

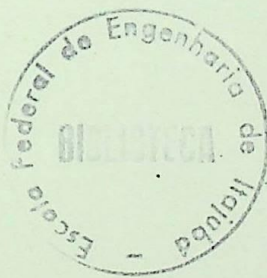
TESE

50

BERNANDO JOSE COSTANTI

Modêlo de Potencial
de Ação Cardíaco

MODÉLO DE POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO



Fernando J. Costanti

Cl. 577.23: 681.34 (049, 2)

Call. C 838 m

Tombe 50

Fernando J. Costanti

MODELO DE POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO

*Trabalho apresentado como Tese de
Mestrado em Engenharia Elétrica,
na Escola Federal de Engenharia
de Itajubá - Minas Gerais.*

CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO DA
ESCOLA FEDERAL DE ENGENHARIA DE ITAJUBÁ

1970

P R E F Á C I O

Apresentamos, neste trabalho, um modelo para o estudo do mecanismo iônico do potencial de ação encontrado nas células das fibras de Purkinje.

Atribuimos ênfase especial à exposição do método de identificação de parâmetros do modelo, utilizando um computador híbrido. Assim sendo, não houve demasiada preocupação com a adequação biofísica do modelo. Tratando-se, de uma área especializada da ciência biomédica, esperamos conseguir, em trabalhos posteriores, maiores conhecimentos e melhor compreensão dos processos biológicos envolvidos no assunto, tendo em vista que, no momento, nosso objetivo principal é exemplificar a utilidade da computação híbrida em problemas de busca de parâmetros para modelos biológicos.

Um outro aspecto importante que procuramos atender em nosso trabalho e que nos obrigou a descer a considerações de ordem puramente didática foi a apresentação especificamente dirigida a engenheiros. Desta forma, os comentários e as considerações de teor biofísico foram limitadas ao mínimo necessário, para elucidar detalhes do modelo, numa linguagem que parecerá elementar ao especialista da área biomédica.

Nosso estudos preliminares e pesquisas bibliográficas se iniciaram em julho de 1966, durante o transcurso de uma bolsa de estudos concedida pela *Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)* junto a *Coordenação dos Programas Pós-Graduados de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (COPPE)*.

Naquela ocasião, tivemos inicialmente a orientação do Professor Augusto Benchimol, que muito nos estimulou, sugerindo alguns temas de trabalhos na área da Engenharia.

ria Biomédica.

Para o levantamento bibliográfico inicial utilizamos as bibliotecas da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro e do Instituto de Biofísica da mesma Universidade.

Durante êsse período, obtivemos ainda valiosas informações do Professor Antonio Paes de Carvalho, Chefe do Laboratório de Eletrofisiologia Cardíaca, do Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, a quem desejamos consignar aqui nossos agradecimentos e profunda admiração.

Por sugestão do Professor Augusto Benchimol, visitamos o Departamento de Cardiologia do Hospital das Clínicas - "*Pedro Ernesto*", a fim de tomar contacto com alguns aparelhos eletrônicos em uso naquêle Departamento, quando tivemos então as primeiras idéias em tórno de uma Tese relacionada com fenômenos de membranas celulares, em especial o estudo de modêlos para o potencial de ação cardíaco.

No início de 1967, havendo o Professor Augusto Benchimol se desligado da COPPE, tivemos a orientação bastante proveitosa do Professor Júlio Coutinho. Até final de junho de 1967 prosseguimos em nosso estudo e trabalhos, interrompendo-os, porém, por motivos de obrigações administrativas juntos a *Escola Federal de Engenharia de Itajubá*.

Sômente no início deste ano pudemos retomar o trabalho e concluí-lo, devendo-se ressaltar nesta etapa final a cooperação de meu colega e amigo Professor José Abel Royo dos Santos nos trabalhos de computação analógica e híbrida bem como na orientação final da Tese.

Queremos agradecer ainda aos meus colegas de Direção da EFEEI pelo apôio que sempre emprestaram às nossas idéias e pelo amparo que tem sido dada às nossas pretensões de criar, na COORDENAÇÃO DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DA ESCOLA FEDERAL DE ENGENHARIA DE ITAJUBÁ, o Programa de En-

genharia Biomédica, em cuja área esta Tese será o primeiro de uma série de futuros trabalhos e pesquisas, que pretendemos realizar.

Devemos salientar, finalmente, o inestimável apoio financeiro do *CONSELHO NACIONAL DE PESQUISAS (CNPq)* que nos possibilitou a aquisição de equipamentos suplementar para as instalações de cálculo análogo-digital. Tal suplementação possibilitará, igualmente, a continuação de nossas pesquisas em simulação de modelos biológicos.

Itajubá, Junho de 1970

S I N O P S E

O trabalho trata de identificação automática de parâmetros de um modelo para estudo do mecanismo do potencial de ação das células das fibras de Purkinje.

A exposição está dividida em três partes:

I. *FUNDAMENTOS DA BIOELETROGÊNESE* - onde se apresentam as bases para compreensão dos fenômenos de excitação dos nervos e músculos e da propagação do potencial elétrico gerado pelas células vivas. São transcritas, nessa parte, as equações de Hodgkin e Huxley.

II. *O POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO* - onde se descreve o comportamento bioelétrico das células do miocárdio, apontando-se as diferenças entre tais células e as demais. Transcreve-se nesta parte um trabalho de D. Noble e a hipótese dualista de Paes de Carvalho.

III. *MODELO PROPOSTO PARA O POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO* onde é apresentado um modelo no qual se considera a queda da condutância do potássio como uma possível-consequência da liberação de um agente químico no local. Postula-se um modelo de dois compartimentos para simular o transporte do referido agente e a consequente alteração da condutância do potássio.

Alguns parâmetros do modelo são determinados com o auxílio de um computador híbrido.

1. FUNDAMENTOS DA BIOELETROGÊNESE

1.1 - Transporte através das membranas celulares

A célula pode ser considerada como uma unidade biológica, constituída por um sistema físico-químico de três fases distintas: *fase extracelular, fase intracelular e membrana*. Uma das principais tarefas executadas pelo processo vital consiste em manter determinadas concentrações de substâncias em seu meio interno, contrariando eventuais tendências de igualação dessas concentrações com as do meio externo.

Um apropriado estado é necessário para as funções bioquímicas normais da célula. Além disso, uma distribuição adequada das concentrações de substâncias químicas pode servir para fins funcionais, tais como a geração e propagação de potenciais elétricos ou o transporte de determinados materiais.

Em todos esses fenômenos se evidencia a importância da membrana celular que aparece não simplesmente como um envoltório da fase intracelular mas como um complexo sistema físico-químico, exercendo funções ativas no transporte de substâncias químicas e na manutenção do estado mais conveniente para a organização celular.

A membrana é extremamente fina, com cerca de 100 angstroms, podendo apresentar em alguns casos camadas de proteção mais espessas, nos limites da visibilidade microscópica.

Não há ainda um conhecimento exato da estrutura interna da membrana. Esse conhecimento se desenvolve, atualmente, em várias frentes de trabalho tais como: *análise química, estudo das propriedades físico-químicas da célula*

viva, microscopia eletrônica de grande poder de resolução e difração de Raios X.

Os resultados levam a admitir que a membrana esteja constituída de lipídeos e proteínas. Atualmente dá-se muita importância à presença dos fosfolipídios na membrana celular. Pensa-se que os fosfolipídios não apenas contribuem para a estruturação e impermeabilidade seletiva da membrana como também desempenham funções mais dinâmicas nos processos de transporte de substâncias através da membrana.

Uma molécula fosfolipídica contém glicerol e fosfato, que são solúveis em água e um ácido graxo, altamente insolúvel. Nas membranas celulares essas moléculas são dispostas com os terminais ácido-graxos internamente adjacentes e com as extremidades solúveis ligadas a camadas de proteína das paredes externas da membrana. O aspecto global dessa estrutura costuma ser comparado com um sanduíche de manteiga onde o ácido graxo interior constitui a "manteiga". Nessa estrutura está inserido um sistema de enzimas, isto é, catalisadores proteicos que comandam as operações químicas.

A figura (1) procura dar uma visão esquemática da estrutura descrita. Nela estão representadas as duas camadas lipídicas com suas extremidades graxas em oposição, no interior da membrana. Vê-se também duas camadas de proteínas coatadas com proteínas globulares da parte mais externa das paredes.

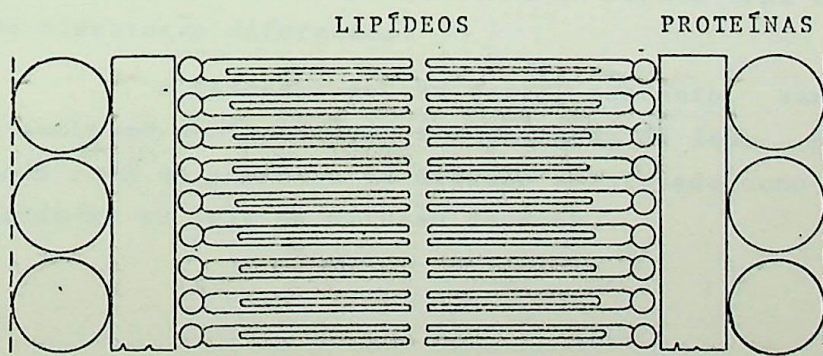


FIG. 1

Admite-se que ions e outras substâncias essenciais às funções vitais da célula atravessem a membrana segundo um ou mais processos que serão descritos sucintamente, a seguir.

1.1.1 - Transporte por poros

A membrana seria perfurada com poros de diâmetro aproximado de 7 angstrons. Os ions passariam por êsses poros. O fluxo seria controlado pela quantidade de poros por unidade de área e pelos efeitos restritivos aos ions de diferentes diâmetros. A membrana, em certos casos, pode ser 50 vezes mais permeável ao K^+ do que ao Na^+ . Essa diferença seria devida ao maior raio do ion Na^+ ligado às moléculas dipolares de água. Tais ions hidratados teria 5 angstrons enquanto os de K^+ teriam 4 angstrons.

É interessante notar que o ion Na^+ apesar de possuir pêso menor do que K^+ ou Cl^- é maior por estar hidratado.

Um detalhe que tem sido incorporado à idéia de poros é o da carga elétrica dominante na região do poro. Ter-se-ia assim poros neutros, positivos ou negativos. O sinal da carga dependeria da proporção entre o número de grupos químicos positivos (v.g animais) e negativos (v.g carboxila). A figura (2) mostra esquemáticamente um poro, delineado por moléculas positivas. Mostra-se ainda na figura ions com raios de hidratação diferentes.

A membrana porosa seria, portanto, semelhante a uma membrana semipermeável e a passagem de ions pode ser encarada como um processo de difusão e estudada como tal, aplicando-se as leis da difusão de Fick.

1.1.2 - Transporte químico

Haveria uma molécula que se combinaria preferencialmente com determinados íons e os transportaria através da membrana. A figura (3) apresenta um esquema hipotético do transporte de íons de Na^+ e K^+ . As substâncias X e Y, por hipótese, estão confinadas à membrana e podem se locomover nela. X tem grande afinidade por K^+ ; Y por Na^+ . As moléculas X e Y movem-se através da membrana somente quando em combinação com um íon. A transformação de Y em X pode ser um processo enzimático e a transformação inversa requer dispêndio de energia, que poderá ser obtida mediante reações químicas do metabolismo celular.

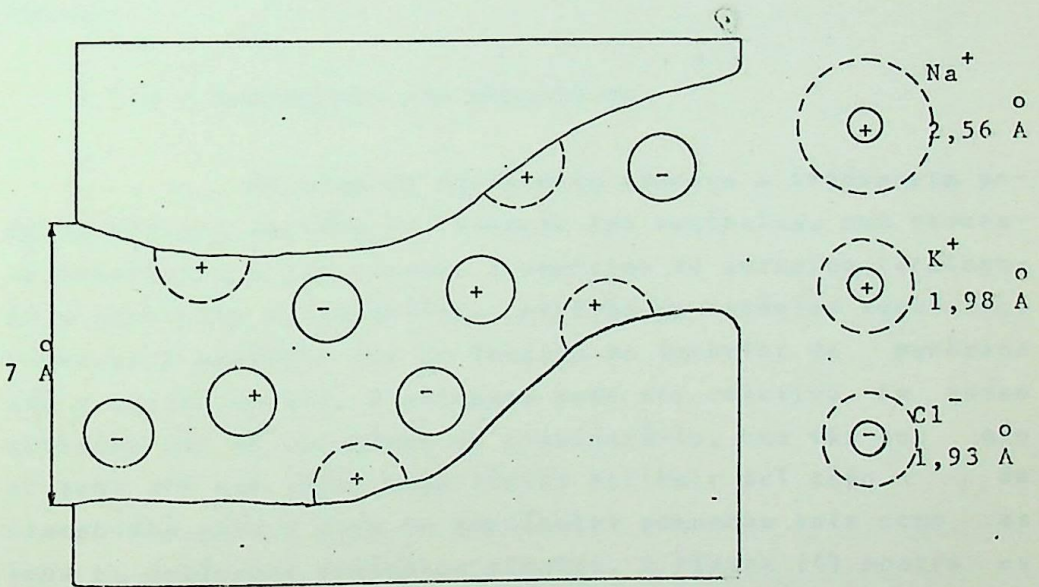


FIG. 2

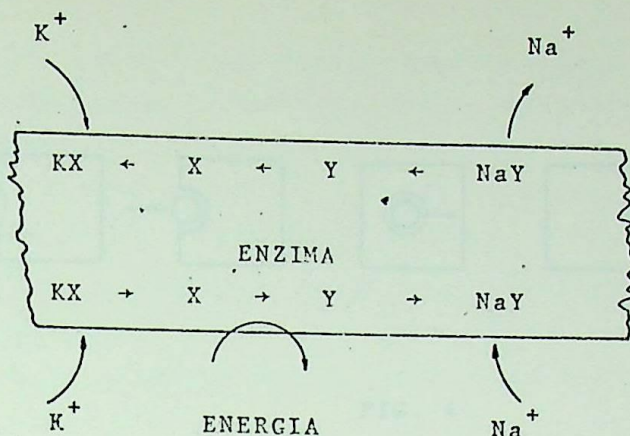


FIG. 3

É razoável supor-se que o sistema de transporte químico varie em seus detalhes de um tipo de célula para outro.

1.1.3 - Transporte por pinocitose

No caso de partículas grandes o transporte pode se efetuar através da formação das vesículas, num processo semelhante à fagocitose. A membrana se invagina, recolhendo a partícula na superfície. Através de estágios sucessivos forma-se a vesícula que se desloca no interior da membrana até a região oposta. O processo pode ser seletivo. Em nosso trabalho não há interesse em considerá-lo, uma vez que não se sabe até que ponto seja lícito atribuir tal tipo de transporte para o caso de partículas pequenas tais como os ions ou moléculas orgânicas simples. A figura (4) mostra as diversas fases de um transporte por pinocitose.

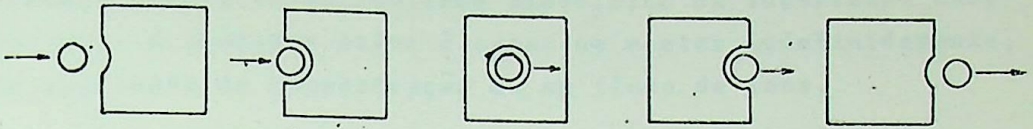


FIG. 4

1.1.4 - Transporte por passagem direta

Existem substâncias que podem penetrar diretamente na estrutura membranosa como se fôsem solúveis na composição lipoproteica. Define-se um coeficiente de partição que é a relação entre a concentração da substância na membrana e a concentração no exterior. Os principais materiais que atravessam diretamente a membrana são os orgânicos lipo-solúveis e gases dissolvidos. O caso de transporte químico, poderia ser considerado um caso particular do mecanismo de passagem direta. Existe ainda o caso onde não é necessário um carreador móvel. Nêsse caso haveria centros de ligação fixos no interior da membrana podendo compartilhar sua energia química, facilitando o transporte de partículas através da membrana.

1.1.5 - Transportes ativos e passivos

Independentemente do conhecimento da maneira exata pela qual os ions atravessam a membrana, podemos classificar os processos de transporte em: *passivos e ativos*. Quando for passivo, o fluxo resultante é aproximadamente, proporcional ao gradiente da concentração iônica, consumindo somente a energia livre do sistema. Se não incluirmos outros mecanismos o sistema passivo atingirá um estado de energia mínima e os fluxos resultantes, para cada ion, serão nulos.

O processo passivo não requer fonte de energia externa metabólica. No processo ativo existe um consumo de energia externa a partir do metabolismo bioquímico de substratos energéticos. O processo ativo é capaz de manter indefinidamente, um gradiente de concentração ou um fluxo de ions.

Faremos a seguir uma exposição sumária de processos passivos e uma apreciação acêrca dos ativos, introduzindo assim alguns conceitos que serão utilizados nas próximas seções.

1.2 - Mecanismos passivos de transporte

1.2.1 - Difusão

O processo de difusão se aplica a partículas dotadas de movimentos aleatórios e pode ser estudado a partir de considerações de mecânica estatística. O fluxo resultante, nêsse processo, através de uma membrana que separa dois meios de concentrações C_1 e C_2 é proporcional à diferença das concentrações podendo-se escrever:

$$M = P (C_1 - C_2) \quad (1)$$

onde:

$$M = \text{gramas/cm}^2 \cdot \text{seg}$$

P = coeficiente de proporcionalidade

$$C_1 \text{ e } C_2 = \text{gramas/cm}^3$$

pois o fluxo na direção $1 \rightarrow 2$ é proporcional à concentração C_1 e o fluxo na direção contrária $2 \rightarrow 1$ é proporcional a concentração C_2 . Tal resultado é compreensível, uma vez que podemos supor que o número de partículas que passam pela unidade de área da membrana, num certo tempo, é proporcional à frequência com que elas se chocam com as membranas, sendo portanto proporcional ao número de partículas próximas à membrana.

O coeficiente P é chamado permeabilidade. Depende, em parte, da espessura da membrana; depende também da energia dispendida na travessia, isto é, da barreira de energia. Tais relações podem ser expressas, utilizando um coeficiente de difusão \bar{D} , tal que:

$$P = \frac{\bar{D}}{x_0} \quad (2)$$

onde:

x_0 = espessura da membrana

Combinando (1) e (2), teremos:

$$M = \bar{D} (C_1 - C_2) / x_0 \quad (3)$$

Como:

M = massa/área . tempo

podemos escrever:

taxa de transporte = MS = massa/tempo

onde:

S = área total envolvida na difusão

A expressão (3) pode ser posta sob forma diferencial, considerando-se uma espessura muito pequena $x_0 = dx$. Nesse caso o coeficiente \bar{D} será considerado com seu valor local D . Resulta:

$$M = - D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (4)$$

onde o sinal negativo indica que o fluxo é no sentido contrário à variação da concentração. A expressão (4) corresponde à *Primeira Lei de Fick*, da difusão.

Convém observar que a difusão não é uma força no sentido usual do termo. Uma partícula não tem maior tendência para se mover na direção da concentração mais baixa.

O transporte resultante é devido somente à elevada concentração em um elemento de volume, na região de maior concentração. Nestas considerações precedentes não levamos em conta a possível dependência das partículas. No caso, principalmente, de elevadas concentrações devemos utilizar uma nova variável, denominada: *atividade A*, relacionada com a concentração por:

$$A = \gamma C \quad (5)$$

onde:

γ = coeficiente de atividade

Para baixas concentrações podemos tomar a atividade igual à concentração, excepto quando as partículas são ions ou apresentem ligações com certas moléculas ou ainda quando se trate de gases.

1.2.2 - Forças elétricas

A influência adicional de um campo elétrico sobre o movimento desordenado das partículas provoca um fluxo calculado por uma lei similar à lei de Ohm.

Com efeito, suponhamos que a velocidade do ion na direção do campo elétrico seja proporcional ao valor da intensidade de campo E , isto é:

$$\vec{v} = \eta \vec{E} \quad (6)$$

onde:

η = coeficiente de mobilidade iônica.

Considerando que:

$$M = \left(\frac{\text{massa}}{\text{volume}} \right) \cdot (\text{velocidade})$$

podemos escrever:

$$M = \eta C E$$

ou ainda:

$$M = - \eta C \frac{\partial V}{\partial x} \quad (7)$$

onde:

V = potencial elétrico

Se colocamos V_1 e V_2 os potenciais em cada lado, resulta:

$$M = \eta C(V_1 - V_2)/x_0$$

A densidade de corrente elétrica pode ser definida por:

$$J = (\text{carga}) \cdot (\text{fluxo})$$

ou:

$$J = N_0 \cdot e \cdot Z \cdot \eta \cdot C(V_1 - V_2)/x_0$$

$$J = Z F \eta C(V_1 - V_2)/x_0 \quad (8)$$

onde:

z = valência do íon

N_0 = número de Avogadro

e = carga do elétron

$F = N_0 e$ = constante de Faraday = 96496 coulomb.

A expressão (8) pode ser escrita ainda:

$$J = g(V_1 - V_2) = \quad (9)$$

onde:

$$g = z F \eta \frac{C}{x_0}$$

O termo g é chamado condutância específica. A expressão (9) é equivalente, para membranas biológicas, a conhecida Lei de Ohm.

1.2.3 - Osmose

O mecanismo da osmose é muito importante, principalmente para o transporte de água. Há dois tipos de for-

ças responsáveis por êsse transporte. O primeiro tipo é de origem mecânica, devido à diferença de pressões:

$$M = P_h (P_1 - P_2) \quad (10)$$

onde:

P_h = permeabilidade hidrostática

P_1 e P_2 = pressões

O coeficiente P_h pode ser calculado, usando a Lei de Poiseuille (no caso de dutos muito finos), dados da estrutura da membrana e viscosidade da água.

O segundo tipo é de origem termodinâmica, devido ao fenômeno da osmose propriamente dita:

$$M = P_o (A_1 - A_2) \quad (11)$$

onde:

P_o = coeficiente de osmose

A_1 e A_2 = atividades termodinâmicas

Convém observar que a difusão e a osmose são dois processos diferentes, embora possuam a mesma causa: o movimento aleatório de origem térmica. Enquanto que a difusão se baseia na bombardeamento das partículas sobre uma seção da membrana, a osmose caracteriza a tendência de escape do soluto quando mais solvente é anexado à solução. O gradiente osmótico é muito maior do que o de difusão. No caso da água a concentração molar não seria, obviamente, uma medida adequada da atividade. Podemos definir:

$$\text{atividade} = A_{H_2O} = 1 - k \Sigma C \quad (12)$$

onde:

C = concentração de soluto

k = constante

ΣC = osmolaridade (em osmols)

A osmolaridade deve levar em conta tôdas as espécies iônicas envolvidas. Por exemplo, 1 mV de glicose possui osmolaridade 0,001 osmols; 1 mM de CaCl_2 possui 3 miliosmols.

A equação (12) se fundamenta no fato de que a atividade de uma substância é proporcional à sua fração molar:

$$f_{\text{solute}} = \frac{(\text{mols de soluto})/\text{litro}}{(\text{mols de soluto} + \text{mols de água})/\text{litro}}$$

Para uma solução diluída resulta:

$$f_{\text{solute}} = (\text{mols de soluto/litro})/(\text{mols de água/litro})$$

ou, aproximadamente:

$$\begin{aligned} f_{\text{solute}} &= (\text{concentração de soluto})/55,5 = \\ &= 0,018 \cdot (\text{concentração do soluto}) \end{aligned}$$

Analogamente:

$$f_{\text{água}} = \frac{(\text{Mols de água})/\text{litro}}{(\text{Mols de água} + \text{Mols de soluto})/\text{litro}}$$

ou

$$f_{\text{água}} = 1 - (0,018) \cdot (\text{concentração do soluto})$$

donde se pode inferir uma expressão do tipo (12).

1.2.4 - Dragagem

O fluxo de água pode transportar partículas: é o fenômeno da dragagem pelo solvente. Quando esse fenômeno é dominante temos um fluxo proporcional à concentração do soluto e ao fluxo de água.

