**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**
**GABRIEL MARCOS DE SOUSA MOTTA**

# FFMsim: FERRAMENTA COMPUTACIONAL PARA SIMULAR O PROCESSO DE *"FEED FORWARD MODELING"* NO MIÓCITO VENTRICULAR DE COELHO

**Mogi das Cruzes, SP**
**2024**

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**

**GABRIEL MARCOS DE SOUSA MOTTA**

# FFMsim: FERRAMENTA COMPUTACIONAL PARA SIMULAR O PROCESSO "*FEED FORWARD MODELING*" PARA MIÓCITO VENTRICULAR DE COELHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade de Mogi das Cruzes como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica. Área de concentração: Engenharia Biomédica

Orientador: Prof. Dr. Robson Rodrigues da Silva

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Gustavo Goroso

**Mogi das Cruzes, SP**

**2024**

FINANCIAMENTO:




**Ficha catalográfica**
Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Motta, Gabriel Marcos de Sousa
M921f FFMsim: ferramenta computacional para simular o processo de feed forward modeling no miócito ventricular de coelho / Gabriel Marcos de Sousa Mota. -- Mogi das Cruzes, SP: Universidade de Mogi das Cruzes, 2024.
62 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) -- Universidade de Mogi das Cruzes, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Robson Rodrigues da Silva.
Coorientação: Prof. Dr. Daniel Gustavo Garoso.
Inclui bibliografia.

1.Eletrofisiologia 2. Coelhos 3. Miócito ventricular 4. Modelagem matemática I. Silva, Robson Rodrigues da II. Universidade de Mogi das Cruzes III. Título

CDD 610.28

Elaborada por Maria Cristina Alves Silva Xavier – CRB-8/10077

# ATAS

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Às quinze horas do dia primeiro de março de dois mil e vinte e quatro, pela Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação intitulada "FFMsim: FERRAMENTA COMPUTACIONAL PARA SIMULAR O PROCESSO DE FEED FORWARD MODELING NO MIÓCITO VENTRICULAR DE COELHO" para obtenção do grau de mestre pelo(a) candidato(a) **Gabriel Marcos de Sousa Motta.** Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 48 (quarenta e oito), a saber: 24 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de mestre. A comissão examinadora estava constituída dos senhores professores doutores: Robson Rodrigues da Silva, e Marcia Aparecida Silva Bissaco, da Universidade de Mogi das Cruzes, e Jean Jacques Bonvent, da Universidade Federal do ABC, sob a presidência do primeiro, como orientador da dissertação. A sessão pública da defesa de dissertação foi aberta pelo senhor presidente da comissão que apresentou o(a) candidato(a). Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos membros da comissão examinadora. A seguir a comissão, em sessão secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

APROVADO (aprovado(a) /reprovado(a)) por UNANIMIDADE (unanimidade/maioria)

Mogi das Cruzes, 01 de março de 2024.

| Comissão Examinadora | Julgamento |
|---|---|
| gov.br Documento assinado digitalmente JEAN JACQUES BONVENT Data: 01/03/2024 18:25:13-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br | |
| Prof. Dr. Jean Jacques Bonvent | APROVADO (aprovado(a)/reprovado(a)) |
| Marcia Aparecida Silva Bissaco Assinado de forma digital por Marcia Aparecida Silva Bissaco Dados: 2024.03.01 22:53:12 -03'00' | |
| Profª Drª Marcia Aparecida Silva Bissaco | APROVADO (aprovado(a)/reprovado(a)) |
| Robson Rodrigues da Silva Assinado de forma digital por Robson Rodrigues da Silva Dados: 2024.03.02 11:39:37 -03'00' | |
| Prof. Dr. Robson Rodrigues da Silva | APROVADO (aprovado(a)/reprovado(a)) |

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter dado a dádiva da vida e pelas inúmeras oportunidades e bençãos, sem ele nada seria possível.

Em segundo agradeço ao meu orientador professor Doutor Robson Rodrigues da Silva por todo apoio, carinho e paciência paternal durante todo percurso dessa pesquisa; obrigado por ter me corrigido quando necessário sem nunca me desmotivar.

Agradeço a minha esposa Thalita Rittmeyer por todo conforto e apoio psicológico ao perdurar dessa pesquisa e a todos meus familiares que proporcionaram a base, principalmente meus pais, irmã e vó cuja paciência e apoio permitiram minha formação acadêmica.

Por fim, agradeço a Universidade de Mogi das Cruzes.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

## RESUMO

A relação força-frequência é uma importante propriedade do músculo cardíaco mediada principalmente pela estimulação β1-adrenérgica. As alterações da frequência cardíaca (FC) ao nível do nodo sinusal atrial são acompanhadas por alterações no mecanismo da célula ventricular para atender às novas demandas energéticas. Essas modificações levam a um aumento da força contrátil com menor tempo de relaxamento para acomodar mais batimentos em menos tempo. O desafio para os pesquisadores que modelam o acoplamento excitação-contração (EC) no miócito ventricular é incluir esse ajuste síncrono entre o aumento da FC e as alterações concomitantes na maquinaria das células ventriculares. A não inclusão desta característica no modelo implica uma descrição incompleta das alterações fisiológicas que influenciam o desenvolvimento da força de contração. Este trabalho apresenta uma ferramenta computacional desenvolvida para implementar a modelagem matemática da EC no miócito ventricular chamada “Feed Forward Modeling” (FFM). Essa abordagem modifica os parâmetros do modelo de acordo com a frequência de estimulação em vez de usar parâmetros fixos. Cada parâmetro foi adaptado por meio de uma curva sigmoide empírica e aplicado a um modelo eletromecânico de miócito ventricular de coelho desenvolvido por nosso grupo. Em nossas simulações de FFM, a comparação do modelo controle (sem o FFM) e teste (com FFM) através de dois experimentos tem-se os resultados que para o primeiro, a frequência de 4 Hz, o APD90 diminuiu de 208 ms para 173,4 ms, ao passo que o pico da força foi de 7,72 $mN/mm^2$ para 11,90 $mN/mm^2$ entre controle e teste respectivamente. Já para o segundo experimento, a frequência de 5 Hz, o APD90 diminuiu de 185 ms para 157 ms e o pico da força foi de 15,1 $mN/mm^2$ para 10,61 $mN/mm^2$ entre controle e teste respectivamente. Essa estratégia é computacionalmente menos intensiva do que incluir todas as vias β-adrenérgicas, tornando-a adequada para simulações em larga escala.



**Palavras chaves:** eletrofisiologia; modelagem matemática; miócito ventricular; β-adrenérgica; frequência cardíaca; ferramenta computacional.

## ABSTRACT

The force-rate relationship is an important property of cardiac muscle mediated mainly by β1-adrenergic stimulation. Changes in heart rate (HR) at the level of the atrial sinus node are accompanied by changes in the mechanism of the ventricular cell to meet new energy demands. These modifications lead to an increase in contractile force with less relaxation time to accommodate more beats in less time. The challenge for researchers modeling excitation-contraction (EC) coupling in the ventricular myocyte is to include this synchronous adjustment between the increase in HR and concomitant changes in the machinery of the ventricular cells. Failure to include this feature in the model implies an incomplete description of the physiological changes that influence the development of contraction force. This work presents a computational tool developed to implement the mathematical modeling of EC in the ventricular myocyte called “Feed Forward Modeling” (FFM). This approach modifies the model parameters according to the stimulation frequency instead of using fixed parameters. Each parameter was adapted using an empirical sigmoid curve and applied to an electromechanical model of a rabbit ventricular myocyte developed by our group. In our FFM simulations, the comparison of the control model (without the FFM) and test model (with FFM) through two experiments, we have the results that for the first one, the frequency of 4 Hz, the APD90 decreased from 208 ms to 173 ms. .4 ms, whereas peak force ranged from 7.72 mN/mm2 to 11.90 mN/mm2 between control and test respectively. As for the second experiment, the frequency of 5hz, the APD90 decreased from 185 ms to 157 ms, and the peak force was from 15.1 mN/mm2 to 10.61 mN/mm2 between control and test respectively. This strategy is less computationally intensive than including all β-adrenergic pathways, making it suitable for large-scale simulations.



**Keywords:** Electrophysiology, heart rate, mathematical modeling, ventricular myocyte, β1-adrenergic, computational tool

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1** - Diagrama da membrana plasmática ..... 15
**Figura 2** - Ligações intermoleculares entre os Fosfolipídios ..... 16
**Figura 3** – Representação da estrutura do canal de Sódio ..... 17
**Figura 4** – Bomba de sódio-potássio ..... 19
**Figura 11** – Representação do esquema do mecanismo de “Feedback vs Feed Forward” ..... 28
**Figura 13** – Controle da glicemia humana realizada pelos hormônios insulina e glucagon. ..... 31
**Figura 14** – Comparação do modelo de Noble (1962) com o de Hodgkin-Huxley (1952) ..... 32
**Figura 15** – Representação do esquema da célula do modelo de Di Francesco & Noble (1985) ..... 34
**Figura 16** – Esquema representando a célula do Modelo de Nordin (1993) ..... 35
**Figura 17** – Modelo de Luo & Rudy (1994) ..... 36
**Figura 18** - Esquema do modelo de Shannon et al. (2004) ilustrando os quatro compartimentos: cleft, subsarcolema, RS e citosol ..... 37
**Figura 19** – Diagrama de estados com componentes dependentes de $Ca^{2+}$ e $Na^{+}$ do modelo ..... 38
**Figura 21 -** Modelo de Saurceman et al. (2003) ..... 41
**Figura 22 -** Representação do esquema da célula com o diagrama da ligação de Cálcio do modelo de Negroni et al. (2015) ..... 43
**Figura 23** – Modelo de Mullins & Bondarenko (2019) ..... 44
**Figura 24** – Diagrama de estados para cálculo da força de contração ..... 45
**Figura 25 -** Modelo de Lyon et al. (2020) ..... 48
**Figura 26** Comparação dos diversos PA entre espécies ..... 51
**Figura 27 -** Acoplamento bidirecional entre o modelo mecânico de Negroni & Lascano (2008) com o modelo elétrico de Shannon et al. (2004) ..... 53
**Figura 28**– Curva Sigmoide ..... 56
**Figura 29**– Fluxograma da aplicação do FFM ..... 56
**Figura 30**– Ferramenta APP Design no MATLAB com interface gráfica do FFMsim ..... 58
**Figura 31** – Interface principal da ferramenta FFM v. 1.0 ..... 63
**Figura 32**– Interface principal da ferramenta FFM v. 1.0 com diversas curvas plotadas pela mudança nos parâmetros ..... 64
**Figura 33** – Interface para executar a simulação, modificar frequência de estimulação e tempo de simulação ..... 65
**Figura 34**– Comparação da modelagem tradicional (Control) versus FFM: curso temporal da força de contração e PA. ..... 66
**Figura 35**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas PA geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 5Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM). ..... 67
**Figura 36**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Amplitude da Força vs Frequência geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM). ..... 68
**Figura 37**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas da variação de Cálcio geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM) ..... 69
**Figura 38**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas do APD90 geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM). ..... 69

# LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC - Adenilato Ciclase

APD90 - Duração do potencial de ação ao 90% da repolarização, do inglês Action potential duration at 90% of repolarization

ATP - Adenosina trifosfato

CSQ - Calsequestrina

cAMP - Monofosfato Cíclico de Adenosina

ECC - excitação – contração

FC - Frequência cardíaca

FFM – "*Feed Forward Modelling"*

GTP - Trifosfato de Guanosina

ISSO - isoprotenerol

JSR - Junctional SR

LCC - canal de Cálcio do tipo L

MEM - modelo eletromecânico

Na-K - bomba de sódio e potássio

NaCaX - trocador de Sódio e Cálcio

NSR - Network SR

PA - Potencial de Ação

PDE - fosfodirestease

PP1 - proteína fosfatase do tipo 1

PP2A - proteína fosfatase do tipo 2A

PKI - é o inibidor da proteína Kinase sensível ao calor

PKA - Proteína Quinase A

RS - Retículo sarcoplasmático

RyR - receptor de rianodina

SNA - sistema nervoso autônomo

SERCA - Bomba $Ca^{2+}$ATPase

SNS - sistema nervoso simpático

ST - Sistema Troponina

TnI - Troponina I

TnC - Troponina C

# LISTA DE SÍMBOLOS

$Ca^{2+}$ - Íon Cálcio

$Na^{+}$ - Íon Sódio

$K^{+}$ - Íon Potássio

$[Na^{+}]$ - Concentração do íon Sódio

$[Ca^{2+}]$ - Concentração de Cálcio

[ATP] - Concentração de Adenosina Trifosfato

β1 - Receptor beta adrenérgico 1

β2 - Receptor beta adrenérgico 2

β3 - Receptor beta adrenérgico 3

$\phi_D$ - Fluxo difusivo

$D$ - Coeficiente de difusão

$\Delta$x – Variação no comprimento do eixo das absc

# SUMÁRIO


*1. INTRODUÇÃO ..... 11*

**1.1 APRESENTAÇÃO ..... 11**

**1.2 JUSTIFICATIVA ..... 12**

*2 OBJETIVOS ..... 14*

**2.1 OBJETIVO GERAL ..... 14**

**2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 14**

*3* **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA** *..... 15*

**3.1 MEMBRANA PLASMÁTICA ..... 15**

**3.2 ESTRUTURA DOS LIPÍDEOS ..... 16**

**3.3 PROTEÍNAS DA MEMBRANA ..... 17**

**3.4 PERMEABILIDADE DA MEMBRANA ..... 18**

**3.5 MEIO INTRACELULAR ..... 20**

**3.6 ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO DO MIÓCITO VENTRICULAR ..... 23**

3.6.1 FASES DO POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO ..... 23

3.6.2 FENÔMENO DO ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO DA CONTRAÇÃO CARDÍACA ..... 24

**3.7 EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO β-ADRENÉRGICA NO TRANSIENTE DE $Ca^{2+}$, FORÇA DE CONTRAÇÃO E PA ..... 25**

**3.8 O PROCESSO DE "*FEED FORWARD" E "FEEDBACK"* ..... 28**

3.8.1 PROCESSO DE "*FEEDBACK"* NA FISIOLOGIA ..... 28

8.2 PROCESSO DE "*FEED FORWARD"* NA FISIOLOGIA DO ORGANISMO ..... 30

*4 ESTADO DA ARTE ..... 32*

**4.1 MODELO NOBLE (1962) ..... 32**

**4.2 DI FRANCESCO & NOBLE (1985) ..... 33**

**4.3 MODELO DE NORDIN (1993) ..... 34**

**4.4 MODELO DE LUO & RUDY (1994) ..... 35**

**4.5 MODELO DE SHANNON ET AL. (2004) ..... 36**

**4.6 MODELO MECÂNICO DE NEGRONI & LASCANO (2008) ..... 38**

**4.7 MODELO DE CORTASSA et. al (2006) ..... 39**

**4.8 MODELAGEM DA ESTIMULAÇÃO β-ADRENÉRGICA NO MIÓCITO VENTRICULAR ..... 40**

4.8.1 SAURCEMAN et al. (2003) ..... 40

4.8.2 NEGRONI et al. (2015) ..... 42

4.8.3 MULLINS & BONDARENKO (2019) ..... 44

4.8.4 LYON et al. (2020) ..... 47

*5* **A IMPORTÂNCIA DA MODELAGEM MATEMÁTICA E COMPUTACIONAL** *... 50*

*6* **MATERIAIS E MÉTODOS** *..... 52*

**6.1 MODELO MATEMÁTICO ..... 52**

6.1.1 O MODELO ELETROMECÂNICO (MEM) ..... 52

6.1.2 IMPLEMENTAÇÃO DO FFM ..... 55

**6.2 IMPLEMENTAÇÃO DA FERRAMENTA COMPUTACIONAL ..... 57**

**6.3 PROTOCOLOS PARA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS "*in silico*".....58**
***7 RESULTADOS E DISCUSSÃO*.....60**
**7.1 O NOVO MODELO MATEMÁTICO COM FFM.....60**
**7.2 FERRAMENTA COMPUTACIONAL.....62**
**7.3 RESULTADO DAS SIMULAÇÕES.....65**
**7.3.1 Comparação entre a Modelagem Tradicional e o FFM**.....65
**7.3.2 Alterações na curva do PA**.....67
**7.3.3 Frequência de estimulação vs amplitude e APD90**.....68
***8* CONCLUSÃO.....71**
**9 TRABALHOS FUTUROS.....72**
***REFERÊNCIAS*.....73**
***APÊNDICE A: CAPÍTULO DE LIVRO (XXVIII CBEB - 2022)*.....76**
***APÊNDICE B: ARTIGO SUBMETIDO EM PERIÓDICO (PRÉ-PRINT).....84**
***APÊNDICE C: ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CIENTÍFICA DA UMC (I SUMMIT – 2023)*.....111**
***APÊNDICE D: RESUMO PUBLICADO NOS ANAIS DO 47° CONGRESSO DE BIOFÍSICA – 2023*.....120**

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 APRESENTAÇÃO

A modelagem matemática e computacional utilizada para descrever o complexo processo de acoplamento excitação-contração (EC) em miócitos cardíacos vem evoluindo muito nas últimas décadas. Modelos que costumavam incluir apenas descrições matemáticas isoladas de canais iônicos passaram a incluem formulações mais sofisticadas, como transporte de cálcio ($Ca^{2+}$), produção de adenosina trifosfato (ATP) e suas vias metabólicas, modelagem compartimental e, finalmente, a força de contração gerada pela ativação direta dos miofilamentos (SILVA *et al*., 2023).

Concomitantemente ao desenvolvimento dos modelos de contração para miócito ventricular, os efeitos da estimulação β1-adrenérgica no Potencial de Ação (PA), transiente de $Ca^{2+}$ e força de contração estão agora inseridos nos modelos aumentando consideravelmente a complexidade do sistema de Equações Diferenciais. Com base nessas implementações os pesquisadores e modeladores passaram a simular em seus novos modelos os efeitos causados pelo isoprotenerol (ISO), um agonista do receptor β1-adrenérgico (SILVA *et al.,* 2023).

Dentre esses efeitos temos o aumento na corrente de $Ca^{2+}$ tipo L, aumento na atividade da bomba do retículo sarcoplasmático (RS) e diminuição da sensibilidade dos miofilamentos ao $Ca^{2+}$. Assim, eles conseguiram reproduzir o aumento da força de contração (efeito inotrópico positivo) com taxas de relaxamento mais rápidas (efeito lusitrópico positivo), características observadas devido à estimulação β1-adrenérgica no miocárdio (LYON *et al.,* 2020).

Todas essas alterações decorrem de uma sequência de eventos, denominada sinalização β1-adrenérgica nos cardiomiócitos que, para atender às novas demandas energéticas, faz com que o sistema nervoso autônomo (SNA), via sistema nervoso simpático (SNS), altere a frequência cardíaca (FC). ao nível do nodo sinoatrial e modificar sincronizadamente modifica a condutância dos canais de $Ca^{2+}$ tipo L, a dinâmica das bombas de $Ca^{2+}$ localizadas no sarcolema e RS, e os miofilamentos de sensibilidade ao $Ca^{2+}$,

tudo para que o ventrículo possa produzir um aumento na força de contração associada a um tempo de relaxamento mais curto (LYON *et al*., 2020).

O desafio atual dos pesquisadores dessa área é incluir em seus modelos, esse ajuste sincronizado entre o aumento ou diminuição da FC e possíveis alterações em todo o sistema responsável pelo fenômeno de acoplamento EC do miócito ventricular.

Este ajuste deve ser implementado para que alterações na FC possam produzir alterações nos valores dos principais parâmetros biofísicos utilizados na modelagem. A não modelagem desta característica do fenômeno pode trazer consequências negativas para o modelo, bem como para a interpretação de seus resultados, sendo que em alguns dos casos, estes são considerados como uma situação em aberto, o que poderá ser confirmado em experimentos futuros, ou é simplesmente dado como uma limitação real do modelo. Este fato deve nos tornar cautelosos em extrapolar os resultados obtidos em células únicas, onde a FC foi alterada de forma independente. Citam-se como exemplo os resultados obtidos por Mullins e Bondarenko (2013, p. 10) quando os autores apresentam os efeitos da frequência de estimulação no comportamento temporal da força de contração. Nesse artigo foram realizadas várias simulações, para diferentes frequências de estimulação (0,25, 0,5, 1, 2 e 4 Hz), mas usaram os mesmos valores para os parâmetros biofísicos, obtidos a uma frequência fixa (baseline) de 0,5 Hz.

Para reproduzir adequadamente a convergência entre os efeitos cronotrópico positivo (aumento da FC) e inotrópico positivo (aumento da força de contração) sobre o miócito cardíaco, é necessário que os modelos matemáticos atuais incluam esse sincronismo que ocorre entre o átrio e o ventrículo. Somente assim os resultados obtidos com esses modelos poderão fornecer informações mais precisas sobre arritmias e efeitos de drogas antiarrítmicas, conforme relatado no trabalho de Sutanto & Heijaman (2020) que estudaram a relação entre a estimulação β1-adrenérgica e os efeitos pró-arrítmicos de Cloroquina e Azitromicina.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O aumento da frequência cardíaca pela sinalização β-adrenérgica tem decorrência em uma cascata de evento, que deveria trazer uma série de alterações em parâmetros dependentes da frequência, pois os modelos criados são definidos

com base em uma frequência fixa. Sendo assim, a alteração da frequência cardíaca pelo usuário, nos contextos dos modelos existentes, deveria também alterar o valor dos parâmetros dependentes da frequência o que não ocorre. Dito isso a proposta para resolução desse problema é inserção de uma nova modelagem denominada “Feed Forward Modelling” (FFM) que através de uma curva empírica consegue a partir de uma frequência estipulada determinar a porcentagem de alteração nos principais parâmetros biofísicos do modelo. Para realizar as simulações desse novo modelo proposto descreve-se a seguir os objetivos desse trabalho.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma ferramenta computacional (FFMsim) para simular o processo de FFM no miócito ventricular de coelho.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Acoplar, de forma bidirecional, a parte mecânica descrita por Negroni & Lascano (2008) no modelo elétrico proposto por Shannon *et al*. (2004).

b) Implementar no modelo proposto o processo FFM utilizando parâmetros biofísicos dinâmicos dependentes da frequência de estimulação.

c) Validar o novo modelo, a partir de dados experimentais reportados na literatura, comparando os resultados das simulações realizados com o FFMSim que envolvam transiente de $Ca^{2+}$, força de contração e PA a diferentes frequências de estimulação.

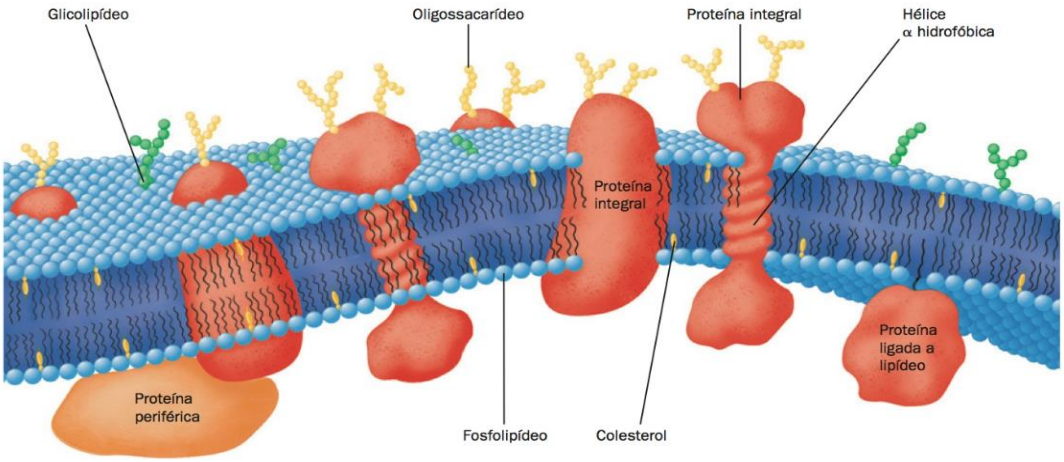
# 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo são apresentados conceitos básicos sobre a composição do miócito cardíaco para melhor entendimento do complexo fenômeno do acoplamento excitação-contração (EC).

## 3.1 MEMBRANA PLASMÁTICA

As células cardíacas, assim como todas as células, são delimitadas por uma camada nomeada de membrana plasmática. Segundo Albert *et al*. (2006) a membrana plasmática é composta por uma bicamada lipídica com espessura aproximada de 5 nm com inserção de proteínas e colesterol (Figura 1). Nesse sentido, sua função primária é isolar os meios intracelular e extracelular e ainda controlar o fluxo das moléculas que entram e saem por meio de proteínas, garantindo a manutenção e constância dos meios e catalisando uma série de reações celulares (VOET; VOET, 2013).

**Figura 1** - Diagrama da membrana plasmática




Fonte: VOET (2013, p. 423)

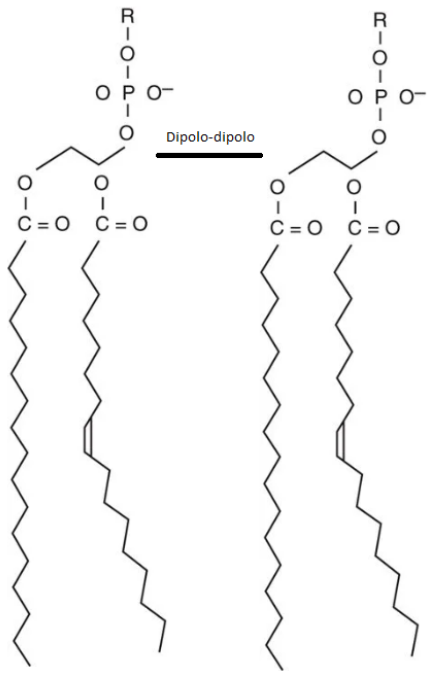
## 3.2 ESTRUTURA DOS LIPÍDEOS

Os lipídios são compostos basicamente por Carbono, Hidrogênio e Oxigênio e são estruturados de forma a conter uma estrutura anfifílica, ou seja, parte polar na cabeça hidrofílica e parte apolar na cauda hidrofóbica (ALBERTS *et al*, 2017).

A polaridade da molécula está intrinsecamente ligada a configuração da nuvem de elétrons das camadas de valência dos átomos, que caso esteja simetricamente distribuída com momento de dipolo igual a zero a molécula tem caráter apolar e caso possua densidades parciais de cargas com momento de dipolo diferente de zero a molécula tem caráter polar (ATKINS, 2012).

A configuração do lipídio é de extrema importância para a coesão da membrana e para a função primária de isolar os meios. As ligações intermoleculares na parte polar do lipídio dão-se pelo mecanismo dipolo-dipolo (ATKINS, 2012). Na Figura 2 pode ser visualizado um exemplo de ligação entres Fosfolipídios, onde as letras C, O, P e R representam, respectivamente, Carbono, Oxigênio, Fósforo e um grupo funcional genérico. O Hidrogênio da molécula está oculta nas ligações entre carbono representadas por traços na parte inferior das moléculas.

**Figura 2** - Ligações intermoleculares entre os Fosfolipídios



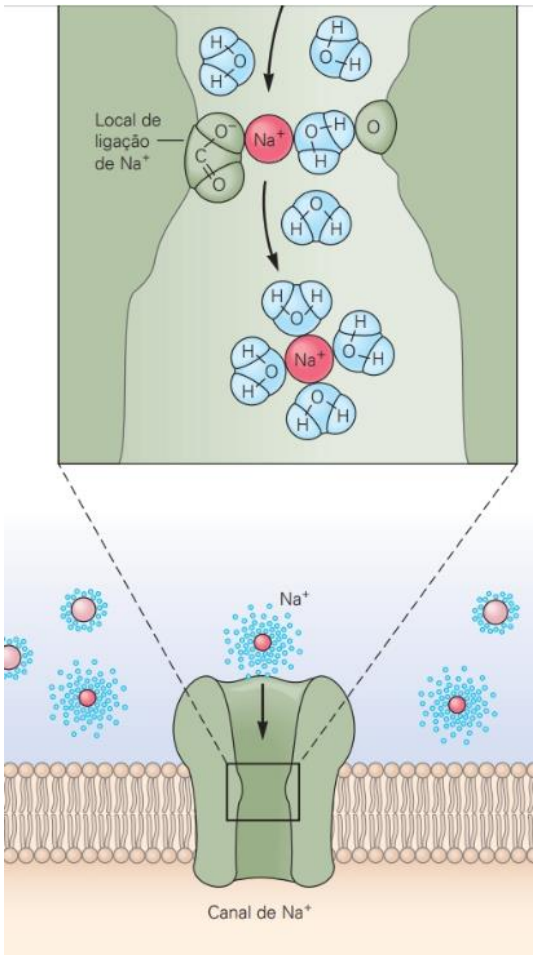

Fonte: Adaptado de Landowne (2006, p.10)

## 3.3 PROTEÍNAS DA MEMBRANA

Correspondendo a aproximadamente 55% da composição da membrana, as proteínas são importantes componentes responsáveis por controlar a entrada ou saída de substâncias da célula ou ainda por catalisar reações químicas (GUYTON; HALL, 2011).

As proteínas são formadas por moléculas grandes de aminoácidos, nesse sentido como existem vinte tipos diferentes de aminoácidos a variedade de combinações e estrutura é vasta (FOX, 2007). Os canais dependentes de voltagem, exemplos de proteínas, subdividem-se em grupos, cada qual com uma função e uma composição molecular diferente (Figura 3). Com isso um canal dependente de voltagem, como o canal de sódio, permite o controle de entrada ou saída do íon sódio (Na+) (GUYTON; HALL, 2011).

**Figura 3** – Representação da estrutura do canal de Sódio




Fonte: Kandel et al. (2014, p. 124)

Pode-se visualizar que na Figura 3, tem-se a representação do que seria a passagem de um íon de Na+ pelo canal. Com o auxílio de um sítio específico, o canal só permite a passagem desse íon para o meio intracelular, note que a água no processo atua como no fenômeno de solvatação para manter o íon contido (ATKINS, 2012).

## 3.4 PERMEABILIDADE DA MEMBRANA

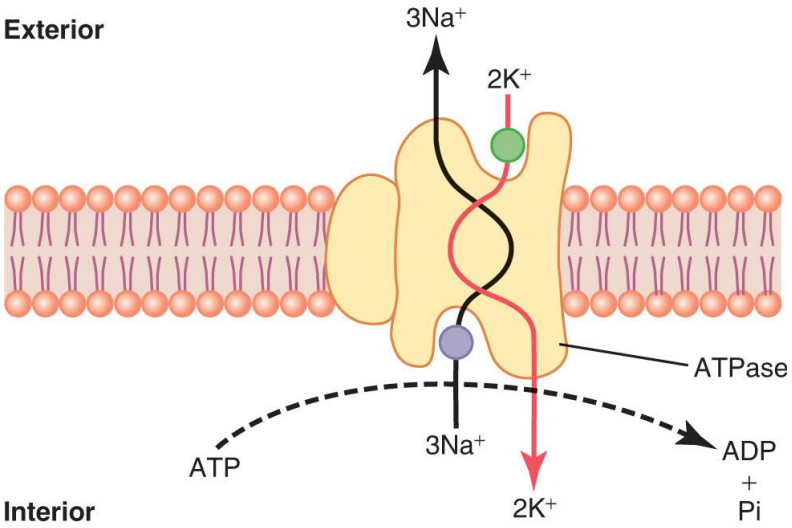
A estrutura da membrana é composta de forma a barrar a entrada de moléculas e íons, porém, existem canais que permitem a passagem dos componentes garantindo o equilíbrio do meio e a geração do Potencial de Ação (PA) (JUNQUEIRA ;CARNEIRO, 2012).

A passagem de íons pelos canais dependentes de voltagem pode ter duas diferentes forças motrizes: o transporte por difusividade e por deslocamento em virtude da ação da força elétrica, ambos fenômenos importantes para o equacionamento nos modelos de acoplamento EC no miócito ventricular (DURAN, 2003).

A difusividade é o meio de transporte cuja força motriz é o gradiente de concentração químico, analogamente ao fluxo de calor cuja motricidade está no gradiente de temperatura (ÇENGEL; GHAJAR, 2012). Nesse contexto existem dois tipos de transporte difusivo: O passivo aonde o transporte vai de uma região de alta concentração para outro de baixa o que não implica gasto energético, e o ativo onde ocorre o mesmo processo, porém de uma região de baixa concentração para uma de alta, o que implica gasto energético de Adenosina Trifosfato (ATP) (JUNQUEIRA ; CARNEIRO, 2012).

Um exemplo de transporte ativo é a bomba de sódio e potássio (Figura 4), que usa da quebra da molécula de ATP para obtenção de energia para permitir a troca de íons. A bomba de sódio-potássio funciona retirando três íons de Na+ do meio intracelular e introduzindo dois íons de K+ do meio extracelular, para isso é utilizada energia da quebra da ATP pela enzima ATPase como força motriz para vencer os gradientes eletroquímicos.

