

LDANI THERESINHA CALZOLARI MURARI

UMA FORMALIZAÇÃO MATEMÁTICA DO COMPORTAMENTO DAS MEMBRANAS
EXCITÁVEIS.

*Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas para a
obtenção do título de MESTRE
em Biologia na área de Fisio-
logia e Biofísica.*

CAMPINAS

1979

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL**

DEDICO A

MEUS PAIS

*pela orientação e princípios que
guiaram minha vida*

MEU MARIDO

pelo carinho e compreensão

MEU FILHO

por tornar tudo valioso

AGRADEÇO

pela orientação e estímulo

ALEJANDRO BATTER ENGEL

ARMANDO FREITAS DA ROCHA

pelos ensinamentos

PROFESSORES DO DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E
BIOFÍSICA

pela colaboração

JOSÉ WILSON MAGALHÃES BASSANI

MARIA ELIDIA DOS SANTOS

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	
1.1. Os Transportes Iônicos	
1.2. As Correntes Iônicas	
1.3. Considerações sobre os Modelos já Existentes	
2. UM MODELO MATEMÁTICO PARA AS CORRENTES IÔNICAS	
2.1. Proposição para um Modelo Inicial	
2.1.1. Considerações sobre o Sistema de Condutâncias Iônicas	
2.1.2. Considerações sobre o Sistema de Transporte Ativo	
2.2. Formalização de um Modelo Inicial	
2.2.1. Estudo do Sistema Reduzido para as Condutâncias Iônicas	
2.2.2. Estudo do Sistema Reduzido para os Transportes Ativos	
2.3. Variação das Concentrações Iônicas Provocadas pelo Fluxo Iônico Total	
3. DISCUSSÃO	
4. RESUMO E CONCLUSÕES	
5. APÊNDICE I	
6. APÊNDICE II	
7. BIBLIOGRAFIA	

1. INTRODUÇÃO

1.1. Os Transportes Iônicos

A idéia de que a célula é formada basicamente de lipídeos e proteínas, data de 1895 quando OVERTON estabeleceu a natureza lipídica das superfícies celulares.

GORTER & GREDEL constataram a existência de uma camada dupla de lipídeos e por muito tempo, quase meio século, pensou-se que esta seria a estrutura básica da membrana, ou seja: uma folha lipídica bimolecular tendo as extremidades hidrófobas voltadas uma para a outra e as cabeças polares voltadas para o exterior.

Mais recentemente, 1930, camadas proteicas foram adicionadas a esta estrutura, sendo que a representação formal foi dada em 1935, conhecida como modelo de DANIELLI-DAVSON, onde a camada proteica era globular.

Em 1957, ROBERTSON aperfeiçoou o modelo de DANIELLI-DAVSON, propondo a generalização de todas as membranas biológicas pois, segundo ele, a membrana é constituída de camada dupla de lipídeos e cada camada é composta de grupos hidrofílicos de moléculas lipídicas voltadas para o exterior e ligadas a cadeias de carbono hidrófobas voltadas para o interior da camada molecular. A camada proteica que recobre a camada dupla de lipídeos, toma a configuração - β e não mais a globular como sugerido no modelo de DANIELLI-DAVSON.

ROBERTSON admitiu haver assimetria entre as duas superfícies, isto é, uma superfície poderia ser mais rica em carboidratos e proporcionar maior área hidrofílica (polar). Formulou, especificamente, que a camada interior seria unicamente bimolecular, o que não foi proposto no mo

delo de DANIELLI-DAVSON.

Muitas evidências demonstram a validade geral do modelo clássico da membrana como, por exemplo, a difração do Raio - X e a microscopia eletrônica, bem como a baixa tensão superficial observada nas membranas naturais, comparadas com a alta tensão superficial dos lipídeos neutros. Estes exemplos revelam a existência de uma capa proteica em ambos os lados da camada bimolecular de lipídeos.

Dentre outros modelos propostos, temos o de SJÖSTRAND estabelecendo que a membrana é constituída de lipídeos na forma de pequenas micelas nas quais os finais polares estão voltados para a superfície das mesmas e cobertos por uma camada de proteína que atua como impermeabilizante.

Há também o de LUCY, que constatou a existência de micelas esféricas de diâmetro entre 35 a 40 Å, podendo-se agregar e formar estruturas complexas, uma das quais é uma disposição laminar de unidades hexagonalmente reunidas.

Por todos estes autores, a membrana foi considerada estática, contrastando com a idéia atual de que a estrutura da membrana é dinâmica, variando com a função da célula, espécie animal, idade e momento de exame. Porém, o que se pode afirmar com segurança, é que há um arranjo básico fundamental, ou seja, um esqueleto lipo-proteico com configuração variada (HENDLER, 1971).

Portanto, a aceitação mais recente é que a estrutura da membrana não é homogênea, tanto que diversas formas de agregação entre lípidos e proteínas são encontradas.

A distribuição espacial ou temporal destas

várias formas, está diretamente relacionada com as suas entropias termodinâmicas, de modo que a estrutura proposta no modelo de DANIELLI-DAVSON-ROBERTSON descreve a forma mais frequente de organização das membranas.

Sabemos que todas as células vivas tem a habilidade de concentrar certas substâncias e expelir outras a fim de manter as condições próprias para a rede de processos que vão defini-la como um sistema vivo. Estudos revelam que um dos fatores essenciais para o desenvolvimento desta habilidade é a permeabilidade seletiva da membrana a determinadas substâncias.

O fluxo de uma substância através da membrana (CZÁKY, 1965), pode ocorrer por:

- a) difusão simples,
- b) difusão através dos poros,
- c) pinocitose ou
- d) mediação de um transportador, sob 3 formas diferentes:
 - d.1) difusão por troca
 - d.2) difusão facilitada
 - d.3) transporte ativo

Os três últimos são descritos a seguir.

d.1) A difusão por troca é o fluxo de íons da mesma espécie por intermédio do transportador que pode ser uma molécula da própria membrana ou não. Caso não o seja, a molécula atravessará a membrana graças a solubilidade seletiva desta, não havendo necessidade do consumo de energia derivada de processos celulares metabólicos. A energia utilizada para o trabalho de movimentação do íon, provém do gradiente de concentração da molécula transportadora, sendo possível o deslocamento do íon contra gradientes eletroquímicos.

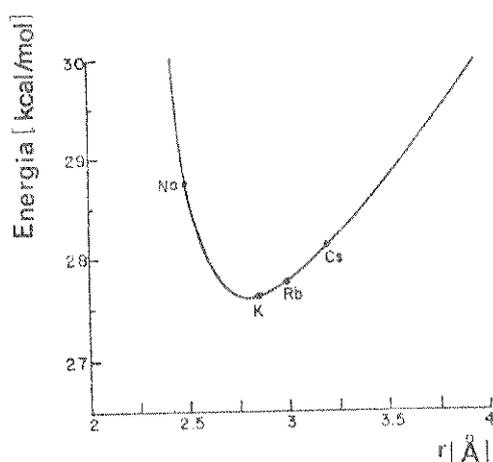
d.2) A difusão facilitada é a passagem de dois íons diferentes em sentidos opostos e, neste caso, a energia provém do gradiente eletroquímico de um destes íons.

d.3) O transporte ativo, em geral, é feito contra altos gradientes químicos ou eletroquímicos, havendo, portanto, necessidade de energia metabólica para sua realização.

Nestes três tipos de transporte, a quantidade transportada depende do grau de afinidade íon-transportador.

Estudando o transporte de íon, URRY (1972) estabeleceu um modelo para o transportador com base no comportamento do complexo valiomicina-câtion. Constatou que a valiomicina é um transportador com alta seletividade devido a diferenças na hidratação dos cations e que ela retém o câtion num centro polar formado por seis oxigênios acil do éster $C = O$. O tamanho do centro polar é determinado pela orientação do éster.

Se o átomo de oxigênio inclina para o lado interno em direção ao centro da molécula, um pequeno centro polar é formado. Similarmente, o centro polar é aumentado quando o éster é rotado para o exterior. Portanto, dependendo da energia fornecida ao sistema, o tamanho do centro polar será aumentado ou diminuído, favorecendo assim o alojamento de um determinado íon que será transportado. Consequentemente, o tamanho do poro é uma função da energia conformacional tendo como gráfico:

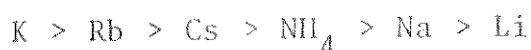


Na curva estão assinalados os pontos onde o raio do centro polar coincide com o raio dos cátions Na, K, Rb, Cs. Na realidade, estes são ligeiramente menores que os respectivos raios polares que por sua vez, resultam da soma do raio iônico do cátion com o raio de VAN der WAALS do oxigênio. O gráfico mostra a existência de uma energia mínima, a qual é bem próxima do raio do potássio.

O sistema, ao perder energia, promove uma aproximação dos oxigênios e conseqüentemente, uma diminuição no centro polar, favorecendo o alojamento do potássio. Ao ganhar energia, o sistema poderá diminuir o seu centro polar ainda mais, aproximando-se do raio do sódio, ou então aumentá-lo, tendendo ao raio do Rb ou Cs. Não é conhecida ainda, a causa exata desse comportamento contraditório podendo, por exemplo, ser a própria disponibilidade do íon.

Há uma aceitação universal para a existência de poros que, controlados por "portões", promovem a transferência de íons através da membrana. A estes portões estaríamos correlacionados íons cálcio, ligados a resíduos de ácido siálico da camada exterior. As diferentes permeabilidades dos íons sódio e potássio é explicada pela maior ou menor facilidade para deslocar os íons cálcio de suas ligações.

O estudo do deslocamento do cálcio por íons univalentes, resultou:



com o potássio apresentando maior facilidade.

Uma vez deslocado da membrana, o cálcio poderá entrar na célula pelos poros, juntamente com íons sódio e potássio, devido à repulsão eletrostática oriunda, por exemplo, do aumento da concentração do potássio externo, ou, então, permanecer na solução externa e permitir a passagem dos íons sódio e potássio com a aplicação, por exemplo, de um estímulo ao nível do cátodo (atração eletrostática). Portanto, o cálcio é necessário para a manutenção da estabilidade da membrana excitável.

Neste modelo, a membrana é considerada trocadora iônica porque no repouso é rica em cátions divalentes e, quando excitada, é rica em cátions univalentes. Assim, quando ela está no repouso, o cálcio está nos sítios da mesma, e, quando excitada, o cálcio é deslocado permitindo o fluxo do sódio e potássio. Conseqüentemente, o potencial da membrana dependerá não somente das concentrações e atividades dos íons univalentes, mas também, da atividade e concentração dos íons divalentes. Segundo KOBATAKE e colaboradores (1971), o coeficiente (K) de seletividade que determina a afinidade da membrana por íons univalentes, é dado por:

$$K = \left(\frac{a_1}{c_1} \right)^2 \cdot \frac{c_2}{a_2}$$

a_1 , a_2 são as atividades e c_1 , c_2 as concentrações médias dos cátions uni e divalentes, respectivamente. (KOBATAKE TASAKI & WATANABE, 1971).

Da análise do fluxo dos íons em função da mo

bilidade dos cátions uni e divalentes, tem-se:

- a) quando $K \rightarrow 0$, a mobilidade do cátion univalente é muito maior do que a do cátion divalente e o estado funcional da membrana será determinado predominantemente, pela atividade do cátion univalente da solução externa;
- b) quando $K \rightarrow 1$, a mobilidade do cátion univalente é igual à mobilidade do cátion divalente e o estado funcional da membrana será determinado pela atividade dos dois cátions: uni e divalentes;
- c) quando $K > 1$, a mobilidade do cátion divalente é maior do que a do cátion univalente e o estado funcional da membrana será determinado pela atividade do cátion divalente da solução externa.

O sistema de abertura e fechamento dos poros, denominado processo "sensing-gating", não envolve a participação direta do íon cálcio e nem requer como condição necessária para o seu funcionamento, algum íon monovalente específico, pequenas moléculas solúveis ou fontes de energia metabólica. Toda a energia necessária para a abertura cíclica do poro, pode provir de campos elétricos que envolvem a membrana, e dos dois estados do poro: fechado e aberto. Cada poro pode ter vários "portões" em série, permitindo que o mesmo tenha várias formas de "estado fechado", ou ter somente um "portão" e múltiplas formas no sensor e outros aparatos que estruturam o "portão". (HILL, 1976).

Os termos poro e canal tem sido usados indiscriminadamente. Entretanto, ficou estabelecida uma diferença entre estes termos (URRY, 1972) segundo o comportamento dinâmico ou passivo na estrutura transmembrânica. O termo "canal transmembrânico" é usado para indicar a existência de uma via através da membrana, na qual se dá o transporte dos íons devido a um relaxamento na conformação induzida por eles. Um "poro" nada mais é do que um orifício molecu

lar onde a estrutura tem dimensão fixa e somente os íons de dimensão menor do que a do orifício, podem atravessá-lo. O poro pode apresentar alta mobilidade, mas a sua capacidade de seletividade é limitada, uma vez que permite a passagem de quaisquer partículas menores do que ele. Por outro lado, o canal, dependendo de sua conformação, poderá exibir uma alta mobilidade bem como uma significativa seletividade.

No estudo do mecanismo envolvido no transporte dos íons cálcio, constatou-se que, além do seu deslocamento através dos poros, o mesmo está intimamente ligado ao movimento do sódio e que há uma troca destes íons. Esta troca está caracterizada como uma difusão facilitada, pois o transporte do cálcio pode ser derivado do gradiente eletroquímico transmembrânico do sódio. Verificações experimentais demonstram que para três íons sódio entrando, há um íon cálcio saindo e assim, a célula ganha carga positiva. Nota-se uma competição entre sódio e cálcio na face externa da membrana e experimentos ressaltam a existência de dois tipos de sítios na "molécula transportadora": um deles ocupado por íon sódio para que o transportador se mova e o outro, ocupado por dois íons sódio ou um íon cálcio. Porém, há evidências de que este último tem duas conformações, uma para cada cátion (BLAUSTEIN, 1974).

É amplamente aceito, que altas concentrações de potássio e baixas concentrações de sódio nas células vivas, são mantidas por extrusão ativa do sódio e reabsorção ativa do potássio. Muitas são as hipóteses quanto ao mecanismo destes transportes e, o que se pode afirmar, é que a energia necessária para o mesmo provém da hidrólise do ATP, embora considerações físico-químicas mostrem que o mesmo envolve reações químicas entre constituintes celulares e íons transportados. A hipótese mais consistente atualmente, considera como fator principal a mudança da configuração espacial dos transportadores como, por exemplo,

proposto por URRY (1972).

Em estudos relativos à mobilidade do transportador (HEINZ, 1967), foram classificados dois tipos de sistemas de transporte, considerando o efeito trans (fenômeno no qual o fluxo de uma espécie depende da concentração desta em diferentes formas marcadas ou de uma espécie semelhante a esta, no lado para o qual o fluxo é dirigido, denominado substrato trans). Um dos sistemas admite mobilidade igual para o transportador carregado e o não-carregado, atribuindo o aumento de fluxo a uma inibição competitiva entre o fluxo de retorno e o substrato trans, o que é uma característica da difusão facilitada. O outro sistema assume mobilidade diferente para ambos transportadores, sendo que o carregado é o que se move mais rapidamente através da membrana e, conseqüentemente, sofre uma estimulação inicial do soluto trans, dirigindo em sua direção o fluxo unidirecional, característica do transporte ativo.

A hipótese de USSING (1949) quanto ao mecanismo de difusão por troca dos íons sódio, é que a constante de dissociação dos íons sódio da molécula do transportador é a mesma tanto na superfície interna quanto na externa e a velocidade do complexo íon-transportador ao atravessar a membrana, é a mesma em ambos os sentidos. Entretanto, GARRAHAN & GLYNN (1967a) verificaram que em eritrócitos, o transportador é modificado durante sua passagem através da membrana e sua afinidade por íons sódio é menor numa superfície do que na outra, podendo-se supor que o mesmo chega mais facilmente a uma superfície do que na outra, isto é, que a velocidade média de ida e a de vinda são diferentes. Concluíram ainda que a taxa média com a qual o complexo íon-transportador atravessa a membrana, é proporcional à sua concentração na superfície da qual ele é retirado.

GARRAHAN & GLYNN (1967-c), observaram:

a) sob condições fisiológicas normais, a troca de íons sô-

- dio por íons potássio (Na:K);
- b) em meio com a ausência de potássio, somente a troca de íons sódio por íons sódio (Na : Na) e
- c) para concentrações de potássio menores que as normais, a existência dos dois tipos de trocas, até mesmo simultâneas.

Constataram também que apesar das diferenças nestes mecanismos, um único sistema é o responsável pelos vários transportes. Tais mecanismos necessitam da presença de ATP e apresentam uma mesma sensibilidade para íons potássio da solução externa. Medidas precisas do influxo do potássio para diferentes concentrações de sódio externo, confirmaram a grande sensibilidade do mecanismo de transporte para baixos níveis de sódio externo. Os autores (GARRAHAN & GLYNN, 1967b-c) sugerem uma competição dos íons sódio para o sítio do transportador do potássio.

Entretanto, resultados de estudos feitos em eritrócitos humanos para verificação do influxo do potássio, sugeriram uma ausência de competição entre os íons sódio e potássio do mesmo lado da membrana, havendo somente uma conexão entre os sítios que alojam os íons da bomba Na/K, ou melhor, que a afinidade de um sítio por um determinado íon, depende da ocupação do outro sítio. (CHIPPERFIELD & WHITTAM, 1976).

Em eritrócitos fantasma foi observado que a troca Na : Na é acompanhada de pouca ou nenhuma hidrólise de ATP, o que reforça a idéia desta troca não ser caracterizada como um transporte ativo mas como uma difusão por troca. (GARRAHAN & GLYNN, 1967d).

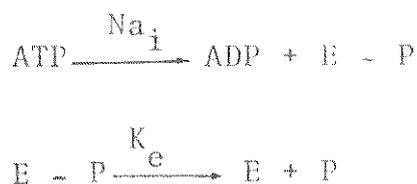
Estes fatos sustentam a hipótese de um mesmo mecanismo para os diferentes tipos de transporte, de tal modo que a diferença é predominantemente devida à fon

te de energia.

No caso do transporte ativo, a energia pode ser devida a:

- a) quebra do ATP por uma ATPase específica;
- b) liberação de energia por eletrons que fluem da cadeia de citocromos;
- c) energia mecânica liberada pela contração da membrana e
- d) campo elétrico produzido por radicais livres (CZÁKY, 1965).

A maioria dos autores propõem a seguinte cadeia simplificada para a produção de energia, no caso da bomba Na/K:



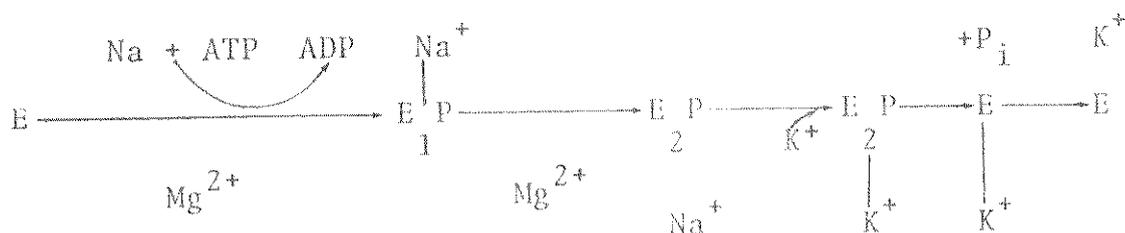
Todos os pesquisadores citam o fato de que a ATPase é ativada por íons potássio da solução externa e por íons sódio da solução interna, isto é, pelos íons que são transportados, embora não seja claro ainda, o mecanismo dessa ativação ATPásica (GARRAHAM & GLYNN, 1967d-e; WHITTAM & CHIPPERFIELD, 1975). CZÁKY (1965) hipotetiza que há somente um sítio de ação do cátion sendo que a fosforilação ocorre quando o sítio é ocupado por sódio e a hidrólise, quando o sítio é ocupado por potássio.

Foram propostos dois mecanismos de ação da bomba Na/K (WHITTAM & CHIPPERFIELD, 1975), admitindo que a mesma possa operar em "um-passo" ou em "dois-passos". No primeiro, os dois íons são atados simultaneamente ao transportador e carregados ao mesmo tempo em direções opostas

enquanto que no segundo, um íon é atado ao transportador e, carregado através da membrana, é trocado por outro íon que será transportado para o lado oposto.

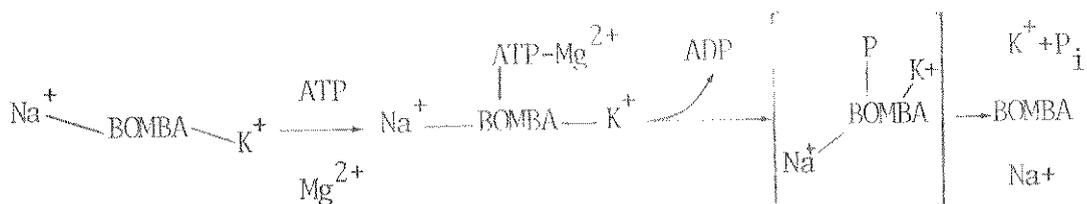
Apesar de aceitos por muitos anos, nada há de conclusivo quanto aos mecanismos de transporte, embora estudos da reação de fosforilação nos conduzam a aceitar a hipótese do mecanismo de "dois-passos". Nesta reação, sabe-se que na presença de $\text{Na}^+ + \text{ATP} + \text{Mg}^{2+}$ forma-se uma fosfoproteína que é hidrolisada quando K^+ se faz presente. Conclui-se, então, que o efluxo de Na é associado com a formação de um fosforilado intermediário e o influxo de K ocorre com a sua destruição.

Foi proposto ainda, uma reação mais elaborada onde aparecem dois fosforilados intermediários (E_1P e E_2P):



Esta proposição implica numa cadeia de eventos em série quanto à participação dos íons sódio e potássio de modo que, "a quantidade de energia final depende do mínimo destas ações ou do mínimo entre as concentrações de sódio interno e potássio externo". Se considerarmos, por exemplo, a concentração de potássio externo igual a zero ($(\text{K})_o = 0$) então, a quantidade de energia final é zero ($H = 0$), proporcionando uma troca Na : Na que é citada por alguns pesquisadores (GARRAHAM & GLYNN, 1967b-d ; WHITTAN & CHIPPERFIELD, 1975).

Este esquema é universalmente aceito pois se ajusta a muitos estudos e dentre eles, um dos mais im-



Este estado-de-transição não pode ser isolado pelo fato de não ser um fosforilado intermediário sendo que a presença de P (fósforo) neste estado é que promoverá a movimentação dos íons. O complexo só poderá ser formado se os sítios forem corretamente ocupados pelos íons sódio e potássio, e, a sua decomposição é espontânea desde que o íon potássio esteja presente. Os íons sódio e potássio são liberados quando há uma quebra do complexo e essa quebra leva a uma diminuição da afinidade íon-sítio promovendo a liberação dos íons. A formação do complexo estado-de-transição requer a ação combinada de Na^+ , K^+ , ATP e Mg^{2+} e a sua quebra é uma consequência inevitável da sua formação.

Este modelo necessitando da ação simultânea dos íons também implica num mecanismo de mínimos.

Em geral, o mecanismo de "dois-passos" é classificado como "uma-unidade" porque a molécula do transportador capta somente um íon por vez e tem a característica de um sistema de enzima "substituidor" ou "ping-pong". Por outro lado, o mecanismo de estado-de-transição para a bomba é classificado como "duas-unidades" pois os íons sódio e potássio são captados ao mesmo tempo, correspondendo a um sistema de enzimas "sequencial".