1.3 - Mecanismo ativos de transporte

1.3.1 - Definição

Uma das características fundamentais da vida é se opor à degradação de origem termodinâmica, utilizando para isso energia do metabolismo bioquímico. O mecanismo ativo contraria a ação dos gradientes de concentração e mantém quantidade de substâncias, dentro ou fora da célula, no valor mais satisfatório às funções celulares. Existem dois mecanismos utilizados pela célula viva:

- a) celular, que compreende reações químicas no interior e no exterior da célula;
- b) membranosos, que é antido às expensas de processos metabólicos no interior da membrana. Caracteriza-se por:
 - I - forças localizadas na membrana
 - II - forças que influenciam diretamente o movimento das partículas;
 - III - aumento de energia livre das partículas que atravessam a membrana;
 - IV - consumo de energia de origem metabólica.

As características gerais comuns aos dois mecanismos mencionados são:

- I - dependência de substratos metabólicos ;
- II - sensibilidade a venenos metabólicos;
- III - capacidade de manter diferenças de concentração, contrariando gradientes passivos;
- IV - capacidade de manter um fluxo, mesmo com ausência de um gradiente passivo.
- V - existência de saturação do fluxo.

1.3.1 - Mecanismos possíveis

A fim de estabelecer um sistema ativo de transporte, a natureza deve resolver dois importantes problemas:

- 1.a) *extrair metabòlicamente a energia necessària para o fluxo.*
- 1.b) *doar essa energia especificamente para uma determinada espècie.*

Devido à complexidade dos processos bioquímicos envolvidos, procura-se formular hipóteses, e tentar comprová-las experimentalmente. Podemos citar três processos propostos:

- 1º) o da molécula portadora, já citado. Por exemplo, a partícula A se combina com a molécula transportadora C, formando AC em um lugar da membrana. AC se difunde através da membrana e, de outro lado, encontra condições para se dissociar, utilizando uma segunda reação, com consumo de energia (v.g. transformação de adenosina trifosfato em adenosina difosfato). A partícula A é liberada então nêsse outro lado da membrana.
- 2º) o dos centros de ligação fixos no interior da estrutura da membrana, também já citado. A partícula liga-se numa determinada posição de ligação com um grupo molecular. Operando-se uma mudança na configuração, de ligação, esta se enfraquece e a partícula é então solicitada pelo centro de ligação adjacente, migrando assim através da membrana.
- 3º) pinocitose, já descrito anteriormente.

1.3.3 - Contrôle do transporte ativo

O transporte ativo é controlado a fim de atender as necessidades funcionais do organismo. O mecanismo de

contrôle são complexos, embora possamos postular alguns processos que se evidenciam experimentalmente. Citaremos:

- 1º) *Contrôle químico e hormonal direto* - por exemplo a aldosterona influencia o balanço eletrolítico, estimulando o transporte ativo do sódio e potássio.
- 2º) *Contrôle através da permeabilidade passiva* - a variação da permeabilidade passiva numa região da membrana pode controlar o rendimento de um transporte ativo da substância:
- 3º) *Contrôle circulatório* - pode ser efetuado variando-se a taxa de circulação de substratos metabólicos e a remoção de produtos terminais ou ainda pela ação de órgãos secretores que modificam a concentração da substância transportadora.
- 4º) *Contrôle intracelular* - quando células adjacentes, possuem diferentes taxas de transporte, deve existir um método de ajustamento do transporte ativo de uma célula individual. O mecanismo é pouco conhecido, no momento, em detalhes. Uma hipótese plausível é a influência da concentração intracelular da substância, provocando uma ação homeostática, de realimentação negativa.

1.4 - Potenciais Elétricos e concentrações iônicas

Ao se examinar uma célula e o seu meio externo, notamos duas diferenças marcantes:

- a) a concentração dos diferentes ions no interior é bastante diferentes do exterior;
- b) existe uma diferença de potencial entre os fluidos intracelular e extracelular.

Na figura (5) apresentamos as concentrações iônicas aproximadas e a diferença de potencial para um certo tipo de célula muscular.

O fluido extracelular contém elevada concentração de Na^+ e Cl^- e baixa concentração de K^+ . O fluido intracelular possui alta concentração de K^+ e baixa concentração, de Cl^- e Na^+ . Existe uma diferença de potencial de cerca de 90 mV entre o interior e o exterior da célula, com o interior negativo, como se indica na figura (5).

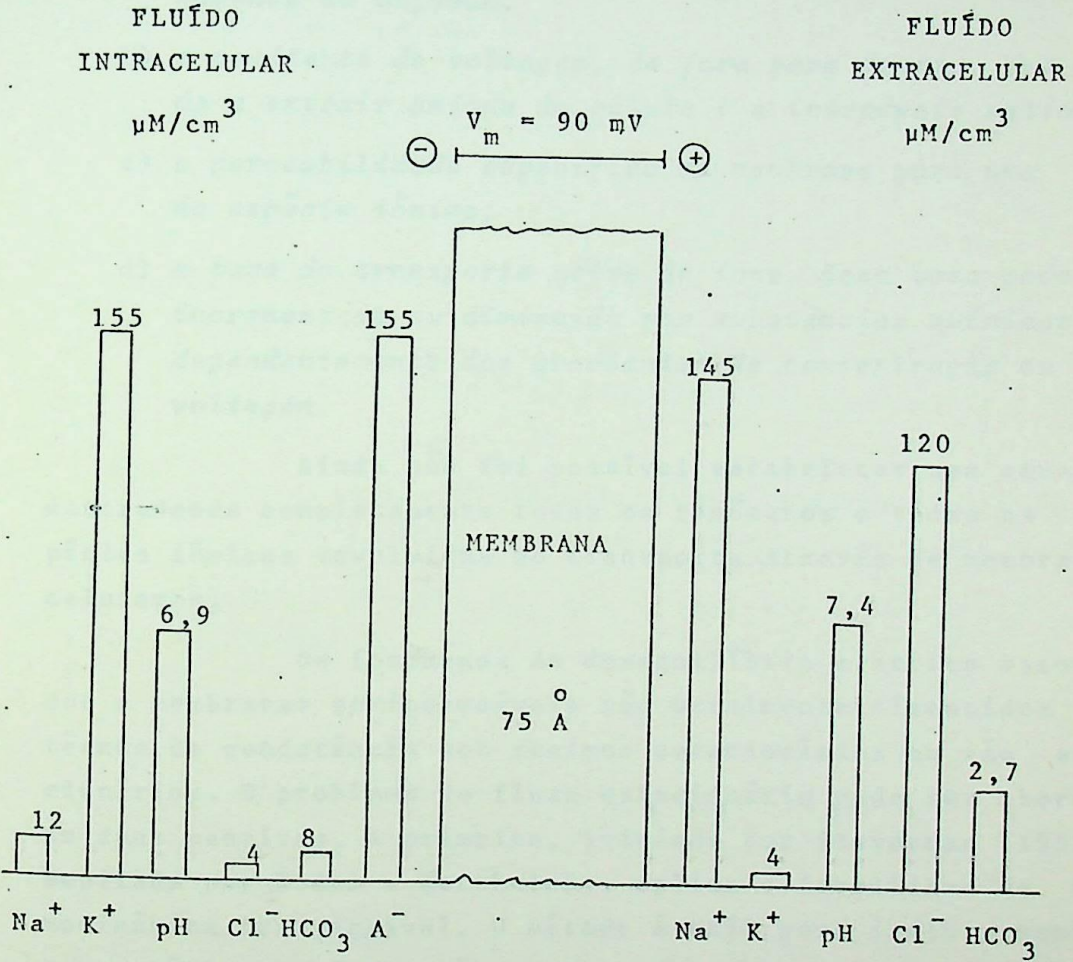


FIG. 5

A existência dessa diferença de potencial significa que há cargas separadas pela membrana. A célula pode ser comparada com um capacitor; os fluídos intrà e extracelulares, sendo soluções eletrolíticas, formariam os condutores, e a membrana, separando os dois meios, seria o dielétrico.

A membrana, todavia, não é inteiramente impermeável. O fluxo de material ionizado através da membrana, medido em $\text{mols/cm}^2 \cdot \text{seg.}$, é determinado por quatro quantidades :

- a) o gradiente de concentração dos ions, causando os fenômenos de difusão;
- b) o gradiente de voltagem, de fora para dentro, que tende a extrair anions da célula e a introduzir cations;
- c) a permeabilidade específica da membrana para uma dada espécie iônica;
- d) a taxa de transporte ativo de ions. Essa taxa pode ser incrementada ou diminuída por substâncias químicas, independentemente dos gradientes de concentração ou de voltagem.

Ainda não foi possível estabelecer uma equação, descrevendo completamente todos os fenômenos e tôdas as espécies iônicas envolvidas no transporte através de membranas celulares.

Os fenômenos de desequilíbrio elétrico associados a membranas semipermeáveis são usualmente discutidos em termos de condutância sob regimes estacionários ou não estacionários. O problema do fluxo estacionário pode ser abordado de duas maneiras. A primeira, iniciada por Staverman (1952) e ampliada por Kedem e Katchalsky, aplica o formalismo da termodinâmica irreversível. O método é útil para incluir membranas osmóticas e interações entre membrana, soluto e solvente. A segunda linha de trabalho, iniciada por Goldman, utiliza a descrição cinética, considerando o fluxo proporcional ao gradiente do potencial eletroquímico. Além disso, os coeficientes de atividade iônica nos potenciais eletroquímicos, são

tomados iguais a unidade, ignorando-se, portanto, a dependência desses coeficientes com a concentração, a temperatura e a constante dielétrica.

A atividade é então igualada com a concentração a dissociação eletrolítica é considerada completa.

Faremos a seguir uma descrição qualitativa simplificada, concernente aos mecanismos de difusão e ação elétrica, agindo simultaneamente num transporte iônico.

Para simplicidade de exposição dividiremos a apresentação como segue:

1º) Hipóteses simplificadoras:

- a) a membrana é plana, ilimitada, de espessura definida;
- b) a membrana é não osmótica, isto é, impermeável ao solvente;
- c) na membrana não existem cargas, além das polarizações;
- d) os ions são permeantes ou impermeantes, definindo-se mobilidades nulas ou finitas, para cada caso;
- e) todos os ions possuem mobilidade infinita na solução;
- f) as fases são consideradas ilimitadas, isto é, as concentrações a longas distâncias da membrana não são afetadas pelo transporte.

2º) Notações:

Concentração	C
Concentração da substância	$[S]$ (entre colchetes)
Densidade de corrente	J
Fluxo (mols/cm ² .seg)	M

Potencial	V
Campo elétrico	E
Carga de um ion monovalente	$e \doteq 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$
Valência	z

39) Equações de fluxo

O fluxo total resulta da combinação dos efeitos do campo elétrico ou gradiente do potencial e do gradiente de concentração, isto é:

$$M_{\text{total}} = M_{\text{difusão}} + M_{\text{campo elétrico}}$$

Utilizando-se as equações (4) e (7), teremos:

$$M = - \eta C \frac{\partial V}{\partial x} + D \frac{\partial C}{\partial x} \quad (13)$$

Pelas condições impostas ao problema, no início é razoável adotar-se para as concentrações uma distribuição estatística segundo o modelo de Maxwell-Boltzman. Ter-se-á:

$$C = C_0 \exp \left[- \frac{ze(V - V_0)}{kT} \right] \quad (14)$$

onde:

$$k = \text{constante de Boltzmann} = 1,38042 \times 10^{-16} \text{ erg/}^{\circ}\text{K}$$

Derivando (14) e levando em (13), teremos:

$$M = (D \frac{ze}{kT} C - \eta C) \frac{\partial V}{\partial x} \quad (15)$$

No caso de equilíbrio, resulta $M = 0$, donde:

$$\frac{Dze}{kT} = \eta$$

ou

$$\frac{zD}{\eta} = \frac{kT}{e} \quad (16)$$

que é conhecida como: *relação de Einstein*.

As quantidades η e D são constantes para cada pressão e temperatura. Consideramos a expressão (16) válida também para regimes não estacionários e a utilizaremos na expressão geral (13).

Para isso, consideremos:

$$\frac{\eta}{D} = \frac{ze}{kT} = z \frac{F/N_0}{(R/N_0)T} = z \frac{F}{RT} = z \beta \quad (17)$$

onde:

$$R = N_0 k = \text{constante dos gases} = 8,31 \cdot 10^7 \text{ erg/}^\circ\text{K mol}$$

$$F = N_0 e = \text{constante de Faraday} = 9652,01 \text{ u.e.m/mol}$$

$$N_0 = \text{número de Avogadro} = 6,02472 \cdot 10^{23} \text{ atm/atomogr}$$

e

$$\beta = \frac{F}{RT}$$

Levando-se (17) em (13), vem:

$$M = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} + z \beta C \frac{\partial V}{\partial x} \right) \quad (18)$$

ou

$$M = -D \exp(-z \beta V) \frac{\partial}{\partial x} (C \exp(z \beta V)) \quad (19)$$

Serão analisados, em seguida, com auxílio da equação (19), alguns casos específicos de interesse.

1.4.1 - Equação de Nernst

Suponhamos que se estabeleça o equilíbrio entre as espécies iônicas, isto é, o fluxo resultante seja nulo:

$$M = 0$$

Resulta, em (19):

$$-D \exp(-z \beta V) \frac{\partial}{\partial x} (C \exp(z \beta V)) = 0 \quad (20)$$

o que implica, pelas condições impostas ao problema:

$$\frac{\partial}{\partial x} C \exp(z \beta V) = 0$$

ou

$$\begin{aligned} C_1 \exp(z \beta V_1) &= C_2 \exp(z \beta V_2) = \\ &= \text{constante} \end{aligned} \quad (21)$$

onde os índices 1 e 2 se referem respectivamente aos lados externo e interno da membrana. Tomando-se os logaritmos dos membros de (21), vem:

$$V_2 - V_1 = \frac{1}{\beta z} \ln \frac{C_1}{C_2} \quad (22)$$

Usando-se o valor de $1/\beta$ para, digamos, 37°C e transformando a expressão (22) para logaritmos decimais, podemos escrever:

$$V_2 - V_1 = \frac{61}{z} \log \frac{C_1}{C_2} \text{ mV} \quad (22')$$

A equação (22') é uma forma da chamada equação de Nernst, sendo extremamente útil por servir como critério para o equilíbrio passivo, por prever o potencial transmembrânico e por permitir a dedução da relação de Gibbs-Donnan.

Se os resultados de medidas de concentrações C_1 , C_2 e dos potenciais V_1 , V_2 não estiverem de acordo com a equação (22), devemos supor a existência de forças adicionais.

De maneira mais específica, se o lado direito da equação (21) for menor do que o esquerdo, a difusão resultante é no sentido de 1 para 2, e, portanto, devemos imaginar uma força contrária para equilibrar essa tendência. Análogamente, na hipótese contrária, devemos supor uma força adicional, no sentido de 1 para 2.

Assim sendo, a equação de Nernst serve como critério para se identificar a existência de outras forças

além das difusões passivas ou migração elétrica. Por exemplo, analisemos os dados da figura (5) para alguns ions:

a) ions de potássio:

$$V_2 - V_1 = 61 \log \left(\frac{4}{155} \right) = -97 \text{ mV}$$

b) ions de sódio:

$$V_2 - V_1 = 61 \log \left(\frac{145}{12} \right) = +66 \text{ mV}$$

donde se conclue que tais ions não se distribuem passivamente, visto que a diferença de potencial transmembrânico medida é de -90 mV, em condições de repouso. Quando há alteração desse potencial de repouso, o potencial de membrana tende a se aproximar do valor previsto pela equação de Nernst para o fluxo passivo da espécie iônica dominante.

1.4.2 - Equilíbrio de Donnan

A equação (21) permite relacionar a diferença, de potencial transmembrânico com a presença de ions permanentes e impermanentes nas soluções. Suponhamos, por exemplo, que dois ions permeantes Na^+ e Cl^- estejam passivamente distribuídos e que a solução no lado 2 contenha anions A^- .

Usando-se a equação (21), podemos escrever:

$$\text{Na}^+{}_1 \exp(\beta V_1) = \text{Na}^+{}_2 \exp(\beta V_2) \quad (23)$$

$$\text{Cl}^-{}_1 \exp(\beta V_1) = \text{Cl}^-{}_2 \exp(\beta V_2)$$

Além disso, a neutralidade das soluções exige que:

$$\text{Na}^+{}_1 = \text{Cl}^-{}_1$$

$$Na^+_2 = Cl^-_2 + A^-_2 \quad (24)$$

Das equações (23) vem:

$$Na^+_1 Cl^-_1 = Na^+_2 Cl^-_2 \quad (25)$$

que é chamada regra de Gibbs-Donnan.

Usando a equação (24), resulta:

$$\left(\frac{Cl^-_1}{Cl^-_2} \right)^2 = 1 + \frac{A^-_2}{Cl^-_2} \quad (26)$$

Tendo em vista a segunda das equações (23) e a equação (25) podemos escrever:

$$\exp(\beta(V_1 - V_2)) = \frac{Na^+_2}{Na^+_1} = \frac{Cl^-_1}{Cl^-_2} = \left(1 + \frac{A^-_2}{Cl^-_2} \right)^{1/2} \quad (27)$$

Portanto, ions não permeantes A^- no lado 2 causam a acumulação de Na e depleção de Cl e potencial negativo de 2 relativamente a 1.

1.4.3 - Equação de Goldman

Nas células alguns ions podem não se equilibrar e o seu fluxo não é nulo. Isso ocorre em movimentos de regime estacionário ativo e em regime transitório provocado por alteração do potencial da solução externa ou por alteração da permeabilidade da membrana.

As relações entre os fluxos e o potencial, nesses casos, complicam-se e depende do modelo adotado. Devemos então aplicar critérios mais gerais. Tomemos a equação (19) para o caso de $M \neq 0$. Dividindo-se ambos os lados por:

$$-D \exp(-z \beta V)$$

e considerando M constante no interior da membrana (regime estacionário), podemos escrever:

$$\left(\frac{M}{D}\right) \int_0^d \exp(-z \beta V) dx = C_2 \exp(z \beta V_2) - C_1 \exp(z \beta V_1) \quad (28)$$

A integral indicada acima não poderá ser calculada, a não ser que conheçamos V e D em todos os pontos da membrana. Como não é possível a medida desses parâmetros nessa região, devemos introduzir algumas hipóteses de trabalho para casos específicos.

Quando a voltagem varia lentamente, a corrente capacitiva é desprezível e podemos colocar:

$$D = \text{constante}$$

$$V = \text{função linear da distância} = \frac{V_m}{d} x$$

onde:

d = espessura da membrana

V_m = valor de V na extremidade $x = d$

Levando os valores anteriores em (28), resulta:

$$M = \frac{D}{d} \beta z V_m \frac{C_2 \exp(\beta z V_m) - C_1}{1 - \exp(\beta z V_m)} \quad (29)$$

que é a equação de Goldman.

Seja por exemplo o caso de ions Na, K e Cl com a condição:

$$M_{Na} + M_K - M_{Cl} = 0 \quad (30)$$

Aplicando (29) para cada espécie iônica e levando em (30), podemos resolver a equação para V_m encontrando:

$$V_m = \frac{R T}{F} \ln \frac{P_K K_1 + P_{Na} Na_1 + P_{Cl} Cl_2}{P_K K_2 + P_{Na} Na_2 + P_{Cl} Cl_1} \quad (31)$$

onde fizemos:

$$P = \frac{D}{d} = \text{permeabilidade}$$

1.4.4 - Critério de Ussing para transporte ativo

A equação (28) pode ser integrada, em alguns casos, considerando-se fluxos unidirecionais, separadamente com o fito de eliminar a integral do primeiro membro.

Por exemplo:

M_{21} = fluxo de 2 para 1, colocamos $C_1 = 0$

M_{12} = fluxo de 1 para 2, colocamos $C_2 = 0$

Resultam:

$$M_{21} \int (-e^{z\beta V} / D) dx = C_2 e^{z\beta V_2} \quad (32)$$

$$M_{12} \int (-e^{z\beta V} / D) dx = -C_1 e^{z\beta V_1}$$

donde:

$$\frac{M_{21}}{M_{12}} = \frac{C_2}{C_1} e^{z\beta (V_2 - V_1)} \quad (33)$$

A equação (33) mostra que a relação dos fluxos unidirecionais pode ser conhecida a partir da determinação de C_2 e C_1 e V_2 e V_1 . O emprêgo de traçadores radioativos é bastante útil para a determinação experimental das concentrações e as voltagens são tomadas por microeletrodos.

Se os resultados concordarem com a equação (33), as forças passivas serão suficientes para explicar os

fluxos observados; se não concordarem, podemos postular a existência de outro mecanismo. Por essa razão, a relação (33) deduzida por H. H. Ussing, para membranas biológicas, serve como critério para verificação de transporte ativo.

1.5 - Geração e manutenção do potencial de repouso

A diferença de potencial transmembrânico observada, que no exemplo da figura (5) é de -90 mV é o resultado de um mecanismo de transporte ativo e passivo, predominantemente de Na^+ e K^+ . Na figura (6) representamos esquematicamente uma membrana separando o fluido intracelular (esquerda) do fluido extracelular (direita). O círculo representa o bombeamento ativo de Na^+ e K^+ , um a um, por mecanismo metabólico.

Nos canais estão representados os fluxos em picomols/cm².seg. A força de drenagem é proporcional à diferença entre o potencial de equilíbrio iônico e o potencial transmembrânico. A densidade de corrente iônica depende das condutâncias, de acordo com a equação (9).

Para o Na^+ , no exemplo, o fluxo passivo é desprezível e o afluxo ativo se iguala ao influxo passivo:

$$(1,8 \text{ pM/cm}^2 \cdot \text{s})$$

A diferença de potencial para o Na^+ é grande (-155 mV) mas a condutância é pequena (7% de g_{K}). Para o K^+ o efluxo passivo se iguala aos influxos passivo e ativo. A diferença de potencial é pequena mas a condutância é elevada.

Observa-se então que, no balanço final, a extrusão de Na é acompanhada da incorporação de K, resultando um bombeamento eletricamente neutro. A equação (31) permite, no caso, avaliar o potencial transmembrânico, atingido ao se estabelecer um regime estacionário no transporte iônico.