**Figura 4** – Bomba de sódio-potássio




Fonte: Guyton & Hall (2011, p. 54)

O mecanismo difusivo, em uma dimensão, pode ser modelado pela Lei de Fick (WEISS,1996) segundo a Equação (1), sendo $\phi_D$ o fluxo difusivo, $D$ é o coeficiente de difusão, $C$ é a concentração da espécie química e x a dimensão em que se dá o fluxo difusivo:

$$\phi_D = -D\frac{\partial C}{\partial x} \tag{1}$$

O transporte pela diferença de gradiente elétrico tem a modelagem fundamentada na Lei de Planck (WEISS,1996) segundo a Equação (2), sendo que $\phi a$ é o fluxo pelo arrasto, $u$ é a mobilidade mecânica molar de uma partícula, $c$ é a concentração molar, $z$ é o número de valência do íon, $F$ é a constante de Faraday e $V$ é o potencial elétrico:

$$\phi a = -uczF\frac{\partial V}{\partial x} \tag{2}$$

A partir das Equações (1) e (2) pode-se exemplificar fluxo de partículas iônicas, tipo “n”, sob ação do mecanismo difusivo e de arrasto, unidimensional, de acordo com a equação (3):

$$\phi_n = -D_n \frac{\partial C_n(x,t)}{\partial x} - u_n z_n F c_n(x,t) \frac{\partial V(x,t)}{\partial x} \quad (3)$$

Lembrando que segundo Halliday et al. (2016) temos a relação que a densidade de corrente elétrica é proporcional a corrente elétrica e inversamente proporcional ao infinitesimal de área da secção, logo multiplicando fluxo iônico ($\phi_n$) pela carga de um mol de íons da espécie “n” teremos a equação da densidade de corrente dos íons da espécie n (Eq. 4):

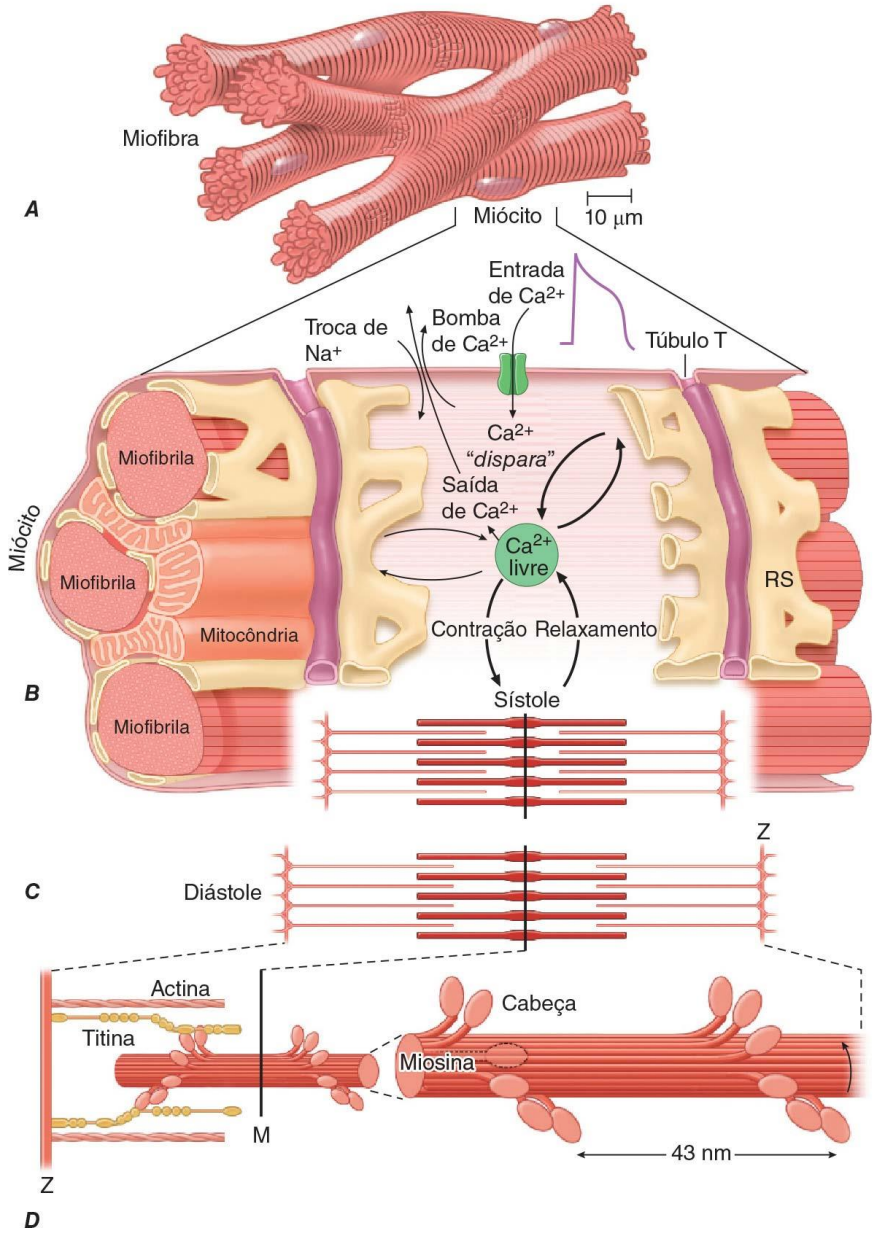
$$J_n(x,t) = -z_n F \phi_n(x,t) \quad (4)$$

A Equação 4 é chamada de equação de Nerst-Planck, sendo a base teórica para a descrição do fluxo iônico através de membranas celulares em decorrência do efeito combinado dos gradientes de concentração e de potencial elétrico (WEISS,1996).

## 3.5 MEIO INTRACELULAR

O meio intracelular das células cardíacas contém importantes estruturas responsáveis pelos processos da produção energética e contração celular. Destaca-se o Retículo Sarcoplasmático (RS), citosol, mitocôndria e os miofilamentos. As estruturas podem ser visualizadas na Figura 5.

**Figura 5** – Células Miocárdicas: A) Esquema das Miofibrilas; B) Esquema da célula com componentes da mitocôndria, membrana, miofilamentos e RS; C) Representam das bandas Z durante sístole e diástole; D) Esquema do deslizamento entre as proteínas no miofilamento.




Fonte: Jameson et al. (2019, p.1655)

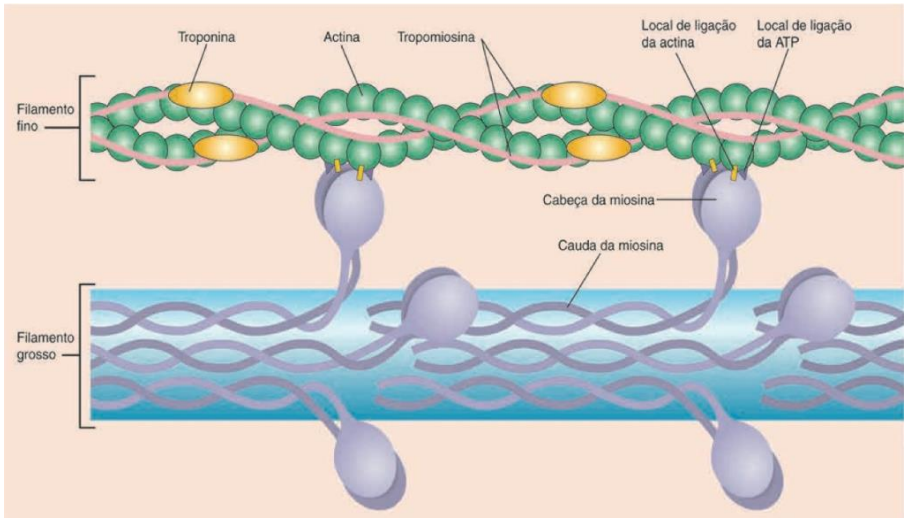
O RS é uma estrutura importante no processo de contração sendo responsável pelo armazenamento do íon cálcio ($Ca^{2+}$). O $Ca^{2+}$ do RS quando liberado eleva a concentração do íon no meio intracelular. Na estrutura da membrana do RS existe uma proteína chamada receptor de rianodina (RyR) e na parte interna do RS existe

uma proteína chamada Calsequestrina (CSQ) cuja função é manter a baixa concentração de $Ca^{2+}$ livre no RS. Além disso, existe uma bomba de $Ca^{2+}$ chamada $Ca^{2+}$ATPase (SERCA) responsável por captar o íon permitindo assim o relaxamento (GUYTON; HALL, 2011).

Assim como o músculo esquelético a célula cardíaca conta em sua estrutura com monômeros, nomeados sarcômeros, formados pelas principais estruturas responsáveis pelo deslizamento mútuo resultando na contração da célula (FOX, 2007).

Os sarcômeros são formados pela Actina, Miosina e ainda contém as proteínas Troponina e Tropomiosina responsáveis por permitir, através da ativação pelo $Ca^{2+}$, a interação da miosina com a actina para o fenômeno da contração muscular (Figura 6). A liberação de $Ca^{2+}$ pelo RS aumenta a concentração de $Ca^{2+}$ citosólica, ocasionando maior probabilidade da ligação do íon no sítio da troponina C, o que desencadeia uma mudança conformacional do complexo troponina expondo a ligação da miosina na actina permitindo, com isso, o deslizamento mútuo e ocasionando assim a contração (GUYTON; HALL, 2011).

**Figura 6** – Miosina, Actina e Tropomiosina




Fonte: Fox (2007)

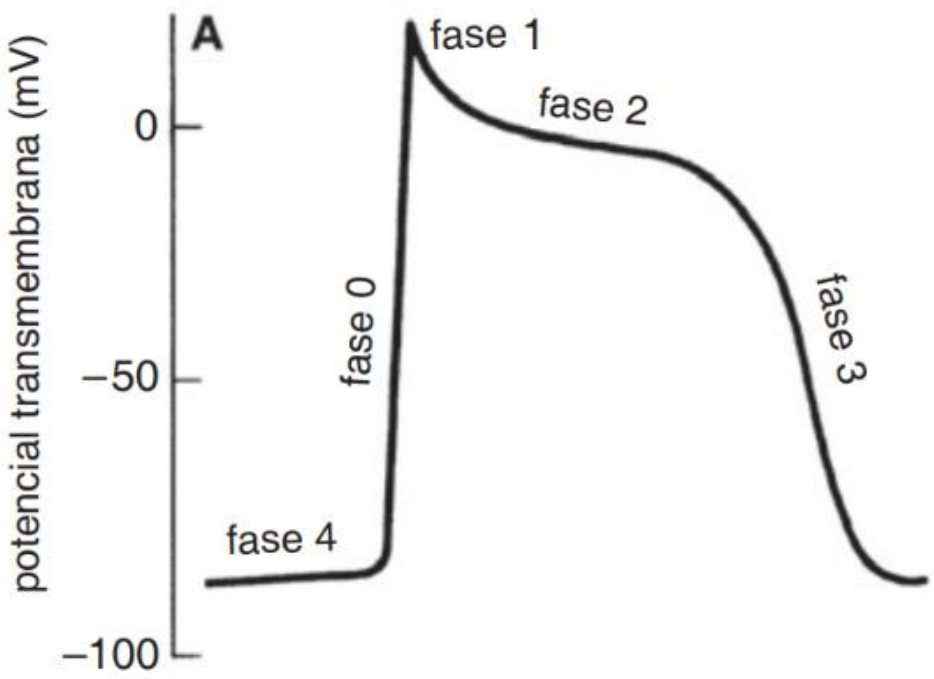
## 3.6 ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO-CONTRAÇÃO DO MIÓCITO VENTRICULAR

O complexo fenômeno do acoplamento EC é um conjunto de etapas que compreende desde o estímulo inicial para abertura dos canais dependentes de voltagem para formação do PA, até o deslizamento mútuo de filamentos finos e grossos permitindo a contração. As etapas detalhadas do processo serão descritas a seguir.

### 3.6.1 FASES DO POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO

O PA cardíaco é composto por 4 fases (Figura 7) e cada uma delas envolve uma série de eventos iniciados pela propagação da onda do nodo-sinoatrial que estimula a abertura ou fechamento das proteínas ou canais dependentes de voltagem (GUYTON; HALL, 2011).

**Figura 7** – Fases do PA no miócito ventricular




Fonte: Adaptado de Mohrman et al. (2008, p. 31)

**Fase 0 (Despolarização):** Nessa fase um estímulo do nodo-sinoatrial chega ao miócito ventricular permitindo a abertura dos canais rápidos de sódio dependentes de

voltagem, que pela difusividade aumenta a concentração de $Na^+$ ($[Na^+]$) intracelular. O PA vai do repouso de -90 mV até +20 mV.

**Fase 1 (Repolarização precoce):** Os canais rápidos de $Na^+$ durante o pico do potencial se fecham e os canais de potássio são abertos. O potássio sai para o meio extracelular pela difusividade.

**Fase 2 (Platô):** Os canais rápidos de $Ca^{2+}$ abrem e existe um equilíbrio entre a entrada de $Ca^{2+}$ e saída de potássio o que ocasiona um platô no potencial.

**Fase 3 (Repolarização):** Os canais rápidos de $Ca^{2+}$ se fecham e continua a saída de potássio diminuindo o PA até próximo do repouso.

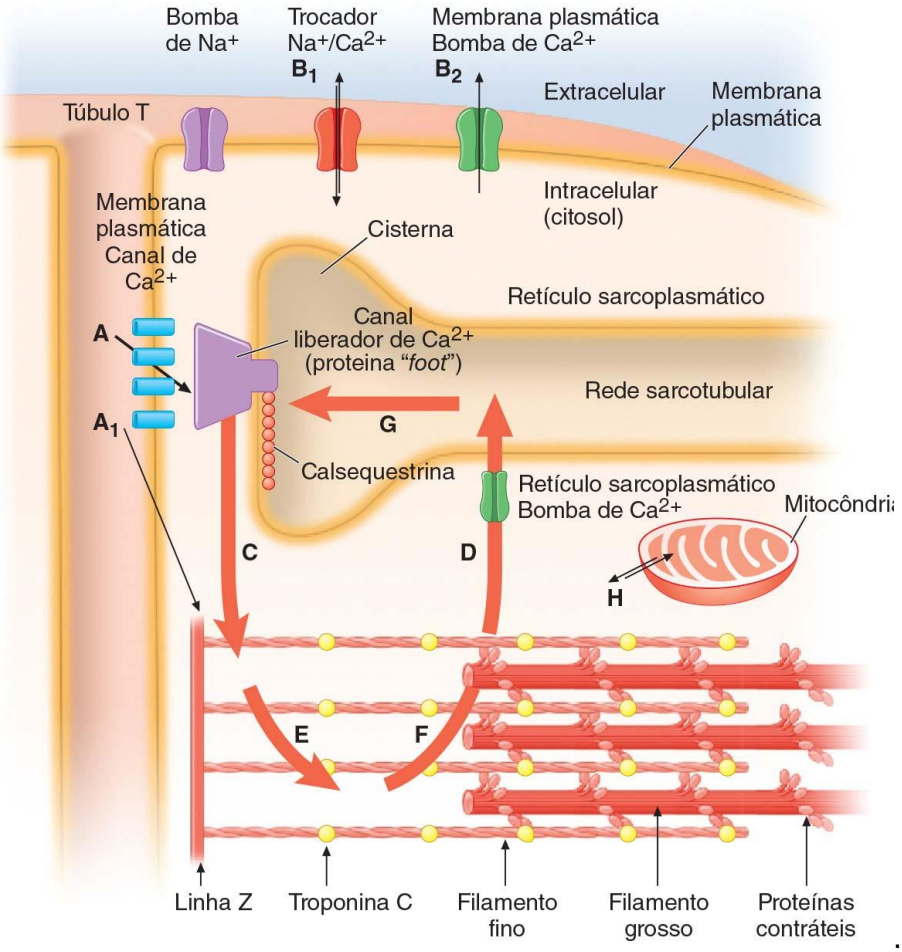
**Fase 4 (Repouso):** Os canais se fecham e atua a bomba de sódio e potássio permitindo que o potencial de repouso retorne à próximo de -90 mV.

### 3.6.2 FENÔMENO DO ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO DA CONTRAÇÃO CARDÍACA

Durante o PA, canais de $Ca^{2+}$ dependentes de voltagem permitem a entrada do íon para o meio intracelular. Além disso, o $Ca^{2+}$ admitido no meio intracelular desencadeia uma série de eventos (Figura 8) que tem como resultado a liberação de $Ca^{2+}$ do RS para o citoplasma. Assim, a concentração $Ca^{2+}$ ($[Ca^{2+}]$) é elevada em até 10000 vezes permitindo a ligação do íon no sítio de ligação da troponina C, para que então ative o maquinário contráctil (GUYTO; HALL, 2011).

O processo de liberação de $Ca^{2+}$ do RS é comumente nomeado de liberação de $Ca^{2+}$ induzida por $Ca^{2+}$. O maquinário contráctil consiste no complexo troponina, por intermédio do $Ca^{2+}$, expondo a ligação da miosina na actina permitindo assim a formação das pontes cruzadas para o deslizamento mútuo dos filamentos grossos e finos.

**Figura 8** – Fluxos de $Ca^{2+}$ e estruturas-chave envolvidas no acoplamento excitação-contração cardíaco




Fonte: Jameson et al. (2019, p. 1656)

Para que o relaxamento ocorra a ($[Ca^{2+}]$) deve diminuir, logo o $Ca^{2+}$ dissociado da troponina é transportado por meio de quatro mecanismos, pela bomba do RS, pelo trocador NCX na membrana, para o meio citosólico ou para mitocôndria.

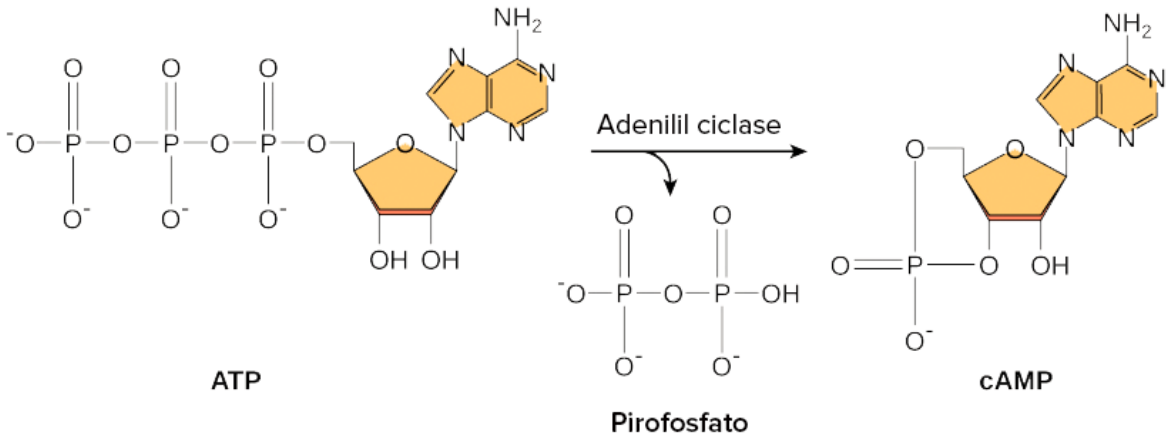
## 3.7 EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO β-ADRENÉRGICA NO TRANSIENTE DE $Ca^{2+}$, FORÇA DE CONTRAÇÃO E PA

Na célula cardíaca existem receptores do tipo β-adrenérgicos subdivididos em β1, β2 e β3 sendo classificados de acordo com sua sensibilidade a moléculas que podem se ligar e ativar um receptor ocasionando uma resposta biológica chamadas de agonista, ou ainda por outras que podem inibir a resposta biológica chamadas de antagonista. Os receptores β-adrenérgicos ao serem ativados por estímulo do sistema

nervoso autônomo (SNA) que pode ser pelo agonista Norepinefrina ou Isoprotenerol, através da mediação da proteína Gs, ativam a função do efetor Adenilato Ciclase (AC) (Lucia *et al*., 2018).

A proteína AC possuí sítio catalítico com superfície localizada para o meio citosólico da membrana plasmática. Sua principal função é converter Adenosina Trifosfato (ATP) em Monofosfato Cíclico de Adenosina (cAMP). Na Figura 9 pode-se visualizar o esquema reacional da conversão de ATP em cAMP.

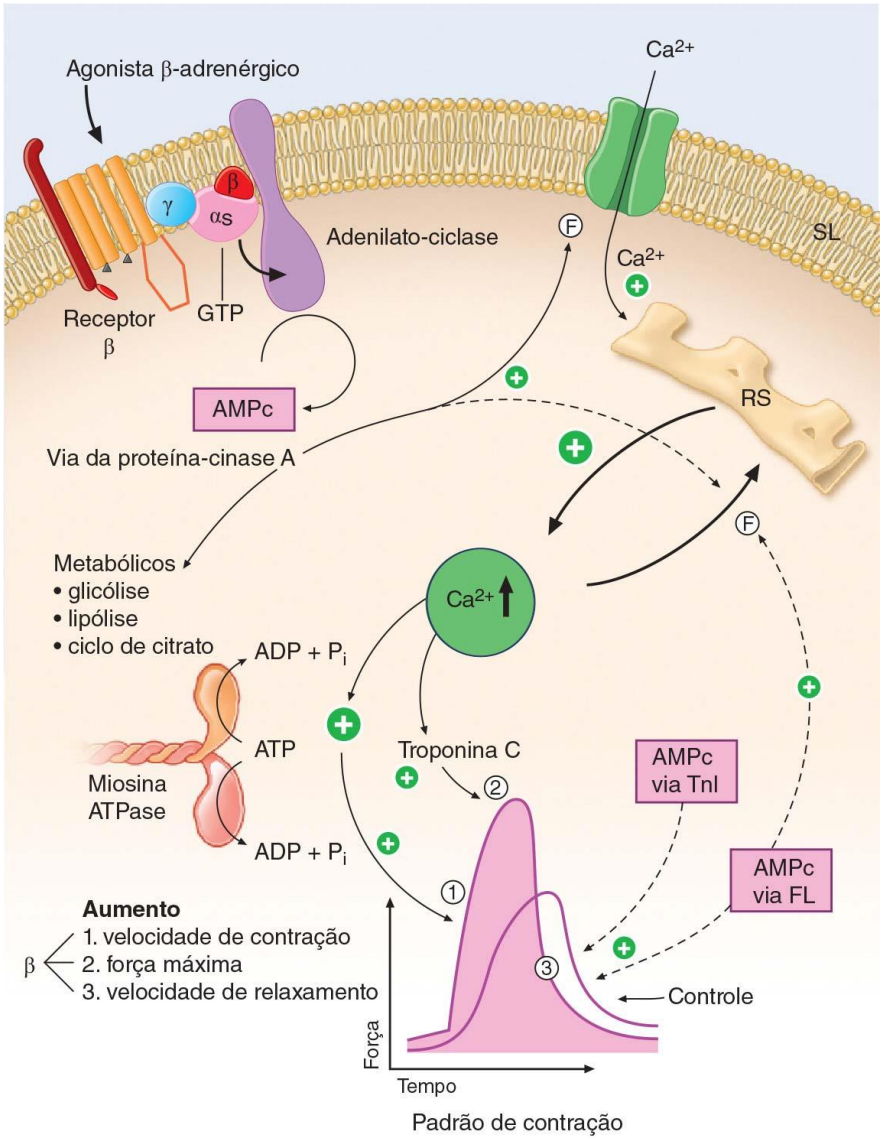
**Figura 9** – Reação de conversão de ATP em cAMP




Fonte:https://pt.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/intracellular-signal-transduction. Acessado em: 19 de dezembro de 2022.

O cAMP atua como um segundo mensageiro, permitindo a ativação da Proteína Quinase A (PKA), que se difunde no meio intracelular promovendo a fosforilação de outras proteínas como: canais de $Ca^{2+}$ do tipo L, das proteínas contráteis Troponina I (TnI) e da fosfolambam no RS (LUCIA *et al*., 2018). A combinação dos efeitos, desencadeados pela sinalização β-adrenérgica, ocasiona um aumento na FC e na força de contração. O esquema dos efeitos da sinalização β-adrenérgica em cardiomiócitos pode ser visualizado na Figura 10.

**Figura 10** – Representação do esquema da sinalização β-adrenérgica no cardiomiócito




Fonte: Jameson *et al*. (2019, p. 1656)

A consequência da fosforilação dessas proteínas desencadeia uma série de efeitos que alteram a frequência cardíaca (FC). A fosforilação dos canais de $Ca^{2+}$ ocasiona o aumento de $Ca^{2+}$ no citosol, resultando no efeito inotrópico positivo (aumento da força de contração do miócito). Já a fosforilação da fosfolambam ativa a SERCA, proporcionando o aumento na velocidade de captação de $Ca^{2+}$ para dentro do RS o que corrobora o efeito lusitrópico positivo (aumento na velocidade de relaxamento). Por fim, a fosforilação da Troponina I promove a diminuição da sensibilidade por parte dos miofilamentos, o que induz para o efeito lusitrópico (JAMESON *et al*.,2019).

## 3.8 O PROCESSO DE “*FEED FORWARD” E* “*FEEDBACK”*

A seguir descreve-se o processo do “*Feedback*” e “*Feed Forward”* nas diferentes funções fisiológicas, deixando em evidência as principais diferenças entre os dois processos quanto ao mecanismo de resposta em cada caso.

Pontua-se que a principal diferença entre o “*Feedback”* e o *“Feed Forward”* está na forma como essa resposta ao estímulo inicial é conduzida (Figura 11). Tratando do termo no contexto de processos, o “*Feedback”* está ligado a uma modificação posterior a resposta do sistema. Já o “*Feed Forward”* consegue modificar o processo antes mesmo da resposta final.

**Figura 5** – Representação do esquema do mecanismo de “*Feedback* vs *Feed Forward”*




Fonte: Autor.

### 3.8.1 PROCESSO DE “*FEEDBACK”* NA FISIOLOGIA

O processo de “*Feedback”* é pautado na resposta de acordo com uma ação. Nesse contexto, diversos processos fisiológicos usam dessa resposta como mecanismo para a homeostase, que é a condição de equilíbrio que o organismo busca para se manter sempre em equilíbrio garantindo as funções fisiológicas. Além disso, de acordo com o esquema de variações das respostas o *“Feedback”* pode ser divido entre positivo e negativo (FARIA *et al*., 2014).

O “*Feedback”* negativo é um dos mecanismos mais importantes para garantia da homeostase. Nesse mecanismo existe uma mudança contrária em relação a alteração inicial, produzindo, assim, respostas que são responsáveis por reduzir o estímulo inicial. Alguns exemplos desse mecanismo na Fisiologia são:

a) controle da concentração de dióxido de carbono no líquido extracelular onde percebido o aumento, também é aumentada a ventilação pulmonar e como consequência ocorre a queda da concentração de dióxido de carbono;

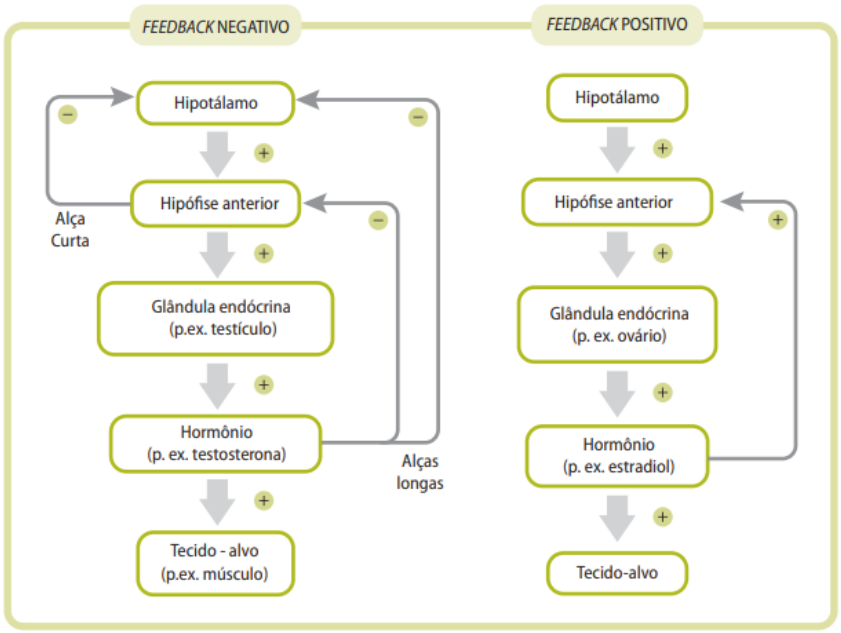
b) controle da pressão arterial onde existe o aumento dos estímulos dos receptores neurais que como consequências diminui os impulsos recebidos (diminuindo o batimento cardíaco) reduzindo a pressão arterial (GUYTON; HALL, 2011);

c) controle hormonal como produção do "*Growth Hormone*" hormônio responsável pelo crescimento.

Já o "*Feedback*" positivo é um processo mais raro na fisiologia, tem a função oposta ao do negativo, garantindo o aumento do estímulo inicial para manter o desequilíbrio. Nesse sentido, temos como exemplo as contrações uterinas do parto, onde a distensão do colo uterino permite o aumento gradativo do colo como resposta para se chegar na dilatação ideal (FARIA *et al*., 2014).

De acordo com a Figura 12 é possível ver um comparativo entre os dois mecanismos descritos acima com um caso de produção hormonal para tecidos-alvo.

**Figura 12** – "*Feedback"* negativo vs positivo no processo de produção e alimentação de hormônios pelas glândulas e uso para tecidos.




Fonte: Faria et al. (2014, p. 85)

Segundo Faria *et al*. (2014), para o fluxograma do "*Feedback"* negativo tem-se que o hormônio produzido atua, além do tecido alvo, na glândula que o produziu diminuindo o estímulo inicial de produção, além disso as alças simbolizam que após a passagem de um estímulo para outro pode acarretar novamente uma nova diminuição da sua produção. Já, para "*Feedback"* positivo o hormônio atua também na glândula que o produziu, porém, aumentando cada vez mais o estímulo inicial.

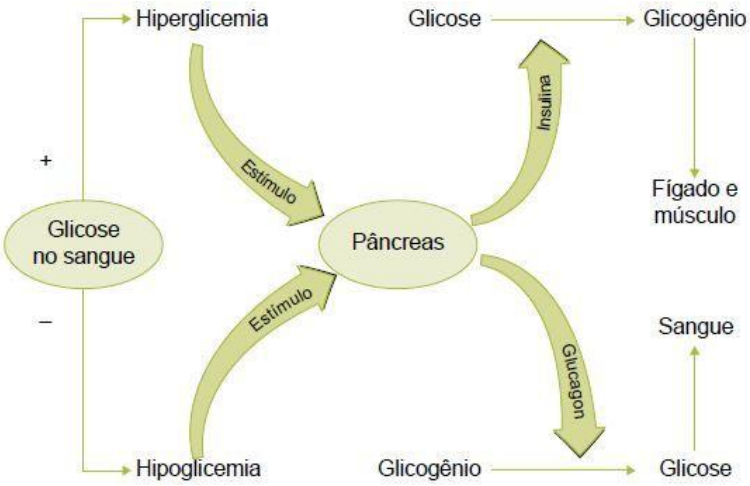
## 8.2 PROCESSO DE "*FEED FORWARD"* NA FISIOLOGIA DO ORGANISMO

O processo de "*Feed Forward*" é baseado em uma preparação para recepção do estímulo, ainda que esse estímulo ainda não tenha sido totalmente percebido. Diversas estruturas e processos fisiológicos utilizam desse mecanismo. Nesse sentido, alguns exemplos são: resposta imune, regulação de glicose, resposta ao estresse dentre outros (GUYTON; HALL, 2011).

Exemplificando o processo, uma pessoa exposta ao estímulo estressante tem como resposta imediata o estímulo de fuga que é ativado, assim *o "Feed Forward"* ocorre quando os neurônios ativam a resposta de luta ou fuga antes mesmo que o estímulo seja totalmente percebido.

Contextualizando para o exemplo da regulação de glicose (Figura 13), a secreção do hormônio insulina pelo pâncreas permite a diminuição da concentração de glicose no sangue, consequentemente ocasiona o aumento dela no meio intracelular, porém para repor a concentração de glicose no sangue existe a repostas pelo hormônio glucagon, também produzido no pâncreas que estimula o metabolismo do glicogênio, que é a reserva de glicose que temos no fígado e nos músculos. Percebe-se que esse processo é o "*Feed Forward"* pois o mecanismo prepara a liberação de glicose através de um estímulo inicial (FARIA *et al*., 2014).

**Figura 6** – Controle da glicemia humana realizada pelos hormônios insulina e glucagon.




Fonte: https://www.coladaweb.com/biologia/corpo-humano/insulina-e-glucagon

Já, o que torna o "*Feed Forward"* interessante no estudo da excitação-contração cardíaca é que para atender às demandas energéticas do exercício, o sistema nervoso autônomo (SNA), via sistema nervoso simpático (SNS) altera a frequência cardíaca (FC) no nível do nodo sinoatrial e modifica, de forma sincronizada, a condutância dos canais de $Ca^{2+}$ do tipo L, a dinâmica das bombas de $Ca^{2+}$ localizadas no sarcolema e no RS, a sensibilidade dos miofilamentos ao $Ca^{2+}$ e a condutância de canais de $K^{+}$, tudo isso para que o ventrículo possa se adaptar à nova demanda de energia e produzir um aumento na força de contração associado a um menor tempo de relaxamento (PUGLISI *et al*.,2013).

# 4 ESTADO DA ARTE

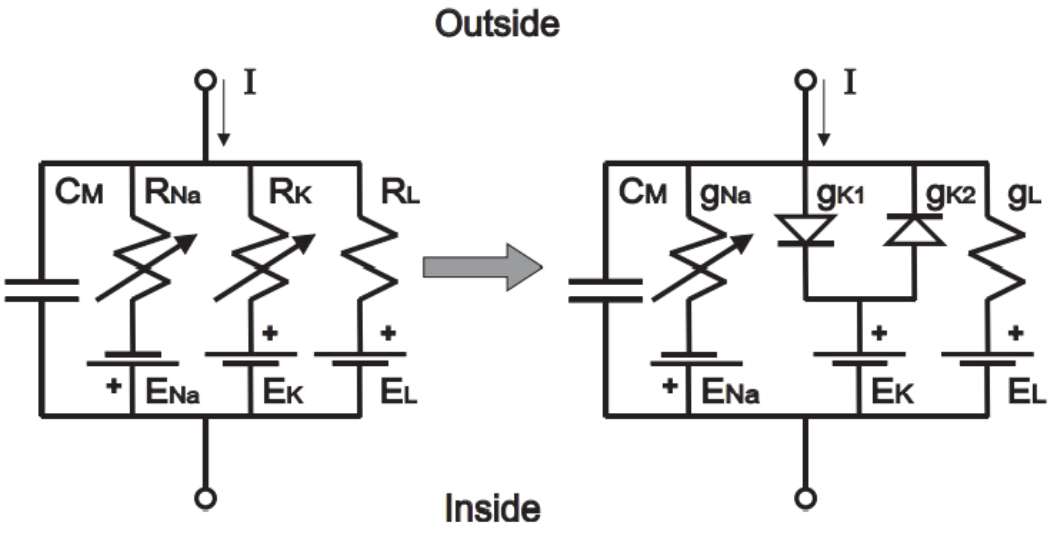
A seguir descreve-se o avanço dos principais modelos matemáticos e computacionais da eletrofisiologia cardíaca, que vão desde os modelos iniciais, com algumas correntes iônicas, até a modelagem do mecanismo contráctil e da sinalização β-adrenérgica.

## 4.1 MODELO NOBLE (1962)

O primeiro modelo matemático para descrever o PA do axônio gigante de lula foi o de Hodgkin-Huxley (1952). Nesse modelo a membrana plasmática e todos seus componentes foram comparados a componentes elétricos para montagem de uma malha que resultava em equações que forneciam o PA da membrana.

O Modelo proposto por Noble (1962) mostra que com algumas modificações no modelo de Hodgkin-Huxley (1952) pode-se descrever os potenciais nas células de marcapasso das fibras de Purkinje. O modelo segue a ideia de que a corrente é transportada por íons se movendo contra o gradiente de potencial eletroquímico, com isso, a corrente total no modelo é constituída pelas componentes da corrente de $Na^+$, $K^+$ e ânions diversos. Na Figura 14 podemos visualizar o modelo de Noble à direita e suas diferenças comparadas ao modelo de Hodgkin-Huxley à esquerda.

