

MECANISMOS RESPONSÁVEIS PELO AUTOMATISMO CARDÍACO NORMAL

PAULO EUSTÁQUIO DE BRITO SANTOS

Rio de Janeiro. RJ

As células do nó sinusal (SA), nó atrioventricular (AV) e fibras de Purkinje não necessitam de estímulo externo para iniciar as alterações de membrana que dão origem ao potencial de ação, propriedade esta denominada automatismo. Em termos gerais, o automatismo é consequência da fase de despolarização diastólica (fase 4) do potencial de ação, na qual correntes iônicas de influxo predominam sobre correntes de efluxo. Os avanços no conhecimento da natureza destas correntes deveram-se, no final da década de 70, aos estudos de "voltage-clamp" em pequenos fragmentos de tecido e se continuaram nos anos 80 com a técnica de "patch clamp"¹, que permitiu estudar correntes de células isoladas e de canais unitários.

BASES IÔNICAS DA ATIVIDADE RITMICA DO CORAÇÃO

Principais correntes iônicas envolvidas na atividade marca-passo

a) Corrente ativada por hiperpolarização (I_f) - A corrente I_f , denominada também "corrente marca-passo", é uma corrente de influxo tempo-dependente ativada por hiperpolarização, sendo por isto anteriormente designada I_h ("hyperpolarizing-activated current").

Esta corrente foi descrita inicialmente em 1976 por Noma e Irisawa² em nó sinusal de coelho e em seguida por Brown e col (1977)³ no seio venoso de rã. Na fibra de Purkinje sua existência foi revelada por DiFrancesco⁴, ao demonstrar que I_f era responsável pela maior parte da corrente previamente descrita como I^{k2} .

Experimentos com "voltage-clamp" de dois microeletrodos mostraram, em nó sinusal de coelho⁵, que I_f é ativada a partir de -50 mV e

apresenta saturação por volta de -100 mV. Sua constante de ativação é de 2 a 4 s a -70 mV e o potencial de reversão (E_f) situa-se em torno de -25 mV (fig. 1). Resultados semelhantes têm sido descritos para o nó AV⁶ e fibras isoladas de Purkinje⁷ com o emprego do "voltage-clamp" de dois microeletrodos e para células isoladas do nó SA⁸ com a utilização da técnica de "patch-clamp" na configuração "whole-cell".

Trabalhando com fibras de Purkinje e com células nodais isoladas, DiFrancesco⁹ e DiFrancesco e col⁸ mostraram que a diminuição da concentração extracelular de sódio promove diminuição de I_f e deslocamento de E_f para valores mais negativos, enquanto o aumento da concentração de potássio tem efeitos opostos sobre estes parâmetros (fig. 2). Estes resultados demonstram, de maneira indireta, que I_f é carregada por Na^+ e K^+ , o que explica o fato de E_f estar localizado a meio caminho dos potenciais de equilíbrio destes íons, de maneira semelhante ao potencial de reversão da corrente de place motora no músculo esquelético.

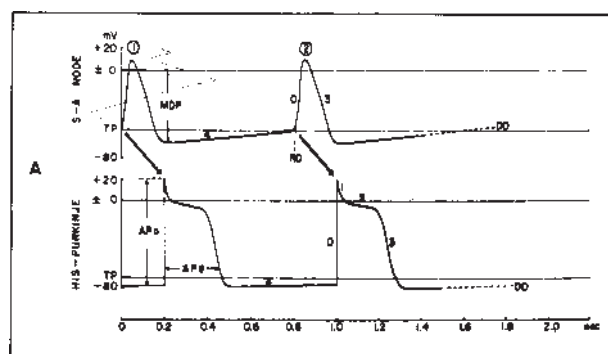


Fig. 1 - Potencial de reversão de I_f em nó sinusal de coelho. A partir de potenciais "holding" de -52, -42, -35, -25, -12 e -2 mV, foi aplicado um pulso-teste de -85 mV durante 1 segundo, voltando-se em seguida aos valores iniciais. Observa-se que a corrente de cauda ("tail current") de influxo foi máxima no potencial de -52 mV e que sua amplitude foi gradualmente reduzida à medida que o potencial "holding" era mais positivo. Em -12 mV a corrente de cauda inverteu sua polaridade, tornando-se uma corrente de efluxo. O potencial de reversão de I_f foi determinado a partir da representação gráfica da amplitude das correntes de cauda em função dos potenciais "holding". A curva foi ajustada manualmente e interceptou o eixo das voltagens em 23 mV. Os experimentos foram realizados com a técnica de "voltage-clamp" de 2 microeletrodos, em presença de D-600 no banho para bloquear a corrente de cálcio. (De YANAGIHARA, K. & IRIBAWA, K.: Pflugers Arch 385: 17,1980)⁵.

Instituto de Biofísica Carlos Chagas F^o - Centro de Ciências da Saúde da UFRJ - Rio de Janeiro.

Correspondência: Paulo Eustáquio de Brito Santos
CCS - bloco G - Cidade Universitária - 21949 - Rio de Janeiro, RJ.