Do observado, podemos então concluir que, pa

ra qualquer tipo de mecanismo envolvido no transporte ativo dos íons sódio e potássio é válida a hipótese dos mínimos, ou seja, a quantidade de energia liberada para o processo é função do mínimo das concentrações dos íons presentes.

Mas, qualquer que seja o mecanismo envolvido no transporte ativo de íons, surge a questão se a afinidade de íons (digamos K) é influenciada pela quantidade de outro íon (digamos Na) que será transportado. Trabalhos em axônios e eritrócitos tanto de humanos como de carneiros, sugerem independência, enquanto que, estudos realizados em eritrócitos fantasmas de humanos mostram uma conexão entre as afinidades dos íons. CHIPPERFIELD & WHITTAM (1976), interessados em resolver a questão, refizeram o trabalho em eritrócitos fantasma de humanos usando potássio marcado (^{42}K) e constataram uma ausência de competição entre os íons sódio e potássio, do mesmo lado da membrana, e que os sítios são conectados, isto é, a afinidade de um sítio depende da ocupação do outro sítio. SACHS (1977) salienta ainda que deve haver precedência de ligação, onde pelo menos dois íons sódio devem estar ligados ao sítio da molécula do transportador para que o íon potássio possa se ligar ao seu.

A existência de uma relação entre o número de íons transportados para cada molécula de ATP hidrolisada, foi uma outra questão analisada e, comprovou-se que três íons sódio e dois íons potássio são transportados para cada molécula de ATP hidrolisada. (GARRAHAN e GLYNN, 1967d-e; CZÁKY, 1965; WHITTAM & CHIPPERFIELD, 1975).

Então, quando estudamos o transporte ativo dos íons, não podemos deixar de considerar os vários fatores que o influenciam (ROTHSTEIN, 1968), tais como:

1) disponibilidade de ATP,

- 2) potencial de membrana,
- 3) presença dos íons específicos,
- 4) natureza das forças impulsoras que resultam da movimentação dos íons (entrada e saída), devido à energia metabólica,
- 5) especificidade do cátion ao mecanismo de transferência
- 6) função de proximidade dos fluxos do íons e
- 7) distribuição resultante dos íons no equilíbrio.

1.2. As Correntes Iônicas

A proposição mais importante até agora, sobre o comportamento elétrico da membrana de células excitáveis, é sem dúvida alguma a dada pelo modelo de HODGKIN & HUXLEY (1952), também conhecido como modelo H-H. Este é descrito por um conjunto de equações diferenciais, determinadas analiticamente a partir dos dados experimentais obtidos em axônio de lulas.

Neste modelo, as correntes iônicas foram descritas como

$$i_I = \bar{i}_I \cdot u^a \cdot v^b \quad (1)$$

onde

u é uma variável que descreve a ativação da condutância iônica.

v é uma variável que descreve a inativação da condutância iônica.

\bar{i}_I descreve a corrente característica do íon quando todos os canais estiverem abertos.

Em geral, os íons mais importantes daqueles relacionados ao comportamento celular são Na, Ca, K, Cl, o que nos permite considerar quatro componentes tempo-dependentes da corrente iônica.

Estudos relativos à composição iônica cinética dos "portões" e sensibilidade a agentes farmacológicos (McALLISTER, NOBLE & TSIEN, 1975), sugerem que os vários componentes da corrente iônica são pelo menos funcionalmente distintos e as voltagens e tempo-dependências observáveis, são atribuídas a reações de barragem, descritas pelas variáveis m, h, s, n , etc., relacionadas aos diversos íons, que são representados pelas variáveis u e v , na equação (1). Estas variáveis assumem valores no intervalo fechado $(0,1)$ e medem o grau de abertura e fechamento dos canais iônicos da membrana. Suas dependências à voltagem e ao tempo são descritas por equações diferenciais de primeira ordem do tipo

$$\dot{y} = \alpha_y \cdot (1-y) - \beta_y \cdot y \quad (2)$$

onde

$$y = m, h, s, n, \text{ etc.}$$

e

α_y e β_y são funções exponenciais de E (potencial de membrana).

As componentes da corrente iônica para os íons sódio, cálcio, cloro e potássio (Na, Ca, Cl e K) são dadas pela equação:

$$i_I = \bar{i}_I \cdot u^a \cdot v^b \quad (3)$$

tal que $u^a + 1$ e $v \rightarrow 0$, quando a membrana for despolarizada (redução do potencial de membrana em valor absoluto). O expoente a , para o íon sódio assume o valor 3, para o íon potássio o valor 4, enquanto que para os íons cálcio e cloro o valor 1. O expoente b , para os íons sódio, cálcio e cloro assume o valor 1, enquanto que para o íon potássio o valor zero. Em algumas células a cinética do potássio pode se tornar bastante complexa. Assim, por exemplo, McALLISTER, NOBLE & TSIEN (1975) simularam o comportamento da fibra cardíaca de Purkinje e propuseram três correntes de potássio tempo-dependentes (i_{K1} , i_{x1} e i_{x2}), embora nenhuma delas possa representar, sob o ponto de vista quantitativo, a corrente do potássio descrita no modelo H-H (i_K). Estas correntes obedecem à mesma equação geral (3) onde o expoente b é nulo.

Em alguns casos, \bar{i}_I é uma função linear do potencial que obedece a equação:

$$\bar{i}_I = \bar{g}_I \cdot (E - E_I) \quad (4)$$

onde

\bar{g}_I é um valor constante para cada célula,

E é o potencial de membrana,

E_I é o potencial de equilíbrio do íon,

e em outros casos pode ser uma função não linear em decorrência de efeitos retificadores presentes na membrana (McALLISTER, NOBLE & TSIEN, 1975).

1.3. Considerações sobre os Modelos já Existentes

Hoje, devido a um grande número de evidências experimentais, assume-se que, em certas circunstâncias, a condutância iônica não é constante e depende de outros parâmetros além de E e E_I . Neste caso, admite-se que na membrana existem mecanismos retificadores que modificarão a relação $\bar{i}_I/(E - E_I)$, tornando-a não linear. Por exemplo, no caso de i_{K2} e i_{K1} estas relações são expressas como funções exponenciais do potencial de membrana (McALLISTER, NOBLE & TSIEN, 1975).

HODGKIN & HUXLEY, analisando as correntes iônicas, quando da excitação do axônio da lula, ressaltaram que seu modelo poderia ser aplicado a outras células excitáveis pois, a similaridade dos efeitos na variação das concentrações de sódio e potássio, nos potenciais de ação e de repouso de várias células, sugere que o mecanismo básico da condução do estímulo pode ser descrito pelas suas equações, a menos de algumas modificações em suas constantes. Entretanto, inúmeros são os resultados experimentais que demonstram a existência de correntes iônicas devidas ao transporte ativo de íons, o que nos permite concluir que o modelo H-H para poder representar o comportamento elétrico de uma membrana qualquer, além de sofrer modificações em suas constantes, necessita também da adição de novas correntes que sejam geradas pelo transporte ativo. Contudo, há uma falha na literatura na tentativa de formalizar estes novos mecanismos de membrana, bem como de incorporá-los ao modelo H-H.

Como consequência do exposto, as proposições deste trabalho serão:

- i) descrever qualitativamente algumas características destes novos mecanismos aplicando o conceito de sistema dinâmico;
- ii) dar uma estrutura teórica para futuros experimentos e estudos formais sobre a incorporação destes novos conceitos no modelo H-II, possibilitando uma análise quantitativa do mesmo.

2. UM MODELO MATEMÁTICO PARA AS CORRENTES IÔNICAS

2.1. Proposição para um Modelo Inicial

Seja M uma membrana qualquer para a qual definiremos um sistema iônico Λ , de forma a garantir que a mesma admite uma certa permeabilidade aos íons que constituem as classes de íons I , elementos de Λ .

Evidências experimentais demonstram que as correntes iônicas podem ser provocadas por uma variação nas condutâncias iônicas (HODGKIN & HUXLEY, 1952; WOODBURY, 1962), ou na energia metabólica do sistema (GARRAHAM & GLYNN, 1967a-c; URRY, 1972; CZÁKY, 1965; WHITTAN & CHIPPERFIELD, 1975; ROTHSTEIN, 1968). Portanto, estão caracterizados dois tipos de transporte: passivo e ativo, respectivamente, de tal forma que, no sistema Λ , as correntes iônicas, para cada classe de íon $I \in \Lambda$, serão dadas por:

$$i_I = g_I (E - E_I) \quad (5)$$

e/ou

$$i_I = O_I (H) \quad (6)$$

Em (5), g_I e E_I são, respectivamente, a condutância iônica e potencial de equilíbrio da classe de íons $I \in \Lambda$. No modelo H-H, g_I é tempo e potencial dependente e E_I é calculado pela equação de Nerst.

Em (6), a corrente é função da energia externa ao sistema Λ , energia esta que pode ser oriunda, por exemplo, da concentração de outros íons; do potencial de membrana de outras células; ou ainda, da energia metabólica utilizada nos transportes ativos. Neste caso, a corrente depende de um mecanismo envolvendo um transportador tal que, tanto a afinidade do íon por seu sítio específico quanto a

velocidade do transportador são governadas por essa energia.

No transporte ativo, a energia metabólica provém da hidrólise do ATP que é controlada por uma ATPase, sensível à concentração iônica. Por exemplo, na bomba Na/ K a hidrólise é governada por uma $\text{Na}_i\text{-K}_o\text{-ATPase}$, isto é, por uma enzima que age em função das concentrações interna do sódio e externa do potássio.

A corrente iônica gerada pela bomba Na/K foi medida (TAHARA, KIMIZUKA & KOKETSU, 1973) e verificaram que a mesma tem um comportamento assintótico e que há um único estado para o qual $i_I = 0$, que é o chamado potencial de equilíbrio da bomba.

O sistema de transporte ativo promove alterações nas concentrações dos íons envolvidos no mesmo e, desta forma, modificam os seus potenciais de equilíbrio e, conseqüentemente, o comportamento do sistema que está caracterizado por (5). Há então uma conexão entre os dois tipos de fluxo: ativo e passivo.

Portanto, para formalizarmos um modelo que incorpore todas as considerações feitas acima, devemos assumir que, de uma forma geral, a corrente para uma dada classe de íons I e A depende dos seguintes fatores:

- i) gradiente eletroquímico $\Delta_I E = (E - E_I)$
- ii) fluxos ativo e passivo
- iii) relação entre g_I e g_L , onde g_L é o valor da condutância para o limiar da membrana
- iv) energia externa, que é a influência de outros sistemas como, por exemplo, o potencial da membrana de outra célula; energia liberada de outro subsistema energético (quebra de ATP); ou ainda, outro sistema iônico A' (como no caso da dependência da concentração de outros íons.

Para formalizarmos este modelo geral, temos a necessidade de ressaltar algumas definições que serão necessárias para o desenvolvimento do mesmo.

Em 1965, o matemático ZADEH formalizou a teoria dos conjuntos nebulosos. Segundo ele, "conjunto nebuloso é uma classe de objetos com um grau de proximidade entre eles, isto é, um conjunto caracterizado por uma função de proximidade μ , que atribui a cada par objeto-conjunto um grau de proximidade e que assume valores no intervalo fechado $(0,1)$ ". As noções de inclusão, união, intersecção, complementar, relação de convexidade, etc., e várias propriedades destas noções, são estabelecidas no contexto de conjuntos nebulosos, a partir de operações lógicas e algébricas.

Exemplos claros e precisos da necessidade da utilização, aqui, de tal conceito, podem ser dados já a partir de problemas triviais, como o de expressar numericamente a concentração do sódio interno ou externo. O meio extracelular (0) possui alta concentração do íon sódio, enquanto que o meio intracelular (1) possui baixa concentração do mesmo. Por este motivo o sódio é considerado um íon predominantemente extracelular e portanto, não podemos excluir-lo de I.

Sendo I um meio homogêneo, tentemos representar a pertinência do sódio em relação a ele. Se para tanto utilizarmos o conceito de função característica (definida na teoria clássica de conjuntos)

$$f : I \rightarrow \{0,1\} \quad (7)$$

tal que

$$f(\text{Na}) = \begin{cases} 0 & \text{se } \text{Na} \in I \\ 1 & \text{se } \text{Na} \notin I \end{cases}$$

estaremos cometendo um erro, pois esta representação descreve o sódio como um íon exclusivamente extracelular.

Se por outro lado, considerarmos uma função de proximidade μ_m , definida para o par ordenado (I, I) , que associa um grau de proximidade entre cada classe de íon $I \in \Lambda$ e o meio extracelular, expresso por valores no intervalo fechado $(0,1)$, isto é

$$\begin{aligned} \mu_m : \Lambda \times \{I\} &\rightarrow (0,1) \\ (I, I) &\rightarrow \mu_m(I, I) \end{aligned} \quad (8)$$

teremos que

$$\mu_m(I, I) \begin{cases} < 0,5 & \text{implica que a classe de íons } I \text{ é} \\ & \text{predominantemente extracelular} \\ > 0,5 & \text{implica que a classe de íons } I \text{ é} \\ & \text{predominantemente intracelular.} \end{cases}$$

Então, como exemplo, podemos tomar a relação de proximidade do íon sódio ao meio intracelular: 0,2, o que o caracteriza como um íon predominantemente extracelular. Contudo, μ_m não expressa o valor numérico da concentração do íon no meio intracelular mas sim, uma relação de pertinência deste íon ao compartimento celular.

Naturalmente os valores para estas relações de proximidade são dependentes da permeabilidade da membrana e dos transportadores para os íons das classes de íons I pertencentes a Λ .

2.1.1. Considerações sobre o Sistema de Condutância Iônica

Embora ZADEH tenha formalizado a teoria de funções nebulosas em 1965, cerca de 13 anos antes HODGKIN & HUXLEY (1952) utilizaram estas noções indiretamente pois, as variáveis u e v , citadas em 1.2 e que agora serão analisadas, nada mais são do que funções de proximidade.

No modelo H-H, u e v descrevem a ativação e inativação da condutância iônica, respectivamente, e assumem valores no intervalo fechado $(0,1)$, representando a medida do grau de abertura e fechamento dos canais iônicos da membrana e, portanto, descrevendo as reações de barragem dos canais.

Desta forma, se considerarmos:

- 1) para cada classe de íons $I \in \Lambda$, o conjunto verdade dos estados de um canal,

$$V = \{\text{aberto, fechado}\}$$

- 2) um conjunto C cujos elementos são conjuntos de canais da membrana (C_I), que são específicos para cada classe de íons $I \in \Lambda$, isto é,

$$C = \{C_I\}_{I \in \Lambda}$$

onde C_I , por sua vez, é composto por canais individuais (c_I), ou melhor,

$$C_I = \{c_I\}_{I \in \Lambda}$$

- 3) o conjunto \mathcal{P} dos portões de C_I , composto pela união dos subconjuntos \mathcal{P}_d e \mathcal{P}_h , isto é, união do conjunto dos portões que são abertos durante a despolarização e do conjunto dos portões que são abertos durante a hiperpolarização,

podemos definir

$$\begin{aligned} u &: C_I \times V \rightarrow (0,1) \\ v &: C_I \times V \rightarrow (0,1) \end{aligned} \quad (9)$$

tal que para $u_I = 1$ ou $u_I = 0$ o portão $p \in P_d$ do canal c_I , que é específico para a classe de íons $I \in \Lambda$, está aberto ou fechado, respectivamente, caracterizando u como a variável que descreve a ativação da condutância iônica. Por outro lado, se $v_I = 1$ ou $v_I = 0$, o portão $p \in P_h$ do canal c_I , que é específico para classe de íons $I \in \Lambda$, está aberto ou fechado, respectivamente, caracterizando v como variável que descreve a inativação da condutância iônica.

Quando na secção 1.2 descrevemos o modelo H, generalizamos a corrente iônica como:

$$i_I = \bar{i}_I \cdot u^a \cdot v^b$$

e para a descrição anterior a e b passam a significar o nº de portões em P_d e P_h , respectivamente.

Pelo fato de podermos assumir u e v como funções de proximidade, o modelo H-H passa a ser escrito como um sistema nebuloso.

Um outro conceito que terá muita utilidade para nós, é o de sistemas dinâmicos, que aparece na teoria qualitativa das equações diferenciais. Podemos resumir algumas definições sobre o assunto.

Definição 1: Um sistema dinâmico é uma tripla $D=(R^n, R, \pi)$, onde R^n é o Espaço Euclidiano $(R^n = (x_1, x_2, \dots, x_n))$, R é o conjunto dos números reais e $\pi : R^n \times R \rightarrow R^n$ é uma função que obedece as seguintes proprieda -

des

$$1) \pi(x, 0) = x, \forall x \in \mathbb{R}^n$$

$$2) \pi(\pi(x, t), \delta) = \pi(x, t + \delta) \quad \forall x \in \mathbb{R}^n, \forall \delta, t \in \mathbb{R}$$

3) π é uma função contínua.

Definição 2: seja $D = (\mathbb{R}^n, \mathbb{R}, \pi)$ um sistema dinâmico. Um ponto $x \in \mathbb{R}^n$ é um ponto crítico se $\pi(x, t) = x \quad \forall t \in \mathbb{R}$

Definição 3: Seja $D = (\mathbb{R}^n, \mathbb{R}, \pi)$ um sistema dinâmico e $B \subset \mathbb{R}^n$

i) B é uma trajetória se

$$B = \{\pi(b, t) / t \in \mathbb{R}\} \quad \text{para todo } b \in B$$

ii) B é uma trajetória periódica se existe

$$t_0 \in \mathbb{R}, t_0 \neq 0 \text{ tal que}$$

$$\pi(x, t + t_0) = \pi(x, t), \quad \forall x \in \mathbb{R}^n, \quad \forall t \in \mathbb{R},$$

Então, dado um sistema de equações diferenciais da forma

$$\dot{x}_i = \pi_i(x_1, x_2, \dots, x_n) \quad p/ \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (10)$$

sua solução que é representada por

$$x_i = x_i(x, t)$$

passa pelo ponto b através de B .

O modelo H-H é um exemplo biológico de sistemas dinâmicos, de indiscutível aceitação pelos biólogos. HODGKIN & HUXLEY (1952), em seu modelo para a simulação do comportamento das membranas de células excitáveis, definiram variáveis m, h, n , que nos dão a descrição das reações de barragem relacionadas aos diversos íons, sendo que a voltagem e tempo-dependências destas variáveis nos são apresentadas pela equação (2), isto é, por

$$\dot{y} = \alpha_y(1-y) - \beta_y \cdot y \quad p/ y = m, h, n$$

que é uma equação diferencial de primeira ordem do tipo da
quela definida em (10), onde

$$\dot{y} = \pi_i(y(t)) \quad p/ i = 1, 2, 3, \quad e \quad y = m, h, n.$$

Desta forma, o modelo H-H é definido por um sistema dinâmico.

O sistema dado por (9) nos permitiu descrever o modelo H-H como um sistema nebuloso e acabamos de concluir que o mesmo pode ser considerado como um sistema dinâmico. Logo, tal modelo, que descreve o comportamento da membrana de células excitáveis, é representado matematicamente por um sistema dinâmico-nebuloso.

Uma das vantagens que temos em utilizar o conceito de sistema dinâmico-nebuloso é a possibilidade de descrever a trajetória de um determinado sistema iônico Λ , em relação a uma membrana M, a partir de pressupostos mais próximos das condições naturais. Então, ao considerarmos

$$a) \quad g_I = \bar{g}_I \cdot u^a \cdot v^b$$

onde \bar{g}_I caracteriza o número de canais específicos para cada classe de íons $I \in \Lambda$ e, u e v são funções de proximidade descritas por (9).

$$b) \quad i_I = g_I(E - E_I)$$

onde E e E_I são, respectivamente, os potenciais de membrana e equilíbrio dos íons pertencentes à classe de íons $I \in \Lambda$

e pelo fato de $\dot{u} = \psi_1(E)$, $\dot{v} = \psi_2(E)$ e $E = \psi_3(\sum_I i_I)$, temos:

$$\dot{i}_I = \pi_i(E - E_I) \quad (11)$$

isto é, a corrente iônica descrita pelo sistema (5) em Λ é representada por um sistema dinâmico nebuloso, cujas variáveis x_i , quando comparadas a (10), são i_I e E_I .

No modelo H-H, E_I foi considerado constante tal que seu valor era determinado pela equação de Nerst, utilizando-se portanto, as concentrações interna e externa dos íons pertencentes à classe de íons $I \in \Lambda$. Então, para um dado valor de E_I e, com a variação temporal de E , existe uma trajetória definida para este sistema dinâmico.

Vimos, contudo, que as concentrações dos íons pertencentes à classe de íons $I \in \Lambda$ são funções de proximidade e dependentes da permeabilidade da membrana e dos transportadores específicos para estes íons. Logo, havendo uma variação na permeabilidade da membrana M , ocorrerá uma variação em E_I . Então, podemos definir um conjunto nebuloso de potenciais de equilíbrio E_I e, como consequência, uma família nebulosa de trajetórias para (11). Devido a estas dependências das concentrações, para a permeabilidade e transportadores, poderemos nesta família, ter interações entre as trajetórias, como decorrência de modificações das relações de proximidade.

2.1.2. Considerações sobre o Sistema de Transporte Ativo

Se analisarmos o bombeamento dos íons visando a afinidade dos mesmos pelo transportador e considerarmos:

- 1) o conjunto verdade dos estados de um transportador, para cada classe de íons $I \in \Lambda$, como

$$Z = \{\text{ser transportador, não ser transportador}\}$$

- 2) O conjunto T de todos os transportadores da membrana que são específicos para uma classe de íons $I \in \Lambda(I)$, isto é,

$$T = \{T_I\}_I$$

- 3) o conjunto S dos sítios em T_I que é composto pela união dos subconjuntos S_d e S_h que são, respectivamente, o conjunto dos sítios dos transportadores durante o estado de energia máxima e o conjunto dos sítios dos transportadores durante o estado de energia mínima,

poderemos definir funções de proximidade w e r que serão definidas no produto cartesiano $T_I \times Z$ e que assumem valores no intervalo fechado $(0,1)$, isto é,

$$w : T_I \times Z \rightarrow (0,1) \tag{12}$$

$$r : T_I \times Z \rightarrow (0,1)$$

tal que $w = 1$ e $r = 1$ indicam que os correspondentes sítios $s \in S_d$ e $s' \in S_h$ do transportador t_I , exibem acoplamentos máximos para uma determinada classe de íons $I \in \Lambda$ e, portanto, w e r descrevem, respectivamente, o poder de acoplamento nos estados de energia máxima e mínima.

Para expressarmos o número de transportadores efetivos, tomados do conjunto de todos os transportadores possíveis, podemos considerar:

$$a_I = \bar{a}_I \cdot w^a \cdot r^b \tag{13}$$

onde

\bar{a}_I caracteriza o número total de transportadores para a classe de íons I

w e r representam o poder de acoplamento do

íon ao sítio do transportador, durante estados de energia máxima ou mínima, respectivamente

c e d estão relacionados ao número de sítios em S_d (conjunto dos sítios dos transportadores durante o estado de energia máxima) e S_h (conjunto dos sítios dos transportadores durante o estado de energia mínima), respectivamente.

e portanto, a_I pode ser traduzido como a afinidade do íon pelos sítios dos transportadores e o sistema em (6) (onde a corrente iônica é função da energia externa ao sistema), pode ser escrito como um sistema nebuloso, que é dado pelas equações (12) e (13).

Por outro lado, na introdução deste trabalho, acabamos por concluir que qualquer que seja o mecanismo envolvido no bombeamento de íons, ping-pong ou sequencial, a quantidade de energia liberada para o processo está vinculada a uma relação de mínimos entre as concentrações dos íons a serem transportados. Podemos então, formalizar esta condição de mínimos, considerando:

- a) X um conjunto qualquer e
- b) $(0,1)$ o intervalo fechado entre zero e um.

