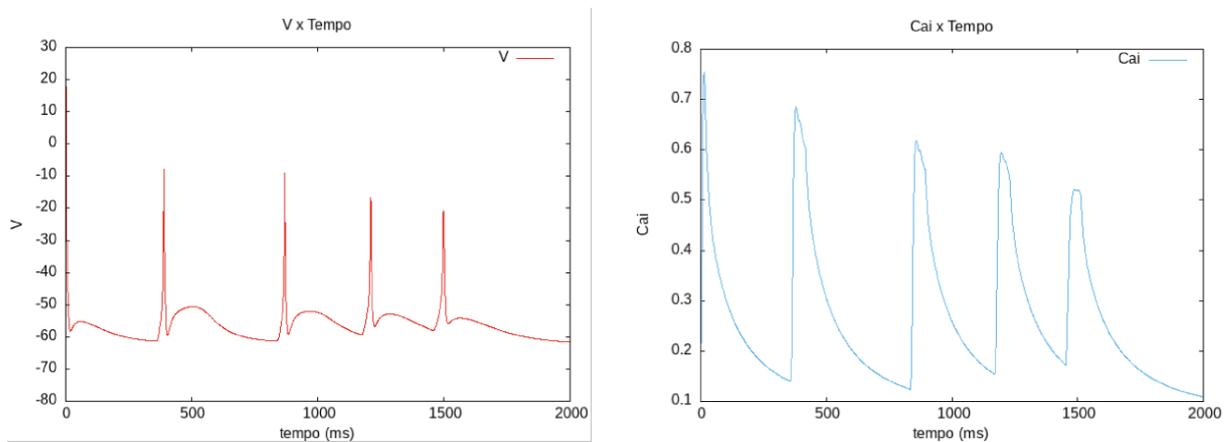


Figura 5.15: Gráficos do PAE's e dos TCE's da configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$, reduzindo I_{K1} à quarta parte. O gráfico da esquerda corresponde aos PAE's, observando uma variação da amplitude, em alguns instantes bem menor do que 20 mV. A partir deste gráfico assume-se que a amplitude máxima de um PAE será -10mV. O gráfico da direita representa o TCE, Cálcio Intracelular associado ao PAE.

Novamente para testar a configuração C4 foram realizadas mais 40 execuções do código referente ao modelo celular com a configuração C4, variando I_{K1} conforme a Figura 5.16 que apresenta o gráfico da latência:

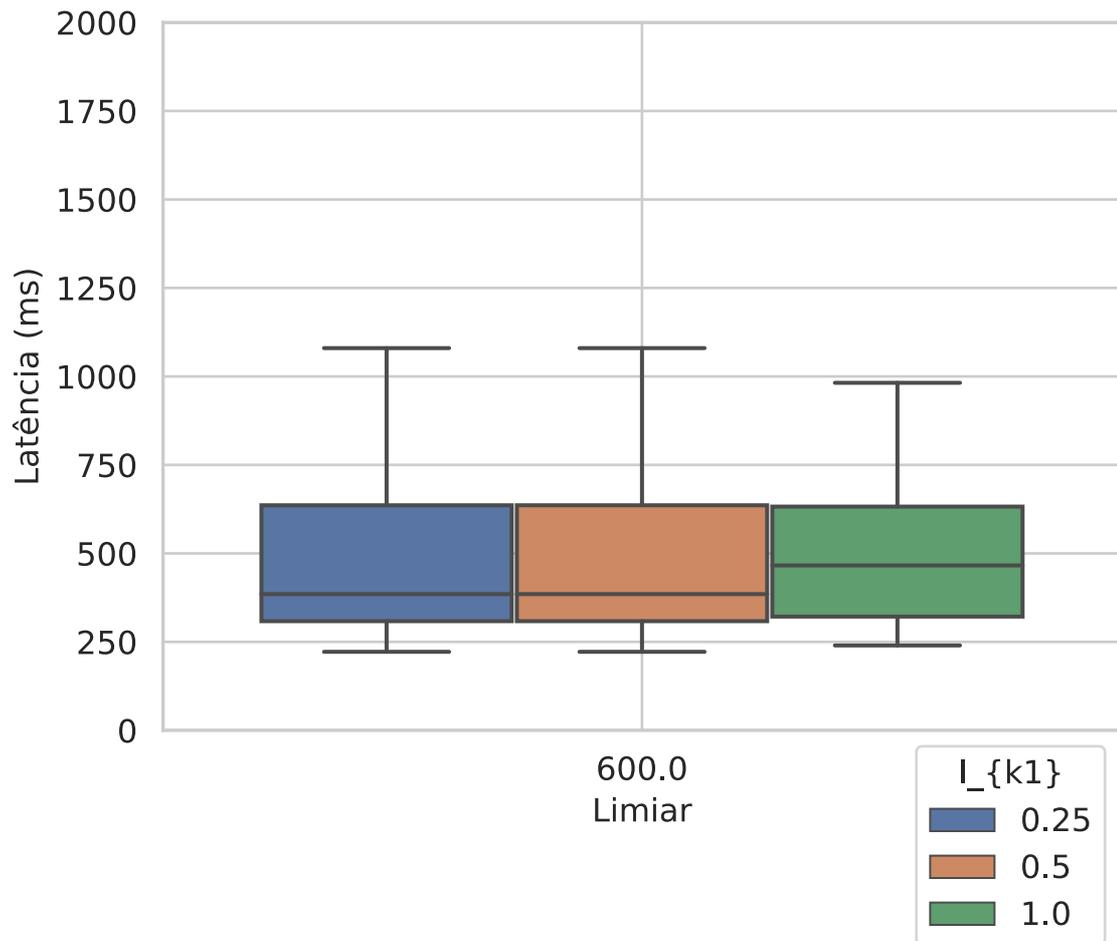


Figura 5.16: Representação da latência em relação a configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a latência aumenta e a mediana fica em 500 ms para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.

Na Figura 5.17 pode-se observar o gráfico correspondente a frequência de ocorrência de PAE's:

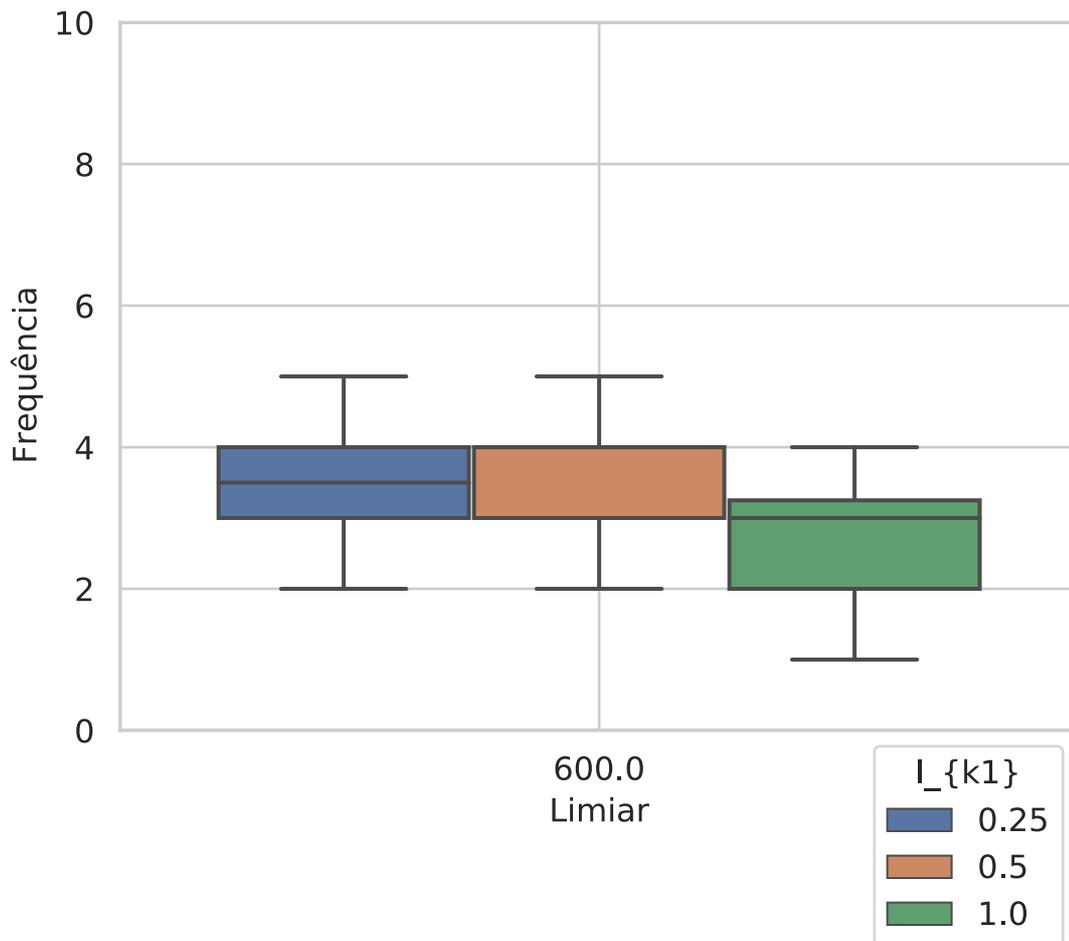


Figura 5.17: Representação da frequência de ocorrência de PAE' em relação a configuração 4, $limiar_1 = 600\mu M / limiar_2 = 520\mu M / Gamma_s = 0,00002$. O boxplot azul representa a redução da corrente I_{K1} à quarta parte, o boxplot na cor terra representa a redução da corrente I_{K1} à metade, o boxplot verde representa a corrente em seu estado normal. Observa-se que ao reduzir I_{K1} a frequência de ocorrência dos pulsos também aumenta e a mediana fica em torno de 3,5 para o boxplot azul que corresponde a redução da corrente I_{K1} à quarta parte.

5.3 Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C1 + redução de I_{K1} à metade

Mais experimentos foram realizados em um cabo de células de 1 cm, cada célula contendo $100\mu m$. O tempo de cada simulação foi de 2 s. Com a configuração C1 e redução de I_{K1} à metade foram realizados 16 execuções do código, divididas numa

variação da fração do cabo que seriam experimentadas com a modelagem estocástica, enquanto o restante da fração do cabo seria simulada com a modelagem não estocástica. Sendo assim, para a fração de $\frac{1}{16}$ do cabo com a modelagem estocástica realizou-se 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{8}$ do cabo mais 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{4}$ do cabo mais 4 execuções do código, e mais 4 execuções para a fração de $\frac{1}{2}$ do cabo.

Ao testar qualquer configuração mencionada anteriormente verifica-se que não há formação de PAE's, nem PDA's no cabo de células. A Figura 5.18 comprova que não há formação de PAE, o teste a seguir é referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do cabo do cabo e redução de I_{K1} à metade.

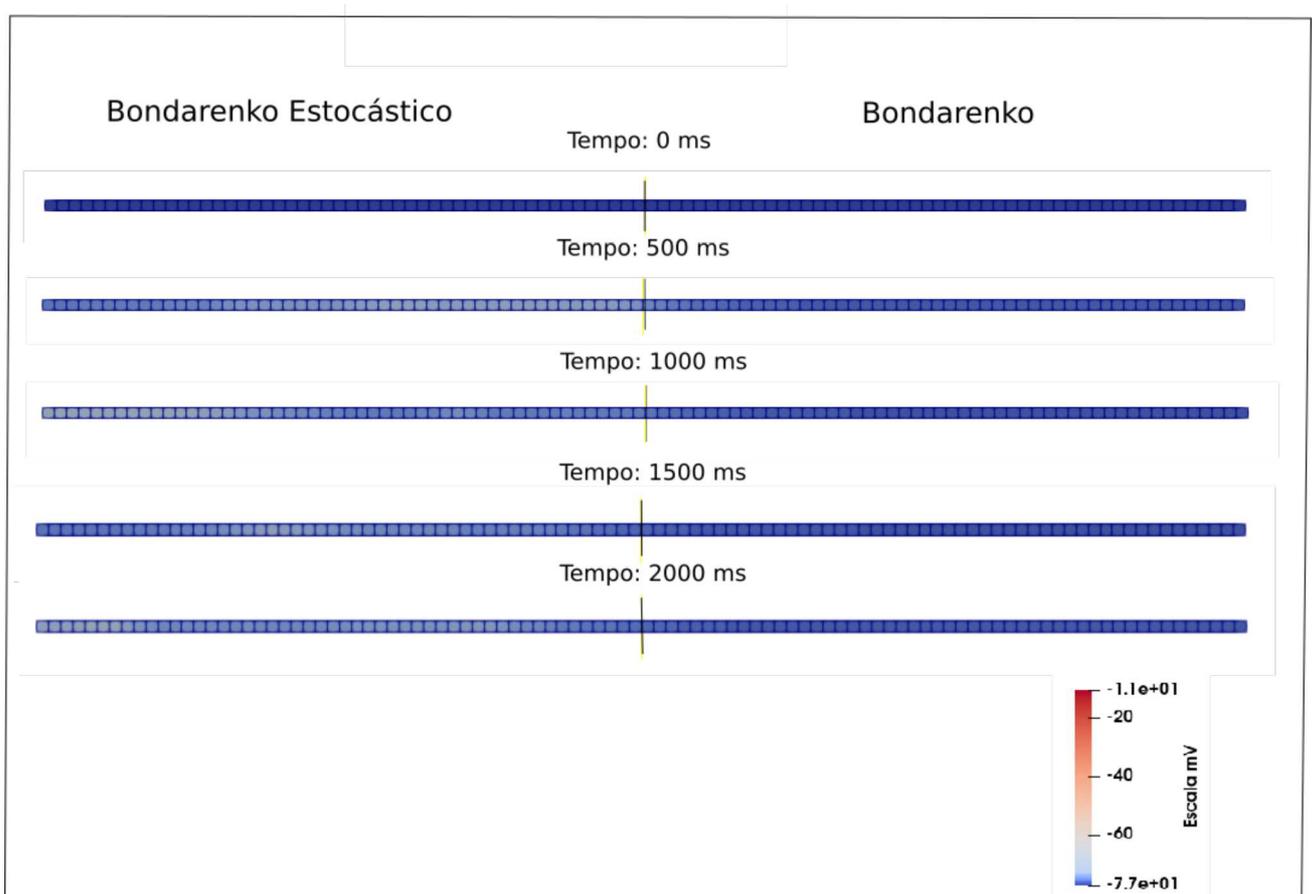


Figura 5.18: Instantes de tempo de um teste realizado com a configuração 1 referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do cabo e redução de I_{K1} à metade. O tamanho do cabo para esta simulação foi de 1 cm e o tempo de duração foi 2 segundos. A imagem comprova que não há propagação de PAE nem DAD em quatro instantes de tempo diferentes, $t = 282$ ms, $t = 1139$ ms, $t = 1593$ ms e $t = 1995$ ms.

