

ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BOLOGNA  
CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA  
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

TITOLO DELLA TESI

**Analisi degli effetti dell'eterogeneità cellulare di un  
tessuto del nodo seno-atriale simulato attraverso la  
parallelizzazione in CUDA**

Tesi in  
**Bioingegneria Molecolare e Cellulare LM**

Relatore  
**Prof. Stefano Severi**

Presentata da  
**Jonathan Koussis**

Correlatore:  
**Ing. Alan Fabbri**

Anno accademico 2016/2017



# Sommario

Abstract.....	I
Introduzione.....	III
1. Background .....	1
1.1 Potenziale d'azione del nodo seno-atriale.....	1
1.2 Modello Severi di cellula del nodo seno-atriale .....	3
1.3 Propagazione elettrica e cable theory .....	4
1.4 Eterogeneità nel nodo seno-atriale.....	6
2. Materiali e Metodi.....	9
2.1 Modellazione del tessuto.....	9
2.1.1 Analogo elettrico e accoppiamento delle cellule.....	9
2.1.2 Eterogeneità intracellulare.....	9
2.2 Implementazione della soluzione.....	10
2.2.1 Preparazione dei dati .....	11
2.2.2 Soluzione del sistema delle equazioni differenziali .....	12
2.3 Analisi dei risultati.....	15
2.4 Esperimenti svolti .....	15
2.4.1 Benchmark Matlab vs C++ vs C++ parallelizzato vs CUDA.....	15
2.4.2 Studio degli effetti dell'accoppiamento e dell'eterogeneità del tessuto NSA 16	
3. Risultati.....	19
3.1 Benchmark Matlab vs C++ vs C++ parallelizzato vs CUDA.....	19
3.2 Studio degli effetti dell'accoppiamento e dell'eterogeneità sul tessuto NSA..	21
3.2.1 Simulazione con cellule omogenee. ....	22
3.2.2 Simulazioni con $\sigma = 0.05$ .....	27
3.2.3 Simulazioni con $\sigma = 0.1$ .....	32
3.2.4 Simulazioni con $\sigma = 0.1873$ .....	37
3.2.5 Simulazioni con $\sigma = 0.3$ .....	41
3.2.6 Simulazioni con $\sigma = 0.4$ .....	44
4. Discussioni e Conclusioni .....	51
Bibliografia.....	57



## Abstract

Il nodo seno-atriale (NSA) è un piccolo tessuto responsabile della frequenza cardiaca in condizioni fisiologiche. La sua principale caratteristica è l'autoritmicità: non necessita, cioè, di stimoli esterni per generare un potenziale d'azione. Il tessuto NSA è composto da cellule con morfologia differente che generano potenziali d'azione leggermente diversi.

Quando più cellule sono collegate elettricamente danno luogo a fenomeni non osservabili in single cell (comportamento emergente).

I modelli computazionali sono uno strumento utile per indagare fenomeni difficilmente osservabili in vitro, sia a livello di singola cellula che su scala tissutale.

L'obiettivo di questa tesi è duplice: (i) individuare il miglior ambiente computazionale per simulare tessuti di NSA e (ii) osservare gli effetti dell'eterogeneità e dell'accoppiamento cellulare a livello tissutale utilizzando il modello Severi-DiFrancesco, che descrive il potenziale d'azione di una cellula di NSA di coniglio.

La scelta dell'ambiente di simulazione ha messo a confronto il costo computazionale di metodi a passo fisso e a passo variabile in Matlab, C++ e CUDA.

Sono stati simulati tessuti composti da 100 cellule per 2 secondi. I metodi C++ e CUDA sono stati confrontati per 100, 400, 900, 1600 cellule, mettendo in risalto come CUDA sia l'ambiente più adatto su cui lanciare le simulazioni.

Per valutare gli effetti dell'eterogeneità sono stati simulati tessuti di 400 cellule per 20 secondi, accoppiate tra loro con  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  e  $10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ .

L'eterogeneità è stata implementata randomizzando i valori delle conducibilità di membrana attraverso una distribuzione lognormale con  $\sigma = 0.05, 0.1, 0.1873, 0.3, 0.4$ . Le cellule accoppiate si sincronizzano su frequenze inferiori alle frequenze medie della popolazione cellulare e del modello di cellula isolata con valori nominali. Inoltre la frequenza diminuisce al diminuire dell'accoppiamento. Il biomarker APA diminuisce al diminuire dell'accoppiamento.



# Introduzione

L'azione meccanica del cuore è una risposta agli eventi elettrici che avvengono tra le cellule cardiache. La particolarità delle cellule cardiache è l'eccitabilità: mostrano un potenziale d'azione se opportunamente stimolate.

Una piccola regione del cuore, il nodo seno-atriale, produce spontaneamente il segnale elettrico periodico necessario per innescare la catena di eventi che porta alla contrazione meccanica del muscolo cardiaco. Il segnale attraversa gli atri e si propaga fino al nodo atrio-ventricolare (unico collegamento elettrico tra atri e ventricoli), per poi essere distribuito a tutte le cellule ventricolari attraverso il fascio di His e le fibre del Purkinje.

La morfologia del potenziale d'azione è altamente variabile a seconda del tipo di cellula. Nelle cellule del nodo seno-atriale, il pacemaker naturale del cuore, il potenziale d'azione è generato principalmente dalle correnti di  $\text{Ca}^{2+}$  dato che le correnti rapide di  $\text{Na}^+$  sono molto limitate. Questo comporta una depolarizzazione più lenta rispetto alle altre tipologie di cellule cardiache.

L'osservazione dettagliata *in vivo* e *in vitro* dei meccanismi di generazione e propagazione del segnale elettrico è complessa, poiché non è possibile mantenere i campioni in condizioni fisiologiche per lunghi periodi. I fenomeni possono però essere studiati per mezzo di modelli matematici, confrontandone i risultati con i dati sperimentali macroscopici.

Pietra miliare per la descrizione matematica delle cellule eccitabili è il lavoro di Hodgkin e Huxley [1], che descrive l'andamento del potenziale di membrana e delle correnti ioniche in un assone gigante di calamaro. Nel loro lavoro, la membrana viene rappresentata come una capacità, e i canali ionici come conduttanze elettriche variabili.

A partire dagli anni 60, la descrizione matematica del potenziale d'azione è stata estesa anche alle cellule cardiache e si è giunti a modelli sempre più completi e dettagliati grazie al miglioramento delle tecniche sperimentali e all'aumento della potenza computazionale dei calcolatori elettronici.

Questo lavoro si basa su uno tra i più modelli più recenti presenti in letteratura: il modello Severi-DiFrancesco di cellula del nodo seno-atriale di coniglio; tale modello presenta una descrizione dettagliata delle dinamiche di  $\text{Ca}^{2+}$  e di  $\text{Na}^+$  ed è in grado di riprodurre risultati sperimentali che coinvolgono la modulazione della frequenza cardiaca.

I modelli di singola cellula eccitabile considerano solamente le proprietà medie del tessuto, senza occuparsi della variabilità tra cellule, anche dello stesso tipo. Tuttavia è stato osservato sperimentalmente che cellule appartenenti allo stesso tessuto mostrano un certo livello di variabilità sia morfologica che funzionale. L'eterogeneità cellulare, quindi, gioca un ruolo importante nel risultato finale dell'attività elettrica del cuore.

Lo scopo di questo lavoro è osservare il comportamento di un tessuto 2D del nodo seno-atriale di coniglio:

- al variare della forza dell'accoppiamento tra cellule.
- introducendo una variabilità intracellulare.

La tesi è strutturata in quattro capitoli

- **Nel capitolo 1: Background** vengono illustrati il potenziale d'azione del nodo seno-atriale, il modello Severi di cellula del nodo di coniglio, la propagazione elettrica del potenziale d'azione tra le cellule e infine l'eterogeneità presente tra le cellule del nodo seno-atriale.
- **Il capitolo 2: Materiali e metodi** tratta la modellazione del tessuto, l'analogo elettrico di cellula, come viene simulata l'eterogeneità intracellulare; descrive l'implementazione della soluzione, le simulazioni effettuate e le analisi sui dati forniti dalle simulazioni.
- **Il capitolo 3: Risultati** illustra i dati ottenuti e le analisi effettuate, considerando gli effetti della forza dell'accoppiamento tra cellule e dell'eterogeneità.
- **Il capitolo 4: Conclusioni** riassume i risultati ottenuti, discutendo in particolare del rapporto tra variabilità cellulare e comportamento emergente del tessuto.



# 1. Background

In questo capitolo sono introdotti gli argomenti fondamentali per lo sviluppo del progetto descritto in questo lavoro.

In prima istanza viene introdotto il potenziale d'azione che caratterizza le cellule eccitabili miocardiche. Successivamente si procede con una breve descrizione delle caratteristiche del modello computazionale di cellula del nodo seno-atriale utilizzato, il modello Severi-DiFrancesco [2]; si passa quindi alla propagazione del segnale elettrico tra cellule, descritto dalla cable theory; infine si descrive l'eterogeneità delle cellule del nodo seno-atriale.

## 1.1 Potenziale d'azione del nodo seno-atriale

Il potenziale di membrana ( $V_m$ ) di una cellula è la differenza di potenziale elettrico ai capi della membrana cellulare.  $V_m$  dipende dalla differenza di concentrazione di varie specie ioniche (principalmente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) tra l'interno e l'esterno della cellula, e dalla permeabilità della membrana agli ioni (principalmente dovuta a canali ionici e scambiatori). Nelle cellule eccitabili, se  $V_m$  raggiunge una certa soglia, l'attività dei canali ionici può modificarsi, permettendo al potenziale di membrana di diventare positivo (depolarizzazione), per poi tornare alla condizione di riposo, ripolarizzandosi (a potenziale negativo). Questo evento è definito potenziale d'azione (o Action Potential, AP).

La morfologia del potenziale d'azione dipende dalla quantità e tipologia dei canali ionici presenti sulla membrance, che varia a seconda del tipo di cellula eccitabile. Il tracciato ECG è dato dalla sovrapposizione dell'attività elettrica di regioni cardiache con potenziali d'azione con morfologie tra loro differenti. In figura 2.1 è possibile osservare come questa morfologia cambi dal tessuto di nodo senoatriale (prima traccia di colore arancione), a quello ventricolare (ultima traccia, di colore grigio).

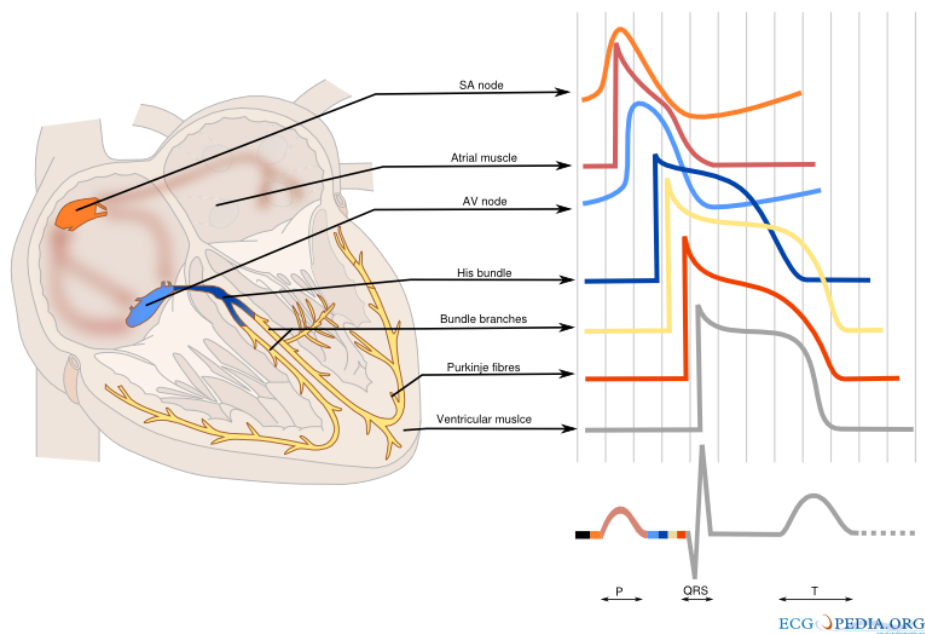


Figura 1.1: tipologie di potenziali d'azione delle cellule cardiache. [3]

La forma del potenziale d'azione dipende dalle caratteristiche delle correnti ioniche che attraversano il canale di membrana. In figura 2.2 è raffigurato un potenziale d'azione di cellula del nodo seno-atriale, e le principali correnti ioniche che ne influenzano la morfologia. Sono evidenziate le varie fasi dell'AP, ovvero depolarizzazione diastolica, upstroke, ripolarizzazione e ritorno alla fase di depolarizzazione diastolica. La corrente funny ( $I_f$ ) gioca un ruolo importante per l'avvio della depolarizzazione diastolica. A questa si aggiunge la corrente di calcio di tipo T ( $I_{CaT}$ ) nella parte finale della depolarizzazione. La corrente di calcio di tipo L ( $I_{CaL}$ ) guida la fase di upstroke. Infine la corrente di potassio ( $I_K$ ), che trasporta ioni  $K^+$  all'esterno della cellula, è il principale attore della ripolarizzazione. A causa di  $I_f$ , le cellule del NSA sono auto-oscillanti e non presentano un potenziale di riposo.

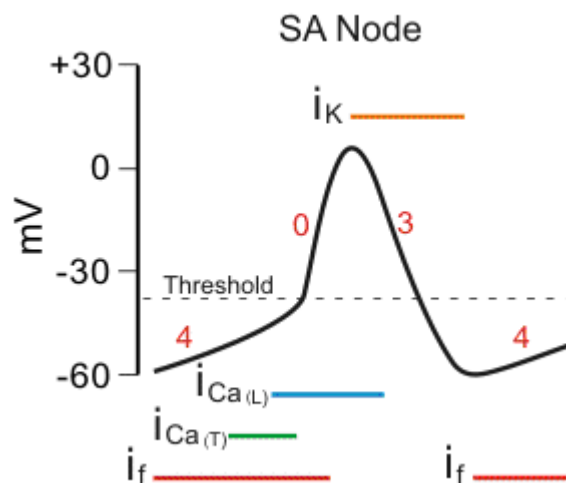


Figura 1.2: potenziale d'azione di cellula del nodo seno-atriale. Sono evidenziate le principali correnti ioniche che ne influenzano la morfologia.

## 1.2 Modello Severi di cellula del nodo seno-atriale

Il fondamento di questo lavoro è il modello di cellula del nodo seno-atriale di coniglio presentato nel 2012 da Severi et al. [2]

Il modello è stato implementato basandosi sulla formulazione classica Hodgkin-Huxley [1].

Il modello parte da compartimenti cellulari e dinamiche intracellulari di  $\text{Ca}^{2+}$  formulate come nel modello Maltsev-Lakatta [4]. Vengono migliorati in particolare i processi di gestione di  $\text{Ca}^{2+}$ . Le equazioni che modellano le correnti di membrana sono state modificate al fine di riprodurre fenomeni osservati sperimentalmente. Il modello è in grado di riprodurre gli effetti dovuti alla presenza di ivabradina e cesio, bloccanti della corrente  $I_f$ , di acetilcolina e isoprenalina, neurotrasmettitori rilasciati dal sistema nervoso autonomo e del BAPTA, un chelante del calcio. Queste sostanze modulano la frequenza di pacemaking utilizzando meccanismi diversi. La loro azione viene simulata in maniera coerente con i dati sperimentali. In condizioni di controllo, il modello genera forme d'onda di AP (potenziale d'azione) tipiche delle cellule del nodo seno-atriale di coniglio, tra cui:

- Cycle Length = 352 ms
- 80 mV di ampiezza dell'AP

Il modello descrive in maniera soddisfacente i dati sperimentali riguardanti la stimolazione autonoma, i fenomeni causati dall'inibizione della corrente  $I_f$  e dei processi di gestione di  $\text{Ca}^{2+}$ . Le simulazioni effettuate suggeriscono che la descrizione dei flussi intracellulari di  $\text{Ca}^{2+}$  sono compatibili con l'osservazione che  $I_f$  è una componente fondamentale del pacemaking e della modulazione della frequenza cardiaca.

La corrente  $I_f$  è descritta da due componenti indipendenti,  $I_{fNa}$  e  $I_{fK}$ .  $I_f$  è modulata dalla concentrazione di potassio extracellulare.

Una riduzione del 66% della conduttanza di  $I_f$  produce una riduzione della frequenza di pacemaking del 22%.

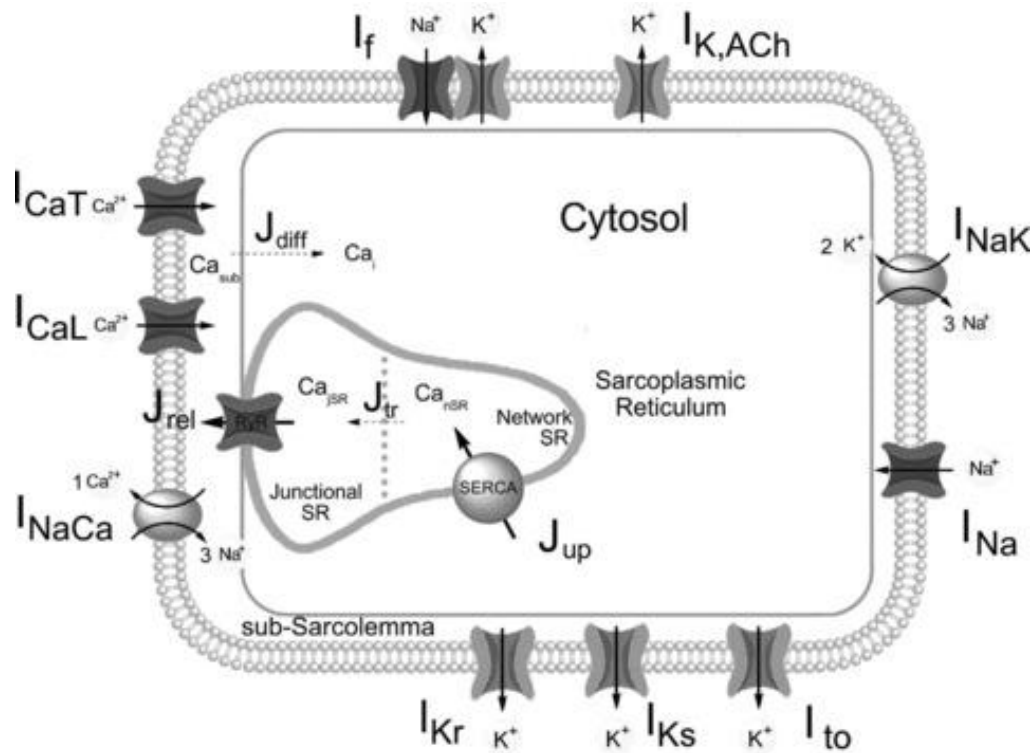


Figura 1.3 Diagramma schematico del modello Severi et al. 2012 [adattato da 2]

### 1.3 Propagazione elettrica e cable theory

Il modello di singola cellula è solo il punto di partenza di questo lavoro. L'obiettivo è la simulazione di tessuti composti da cellule del nodo seno-atriale.

Come già accennato nel paragrafo precedente, il modello di singola cellula si basa sulla formulazione di Hodgkin Huxley.

L'equazione che guida l'andamento del potenziale di membrana è

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = -I_m,$$

dove

$C_m$  è la capacità di membrana,

$V_m$  il potenziale di membrana

$I_m$  la risultante di tutte le correnti che attraversano la membrana.

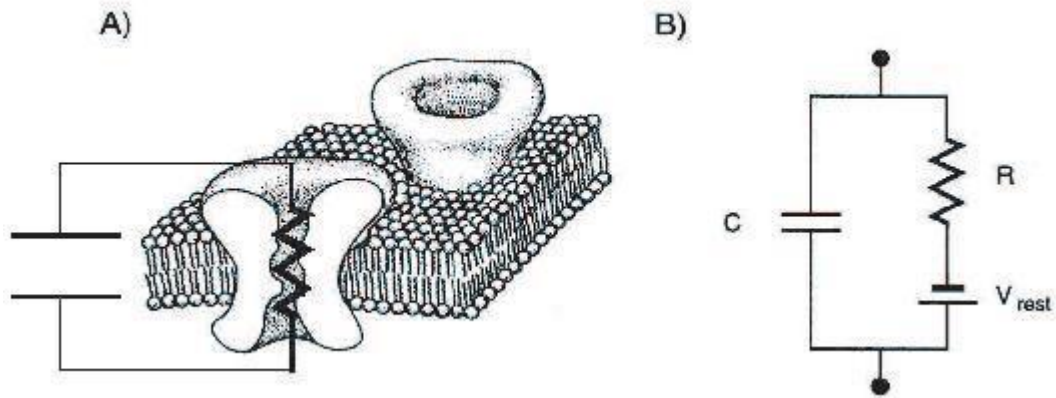


Figura 1.4 analogo elettrico della membrana cellulare, secondo la formulazione di Hodgkin-Huxley [5]

I circuiti che rappresentano l'analogo elettrico delle singole cellule vengono collegati tra loro tramite resistenze, che corrispondono alla resistenza intra-cellulare. La resistenza extracellulare viene assunta, per semplicità, nulla.