Seja $\gamma(X)$ uma família de funções nebulosas η , definidas em X e que assumem valores no intervalo fechado $(0,1)$, isto é,

$$\gamma(X) = \{\eta/\eta : X \rightarrow (0,1)\}$$

Tomemos em $\gamma(X)$ um operador $\langle \rangle$, que denominaremos operador minimização, tal que as funções η_1 e η_2 de $\gamma(X)$, quando operadas por $\langle \rangle$, formam os seguintes subsistemas:

- 1) $\gamma(X_0)$, chamado sistema cooperativo, de modo que as interações entre as funções η_1 e η_2 de $\gamma(X_0)$ obedecem à restrição:

$$(\eta_1 \langle \rangle \eta_2) (x) > \min \{\eta_1(x), \eta_2(x)\} \quad (14a)$$

isto é, a minimização entre duas funções pertencentes a um sistema cooperativo é maior que o mínimo destas funções

- 2) $\gamma(X_p)$, chamado sistema competitivo, de modo que as interações entre as funções η_1 e η_2 de $\gamma(X_p)$ obedecem à restrição:

$$(\eta_1 \langle \rangle \eta_2) (x) < \min \{\eta_1(x), \eta_2(x)\} \quad (14b)$$

isto é, a minimização entre duas funções pertencentes a um sistema competitivo é menor que o mínimo destas funções.

- 3) $\gamma(X_N)$, chamado subsistema neutro, de modo que as interações entre as funções η_1 e η_2 de $\gamma(X_N)$ obedecem à restrição:

$$(\eta_1 \langle \rangle \eta_2) (x) = \min \{\eta_1(x), \eta_2(x)\} \quad (14c)$$

isto é, a minimização entre duas funções pertencentes a um sistema neutro é igual ao mínimo destas funções.

Então se, para exemplificar, considerarmos a bomba Na/K, poderemos assumir que a minimização entre as concentrações de sódio interno e potássio externo, isto é,

$$(\text{Na})_i \langle \rangle (\text{K})_o \quad (15)$$

poderá ser expressa,

- i) para um sistema com cooperação entre os íons, como:

$$(\text{Na})_i < > (\text{K})_o > \min.\{(\text{Na})_i, (\text{K})_o\} \quad (15a)$$

ou melhor, a minimização entre as concentrações dos íons sódio interno e potássio externo é maior que o mínimo das respectivas concentrações.

ii) para um sistema com competição entre os íons, como:

$$(\text{Na})_i < > (\text{K})_o < \min.\{(\text{Na})_i, (\text{K})_o\} \quad (15b)$$

ou melhor, a minimização entre as concentrações dos íons sódio interno e potássio externo é menor que o mínimo das respectivas concentrações.

iii) para um sistema neutro, como

$$(\text{Na})_i < > (\text{K})_o = \min.\{(\text{Na})_i, (\text{K})_o\} \quad (15c)$$

ou melhor, a minimização entre as concentrações dos íons sódio interno e potássio externo é igual ao mínimo das respectivas concentrações.

Vimos anteriormente (equação (12)) que o poder de acoplamento dos íons ao transportador é função da energia liberada e, pela definição dada em (13) e das equações (15a - c) segue-se que:

$$a_I = \theta((\text{Na})_i < > (\text{K})_o)$$

isto é, a afinidade dos íons pelos sítios do transportador é uma função θ da minimização entre as concentrações dos íons sódio interno e potássio externo e, portanto,

i) nos sistemas cooperativos, a afinidade dos íons pelos sítios dos transportadores é maior que uma função θ do mínimo das concentrações dos íons sódio interno e potássio externo, isto é,

$$a_I > \theta(\min\{(\text{Na})_i, (\text{K})_o\}) \quad (16a)$$

ii) nos sistemas competitivos, a afinidade dos íons pelos sítios dos transportadores é menor que uma função θ do mínimo das concentrações dos íons sódio interno e potássio externo, isto é,

$$a_I < \theta(\min\{[Na]_i, [K]_o\}) \quad (16b)$$

iii) nos sistemas neutros, a afinidade dos íons pelos sítios dos transportadores é igual a uma função θ do mínimo das concentrações de sódio interno e potássio externo, isto é,

$$a_I = \theta(\min\{[Na]_i, [K]_o\}) \quad (16c)$$

o que implicará comportamentos diferentes tanto para w e r como também para a_I .

Exemplos aplicáveis a estas definições, são dados pelos pesquisadores:

1) SACHS (1977): Mediu em eritrócitos, o influxo de potássio sensível à ouabaina como função da variação das concentrações dos íons sódio interno e potássio externo e, de seus resultados, podemos concluir que:

i) o influxo de potássio obedece à relação de minimização que sugere um comportamento cooperativo entre os íons sódio e potássio da bomba e, portanto, podendo ser caracterizado pela relação de minimização dada pela expressão (15a) de modo que o número de transportadores efetivos para os íons sódio e potássio, dada pela expressão (16a), pode ser representado por

$$a_I = \theta \left(\frac{\mu_m(Na, I) \wedge \mu_m(K, \theta)}{\mu_m(Na, I) + \mu_m(K, \theta)} \right) \quad (17)$$

isto é, a afinidade dos íons pelos sítios dos transportadores, neste sistema cooperativo, é igual a uma

função θ da razão entre o mínimo das relações de proximidade dos íons sódio e potássio ao meio intracelular I e extracelular O , respectivamente, pela soma destas mesmas relações, tal que $\mu_m(K,O) = 1 - \mu_m(K,I)$ (as relações de proximidade $\mu_m(I,I)$ são tomadas da definição dada por (8)). Além disso, esta razão está bem definida porque, na prática, $\mu_m(Na,I) + \mu_m(K,O)$ é sempre distinta de zero pois, biologicamente falando, não é possível ter-se ausência concomitante dos íons sódio e potássio nos meios intra e extracelular, respectivamente.

- ii) há uma influência maior da concentração de sódio interno do que da concentração de potássio externo. Como consequência, para um melhor desempenho da bomba, devemos ter precedência de ligação dos íons sódio ao sítio da molécula do transportador, em relação à ligação dos íons potássio. Esta hipótese, é confirmada pelos resultados de SACHS que constatou a necessidade de pelo menos dois íons sódio serem anteriormente acoplados aos seus sítios da molécula do transportador para que então, o íon potássio pudesse ser acoplado ao seu.
- 2) ISEMBERG (1977 a-d): Estudou a influência da concentração interna do cálcio em fibras cardíacas de Purkinje e, observou que a concentração interna do íon cálcio aumenta a permeabilidade da membrana ao potássio, por aumentar a condutância do mesmo. Isto se deve ao fato de que o cálcio, quando alojado num sítio do lado interno da membrana e próximo ao canal do potássio, promove uma modificação na conformação do canal do potássio fazendo o passar do estado aberto para fechado, sugerindo um comportamento cooperativo entre estes íons.
- 3) KOBATAKE; TASAKI & WATANABE (1971): Estudaram o axônio gigante da lula e sugeriram um modelo para essa membrana tal que os íons cálcio do meio extracelular reduzem as condutâncias dos íons sódio e potássio, pelo fato de

competirem por um mesmo sítio da membrana.

2.2. Formalização para um Modelo Inicial

Neste contexto, podemos iniciar uma formalização geral para as correntes do sistema Λ . As correntes iônicas i_I , para a classe de íons $I \in \Lambda$, formam um sistema $\{i_I\}_{I \in \Lambda}$, que será o sistema de correntes iônicas da membrana.

Considerando-se os dois tipos de correntes propostas em (5) e (6), isto é, as correntes provocadas pela variação da condutância iônica, representadas no modelo H-H, e as correntes provocadas pela variação da energia fornecida ao sistema, podemos tomar o sistema $\{i_I\}_{I \in \Lambda}$ como resultado da união de dois subsistemas, tal que:

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \cup \{\theta_I(H)\}_{I \in \Lambda} \quad (18)$$

onde

$\{\theta_I(H)\}_{I \in \Lambda}$ é o subsistema das correntes devidas à variação da energia fornecida a Λ e para o qual tomaremos o caso particular em que estas correntes são devidas ao transporte ativo.

e

$\{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda}$ é o subsistema das correntes devidas à variação da condutância iônica e que pode ser subdividido em outros dois subsistemas, isto é,

$$\{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} = \{g_I\}_{I \in \Lambda} \cdot \{\Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \quad (19)$$

sendo

$\{g_I\}_{I \in \Lambda}$ o subsistema das condutâncias iônicas que representa a variação observada no modelo H-II.

e

$\{\Delta_I E\}_{I \in \Lambda}$ o subsistema que representa a variação do potencial de equilíbrio dos íons pertencentes à classe de íons I do sistema Λ , variação esta provocada por uma alteração na permeabilidade e/ou no número dos transportadores da membrana, sendo $\Delta_I E = E - E_I$.

Inicialmente, podemos fazer o estudo do sistema das correntes iônicas (18) considerando os sistemas reduzidos,

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \quad (20a)$$

e

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{\theta_I(H)\}_{I \in \Lambda} \quad (20b)$$

de tal forma que em (20a) o subsistema das correntes geradas pelo transporte ativo é vazio ($\{\theta_I(H)\}_{I \in \Lambda} = \phi$), isto é, não existe corrente através do M que seja resultante de transportes ativos, enquanto que em (20b) o subsistema das correntes geradas pela variação das condutâncias iônicas é vazio ($\{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} = \phi$), isto é, não são detectados fluxos passivos de íons através de M.

2.2.1. Estudo do Sistema Reduzido para as Condutâncias Iônicas

Considerando-se então o sistema reduzido

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{g_I \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \quad (20a)$$

vimos que o mesmo poderia ser subdividido e

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{g_I\}_{I \in \Lambda} \cdot \{\Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \quad (20a)'$$

passará a ser o sistema de correntes iônicas estudado.

Estudemos separadamente cada subsistema de (20a)' e depois então tomemos a composição do mesmo.

Inicialmente, consideremos o subsistema dado pela variação do potencial eletroquímico $\Delta_I E$, sabendo - se que o mesmo poderá variar não somente com as alterações no potencial de membrana (E) mas também com as variações do potencial de equilíbrio (E_I) dos íons pertencentes à classe de íons I do subsistema Λ .

Sendo E_I calculado pela equação de Nerst,

$$E_I = \frac{RT}{Fz} \cdot \ln \frac{(I)_i}{(I)_o} \quad (21)$$

onde

R, F e z são respectivamente, as constantes dos gases perfeitos, número de Faraday e valência dos íons pertencentes à classe de íons I do subsistema iônico Λ ,

T é a temperatura medida em graus Kelvin

e

$(I)_o$ e $(I)_i$ são as concentrações do íon I nos meios extra (0) e intracelular (I), respectivamente;

podemos afirmar que uma variação sua dependerá de alterações nos transportes ativos, transportes passivos e também da presença de barreiras de difusão pois, E_I depende da pertinência dos íons aos compartimentos intra e extracelular. Vimos anteriormente que estas pertinências são funções de proximidade dadas por (8) e que tais funções são dependentes da permeabilidade da membrana e dos transportadores para estes íons. Logo, variando-se a permeabilidade da membrana aos íons e/ou quantidade ou especificidade dos transportadores, teremos uma variação em E_I .

Para ilustrar melhor este sistema, tomemos um exemplo bastante simples para o qual será considerado o subconjunto $\{X, Y\}$ de Λ de tal forma que a variação temporal do gradiente eletroquímico obedece à equação:

$$\frac{d}{dt} \frac{\Delta}{I} E = \rho_1(\Delta_I E) + \rho_2(P_I) + \rho_3(\Lambda_I) + \rho_4(H) \quad (22)$$

onde

$\rho_1(\Delta_I E)$ é, em geral, uma função linear do potencial eletroquímico.

$\rho_2(P_I)$ e $\rho_3(\Lambda_I)$ representam, respectivamente, as influências dos fluxos passivo e ativo dos íons pertencentes à classe de íons I

$\rho_4(H)$ expressa influências energéticas que atuam sobre a classe de íons $I \in \Lambda$, que podem ser provocadas tanto por outras classes $I' \in \Lambda$ bem como por outro subsistema iônico Λ' .

Ora, quando consideramos a corrente iônica como uma variação da condutância iônica, os fluxos passivos P_I são, por definição, movimentos governados pelo gradiente eletroquímico $\Delta_I E$, tal que o movimento dos íons pertencentes à classe de íons $I \in \Lambda$ reduz $\Delta_I E$, enquanto, que os transportes ativos Λ_I são movimentos iônicos que se

opõem a este gradiente de tal forma que Λ_I restaura a energia consumida por P_I . Consequentemente podemos tomar como uma primeira aproximação P_I e Λ_I como funções lineares de $\Delta_I E$ e escrever.

$$\begin{aligned} P_I &= \delta_1 \cdot \Lambda_I E \\ \Lambda_I &= \delta_2 \cdot \Delta_I E \end{aligned} \quad (23)$$

para δ_1 e δ_2 constantes tal que $\delta_1 \cdot \delta_2 < 0$.

Consequentemente, para $I \in \{X, Y\}$ e Λ , ao substituírmos as equações dadas por (23) em (22), teremos

$$\frac{d}{dt} \Delta_I E = \delta_3 \cdot \sum_I \Delta_I E + H_0 \quad (24)$$

isto é, a variação temporal do gradiente eletroquímico passa a ser uma função deste gradiente e da energia externa ao sistema $\{X, Y\}$, onde δ_3 é uma constante.

Dependendo da energia H_0 , temos três casos a considerar:

- a) $H_0 = 0$, isto é, a energia externa ao sistema é nula. Então, para $\{X, Y\} = \{K, Na\}$, onde K representa a classe de íons potássio e Na a classe de íons sódio, teremos o sistema (24) representado por:

$$\frac{d}{dt} \Delta_k E = \delta_{11} \cdot \Delta_k E + \delta_{12} \cdot \Delta_{Na} E \quad (24a)$$

de tal forma que as constantes $\delta_{i,j}$ são combinações dos δ 's que aparecem em (23) e (24). As diferenças observadas nos δ 's são devidas ao fato de E_{Na} e E_K assumirem valores positivo e negativo pois, o sódio e o potássio são, predominantemente, íons intra e extracelulares.

lulares, respectivamente.

Além disso, (24a) é um sistema dinâmico que pode ser representado matricialmente por

$$\dot{\vec{J}} = \Lambda \cdot \vec{J} \quad (24a)^{(1)}$$

para

$$\vec{J} = \begin{bmatrix} \Delta_k E \\ \Delta_{Na} E \end{bmatrix} \quad e \quad \Lambda = \begin{bmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{11} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} \end{bmatrix}$$

o qual será caracterizado pelo comportamento de suas trajetórias próximas aos pontos críticos. Das definições 1, 2 e 3 (pag.) concluímos que num ponto crítico a trajetória é invariante no tempo e, consequente, $\vec{J} = \vec{0}$, isto é, os pontos críticos de (24)⁽¹⁾ são vetores pertencentes ao N_Λ (núcleo de Λ), ou melhor, elementos de

$$N_\Lambda = \{ \vec{J} \in \mathbb{R}^2 / \Lambda \cdot \vec{J} = \vec{0} \}$$

Em geral, o sistema dinâmico que temos para estudo não possui fácil integração, por se tratarem de equações diferenciais a duas incógnitas. Então, se determinarmos uma matriz B , que seja semelhante a Λ , tal que o sistema $\dot{\vec{q}} = B \cdot \vec{q}$ tenha fácil integração poderemos, por mera mudança de coordenadas, encontradas a solução do sistema dinâmico original, $\dot{\vec{J}} = \Lambda \cdot \vec{J}$. B estará na sua forma mais simples (forma canônica de Jordan), quando Λ for diagonalizável.

Como em (24a)⁽¹⁾ o determinante de Λ ($D(\Lambda)$) é diferente de zero, então o polinômio característico de Λ será dado por

$$f(\lambda) = D(\Lambda - \lambda I) = \lambda^2 + \lambda \cdot F + D(\Lambda) \quad (24a)^{(2)}$$

onde

$$F = \sigma_{11} + \sigma_{22} \quad (23a)^{(3)}$$

$$D(A) = \sigma_{11} \cdot \sigma_{22} - \sigma_{12} \cdot \sigma_{21} \quad (24a)^{(4)}$$

que terá por raízes

$$\lambda_1 = \frac{F + \sqrt{d}}{2} \quad (24a)^{(5)}$$

e

$$\lambda_2 = \frac{F - \sqrt{d}}{2} \quad (24a)^{(6)}$$

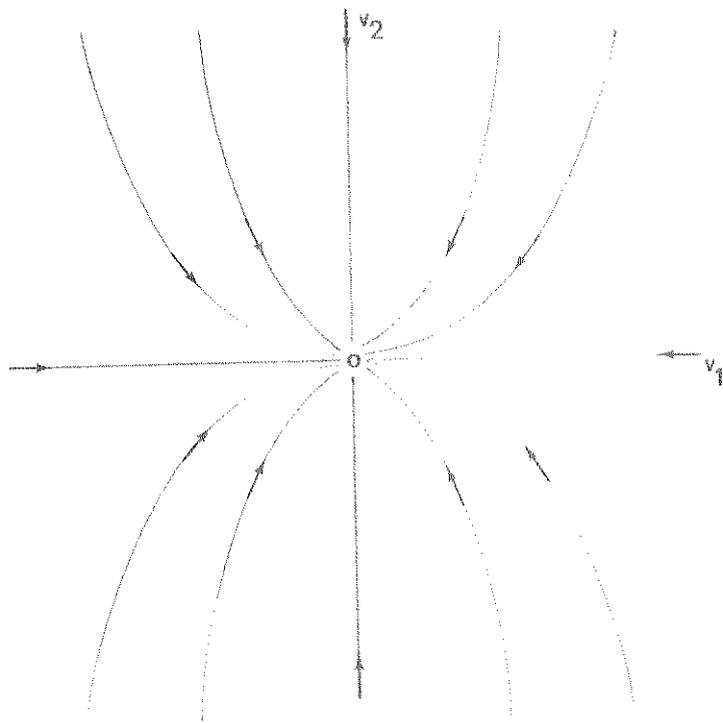
para

$$d = F^2 - D(A) \quad (24a)^{(7)}$$

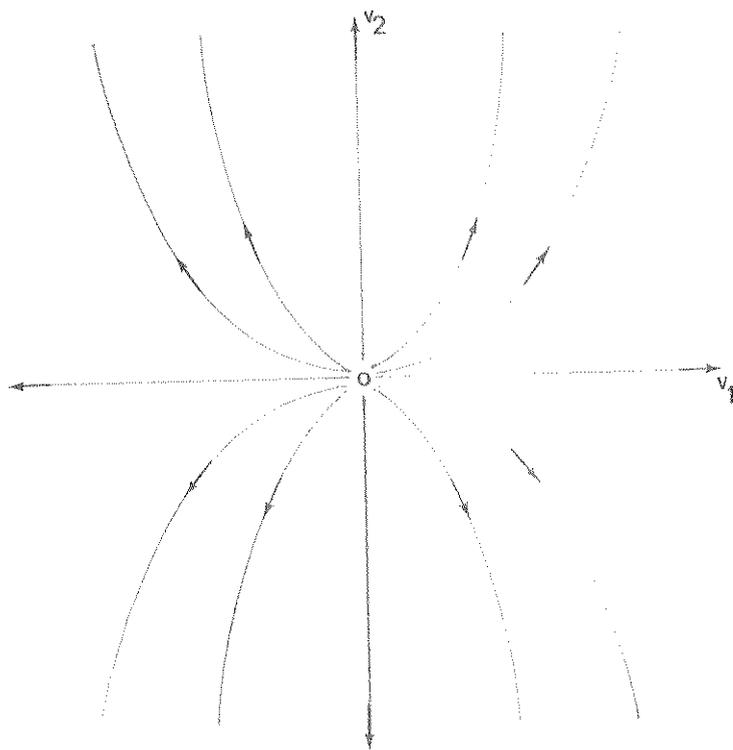
O sistema (23a)⁽¹⁾ tem um único ponto crítico que é a origem do sistema de coordenadas e, dependendo dos valores das componentes $\sigma_{i,j}$ de A (NEMYTS - KII & STEPANOV, 1960; SANSONE & CONTI, 1956), podemos ter:

CASO (1): $D(A) > 0$, implicando $\lambda_1 \cdot \lambda_2 > 0$. Neste caso A é diagonalizável e o plano de fase da solução de (24a) está representado pela figura I. A origem, que é o único ponto crítico, é denominado nó a duas tangentes e, se $\lambda_1 + \lambda_2 > 0$ temos um nó a duas tangentes atrativo (as trajetórias convergem para o ponto crítico), figura I_a, enquanto que se $\lambda_1 + \lambda_2 < 0$ temos um nó a duas tangentes repulsivo (as trajetórias se afastam do ponto crítico), figura Ib.

CASO (2): $D(A) < 0$, implicando $\lambda_1 \cdot \lambda_2 < 0$. Neste caso A é diagonalizável e o plano da fase da



la



lb

Fig. I: A origem \bar{e} denominada n \acute{o} a duas tangentes sendo (a) , pelo fato de $\lambda_1 + \lambda_2 > 0$, um n \acute{o} atrativo enquanto que (b), pelo fato de $\lambda_1 + \lambda_2 < 0$, um n \acute{o} pulsivo.

solução de (24a) está representado pela figura II. A origem (único ponto crítico) recebe o nome de ponto de sela. Em IIa consideramos $\lambda_2 < 0 < \lambda_1$ e em IIb $\lambda_1 < 0 < \lambda_2$.

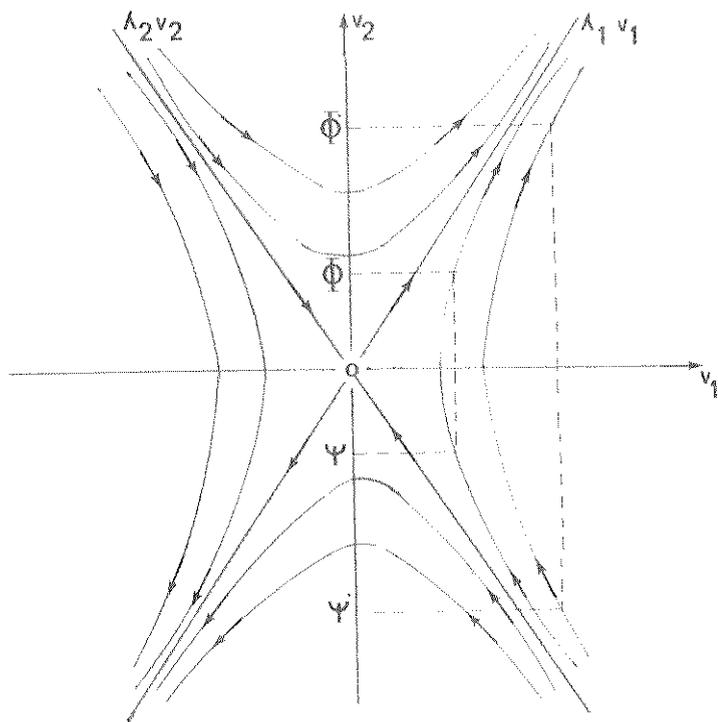
CASO (3): $d = 0$, implicando $\lambda_1 = \lambda_2 = -\frac{F}{2}$. Neste caso, A não é diagonalizável e um plano de fase possível para a solução de (24a) está representado pela figura III. A origem (único ponto crítico) será denominada nó a uma tangente e se, $F < 0$ então $\lambda < 0$ e teremos um nó a uma tangente repulsivo (figura IIIa), enquanto que se $F > 0$ então $\lambda > 0$ e teremos um nó a uma tangente atrativo (figura IIIb).