**Figura 7** – Comparação do modelo de Noble (1962) com o de Hodgkin-Huxley (1952)




Fonte: Puglisi *et al*. (2004, p.164)

No esquema anterior Cm representa a capacitância da membrana, I a corrente da membrana, $I_{an}$ a corrente dos diversos ânions, gNa, gk1, gk2 e gL representam, respectivamente, as condutâncias dos canais de $Na^+$, $K^+$ e dos diversos ânions, e ainda $E_{Na}$, $E_K$ e $E_L$ representam, respectivamente, os potenciais de equilíbrio do $Na^+$, $K^+$ e dos diversos ânions.

O modelo conta com um sistema de sete Equações Diferenciais que descrevem a correntes iônicas e potencial de membrana. As equações básicas do modelo são modelas como base na condutância iônica de canais individuais conforme Eq. 5:

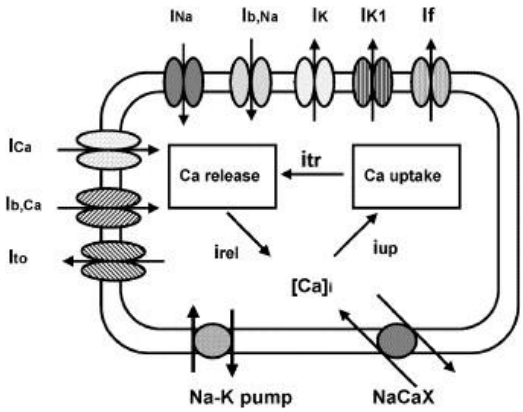
$$I = Cm\frac{dEm}{dt} + INa + IK + Ian \quad (5)$$

O principal resultado do modelo é a descrição do PA e das principais correntes iônicas da célula cardíaca.

## 4.2 DI FRANCESCO & NOBLE (1985)

O modelo de Di Francesco & Nobel (1997) incorporou, além das correntes iônicas, bombas como a bomba de sódio e potássio (Na-K) e trocador de Sódio e Cálcio (NaCaX) que modificaram substancialmente as equações do modelo. Além disso, o modelo ainda conta com a descrição do movimento do $Ca^{2+}$ no interior da célula considerando a captação e liberação de $Ca^{2+}$ pelo RS. O modelo conta com um sistema de dezoito Equações Diferenciais a representação do modelo pode ser visualizada na Figura 15.

**Figura 8** – Representação do esquema da célula do modelo de Di Francesco & Noble (1985)




Fonte: Puglisi *et al*. (2004, p.166)

Onde Na-K pump é a bomba de sódio potássio, NaCaX trocador de Sódio e Cálcio, INa, Ib,Na, IK, IK1, If, ICa, Ib,Ca, Ito são os principais canais da membrana. A principal equação é do PA (Eq. 6) escrita com base na soma das correntes dos canais dependentes de voltagem.

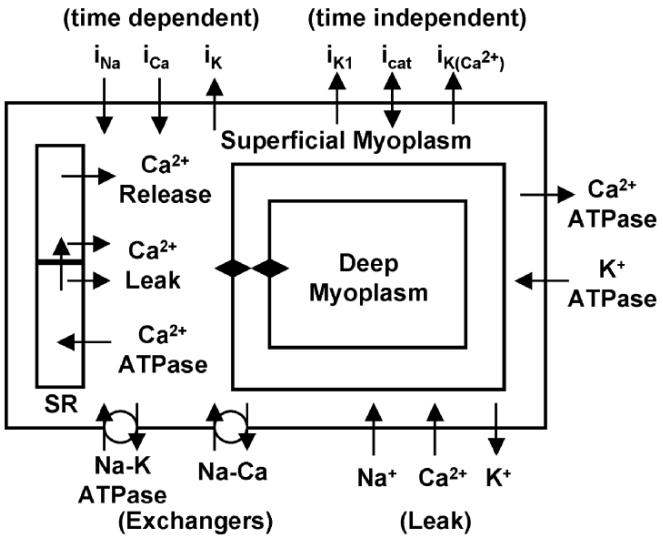
$$\frac{dE_m}{dt} = \frac{-(i_f + i_k + i_{k1} + i_{to} + i_{b,Na} + i_{b,Ca} + i_{NaK} + i_{NaCa} + i_{Na} + i_{Ca,f} + i_{Ca,s} + i_{pulse})}{C} \quad (6)$$

Sendo que $i_f$, $i_k$ , $i_{k1}$, $i_{to}$, $i_{b,Na}$, $i_{b,Ca}$, $i_{NaK}$, $i_{NaCa}$, $i_{Na}$, $i_{Ca,f}$, $i_{Ca,s}$, $i_{pulse}$, representam, respectivamente, as correntes ativa hiperpolarizante, potássio atrasada e de fundo, transitória exterior, sódio de fundo, Cálcio de fundo, trocador sódio-potássio, trocador sódio-cálcio, sódio, Cálcio rápida e lenta e de pulso.

## 4.3 MODELO DE NORDIN (1993)

A existência de partes intracelulares que continham $Ca^{2+}$ só foi proposta e modelada por outros pesquisadores, dentre eles destaca-se Nordin que em 1993 publica o modelo ventricular de porquinho da índia, onde o citoplasma é dividido em duas principais regiões: mioplasma superficial, mioplasma superficial além do RS. O esquema da modelagem proposto por Nordin (Figura 16) descreve que a dinâmica de fluxo de íons entre os 3 compartimentos segue leis de difusividade, e ainda os volumes dos compartimentos foram ajustados com base em experimentos empíricos.

**Figura 9** – Esquema representando a célula do Modelo de Nordin (1993)




Fonte: Puglisi *et al*. (2004, p.169)

O modelo conta com um sistema de dez Equações Diferenciais acopladas. Os principais dados de saída da solução desse modelo são o potencial de membrana (Eq. 7), as principais correntes iônicas e a concentração de $Ca^{2+}$ nos 3 compartimentos da célula.

$$\frac{dv_{mem}}{dt} = \frac{-(i_{Na} + i_{Ca} + i_k + i_{NaCa} + i_{NaK} + i_{cat} + i_{K1} + i_{leak,Ca} + i_{leak,K} + i_{k(Ca)} + i_{leak,Na} + i_{ext})}{C_{mem}} \quad (7)$$

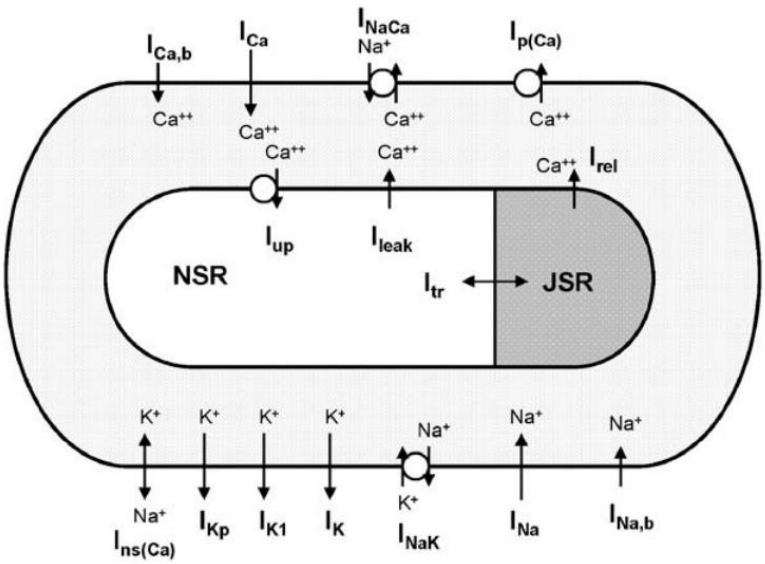
Sendo que $i_{Na}$, $i_{Ca}$, $i_k$, $i_{NaCa}$, $i_{NaK}$, $i_{cat}$, $i_{K1}$, $i_{leak,Ca}$, $i_{leak,K}$, $i_{k(Ca)}$, $i_{leak,Na}$, $i_{ext}$, $C_{mem}$ representam, respectivamente, correntes do canais de sódio, cálcio, potássio, trocador de sódio-cálcio, trocador sódio-potássio, total sensitiva a cálcio, retificadora interna de potássio, vazamento de cálcio, vazamento de potássio, sensível ao cálcio e potássio, vazamento de sódio, da transmembrana aplicada e capacitância da membrana.

## 4.4 MODELO DE LUO & RUDY (1994)

O modelo de Luo e Rudy (Figura 17), assim como o modelo de Nordin, tem sua modelagem baseada no miócito ventricular de porquinho da índia. O esquema do modelo conta com a modelagem dos canais iônicos de $Na^+$, $K^+$ e $Ca^{2+}$, inclusão da

modelagem de bombas e um trocador localizados na membrana celular. Além disso, foi inserida a divisão do RS em duas áreas: "*Network SR*" (NSR) responsável por ser a região de captura do $Ca^{2+}$ do citoplasma e "*Junctional SR"* (JSR) região para onde $Ca^{2+}$ é translocado para lançamento futuro.

**Figura 10** – Modelo de Luo & Rudy (1994)



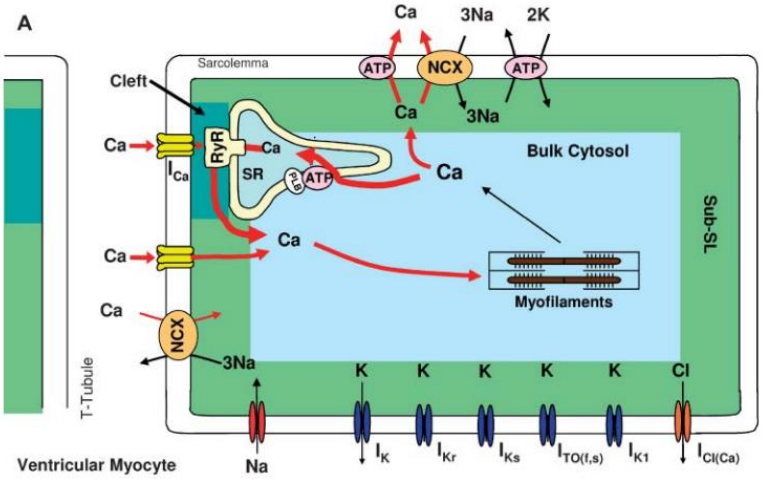

Fonte: Puglisi *et al*. (2004, p.167)

O modelo conta com um sistema de doze Equações Diferenciais acopladas onde as principais variáveis de saída são o potencial de membrana (Eq. 8), correntes de íons de $Na^+$, $K^+$ e $Ca^{2+}$ e ainda [$Ca^{2+}$] nas regiões do NSR, JSR e citoplasma. Onde $I_i$, $I_{st}$, $Cm$ representam, respectivamente, correntes do tipo i, de estímulo e capacitância da membrana.

## 4.5 MODELO DE SHANNON *ET AL*. (2004)

Shannon *et al*. (2004) desenvolveram um modelo matemático para o processo de acoplamento EC do miócito ventricular de coelho (Figura 18), descrevendo a nova dinâmica de $Ca^{2+}$ com o acréscimo de quatro compartimentos que influenciam nas principais correntes iônicas, tornando com essa modificação de micro domínios o modelo mais realista.

**Figura 11** - Esquema do modelo de Shannon *et al*. (2004) ilustrando os quatro compartimentos: cleft, subsarcolema, RS e citosol




Fonte: Shannon *et al*. (2004, p. 1)

Segundo Shannon *et al*. (2004), o PA é dado pela Eq.9.

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m}(I_{CaL} + I_{p(Ca)} + I_{NaCa} + I_{Cab} + I_{Na} + I_{Nab} + I_{NaK} + I_{Ktof} + I_{Ktos} + I_{Ki} + I_{Ks} + I_{Kp} + I_{Kr} + I_{ClCa} - I_{stim}) \quad (9)$$

Onde os parâmetros da equação são dados por $Cm, I_{CaL}, I_{NaCa}, I_{Cab}, I_{Na}, I_{Nab}, I_{NaK}, I_{Ktof}, I_{Ktos}, I_{Ki}, I_{Ks}, I_{Kp}, I_{Kr}, I_{ClCa}$ respectivamente a capacitância da membrana, as correntes de $Ca^{2+}$ do Tipo L, bomba de $Ca^{2+}$ do sarcolema, trocador NCX, de fundo de $Ca^{2+}$, de $Ca^{2+}$ ativada por $Cl^-$ , rápida de $Na^+$ , de fundo de $Na^+$ e da bomba de $Na^+$ /$K^+$ , por fim os índices K são as principais correntes de potássio ($K^+$ ) e $I_{stim}$ é o estímulo externo.

Além disso, a difusão entre os quatro compartimentos de $Ca^{2+}$ considerados descritos no modelo podem ser equacionados conforte Eq. 10. Onde $J_{I(C1-C2)}$ é a difusão do íon I, $\Delta x_{C1-C2}$ é a distância entre os compartimentos C1 e C2 e D é uma constante de difusão entre os compartimentos.

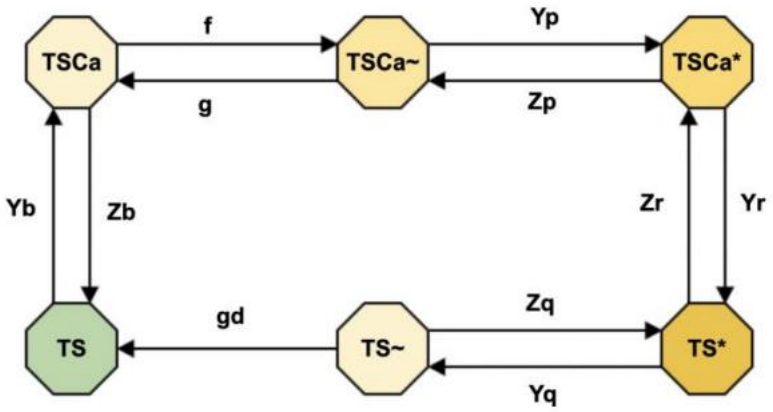
$$J_{I(C1-C2)} = D_{I(C1-C2)} A \frac{I_{C1} - I_{C2}}{\Delta x_{C1-C2}} \quad (10)$$

O modelo conta com um sistema de vinte Equações Diferencias completo pode ser encontrado no artigo de Shannon *et al*. (2004).

## 4.6 MODELO MECÂNICO DE NEGRONI & LASCANO (2008)

O modelo de Negroni & Lascano de força de contração conta com o equacionamento com base nos estados da ligação de cálcio ao complexo troponina de acordo com seis estados de sítios nos filamentos finos do Sistema de Troponina (ST). O ST é definido por três unidade de Troponina – Tropomiosina, sendo uma a Troponina C (TnC), permitindo assim a ligação de três íons $Ca^{2+}$ favorecendo assim os estados do diagrama (Figura 19).

**Figura 12** – Diagrama de estados com componentes dependentes de $Ca^{2+}$ e $Na^{+}$ do modelo




Fonte: Negroni & Lascano (2008, p. 1)

Sendo TS o livre de $Ca^{2+}$, TSCa o estado $Ca^{2+}$ ligado a TnC sem a ligação de pontes cruzadas, TSCa~ é $Ca^{2+}$ ligado a TnC com a ligação de pontes cruzadas no estado “fraco”, TSCa* é $Ca^{2+}$ ligado a TnC com a ligação de pontes cruzadas no estado “forte, TS~ é TS livre de $Ca^{2+}$ com ligação de pontes cruzadas no estado fraco e TS* é o TS livre de $Ca^{2+}$ com ligação de pontes cruzadas no estado forte.

O modelo conta com um sistema de 10 Equações Diferenciais e é baseado na transição dos estados, formando assim um sistema onde a força de contração gerada pelas pontes cruzadas é dada pela Eq. 11.

$$F = (A_w([TSCa\sim] + [TS\sim])h_w + A_p([TSCa*] + [TS*])h_p \quad (11)$$

$$\frac{d[TS\sim]}{dt} = y_q[TS*] - Z_q[TS\sim] - g_d[TS\sim] \quad (12)$$

$$\frac{d[TSCa_3]}{dt} = Y_b\left([TS][Ca^{2+}]_i^3\right) - Z_b[TSCa3] + g([TSCa_3^{\sim}] - f[TSCa_3]) \quad (13)$$

$$\frac{d[TSCa3\sim]}{dt} = f[TSCa3] - g[TSCa3\sim] + Z_b[TSCa*] - Y_b[TSCa3\sim] \quad (14)$$

$$\frac{d[TSCa3*]}{dt} = Y_r[TSCa3\sim] - Z_r[TSCa3*] + Z_q\left[TS*][Ca^{2+}]_i^3\right] - Y_q[TSCa3*] \quad (15)$$

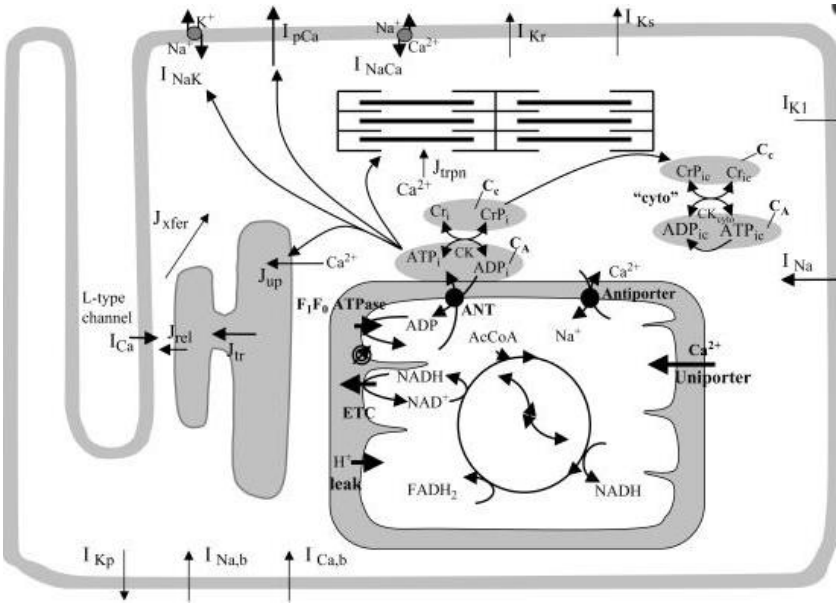
$$\frac{d[TS*]}{dt} = Y_r[TSCa3*] - Z_r[TS*] - gd[TS*] \quad (16)$$

$$[TS] = [TSt] - [TSCa3] - [TSCa3\sim][TSCa3*] - [TS*] - [TS\sim] \quad (17)$$

## 4.7 MODELO DE CORTASSA ET. AL (2006)

O modelo de Cortassa *et al*. (2006) é um modelo que acrescentou em seu esquema a produção e consumo de ATP por intermédio da mitocôndria (Figura 20). Além disso, segundo os autores foi o primeiro a integrar os detalhes biofísicos da atividade dos canais iônicos cardíacos, os transportes de íons do sarcolema e da mitocôndria, o ECC e a ativação dos miofilamentos com um modelo de fosforilação oxidativa mitocondrial. Com isso, o modelo conta com um sistema de 50 Equações Diferenciais sendo um aperfeiçoamento do modelo anterior (CORTASSA *et al*., 2006).

**Figura 20** – Modelo de Cortassa *et al*. (2006)




Fonte: Cortassa *et al*. (2006, p.1)

Onde a taxa de produção e consumo de ATP pode ser equacionada de acordo com a Equação 18.

$$\frac{d[ATP]_i}{dt} = V_{ANT}.\frac{V_{mito}}{V_{myo}} - V_{CK}^{mito} - V_{AM} - \frac{1}{2}.J_{up} - \left(I_{p(Ca)} + I_{NaK}\right).\frac{A_{cap}}{V_{myo}.F} \quad (18)$$

Utilizando a modelagem de produção e consumo de ATP proposta por Cortassa *et al*. (2006), esse mecanismo também foi implementado no modelo de Bondarenko *et al*. (2013) conforme descrito no Apêndice A.

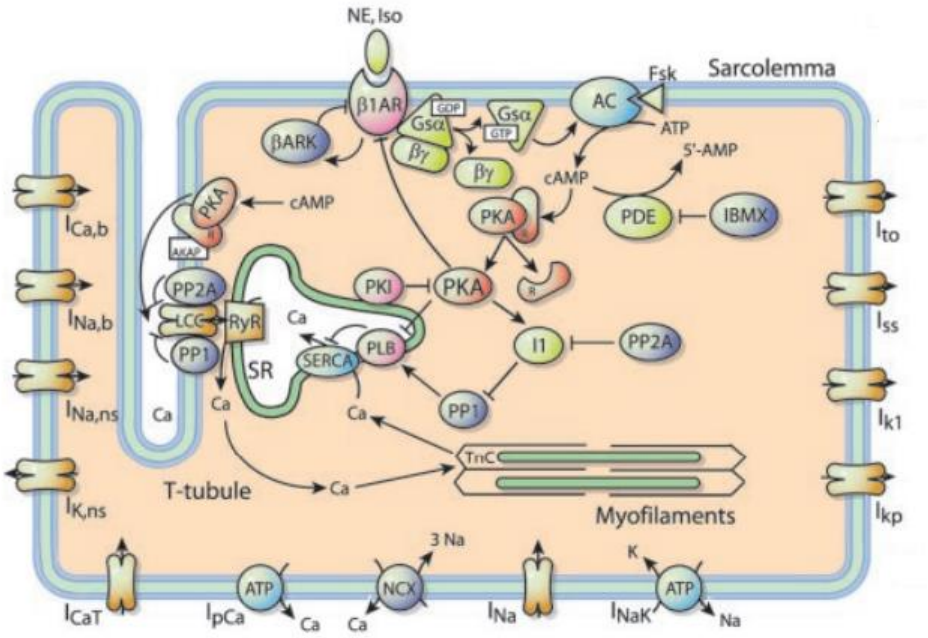
## 4.8 MODELAGEM DA ESTIMULAÇÃO β-ADRENÉRGICA NO MIÓCITO VENTRICULAR

### 4.8.1 SAURCEMAN *et al*. (2003)

O modelo de Saurcerman *et al*. (Figura 21) conta com um sistema de 37 Equações Diferenciais acopladas e 12 equações algébricas que descrevem a sinalização β-adrenérgica no miócito cardíaco. O grande diferencial é sua modelagem robusta permitindo assim a quantificação dos processos de sinalização β-adrenérgica,

que ocasiona uma cascata de eventos que alteram a FC (ver seção 3 da dissertação).

**Figura 13 -** Modelo de Saurceman *et al*. (2003)




Fonte: Puglisi *et al*. (2004, p.172)

A Figura 21 representa o esquema da célula do modelo de Saurceman de sinalização β-adrenérgica na contração do miócito ventricular. Onde NE e Iso são os agonistas Norepinefrina e Isoprotenerol, β1-AR, receptor adrenérgico β1, βARK é o receptor β adrenérgico Kinase, AC é a Adenilato ciclase, Fsk, forscolina, PDE é a fosfodirestease, PKA representa a proteína Kinase A, RIC/RIIC são os tipos I e II da PKA, PKI é o inibidor da proteína Kinase sensível ao calor, PP1, proteína fosfatase do tipo 1, PP2A, proteína fosfatase do tipo 2A, I1, inibidor do tipo 1, PLB, fosfolambam, LCC canal de Cálcio do tipo L, SERCA, é a bomba $Ca^{2+}$-ATPase do retículo sarcoplasmático e RyR o receptor rianodina.

No que diz respeito ao sistema de sinalização temos uma série de parâmetros e equações. Uma das principais equações do modelo é a taxa de variação da proteína Gs ligada ao Trifosfato de Guanosina (GTP) (Eq.19).

$$\frac{dGs\alpha_{GTPtot}}{dt} = \varphi_{gact}([RG] + [LRG]) - \varphi_{hyd}[Gs\alpha_{GTPtot}] \quad (19)$$

Temos ainda equações para variação da taxa de metabolismo de cAMP (Eq.20).

$$\frac{d[cAMP_{tot}]}{dt} = \frac{k_{AC-basal}([AC][ATP])}{k_{m-basal+}[ATP]} + \frac{k_{AC-Gs\alpha}([Gs\alpha_{GTP}:AC][ATP])}{k_{m-Gs\alpha_{GTP}+}[ATP]} - \frac{k_{PDE}([PDE][cAMP])}{k_{m-PDE+}[cAMP]} \quad (20)$$

Sendo $k_{AC-basal}$, $k_{AC-Gs\alpha}$, $k_{m-basal}$, $k_{m-Gs\alpha_{GTP}}$, $k_{PDE}$ e $k_{m-PDE}$ representam, respectivamente constantes empíricas no estado basal da proteína AC, proteína Trifosfato Guanosina e PDE.

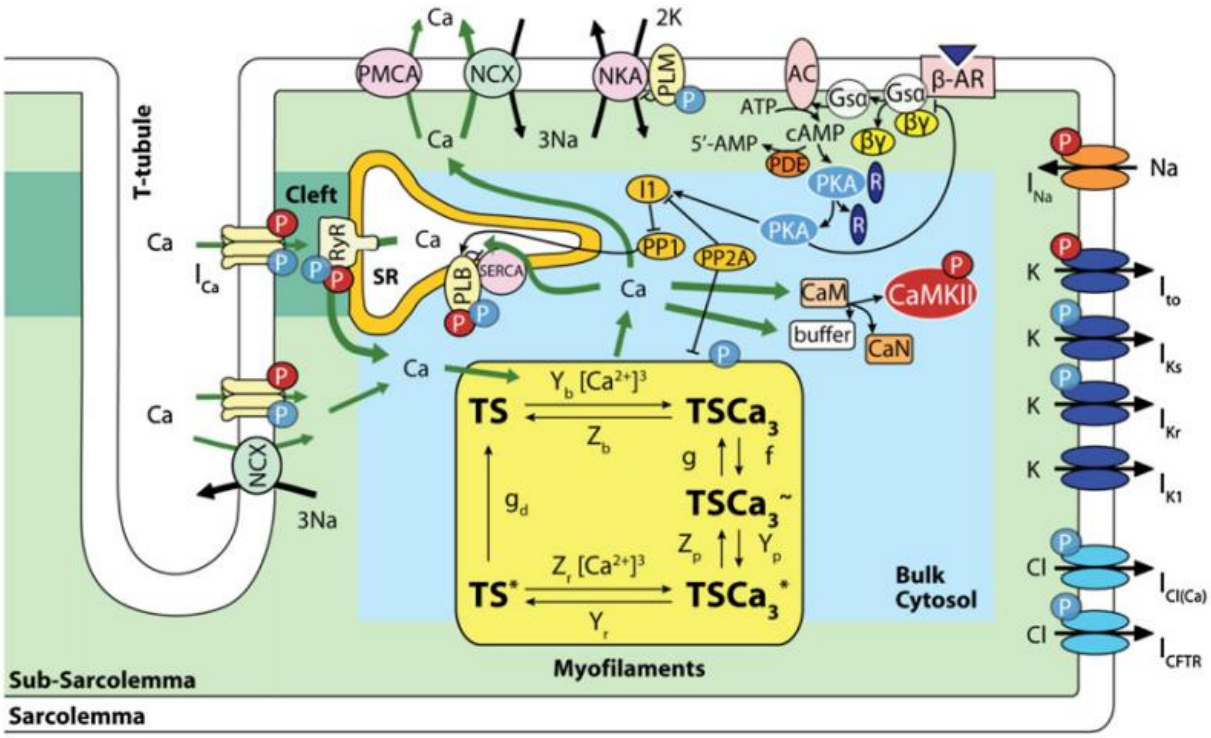
As principais variáveis de saída do modelo são: Potencial da membrana, correntes e concentrações de $Ca^{+2}$, além das concentrações de ISO e cAMP. O sistema completo de Equações Diferenciais e do modelo proposto pode ser encontrado no artigo (SAURCERMAN *et al*., 2003).

### 4.8.2 NEGRONI *et al*. (2015)

O modelo de Negroni *et al*., conta com um sistema de 10 Equações Diferenciais e ainda possue a inserção do mecanismo de contração a sinalização β-adrenérgica (Figura 22). Conforme explicado no Capítulo 3, a sinalização é responsável pelos efeitos Inotrópico (aumento no pico da força) e Lusitrópico (velocidade de relaxamento), ambos efeitos impactam, indubitavelmente, nos parâmetros e equações do modelo mecânico original. O diagrama de estados, representado na Figura 22, mostra como ocorrem as taxas de transições do $Ca^{2+}$ ligado ao sítio da troponina e as etapas dos estados da formação das pontes cruzadas. Nesse contexto, o estado TS é definido como o estado em que não existe ligação de $Ca^{2+}$ e nem a formação de pontes cruzadas. Já nos estados $TSCa_3$, $TSCa_3^{\sim}$ e $TSCa_3^{*}$ existe a ligação de três $Ca^{2+}$ e nas formações de ponte cruzadas temos nenhuma formação, estado fraco de formação e estado forte de formação, respectivamente. O estado $TS^{*}$ e onde o $Ca^{2+}$ é

dissociado, porém ainda existe a ponte cruzada formada. Ainda nesse contexto é importante ressaltar que o mecanismo base para o diagrama é a cooperatividade, onde a ligação do primeiro $Ca^{2+}$ permite a facilitação das ligações dos demais.

**Figura 14 -** Representação do esquema da célula com o diagrama da ligação de Cálcio do modelo de Negroni *et al*. (2015)




Fonte: Adaptado de Negroni *et al*. (2015, p.163)

Uma das principais equações é a que fornece o cálculo da força de contração onde $F_b$, $A_w$, $Ap$, $hw\ e\ hp$ representam, respectivamente, constantes elásticas para os estados fracos e forte e comprimento médio das pontes cruzadas em seus respectivos estados.

$$F_b = \frac{A_w(3[TSCa_3\sim])hw + Ap(3[TSCa_3*] + 3[TS*])hp}{reference\ area} \quad (21)$$

E ainda as taxas de variações dos estados é dada por:

$$\frac{d[TSCa_3]}{dt} = Y_b\left([TS][Ca^{2+}]_i^3\right) - Z_b[TSCa_3] + g([TSCa_3^*] - f[TSCa_3^*]) \quad (22)$$

$$\frac{d[TSCa_3\sim]}{dt} = f[TSCa_3] - g[TSCa_3\sim] + Z_b[TSCa*] - Y_b[TSCa_3\sim] \quad (23)$$

$$\frac{d[TSCa_3*]}{dt} = Y_p[TSCa3\sim] - Z_b[TSCa3*] + Z_r[TS*][Ca^{2+}]_i^3] - Y_r[TSCa3*] \quad (24)$$

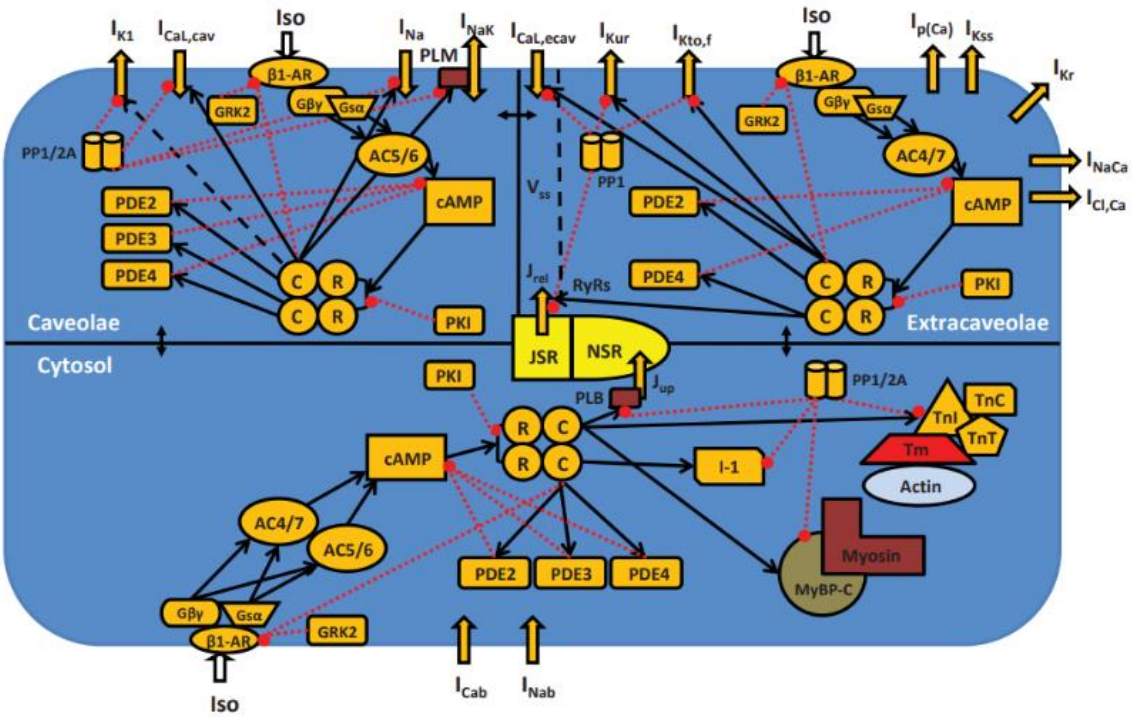
$$\frac{d[TS*]}{dt} = Y_r[TSCa_3*] - Z_r[TS*] - gd[TS*] \quad (25)$$

$$[TS] = [TSt] - [TSCa_3] - [TSCa_3\sim] - [TSCa_3*] - [TS*] \quad (26)$$

### 4.8.3 MULLINS & BONDARENKO (2019)

O modelo prosposto por Mullins e Bondarenko (Figura 23) conta com a modelagem da dinâmica de sinalização β-adrenérgica do miócito ventricular de rato. Os autores apresentam a influência quantitativa dos efeitos ocasionados pela cascata de eventos da sinalização β-adrenérgica na força de contração.