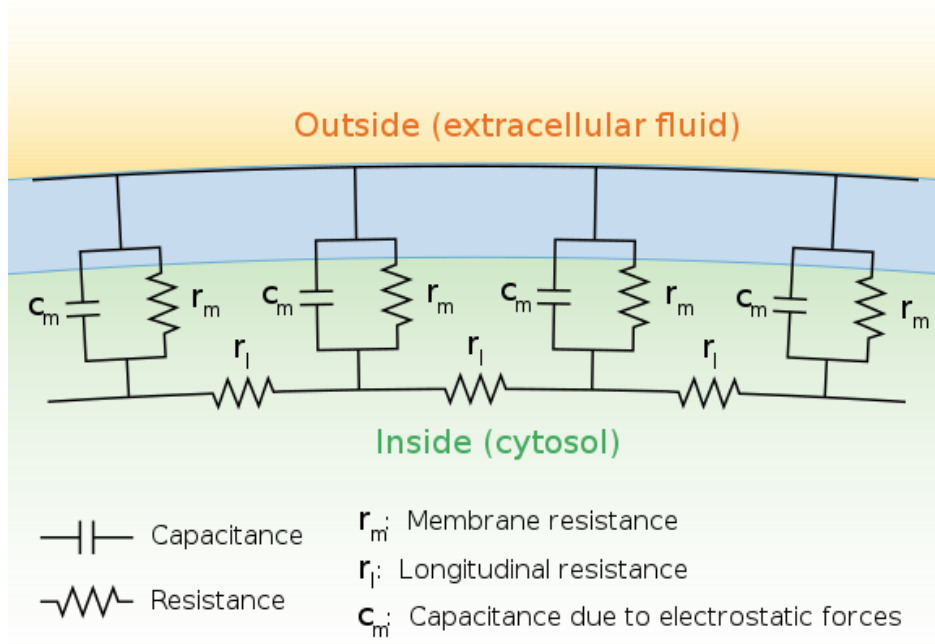


Figura 1.5 Schema di collegamento tra cellule. [6]

Le correnti che attraversano le resistenze longitudinali si possono descrivere utilizzando la legge di Ohm:

$$I^{j \rightarrow j+1} = (V^j - V^{j+1})/R_l.$$

La corrente  $I$  che scorre tra due cellule  $j$  e  $j+1$  è direttamente proporzionale alla differenza tra i potenziali di membrana  $V^j$  e  $V^{j+1}$  e inversamente proporzionale alla resistenza  $R_l$  che collega le due cellule.

Per tener conto delle correnti che collegano più cellule, si modifica l'equazione del potenziale di membrana.

$$\frac{dV_i}{dt} = \frac{-I_{tot}}{C_m} + \sum_j \frac{V_j - V_i}{R_{ij} * C_m}$$

dove

- $V_i$  è il potenziale di membrana della i-esima cellula.
- $I_{tot}$  la risultante di tutte le correnti ioniche.
- $C_m$  la capacità di membrana della i-esima cellula
- $R_{ij}$  la resistenza che collega la i-esima e la j-esima cellula.

Il valore della resistenza dipende da vari parametri, tra cui la superficie di contatto tra le due cellule.

## 1.4 Eterogeneità nel nodo seno-atriale

Le cellule all'interno di uno stesso organo non sono identiche, ma presentano una variabilità. Usualmente i modelli computazionali di singola cellula assegna valori medi ai parametri utilizzati per descrivere le conduttanze e le cinetiche dei canali, descrivendo di fatto una cellula ideale.

Unudurthi et al [7] riportano che le cellule del nodo seno atriale sono divise in tre classi, in base alla loro forma:

- cellule a fuso allungato: fino a 80 $\mu$ m di lunghezza, corpo striato e uno o più nuclei.
- cellule a fuso: simili alle precedenti, ma raggiungono i 40  $\mu$ m di lunghezza e sono prevalentemente mononucleate.
- cellule ragno: hanno una forma irregolare

Nella struttura del nodo, l'eterogeneità è la regola, in nessuna area esiste un solo tipo di cellula.

Undurthi, inoltre, nota che il ritmo dei battiti del nodo sia una proprietà emergente del sistema di cellule eterogenee accoppiate tra loro. Risulta quindi importante comprendere gli effetti dell'eterogeneità cellulare all'interno di un tessuto.

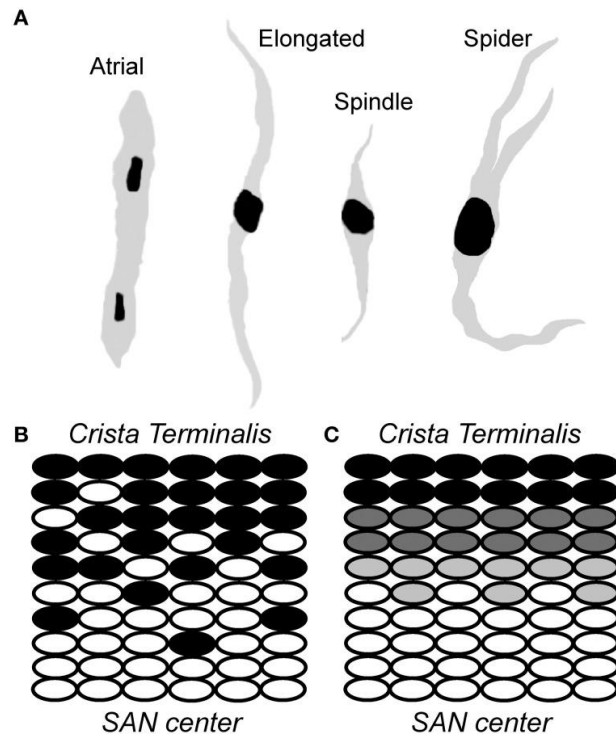


Figura 1.6: **A.** rappresentazione schematica delle tipologie di cellule nel nodo seno-atriale: atriali, allungate, a fuso, ragno. **B.** e **C.** due modelli proposti per rappresentare la transizione dalle tipiche cellule centrali del nodo (bianche) alle cellule dell'atrio (nere). **B.** schema a mosaico, con graduale diminuzione di densità delle cellule del nodo. **C.** transizione graduale di cellule intermedie tra nodo e crista terminalis. [adattato da Undurthi et al. 7]





## 2. Materiali e Metodi

### 2.1 Modellazione del tessuto

#### 2.1.1 Analogo elettrico e accoppiamento delle cellule

L'analogo elettrico di una cellula è composto da una capacità, per modellare la membrana, che separa le cariche intra ed extra-cellulari e rami con generatori di tensione e resistenze variabili per modellare le correnti che fluiscono attraverso i canali ionici.

L'equazione differenziale che guida l'andamento del potenziale di membrana di una singola cellula è:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -I_{tot}$$

Le cellule sono collegate tra di loro attraverso gap junction. Le gap junction sono modellate attraverso resistenze elettriche. Il lato esterno delle cellule situate lungo il bordo del tessuto non è collegato con nessun'altra cellula.

Le cellule situate nel bordo hanno quindi tre collegamenti elettrici. Le cellule situate nei quattro angoli ne hanno due. Tutte le altre ne hanno quattro.

Per modellare il collegamento è stata modificata l'equazione in:

$$\frac{dV_i}{dt} = \frac{-I_{tot}}{C_m} + \sum_j \frac{V_j - V_i}{R_{ij} * C_m}$$

in queste formule,

$V_i$  rappresenta il potenziale di membrana della  $i$ -esima cellula [mV];

$I_{tot}$  la risultante di tutte le correnti ioniche che attraversano la membrana [nA];

$C_m$  è la capacità di membrana della cellula [ $\mu$ F];

$R_{ij}$  è la resistenza di gap junction, un indice dell'accoppiamento tra le cellule  $i$  e  $j$  [ $M\Omega$ ].

Il risultato è un sistema di equazioni differenziali ordinarie, le cui dimensioni dipendono dal numero di cellule usate per la simulazione.

#### 2.1.2 Eterogeneità intracellulare

L'eterogeneità cellulare è stata ottenuta variando i valori nominali di conduttanze/permeabilità dei canali ionici del modello.

I parametri presi in considerazione e i loro valori nominali sono i seguenti:

- $P_{CaL}$ , 0.2 nA/mM
- $P_{CaT}$ , 0.02 nA/mM
- $g_{Kr}$ , 0.0021637  $\mu$ S
- $g_{Na}$ , 0.0125  $\mu$ S
- $g_{to}$ , 0.002  $\mu$ S
- $g_{Ks}$ , 0.00198912  $\mu$ S
- $g_{fK}$  e  $g_{fNa}$ , 0.0102  $\mu$ S

I valori delle conduttanze/permeabilità sono stati randomizzati attraverso l'utilizzo di una distribuzione log-normale:

$$\rho(l) = \frac{1}{l\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{\log(l)^2}{2\sigma^2}}$$

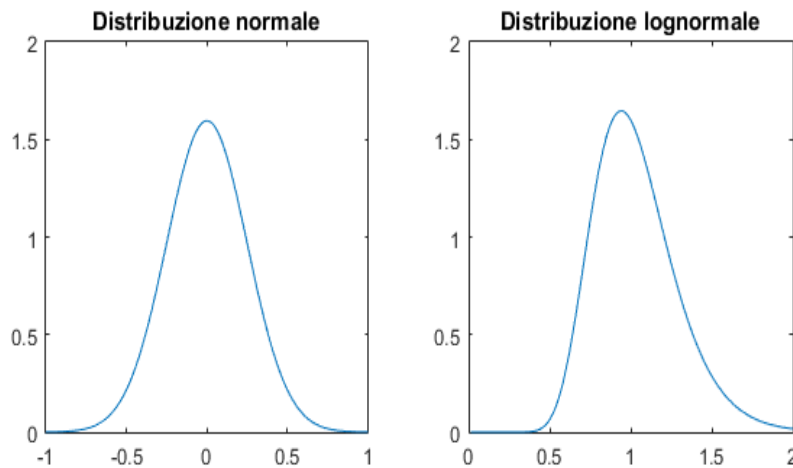


Figura 2.1 Distribuzione normale (a sinistra) e lognormale (a destra) con  $\sigma = 0.25$

Il range di valori che può assumere una conduttanza dipende dal valore della varianza  $\sigma$ . Una  $\sigma = 0.1$  corrisponde a valori in un range  $\pm 10\%$  rispetto al valore nominale. È stata scelta la distribuzione log-normale per evitare conduttanze negative, evento possibile utilizzando la distribuzione gaussiana.

## 2.2 Implementazione della soluzione

Il problema è stato suddiviso in tre fasi

1) preparazione dei file contenenti gli input

- Condizioni iniziali
- Resistenze di gap junction
- Conduttanze/Permeabilità

2) Soluzione del sistema di equazioni differenziali che descrivono ogni modello.

L'output ottenuto al termine di ogni simulazione è l'andamento temporale del potenziale di membrana ( $V_m$ ) di ciascuna cellula.

3) Estrazione delle features che descrivono la morfologia di  $V_m$

## 2.2.1 Preparazione dei dati

Il file *Parametri.txt* contiene la configurazione della simulazione, ovvero:

- il numero di cellule disposte in riga e in colonna nella matrice che rappresenta il tessuto (mxn).
- il passo di integrazione.
- il passo di campionamento con cui si salva l'output.
- la durata dell'esperimento da simulare.

È stato effettuato un esperimento single cell, della durata di 2 s. I risultati della simulazione sono stati salvati nel file *Valori.txt*, per poter essere utilizzati come condizioni iniziali per le cellule negli esperimenti successivi.

Lo script matlab *genera\_matrici.m*, sulla base dei valori presenti nel file *parametri.txt* genera tre file

- *Yinit.txt*, che contiene le condizioni iniziali di tutte le variabili di stato, scegliendo per ogni cellula un istante casuale dalla simulazione single cell salvata in *Valori.txt*.
- *GapJunction.txt*, che contiene i valori  $\frac{1}{R_{gap} * C_m}$  per ogni coppia di cellule nella simulazione. I valori generati sono per una matrice bidimensionale di cellule. È possibile indicare due valori di R, per simulare un tessuto non-isotropo, con valori diversi per le due direzioni principali. La geometria del tessuto è stabilita dai valori di questa matrice. È possibile generare matrici di gap junction per tessuti con strutture diverse, ma va al di là degli obiettivi di questo lavoro.
- *Conduttanze.txt*. In questo file sono salvati i valori di tutte le conduttanze prese in considerazione per l'eterogeneità, di tutte le cellule da simulare. Il codice utilizzato è il seguente

```
conduttanze_standard = [P_CaL; P_CaT; g_Kr; g_Na; g_to; g_Ks; g_f];
sigma = 0.1;
for i=1:Ncellule
    fattoreScala = exp(sigma * randn(length(conduttanze_standard),1));
    conduttanze(i,:) = conduttanze_standard .* fattoreScala;
end
```

il vettore `conduttanze_standard` contiene i valori nominali usati nel modello per i parametri presi in considerazione. `Sigma` è la deviazione standard, a scelta dell'utente.

Per ogni cellula si calcola prima un vettore varianza. `Sigma * randn` genera valori casuali con distribuzione normale standard con varianza `sigma`. Calcolando l'esponenziale di questi valori si passa dalla distribuzione normale alla distribuzione logaritmica.

Ognuno dei valori così calcolati è il fattore di scala che moltiplica le conduttanze nominali per ottenere i valori per quella cellula.

## 2.2.2 Soluzione del sistema delle equazioni differenziali

La soluzione del sistema di ODE è stata realizzata attraverso 4 implementazioni diverse:

- Matlab
- C++
- C++ parallelizzando il calcolo grazie alla libreria PPL (parallel patterns library) [8] disponibile in Visual Studio [9]
- CUDA [10]

### Matlab

Il modello di cellula di nodo seno-atriale di coniglio, ottenuto dal repository CellML [11], è stato trasformato in una funzione Matlab utilizzando il tool per l'esportazione presente in COR (Cellular Open Resource [12]).

Una seconda funzione, `sistemaCellulare.m` si occupa di gestire le singole cellule che compongono il tessuto e di modificare le equazioni differenziali che descrivono l'andamento dei potenziali di membrana delle varie cellule, aggiungendo la corrente dovuta agli accoppiamenti tra cellule vicine.

Il sistema di ODE risultante viene risolto dallo script `main.m`, che si occupa di caricare le impostazioni, le condizioni iniziali del sistema e i valori delle gap junction dai rispettivi file.

All'interno dello script sono utilizzati vari integratori:

- Il metodo di Eulero esplicito, che permette di calcolare la soluzione con il passo di integrazione richiesto e fornire i risultati in output sottocampionando la soluzione.
- I metodi ODE forniti dalle librerie Matlab, ovvero ODE45, ODE23, ODE 113, ODE15s, ODE23t e ODE23tb.

Infine una funzione `extractVMembrane` si occupa dell'estrazione dell'andamento del potenziale di membrana, la grandezza oggetto dell'analisi di questo lavoro.

### C++

Il modello di cellula NSA è stato convertito in una classe C++ grazie a COR.

Questa classe espone come membri pubblici:

- un array `Y` contenente le variabili di stato del modello
- un array `dY` contenente tutte le variazioni delle variabili di stato
- tutti i parametri della cellula

come metodi:

- `init()` che inizializza tutti i valori delle variabili membro della classe

- `compute(time)`, che calcola i valori dell'array dY per un passo time.

L'aggiornamento delle variabili di stato, sulla base dei valori contenuti in dY, viene lasciata agli utenti della classe.

Questa struttura permette la modifica dei vari parametri della cellula, e la modifica dei valori dY, prima dell'aggiornamento delle variabili di stato. È quindi possibile simulare la presenza di connessioni tra più cellule.

Il solutore in C++ apre il file *Parametri.txt*, da cui legge i valori necessari per la simulazione, tra cui il numero di righe e di colonne della matrice di cellule da simulare e il passo di integrazione da usare nella simulazione. Sulla base di questi valori inizializza un array di cellule omogenee, le cui caratteristiche sono quelle standard presenti nel modello Severi-DiFrancesco; in seguito genera la matrice delle gap junction per un tessuto bidimensionale di cellule delle dimensioni richieste (nxn), utilizzando il valore di capacità di membrana del modello di cellula e un valore fisso di resistenza; apre in scrittura un file *VMembrana.txt*, su cui scrivere i valori dei potenziali di membrana simulati; come ultimo passo preliminare, legge le condizioni iniziali di tutte le variabili di stato dal file *Yinit.txt*.

Se i file *Parametri.txt* o *Yinit.txt* non esistono o non è possibile leggerli, vengono usati parametri di default, cioè viene simulata una matrice di 10x10 cellule, con passo di integrazione pari a 5µs e condizioni iniziali identiche per tutte le cellule.

Dopo aver impostato tutti i valori necessari, viene eseguita la simulazione vera e propria. Il metodo scelto è il metodo di Eulero esplicito, in cui ogni passo viene suddiviso in tre fasi:

- si calcola la variazione dY di ogni variabile di stato per le cellule singole, come se fossero esperimenti scollegati, utilizzando il metodo `compute()` fornito dalla classe.
- si aggiorna il valore dY, sulla base della differenza tra i potenziali di membrana tra ogni coppia di cellule e del valore presente nella matrice di gap junction per quella coppia.
- si aggiornano i valori delle variabili di stato sulla base delle variazioni così calcolate.

I valori dei potenziali di membrana vengono scritti sul file in output *VMembrana.txt*, secondo il passo di campionamento impostato nel file *Parametri.txt*.

## **C++ Parallelizzato**

La libreria fornita dall'ambiente Visual Studio permette l'utilizzo di cicli for paralleli. È quindi stato possibile modificare il codice della versione C++ per sperimentare una prima forma di parallelizzazione.

In tutti i passaggi della simulazione, (cioè il calcolo delle variazioni delle variabili di stato per ogni singola cellula, l'aggiornamento con le correnti date dalle cellule vicine, l'aggiornamento variabili di stato), la soluzione del sistema di equazioni differenziali che descrive ogni cellula avviene in modo indipendente. Questa caratteristica si presta alla parallelizzazione, svolgendo questi passaggi contemporaneamente su più cellule

Il parallelismo offerto dalle librerie di Visual Studio è limitato alla CPU.

## Presentazione di CUDA

CUDA (Compute Unified Device Architecture) è una piattaforma per il calcolo parallelo sviluppata da Nvidia. Permette di sfruttare le capacità di calcolo parallelo delle GPU delle schede video compatibili per lo sviluppo di software. Sono utilizzabili vari linguaggi di programmazione, tra cui il C++. La piattaforma fornisce un proprio compilatore, nvcc, compatibile con l'ambiente Visual Studio. [13]

## CUDA

L'implementazione in CUDA del sistema di ODE che descrive il modello NSA è una versione modificata di quella realizzata in C++. Tutto il codice si trova nel file *kernel.cu*, invece che avere una coppia di file cpp e hpp per il modello di cellula e un file per il solutore.

Ai metodi della classe sono stati aggiunti due identificatori `__device__` e `__host__` per segnalare al compilatore che devono essere usati sia dalla GPU che dalla CPU.

Per poter effettuare le simulazioni, sono state scritte tre funzioni, marcate come `__global__` per indicare la possibilità di esecuzione sia su device che su host. La prima, aggiornaDY, calcola i valori delle variazioni delle variabili di stato dY per ogni cellula, la seconda, aggiornaGapJunction, calcola per ogni cellula la variazione del potenziale di membrana causata dall'accoppiamento con le cellule vicine, la terza, aggiornaY, modifica i valori delle variabili di stato della cellula sulla base dei dY calcolati dalle due precedenti funzioni.

Il programma legge il file *Parametri.txt* per conoscere il numero di cellule da simulare, il passo di integrazione e di salvataggio dati ed infine il numero di secondi da simulare. Vengono inizializzati due array, uno per le cellule e uno per le connessioni tra le cellule. I valori di quest'ultimo array sono letti dal file *GapJunction.txt*, e le cellule vengono inizializzate con i dati presenti in *Conduttanze.txt* e *Yinit.txt*.

In caso di assenza di uno o più di questi file, viene utilizzata una configurazione di default: alle conduttanze vengono assegnati i valori nominali del modello e le condizioni iniziali sono le stesse della versione CellML. Il tessuto simulato è costituito da una matrice di 5x5 cellule. In ogni caso, viene stampato a video un messaggio che indica se ciascuno dei file è stato letto o sono stati usati parametri di default.

Per poter utilizzare le capacità di calcolo della GPU, è necessario inizializzare nuovi array con la funzione `cudaMalloc`, che utilizza la memoria della scheda video, e copiare i dati in questi nuovi array utilizzando la funzione `cudaMemcpy`. Mantenere due copie delle variabili di stato e dei parametri che descrivono le cellule è purtroppo necessario, in quanto non è possibile sfruttare appieno le capacità di calcolo della GPU

su variabili presenti in RAM, e non è possibile usare le funzioni standard (per salvare dati sui file) con variabili nella memoria della GPU.

Dopo questa prima fase di impostazione dati è possibile effettuare il calcolo vero e proprio.

In un ciclo for vengono chiamate in ordine le tre funzioni aggiornaDY, aggiornaGapJunction e aggiornaY, che vengono eseguite sulla GPU. Ad ogni passo si controlla se è necessario salvare i dati, ovvero se il passo della simulazione è pari al passo di salvataggio dei dati richiesto. In tal caso vengono sincronizzate le istanze delle cellule sulla GPU con le cellule memorizzate in RAM e si salvano sul file *VMembrana.txt* i valori dei potenziali di membrana.

## 2.3 Analisi dei risultati

L'analisi dell'andamento dei potenziali di membrana delle cellule avviene in ambiente Matlab.

Il primo passo consiste nell'estrazione delle seguenti features per ogni singola cellula:

- Over Shoot (OS), ovvero i valori massimi del potenziale di membrana raggiunti durante gli spike.
- Take off Potential (TOP), i valori del potenziale di membrana nel punto di pendenza massima in salita.
- Maximum Diastolic Potential (MDP), ovvero i valori minimi del potenziale di membrana.

Di questi eventi vengono calcolati gli istanti di tempo in cui avvengono e il valore del potenziale di membrana.

Sulla base di questi valori vengono calcolati:

- Cycle length (CL), ovvero il tempo che intercorre tra gli ultimi due spike.
- Action Potential Amplitude (APA), la differenza di potenziale tra l'ultimo OS e l'MDP che lo precede.