CASO (4): $d < 0$, implicando $\lambda_1 = \bar{\lambda}_2$, para λ_1 e λ_2 números complexos. Dependendo dos valores assumidos por F , podemos ter dois casos:

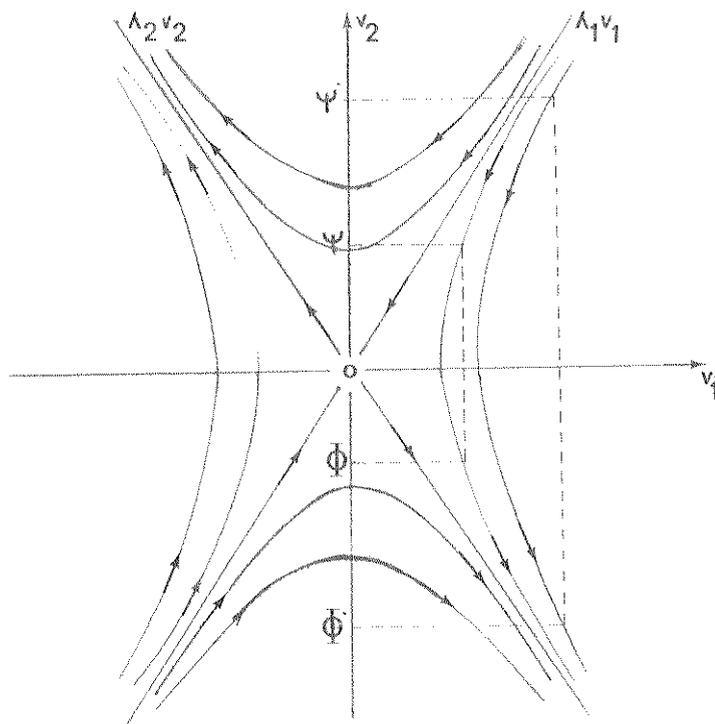
Caso (4a): $F = 0$. A origem será denominada centro e para $\lambda_1 > 0$ o plano de fase de (24a) está representado pela figura IVa, enquanto que para $\lambda_1 < 0$ o plano de fase está representado pela figura IVb.

Caso (4b): $F \neq 0$. A origem será denominada foco e para $F > 0$ o plano de fase (24a) está representado pela figura Va (foco atrativo), enquanto que para $F < 0$ o plano de fase está representado pela figura Vb (foco repulsivo).

b) $H_0 = T$, para T uma constante distinta de zero, isto é, a energia externa fornecida ao sistema é constante.

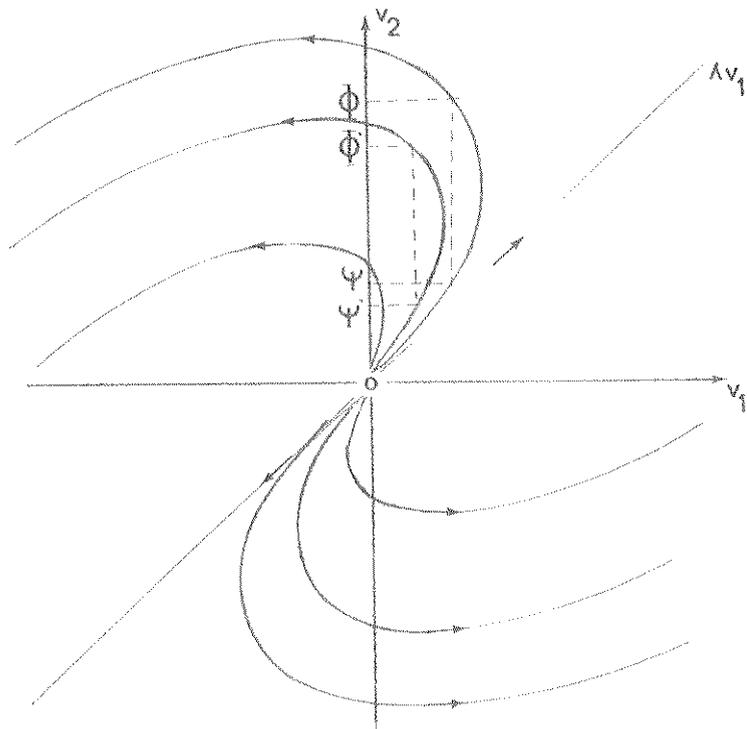


IIa

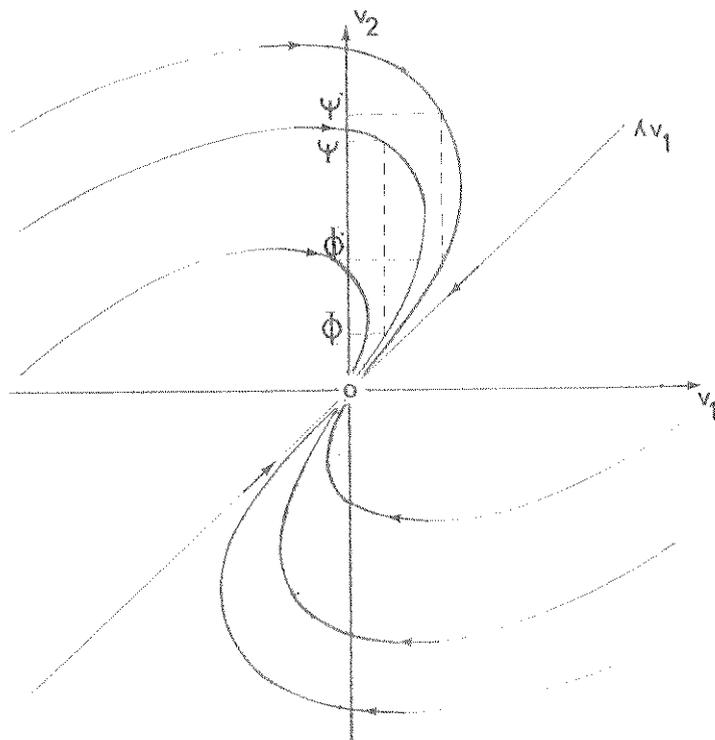


IIb

Fig. II: A origem \tilde{e} um ponto de sela e em (a) foi considerado $\lambda_2 < 0 < \lambda_1$ enquanto que em (b) $\lambda_1 < 0 < \lambda_2$.

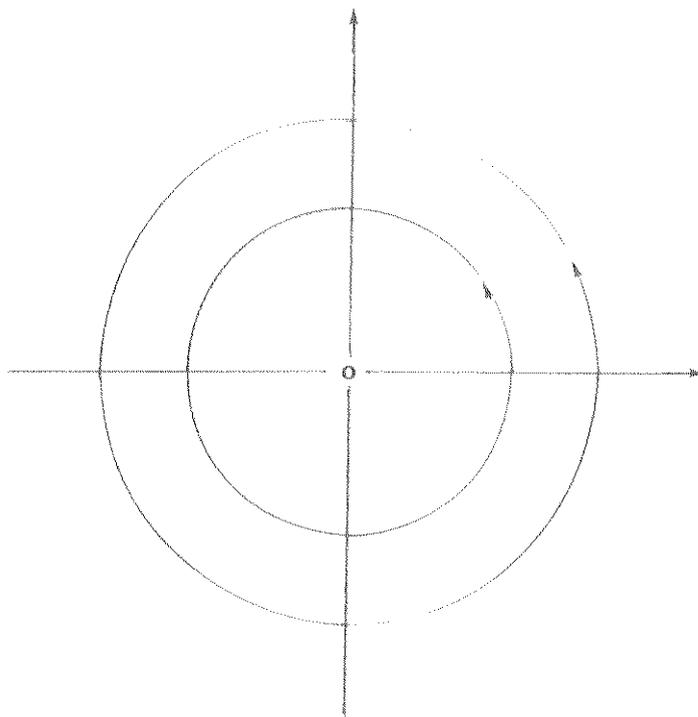


IIIa

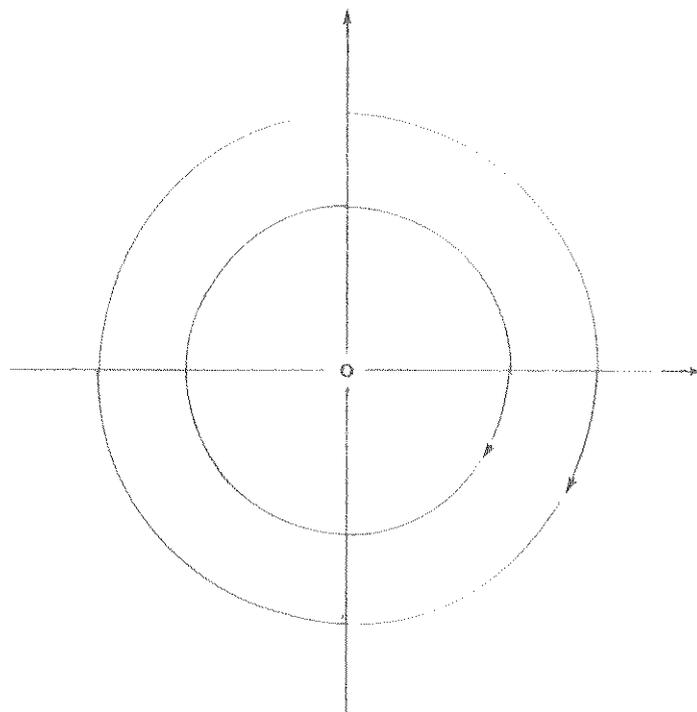


IIIb

Fig. III: A origem \bar{e} um n \circ a uma tangente e (a), pelo fato de $\lambda < 0$, \bar{e} um n \circ repulsivo enquanto que (b), pelo fato de $\lambda > 0$, \bar{e} um n \circ atrativo.

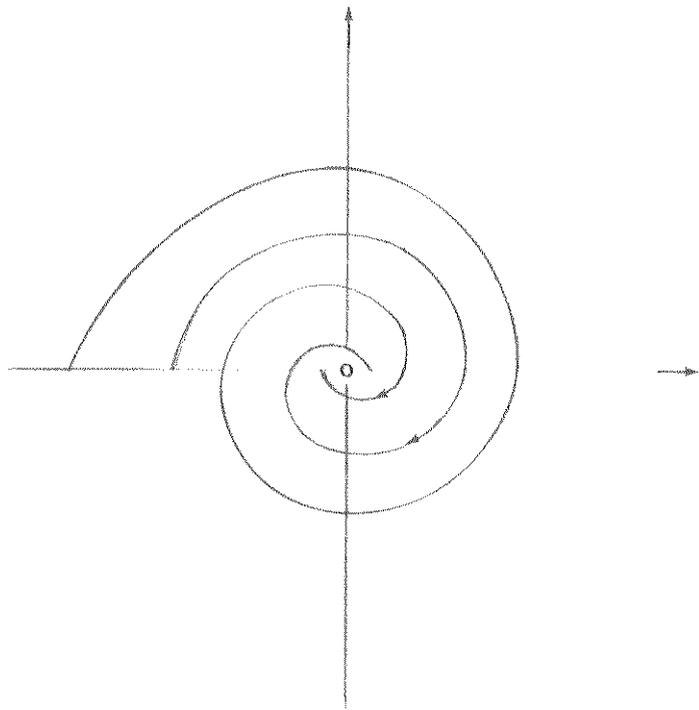


IVa

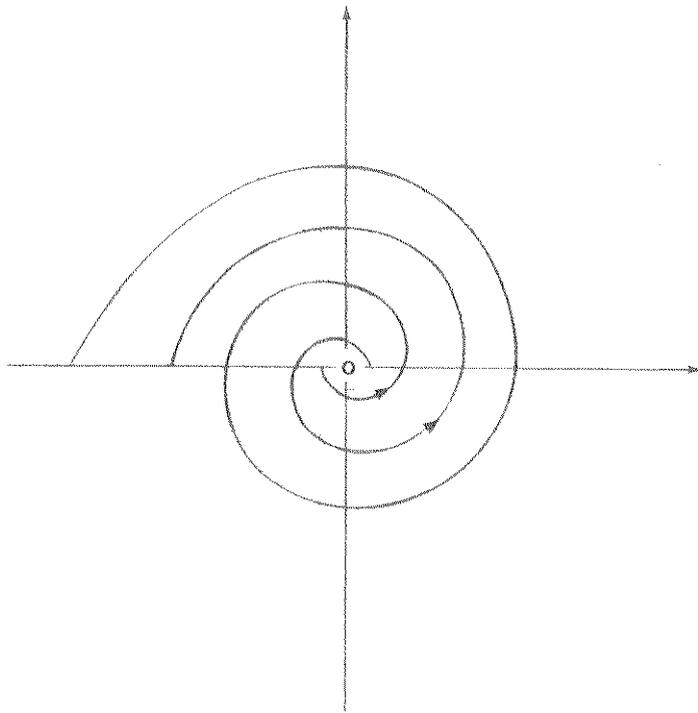


IVb

Fig. IV: A origem é denominada centro e em (a) $\lambda_1 = \bar{\lambda}_2 > 0$ enquanto que em (b) $\lambda_1 = \bar{\lambda}_2 < 0$.



Va



Vb

Fig. V: A origem \vec{e} um foco de modo que (a) representa um foco atrativo para $F < 0$ enquanto que (b) representa um foco repulsivo para $F > 0$.

Então, para $\{X, Y\} = \{K, Na\}$, onde K representa a classe de íons potássio e Na a classe de íons sódio, teremos o sistema (24) representado por:

$$\frac{d}{dt} \Delta_K^E = \sigma_{11} \Delta_K^E + \sigma_{12} \Delta_{Na}^E + T \quad (24b)$$

$$\frac{d}{dt} \Delta_{Na}^E = \sigma_{12} \Delta_K^E + \sigma_{22} \Delta_{Na}^E + T$$

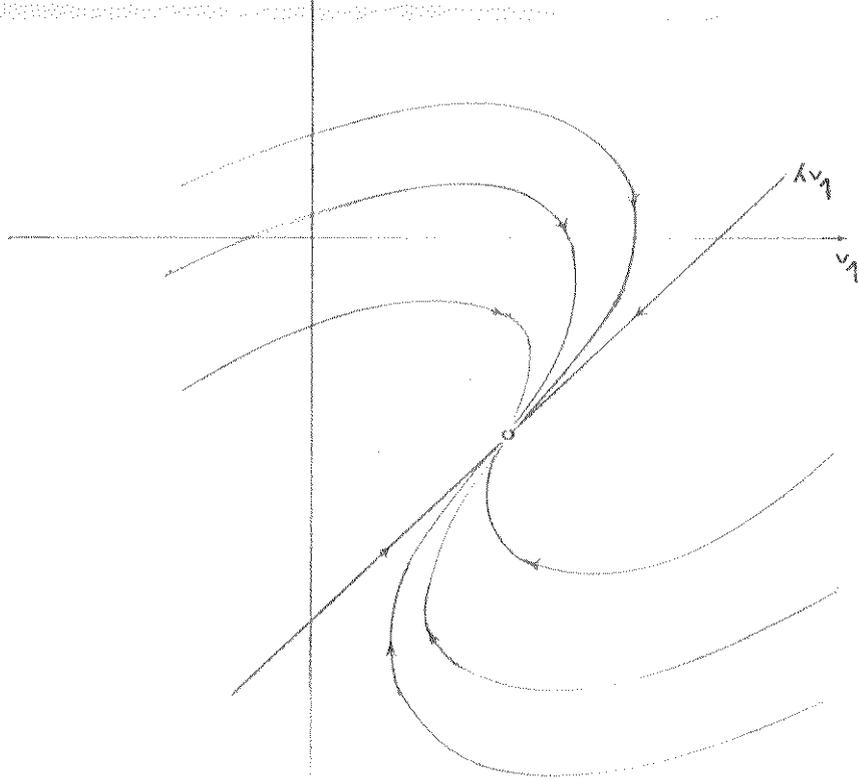
que é um sistema dinâmico, cuja solução obtém-se de forma semelhante à utilizada no sistema (24a), de modo que a única diferença entre estes sistemas (24a) e (24b) está nos planos de fase respectivos pois, o plano de fase de (24b), quando comparado ao de (24a), apresenta um deslocamento de eixos. Para exemplificar, tomemos o caso (3), anteriormente discutido, onde $d = 0$ e $\lambda_1 = \lambda_2 = \frac{F}{2}$ (nã a uma tangente) cujos planos de fase possíveis estão representados nas figuras IIIa e IIIb. Entretanto, ao considerarmos $H_0 = T$ o plano de fase de (24b) para este mesmo caso será dado pelas figuras VIa e VIb, cuja comparação com as figuras IIIa e IIIb evidenciam uma translação de eixos.

- c) $H_0 = H_V$, isto é, a energia externa fornecida ao sistema é variável no tempo. Então, para $\{X, Y\} = \{K, Na\}$ onde K representa a classe de íons potássio e Na a classe de íons sódio, teremos o sistema (24) representado por:

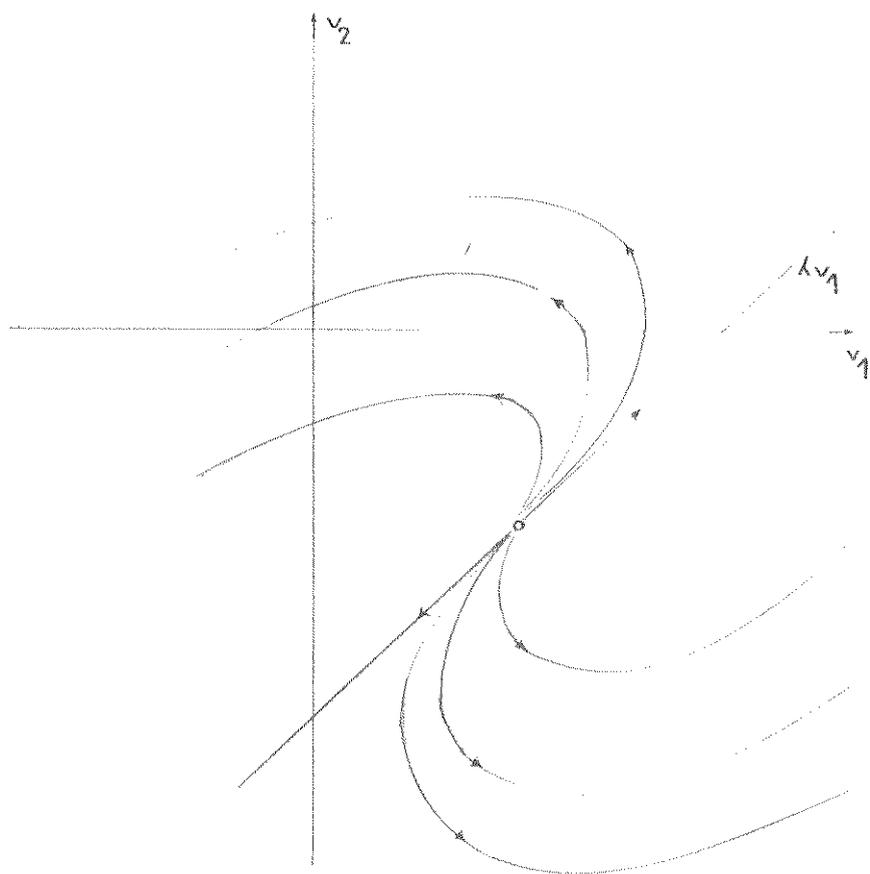
$$\frac{d}{dt} \Delta_K^E = \sigma_{11} \Delta_K^E + \sigma_{12} \Delta_{Na}^E + H_V \quad (24c)$$

$$\frac{d}{dt} \Delta_{Na}^E = \sigma_{12} \Delta_K^E + \sigma_{22} \Delta_{Na}^E + H_V$$

que é um sistema dinâmico cujo plano de fase será determinado considerando-se, além dos eixos para Δ_K^E e Δ_{Na}^E , um eixo para H_V . Se, para exemplificar, tomarmos o caso (3), isto é, assumirmos que $d = 0$ e $\lambda_1 = \lambda_2 = \frac{F}{2}$ com planos de fase representados pelas figuras



VIa



VIb

Fig. VI: Planos de fase obtidos no caso em que $\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda$ de modo que em (a) $\lambda < 0$ e em (b) $\lambda > 0$, considerando-se constante a energia externa fornecida ao sistema que, de acordo com sua intensidade, desloca o ponto crítico da origem.

IIIa e IIIb, e compararmos estes com os planos de fase do sistema (24c), observaremos neste último um acrêscimo do eixo para $H_V \cdot E$, cada valor de H_V será tomado constante, instantaneamente, obtendo-se para cada valor de energia um plano de fase estudado em (b) ao considerar-se $H_0 = T$. O sistema (24c) será caracterizado por uma família de curvas, sendo cada uma, determinada para cada H_V e o comportamento de tal sistema dinâmico será representado por um conjunto de vetores pertencentes a esta família que dependem, principalmente da evolução de H_V . Este conjunto de vetores define P exibida pelo sistema no novo plano de fase dado pela figura VII que se obtém ao tomarmos como exemplo o caso (2) ($D(A) < 0, \lambda_1 \cdot \lambda_2 < 0$) cujo plano de fase é representado pela figura II_a e para o qual passamos a considerar H_0 variável e não mais nulo.

Desta maneira, numa forma reduzida, podemos verificar a variação do subsistema $\{\Delta_I E\}_I \in \Lambda$ de (20a)' em relação ao potencial de equilíbrio do íon, além do potencial de membrana.

Para completar, o estudo do sistema (20a)' faltam alguns comentários sobre o subsistema $\{g_I\}_I \in \Lambda$ que é obtido pela variação da condutância iônica da membrana. Foi discutido, em parágrafos anteriores, a variação do referido subsistema como uma função da abertura e fechamento dos portões onde a condutância iônica é representada matematicamente pela fórmula:

$$g_I = \bar{g}_I \cdot u^a \cdot v^b$$

Caracterizamos a condutância iônica por funções nebulosas que davam o grau de abertura e fechamento dos portões (u e v). Entretanto, tanto esta abertura quanto este fechamento dependem do grau de proximidade entre o valor da condutância do íon (g_I) e o valor da con-

condutância para o limiar da membrana (g_L). Contudo, pelo fato da membrana ter reversão de potencial somente quando o valor da condutância iônica (g_I) atingir a condutância para o limiar da membrana (g_L), podemos expressar esta função de proximidade pela função característica $f(g_I, g_L)$, relativa a $\Delta_I E$ para $I \in \{K, Na\} \subset \Lambda$, tal que

$$f(g_I, g_L) = \begin{cases} 0 & \text{se } \Delta_{Na} E < \Psi \\ 1 & \text{se } \Delta_{Na} E > \Psi \end{cases}$$

para $\Psi = \xi (\Delta_K E)^0$, isto é, Ψ é uma função ξ de $(\Delta_K E)^0$ que é um valor obtido quando f é igual a zero.

Observa-se que $\Delta_{Na} E$ atinge um novo valor inicial Φ quando $f(g_I, g_L) = 0$, sendo Φ uma função ξ' de $(\Delta_K E)^0$, isto é, $\Phi = \xi' (\Delta_K E)^0$.

Em tais condições, $f(g_I, g_L)$ para $I \in \{K, Na\}$ descreve, numa forma reduzida, o comportamento tudo ou nada da célula e esta solução periódica para o sistema dinâmico é denominada ciclo limite da trajetória β .

Desta forma, no sistema transformado

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{f(g_I, g_L) \cdot \Delta_I E\}_{I \in \Lambda} \quad (20a)$$

as correntes iônicas serão determinadas pela variação do potencial eletroquímico e pela variação dos valores da função característica $f(g_I, g_L)$, que são também funções dos referidos potenciais.