**Figura 15**– Modelo de Mullins & Bondarenko (2019)



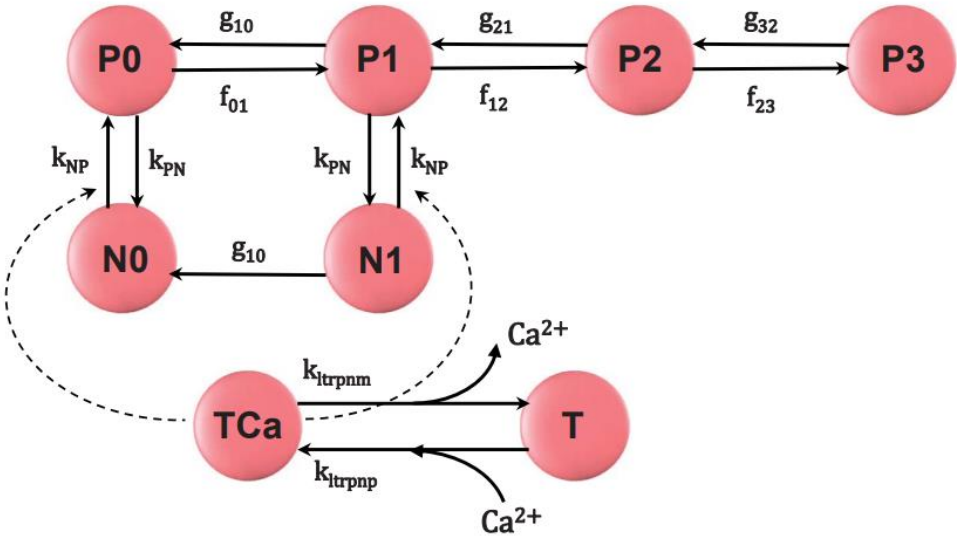

Fonte: Mullins e Bondarenko (2019)

O modelo é baseado no modelo eletromecânico com acréscimo da modelagem da sinalização β-adrenérgica e conta com um sistema de 143 Equações Diferenciais. Nesse modelo a força de contração (Eq. 27) é modelada com base em 6 estados permissivos da Tropomiosina (Figura 24) que descrevem a probabilidade da ligação do cálcio ao sítio da troponina para permitir o deslizamento mútuo e filamentos grossos e finos.

$$F_{contrn} = \frac{P1 + N1 + 2(P2) + 3(P3)}{F_{máx}} \tag{27}$$

Sendo que P1, P2, P3 e N1 representam, respectivamente, os estados permissivos e não permissivos de ligação de cálcio a tropomiosina.

**Figura 16**– Diagrama de estados para cálculo da força de contração




Fonte: Mullins e Bondarenko (2019)

O diagrama acima descreve a formação de pontes cruzadas e o inferior a ligação de $Ca^{2+}$ à troponina. Com isso, P0 é o estado inicial, porém sem formação de ponte cruzada, P1 é estado permissivo e com a formação de uma ponte cruzada, P2 é o estado permissivo com formação de duas pontes cruzadas e P3 é o estado permissivo com formação de três pontes. Já N0 e N1 são os estados não permissivos,

TCa é o estado onde $Ca^{2+}$ está ligado e T o estado em que $Ca^{2+}$ não está ligado. É importante ressaltar que a taxa de variação de cálcio influência nos estados N0 e N1, todo mecanismo está montado com base na cooperatividade do tipo que a formação de pontes cruzadas favorece a formação de novas na vizinhança. Além disso entre os estados do diagrama temos as constantes de transição entre os estados ou de associação e e dissociação de $Ca^{2+}$ denotado por $g_{ij}$, $f_{ij}$, $K_{ij}$ com índices i e j representando o sentido dos estados variando de 0 até 3.

Desse diagrama temos as Equações Diferenciais que descrevem as taxas de transições entre os estados:

$$\frac{dN_0}{dt} = k_{PN}P0 + g_{10SL}N1 - k_{NP}N0 \tag{28}$$

$$\frac{dN1}{dt} = k_{PN}P1 - (k_{NP} + g_{10SL})N1 \tag{29}$$

$$\frac{dP0}{dt} = g_{10SL}P1 + k_{NP}N0 - (k_{NP} + f_{01})P0 \tag{30}$$

$$\frac{dP1}{dt} = g_{21SL}P2 + f_{01}P0 + k_{NP}N1 - \left(f_{12} + g_{10SL} + k_{NP}\right)P1 \tag{31}$$

$$\frac{dP2}{dt} = g_{32SL}P3 + f_{12}P1 - (f_{23} + g_{21SL})\,P2 \tag{32}$$

$$\frac{dP3}{dt} = f_{23}P2 - g_{32SL}P3 \tag{33}$$

Nesse contexto, seguindo a linha da sinalização β-adrenérgica, a ativação do receptor resulta no aumento do nível da fosforilação, que por consequência altera a taxa de transição entre os estados da tropomiosina, conforme (Eq.34).

$$\frac{df_{TnI,p}^{cyt}}{dt} = \frac{k_{TnI_{PKA}}[C]^{cyt}(1 - f_{TnI,p}^{cyt})}{k_{TnI_{PKA}} + (1 - f_{TnI,p}^{cyt})} - \frac{k_{TnI_PP2A}[PP2A]^{cyt}(f_{TnI,p}^{cyt})}{k_{TnI_{PP2A}} + f_{TnI,p}^{cyt}} \quad (34)$$

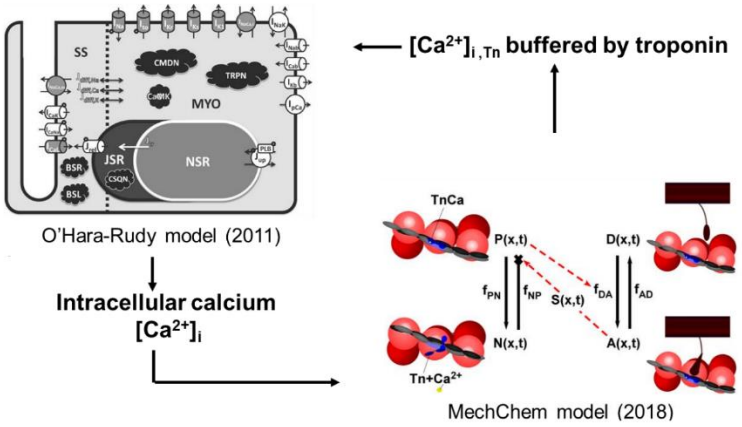
Sendo que: $f_{TnI,p}^{cyt}$ é a fração de TnI fosforilada, $k_{TnI_{PKA}}$é a taxa de fosforilação de TnI por PKA, $k_{TnI_PP2A}$ é a taxa de desfosforilação de TnI por PP2A, $k_{TnI_{PKA}}$ é a afinidade relativa para fosforilação de TnI por PKA, $k_{TnI_{PP2A}}$ é a afinidade relativa para a desfosforilação de TnI por PP2A, $[C]^{cyt}$ é a concentração citosólica da subunidade catalítica da PKA e $[PP2A]^{cyt}$ é a concentração citosólica de proteína fosfatase do tipo 2.

Os principais dados de saída do modelo são: concentração de $Ca^{2+}$, força normalizada, força de contração e comprimento do sarcômero.

### 4.8.4 LYON *et al*. (2020)

O trabalho de Lyon *et al*. é uma modelagem eletromecânica realizada pelo acoplamento bidirecional dos modelos de O'Hara-Rudy (Eletrofisiológico) com o de MechChem (mecânico) do miócito ventricular de humano levando em conta, também, a sinalização β-adrenérgica (Figura 25). Nesse sentido, o modelo fornece através de um sistema de 50 Equações Diferenciais a dinâmica da força de contração, dinâmica de $Ca^{2+}$ e do PA considerando os efeitos da sinalização β-adrenérgica.

**Figura 17-** Modelo de Lyon *et al*. (2020)




Fonte: Adaptado de Lyon *et al*. (2020, p.22)

Nesse modelo a concentração de $Ca^{2+}$ no cytosol, é dada pela seguinte E.D. Eq.35.

$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = I_{pCa} + IC_{ab} - 2INaCai)\frac{Acap}{2Fvmyo} - Jup\ \frac{vnsr}{vmyo} + Jdiff\frac{vss}{vmyo} - 3\frac{dCatn}{dt} - \frac{dCaCMDN}{dt} \quad (35)$$

Sendo que: $I_{pCa}$, $IC_{ab}$ e $INaCai$, são as corrente da bomba de cálcio do sarcolema, cálcio de fundo, trocador de Sódio-Cálcio do mioplasma, $Acap$ é a área capacitiva da célula, F é a constante de Faraday, $vmyo$ é o volume do mioplasma, Jup é a captação total de cálcio, via SERCA, do mioplasma para o NSR, vnsr volume do NSR, Jdiff é o fluxo total da difusão, vss é volume do compartimento de subespaço, e por fim os dois últimos diferenciais são as taxas de variação de cálcio ligado a troponina e mudança na Calmudolina ligada ao $Ca^{2+}$. Além disso, a concentração de $Ca^{2+}$ no cytosol com a consideração da sinalização torna-se:

$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = \beta_{cai}.(-(IpCa + ICab - 2 * INaCai) * \frac{Acap}{2 * F * vmyo} - Jup * \frac{vnsr}{vmyo} + Jdiff * \frac{vss}{vmyo}) \quad (36)$$

Onde o parâmetro $\beta_{cai}$ pode ser equacionado como (Eq. 37):

$$\beta_{cai} = \frac{1}{1 + \frac{CMDN.K_{m,CMDN}}{(K_{m,CMDN} + [Ca^{2+}]_i)^2} + \frac{TRPN.K_{m,TRPN}}{(K_{m,TRPN} + [Ca^{2+}]_i)^2}} \quad (37)$$

O $CMDN$, $TRPN$ $K_{m,CMDN}$ e $K_{m,TRPN}$ representam, respectivamente, a calmodulina, tampão troponina $Ca^{2+}$ no mioplasma, concentração de meia saturação da molécula CMDN e da TRPN.

Os principais dados de saída do modelo são: concentração de cálcio, força de contração e PA.

A síntese dos modelos descritos anteriormente pode ser observada no Quadro 1.

**Quadro 1.** Características dos principais modelos descritos no Estado da Arte

| **Modelo** | **Descrição do Modelo** | **Número de EDO's** | **Espécie** | **Frequência (Hz)** |
|---|---|---|---|---|
| NOBLE (1962) | Elétrico | 7 | Lula Gigante | 0.33 |
| DI FRANCESCO & NOBLE (1985) | Elétrico | 18 | Lula Gigante | * |
| MODELO DE NORDIN (1993) | Elétrico | 10 | Porquinho-da-índia | 0.33 - 5 |
| MODELO DE LUO & RUDY (1994) | Elétrico | 12 | Porquinho-da-índia | * |
| MODELO DE SHANNON *ET AL*. (2004) | Elétrico | 20 | Coelho | 0.5 - 1 |
| MODELO MECÂNICO DE NEGRONI & LASCANO (2008) | Mecânico | 10 | * | 1 |
| MODELO DE CORTASSA *ET AL*. (2006) | Produção e consumo de ATP | 50 | * | 0.25 - 2 |
| SAURCEMAN *et al*. (2003) | Sinalização β-adrenérgica | 37 | Camundongo | 1 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| NEGRONI et al. (2015) | Mecânico com sinalização β-adrenérgica | 10 | * | 1 |
| MULLINS & BONDARENKO (2019) | Mecânico com sinalização β-adrenérgica | 143 | Camundongo | 0.5 - 4 |
| LYON *et al*. (2020) | Eletromecânico com sinalização β-adrenérgica | 50 | Humano | 0.5 – 3 |

* Valor não encontrado

Fonte: Autor.

# 5 A IMPORTÂNCIA DA MODELAGEM MATEMÁTICA E COMPUTACIONAL

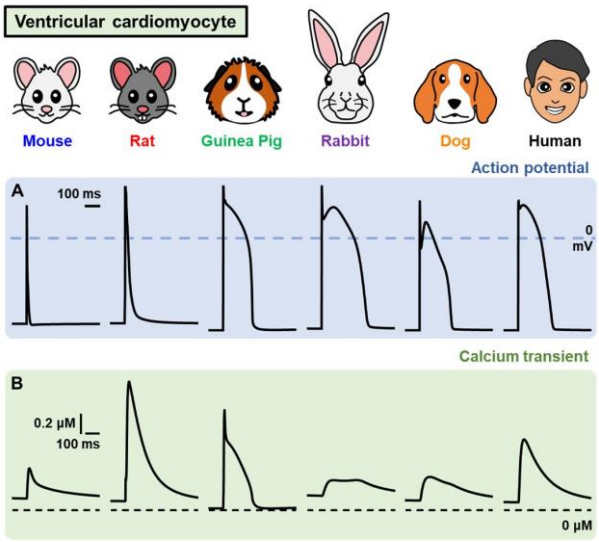
Os experimentos "*in silico*" vem ganhando força nos últimos anos devido a sua aplicação em vários setores como na química medicinal, toxicologia, desenvolvimento de produtos químicos bioativos, indústria farmacêutica dentre outros. A aplicação desse tipo de experimento em diversas áreas mostra-se vantajoso pois o compartilhamento interdisciplinar de ideias permite um avanço, aceitação e adoção mais rápida de novas metodologias (MADDEN *et al*., 2020).

Assim ao longo de 50 anos, a modelagem matemática e computacional e a realização de experimentos "*in silico*" sendo aplicada a eletrofisiologia cardíaca vem se mostrando eficaz no aprofundamento do estudo da EC e de diversos outros fenômenos intracelulares. Com auxílio dessa poderosa ferramenta o entendimento sobre vários problemas como arritmias está sendo entendido e amplamente estudado como forma de contornar essas adversidades (SUTANTO; HEIJMAN, 2022).

O maior triunfo da área são seus modelos robustos que descrevem desde o PA de inúmeras espécies (Figura 26) até processos mais complexos que envolvem sinalizações β-adrenérgicas, tais fenômenos possuem diversos parâmetros que com a ajuda dos modelos e da computação podem ser alterados para simular possíveis efeitos de fármacos. Ainda nesse sentido, o experimento "*in silico*" permite uma ampla liberdade em manipulação dos parâmetros e replicabilidade além de poder ser

realizado diversas vezes usando como peça-chave o poder computacional (SUTANTO; HEIJMAN, 2022).

**Figura 18** Comparação dos diversos PA entre espécies




Fonte: SUTANTO & HEIJMAN, 2022

Na Figura 26 pode-se visualizar a comparação dos PA de diferentes espécies de mamíferos, onde cada curva apresenta uma diferente distribuição de pontos em relação a uma variação temporal fenômeno que mostra uma diferença fisiológica de funcionamento para cada espécie.

# 6 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo, descreve-se os materiais e os métodos utilizados nessa dissertação para a implementação do modelo matemático e desenvolvimento da ferramenta computacional FFMsim.

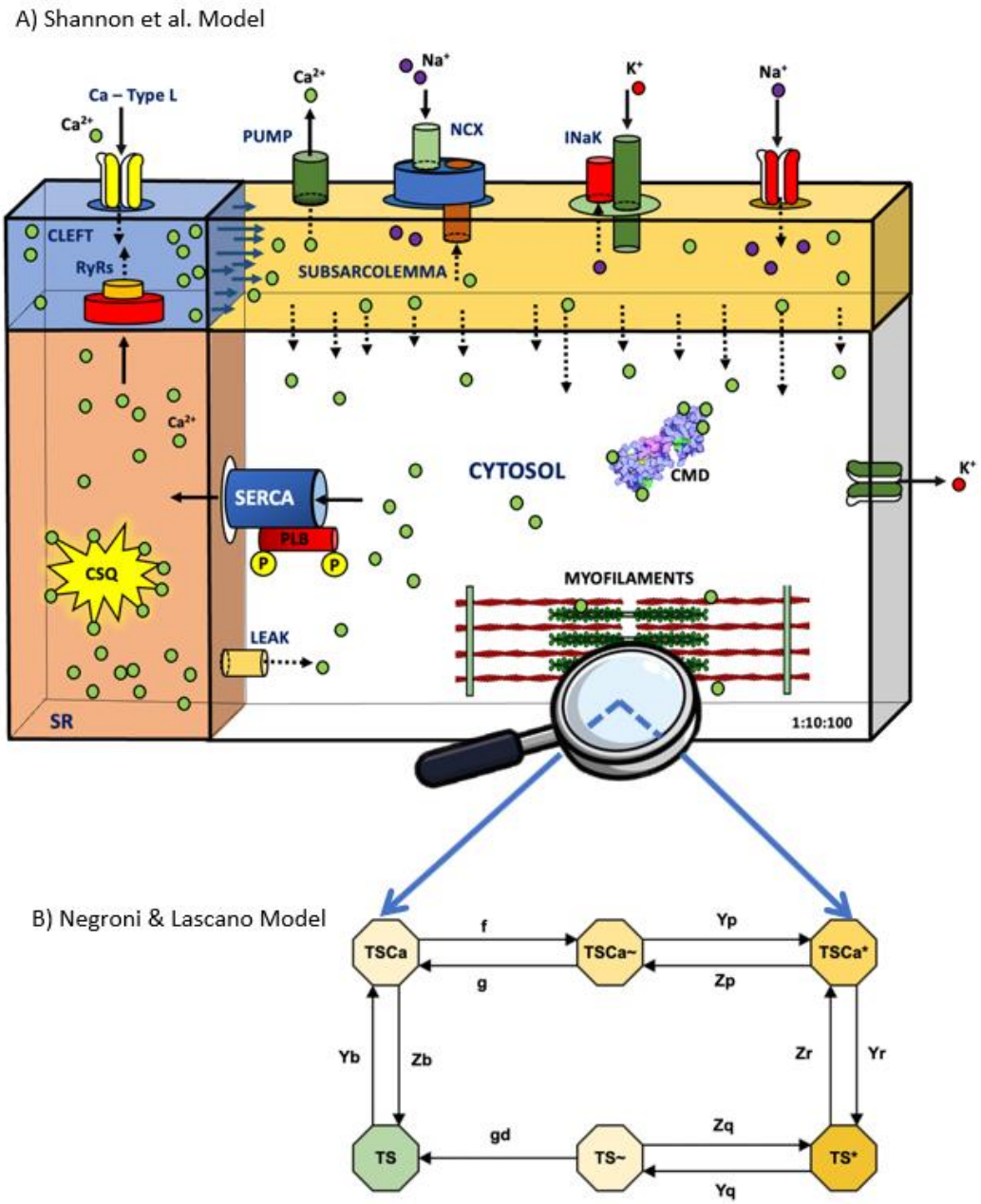
## 6.1 MODELO MATEMÁTICO

O novo modelo matemático foi desenvolvido com base no acoplamento bidirecional do modelo elétrico de Shannon *et al*. (2003) para o miócito ventricular de coelho, com o modelo mecânico de Negroni & Lascano (2008). Nesse novo modelo proposto foi implementado o método FFM que permite a alteração dos principais parâmetros do modelo em função da frequência de estimulação. Uma descrição mais detalhada do método aplicado nesse trabalho também pode ser encontrada no Apêndice B.

### 6.1.1 O MODELO ELETROMECÂNICO (MEM)

O modelo proposto nessa dissertação foi obtido a partir do acoplamento bidirecional entre o modelo elétrico de Shannon *et al*. (2004) com o modelo mecânico de Negroni & Lascano (2008) obtendo-se assim um modelo eletromecânico (MEM) (Figura 27).

**Figura 19 -** Acoplamento bidirecional entre o modelo mecânico de Negroni & Lascano (2008) com o modelo elétrico de Shannon *et al*. (2004)




Fonte: Autor

A escolha do modelo de Shannon *et al*. (2004) se deve ao fato de que a existência de microdomínios de $Ca^{2+}$ no interior da célula, como cleft, subsarcolema, citosol e RS tornam o modelo mais realista no que se refere a manipulação de $Ca^{2+}$ ao adotar a modelagem de 4 compartimentos (Figura 28 A). Considera-se que a difusão entre esses compartimentos ocorre, em média, do centro de cada

compartimento para o centro de seu compartimento adjacente. Nesse modelo o PA é definido pela Equação 38:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m}(I_{CaL} + I_{p(Ca)} + I_{NaCa} + I_{Cab} + I_{Na} + I_{Nab} + I_{NaK} + I_{Ktof} + I_{Ktos} + I_{Ki} + I_{Ks} + I_{Kp} + I_{Kr} + I_{ClCa} - I_{stim}) \quad (38)$$

Cm é a capacitância da membrana, ICaL, Ip(Ca), INaCa, ICab, IClCa, INa, INab, e INaK são as correntes, respectivamente, do canal de cálcio tipo L, bomba de cálcio no retículo sarcoplasmático, trocador NCX de cálcio, corrente de fundo de cálcio, corrente de cálcio ativada por Cl-, corrente rápida de sódio, corrente de fundo de sódio e bomba de sódio/potássio. IKtof refere-se à corrente de potássio transitória para fora, que é uma corrente para fora carregada por íons de potássio que se ativa rapidamente e, em seguida, se inativa ao longo do tempo; IKtos: corrente de potássio transitória para fora, que é uma corrente para fora carregada por íons de potássio que se ativa mais lentamente do que IKtof, mas tem uma duração mais longa. IKi: corrente de potássio retificadora para dentro, que é uma corrente para dentro carregada por íons de potássio que é ativada pela hiperpolarização da membrana celular. IKs: corrente lenta de potássio retificadora tardia, que é uma corrente para fora carregada por íons de potássio que se ativa lentamente e tem uma duração mais longa. IKp: corrente de potássio de platô, que é uma corrente para fora carregada por íons de potássio ativada durante a fase de platô do potencial de ação cardíaco. IKr: corrente rápida de potássio retificadora tardia, que é uma corrente para fora carregada por íons de potássio que se ativa rapidamente e tem uma duração mais curta do que IKs, e I é o estímulo externo.

Já a escolha do modelo de Negroni & Lascano (2008) se deve ao fato de que os resultados obtidos anteriormente com esse modelo, mostraram maior concordância com as previsões teóricas e menor sensibilidade à variação dos parâmetros relacionados a cinética de ligação $Ca^{2+}$ - TnC quando comparado a outros modelos de contração, fato que pode ser observado em dados reportados na literatura (SILVA *et al*, 2021).

Nesse modelo, a força de contração gerada pelas pontes cruzadas é dada pela Eq. 39:

$$\frac{dV}{dt} = A_w * (3[TSCa_3\sim] + 3[TS\sim]) * h_w + A_p * (3[TSCa_3 *] + 3[TS *])h_p \quad (39)$$

Sendo que Aw e Ap são, respectivamente, constantes elásticas para os estados de ligação fraca ("*weak"*) e forte *("power").* Já, hw e hp indicam o comprimento médio das pontes cruzadas nos seus respectivos estados.

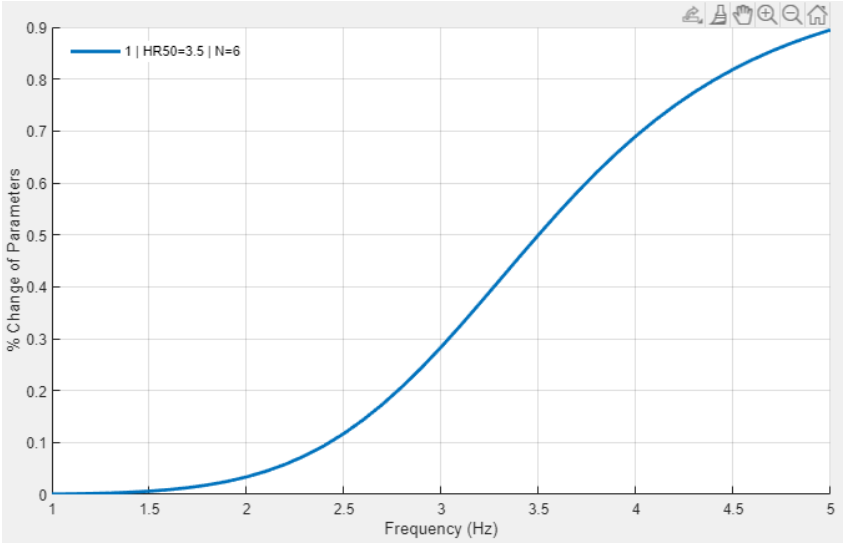
### 6.1.2 IMPLEMENTAÇÃO DO FFM

O "*Feed Forward"* é uma técnica que utiliza de uma análise anterior para previsão posterior. Com isso, o conceito de que a alteração na frequência cardíaca, de acordo com a descrição no Capítulo 3, da estimulação β-adrenérgica, desencadeia uma série de eventos nas estruturas do miócito ventricular é uma situação importante para aplicação da ferramenta, para isso, devido aos poucos dados experimentais disponíveis por Akita *et al*. (1994) e Demir *et al*. (1993), contamos com o auxílio uma curva empírica do tipo sigmoide (Equação 40 e Figura 28), que será utilizada para determinar a porcentagem de alteração nos parâmetros biofísicos do modelo de acordo com a frequência de estimulação.

$$p = \frac{p_{max}}{1 + (\frac{FC_{50}}{FC})^n} \quad (40)$$

Sendo $p_{max}$ a porcentagem máxima de variação, $FC_{50}$ é a FC para a qual a porcentagem de variação, no respectivo parâmetro biofísico é 0.5 e $n$ indica o coeficiente de Hill. Inicialmente para apresentação dos primeiros resultados, os valores utilizados para a curva são 1, 3.5 e 6 respectivamente para $p_{max}$, $FC_{50}$ e $n$ . A justificativa para escolha desses valores se deve ao fato de facilitar a comparação com os resultados dos experimentos *"in silico*" e os dados reportados na literatura de (AKITA *et al*., 1994) e (DEMIR *et al*., 1993).

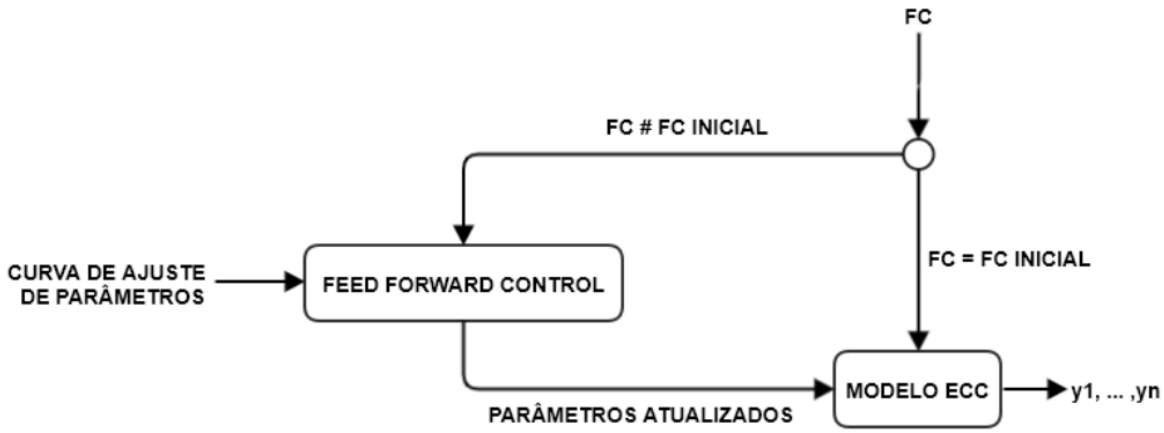
**Figura 20**– Curva Sigmoide




Fonte: Autor.

O esquema da aplicação do FFM encontra-se na Figura 29.

**Figura 21**– Fluxograma da aplicação do FFM




Fonte:Autor.

A porcentagem da alteração do parâmetro de acordo com a FC é inserida no modelo através de uma variável (p), que modifica a equação em que está inserida. Para exemplificar observe a Eq. 41 que representa a modelagem da corrente de um canal iônico geral.

$$I_x = G_x(V - E_x) \quad (41)$$

Onde $I_x$ é a corrente iônica do canal x, $V$ o potencial de membrana, $E_x$ o potencial de Nerst e $G_x$ condutância máxima do canal.

Aplicando o FFM a condutância do canal e modificada (Eq. 42)

$$G_{FFM} = G_x(1 + p) \quad (42)$$

Onde $G_{FFM}$ é a nova condutância aplicada com o FFM e $p$ é o parâmetro cujo valor depende da curva sigmoide dado pela Eq. 40. Nesse sentido, substituindo a relação da Eq. 42 na Eq.41 temos:

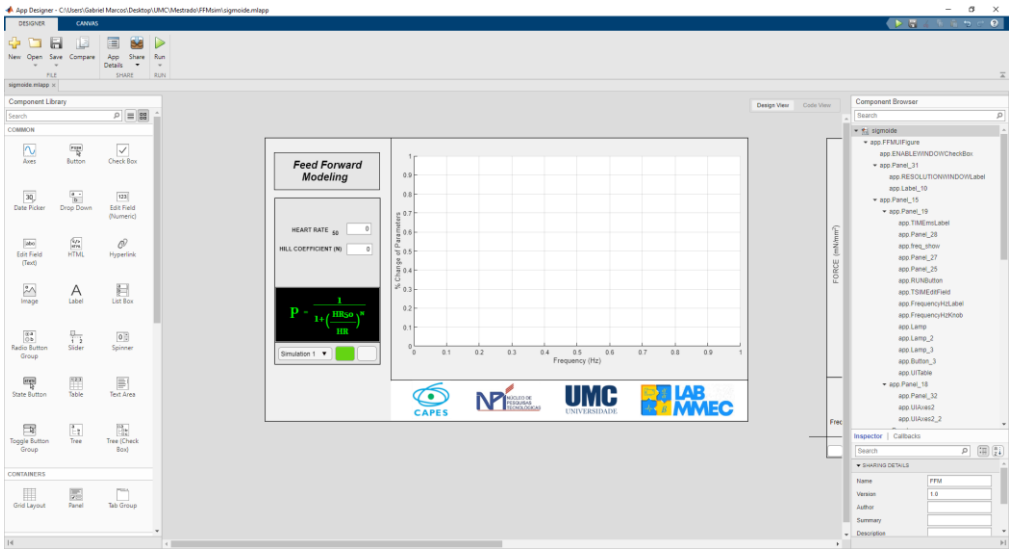
$$I_x = G_{FFM}(V - E_x) \quad (43)$$

As equações completas com todos os parâmetros que sofrem alteração pela aplicação do FFM encontram-se na seção Resultados dessa dissertação.

## 6.2 IMPLEMENTAÇÃO DA FERRAMENTA COMPUTACIONAL

A ferramenta computacional foi desenvolvida na plataforma MATLAB na sua versão (2019). O modelo matemático foi implementado em dois scripts, um com o modelo sem FFM (modelagem tradicional) e outro com o FFM, ambos com saída de dados salvos no diretório armazenados em uma matriz. Já para o desenvolvimento da interface da ferramenta foi utilizado uma biblioteca dentro do MATLAB nomeada APP Design, que permite o desenvolvimento da interface gráfica, e ainda, a inserção de códigos para executar a tarefa (Figura 30).

**Figura 22**– Ferramenta APP Design no MATLAB com interface gráfica do FFMsim




Fonte: Autor.

Em suma, o programa apresenta a parte gráfica com inserção de dados que são salvos e chamados para o script, que após a resolução do sistema de EDO's salva os dados de saída e plota os gráficos e tabelas na interface gráfica.

## *6.3* PROTOCOLOS PARA REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS *"IN SILICO".*

Nessa primeira etapa, como aplicação da ferramenta desenvolvida foram realizados experimentos *"in silico*" com o intuito de testar a programação desenvolvida e a solução do sistema de Equações Diferenciais, comparando os dados do modelo com e sem a aplicação do FFM. Toda a programação e simulações foram realizadas em um computador desktop com processor Intel i5-9400F, usando a plataforma MATLAB (r2019b).

O sistema de Equações Diferenciais acopladas foi resolvido utilizando a rotina ode15s que usa do método de Runge-Kutta com passo de $10^{-5}$ s para resolver o sistema de ED.

Abaixo encontram-se os protocolos utilizados nos experimentos "*in silico".*

Para todas as simulações o MEM foi estimulado em diferentes frequências (HR) usando uma corrente de 9,5 pA/pF, duração de 5 ms, por pelo menos 10.100 ms até atingir um estado quase estacionário.

I) Simulação #1: Comparação do PA e força de contração utilizando a modelagem tradicional e a aplicação do FFM. Simulações realizadas com FC = 4Hz e parâmetros os valores utilizados para a curva são 1, 3.5 e 6 respectivamente para $p_{max}$, $FC_{50}$ e $n$. Para essas simulações, os últimos 4 pulsos do PA e força de contração são mostrados e analisados.

II) Simulação #2: Correção de uma anomalia no PA aplicando o FFM.

Com a finalidade de mostrar que a aplicação do FFM pode corrigir uma distorção no PA gerada pelo aumento da FC, foram realizadas diversas simulações, com o MEM sem aplicação do FFM, até encontrarmos a distorção apresentada, fato que ocorreu a uma frequência de estimulação de 5 Hz. Para essa simulação são mostrados e analisados os 8 últimos pulsos do PA.

III) Simulação #3: Análise da frequência de estimulação versus ΔF (Amplitude de Força); frequência de estimulação versus $\Delta[Ca^{2+}]_i$ (Amplitude de $Ca^{2+}$ livre no citosol) e, por fim, curvas de frequência de estimulação versus APD90 (Duração do Potencial de Ação a 90%). As simulações foram realizadas entre 1 Hz e 4 Hz, com incrementos de 0,5 Hz.

# 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 7.1 O NOVO MODELO MATEMÁTICO COM FFM

Utilizando o modelo resultante do acoplamento bidirecional entre os modelos de Shannon *et al*. (2004) e Negroni & Lascano (2008) a técnica do FFM foi aplicada, com o auxílio da curva sigmoide (Eq. 38). Os parâmetros biofísicos do novo modelo proposto são descritos na Tabela 1, onde p é o valor definido pela sigmoide e corresponde a porcentagem de alteração no parâmetro em função da frequência de estimulação.

**Tabela 1** - Comparação entre os principais parâmetros biofísicos utilizados no novo MEM antes (CONTROL) e após a implementação do FFM

| | DESCRIÇÃO | CONTROLE | FFM | UNIDADE | REF |
|---|---|---|---|---|---|
| KmNAI | Km da bomba Na+/K+ para o íon Na+ | 11 | 11(1-0.27p) | mM | [1] |
| GKp | Máxima condutância da corrente IKp | 0.001 | 0.001(1+1.5p) | mS/mF | [1] |
| GKr | Máxima condutância da corrente IKr | 0.03 | 0.03(1+0.3p) | mS/mF | [2] |
| GKs | Máxima condutância da corrente IKs | 1 | 1+7p | mS/mF | [3] |
| KdClCa | Constante de afinidade para ligação de $Ca^{2+}$ | 0.1 | 0.1(1-0.3p) | mM | Fit* |
| pCa | Permeabilidade da corrente ICaL | 5.4e-4 | 5.4e-4(1 + 1p) | cm/s | [4] |
| $K_{mPCa}$ | Km de corrente da bomba sarcolemal de $Ca^{2+}$ | 0.0005 | 0.0005/(1 + 0.5p) | mM | Fit* |
| $K_{mf}$ | Modo de avanço da bomba Km SR Ca | 0.246e-3 | 0.246e-3/(1 + 2p) | mM | [2] |
| $G_{SRleak}$ | Constante de taxa de vazamento do SR | 5.348e-6 | 5.348e-6(1 + p) | $ms^{-1}$ | Fit* |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| $B_w$ | Alongamento médio de disjuntores conectados no estado fraco | 0.35 | 0.35(1 + 2.4p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $B_p$ | Alongamento médio de disjuntores conectados no estado de trabalho de energia | 0.5 | 0.5(1 + 2.4p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Z_a$ | Parâmetro que descreve o efeito de Bw em g | 0.0023 | 0.0023(1 + 1.4p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Y_v$ | Parâmetro descrevento o efeito Bw em g | 1.5 | 1.5(1 + 0.6p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Y_b$ | Constante de cinética de ligação de $Ca^{2+}$ | 0.1816e9 | 0.1816e9(1 + 1.2p) | $mM^{-3}ms^{-1}$ | Fit* |
| $Y_p$ | Constante de cinética de $Ca^{2+}$ | 0.1397 | 0.1397(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Y_r$ | Constante de cinética de $Ca^{2+}$ | 0.1397 | 0.1397(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Z_b$ | Constante de cinética de ligação de $Ca^{2+}$ | 0.1397 | 0.1397(1 + 3.2p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Z_p$ | Constante de cinética de $Ca^{2+}$ | 0.2095 | 0.2095(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [2] |
| $Z_r$ | Constante de cinética de $Ca^{2+}$ | 7.2626e9 | 7.2626e9(1 + 0.8p) | $mM^{-3}ms^{-1}$ | [2] |
| Aw | Parâmetro que descreve a força da ponte do estado do fraco | 540000 | 540000(1 + 2.4p) | $mN.mm^2/\mu m.mM$ | Fit* |
| $A_p$ | Parâmetro que descreve a força de ponte do estado forte | 2700000 | 2700000(1 + 2.4p) | $mN.mm^2/\mu m.mM$ | Fit* |

[1] Lyon *et al*. (2020); [2] Negroni *et al*. (2015) [3] Demir *et al*. (1999); [4] Akita *et al*. (1994); Fit* Valor ajustado

Em relação as correntes $I_{Ks}$ (slow delayed rectifier potassium current) e $I_{CaL}$ (L-type $Ca^{2+}$ current), utilizando a sigmoide dada pela Eq. (40), as Equações (53) e (79)

apresentadas no modelo de Shannon et. al. (2004) foram modificadas, respectivamente, para:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v+40p-1.5}{16.7}\right)}} \quad (44)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v+10p+14.5}{6}\right)}} \quad (45)$$

Sendo que *v* indica o potencial de membrana. Quando a frequência de estimulação é de 1 Hz, p=0, e em 5 Hz, p=1.

Assim a Equação 44 a 1 Hz é representa como:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v-1.5}{16.7}\right)}} \quad (46)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v+14.5}{6}\right)}} \quad (47)$$

E ainda, para 5 Hz as equações 46 e 47 ficam da forma:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v+38.5}{16.7}\right)}} \quad (48)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1+e^{\left(-\frac{v+24.5}{6}\right)}} \quad (49)$$

## 7.2 FERRAMENTA COMPUTACIONAL

A ferramenta desenvolvida apresenta interface amigável e de fácil compreensão para o usuário especialista da área de modelagem fisiológica. Nesse sentido, o FFM em sua versão 1.0 conta com uma interface principal (Figura 31) com componentes e botões que podem realizar as seguintes funções:

A) Caixas de inserção dos parâmetros da $FC_{50}$ e coeficiente de Hill, utilizados na construção da curva sigmoide.

B) Botão para plotar o gráfico após preenchidos os parâmetros.

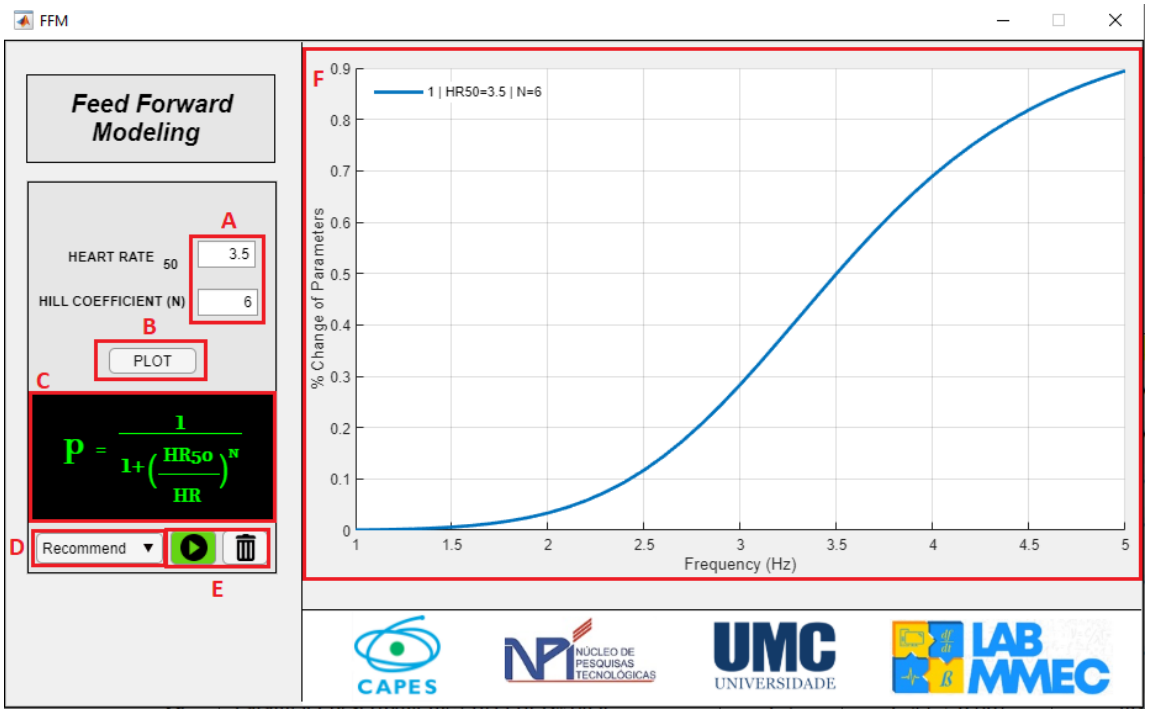
C) Imagem da equação utilizada na construção da sigmoide em função do FC e coeficiente de Hill.

D) Botão para selecionar a curva escolhida.

E) Botão para prosseguir para a próxima interface e para excluir as curvas sigmoides já plotadas.

F) Interface para plotar a curva sigmoide com base nos valores digitados pelo usuário.

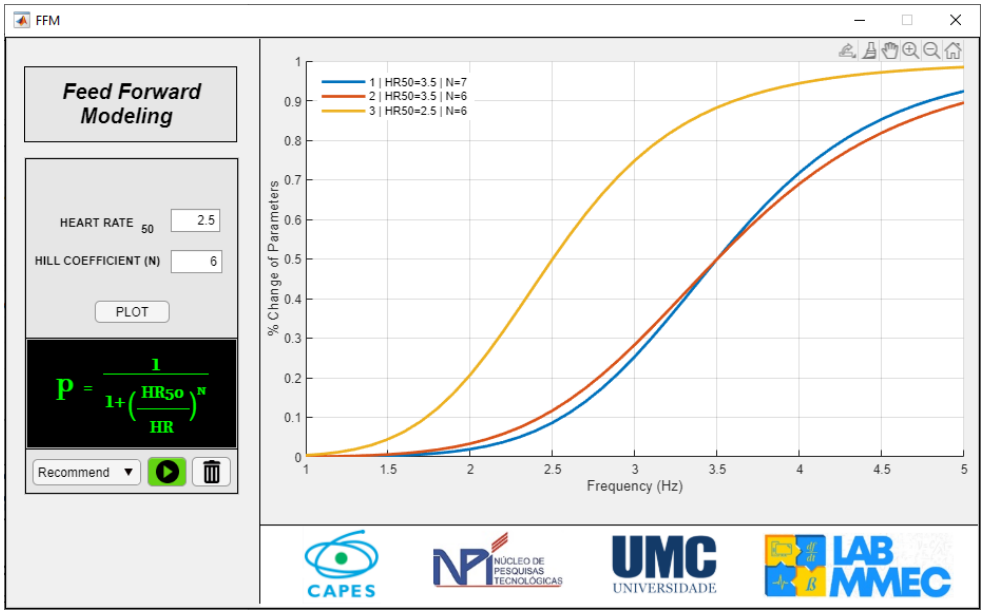
**Figura 23** – Interface principal da ferramenta FFM v. 1.0




Fonte: Autor.

Caso o usuário reescreva os valores, para cada mudança nos coeficientes da curva sigmóide, será plotado uma nova curva sobreposta à anterior (Figura 32).

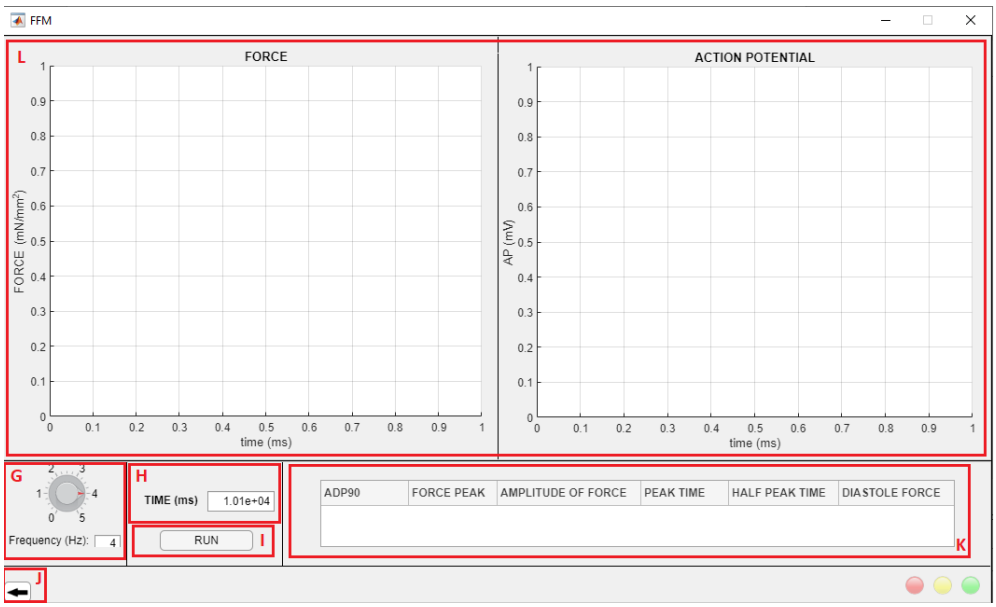
**Figura 24**– Interface principal da ferramenta FFM v. 1.0 com diversas curvas plotadas pela mudança nos parâmetros




Fonte: Autor.

Após o usuário clicar no botão verde, conforme item D descrito na Figura 31, ele avançara para a segunda interface (Figura 33) que conterá a escolha da frequência de estimulação e o tempo de simulação, além de dois gráficos para plotagem do PA e força de contração e uma Tabela com saída dos valores que constam o tempo de pico, tempo meio, APD90, pico da força e força na diástole.

**Figura 25** – Interface para executar a simulação, modificar frequência de estimulação e tempo de simulação




Fonte: Autor.

G) Botão ou caixa para inserção da frequência de estimulação.

H) Caixa para inserção do tempo de simulação.

I) Botão para iniciar a resolução do sistema de EDOs e fornecer, os dados de saída de potencial de ação e força de contração.

J) Botão para retornar à interface principal.

K) Tabela com saída de dados calculados com base nos gráficos. L) Gráficos da força de contração e do PA.

A versão 1.0 da ferramenta FFMsim está disponível, após um breve cadastro através do link: download e a descrição da ferramenta também pode ser encontrada no Apêndice C.

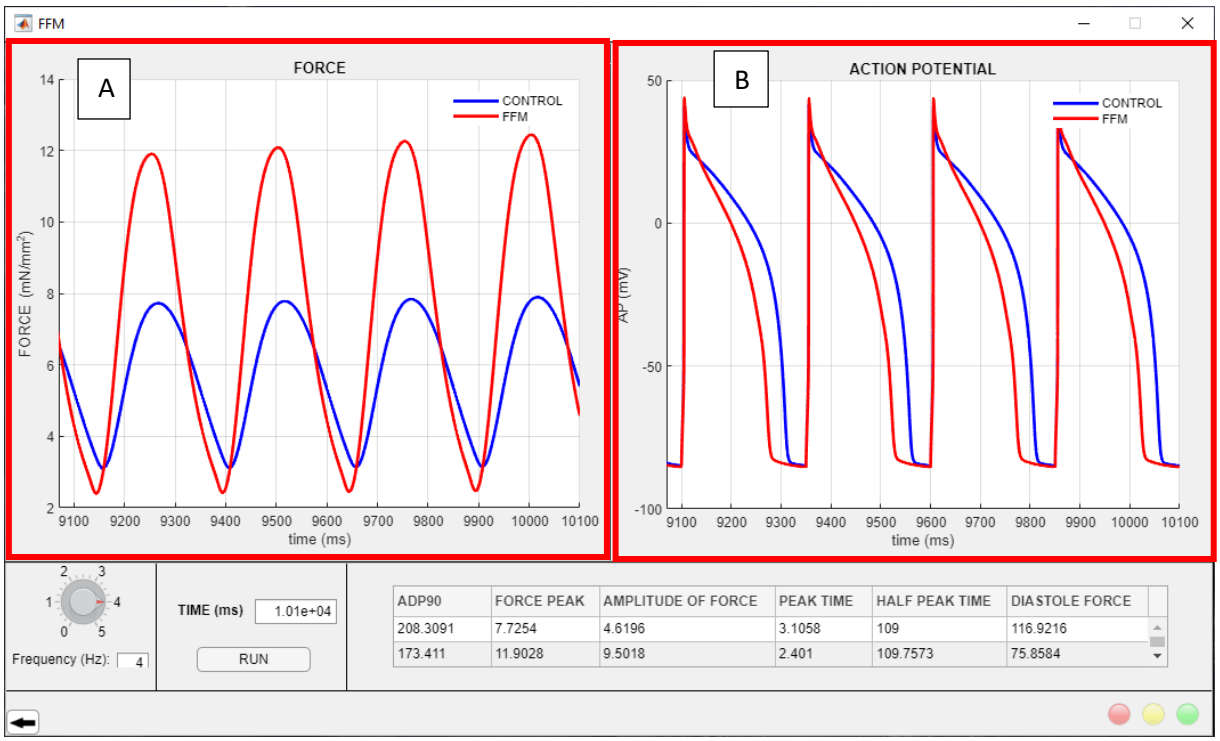
## 7.3 RESULTADO DAS SIMULAÇÕES

A seguir encontram-se destacados os principais resultados obtidos com a realização das simulações 1, 2 e 3.

### 7.3.1 Comparação entre a Modelagem Tradicional e o FFM

A novidade desta pesquisa é o desenvolvimento de um modelo eletromecânico da miócito ventricular, no qual os parâmetros biofísicos são dinamicamente atualizados em função da frequência de estimulação. A Figura 34 mostra a simulação do Potencial de Ação e Força de Contração a 4 Hz. A força máxima, amplitude de força, tempo até o pico, tempo até 50% de relaxamento e APD90 são apresentados na Tabela referenciada na mesma Figura.

**Figura 26**– Comparação da modelagem tradicional (Control) versus FFM: curso temporal da força de contração e PA.




Fonte: Autor.

O APD90 diminuiu de 206 ms a 1 Hz para 173 ms a 4 Hz, mas sem FFM, o APD90 apresentou um aumento para 208,3 ms, algo que dificultou a capacidade do coração de bater em frequências mais altas. Da mesma forma, o desenvolvimento da força máxima (Peak F) aumentou de 8,5 mN/mm$^2$ a 1 Hz para 11,9 mN/mm$^2$ a 4,0 Hz, enquanto aumentava apenas para 7,8 mN/mm$^2$ a 4 Hz sem FFM (efeito inotrópico). O tempo de relaxamento a 50% da força máxima ($t_{50}$) diminuiu de 114 ms a 1 Hz para 75,9 ms a 4 Hz, enquanto o $t_{50}$ a 4 Hz sem FFM diminuiu para apenas 117 ms (efeito lusitrópico).

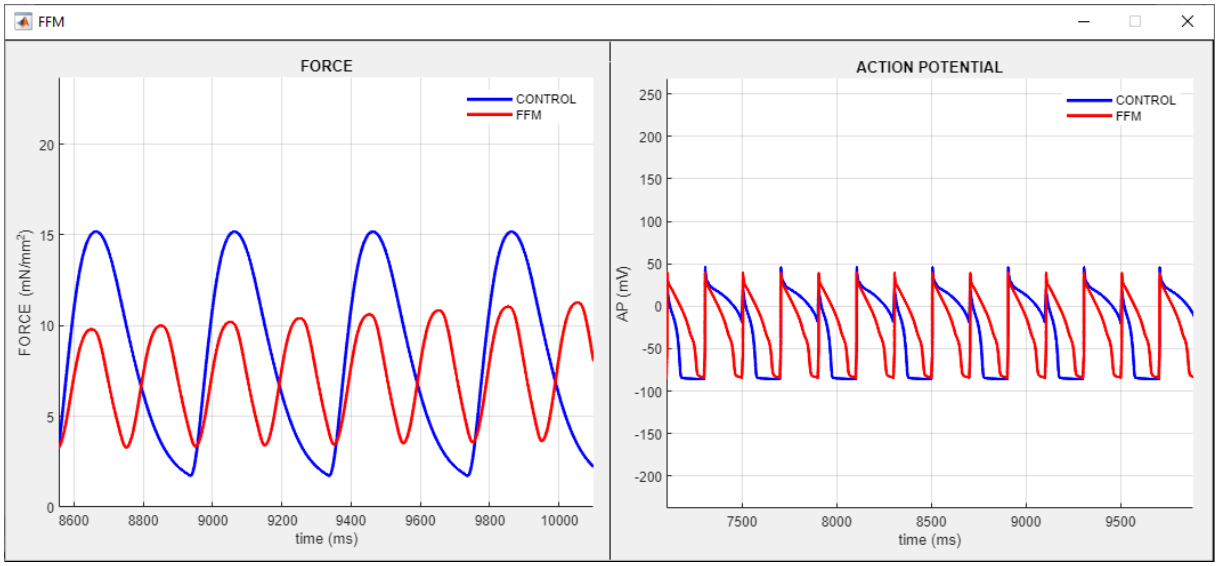
Os efeitos combinados da estimulação β-adrenérgica resultam em alterações na duração e forma do PA cardíaco (Figura 35 B). Essas mudanças

podem ter consequências importantes para a função cardíaca, como o aumento da contratilidade do coração (Figura 35 A), a modulação da frequência cardíaca e a adaptação do coração a diferentes níveis de estresse e demanda metabólica (WESER & BLINKS, 1962).

### 7.3.2 Alterações na curva do PA

A estimulação do miócito ventricular em alta frequência (5 Hz), sem as modificações induzidas pela FFM, conforme relatado por Puglisi *et al*. (2013), gerou alterações na forma de onda do PA (Figura 35 B).

**Figura 27**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas PA geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 5Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM).



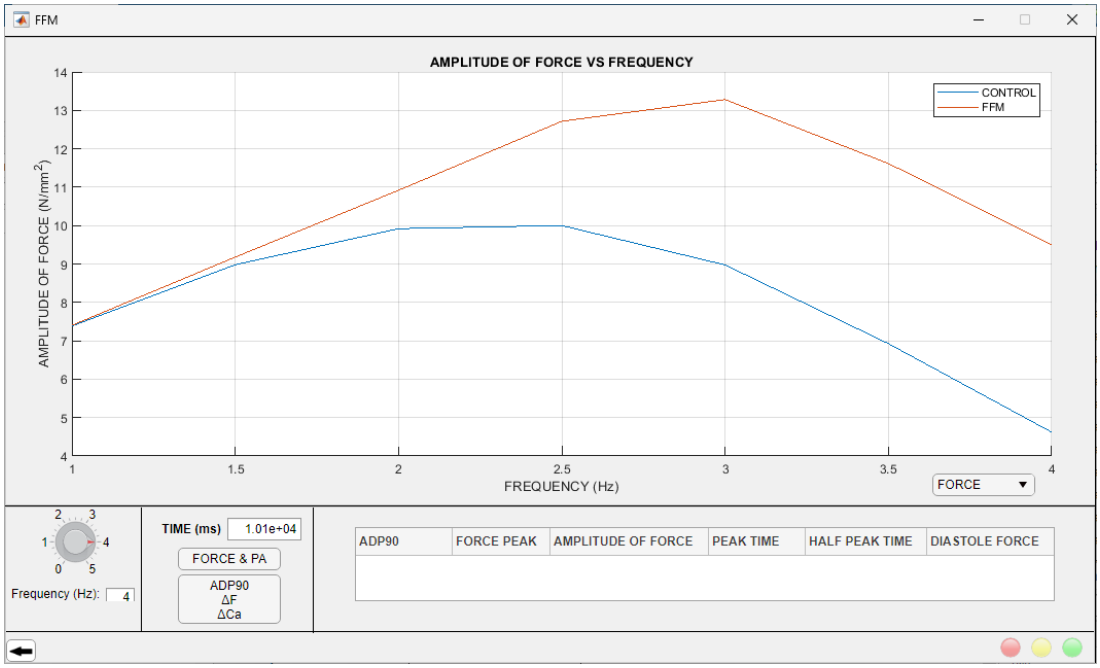

Fonte: Autor.

No modelo tradicional, as durações do PA não são curtas o suficiente para acomodar as contrações necessárias na frequência cardíaca exigida (PUGLISI *et al*., 2013). Por outro lado, a FFM modifica os parâmetros, produzindo uma duração do PA compatível com uma frequência de estimulação mais alta.

### 7.3.3 Frequência de estimulação vs amplitude e APD90

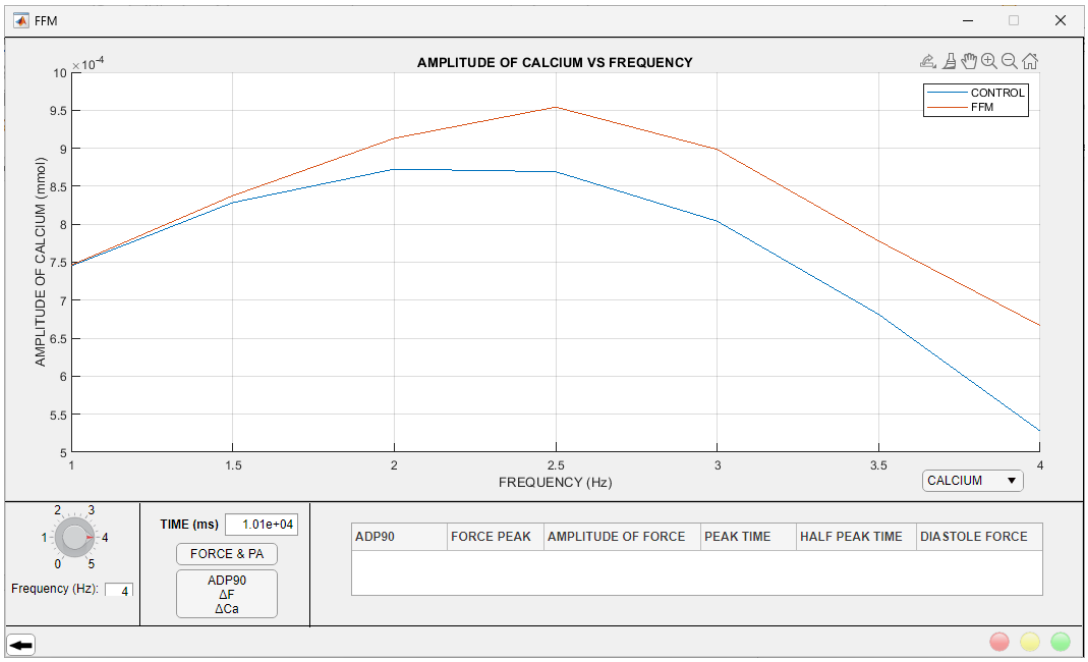
Utilizando o protocolo de simulação definido na Seção 6.3 (Simulação #3), as curvas da amplitude da força de contração (Figura 36), da amplitude de $Ca^{2+}$ livre no citosol (Figura 37) e do APD90 (Figura 38) foram geradas a partir do novo modelo eletromecânico em função da frequência de estimulação, com e sem FFM.

**Figura 28**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Amplitude da Força vs Frequência geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM).



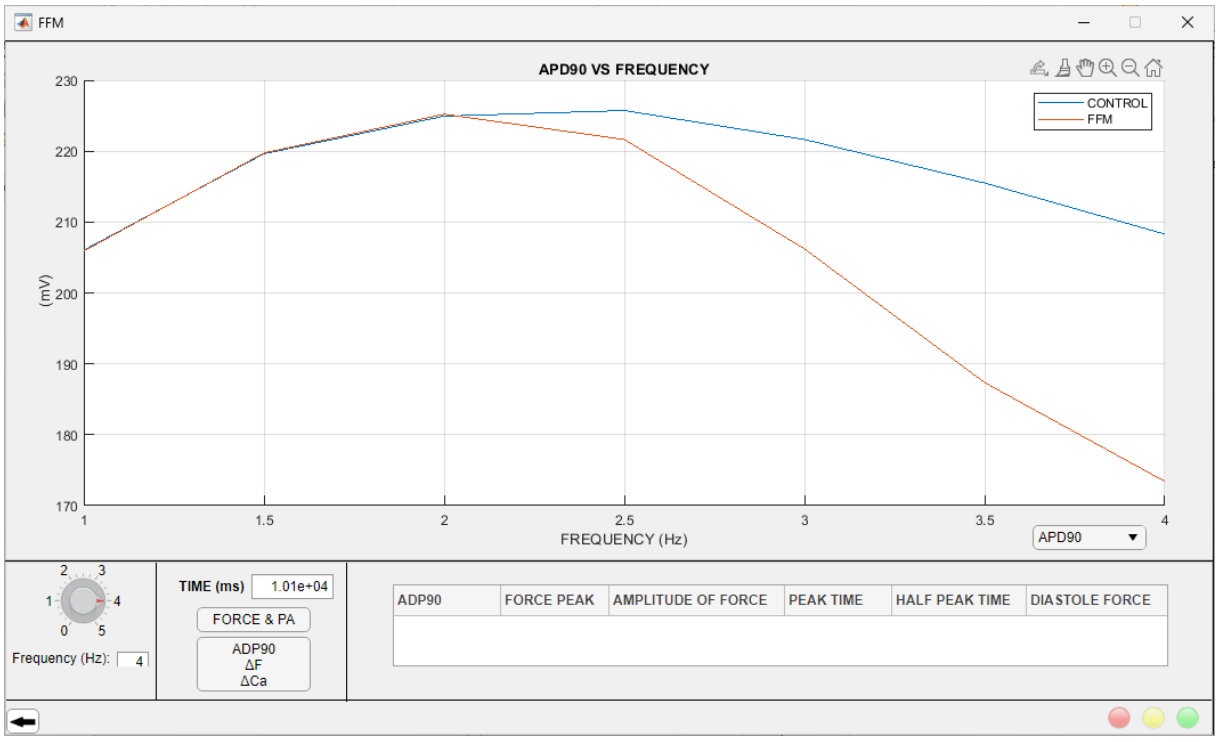

Fonte: Autor.

**Figura 29**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas da variação de Cálcio geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM).




Fonte: Autor.

**Figura 30**– Modelagem Tradicional (Controle) vs FFM: Curvas do APD90 geradas pela modelagem tradicional e FFM estimuladas na frequência de 1 até 4Hz (traços azuis: Controle, traços vermelhos: FFM).




Fonte: Autor.

A relação força-frequência deve ser positiva dentro da faixa fisiológica de frequências; caso contrário, a resposta de "luta ou fuga" não atingiria seu propósito de preparar o indivíduo para sobreviver, escapar ou enfrentar uma situação perigosa (PUGLISI *et al*., 2013). Isso ocorre porque a estimulação β-adrenérgica também afeta a frequência de contração do miócito ventricular. Em condições normais de repouso, o miócito ventricular contrai-se a uma frequência basal. No entanto, sob estimulação β-adrenérgica, a curva força-frequência é deslocada para cima, o que significa que o miócito é capaz de gerar uma força contrátil maior em frequências de estimulação mais altas do que em condições basais (Figura 34).

Esse aumento na força de contração em frequências mais altas é importante durante situações de demanda aumentada, como exercício físico ou estresse, permitindo uma resposta contrátil mais vigorosa do miocárdio (WESER & BLINKS, 1962). Observa-se na Figura 34 que com a implementação do FFM a relação força-frequência permanece positiva para uma faixa maior de frequências quando comparado com a modelagem tradicional. Essa abordagem de ajustar as equações conforme a mudança da frequência de estimulação fornece uma curva de força-frequência que melhor representa a natureza da célula miocárdica (BERS, 2001).

Um ponto importante destacar é que utilizamos uma curva sigmoide (Eq. 40 e Fig. 27) para implementar mudanças nos parâmetros como função da frequência de estimulação. Essa curva foi baseada nos poucos dados experimentais disponíveis na literatura, como nos artigos de Akita *et al*. (1994) e Demir *et al*. (1993). Em implementações futuras, uma curva mais específica deve ser usada para cada parâmetro a ser ajustado. Isso só será possível após novos dados experimentais envolvendo a variação da frequência de estimulação em função das concentrações fracionadas do agonista ISO estarem disponíveis.

# 8 CONCLUSÃO

A relação força-frequência pode ser enganadora, levando-nos a assumir que uma variável (por exemplo, força) é consequência da outra (por exemplo, frequência), quando na realidade ambas são o resultado de um terceiro parâmetro: a estimulação β-adrenérgica. Nosso trabalho apresenta uma ferramenta computacional para facilitar a realização de simulações utilizando uma nova proposta de modelagem, o FFM.

FFMSim mostrou-se uma importante ferramenta no que se refere a realização de simulações utilizando o FFM. Os resultados das simulações mostram essa nova proposta para modeladores e sugestões de experimentos para experimentadores.

Para os modeladores, ele mostra que não incluir a dependência da frequência dos parâmetros pode produzir resultados que não são capazes de representar o comportamento fisiológico do coração, especialmente em estudos voltados para medicamentos antiarrítmicos. Para os experimentadores, sugerimos que experimentos envolvendo mudanças na frequência de estimulação cardíaca devem ser realizados ajustando a concentração de isoproterenol (ISO) para imitar a situação vivenciada pelo coração em seu ambiente natural.

Assim, os resultados apresentados neste estudo servem para validar e reforçar a importância de atualizar e utilizar corretamente modelos matemáticos para miócitos ventriculares ao discutir resultados envolvendo alterações na frequência de estimulação.

# 9 TRABALHOS FUTUROS

Como continuação do trabalho pretende-se futuramente implementar novas janelas com mais funcionalidades, e até mesmo a inserção de novos modelos matemáticos quer permitiram o estudo da aplicação do FFM em várias espécies e modelos da eletrofisiologia cardíaca. Ainda nesse sentido, também serão necessários alguns testes de usabilidade da ferramenta afim de encontrar possíveis bugs ou falhas lógicas na programação da ferramenta computacional desenvolvida. Por fim, também deverá ser avaliado e desenvolvido a hipótese da utilização de um banco de dados com os resultados dos testes da simulações para consulta e análise dos dados sobre os valores da sigmoide.

## REFERÊNCIAS

AKITA, T. *et al*. Developmental changes in modulation of calcium currents of rabbit ventricular cells by phosphodiesterase inhibitors. **Circulation**, Pubmed, v. 90, n.1, p. 469-478, 1994. DOI: 10.1161/01.CIR.90.1.469.

ALBERTS, B. *et al*. **Biologia molecular da célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2007.

ATKINS, P.; JONES, L. Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.

BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature, v. 415, n. 6868, p. 198-205, 2002. doi: 10.1038/415198a.

BONDARENKO, V. E. *et al.* Computer model of action potential of mouse ventricular myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology***, American Physiological Society**, v. 287, n. 3, p. H1378–H1403, 2004.

CORTASSA, S. et al. An Integrated Model of Cardiac Mitochondrial Energy Metabolism and Calcium Dynamics - The Johns Hopkins University, Institute for Computational Medicine, and Institute of Molecular Cardiobiology, Baltimore, Maryland, 2006.

DEMIR, S. S.; CLARK, J. W.; GILES, W. R. Parasympathetic modulation of sinoatrial node pacemaker activity in rabbit heart: a unifying model. v. 276, p. 832–852, 1999. doi: 10.1152/AJPHEART.1999.276.6.H2221.

DI FRANCESCO, D.; NOBLE, D. A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. Philos. Trans. Roy. Soc. London, v. 307, p. 353–398, 1985.

DURAN, J. Biofísica: Conceitos e Aplicações. 2. ed. Londres: Prentice-Hall, 2003.

FOX, S. I. **Fisiologia Humana**. 7. ed. Barueri, São Paulo: Editora Manole, 2007. *E-book*. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520449905/. Acesso em: 25 ago. 2022.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HALLIDAY, D.; WALKER, J.; RESNICK, R. Fundamentos de Física. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. The Journal of Physiology, v. 117, n. 4, p. 500, 28 ago. 1952.

JAMESON, J. L. *et al*. Medicina interna de Harrison - 2 volumes. 20. ed. Porto Alegre: Grupo A, 2019. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580556346/. Acesso em: 10 nov. 2022.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Biologia Celular e Molecular. 9. ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2012. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2129-5/. Acesso em: 22 abr. 2022.

KANDEL, E. *et al*. Princípios de Neurociências. Porto Alegre: Grupo A, 2014. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580554069/. Acesso em: 16 fev. 2023.

KOCH-WESER, J.; BLINKS, J. R. Analysis of the relation of the positive inotropic action of cardiac glycosides to the frequency of contraction of heart muscle. J Pharmacol Exp Ther., 1962. PMID: 14457580.

LANDOWNE, D. Fisiologia celular. Porto Alegre: Grupo A, 2006. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580550078/. Acesso em: 16 fev. 2023.

LUCIA, C.; EGUCHI, A.; KOCH, W. J. New Insights in Cardiac β-Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. Front Pharmacol., 2018. doi: 10.3389/fphar.2018.00904.

LYON, A. *et al*. Differentiating the effects of β-adrenergic stimulation and stretch on calcium and force dynamics using a novel electromechanical cardiomyocyte model. Am J Physiol Heart Circ Physiol., 2020. doi: 10.1152/ajpheart.00275.2020.

LUO, C. H.; RUDY, Y. A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I Simulations of ionic currents and concentrations changes. Circ. Res., v. 74, p. 1071–1096, 1994.

MADDEN, J. C. *et al*. A review of in silico tools as alternatives to animal testing: principles, resources and applications. Altern Lab Anim., 2020. v. 48, p. 146–172.

MOHRMAN, D. E.; HELLER, L. J. Fisiologia Cardiovascular (Lange). 6. ed. Porto Alegre: Grupo A, 2008. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788563308795/. Acesso em: 25 ago. 2022.

MULLINS, P. D.; BONDARENKO, V. E. Mathematical model for β1-adrenergic regulation of the mouse ventricular myocyte contraction. Am J Physiol Heart Circ Physiol., 2020. doi: 10.1152/ajpheart.00492.2019.

NEGRONI, J. A. *et al*. Simulation of steady state and transient cardiac muscle response experiments with a Huxley-based contraction model. J Mol Cell Cardiol., 2008. doi: 10.1016/j.yjmcc.2008.04.012.

NEGRONI, J. A. *et al*. β-Adrenergic Effects on Cardiac Myofilaments and Contraction in an Integrated Rabbit Ventricular Myocyte Model. J Mol Cell Cardiol., 2015. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.02.014.

NOBLE, D. A modification of the Hodgkin–Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pace-maker potentials. J. Physiol., v. 160, p. 317–352, 1962.

NORDIN, C. Computer model of membrane current and intracellular Ca flux in the isolated guinea pig ventricular myocyte. Am. J. Physiol., v. 34, p. H2117–H2136, 1993.

PUGLISI, J. L.; WANG, F.; BERS, D. M. Modeling the isolated cardiac myocyte. Prog Biophys Mol Biol, 2004. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2003.12.003.

PUGLISI, J.L.; NEGRONI, J.A.; CHEN-IZU, Y.; BERS, D.M. The force-frequency relationship: Insights from mathematical modeling. *American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education*, v. 37, 2013, p. 28-34.

RODRIGUES, R.; BAPTISTA, O.; BASSANI, J.; BASSANI, R. The ForceLAB simulator: application to the comparison of current models of cardiomyocyte contraction. Computers in Biology and Medicine, 2021. p. 104240.

SILVA, Robson Rodrigues Rodrigues da et al. **Feed forward modeling**: a proposal for in-silico dynamic simulation of the excitation-contraction coupling in ventricular myocytes. Preprint, submetido em 27 out. 2023. DOI: http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4611044. Disponível em: https://ssrn.com/abstract=4611044. Acessado em: 19 dez. 2023.

SAUCERMAN, J. J.; BRUNTON, L. L.; MICHAILOVA, A. P.; MCCULLOCH, A. D. Modeling beta-adrenergic control of cardiac myocyte contractility in silico. J Biol Chem., v. 278, p. 47997–8003, 2003. doi: 10.1074/jbc.M308362200.

SUTANTO, H.; HEIJMAN, J. Beta-Adrenergic Receptor Stimulation Modulates the Cellular Proarrhythmic Effects of Chloroquine and Azithromycin. Front Physiol., 2020. doi: 10.3389/fphys.2020.587709.

SHANNON, T. R. *et al*. A mathematical treatment of integrated Ca dynamics within the ventricular myocyte. Biophys J., v. 87, p. 3351–71, 2004. doi: 10.1529/biophysj.104.047449.

VOET, D.; VOET, J. G. Bioquímica. 4. ed. Porto Alegre: Grupo A, 2013. Disponível em: https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582710050/. Acesso em: 12 abr. 2022.

WEISS, T. F. Cellular Biophysics. Volume 1: Transport. MIT Press: Cambridge, MA, 1996.

ÇENGEL, Y. A.; GHAJAR, A. J. Transferência de Calor e Massa – Uma abordagem prática, 4. ed. Porto Alegre: Mc Graw-Hill, 2012.

# APÊNDICE A: CAPÍTULO DE LIVRO (XXVIII CBEB - 2022)

EasyChair Preprint

№ 9015

# Mathematical Modeling and Computer Simulation of ATP Metabolism in the Excitation-Contraction Coupling Phenomenon in the Rat Ventricular Myocyte

Gabriel Motta, Matheus Camargo, Jefferson Mello, Daniel Goroso and Robson Silva

EasyChair preprints are intended for rapid dissemination of research results and are integrated with the rest of EasyChair.

October 6, 2022

# Mathematical modeling and computer simulation of ATP metabolism in the excitation-contraction coupling phenomenon in the rat ventricular myocyte

G.M.S. Motta[1], M.L.A. Camargo[1], J.V.O. Mello[1], D.G. Goroso[1] and R.R. Silva[1,2]

[1] Research and Technology Center, University of Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, Brazil
[2] LabNECC/Center for Biomedical Engineering, University of Campinas, Campinas, Brazil

*Abstract*— **Several mathematical and computational models have already been developed to describe the complex process of cardiac excitation-contraction (EC) coupling. The model of Mullins & Bondarenko (2013) is cited as an example, which describes detailed mechanisms ranging from the function of individual ion channels to other important transporters, and satisfactorily simulates the characteristics of Action Potential (AP) and contraction in the mouse ventricular myocyte. However, the mathematical modeling did not include the equations of energy production and consumption used during the EC process, so it cannot be used to simulate possible problems in the production and consumption of ATP (Adenosine Triphosphate), the main source of energy for cells. In this context, the aim of the present paper is to present the implementation of the model describing ATP metabolism proposed by Cortassa et al. (2006) in the electromechanical model of Mullins & Bondarenko (2013). From this new mathematical model, and using the MATLAB platform, the EnergyECLab tool was developed. As an application of the tool, *"in silico"* experiments were performed to obtain the time course of ATP and phosphocreatine (CrP) concentration and, as well as, the inhibition of $Ca^{2+}$-ATPase (SERCA) by Adenosine Diphosphate (ADP). The computational tool (EnergyECLab) developed to solve the system of Coupled Differential Equations (CDE's), has a friendly graphic interface and several didactic resources. The first *"in silico"* experiment showed a satisfactory qualitative result of ATP concentration was obtained when compared to the work of Cortassa et al. (2006). As a result of the second *"in silico"* experiment, inhibition of SERCA by the ADP mechanism produced an increase in contraction force (30.7%) when compared to the control.**

*Keywords* — **mathematical modeling, cardiac electrophysiology, ventricular myocyte, ATP metabolism.**

## I. Introduction

According to the World Health Organization (WHO), about 17.5 million people die each year from cardiovascular disease [1]. This is the number one cause of death worldwide. In this context, it is necessary to use mathematical models applied to computational methods for the understanding of the complex phenomenon of excitation-contraction (EC) coupling of the heart cell, which for more than 50 years have been able to identify, on a cellular scale, the causes of cardiac arrhythmias [2].

There are several models divided into electrical [3] and mechanical [4], and also intersection models that are called electromechanical [5]. However, much of it disregards the modeling of Adenosine Triphosphate (ATP) formation and consumption in the cardiac cell, which directly influences the generation of contraction force and cardiac Action Potential (AP) [6].

ATP is produced in the mitochondria by a 3-step process: Glycolysis, Krebs Cycle, and Oxidative Phosphorylation [7] and is used in important cellular structures, such as in the $Ca^{2+}$-ATPase Sarcoplasmic Reticulum (SR); in the Sodium-Potassium pump located in the sarcolemma; and in the mechanical process of contraction and relaxation of the cardiac cell [8].

Therefore, this paper has the objective of presenting the coupling of the ATP modeling of Cortassa et al. (2006) [8] to the electromechanical model of Mullins & Bondarenko (2013) [9]. For this, a computational tool (EnergyECLab) was developed to solve the CDE's and display the results of the *"in silico"* experiments graphically. As an application of EnergyECLab, the influence of the ATP mechanism on contraction force and cytosolic $Ca^{2+}$ concentration ($[Ca^{2+}]_i$) was tested.

## II. Methods

### A. Developing the Mathematical Model

To obtain the electromechanical model that takes into account ATP consumption and production, bidirectional coupling of the energy model of Cortassa et al. (2006) [8] into the electromechanical model of Mullins & Bondarenko (2013) [9] was performed.

In Mullins & Bondarenko (2013) model [9], which describes the electromechanical mathematical modeling for the mouse ventricular myocyte, the AP is given by Equation (1):

$$\frac{dV}{dt} = \frac{-1}{C_m}.\left(I_{CaL} + I_{p(Ca)} + I_{NaCa} + I_{Cab} + I_{Na} + I_{Nab} + I_{NaK} + I_{Kto,f} + I_{Kto,s} + I_{K1} + I_{Ks} + I_{Kur} + I_{Kss} + I_{Kr} + I_{Cl,Ca} - I_{stim}\right) \quad (1)$$

Where $C_m$ is the membrane capacitance in µF/cm$^2$, $I_{CaL}$, $I_{p(Ca)}$, $I_{NaCa}$, $I_{Cab}$, $I_{Cl,Ca}$, $I_{Na}$, $I_{Nab}$ and $I_{NaK}$ the currents, respectively of $Ca^{2+}$ L-Type, of sarcolemma $Ca^{2+}$ pump, of the sodium ($Na^+$)/$Ca^{2+}$ exchanger, $Ca^{2+}$ background, $Ca^{2+}$ activated by chlorine ($Cl^-$), $Na^+$ fast, $Na^+$ background and of $Na^+$/potassium ($K^+$) pump in pA/pF. Whereas, $I_{Kto,f}$, $I_{Kto,s}$, $I_{K1}$, $I_{Ks}$, $I_{Kur}$, $I_{Kss}$ and $I_{Kr}$ indicate the main $K^+$ currents and $I_{stim}$ is the external stimulus in pA/pF.

The calculation of the contraction force is described by Equation (2) based on the model by Rice et al. (1999) [4]:

$$F_{contr} = \alpha.\frac{P1 + N1 + 2.(P2) + 3.(P3)}{P1_{max} + 2.(P2_{max}) + 3.(P3_{max})} \quad (2)$$

The contraction force $F_{contr}$ is equated based on two non-permissive states ($N0$ and $N1$) and four permissive states of Tropomyosin ($P0$, $P1$, $P2$ and $P3$). Already, the constant $\alpha$ is a model fit factor [4].

The model of Cortassa et al. (2006) [8] describes ATP production and consumption during the EC coupling process. Equation (3) provides the ATP concentration during the entire process.

$$\frac{d[ATP]_i}{dt} = V_{ANT}.\frac{V_{mito}}{V_{myo}} - V_{CK}^{mito} - V_{AM} - \frac{1}{2}.J_{up} - \left(I_{p(Ca)} + I_{NaK}\right).\frac{A_{cap}}{V_{myo}.F} \quad (3)$$

Being, $V_{ANT}$ e $V_{CK}^{mito}$ parameters for the cytosolic reaction rate, $F$ the Faraday constant, $V_{myo}$ and $V_{mito}$ are volume constants of the cytosol and mitochondria, $A_{cap}$ capacitive area of the cell surface; $I_{p(Ca)}$ is the sarcolemma $Ca^{2+}$ pump; $I_{NaK}$ the current of $Na^+$/$K^+$ pump and $J_{up}$ the $Ca^{2+}$ flux of SERCA from the SR.

### *B. Development of the Computational Tool*

The computational tool developed from the mathematical model, was implemented using the MATLAB platform version R2018a. The method used for solving the system of CDE's was the 4th order Runge-Kutta's with variable integration step contained in the ode15s routine.

### *C. Simulation protocols*

The simulations used the following protocol: stimulation pulse of 20 pA/pF with a width of 1 ms applied at the instant of 1000 ms and with a frequency of 0.25 Hz. The simulation time was 20000 ms, and in each simulation the final steady-state interval is presented. The initial sarcomere and cell lengths are given by 2.1 µm and 100 µm, respectively. Using these protocols the following *"in silico"* experiments were performed:

1. Time course of [ATP] and [CrP] related to the EC process.
2. Influence of SERCA Inhibition by ADP on contraction force and $[Ca^{2+}]_i$, using the parameters described in Table 1.

The following variables were used for analysis: the diastole (Dia), peak (Peak), amplitude (Δ) peak time ($t_{peak}$) and half time decline ($t_{0.5}$) values of the contraction force and $Ca^{2+}$ transient.

Values of the main parameters used to simulate ATP consumption during the EC process and SERCA inhibition are shown in Table 1.

Table 1 Parameters used in the simulation of SERCA inhibition

| Symbol | Control | Test | Unit | Description |
|---|---|---|---|---|
| $K_{m,up}^{ATP}$ | 0.01 | 0.01 | mM | ATP Half Saturation Constant |
| $K_{i,up}$ | 0.14 | 0.14 | mM | ADP inhibition constant |
| $K'_{i,up}$ | 5.1 | 0.051 | mM | ADP inhibition constant |

## III. Results

### *A. Mathematical Model*

The new mathematical model consists of 51 CDE's that describe ATP production and consumption during the EC process [8].The following describes the main equations that were implemented in the model model Mullins & Bondarenko (2013) [9]:

ATP consumption by the sarcolemma $Ca^{2+}$ pump (Eq. 4).

$$I_{pCa} = I_{pCa_{max}}.\left[\left(1 + \frac{K_{m1_{pCa}}^{ATP}}{[ATP]_i}.\left(1 + \frac{[ADP]_i}{K_{i_{pCa}}^{ADP}}\right)\right)^{-1} + \left(1 + \frac{K_{m2_{pCa}}^{ATP}}{[ATP]_i}\right)^{-1}\right]. \quad (4)$$

Table 2 Parameters used in ATP consumption by the sarcolemma $Ca^{2+}$ pump

| Symbol | Value | Unit | Description |
|---|---|---|---|
| $I_{pCa_{max}}$ | 0.575 | μA/μF | Maximum $Ca^{2+}$ pump current |
| $K_m^{pCa}$ | 5x10$^{-4}$ | mM | ATP half saturation constant for $Ca^{2+}$ pump |
| $K_{m1_{pCa}}^{ATP}$ | 0.012 | mM | First half ATP saturation constant for $Ca^{2+}$ pump |
| $K_{m2_{pCa}}^{ATP}$ | 0.23 | mM | Second half ATP saturation constant for the $Ca^{2+}$ pump |
| $K_{i_{pCa}}^{ADP}$ | 1.0 | mM | ADP inhibition constant for $Ca^{2+}$ pump |

ATP consumption of $Na^+/K^+$ pump (Eq.5).

$$f_{NaK}^{ATP} = \left(1 + \frac{K_{NaK}^{1,ATP}}{[ATP]_i}.\left(1 + \frac{[ADP]_i}{K_{NaK}^{i,ADP}}\right)\right)^{-1} \quad (5)$$

Table 3 Parameters used in modeling ATP consumption by $Na^+/K^+$ pump

| Symbol | Value | Unit | Description |
|---|---|---|---|
| $I_{NaK}$ | 3.147 | μA/μF | Maximum $Na^+/K^+$ pump current |
| $K_{m,Nai}$ | 10 | mM | Half saturation of $Na^+$ for the $Na^+/K^+$ pump |
| $K_{m,Ko}$ | 1.5 | mM | Half saturation of $K^+$ for the $Na^+/K^+$ pump |
| $K_{NaK}^{1,ATP}$ | 8x10$^{-3}$ | mM | ATP half saturation constant for the $Na^+/K^+$ pump |
| $K_{NaK}^{i,ADP}$ | 0.1 | mM | ADP inhibition constant for the $Na^+/K^+$ pump |

ATP consumption in the generation of contraction force (Eq. 6)

$$V_{AM} = V_{AM}^{max} \cdot \left(\frac{f_{01}.[P_0] + f_{12}.[P_1] + f_{23}.[P_2]}{f_{01} + f_{12} + f_{23}}\right). \left(1 + \frac{K_{M,AM}^{ATP}}{[ATP]_i}.\left[1 + \frac{[ADP]_i}{K_{i,AM}}\right]\right) \quad (6)$$

Table 4 Parameters used in modeling ATP consumption for contraction force generation

| Symbol | Value | Unit | Description |
|---|---|---|---|
| $V_{AM}^{max}$ | 7.2x10$^{-3}$ | mM/ms | Maximum rate of ATP hydrolysis by myofibrils (AM ATPase) |
| $K_{M,AM}^{ATP}$ | 0.03 | mM | AM ATPase half-saturation constant |
| $K_{i,AM}$ | 0.26 | mM | ADP inhibition constant for AM ATPase |

### *B. EnergyECLab Tool*

The EnergyECLab tool was developed so as to present a friendly and intuitive graphical interface. EnergyECLab is structured in a main panel (Fig. 1) with a top menu containing the options START, CONTROL vs TEST, VIEW GRAPH, RESOURCE, RETURN and EXIT (Fig. 2). By clicking on the START tab, the user has the option to change parameters related to ATP consumption. Then the simulation protocols such as pulse width, stimulation frequency, cell length, sarcomere length, stimulus current, and plotting interval are entered. The results of each simulation can be viewed via graphs (VIEW GRAPH) that indicate ATP, ADP, CrP and $Ca^{2+}$ concentrations as well as the time course of the contraction force. In CONTROL VS TEST, you have the option to select two simulations for comparison. In RESOURCE you have access to educational content such as videos on the functioning of important cellular structures. Finally, the last tabs RETURN and EXIT allow you to return to the main tab or quit the tool, respectively.

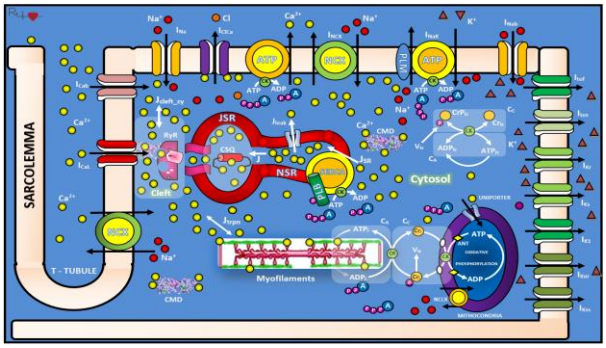



Fig. 1 EnergyECLab simulator main interface

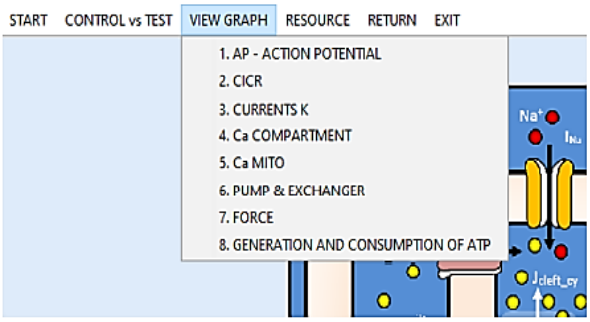



Fig. 2 EnergyECLab simulator options menu

*C. In silico experiments*

As an application of the tool the following simulations were performed:

*"In silico" experiment 1* – The results of the simulations provide us as main output data: the time courses of ATP and CrP (Fig. 3).

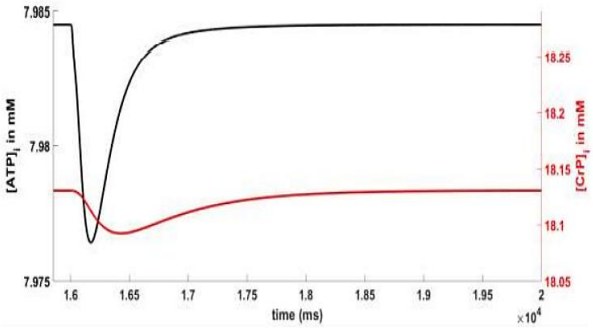



Fig. 3 Time course of ATP and CrP concentrations related to the EC process

*"In silico" experiment 2* – Simulations whose output data are the graphs of the rate of $Ca^{2+}$ uptake by the SR pump (Fig. 4) and the $Ca^{2+}$ transient ($[Ca^{2+}]_i$) (Fig. 5) and contraction force (Fig. 6). Quantitative data regarding $[Ca^{2+}]_i$ and contraction force are shown in Tables 5 and 6, respectively.

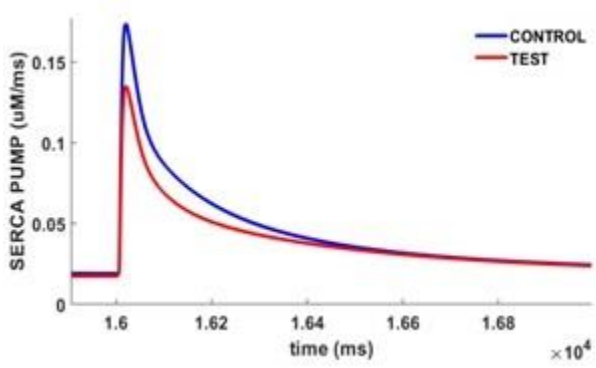



Fig. 4 Speed of $Ca^{2+}$ uptake by SERCA: Control vs Test

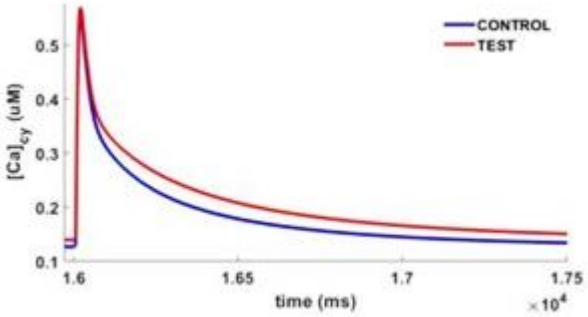



Fig. 5 $Ca^{2+}$ transient: Control vs Test

Table 5 $Ca^{2+}$ transient. In this table the values of diastole (Dia), peak (Peak), amplitude (Δ), peak time ($t_{peak}$) and half time of decline ($t_{0.5}$) are shown.

| Variables | Control | Test |
|---|---|---|
| Dia (μM) | 0.13 | 0.14 |
| Peak (μM) | 0.56 | 0.57 |
| Δ (μM) | 0.43 | 0.43 |
| $t_{peak}$ (ms) | 20 | 20 |
| $t_{0.5}$ (ms) | 120 | 180 |

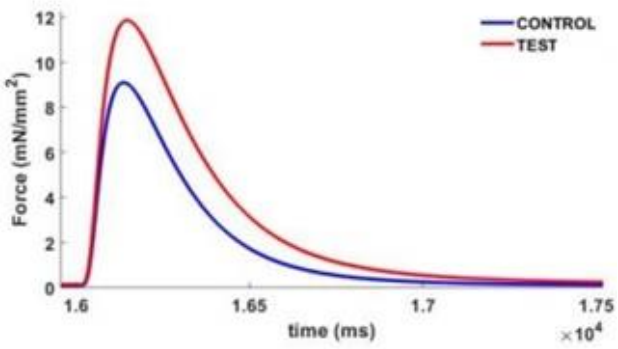



Fig. 6 Contraction force: Control vs Test

Table 6 Contraction force. In this table the values of diastole (Dia), peak (Peak), amplitude (Δ), peak time ($t_{peak}$) and half time of decline ($t_{0.5}$) are shown.

| Variables | Control | Test |
|---|---|---|
| Dia ($mN/mm^2$) | 0.13 | 0.13 |
| Peak ($mN/mm^2$) | 9.1 | 11.86 |
| Δ ($mN/mm^2$) | 8.97 | 11.73 |
| $t_{peak}$ (ms) | 130 | 130 |
| $t_{0.5}$ (ms) | 180 | 220 |

## IV. Discussion

The EnergyECLab computational tool has shown to be effective in performing simulations involving the production and consumption of ATP during the complex process of EC coupling, and due to its didactic resources, as well as other computational tools already available: MioLab [10] which describes the contraction force as a function of calcium dynamics, MarkoLab [11] which shows the stochastic process of ion channels and ForceLAB [12] which is used to compare contraction models, EnergyECLab can also be used to complement the teaching of the entire metabolic process that occurs in the cardiac cell.

From the experiment *"in sílico"* 1 it can be seen that the graph of ATP concentration showed a satisfactory qualitative result compared to the graph presented in the work of Cortassa et al. (2006) [8].

In the *"in silico"* experiment 2, according to studies by Sakamoto and Tonomura (1980) [13], ADP can inhibit the SR $Ca^{2+}$ pump (SERCA) either by competitive mechanisms or not. As can be seen in Fig. 4, a reduction in the rate of $Ca^{2+}$ uptake by SERCA did indeed occur (0.1738 μM/ms vs 0.1351 μM/ms).This reduction, as expected directly impacted the $Ca^{2+}$ transient and contraction force presenting in the latter case a 30.7% increase in force compared to the control (Tables 5 and 6).

## V. Conclusions

The computational tool was able to satisfactorily reproduce the temporal evolution of ATP concentrations, $[Ca^{2+}]_i$ and contraction force, proving to be capable of enriching the investigation of the EC coupling phenomenon.

Other parameter adjustments will still be necessary to allow simulations to be carried out involving the inhibition of the $Na^+/K^+$ pump and its influence on the $Ca^{2+}$ transient and contraction force time. The EnergyECLab computational tool is available for download at the link: https://forms.gle/9ejMQ7w5hgrGPqde6

## Acknowledgment

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Finance Code 88887.667616/2022-000 and 88887.627770/2021-00, São Paulo Research Foundation (FAPESP; grant # 2016/18422-7) and the University of Mogi das Cruzes.

## References

1. WHO at https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)
2. Sutanto H & Heijman J (2022) Integrative Computational Modeling of Cardiomyocyte Calcium Handling and Cardiac Arrhythmias: Current Status and Future Challenges. Cells. 11. 10.3390/cells11071090.
3. Huxley H E (1969) The mechanism of muscular contraction. Science 164:1356–1365 DOI 10.1126/science.164.3886.1356
4. Rice J J, Wang F, Bers D M, de Tombe P P (2008) Approximate model of cooperative activation and crossbridge cycling in cardiac muscle using ordinary differential equations. Biophys J 95:2368-2390 DOI 10.1529/biophysj.107.119487
5. Negroni J A, Lascano E C (2008) Simulation of steady state and transient cardiac muscle response experiments with a Huxley-based contraction model. J Mol Cell Cardiol 45:300-312 DOI 10.1016/j.yjmcc.2008.04.012
6. Satoshi M, Nobuaki S, Hikari Jo, Akinori N (2004) Simulation of ATP metabolism in cardiac excitation – contraction coupling. Prog. Biophys. Mol. Biol.85,2004, pp 279 – 299
7. Bonora M, Patergnani S, Rimessi A, et al. (2012) ATP synthesis and storage. Purinergic Signal. 208(3):343-357. DOI 10.1007/s11302-012-9305-8
8. Cortassa S, Miguel A. Aon, Brian O'Rourke, Robert J, HsiangJer T, Eduardo Marba´ n,and Raimond L. Winslow (2006) An Integrated Model of Cardiac Mitochondrial Energy Metabolism and Calcium Dynamics - The Johns Hopkins University, Institute for Computational Medicine, and Institute of Molecular Cardiobiology, Baltimore, Maryland

9. Bondarenko, V.E.; Mullins , P.D. (2013) A Mathematical Model of the Mouse Ventricular Myocyte Contraction. Pios One. N. 8(5), e63141,2013, pp 1 – 15
10. R.R. da Silva, M.A. Bissaco, D.G. Goroso D (2015) MioLab, a rat cardiac contractile force simulator: Applications to teaching cardiac cell physiology and biophysics. Comput. Methods Programs Biomed., 122, pp. 480-490. DOI 10.1016/j.cmpb.2015.09.012.
11. Silva R.R., Goroso,D.G., Bers D.M., Puglisi, J.L. (2017) MarkoLAB: a simulator to study ionic channel's stochastic behavior. Comput. Biol. Med. 87, pp 258–270. DOI 10.1016/j.compbiomed.2017.05.032.
12. Silva R R, Filho O B, Bassani J W, Bassani R A (2021) The ForceLAB simulator: Application to the comparison of current models of cardiomyocyte contraction. Comput. Biol. Med. 131. DOI 10.1016/j.compbiomed.2021.104240.
13. Sakamoto J, Tonomura Y (1980) Order of release of ADP and Pi from phosphoenzyme with bound ADP of Ca2+-dependent ATPase from sarcoplasmic reticulum and of Na+, K+-dependent ATPase studied by ADP-inhibition patterns. J Biochem. 87(6):1721-7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a132916. PMID: 6249798.

Enter the information of the corresponding author:

Author: Gabriel Marcos de Sousa Motta
Institute: Universidade de Mogi das Cruzes
Street: Av. Dr. Cândido X. de Almeida e Souza, 200
City: Mogi das Cruzes
Country: Brasil
Email: gabriel.motta@hotmail.com

# APÊNDICE B: ARTIGO SUBMETIDO EM PERÍODO (PRÉ PRINT)

# Feed Forward Modeling: A proposal for *in-silico* dynamic simulation of the Excitation-Contraction Coupling in ventricular myocytes

Robson Rodrigues da Silva[1,2]; Gabriel Marcos de Sousa Motta[1]; Matheus Leonardo Alves de Camargo[1]; Daniel Gustavo Goroso[1] e José Luis Puglisi[3]

[1]Research and Technology Center, University of Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, SP, Brazil.

[2]LabNECC, Center for Biomedical Engineering, University of Campinas, Campinas, SP, Brazil

[3]College of Medicine, California Northstate University, Elk Grove, Sacramento, CA, United States

[*]Corresponding author:

University of Mogi das Cruzes Research and Technology Center (NPT/UMC)

Av. Cândido Xavier de Almeida Souza, 200. Centro Cívico, Mogi das Cruzes, SP

CEP: 08780-911, Brazil.

E-mail: robson.silva@umc.br

Running title: Feed Forward Modeling Applied to EC Coupling

Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## Abstract

The Force – Frequency relationship is an essential property of cardiac muscle, primarily mediated by β1-adrenergic stimulation. Changes in HR (heart rate) at the sinoatrial node are accompanied by changes in the contractile machinery of ventricular cells, leading to an increase in contractile force and a shorter relaxation time to accommodate more beats in less time. However, mathematical models that do not include this characteristic provide an incomplete description of physiological changes and can affect the interpretation of results obtained in "in silico" experiments. To address this issue, we introduce a new mathematical modeling proposal for the ventricular myocyte, the "Feed Forward Modeling" (FFM). The FFM approach modifies the model parameters, such as channel conductance, voltage-dependent activation, $Ca^{2+}$ pump affinity, etc., based on the stimulation frequency instead of using the same values. Each parameter was adapted using an empirical sigmoid curve and applied to an electromechanical model of the rabbit ventricular cell. Simulation results with FFM show that updating parameters based on the stimulation frequency provides a better agreement with the physiological scenario, meaning inotropic and lusitropic effects are reproduced. In our FFM simulations, the APD90 decreased from 206 ms at 1 Hz to 173 ms at 4 Hz, while in the conventional approach, the APD90 increased to 208.3 ms, hampering the heart's ability to beat at higher frequencies. Similarly, the peak force development increased from 8.5 $mN/mm^2$ at 1 Hz to 11.9 $mN/mm^2$ at 4.0 Hz, while it only increased to 7.8 $mM/mm^2$ at 4 Hz without the FFM (inotropic effect). The relaxation time at 50% of maximum force ($t_{50}$) decreased from 114 ms at 1 Hz to 75.9 ms at 4 Hz, while at 4 Hz, without FFM, it only decreased to 117 ms (lusitropic effect). This new approach is computationally more efficient than including all beta-adrenergic pathways, making it suitable for large-scale simulations. Finally, we suggest that experiments involving changes in stimulation frequency should be conducted with fractional dosing of the isoproterenol (ISO) concentration to mimic the situation experienced by the heart in its natural environment.

**Key words**: Excitation Contraction Coupling; Feed Forward Modeling; Force-Frequency.

Preprint not peer reviewed



This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## 1. Introduction

The mathematical and computational modeling used to describe the complex process of excitation-contraction (EC) coupling in cardiac myocytes has evolved significantly in recent decades. Models that once only included isolated mathematical descriptions of ionic channels have now incorporated more sophisticated formulations, such as calcium ($Ca^{2+}$) transport, ATP production and its metabolic pathways, compartmental modeling, and, ultimately, the contraction force generated by direct activation of myofilaments [1– 4].

Parallel to the development of contraction models for ventricular myocytes [5–9], the effects of $\beta_1$-adrenergic stimulation on Action Potential (AP), $Ca^{2+}$ transient, and contraction force have been incorporated into the model formulations [10–14]. With these implementations, researchers began simulating, in their new models [10,12–14], the effects caused by isoproterenol (ISO), a β1-adrenergic receptor agonist.

Among these effects, there is an increase in the L-type $Ca^{2+}$ current, an increase in the activity of the sarcoplasmic reticulum (SR) pump, and a decrease in the sensitivity of myofilaments to $Ca^{2+}$. Thus, they were able to reproduce the increase in contraction force (positive inotropic effect) with faster relaxation rates (positive lusitropic effect), characteristics observed because of $\beta_1$-adrenergic stimulation in the myocardium. [12,14,15].

All these changes result from a sequence of events known as $\beta_1$-adrenergic signaling in cardiomyocytes. To meet the energy demands of exercise, the autonomic nervous system (ANS), through the sympathetic nervous system (SNS), alters heart rate (HR) at the sinoatrial node and synchronously modifies the conductance of L-type $Ca^{2+}$ channels, the dynamics of $Ca^{2+}$ pumps located in the sarcolemma and SR, the sensitivity of myofilaments to $Ca^{2+}$, and the conductance of K+ channels. All these adaptations allow the ventricle to adjust to the new energy demand and produce an increase in contraction force associated with a shorter relaxation time [13–16]. The details of this cascade of events are described in the scheme illustrated in Figure 1.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

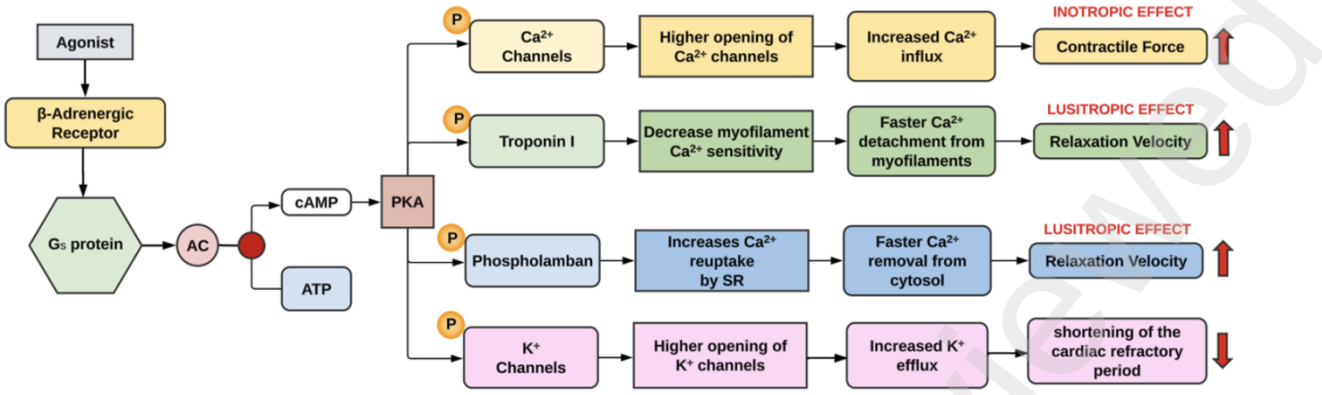



**Figure 1.** Effects produced by $\beta_1$-adrenergic signaling in cardiomyocytes: When β-adrenergic receptors are activated by an agonist such as Isoproterenol (ISO), they activate Adenylate Cyclase (AC) through the mediation of the Gs protein. The primary function of AC is to convert Adenosine Triphosphate (ATP) into Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP), which in turn acts as a second messenger, allowing the activation of Protein Kinase A (PKA). PKA diffuses into the intracellular milieu, promoting the phosphorylation of other proteins. The phosphorylation of $Ca^{2+}$ channels via cAMP leads to an increase in cytosolic $Ca^{2+}$ concentration, resulting in a positive inotropic effect. Phosphorylation of phospholamban disinhibits and activates the SR $Ca^{2+}$ pump, leading to greater and faster $Ca^{2+}$ reuptake by the SR, promoting an increase in relaxation, i.e., a positive lusitropic effect. Phosphorylation of Troponin I reduce the contractile system's sensitivity to $Ca^{2+}$, inducing an increase in relaxation speed, i.e., a positive lusitropic effect. Lastly, the phosphorylation of K+ channels increase the efflux of $K^+$ current, consequently shortening the action potential refractory period [15].

The current challenge for researchers in this field is to incorporate into their models the synchronized adjustment between the increase or decrease in heart rate (HR) – the effects of $\beta_1$-adrenergic signaling in the atrium – and potential changes in the entire system responsible for the excitation-contraction (EC) coupling phenomenon in ventricular myocytes – the effects of $\beta_1$-adrenergic signaling in the ventricle. This adjustment must be implemented in a way that HR changes can produce simultaneous alterations in the values of the key biophysical parameters used in ventricular myocyte modeling. Failing to model this aspect of the phenomenon can have adverse consequences for the model, as well as for the interpretation of its results. In some cases, these consequences are considered an open question that could be confirmed in future experiments or are simply acknowledged as a genuine limitation of the model [13,17]. This fact should make us cautious about extrapolating the results obtained in isolated cells where heart rate (HR) was altered independently.

An example of this is highlighted in the results obtained by Mullins & Bondarenko (p.10, 2013) [18], where using a model for isolated ventricular myocytes, the authors present the



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

effects of stimulation frequency on the temporal behavior of contraction force. In this article, multiple simulations were conducted for different stimulation frequencies (0.25, 0.5, 1, 2, and 4 Hz), but the same values for biophysical parameters were used, obtained at a fixed (basal) frequency of 0.5 Hz. In this example, the negative consequence for the model is its inability to accurately describe the actual changes in contraction force when transitioning abruptly from a stimulation frequency of 0.5 Hz to 4 Hz.

Accurately reproducing the convergence between positive chronotropic effects (increased heart rate) and positive inotropic effects (increased contraction force) in cardiac myocytes requires that current mathematical models incorporate the synchronization that occurs between the atrium and the ventricle. In the modeling of isolated ventricular myocytes, this synchronization occurs when model parameters are adjusted according to changes in the stimulation frequency originating from the atrium. Only in this way can the results obtained with these models provide more precise information about arrhythmias and the effects of antiarrhythmic drugs, as reported in the work of Sutanto & Heijaman [17] which studied the relationship between β-adrenergic stimulation and the proarrhythmic effects of Chloroquine and Azithromycin.

The objective of our work is to introduce a novel approach for the development of mathematical models for ventricular myocytes: the "*Feed Forward Modeling*" (FFM). This innovative strategy enables dynamic modification of model equations based on the stimulation frequency (Figures 2A and 2B).

The main idea behind the proposed model is to be based on dynamic parameters that depend on the stimulation frequency automatically and coherently, a factor that has not been considered in previously developed models. Recently, Sutanto & Heijman [19] described some important limitations of models: a) temperature dependence at the time of conducting experiments from which parameter values are extracted; b) species diversity; c) intra- and inter-individual heterogeneities due to the complex interaction between signaling molecules, $Ca^{2+}$ handling proteins, and ion channels; and d) model-dependent effects. However, direct parameter dependence on the stimulation frequency used during "*in silico*"*:* experiments was not included in this list.

In current models, whose biophysical parameters are obtained at a specific fixed heart rate (HR), modelers conduct simulations at different stimulation frequencies without altering the values of the key parameters involved in the excitation-contraction (EC) coupling phenomenon (Figure 2D). The new proposal, on the other hand, allows the user to determine changes in HR and automatically calculates the percentage increase for each biophysical parameter. Consequently, it



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

updates all the major model parameters based on HR (Figure 2E). This dynamic parameter modification will enable the simulation of the inherent synchrony that exists between the atrium and the ventricle (Figure 2C).

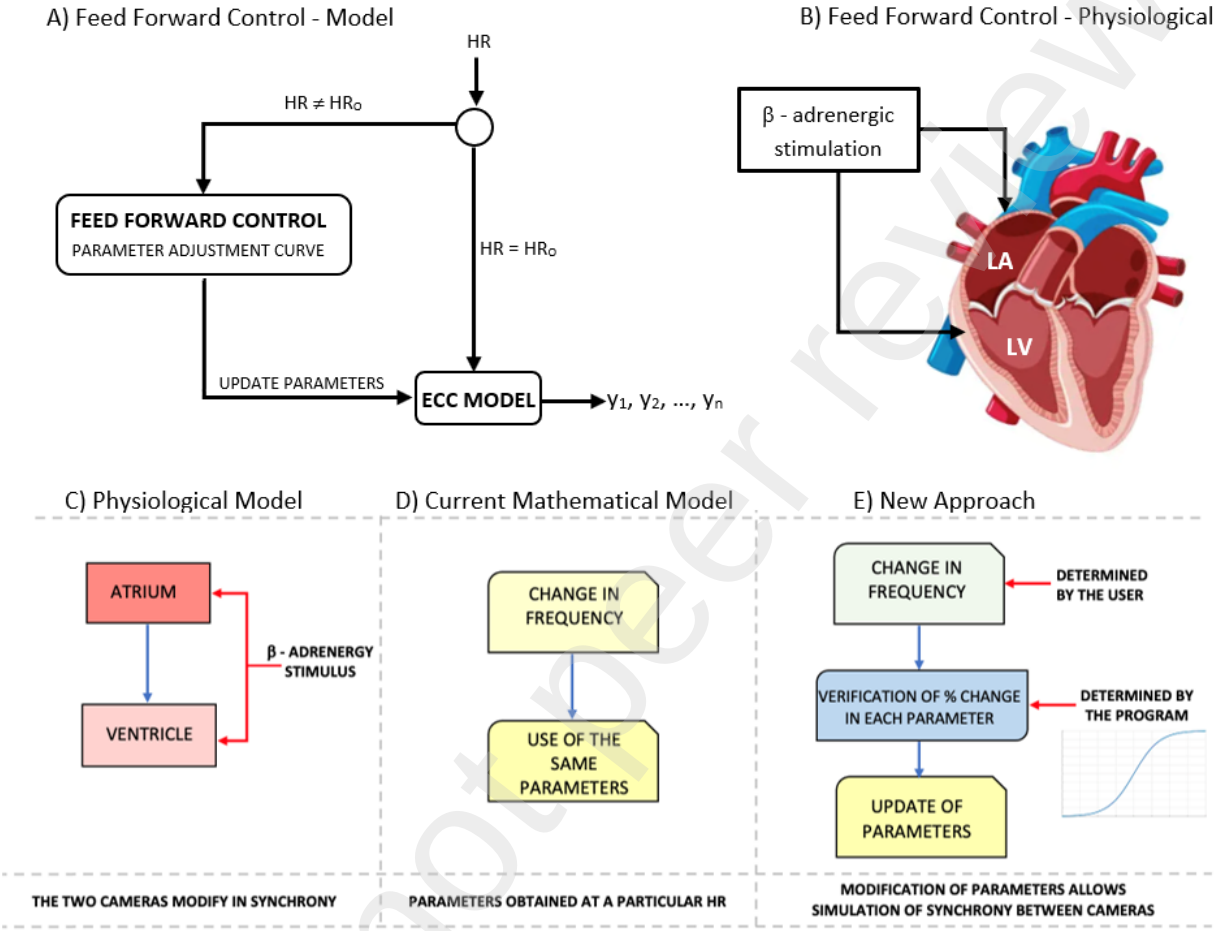



**Figure 2.** Implementation of "*Feed Forward Modeling*" in the excitation-contraction coupling (ECC) model of ventricular myocytes (A) to simulate the effects of β-adrenergic stimulation in the left atrium (LA) and left ventricle (LV) (B). The stimulation frequency is compared with the original model's heart rate (HR). If there is a change in HR value, the values of the key parameters are updated based on a fitting curve. The values $y_1$, ..., $y_n$ represent the model's output variables. A comparison between the physiological phenomenon of β-adrenergic stimulation (C); the current mathematical modeling (D); and the new modeling proposal (E) is depicted at the bottom of the Figure.

This new approach in mathematical modeling will replicate a more realistic cellular behavior concerning the force-frequency relationship and will provide valuable insights for the improvement and development of new models. This will make them more robust and efficient, not only in describing observed phenomena but also in confirming and/or predicting experimentally obtained hypotheses. Additionally, it will guide the planning of future experiments.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## 2. Method

The main idea is that, through changes in heart rate (HR), represented in the model as the stimulation frequency, it becomes possible to assess the percentage increase in the key biophysical parameters involved in EC coupling. These parameters undergo modifications due to $\beta_1$-adrenergic stimulation, such as the conductance of L-type calcium channels, potassium channels, as well as parameters related to pumps, exchangers, and myofilament sensitivity.

### 2.1. The electromechanical model (EMM)

The electromechanical model (EMM) developed by our lab incorporates the Negroni & Lascano model of force [7] within the Shannon model of action potential, ionic currents, and calcium transients [20], and thus allowing the interplay between the mechanical events with the ionic movements happening the cell membrane. The EMM is an ideal platform to implement the concept of the Feed Forward Modeling (FFM) with the dynamic modification of the parameters.

2.1.1 *The electrical model by Shannon et al.*

The presence of $Ca^{2+}$ microdomains within the cell, such as the cleft, subsarcolemmal, cytosol, and sarcoplasmic reticulum (SR), was implemented by Shannon et al. (2004) [20] making the model more realistic in terms of $Ca^{2+}$ handling by adopting a 4-compartment modeling approach (Figure 3A). It is considered that diffusion between these compartments occurs, on average, from the center of each compartment to the center of its adjacent compartment. The diffusion J of ion I at a distance x through the area A from the center of compartment $C_1$ to $C_2$ is given by:

$$J_{I(C1-C2)} = D_{I(C1-C2)} \cdot A \cdot \frac{[I]_{C1} - [I]_{C2}}{\Delta x_{C1-C2}} \quad (1)$$

Where D is the diffusion constant between compartments.

In this model, the action potential (AP) is defined by Equation 2:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m}(I_{CaL} + I_{p(Ca)} + I_{NaCa} + I_{Cab} + I_{Na} + I_{Nab} + I_{NaK} + I_{Ktof} + I_{Ktos} + I_{Ki} + I_{Ks} + I_{Kp} + I_{Kr} + I_{ClCa} - I_{stim}) \quad (2)$$



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

$C_m$ is the membrane capacitance, $I_{CaL}$, $I_{p(Ca)}$, $I_{NaCa}$, $I_{Cab}$, $I_{ClCa}$, $I_{Na}$, $I_{Nab,}$ and $I_{NaK}$ are the currents, respectively, of L-type $Ca^{2+}$, sarcoplasmic reticulum $Ca^{2+}$pump, NCX exchanger, $Ca^{2+}$ background, $Cl^-$activated $Ca^{2+}$, fast $Na^+$, $Na^+$ background, and $Na^+/K^+$ pump. $I_{Ktof}$: this refers to the transient outward potassium current, which is an outward current carried by potassium ions that activates rapidly and then inactivates over time; $I_{Ktos}$: transient outward potassium current, which is an outward current carried by potassium ions that activates more slowly than $I_{Ktof}$ but has a longer duration. $I_{Ki}$: inward rectifier potassium current, which is an inward current carried by potassium ions that is activated by hyperpolarization of the cell membrane. $I_{Ks}$: slow delayed rectifier potassium current, which is an outward current carried by potassium ions that activates slowly and has a longer duration. $I_{Kp}$: plateau potassium current, which is an outward current carried by potassium ions that is activated during the plateau phase of the cardiac action potential. $I_{Kr}$: rapid delayed rectifier potassium current, which is an outward current carried by potassium ions that activates rapidly and has a shorter duration than $I_{Ks}$ and $I$ is the external stimulus.

2.1.1 *The mechanical model by Negroni & Lascano (NL)*

In the contraction model developed by Negroni & Lascano [7] , the interaction of $Ca^{2+}$ with the myofilaments, responsible for sarcomere contraction, is described by six states of sites located on the thin filaments associated with the Troponin System (TS). This TS is defined by three adjacent units of Troponin – Tropomyosin, including Troponin C (TnC), and it allows the binding of three $Ca^{2+}$ ions, thus facilitating the description of the following states:

(i) TS free of $Ca^{2+}$
(ii) $Ca^{2+}$ bound to TnC without cross-bridge binding (TSCa)
(iii) $Ca^{2+}$ bound to TnC with cross-bridge binding in the "weak" state (TSCa~)
(iv) $Ca^{2+}$ bound to TnC with cross-bridge binding in the "strong" state (TSCa*)
(v) TS free of $Ca^{2+}$ with cross-bridge binding in the weak state (TS~)
(vi) TS free of $Ca^{2+}$ with cross-bridge binding in the strong state (TS*)

Figure 3B illustrates the six states described above.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

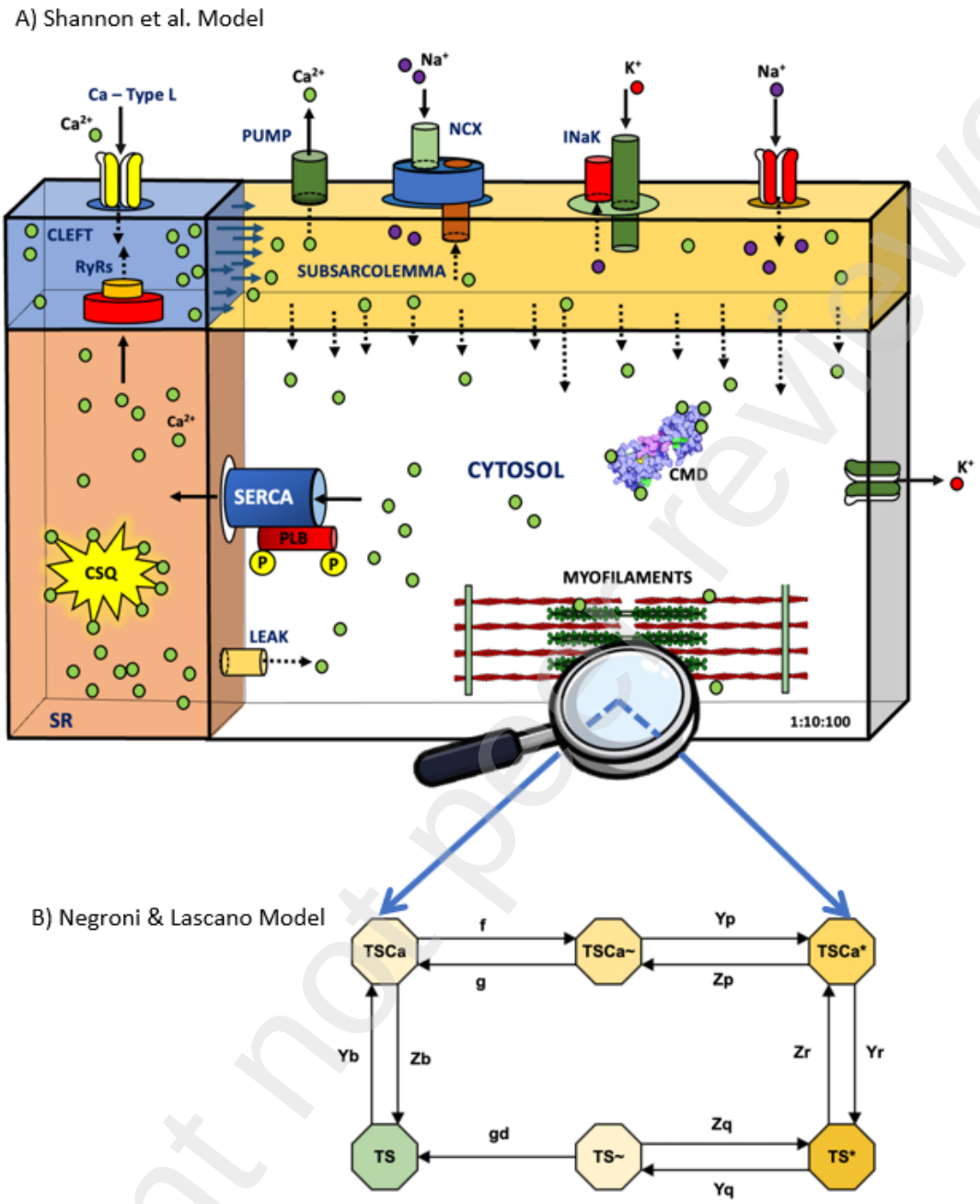



**Figure 3.** Diagram illustrating the diffusion of $Ca^{2+}$ ion in the 4 compartments (cleft, subsarcolemmal, sarcoplasmic reticulum, and cytosol) used in the Shannon et al. (2004) model (A) and the implementation of the Negroni & Lascano (2008) contraction model (B). The NL model describes the six states of the troponin system: TSCa, TSCa˜, TSCa*, TS, TS~ and TS*. The transition rates between these states are constant and related to the association and dissociation of $Ca^{2+}$ on TnC, as well as to the binding and dissociation of cross-bridges on actin; f, g, Yb, Zb, Yp, Zp, Yr, Zr, Yq, Zq and gd are the rate constants between these states (modified from Ref. [7]).



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

In this model, the contraction force generated by the cross-bridges is given by Eq. 3:

$$F = A_w.([TSCa\sim] + [TS\sim]).h_w + A_p.\left([TSCa^*] + [TS^*]\right).h_p \quad (3)$$

Where $A_w$ and $A_p$ represent the elastic constants for the weak and power binding states, respectively. Additionally, $h_w$ and $h_p$ denote the average length of the cross-bridges in their respective states.

The choice of the NL model is since previous results obtained with this model demonstrated better agreement with theoretical predictions and lower sensitivity to variations in parameters related to the kinetics of $Ca^{2+}$ - TnC binding when compared to other contraction models. This can be observed in data reported in the literature [12,21].

A comprehensive description of the NL model can be found in the article published by Negroni & Lascano [7].

### 2.2. Implementation of Feed Forward Modeling (FFM)

The implementation of FFM into the MEM was carried out by modifying the following parameters: a) L-type $Ca^{2+}$ channel conductance; b) fast and slow activation potassium current conductance; c) $Ca^{2+}$ affinity constant in the sarcolemma $Ca^{2+}$ pump current; d) $Ca^{2+}$ affinity constant of the RS pump; e) RS leak channel conductance; f) NCX exchanger speed; g) $Na^+$-$K^+$ pump $Na^+$ affinity constant; and h) sensitivity of myofilaments to $Ca^{2+}$: association ($k_{on}$) and dissociation ($k_{off}$) of TnC.

The complete description of all parameters modified by the adjustment curve is presented in Table 1 of the next section.

#### 2.2.1 *The Curve of Parameter Adjustment as a function of frequency*

Initially, due to the lack of experimental data involving the fractional concentrations of ISO (a β1-adrenergic agonist) and possible changes in heart rate (HR), based solely on the data published by Akita et al. (1994) [22] and Demir et al. (1999) [23], the hypothesis is assumed that the percentage (p) of variation in the biophysical parameters, as a function of HR, will be determined by a sigmoid curve given by the Hill equation (Eq. 4), and its coefficients (pmax, $F_{50}$, and n) can be adjusted as new experimental data are published.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

$$p = \frac{p_{max}}{1 + (\frac{FC_{50}}{FC})^{n}} \quad (4)$$

Where $p_{max}$ is the maximum percentage of variation; $FC_{50}$ is the heart rate (HR) at which the percentage of variation in the respective biophysical parameter is 0.5, and n represents the Hill coefficient.

For the development of the proposed model, the sigmoid curve (Figure 4 A), given by Eq. 4, was initially considered with the following coefficient values: $p_{max} = 1$; $FC_{50} = 3.5$, and $n = 6$. It should be noted that these parameters are meant to serve as proof of concept and will be updated as new experimental data are published. The variation in heart rate (HR) was considered in the range of 1 Hz to 5 Hz. The effects of applying the curve are shown in the panels of Figure 4 (B, C, D, and E).

Preprint not peer reviewed



This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

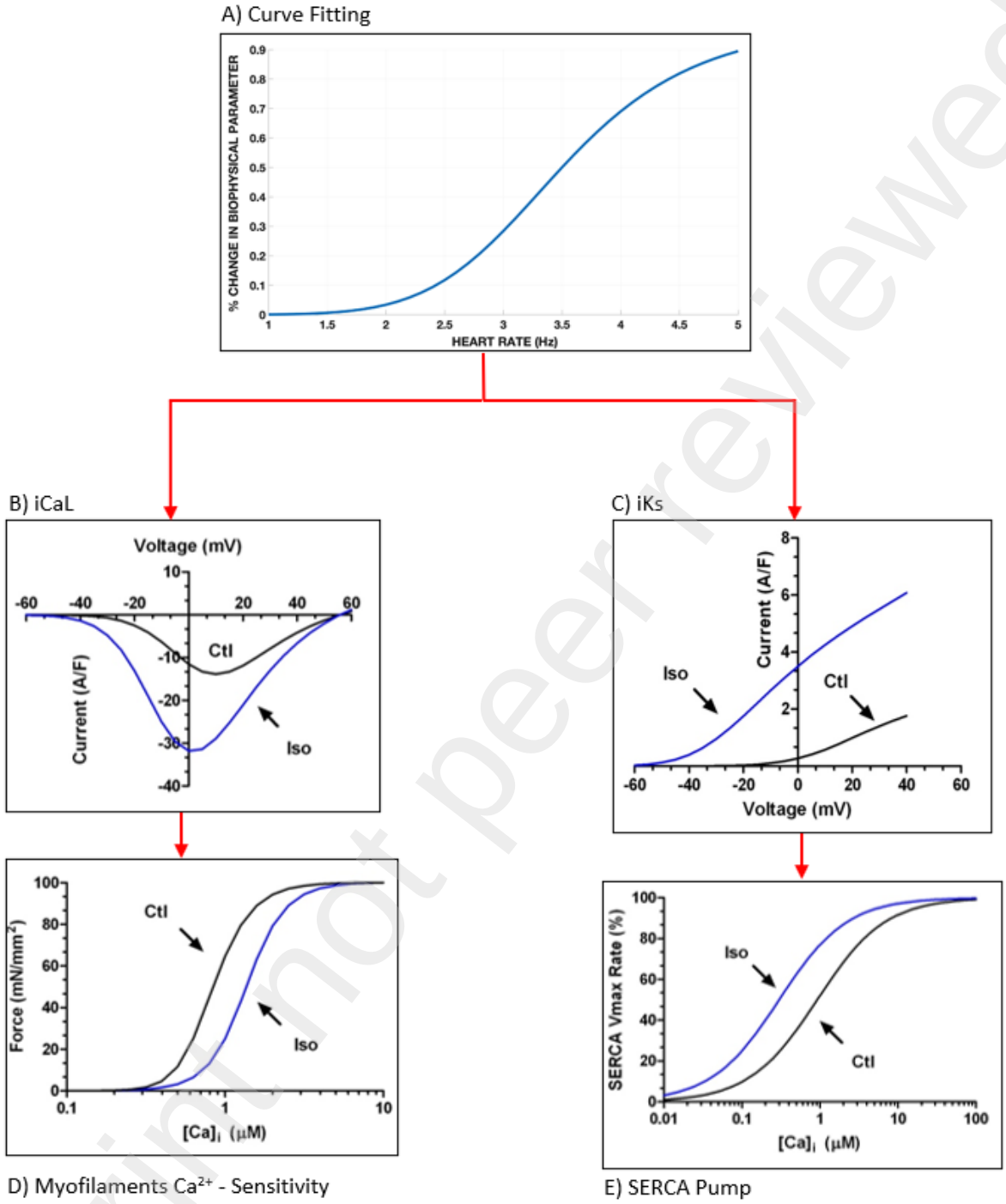



**Figure 4.** A) Application of the sigmoid curve used to determine the percentage change in a specific biophysical parameter as a function of heart rate (in Hz), simulating the effects of β-adrenergic stimulation by the application of Isoproterenol (ISO): B) in the L-type $Ca^{2+}$ current (ICaL); C) in the potassium current (IKs); D) in the sensitivity of myofilaments to $Ca^{2+}$; E) in the SERCA Pump of the sarcoplasmic reticulum (SR). The panels show the comparison between the traditional modeling (Ctl) and the application of the adjustment curve (ISO).



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

### 2.2.2 *Application of the Parameter Curve in EMM*

Using the sigmoid curve (p) presented in the previous section, the update of the main biophysical parameters based on heart rate (HR) was implemented in EMM following the descriptions and references in Table 1.

**Table 1.** Comparison between the main biophysical parameters used in the new EMM before (CONTROL) and after the implementation of Feed Forward Modeling (FFM). The parameter "p" is determined by the sigmoid described in Eq. 4, where p = 0 (control, 1 Hz) and p = 1 (maximum frequency, 5 Hz).

| | DESCRIPTION | CONTROL | FFM | UNIT | REF |
|---|---|---|---|---|---|
| $\mathbf{K_{mNai}}$ | $K_m$ of pump $Na^+/K^+$ for ion $Na^+$ | 11 | 11(1 – 0.27p) | mM | [14] |
| $\mathbf{G_{Kp}}$ | Maximal conductance of IKp current | 0.001 | 0.001(1+ 1.5p) | mS/mF | [14] |
| $\mathbf{G_{Kr}}$ | Maximal conductance of IKr current | 0.03 | 0.03(1+ 0.3p) | mS/mF | [12] |
| $\mathbf{G_{Ks}}$ | Maximal conductance of IKs current | 1 | 1 + 2p | mS/mF | [14] |
| $\mathbf{Kd_{ClCa}}$ | Affinity constant of ligand for ion $Ca^{2+}$ | 0.1 | 0.1(1 – 0.3p) | mM | fit |
| **pCa** | Permeability of ICaL current | 5.4e-4 | 5.4e-4(1 + 0.5p) | cm/s | [12] |
| $\mathbf{K_{mPCa}}$ | $K_m$ of sarcolemmal $Ca^{2+}$ pump current | 0.0005 | 0.0005/(1 + 0.5p) | mM | fit |
| $\mathbf{K_{mf}}$ | $K_m$ SR Ca pump forward mode | $0.246e^{-3}$ | $0.246e^{-3}$/(1 + 2p) | mM | [12] |
| $\mathbf{G_{SRleak}}$ | SR leak rate constant | $5.348e^{-6}$ | $5.348e^{-6}$(1 + p) | $ms^{-1}$ | fit |
| $\mathbf{B_w}$ | Mean elongation of attached CBs in the wick state | 0.35 | 0.35(1 + 2.4p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{B_p}$ | Mean elongation of attached CBs in the power work state | 0.5 | 0.5(1 + 2.4p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Z_a}$ | Kinetic reaction constant for the crossbridge detaching step | 0.0023 | 0.0023(1 + 1.4p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Y_v}$ | Parameter describing the effect of $B_w$ on g | 1.5 | 1.5(1 + 0.6p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Y_b}$ | Kinetic reaction constant for the binding $Ca^{2+}$ step | $0.1816e^9$ | $0.1816e^9$(1 + 1.2p) | $mM^{-3}ms^{-1}$ | fit |
| $\mathbf{Y_p}$ | $Ca^{2+}$ kinetic reaction constant | 0.1397 | 0.1397(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Y_r}$ | $Ca^{2+}$ kinetic reaction constant | 0.1397 | 0.1397(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Z_b}$ | Kinetic reaction constant for the binding $Ca^{2+}$ step | 0.1397 | 0.1397(1 + 3.2p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Z_p}$ | $Ca^{2+}$ kinetic reaction constant | 0.2095 | 0.2095(1 + 1.2p) | $ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{Z_r}$ | $Ca^{2+}$ kinetic reaction constant | $7.2626e^9$ | $7.2626e^9$(1 + 0.8p) | $mM^{-3}ms^{-1}$ | [12] |
| $\mathbf{A_w}$ | Parameter describing the bridge force of the wick state | 540000 | 540000(1 + 2.4p) | $mN.mm^2/\mu m.mM$ | fit |
| $\mathbf{A_p}$ | Parameter describing the bridge force of the power work state | 2700000 | 2700000(1 + 2.4p) | $mN.mm^2/\mu m.mM$ | fit |



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

Regarding the currents IKs (slow delayed rectifier potassium current) and ICaL (L-type Ca2+ current), using the sigmoid given by Eq. (4), Equations (53) and (79) presented in the model by Shannon et al. (2004) [20] were modified as follows:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v+40p-1.5}{16.7}\right)}} \quad (5)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v+10p+14.5}{6}\right)}} \quad (6)$$

Where *v* indicates the membrane potential and p follows Equation (4). When the stimulation frequency is 1 Hz, p = 0, and at 5 Hz, p=1. Equations 5 and 6 at 1 Hz will be:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v-1.5}{16.7}\right)}} \quad (7)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v+14.5}{6}\right)}} \quad (8)$$

And for 5 Hz the result is:

$$X_{s\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v+38.5}{16.7}\right)}} \quad (9)$$

$$d_{\infty} = \frac{1}{1 + e^{\left(-\frac{v+24.5}{6}\right)}} \quad (10)$$

For intermediate values we refer to the sigmoidal curve represented by Equation (4)



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

### 2.3 Simulation Protocols

All programming and simulations were conducted on an Apple iMac desktop computer with an 8-core M1 chip using the MATLAB platform (2019b). The system of coupled differential equations was solved using the numerical method ode15s, which is readily available in the MATLAB platform.

For all simulations, the EMM was stimulated at different frequencies (HR) using a suprathreshold stimulus current of 9.5 pA/pF, a duration of 5 ms, for at least 10,000 ms until it reached a quasi-steady state.

We repeated the protocols below for both the traditional and FFM approach.

***i*) Simulation #1: I-V curve for Calcium current type L**

Simulation was carried out with a holding potential of -60 mV with pulses lasting 200 ms in 10 mV interval up to reach +60 mV. Peak current was measured and plotted against voltage.

***ii*) Simulation #2 : I – V curve for slow potassium current IKs**

Holding potential set at -20 mV with pulses lasting 3000 ms in 10 mV interval up to reach +70 mV. Current was measured at the end of the depolarizing pulse and plotted against voltage.

***iii*) Simulation #3: Action Potential and Force Generation**

Stimulation was carried out with a suprathreshold stimuli in two frequencies 1 and 4 Hz. The last Action Potential and Force traces were saved for comparison. APD90 was measured on the action potential and peak force (Peak F) , delta Force (ΔF) , time to peak force (tpk), time to 50% of peak force ($t_{50}$) was measured force traces.

***iv*) Simulation #4: Onset of alterations in the AP waveform**

To highlight the deleterious effects of keeping the model's parameters constant, we conducted a 5 Hz stimulation where it is possible to observe alterations in the AP duration, a factor that hinders the model's ability to contract at that rate. This disturbance disappears when the FFM approach is implemented.

***v*) Simulation #5: Force-Frequency Relationship**

The model was driven at different frequencies, starting at 1 Hz up to 4 Hz in 0.5 intervals. ΔF Force, $\Delta[Ca^{2+}]_i$ (Amplitude of free $Ca^{2+}$ in the cytosol) and APD90 were measured and plotted against the stimulation frequency.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## 3. Results and Discussion

### 3.1. I-V Relationship of the $Ca^{2+}$ Current

In general, β-adrenergic stimulation has significant effects on the I-V relationship of the L-type $Ca^{2+}$ current. These effects include an increase in current amplitude, changes in kinetics, and shifts in voltage dependence [14, 16, 24, 25]. Understanding these effects is crucial for a better understanding of the physiological and pathophysiological roles of β-adrenergic signaling in various tissues, especially in the cardiovascular system, where calcium dynamics play a vital role in cardiac function.

Using the simulation protocol defined in section 2.3 (Simulation #1), the I-V curve graph (Figure 5 A) for the L-type $Ca^{2+}$ channel current was plotted, providing a comparison between traditional modeling, the application of FFM, and experimental data reported in the literature [25].

Like the experimental data [25], when we observe the simulation results (Control vs. FFM), there is an advancement in the occurrence of the peak of the I-V curve, indicating a shift in the voltage dependence of approximately -13 mV. Additionally, the peak value appears to be multiplied by a factor of 2.8 (Figure 5 A). The quantitative data is presented in Table 2.

**Table 2**. ICaL I-V relationship. Comparison of traditional modeling (Control) versus Feed Forward Modeling (FFM) versus experimental data:

| | **Data Experimental** | | **Simulation** | |
|---|---|---|---|---|
| | **Control** | **ISO** | **Traditional Modeling** | **FFM** |
| **Holding Potential at Peak Current (mV)** | 13.8 | 0 | 11.7 | 0 |
| **Peak Current (µA/µF)** | -7.8 | -21.8 | -7.9 | -21.8 |

### 3.2. I-V Relationship of the IKs Current

The IKs potassium channel, also known as the voltage-dependent potassium rectifier channel, is involved in the repolarization of the cardiac action potential (AP). It becomes active during the electromechanical repolarization phase of cardiac muscle, helping to restore the resting potential of the cardiomyocyte [25, 26]. Increased activity of the IKs potassium channel through β-adrenergic stimulation (Figure 5 B) has various physiological effects. These effects include



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

shortening the duration of the cardiac action potential, increasing the rate of repolarization, and reducing the duration of the refractory period (Figure 6 A) [26].

Using the protocol described in section 2.3 (Simulation #2), the simulation of the IKs current was performed using traditional modeling and compared with the application of FFM. It is observed in the simulation (Figure 5 B) an increase in the activity of the IKs current (from 0.37 to 1.57 µA/µF), which corroborates the experimental results (which produced an increase from 0.12 to 1.57 µA/µF) reported by Volders et al. (2003) [26].