## 2.4 Esperimenti svolti

### 2.4.1 Benchmark Matlab vs C++ vs C++ parallelizzato vs CUDA

Il primo test effettuato consiste nel confronto tra i tempi di calcolo impiegati dalle 4 implementazioni precedentemente descritte. La comparazione delle prestazioni delle 4 implementazioni è stata effettuata su una matrice quadrata composta da 100 cellule (10x10), per 2 s di simulazione.

I metodi a passo fisso hanno utilizzato un passo di integrazione di  $5\mu\text{s}$  e il salvataggio dei dati ogni  $1\text{ms}$ . Per i metodi a passo variabile è stata richiesta una tolleranza assoluta di  $10^{-6}$  e una tolleranza relativa di  $10^{-3}$ .

Un secondo confronto è stato effettuato per comparare i tempi di calcolo impiegati dalle implementazioni in C++, C++ parallelizzato e CUDA all'aumentare del numero di cellule che compongono il tessuto. I setup messi a confronto sono:  $10\times 10$  (100 cellule),  $20\times 20$  (400),  $30\times 30$  (900) e  $40\times 40$  (1600). Ogni setup è stato simulato per una durata di 2 s, con passo di integrazione pari a  $5\mu\text{s}$  e passo di salvataggio dei dati di  $1\text{ms}$ .

## 2.4.2 Studio degli effetti dell'accoppiamento e dell'eterogeneità del tessuto NSA

Il comportamento delle cellule di NSA accoppiate elettricamente e la loro capacità di sincronizzarsi è stato studiato osservando gli effetti dovuti all'eterogeneità cellulare (variando i valori nominali delle conduttanze, come spiegato nei paragrafi precedenti [cfr. par. 2.1.2] e all'aumentare della resistenza di coupling delle gap junction).

I valori utilizzati nelle simulazioni sono:

- $\sigma = [0.05, 0.1, 0.1873, 0.3, 0.4]$  per la variabilità intercellulare.
- $R = [1.3926, 13.926, 139.26, 1392.6, 13926]$   $\text{M}\Omega$  per gli accoppiamenti resistivi.

Il tessuto simulato è costituito da  $20\times 20$  cellule.

Il tempo di simulazione per ciascun esperimento è pari a 20 s e si è scelto l'implementazione in CUDA come ambiente di simulazione per tutte le simulazioni messe a confronto.

L'introduzione dell'eterogeneità nelle conduttanze/permeabilità delle cellule può portare alla perdita dell'auto-ritmicità per alcune combinazioni di parametri. Per individuare quali cellule fossero quiescenti, sono state eseguite simulazioni in cui le cellule sono disaccoppiate ( $R \rightarrow \infty$ ) tra loro. Questa prova aggiuntiva dà la possibilità di osservare se alcune cellule intrinsecamente quiescenti sono rese oscillanti per mano delle correnti elettrotoniche.

In maniera analoga sono stati simulati tessuti composti da cellule omogenee ( $\sigma=0$ , con i valori nominali di conduttanze/permeabilità) per ciascuno degli accoppiamenti resistivi riportati sopra.

I valori di  $\sigma$  e  $R$  scelti sono gli stessi del lavoro di tesi di Chiara Campana [14]. Nel capitolo 3 Risultati, per uniformità con tale lavoro, i valori delle resistenze sono presentati come resistività  $\rho$ .

Valori reali per l'accoppiamento tra cellule di NSA di coniglio sono stati misurati da Verheule et al [15], che riporta conduttanze nel range 0.6-25 nS, con un valore medio di 7.5 nS, ovvero resistenze in un range 40-166M $\Omega$ , con un valore medio di 133 M $\Omega$ .

La configurazione degli accoppiamenti tra le cellule per ogni valore di  $R$  è contenuta nel file *GapJunction.txt*. Nello stesso modo è stato generato un file *Conduttanze.txt* per ogni



valore di  $\sigma$  scelto. Tutti gli esperimenti partono dalle stesse condizioni iniziali, contenute nel file *Yinit.txt*



### 3. Risultati

#### 3.1 Benchmark Matlab vs C++ vs C++ parallelizzato vs CUDA

Il primo esperimento ha permesso di confrontare i tempi impiegati dai solutori (sviluppati in Matlab, C++ e CUDA) del sistema di equazioni che descrive il modello di un tessuto composto da 100 cellule, per 2 secondi di simulazione.

I metodi a passo fisso (Eulero esplicito, implementato in Matlab, C++, C++ con parallelizzazione e CUDA) utilizzano un passo di integrazione di  $5\mu\text{s}$ , mentre ai metodi a passo variabile (metodi ODE45, ODE23, ODE113, ODE15s, ODE23t e ODE23tb in ambiente Matlab) sono state chieste una tolleranza assoluta di  $10^{-6}$  e una tolleranza relativa di  $10^{-3}$ .

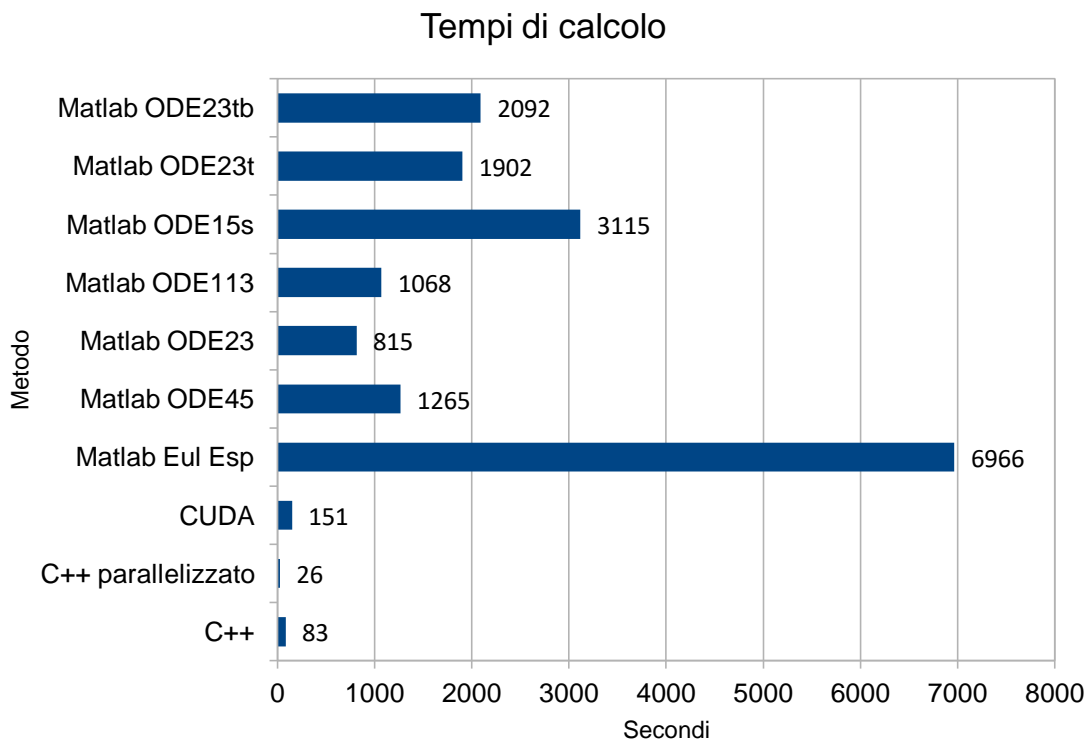


Figura 3.1: Tempo computazionale richiesto dai metodi per la simulazione di 2 secondi di un tessuto composto da 100 cellule. Ai metodi ODE sono state richieste una tolleranza relativa  $10^{-3}$  e una tolleranza assoluta  $10^{-6}$ . Per i metodi che utilizzano Eulero esplicito, in ambiente Matlab, C++ e CUDA, è stato utilizzato un passo di integrazione di  $5\mu\text{s}$  e un passo di salvataggio dei dati di  $1\text{ms}$ .

L'implementazione del metodo di Eulero esplicito in C++ parallelizzato si è rivelata quella che ha fatto registrare l'esecuzione più rapida, con un tempo di 26 s. Il metodo che ha richiesto un tempo computazionale maggiore è stata l'implementazione del metodo di Eulero esplicito in Matlab, che ha impiegato 6966 s.

I metodi a passo variabile ODE presenti in Matlab hanno ottenuto tempi intermedi (da 815 s per il metodo ODE23 a 3115 s per il metodo ODE15s), pur risultando

piuttosto lenti rispetto ai metodi implementati in C++ (26 e 83 s nella forma parallelizzata e non rispettivamente) e CUDA (151 s).

I tempi impiegati dai solutori in ambiente C++, C++ parallelizzato e CUDA sono stati confrontati all'aumentare del numero di cellule che compongono il tessuto (100, 400, 900 e 1600). Tutti i metodi utilizzano un passo di integrazione di  $5\mu\text{s}$  e un passo di salvataggio dei dati di 1 ms.

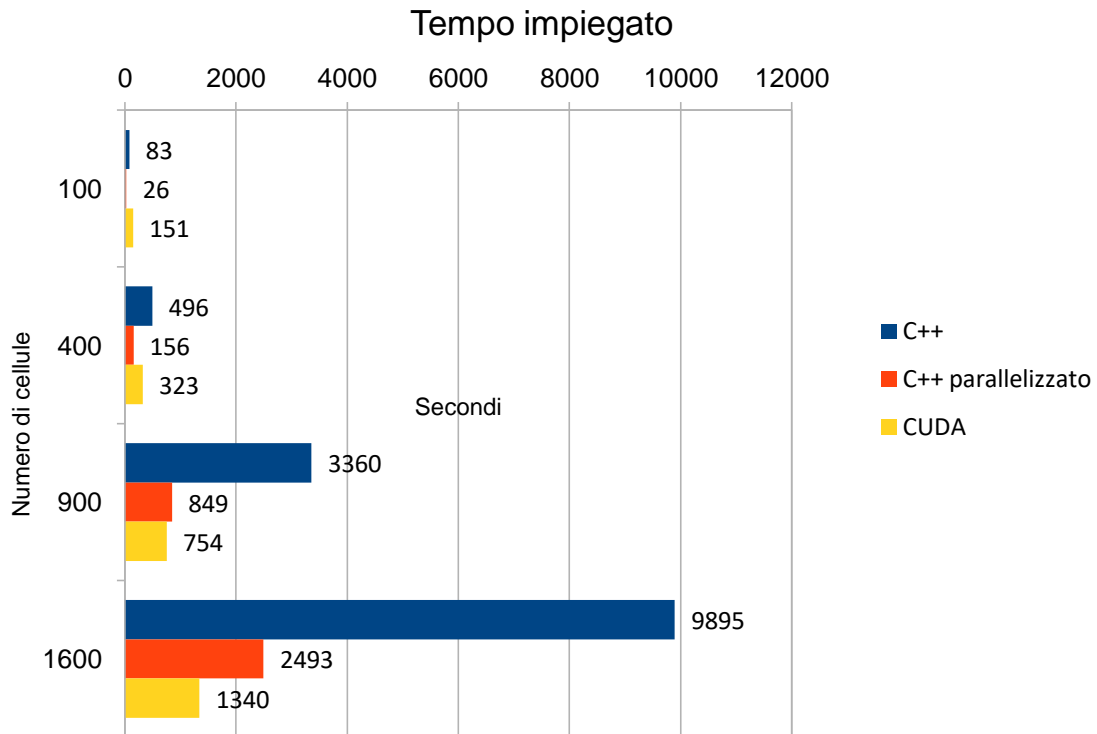


Figura 3.2: Tempo computazionale richiesto dai metodi Eulero esplicito implementati in C++, C++ parallelizzato e CUDA per la simulazione di 2 secondi di tessuti composti da 100,400,900,1600 cellule. Per tutti i metodi è stato utilizzato un passo di integrazione di  $5\mu\text{s}$  e un passo di salvataggio dei dati di 1 ms.

In questo esperimento si nota come la soluzione in C++ parallelizzato, sebbene sia più rapida per un numero abbastanza ristretto di cellule, perda il primato per un numero di cellule molto più elevato. Fino a 400 cellule, infatti, resta la soluzione più rapida, con un tempo di 156 secondi, contro i 323 di CUDA.

Nelle simulazioni di 900 cellule la soluzione più rapida è quella in CUDA, 754 s contro 849 di C++ parallelizzato.

Nella simulazione di 1600 cellule il divario tra le due soluzioni aumenta.: CUDA impiega 1340 s contro i 2493 di C++ parallelizzato.

Bleeker et al. [16] indicano che un gruppo di almeno 5000 cellule, all'interno della parte centrale del nodo, può essere considerato responsabile della generazione degli impulsi. Sulla base di questo numero, ancorché indicativo, è stata scelta come piattaforma definitiva la soluzione sviluppata in ambiente CUDA, che si è rivelata la soluzione più rapida per un numero di cellule simile a quello in condizioni reali, per permetterne l'utilizzo per future simulazioni.

## 3.2 Studio degli effetti dell'accoppiamento e dell'eterogeneità sul tessuto NSA

Gli effetti dell'eterogeneità sono stati studiati randomizzando in maniera controllata [cfr. par. 2.1.2] le conduttanze  $g_{Kr}$ ,  $g_{Na}$ ,  $g_{to}$ ,  $g_{ks}$ ,  $g_{fK}$  e  $g_{fNa}$  e le permeabilità  $P_{CaL}$  e  $P_{CaT}$  dei canali ionici. Il parametro che controlla la dispersione di tali valori attorno a quello nominale è la deviazione standard  $\sigma$ . Lo studio degli effetti dell'eterogeneità sul tessuto è stato condotto per  $\sigma = 0.05, 0.1, 0.1873, 0.3, 0.4$ . A valori inferiori di  $\sigma$  corrisponde una minore dispersione dei valori dei parametri.

Per tutte le simulazioni sono state usate le stesse condizioni iniziali, scelte prendendo istanti casuali da una simulazione di una sola cellula con parametri standard, della durata di 2 s.

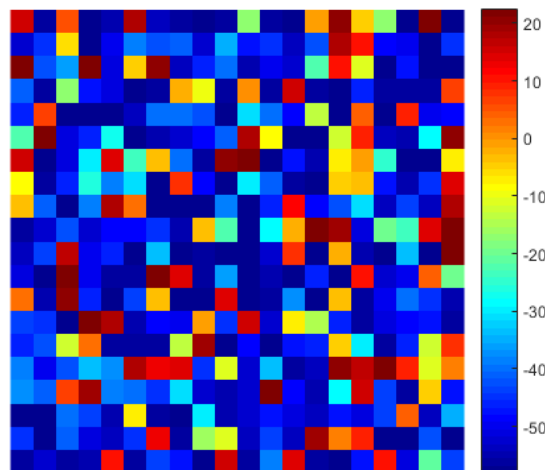


Figura 3.3 Mappa dei valori iniziali dei potenziali di membrana delle cellule per tutti gli esperimenti. Colori caldi corrispondono a valori più elevati di potenziale di membrana, colori freddi corrispondono a valori inferiori.

Per ogni simulazione sono stati calcolati i valori dell'ultimo cycle length (CL) e dell'ultimo Action Potential Amplitude (APA)

### 3.2.1 Simulazione con cellule omogenee.

Sono stati simulati tessuti con cellule omogenee, per poter confrontare i risultati delle altre simulazioni.

Il primo caso di studio vede la simulazione di un tessuto costituito da cellule tutte uguali tra loro, quindi omogeneo. I valori dei parametri delle conduttanze/permeabilità coincidono con quelli nominali del modello single cell.

<b>Permeabilità</b>	<b>Valore</b>
$P_{CaL}$	0.2 nA/mM
$P_{CaT}$	0.02 nA/mM
<b>Conduttanza</b>	<b>Valore</b>
$g_{Kr}$	0.0021637 $\mu$ S
$g_{Na}$	0.0125 $\mu$ S
$g_{to}$	0.002 $\mu$ S
$g_{Ks}$	0.0016576 $\mu$ S
$g_{fK}$ e $g_{fNa}$	0.03 $\mu$ S

Tabella 3.1: valori nominali dei parametri di conduttanza/permeabilità dei canali ionici. Questi valori sono stati utilizzati per la simulazione di tessuti composti da cellule omogenee.

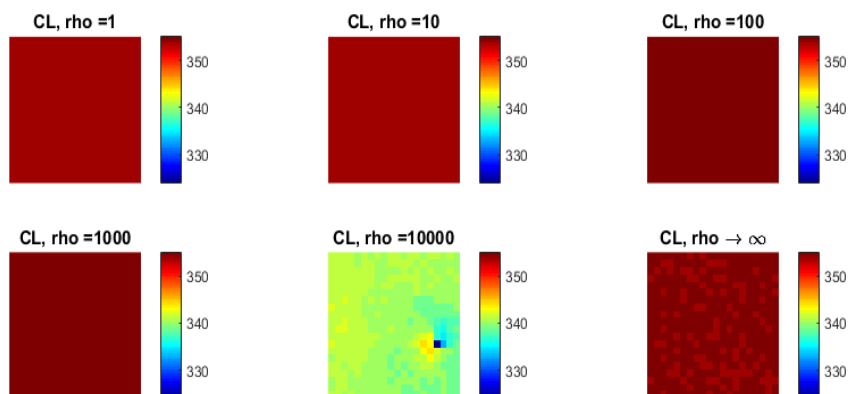


Figura 3.4: Colour map dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di un tessuto composto da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell. Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL.

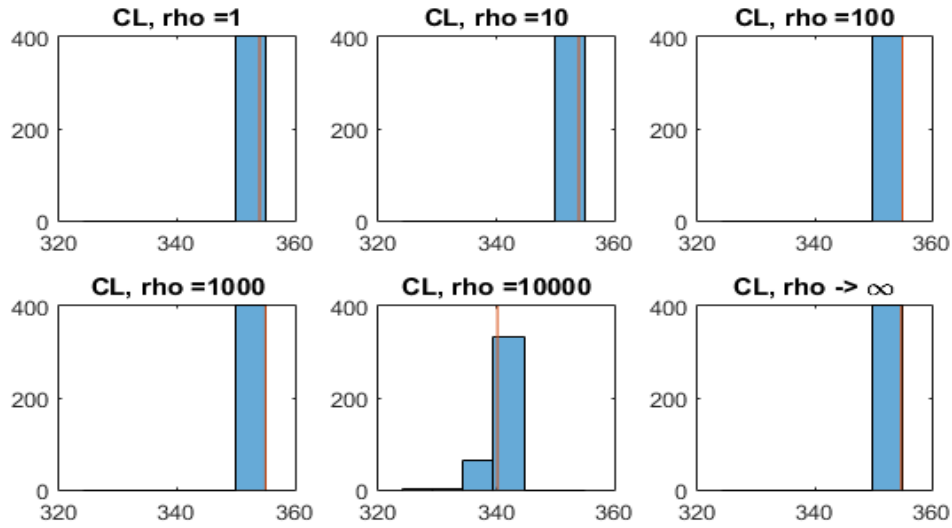


Figura 3.5: Distribuzione dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di un tessuto composto da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell. La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>CL<sub>min</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>medio</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>max</sub></b> <b>[ms]</b>
<b>1</b>	354	354	354
<b>10</b>	354	354	354
<b>100</b>	355	355	355
<b>1000</b>	355	355	355
<b>10000</b>	324	340	344
<b>Cellule disaccoppiate</b>	354	355	355

Tabella 3.2: valori minimo, medio, massimo di Cycle Length al termine dei 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell.

Il tessuto costituito da cellule omogenee completamente disaccoppiate mostra un unico valore di CL pari a 355 ms, coincidente con quello del modello single cell Severi-DiFrancesco. Anche i casi per  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  [MΩ m] mostrano di aver raggiunto la sincronizzazione, cioè uno stesso valore di CL

Per  $\rho = 10000$  [MΩ m], invece, il valor medio è inferiore di circa 15 ms (340 ms vs 355 ms); poche cellule presentano un valore di 30 ms inferiore (CL=324 ms). Tale valore di CL assunto dalle cellule che costituiscono il tessuto accoppiato con  $\rho = 10000$  [MΩ m] (basso livello di accoppiamento) non è raggiunto dalle cellule completamente disaccoppiate.

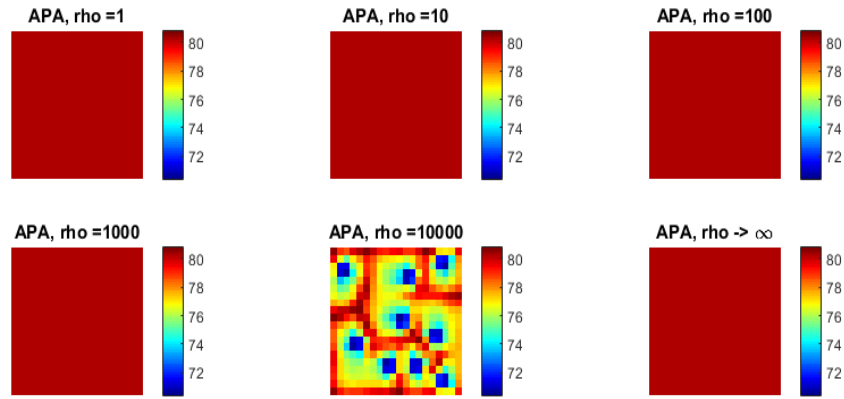


Figura 3.6: Colour map dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell. Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA.