Suponhamos que não haja fluxo C^- e que o bombeamento Na K seja neutro. Aplicando os valores:

$K_2 = 155 \text{ mM/litro}$

$K_1 = 4 \text{ mM/litro}$

$Na_2 = 12 \text{ mM/litro}$

$Na_1 = 145 \text{ mM/litro}$

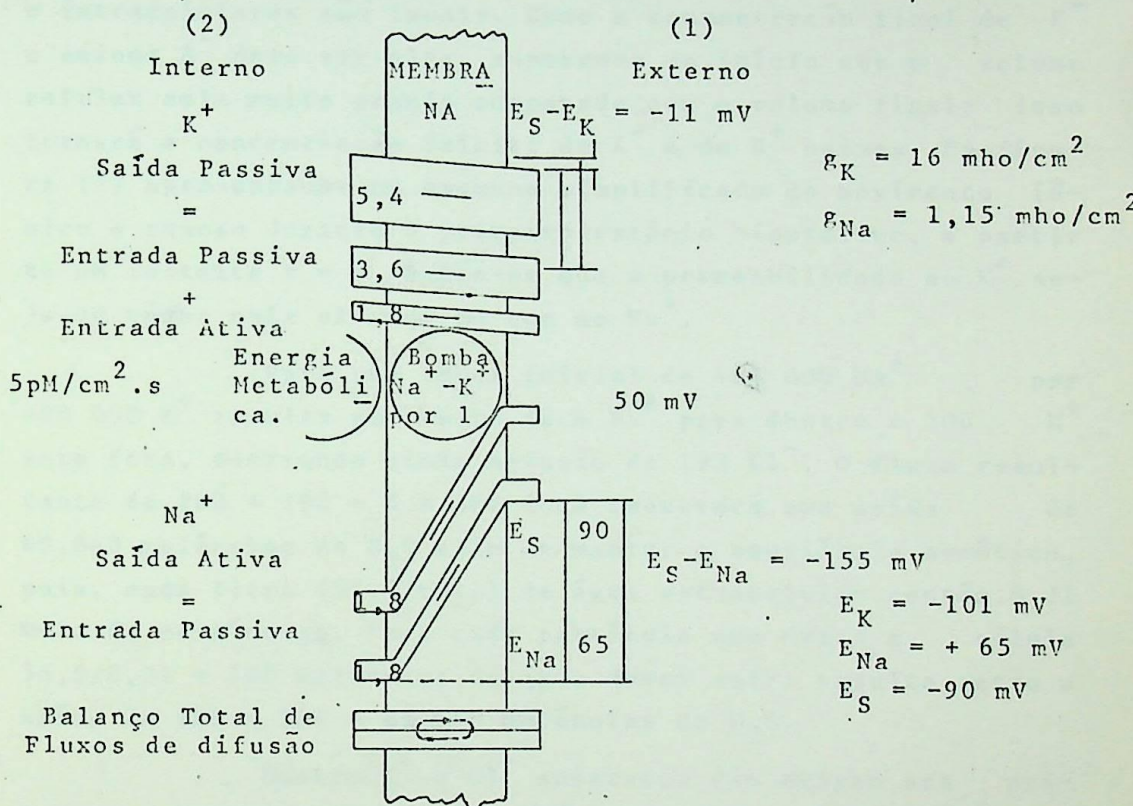


FIG. 6

e

$$\frac{P_K}{P_{Na}} = 100 \quad \frac{R T}{F} = 26,7 \text{ (mV)}$$

resulta:

$$(V_m)_S = 26,7 \ln \frac{4 + 10^{-2} \times 145}{155 + 10^{-2} \times 12} = -89 \text{ mV} \quad (34)$$

Há uma maneira muito interessante de se visualizar o resultado anterior, considerando a sequência de alterações que ocorrem quando o bombeamento Na K é estabelecido, hipoteticamente, a partir de um estado inicial onde o potencial membrânico é nulo e as concentrações dos fluídos extra e intracelulares são iguais. Como a concentração final de K^+ e anions A^- deve ser alta, suporemos no início que o volume celular seja muito grande comparado com o volume final; isso tornará a concentração inicial de A^- e de K^+ baixas. Na figura (7) apresentamos um esquema simplificado do movimento iônico e aquoso durante o primeiro estágio hipotético, a partir de um instante $t = 0$. Supõe-se que a permeabilidade ao K^+ seja 50 vezes mais elevada do que ao Na^+ .

Para uma troca inicial de 400 000 Na^+ por 400 000 K^+ resulta uma volta de 4 Na^+ para dentro e 200 K^+ para fora, ocorrendo ainda difusão de 192 Cl^- . O fluxo resultante de $200 + 192 - 4 = 388$ ions requererá uma saída de 69.840 moléculas de H_2O afim de manter o equilíbrio osmótico, pois, cada litro (55,5 mols) de água extracelular contém 0,31 mols de partículas. Para cada partícula que deixa a célula $55,5/0,31 = 180$ moléculas de água devem sair; resulta então a saída de $180 \times 388 = 69.840$ moléculas de H_2O .

Quatro K^+ e Cl^- separados dão origem aos primeiros 0,2 microvolts, que mantêm o deficit de 192 Cl^- do interior.

Operações gradativas análogas à descrita reduzem gradualmente o volume celular, aumentando a concentração de A^- no interior, diminuindo o Cl^- e aumentando a diferença de potencial. Supondo cada estágio com a dureção de 20 milisegundos o equilíbrio final, com cêrca de -90 mV, será atingido ao cabo de algumas horas. O K^+ externo tende a extrair

Cl^- para fora mas o efluco de Cl^- não é suficiente para neutralizar a carga da membrana, visto ser necessário um certo potencial para manter Cl^- fora.

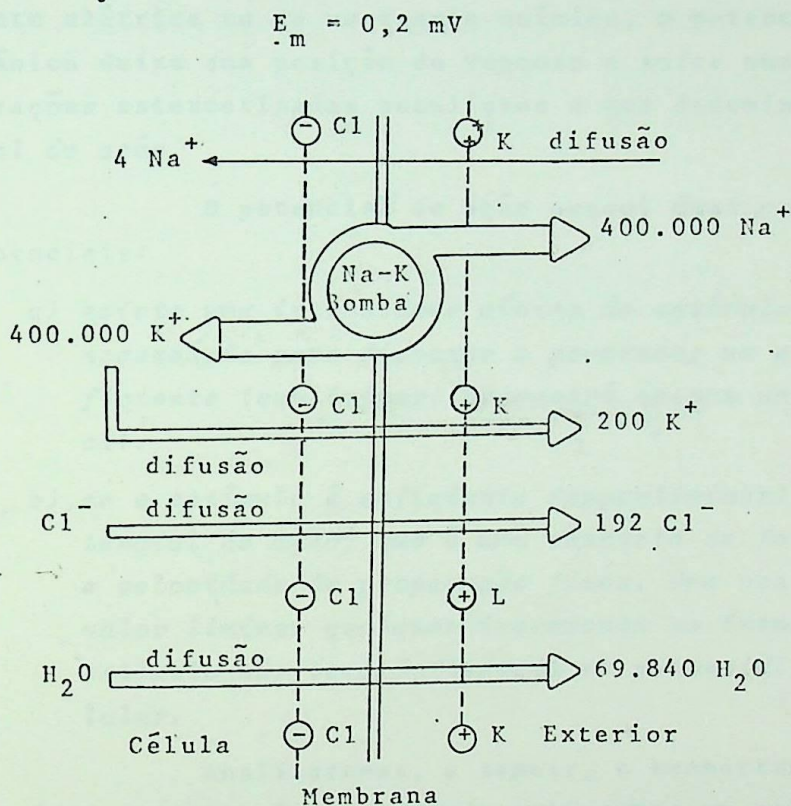


FIG. 7

Em suma, o resultado final é um movimento para fora de Na^+ , Cl^- e água e um acúmulo de K^+ . O valor do potencial de membrana, para determinada célula, depende da taxa de bombeamento e da relação $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$. A concentração de Cl^- inter-

na e o volume celular dependerão do potencial.

1.6 - Potencial de ação

Os músculos e nervos, como as demais células possuem um potencial de repouso, cuja origem e mecanismo foram descritos na seção anterior. Quando, porém, estimulamos uma célula muscular ou nervosa, através de um pulso de corrente elétrica ou de um agente químico, o potencial transmembrânico deixa sua posição de repouso e sofre uma série de alterações estereotipadas peculiares a que denominamos: *Potencial de ação*.

O potencial de ação possui duas características essenciais:

- a) *existe uma intensidade mínima de estímulo, um limiar, necessário para disparar o processo; um estímulo insuficiente (subliminar) provocará apenas um efeito local.*
- b) *se o estímulo é suficiente (superliminar) ocorre o potencial de ação; que é uma resposta de forma, duração e velocidade de propagação fixas. Uma vez atingido o valor liminar qualquer incremento na intensidade do estímulo não terá influência no potencial de ação celular.*

Analisaremos, a seguir, o comportamento do potencial transmembrânico, quando aplicarmos um pulso retangular de corrente, de efeito despolarizante, através da membrana, considerando os dois casos possíveis: estímulos subliminares e estímulos superliminares.

1.6.1 - Fenômenos subliminares - equação do cabo

Os efeitos das correntes elétricas são particularmente notados em fibras musculares e nervosas por que tais fibras são aproximadamente cilíndricas e possuem comprimentos

muito grandes relativamente aos seus diâmetros. Com essa geometria, o plasma celular é altamente resistente ao fluxo de corrente e o potencial decresce ao longo da fibra, a partir do ponto de aplicação dos eletrodos de excitação.

Esse comportamento é muito semelhante ao do cabo de transmissão telefônica de Kelvin. Podemos então constituir um modelo elétrico da membrana e estudar sua resposta, a um estímulo de corrente. As propriedades de cabo da membrana são compreensíveis se considerarmos que:

- a) embora bom condutor o plasma celular, neste caso, é muito fino e longo, apresentando portanto grande resistência elétrica;
- b) o plasma celular está separado do fluido externo por uma fina membrana, cujo comportamento, como já comentamos, é de um dielétrico imperfeito, isto é, um isolante cin correntes de fuga através dele;

Na figura (8) apresentamos um modelo elétrico, do cabo, supondo uma membrana com resistência e capacitância lineares. Para se proceder a uma análise do modelo, tomaremos as seguintes notações:

- V_i e V_e : potenciais de membrana interno e externo
- i_i e i_e : correntes longitudinais interna e externa
- r_i e r_e : resistências longitudinais interna e externa medidas em ohm/cm
- $V = V_i - V_e$: diferença de potencial membrânico
- i_m : fonte de corrente radial em ampère/cm do cabo.
- g_m e z_m : admitância da membrana em mho/cm e impedância de ohm.cm.

Teremos:

$$\frac{\partial V_e}{\partial x} = -r_e i_e \quad (35)$$

$$\frac{\partial V_i}{\partial x} = r_i i_i$$

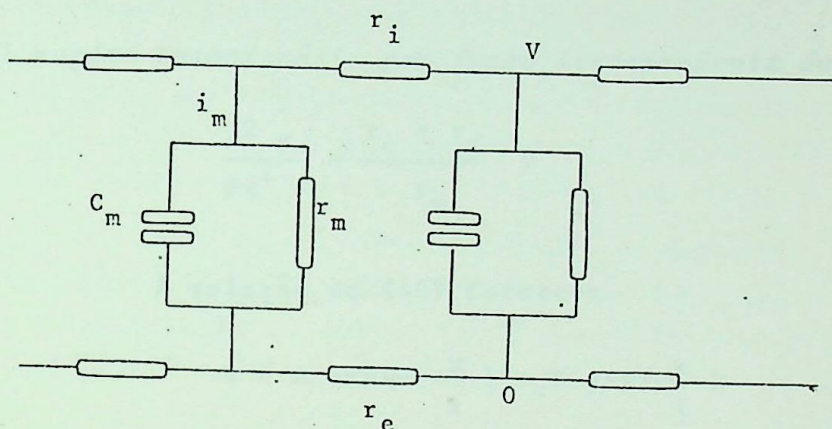


FIG. 8

Na ausência de geradores eletromotrizes:

$$\frac{\partial i_e}{\partial x} = - \frac{\partial i_i}{\partial x} = i_m \quad (36)$$

Derivando (35) e levando em (36):

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = (r_e + r_i) i_m \quad (37)$$

Mas no caso:

$$i_m = g_m V = c_m \frac{\partial V}{\partial t} + \frac{V}{r_m}$$

donde:

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{r_e + r_i}{r_m} V + (r_e + r_i) C_m \frac{\partial V}{\partial t} \quad (38)$$

A equação (38) simplifica-se nos dois casos seguintes:

a) *cabo com isolamento perfeito (r_m inexistente).*

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = (r_e + r_i) C_m \frac{\partial V}{\partial t} \quad (39)$$

b) *regime estacionário com fugas (independente do tempo)*

$$\frac{d^2 V}{dx^2} = \frac{r_e + r_i}{r_m} V \quad (40)$$

A solução de (40) fornece:

$$V = A \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) + B \exp\left(\frac{x}{\lambda}\right) \quad (41)$$

onde:

$$\lambda = \frac{r_m}{r_e + r_i} \quad (42)$$

é denominado de comprimento característico da membrana.

Para V finito, com $x \rightarrow \infty$, devemos ter $B = 0$

Para $x = 0$, façamos $V = V_0$, resultando $A = V_0$.

Temos também:

$$i_e = -i_i = i$$

com:

$$\frac{dV}{dx} = -(r_e + r_i)i = -\frac{V}{\lambda}$$

Para $x = 0$, portanto $i = I_0 = V_0/\lambda (r_e + r_i)$

podendo-se definir:

$$Z_o = \frac{V_o}{I_o} = (r_e + r_i)Z_m \quad (43)$$

Os resultados experimentais indicam que, em muitos casos, um modelo com reatância capacitiva, como o apresentado na figura (8) é insuficiente, sendo viável a inclusão de uma reatância indutiva no modelo da membrana.

Na figura (9) reproduzimos um gráfico de impedância muito utilizado em problemas de levantamento de características elétricas de circuitos. Nêle se situam as reatâncias resistiva, capacitiva e indutiva que determinam um ponto no chamado plano Z; a variação de Z com a frequência determina um trajetória típica do circuito em estudo.

Nota-se, no citado gráfico, a impedância da membrana de um axônio de lula, colocado na água do mar (A) com elevada concentração de cálcio (B) e com baixa concentração de cálcio (C), variando em função da frequência.

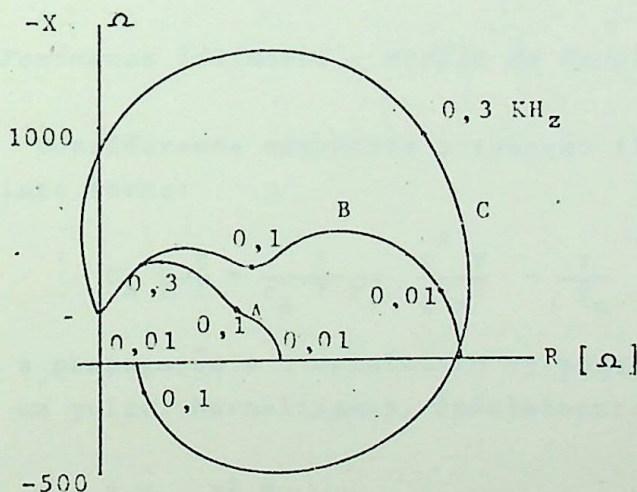


FIG. 9

No momento, não cogitaremos de alterações no modelo exposto, considerando válidos os resultados obtidos com o esquema elétrico da figura (8).

Por exemplo, no caso de uma axônio de lula, o condutor central possui uma resistência específica de 30 ohm.cm ou seja $r_i = 15 \text{ kohm/cm}$ para um diâmetro de 500 microns. Os outros valores de 1 microfarad/cm² e 1 kohm cm² fornece $c_m = 0,16 \text{ microfarad/cm}$ e $r_m = 6,4 \text{ Kohm/cm}$.

Com esses valores, podemos calcular as respostas do modelo a diferentes excitações, resolvendo-se a equação (38). Tais conclusões tem sido, inclusive, tabeladas.

Variando-se a intensidade do degrau ou do pulso de potencial de excitação, observa-se que os resultados experimentais não discrepam exageradamente dos previstos matematicamente nas soluções.

Quando porém, se atinge um determinado valor do potencial de excitação, nas membranas musculares ou nervosas o comportamento do sistema biológico assume características, bem distintas do modelo, como veremos a seguir.

1.6.2 - Fenômenos liminares - modelo de Hodgkin e Huxley

Consideremos novamente a equação (38) colocando-a na seguinte forma:

$$C_m \frac{\partial V}{\partial t} = \frac{1}{r_e + r_i} \cdot \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - \frac{V}{r_m} \quad (44)$$

e examinemos a propagação e o decaimento do potencial após a aplicação de um pulso. Normalizamos, inicialmente a equação (44):

$$\frac{\partial V}{\partial t} = \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - V \quad (45)$$

onde:

$$T = \frac{\tau t}{\tau} \quad \tau = r_m C_m$$

$$X = \frac{x}{\lambda} \quad (46)$$

$$\lambda = \frac{r_m}{r_e + r_i}$$

Fazendo-se a substituição:

$$V = U \exp(-T) \quad (47)$$

obtêm-se

$$\frac{\partial U}{\partial t} = \frac{\partial^2 U}{\partial X^2} \quad (48)$$

Para o pulso $U \cdot \Delta t = 1$, com Δt pequeno, e, $x = 0$, a solução será:

$$U = \frac{1}{2 \sqrt{\frac{\tau}{T}}} \exp(-X^2/4T) \quad (49)$$

donde:

$$V = \frac{1}{2 \sqrt{\frac{\tau}{T}}} \exp \left\{ \left(-\frac{X^2}{4T} \right) - T \right\} \quad (50)$$

A propagação e a atenuação, de acordo com a equação (50) são indicadas na figura (10.a) para os casos de distâncias iguais a uma, duas e três vezes a distância característica.

Esse resultado é confirmado nas medidas experimentais para pulsos de excitação de baixa intensidade. Com estímulos suficientemente elevados, todavia, o comportamento, da membrana excitável é o indicado na figura (10.b). Notamos a independência da forma e da velocidade de propagação do potencial relativamente ao tempo.

Experimentalmente, um potencial de ação do tipo apresentado em (10.b) pode ser iniciado em um músculo ou ner-

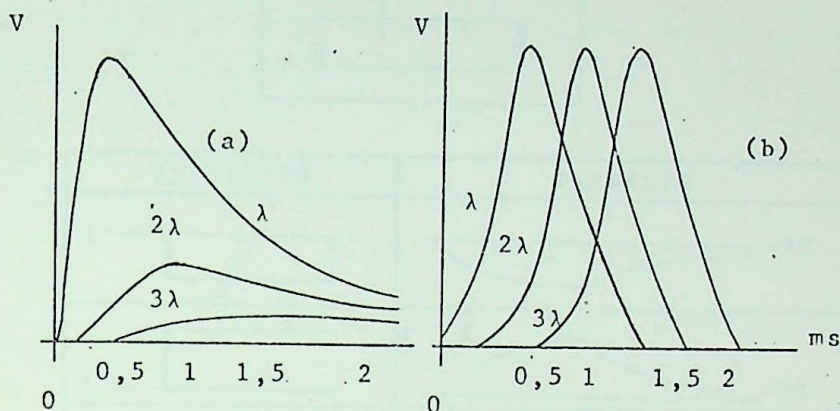


FIG. 10

vo por uma despolarização suficiente da membrana provocada pela corrente de estímulo na região de aplicação do microeletrodo de excitação. Outro eletrodo próximo medirá o potencial transmembrânico. As alterações em V_m associadas com o impulso de excitação são mostradas diagramaticamente na figura (11).

Vemos que as correntes de excitação abaixo de um certo valor produzem respotas de acordo com as propriedades do cabo, já estudados. Para um valor limiar a membrana pode voltar com retardamento ao potencial de repouso ou então disparar um potencial de ação típico. Estímulos mais fortes geram também o potencial de ação mas intervalos de tempo progressivamente menores são requeridos para despolarizar a membrana até o valor limiar. Todos os potenciais de ação possuem o mesmo tempo de curso.

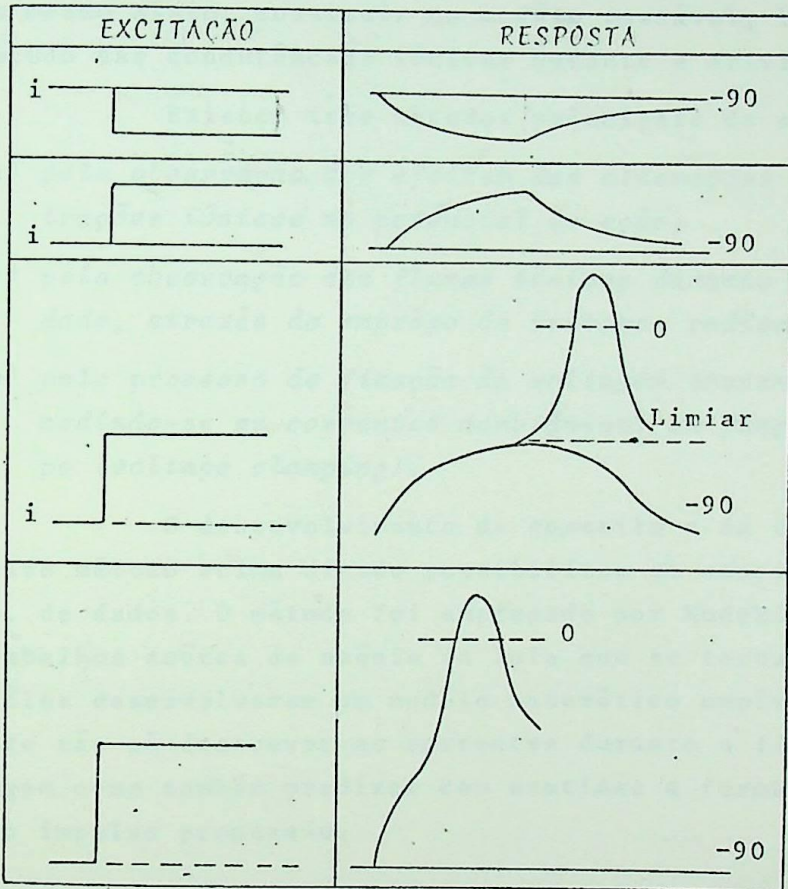
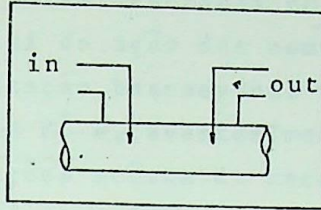


FIG. 11

A energia para o potencial de ação está contida no axônio; o estímulo, abaixando o potencial de membrana serve meramente para disparar a atividade.

Na seção 1.5 a geração e manutenção do potencial de repouso foram descritas em termos de condutividade iônica. O potencial de ação das membranas excitáveis admite também uma explicação baseada nas variações de permeabilidade aos ions de Na^+ e K^+ e, eventualmente, outros ions. Sem descer em considerações acêrca do mecanismo molecular que origina nas alterações específicas das permeabilidades iônicas, podemos mesmo assim, construir um modelo razoável, baseando-nos no estudo das condutâncias iônicas durante a atividade.

Existem três métodos principais de estudos:

- a) *pela observação dos efeitos das alterações das concentrações iônicas no potencial de ação;*
- b) *pela observação dos fluxos iônicos durante a atividade, através do emprêgo de isótopos radioativos;*
- c) *pelo processo de fixação da voltagem transmembrânica, medindo-se as correntes membrânicas em função do tempo (voltage clamping).*

O desenvolvimento de conceito e da técnica do terceiro método acima citado possibilitou um enorme levantamento de dados. O método foi empregado por Hodgkin e Huxley em trabalhos acêrca do axônio da lula que se tornaram clássicos. Eles desenvolveram um modelo matemático empírico que permite não só descrever as correntes durante a fixação da voltagem como também predizer com exatidão a forma e a duração do impulso propagado.

1.7 - O modelo de HODGKIN e HUXLEY

O modelo de Hodgkin e Huxley constitue um trabalho de referência padrão nos estudos da teoria iônica da neuroeletrogênese e foi apresentado em 1952.

Na figura (12) está representado o circuito elétrico equivalente à membrana do nervo da lula, segundo Hodgkin e Huxley, tendo sido acrescentados as bombas de Na^+ e K^+

que não constam do modelo original, apenas para fins ilustrativos.

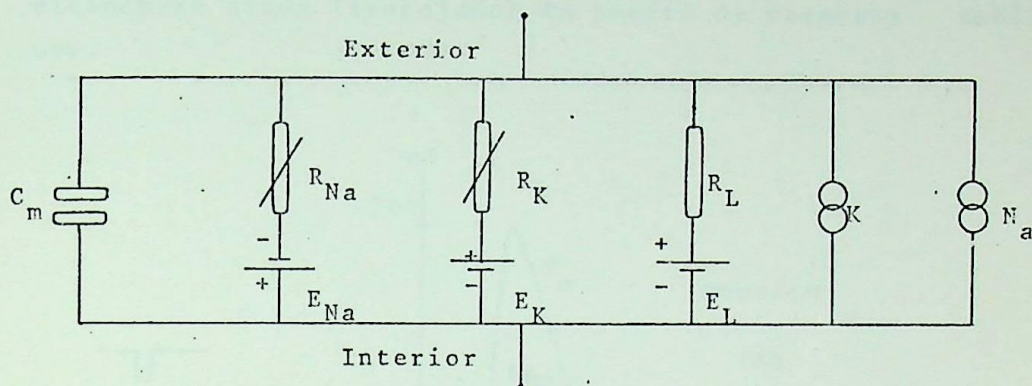


FIG. 12

Os valores E_K , E_{Na} e E_L são os potenciais de equilíbrio, de acordo com a equação de Nernst, correspondentes ao Sódio, Potássio e outros ions, respectivamente.