É importante verificar, se houve PDA's ou PAE's, numa célula isolada do cabo, assim como também o formato e a amplitude do PAE que está sendo gerado no cabo de células,

a Figura 5.19 ilustra estes detalhes.

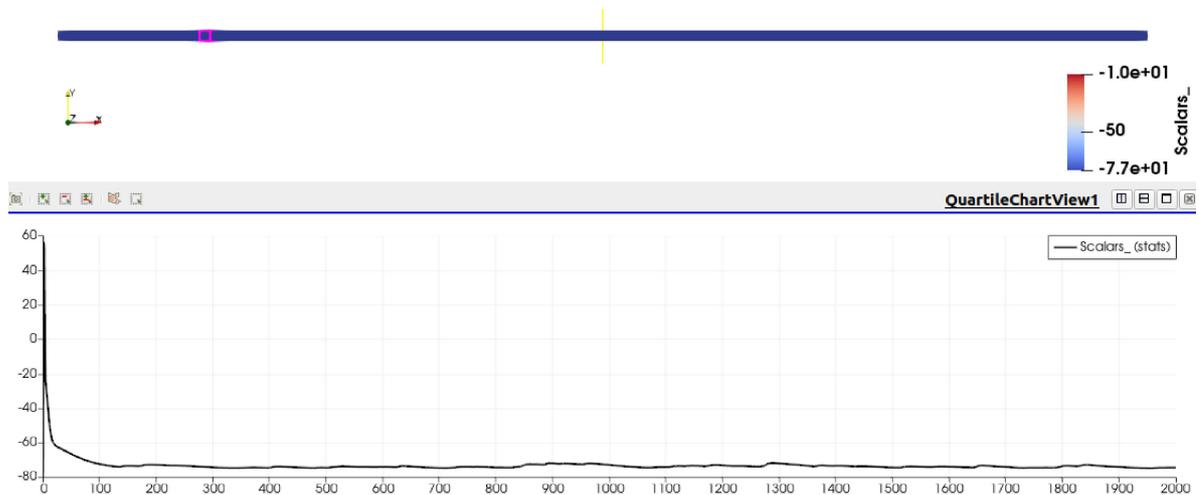


Figura 5.19: Numa simulação de 2000 ms a célula seleccionada não reproduz PAE nem PDA's.

5.4 Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C1 + redução de I_{K1} à quarta parte

Os experimentos a seguir foram realizados em um cabo de células de 1 cm, cada célula contendo $100 \mu m$. O tempo de cada simulação foi de 2 s. Com a configuração C1 e redução de I_{K1} à quarta parte foram realizados 16 execuções do código, divididas numa variação da fração do cabo iria rodar com a modelagem estocástica, enquanto o restante da fração do cabo seria simulada com a modelagem não estocástica. Sendo assim, para a fração de $\frac{1}{16}$ do cabo com a modelagem estocástica realizou-se 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{8}$ do cabo mais 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{4}$ do cabo mais 4 execuções do código, e mais 4 execuções para a fração de $\frac{1}{2}$ do cabo.

A Tabela 5.5 contém algumas estatísticas dessas simulações realizadas no cabo, sendo que para cada fração do cabo foram realizadas 4 execuções do código para os testes no cabo de células:

Fração do cabo com modelagem estocástica	Início do cabo	Frações do cabo
1/16 (0, 0625 cm)	3	0
1/8 (0, 125 cm)	4	0
1/4 (0, 250 cm)	1	3
1/2 (0, 5 cm))	3	1

Tabela 5.5: Estatísticas de propagação do PAE corresponde à configuração C1 com redução da corrente I_{K1} à quarta parte. As simulações foram realizadas em um cabo de células totalizando 1 cm, cada célula do cabo contendo $100\mu m$ durante o tempo de 2 ms. Na primeira coluna do quadro observa-se a variação da porção do cabo que é simulada com a modelagem estocástica. A segunda coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando da ponta do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo.

A Figura 5.20 ilustra o momento da propagação de um PAE pelo cabo de células, registrando a formação de uma extrassístole, tendo o início da propagação surgindo na fração de aproximadamente $\frac{1}{3}$ do cabo.

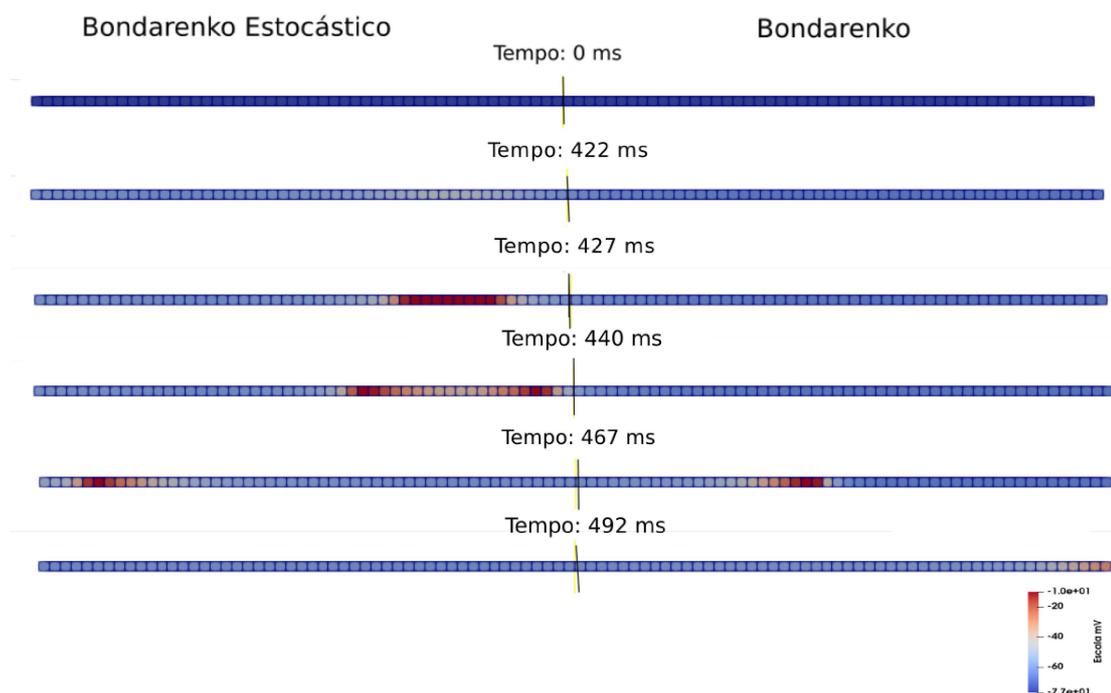


Figura 5.20: Momento da propagação de um PAE pelo cabo de células que totaliza 1 cm de comprimento em uma simulação de 2s, ou seja, instantes da formação da extrassístole. No tempo igual 422 ms na fração de aproximadamente $\frac{1}{3}$ do cabo tem-se o início da propagação de um PAE. No tempo igual a 427 ms o PAE vai expandindo e propagando pelo restante do cabo, mantendo na fração do cabo com modelagem estocástica. Instantes depois o PAE divide-se em dois, como pode ser visto no tempo 440 ms, sendo que a parte correspondente à direita da propagação expande para a fração do cabo que possui a modelagem determinística da modelagem. No tempo igual a 467 ms observa-se que ocorre a formação da extrassístole, a partir do momento que o PAE propaga do meio do cabo até a direção e sentido do final do cabo. Em 492 ms a parte da propagação da direita expande até o final da parte direita do cabo. No tempo acima 492 ms não há mais propagação deste PAE que percorreu o cabo por aproximadamente 70 ms, resultando em uma velocidade de 14,29 cm/s.

É importante verificar o formato e a amplitude do PAE que está sendo gerado no cabo de células, conforme a Figura 5.21.

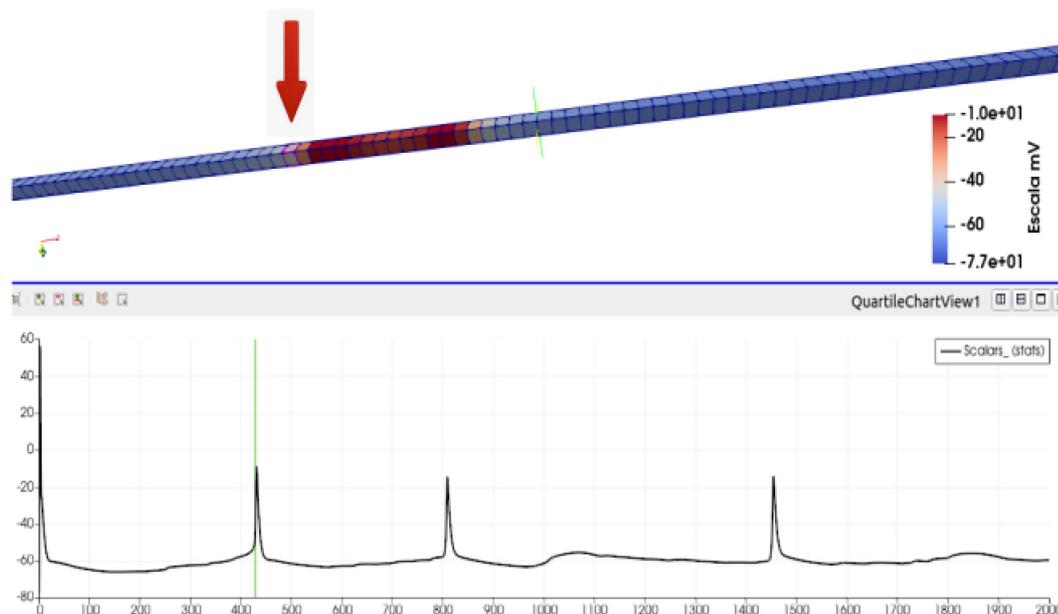


Figura 5.21: PAE de uma célula do cabo para verificar a amplitude e formato. Numa simulação de 2000 ms a célula seleccionada no cabo reproduziu 3 PAE's com amplitude em torno de aproximadamente -20 mV e 2 DAD's

5.5 Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas - configuração C4 + redução de I_{K1} à metade

Os experimentos a seguir foram realizados em um cabo de células que possui 1 cm de extensão, cada célula contendo $100 \mu m$. O tempo de cada simulação foi de 2 s. Com a configuração C4 e redução de I_{K1} à metade foram realizados 16 execuções do código, divididas numa variação da fração do cabo que foi rodada com a modelagem estocástica, enquanto o restante da fração do cabo foi simulada com a modelagem não estocástica. Sendo assim, para a fração de $\frac{1}{16}$ do cabo com a modelagem estocástica realizou-se 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{8}$ do cabo mais 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{4}$ do cabo mais 4 execuções do código, e mais 4 execuções para a fração de $\frac{1}{2}$ do cabo. A Figura 5.22 comprova que não há formação de PAE, ao testar qualquer configuração citada anteriormente, a simulação abaixo é referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do

cabo do cabo e redução de I_{K1} à metade.

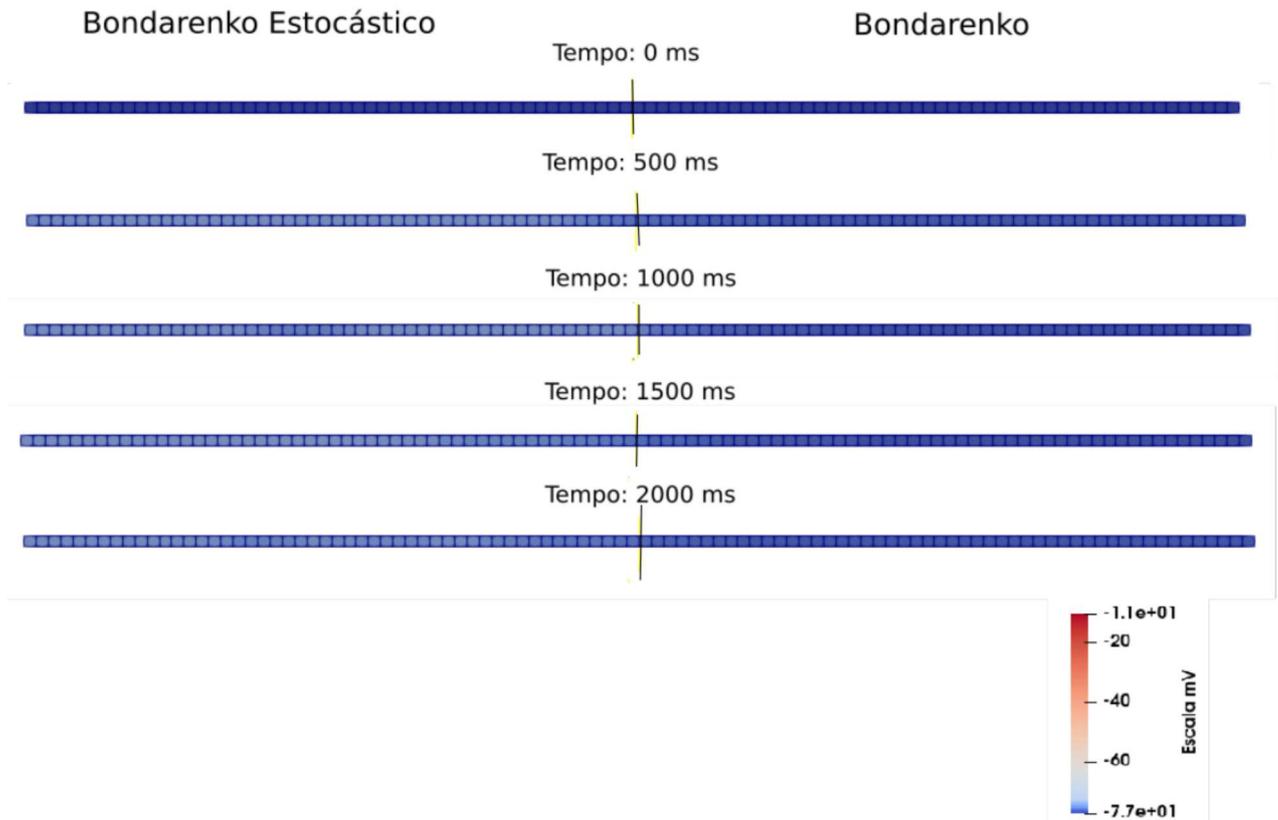


Figura 5.22: Instantes de tempo de um teste realizado com a configuração 4 referente à modelagem estocástica de $\frac{1}{2}$ do cabo do cabo e redução de I_{K1} à metade. O tamanho do cabo para esta simulação foi de 1 cm e o tempo de duração foi 2 segundos. A imagem comprova que não há propagação de PAE nem DAD em quatro instantes de tempo diferentes, $t = 0$ ms, $t = 500$ ms, $t = 1000$ ms $t = 1500$ ms e $t = 2000$ ms.