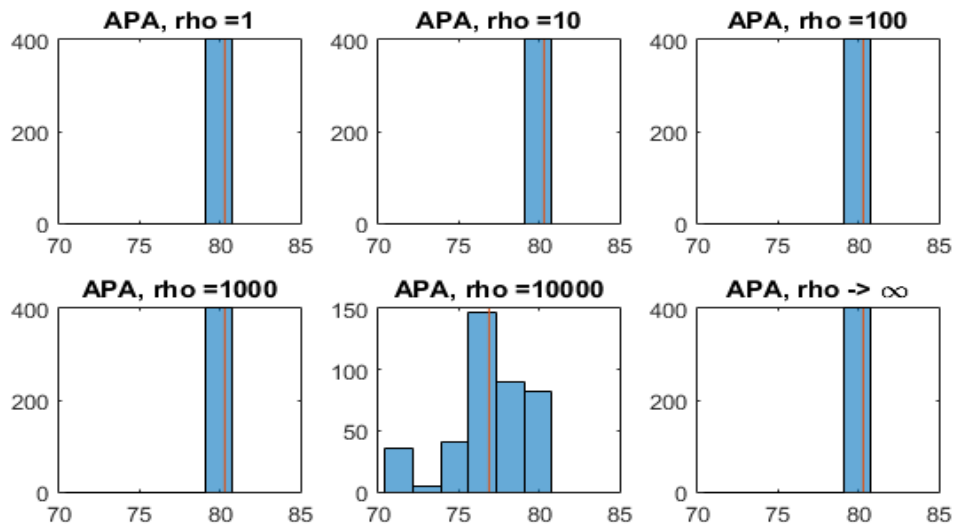


Figura 3.7: Distribuzione dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell. La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>APA<sub>min</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>medio</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>max</sub></b> <b>[mV]</b>
<b>1</b>	80.3	80.3	80.3
<b>10</b>	80.3	80.3	80.3
<b>100</b>	80.3	80.3	80.3
<b>1000</b>	80.3	80.3	80.3
<b>10000</b>	70.3	76.9	80.8
<b>Cellule disaccoppiate</b>	80.3	80.3	80.3

Tabella 3.3: valori minimo, medio, massimo di APA al termine dei 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule omogenee, con parametri coincidenti a quelli nominali del modello single cell.

I valori di APA per le cellule disaccoppiate e per  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  [MΩ m], sono omogenei. Invece, per le cellule connesse con  $\rho = 10000$  [MΩ m], i valori di



APA variano. La media è inferiore di 4 mV (76.9 vs 80.3 per cellule disaccoppiate), il valore minimo di 10 mV (70.3 vs 80.3).

Considerando i valori di CL e osservando i time course dei potenziali di membrana delle simulazioni, si nota che le simulazioni con i valori di  $\rho = 1, 10, 100, 1000 \text{ [M}\Omega \text{ m]}$  si sincronizzano. Nel caso di  $\rho = 10000 \text{ [M}\Omega \text{ m]}$ , invece, le cellule non sono sincronizzate, pur tendendo ad un comportamento periodico.

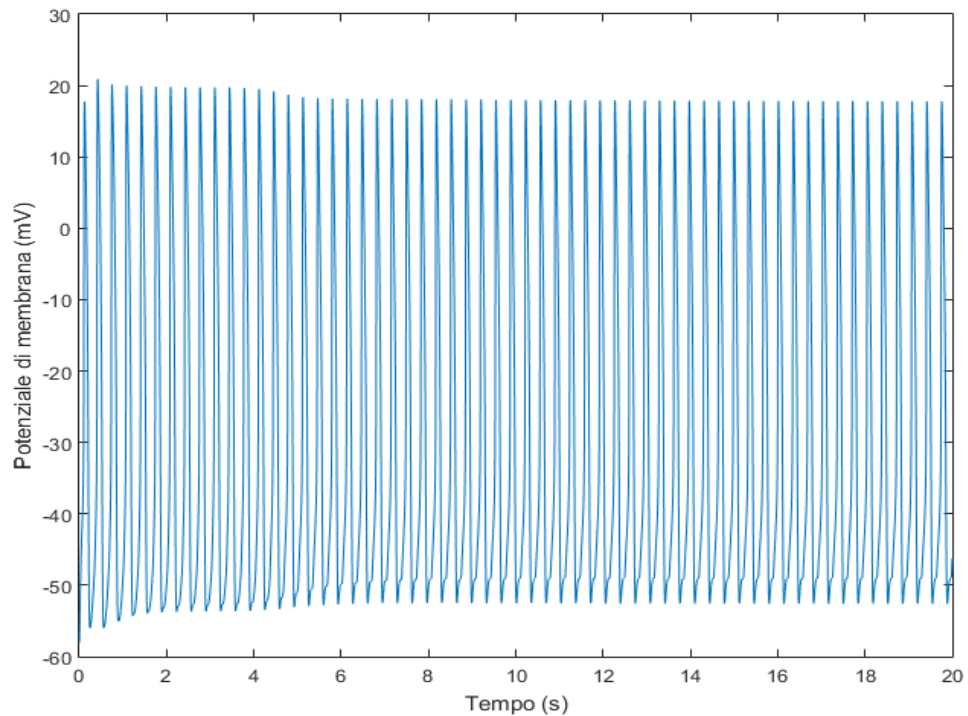


Figura 3.8: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ [M}\Omega \text{ m]}$ .

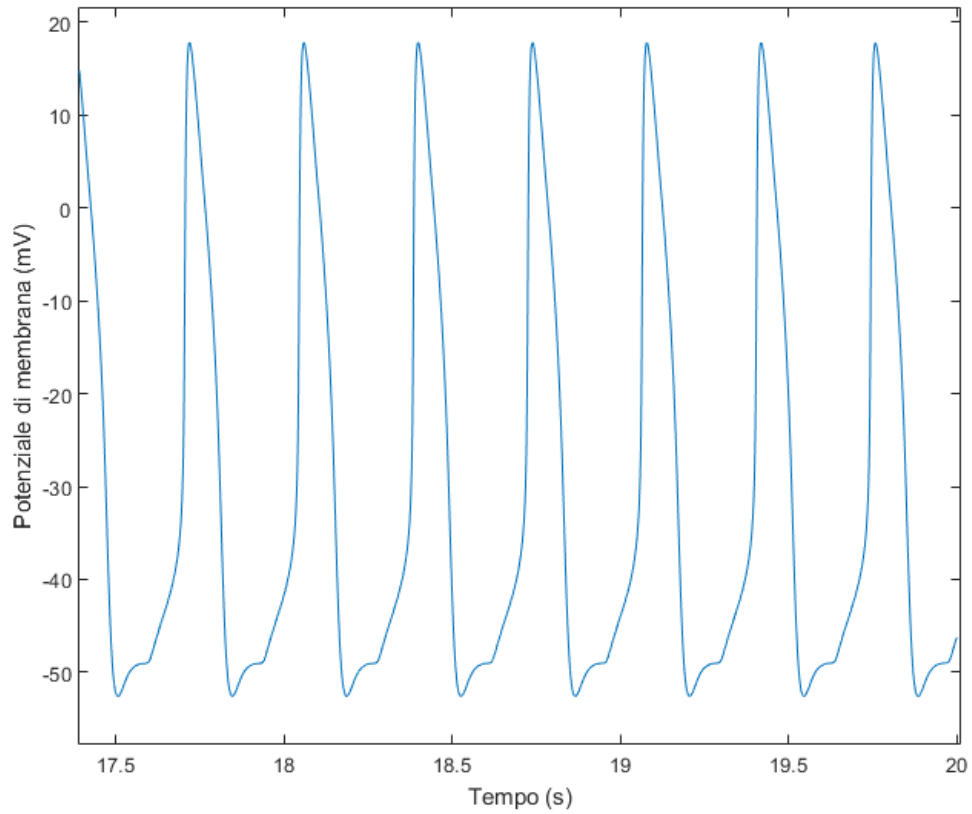


Figura 3.9: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ [M}\Omega \text{ m]}$ , dettaglio degli ultimi secondi.

Dalle figure 3.8 e 3.9 si può notare come l'andamento della cellula con l'APA minimo sia periodico. La riduzione dell'APA è dovuta ad un MDP meno iperpolarizzato (cioè meno negativo) e ad un OverShoot (OS) più basso (cioè meno positivo).

### 3.2.2 Simulazioni con $\sigma = 0.05$

L'eterogeneità è stata introdotta andando a variare i valori di conduttanze e permeabilità in un intorno del valore nominale.

Nel caso  $\sigma = 0.05$ , le distribuzioni dei valori sono le seguenti.

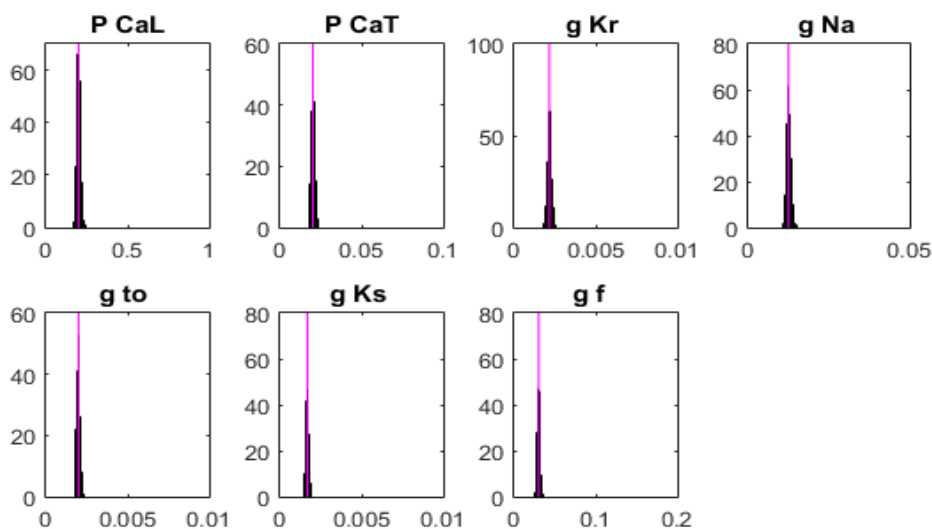


Figura 3.10: Distribuzioni dei valori di permeabilità e conduttanze per  $\sigma = 0.05$ . La linea magenta indica il valor medio della distribuzione.

Permeabilità	Minimo [nA/mM]	Scostamento %	Media [nA/mM]	Massimo [nA/mM]	Scostamento %	Nominale [nA/mM]
$P_{CaL}$	0.1679	-16.1	0.2002	0.239	19.4	0.2
$P_{CaT}$	0.0174	-13.3	0.02008	0.0237	18.4	0.02
Conduttanza	Minimo [ $\mu$ S]		Media [ $\mu$ S]	Massimo [ $\mu$ S]		Nominale [ $\mu$ S]
$g_{Kr}$	0.00184	-15.0	0.0021663	0.00258	19.1	0.0021637
$g_{Na}$	0.01072	-14.3	0.0125	0.014717	17.7	0.0125
$g_{to}$	0.001778	-11.0	0.00199	0.00228	14.4	0.002
$g_{Ks}$	0.0014723	-11.7	0.0016675	0.0019075	14.4	0.0016576
$g_{fK}$ e $g_{fNa}$	0.0260	-13.5	0.03006	0.0348	16.0	0.03

Tabella 3.4: valori minimo, medio e massimo delle permeabilità/conduttanze ottenute con  $\sigma = 0.05$

Data la bassa dispersione dei valori dovuta al basso valore di  $\sigma$ , si può notare come i valori medi delle conduttanze (quarta colonna della tabella 3.4) siano coerenti con i valori nominali del modello (ultima colonna).

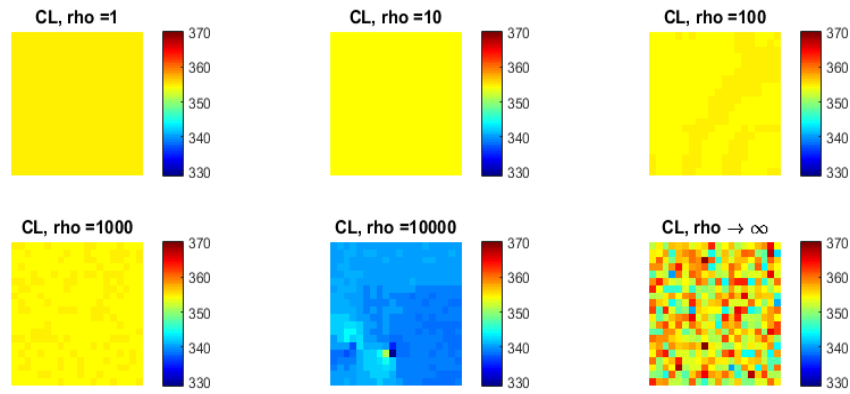


Figura 3.11: Colour map dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.05$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL.

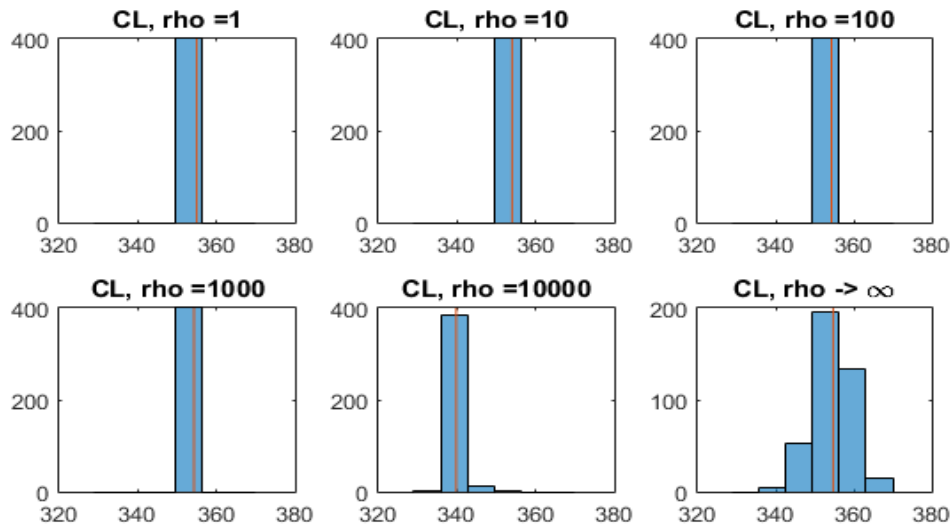


Figura 3.12: Distribuzione dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.05$ . La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>CL<sub>min</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>medio</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>max</sub></b> <b>[ms]</b>
<b>1</b>	355	355	355
<b>10</b>	354	354	354
<b>100</b>	354	354	355
<b>1000</b>	354	354	355
<b>10000</b>	329	340	351
<b>Cellule disaccoppiate</b>	340	355	370

Tabella 3.5: valori minimo, medio, massimo, di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee, con  $\sigma = 0.05$

Nelle simulazioni con  $\sigma = 0.05$ , si nota che le cellule collegate con gap junction con  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  [MΩ m] si sincronizzano tra loro e il valore di CL finale (355 ms) coincide con il valore medio di CL dell'esperimento con cellule disaccoppiate.

Nel caso  $\rho = 10000$  [ $M\Omega$  m], il valore medio coincide con il minimo della simulazione con cellule disaccoppiate (340 ms). Sono presenti cellule con valori di CL inferiori (329 ms)

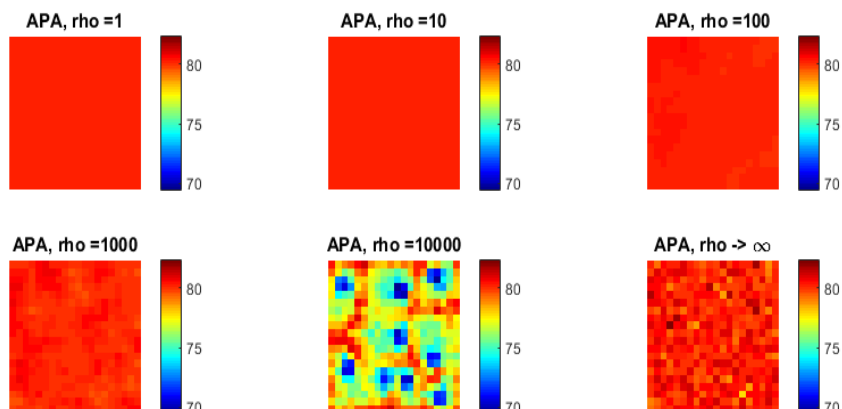


Figura 3.13: Colour map dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti eterogenei con  $\sigma = 0.05$ . colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA

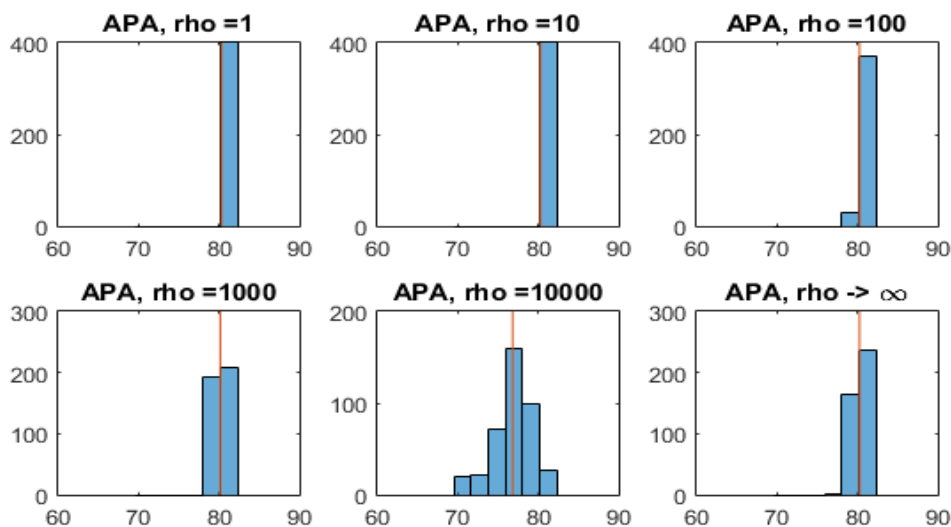


Figura 3.14: Distribuzione dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti eterogenei con  $\sigma = 0.05$ . La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[<math>M\Omega</math> m]</b>	<b>APA<sub>min</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>medio</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>mav</sub></b> <b>[mV]</b>
<b>1</b>	80.3	80.3	80.3
<b>10</b>	80.2	80.3	80.3
<b>100</b>	80.1	80.3	80.5
<b>1000</b>	79.5	80.2	80.8
<b>10000</b>	69.5	76.9	81.2
<b>Cellule disaccoppiate</b>	77.7	80.3	82.3

Tabella 3.6: valori minimo, medio, massimo di APA, al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti eterogenei, con  $\sigma = 0.05$

I valori medi per  $\rho = 1, 10, 100$  [ $M\Omega m$ ] sono pressoché invariati valore medio di APA per le cellule disaccoppiate. Per  $\rho$  maggiori, il valore medio diminuisce. Si nota come la distanza tra valore minimo e massimo aumenti con il diminuire dell'accoppiamento. Come nel caso di cellule omogenee, per gap junction con  $\rho=10000$  [ $M\Omega$ ] sono presenti valori di APA inferiori a quelli osservati durante la simulazione di cellule completamente disaccoppiate (69.5 mV vs 77.7 mV per i valori minimi).

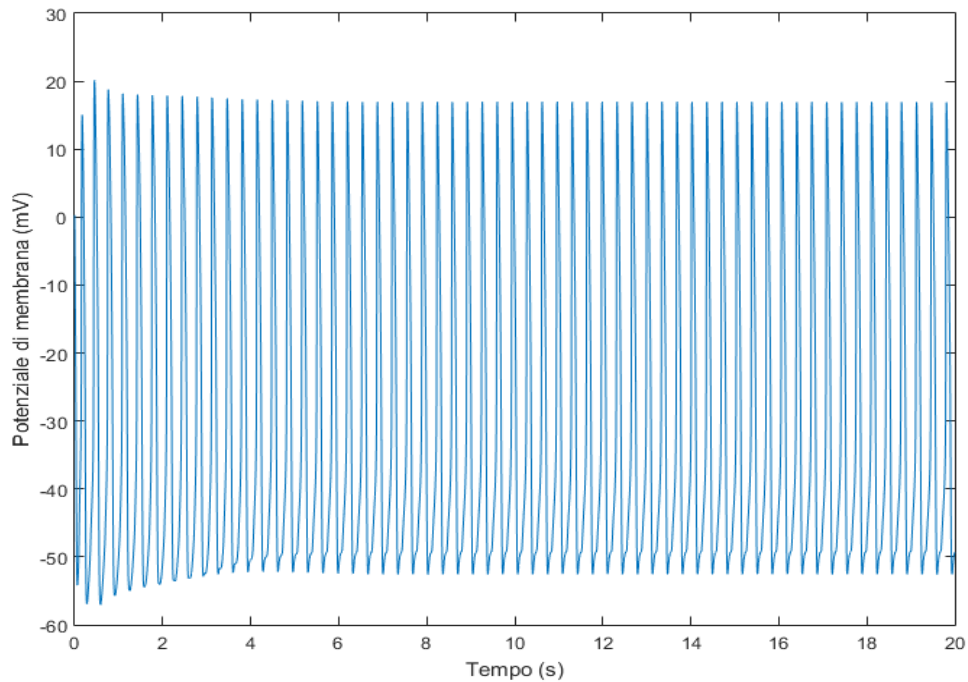


Figura 3.15: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 M\Omega m$  nella simulazione con  $\sigma = 0.05$

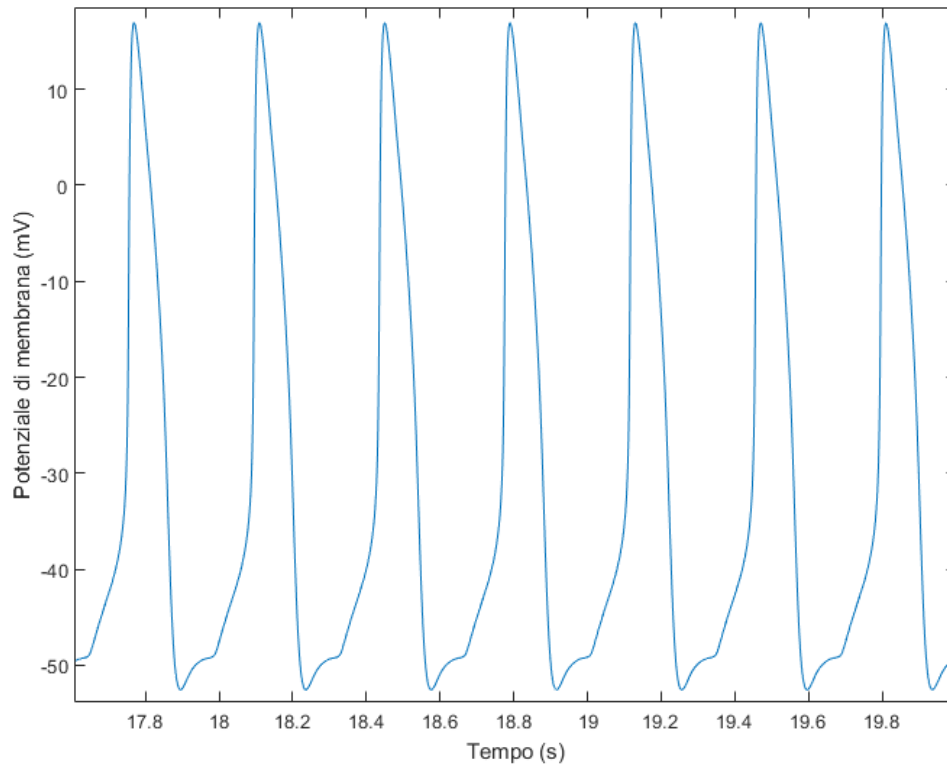


Figura 3.16: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  nella simulazione con  $\sigma = 0.05$ , dettaglio degli ultimi secondi

Dalle figure 3.15 e 3.16 si può notare come questa cellula raggiunga lo steady state. Il valore di APA è dovuto a un MDP meno iperpolarizzato (meno negativo) e a un OS meno positivo.

Anche in queste simulazioni si nota come un accoppiamento maggiore (che corrisponde a un minore valore di resistenza di gap junction), comporti valori di CL e APA omogenei tra le cellule, vicini ai valori medi della simulazione con cellule completamente disaccoppiate. Al contrario, un accoppiamento basso ( $\rho=10000 \text{ [M}\Omega \text{ m]}$ ) porta a valori di CL e APA in range più estesi; il valore medio di CL e di APA si avvicina ai valori minimi ottenuti in condizioni di cellule disaccoppiate.

### 3.2.3 Simulazioni con $\sigma = 0.1$

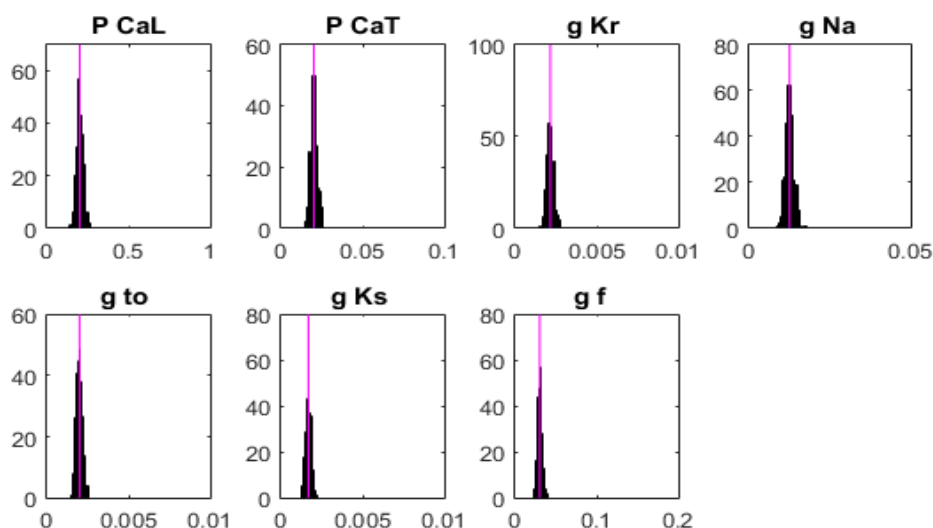


Figura 3.17: Distribuzioni dei valori di permeabilità e conduttanze per  $\sigma = 0.1$ . La linea magenta indica il valor medio.

<b>Permeabilità</b>	<b>Minimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Media [nA/mM]</b>	<b>Massimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Nominale [nA/mM]</b>
<b>P<sub>CaL</sub></b>	0.1378	-31.6	0.2016	0.2633	30.6	0.2
<b>P<sub>CaT</sub></b>	0.01484	-26.1	0.02008	0.02573	28.1	0.02
<b>Conduttanza</b>	<b>Minimo [μS]</b>		<b>Media [μS]</b>	<b>Massimo [μS]</b>		<b>Nominale [μS]</b>
<b>g<sub>Kr</sub></b>	0.0015171	-29.9	0.0021653	0.0027694	27.9	0.0021637
<b>g<sub>Na</sub></b>	0.0085	-31.3	0.0125	0.0174	39.3	0.0125
<b>g<sub>to</sub></b>	0.0015	-23.5	0.002	0.0025	29.6	0.002
<b>g<sub>Ks</sub></b>	0.0012415	-25.5	0.0016659	0.0021672	30.1	0.0016576
<b>g<sub>fK</sub> e g<sub>fNa</sub></b>	0.0226	-25.1	0.0302	0.0411	36.3	0.03

Tabella 3.7: valori minimo, medio, massimo dei valori di permeabilità/conduttanze ottenute con  $\sigma = 0.1$

I valori medi sono coerenti con quelli nominali, mentre la dispersione dei valori è più ampia rispetto al caso  $\sigma = 0.05$ . (scostamenti da -31.6% a 36.3% per  $\sigma = 0.1$  vs scostamenti da -16.1% a 19.4% per  $\sigma = 0.05$ )



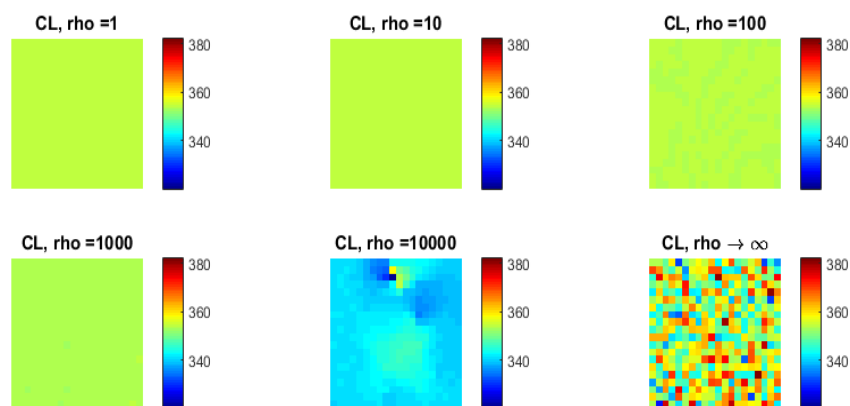


Figura 3.18: Colour map dei valori di CL al termine dei 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL.

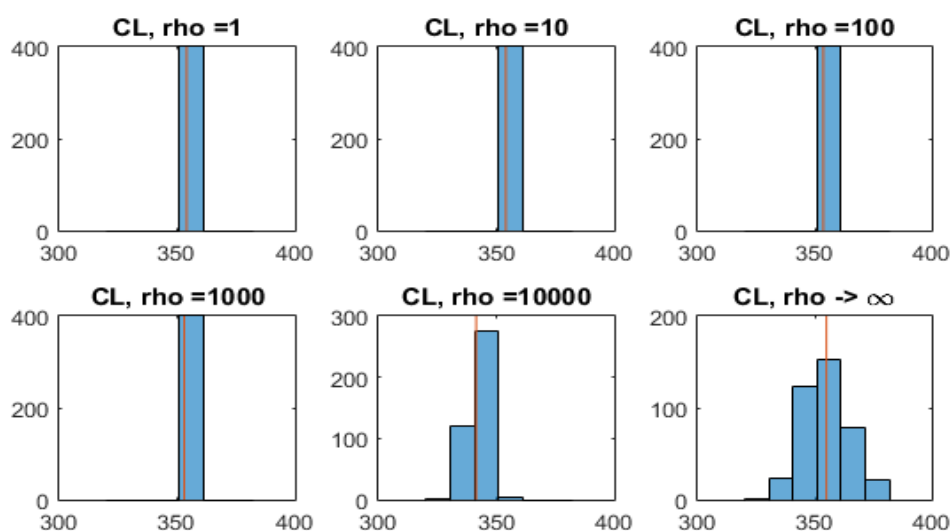


Figura 3.19: Distribuzione dei valori di CL al termine dei 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1$ . La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> [MΩ m]	<b>CL<sub>min</sub></b> [ms]	<b>CL<sub>medio</sub></b> [ms]	<b>CL<sub>max</sub></b> [ms]
<b>1</b>	354	354	354
<b>10</b>	354	354	354
<b>100</b>	353	354	354
<b>1000</b>	352	353	354
<b>10000</b>	320	341	358
<b>Cellule disaccoppiate</b>	328	355	382

Tabella 3.8: valori minimo, medio, massimo di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee, con  $\sigma = 0.1$

Le cellule collegate con  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  [MΩ m], si sincronizzano al termine della simulazione sul valore medio di CL mostrato dalla simulazione di tessuto con cellule disaccoppiate (355 ms).

Il valor medio di CL per la simulazione con  $\rho = 10000$  [ $M\Omega$  m] è inferiore al valor medio delle altre simulazioni (341ms vs 354ms). In questo caso, però, il valore massimo non è distante dai valori massimi degli altri esperimenti (358 ms vs 354 ms). Rispetto alle simulazioni con  $\sigma = 0.05$ , è aumentato il divario tra CL minimo e massimo delle cellule disaccoppiate (54 ms per  $\sigma = 0.1$  vs 30 ms per  $\sigma = 0.05$ ).

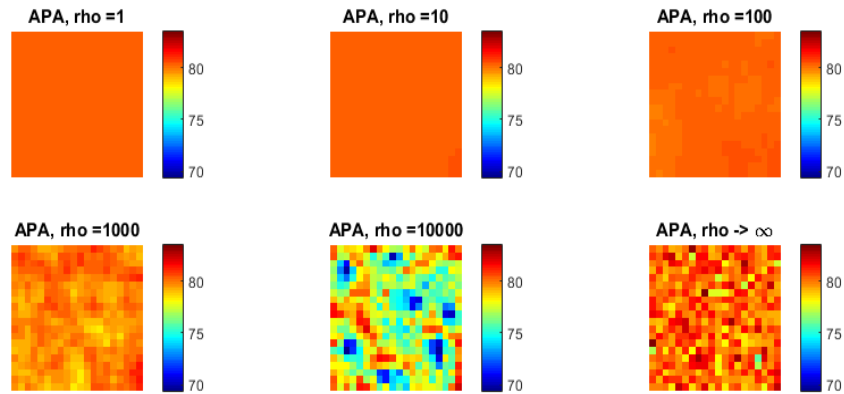


Figura 3.20: Colour map dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA.

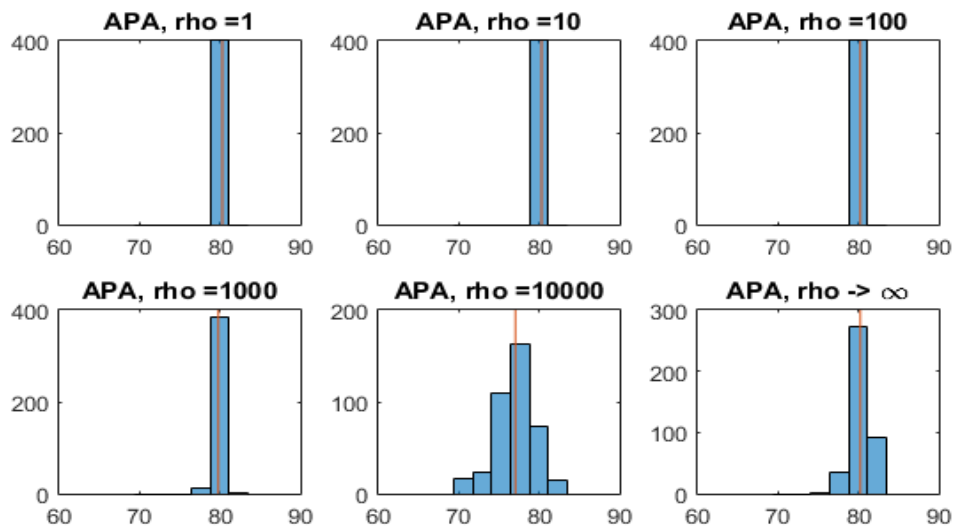


Figura 3.21: Distribuzione dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1$ . La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>APA<sub>min</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>APA<sub>medio</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>max</sub></b> <b>[ms]</b>
<b>1</b>	80.3	80.3	80.3
<b>10</b>	80.2	80.3	80.5
<b>100</b>	79.9	80.2	80.6
<b>1000</b>	78.3	79.8	81.5
<b>10000</b>	69.4	77.0	82.3
<b>Cellule disaccoppiate</b>	76.0	80.2	83.5

Tabella 3.9: valori minimo, medio, massimo di APA al termine di 20 secondi di simulazione di cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1$

Dal confronto delle features al variare del grado di accoppiamento si può notare come i valori medi di APA diminuiscano all'aumentare del valore della resistenza di gap junction. La distanza tra minimi e massimi di APA aumenta al diminuire dell'accoppiamento (nulla per  $\rho = 1\text{M}\Omega\text{ m}$  fino a 12.9 mV per  $\rho = 10000\text{ M}\Omega\text{ m}$ ).

Come nei casi precedenti, quando  $\rho$  è pari a 10000 [MΩ m], i valori minimi di APA sono inferiori rispetto ai valori della simulazione con cellule disaccoppiate (69.4mV per  $\rho = 10000\text{ M}\Omega\text{ m}$  vs 76.0 per cellule disaccoppiate).

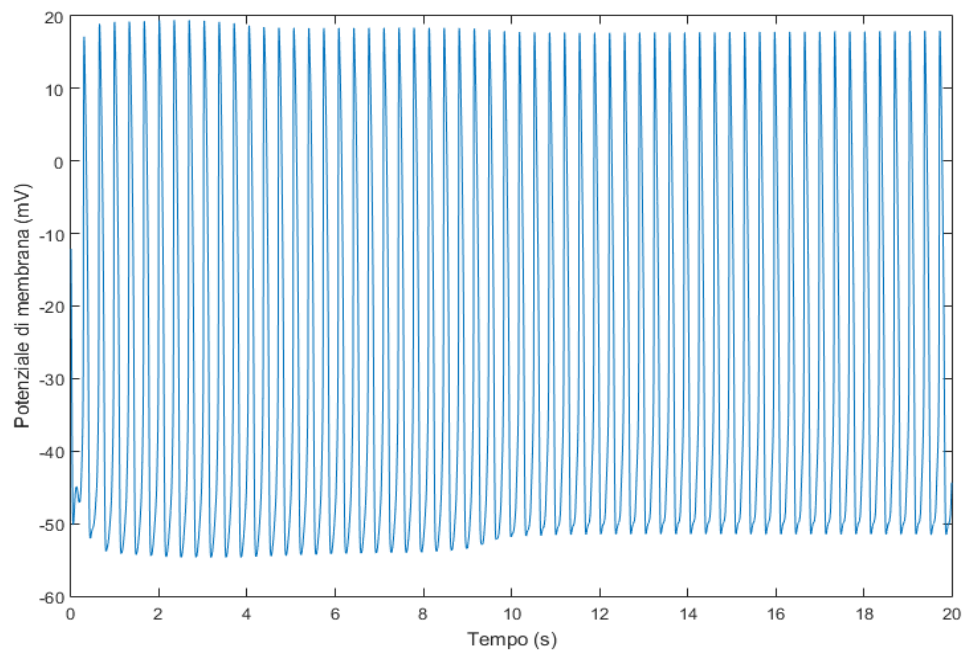


Figura 3.22: Timecourse della cellula con APA minimo per  $\rho = 10000\text{ [M}\Omega\text{ m]}$   $\sigma = 0.1$

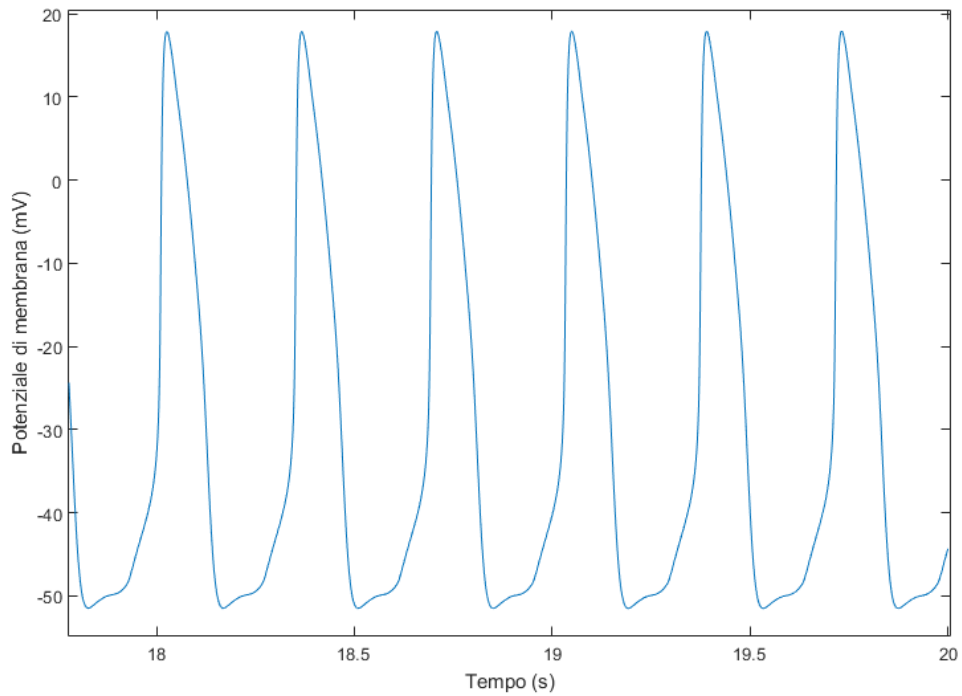


Figura 3.23: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  con  $\sigma = 0.1$ , dettaglio degli ultimi secondi

La cellula di cui è riportato il time course in Figura 3.22 e 3.23, raggiunge lo steady state dopo un tempo maggiore rispetto ai casi precedenti. La riduzione del valore di APA è dovuta a un MDP meno iperpolarizzato (cioè meno negativo) e un OS meno positivo.

### 3.2.4 Simulazioni con $\sigma = 0.1873$

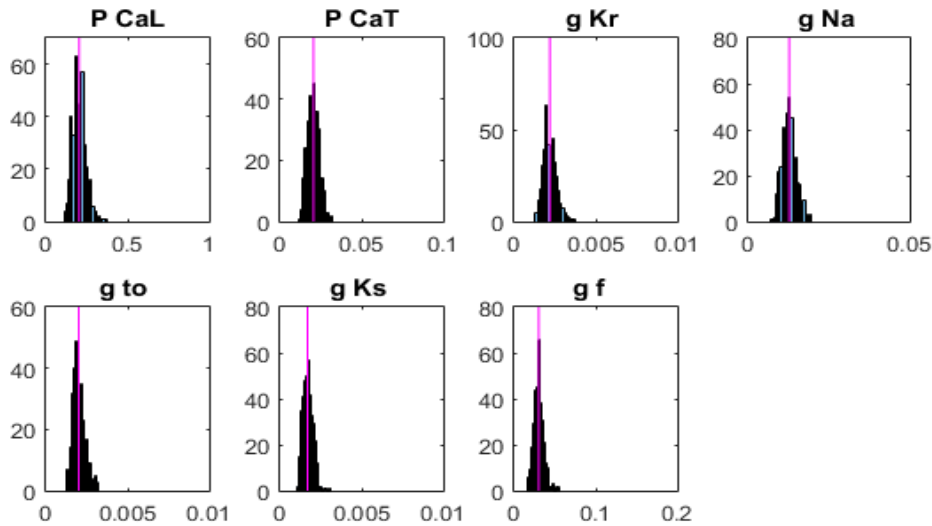


Figura 3.24: Distribuzione dei valori di permeabilità e conduttanze per  $\sigma = 0.1873$ . LA linea magenta indica il valor medio.