As condutâncias g_K e g_{Na} são funções da voltagem e do tempo. A condutância g_L será considerada constante. O transporte ativo de Na^+ e K^+ servirá para suprir as perdas, de ions, mantendo os potenciais das baterias nos seus níveis iniciais. A capacitância C_m será da ordem de 1 microfarad/cm²

Quando o potencial de membrana for deslocado de sua posição de equilíbrio a condutância do Na^+ sofre um elevado incremento e o potencial membrânico tende ao valor do potencial de equilíbrio do Na. A elevada condutância ao Na^+ não é todavia, mantida e prontamente reverte ao seu valor original. Ao mesmo tempo a condutância ao potássio cresce. O efeito resultante dessas duas alterações é levar o potencial de membrana para a região de valor de potencial de equilíbrio do potássio em um intervalo de tempo de cerca de 3 ms. Na medida em que decresce a condutância do potássio, o potencial membrânico tende para seu valor de repouso, em 5 a 10 ms.

Na figura (13) indicamos o perfil de um potencial de ação resultante de um pulso de corrente de excitação; as variações das condutâncias de Na e K são representadas indicando-se ainda (tracejado) um perfil de resposta subliminar.

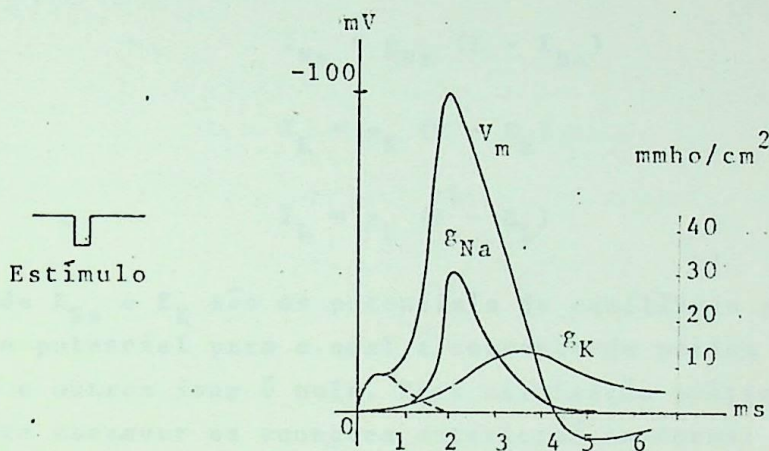


FIG. 13

Apresentaremos a seguir um resumo da descrição quantitativa das correntes membrânicas e do potencial de ação, extraído do trabalho original de Hodgkin e Huxley (1952)

O primeiro passo consiste em dividir a corrente total da membrana em uma corrente capacitiva e outra iônica:

$$I = C_m \frac{dV}{dt} + I_i \quad (51)$$

onde:

- I = densidade de corrente total (positiva para dentro)
- I_i = densidade de corrente iônica (positiva para dentro)
- V = desvio do valor de repouso (despolarização negativa)
- C_m = capacidade por unidade de área
- t = tempo

A corrente iônica pode ser dividida em corrente parciais de ions Na, K e outros:

$$I_i = I_{Na} + I_K + I_L \quad (52)$$

Aplicando-se a equação (9), teremos, para cada espécie de ions:

$$I_{Na} = g_{Na} (E - E_{Na})$$

$$I_K = g_K (E - E_K)$$

$$I_L = g_L (E - E_L)$$

onde E_{Na} e E_K são os potenciais de equilíbrio para Na e K. E_L é o potencial para o qual a corrente de perdas devido ao clo-ro e outros ions é nula. Para utilização prática, é conveniente escrever as equações anteriores na forma:

$$I_{Na} = g_{Na} (V - V_{Na}) \quad (53)$$

$$I_K = g_K (V - V_K) \quad (54)$$

$$I_L = \bar{g}_L (V - V_L) \quad (55)$$

onde:

$$V = E - E_r$$

$$V_{Na} = E_{Na} - E_r$$

$$V_K = E_K - E_r$$

$$V_L = E_L - E_r$$

$$E_r = \text{potencial de repouso (valor absoluto)}$$

O segundo passo consiste em equacionar as variações de condutância de forma a reproduzir o comportamento observado nas medidas experimentais.

Para o potássio, toma-se

$$g_K = \bar{g}_K \cdot n^4 \quad (56)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n (1 - n) - \beta_n n \quad (57)$$

onde:

$$\bar{g}_K = \text{constante}$$

e

α_n e β_n = taxas que variam com a voltagem mas não variam com o tempo, com dimensões de t^{-1} ,

n = variável adimensional que pode variar entre 0 e 1.

A variável n é denominada ativação. Podemos atribuir um significado físico a essa variável, supondo que a passagem de Na pela membrana se verifica quando quatro moléculas especificadas, digamos moléculas N, encontram-se em posições apropriadas. A variável n representaria então a proporção de partículas em posição favorável à passagem dos ions K.

α_n determina a taxa de transporte para dentro e β_n a taxa de transporte na direção oposta; tais taxas serão, por hipótese funções instantâneas da voltagem.

No estado de repouso, $V = 0$, n terá o valor de repouso:

$$n_0 = \frac{\alpha_{n_0}}{\alpha_{n_0} + \beta_{n_0}}$$

A solução de (57) com a condição $n = n_0$ para $t = 0$, será:

$$n = n_\infty - (n_\infty - n_0) \exp\left(-\frac{t}{\tau_n}\right) \quad (58)$$

onde:

$$n_\infty = \frac{\alpha_n}{(\alpha_n + \beta_n)} \quad (59)$$

e

$$\zeta_n = \frac{1}{(\alpha_n + \beta_n)} \quad (60)$$

Tendo em vista a equação (65) podemos escrever:

$$g_K = g_{K\infty} - (g_{K\infty} - g_{K0}) \exp(-t/\zeta_n) \quad (61)$$

onde $g_{K\infty}$ é o valor final e g_{K0} o valor inicial da condutância.

Verificou-se um razoável ajustamento entre a equação (61) e os resultados experimentais, com exceção de um retardamento maior no início da curva experimental. O valor de ζ_n foi escolhido de forma a produzir um ajuste bom. O valor de $g_{K\infty}$ foi escolhido com 20% do maior valor de g_K para a despolarização de 100 mV.

Das equações (59) e (60) extraímos:

$$\alpha_n = n_\infty / \zeta_n$$

$$\beta_n = (1 - n_\infty) / \zeta_n$$

A figura (14.a) mostra curva e resultados típicos para uma despolarização de 100 mV.

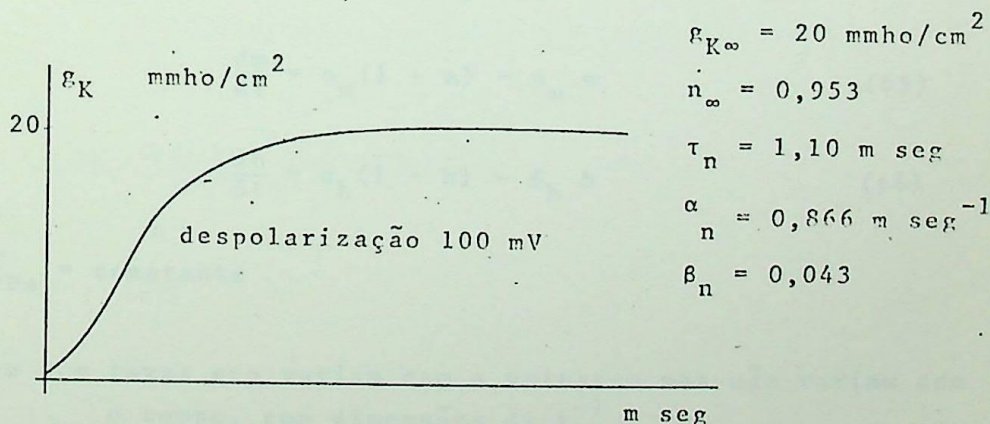


FIG. 14.a

Levantamentos realizados para diversos valores de despolarização e também de repolarização, mantendo-se uma temperatura de 6 graus centígrados, permitiram o estabelecimento de expressões para α_n e β_n em função da voltagem V, isto é, do desvio do potencial de membrana a partir de seu valor de repouso. Tais expressões são:

$$\alpha_n = \frac{0,01 (V + 10)}{\exp \frac{V + 10}{10} - 1} \quad (62)$$

e

$$\beta_n = 0,125 \exp \frac{V}{80} \quad (63)$$

Para o sódio, a variação da condutância apresenta um comportamento que não pode ser descrito com uma equação diferencial de primeira ordem do tipo (57). Podemos tentar uma representação de segunda ordem ou então duas de primeira.

Introduzindo o conceito de inativação, Hodgkin e Huxley optaram pela segunda alternativa. As equações propostas foram:

$$g_{Na} = m^3 \cdot h \cdot \bar{g}_{Na} \quad (64)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m (1 - m) - \beta_m m \quad (65)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1 - h) - \beta_h h \quad (66)$$

onde:

$$\bar{g}_{Na} = \text{constante}$$

e

α e β = taxas que variam com a voltagem mas não variam com o tempo, com dimensões de t^{-1} .

m = variável adimensional representando a proporção de moléculas ativantes.

h = variável adimensional representando a proporção de moléculas inativantes.

As soluções de (65) e (66) que satisfazem as condições $m = m_0$ e $h = h_0$ para $t = 0$, são:

$$m = m_\infty - (m_\infty - m_0) \exp(-t/\zeta_m) \quad (67)$$

$$h = h_\infty - (h_\infty - h_0) \exp(-t/\zeta_h) \quad (68)$$

onde:

$$m_\infty = \alpha_m / (\alpha_m + \beta_m)$$

$$h_\infty = \alpha_h / (\alpha_h + \beta_h)$$

$$\zeta_m = 1 / (\alpha_m + \beta_m)$$

$$\zeta_h = 1 / (\alpha_h + \beta_h)$$

A condutância do sódio, no estado de repouso é pequena quando comparada com o valor atingido nas grandes despolarizações. Desprezamos então m_0 se a despolarização é maior do que 30 mV. Além disso a inativação é quase completa se V é menor do que -30 mV, desprezando-se então h_∞ .

A expressão da condutância, tende em vista (64) será:

$$g_{Na} = g'_{Na} \left[1 - \exp(-t/\zeta_m) \right]^3 \exp(-t/\zeta_h) \quad (69)$$

onde:

$$g'_{Na} = \bar{g}_{Na} m_\infty^3 h_0$$

que é o valor da condutância do sódio mantendo-se $h = h_0$.

A figura (14.b) mostra curva e resultados típicos para despolarização de 100 mV.

De maneira análoga ao que foi feito para o potássio, foram coletados valores de:

$$\alpha_m = m_\infty / \zeta_m$$

$$m_\infty = \frac{3}{\sqrt{g' Na}}$$

$$\beta_m = (1 - m_\infty) / \zeta_m$$

para diversas voltagens, estabelecendo-se:

$$\alpha_m = \frac{0,1 (V + 25)}{\exp \frac{V + 25}{10} - 1} \quad (70)$$

e

$$\beta_m = 4 \exp \frac{V}{18} \quad (71)$$

Analogamente, com:

$$\alpha_h = h_\infty / \zeta_h$$

e

$$\beta_h = (1 - h_\infty) / \zeta_h$$

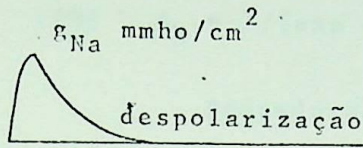
obteve-se:

$$\alpha_h = 0,07 \exp \frac{V}{20} \quad (72)$$

e

$$\beta_h = \frac{1}{\exp \frac{V + 30}{10} + 1} \quad (73)$$

Façamos agora um sumário das equações principais, escrevendo inicialmente a equação (52) com os valores das condutâncias. Indicaremos também alguns valores adotados, para as constantes.



$$g'_{Na} = 42,6 \text{ mmho/cm}^2$$

$$m_{\infty} = 0,997$$

$$\tau_m = 0,160 \text{ m seg}$$

$$\alpha_m = 6,2 \text{ m seg}^{-1}$$

$$\beta_m = 0,02 \text{ m seg}^{-1}$$

$$\tau_h = 0,67 \text{ m seg}$$

$$h_{\infty} = 0$$

$$\alpha_h = 0$$

$$\beta_h = 1,5$$

FIG. 14.b

$$I = C_m \frac{dV}{dt} + \bar{g}_K n^4 (V - V_K) + \bar{g}_{Na} m^3 h (V - V_{Na}) + \bar{g}_L (V - V_L) \quad (74)$$

onde:

$$(57) \quad \frac{dn}{dt} = \alpha_n (1 - n) - \beta_n n = \alpha_n - (\alpha_n + \beta_n) n$$

$$(65) \quad \frac{dm}{dt} = \alpha_m (1 - m) - \beta_m m$$

$$(66) \quad \frac{dh}{dt} = \alpha_h (1 - h) - \beta_h h$$

$$(62) \quad \alpha_n = 0,01 (V + 10) / (\exp \frac{V + 10}{10} - 1)$$

$$(63) \quad \beta_n = 0,125 \exp \frac{V}{80}$$

$$(70) \quad \alpha_m = 0,1 (V + 25) / (\exp \frac{V + 25}{10} - 1)$$

$$(71) \quad \beta_m = 4 \exp \frac{V}{18}$$

$$(72) \quad \alpha_h = 0,07 \exp \frac{V}{20}$$

$$(73) \quad \beta_h = 1 / \left(\exp \frac{V + 30}{10} + 1 \right)$$

Podendo-se adotar os valôres:

$$C_m = 1,0 \text{ } \mu\text{F/cm}^2 \qquad \bar{g}_{Na} = 120 \text{ m mho/cm}^2$$

$$V_{Na} = -115 \text{ mV} \qquad \bar{g}_K = 36 \text{ m mho/cm}^2$$

$$V_K = + 12 \text{ mV} \qquad \bar{g}_L = 0,3 \text{ m mho/cm}^2$$

$$V_L = 10,6 \text{ mV}$$

Para V constante, teremos $dV/dt = 0$ e α_s e β_s constantes, resolvendo-se \underline{m} , \underline{n} e \underline{h} como se indica em (58) (67) e (68). A corrente iônica total obtida foi comparada com os resultados experimentais. A única discrepância notada foi que a corrente teórica apresenta um retardamento menor na subida da condutância do K.

O potencial de ação membrânico pode ser obtido de (74) colocando-se $I = 0$, com as condições iniciais $V = V_0$ e \underline{m} , \underline{n} e \underline{h} nos seus valôres de repouso. Nesse caso supomos não haver corrente ao longo do eixo do cilindro e a corrente resultante na membrana é nula, exceto durante o estímulo.

O potencial de ação propagado é mais complicado de se determinar. Adotamos a conhecida relação do cabo:

$$i = \frac{1}{r_1 + r_2} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} \qquad (75)$$

onde:

i = corrente da membrana/comprimento.

r_1 e r_2 = resistências externa e interna/comprimento.

Desprezando-se r_1 :

$$i = \frac{1}{r_2} \frac{\partial^2 v}{\partial x^2}$$

ou

$$I = \frac{a}{2R_2} \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} \quad (76)$$

onde I é a densidade de corrente membrânica

a o raio da fibra, e

R_2 a resistência específica do axoplasma.

Levando-se (76) em (74), teremos:

$$\begin{aligned} \frac{a}{2R_2} \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} = C_m \frac{\partial v}{\partial t} + \bar{g}_K n^4 (v - v_K) + \bar{g}_{Na} m^3 (v - v_{Na}) + \\ + \bar{g}_L (v - v_L) \end{aligned} \quad (77)$$

Se introduzimos a condição de onda:

$$\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} = \frac{1}{\theta^2} \frac{\partial^2 v}{\partial t^2}$$

onde θ é a velocidade de propagação, teremos:

$$\begin{aligned} \frac{a}{2R_2 \theta^2} \frac{d^2 v}{dt^2} = C_m \frac{dv}{dt} + \bar{g}_K n^4 (v - v_K) + \bar{g}_{Na} m^2 h (v - v_{Na}) + \\ + \bar{g}_L (v - v_L) \end{aligned} \quad (78)$$

que é uma equação diferencial ordinária, podendo ser resolvida numericamente. Uma forma usual de se escrever a equação (78) é:

$$\begin{aligned} \frac{d^2 v}{dt^2} = K \left\{ \frac{dv}{dt} + \frac{1}{C_m} \bar{g}_K n^4 (v - v_K) + \bar{g}_{Na} m^2 h (v - v_{Na}) + \right. \\ \left. + \bar{g}_L (v - v_L) \right\} \end{aligned} \quad (79)$$

com:

$$K = 2 R_2 \theta^2 \frac{C_m}{a} \quad (80)$$

Apresentamos a seguir uma programação para o computador analógico das equações de Hodgkin e Huxley no caso onde não se considera propagação longitudinal. Utilizaremos essa programação na parte III d'êste trabalho, quando colocarmos o problema do modelo de potencial de ação cardíaco.

1.8 - Programação analógica das equações de Hodgkin-Huxley

Soluções analíticas do sistema de equações de Hodgkin-Huxley são praticamente impossíveis devida à extrema não linearidade das relações experimentais entre as correntes iônicas e o potencial elétrico da membrana. Para pequenas variações as equações podem facilmente ser linearizadas, dando coeficientes constantes nas equações diferenciais. Essas equações podem ser até de quarta ordem e o seu cálculo numérico é tedioso.

Soluções aproximadas foram obtidas por três processos:

- a) *método numérico de Hartree*, com um calculador de mesa, usado por Hodgkin e Huxley em seus trabalhos originais. Na ocasião, êsses autores tentaram utilizar um computador, em Cambridge, não tendo, porém, alcançado bom resultado. O método numérico requer muito tempo de trabalho para uma boa precisão nos resultados.
- b) *método de Runge-Kutta*, com computadores digitais (Cole, Antoniewicz e Rabinowitz, em 1955; Cole em 1958; Fitz-Hugh e Antoniewicz em 1959). O computador digital tem maior precisão do que o analógico, mas envolve muito tempo de trabalho, se incluirmos o tempo necessário para programar, informar o pessoal do computador, prover o tempo de utilização, etc.

c) *soluções com o computador analógico*, bastante confortáveis, principalmente se desejamos alterar partes de programa, várias vezes. Os principais problemas neste processo, referem-se ao grau de precisão, comprometido por limitações técnicas do equipamento tais como multiplicadores e geradores de função.

Para nossos propósitos, a programação analógica é imprescindível. Utilizaremos um computador híbrido TELEFUNKEN RA 770, com 72 amplificadores na parte analógica, cerca de 200 módulos lógicos na parte digital, precisão de 10^{-3} .

Por não contarmos com número suficiente de geradores de funções, a diodo, acoplamos o computador RA 770, com um outro: o RA 741, de mesa.

Apresentaremos a seguir as etapas da programação realizada, utilizando, inicialmente, seis geradores de função.

Na terceira parte do trabalho teremos necessidade de alterar essa programação, substituindo um dos geradores por um bloco de geração implícita.

1.8.1 - Escalamento

Tomemos a equação (74): (Colocando-se $I = 0$)

$$-\frac{dV}{dt} = (\bar{g}_K / C_m) n^4 (V - V_K) + (\bar{g}_{Na} / C_m) m^3 h (V - V_{Na}) + (\bar{g}_L / C_m) (V - V_L)$$

com:

$$\bar{g}_K = 36 \text{ m mho/cm}^2$$

$$\bar{g}_{Na} = 120 \text{ m mho/cm}^2$$

$$\bar{g}_L = 0,3 \text{ m mho/cm}^2$$

$$V_{Na} = -115 \text{ mV}$$

$$V_K = 12 \text{ mV}$$

$$V_L = -10,6 \text{ mV}$$

$$C_m = 1 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$$

(Dados com $Q_{10} = 3$, temperatura = $6,3^\circ\text{C}$)

Resulta, preparando a equação:

$$-\frac{dV}{dt} = 36 n^4 (V - 12) + 120 m^2 \text{ mh} (V + 115) + \\ + 0,3 (V + 10,6)$$

Valores máximos:

$$n = 0,8 \approx 1$$

$$m = 1$$

$$h = 0,6 \approx$$

$$|V| = |-110 \text{ mV}| \text{ (intervalo de } -110 \text{ a } +20)$$

$$\text{Tempo do computador: } 1 \text{ ms} \rightarrow 1 \text{ seg} \quad \zeta = 10^3 t$$

$$\text{Leitura de amplitudes: } 1 \text{ mV} \rightarrow 1 \text{ V} \quad V_c = 10^3 V$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m - (\alpha_m + \beta_m) m = \alpha_m - \gamma_m \cdot m$$

$$\frac{dm}{dt} = 100 \left\{ (0,1) \frac{\alpha m}{10} - (0,25) \frac{\alpha m}{25} \cdot m \right\}$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n - (\alpha_n + \beta_n) \cdot n = \alpha_n - \gamma_n \cdot n$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n - \gamma_n \cdot n$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h - (\alpha_h + \beta_h) \cdot h = \alpha_h - \gamma_h \cdot h$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h - \gamma_h \cdot h$$

Condições iniciais:

$$m_0 = 0,06$$

$$n_0 = 0,32$$

$$h_0 = 0,58$$

$$V_0 = -15 \text{ mV}$$

Donde finalmente:

$$- \frac{0,5 \text{ V}}{110} = 100 \{ (0,36) n^4 \left(\frac{0,5 \text{ V}}{110} - 0,055 \right) \}$$

$$+ 1000 \{ (0,12) m^2 \cdot mh \left(\frac{0,5 \text{ V}}{110} + 0,522 \right) \}$$

$$+ 100 \{ (0,03) \left(\frac{0,5 \text{ V}}{110} + 0,05 \right) \}$$

Geradores de função:

Como extraímos, na saída de um amplificador, o valor escalado: 0,5 V/110, devemos transformar esse valor convenientemente para varrer a escala 0X desde -1 u.m., até 1 u.m. (valores -10,9, ... +9,+10 dos potenciômetros).