É importante verificar, se houve PDA's ou PAE's, numa célula isolada do cabo, assim como também o formato e a amplitude do PAE que está sendo gerado no cabo de células, conforme a Figura 5.23:

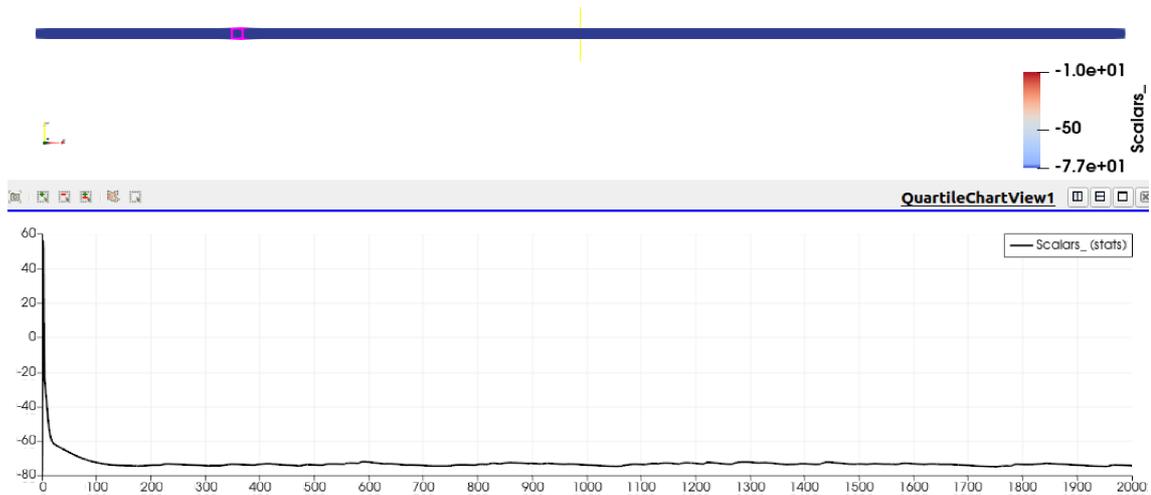


Figura 5.23: Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada não reproduz PAE nem PDA's.

5.6 Análise de sensibilidade da simulação de um cabo de células cardíacas: configuração C4 + redução de I_{K1} à quarta parte

Os experimentos a seguir foram realizados em um cabo de células totalizando 1 cm de extensão, cada célula contendo $100 \mu m$. O tempo de cada simulação foi de 2 s. Com a configuração C4 e redução de I_{K1} à quarta parte foram realizados 16 execuções do código, divididas numa variação da fração do cabo que rodaram com a modelagem estocástica, enquanto o restante da fração do cabo foi simulada com a modelagem não estocástica. Sendo assim, para a fração de $\frac{1}{16}$ do cabo com a modelagem estocástica realizou-se 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{8}$ do cabo mais 4 execuções do código, para a fração de $\frac{1}{4}$ do cabo mais 4 execuções do código, e mais 4 execuções para a fração de $\frac{1}{2}$ do cabo.

A Figura 5.25 apresenta o surgimento de um PAE na ponta esquerda do cabo que propaga na direção da ponta direita do cabo.

Fração do cabo com modelagem estocástica	Início do cabo	Frações do cabo
1/16 (0, 0625 cm)	2	0
1/8 (0, 125 cm)	4	0
1/4 (0, 250 cm)	2	2
1/2 (0,5 cm)	3	1

Tabela 5.6: Estatísticas de propagação do PAE corresponde à configuração C4 com redução da corrente I_{K1} à quarta parte. As simulações foram realizadas em um cabo de células com 1 cm, cada célula do cabo contendo $100\mu m$ por 2 ms. Na primeira coluna da tabela observa-se a variação da porção do cabo que é simulada com a modelagem estocástica. A segunda coluna da Tabela contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando da ponta do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do cabos reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo.

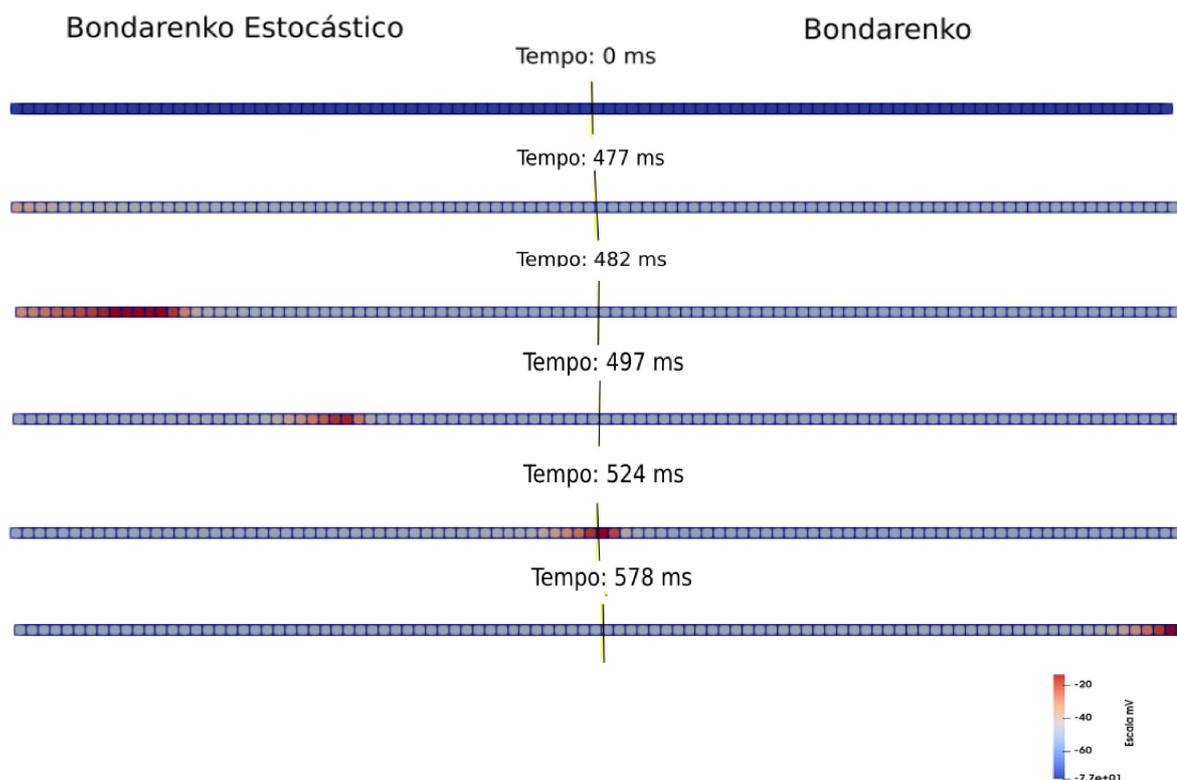


Figura 5.24: Momento da propagação de um PAE pelo cabo de células de 1 cm de extensão em uma simulação de 2s, ou seja, instantes da formação da extrasístole. No tempo igual 477 ms na parte inicial esquerda do cabo tem-se o início da propagação de um PAE. No tempo igual a 482 ms o PAE vai expandindo e propagando pelo restante do cabo, mantendo na fração do cabo com modelagem estocástica. No tempo igual a 497 ms a propagação se mantém ainda na fração do cabo que está sendo executada a modelagem estocástica. No tempo igual a 524 ms o PAE propaga para a fração do cabo que está com a modelagem determinística, instante da formação da extrasístole. No tempo igual a 578 ms ocorre o final desta propagação pelo cabo. A onda ectópica propaga pelo cabo numa velocidade de 10,2 cm/s.

É importante verificar o formato e a amplitude do PAE que está sendo gerado no cabo de células, para isso pode-se observar a seguinte Figura 5.25.

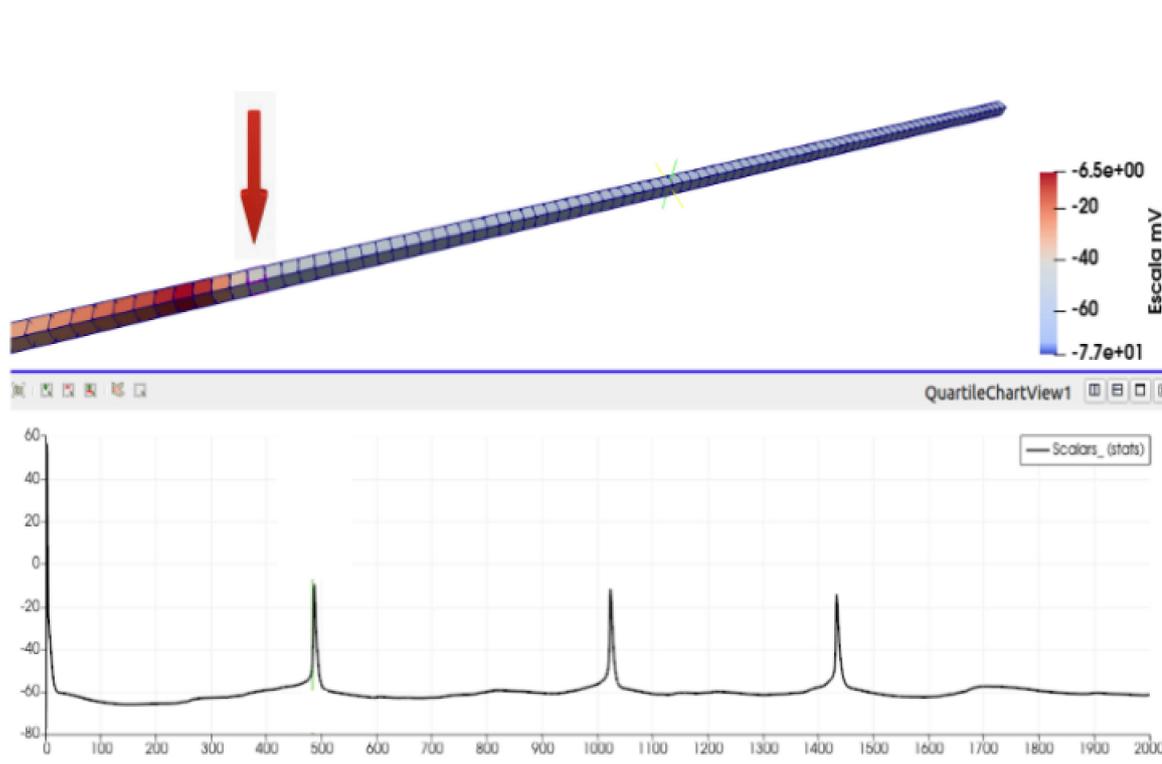


Figura 5.25: PAE de uma célula do cabo para verificar a amplitude e formato. Numa simulação de 2000 ms a célula selecionada no cabo reproduziu 3 PAE's com a amplitude em torno de aproximadamente 10 mV e no $t = 1700$ ms um DAD.

5.7 Resultados da Geometria do Funil Selado estendido para 2 dimensões

Os experimentos realizados de acordo com a Figura 4.5 mostraram que foi possível reproduzir a extrassístole com a geometria escolhida. Simulando o comportamento da onda ectópica em uma região PZ, iniciando em um cabo de células e expandindo para regiões maiores do tecido, a parte unidimensional da geometria escolhida representa o labirinto de células, onde o pulso ectópico inicia e propaga para a parte que se estende numa região retangular de 5 células por 3 células, correspondendo a áreas maiores da região PZ. Ao testar a geometria da Figura 4.5 contendo apenas 6 células na parte

unidimensional, 0,0625 cm, não foi possível observar a propagação da extrassístole. A parte unidimensional com 6 células corresponde a $1/16$ avos do cabo. Desta forma, outros testes foram realizados aumentando o número de células do cabo. Com 12 células, aproximadamente 0,125 cm, $1/8$ do cabo, em que foi possível observar a formação da extrassístole conforme a Figura 5.26 a seguir.

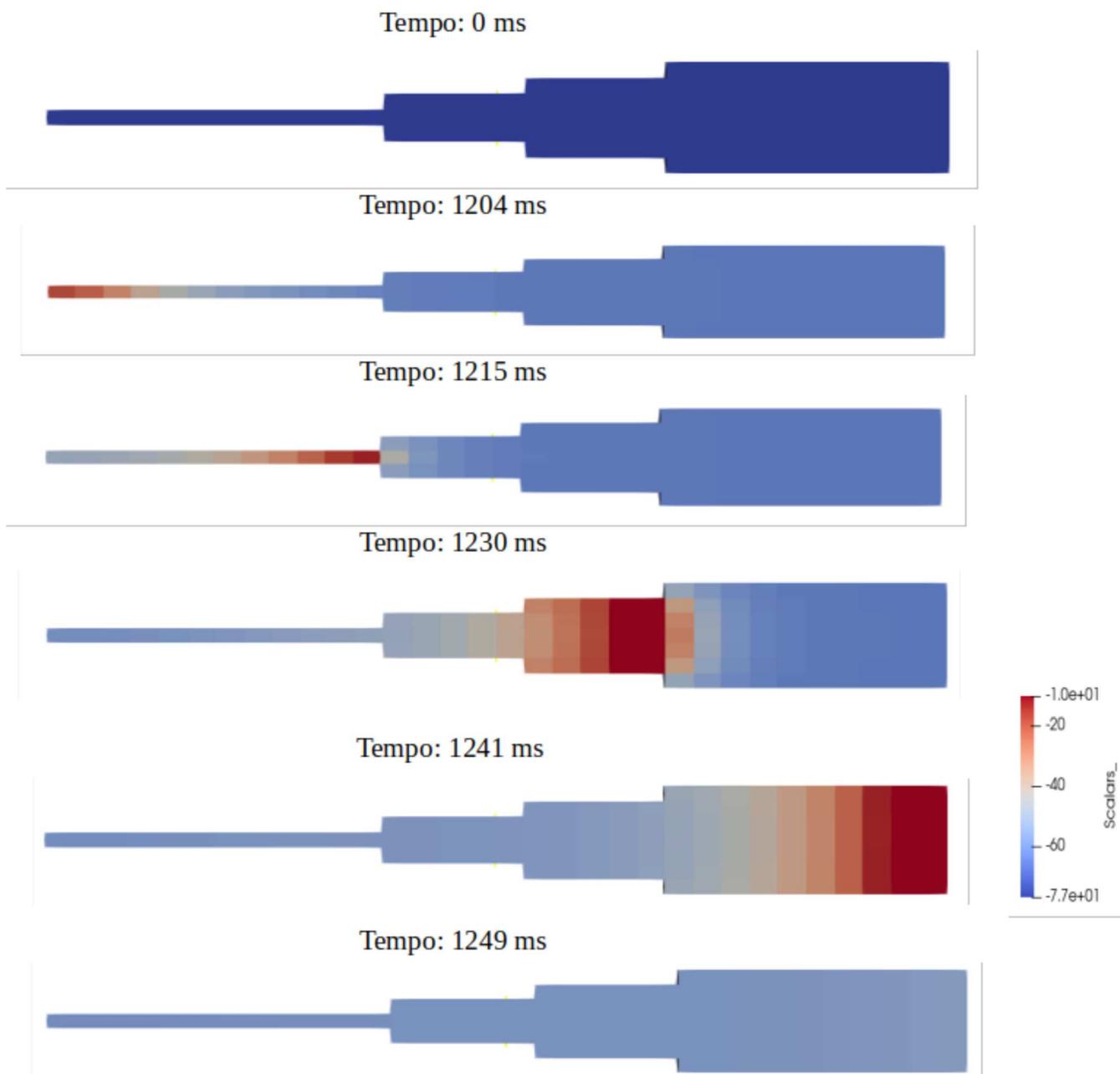


Figura 5.26: Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 1204 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 1215 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 1215 ms até 1249 ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 7, 22 cm/s.