Permeabilità	Minimo [nA/mM]	Scostamento %	Media [nA/mM]	Massimo [nA/mM]	Scostamento %	Nominale [nA/mM]
$P_{CaL}$	0.1118	-45.1	0.2038	0.3732	83.1	0.2
$P_{CaT}$	0.0123	-39.8	0.0205	0.0321	56.3	0.02
Conduttanza	Minimo [μS]		Media [μS]	Massimo [μS]		Nominale [μS]
$g_{Kr}$	0.0013055	-40.4	0.0021902	0.0037966	73.3	0.0021637
$g_{Na}$	0.0069	-45.2	0.0127	0.0196	54.2	0.0125
$g_{to}$	0.0013	-36.4	0.002	0.0032	61.5	0.002
$g_{Ks}$	0.0010586	-37.1	0.0016826	0.0031263	85.8	0.0016576
$g_{fk}$ e $g_{fNa}$	0.0173	-42.8	0.0303	0.0547	80.8	0.03

Tabella 3.10: valori minimo, medio, massimo delle permeabilità/conduttanze ottenute con  $\sigma = 0.1873$

I valori medi delle distribuzioni (quarta colonna della tabella 3.10) sono coerenti con i valori nominali del modello (ultima colonna della tabella 3.10). La dispersione dei valori è maggiore rispetto ai casi precedenti, coerentemente con la  $\sigma$  richiesta. (scostamenti compresi tra -45.2% e 85.8% per  $\sigma = 0.1873$  vs scostamenti tra -16.1% e 19.4% per  $\sigma = 0.05$ )

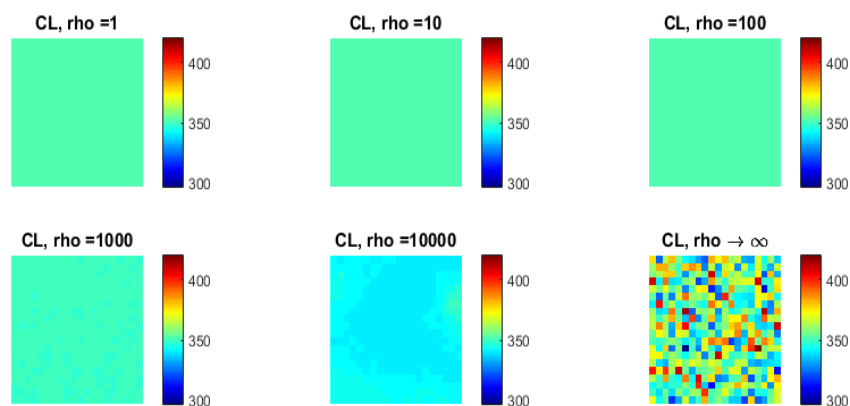


Figura 3.25: Colour map dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1873$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL

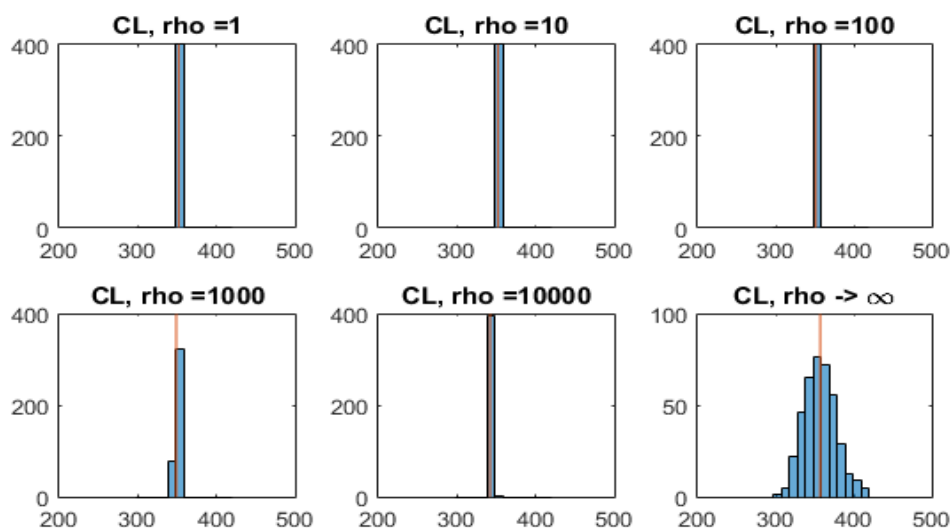


Figura 3.26: Distribuzioni dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1873$ . La linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> [MΩ m]	<b>CL<sub>min</sub></b> [ms]	<b>CL<sub>medio</sub></b> [ms]	<b>CL<sub>max</sub></b> [ms]
1	351	352	352
10	351	352	352
100	351	352	352
1000	348	349	349
10000	340	342	349
Cellule disaccoppiate	297	357	420

Tabella 3.11: valori minimo, medio, massimo di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee, con  $\sigma = 0.1873$

In questa serie di simulazioni si nota che per valori di  $\rho = 1, 10, 100$  [MΩ m], le cellule arrivano a sincronizzarsi con un valore di CL simile al valore medio osservato nelle cellule disaccoppiate (352ms vs 357ms). Per  $\rho = 1000$  MΩ m, le cellule si sincronizzano con un CL più rapido di 8 ms (349ms vs 357 ms). Per  $R = 10000$  MΩ m, il CL medio è inferiore alla media delle cellule scollegate di 15 ms (342ms vs 357ms).

ma i valori di questa simulazione sono all'interno di 9 ms (340-349ms), un range molto più ristretto a quello delle simulazioni con  $\sigma$  inferiore.

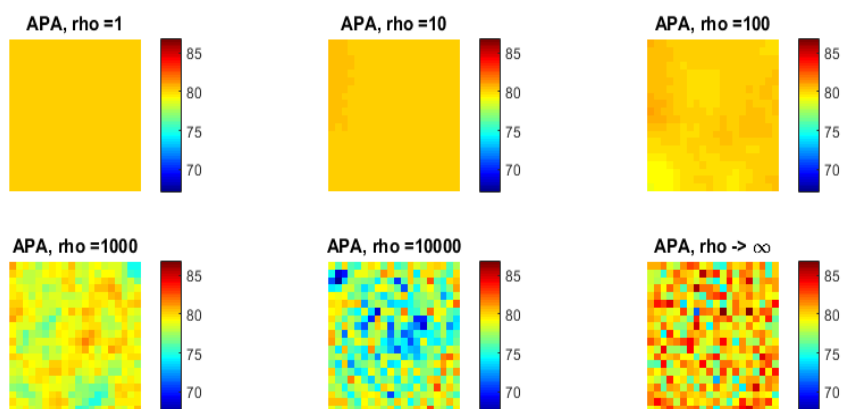


Figura 3.27: Colour map dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1873$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA.

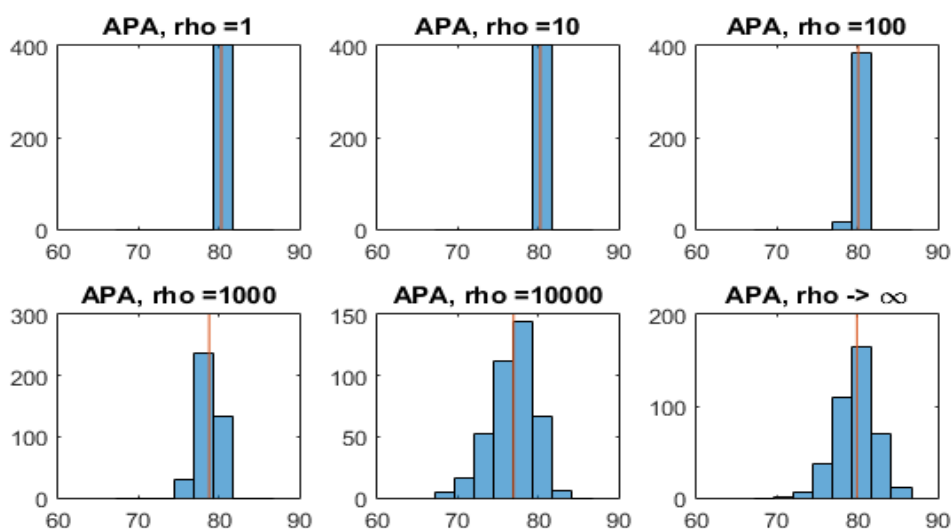


Figura 3.28: Distribuzioni dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.1873$ . La linea arancione indica il valor medio

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>APA<sub>min</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>medio</sub></b> <b>[mV]</b>	<b>APA<sub>max</sub></b> <b>[mV]</b>
<b>1</b>	80.3	80.3	80.3
<b>10</b>	80.1	80.3	80.4
<b>100</b>	79.0	80.1	81.0
<b>1000</b>	74.7	78.8	81.7
<b>10000</b>	67.2	76.9	82.8
<b>Cellule disaccoppiate</b>	71.4	79.9	86.7

Tabella 3.12: valori minimo, medio, massimo di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee, con  $\sigma = 0.1873$

Per  $R = 1$  i valori di APA si mantengono costanti per tutte le cellule

I valori medi di APA decrescono all'aumentare del valore della resistenza di gap junction. Il range min-max di valori per APA aumenta all'aumentare della resistenza, fino a 15.6 mV per  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ . Il range di valori per le cellule disaccoppiate è di 15.3 mV.

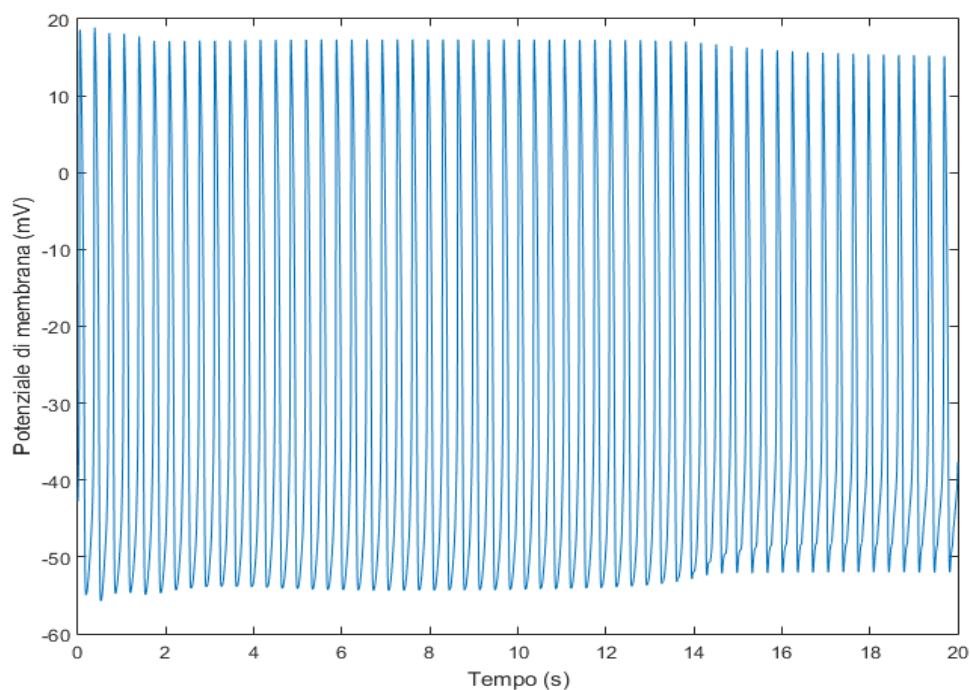


Figura 3.29: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , con  $\sigma = 0.1873$

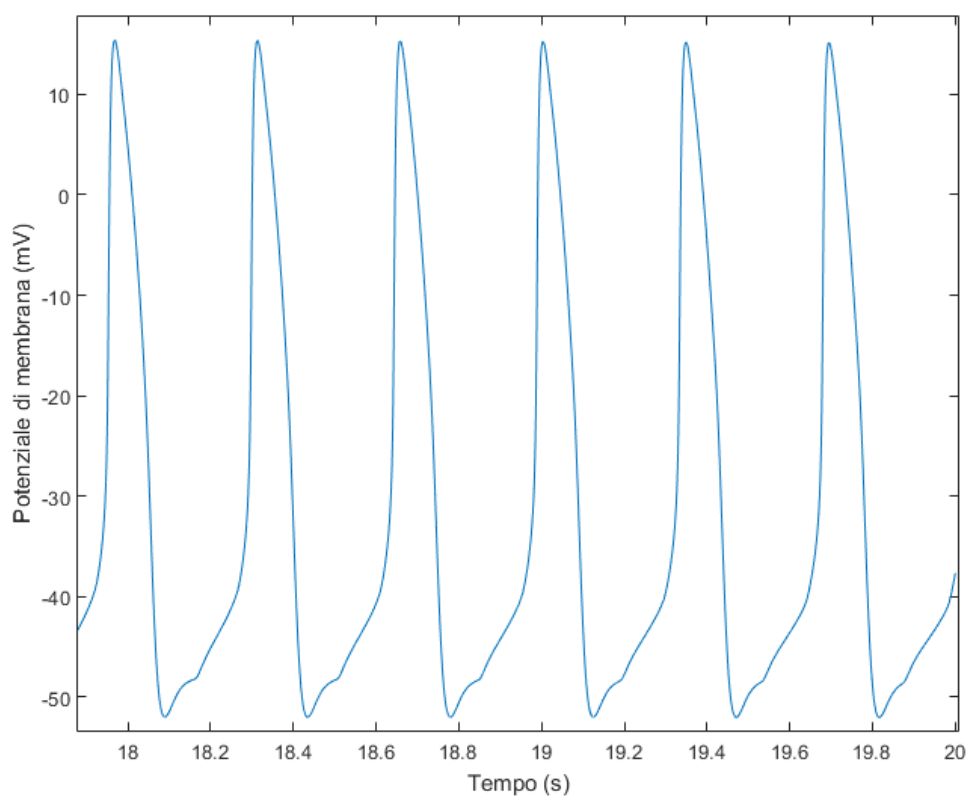


Figura 3.30: Timecourse della cellula con APA minimo in  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , con  $\sigma = 0.1873$ , dettaglio degli ultimi secondi



La cellula con il valore di APA minimo con  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  (67.2mV) (timecourse in figura 3.29 e 3.30) raggiunge lo steady state in un tempo più lungo delle simulazioni con  $\sigma$  inferiore.

### 3.2.5 Simulazioni con $\sigma = 0.3$

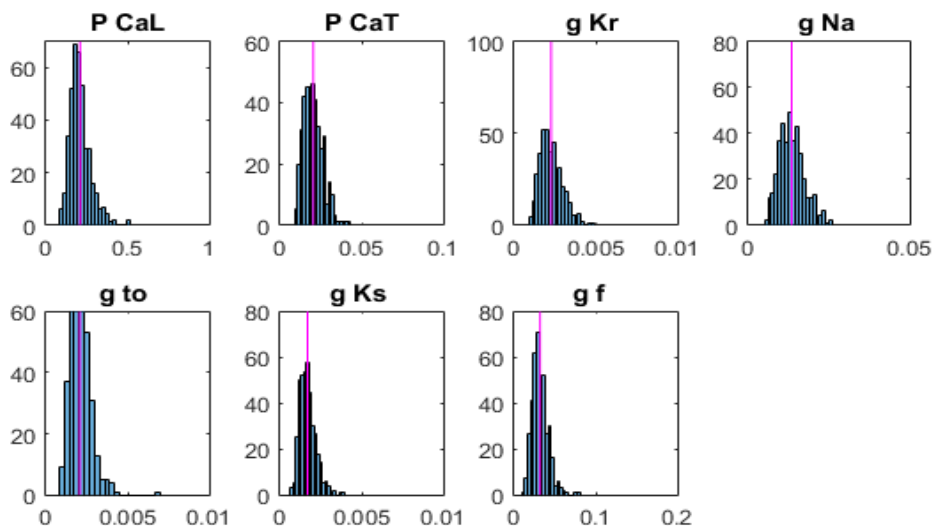


Figura 3.31: Distribuzioni dei valori di permeabilità e conduttanze per  $\sigma = 0.3$ . la linea magenta indica il valor medio.

<b>Permeabilità</b>	<b>Minimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Media [nA/mM]</b>	<b>Massimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Nominale [nA/mM]</b>
<b>P<sub>CaL</sub></b>	0.087	-58.5	0.209	0.510	144.4	0.2
<b>P<sub>CaT</sub></b>	0.0094	-53.7	0.0203	0.0431	112.1	0.02
<b>Conduttanza</b>	<b>Minimo [μS]</b>		<b>Media [μS]</b>	<b>Massimo [μS]</b>		<b>Nominale [μS]</b>
<b>g<sub>Kr</sub></b>	0.0009228	-59.3	0.0022683	0.0048965	115.9	0.0021637
<b>g<sub>Na</sub></b>	0.0059	-56.3	0.0135	0.0262	94.4	0.0125
<b>g<sub>to</sub></b>	0.00088	-57.7	0.00207	0.00682	229.7	0.002
<b>g<sub>Ks</sub></b>	0.0006601	-61.0	0.0016907	0.0039074	131.1	0.0016576
<b>g<sub>fK</sub> e g<sub>fNa</sub></b>	0.0114	-63.9	0.0317	0.00790	149.3	0.03

Tabella 3.13: valori minimo, medio, massimo delle permeabilità/conduttanze ottenute con  $\sigma = 0.3$

I valori medi delle distribuzioni (quarta colonna della tabella 3.13) sono coerenti con i valori nominali del modello (ultima colonna della tabella 3.13). La dispersione dei valori è maggiore rispetto ai casi precedenti, coerentemente con la  $\sigma$  richiesta. (scostamenti compresi tra -63.9% e 229.7% per  $\sigma = 0.3$  vs scostamenti tra -45.2% e 85.8% per  $\sigma = 0.1873$ )

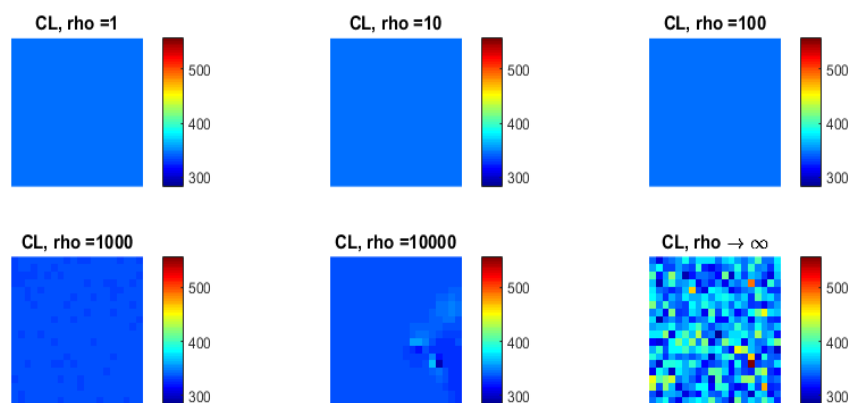


Figura 3.32: Colour map dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.3$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL

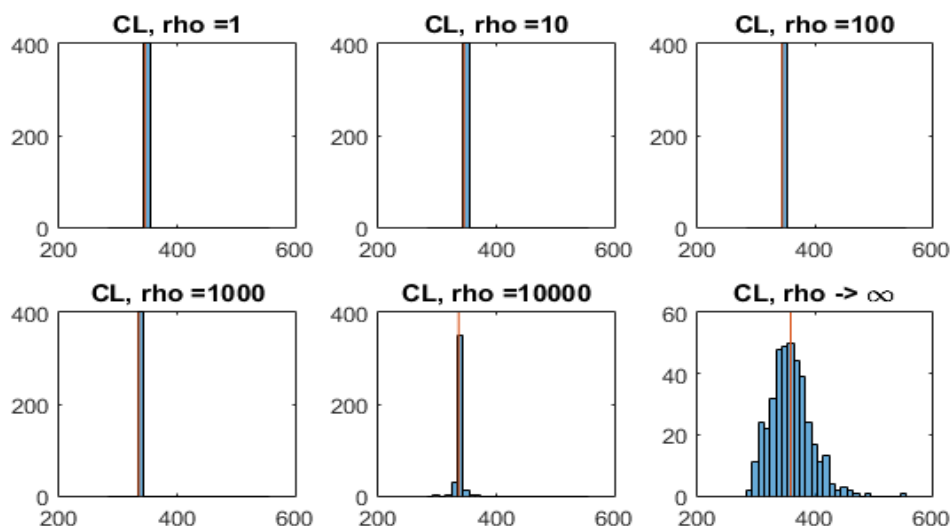


Figura 3.33: Distribuzioni dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.3$ . la linea arancione indica il valor medio.

Rho [M $\Omega$ m]	CL <sub>min</sub> [ms]	CL <sub>medio</sub> [ms]	CL <sub>max</sub> [ms]
<b>1</b>	345	346	346
<b>10</b>	345	345	346
<b>100</b>	344	345	345
<b>1000</b>	334	335	335
<b>10000</b>	295	336	365
<b>Cellule disaccoppiate</b>	283	359	557

Tabella 3.14: valori minimo, medio, massimo di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee, con  $\sigma = 0.3$

Le cellule accoppiate tra loro con  $\rho = 1, 10, 100, 1000$  M $\Omega$  m, al termine dei 20 s sono completamente sincronizzate. Il valore di CL per queste cellule (346ms) è inferiore al valore medio di CL per le cellule disaccoppiate (359ms), di 13 ms per  $\rho = 1, 10, 100$  M $\Omega$  m. per  $\rho = 1000$  e 10000 M $\Omega$  m è inferiore di 23 ms (335ms).

La dispersione dei valori di CL per  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  è più contenuta rispetto al caso delle cellule disaccoppiate (70 ms contro 274 ms).

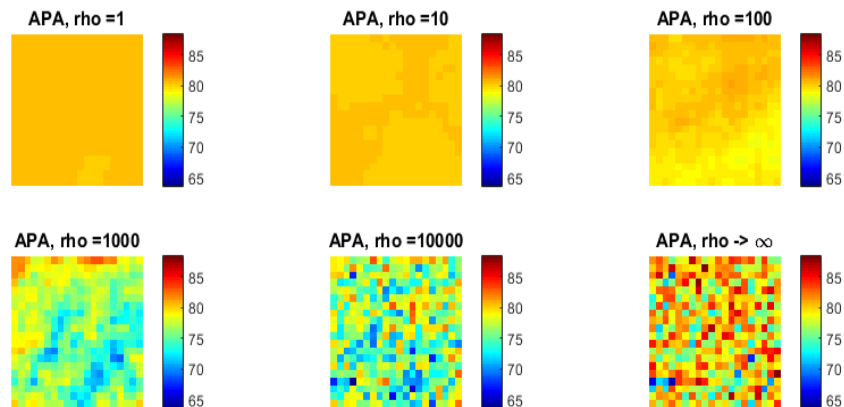


Figura 3.34: Colour map dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.3$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA.