A transformação é:

$$X = (3,14) \left(\frac{0,5 \text{ V}}{110} \right) + 0,57$$

Os valôres dos coeficientes para os geradores de função são compendiados na tabela seguinte:

TABELA DOS COEFICIENTES







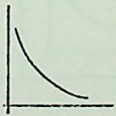
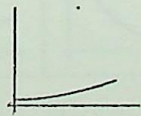
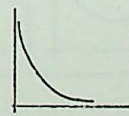
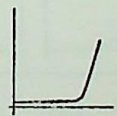
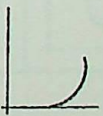
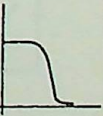
V	X						
		α_n	β_n	α_m	β_m	α_h	β_h
-110	-1,0	1,000	0,032	8,501	0,009	0,000	1,000
-103	-0,9	0,930	0,035	7,803	0,013	0,000	0,999
-96	-0,8	0,860	0,038	7,105	0,019	0,000	0,998
-89	-0,7	0,800	0,041	6,490	0,027	0,001	0,997
-82	-0,6	0,720	0,045	5,709	0,042	0,001	0,994
-75	-0,5	0,651	0,050	5,024	0,062	0,002	0,988
-68	-0,4	0,582	0,053	4,349	0,092	0,002	0,977
-61	-0,3	0,513	0,058	3,691	0,136	0,003	0,956
-54	-0,2	0,445	0,064	3,060	0,201	0,005	0,916
-47	-0,1	0,379	0,070	2,466	0,294	0,007	0,844
-40	0	0,315	0,076	1,923	0,439	0,010	0,729
-33	+0,1	0,255	0,083	1,446	0,642	0,014	0,572
-26	+0,2	0,200	0,091	1,045	0,948	0,019	0,399
-19	+0,3	0,151	0,099	0,725	1,400	0,027	0,247
-12	+0,4	0,110	0,108	0,484	2,067	0,039	0,141
-5	+0,5	0,076	0,118	0,311	3,054	0,055	0,075
+2	+0,6	0,051	0,128	0,193	4,465	0,077	0,038
+9	+0,7	0,033	0,140	0,116	6,595	0,110	0,019
+16	+0,8	0,021	0,153	0,068	9,740	0,156	0,009
+23	+0,9	0,012	0,167	0,039	14,386	0,221	0,005
+30	+1,0	0,007	0,181	0,022	21,249	0,314	0,002
							

TABELA DOS COEFICIENTES ESCALADOS







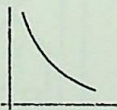
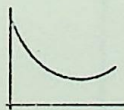
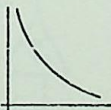
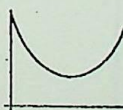
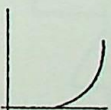
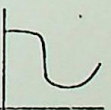
						
	α_n	γ_n	$\alpha_m/10$	$\gamma_m/25$	α_h	γ_h
- 10	1,000	1,032	0,850	0,340	0	1,000
- 9	0,930	0,965	0,780	0,313	0	0,999
- 8	0,860	0,898	0,711	0,285	0	0,998
- 7	0,800	0,841	0,649	0,261	0,001	0,998
- 6	0,720	0,765	0,571	0,230	0,001	0,995
- 5	0,651	0,701	0,502	0,203	0,002	0,990
- 4	0,582	0,635	0,435	0,178	0,002	0,979
- 3	0,513	0,571	0,369	0,153	0,003	0,959
- 2	0,445	0,509	0,306	0,130	0,005	0,921
- 1	0,379	0,449	0,247	0,110	0,007	0,851
0	0,315	0,391	0,192	0,095	0,010	0,739
1	0,255	0,338	0,145	0,084	0,014	0,586
2	0,200	0,291	0,105	0,080	0,019	0,418
3	0,151	0,250	0,072	0,085	0,027	0,274
4	0,110	0,218	0,048	0,102	0,039	0,180
5	0,076	0,194	0,031	0,135	0,055	0,130
6	0,051	0,179	0,019	0,186	0,077	0,115
7	0,033	0,173	0,012	0,264	0,110	0,129
8	0,021	0,174	0,007	0,392	0,156	0,165
9	0,012	0,179	0,004	0,577	0,221	0,226
10	0,007	0,188	0,002	0,851	0,314	0,316
						

DIAGRAMA EM BLOCOS DA PROGRAMAÇÃO

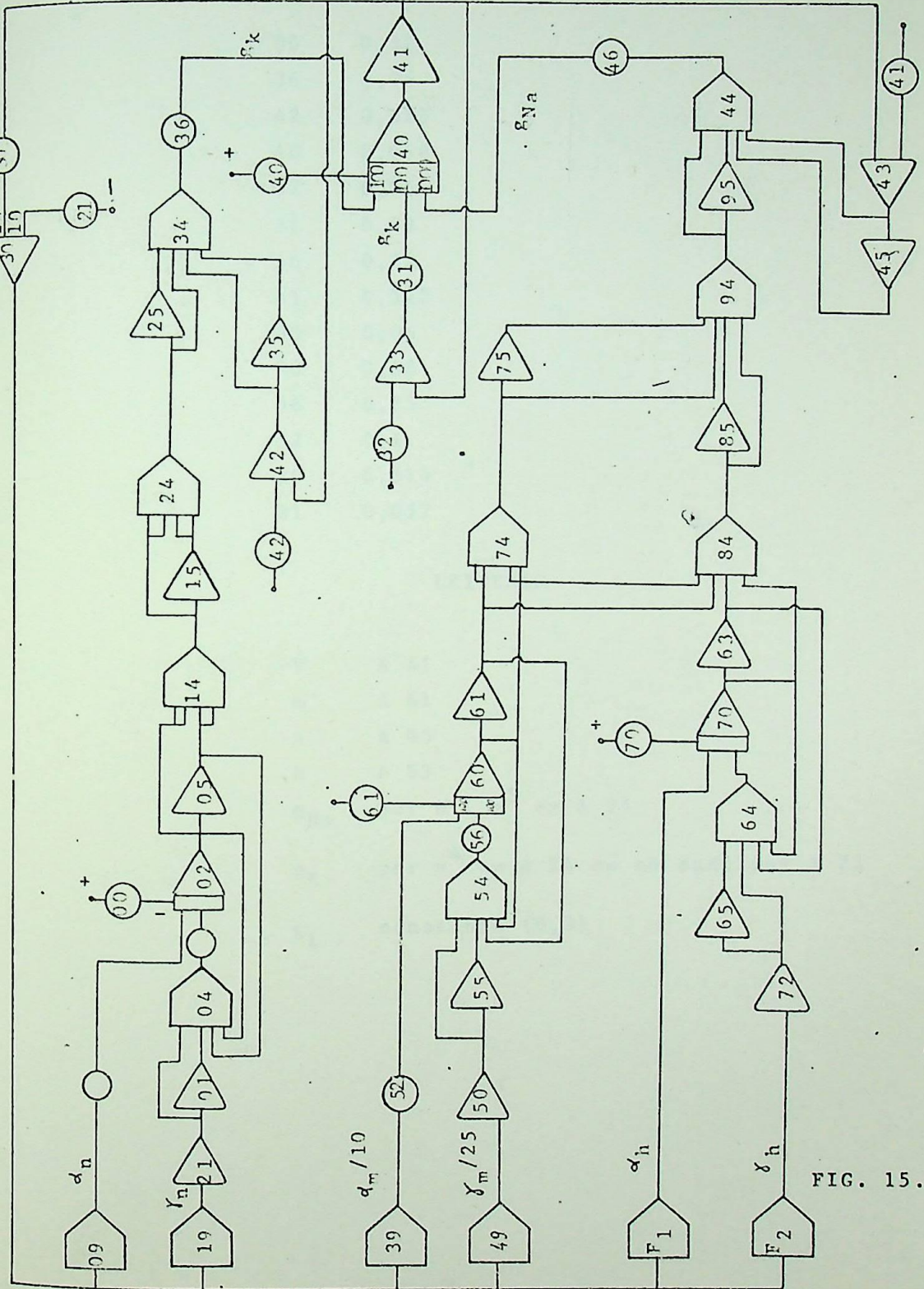


FIG. 15.a

POTENCIÔMETROS

00	0,32
36	0,36
42	0,055
40	0,068
32	0,05
31	0,03
46	0,12
41	0,522
60	0,06
70	0,58
56	0,25
52	0,1
30	0,314
21	0,057

LEITURAS

-V	A 41
m	A 61
n	A 05
h	A 63
g_{Na}	por $h \cdot m^3$ em A 94
g_K	por n^4 em A 24 ou no auxiliar A 23
g_L	constante (0,3)

RESULTADOS

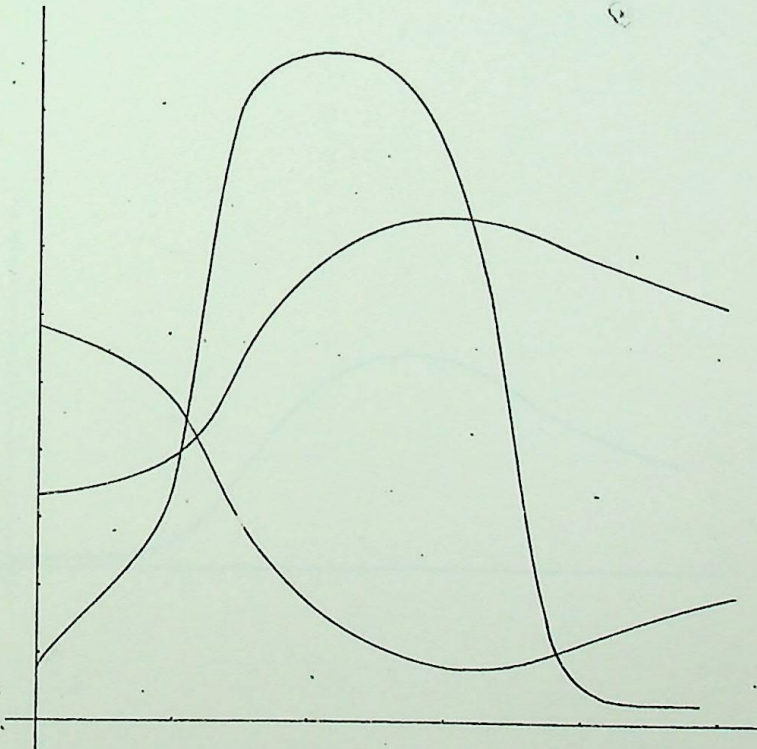
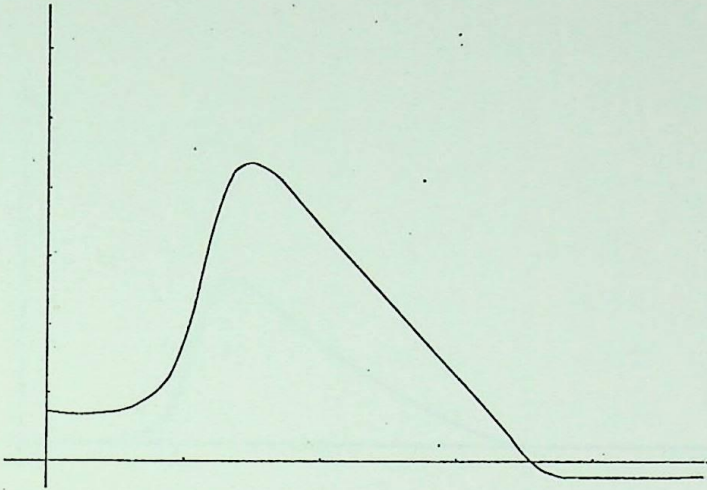


FIG. 15.b

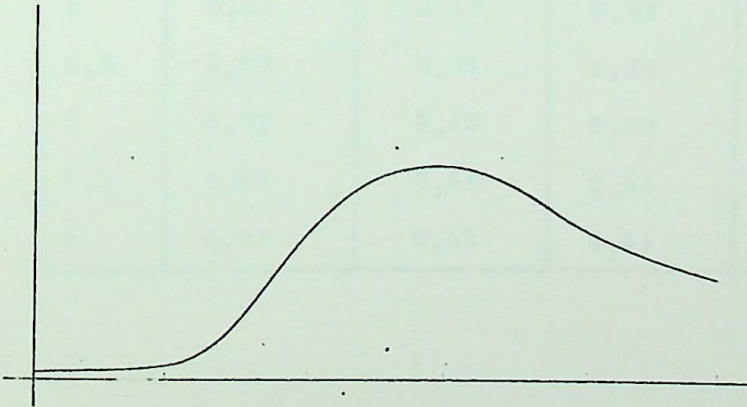
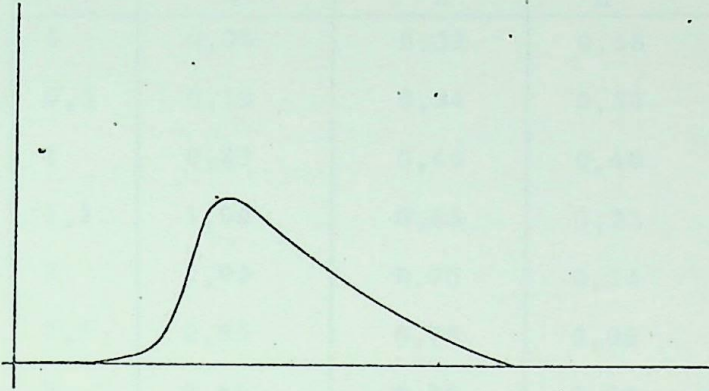


FIG. 15.c

T A B E L A

t	m	n	h	V
0	0,06	0,32	0,58	-15,4
0,5	0,19	0,34	0,54	-19,2
1	0,83	0,46	0,40	-103,8
1,5	1,00	0,65	0,23	-92,8
2	1,00	0,75	0,14	-65,3
2,5	0,85	0,78	0,09	-42,3
3	0,64	0,78	0,08	-17,3
3,5	0,12	0,73	0,11	- 9,7
4	0,02	0,70	0,15	11,5
4,5	0,02	0,65	0,19	11,5
5	0,02	0,61	0,24	11,5
5,5	0,02	0,57	0,28	10,8
6	0,02	0,53	0,32	10,8
6,5	0,02	0,51	0,35	9,6
7	0,02	0,48	0,38	9,6
7,5	0,02	0,46	0,42	9,3
8	0,02	0,44	0,44	8,8

2. O POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO

2.1 - O músculo esquelético

Segundo Sechenov (citado em Ruch-Patton, em *Physiology and Biophysics*) tãda a infinita diversidade das manifestações externas da atividade cerebral pode ser, em última instância, encarada como um único fenômeno - *o movimento muscular*.

Um movimento muscular envolve três mais ou menos distintos tipos de atividade:

- a) *atividade do Sistema Nervosa Central, reflexa e voluntária;*
- b) *eventos desde o impulso do nervo motor e o começo da contração;*
- c) *o processo de contração, propriamente dito.*

Entre a iniciação sináptica de um impulso em um neurônio motor espinhal e a contração da fibra muscular, intervêm os seguintes eventos:

- a) *condução do impulso motor até a placa terminal;*
- b) *liberação de acetilcolina no terminal do axônio;*
- c) *despolarização liminar da membrana muscular, iniciando um impulso na fibra muscular;*
- d) *contração muscular.*

O aspecto principal de uma fibra muscular é sua composição em feixe de fibrilas, fibrilas e filamentos, figura (16).

Os filamentos das fibrilas são de dois tipos: grosso e fino, dispostos como indica a figura (17), resultando o aspecto típico do músculo estriado, sob o ponto de vis-

ta da microscopia ótica. As estrias são denominadas de A, I, e H, dependendo de seu grãu de refração. Aparecem ainda ligações transversais denominadas estrias Z. A região entre dois Z consecutivos é dita: sarcômero e é a unidade repetitiva básica da estrutura. Os filamentos finos e grossos não estão, aparentemente, separados completamente, havendo pontes ou ligamentos entre os filamentos finos e grossos.

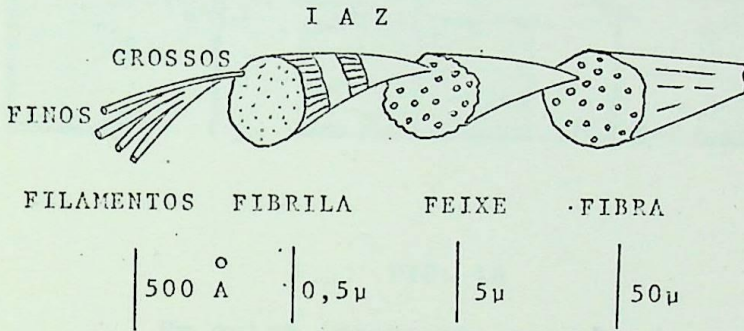


FIG. 16

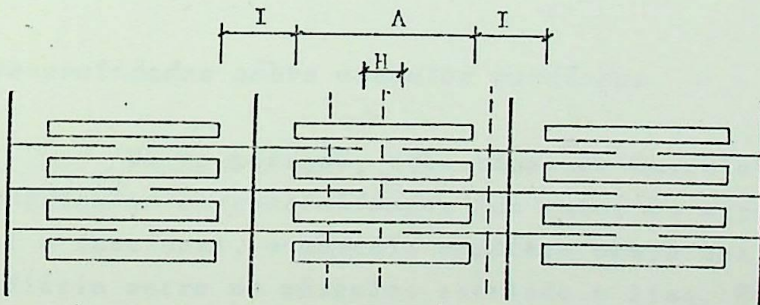


FIG. 17

Na contração os filamentos deslizam, estreitando as estrias I e H, enquanto a estria A não se altera, praticamente para contrações não muito violentas. Evidenciou-

se que os comprimentos dos filamentos não se alteram durante a contração, justificando-se assim o modelo de contração, por deslissamento das camadas, os filamentos finos sendo puxados para o interior na direção das estrias H.

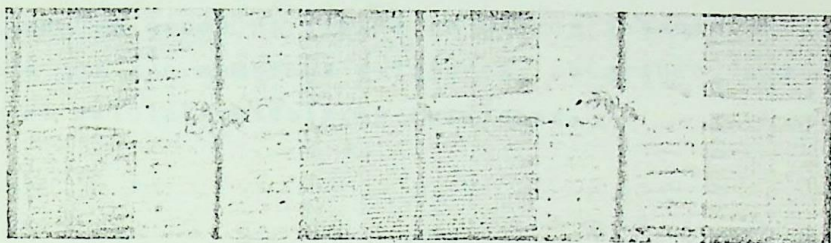


FIG. 18

Um outro importante aspecto da estrutura muscular é o retículo sarcoplasmático, formado de tubulos em torno de cada fibrila, ocorrendo túbulos transversais e cisternas terminais.

2.2 - Generalidades sobre músculos cardíacos

Há no coração, três tipos de músculos: *auricular*, *ventricular* e *especializado*. Sob ambos os aspectos estrutural e funcional, o músculo cardíaco ocupa uma posição intermediária entre os músculos estriado e liso. Ele é estriado transversalmente como os músculos esqueléticos e involuntários como os lisos. Forma, de maneira análoga aos músculos lisos, um sincício.

O músculo estriado é capaz de desenvolver uma certa tensão num curto período de tempo mas está sujeito à fadiga; já os músculos lisos se contraem lentamente mas podem exercer uma tensão moderada durante um longo tempo. O

músculo cardíaco não se contrae tão rapidamente quanto os músculos esqueléticos mas consegue manter continuamente uma ação rítmica.

A figura (19) mostra um corte típico de músculo cardíaco, com as fibras dispostas em rede; nota-se a semelhança com o músculo esquelético: estrias, filamentos de actina e miosina, retículo sarcoplasmático menos desenvolvido. Aparecem ainda na figura os discos intercelulares, transversais que são membrans celulares, separando, uma das outras, as células musculares cardíacas.

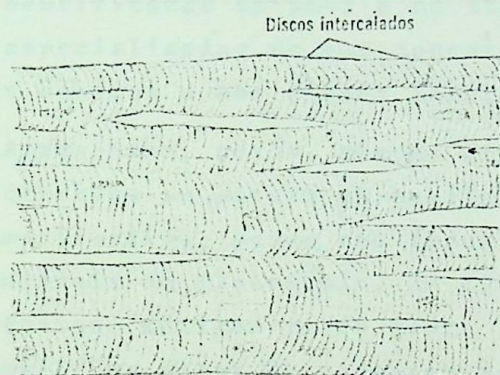


FIG. 19

Os músculo cardíaco é um sincício funcional. Uma excitação passa facilmente de uma célula para outra.

O esqueleto fibroso do coração pode ser considerado como uma estrutura que incluye as válvulas e à qual as massas musculares estão ligadas. O esqueleto fibroso separa os átrios e os ventrículos e circunda os orifícios das válvulas mitral e tricúspide. Os dois átrios e os dois ventrículos, bem como a aorta e a artéria pulmonar se inserem

no esqueleto fibroso. A figura (20) indica sumariamente essa estrutura geral.

Além dos sincícios musculares auricular e ventricular, existe um sistema especializado de condução, no coração, que também está indicado na figura (20). Consiste do nódulo sinoatrial ou de Keith-Flack, situado na aurícula direita, próximo à embocadura da veia cava superior; do nódulo atrioventricular ou de Tawara; dos feixes musculares esquerdo e direito e da rede de fibras de Purkinje.

As acima referidas, fibras de Purkinje começam no feixe comum e continuam através dos feixes esquerdo e direito. Foram identificadas em 1845 e se assemelham às fibras cardíacas não especializadas no que concerne à centralização, dos núcleos, às estrias e aos discos intercelulares.

Apresentam, porém, alguma diferença. São mais largas, as miofibrilas se situam na periferia e a porção central fica sem miofibrilas, sendo seu lugar ocupado por quantidades consideráveis de glicogênio. As fibras, originadas dos ramos dos feixes, dirigem-se do septo interventricular aos músculos papilares antes de passarem às paredes laterais dos ventrículos onde formam a rede subendocárdica.

As fibras de Purkinje conduzem com mais velocidade do que as cardíacas ordinárias e atuam nos músculos papilares, colocando em tensão as válvulas da tricúspide e da bicúspide, antes que sobre elas atue toda a intensidade da força de contração ventricular.

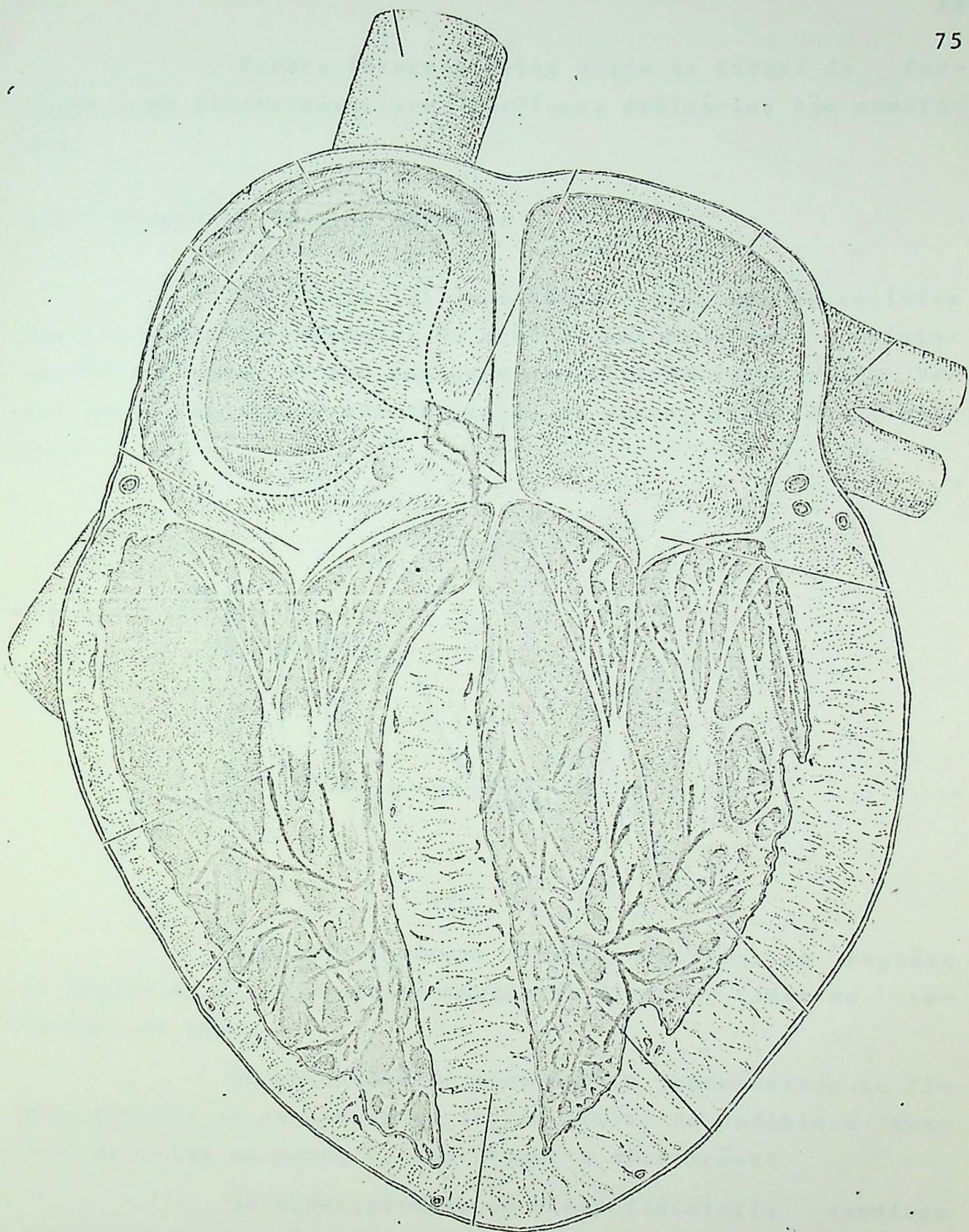


FIG. 20

Formas intermediárias entre as fibras de Purkinje e as fibras musculares cardíacas ordinárias são numerosas.

2.3 - Potencial de ação cardíaco

Na figura (21) mostramos o diagrama do registro oscilagráfico do potencial de ação de uma membrana celular cardíaca típica, obtido com um microeletrodo intracelular. Vamos que o registro é semelhante ao do nervo, estudado na parte I.