Posteriormente, o número de células do cabo foi aumentado para 25, aproximadamente 0,250 cm, o que corresponde a 1/4 do cabo. Nestes experimentos também foi possível observar a formação do PAE e a propagação pela geometria do FS conforme a Figura

5.27.

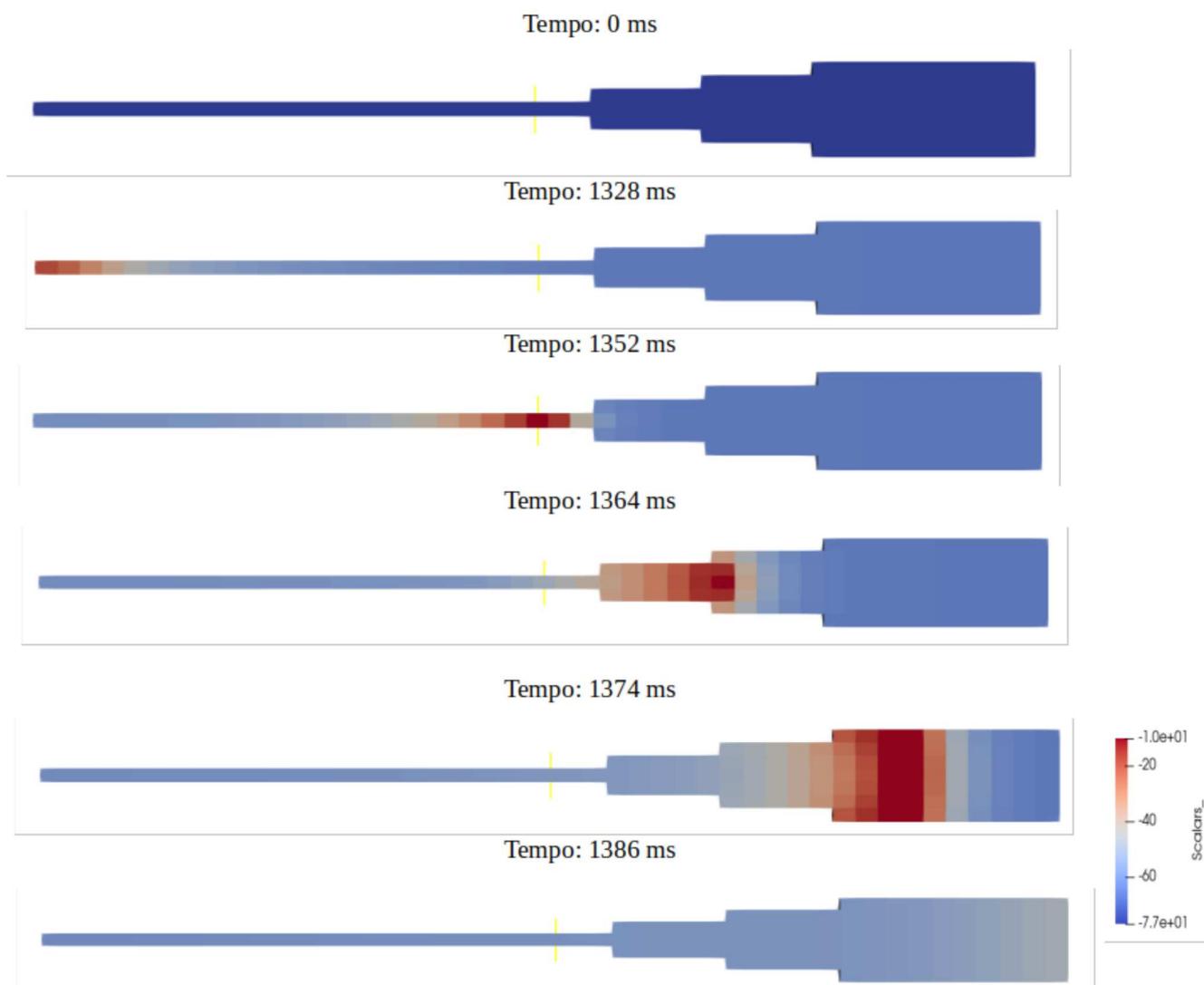


Figura 5.27: Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 1328 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 1352 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 1364 ms até 1386 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 7,76 cm/s.

Novamente o número de células do cabo foi aumentado para 50, aproximadamente 0,5 cm, o que corresponde a 1/2 do cabo. Nestes testes também foi possível observar a formação do PAE e a propagação pela geometria do FS conforme a Figura 5.28.

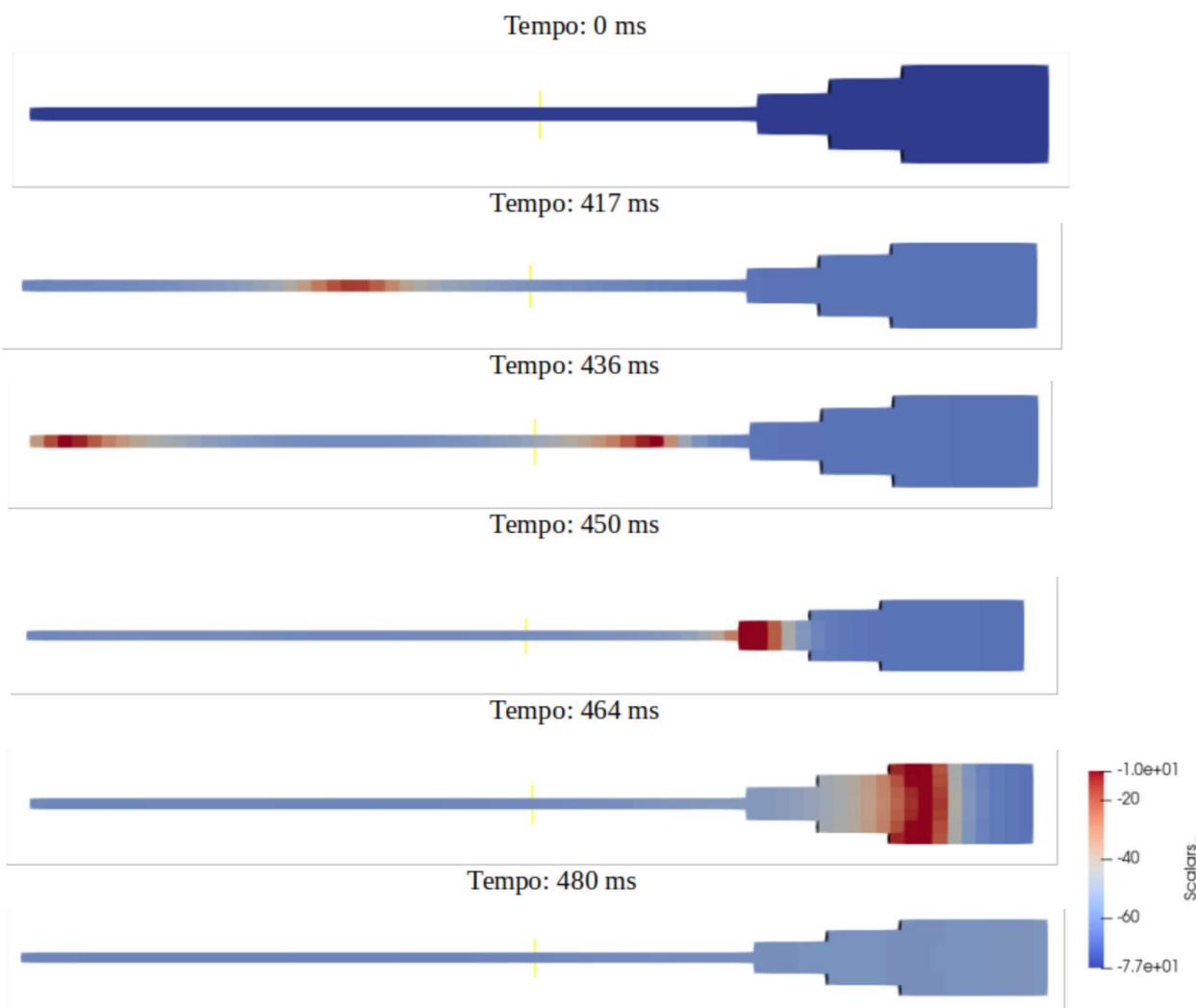


Figura 5.28: Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 417 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 436 ms o PAE se divide em dois e uma parte propaga para a esquerda e a outra parte propaga para a direita. No tempo igual a 450 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 450 ms até 480 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 11, 11 cm/s.

E por último, o número de células do cabo foi aumentado para 100, aproximadamente 1 cm, o que corresponde ao cabo de 100 células. Nestes testes também foi possível observar a formação do PAE e a propagação pela geometria do FS conforme a Figura 5.29.

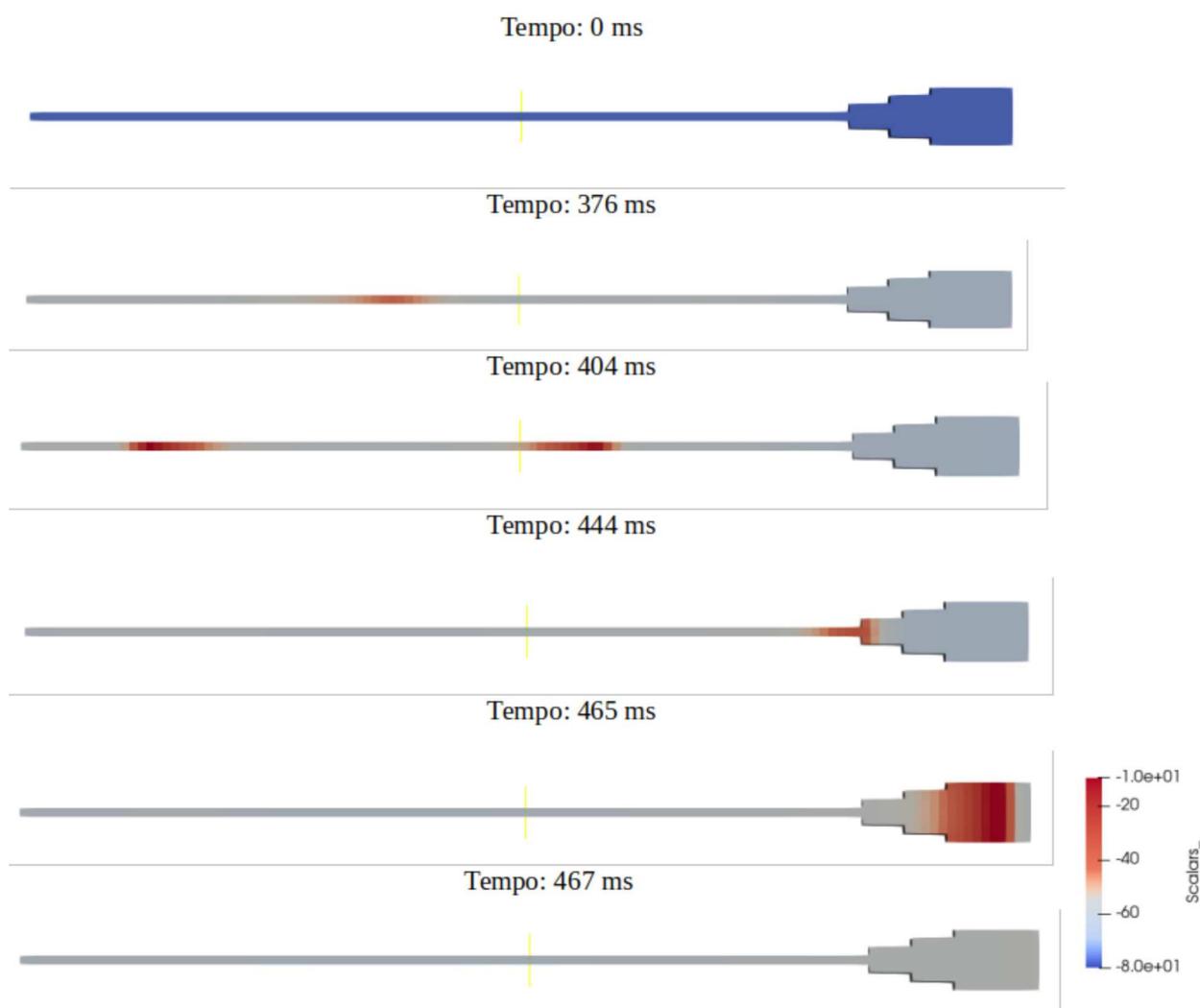


Figura 5.29: Instantes da propagação do PAE pelo cabo de células até a estrutura que se estende para 2 dimensões. No tempo igual a 0 ms a geometria do FS se mantém no estado de repouso. No tempo igual a aproximadamente 376 ms surge um PAE no começo do cabo que propaga da esquerda para a direita. No tempo igual a 404 ms o PAE se divide em dois e uma parte propaga para a esquerda e a outra parte propaga para a direita. No tempo igual a 444 ms o PAE sai da parte estocástica e propaga para a região 2D (parte determinística) do FS, ocorrendo a extrassístole. Do instante 444 ms até 467 ms ocorre a propagação do PAE pela geometria do FS que está com a modelagem determinística. A onda ectópica propaga pelo FS em uma velocidade de 13, 19 cm/s.

A tabela 5.7 possui as estatísticas de quantos PAE's começaram da ponta do cabo e quantos começaram de frações do cabo. Foram apenas 10 simulações, mas já foi possível perceber que há uma variação da localização em que o PAE se inicia.

Tamanho inicial do cabo	PAE surge do início	PAE surge de frações	Não houve PAE
0,0625 cm	0	0	2
0,1250 cm	2	0	0
0,2500 cm	1	1	0
0,5000 cm	0	2	0
1,0000 cm	1	1	0

Tabela 5.7: Estatísticas da quantidade de simulações da propagação do PAE correspondente as simulações realizadas com a geometria do Funil Selado. A primeira coluna da Tabela informa o tamanho inicial do cabo com modelagem estocástica. A segunda coluna contabiliza quantas simulações do FS reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir do início do cabo. A terceira coluna contabiliza quantas simulações do FS reproduziram a primeira propagação do PAE iniciando a partir de meados (frações) do cabo. A quarta coluna informa quantas simulações não geraram PAE.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A modelagem estocástica resultante do acoplamento dos modelos de Chen et al. (2011) ao modelo de Bondarenko (2014) adaptada por Magalhães (2014) passou por muito ajustes, sendo que o primeiro deles se concentrou na ideia de reproduzir os PCEs na presença de isoproterenol sem a mutação em média 3% das vezes validando a modelagem de acordo com os dados experimentais de Brunello et al. (2013).