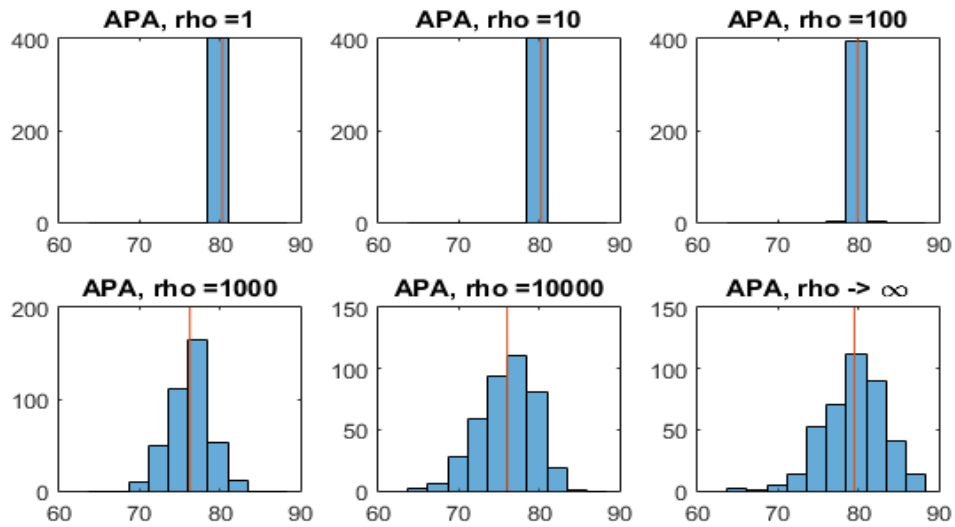


Figura 3.35: Distribuzione dei valori di APA al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.3$

<b>Rho</b> [MΩ m]	<b>APA<sub>min</sub></b> [mV]	<b>APA<sub>medio</sub></b> [mV]	<b>APA<sub>max</sub></b> [mV]
<b>1</b>	80.2	80.3	80.3
<b>10</b>	80.0	80.2	80.4
<b>100</b>	78.5	79.9	81.0
<b>1000</b>	69.0	76.2	83.2
<b>10000</b>	63.7	76.0	83.6
<b>Cellule disaccoppiate</b>	64.8	79.5	88.4

Tabella 3.15: valori minimo, medio, massimo di APA dopo 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.3$

I valori medi di APA si riducono all'aumentare della resistenza di gap junction, da 80.3mV per  $R = 1[\text{M}\Omega]$  a 76.0mV per  $\rho = 10000[\text{M}\Omega \text{ m}]$ . I range su cui si distribuiscono i valori aumentano all'aumentare della resistenza; da 0.1 mV per  $\rho = 1 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , a 19.9 mV per  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ; 23.6 mV per le cellule disaccoppiate.

### 3.2.6 Simulazioni con $\sigma = 0.4$

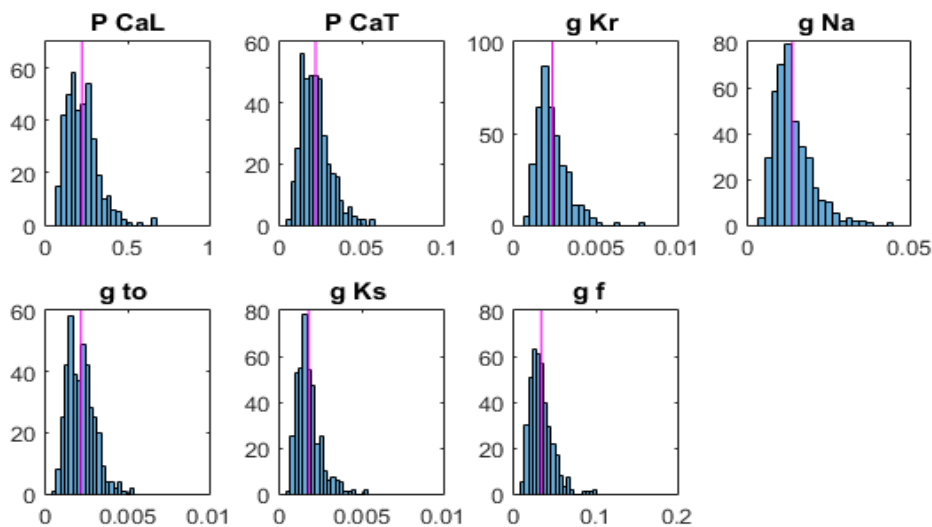


Figura 3.36: Distribuzioni dei valori di permeabilità e conduttanze per  $\sigma = 0.4$ . la linea magenta indica il valor medio.

<b>Permeabilità</b>	<b>Minimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Media [nA/mM]</b>	<b>Massimo [nA/mM]</b>	<b>Scostamento %</b>	<b>Nominale [nA/mM]</b>
<b>P<sub>CaL</sub></b>	0.0645	-70.7	0.220	0.677	207.0	0.2
<b>P<sub>CaT</sub></b>	0.0059	-72.9	0.0218	0.0567	160.0	0.02
<b>Conduttanza</b>	<b>Minimo [μS]</b>		<b>Media [μS]</b>	<b>Massimo [μS]</b>		<b>Nominale [μS]</b>
<b>g<sub>Kr</sub></b>	0.0008418	-63.9	0.0023345	0.0079482	240.5	0.0021637
<b>g<sub>Na</sub></b>	0.0036	-73.7	0.0137	0.0433	216.9	0.0125
<b>g<sub>to</sub></b>	0.00048	-77.6	0.00215	0.00535	149.1	0.002
<b>g<sub>Ks</sub></b>	0.0005214	-70.3	0.0017585	0.00532	202.5	0.0016576
<b>g<sub>fK</sub> e g<sub>fNa</sub></b>	0.0109	-67.2	0.0332	0.1020	206.8	0.03

Tabella 3.16: valori minimo, medio e massimo delle permeabilità/conduttanze ottenute con  $\sigma = 0.4$

I valori medi di permeabilità e conduttanze sono leggermente superiori ai valori nominali del modello (discrepanza massima ~10% per  $g_{fK}$  e  $g_{fNa}$ ). La dispersione dei valori è maggiore rispetto ai casi precedenti, coerentemente con la  $\sigma$  richiesta. (scostamenti compresi tra -77.6% e 240.5% per  $\sigma = 0.4$  e scostamenti tra -63.9% e 229.7% per  $\sigma = 0.3$ )

Tra i valori utilizzati,  $\sigma=0.4$  è l'unico a presentare cellule non auto-oscillanti; sono considerate cellule non autonome quelle che non presentano nessun AP durante i 20 secondi della simulazione con cellule disaccoppiate.

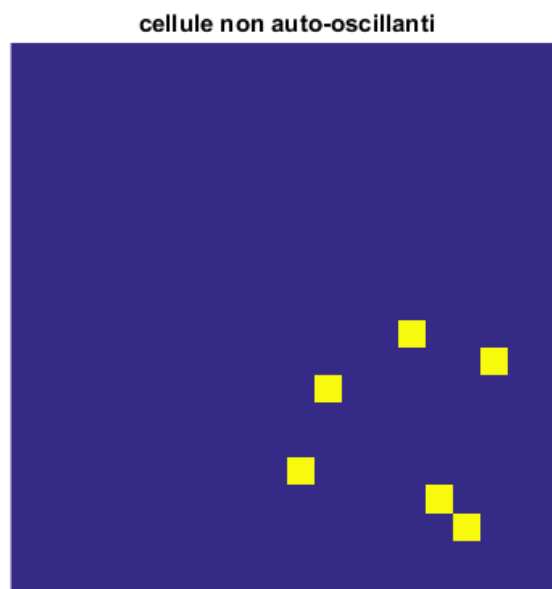


Figura 3.37: Mappa binaria per discriminare le cellule auto-oscillanti da quelle quiescenti (rappresentate in giallo).

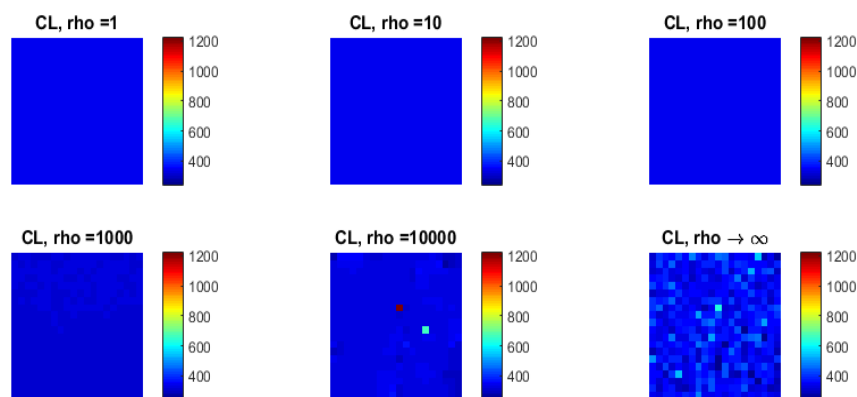


Figura 3.38: Colour map dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee per  $\sigma = 0.4$ . Colori più caldi corrispondono a valori più elevati di CL

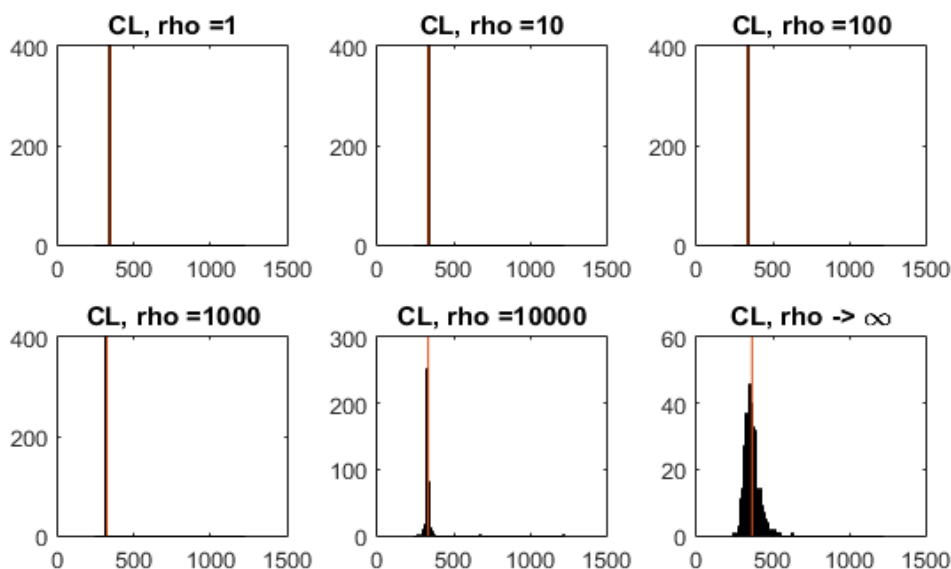


Figura 3.39: Distribuzioni dei valori di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee per  $\sigma = 0.4$ , la linea arancione indica il valor medio.

<b>Rho</b> <b>[MΩ m]</b>	<b>CL<sub>min</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>medio</sub></b> <b>[ms]</b>	<b>CL<sub>max</sub></b> <b>[ms]</b>
<b>1</b>	337	337	338
<b>10</b>	337	338	338
<b>100</b>	335	336	336
<b>1000</b>	318	319	320
<b>10000</b>	267	333	1221
<b>Cellule disaccoppiate</b>	243	369	627

Tabella 3.17: valori minimo, medio, massimo di CL al termine di 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee per  $\sigma = 0.4$

Come nelle simulazioni precedenti, per  $\rho = 1, 10, 100, 1000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , le cellule si sincronizzano. Il valore di CL cala all'aumentare del valore di  $\rho$  (da 337ms per  $\rho = 1 \text{ M}\Omega \text{ m}$  a 319 ms per  $\rho = 1000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ).

I CL delle cellule accoppiate sono inferiori al valore medio di CL per le cellule disaccoppiate (369ms).

Per  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  sono presenti due cellule con valori di CL molto elevati, di cui sono riportati i time course:

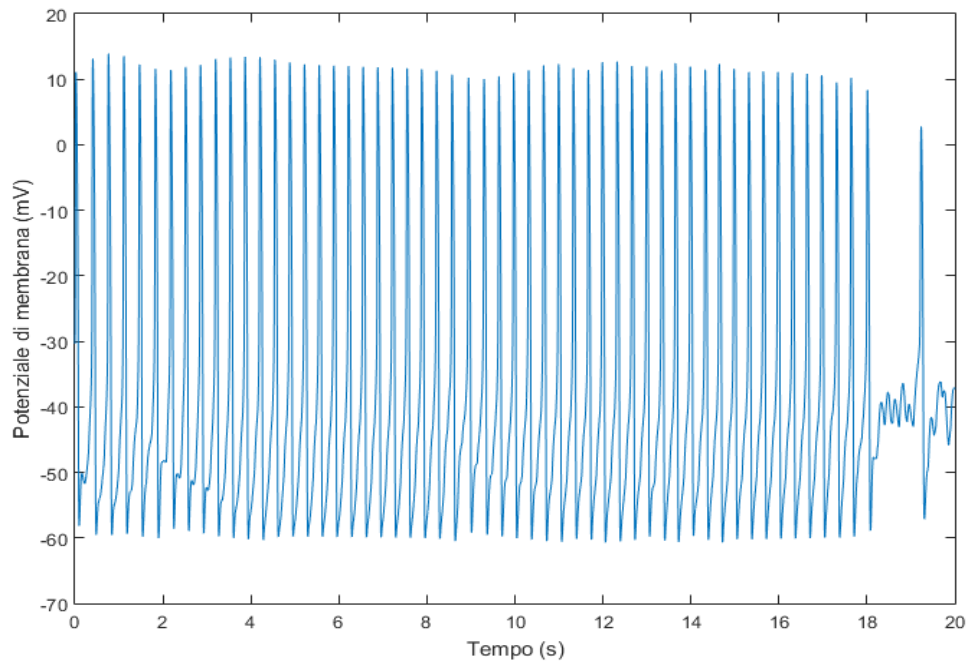


Figura 3.40: Timecourse della cellula con CL 1221ms ( $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ,  $\sigma = 0.4$ )

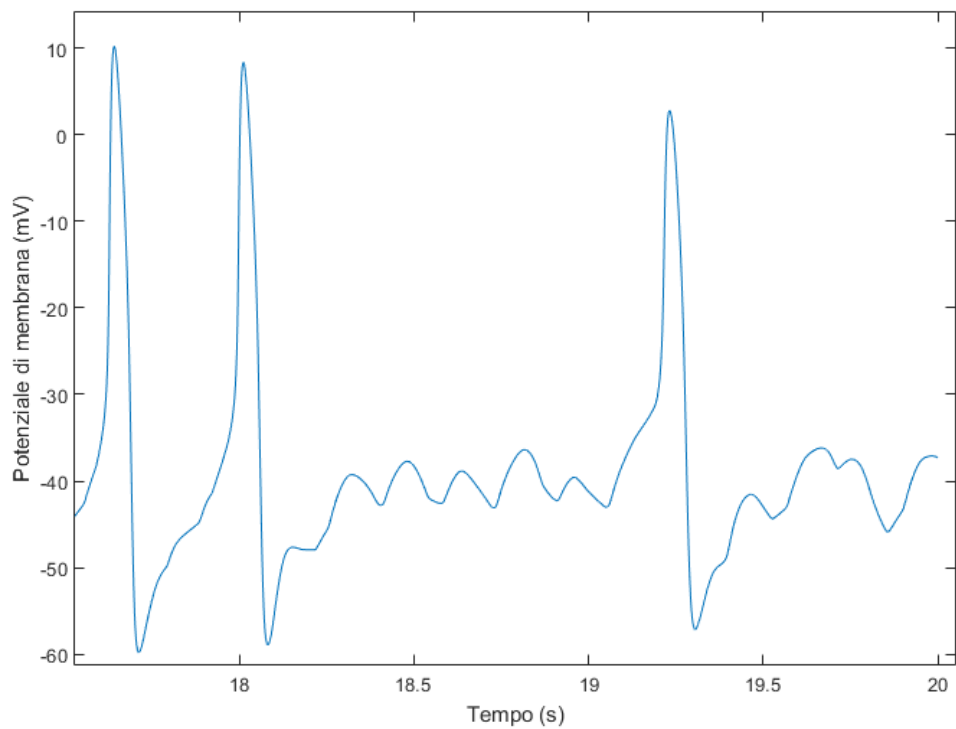


Figura 3.41 Timecourse della cellula con CL 1221 ms ( $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ,  $\sigma = 0.4$ ), dettaglio degli ultimi secondi

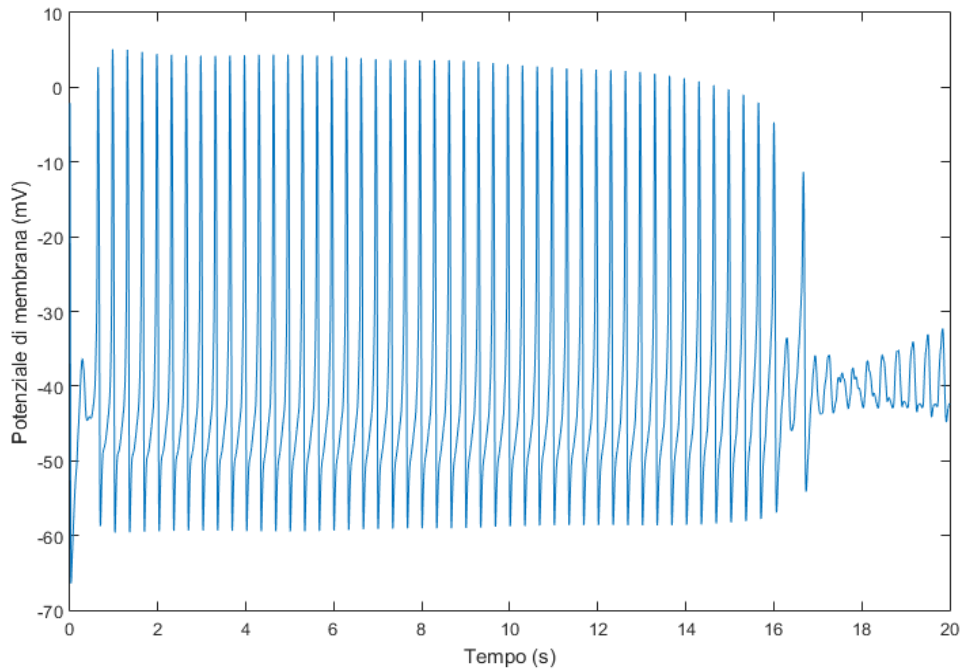


Figura 3.42: Timecourse della cellula con CL 670ms ( $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ,  $\sigma = 0.4$ )

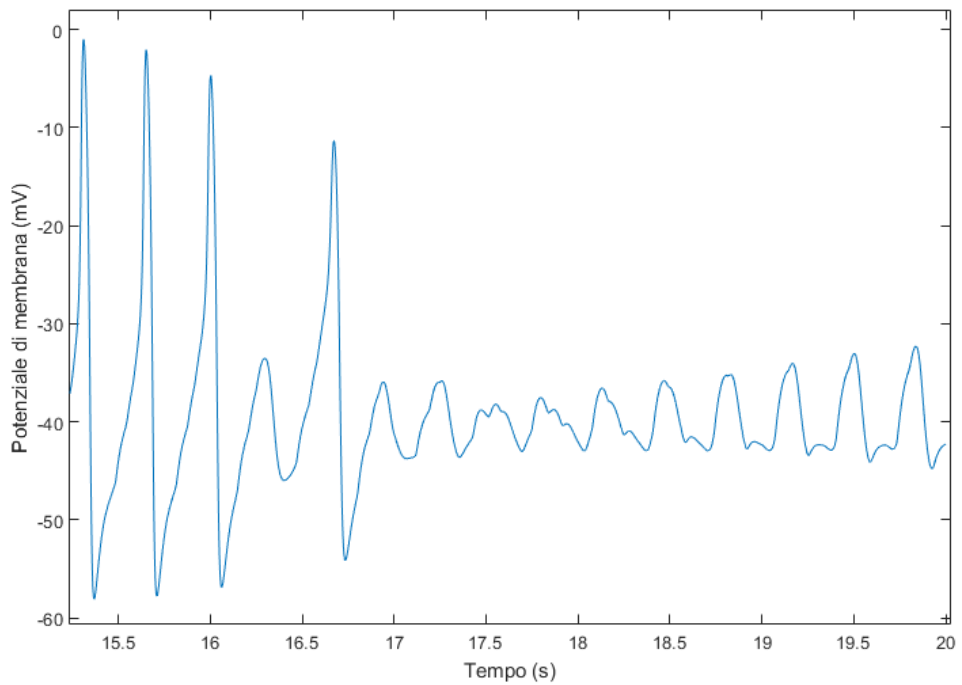


Figura 3.43: Timecourse della cellula con CL 670ms ( $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ ,  $\sigma = 0.4$ ), dettaglio degli ultimi secondi

Osservando i timecourse delle due cellule rappresentati nelle figure 3.40 e 3.42, si nota che nessuna delle due raggiunge uno steady state. Negli ultimi secondi della simulazione ci sono tentativi falliti di generare AP per entrambe le cellule (figure 3.41 e 3.43)



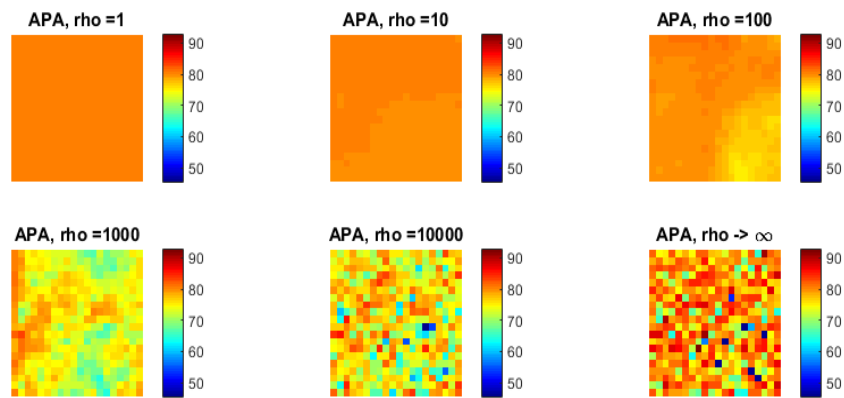


Figura 3.44: Colour map dei valori di APA dopo 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.4$ . colori più caldi corrispondono a valori più elevati di APA

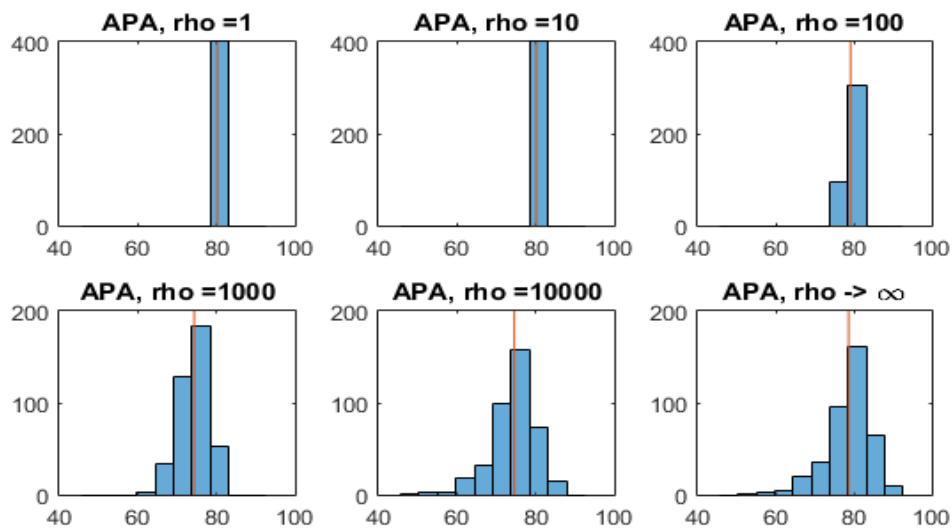


Figura 3.45: Distribuzioni dei valori di APA dopo 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.4$ . la linea arancione indica il valor medio.

Rho [MΩ m]	APA <sub>min</sub> [mV]	APA <sub>medio</sub> [mV]	APA <sub>max</sub> [mV]
<b>1</b>	80.2	80.3	80.3
<b>10</b>	79.8	80.1	80.3
<b>100</b>	75.2	79.2	81.3
<b>1000</b>	64.1	74.3	83.1
<b>10000</b>	45.6	74.6	85.8
<b>Cellule disaccoppiate</b>	52.3	78.7	92.6

Tabella 3.17: valori minimo, medio, massimo di APA dopo 20 secondi di simulazione di tessuti composti da cellule eterogenee con  $\sigma = 0.4$

I valori di APA medi si riducono con l'aumentare del valore di rho (da 80.3 a 74.6 mV). il range aumenta con l'aumentare di rho (<0.1mV per rho=1 MΩ m, fino a 40.2mV per R = 10000 MΩ m).



## 4. Discussioni e Conclusioni

L'obiettivo di questo lavoro è valutare gli effetti dell'accoppiamento e dell'eterogeneità sul tessuto di NSA. Sono stati simulati gli andamenti dei potenziali di membrana di tessuti 2D composti da 400 cellule, omogenee ed eterogenee, con diversi valori di resistenza per l'accoppiamento tra cellule del NSA di coniglio, utilizzando il modello Severi-DiFrancesco. Sono state confrontate le prestazioni di varie implementazioni, per stabilire quale fosse la più adatta allo scopo.

Il benchmarking per stabilire quale implementazione fosse la più adatta ha messo a confronto il tempo di esecuzione impiegato da algoritmi a passo fisso e a passo variabile in diversi ambienti (Matlab, C++, CUDA).

Matlab è risultato l'ambiente con tempi di calcolo più lunghi. Il passaggio a C++ e CUDA ha abbattuto notevolmente i tempi.

Tutti i metodi implementati in Matlab mantengono i risultati della simulazione in memoria RAM, arrivando a saturarla. La necessità di spostare sull'hard disk i dati può aver contribuito al rallentamento.

Dato l'eccessivo tempo computazionale impiegato da Matlab, l'attenzione si è concentrata sull'implementazione in C++ e CUDA.

L'implementazione in C++ si è rivelata la più rapida per tessuti fino a 400 cellule. L'implementazione in CUDA è stata la più rapida per tessuti a partire da 900 cellule.

Le simulazioni effettuate riguardano tessuti composti da 400 cellule, dove C++ parallelizzato si è rivelato più rapido. È stato però preferito l'utilizzo della soluzione implementata in CUDA, per poterne permettere un utilizzo futuro per simulazioni con un numero superiore di cellule.

Gli effetti dell'eterogeneità cellulare e della forza dell'accoppiamento sul comportamento del tessuto NSA sono stati investigati osservando i cambiamenti a carico dei biomarker CL e APA

<b>Rho\σ</b>	<b>Omogenee</b>	<b>0.05</b>	<b>0.1</b>	<b>0.1873</b>	<b>0.3</b>	<b>0.4</b>
<b>1</b>	354	355	354	352	346	337
<b>10</b>	354	354	354	352	345	338
<b>100</b>	355	354	354	352	345	336
<b>1000</b>	355	354	353	349	335	319
<b>10000</b>	340	340	341	342	336	333
<b>disaccoppiate</b>	355	355	355	357	359	369

Tabella 4.1 valori medi di CL in ms, nelle varie simulazioni.

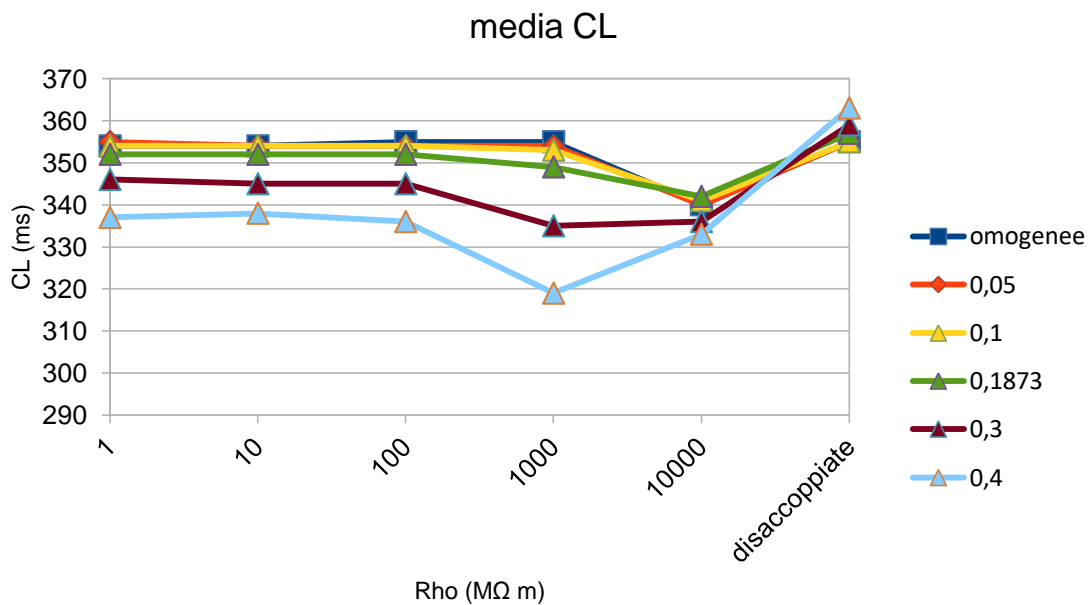


Figura 4.3: valori medi di CL, raggruppati per valori di  $\sigma$ .

In figura 4.3 sono rappresentati gli andamenti del valore medio di CL al variare di rho. Si può notare che, all'aumentare del valore di rho, fino a 1000 MΩ m, diminuisca il valore medio di CL. Questo significa che le cellule stanno oscillando più rapidamente. Tale andamento è mantenuto anche per alti livelli di disaccoppiamento, con l'esclusione dei casi per  $\sigma = 0.3$  e  $0.4$ , dove l'eterogeneità cellulare è elevata.

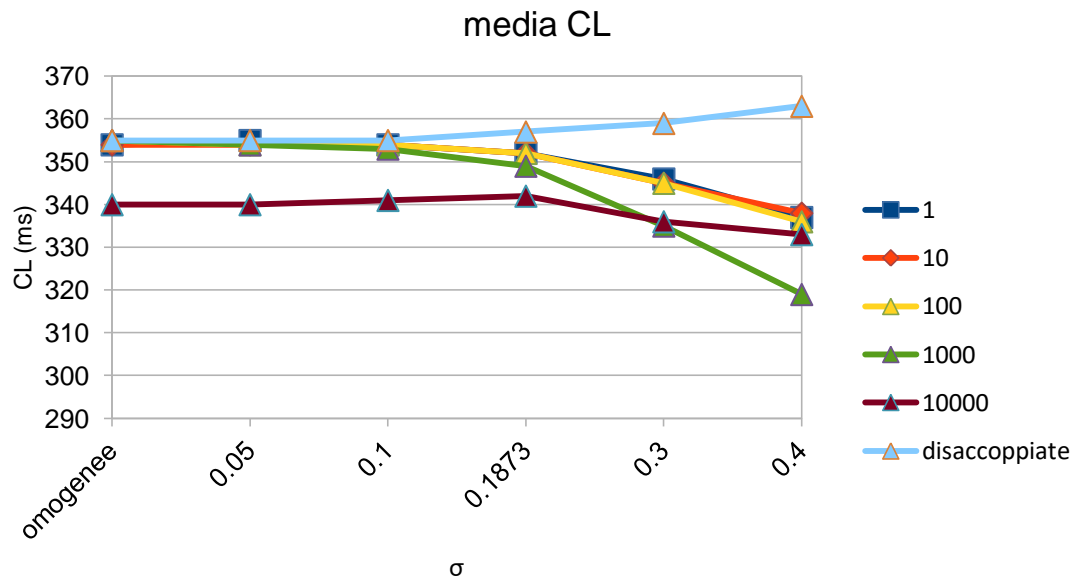


Figura 4.4: valori medi di CL, in ms, raggruppati per valori di rho.

In figura 4.4 sono rappresentati gli andamenti del valore medio di CL al variare di  $\sigma$ . Quello che emerge dal grafico è che l'aumento dell'eterogeneità fa sì che le cellule più veloci portino anche le altre su una frequenza più rapida. Per cellule con  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , CL si è mostrato più basso rispetto al valore medio nominale, indipendentemente dal grado di eterogeneità.

$\rho \backslash \sigma$	omogenee	0.05	0.1	0.1873	0.3	0.4
1	80.3	80.3	80.3	80.3	80.3	80.2
10	80.3	80.3	80.3	80.3	80.3	80.1
100	80.3	80.3	80.2	80.1	79.9	79.2
1000	80.3	80.2	79.8	78.8	76.3	74.6
10000	76.9	76.8	77.0	76.9	76.0	74.6
disaccoppiate	80.3	80.3	80.2	79.9	79.5	78.7

Tabella 4.2: valori medi di APA in mV, nelle varie simulazioni.

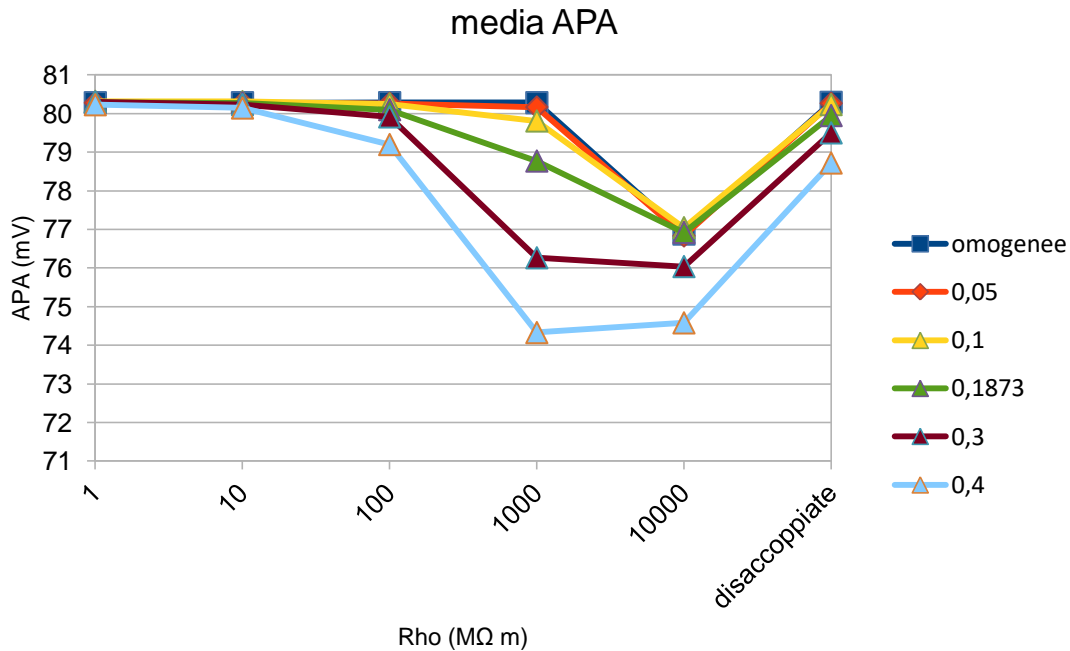


Figura 4.5. valori medi di APA, in mV, raggruppati per valore di  $\sigma$

In figura 4.5 sono rappresentati gli andamenti del valore medio di APA al variare del valore di  $\rho$ . Si può notare come il valore medio di APA tenda a diminuire al diminuire dell'accoppiamento. Tale andamento è mantenuto anche per alti livelli di disaccoppiamento, con l'esclusione dei casi per  $\sigma = 0.3$  e  $0.4$ , dove l'eterogeneità cellulare è elevata.

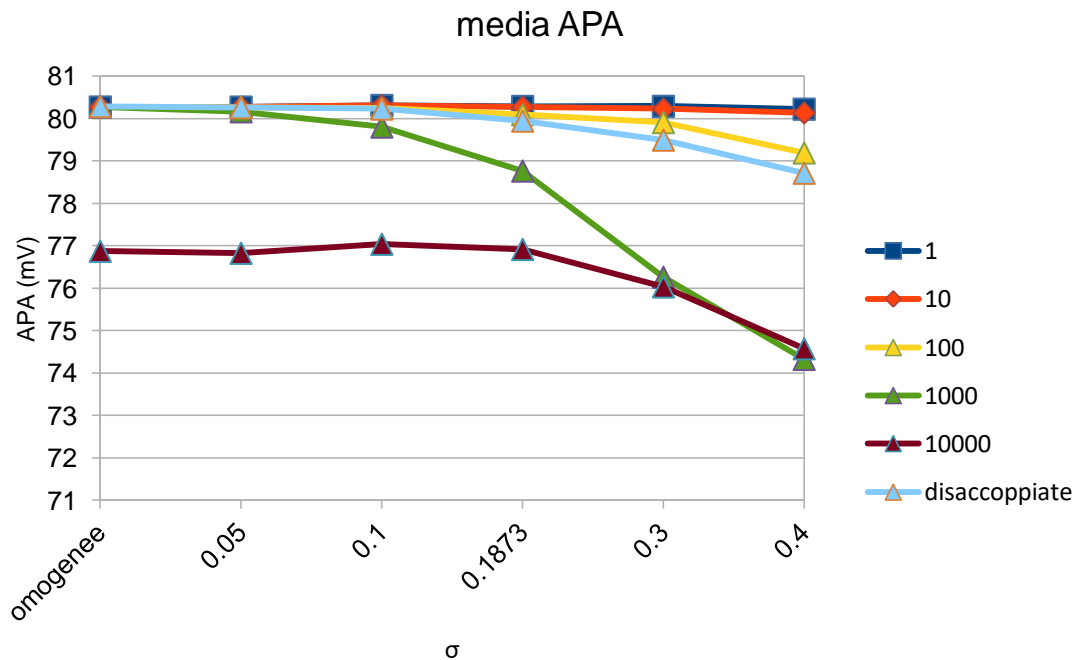


Figura 4.6: valori medi di APA in mV, raggruppati per valore di rho.

In figura 4.6 sono rappresentati gli andamenti del valore medio di APA al variare di  $\sigma$ . Si può notare come per  $\rho = 1, 10, 100, 1000 \text{ M}\Omega \text{ m}$  e per le cellule disaccoppiate, il valore di APA medio per cellule omogenee sia lo stesso, e tenda a diminuire all'aumentare dell'eterogeneità. Nel caso di  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , il comportamento dei valori di APA è simile, ma per tutti i valori di  $\sigma$ , e anche per cellule omogenee, parte da valori inferiori.

Il diverso comportamento dei tessuti per  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , può essere compreso osservando il timecourse del potenziale d'azione di ciascuna delle 400 cellule, rappresentato attraverso una colour map.

In tutte le simulazioni con valori di accoppiamento da 1 a 1000  $\text{M}\Omega \text{ m}$  i potenziali di membrana di tutte le cellule si sincronizzano, dopo una fase transitoria, arrivando ad avere tutte lo stesso valore di potenziale nello stesso istante di tempo. Nelle simulazioni con  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , invece, le cellule non sono sincronizzate.

Il collegamento elettrico tra cellule permette di osservare fenomeni emergenti, che non si potrebbero osservare in single cell. La corrente di gap junction introduce un contributo modulatore che fa sentire i suoi effetti soprattutto durante la depolarizzazione diastolica, la fase più sensibile a piccole variazioni delle correnti. Per valori di  $\rho$  compresi tra 1 e 1000  $\text{M}\Omega \text{ m}$ , le cellule si sincronizzano su una frequenza più rapida rispetto al valore medio della popolazione di cellule disaccoppiate e del modello in single cell con valori nominali. Con  $\rho = 10000 \text{ M}\Omega \text{ m}$ , le cellule non raggiungono un valore unico di CL (non tutte si sincronizzano) nei 20 secondi di simulazione. Quando  $\sigma$  è elevata ( $\sigma = 0.3$  e  $0.4$ ) la maggior parte delle cellule si assesta ad una frequenza più rapida della frequenza media, ma più lenta rispetto alla cellula più veloce.

Confrontando i risultati con quelli ottenuti nel lavoro di tesi di Chiara Campana [14], si può notare come i modelli Maltsev e Severi-DiFrancesco abbiano un comportamento analogo al variare di  $\rho$  e  $\sigma$ . I risultati della tesi di Campana

evidenziano che le cellule collegate tra loro si sincronizzano su una frequenza inferiore al valore medio della popolazione di cellule disgiunte e del modello single cell con valori nominali, ma superiore alla frequenza della cellula più rapida. Questo lavoro di tesi conferma questo comportamento anche per il modello Severi-DiFrancesco.

Una differenza notevole, invece, consiste nella robustezza del modello alle variazioni dei parametri dati da  $\sigma$ . Il modello Maltsev presenta cellule non autooscillanti già per valori di  $\sigma = 0.1873$ , fino ad arrivare al 40% per  $\sigma = 0.4$ . Utilizzando il modello Severi-DiFrancesco solo l'1.5% delle cellule perde autoritmicità per  $\sigma = 0.4$ , dimostrandosi più resistente a variazioni delle correnti ioniche.

Una questione aperta, che potrebbe essere affrontata in futuro, riguarda il rapporto tra il comportamento a regime dei tessuti con  $\rho = 10000$  e i valori di APA. c'è una corrispondenza, per ora solo qualitativa e a livello di ipotesi, tra la posizione delle cellule con bassi valori di APA e alcuni pattern periodici di eccitazione della membrana cellulare. Il criterio usato è il confronto ad occhio nudo della mappa dell'APA con l'animazione dell'evoluzione del potenziale di membrana nei 20 secondi di simulazione. Questa corrispondenza deve essere approfondita con un'indagine quantitativa.



## Bibliografia

1. A.L. Hodgkin, A.F. Huxley. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology*. 1952.
2. Severi S., Fantini M., Charawi LA, DiFrancesco D. An updated computational model of rabbit sinoatrial action potential to investigate the mechanisms of heart rate modulation. *Journal of Physiology*. 2012.
3. Textbook of Cardiology  
[https://www.textbookofcardiology.org/wiki/Cardiac\\_Arrhythmias](https://www.textbookofcardiology.org/wiki/Cardiac_Arrhythmias)
4. E.G. Lakatta, V.A. Maltsev. Synergism of coupled subsarcolemmal  $Ca^{2+}$  clocks and sarcolemmal voltage clocks confers robust and flexible pacemaker function in a novel pacemaker cell model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009.
5. *Ionic Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Associates, 1992.
6. Cable Theory, immagine [https://en.wikipedia.org/wiki/Cable\\_theory](https://en.wikipedia.org/wiki/Cable_theory)
7. Sathya D. Unudurthi, Roseanne M. Wolf, and Thomas J. Hund. Role of sinoatrial node architecture in maintaining a balanced source-sink relationship and synchronous cardiac pacemaking. *Front Physiol*. 2014.
8. ppl.h libreria per il parallelismo <https://msdn.microsoft.com/it-it/library/dd492418.aspx>
9. Visual Studio <https://www.visualstudio.com>
10. CUDA <https://developer.nvidia.com/cuda-toolkit>
11. The CellML Project <https://cellml.org>
12. COR: Cellular Open Resource <http://www.opencor.ws/cor/index.html>
13. CUDA in Visual Studio <http://docs.nvidia.com/cuda/cuda-installation-guide-microsoft-windows/index.html>
14. C.Campana. A 2-Dimensional computational model to analyze the effects of cellular heterogeneity on cardiac pacemaking. 2014.
15. Sander Verheule, Marjan J. A. van Kempen, Sjoerd Postma, Martin B. Rook, Habo J. Jongsma. Gap junctions in the rabbit sinoatrial node. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001.
16. Wim K. Bleeker, Albert J.C. Mackaay, Mireille Masson-Pévet, Lennart N. Bouman, Anton E. Becker. Functional and Morphological Organization of the rabbit sinus node. *Circ Res*. 1980.