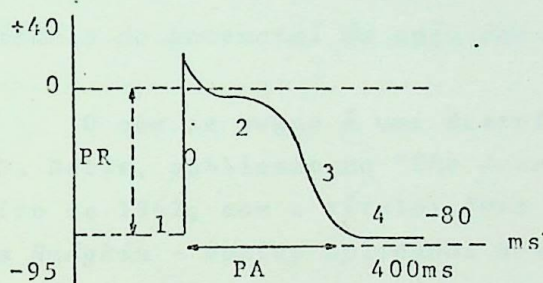


FIG. 21

Seguindo Weidmann (1956), numeramos as regiões da figura de 0 a 4, correspondendo às diversas fases do potencial de ação.

Um potencial de ação como o representado na figura poderia se enquadrar na teoria iônica de Hodgkin e Huxley, descrita na parte I, com pequenas alterações?

Os especialistas em eletrofisiologia cardíaca consideram a questão afirmativamente. O problema consistiria em evidenciar quais seriam as modificações a serem incluídas no modelo de Hodgkin e Huxley.

O potencial de repouso é aproximadamente 0 a 100 mV nas células especializadas e 80 a 85 mV nas outras células cardíacas. Uma característica típica do potencial de ação mostrado na figura (21) é a presença do patamar (região 2).

Diversos trabalhos tem sido apresentados, visando esclarecer os possíveis mecanismos que conduzem à forma típica do potencial de ação cardíaco.

Exporemos a seguir duas hipóteses, bem consubstanciadas, que foram apresentadas. Com bases nesses trabalhos de eletrofisiologia cardíaca, levado a cabo por especialistas, construiremos nosso modelo, conforme se expõe na terceira parte.

2.4 - Um modelo do potencial de ação das fibras de Purkinje

O que se segue é uma descrição sumária do trabalho de D. Noble, publicado no "*The Journal of Physiology*", de fevereiro de 1962, com o título: "*Uma modificação das equações de Hodgkin - Huxley aplicável aos potenciais de ação das fibras de Purkinje e dos marca-passos*".

Sabe-se que a amplitude e a declividade do potencial de ação do nervo da lula varia com a concentração extracelular do sódio, sugerindo que a fase de subida do impulso é devida ao aumento da permeabilidade da membrana relativa ao Na^+ .

Hodgkin e Huxley mostraram que as correntes de Na e K variando com o potencial de membrana e o tempo, segundo certas equações poderiam explicar o potencial de ação. Combinadas com a equação do cabo, essas equações descrevem todas as propriedades do nervo.

Atualmente, diversas computações foram realizadas, confirmando os resultados experimentais, Para outros

tipos de fibras tem sido encontrados outros tipos de potenciais. Modificações das equações de Hodgkin e Huxley tem permitido formular as propriedades de diversas membranas. Neste trabalho são descritos os potenciais das regiões marcadoras de passo e fibras de Purkinje no coração.

A principal diferença dessas fibras com a do axônio da lula está em que a *Despolarização diminue a Permeabilidade da membrana ao K^+* .

No modelo de Hodgkin e Huxley podemos alterar a equação da corrente de K^+ e adaptar a equação da corrente de Na^+ aos valores encontrados experimentalmente para células de Purkinje.

As hipóteses fundamentais de Hodgkin e Huxley, concernentes aos ions são de comprovação mais difícil no músculo cardíaco e é discutível mas não impossível a hipótese de uma bomba eletrogênica de origem metabólica. Neste trabalho não faremos tal hipótese.

As condutâncias iônicas são definidas por:

$$g_{Na} = I_{Na} / (E_m - E_{Na}) \quad (81)$$

$$g_K = I_K / (E_m - E_K) \quad (82)$$

$$g_{An} = I_{An} / (E_m - E_{An}) \quad (83)$$

OBSERVAÇÕES: Nas equações de Hodgkin e Huxley o potencial é medido em relação a zero e o potencial de ação é uma variação negativa. A convenção adotada aqui é diferente: o potencial E_m é o potencial do interior com relação ao exterior e o potencial de ação é uma variação positiva. As correntes positivas são para fora. Comparando as equações com as de Hodgkin e Huxley, deveremos substituir:

$$E_m = E_r - V$$

onde:

$$E_r = \text{potencial de repouso} = -55 \text{ mV}$$

A corrente total da membrana será dada por:

$$I_m = C_m \frac{dE_m}{dt} + I_{Na} + I_K + I_{An} \quad (84)$$

onde:

C_m é a capacidade da membrana ($12 \mu\text{F}/\text{cm}^2$)

A corrente axial pode ser nula e a corrente total também. Este é o caso que trataremos:

O circuito equivalente será:

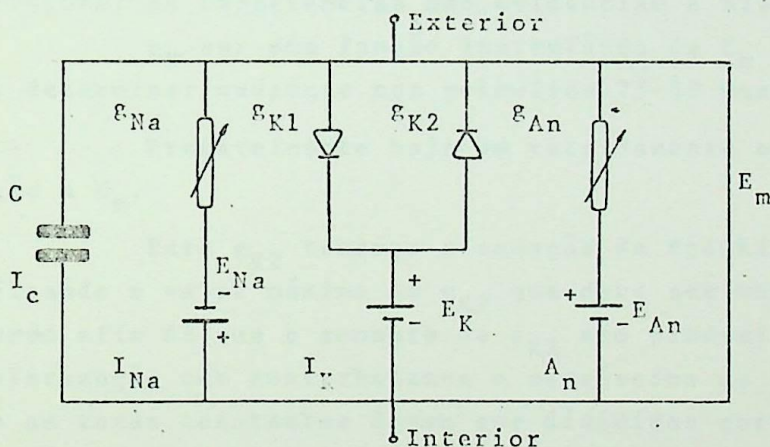


FIG. 22

Corrente de Potássio

Ao contrário do que sucede com o nervo da lula a despolarização diminui a condutância membrânica.

A condutância de Cl^- é pequena para músculos cardíacos donde se conclui que a queda de condutância é principalmente influenciada pelo K^+ .

Supomos que a corrente de K^+ exista em dois tipos de canais membrânicos.

No primeiro g_{K1} é por hipótese uma função instantânea do potencial membrânico e cai quando a membrana é despolarizada.

No segundo, g_{K2} aumenta ligeiramente quando a membrana é despolarizada.

Uma equação puramente empírica é proposta para g_{K1} :

$$g_{K1} = 1,2 \exp(-E_m - 90)/50 + 0,015 \exp(E_m + 90)/60 \quad (85)$$

OBSERVAÇÕES: As experiências não evidenciam a hipótese de g_K ser uma função instantânea de E_m (não é possível determinar mudanças nos primeiros 25-50 msec do pulso)

Provavelmente haja um retardamento em g_{K1} com relação a E_m .

Para g_{K2} tomamos a equação de Hodgkin e Huxely, modificando o valor máximo de g_{K2} que deve ser *muito menor no nervo* afim de que o aumento de g_{K2} não produzido pela despolarização não contrabalance o decréscimo de g_{K1} . Além disso as taxas constantes devem ser divididas por 100 afim de dar resultados compatíveis com as fibras de Purkinje. Resulta então:

$$G_{K2} = 1,2 n^4 \quad (86)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n (1 - n) - \beta_n n \quad (87)$$

$$\alpha_n = \frac{0,0001 (E_m - 50)}{\exp(-E_m - 50)/10 - 1} \quad (88)$$

$$\beta_n = 0,002 \exp (-E_m - 90)/80 \quad (89)$$

Os valores absolutos das condutâncias foram ajustados para dar condutância de repouso de 1 mmho/cm^2 (declive da condutância em -90 mV).

O potencial de equilíbrio do K^+ é -100 mV . Resulta para a corrente total de K^+ :

$$I_K = (g_{K1} + g_{K2})(E_m + 100) \quad (90)$$

As relações de corrente e voltagem descrita pelas equações 85 a 90 são mostradas na figura (23),

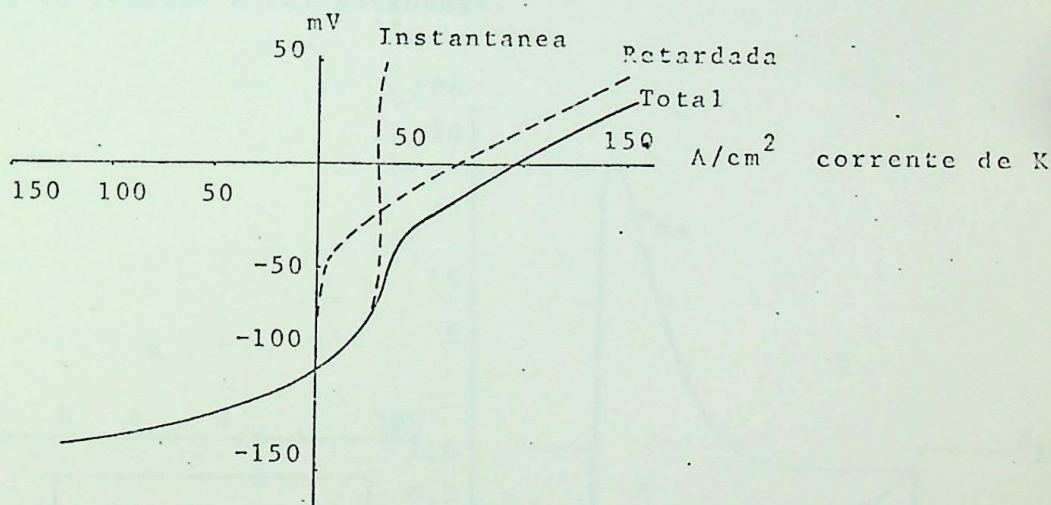


FIG: 23

A curva instantânea refere-se ao primeiro canal.

A curva retardada refere-se a corrente estacionária no segundo tipo de canal, dada por:

$$g_{K2}^{\infty} (E_m + 100)$$

onde:

g_{K2}^{∞} é o valor de g_{K2} para o potencial mantido durante muito tempo.

Nessas condições dn/dt é nula e as equações (86) e (87) dão:

$$g_{K2}^{\infty} = 1,2 \frac{\alpha_n}{(\alpha_n + \beta_n)}^4 \quad (91)$$

A variação de g_K com o tempo é mostrada na figura (24), na qual tomamos uma variação de E_m de -90 mV a -20 mV. O valor de g_K cai inicialmente e depois aumenta durante a despolarização (observe a mudança da escala após 10 ms). Quando o potencial volta a -90, g_K sobe acima do seu valor de repouso e cai novamente.

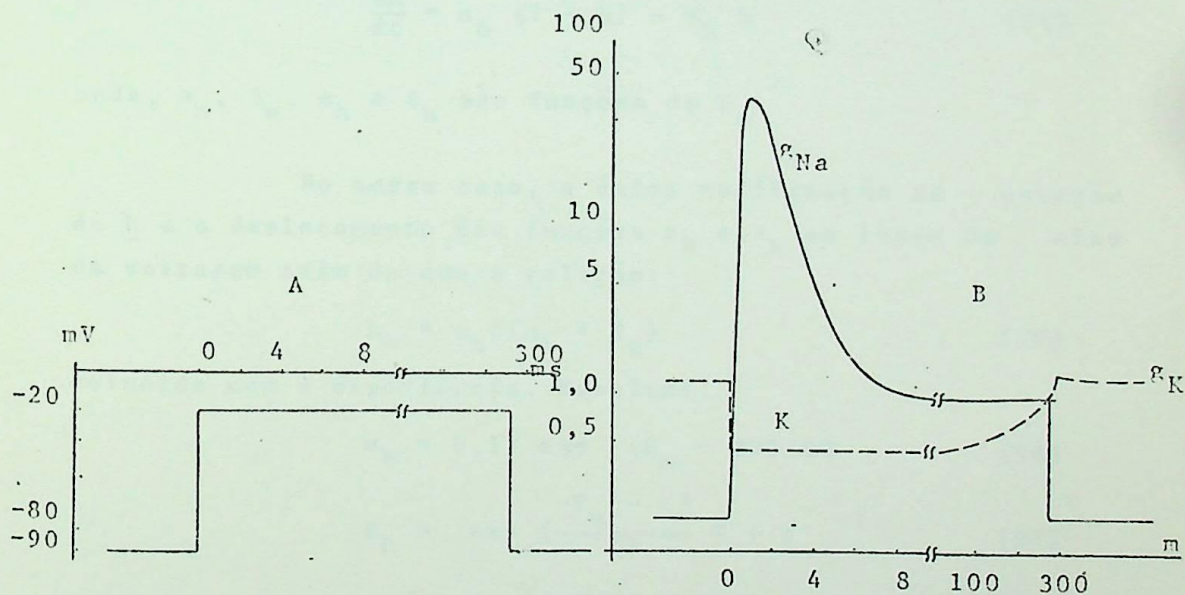


FIG. 24

A corrente de sódio

A mudança do potencial de membrana no nervo da lula possui um efeito duplo na condutância de Na^+ .

Quando a membrana é despolarizada há um aumento muito grande inicialmente em g_{Na} , mas em seguida g_{Na} cai mesmo conservando-se a despolarização. As equações de Hodgkin e Huxley descrevem o fato pelas relações:

$$g_{\text{Na}} = m^3 h \bar{g}_{\text{Na}} \quad (92)$$

onde:

\bar{g}_{Na} é constante e m e h obedecem as equações:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m (1 - m) - \beta_m m \quad (93)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h (1 - h) - \beta_h h \quad (94)$$

onde, α_m , β_m , α_h e β_h são funções de E_m

No nosso caso, a única modificação na equação de h é o deslocamento das funções α_h e β_h ao longo do eixo da voltagem afim de que a relação:

$$h_\infty = \alpha_h / (\alpha_h + \beta_h) \quad (95)$$

coincida com a experiência. Resulta:

$$\alpha_h = 0,17 \exp (E_m - 90)/20 \quad (96)$$

$$\beta_h = \exp \left(\frac{-E_m - 42}{10} \right) + 1 \quad (97)$$

e para as funções α_m e β_m , vem:

$$\alpha_m = \frac{0,1(-E_m - 48)}{\exp (-E_m - 48)/15 - 1} \quad (98)$$

$$\beta_m = \frac{0,12 (E_m + 8)}{\exp (E_m + 8)/5 - 1} \quad (99)$$

Foi feita a suposição de que uma componente g_{Na} de $0,14 \text{ m mho/cm}^2$ é independente de E_m e t . O valor de \bar{E}_{Na} foi colocado em 400 m mho/cm^2 e $E_{Na} = 40 \text{ mV}$.

Resulta:

$$I_{Na} = (400 \text{ m}^3 \text{ h} + 0,14)(E_m - 40) \quad (100)$$

O comportamento dessas equações são similares às de Hodgkin e Huxley.

Na figura (25) mostramos os resultados obtidos, utilizando o modelo modificado. A parte A mostra o perfil do potencial de ação e a parte B mostra a variação da condutância de Na e K com o tempo.

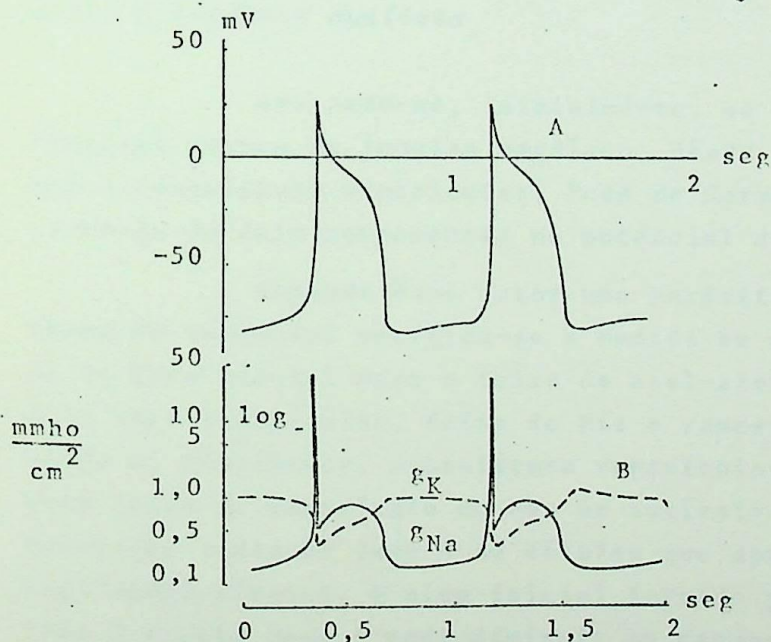


FIG. 25

Em suma, as equações de Hodgkin-Huxley modificadas descrevem bem o potencial de ação e os potenciais de marca-passo das fibras de Purkinje. A principal modificação foi a introdução de dois canais de ions K no modelo, um canal no qual g_K decresce com a despolarização e outro no qual g_K sobe lentamente. A corrente de Na foi apenas modificada, em parte, para se adaptar aos resultados experimentais de Weidmann (1955).

A discrepância mais acentuada do modelo com a experiência foi encontrada na taxa máxima de despolarização que é menor no modelo.

Outra discrepância que nos chamou a atenção e que originou a nossa idéia, descrita na parte III, foi a falta de evidência para a hipótese de que g_K seja uma função instantânea de E_m . Parece ser mais correto supor um retardamento das alterações de g_{K1} com relação à variação de E_m .

2.5 - A hipótese dualista

Apoiando-se, inicialmente, na observação das diversas formas de impulso cardíaco, desde a região do atrio até a musculatura ventricular, *Paes de Carvalho* sugeriu a presença de dois componentes no potencial de ação cardíaco.

Segundo êsse autor uma perfeita transmissão de forma de potencial verifica-se a medida em que o impulso passa da área sinusal para o feixe do anel-atrial, aurícula, nódulo atri-ventricular, feixe de His e ramos, rêde de Purkinje e, finalmente, musculatura ventricular. A fase 2 é mais longa no ventrículo do que na aurícula. Há uma despolarização lenta na fase 4 em células que apresentam potencialidades rítmica. O pico inicial formado pelo final da fase 0 e pela fase 1 pode diminuir ou desaparecer, dando um potencial de ação de contorno arredondado nas zonas especializadas da musculatura atrial.

A hipótese dualista de Paes de Carvalho propõe que o potencial de ação cardíaco seja considerado como resultado de dois processos individuais de despolarização: um componente inicial rápido e um segundo componente lento, como se indica no diagrama da figura (26).

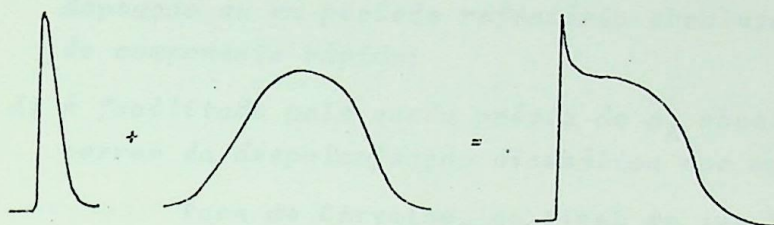


FIG. 26

Na hipótese, sugere-se a individualidade do componente rápido inicial e também que o patamar constitua, um processo separado de despolarização que ocorre mesmo quando o componente inicial é diminuído ou ausente. Foi mostrado que é possível abolir seletivamente o patamar (fase 2) por estimulação vagal ou por ação de acetilcolina. O componente inicial corresponderia a uma rápida despolarização, que regride em curto tempo (componente acetilcolino-resistente). O segundo componente compreenderia uma despolarização que se instala mais lentamente e que permanece por um longo tempo.

Paes de Carvalho, em sua tese de Livre Docência procura mostrar a individualidade dos dois componentes e a possível natureza de cada um, chegando às conclusões que exporemos a seguir.

O componente rápido inicial, similar ao sistema excitatório do nervo, precede e provavelmente causa o apare-

cimento de um componente lento prolongado. Tal componente , parece ter as seguintes propriedades:

- a) deve-se, ao menos em parte, a uma queda de g_K ;
- b) pode ser excitado por uma despolarização prolongada; a latência do aparecimento da resposta diminui com despolarizações maiores;
- c) o fator despolarizante não é inativado pela despolarização; portanto, o componente lento não mostra adaptação ou um período refratário absoluto similar ao do componente rápido;
- d) é facilitado pela queda prévia de g_K observada no decorrer da despolarização diastólica dos marca-passos.

Paes de Carvalho, ao final de sua Tese, observa ainda que é necessário ter em mente que a contração do músculo cardíaco está associada ao aparecimento do componente , lento; a compreensão da natureza deste sendo um estágio indispensável no conhecimento do vínculo entre excitação e contração.

3. MODELO PROPOSTO PARA O POTENCIAL DE AÇÃO CARDÍACO

3.1 - Considerações iniciais

Paes de Carvalho, em seu trabalho: *Hipótese Dualista do Potencial de Ação Cardíaco*, analisa algumas hipóteses que implicam possíveis interações das células miocárdicas e as considera insubsistentes, devido ao fato do potencial típico se manifestar em células cardíacas isoladas, em cultura de tecido.

Considerando, portanto, que o mecanismo peculiar do potencial de ação cardíaco deva ser pesquisado na região da membrana, pensamos em utilizar o modelo de Hodgkin-Huxley, de uma forma similar à apresentada no item 2.4 mas de um ponto de vista bem diferente.

Com efeito, a hipótese de Paes de Carvalho é mais fecunda, no que concerne à evidência de dois processos ou pelo menos de duas etapas de um mesmo processo. O trabalho de NOBLE, descrito no item 2.4, introduz, como vimos, a hipótese de dois canais para o transporte de íons de potássio: um no qual g_K decresce com a despolarização e outro no qual g_K sobe lentamente. Uma discrepância do modelo com os resultados experimentais que nos chamou a atenção foi a falta de evidência para a hipótese de que, em um dos canais, g_K seja uma função instantânea de E_m (vide pág. 78).

Isso, a nosso ver, parece reforçar a idéia da existência de duas etapas distintas no processo.

Resolvemos então propor um modelo que não consistisse simplesmente de uma modificação do de Hodgkin-Huxley. Pelo contrário, supomos que o potencial de ação cardíaco seja iniciado por um potencial típico de nervo, adaptando-se obviamente apenas às condições do músculo cardíaco segundo os dados experimentais disponíveis.

A variação inicial do potencial de ação, segundo o modelo acima, seguir-se-ia uma segunda etapa, disparada, digamos assim, por aquêle potencial.

Podemos supor, por exemplo, que a subida do potencial no local provocaria ou facilitaria o transporte de uma substância, presente na membrana ou adjacente, a uma posição em que pudesse atuar na condutância do potássio, alterando, no modelo de Hodgkin-Huxley, o perfil típico de nervos.

Na figura 27 procuramos representar esquematicamente o processo. Não fizemos nenhuma hipótese acerca da natureza da substância agente embora pensássemos, por exemplo, no Cálcio.

Como dissemos, e repetimos, não é nossa intenção elaborarmos um modelo calcado em estudos bioquímicos, como deveria ser, mas apenas utilizar um modelo viável para ilustrar uma sequência possível de um trabalho de índole biofísica e ser executado em um computador híbrido.

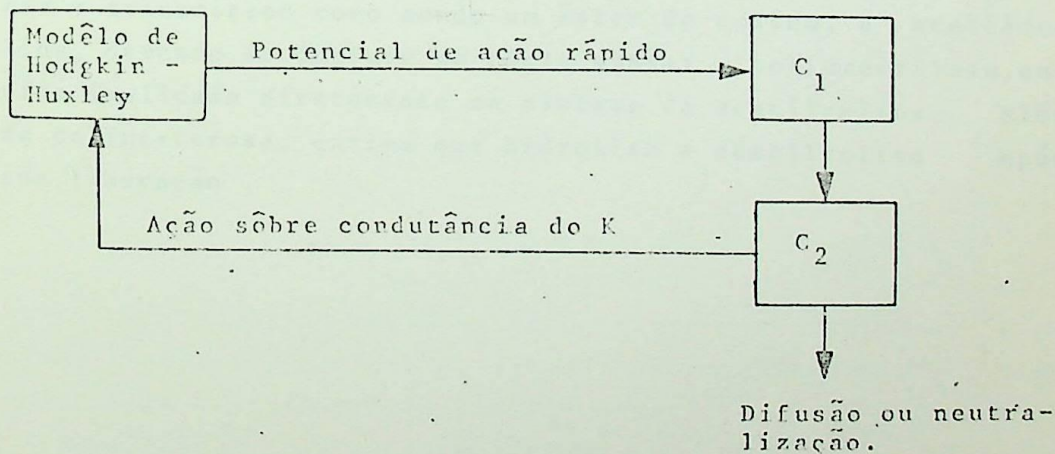


FIG. 27

Um processo como o que foi esquematizado na figura 27 é similar ao da contração de uma fibra muscular esquelética acionada por uma fibra nervosa motora. Sabemos, com efeito, que no acionamento neuro-motor o sinal elétrico, de perfil adequadamente descrito pelo modelo de Hodgkin-Huxley, ao atingir a placa terminal do nervo, isto é, a região de aderência da fibra nervosa com o músculo, dispara o processo de contração.