Para exemplificar, tomemos um sistema dinâmico SM_I para o qual se verifica o caso (2) de (24a)⁽¹⁾, isto é, um sistema em que $D(A) < 0$ e $\lambda_1 \cdot \lambda_2 < 0$. Como dissemos anteriormente, neste caso A é diagonalizável e o sistema dinâmico equivalente $\dot{\vec{q}} = B \cdot \vec{q}$, pode ser escrito co

mo:

$$\begin{bmatrix} \dot{q}_1 \\ \dot{q}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q_1 \\ q_2 \end{bmatrix} \quad (25)$$

cuja solução é dada por $q_1 = C_1 \exp(\lambda_1 t)$ e $q_2 = C_2 \exp(\lambda_2 t)$, para C_1 e C_2 constantes. Então, se consideramos

$$\delta(g_I, g_L) = \begin{cases} 0 & \text{se } \Delta_{Na} E \leq \Psi \\ 1 & \text{se } \Delta_{Na} E > \Psi \end{cases}$$

para $\Psi = \xi(\Delta_K E)^0$,

de modo que

se $\Delta_{Na} E > \Psi$ então $\delta(g_I, g_L) = 1$

enquanto que

se $\Delta_{Na} E = \Psi$ então $\delta(g_I, g_L) = 0$

e, nesta última condição, teremos

$$\Delta_{Na} E = \Phi = \xi'(\Delta_K E)^0$$

isto é, quando a função característica δ assume o valor zero, $\Delta_{Na} E$ atinge um novo valor inicial, ficando caracterizada a solução periódica do sistema dinâmico denominada ciclo limite.

Consideramos um outro exemplo de sistema dinâmico SM_2 , para o qual se verifica o caso (3) de (24a)⁽¹⁾, isto é, um sistema em que $d = 0$ e $\lambda_1 = \lambda_2 = \frac{F}{2}$ (ver equações (24a)⁽¹⁾ -- (24a)⁽⁷⁾). Dissemos que neste caso A não é diagonalizável e um sistema dinâmico equivalen

te $\dot{\vec{q}} = B \cdot \vec{q}$ pode ser dado por

$$\begin{bmatrix} \dot{q}_1 \\ \dot{q}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda & \lambda \\ 0 & \lambda \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q_1 \\ q_2 \end{bmatrix} \quad (26)$$

que tem por solução $q_1 = C_1' \exp(\lambda t) + C_2' \cdot \lambda \cdot \exp(\lambda t)$ e $q_2 = C_2' \exp(\lambda t)$ para C_1' e C_2' constantes. Então, se considerarmos

$$\delta'(g_I, g_L) = \begin{cases} 0 & \text{se } \Delta_{Na} E \leq \Psi' \\ 1 & \text{se } \Delta_{Na} E > \Psi' \end{cases}$$

para $\Psi' = \xi^* (\Delta_K E)^0$

de modo que

se $\Delta_{Na} E > \Psi'$ então $\delta'(g_I, g_L) = 1$

enquanto que

se $\Delta_{Na} E = \Psi'$ então $\delta'(g_I, g_L) = 0$

e, nesta última condição, teremos

$$\Delta_{Na} E = \Phi' = \xi^{**} (\Delta_K E)^0$$

isto é, quando a função característica assume o valor zero, $\Delta_{Na} E$ atinge um novo valor inicial, ficando caracterizada a solução periódica do sistema dinâmico denominada ciclo limite.

Estes dois ciclos limites estão caracterizados nas figuras II e III para vários valores de Ψ , Ψ' , Φ e Φ' .

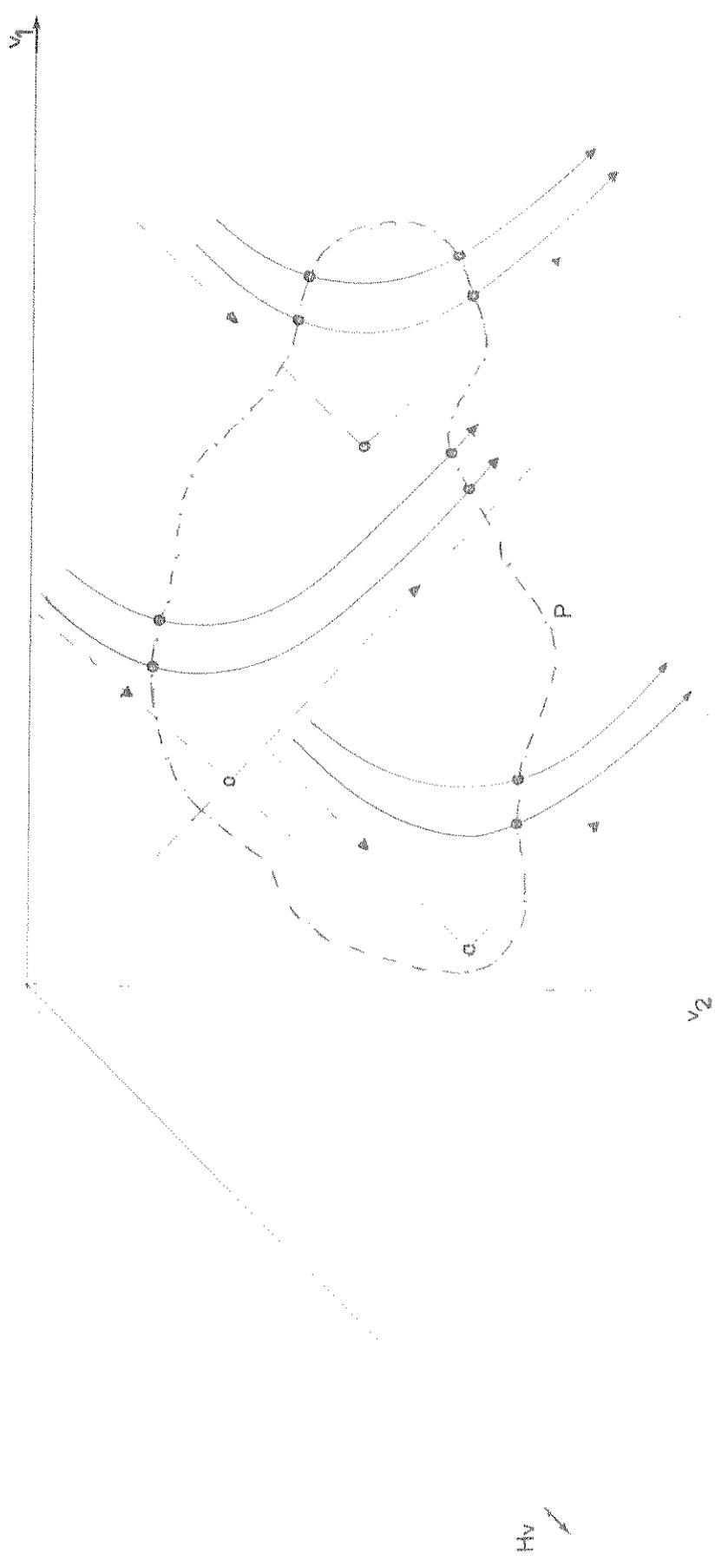
Em vista disto, podemos assumir que:

- i) influxos passivos no subsistema $\{\Delta_{Na}E\}$ e fluxos passivos no subsistema $\{\Delta_K E\}$ promovem redução do gradiente eletroquímico ΔE , enquanto que,
- ii) transportes ativos fazem o contrário e
- iii) os comportamentos de $\Delta_{Na}E$ e $\Delta_K E$, ilustrados pelos ciclos limites dados anteriormente, serão traduzidos por movimentos iônicos. Estes movimentos iônicos, expressos por variações em i_I , promoverão variações em E (potencial de membrana).

Nestas condições nós podemos observar que durante o restabelecimento do sistema, numa membrana M , o influxo de Na (como decorrência do restabelecimento de $\Delta_{Na}E$) é seguido de um efluxo de K (como decorrência da variação de $\Delta_K E$). Estes movimentos iônicos simularão então tanto a fase de despolarização (devido ao aumento do influxo de Na) bem como a fase de repolarização (devido ao aumento do efluxo de K), observadas durante a ocorrência do potencial de ação em células reais como neurônios, células do músculo, etc.

Em tal contexto, tanto SM_1 quanto SM_2 são simulações de sistemas iônicos reais, promovendo variações em E (potencial da membrana) da célula. Tanto SM_1 quanto SM_2 são sistemas automáticos porque, a menos que uma perturbação externa seja introduzida, um potencial de ação será simulado toda vez que $\Delta_{Na}E$ atingir o valor Ψ . Nestas condições, a frequência da geração do potencial de ação depende, principalmente,

- i) do tamanho do ciclo limite, dado por Ψ e Φ .
- ii) da constante de tempo para os sistemas diferenciais de $\Delta_{Na}E$ e $\Delta_K E$.



VII

Fig. VII: Plano de fase de um sistema em que $\lambda_1 \cdot \lambda_2 < 0$ e para o qual passamos a considerar variável a energia externa fornecida ao sistema, isto é, $H_0 = H_V$. P é um conjunto de vetores pertencentes a uma família de curvas, de tal modo que os mesmos dependem da evolução de H_V .

2.2.2. Estudo do Sistema Reduzido para os Transportes ativos.

Consideremos o sistema reduzido

$$\{i_I\}_{I \in \Lambda} = \{^0_{I(I)}\}_{I \in \Lambda} \quad (20b)$$

em que as correntes iônicas são resultantes de um transporte ativo de íons, graças ao fornecimento de energia ao sistema Λ . Portanto, podemos caracterizar as mesmas como correntes de bombeamento, isto é, podemos tomar

$$i_I = i_B I$$

para a classe de íons $I \in \Lambda$

Estudos realizados numa tentativa de se estabelecer os fatores que influenciam no funcionamento da bomba (TAHARA, KIMIZUKA & KOKETSU, 1973; WHITTAN & CHIPPERFIELD, 1975, 1976; GARRAHAM & GLYNN, 1967 a-e; BAKER et alii, 1969; SACHS, 1977; HILLE, 1976; USSING, 1949; HEINZ, 1967) nos permite definir uma corrente de bombeamento da classe de íons $I \in \Lambda$, como

$$i_B I = (I) \cdot a_I \cdot \bar{v}_I \quad (27)$$

onde

I representa a concentração dos íons $I \in \Lambda$

a_I é a afinidade dos íons pertencentes à classe de íons $I \in \Lambda$

e \bar{v}_I é a velocidade do transportador, que pode ser transformada num produto de v , velocidade máxima atingida por ele, por v_I que é uma função da energia do sistema e que assume valores no intervalo

fechado $(0,1)$, isto é,

$$\bar{v} = V \cdot v_I \quad (28)$$

Desta forma, a velocidade do transportador é limitada superiormente pelo valor V , o qual é atingido quando $v_I = 1$, isto é, quando a energia fornecida ao sistema é máxima, enquanto que seu limite inferior é alcançado quando nenhuma energia é fornecida ao sistema, isto é, quando $v_I = 0$.

Então, substituindo-se a equação (28) em (27), temos

$$i_{BI} = (I) \cdot V \cdot a_I \cdot v_I \quad (29)$$

que define a corrente de bombeamento do íon pertencente ao sistema iônico Λ , como dependente da concentração iônica, em relação ao meio do qual será transportado; da velocidade máxima do transportador; da afinidade do íon pelos sítios do transportador; e de uma função da energia que assume valores em $(0,1)$.

Se, como exemplo, consideramos o subconjunto $\{K,Na\}$ do sistema iônico Λ para a equação (29), que define a corrente de bombeamento, temos o sistema de equações

$$i_{BK} = (K)_o \cdot V \cdot a_K \cdot v_K \quad (30)$$

$$i_{BNa} = (Na)_i \cdot V \cdot a_{Na} \cdot v_{Na}$$

que descreve o bombeamento ativo dos íons sódio e potássio, onde:

V é a velocidade máxima atingida pelo transportador e, portanto, um valor constante para a classe de íons pertencentes a $\{K,Na\}$

$(K)_o$ e $(Na)_i$ são as concentrações externa do potássio e interna do sódio,

v_K e v_{Na} são funções da energia H, de tal forma que para USSING (1949) $v_K = v_{Na}$ pois $V_K = V_{Na}$, enquanto que para GARRAHAN & GLYNN (1967a) $v_K \neq v_{Na}$ pois $V_K \neq V_{Na}$

a_{Na} e a_K são as afinidades dos íons sódio e potássio pelos sítios dos transportadores e que foram definidas em (13), isto é, são funções do tipo

$$a_I = \bar{a}_I \cdot w^c \cdot r^d$$

de forma que w e r expressam o poder de acoplamento para o estado de energia máxima e mínima, respectivamente; c e d representam o número de íons acoplados ao transportador nos referidos estados; \bar{a}_I é o número de transportadores específicos para a classe de íons I.

Então, para o subsistema iônico considerado, as afinidades dos íons pelos sítios do transportador obedecem às equações

$$\begin{aligned} a_K &= \bar{a}_K \cdot r^2 \\ a_{Na} &= \bar{a}_{Na} \cdot w^3 \end{aligned} \quad (31)$$

significando que o potássio tem poder de acoplamento num estado de energia mínima (r), enquanto que o sódio tem poder de acoplamento num estado de energia máxima (w) e, de modo que, os expoentes 2 para o r e 3 para o w são assumidos como decorrência da hipótese de 2 sítios transportadores do potássio e 3 sítios transportadores do sódio por molécula, o que está de acordo com os dados experimentais de vários autores que comprovam a razão 3:2 no transporte de sódio e potássio, respectivamente (GARRAHAN & GLYNN, 1967d; CZÁKY, 1965; THOMAS, 1972).

Além disso, as variáveis r e w (funções de proximidade definidas em (12)) são obtidas a partir das equações diferenciais:

$$\begin{aligned}\dot{r} &= \alpha_r \cdot (1-r) - \beta_r \cdot r \\ \dot{w} &= \alpha_w \cdot (1-w) - \beta_w \cdot w\end{aligned}\tag{32}$$

onde os α 's e β 's são funções da energia fornecida ao sistema, tal que:

α_r e β_w representam as taxas de transferência dos meios intra para extracelular dos íons potássio e sódio, respectivamente;

α_w e β_r representam as taxas de transferência dos meios extra para intracelular dos íons sódio e potássio, respectivamente;

$(1-r)$ e $(1-w)$ representam o poder de acoplamento dos íons potássio do meio intracelular e sódio do meio extracelular, respectivamente, pelos sítios do transportador.

O tempo de relaxação, para cada uma das equações diferenciais, obedece à equação do tipo

$$\tau_y = \frac{1}{\alpha_y + \beta_y} \quad \text{para } y = r \text{ ou } w$$

e como cada variável (r ou w) caracteriza uma afinidade (a_K ou a_{Na} , respectivamente) então, podemos representar o tempo de relaxação como sendo da afinidade e, portanto,

$$\tau_{a_K} = \frac{1}{\alpha_r + \beta_r} \quad \text{e} \quad \tau_{a_{Na}} = \frac{1}{\alpha_w + \beta_w}\tag{33}$$

As variações v_I também são funções da energia H e podem ser obtidas de modo semelhante aos a_I 's, isto é, obedecem a uma equação do tipo

$$v_I = \bar{v}_I \cdot \omega^c \cdot \kappa^d \quad (34)$$

onde

\bar{v}_I é a velocidade do transportador no estado de equilíbrio;

ω e κ são variáveis que descrevem a velocidade relativa da molécula do transportador.

c e d são o número de sítios da molécula do transportador que devem ser ocupados para que haja a movimentação da molécula.

Então, para o subsistema iônico considerado, a velocidade do transportador para os respectivos íons tem por equações

$$\begin{aligned} v_K &= \bar{v}_K \cdot \kappa^2 \\ v_{Na} &= \bar{v}_{Na} \cdot \omega^3 \end{aligned} \quad (35)$$

tal que

os expoentes 2 e 3 para κ e ω , respectivamente, expressam uma proporcionalidade da velocidade em relação ao número de sítios da molécula do transportador para cada íon, e κ e ω são variáveis que podem ser obtidas pelas equações diferenciais

$$\begin{aligned} \dot{\kappa} &= \alpha_{\kappa} (1 - \kappa) - \beta_{\kappa} \cdot \kappa \\ \dot{\omega} &= \alpha_{\omega} (1 - \omega) - \beta_{\omega} \cdot \omega \end{aligned} \quad (36)$$

O tempo de relaxação para cada uma destas equações diferenciais, obedece à equação do tipo

$$\tau_y = \frac{1}{\alpha_y + \beta_y} \quad \text{para } y = \lambda \text{ ou } \omega$$

e como cada variável (λ ou ω) caracteriza uma velocidade (v_K ou v_{Na} , respectivamente), então podemos representar o tempo de relaxação como sendo da velocidade e, portanto,

$$\tau_v = \frac{1}{\alpha_\lambda + \beta_\lambda} \quad \text{e} \quad \tau_{v_{Na}} = \frac{1}{\alpha_\omega + \beta_\omega} \quad (37)$$

Podemos então, fazer um estudo do sistema (30) em relação aos tempos de relaxação de suas variáveis e, as seguintes hipóteses podem ser consideradas:

$$\begin{aligned} \text{H-1)} \quad \tau_{a_I} &= \tau_{v_I} & \text{a)} \quad v_{Na} &= v_K \\ \text{H-2)} \quad \tau_{a_I} &> \tau_{v_I} & \text{b)} \quad v_{Na} &\neq v_K & \text{b1)} \quad v_{Na} &> v_K \\ \text{H-3)} \quad \tau_{a_I} &< \tau_{v_I} & & & \text{b2)} \quad v_{Na} &< v_K \end{aligned} \quad (38)$$

onde todas as combinações entre os H's e as condições (a) e (b) podem ser feitas dando nove possibilidades.

Dado o número relativamente grande de combinações, faremos um estudo detalhado de uma delas pois, o estudo analítico das outras é semelhante a este. Tomemos a hipótese 3, isto é, consideremos $\tau_{a_I} < \tau_{v_I}$, para o caso em que $v_{Na} = v_K = v$ (combinação (H-3) - (a)). Neste caso o tempo de relaxação da afinidade do íon pelo sítio do transportador é menor que o tempo de relaxação da velocidade do transportador e, conseqüentemente, a afinidade do

Íon pelo transportador tem um papel predominante sobre a velocidade do transportador, quando se calcula a corrente de bombeamento do íon. Além disso, para simplificação de estudo, vamos assumir:

$$\tau_{a_I} \ll \tau_v$$

e, desta forma, podemos considerar v praticamente constante em relação a a_I de forma que a corrente de bombeamento do íon, pertence às classes de $\{K, Na\}$, pode ser expressa, numa forma simplificada, por

$$i_B^I = (I) \cdot \bar{v} \cdot a_I \quad (39)$$

tomando-se

(I) a concentração do íon no lado do qual será transportado,

\bar{v} a velocidade do transportador que passa a ser constante, e

a_I a afinidade do íon pelo sítio do transportador.

Então, para o subconjunto $\{K, Na\}$ de Λ as correntes de bombeamento, segundo a equação (39), serão dadas por

$$\begin{aligned} i_B^K &= (K)_O \cdot \bar{v} \cdot a_K \\ i_B^{Na} &= (Na)_i \cdot \bar{v} \cdot a_{Na} \end{aligned} \quad (40)$$

que a partir de agora será o sistema de bombeamento dos íons a ser estudado. Esse estudo se resume nas considerações feitas às afinidades que são as únicas variáveis do sistema pois, tanto as concentrações interna do sódio e externa do potássio bem como a velocidade do transportador são valores constantes.

Em (31), definimos as afinidades para as classes dos íons sódio e potássio por:

$$a_K = \bar{a}_K \cdot r^2$$

$$a_{Na} = \bar{a}_{Na} \cdot w^3$$

e vimos que r e w são funções de proximidade que são obtidas a partir do sistema de equações diferenciais dadas por (32), isto é,

$$r = \alpha_r \cdot (1-r) - \beta_r \cdot r$$

$$w = \alpha_w \cdot (1-w) - \beta_w \cdot w$$

onde os α 's e os β 's são funções da energia fornecida ao sistema. Mas no caso da bomba Na/K sabemos que para haver liberação de energia há necessidade da presença dos íons sódio interno e potássio externo (CZÁKY, 1965; CHIPPERFIELD & WHITTAM, 1975, 1976; GARRAHAN & GLYNN, 1967 a-e; ROTHSTEIN, 1968; BAKER et alii, 1968; USSING, 1949; HEINZ, 1967) e ainda pelas experiências de SACHS (1977) em eritrócitos, concluímos que há um comportamento cooperativo entre estes íons e que tanto o influxo do potássio quanto o efluxo de sódio podem ser caracterizados por uma relação de minimização (definida por (15-a). Ainda, como decorrência dos registros de TAJARA et alii (1973) em que a corrente exibe comportamento assintótico, podemos tomar

$$\alpha_w = C_1 Q \cdot (1 - \exp(-C_2 Q))^{-1} \quad (41)$$

$$\beta_w = C_3 \exp(-C_4 Q)$$

para a variável w que nos dá o poder de acoplamento no estado de energia máxima e,

$$\alpha_r = C_5 \cdot \exp(-C_6 Q) \quad (42)$$

$$\beta_r = C_7 \cdot (\exp(-C_8 Q) + 1)^{-1}$$

para a variável r que nos dá o poder de acoplamento no estado de energia mínima, tal que

1) C_j , para $j = 1, \dots, 8$, são constantes próprias da célula.

2) Q é um quociente definido por

$$Q = \frac{\mu_m(\text{Na}, I) \wedge \mu_m(\text{K}, \theta)}{\mu_m(\text{Na}, I) + \mu_m(\text{K}, \theta)} \quad (43)$$

onde

2-1) $\mu_m(\text{K}, \theta) = 1 - \mu_m(\text{K}, I)$, e

2-2) $\mu_m(I, I)$, para $I \in \{\text{K}, \text{Na}\}$, são funções de proximidade definidas em (8).

As constantes C_j , para $j = 1, \dots, 8$, devem obedecer as regras:

a) Se C_4 e C_6 tiverem a mesma ordem de grandeza então C_3 deve ser bem maior que C_5 para que a variável β_w seja mais rápida que α_r .

b) Se C_1 e C_7 tiverem a mesma ordem de grandeza então C_8 deve ser menor que C_2 para que β_r seja mais lenta que α_w .

Em resumo, as constantes C_j devem ser tais que tornem o tempo de relaxação da variável w menor que o tempo de relaxação da variável r , isto é, $\tau_w < \tau_r$ pois, desta forma, teremos uma predominância do w sobre o r , propiciando a eletrogenicidade da bomba em favor do íon sódio. (ISENBERG & TRAUTWEIN, 1975; GLITSCH, GRABOWSKI & THIELEN, 1978;

GLITISCH, PUSCH & VENETZ, 1976; AKAYKE, 1975; HENDRICKX & CASTEELS, 1974; NOMA & IRISAWA, 1975; TAHARA, KIMISUKA & KOKETSU, 1973).

Além disso, o comportamento das funções α 's e β 's depende do quociente Q da seguinte maneira:

a) Se $Q \rightarrow 0$, isto é, se

a-1) a membrana é praticamente impermeável ao sódio

$$(\mu m(\text{Na}, I) \rightarrow 0), \text{ ou}$$

a-2) a membrana é praticamente impermeável ao potássio

$$(\mu m(\text{K}, \theta) \rightarrow 0)$$

então

$$\alpha_w \rightarrow C_1/C_2 \quad \text{e} \quad \beta_w \rightarrow C_3$$

enquanto que

$$\alpha_r \rightarrow C_5 \quad \text{e} \quad \beta_r \rightarrow C_7/2$$

Nós nunca teremos a condição $Q = 0$ para um sistema biológico pois isto acarretaria $\mu m(\text{Na}, I) = 0$ ou $\mu m(\text{K}, \theta) = 0$ situações impossíveis para um sistema vivo. Entretanto, podemos ter uma alteração na permeabilidade da membrana aos íons provocada por agentes farmacológicos, por injeção de correntes ou algum outro tipo de alteração que promova a redução desta permeabilidade (ARMSTRONG, 1971; ISENBERG & TRAUTWEIN, 1975; RITCHIE & STRAUB, 1975; KOSTYUK et alii, 1972; HIRAOKA & HECHT, 1973; CHMOULIOVSKY & STRAUB, 1974; SACHS, 1974; TAHARA et alii, 1973).

Além disso, as funções de proximidade μm não são medidas instantâneas da concentração dos íons mas

sim, medidas do grau de proximidade do íon ao compartimento intracelular, embora alterações na concentração do íon neste meio promovam uma redução na função de proximidade.

b) Se $Q \rightarrow \frac{1}{2}$ (seu valor máximo), isto é, se

$$\mu_m(\text{Na}, I) = \mu_m(\text{K}, O)$$

então

$$\alpha_w \rightarrow C_9 > C_1/C_2 \quad \text{e} \quad \beta_w \rightarrow C_{10} < C_3$$

enquanto que

$$\alpha_r \rightarrow C_{11} < C_5 \quad \text{e} \quad \beta_r \rightarrow C_{12} > C_7/2$$

Esta condição é atingida quando as duas funções de proximidade tendem igualmente ou para valores baixos (membrana quase impermeável aos íons) ou para valores altos (membrana quase totalmente permeável aos íons), ou ainda, quando $\mu_m(\text{Na}, I) \cong \mu_m(\text{K}, O) \cong 0,5$ (fase de despolarização da membrana).

Uma das vantagens em tomarmos o quociente Q está no fato de que ele nos possibilita explicar, como decorrência natural do modelo, certos conceitos, como a difusão por troca (Na:Na). Alguns autores (GLITSCII et alii, 1978; THOMAS, 1972; KOKETSU, 1971) constataram que a redução da concentração de potássio no meio extracelular acarreta um aumento da resistência da membrana. Então, se fizermos a concentração do potássio externo igual a zero, com o aumento da resistência da membrana teremos $\mu_m(\text{K}, O) \rightarrow 0$. Como consequência,

$$Q \rightarrow \frac{\mu_m(\text{K}, O) \rightarrow 0}{\mu_m(\text{Na}, I)}$$

e, portanto, o quociente Q depende predominantemente de

$\mu(\text{Na}, I)$ e tende a zero, determinando um consumo energético que tende a ser nulo. Pelo fato da concentração externa do potássio $(K)_o$ ser nula, a resistência da membrana, em relação a este íon, aumenta, acarretando uma invariância em $(K)_o$ e, a sua corrente de bombeamento, por ser proporcional a essa concentração, é também nula. Consequentemente, haverá transporte somente do íon sódio com um consumo energético praticamente nulo. Esta, é uma situação caracterizada na literatura (CZÁKY, 1965; USSING, 1949; GARRAHAN & GLYNN, 1967 a-c) como difusão por troca ou troca Na:Na.

Pelo que se pode observar em (a) e (b), podemos dizer que as variáveis α_r e β_w decrescem enquanto que as variáveis α_w e β_r crescem à medida que o quociente Q aumenta. Ainda, pelas exigências feitas às constantes C_j , podemos garantir que α_w cresce mais rapidamente que β_r enquanto que β_w decresce mais rapidamente que α_r .

Neste contexto, sendo os íons sódio interno e potássio externo os responsáveis pela liberação de energia e, conseqüentemente, do transporte dos mesmos, temos que as variáveis α 's e β 's descritas anteriormente, são funções indiretas da energia liberada pelo processo e, conseqüentemente, o sistema de equações diferenciais definido pelo sistema (32) é um sistema dinâmico tal que

$$\begin{aligned} \dot{r} &= h_1(r, \Pi) \\ \dot{w} &= h_2(w, \Pi) \end{aligned} \tag{44}$$

cuja solução (ver apêndice I), para uma dada energia constante, é

$$r = \frac{\alpha_r}{\alpha_r + \beta_r} + D_1 \cdot \exp(-(\alpha_r + \beta_r)t)$$

e

(45)

$$w = \frac{\alpha_w}{\alpha_w + \beta_w} + D_2 \cdot \exp(-(\alpha_w + \beta_w)t)$$

onde

D_1 e D_2 são constantes.

t é o tempo.

O plano de fase de (44) é representado pela figura VIII, cujo único ponto crítico (nó a duas tangentes atrativo) tem coordenadas

$$r_0 = \frac{\alpha_r}{r + r} = \alpha_r \cdot \tau_r$$

$$w_0 = \frac{\alpha_w}{w + w} = \alpha_w \cdot \tau_w$$

(46)

para τ_r e τ_w os respectivos tempos de relaxação das variáveis r e w . Pelo fato dos α 's e β 's serem funções do quociente Q e, conseqüentemente, da energia, o ponto crítico irá variar com a variação deste quociente de tal forma que, com o aumento de Q , r_0 diminui e w_0 aumenta, de modo que se plotarmos um gráfico $r \times w$, segundo a variação deste quociente, obteremos a curva de pontos críticos dada pela figura IX, onde se considerou dois grupos diferentes de constantes de forma a se conseguir tempos de relaxação pequenos (curva (1)) e grandes (curva (2)) (ver tabela 1), podendo-se observar que o tipo de curva que se obtém é o mesmo, variando somente a inclinação da mesma. Cada um dos pontos que compõem uma destas curvas é um nó atrativo do tipo mostrado na figura VIII (de coordena

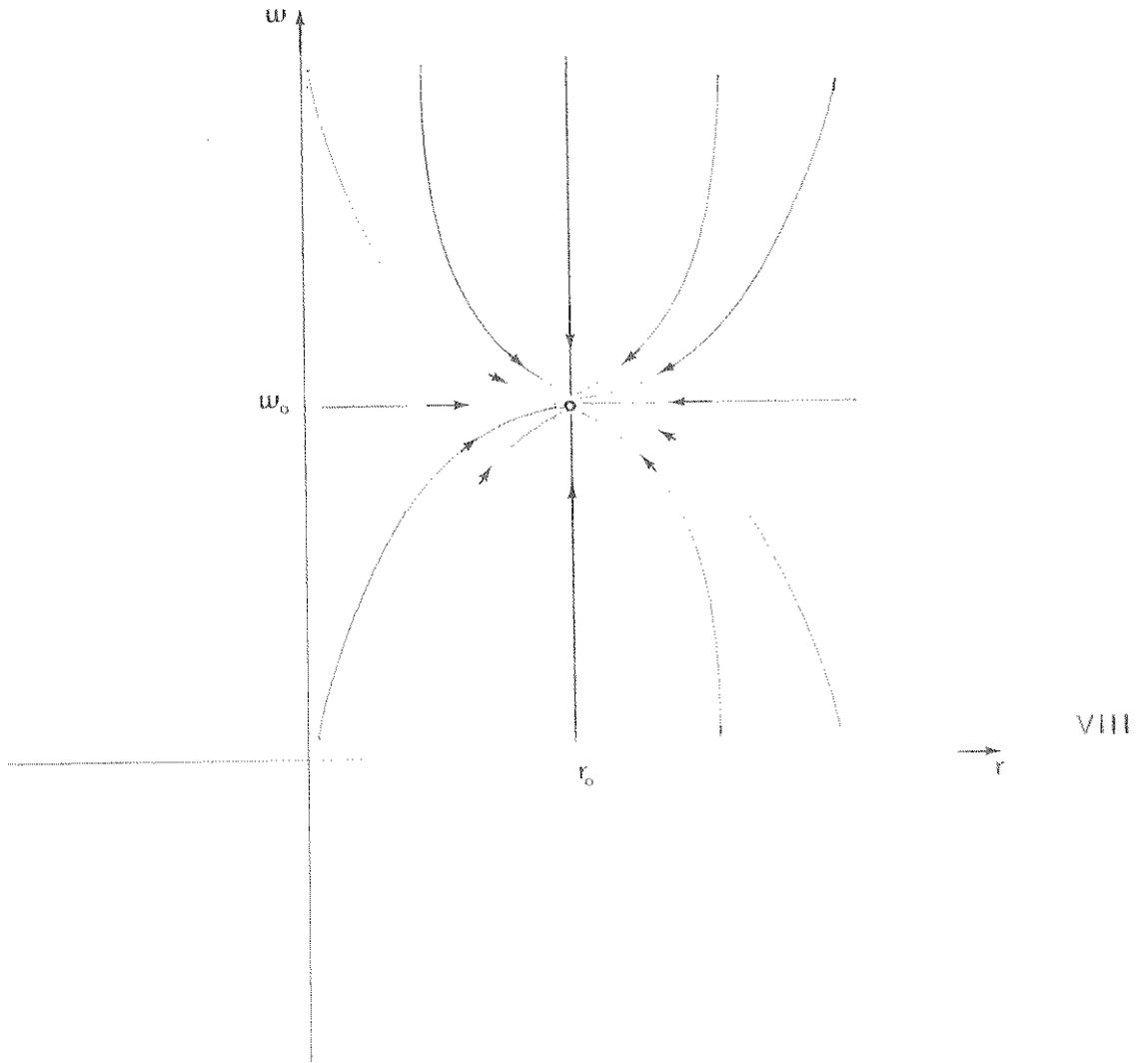


Fig. VIII: Plano de fase do sistema (40) de modo que o ponto crítico tem coordenadas r_0 e w_0 .

	FUNÇÃO		G_1	G_2
$\alpha_w =$	$\frac{C_1 Q}{1 - \exp(-C_2 Q)}$	C_1	5	1
		C_2	5	5
$\beta_w =$	$C_3 \exp(-C_4 Q)$	C_3	5	0,5
		C_4	4	3
$\alpha_r =$	$C_5 \exp(-C_6 Q)$	C_5	0,4	0,07
		C_6	3	4
$\beta_r =$	$\frac{C_7}{\exp(-C_8 Q) + 1}$	C_7	5	1
		C_8	1	0,2

TABELA 1 Formulas para o calculo das variáveis α 's e β 's com os respectivos valores das constantes C_j para $j = 1, \dots, 8$ de G_1 (valores que proporcionam um tempo de relaxação pequeno) e de G_2 (valores que proporcionam um tempo de relaxação grande).

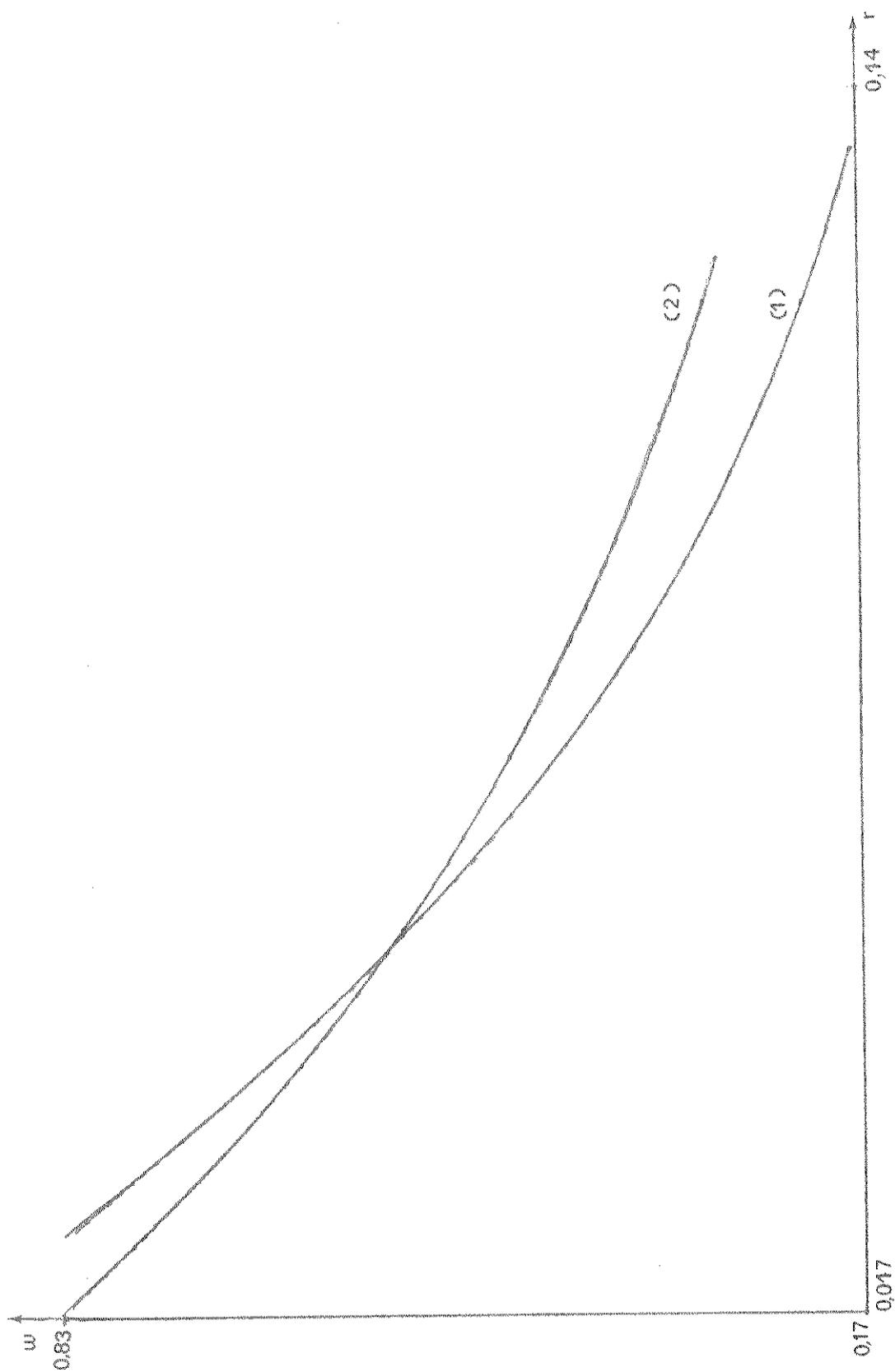


Fig. IX: As curvas (1) e (2) foram obtidas utilizando-se as constantes dos grupos G_1 e G_2 , respectivamente, (ver tabela I), demonstrando a variação do ponto crítico do sistema, de acordo com a variação do quociente Q .

nadas (r_0, w_0) de forma que este varia de posição com a variação do quociente Q . Nas figuras Xa e Xb estão plotados os tempos de relaxação para w e r quando se consideram as constantes de G_1 ou G_2 (tabela 1), enquanto que as figuras XIa e XIb mostram as figuras obtidas para w_0 e r_0 para os dois grupos de constantes G_1 e G_2 , demonstrando novamente que o aspecto do gráfico é o mesmo sendo que a modificação ocorre na gama de variação.

Fica desta forma caracterizado o modelo em que se considerou $\tau_{a_i} \ll \tau_v$ e $v_{Na} = v_k = v$.

Se entretanto, considerarmos a combinação (H-2)-(b-1), isto é, $v_{a_I} > \tau_{v_I}$ para $v_{Na} > v_k$, então a corrente de bombeamento do íon pertence às classes de {K,Na} será dada pela expressão (29), ou melhor,

$$i_{B^I} = (I) \cdot v_{a_I} \cdot v_I$$

onde tanto a_I quanto v_I têm papéis significativos no bombeamento, embora a velocidade do transportador tenha um papel predominante sobre a afinidade.

Como v_I é uma variável que assume valores em (0,1), de forma semelhante à afinidade, ela pode ser obtida por

$$\dot{\kappa} = h_3(\kappa, H) \tag{47}$$

$$\dot{w} = h_4(w, H)$$

sendo κ e w variáveis que descrevem a velocidade relativa da molécula do transportador tal que

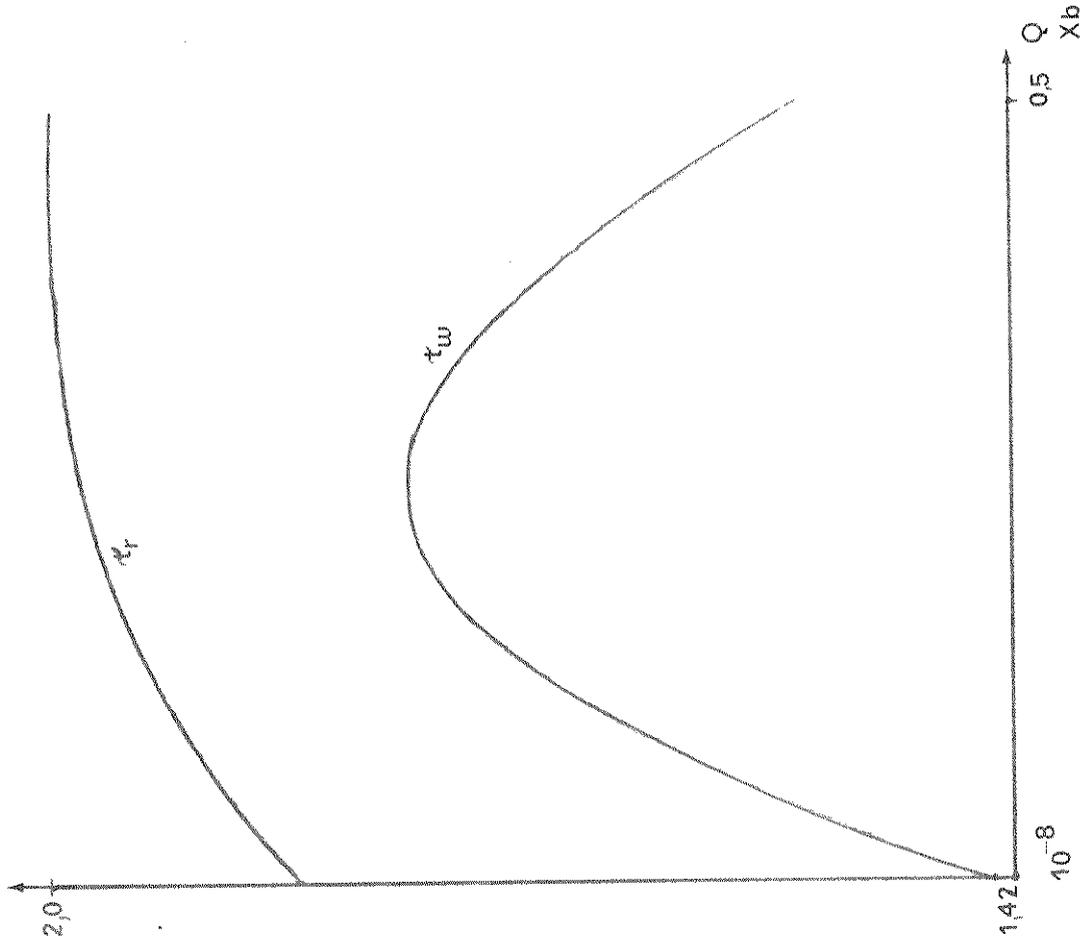
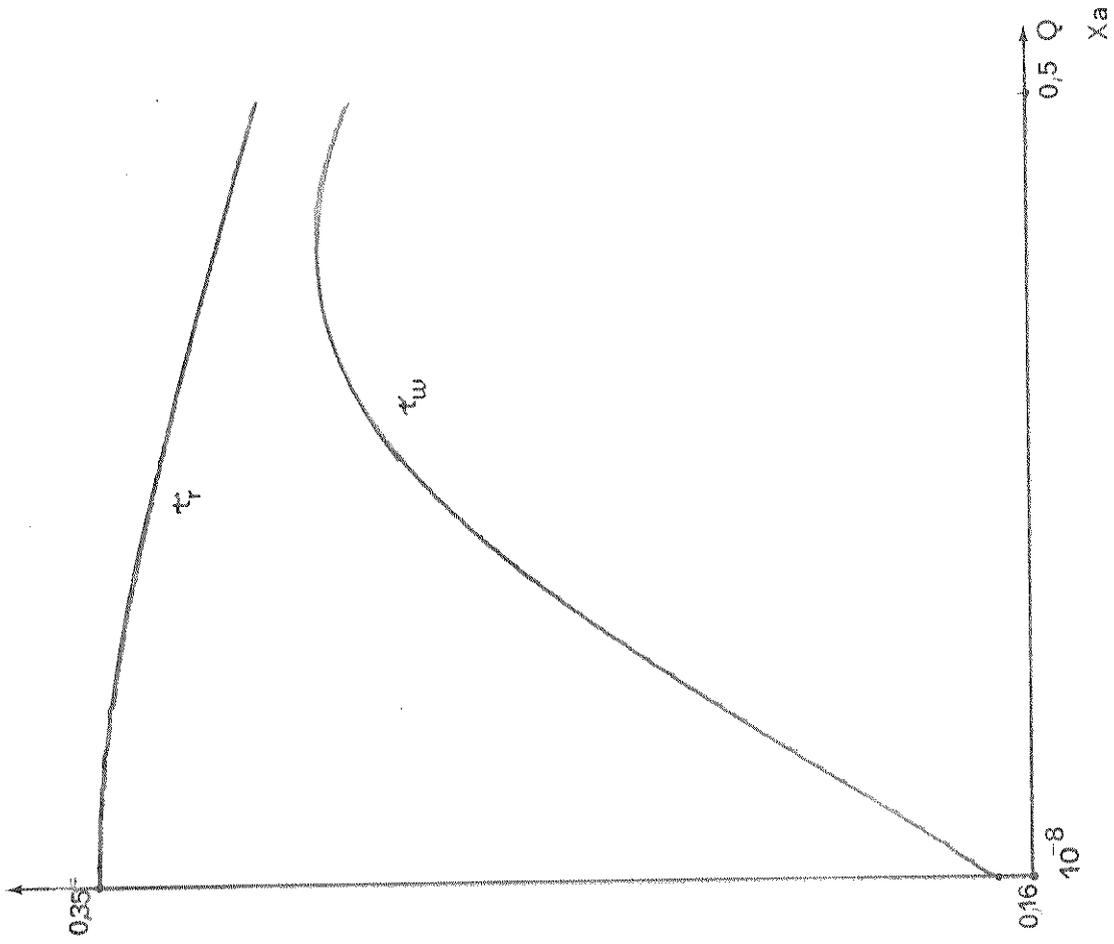


Fig. X: Em (a) e (b) observam-se os registros de tempos de relaxação para as variáveis r e w tomando-se para os α 's e β 's as constantes em G_1 e G_2 , respectivamente.

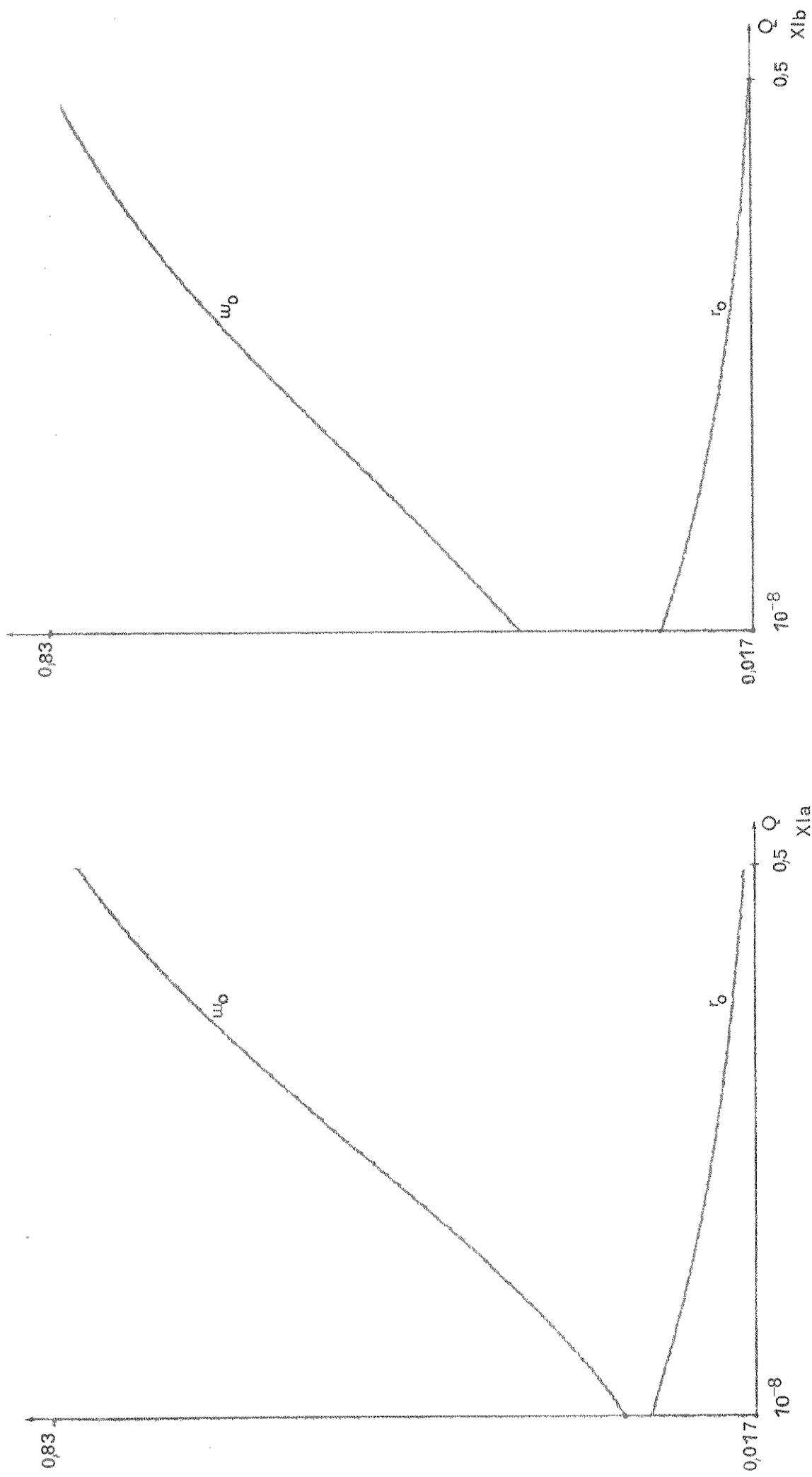


Fig. XI: Registro de w_0 e r_0 que são os poderes de acoplamento nos estados de energia máxima e mínima respectivamente, na fase de equilíbrio do sistema, tendo sido usadas as constantes $G_1(X1a)$ e $G_2(X1b)$ da tabela 1.

$$\begin{aligned} v_K &= g_1(\kappa) \\ v_{Na} &= g_2(w) \end{aligned} \quad (48)$$

$$e \quad \tau_{v_K} > \tau_{v_{Na}}$$

Desta forma, as equações dadas por (44) e (46), isto é,

$$\begin{aligned} \dot{r} &= h_1(r, H) \\ \dot{w} &= h_2(w, H) \\ \dot{\kappa} &= h_3(\kappa, H) \\ \dot{\omega} &= h_4(\omega, H) \end{aligned} \quad (49)$$

constituem, para uma determinada energia constante, um sistema dinâmico autônomo de quarta ordem que descreve o bombeamento dos íons sódio e potássio sofrendo influências tanto da afinidade iônica quanto da velocidade do transportador.

Para facilidade de estudo, podemos reduzir este sistema de quarta ordem utilizando a técnica dos parâmetros mínimos (ANDRONOV, VITT & KHAIKIN, 1966; FITZHUGH, 1969; PLANT, 1976). Como assumimos anteriormente que $\zeta_{v_I} > \tau_{a_I}$ então, as variáveis κ e w serão consideradas as variáveis rápidas do sistema enquanto que r e ω as variáveis lentas. Desta forma, o sistema em (49) pode se reescrito como:

$$\begin{aligned} \mu * \dot{r} &= h_1(r, H) \\ \mu * \dot{w} &= h_2(w, H) \\ \dot{\kappa} &= h_3(\kappa, H) \\ \dot{\omega} &= h_4(\omega, H) \end{aligned} \quad (50)$$

onde μ^* é, um parâmetro mínimo positivo que se reduz a zero para um determinado valor de energia. Portanto, ao tomar-se $\mu^* = 0$, teremos o sistema simplificado

$$\begin{aligned}h_1(r, H) &= 0 \\h_2(r, H) &= 0 \\ \dot{\kappa} &= h_3(\kappa, H) \\ \dot{w} &= h_4(w, H)\end{aligned}\tag{51}$$

e cujo estudo se restringe ao sistema dinâmico de segunda ordem

$$\begin{aligned}\dot{\kappa} &= h_3(\kappa, H) \\ \dot{w} &= h_4(w, H)\end{aligned}\tag{51a}$$

que terá um espaço fase, que é uma parte do espaço fase completo de (49), no qual se verificam as condições

$$\begin{aligned}h_1(r, H) &= 0 \\ h_2(w, H) &= 0\end{aligned}\tag{51b}$$

Esta, é a região dos movimentos lentos, e que, no caso considerado, corresponderá a uma região em que as afinidades iônicas são constantes no tempo (teremos para r e w os valores do estado de equilíbrio) e, portanto, o bombeamento iônico passa a ser, predominantemente, dependente da velocidade da molécula do transportador.

Haverá, contudo, fugas desta região lenta e que será chamada de região de movimentos rápidos gover-

nada pelas variáveis r e w que mudam rapidamente, enquanto que as variáveis r e w permanecem constantes. Após esta fuga, o sistema retorna à região de movimentos lentos e nela permanece por um certo período até que nova fuga ocorra e assim por diante. A região de movimentos rápidos é caracterizada pelo conjunto de equações:

$$\begin{aligned} \dot{r} &= \dot{r}_0 = \text{constante} \\ \dot{w} &= \dot{w}_0 = \text{constante} \\ \ddot{r} &= \frac{1}{\mu^*} \cdot h_1(r, \Pi) \\ \ddot{w} &= \frac{1}{\mu^*} \cdot h_2(w, \Pi) \end{aligned} \tag{52}$$

que no caso considerado corresponderia a uma região em que a velocidade da(s) molécula(s) do transportador(es) da classe dos íons pertencentes a $\{K, Na\}$ permanece constante, enquanto que as afinidades das referidas classes de íons, pelos sítios da(s) molécula(s) do transportador(es), sofrem alterações bruscas.

Esta região de movimentos rápidos corresponde a uma região de pontos instáveis e que separa a região de movimentos lentos em dois subespaços de pontos mais estáveis (ANDRONOV, VITT & KHAIKIN, 1966; FITZHUGH, 1969; PLANT, 1976). Estes dois subespaços, neste caso considerado, se estabelecem em torno de E_K e E_{Na} (potenciais de equilíbrio do potássio e sódio, respectivamente) pois, à medida que o sistema tende a E_K ,

$$Q \rightarrow \frac{\mu m(Na, I)}{\mu m(K, 0)}$$

enquanto que se o sistema tende a E_{Na} ,

$$Q \rightarrow \frac{\mu m(K, 0)}{\mu m(Na, I)}$$

e em ambos os casos $Q \rightarrow 0$ pois, quando o sistema tende ao potencial de equilíbrio de um íon significa que o mesmo está dominado por este íon.

Nesta situação, temos que as variáveis que formam a região de movimentos rápidos deslocam bruscamente o sistema de uma para outra destas regiões de movimentos lentos. Estas duas regiões são constituídas de pontos estáveis nas quais o sistema é governado pela velocidade da molécula do transportador e, num dado momento a afinidade muda bruscamente para outro valor por mudar de uma região estável para outra.

Se o sistema, ao passar de uma região estável (que chamaremos SM_1) para outra (que chamaremos SM_2), é levado para um novo ponto de equilíbrio, então ele permanece em SM_2 e não retorna mais a SM_1 . Entretanto se o ponto de SM_2 é de quase-equilíbrio (ANDRONOV, VITT & KHAIKIN, 1966; FITZHUGH, 1969; PLANT, 1976) o sistema volta para SM_1 , caracterizando um sistema oscilante. Um exemplo biológico do sistema oscilante poderia ser dado por aquele proposto por CHEN e colaboradores (1973) que envolve:



isto é, a glicólise leva a um aumento da concentração de ATP e cujo aumento provoca uma diminuição da glicólise. Por outro lado, o aumento da concentração do ATP promove um bombeamento dos íons sódio e potássio o qual, por sua vez, reduz a concentração do ATP o que, conseqüentemente, levará a um aumento da glicólise.

Portanto, estamos descrevendo a corrente de bombeamento iônico como um oscilador descontínuo, cujos gráficos das afinidades e velocidades, quando estudados separadamente, podem, pelo fato de estarmos considerando

$\tau_{a_I} > \tau_{v_I}$, serem identificados pela figuras IX, X e XI nas quais, o número (1) corresponde à variável v_I enquanto que o número (2) corresponde à variável a_I .

Fizemos até agora a discussão dos sistemas reduzidos (20a) e (20b), isto é consideramos, separadamente, as correntes devidas ou à variação das condutâncias iônicas ou ao bombeamento. Contudo, numa célula biológica, os dois tipos de correntes estão presentes e o fluxo iônico total deve ser considerado como o resultado de uma soma (ou diferença) entre os dois tipos de corrente (daí termos considerado o sistema de corrente iônica como a união dos dois subsistemas, referentes às condutâncias iônicas e ao bombeamento).

2.3. Variação das Concentrações Iônicas Provocada pelo Fluxo Iônico Total

Então, se analisarmos a variação temporal das concentrações interna do sódio e externa do potássio, veremos que as correntes iônicas resultantes do movimento passivo dos íons contribuem para o aumento das mesmas, enquanto que o movimento ativo as diminui e portanto, podemos afirmar que

$$\begin{aligned} \dot{(Na)}_I &= i_{Na} - i_B^{Na} \\ \dot{(K)}_O &= i_K - i_B^K \end{aligned} \tag{53}$$

tal que

$$\begin{aligned} i_{Na} &= \bar{g}_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot (E - E_{Na}) \\ i_B^{Na} &= (Na)_i \cdot V \cdot a_{Na} \cdot v_{Na} \end{aligned}$$

$$i_K = \bar{g}_K \cdot n^4 \cdot (E - E_K) \quad (54)$$

$$i_{B^K} = (K)_O \cdot V \cdot a_K \cdot v_K$$

o que nos leva a concluir que o sistema que descreve o comportamento da excitação celular, sendo considerados os fluxos passivos bem como ativos dos íons, é bastante complexo pois, nele estão envolvidos dez variáveis e, podemos reescrever o sistema (53) como:

$$(Na)_i = \zeta_1((Na)_i, m, h, w, \omega, H) \quad (55)$$

$$(K)_O = \zeta_2((K)_O, n, r, \kappa, H)$$

onde

$$\dot{m} = \zeta_3(m(t))$$

$$\dot{h} = \zeta_4(h(t))$$

$$\dot{n} = \zeta_5(n(t))$$

$$\dot{w} = \zeta_6(w(t), H)$$

$$\dot{\omega} = \zeta_7(\omega(t), H)$$

$$\dot{r} = \zeta_8(r(t), H)$$

$$\dot{\kappa} = \zeta_9(\kappa(t), H)$$

$$\dot{H} = \zeta_{10}(m, h, n, w, \omega, r, \kappa, H)$$

que se torna um sistema dinâmico de solução extremamente complicada porém, mais próximo do real.

Desta maneira, o sistema em (55) fornece a estrutura teórica para futuros experimentos possibilitando uma análise quantitativa do modelo.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O transporte de íons através da membrana é um vasto campo de estudos e a aproximação clássica da análise deste fenômeno toma a taxa de transporte como a soma algébrica de três processos distintos: difusão passiva, difusão por troca e transporte ativo. Esta separação decorre dos seguintes fatos:

- 1) sensibilidade dos fluxos iônicos a inibidores metabólicos, excluindo a possibilidade de se considerar somente a existência de fluxos passivos;
- 2) existência de fluxos iônicos insensíveis a inibidores metabólicos, sugerindo que uma troca por difusão (troca eletricamente neutra de íons da mesma espécie) poderia ser a responsável.

Entretanto, certos pesquisadores (KEYNES & SWAN, 1959; SJODIN, 1971) concluíram que a difusão por troca obedece à mesma espécie de relações cinéticas observadas na hipótese íon-transportador dos transportes ativos, havendo, em certas ocasiões, uma considerável sobreposição entre os processos de troca por difusão e transporte ativo. Além disso, apontaram a necessidade de se determinar um modelo matemático que consiga descrever o comportamento das membranas excitáveis como um todo e não a descrição de partes isoladas deste comportamento, isto é da difusão passiva ou do transporte ativo. Por isso tomamos como um dos objetivos o desenvolvimento de um modelo geral capaz de simular ambos comportamentos.

Aceitando a idéia de que a difusão por troca nada mais é do que um caso particular dos transportes ativos, quando o consumo de energia metabólica é nulo (SJODIN, 1971), admitimos que o quociente Q que expressa a quantidade energética envolvida no processo, é dependente de um mínimo entre relações de pertinência, de tal modo

que, por exemplo, se a concentração externa de K é reduzida então

$$\mu_m(K, O) \rightarrow 0$$

pois, a redução de K reduz a permeabilidade da membrana a este íon e, conseqüentemente,

$$Q \rightarrow \frac{\mu_m(K, O)}{\mu_m(Na, I)}$$

caracterizando um consumo energético mínimo a ser suprido, num transporte do tipo difusão por troca ou troca Na : Na, pelo gradiente eletroquímico do íon envolvido (CZÁKY, 1965; USSING, 1949; GARRAHAN & GLYNN, 1967 a-c).

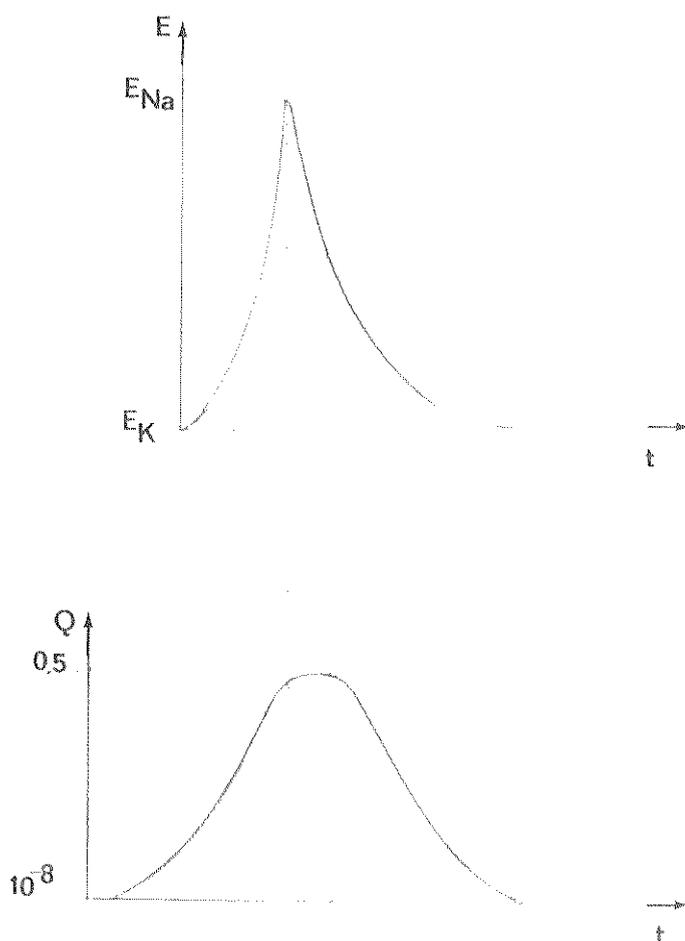
Além disso, a variação do quociente Q também se adapta às exigências de um transporte ativo tanto na manutenção do potencial de membrana quanto na recuperação das concentrações iônicas após a ocorrência de potenciais de ação. Assim:

- 1) No repouso, $\mu_m(Na, I)$ e $\mu_m(K, O)$ são baixos e, conseqüentemente, $(Na)_i$ e $(K)_o$ também o serão. Pelo fato de $\mu_m(K, O) \gg \mu_m(Na, I)$, o quociente Q nestas condições, tende a zero, implicando portanto, num baixo consumo energético para a manutenção das concentrações de sódio interno e potássio externo, através do processo de transporte ativo. Mais ainda, o processo fica governado, principalmente, pelo sódio interno, porém, sensível também à concentração externa de potássio (SACHS, 1977; HENDRICKS & CASTEELS, 1974; GLITSCH et alii, 1976).
- 2) Na despolarização os μ_m 's aumentam mas $\mu_m(Na, I)$ é ainda menor que $\mu_m(K, O)$, implicando num processo onde predomina a ação do íon sódio. O quociente Q, nestas condições, tende a $\frac{1}{2}$ (seu valor máximo), caracterizando

uma fase de disponibilidade energética máxima.

- 3) Na repolarização o $\mu_m(K,0)$ continua a aumentar enquanto que $\mu_m(Na,I)$ começa a diminuir. Há predominância, portanto, do íon potássio e o quociente Q , enquanto $\mu_m(K,0)$ aumenta, permanece em seu valor máximo e começa a declinar quando $\mu_m(K,0)$ também começa a cair.
- 4) Após a fase de repolarização o quociente Q volta ao seu valor mínimo pois, com o bombeamento as funções de proximidade $\mu_m(Na,I)$ e $\mu_m(K,0)$ diminuem para os seus valores iniciais.

Esta discussão pode ser sumarizada no seguinte gráfico ilustrativo:



Nos trabalhos (CZÁKY, 1965; USSING, 1949 ; GARRAHAM & GLYNN, 1967 b-c; WHITTAM & CHIPPERFIELD, 1975), onde são citados e estudados os transportes ativos (para vários tipos de células, incluindo células eletricamente excitáveis), torna-se evidente que os íons sódio, antes de saírem da célula, e os íons potássio, antes de entrarem na mesma, devem combinar-se com a molécula do transportador , localizada na membrana celular. Além disso, esses movimentos iônicos são processos ativos, requerendo a presença de uma certa quantidade de energia que é liberada por um mecanismo regulado ionicamente. Não está claro, entretanto, como ocorre esta liberação de energia, se é conseguida pelo acoplamento dos íons a serem transportados ou se outros íons promoverão esta liberação, isto é, se existe diferença entre "sítios ativadores" e "sítios de transporte" na molécula do transportador. Mais ainda, SJODIN (1971) assumiu que um sistema do tipo ping-pong requer um transportador univalente, isto é, onde o sítio ativador é o sítio transportador e, experimentos em eritrócitos e células musculares demonstraram que os tipos de curva obtidos (forma-S para registro de taxa de transporte versus concentração de sódio interno e, forma sigmoideal para extrusão de sódio versus concentração de potássio externo) não podiam ser explicados pelo modelo de transporte univalente. Por esse motivo, concluiu que o sistema multivalente, isto é, sistema com sítios ativador e transportador diferentes, descrevia o comportamento celular.

Entretanto, o comportamento sigmoideal pode ser obtido em nosso modelo apesar dele ter sido desenvolvido sem a necessidade de uma opção entre mecanismos. Mais ainda, SACHS (1977) afirma que a afinidade dos sítios pelos íons Na e K, provavelmente, está presente na bomba ao mesmo tempo e, que há um aumento da atividade da fosfatase dependente do potássio, decorrente da presença de sódio . Portanto, ele conclui que deve haver uma certa precedência de ligação dos íons sódio em relação aos íons potássio. Este fato está previsto em nosso modelo pois, a variável w

(que caracteriza a afinidade do íon sódio) é mais rápida que a variável r (que caracteriza a afinidade do íon potássio). Uma outra questão a ser remarcada é a de que , admitindo a existência de 3 sítios transportadores para o sódio e 2 para o potássio, com afinidades que variam com o fornecimento de energia, o modelo considera que a disponibilidade destes transportadores pode variar e não, necessariamente, deve manter-se numa razão fixa de 3:2 como pensavam alguns pesquisadores (ISENBERG & TRAUTWEIN, 1975; GLITSCH, PUSCH & VENETZ, 1976; AKAIKE, 1975; HENDRICKS & CASTEELS, 1974; NOMA & IRISAWA, 1975).

De acordo com o modelo de HODGKIN e HUXLEY (1952) a condutância iônica varia de acordo com a voltagem. Como a função de proximidade μ_m (definida em (8)) é dependente das pertinências iônicas, torna-se dependente tanto da permeabilidade como dos transportes iônicos. Assim, a relação $\mu_m(I, I)$ é voltagem-dependente sempre que um destes fatores o forem. Desta forma, tanto a afinidade iônica (definida em (31)) quanto a velocidade da molécula do transportador (definida em (35)) podem variar com a variação do potencial de membrana, explicando os resultados de TAHARA et alii (1973) que mostram que a eletrogenicidade varia de acordo com a variação do potencial de membrana.

Além disso, GLITSCH et alii (1978) estudaram a ativação da bomba de sódio eletrogênica em atrio de cobaias e constataram que uma diminuição da concentração de potássio externo leva a um aumento da eletrogenicidade da bomba, que é uma situação também prevista pelo modelo, pois:

- 1) uma diminuição da concentração externa do potássio acarreta uma diminuição do bombeamento deste íon pelo fato de $i_B K \propto (K)_o$
- 2) um aumento na concentração interna do sódio promoverá um aumento no bombeamento deste íon pois, $i_B Na \propto (Na)_i$.

Finalmente, os dados experimentais de SACHS (1977) sobre as dependências dos fluxos ativos de Na/K, em relação às concentrações de sódio interno e potássio externo, podem ser facilmente previstas pelo modelo. Este autor mostrou que, para uma dada concentração de sódio interno, a dependência à concentração de potássio externo era assintótica e que tanto a inclinação quanto a assíntota, de tal relação, eram dependentes da concentração de sódio interno, o mesmo se verificando quando a concentração de potássio externo era mantida constante e se variava a concentração interna do sódio. Estes achados, na realidade, demonstram que os principais parâmetros que governam a cinética do transporte estão sob controle predominante do íon em menor concentração, portanto, do mínimo entre os μ 's como previsto no modelo.

Devido à perfeita adequação teórica do modelo, uma das questões, que agora se impõe, trata da necessidade de obtenção de dados experimentais que permitam a determinação das diversas constantes envolvidas, de modo a transformar o modelo de uma descrição qualitativa em uma quantitativa. Devido à semelhança, senão equivalência entre a formalização aqui apresentada e as proposições de HODGKIN e HUXLEY (1952), podemos considerar que a mesma abordagem experimental delineada por aqueles pesquisadores para medição dos fluxos passivos, pode ser utilizada para caracterização dos fluxos ativos. Assim, o procedimento de fixação de voltagem, através do qual foram estudadas a dependência das condutâncias ao tempo e à voltagem, pode ser transformado em um processo de fixação energética, através da fixação de concentrações iônicas. Na realidade, este procedimento tem sido utilizado na literatura e o trabalho de SACHS (1977) acima citado, é um exemplo. A inovação se assim pode ser chamada, a ser introduzida é apenas a exigência de se estudar e avaliar também as fases de transiente provocadas por essas perturbações e, não somente a medição de parâmetros apenas na fase de equilíbrio, como vem sendo feito universalmente. Vemos portanto, que a ava-

liação experimental do modelo aqui proposto é trivial, em relação às técnicas já desenvolvidas, o que torna fácil a sua adequação como um modelo também quantitativo.

Tomamos também como objetivo a descrição qualitativa de algumas características dos mecanismos de bombeamento que anexados ao mecanismo de difusão passiva, descrito por HODGKIN e HUXLEY (1952), pudessem descrever como um todo o comportamento das membranas excitáveis.

Descrevemos a corrente de bombeamento como função da concentração iônica, em relação ao meio da qual será transportado; da velocidade máxima do transportador; da afinidade do íon pelos sítios do transportador; e da velocidade relativa do transportador.

Tanto a afinidade iônica quanto a velocidade do transportador são determinadas a partir de variáveis calculadas por equações diferenciais de primeiro grau tendo, cada uma, um respectivo tempo de relaxação. Além disso, estas variáveis são dependentes da quantidade de energia que é fornecida ao sistema e, conseqüentemente, tanto a afinidade iônica quanto a velocidade do transportador são energeticamente dependentes.

Essa corrente de bombeamento pode, em alguns casos, ser descrita como um oscilador descontínuo onde, ora a afinidade iônica predomina sobre a velocidade e ora a velocidade predomina sobre a afinidade iônica, segundo seus tempos de relaxação que selecionarão qual a variável que determinará a região de movimentos lentos e aquela que determinará a região de movimentos rápidos.

A corrente devida à variação da condutância iônica foi descrita como função da variação temporal do gradiente eletroquímico multiplicada por uma função caracte

rística que é função dos potenciais de equilíbrio do sódio e potássio.

Pelo fato de na célula biológica os dois tipos de corrente estarem presentes então o fluxo total deve ser considerado como a soma dos dois tipos de corrente. Portanto, consideramos o sistema de corrente iônica como a união dos dois subsistemas referentes à condutância iônica e ao bombeamento.

Desta forma, o sistema de correntes iônicas é descrito através de dez equações a dez variáveis o que nos leva a concluir que o comportamento da excitação celular é bastante complexo e de solução extremamente complicada.

4. RESUMO

Sabendo-se da importância dos mecanismos de bombeamento existentes na membrana celular e da semelhança estrutural entre transportadores e canais iônicos, desenvolvemos um modelo geral que descreve qualitativamente algumas características destes mecanismos e que dá uma estrutura teórica para futuros experimentos e estudos formais sobre a incorporação destes mecanismos no modelo H-H, possibilitando uma análise quantitativa do mesmo.

As idéias centrais incorporadas ao modelo são:

- a) a afinidade iônica e a velocidade do transportador são dependentes da energia metabólica enquanto que a condutância iônica é uma função de energia devida ao gradiente eletroquímico do íon e ,
- b) o sistema de correntes iônicas foi considerado como a união de 2 subsistemas referentes à condutância iônica e ao bombeamento.

Como consequência, o comportamento elétrico das membranas excitáveis é proposto ser descrito como um sistema dinâmico composto por dez equações, diferenciais de primeira ordem, a dez incógnitas.

APÊNDICE I

Resolução de um Sistema Dinâmico de Segunda Ordem.

Temos o seguinte sistema para ser estudado,

$$\begin{aligned}\dot{r} &= \alpha_r(1-r) - \beta_r \cdot r \\ \dot{w} &= \alpha_w(1-w) - \beta_w \cdot w\end{aligned}\tag{1}$$

que é um sistema dinâmico não linear de primeira ordem.

Sendo os α 's e os β 's constantes no tempo mas variantes com a energia externa que é fornecida ao sistema, para facilidade de análise iremos, inicialmente, tomar a energia constante e, portanto, nestas condições os α 's e os β 's também o serão.

Além disso, pelo fato de (1) não ter seu ponto crítico na origem, fazemos a seguinte translação:

$$\begin{aligned}r^* &= r - r_0 \\ w^* &= w - w_0\end{aligned}\tag{2}$$

onde

$$\begin{aligned}r_0 &= \frac{\alpha_r}{\alpha_r + \beta_r} \\ w_0 &= \frac{\alpha_w}{\alpha_w + \beta_w}\end{aligned}\tag{3}$$

tal que (r_0, w_0) é o ponto crítico de (1).

Deste modo,

$$\begin{aligned} r &= r^* + r_0 \\ w &= w^* + w_0 \end{aligned} \quad (4)$$

e o sistema (1), por estes novos parâmetros será:

$$\begin{aligned} \dot{r}^* &= \alpha_r (1 - (r^* + r_0)) - \beta_r (r^* + r_0) \\ \dot{w}^* &= \alpha_w (1 - (w^* + w_0)) - \beta_w (w^* + w_0) \end{aligned} \quad (5)$$

isto é

$$\begin{aligned} \dot{r}^* &= -(\alpha_r + \beta_r) r^* \\ \dot{w}^* &= -(\alpha_w + \beta_w) w^* \end{aligned} \quad (6)$$

de tal forma que este sistema (6) conserva as características principais de (1), direção das trajetórias, vetor deslocamento, direção dos eixos de simetria.

Se considerarmos

$$\begin{aligned} \lambda_1 &= -(\alpha_r + \beta_r) \\ \lambda_2 &= -(\alpha_w + \beta_w) \end{aligned} \quad (7)$$

a representação matricial de (6) será

$$\begin{bmatrix} \dot{r}^* \\ \dot{w}^* \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} r^* \\ w^* \end{bmatrix} \quad (8)$$

cuja matriz A já está na sua forma mais simples, diagonalizada, tal que $D(A) > 0$ pois $\lambda_1 \cdot \lambda_2 > 0$.

Além disso, λ_1 e λ_2 são os autovalores do sistema (8), tais que seus auto-vetores correspondentes

\vec{r}^* e \vec{w}^* (vetores - que indicam a direção das mediatrizes do plano de fase $r \times w$) obedecem às expressões:

$$A \cdot \vec{r}^* = \lambda_1 \cdot \vec{r}^* \quad (9)$$

e

$$A \cdot \vec{w}^* = \lambda_2 \cdot \vec{w}^*$$

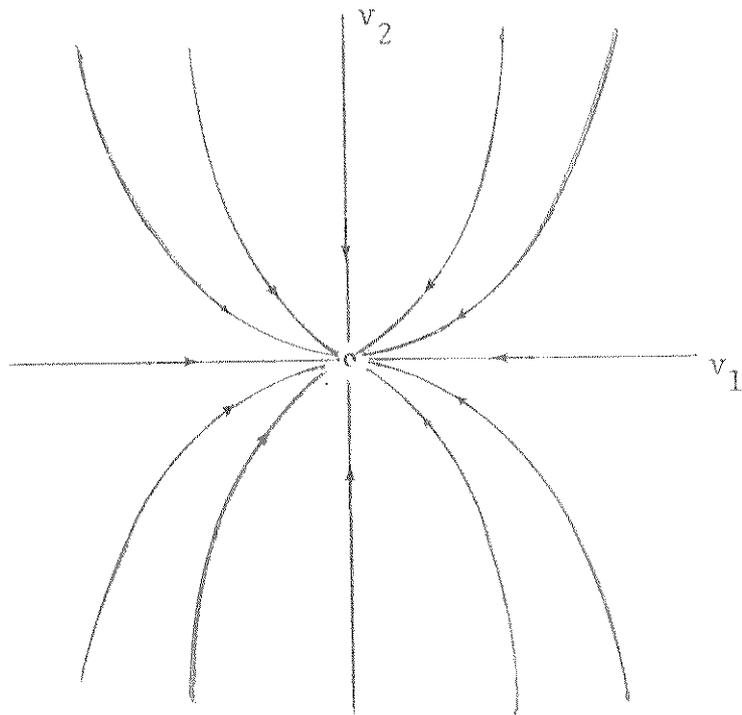
dando como consequência

$$\vec{r}^* = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad \text{e} \quad \vec{w}^* = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (10)$$

Ainda, a solução para (8) será

$$\begin{aligned} r^* &= C_1 e^{\lambda_1 t} \\ w^* &= C_2 e^{\lambda_2 t} \end{aligned} \quad (11)$$

dado este que adicionado às condições (7) (λ_1 e λ_2 negativos) e (10) (direção das mediatrizes), nos permite afirmar que a origem, único ponto crítico de (6), será um nó a duas tangentes atrativo (SANSONI & CONTI, 1956 ; NEMYTSKII & STEPANOV, 1960), isto é,



e das considerações feitas em (4) e em (11), temos que a solução do sistema inicial (1) é

$$r = r_0 + D_1 e^{\lambda_1 t}$$

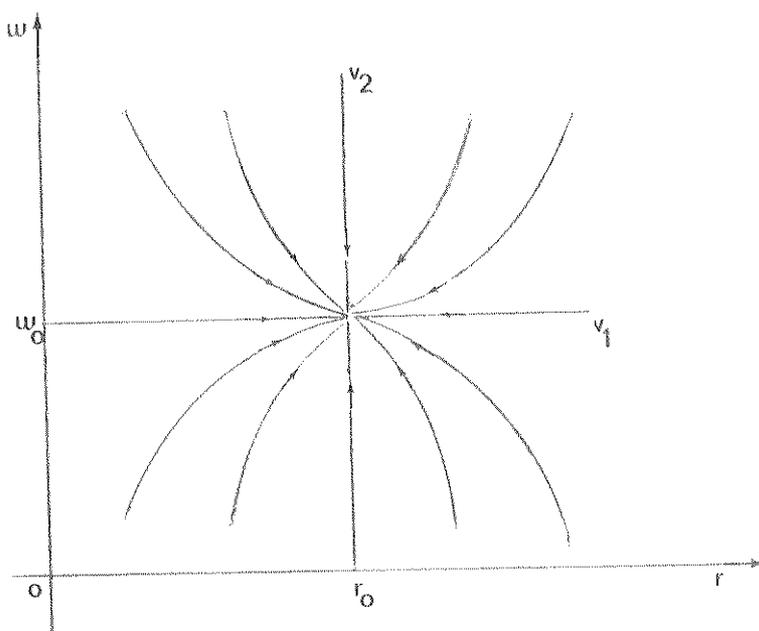
$$w = w_0 + D_2 e^{\lambda_2 t}$$

ou melhor,

$$r = \frac{\alpha_r}{\alpha_r + \beta_r} + D_1 e^{-(\alpha_r + \beta_r)t}$$

$$w = \frac{\alpha_w}{\alpha_w + \beta_w} + D_2 e^{-(\alpha_w + \beta_w)t}$$

e cujo plano de fase será



para uma dada energia constante.

As considerações sobre a variação da energia estão no próprio trabalho.

APÊNDICE II

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

A	- matriz
A_I	- fluxos ativos
a	- número de portões abertos na despolarização
a_I	- afinidade do íon pelo sítio do transportador
\bar{a}_I	- número de transportadores específicos da classe de íons I
B	- matriz
B	- trajetória
b	- número de portões abertos na hiperpolarização
C	- conjunto dos canais da membrana
C_I	- conjunto dos canais específicos para a classe de íons I
C_j p/ $j = 1, \dots, 11$	- constantes
c	- número de íons acoplados ao transportador no estado de energia máxima
c_I	- canal específico para a classe de íons I
D	- sistema dinâmico
\mathcal{D}_1 e \mathcal{D}_2	- constantes
d	- número de íons acoplados ao transportador no estado de energia mínima
E	- potencial de membrana
E_I	- potencial de equilíbrio dos íons

	pertencentes à classe de íons I
$\Delta_I E$	- gradiente eletroquímico
F	- número de Faraday
ϕ	- função característica da teoria dos conjuntos
G	- constante
g_1 e g_2	- funções
g_I	- condutância iônica
\bar{g}_I	- número de canais específicos para a classe de íons I
g_L	- condutância para o limiar da membrana
H	- energia externa
H_0	- energia externa constante
H_V	- energia externa variável
H-H	- modelo de Hodgkin e Huxley para correntes iônicas
h	- variável que descreve a inativação do sódio
h_1, h_2, h_3 e h_4	- funções
I	- classe de íons do sistema iônico A
I	- meio intracelular
i	- subíndice que indica que o íon pertence ao meio intracelular
i_I	- corrente iônica
\bar{I}_I	- corrente característica do íon quando todos os canais estão abertos
i_{B^I}	- corrente de bombeamento
\vec{J}	- vetor coluna do R^2
K	- classe dos íons potássio

M	- membrana
m	- variável que descreve a ativação do íon sódio
Na	- classe dos íons sódio
n	- variável que descreve a ativação do íon potássio
o	- meio extracelular
o	- subíndice que indica que o íon pertence ao meio extracelular
P_I	- fluxos passivos
P	- conjunto dos portões de C_I
P_d	- conjunto dos portões abertos na despolarização
P_h	- conjunto dos portões abertos na hiperpolarização
p e p'	- elementos de P_d e P_h , respectivamente
\vec{q}	- vetor coluna de R^2
Q	- quociente das funções de proximidade
R	- conjunto dos números reais
R^n	- espaço Euclidiano
R	- constante dos gases
κ	- variável que descreve a aceleração da molécula do transportador
r	- poder de acoplamento do íon pelo sítio do transportador durante estado de energia mínima
S	- conjunto dos sítios do transportador
S_d	- conjunto dos sítios do transportador no estado de energia máxima

S_h	- conjunto dos sítios do transportador no estado de energia mínima
S e S'	- elementos de S_d e S_h , respectivamente
S	- número real
T	- temperatura medida em graus Kelvin
T	- conjunto dos transportadores
T_I	- conjunto dos transportadores específicos para a classe de íons I
t_I	- transportador específico para a classe de íons I
t_0 e t	- números reais
t	- tempo
u	- variável que descreve, de um modo geral, a ativação da condutância iônica
V	- conjunto verdade dos estados de um canal
v	- velocidade do transportador
\bar{v}	- velocidade máxima do transportador
v	- variável que descreve, de um modo geral, a inativação da condutância iônica
w	- variável que descreve a aceleração da molécula do transportador
w	- poder de acoplamento do íon pelo sítio do transportador, durante o estado de energia máxima
X	- conjunto qualquer
x	- elemento de X
x_j p/ $j = 1, 2, \dots, n$	- números reais

x	- ponto de R^n
X	- classe de íons do sistema iônico Λ
y	- classe de íons do sistema iônico Λ
y	- variável que generaliza m , h e n
Z	- conjunto verdade dos estados de transportador um
z	- valência do íon
α_r, α_w	- funções exponenciais da energia
β_r, β_w	- funções exponenciais da energia
$\gamma(x)$	- família de funções nebulosas
ζ_1, ζ_2 e ζ_3	- constantes
η, η_1 e η_2	- funções nebulosas pertencentes a $\gamma(x)$
θ	- função do quociente Q
Θ	- função da energia externa
Λ	- sistema iônico
λ	- raiz do polinômio característico de A
μ^*	- parâmetro mínimo
μ_m	- função de proximidade do íon em relação ao meio intracelular
ξ, ξ', ξ^* e ξ^{**}	- funções do gradiente eletroquímico do potássio
π	- função contínua que define os pontos da trajetória B
ρ_j $p/ j = 1, \dots, 4$	- funções do gradiente eletroquímico
$\sigma_{i,j}$ $p/ i, j = 1, 2$	- coeficientes da matriz A
τ_{a_I}, τ_{v_I}	- tempos de relaxação para as afinidades dos íons bem como para a velocidade do transportador

- T - energia constante
- v - função da energia do sistema que assume valores no intervalo fechado $(0,1)$
- Φ e Φ' - funções de ξ' e ξ^{**} , respectivamente
- ϕ - conjunto vazio
- Ψ e Ψ' - funções de ξ e ξ^* , respectivamente
- ζ_j p/ $j = 1, \dots, 10$ - funções.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, N. (1975). Activation of Electrogenic sodium pump in Mammalian skeletal muscle by external cations. Pflügers Arch. 355: 281-290.
- ANDRONOV, A.A.; VITT, A.A. & KHAIKIN, S.E. (1966). Discontinuous oscillation. In: Theory of oscillators. pp. 645-794. Oxford: Pergamon Press.
- ARMSTRONG, C.M. (1971). Interaction of tetraethylammonium ion derivatives with the potassium channels of giant axons. The Journal of General Physiology. 58: 413 - 437.
- BAKER, P.F.; BLAUSTEIN, M.P.; KEYNES, R.D.; MANIL, J. ; SHAW, T.I. & STEINHART, R.A. (1969). The ouabain-sensitive fluxes of sodium and potassium in squid giant axons. J. Physiol. (London) 200: 459-496.
- BLAUSTEIN, M.P. (1974). The interrelationship between sodium and calcium fluxes across cell membrane. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 70: 33-82.
- CHEN, C.F.; VON BAUMGARTEN, R. & HARTH, O. (1973). Metabolic aspect of the rhythmogenesis in Aplysia pacemaker neurons. Pflügers Arch. 345: 179-193.
- CHIPPERFIELD, A.R. & WHITTAM, R. (1976). The connexion between the ion-binding sites of the sodium pump. J. Physiol. 260: 371-385.
- CHMOULIOVSKY, M. & STRAUB, R.W. (1974). Increase in ATP by reversal of the Na-K-pump in Mammalian non-myelinated nerve fibres. Pflügers Arch. 350: 309-320.

- CZÁKY, T.Z. (1965). Transport through biological membranes. Annual Review of Physiology 27: 415-450.
- FITZHUGH, R. (1969). Mathematical models of excitation and propagation in Nerve. In: Biological Engineering Ed. SCHWAM, H.P., pp. 1-85. Philadelphia: McGraw-Hill.
- GARRAHAN, P.J. & GLYNN, I.M. (1967a). The behaviour of the sodium pump in red cells in the absence of external potassium. Journal of Physiology. 192: 159-174.
- GARRAHAN, P.J. & GLYNN, I.M. (1967b). The sensitive of the sodium pump to external sodium. Journal of Physiology. 192: 175-188.
- GARRAHAN, P.J. & GLYNN, I.M. (1967c). Factors affecting the relative magnitudes of the sodium-potassium and sodium: sodium exchanges catalysed by the sodium pump. Journal of Physiology. 192: 189-216.
- GARRAHAN, P.J. & GLYNN, I.M. (1967d). The stoichiometry of the sodium pump. Journal of Physiology. 192: 217 - 235.
- GARRAHAN, P.J. & GLYNN, I.M. (1967e). The incorporation of inorganic phosphate into adenosine triphosphate by reversal of the sodium pump. Journal of Physiology. 192: 236-256.
- GLITSCH, H.G.; GRABOWSKY, W. & THIELEN, J. (1978). Activation of the electrogenic sodium pump in Guinea-Pig atria by external potassium ion. Journal Physiology. (London) 276: 515-524.
- GLITSCH, H.G.; PUSCH, H. & VENETZ, K. (1976). Effects of Na and K ions on the active Na transport in Guinea-Pig auricles. Pflügers Arch. 365: 29-36.

- HEINZ, E. (1967). Transport through biological membranes. Annual Review of physiology. 29: 21-58.
- HENDLER, R.W. (1971). Biological membrane Ultrastructure. Physiological Review. 51(1): 66-97.
- HENDRICKX, H. & CASTEELS, R. (1974). Electrogenic sodium pump in arterial smooth muscle Cells. Pflügers Arch. 346: 299-306.
- HILLE, B. (1976). Gating in sodium channels of nerve. Annual Review of Physiology. 38: 139-152.
- HIRAOKA, M. & HECHT, H.H. (1973). Recovery from hypothermia in cardiac purkinge fibers: Considerations for an electrogenic mechanism. Pflügers Arch. 339: 25-36.
- HODGKIN, A.L. & HUXLEY, A.F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol. (London) 117: 500-544.
- ISENBERG, G. & TRAUTWEIN, W. (1975). Outward current and electrogenic sodium pump in purkinge fibers. In: Recent Advances in Studies on Cardiac structure and metabolism. Ed. FLECKENSTEIN, A. & DHALLA, N.S.; pp. 43-49. Baltimore: University Park Press.
- ISENBERG, G. & TRAUTWEIN, W. (1975). Temperature sensitivity of outward current in cardiac purkinge fibers. Pflügers Arch. 358: 225-234.
- ISENBERG, G. (1977a). Cardiac purkinge fibers: Resting, action, and pacemaker potential under the influence of $(Ca^{2+})_i$ as modified by intracellular injection techniques. Pflügers Arch. 371: 51-59.
- ISENBERG, G. (1977b). Cardiac Purkinge fibers: The slow

- inward current component under the influence of modified $(Ca^{2+})_i$. Pflügers Arch. 371: 60-70.
- ISENBERG, G. (1977c). Cardiac Purkinje fibers: $(Ca^{2+})_i$ controls steady state potassium conductance. Pflügers Arch. 371: 71-76.
- ISENBERG, G. (1977d). Cardiac Purkinje fibers: $(Ca^{2+})_i$ controls the potassium permeability via the conductance components g_{k1} e $\overline{g_{k2}}$ Pflügers Arch. 371: 77-85.
- KOBATAKE, Y.; TASAKI, I. & WATANABE, A. (1971). Phase transition in membrane with reference to nerve excitation. Advances in Biophysics. 2: 1-31.
- KOKETSU, K. (1971). The electrogenic sodium pump. Advances in Biophysics. 2: 77-112.
- KOSTYUK, P.G.; KRYSHAL', O.A. & PIDOPLICHKO, V.I. (1972). Electrogenic sodium pump and the associated changes in conductivity of the surface membrane of neurones. Biofizika. 17(6): 1048-1054.
- MC ALLISTER, R.E.; NOBLE, D. & TSIEN, R.W. (1975). Reconstruction of the electrical activity of cardiac purkinje fibers: J. Physiology (London). 251: 1-59.
- NEMYTSKII, V.V. & STEPANOV, V.V. (1960). Qualitative theory of differential equations. Ed. Morse, M. & Tucker, A.W., pp. 39-270. New Jersey: Princeton University Press.
- NOMA, A. & IRISAWA, H. (1975). Contribution of an electrogenic sodium pump to the membrane potential in rabbit sinoatrial node cells. Pflügers Arch. 358: 289 - 301.
- PLANT, R.E. (1976). The geometry of the Hodgkin-Huxley

- model. Computer Programs in Biomedicine. 6:85-91.
- RITCHIE, J.M. & STRAUB, R.W. (1975). The movement of potassium ions during electrical activity, and the kinetics of the recovery process, in the non-myelinated fibers of the garfish olfactory nerve. J. Physiology (London). 249: 327-348.
- ROTHSTEIN, A. (1968). Membrane phenomena. Annual Review of physiology. 30: 15-72.
- SACHS, J.R. (1974). Interaction of external K, Na, and cardioactive steroids with the Na-K-pump of the human red blood cell. The journal of general physiology. 63: 123-143.
- SACHS, J.R. (1977). Kinetic evaluation of the Na-K pump reaction mechanism. J. Physiology (London) 273: 489 - 514.
- SANSONE, G. & CONTI, R. (1956). Equazioni differenziali non Lineari. Ed. Consiglio Nazionale Delle Ricerche, pp. 39-81. Roma: Edizioni Cremonese.
- SJODIN, R.A. (1971). Ion transport across excitable cell membranes. In: Biophysics and physiology of excitable membranes. Ed. Adelman, W.J., pp. 96-124. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- TAHARA, T.; KIMIZUKA, H. & KOKETSU, K. (1973). An analysis of the membrane hyperpolarization during action of the sodium pump in frog's skeletal muscles. Jap. J. Physiol. 23: 165-181.
- THOMAS, R.C. (1972). Electrogenic Sodium pump in nerve and muscle cells. Physiological Reviews. 52(3): 563-590.

- URRY, D.W. (1972). Protein conformation in biomembrane: Optical rotation and absorption of membrane suspensions. Biochimica et Biophysica Acta. 265(1): 115-167.
- USSING, H.H. (1949). Transport of ions across cellular membranes. Physiological Review. 29: 127-155.
- WHITTAM; R. & CHIPPERFIELD, A.R. (1975). The reaction mechanism of the sodium pump. Biochimica et Biophysica Acta. 415: 149-171.
- WOODBURRY, J.W. (1962). Cellular electrophysiology of the heart. In: Handbook of physiology: Circulation (1) Ed. Hamilton, W.F., pp. 237-286. Baltimore: Waverly Press.
- ZADEH, A. (1965). Fuzzy sets. Information and Control. 8(3): 338-353.