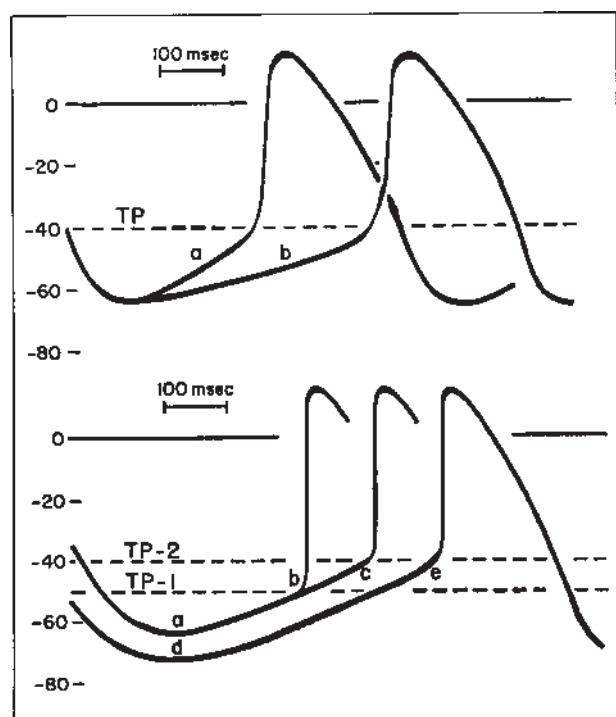


Fig. 2 A) - Influência da concentração externa de K^+ sobre a corrente marca-passo (I_f) em nó SA de coelho. A figura mostra as correntes ativadas por pulsos hiperpolarizantes de 10, 15, 20 e 25 mV dados a partir de um potencial "holding" de -43 mV. A, solução de Tyrode normal, contendo 3 mM de K^+ ; B, 6 mM de K^+ ; C, 9 mM de K^+ ; D, Tyrode normal. Observa-se um aumento da amplitude de I_f em B e C. Os registros foram obtidos pela técnica de "voltage-clamp" de 2 microeletrodos, com a presença de D-600 e tetrodotoxina. (De Brown HF & DiFrancesco D: J. Physiol, 308: 342, 1980)¹⁰. B) Influência da concentração externa de potássio ($[K^+]_o$) sobre a curva corrente (C)-voltagem (V) de I_f . Em diferentes $[K^+]_o$ (3, 9, 18, e 36 mM) foram construídas curvas I-V, da seguinte forma: a partir de um potencial "holding" de -30 mV, foi aplicado um pulso hiperpolarizante de 70 mV, durante 3 s e, sem seguida, levou-se a voltagem a diferentes níveis para obtenção das correntes de cauda ("tail currents"). A figura mostra que a elevação da $[K^+]_o$ associa-se com aumento da amplitude de I_f , deslocamento de E_f para valores mais positivos e aumento da inclinação da curva I-V (valves de 2,2, 2,8, 3,7 e 5,4 nA/mV para as concentrações crescentes de K^+). Os resultados foram obtidos com a utilização do "voltage-clamp" de 2 microeletrodos em nó SA de bezerro perfundido com solução de Tyrode modificada (35 mM- Na^+ , 5 mM- Mg^{++} e 10 mM- Ba^{++}). (De DiFrancesco D: J. Physiol, 314: 389, 1981)⁹.

Os íons Na^+ e K^+ foram confirmados na condição de carreadores da corrente marca-passo por Glitsch e col¹¹, que determinaram a atividade do Na^+ intracelular (a^1_{Na}) por meio de eletrodos sensíveis a este íon. Em primeiro lugar, estes autores mostraram, em fibras de Purkinje, que a^1_{Na} aumenta com a aplicação de pulsos hiperpolarizantes. Além disso, utilizando Cs^+ como bloqueador específico de I_f , Glitsch e col¹¹ estudaram a relação entre I_{Cs} (corrente inibida por Cs^+ em potenciais negativos a -60 mV) e I_{NaCs} (influxo de Na^+ inibido por Cs em unidades elétricas) e observaram que: (1) $I_{Cs}/I_{NaCs} = 1$ no potencial de equilíbrio do K^+ (E_k), (2) $I_{Cs}/I_{NaCs} < 1$ em potenciais positivos ao E_k e (3) $I_{Cs}/I_{NaCs} > 1$ em potenciais negativos ao E_k , o que demonstra claramente a participação dos

íons Na^+ e K^+ na corrente I_f . Neste mesmo trabalho, os autores verificaram que o canal desta corrente é 10 a 20 vezes mais permeável ao potássio do que ao sódio.

A elevação da concentração externa de K^+ , além de promover aumento de I_f devido a diminuição do gradiente eletroquímico para a saída deste íon da célula, provoca também aumento da condutância dos canais desta corrente (fig. 2b) conforme demonstrado por DiFrancesco⁹ e DiFrancesco e col⁸. Além disso, foi sugerido recentemente (1989) por Hagiwara e Irisawa¹², que o aumento do Ca^{+2} intracelular durante o potencial de ação poderia ser importante para a ativação desta corrente. Estes autores mostraram que o aumento do Ca^{++} intracelular promove elevação da amplitude de I_f e deslocamento de sua curva de ativação para valores mais positivos, processo este não relacionado com a proteína quinase dependente de AMP_c nem com calmodulina.

No ciclo cardíaco I_f começa a ser ativada na parte final do processo de repolarização, quando o potencial de membrana atinge valores negativos a -50 mV. Apesar do canal de I_f apresentar maior permeabilidade ao K^+ do que ao Na^+ , a entrada de Na^+ supera muito a saída de K^+ devido ao maior gradiente eletroquímico do Na^+ nesta faixa de potencial. Deste modo a corrente marca-passo apresenta fluxo líquido de cargas positivas para dentro da célula, o que contribui para a despolarização diastólica.

Do ponto de vista fisiológico está bem estabelecida a grande contribuição de I_f para a despolarização diastólica das fibras de Purkinje¹³. Entretanto, esta corrente não parece ser essencial para a função marca-passo das células do nó SA. Isto é sugerido porque a constante de ativação de I_f é muito lenta em relação à velocidade da fase 4 nestas células^{13, 14}. Além disso, o bloqueio de I_f por Cs^+ diminui a frequência de disparo destas células em apenas 10 a 20%¹³. Esta pequena participação da corrente marca-passo na despolarização diastólica das células nodais poderia ser devido ao seu pequeno potencial diastólico máximo (PDM), o qual atinge apenas o início da faixa de ativação desta corrente. Por outro lado, sabe-se que a adrenalina (fig. 3) aumenta a amplitude e estimula a ativação de I_f no nó sinusal^{10, 8} o que sugere que esta corrente desempenha um papel importante na aceleração do ritmo cardíaco induzida por estímulo simpático. O mecanismo de ação das adrenalina neste caso envolve a formação

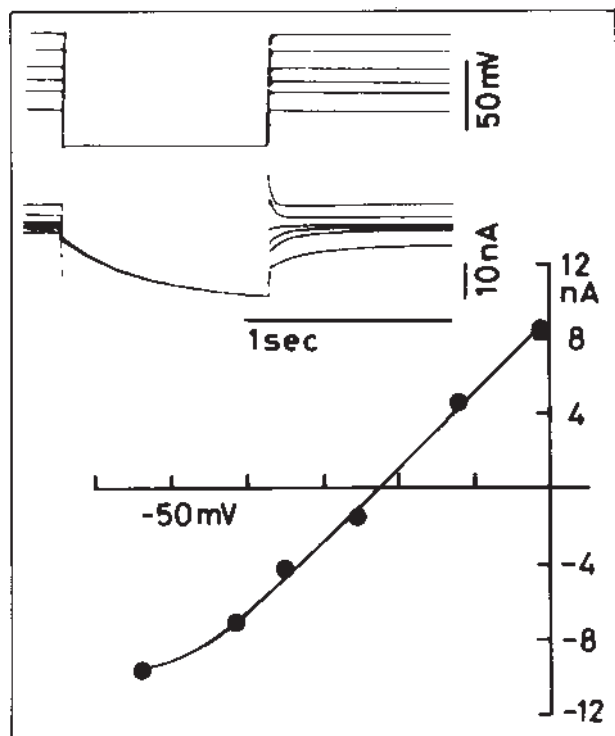


Fig. 3 - Estímulo de I_k por adrenalina em nó sinusal de coelho. A figura mostra a ativação da corrente marca-passo por hiperpolarizações a partir de um potencial "holding" de -36 mV, nas seguintes condições: a, controle com solução de Tyrode normal; b, durante a ação da adrenalina (10^{-7} M); c, retorno ao Tyrode normal. Os resultados foram obtidos com a utilização do "voltage-clamp" de 2 microeletrodos, em presença de D-600 e tetrodotoxina. (De Brown H & DiFrancesco D: J. Physiol, 308: 340, 1980)¹⁰.

de AMP_c , conforme demonstrado por Tsien em 1974¹⁵, quando I_f era ainda designada por I_{k2} .

Com relação à acetilcolina, DiFrancesco e Tromba¹⁶ mostraram, em células isoladas do nó SA de coelho, um efeito inibidor sobre a corrente marca-passo caracterizado por deslocamento da curva de ativação para valores mais negativos. Esta ação colinérgica parece mediada pela proteína G_i (inibidora de adenil-ciclase), uma vez que foi antagonizada pela toxina de pertussis. Em fibras de Purkinje, a acetilcolina é capaz de reverter o efeito estimulatório dos agonistas beta-adrenérgicos, sendo entretanto, destituída de ações diretas¹⁷.

b) **Corrente de retificação retardada (I_k)** - Conhecida e estudada há décadas, I_k é análoga à corrente clássica de efluxo de K^+ , responsável pela repolarização no axônio e músculo esquelético. Esta corrente, também denominada I_x por alguns autores, é ativada em níveis de voltagem semelhantes aos da corrente de sódio (I_{Na}) mas, ao contrário daquela, não apresenta inativação. A denominação "retardada" se deve à cinética de ativação mais lenta de I_k com

relação a I_{Na} . O canal da corrente de retificação retardada permite também uma também uma discreta passagem de Na^+ (permeabilidade $_{Na}$ /permeabilidade $_k = 0,016$), o que poderia explicar o fato do potencial de reversão ser menos negativo do que o potencial de equilíbrio do K^+ ¹⁸.

No tecido especializado de condução, I_k conserva as mesmas propriedades observadas em outras partes do coração. Sua ativação ocorre em potenciais positivos a -30 mV, enquanto a saturação está na faixa de 10 a 20 mV^{18,20}. Esta corrente apresenta um componente rápido (I_{x1}) e um lento (I_{x2}), cujas constantes de ativação, medidas em fibra de Purkinje¹⁸, foram da ordem de 0,5 e 4 s respectivamente, para o nível do "plateau".

Do ponto de vista fisiológico, a desativação de I_k desempenha papel fundamental no automatismo cardíaco. Esta desativação implica em diminuição da saída de K^+ da célula e, conseqüentemente, em preservação de cargas positivas no interior da membrana, o que induz, junto com outros mecanismos, à despolarização diastólica.

Recentemente, tem sido mostrado²¹ que I_k é estimulado por catecolaminas. Deste modo, o estímulo simpático promove maior efluxo de K^+ pelo canal retificador retardado, o que tem como conseqüência aumento da velocidade de repolarização. Com a ativação de I_k , o estímulo simpático levaria também a uma redução da velocidade de despolarização diastólica; entretanto isto não ocorre porque as catecolaminas estimulam ao mesmo tempo a corrente I_f e $I_{Ca,L}$ (ver adiante), que aumentam a velocidade da fase 4.

c) **Corrente de cálcio (I_{Ca})** - Há cerca de cinco anos, surgiram trabalhos^{22,23,24} mostrando que a corrente de cálcio, anteriormente designada por corrente de influxo lento (I_{s1}), apresenta pelo menos dois componentes, denominados ($I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L}$, que são a expressão de dois tipos diferentes de canais. O primeiro componente recebeu a designação "T" devido à sua pequena ("tiny") condutância unitária ao bário e à sua rápida ("transient") velocidade de ativação e inativação. Por outro lado, "L" identifica os canais de grande ("large") condutância ao B_{a++} e lento ("long lasting") curso temporal. Outras características que distinguem os componentes $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L}$ estão apresentadas na tabela I.

A corrente transiente de cálcio ($I_{Ca,T}$) tem sido considerada por diversos autores^{27,13,14}, como uma das principais correntes envolvidas

na atividade marca-passo, principalmente no que se refere ao nó sinusal. Este envolvimento se justifica pela ativação de $I_{Ca,T}$ em potenciais positivos a -60 mV, potenciais estes que são atingidos durante o terço final da despolarização diastólica. Outra evidência da participação de $I_{Ca,T}$ no automatismo cardíaco veio do trabalho de Hagiwara e col.²⁸ que, utilizando níquel em baixas concentrações como bloqueador específico desta corrente (fig. 4), obtiveram redução da frequência de disparo de células nodais isoladas de coelho. Além disso, os autores relataram uma maior densidade de canais T nas células do nó sinusal do que em células atriais ou ventriculares.

Quanto à participação dos canais L no mecanismo de marca-passo, a situação é contraditória. Por um lado, com sua faixa de ativação situada acima de -30 mV e, portanto, fora da faixa coberta pela despolarização diastólica, estes canais teriam pouca chance de participar efetivamente na atividade marca-passo. No entanto, a descoberta de que o isoproterenol aumenta significativamente $I_{Ca,L}$, mas não $I_{Ca,T}$ nas células do nó sinusal, sugere que a corrente de cálcio do tipo L pode ser a responsável pelo efeito cronotrópico positivo dos agonistas beta²⁹. Outra evidência veio do trabalho de Doerr e col. em 1989³⁰, que utilizaram a recente técnica de clampeamento do potencial de ação. Nesta técnica, um computador acoplado ao sistema de "voltage-clamp" na configuração "whole-cell" aciona uma seqüência

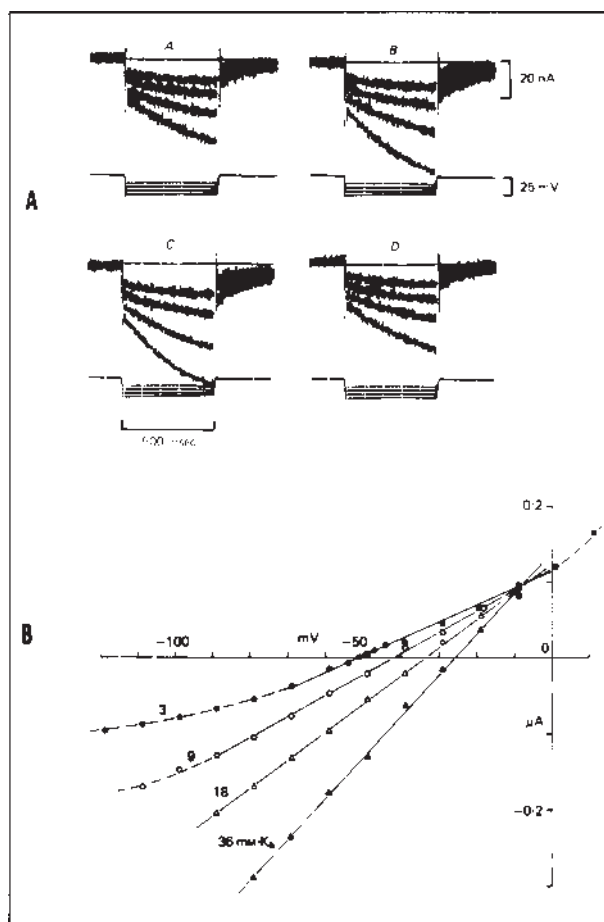


Fig. 4A - Bloqueio pelo níquel da corrente transiente de cálcio. A figura mostra os registros das correntes transiente ($I_{Ca,T}$) e lenta ($I_{Ca,L}$) de cálcio, ativadas respectivamente por pulsos de -30 mV (potencial "holding" de -80 mV) e +10 mV (potencial "holding" de -40 mV) antes e após a adição de Ni^{2+} no líquido nutridor. Observa-se que este metal (40 μM) bloqueou completamente $I_{Ca,T}$, mas não apresentou efeitos com relação a $I_{Ca,L}$, mas não apresentou efeitos com relação a $I_{Ca,L}$. Os registros foram obtidos em células isoladas de nó sinusal de coelho, com a utilização da técnica de "patch clamp" na configuração "whole cell". B) Diminuição do automatismo de uma célula nodal pelo níquel. A figura mostra a superposição dos registros da atividade espontânea de uma célula isolada de nó SA, antes e após a adição de Ni^{2+} 40 μM ao banho. Observa-se que na presença de Ni^{2+} despolarização diastólica é mais lenta e a frequência de disparo da célula torna-se reduzida. (De Hagiwara N et al: J Physiol, 382: 104 p, 1987)²⁸.

TABELA I—Propriedades dos canais de cálcio dos tipos T e L*.		
Propriedades	T	L
Faixa de ativação (5 mM de Ca) ¹	positiva a -60 mV	positiva a -30mV
Faixa de inativação (10 mM de Ca)	negativa a -50mV	negativa a -20mV
Mecanismo de inativação	rápido: dependente de voltagem	lento: dependente de Ca e voltagem
Condutância unitária (110 mM de Ba),	8pS	25pS
Bloqueio por níquel	sensível	resistente
Sensibilidade às dihidropiridinas	resistente	sensível
Modulação por fosforilação dependente de AMPC _c	não	sim

1: Concentração do íon no meio externo
* Dados obtidos das referências 25 e 26.

temporal de injeções de corrente capaz de reproduzir o potencial de ação espontâneo registrado anteriormente na própria célula estudada.

Estes autores mostraram, em células de nó SA de coelho, que o bloqueio de $I_{Ca,L}$ por D-600 durante a execução do potencial de ação, era acompanhada, na fase de despolarização lenta, de uma injeção extra de corrente pelo computador, ou seja, para excitar a fase 4 em vigência de bloqueio dos canais lentos de cálcio, o sistema era forçado a injetar mais corrente através da pipeta de sucção, evidenciando a possível participação destes canais no automatismo.

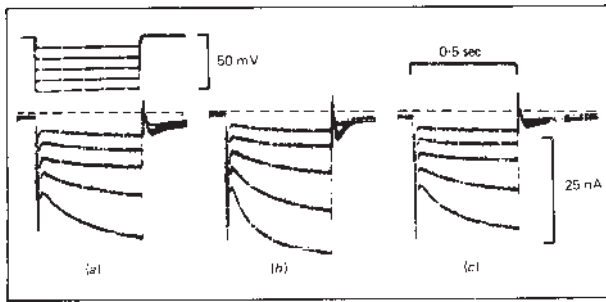


Fig. 5 - Reconstituição em computador dos mecanismos envolvidos na geração da atividade marca-passo no nó SA. A figura mostra a evolução simultânea do potencial de ação (A), das correntes iônicas (B) e da concentração intracelular de cálcio (C) numa célula nodal. Observa-se que a despolarização diastólica (DD) permanece na faixa de ativação de I_f apenas brevemente, de modo que a amplitude de I_f é muito pequena em comparação com a amplitude de I_k durante a diástole. A figura destaca também a participação da corrente transiente de Ca^{++} ($I_{Ca,T}$) na gênese do automatismo, principalmente no terço final da DD. Neste modelo $I_{Ca,L/NaCa}$ representa outras correntes de influxo lento ($I_{Ca,L}$ e a troca sódio/cálcio). A reconstrução do curso temporal da $[Ca^{++}]_i$ foi feita com base na hipótese de Fabiato & Fabiato (1975) sobre a liberação de cálcio induzida por cálcio. A incorporação deste processo no modelo permite a reconstrução de correntes dependentes da $[Ca^{++}]_i$. (Modificado de Noble, D. Ionic bases of rhythmic activity in the heart, In: Zipes DP & Jalife J Eds. Cardiac electrophysiology and arrhythmias. Orlando: Grune & Stratton, p5, 1985)¹³.

d) **Modelos teóricos com as principais correntes envolvidas no automatismo** - A partir de resultados experimentais obtidos em nó sinusal de coelho, utilizando a técnica de "voltage-clamp" de dois microeletrodos, Brown e col.²⁷ desenvolveram em 1984 um programa de computador capaz de simular a atividade natural das células nodais. Este programa levou em consideração as correntes I_f , I_k , $I_{a,T}$ e duas correntes de influxo lento ($I_{Ca,L}$ e a troca sódio/cálcio), simbolizadas em conjunto por $I_{Ca,L/NaCa}$.

A figura 5 apresenta o modelo desenvolvido por Brown e col., em computador, para a atividade do nó sinusal, mostrando a evolução simultânea do potencial de ação e das correntes I_f , I_k , $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L/NaCa}$. O modelo mostra ainda a evolução da concentração intracelular de cálcio, calculada com base na hipótese de Fabiato e Fabiato³¹ sobre a liberação de cálcio interno induzida pela entrada do cálcio externo. Como se vê na figura, o decaimento da corrente de retificação retardada é, de longe, o principal responsável pelos dois terços iniciais da despolarização diastólica. Ao mesmo tempo, existe um aumento muito discreto de I_f , o que era de se esperar, uma vez que esta corrente só é ativada plenamente em potenciais mais negativos. Já no final da despolarização diastólica, quando I_k atinge seu valor mínimo, observamos a rápida ativação e da corrente transiente de cálcio, evento este que se continua nos principais instantes da fase 0 do potencial de ação.

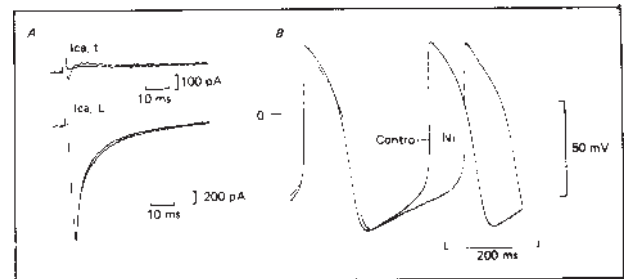


Fig. 6 - Simulação em computador do efeito de alterações nas correntes I_k e I_{Ca} sobre o automatismo do nó sinusal. Em (a) e (b) foi feita uma simulação da abolição do decaimento de I_k . Observa-se que em ambos os modelos (potenciais diastólicos máximos diferentes), o decaimento de I_k é fundamental para a atividade marcapasso pois, quando este é abolido, o automatismo cessa, restando apenas uma pequena despolarização induzida por I_f . Em (c) bloqueou-se a corrente de cálcio no momento indicado pela seta. Como resultado seguiu-se uma despolarização diastólica de características aparentemente normais, mas que não atingiu o limiar de disparo de um novo potencial de ação. Neste caso o automatismo foi abolido e o potencial de repouso estabilizou-se por volta de -34 mV. (De Brown HF et al: Proc R Soc Lond B, 222: 338, 1984)²⁷.

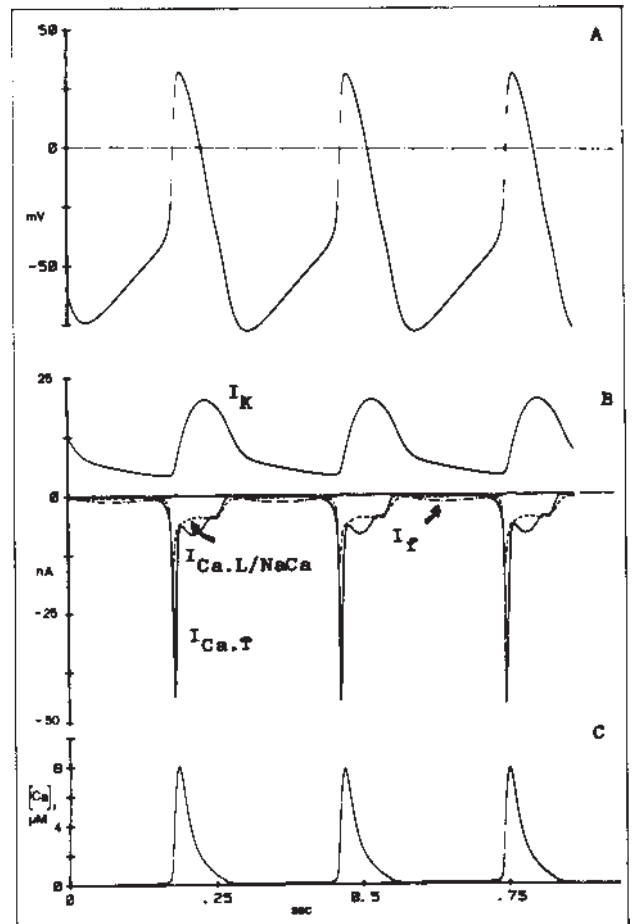


Fig. 7 - Reconstituição em computador dos mecanismos envolvidos na geração do automatismo das fibras de Purkinje. A figura mostra a evolução simultânea do potencial de ação (A) e das correntes (B) I_k , I_f , $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L/NaCa}$, esta última representando as correntes de influxo lento $I_{Ca,L}$ e a troca sódio/cálcio. Observa-se que, na fase de despolarização diastólica (DD), I_k já está bastante desativada, enquanto I_f é ativada lenta e gradualmente ao longo de toda esta fase. Neste modelo $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L/NaCa}$ não participam do automatismo pois não são ativadas na faixa de voltagem da DD, ao contrário do que ocorre no nó SA. (Modificado de DiFrancesco D & Noble D: Phil Trans R Soc Lond, B 307: 378, 1985)³².

A importância do decaimento de I_k e da ativação de $I_{Ca,T}$ foi testada no modelo teórico de Brown e col., conforme mostra a figura 6.

Nas letras **a** e **b** os autores simularam uma inibição do decaimento de I_k em células nodais em dois níveis diferentes de potencial diastólico máximo. Como resultado, obtiveram uma queda acentuada da despolarização diastólica e consequente abolição da atividade rítmica. Em **c**, Brown e col. mostraram que o bloqueio simulado de $I_{Ca,T}$ também impediu o automatismo, mas não alterou a inclinação da despolarização diastólica.

Com relação ao automatismo das fibras de Purkinje, a figura 7 apresenta o modelo matemático desenvolvido em 1985 por DiFrancesco e Noble³², que procura comparar a importância relativa de I_f , I_k , $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L/Na-Ca}$ na gênese da atividade rítmica destas fibras. Neste modelo, criado de maneira análoga ao de Brown e col.⁷ para o nó sinusal, I_f se destaca como a principal corrente envolvida na despolarização diastólica, relegando o decaimento de I_k a um papel bastante secundário, ao contrário do que foi discutido para o nó SA. As correntes $I_{Ca,T}$ e $I_{Ca,L/Na-Ca}$ não participam do automatismo destas fibras, uma vez que não são ativadas nesta faixa de voltagem.

Outras correntes envolvidas na atividade marca-passo

a) Corrente de retificação anômala (I_{K1}) - Em termos gerais e bastante simplistas, o canal de K^+ retificador anômalo (I_{K1}), também conhecido por canal de retificação para dentro, caracteriza-se por: (1) ser ativado completamente em potenciais negativos ao potencial de equilíbrio do K^+ (E_K); (2) ser ativado parcialmente em potenciais positivos próximos em E_K , ou seja, quanto mais distante (no sentido positivo) estiver o potencial de membrana (E_M) do E_K , maior será a inativação do canal.

A evidência da participação de I_{K1} na modulação da atividade marca-passo pode ser percebida quando se analisa o automatismo cardíaco na vigência de alteração do potássio externo como, por exemplo, na hiperpotassemia. Esta análise é bastante complexa, pois o aumento da concentração externa de K^+ ($[K^+]_e$) promove, ao mesmo tempo, ativação de I_f ¹⁰, inibição de I_k (por diminuição do gradiente eletroquímico do K^+), ativação da bomba de Na/K e ativação de I_{K1} (por diminuição da diferen-

ça $E_M - E_K$). As alterações nas duas primeiras correntes tende, conforme visto anteriormente, a estimular o automatismo, enquanto a ativação da bomba de Na/K e a de I_{K1} tendem a inibi-lo, por aumento do PDM e facilitação da saída de K^+ respectivamente. O resultado final da interação entre estas correntes é mostrado na figura 8. Como se vê na parte superior da figura, o aumento da $[K^+]_e$ promove, na verdade, aumento da velocidade de repolarização e redução da velocidade da despolarização diastólica (e até abolição da atividade rítmica). Segundo

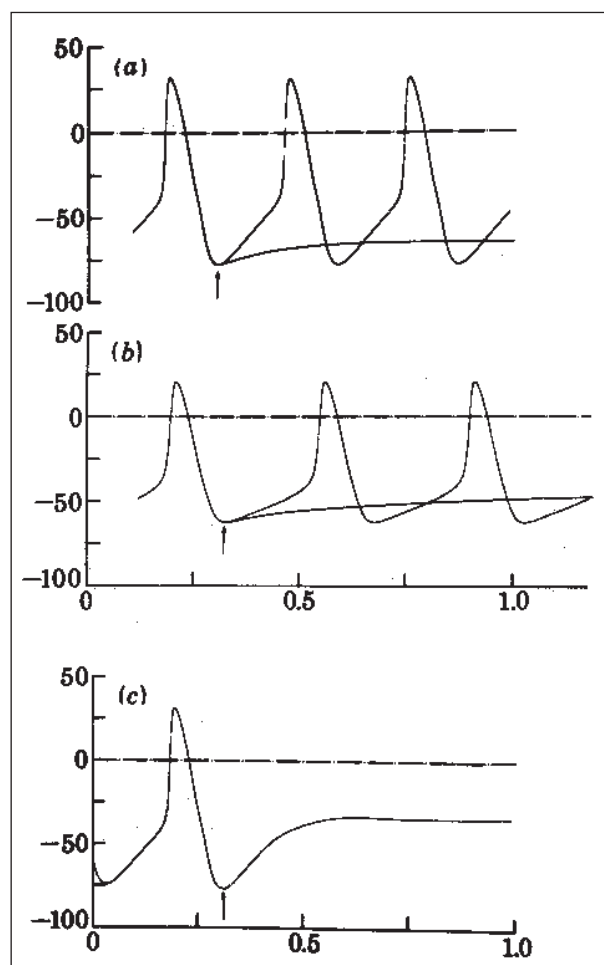


Fig. 8 - Simulação em computador dos efeitos do aumento da concentração externa de K^+ sobre o automatismo das fibras de Purkinje (A) e nó sinusal (B). O modelo A na verdade envolve quatro mecanismos de correntes iônicas que dependem da $[K^+]_e$: ativação de I_{ki} (que levaria à lentificação ou parada da atividade marca-passo); ativação de I_f (que estimularia a atividade marca-passo); ativação da bomba de Na/K (que diminuiria a atividade marca-passo) e diminuição de I_k (que estimularia a atividade marca-passo). Como em registros experimentais, o efeito final é uma forte inibição do automatismo com o aumento da $[K^+]_e$. Uma vez que a corrente gerada pela bomba tem pequena amplitude nesta faixa, concluiu-se que o efeito dominante seja atribuído à I_{ki} . No modelo B apenas alterações discretas de frequência acompanham o aumento da $[K^+]_e$. Esta notável diferença é atribuída ao fato do nó SA possuir muitos poucos canais retificadores anômalos. (De DiFrancesco D & Noble DA. Phil Trans R Soc Lond B 307: 380, 1985 e Noble D & Noble SJ. Proc R Soc Lond, 385: 302, 1985)^{32, 33}.

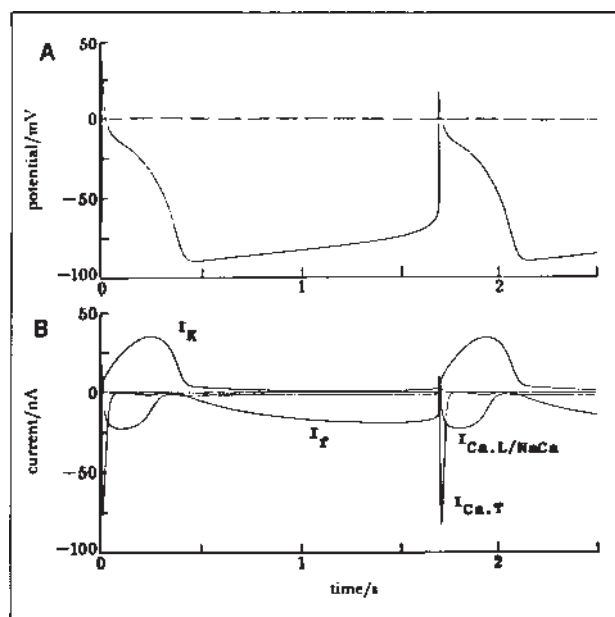


Fig. 9 - Influência do aumento da concentração intracelular de sódio sobre a atividade marca-passo. A figura mostra uma simulação, em computador, do potencial transmembrana de uma célula do nó SA submetida a concentrações internas de sódio de 7.5 e 30 mM. Observa-se que na concentração de 30 mM, a atividade automática foi abolida, o que se acredita ser devido a uma potente ativação da Na/K-AT-Pase (De Noble D & Noble SJ. Proc R Soc Lond B 222: 302, 1984)³³.

Noble¹³, a explicação para o fenômeno repousa na corrente I_{K1} , porque a corrente induzida pela bomba não é suficientemente grande para contrabalançar os efeitos despolarizantes associados a I_f e I_K . No nó sinusal, a diminuição da frequência de disparo foi muito menor do que na fibra de Purkinje, o que se explica pela pequena ocorrência de canais retificadores anômalos na célula nodal.

b) **Corrente de sódio (I_{Na})** - No intrincado processo de automatismo cardíaco, até a corrente de sódio tem sido implicada, pelo menos no que diz respeito às fibras de Purkinje. Esta suposição veio dos trabalhos de McAllister e col. em 1975³⁴ e Attwell e col. em 1979³⁵ que demonstraram a existência de uma corrente muito pequena de sódio entre -70 e -60 mV. Esta corrente, denominada de corrente de janela ("window") poderia participar no só da ritmicidade normal, mas também de processos arritmogênicos.

c) **Corrente transiente de efluxo (I_{to})** - Esta é a corrente de efluxo de K^+ responsável pela fase 1 do potencial de ação em fibras de Purkinje. Sua influência sobre o automatismo poderia se dar de maneira indireta, via modulação da frequência de disparo pois, como se sabe, I_{to} contribui para encurtar o potencial de

ação. Recentemente esta corrente tem sido encontrada também em células dos nós sinusal¹⁴ e atrioventricular³⁶, mas sua participação direta na despolarização diastólica ainda não foi demonstrada.

d) **Corrente da bomba de N^a/K (I_p)** - Esta corrente tem sido implicada na modulação da atividade rítmica por estar associada ao PDM. Isto pode ser demonstrado da seguinte forma: estimula-se um tecido automático com frequência acima de sua frequência natural de descarga; em seguida desliga-se o estimulador. Observa-se então que o tempo necessário para o tecido recuperar sua atividade espontânea é maior do que o esperado pela duração normal de sua despolarização diastólica. A hipótese para este fenômeno ("overdrive-suppression") é que, durante a superestimulação haveria um excesso de entrada de N^a nas células e conseqüente estímulo de $Na/K^3/4ATP_{ase}$, o que levaria o PDM para valores mais negativos e, portanto, mais distante do potencial limiar³⁷. Uma indicação de que o aumento do sódio interno inibe o automatismo foi apresentada por Noble e Noble³³ que simularam, em computador, o efeito do aumento da concentração intracelular de N^a para 30 mM (fig. 9).

"In vivo", a "overdrive-suppression" pode ser observada, por exemplo, após um bloqueio AV total. Neste caso, o sistema de His-Purkinje assume o comando elétrico dos ventrículos mas, como se sabe, isto é precedido por um atraso não explicável apenas pela atividade intrínseca deste sistema. O atraso para atingir o limiar de disparo é devido ao tempo que este tecido leva para se libertar da "overdrive suppression" imposta pela estimulação anterior em frequência sinusal.

e) **Corrente transiente de influxo (I_{t1})** - Trata-se de corrente não usual, ativada na fase final da repolarização, em condições de aumento importante da concentração intracelular de cálcio, como as induzidas por digitálicos, catecolaminas e hipóxia. Seu mecanismo ainda é obscuro mas acredita-se que possa ser explicada por: (1) ativação de canais catiônicos inespecíficos por aumento do cálcio interno; (2) estímulo da troca N^a/C^a (entrada de $3N^a$ para cada C^{++} que sai) também em conseqüência do aumento do C^a^{++} interno^{13,14}.

I_{t1} não parece estar implicada na atividade marcapasso normal, mas seria responsável por despolarizações anômalas que aparecem no fi-

nal da repolarização, denominadas pós-despolarizações tardias e que estão relacionadas a mecanismos arritmogênicos.

AGRADECIMENTOS

A professora Masako O. Masuda, pela revisão do texto e pelas valiosas sugestões.

REFERÊNCIAS

- Hamil OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ - Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch.*, 1981; 391: 85-100.
- Noma A, Irisawa H - Membrane currents in the rabbit sino-atrial node cell as studied by the double microelectrode method. *Pflugers Arch.*, 1976; 364: 45-52.
- Brown HF, Giles W, Noble SJ - Membrane currents underlying activity in frog sinus venosus. *J. Physiol. (Lond.)*, 1977; 271: 783-816.
- DiFrancesco D - A new interpretation of the pace-maker current in calf Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 1981; 314: 359-76.
- Yanagihara K, Irisawa K - Inward current activated during hyperpolarization in the rabbit sino-atrial node cell. *Pflugers Arch.*, 1980; 385: 11-9.
- Kokubun S, Nishimura M, Noma A, Irisawa H - Membrane currents in rabbit atrioventricular node cell. *Pflugers Arch.*, 1982; 393: 15-22.
- Callewaert G, Carmeliet E, Vereecke J - Single cardiac Purkinje cells: general electrophysiology and voltage-clamp analysis of the pacemaker current. *J. Physiol. (Lond.)*, 1984; 349: 643-61.
- DiFrancesco D, Ferroni A, Mazzanti M, Tromba C - Properties of the hyperpolarizing-activated current (I_h) in cells isolated from the rabbit sino-atrial node. *J. Physiol. (Lond.)*, 1986; 377: 61-88.
- DiFrancesco D - A study of the ionic nature of the pace-maker current in calf Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 1981; 314: 377-93.
- Brown HF, DiFrancesco D - Voltage-clamp investigation of membrane currents underlying pace-maker activity in rabbit sino-atrial node. *J. Physiol. (Lond.)*, 1980; 308: 331-51.
- Glitsch HG, Pusch H, Verdonck F - The contribution of N_a and K ions to the pacemaker current in sheep cardiac Purkinje fibres. *Pflugers Arch.*, 1986; 406: 464-71.
- Hagiwara N, Irisawa H - Modulation by intracellular Ca^{++} of the hyperpolarization-activated inward current in rabbit sino-atrial node cells. *J. Physiol. (Lond.)*, 1989; 409: 121-41.
- Noble D - Ionic bases of rhythmic activity in the heart. In: Zipes DP, Jalife J eds. *Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias*. Orlando: Grune & Stratton, 1985: 3-11.
- Irisawa H - Membrane currents in pace-maker tissue. *Experientia*, 1987; 43: 1131-5.
- Tsien RW - Effects of epinephrine on the pacemaker potassium current of cardiac Purkinje fibres. *J. Gen. Physiol.*, 1974; 64: 293-319.
- DiFrancesco D, Tromba C - Acetylcholine inhibits activation of the cardiac hyperpolarizing-activated current, I_h . *Pflugers Arch.*, 1987; 410: 139-42.
- Chang F, Gao J, Tromba C, Cohen I, DiFrancesco D - Acetylcholine reverses effects of β - agonists on pacemaker current in canine cardiac Purkinje fibers but has no direct action. *Circulation Res.*, 1990; 66: 633-6.
- Matsuura H, Ehara T, Imoto Y - An analysis of the delayed outward current in single ventricular cells of the guinea-pig. *Pflugers Arch.*, 1987; 410: 596-603.
- Noble D, Tsien RW - Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 1969; 200: 205-31.
- DiFrancesco D, Noma A, Trautwein W - Kinetics and magnitude of the time-dependent potassium current in the rabbit sino-atrial node. *Pflugers Arch.*, 1979; 381: 271-9.
- Bennet PB, Begenisich TB - Catecholamines modulate the delayed rectifying potassium current (I_K) in guinea-pig ventricular myocytes. *Pflugers Arch.*, 1987; 410: 217-9.
- Bean B - Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. *J. Gen. Physiol.*, 1985; 86: 1-30.
- Nilius B, Hess P, Lansman JB, Tsien RW - A novel type of cardiac calcium channel in ventricular cells. *Nature*, 1985; 316: 443-6.
- Mitra R, Morad M - Two types of calcium channels in guinea-pig ventricular myocytes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1986; 93: 5340-4.
- Pelzer D, Trautwein W - Currents through ionic channels in multicellular cardiac tissue and single heart cells. *Experientia*, 1987; 43: 1153-62.
- Tsien RW, Hess P, Nilius B - Cardiac calcium currents at the e level of single channels. *Experientia*, 1987; 43: 1169-92.
- Brown HF, Kimura J, Noble D, Noble SJ, Taupignon A - The ionic currents underlying pacemaker activity in rabbit sino-atrial node: experimental results and computer simulations. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 1984; 222: 329-47.
- Hagiwara N, Irisawa H, Kameyama M - Transient-type calcium current contributes to the pace-maker potential in isolated rabbit sino-atrial node cell. *J. Physiol. (Lond.)*, 1987; 382: 104P.
- Hagiwara N, Irisawa H, Kameyama M - Contribution of two types of calcium currents to the pace-maker potential of rabbit sino-atrial node cell. *J. Physiol. (Lond.)*, 1988; 395: 233-53.
- Doerr T, Denger R, Trautwein W - Calcium currents in single cells of the rabbit heart studied with action potential clamp. *Pflugers Arch.*, 1989; 413: 599-603.
- Fabiato A, Fabiato F - Contractions induced by a calcium-triggered release from the sarcoplasmic reticulum of single skinned cardiac cells. *J. Physiol. (Lond.)*, 1975; 249: 469-95.
- DiFrancesco D, Noble D - A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 1985; 307: 353-98.
- Noble D, Noble SJ - A model of sino-atrial node electrical activity based on a modification of the DiFrancesco-Noble (1984) equations. *Proc. R. S. Lond.*, 1984; 385: 11-9.
- McAllister RE, Noble D, Tsien RW - Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, 1975; 251: 1-59.
- Attwell D, Cohen I, Eisner DA - The steady-state TTX - sensitive "window" sodium current in cardiac Purkinje fibres. *Pflugers Arch.*, 1979; 379: 137-42.
- Nakayama T, Irisawa H - Transient outward current carried by potassium and sodium in quiescent atrioventricular node of rabbits. *Circ. Res.*, 1985; 57: 65-73.
- Vassalle M - Physiological basis of normal and abnormal automaticity. In: Rosenbaum MB, Elisari MV eds. *Frontiers of Cardiac Electrophysiology*. The Hague, Martinus Nijhoff, 1983; 120-43.