Segundo as idéias já consagradas, quando o impulso nervoso atinge o terminal do axônio, desencadeia uma sequência de eventos que conduzem eventualmente a uma flutuação de voltagem característica na região. Após um retardamento, a despolarização terminal produz a liberação de uma substância denominada transmissora, do axônio ao espaço entre o terminal e o músculo (fenda sináptica, vide figura 28).

O transmissor se difunde e atua na membrana muscular (membrana pós-sináptica), alterando sua permeabilidade, a certos ions e, conseqüentemente, uma flutuação na voltagem na célula pós-sináptica, denominada: potencial pós-sináptico (PSP). O transmissor é simultaneamente destruído.

As pesquisas de bioquímica permitem identificar o transmissor como sendo um éster de colina, a acetilcolina, devendo se incluir no ciclo ainda: a colinacetilasa, enzima implicada diretamente na síntese da acetilcolina, além da colinesterasa, enzima que hidrolisa a acetilcolina após sua liberação.

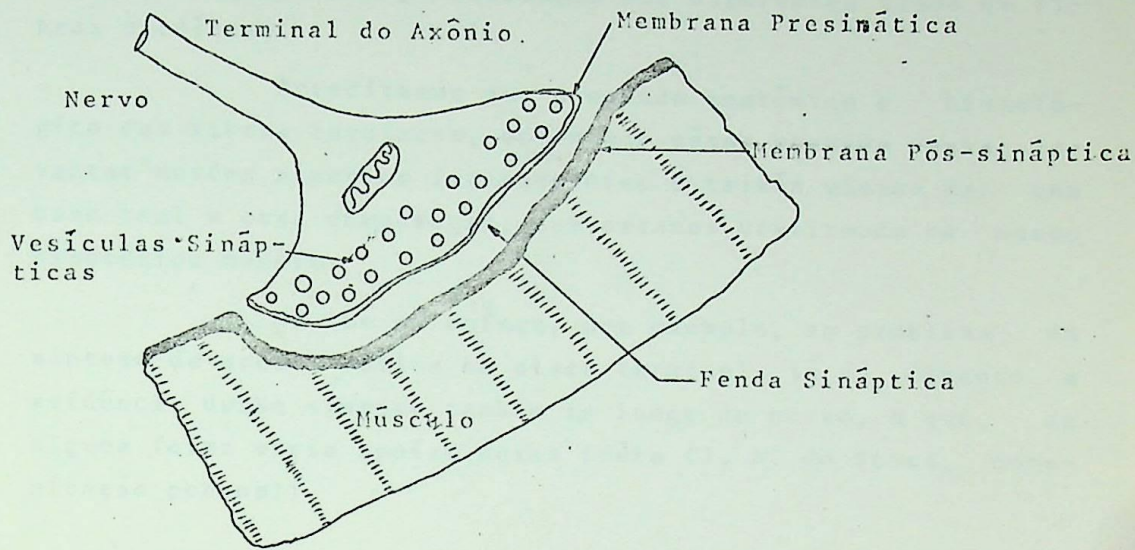


FIG. 28

O potencial de ação pós-sináptico provocará, em seguida, a contração muscular, cuja análise não nos interessa no momento.

O importante é assinalar aqui a existência de dois estágios distintos do processo: a informação ou o sinal conduzido pelo nervo e a contração desencadeada pelo potencial pós-sináptico.

A idéia fundamental do modelo que propomos consiste em encarar a fibra de Purkinje como um tipo funcionalmente intermediário entre um músculo não especializado e um nervo tipicamente condutor, estando nela estreitamente vinculadas as duas etapas do processo.

As diferenças de forma do potencial, observadas por Paes de Carvalho, no levantamento que realizou dos poten-

ciais na área cardíaca do coelho, desde o marca-passo até a musculatura menos especializada, estariam plenamente justificadas pelo grau de especialização dos diferentes tipos de fibras cardíacas.

Acreditamos que o estudo anatômico e histológico das fibras cardíacas, orientado nêsse sentido venha levantar muitos aspectos interessantes e talvez viesse dar uma base real a essa comparação, que estamos utilizando em nosso hipotético modelo.

No que se refere, por exemplo, ao problema da síntese de acetil colina na placa terminal, já se discute a evidência dessa síntese também ao longo do nervo, o que, de alguma forma viria apoiar nossa idéia (J. A. de Souza, comunicação pessoal).

3.2 - Modelo para a liberação do transmissor

Retornando ao diagrama da figura 27, vamos considerar a existência de dois compartimentos, nos quais o agente se encontre com as concentrações respectivamente iguais a C_1 e C_2 .

O sinal elétrico, gerado segundo o modelo do nervo (pág. 67), provocará a saída do material do compartimento 1 para o compartimento 2, isto é, a liberação do agente na região da membrana.

Simultaneamente essa substância, inibidora de g_K , se difunde ou é neutralizada com uma taxa que nós indicaremos como uma taxa de fluxo do compartimento 2 para fora.

Vamos supôr que as taxas de fluxo sejam proporcionais às concentrações, fato que ocorre frequentemente em problemas de transporte entre compartimentos fisiológicos.

Nessas condições, as equações que descrevem o transporte, definindo a variação de C_1 e C_2 são:

$$\frac{dC_1}{dt} = k_1 C_1 \quad C_1(0) = C_0$$

(101)

$$\frac{dC_2}{dt} = k_1 C_1 - k_2 C_2 \quad C_2(0) = 0$$

As equações (101) podem ser simuladas analógicamente, o que é indicado na figura 29.

A forma de variação de C_2 , típica em problemas de dois compartimentos, apresenta uma região ascendente, um máximo e uma região decrescente até um valor final que pode ser nulo.

A nossa hipótese será a de que a condutância do potássio será alterada pela presença do agente. Se verificarmos a figura 15.c, pág. 68, veremos que, no modelo de Hodgkin-Huxley, para o nervo, a condutância do potássio cresce inicialmente e depois decresce.

Vamos admitir que ao se iniciar o processo, tenhamos $C_2 = 0$. A condutância g_K começa a crescer e também o potencial de ação gerado (vide págs. 67 e 68). Um certo instante depois faz-se sentir a ação do agente cuja concentração C_2 atingiu um valor considerável. Dêsse instante em diante, então, g_K começa a decrescer de uma forma, digamos inversamente proporcional ao aumento de C_2 .

Como C_2 atingirá um máximo e depois decrescerá, g_K tenderá para um mínimo e depois crescerá.

O comportamento acima será simulado fazendo-se g_K , por meio de um comparador, tornar-se, após um certo instante, igual ao valor de C_2 invertido e multiplicado por um parâmetro K de proporcionalidade.

Essa simulação está também indicada na figura 29.

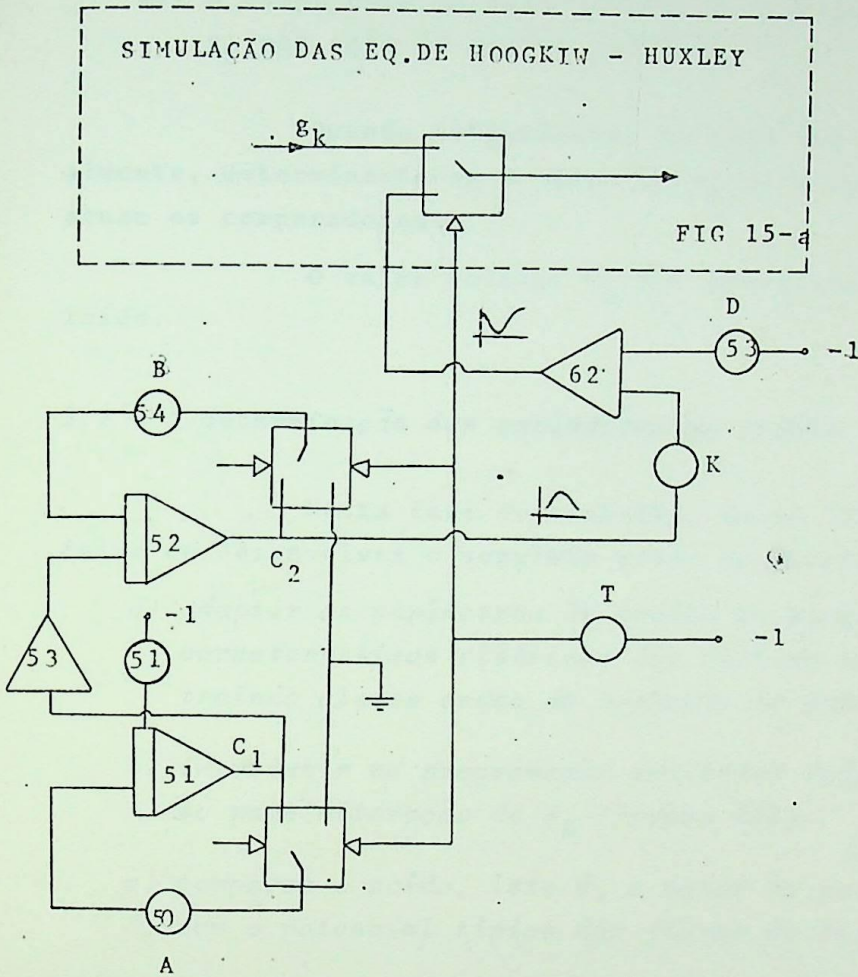


FIG. 29

O parâmetro D , introduzido na simulação, serve para fazer coincidir o valor da curva de g_K num tempo fixado T com o valor proporcional a C_2 naquêle mesmo instante.

Observe-se que temos no modelo quatro parâmetros a determinar:

- 1º) a taxa de transporte entre compartimentos: A
- 2º) a taxa de difusão ou neutralização: B
- 3º) a constante de proporcionalidade: K
- 4º) o tempo onde se deve iniciar o processo de queda de g_K por ação do agente inibidor.

Quando ao parâmetro D, este foi ajustado manualmente, determinando-se o valor de g_K no instante T, quando atuam os comparadores.

O valor inicial C_0 foi arbitrariamente escolhido.

3.3 - A determinação dos parâmetros do modelo

Nesta fase do trabalho, nossa intenção inicial foi a de desenvolver o seguinte plano de operações:

- a) adaptar os parâmetros do modelo de Hodgkin-Huxley às características elétricas das células de Purkinje, estraiendo alguns dados do trabalho de NOBLE;
- b) introduzir na programação analógica (pág. 65) o modelo para alteração de g_K (figura 29);
- c) comparar a saída, isto é, o valor do potencial de ação com o potencial típico das fibras de Purkinje;
- d) gerar, da comparação anterior, uma função erro;
- e) minimizar a função erro, por variação automática dos parâmetros, segundo uma técnica de otimização preestabelecida.

Tivemos, todavia, uma dificuldade intransponível, dentro do prazo de que dispunhamos para o término do

trabalho: a falta de geradores de função a diodo, em número suficiente.

Com efeito, analisando-se a programação analógica da pág. 65, podemos observar que o modelo de Hodgkin-Huxley utiliza seis geradores de função. Necessitaríamos ainda mais um, destinado a receber os valores experimentais do potencial de ação cardíaco para comparação com a saída do modelo e posterior geração da função erro.

O equipamento de que dispomos, até o momento, no Laboratório de Computação e Simulação do Departamento de Ciências Auxiliares da Escola Federal de Engenharia de Itajubá, consta de:

- a) computador analógico TELEFUNKEN RA 741, de mesa com 23 amplificadores e 2 geradores de função ajustáveis;
- b) computador híbrido TELEFUNKEN RA 770, com, inicialmente, 72 amplificadores de cálculo na parte analógica, 200 módulos lógicos e 4 geradores de função ajustáveis.

Com o acoplamento dos dois supra-citados computadores, obtivemos 6 geradores de função ajustáveis disponíveis, o que permitiu desenvolver a simulação do modelo de Hodgkin-Huxley, cujos resultados estão indicados nas págs. 67 e 68 deste trabalho.

A fim de liberarmos um ou mais geradores necessitaríamos alterar a programação descrita no ítem 1.8, fazendo a geração implícita de um ou mais dos coeficientes e

Tal alteração introduz problemas consideráveis, de escalação e operação, razão pela qual, coagidos também pela premência do tempo, resolvemos simplificar o plano de operações, deixando para um posterior desenvolvimento da pesquisa, as citadas alterações.

Com essa opção a tese perderá o rigor quantitativo desejado, mas não será prejudicada no aspecto qualitativo das idéias que a tese defende.

O novo plano de trabalho, que exporemos até o final, será o seguinte:

- a) utilizar a mesma programação indicada no item 1.8 para simular a geração do componente rápido inicial (modelo de Hodgkin-Huxley);
- b) introduzir na programação analógica (pág. 65) o modelo para alteração de g_K (figura 29);
- c) fazer a constante de proporcionalidade K igual a 1;
- d) ajustar manualmente o tempo T , observando-se diretamente no registrador o potencial de ação obtido;
- e) supor que a variação de g_K experimental seja a indicada aproximadamente na figura 24, extraída do trabalho de NOBLE;
- f) fazer separadamente a identificação dos parâmetros A e B , em um outro painel, utilizando o modelo de dois compartimentos e, como dado experimental a variação de g_K , extraída, com uma pequena modificação, da figura 24.

3.4 - Determinação dos parâmetros A e B

Na determinação dos parâmetros escolhidos, utilizaremos um computador híbrido (RA 770 - TELEFUNKEN), cumprindo-se o seguinte programa de operações:

- a) entrada das informações, dados de curvas experimentais C_i ;

- b) comparação entre os dados C_i e as soluções \bar{C}_i do programa analógico para o sistema de equações do modelo;
- c) estabelecimento de uma função integral do erro;
- d) busca, através de um programa digital dos valores dos coeficientes que tornem mínima a função erro.

DIAGRAMA EM BLOCOS

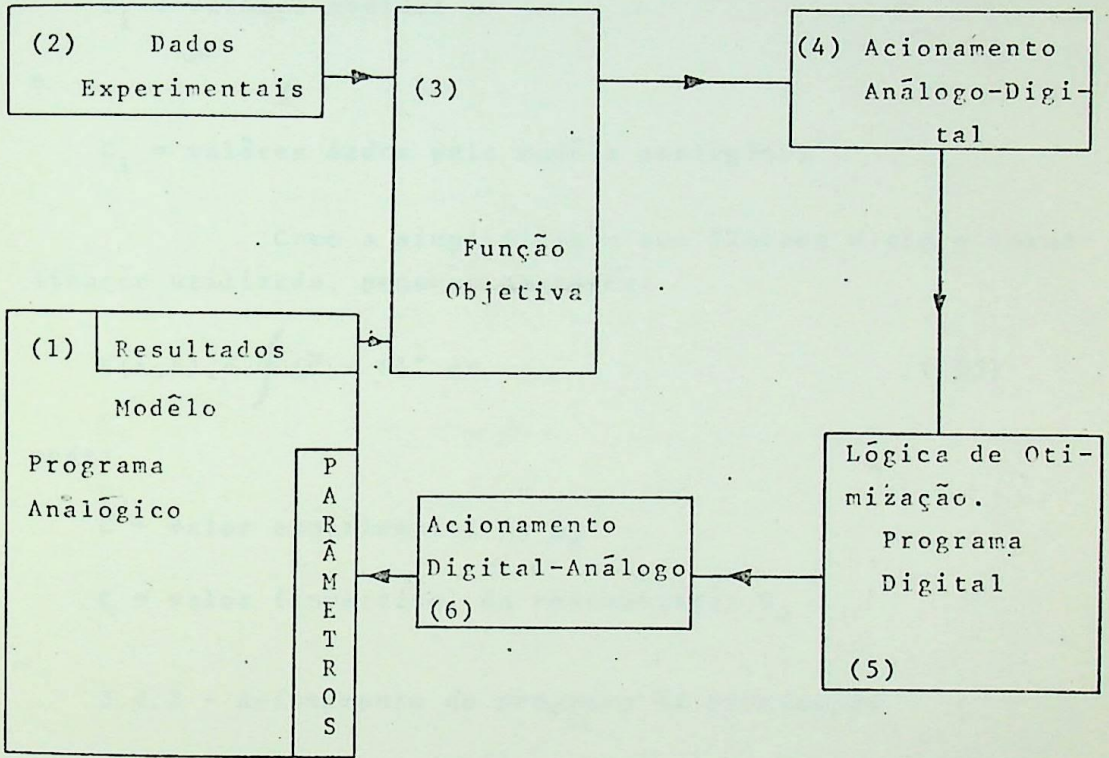


FIG. 30

3.4.1 - Função objetiva

Constroi-se agora a função objetiva que se deseja otimizar:

$$E(A,B) = \int (\bar{C}_i - C_i)^2 dt. \quad (102)$$

onde:

\bar{C}_i = valôres medidos

e

C_i = valôres dados pelo modelo analógico.

Como a simplificação que fizemos e com a normalização utilizada, podemos escrever:

$$E(A,B) = \int (\bar{C} - C)^2 dt \quad (103)$$

onde:

\bar{C} = valor experimental de g_K

C = valor (invertido) da concentração C_2

3.4.2 - Acionamento do programa de otimização

A função objetiva construída deverá ser comparada, após cada cálculo, com o valor anterior, afim de podermos obter informações acêrca de sua variação, isto é, saberemos se aproximou ou afastou do valor ótimo.

Para isso construímos uma chave análoga-digital que servirá para acionar o programa digital, com a informação:

$\Delta = 1$ não melhorou

$\Delta = 0$ melhorou

3.4.3 - Fluxograma da lógica de otimização

Os sinais digitais utilizados serão expressos nas variáveis booleanas seguintes:

- $\Delta = 1$ Não melhorou; isto é, o valor calculado da função objetiva foi maior do que o anterior.
- $\Delta = 0$ Melhorou: isto é, o valor calculado da função foi menor do que o anterior.
- $A = 1$ Variar o valor de k_1 da quantidade E chamada: passo de variação.
- $\bar{A} = 1$ Variar k_2 de E.
- $P = 1$ Passar para nova situação.
- $\bar{P} = 1$ Voltar à situação anterior.
- $S_A = 1$ Sinal do passo de k_1 positivo.
- $\bar{S}_A = 1$ Sinal do passo de k_1 negativo.
- $S_B = 1$ Sinal do passo de k_2 positivo.
- $\bar{S}_B = 1$ Sinal do passo de k_2 negativo.
- $U = 1$ Nenhum passo com sucesso até agora.
- $Z = 1$ Variável auxiliar que leva ao ciclo final.

Na figura 31 indicamos o fluxograma da lógica de otimização.

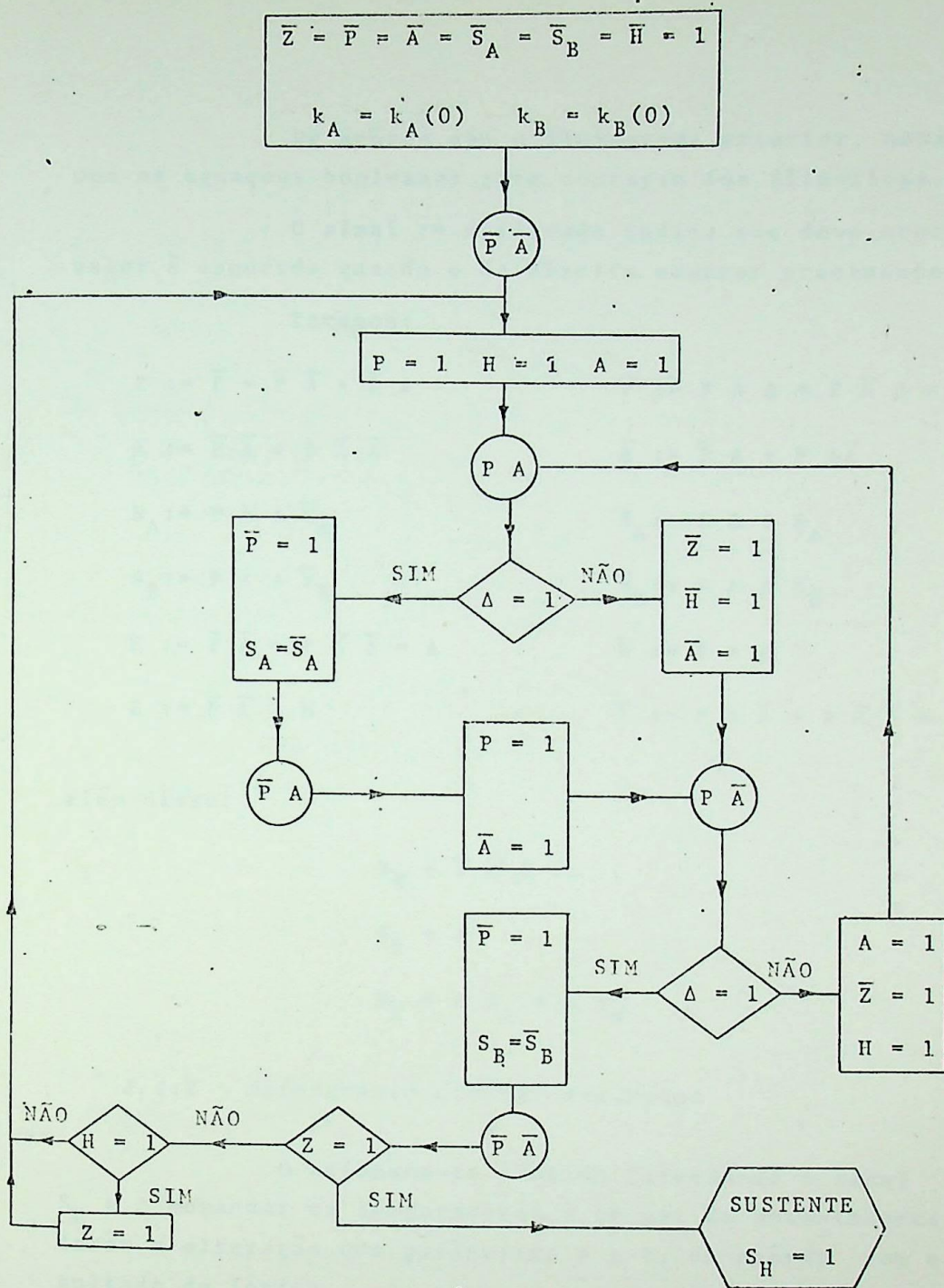


FIG. 31

De acôrdo com o fluxograma anterior, construímos as equações booleanas para montagem dos flip-flops.

O sinal := utilizado indica que deve ocorrer o valor à esquerda quando o da direita ocorrer precedentemente.

Teremos:

$$\begin{array}{ll}
 P := \bar{P} = \bar{P} \bar{A} + \bar{P} A & \bar{P} := P A \Delta + P \bar{A} \Delta = P \Delta \\
 A := \bar{P} \bar{A} + P \bar{A} \bar{\Delta} & \bar{A} := \bar{P} A + P A \bar{\Delta} \\
 S_A := P A \Delta \bar{S}_A & \bar{S}_A := P A \Delta S_A \quad (104) \\
 S_B := P A \Delta \bar{S}_B & \bar{S}_B := P A \Delta S_B \\
 H := \bar{P} \bar{A} + P \bar{A} \bar{\Delta} = A & \bar{H} := P A \Delta \\
 Z := \bar{P} \bar{A} \bar{Z} H & \bar{Z} := P A \bar{\Delta} + P \bar{A} \bar{\Delta} = P \bar{\Delta}
 \end{array}$$

além disso:

$$\begin{array}{ll}
 S_H = \bar{P} \bar{A} Z & \\
 S_k = A & (105) \\
 S_E = A S_A + \bar{A} S_B &
 \end{array}$$

3.4.4 - Acionamento digital analógico

O acionamento é obtido fazendo-se o sinal de S_E e A comandar os comparadores e um par de acumuladores que farão a alteração dos parâmetros A e B , de acôrdo com o resultado da lógica.