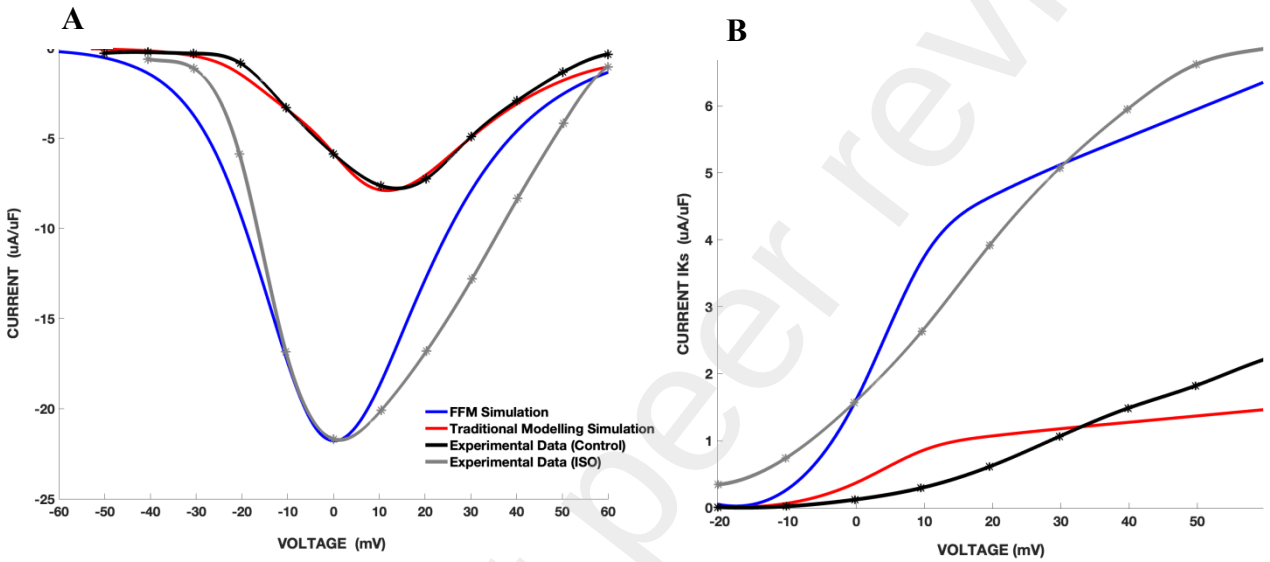



**Figure 5.** A) I-V Relationship of the $Ca^{2+}$ Current: Traditional Modeling vs. FFM Implementation and Validation with Experimental Data reported in the literature (Bers, 2001, p. 127) [25]. B) I-V Relationship of the IKs Current: Traditional Modeling vs. FFM Implementation and Validation with Experimental Data reported by Volders et al. (2003) [26]. (Blue Traces: FFM Simulation; Red Traces: Traditional Modeling Simulation; Black Traces: Experimental Data Control; Gray Traces: Experimental Data ISO).

### 3.3. Action Potential and Force Generation

The novelty of this research is the development of an electromechanical model of the ventricular myocyte, with biophysical parameters being dynamically updated as a function of the pacing frequency. Figure 6 A and 6 B shows the simulation (AP and Contraction Force) at 4 Hz. Peak force, force amplitude, time to peak, time to 50% of relaxation, and APD90 are presented in Table 3.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

**Table 3.** Comparison of traditional modeling (Control) versus Feed Forward Modeling (FFM). The values of peak force (Peak F) developed, force amplitude (ΔF), times to peak ($t_{pk}$), to half-decay/relaxation ($t_{50}$), and $APD_{90}$ are presented.

| | Variable | Control 1 Hz | Control 4 Hz | FFM 4 Hz |
|---|---|---|---|---|
| FORCE | Peak F ($mN/mm^2$) | 8.5 | 7.8 | 11.9 |
| | ΔF ($mN/mm^2$) | 7.4 | 4.6 | 9.5 |
| | $t_{pk}$ (ms) | 136 | 109 | 109.7 |
| | $t_{50}$ (ms) | 114 | 117 | 75.9 |
| AP | $APD_{90}$ (ms) | 206 | 208.3 | 173.4 |

$APD_{90}$ decreased from 206 ms at 1 Hz to 173 ms at 4 Hz, but without FFM, $APD_{90}$ exhibited an increase to 208.3 ms, something that hindered the ability of the heart to beat at higher frequencies. Likewise, peak force (Peak F) development increased from 8.5 $mN/mm^2$ at 1 Hz to 11.9 $mN/mm^2$ at 4.0 Hz, while increasing only to 7.8 $mN/mm^2$ at 4 Hz without FFM (inotropic effect). Relaxation time at 50% of the peak force ($t_{50}$) decreased from 114 ms at 1Hz to 75.9 ms at 4 while $t_{50}$ at 4Hz without FFM shortened to 117 ms only (lusitropic effect).

The combined effects of beta-adrenergic stimulation result in changes in the duration and shape of the cardiac action potential (Figure 6 A). These changes can have significant consequences for cardiac function, such as increased contractility of the heart (Figure 6 B), modulation of heart rate, and the adaptation of the heart to different levels of stress and metabolic demand [24].

### 3.4. Changes in the AP waveform

Stimulation of the ventricular myocyte at high frequency (5 Hz) without the modifications induced by FFM, as reported by Puglisi et al. (2013) [16], generated changes in the AP waveform (Figure 6 C).



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

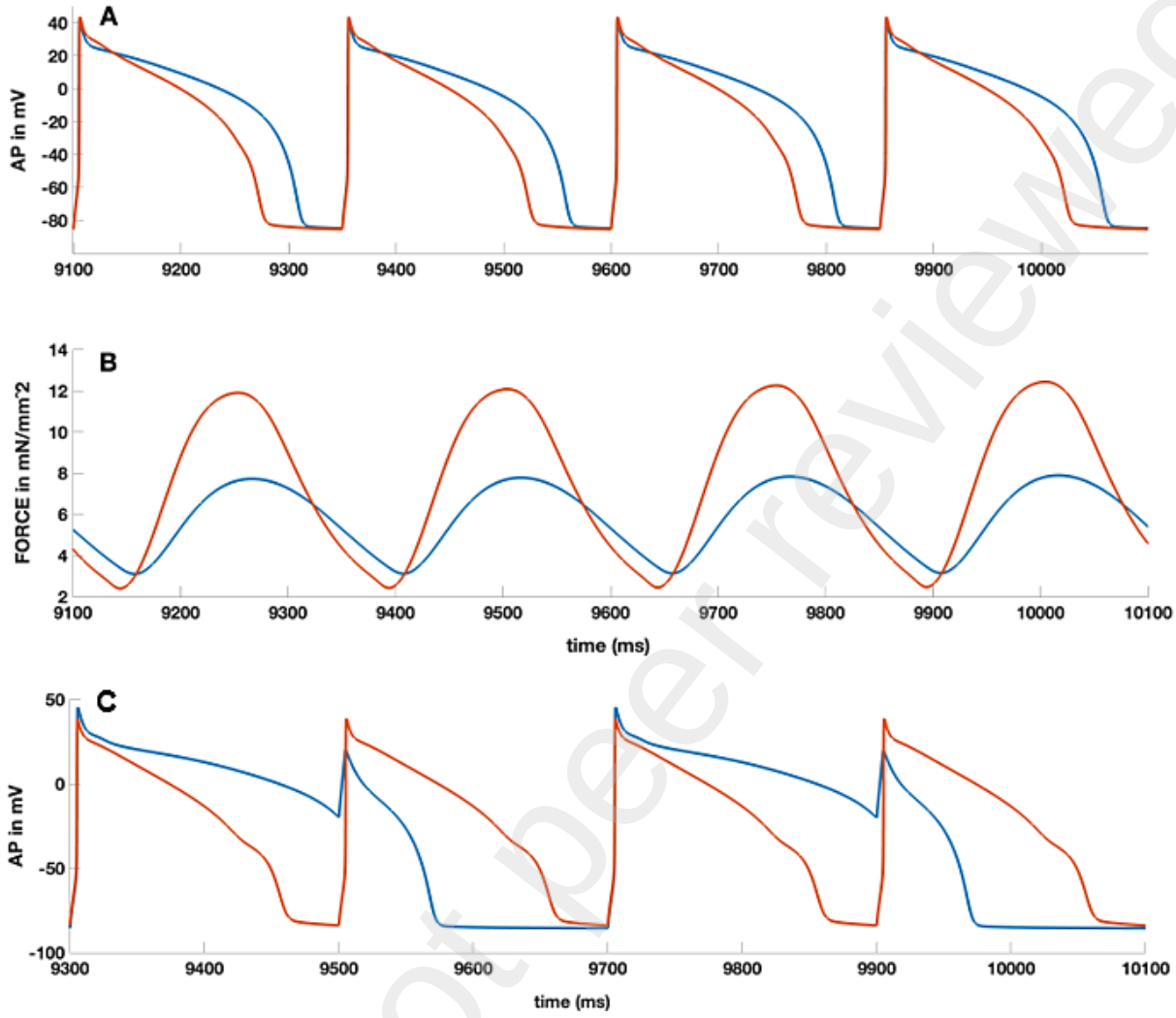



**Figure 6.** Traditional Modelling **(**Control) vs FFM: A) AP; B) contraction force generated by traditional modeling and FFM stimulated at a frequency of 4 Hz; C) AP curves generated by traditional modeling and FFM stimulated at a frequency of 5Hz (blue traces: Control, red traces: FFM).

In the traditional model, when stimulated at higher frequencies, AP durations are not short enough to accommodate the necessary contractions at the required heart rate [16]. On the other hand, FFM modifies the parameters producing an AP duration compatible with higher stimulation frequency.

### 3.5. Force-Frequency Relationship

Using the simulation protocol defined in Section 2.3 (Simulation #5), the curves of contraction force amplitude (Figure 7 A), the amplitude of free $Ca^{2+}$ in the cytosol (Figure 7 B),



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

and $APD_{90}$ (Figure 7 C) were generated from our electromechanical model as a function of the stimulation frequency with and without FFM.

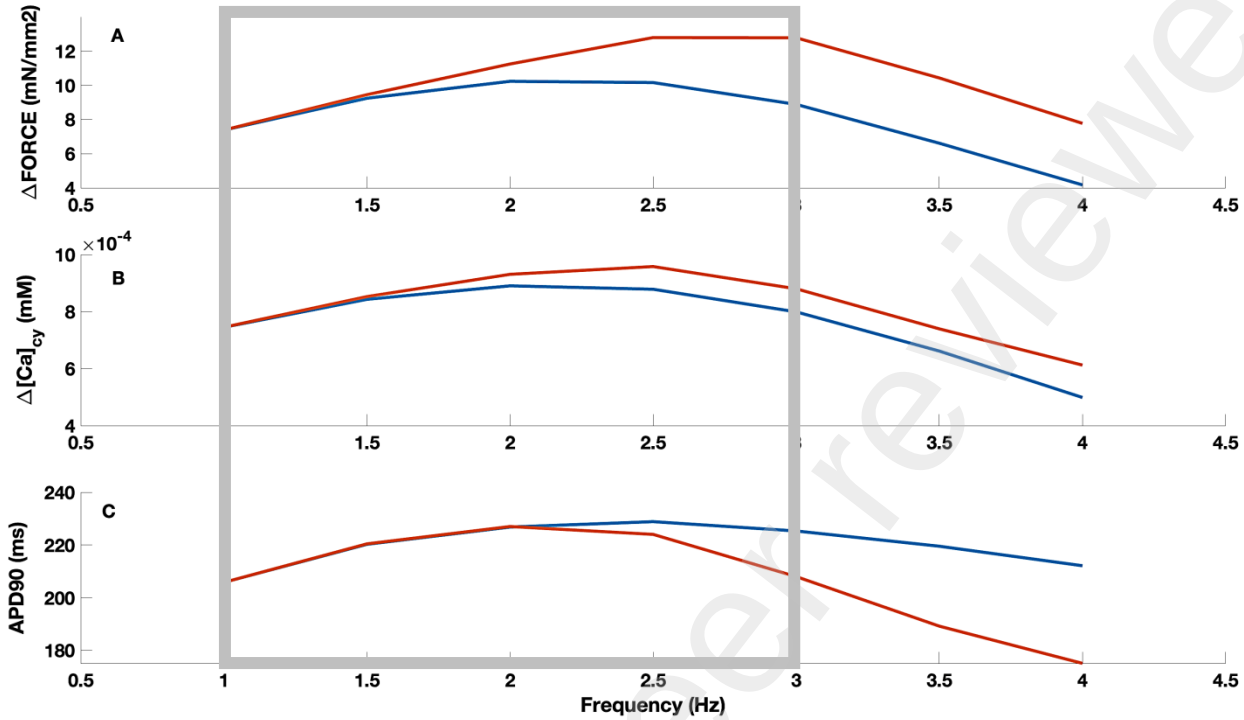



**Figure 7.** Traditional Modelling (Control) vs FFM: (A) Contraction force amplitude (ΔF); (B) amplitude of free $Ca^{2+}$ in the cytosol ($\Delta[Ca^{2+}]_i$); (C) $APD_{90}$ in dependence on HR. It is observed that the FFM applied from the electromechanical model allows the force-frequency curve to be positive for higher values of HR (blue traces: Control, red traces: FFM). The window highlights the physiological frequency range.

The force-frequency relationship, crucial within the physiological frequency range, ensures the "*fight or flight*" response adequately prepares the individual for survival actions such as escape or confronting danger [16]. β-adrenergic stimulation influences the contraction frequency of ventricular myocytes, shifting the force-frequency curve upward under stress conditions, thus enabling the myocyte to generate greater contractile force at elevated stimulation frequencies (Figure 7 A). This enhanced contractile force is vital during high-demand situations like physical exercise or stress, ensuring an intensified myocardial contractile response [24, 25]. Figure 7 (A) demonstrates that employing FFM maintains a positive force-frequency relationship across a broader frequency range compared to traditional modeling. This method, which adjusts equations based on stimulation frequency changes, offers a force-frequency curve that more accurately mirrors myocardial cell nature [16, 24].



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## 4. Limitations

An important point to highlight is that we used a sigmoidal curve (Eq. 4 and Figure 4 A) to implement parameter changes as a function of stimulation frequency. This curve was based on the limited experimental data available in the literature [22, 23] and in future refinements, specific curves should be used for each of the parameters to be adjusted. This will only be possible once new experimental data involving the variation of stimulation frequency as a function of fractional concentrations of the ISO agonist are available.

## 5. Conclusion

The force-frequency relationship can be misleading, making us to assume that one variable (e.g. force) is consequence of the other (e.g. frequency) while in reality both of them are the result of the a third parameter: the beta adrenergic stimulation. Our work presents a new proposal for modelers and suggestions to experimentalists. To modelers, it shows that not including the parameters' frequency dependency could produce results that are not able to represent the physiological behavior of the hearts, particularly in studies focusing on antiarrhythmic drugs. For experimentalists, we suggest that experiments involving changes in the cardiac stimulation frequency should be carried out by dosing the isoproterenol (ISO) concentration to mimic the situation experienced by the heart in its natural environment.

It is also noteworthy that our approach is more effective computationally for large-scale modeling because it generates similar results than simulating the whole adrenergic pathways without implementing the system of coupled differential equations as described in the published models [10, 11,14].



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## Abbreviations

EC: Excitation-Contraction

AC: Adenylyl Cyclase

cAMP: cyclic Adenosine Mono Phosphate

PKA: Protein Kinase A

$Ca^{2+}$: Calcium ion

$Na^{+}$: Sodium ion

$K^{+}$: Potassium ion

ATP: Adenosine triphosphate

AP: Action Potential

ISO: Isoprotenerol

SR: Sarcoplasmic Reticulum

ANS: Autonomic Nervous System

SNS: Sympathetic Nervous System

HR: Heart Rate

FFM: Feed Forward Model

EMM: Eletromechanical Model

NL: Negroni and Lascano

TS: Troponin System

TnC: troponin C

NCX: Sodium-Calcium exchanger

APD90: Action Potential Duration

$[Ca^{2+}]_i$: cytosolic free $Ca^{2+}$ concentration

$\Delta[Ca^{2+}]_i$/ $\Delta F$: systolic variation of $[Ca^{2+}]_i$ or force.

Dia $[Ca^{2+}]_i$ / diaF: diastolic values of $[Ca^{2+}]_i$ or force

$k_{off:}$ rate constant of $Ca^{2+}$ dissociation on TnC

$k_{on}$: rate constant of $Ca^{2+}$ association on TnC

$t_{0.5}$: time to decline of 50% of the $\Delta F$ value

Preprint not peer reviewed



This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

## Authors' contributions

JLP generated concept of FFM. RRS and JLP were responsible for interpreting the results and writing the manuscript. RRS mentored GMSM and MLAC in developing the programming in MATLAB. DGG collaborated in the writing and reviewing of the manuscript.

## Conflict of Interests

The authors state that there are no undisclosed financial or personal relationships that might result in a conflict of interest with respect to this study.

## Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support from the São Paulo Research Foundation (FAPESP; grants #2013/20220-5 and 2016/18422-7), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Basil (CAPES) - Finance Code 88887.627770/2021-00 and the University of Mogi das Cruzes. JLP was awarded with CNSU intramural grant 02-002-01-1300-67547.

## References

[1] J.L. Puglisi, F. Wang, D.M. Bers, Modeling the isolated cardiac myocyte, in: Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2004. https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2003.12.003.

[2] S. Matsuoka, N. Sarai, H. Jo, A. Noma, Simulation of ATP metabolism in cardiac excitation-contraction coupling, Progress in Biophysics and Molecular Biology. 85 (2004) 279–299. https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2004.01.006.

[3] D. Noble, A. Garny, P.J. Noble, How the Hodgkin-Huxley equations inspired the Cardiac Physiome Project, The Journal of Physiology. 590 (2012) 2613–2628. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224238.

[4] S.A. Niederer, J. Lumens, N.A. Trayanova, Computational models in cardiology, Nat Rev Cardiol. 16 (2019) 100. https://doi.org/10.1038/S41569-018-0104-Y.

[5] J.J. Rice, R.L. Winslow, W.C. Hunter, Comparison of putative cooperative mechanisms in cardiac muscle: length dependence and dynamic responses., Am J Physiol. 276 (1999) H1734–H1754.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

[6] J.A. Negroni, H.C. Lascano, A cardiac muscle model relating sarcomere dynamics to calcium kinetics, Journal of Molecular and Cellular Cardiology. (1996). https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0086.

[7] J.A. Negroni, E.C. Lascano, Simulation of steady state and transient cardiac muscle response experiments with a Huxley-based contraction model, Journal of Molecular and Cellular Cardiology. (2008). https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.04.012.

[8] N.A. Trayanova, J.J. Rice, Cardiac electromechanical models: From cell to organ, Frontiers in Physiology. (2011). https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00043.

[9] S.A. Niederer, K.S. Campbell, S.G. Campbell, A short history of the development of mathematical models of cardiac mechanics, Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 127 (2019) 11–19. https://doi.org/10.1016/J.YJMCC.2018.11.015.

[10] J.J. Saucerman, L.L. Brunton, A.P. Michailova, A.D. McCulloch, Modeling beta-adrenergic control of cardiac myocyte contractility in silico., J Biol Chem. 278 (2003) 47997–8003. https://doi.org/10.1074/jbc.M308362200.

[11] J.L. Greenstein, A.J. Tanskanen, R.L. Winslow, Modeling the Actions of β-Adrenergic Signaling on Excitation–Contraction Coupling Processes, Ann N Y Acad Sci. 1015 (2004) 16. https://doi.org/10.1196/ANNALS.1302.002.

[12] J.A. Negroni, S. Morotti, E.C. Lascano, A. v. Gomes, E. Grandi, J.L. Puglisi, D.M. Bers, B-Adrenergic Effects on Cardiac Myofilaments and Contraction in an Integrated Rabbit Ventricular Myocyte Model, Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 81 (2015) 162–175. https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2015.02.014.

[13] J.Q.X. Gong, M.E. Susilo, A. Sher, C.J. Musante, E.A. Sobie, Quantitative analysis of variability in an integrated model of human ventricular electrophysiology and β-adrenergic signaling, J Mol Cell Cardiol. 143 (2020) 96. https://doi.org/10.1016/J.YJMCC.2020.04.009.

[14] A. Lyon, L.J. Dupuis, T. Arts, H.J.G.M. Crijns, F.W. Prinzen, T. Delhaas, J. Heijman, J. Lumens, Differentiating the effects of β-adrenergic stimulation and stretch on calcium and force dynamics using a novel electromechanical cardiomyocyte model, American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. 319 (2020) H519–H530. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00275.2020.

[15] D.M. Bers, Excitation-Contraction Coupling, (2001) 203–244. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0658-3_8.



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

[16] J.L. Puglisi, J.A. Negroni, Y. Chen-Izu, D.M. Bers, The force-frequency relationship: Insights from mathematical modeling, American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education. 37 (2013) 28–34. https://doi.org/10.1152/advan.00072.2011.

[17] H. Sutanto, J. Heijman, Beta-Adrenergic Receptor Stimulation Modulates the Cellular Proarrhythmic Effects of Chloroquine and Azithromycin, Frontiers in Physiology. 0 (2020) 1346. https://doi.org/10.3389/FPHYS.2020.587709.

[18] P.D. Mullins, V.E. Bondarenko, A Mathematical Model of the Mouse Ventricular Myocyte Contraction, PLoS ONE. (2013). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063141.

[19] H. Sutanto, J. Heijman, Integrative Computational Modeling of Cardiomyocyte Calcium Handling and Cardiac Arrhythmias: Current Status and Future Challenges, Cells 2022, Vol. 11, Page 1090. 11 (2022) 1090. https://doi.org/10.3390/CELLS11071090.

[20] T.R. Shannon, F. Wang, J. Puglisi, C. Weber, D.M. Bers, A mathematical treatment of integrated Ca dynamics within the ventricular myocyte., Biophys J. 87 (2004) 3351–71. https://doi.org/10.1529/biophysj.104.047449.

[21] R. Rodrigues da Silva, O. Baptista de Souza Filho, J.W. Magalhães Bassani, R.A. Bassani, The ForceLAB simulator: application to the comparison of current models of cardiomyocyte contraction. Computers in Biology and Medicine. (2021) 104240. https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104240.

[22] T. Akita, R.W. Joyner, C. Lu, R. Kumar, H.C. Hartzell, Developmental changes in modulation of calcium currents of rabbit ventricular cells by phosphodiesterase inhibitors., Circulation. 90 (1994) 469–478. https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.1.469.

[23] S.S. Demir, J.W. Clark, W.R. Giles, Parasympathetic modulation of sinoatrial node pacemaker activity in rabbit heart: a unifying model, 276 (1999) 832–852. https://doi.org/10.1152/AJPHEART.1999.276.6.H2221.

[24] J. Koch-Weser, J.R. Blinks, Analysis of the relation of the positive inotropic action of cardiac glycosides to the frequency of contraction of heart muscle, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 136 (1962).

[25] D.M. Bers, Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force, Springer Netherlands, Dordrecht, 2001, https://doi.org/10.1007/978-94-010-0658-3.

[26] Paul G.A. Volders et al. Probing the Contribution of IKs to Canine Ventricular Repolarization Key Role for β-Adrenergic Receptor Stimulation, Circulation. 2003;107:2753–2760. https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000068344.54010.B3



Preprint not peer reviewed

This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

Preprint not peer reviewed



This preprint research paper has not been peer reviewed. Electronic copy available at: https://ssrn.com/abstract=4611044

# APÊNDICE C: ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CIENTÍFICA DA UMC (I SUMMIT - 2023)

REVISTA CIENTÍFICA DA UMC

# DESENVOLVIMENTO DE UMA FERRAMENTA COMPUTACIONAL PARA O DIMENSIONAMENTO DE REATORES DO TIPO BATELADA

Gabriel Marcos de Sousa Motta[1]; Marcos Martins Ornelas Junior[2]; Hernandes de Souza Brandão[3]; Robson Rodrigues da Silva[4]

1. Estudante de Engenhara Química; e-mail: gabriel.motta@hotmail.com
2. Estudante de Engenharia Química; e-mail: marcos.moj@outlook.com
3. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: hernandesbrandao@umc.br
4. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: robson.silva@umc.br

**Área do conhecimento**: Engenharia Química
**Palavras-chave:** Reatores; Batelada; Cinética Química; Múltiplas Reações; Ferramenta Computacional.

## INTRODUÇÃO

O estudo da engenharia das reações químicas é de grande importância, sendo uma tangente entre cinética química e cálculo de reatores. Compõem uma teoria aplicável a muitas áreas como farmacocinética, microeletrônicos, sistemas vivos etc. Um profundo estudo do tema Engenharia Química das Reações é um dos principais tópicos que diferenciam a Engenharia Química das demais (FOGLER, 1992). A utilização de softwares na Engenharia Química é essencial para conferir confiabilidade e segurança ao profissional, porém a maioria dos softwares direcionados a simulação de processos químicos industriais possuem acesso restrito e custo de licença expressivo, dificultando a utilização por profissionais que realizam pesquisas tanto na indústria quanto nas universidades (DUARTE, 2011).

## OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo desenvolver uma ferramenta computacional para realizar cálculos de projeto de reatores do tipo batelada, atendendo aos seguintes objetivos específicos: i) Desenvolver um modelo matemático para determinação da concentração das espécies químicas envolvidas em reatores com múltiplas reações; ii) Implementar uma ferramenta computacional didática para utilização nas aulas de cálculo de reatores; iii) Realizar experimentos *"in silício"* envolvendo dimensionamento de reatores batelada; v) Validar o modelo matemático utilizando dados reportados na literatura.

## METODOLOGIA

Para a determinação das variáveis de interesse no projeto de um reator com única reação, como conversão global do reagente limitante, tempo de reação e volume do reator, fora

utilizado tópicos de balanço material (HIMMELBLAU, 2006), cinética química (LEVENSPIEL, 1963), lei de ação de massas, Cálculo Diferencial e Integral e tópicos fundamentais da termodinâmica (FOGLER, 1992). Para obter as mesmas variáveis com múltiplas reações foi desenvolvido um sistema de Equações Diferenciais Acopladas de acordo com uma biblioteca base de reações químicas supondo 2 reações e até 8 espécies químicas, com o auxílio plataforma MATLAB (HANSELMAN, 1997). O desenvolvimento do modelo matemático foi fundamentado na teoria cinética e no mecanismo da reação (ATKINS, 2006). Já a interface e as Equações Diferenciais foram desenvolvidas com o auxílio do APP DESIGN, ferramenta do MATLAB.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Softwares que realizem simulações de processos químicos com licença gratuita ou com baixo custo e direcionado a pesquisa são escassos no mercado (DUARTE, 2011) há a necessidade do desenvolvimento de ferramentas computacionais que asseguram maior confiabilidade ao profissional da Engenharia Química através da simulação de processos.

Nesse trabalho, a ferramenta computacional denominada DRB (Dimensionamento de Reatores Batelada) foi desenvolvida com o intuito de proporcionar uma nova experiência de ensino da matéria Cálculo de Reatores e para facilitar o dimensionamento de reatores do tipo batelada com ênfase nas múltiplas reações químicas. A Figura 1 ilustra as interfaces principais e recursos da ferramenta.

**Figura 1**. Layout da ferramenta desenvolvida




**A.** Interface Principal da ferramenta; **B**. Volume do reator CSTR; **C**. Tempo de Reação para uma reação.

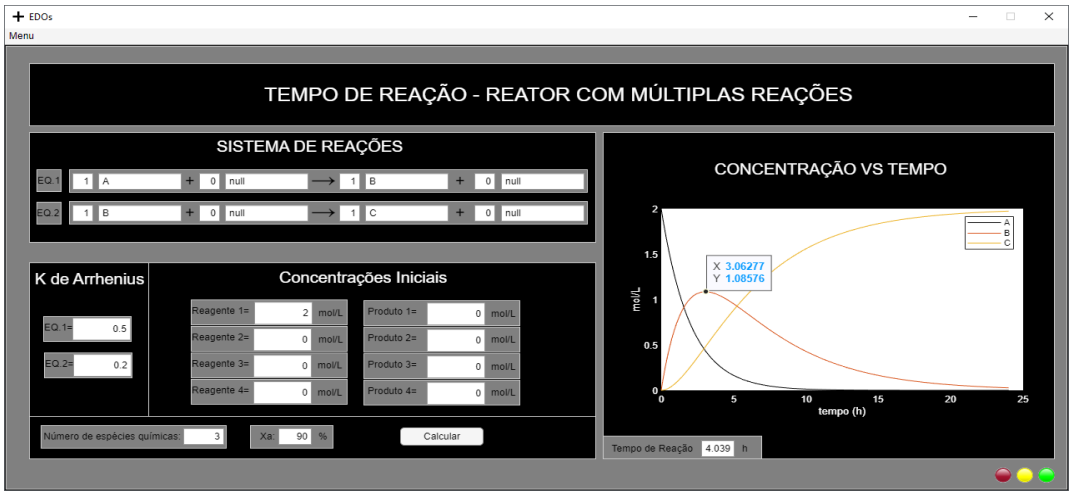
Os exercícios propostos, a biblioteca de reações e o manual do usuário estão ilustrados na Figura 2.

**Figura 2**. Exercícios propostos, biblioteca de reações e manual do usuário




**A.** Tela de exercícios didáticos propostos para o usuário; **B**. Biblioteca de reações; **C**. Manual para facilitação da utilização da ferramenta.

**Figura 3**. Experimento "*in sílico*" com múltiplas reações




As simulações realizadas com a ferramenta DRB mostram um software consistente e eficiente quanto a modelagem matemática. Para a validação da ferramenta utilizou-se uma situação problema, com reator isotérmico e sem quedas de pressões, com isso garante-se a admissão

de certas simplificações. Os valores foram inseridos no software e obteve-se um gráfico (Figura 3) semelhantes ao proposto pela literatura (FOGLER,1992 p.245- adaptada). Nota-se que na literatura temos o tempo para produção máxima do produto B de 3.05h contra 3.06h no DBR um erro percentual menor que 1%. A ferramenta possui uma biblioteca interna com todos os possíveis sistemas e arranjos suportados pelo programa. Ainda nesse sentido, o programa possui inputs com uma única opção de escolha, como a fase do componente somente líquido e reator isotérmico, que em próximas versões deverão ser atualizados aumentando as possibilidades e aproximando-se, cada vez mais, das reais condições de operação do reator.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em linhas gerais, a ferramenta de dimensionamento de reator químico do tipo batelada com múltiplas reações apresentou bons resultados no que se refere ao resultado das simulações, interface gráfica e na simplicidade em compreender, através de um algoritmo, os parâmetros do processo e realizar os cálculos necessários ao dimensionamento do reator. A ferramenta é uma excelente alternativa para o suporte as aulas no curso de Engenharia Química por possuir acesso livre, exercícios didáticos de aplicação do conteúdo da aula e interface gráfica amigável aos usuários. O software pode ser obtido após um breve cadastro (https://forms.gle/d9Gi1LVZVYZELimx7).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINS, P.W.; JONES, L. “Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente”. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2006

DUARTE, A. P. S.; ORELLANA, M. H. B.; CAMPOS, R. P. “Uso do Software Livre Aplicado à Engenharia Química”. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

FOGLER, H. S., "Elements of Chemical Reaction Engineering". 2nd Edition, Prentice Hall, New Jersey, 1992.

HANSELMAN, D; LITTLEFIELD, B. MATLAB 4 – “Versão do Estudante – Guia do Usuário”, Makron Books, 413 pp, São Paulo, 1997.

HIMMELBLAU, D. M.; RIGGS, J. B., “Engenharia Química – Princípios e Cálculos”, 7ª ed., Rio de Janeiro, LTC, 2006.

LEVENSPIEL, O. “Engenharia das reações químicas”. 3 ª ed., São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 2000.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio dos nossos orientadores Prof. Dr. Robson Rodrigues da Silva e Prof. Ms. Hernandes de Souza Brandão. Agradecemos ao CNPq (Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro e a UMC pela oportunidade de desenvolvimento do trabalho.

# APÊNDICE D: RESUMO PUBLICADO NOS ANAIS DO 47O CONGRESSO DE BIOFÍSICA - 2023

SBBf 2023 47th Annual Meeting of the Brazilian Biophysical Society

SBBf Brazilian Biophysical Society

# FEED FORWARD MODELING: A NOVEL APPROACH TO MODELING THE EFFECTS OF β-ADRENERGIC STIMULATION ON VENTRICULAR MYOCYTES.

Gabriel M. S. Motta[1]; José L. Puglisi[2]; Daniel G. Goroso[1] and Robson R. Silva[1,3]

[1]Research and Technology Center, University of Mogi das Cruzes, SP (email:gabrielmsmotta@hotmail.com)
[2]College of Medicine, California Northstate University, Elk Grove, Sacramento, CA, United States
[3]Center for Biomedical Engineering, University of Campinas (UNICAMP), SP.

The relationship between force and frequency in the cardiac muscle is mediated by $\beta_1$-adrenergic stimulation. Changes in heart rate at the sinoatrial node lead to alterations in ventricular cells, increasing contractile force and reducing relaxation time to accommodate more beats in less time. Mathematical models lacking this characteristic provide incomplete descriptions of physiological changes and compromise the interpretation of "*in silico*" results. To overcome this limitation, a new proposal for mathematical modeling of the ventricular myocyte, called "Feed Forward Modeling" (FFM), is introduced. FFM adapts model parameters according to the stimulation frequency, replacing fixed values used for activation, channel conductance, and $Ca^{2+}$ pump affinity with empirical curves. Simulations with FFM demonstrate more physiologically coherent results, with increased inotropic and lusitropic effects, indicating better adaptation to different frequencies. Compared to the conventional model, FFM reduces the repolarization time (APD90) from 206 ms at 1 Hz to 173 ms at 4 Hz, while the conventional model increases to 208.3 ms at 4 Hz, impairing the heart's ability to cope with higher frequencies. The peak force increases from 8.5 mN/mm$^2$ at 1 Hz to 11.9 mN/mm$^2$ at 4 Hz with FFM, whereas the conventional model only shows an increase to 7.8 mN/mm$^2$ at 4 Hz. FFM proves to be more efficient than including all beta-adrenergic pathways, making it suitable for large-scale simulations. It is suggested that experiments involving changes in stimulation frequency should be conducted with fractional dosages of isoproterenol (ISO) concentration to better mimic the heart's natural environment. This work was supported by São Paulo Research Foundation (FAPESP; 2016/18422-7) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Basil (CAPES) - Finance Code 88887.667616/2022-000.