A pesquisa relacionada a compreensão dos fenômenos eletrofisiológicos relacionados ao coração e suas cardiopatias já existe há muitos anos. A modelagem de fenômenos como a propagação elétrica do coração e mecanismos afim de aperfeiçoar a compreensão das patologias cardíacas, do comportamento elétrico e bioquímico estão em constante evolução. Para garantir a homeostase celular do tecido cardíaco toda a eletrofisiologia e bioquímica celular deve funcionar de forma saudável, síncrona. O surgimento de uma extrassístole pode desencadear batidas ectópicas e arritmias capazes de levar um indivíduo ao óbito.

Um novo mecanismo associado ao modelo matemático adaptado por Magalhães (2014) foi desenvolvido para melhor descrever todas as características da extrassístole ventricular, conhecido como funil selado. Para isso, inicialmente é preciso compreender toda a complexidade da formação de um Pulso de Cálcio Espontâneo e de um Potencial de Ação Espontâneo que ocorrem devido à Liberação Espontânea de Cálcio pelo Retículo Sarcoplasmático a nível de uma única célula. Simular a LCE não é algo simples, um evento estocástico conta também com uma modelagem desenvolvida através do acoplamento de dois modelos celulares, o modelo de Bondarenko (2014) e o modelo de Chen et al. (2011). Outra tarefa bastante complexa foi ajustar a modelagem afim de conseguir reproduzir os PAE's, que só foram observados em resposta a um estímulo beta-adrenérgico e em condições que se fizeram necessárias, o ajuste de parâmetros, capazes de reproduzir as patologias associadas ao aumento da expressão da corrente trocadora I_{NCX} . No capítulo de resultados é possível acompanhar os testes e as inúmeras execuções do código que

possibilitaram a escolha das configurações C1 e C4, permitindo um avanço nos estudos em relação a extrassístole, avanço este que se dá também na escala de estudos, saindo do nível celular para o nível de tecido. Deu-se início a outra tarefa complexa: estabelecer as condições necessárias para simular a propagação de um PAE pelo tecido cardíaco e de fato gerar uma extrassístole. O mecanismo chamado funil selado foi desenvolvido considerando a princípio um conjunto de 100 células, contendo $100 \mu M$ cada, ou seja um cabo de 1 cm. Outra análise de sensibilidade tornou-se necessária e a propagação do potencial de ação só ocorreu quando a excitabilidade celular foi aumentada, por exemplo via diminuição da expressão de canais iônicos do tipo I_{K1} , os testes realizados consideraram a arquitetura do cabo de células dividida em respectivas frações, $1/16$ (0,0625 cm), $1/8$ (0,125 cm), $1/4$ (0,250 cm) e $1/2$ (0,5 cm) com a modelagem estocástica e frações do cabo com a modelagem determinística. Os últimos testes realizados mostraram que só foi possível simular a extrassístole utilizando as configurações C1 e C4, reduzindo I_{K1} à quarta parte. A extrassístole foi observada em todas as divisões de frações do cabo, inclusive nos testes em que apenas 0,0625 cm do cabo estava com a modelagem estocástica. Um PAE ocorre na fração do cabo que está com a modelagem estocástica e no momento em que ele propaga para a região determinística tem-se a extrassístole. Desta forma, a fração do cabo que possui a modelagem estocástica simula a região do funil selado, região que simula um labirinto formado na região ZP e a outra fração do cabo, com a modelagem determinística simula a parte saudável do tecido. Maiores detalhes das simulações podem ser observados na seção de resultados. A região escolhida denominada funil selado proporcionou o sucesso das simulações em duas dimensões, desde que o PAE comece em uma região unidimensional e expanda para regiões em duas dimensões de forma gradual, assim como foi determinado na seção dos Métodos. Uma das maiores dificuldades encontradas para simular a extrassístole foi a geometria ideal para a propagação, pois em testes realizados anteriormente, com geometrias regulares não era possível simular a extrassístole, não havia propagação. O tecido funcionava como um sumidouro e o pulso ectópico iniciado por uma única célula era absorvido pelas demais que estavam tentando manter a homeostase celular. O mecanismo do funil selado foi a geometria ideal que

permitiu simular a extrassístole propagando pelo tecido que representa uma região ZP. As geometria do funil selado foi a microestrutura ideal para simular a extrassístole com a modelagem adaptada. É possível observar nos testes iniciais, na seção de Resultados, que quanto maior o comprimento do cabo com modelagem estocástica, maior é a velocidade de propagação do PAE. Mais estudos precisam ser realizados para aproximar a velocidade de propagação do modelo, da velocidade para humanos, que segundo Taggart et al. (2000) é de 68cm/s desta forma, os dados ficarão fisiologicamente ajustados. A conclusão deste trabalho se dá pela comprovação de que a propagação do PAE no tecido em condições particulares, só ocorre quando células ativas estão cercadas pelo tecido não condutivo presente nas regiões ZP. Finalmente, todas essas condições para a geração de uma extrassístole podem ser satisfeitas em cardiopatias bem descritas e conhecidas, como no do infarto e da cardiomiopatia hipertrófica, em particular nas bordas de regiões fibróticas ou necróticas. Portanto, o presente estudo contribui para uma melhor compreensão dos complexos mecanismos que estão relacionados à gênese de arritmias fatais e responde a questão científica sobre apenas 1 cardiomiócito influenciar todo o tecido, os resultados mostraram que precisa-se de mais cardiomiócitos, com TCE bem sincronizados para simular a propagação da onda pelo tecido. A nível de tecido o mecanismo de funil selado mostrou que ondas ectópicas surgem a partir de células isoladas em regiões PZ, iniciando em um cabo (“labirinto”) e propagando para extensões maiores do tecido, funcionando como uma fonte, dando início às extrassístoles associadas a patologias.

6.1 Trabalhos Futuros

Apresenta-se, a seguir, uma relação dos desenvolvimentos previstos para a continuidade da pesquisa. Entre os principais desenvolvimentos destacam-se:

Fazer uma nova análise de sensibilidade afim de verificar exatamente quantas células do cabo estão gerando o PAE. Quantificar as células do cabo e verificar quantas estão contribuindo para o sincronismo.

Explorar as condutividades do tecido em um campo mais aleatório, visto que as condutividades utilizadas foram iguais em todas as direções como pode ser visto na seção

de Métodos. A heterogeneidade das condutividades irá dificultar a propagação do PAE, verificar como isso influência na propagação pelo tecido.

Testar novas configurações do tecido, além do cabo e funil. Adaptar a velocidade de propagação para ficar fisiologicamente consistente, validando os resultados. Ajustar a velocidade de propagação e comparar com os dados de humanos apresentados por Taggart et al. (2000).

6.2 Publicações

Capítulo de livro publicado em revista:

Santo D.P.M.E., dos Santos R.W., Leite S.C., Novaes G.M., Campos F.O., Bondarenko V.E. (2015) Simulations of Spontaneous Action Potentials via the Combination of β -Adrenergic Stimulation and NCX Mutation in Cardiac Myocytes of Mouse Left Ventricle. In: Braidot A., Hadad A. (eds) VI Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2014, Paraná, Argentina 29, 30 & 31 October 2014. IFMBE Proceedings, vol 49. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-319-13117-7169. ISSN: 1680-0737. Interdisciplinar B3.

Artigo publicado em revista (anais do evento):

Magalhães, D.P.; dos Santos, RW. ANÁLISE DE FATORES QUE CONTRIBUEM PARA A GERAÇÃO DE UM POTENCIAL DE AÇÃO ESPONTÂNEO. Volume 12 – Nº 135 – Março / 2017. XXXVI International Sodebrás Congress 08 a 10 de dezembro de 2016. ISSN 1809-3957. Interdisciplinar B3.

Referências Bibliográficas

- S. Adachi-Akahane, L. Lu, Z. Li, J. Frank, K. D. Philipson, and M. Morad. Calcium signaling in transgenic mice overexpressing cardiac $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ exchanger. *The Journal of general physiology*, 109(6):717–729, 1997.
- B. Alberts, D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. *Essential cell biology*. Garland Science, 2003.
- M. A. Allesie, F. I. Bonke, and F. J. Schopman. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. *Circulation research*, 41(1):9–18, 1977.
- S. Alonso and M. Bär. Reentry near the percolation threshold in a heterogeneous discrete model for cardiac tissue. *Physical review letters*, 110(15):158101, 2013.
- S. Alonso, R. Kapral, and M. Bär. Effective medium theory for reaction rates and diffusion coefficients of heterogeneous systems. *Physical review letters*, 102(23):238302, 2009.
- S. Alonso, M. Bär, and B. Echebarria. Nonlinear physics of electrical wave propagation in the heart: a review. *Reports on Progress in Physics*, 79(9):096601, 2016a.
- S. Alonso, R. W. dos Santos, and M. Bar. Reentry and ectopic pacemakers emerge in a three-dimensional model for a slab of cardiac tissue with diffuse microfibrosis near the percolation threshold. *PloS one*, 11(11):e0166972, 2016b.
- K. N. Aronis, R. Ali, and N. A. Trayanova. The role of personalized atrial modeling in understanding atrial fibrillation mechanisms and improving treatment. *International journal of cardiology*, 287:139–147, 2019.

- A. Baker. The effects of thoracic sympathectomy in humans, 2014. URL <http://corposcindosis.blogspot.com.br/2013/05/the-heart.html>. [Acessado em 11 de março de 2017].
- M. Bär and M. Eiswirth. Turbulence due to spiral breakup in a continuous excitable medium. *Physical Review E*, 48(3):R1635, 1993.
- B. G. d. Barros. Simulações computacionais de arritmias cardíacas em ambientes de computação de alto desempenho do tipo multi-gpu. Master's thesis, PPGMC/UFJF, Juiz de Fora, JF, Brasil, 2013.
- J.-P. Benitah, J. L. Alvarez, and A. M. Gómez. L-type Ca^{2+} current in ventricular cardiomyocytes. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 48(1):26–36, 2010.
- D. Bers. *Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force*, volume 237. Springer Science & Business Media, 2001.
- D. M. Bers. Calcium and cardiac rhythms: physiological and pathophysiological. *Circulation research*, 90(1):14–17, 2002a.
- D. M. Bers. Cardiac excitation–contraction coupling. *Nature*, 415(6868):198–205, 2002b.
- D. M. Bers. Altered cardiac myocyte Ca^{2+} regulation in heart failure. *Physiology*, 21(6):380–387, 2006.
- V. E. Bondarenko. A compartmentalized mathematical model of the β_1 -adrenergic signaling system in mouse ventricular myocytes. *PLOS ONE*, 9(e89113):01–35, 2014.
- P. Bousquet, J. Feldman, and J. Schwartz. Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 230(1):232–236, 1984.
- L. Brunello, J. L. Slabaugh, P. B. Radwański, H.-T. Ho, A. E. Belevych, Q. Lou, H. Chen, C. Napolitano, F. Lodola, S. G. Priori, et al. Decreased ryr2 refractoriness determines myocardial synchronization of aberrant Ca^{2+} release in a genetic model of arrhythmia.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110 (25):10312, 2013.
- F. O. Campos, T. Wiener, A. J. Prassl, R. W. dos Santos, D. Sánchez-Quintana, H. Ahammer, G. Plank, and E. Hofer. Electroanatomical characterization of atrial microfibrosis in a histologically detailed computer model. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 60(8):2339–2349, 2013.
- J. d. O. Campos. Método de lattice boltzmann para simulação da eletrofisiologia cardíaca em paralelo usando gpu. Master’s thesis, PPGMC/UFJF, Juiz de Fora, JF, Brasil, 2015.
- R. S. Campos et al. Modelagem eletromecânica do coração com autômato celular e sistemas massa-mola. 2016.
- D. Chemla, C. Coirault, J.-L. Hébert, and Y. Lecarpentier. Mechanics of relaxation of the human heart. *Physiology*, 15(2):78–83, 2000.
- P.-S. Chen, A. Garfinkel, J. N. Weiss, and H. S. Karagueuzian. Spirals, chaos, and new mechanisms of wave propagation. *Pacing and clinical electrophysiology*, 20(2):414–421, 1997.
- W. Chen, G. Aistrup, J. A. Wasserstrom, and Y. Shiferaw. A mathematical model of spontaneous calcium release in cardiac myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(5):H1794, 2011.
- H. Cheng, W. Lederer, and M. B. Cannell. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science*, 262(5134):740–744, 1993.
- D. Clapham, A. Shrier, and R. DeHaan. Junctional resistance and action potential delay between embryonic heart cell aggregates. *The Journal of General Physiology*, 75(6):633–654, 1980.
- S. D. Cohen, A. C. Hindmarsh, and P. F. Dubois. Cvode, a stiff/nonstiff ode solver in c. *Computers in physics*, 10(2):138–143, 1996.

- G. M. Cooper. *The Cell: A Molecular Approach*. Boston University, 2000.
- M. Danciu, M.-S. Mihailovici, A. Dima, and C. Cucu. Atlas of pathology, 2014. URL <http://www.pathologyatlas.ro/index.php>. [Acessado em 17 de março de 2017].
- J. M. Davidenko, A. V. Pertsov, et al. Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac muscle. *Nature*, 355(6358):349, 1992.
- R. Davini, L. Ribeiro, J. Prado, L. Martins, R. Golfetti, and L. Gallo Junior. Frequencia cardíaca de repouso e modulação parassimpática cardíaca em atletas idosos e idosos fisicamente ativos. *Revista de Ciências Médicas. Campinas*, 13(4):307–15, 2004.
- M. R. Di Barletta, S. Viatchenko-Karpinski, A. Nori, M. Memmi, D. Terentyev, F. Turcato, G. Valle, N. Rizzi, C. Napolitano, S. Gyorke, et al. Clinical phenotype and functional characterization of casq2 mutations associated with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation*, 114(10):1012–1019, 2006.
- G. Dispersyn, L. Mesotten, B. Meuris, A. Maes, L. Mortelmans, W. Flameng, F. Ramaekers, and M. Borgers. Dissociation of cardiomyocyte apoptosis and dedifferentiation in infarct border zones. *European heart journal*, 23(11):849–857, 2002.
- I. R. Efimov, V. Sidorov, Y. Cheng, and B. Wollenzier. Evidence of three-dimensional scroll waves with ribbon-shaped filament as a mechanism of ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 10(11):1452–1462, 1999.
- G. M. Faber and Y. Rudy. Calsequestrin mutation and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: a simulation study of cellular mechanism. *Cardiovascular research*, 75(1):79–88, 2007.
- D. W. Fawcett and N. S. McNutt. The ultrastructure of the cat myocardium. *The Journal of Cell Biology*, 42(1):1–45, 1969.
- F. H. Fenton, E. M. Cherry, H. M. Hastings, and S. J. Evans. Multiple mechanisms of

- spiral wave breakup in a model of cardiac electrical activity. *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 12(3):852–892, 2002.
- G. R. Ferrier, J. H. Sounders, and C. Mendez. A cellular mechanism for the generation of ventricular arrhythmias by acetylcholine. *Circulation research*, 32(5):600–609, 1973.
- M. L. Foss, S. J. Keteyian, and G. Taranto. *Fox: bases fisiológicas do exercício e do esporte*. Guanabara Koogan, 2000.
- R. F. Gilmour and S. Moïse. Triggered activity as a mechanism for inherited ventricular arrhythmias in german shepherd dogs. *Journal of the American College of Cardiology*, 27(6):1526–1533, 1996.
- B. Gouvêa de Barros, R. Weber dos Santos, M. Lobosco, and S. Alonso. Simulation of ectopic pacemakers in the heart: multiple ectopic beats generated by reentry inside fibrotic regions. *BioMed Research International*, 2015.
- W. F. Graier, M. Frieden, and R. Malli. Mitochondria and Ca^{2+} signaling: old guests, new functions. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 455(3):375–396, 2007.
- S. Guatimosim, K. Dilly, L. F. Santana, M. S. Jafri, E. A. Sobie, and W. Lederer. Local Ca^{2+} signaling and decoupling in heart : Ca^{2+} sparks and the regulation of the Ca^{2+} transient. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 34(8) : 941 – 950, 2002.
- A. C. Guyton and J. E. Hall. *Fundamentos de Guyton: tratado de fisiologia médica*. Guanabara koogan, 2002.
- T. J. Herron, M. L. Milstein, J. Anumonwo, S. G. Priori, and J. Jalife. Purkinje cell calcium dysregulation is the cellular mechanism that underlies catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm*, 7(8):1122–1128, 2010.
- M. Ibrahim, J. Gorelik, M. H. Yacoub, and C. M. Terracciano. The structure and function

- of cardiac t-tubules in health and disease. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278(1719):2714–2723, 2011.
- V. Jacquemet and C. S. Henriquez. Genesis of complex fractionated atrial electrograms in zones of slow conduction: a computer model of microfibrosis. *Heart Rhythm*, 6(6):803–810, 2009.
- M. J. Janse. Electrophysiological changes in heart failure and their relationship to arrhythmogenesis. *Cardiovascular research*, 61(2):208–217, 2004.
- A. Karma. Spiral breakup in model equations of action potential propagation in cardiac tissue. *Physical review letters*, 71(7):1103, 1993.
- J. P. Keener and J. Sneyd. *Mathematical physiology*, volume 8. Springer, 1998.
- B. C. Knollmann, N. Chopra, T. Hlaing, B. Akin, T. Yang, K. Eттensohn, B. E. Knollmann, K. D. Horton, N. J. Weissman, I. Holinstat, et al. Casq2 deletion causes sarcoplasmic reticulum volume increase, premature ca²⁺ release, and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *The Journal of clinical investigation*, 116(9):2510–2520, 2006.
- T. Kobayashi and R. J. Solaro. Calcium, thin filaments, and the integrative biology of cardiac contractility. *Annu. Rev. Physiol.*, 67:39–67, 2005.
- K. Kochetkov, V. Kazachenko, O. Aslanidi, N. Chemeris, and A. Gapeyev. Non-markovian gating of ca²⁺-activated k⁺ channels in cultured kidney cells vero. rescaled range analysis. *Journal of biological physics*, 25(2-3):211–222, 1999.
- C. Lamont, P. W. Luther, C. W. Balke, and W. G. Wier. Intercellular ca²⁺ waves in rat heart muscle. *The Journal of physiology*, 512(3):669–676, 1998.
- M. Li, Y. Jiang, W. Jing, B. Sun, C. Miao, and L. Ren. Quercetin provides greater cardioprotective effect than its glycoside derivative rutin on isoproterenol-induced cardiac fibrosis in the rat. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 91(11):951–959, 2013.

- M. J. Lohse, S. Engelhardt, and T. Eschenhagen. What is the role of β -adrenergic signaling in heart failure? *Circulation research*, 93(10):896–906, 2003.
- C. Maack and B. O'Rourke. Excitation-contraction coupling and mitochondrial energetics. *Basic research in cardiology*, 102(5):369–392, 2007.
- A. Madamanchi. Beta-adrenergic receptor signaling in cardiac function and heart failure. *McGill Journal of Medicine*, 10(2):99, 2007.
- D. Magalhães. Simulação de potencial de ação espontâneo em miócitos cardíacos do ventrículo esquerdo de camundongos. Master's thesis, Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós Graduação em Modelagem Computacional, Curso de Mestrado em Modelagem Computacional, Juiz de Fora, 2014.
- A. Mahajan, Y. Shiferaw, D. Sato, A. Baher, R. Olcese, L.-H. Xie, M.-J. Yang, P.-S. Chen, J. G. Restrepo, A. Karma, et al. A rabbit ventricular action potential model replicating cardiac dynamics at rapid heart rates. *Biophysical journal*, 94(2):392–410, 2008.
- A. V. Maltsev, V. A. Maltsev, M. Mikheev, L. A. Maltseva, S. G. Sirenko, E. G. Lakatta, and M. D. Stern. Synchronization of stochastic Ca^{2+} release units creates a rhythmic Ca^{2+} clock in cardiac pacemaker cells. *Biophysical journal*, 100(2):271–283, 2011.
- A. R. Marks. Calcium and the heart: a question of life and death. *The Journal of clinical investigation*, 111(5):597–600, 2003.
- R. S. Mazzeo, P. Cavanagh, W. J. Evans, M. Fiatarone, J. Hagberg, E. McAuley, and J. Startzell. Exercise and physical activity for older adults. *Medicine and science in sports and exercise*, 30(6):992–1008, 1998.
- W. D. McArdle, F. I. KATCH, and V. L. KATCH. Fisiologia do exercício: Energia. *Nutrição e Desempenho Humano*, 5, 1998.
- L. K. McCorry. Physiology of the autonomic nervous system. *American journal of pharmaceutical education*, 71(4):78, 2007.

- N. S. McNutt. Ultrastructure of the myocardial sarcolemma. *Circulation Research*, 37(1): 1–13, 1975.
- S. Mechmann and L. Pott. Identification of na-ca exchange current in single cardiac myocytes. 1986.
- M. Michalak and M. Opas. Endoplasmic and sarcoplasmic reticulum in the heart. *Trends in cell biology*, 19(6):253–259, 2009.
- S. Morotti, A. Edwards, A. McCulloch, D. M. Bers, and E. Grandi. A novel computational model of mouse myocyte electrophysiology to assess the synergy between na⁺ loading and camkii. *The Journal of physiology*, 592(6):1181–1197, 2014.
- P. R. d. Moura and F. A. P. Vidal. Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína g. *Scientia Medica (Porto Alegre)*, 21(1):31–36, 2011.
- J. M. Nerbonne and R. S. Kass. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiological reviews*, 85(4):1205–1253, 2005.
- E. Niggli. Ca²⁺ sparks in cardiac muscle: is there life without them? *Physiology*, 14(4): 129–134, 1999.
- D. Noble. Influence of na/ca exchange stoichiometry on model cardiac action potentials. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 976(1):133–136, 2002.
- M. C. Nowycky, A. P. Fox, and R. W. Tsien. Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity. *Nature*, 316(6027):440–443, 1985.
- R. S. Oliveira, S. Alonso, F. O. Campos, B. M. Rocha, J. F. Fernandes, T. Kuehne, and R. W. Dos Santos. Ectopic beats arise from micro-reentries near infarct regions in simulations of a patient-specific heart model. *Scientific reports*, 8(1):1–14, 2018a.
- R. S. Oliveira, B. Martins Rocha, D. Burgarelli, W. Meira Jr, C. Constantinides, and R. Weber dos Santos. Performance evaluation of gpu parallelization, space-time adaptive algorithms, and their combination for simulating cardiac electrophysiology. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 34(2):e2913, 2018b.

- C. Orchard, D. Eisner, and D. Allen. Oscillations of intracellular ca^{2+} ; in mammalian cardiac muscle. 1983.
- C. J. Palmer, B. Scott, and L. Jones. Purification and complete sequence determination of the major plasma membrane substrate for camp-dependent protein kinase and protein kinase c in myocardium. *Journal of Biological Chemistry*, 266(17):11126–11130, 1991.
- A. Panfilov and P. Hogeweg. Spiral breakup in a modified fitzhugh-nagumo model. *Physics Letters A*, 176(5):295–299, 1993.
- J. M. Pastore, S. D. Girouard, K. R. Laurita, F. G. Akar, and D. S. Rosenbaum. Mechanism linking t-wave alternans to the genesis of cardiac fibrillation. *Circulation*, 99(10):1385–1394, 1999.
- C. Pott, K. D. Philipson, and J. I. Goldhaber. Excitation–contraction coupling in na^{+} – ca^{2+} exchanger knockout mice. *Circulation research*, 97(12):1288–1295, 2005.
- C. Pott, J. I. Goldhaber, and K. D. Philipson. Homozygous overexpression of the na^{+} – ca^{2+} exchanger in mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1099(1):310–314, 2007.
- C. Pott, A. Muszynski, M. Ruhe, N. Bögeholz, J. S. Schulte, P. Milberg, G. Mönnig, L. Fabritz, J. I. Goldhaber, G. Breithardt, et al. Proarrhythmia in a non-failing murine model of cardiac-specific na^{+}/ca^{2+} exchanger overexpression: whole heart and cellular mechanisms. *Basic research in cardiology*, 107(2):1–13, 2012.
- S. K. Powers, E. T. Howley, M. Ikeda, F. Navarro, and R. F. P. Bacurau. *Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho*. 2000.
- A. Pumir, F. Plaza, and V. I. Krinsky. Control of rotating waves in cardiac muscle: analysis of the effect of an electric field. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 257(1349):129–134, 1994.
- A. Pumir, A. Arutunyan, V. Krinsky, and N. Sarvazyan. Genesis of ectopic waves: role of coupling, automaticity, and heterogeneity. *Biophysical journal*, 89(4):2332–2349, 2005.

- Z. Qu, A. Garfinkel, and J. N. Weiss. Vulnerable window for conduction block in a one-dimensional cable of cardiac cells, 1: single extrasystoles. *Biophysical journal*, 91(3):793–804, 2006.
- D. M. Roden, J. R. Balsler, A. L. George Jr, and M. E. Anderson. Cardiac ion channels. *Annual review of physiology*, 64(1):431–475, 2002.
- B. S. Rothberg and K. L. Magleby. Gating kinetics of single large-conductance ca^{2+} -activated k^{+} channels in high ca^{2+} suggest a two-tiered allosteric gating mechanism. *The Journal of general physiology*, 114(1):93–124, 1999.
- F. B. Sachse. Computational cardiology. *Lecture Notes in Computer Science*, 2966, 2004.
- M. S. Santos. Quercetina modula a sinalização do cálcio intracelular em coração de mamífero. Master's thesis, Universidade Federal DE Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Curso de Mestrado em Ciências Fisiológicas, Sergipe, 2016.
- Y. Shiferaw, G. L. Aistrup, and J. A. Wasserstrom. Intracellular ca^{2+} waves, afterdepolarizations, and triggered arrhythmias. *Cardiovascular Research*, 95(3):265, 2012.
- H. K. Simmerman and L. R. Jones. Phospholamban: protein structure, mechanism of action, and role in cardiac function. *Physiological reviews*, 78(4):921–947, 1998.
- K. Sipido, A. Varro, and D. Eisner. Sodium calcium exchange as a target for antiarrhythmic therapy. In *Basis and treatment of cardiac arrhythmias*, pages 159–199. Springer, 2006.
- C. I. Spencer and J. S. Sham. Effects of na^{+}/ca^{2+} exchange induced by sr ca^{2+} release on action potentials and afterdepolarizations in guinea pig ventricular myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 285(6):H2552–H2562, 2003.
- M. D. Stern, A. A. Kort, G. M. Bhatnagar, and E. G. Lakatta. Scattered-light intensity fluctuations in diastolic rat cardiac muscle caused by spontaneous ca^{++} -dependent cellular mechanical oscillations. *The Journal of General Physiology*, 82(1):119–153, 1983.

- P. Taggart, P. M. Sutton, T. Opthof, R. Coronel, R. Trimlett, W. Pugsley, and P. Kallis. Inhomogeneous transmural conduction during early ischaemia in patients with coronary artery disease. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 32(4):621–630, 2000.
- K. H. Ten Tusscher and A. V. Panfilov. Cell model for efficient simulation of wave propagation in human ventricular tissue under normal and pathological conditions. *Physics in Medicine & Biology*, 51(23):6141, 2006.
- D. Terentyev, S. Viatchenko-Karpinski, I. Györke, P. Volpe, S. C. Williams, and S. Györke. Calsequestrin determines the functional size and stability of cardiac intracellular calcium stores: mechanism for hereditary arrhythmia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20):11759–11764, 2003.
- P. C. Ursell, P. I. Gardner, A. Albala, J. J. Fenoglio, and A. L. Wit. Structural and electrophysiological changes in the epicardial border zone of canine myocardial infarcts during infarct healing. *Circulation Research*, 56(3):436–451, 1985.
- S. Viatchenko-Karpinski and S. Györke. Modulation of the ca^{2+} -induced ca^{2+} release cascade by β -adrenergic stimulation in rat ventricular myocytes. *The Journal of physiology*, 533(3):837–848, 2001.
- J. A. Wasserstrom, Y. Shiferaw, W. Chen, S. Ramakrishna, H. Patel, J. E. Kelly, M. J. O’Toole, A. Pappas, N. Chirayil, N. Bassi, et al. Variability in timing of spontaneous calcium release in the intact rat heart is determined by the time course of sarcoplasmic reticulum calcium load novelty and significance. *Circulation research*, 107(9):1117–1126, 2010.
- W. Wier, M. Cannell, E. Marban, W. Lederer, et al. Cellular and subcellular heterogeneity of $[ca^{2+}]_i$ in single heart cells revealed by fura-2. *Science*, 235(4786):325–328, 1987.
- A. Winfree. *The geometry of biological time* springer verlag (berlin). 2001.
- A. L. Wit and M. R. Rosen. Pathophysiologic mechanisms of cardiac arrhythmias. *American heart journal*, 106(4):798–811, 1983.

- S. S. Wong, A. L. Bassett, J. S. Cameron, K. Epstein, P. Kozlovskis, and R. J. Myerburg. Dissimilarities in the electrophysiological abnormalities of lateral border and central infarct zone cells after healing of myocardial infarction in cats. *Circ Res*, 51(4):486–493, 1982.
- E. A. Woodcock and S. J. Matkovich. Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(9):1746–1751, 2005.
- Y. Xie, D. Sato, A. Garfinkel, Z. Qu, and J. N. Weiss. So little source, so much sink: requirements for afterdepolarizations to propagate in tissue. *Biophysical journal*, 99(5):1408–1415, 2010.
- Q. Yang, M. E. Cogswell, W. D. Flanders, Y. Hong, Z. Zhang, F. Loustalot, C. Gillespie, R. Merritt, and F. B. Hu. Trends in cardiovascular health metrics and associations with all-cause and cvd mortality among us adults. *Jama*, 307(12):1273–1283, 2012.

APÊNDICE A - Modelos Celulares

Modelos matemáticos para eletrofisiologia celular são um componente chave na modelagem cardíaca. Eles servem tanto como ferramentas de investigação independentes, para verificar o comportamento de miócitos cardíacos individuais, quanto como um componente essencial da simulação da atividade elétrica do órgão como um todo. Como já foi visto em seções anteriores, o cardiomiócito possui uma membrana que separa o meio intracelular do meio extracelular.

A.1 O modelo de Bondarenko (2014)

O modelo de Bondarenko (2014) simula o comportamento bioquímico das proteínas que compõem os canais iônicos acoplado ao comportamento eletrofisiológico. A parte bioquímica foi separada da seguinte forma: receptor β -adrenérgico, adenilil ciclase (AC), Phosphodiesterase, adenosinamonofofato cíclico (cAMP) dependente da proteína kinase A (PKA) (cAMP-PKA), proteínas phosphatases e inibidor-1, dinâmica cAMP e dinâmica PKA. Além disso, a parte que simula a eletrofisiologia foi atualizada para incluir compartimentos funcionais subcelulares principais (caveolae, extracaveolae e citosol). Em particular, o modelo inclui duas subpopulações dos canais de Ca do tipo L, em compartimentos como a caveolae e a extracaveolae, trabalha com as seguintes correntes: I_{CaL} , I_{pCa} , I_{NaCa} , I_{Na} , I_{Cab} , I_{Nab} , I_{NaK} , I_{Ktof} , I_{K1} , I_{Kur} , I_{Kss} , I_{Kr} , I_{ClCa} e I_{stim} como pode ser observado na Figura A.1.

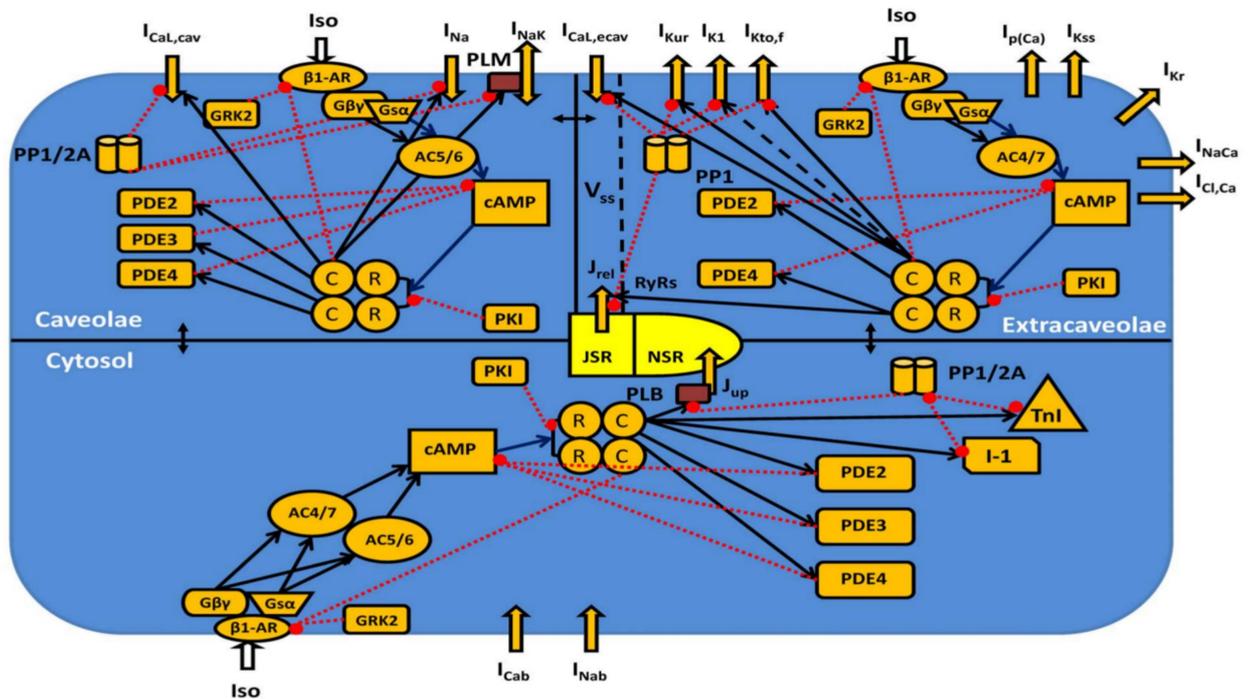


Figura A.1: Representação esquemática do sistema de sinalização β -adrenérgica em miócitos ventriculares de camundongos. As correntes transmembranares são: a corrente de Na rápida (I_{NaCa}), os dois componentes da corrente de Ca do tipo L nos compartimentos caveolae e extracaveolae ($I_{CaL,cav}$ e $I_{CaL,ecav}$ respectivamente), a bomba de Ca sarcolemmal (I_{pCa}), o permutador Na/Ca (I_{NaCa} ou I_{NCX}), a corrente K transitória para fora rapidamente recuperável (I_{Ktof}), a corrente de K retificadora retardada (I_{Kr}), a corrente de ativação ultrarápida (I_{Kur}), a corrente de tensão de K não ativada no estado estacionário (I_{Kss}), a corrente K independente do tempo (I_{K1}), a bomba Na/K (I_{NaK} é regulada por fosfolemam, PLM), as correntes de fundo de Cálcio e Sódio (I_{Cab} e I_{Nab}). Os fluxos de Ca que são a captação de Ca do citosol para o RS da rede (NSR) (J_{up}) pela bomba SERCA e Liberação de Ca do retículo sarcoplasmático juncional (JSR) (J_{rel}) através dos receptores rianodina (RRs). Existem três compartimentos intracelulares no sistema de sinalização β -adrenérgico: caveolae, extracaveolae e citosol. O volume subespaço (V_{ss}) está localizado no domínio da extracaveolae. Os componentes do sistema de sinalização β -adrenérgico são os receptores β -adrenérgicos (β -AR), a subunidade α da proteína G estimulante (G_{sa}), a (G_{bc}), as adenilil-ciclases de tipo 5/6 ou 4/7 (AC5 / 6 ou AC4 / 7, respectivamente), as fosfodiesterases de tipo 2, 3, Ou 4 (PDE2, PDE3 ou PDE4, respectivamente), as subunidades cíclicas AMP (cAMP), reguladoras (R) e catalíticas (C) da holoenzima da proteína quinase A, a proteína Quinase A (PKA), a quinase de receptor acoplada a proteína G de tipo 2 (GRK2), as proteínas fosfatases de tipo 1 ou 2A (PP1 ou PP2A, respectivamente) O inibidor-1 (I-1). As proteínas citosólicas que são os substratos do sistema de sinalização β -adrenérgico são o fosfolambano (PLB) e a troponina I (TnI). As ligações estimuladoras são mostradas por setas pretas e as ligações inibitórias são mostradas por linhas tracejadas vermelhas com bolas. $[Ca^{2+}]_i$, $[Na^+]_i$, e $[K^+]_i$ são as concentrações intracelulares de Cálcio, Sódio e Potássio na caveolae, extracaveolae e citosol, respectivamente; $[Ca^{2+}]_o$, $[Na^+]_o$, e $[K^+]_o$ são os grupos Ca, Na e K extracelulares. Adaptado de Bondarenko (2014)

O sistema de sinalização β -adrenérgica altera cinco dessas correntes: I_{CaL} , I_{Na} , I_{Ktof} , I_{Kur} e I_{K1} . Em termos de dinâmica de Cálcio, os RRs, phospholamban e troponina também são afetados pela aplicação de isoproterenol (ISO). Uma das maiores modificações do modelo de Bondarenko (2014) foram realizadas nas cadeias de Markov de I_{CaL} , I_{Na} e RRs. Várias outras modificações foram feitas no recente modelo. Detalhes adicionais podem ser encontrados no trabalho original de Bondarenko (2014). Bondarenko (2014) descreve tanto as vias bioquímicas como o acoplamento eletrofisiológico envolvido na estimulação β -AR.

A.2 Detalhes sobre a implementação do modelo adaptado por Magalhães (2014) em uma frequência de 5Hz

Para comprovar a implementação é fundamental comparar as curvas das correntes do modelo original de Bondarenko (2014) com as curvas da implementação realizada por Magalhães (2014). Além disso, no presente trabalho a frequência foi aumentada de 1 Hz para 5 Hz, a seguir as Figuras A.2 e A.3 mostram que as curvas do modelo adaptado batem com as curvas do modelo original.

Após comprovar que a implementação de Magalhães (2014) corresponde a modelagem desenvolvida por Bondarenko (2014) a pesquisa pode ser continuada, permitindo que implementação fosse utilizada no presente trabalho.

Sabe-se que os sistemas de EDOs são altamente stiff e o método de integração BDF foi utilizado por Magalhães (2014) através da biblioteca CVODE, que atende a tantos usuários e foi lançada como software de domínio público. O pacote possui cinco programas de problema-exemplo. Três deles estão tendidos como modelos para aplicativos do usuário, usando o métodos denso, em faixas e SPGMR, respectivamente. A versão PostScript do guia do usuário está incluída. Maiores detalhes sobre como baixar e aplicar a biblioteca podem ser encontrados em Cohen et al. (1996).

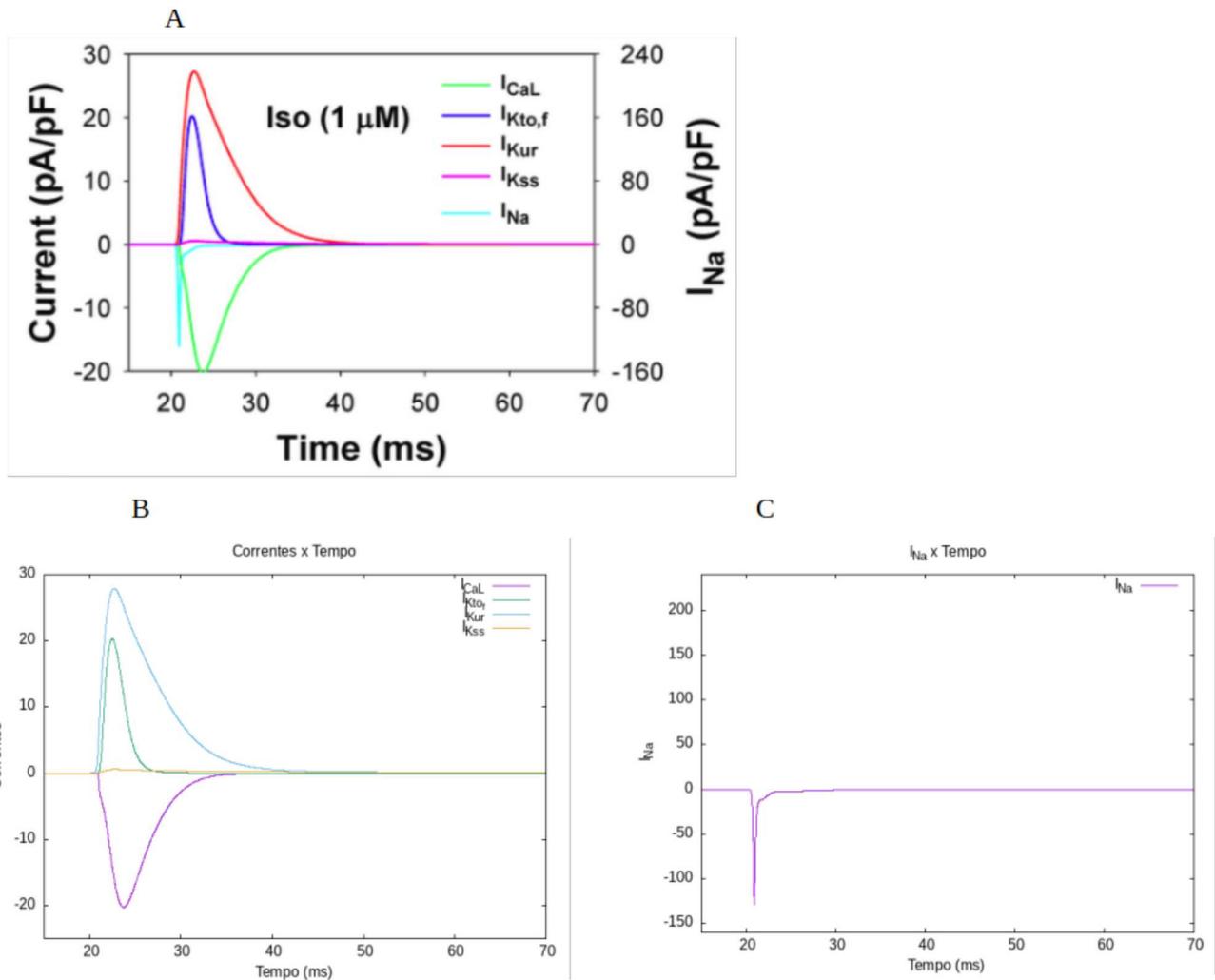
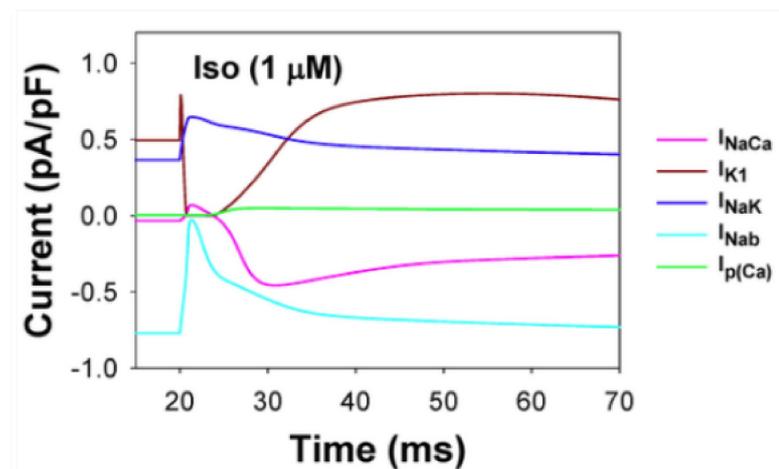


Figura A.2: Em A observa-se as correntes plotadas por Bondarenko (2014) após aplicar $1 \mu\text{M}$ de Isoproterenol. O PA correspondente a estas curvas estava a uma frequência de 5 Hz. Em B e C estão plotadas as curvas da implementação de Magalhães (2014). A corrente de sódio, I_{Na} foi plotada a parte pois a sua escala está diferente.

A



B

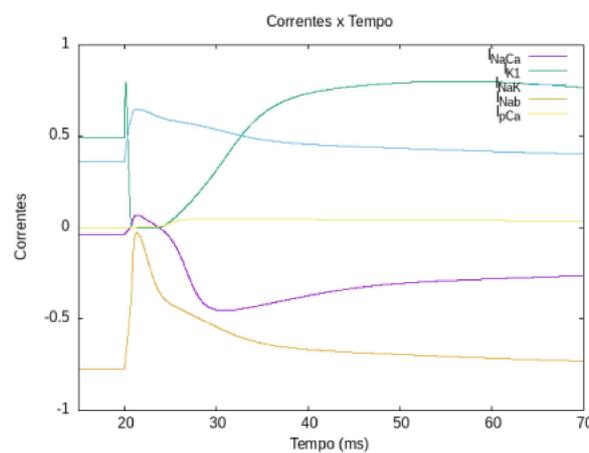


Figura A.3: Em A observa-se as correntes plotadas por Bondarenko (2014) após aplicar $1\mu M$ de Isoproterenol. O PA correspondente a estas curvas estava a uma frequência de 5 Hz. Em B estão plotadas as curvas da implementação de Magalhães (2014).

A.3 O modelo de Chen et al. (2011)

O modelo de Chen et al. (2011) foi acoplado a um modelo iônico para o potencial de ação ventricular de coelhos (Mahajan et al., 2008). Chen et al. (2011) fizeram implementações para estudar e reproduzir a formação da batida ectópica em um cabo unidimensional de cardiomiócitos, simulando LCE e PDAs. Além disto, o modelo reproduz o instante de maior probabilidade dos PCE's e as propriedades de propagação das ondas de Ca^{2+} . O modelo fenomenológico de LCE de Chen et al. (2011) simula características observadas experimentalmente em Wasserstrom et al. (2010).

Em Chen et al. (2011), o cardiomiócito é representado como uma coleção de compartimentos subcelulares distribuídos espacialmente, contendo elementos chave do ciclo de Ca^{2+} como podemos observar na Figura (A.4) a seguir. Estes compartimentos subcelulares são denominados como unidades de liberação de Ca^{2+} (ULCs). Cada ULC consiste em: 1) junção diádica, onde alguns canais de Ca^{2+} do tipo L (1-5 em número) estão na membrana celular em estreita proximidade com um grupo de 50 a 150 canais RRs, ligados ao espaço juncional do retículo sarcoplasmático; 2) espaço submembranar; 3) o volume do mioplasma, que representa o volume do espaço em que Ca^{2+} se difunde; 4)(JSR - *do inglês junctional sarcoplasmic reticulum*) espaço juncional do retículo sarcoplasmático, que representa a porção do RS que é próxima da membrana celular e 5)(NSR - *do inglês network sarcoplasmic reticulum space*) espaço correspondente a rede de RS, representando o conjunto de grandes quantidades de RS.

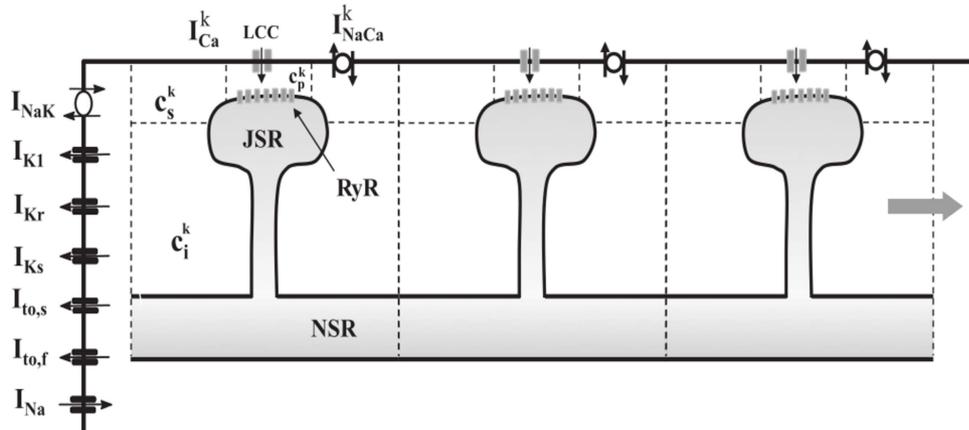


Figura A.4: Ilustração de distribuição espacial dos canais iônicos e compartimentos envolvidos no ciclo de Ca^{2+} . A concentração de Ca^{2+} na junção diádica, o espaço submembranar, a região citoplasmática, o espaço juncional do retículo sarcoplasmático e o espaço correspondente à rede do retículo sarcoplasmático, são denotadas como c_p^k , c_s^k , c_i^k , $c_{j_{sr}}^k$ e c_{sr}^k respectivamente, k escrito nos índices superiores correspondem a cada unidade de liberação do Ca^{2+} . Adaptado de Chen et al. (2011).

Chen et al. (2011) desenvolveram um modelo estocástico para simular LCE considerando os detalhes do esquema representado na Figura (A.4). A principal limitação do modelo estocástico, espacialmente distribuído, é que ele é muito exigente em termos computacionais. Isso porque uma simulação de uma única ULC envolve a simulação estocástica exata de cerca de 100 canais de RRs independentes. No entanto, um miócito cardíaco típico consiste de cerca de 10^4 ULCs, e, por conseguinte, um modelo que considera um pequeno tecido de aproximadamente 10^3 células irá exigir a simulação de cerca de 10^9 canais iônicos, o que pode ser computacionalmente intratável. Assim, viu-se a necessidade de simplificar a distribuição espacial das ULCs na célula. A partir de estudos microscópicos da estrutura cardíaca, sabe-se que a célula pode ser dividida em várias seções de aproximadamente $1-2 \mu\text{m}$ de largura e um diâmetro de $20 - 50 \mu\text{m}$, estas seções são denominadas como sarcômeros. Em um célula comum há cerca de 100-150 sarcômeros, e acredita-se que cada sarcômero contém aproximadamente a mesma quantidade e distribuição de proteínas envolvidas no ciclo de Ca^{2+} .

Para o desenvolvimento deste modelo foi utilizada a geometria da célula particionada

em seções, como uma matriz linear de sarcômeros acoplados. Utilizando a descrição simplificada da célula foi possível modelar LCE especificando a taxa espontânea de PCE's para cada sarcômero e também a velocidade de uma frente de onda que se propaga e se move de um sarcômero para o outro. O miócito cardíaco foi dividido em uma estrutura 1D de 150 unidades, onde cada unidade corresponde a um sarcômero. Para modelar a dinâmica de LCE, cada unidade do sarcômero pode estar em dois estados, 1 ou 0 ou ativo ou inativo, respectivamente. A formação do transiente de Ca^{2+} espontâneo no sarcômero foi modelada de acordo com a atribuição de uma taxa que calcula a probabilidade em que um transiente espontâneo de Ca^{2+} pode acontecer em um sarcômero no intervalo de tempo dt .

Para realizar ajustes de acordo com os dados experimentais, a taxa de ativação espontânea utilizada foi:

$$\Gamma_s = \begin{cases} 0 & \text{se } x \leq 1 \\ 8 \times 10^{-9} \exp(13,1(x-1)) & \text{se } 1 < x < 2,5 \\ 2,73 & \text{se } x \geq 2,5, \end{cases} \quad (\text{A.1})$$

onde, Γ_s é dado em unidades de (pulsos de Ca^{2+})/ms, x é a concentração de Ca^{2+} no RS em unidade mM , o valor escolhido para a primeira condição de Γ_s foi $x \leq 1mM$, pois LCE é rara em concentrações menores do que $1 mM$. Para modelar a propagação de ondas de Ca^{2+} na direção longitudinal, o modelo da estrutura celular deve reproduzir a velocidade de onda de Ca^{2+} observada experimentalmente (Wasserstrom et al., 2010). Para incorporar a velocidade de propagação ao modelo, foi implementada uma regra que, uma vez que a unidade da estrutura celular particionada é ativada (ou seja, ocorre uma transição de 0 - 1), uma unidade vizinha que está no estado 0 pode desencadear a transição para o estado 1, só depois de um tempo de espera τ_w :

$$\tau_w = \frac{ds}{v_{Ca}}, \quad (\text{A.2})$$

onde, $d_s = 1\mu M$ é aproximadamente a distância entre os centros dos sarcômeros adjacentes e v_{Ca} é a velocidade de propagação da onda de Ca^{2+} :

$$v_{Ca}(x) = \exp[a(x - b)] + c, \quad (A.3)$$

onde $a = 3,2mM^{-1}$, $b = 0,6mM$, e $c = 112\mu m/s$. Desta forma, pode-se garantir que a velocidade de propagação de uma unidade da estrutura celular particionada corresponda com a velocidade longitudinal da onda de Ca^{2+} medida experimentalmente.

Neste modelo a probabilidade de que um transiente de Ca^{2+} espontâneo aconteça em uma ULC e ative uma vizinha é fortemente dependente da concentração de Ca^{2+} armazenada no RS. Foi descoberto que no sistema acoplado de ULCs, a probabilidade de transmissão de uma ULC para a outra é uma função sigmóide da concentração de Ca^{2+} no RS, de modo que a baixa concentração de Ca^{2+} impede que a onda se propague, enquanto que em altas concentrações de Ca^{2+} a onda pode propagar a uma distância substancial na célula. Os dados experimentais foram modelados levando em conta que a propagação de Ca^{2+} só ocorre a partir de um valor mínimo para a concentração de Ca^{2+} no RS, assim o limite da propagação é escolhido para que seja menor do que a concentração de Ca^{2+} no RS, como o considerado em Wasserstrom et al. (2010). De acordo com estes dados, a concentração de $[Ca^{2+}]_e = 4mM$, que no atual modelo corresponde à concentração de Ca^{2+} no RS que é igual a $1,4mM$. Para este modelo foi escolhido o valor de $x_o = 1,0mM$, neste instante ocorre o início da propagação da onda. A função sigmoide escolhida é:

$$p(x) = \{ \tanh[\lambda(x - x_o)] + 1 \} / 2, \quad (A.4)$$

onde, $\lambda = 5.6mM^{-1}$ e x é a concentração de Ca^{2+} no RS. Uma outra estimativa importante é a do valor de τ_d , que corresponde ao tempo médio da duração do transiente de Ca^{2+} espontâneo em que todas as ULCs são ativadas praticamente ao mesmo tempo e liberam Ca^{2+} por um período comparável à duração média do período de ativação. Desta forma, o valor do tempo médio de duração do transiente de Ca^{2+} espontâneo é $\tau_d = 30ms$.

Este modelo reproduz vários efeitos da LCE como PDAs e PAEs, os detalhes podem ser encontrados em Chen et al. (2011).

APÊNDICE B - Propagação Elétrica no tecido

Este capítulo apresenta detalhes essenciais para compreender como a onda elétrica propaga pelo tecido cardíaco. Posteriormente, são mostradas as modelagens matemáticas necessárias para realizar simulações a nível de tecido.

B.1 Características do tecido cardíaco

Os cardiomiócitos são células que possuem formato aproximadamente cilíndrico, têm em média $100 \mu m$ de comprimento e $15 \mu m$ de diâmetro. Na composição do tecido os cardiomiócitos são dispostos em um formato de parede que é cercada pelo meio extracelular (Keener and Sneyd, 1998).

Segundo Keener and Sneyd (1998) as junções comunicantes conhecidas como *gap junctions* são pequenos canais não seletivos (com diâmetros de cerca de $1,2 nm$) que formam conexões intercelulares diretas através das quais íons ou outras moléculas pequenas podem fluir. São conhecidas por sinapses elétricas e esses canais intercelulares formados pelas junções de gap têm cerca de 20 \AA de diâmetro e são classificados como "baixa resistência" porque a resistência efetiva é consideravelmente menor no caso de analisar duas membranas celulares juntas.

B.2 Modelo do Monodomínio

De acordo com Campos et al. (2016) por questões de custo computacional tornou-se necessário simplificar o modelo bidomínio. Desprezando a influência do meio extracelular o monodomínio, no interior da célula, a corrente que flui e pode ser descrita pela lei de Ohm. Os cardiomiócitos estão interconectados e permitem a passagem da corrente pelas *gap junctions*. Segundo Campos (2015), $V_e = 0$ seguindo esta consideração, o modelo

monodomínio pode ser obtido por uma redução do modelo bidomínio e e inteiramente escrito em termos do potencial transmembrânico. Considere que as taxas de anisotropia nos dois domínios são iguais, ou seja, $\sigma_e = \lambda\sigma_i$ onde λ e uma constante. Então, σ_e pode ser eliminado das equações do modelo, resultando em:

$$\nabla \cdot (\sigma_i \nabla v) + \nabla \cdot (\sigma_i \nabla v_e) = \chi \left(C_m \frac{\partial v}{\partial t} + I_{ion} \right) \quad (\text{B.1})$$

$$\nabla \cdot (\sigma_i \nabla v) + (1 + \lambda) \nabla \cdot (\sigma_i \nabla v_e) = 0 \quad (\text{B.2})$$

Da equação B.2 chega-se em:

$$\nabla \cdot (\sigma_i \nabla v_e) = -\frac{1}{1 + \lambda} \nabla \cdot (\sigma_i \nabla v) \quad (\text{B.3})$$

e substituindo esta equação em B.1 e rearranjando os termos chega-se a formulação padrão do modelo do monodomínio:

$$\frac{1}{1 + \lambda} \nabla \cdot (\sigma_i \nabla v) = \chi \left(C_m \frac{\partial v}{\partial t} + I_{ion} \right) \quad (\text{B.4})$$

O monodomínio possui vantagens em relação ao custo da solução numérica, mas possui limitações como a hipótese de anisotropias iguais. Além disso, é difícil especificar o valor de λ de maneira a reproduzir o comportamento fisiológico. O problema completo do monodomínio é dado por:

$$\begin{cases} \chi \left(C_m \frac{\partial v}{\partial t} + I_{ion} \right) = \nabla \cdot (\sigma \nabla v), \\ n \cdot \sigma \nabla v = 0, \\ v(x, 0) = v_0(x), \eta(x, 0) = \eta_0(x), \end{cases} \quad (\text{B.5})$$

onde v é a variável de interesse e representa o potencial transmembrânico, χ é a razão da superfície- volume das células cardíacas, C_m é a capacitância da membrana, I_{ion} é a

densidade total da corrente iônica que é função de v em um de variáveis de estado η , que é descrito para controlar as variáveis de estado η . Nesse trabalho, assumimos que o tecido é isolado em suas fronteiras, isto é, condições de contorno de fluxo nulo são impostas sobre v ao longo de todas as superfícies do miocárdio.