3.4.5 - Montagem do programa

Para a execução das operações indicadas na figura 30 da página 98, montamos os seguintes programas:

a) Alteração de g_K no modelo de H-H

Foi montado segundo o esquema da figura 32 que é, com mais detalhes, o mesmo da figura 29.

b) Função objetiva

Seguiu-se o esquema da figura 33. O valor experimental foi comparado com a saída do amplificador 23, construindo-se, em seguida, analogicamente, a expressão (102)

c) Acionamento análogo - digital

Utilizamos um memorizador, um memorizador complementar e uma chave análoga-digital. Quando a diferença entre os pontos 1 e 2, da figura 34, for positiva, teremos $\Delta = 1$, quando foi negativa, teremos, $\Delta = 0$.

d) Programa Digital

O programa digital foi montado de acordo com as equações 104 e 105, utilizando-se os flip-flops disponíveis do painel do RA 770 e seguindo-se as instruções de operação. Tais instruções condicionam o uso das equações booleanas segundo suas formas complementares e sob tais formas aparecem nas ligações indicadas no esquema da figura 35.

e) Acionamento digital - análogo

Montamos o esquema da figura 36, onde se pode observar dois blocos acumuladores que acionam os valores dos parâmetros A e B.

Apresentamos, finalmente, na figura 37, um diagrama em blocos completo .

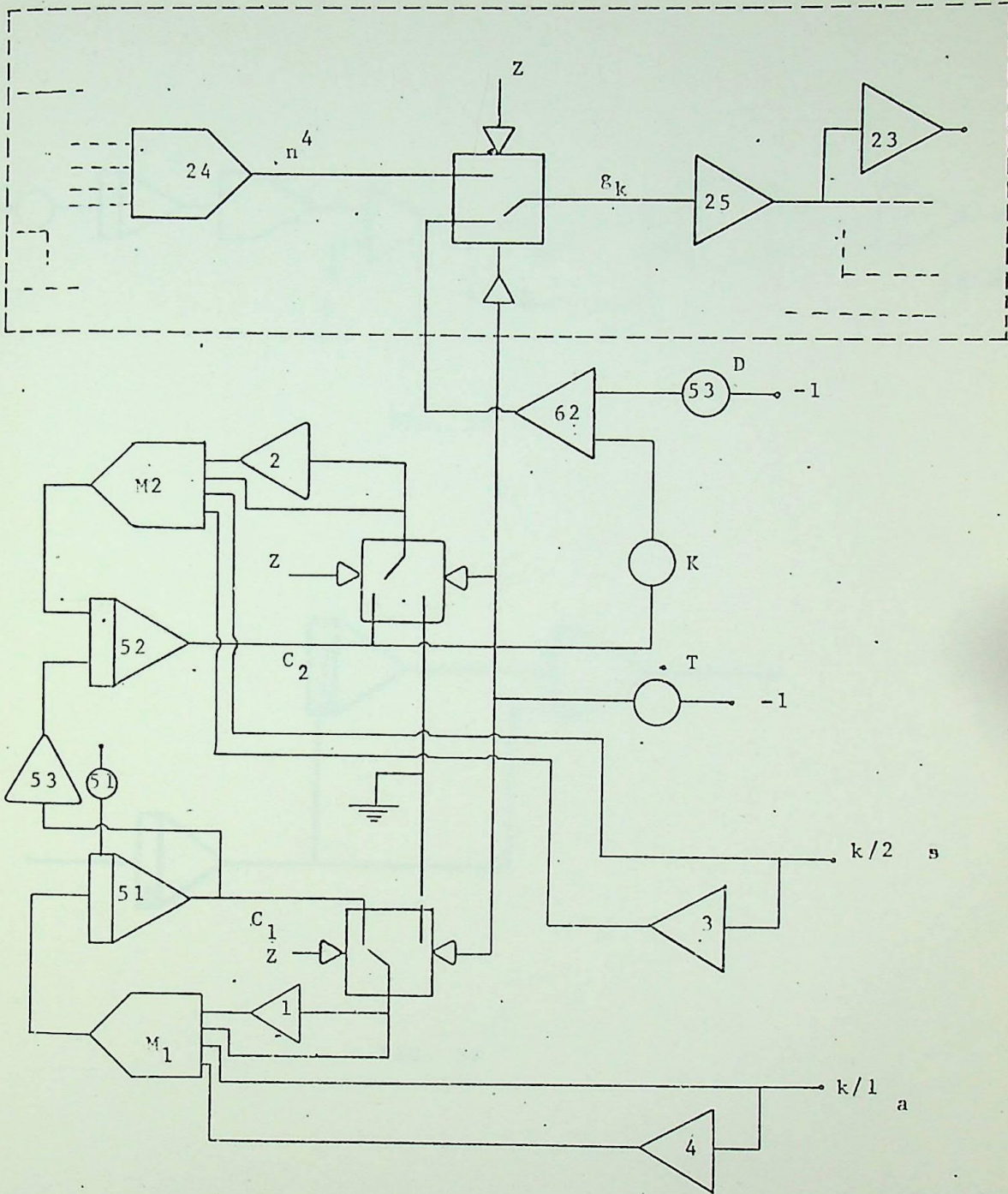


FIG. 32

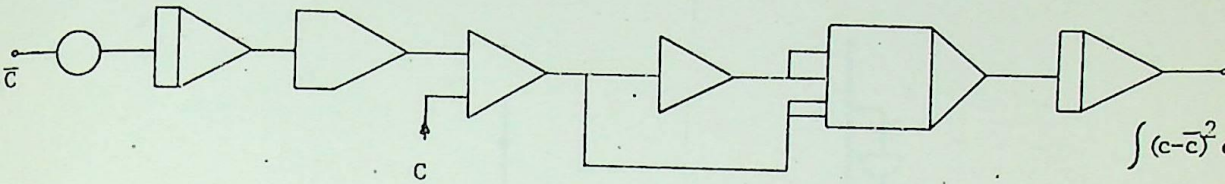


FIG. 33

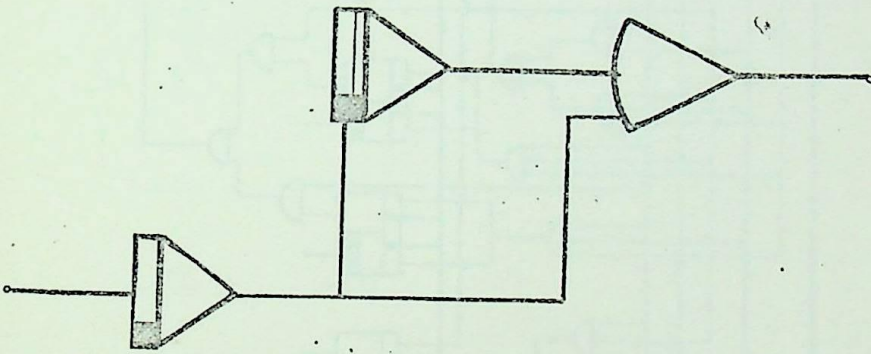


FIG. 34

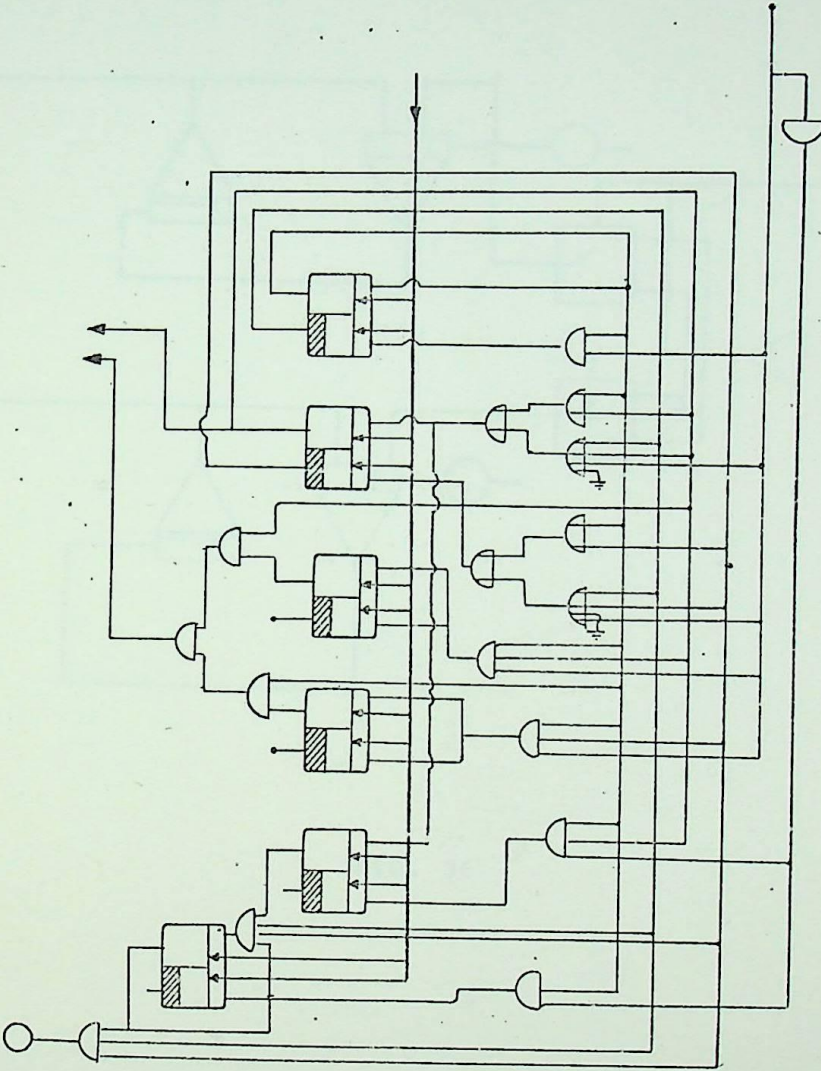


FIG. 35

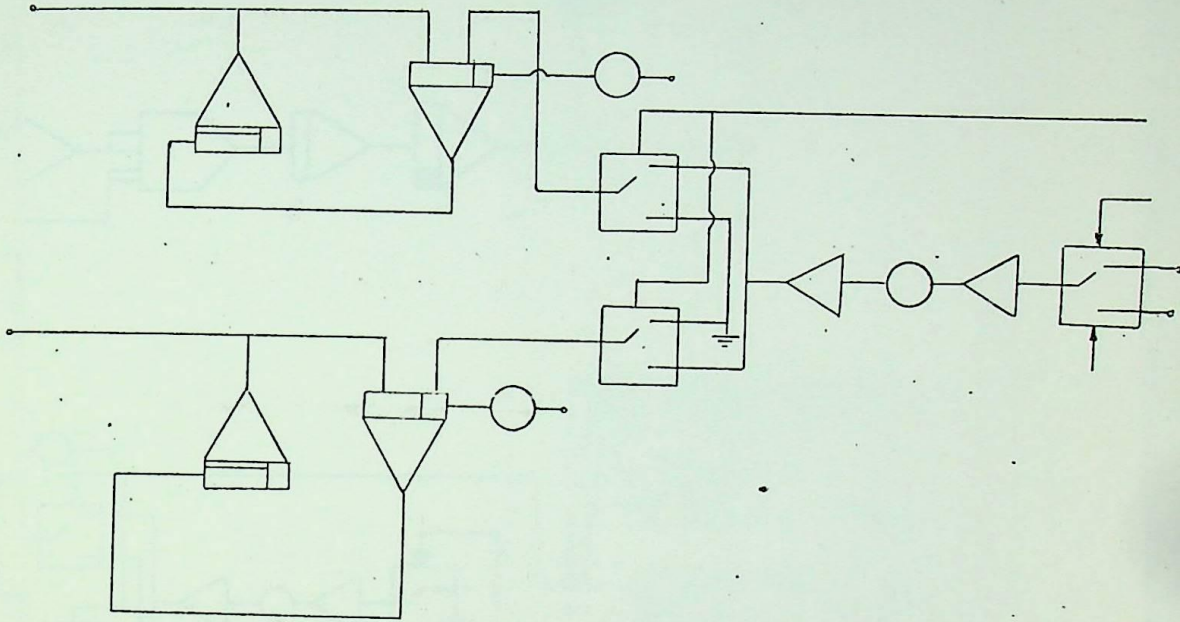
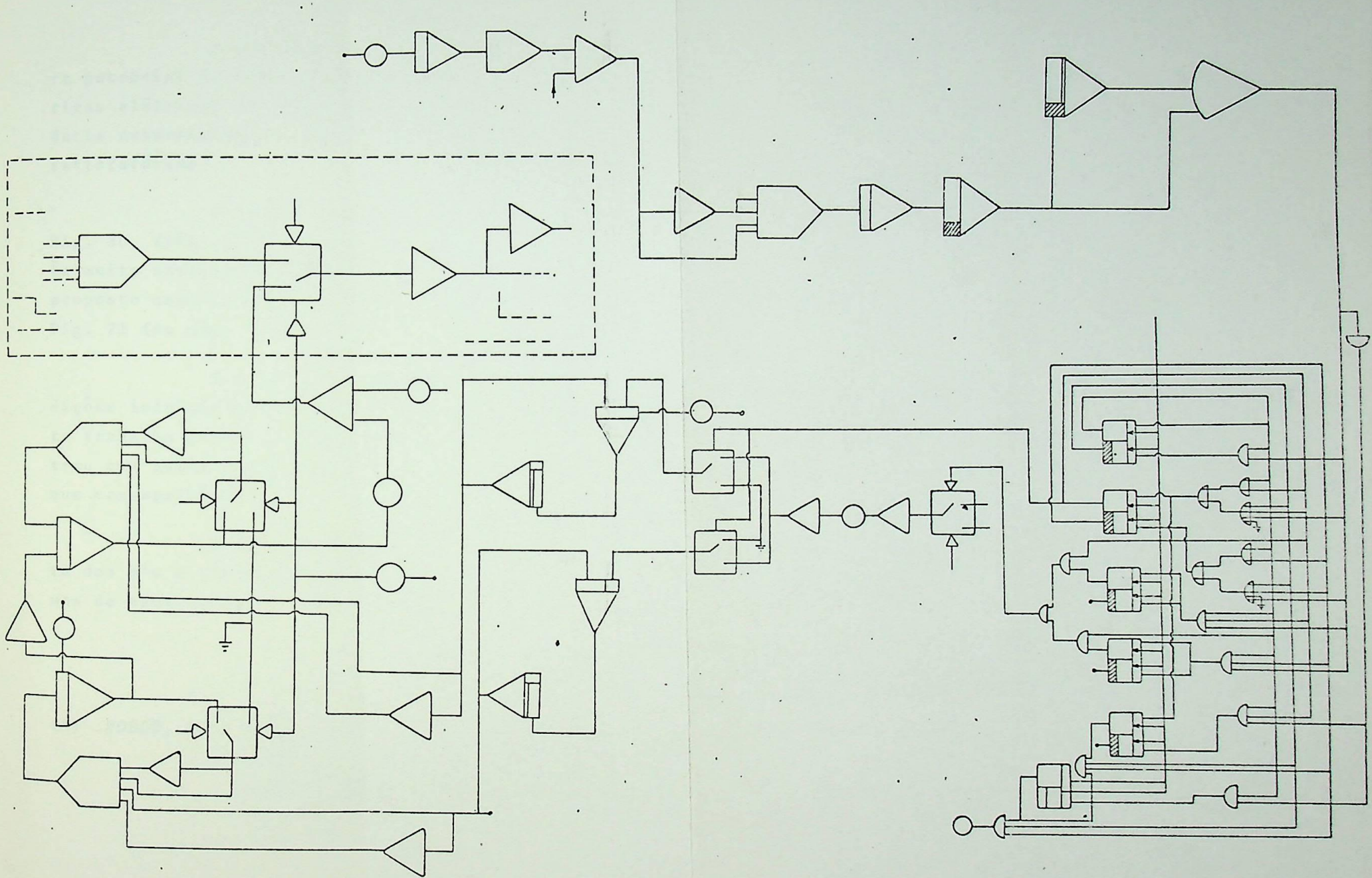


FIG. 36



3.5 - Resultados e Conclusões

A utilização do modelo de Hodgkin e Huxley para potencial de ação de nervos sem adaptação às características elétricas das células cardíacas de Purkinje não poderia evidentemente conduzir a resultados quantitativamente satisfatórios.

O resultado obtido, conforme ilustração na Fig. 38, (pág. 110), revelou-se, todavia, qualitativamente muito satisfatório, demonstrando a viabilidade do modelo proposto como se pode verificar comparando a Fig. 38 com a Fig. 21 (da pág. 76).

A adaptação do modelo aos parâmetros e às condições iniciais das células cardíacas não foi realizada neste trabalho porque a análise dos dados que possuímos (*) mostrou que seria necessário um grau de precisão superior ao que conseguiríamos com os geradores de funções, a diodos.

A solução seria utilizarmos a geração implícita dos α 's e β 's que resultaria, todavia, em sérios problemas de escalamento e estabilidade.

(*) NOBLE, D. - *A Modification of the Hodgkin-Huxley Equations Applicable to Purkinje Fibre Action and Pace-Maker Potentials*, *J. Physiol* 160: 327-352, 1962.

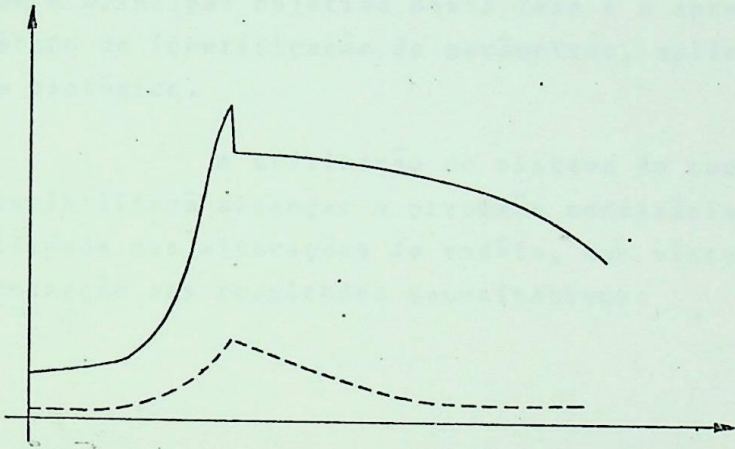


FIG. 38

Considerando que o *Laboratório de Computação e Simulação da Escola Federal de Engenharia de Itajubá*, receberá um sistema de computação híbrida no início de 1971, decidimos não levar a cabo a programação com geração implícita, reservando para um trabalho imediatamente posterior o refinamento quantitativo do modelo, utilizando tal instalação.

Postulamos assim a aceitação do resultado como está indicado na Fig. 38, julgando, como já foi ressaltado, que o principal objetivo desta Tese é a apresentação de um método de identificação de parâmetros, aplicado a um modelo biológico.

A utilização do sistema de computação híbrida possibilitará alcançar a precisão necessária e mais flexibilidade nas alterações do modelo, com vistas a sua melhor adequação aos resultados quantitativos.

B I B L I O G R A F I A

- RUCH, T.C., PATTON, H.D. - Physiology and Biophysics. Saunders Co. (9.^a Edição 1965)
- COLE, K.S. - Membranes, Ions and Impulses, Ed. California Press (1968)
- DE ROBERTIS, E.D.P., NOWINSKI, W.W., SAEZ, F.A. - Biologia Celular. El Ateneo Ed. (7.^a Edição 1968)
- CHENG, S. K - Analysis of Linear Systems. Addison Wesley (1959)
- JOHNSON, W.C. - Transmission Lines and Networks. Mc. Graw Hill Co. (1950)
- MILSUM, J.H. - Biological Control Systems Analysis. Mc. Graw Hill (1966)
- MINORSKY, N. - Nonlinear Oscillations. Van Nostrand (1962)
- TYCHONOV, A.N., SAMARSKI, A.A. - Partial Differential Equations of Mathematical Physics. Holden-Day, Inc. (1964)
- FITZHUGH, R. - Thresholds and Plateaus in the Hodgkin-Huxley Nerve Equations, The Journal of General Physiology, 43(5):867-896, May 1960.
- ECCLES, J. - The Synapse, Sc. American, 212(1):56-59, Jan. 1965

- PORTER, K.R., ARMSTRONG, C.G.* - The Sarcoplasmic Reticulum
Sc. American, 212(3):72-81, March 1965
- BOFFI, COUTINHO* - Elementos de Análise de Sistemas Lineares
Ed. Etegil (1965)
- BULLOCK, R.* - Neuron Doctrines and Electrophysiology, Sci-
ence 129(3355): 997-1002, 1959
- LEWIS,* - An Electronic Analog of the Neuron, Lab. Automata
Research, Jan. 1963
- SELBY, S.M., GIRLING, B.* - Standard Mathematical Tables, 4
th. Ed. The Chemical Rubber Co. 1965
- SANTOS, J.A.R.* - Computadores Analógicos (Computação Básica)
Ed. EFEI, 1969
- SANTOS, J.A.R.* - Computadores Analógicos (Computação Avançada)
Ed. EFEI, 1969 - Apostila
- JACKSON, R.* - Analog Computation - Mc. Graw Hill, 1960
- JOHNSON, C.* - Analog Computer Techniques, 2 th. Ed. Mc. Graw
Hill, 1956
- NASTUK* - Physical Techniques in Biological Research
- BRUNER,* - Semipermeable Membranes, Biophysical Journal ,
5 (6): 867
- MILLMAN, J., TAUB, H.* - Pulse, Digital and Switching Wave
forms, Mc. Graw Hill, 1965

HARNED, OWEN - The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions

FARADAY SOCIETY - Special Issue on Membrane, nº 21, 1956

KEDEM - Membrane Potential, Trans. of Faraday Soc. Vol. 59: 1918

PAES DE CARVALHO - Bioeletrogênese (Manual de Biofísica) F. N.M. Universidade Federal do Rio de Janeiro

PAES DE CARVALHO - Excitação Cardíaca (Tese de Doutorado) F.N.M.U.F.R.J.

PAES DE CARVALHO - Hipótese Dualista do Potencial de Ação Cardíaca (Tese de Livre Docência) F.N.M. U.F.R.J.

I.R.E., PROCEEDING FO - Bio-medical Electronics Issue - November - 1959

GOLDMAN - Potential, Impedance, Rectification in Membranes m J. Gen. Physiol. 27: 37-60

CONDON AND ODISHAW - Handbook of Physics, Mc. Graw Hill

STACY, R.W., and OTHERS - Essentials of Biological and Medical Physics. Mc. Graw Hill (1955)

HAM, A.W. - Histology, 5th Ed. (1965)

ADOLPH, E.F. - The heart's Pacemaker, Sc. American, 216(3) : 32-37, March 1967

- HUXLEY, H.E.* - The Mechanism of Muscular Contraction, Sc. American, 213(6): 18-17, Dec. 1965
- STEVENS, C.F.* - Synaptic Physiology. Pro. of the IEEE 56(6): June, 1968
- MOORE, J.W.* - Specifications for Nerve Membrane Models, Proc. of the IEEE, 56(6), June 1968
- HODGKIN, A.L.* - The Conduction of the Nervous Impulse, C.C. Thomas, 1964
- HODGKIN, A.L.* - A Quantitative Description of Membrane Current and its application to conduction and Excitation in Nerve, J. Physiol. 117:500-544, 1952
- NOBLE, D.* - A Modification of the Hodgkin-Huxley Equations Applicable to Purkinje Fibre Action and Pace Maker Potentials, J. Physiol 160:317-352, 1962
- BEYER, G.A.* - Analog Simulation of Nerve Excitation, Sec. Nat. Sim. Conf., Texas, April, 1957
- WILDE, D.J.* - Optimum Seeking Methods, Prentice-Hall, 1967

EFEI - BIBLIOTECA MAUÁ
8200050



NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA