

Eletrofisiologia do cardiomiócito

Prof. Ricardo Maurício Xavier Leão

Os cardiomiócitos são células musculares estriadas presentes no coração. O coração é um órgão que apareceu cedo na evolução, presente na maioria dos invertebrados todos os vertebrados, e tem a função de bombear os fluidos extracelulares a todos os tecidos corporais. A função fisiológica do coração se torna óbvia em vista das velocidades lentas da difusão das moléculas em solução, que levariam dias, semanas a meses para se difundirem e alcançarem todas as células presentes no corpo de um organismo multicelular. Dessa forma à medida que os organismos multicelulares evoluíram em tamanho, veio a necessidade de um sistema circulatório acoplado a uma bomba, o coração, que pudesse rapidamente circular os fluidos corpóreos contendo os nutrientes e oxigênio para a célula, e o gás carbônico para ser eliminado dessas. Além disso, o sistema circulatório permite a transmissão de sinais químicos que servem de comunicação entre os órgãos, essencial para a coordenação das funções dos diferentes tecidos do organismo. Dessa forma, faz-se necessário a presença de um órgão bombeador de fluido, sangue no caso dos vertebrados, para que se possa fazer essa tarefa de forma eficiente. Com a evolução da complexidade dos sistemas biológicos, e em especial do sistema nervoso central, que demanda altas taxas metabólicas e um suprimento constante de energia e oxigênio, é imperativo que o coração seja uma bomba eficaz e confiável, pois qualquer pequena falha pode ter efeitos devastadores para a vida do organismo.

O coração é um órgão que funciona como bomba, e nos mamíferos é constituído por quatro câmaras, os átrios e ventrículos esquerdos e direitos, que recebem o sangue proveniente das veias e o bombeia para os tecidos pelas artérias. O processo de bombeamento se dá pela contração das paredes dos compartimentos, que ejeta o sangue sob pressão para que ele perfunda os tecidos do organismo pelos vasos sanguíneos. Sendo um órgão mecânico o coração é composto de basicamente fibras musculares que se contraem e fazem o trabalho de bombeamento do sangue. Além disso, o coração dos vertebrados é um órgão auto-gerador de atividade, funcionando independentemente do sistema nervoso central,

As células musculares do coração são os miócitos cardíacos ou cardiomiócitos. São fibras musculares estradas, muito semelhantes às fibras musculares estriadas esqueléticas, mas mais curtas, de configuração retangular. Possuem as estriações típicas da musculatura estriada, que

representa o aparato contrátil, composto basicamente pelas moléculas de miosina (filamentos espessos) e f-actina (filamentos finos), mas as proteínas troponina e tropomiosina que participam do acoplamento excitação-contração (EC). Essas proteínas, como na musculatura esquelética, se organizam longitudinalmente ao miócito, nos sarcômeros. Como no músculo esquelético, esses sarcômeros estão em contato com o retículo sarcoplasmático liso, a organela armazenadora de cálcio, que é responsável por liberar o cálcio interno, que desencadeará a contração muscular, em resposta a chegada do potencial de ação. Porém, diferentemente do músculo esquelético, o acoplamento excitação-contração se dá não mecanicamente pela interação do canal para cálcio L da membrana, mas pela ligação do cálcio que entra pelos canais para cálcio dependentes de voltagem do tipo L, da membrana mioplasmática, com os receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático, tornando o acoplamento EC do músculo cardíaco totalmente dependente da entrada de cálcio extracelular. Outra característica marcante do músculo cardíaco, é a presença de junções comunicantes (*gap junctions*), formada pelas conexinas, entre as células cardíacas. Essas junções permitem a transmissão elétrica do potencial de ação às fibras vizinhas.

Outra característica marcante do tecido cardíaco é a capacidade de gerar atividade elétrica espontânea de forma rítmica, chamado automatismo ou atividade marca-passo. Essa atividade elétrica autoregenerativa não está presente em todas as células cardíacas, mas em células específicas geradoras de atividade elétrica, localizadas em duas regiões específicas, os nodos sinoatrial (SA) e atrioventricular (AV), além das fibras de Purkinje. O nodo SA dos mamíferos está localizado no topo do átrio direito, e é a região geradora principal do ritmo cardíaco, gerando de 60 a 100 potenciais de ação (PA) por minuto. Esses PAs viajam ao longo de vias condutoras nos átrios, transmitindo os PAs para os miócitos atriais, e para então as fibras dos nodos atrioventriculares. As células dos nodos AV são o segundo gerador de atividade do coração, e recebem em cerca de 10 ms os PAs provenientes do nodo SA. As células dos nodos AV são consideradas marcapassos secundários, porque tem a capacidade de gerar PAs com frequência mais lenta do que os do nodo SA, em torno de 40 PAs por segundo, sendo o ritmo do nodo AV suplantado pelo do nodo AV. Do nodo AV os PAs viajam pelas fibras condutoras do feixe de His, que logo se bifurcam em duas vias condutoras, as vias condutoras de Purkinje, ramos direito e esquerdo, que inervarão os miócitos ventriculares. As fibras de Purkinje são consideradas as vias condutoras terciárias, pois tem a capacidade de propagar PAs em baixa frequência, em torno de 20 PAs por minuto, sendo normalmente ativadas apenas em caso de falha das vias dos nodos SA e AV. Entretanto, apesar de ser pouco eficaz em gerar o ritmo cardíaco, as fibras de Purkinje possuem a maior velocidade de condução do coração, sendo de 4 metros por segundo, em comparação a velocidade de 1 metro por segundo dos miócitos atriais e ventriculares, e 0,05 metros por segundo dos nodos SA e AV.

Por terem atividade auto-geradora, os miócitos dos nodos SA, AV e fibras de Purkinje tem que ser capazes de gerar autodespolarizações espontâneas que atinjam o limiar do potencial de ação dessas células. Ou seja, elas não possuem um potencial de repouso da membrana real, pois condutâncias ativadas por voltagens subliminares impedem que se alcance um estado estacionário de equilíbrio de condutâncias de saída e de entrada, que caracteriza o potencial de repouso. Para impedir que as células do sistema gerador possuam um potencial de repouso estável primeiro temos que ter uma condutância que esteja ativa nos potenciais abaixo do limiar do potencial de ação e se oponha às condutâncias de potássio basais. Antes disso, vamos lembrar que a diferença do potencial elétrico da membrana é o resultado de todas as condutâncias iônicas ativas em algum momento, sendo que quanto maior a condutância, mais próximo o potencial da membrana fica do potencial de equilíbrio dessa condutância, segundo a equação da condutância de corda. A condutância basal da membrana celular é predominantemente uma condutância de potássio, também chamada de condutância de vazamento de potássio, pela família de canais de potássio K_{2P} , que apresentem nenhuma ou pouca dependência de potencial, para sua abertura, e um potencial de reversão equivalente ao do potássio nas concentrações fisiológicas em torno de -90 mV, então temos que ter então uma condutância com potencial de reversão mais positivo para se opor ao efeito hiperpolarizante da condutância de potássio vazante. Nos miócitos dos nodos AV e SA temos uma grande expressão dos canais HCN, que são canais catiônicos, com pouca seletividade para o sódio e potássio, que são ativados por hiperpolarização. Temos nos vertebrados quatro tipos de subunidades desses canais, HCN1-4, sendo que no coração temos a presença das subunidades HCN2 e HCN4, essa última no nodo SA. Esses canais são ativados lentamente pela hiperpolarização da membrana para valores abaixo do limiar do potencial de ação, normalmente com um $V_{1/2}$ de ativação em torno de -60 a -80 mV, dependendo do estado modulatório do canal, e permitem a passagem de sódio e potássio, gerando uma corrente iônica com uma reversão próxima de -20 mV. Então à medida que o potencial de membrana se hiperpolariza, esses canais se abrem e permitem a passagem de corrente, principalmente corrente de entrada de sódio, que leva o potencial de repouso dessas células a se despolarizar. Como esses canais fecham em potenciais próximos do limiar, eles se auto-desativam, ou seja, a despolarização por eles causam causa o fechamento deles próprios, o que leva a hiperpolarização da membrana, e novamente a abertura dos canais HCN, sendo então ideais para manter o potencial de membrana sempre próximo do limiar do potencial de ação. Os canais HCN são expressos em menor quantidade nos miócitos das fibras de Purkinje, e possuem uma cinética mais lenta, tornando-os menos eficientes em despolarizar a membrana desses miócitos rapidamente. A corrente que passa pelos canais HCN é chamada de corrente h. (I_h). No coração é conhecida também por corrente f (I_f , f de *funny* pela sua abertura por hiperpolarização), e é inibida pela droga ZD7288.

Nos miócitos dos nodos AV e SA temos uma grande expressão dos canais de cálcio sensíveis a potencial $Ca_v3.1$ e $Ca_v3.2$, que são responsáveis pelas correntes de cálcio do tipo T. Essas correntes (T de *transient*) são caracterizadas pela rápida cinética de ativação, pela relativamente rápida cinética de inativação e pela abertura em potenciais relativamente hiperpolarizados (em torno de -55 mV), e por isso esses canais são chamados de canais para cálcio ativados por voltagens baixas (*Low-voltage activated, LVA*). Assim, logo que a corrente h despolariza a membrana para próximo de -55 mV, essas canais começam a abrir e despolarizam a membrana rapidamente, devido a sua rápida cinética de ativação, despolarizando a membrana para valores acima de 0 mV, de acordo com a entrada do cálcio no miócito seguindo sua força eletromotriz. Como também esses canais rapidamente entram no estado inativado, eles se fecham após aproximadamente 100 milissegundos. É gerado assim um potencial de ação de cálcio que se propaga pelas fibras condutoras e pelos miócitos, através das junções comunicantes. Note que nos miócitos dos nodos AV e SA não expressa canais para sódio dependentes de voltagem, então os PAs são de cálcio, e não de sódio. Os canais para cálcio do tipo T são bloqueados pela droga mibefradil, que é um dos poucos fármacos seletivos para esse canal. O bloqueio específico desses canais seria de importância para tratamento de arritmias cardíacas, porém o mibefradil não se mostrou seguro para uso clínico, e foi retirado do mercado.

Assim que o potencial de ação dos miócitos nodais se repolariza, com o auxílio de correntes de potássio ativadas por despolarização, temos o retorno do potencial da membrana para valores negativos, de acordo com a maior permeabilidade da membrana ao potássio devido não só a condutância vazante de potássio mas também a ativação dos canais de potássio acima mencionados, o que gera a ativação dos canais HCN, influxo de sódio, despolarização da membrana, abertura dos canais de cálcio do tipo T e geração de outro potencial de ação. Assim o processo se repete incessantemente durante a vida do organismo.

Já os miócitos atriais e ventriculares não possuem atividade autogeradora, possuindo um potencial de repouso estável devido à presença de canais vazantes K_{2P} , mas também da presença de canais para potássio retificadores de entrada K_{ir} . Esses canais retificam, ou seja, conduzem íons melhor em uma direção, nesse caso conduzem melhor o influxo de potássio do que o efluxo. Como normalmente o potencial de equilíbrio do potássio é considerado o “chão” do potencial de membrana, obviamente fisiologicamente o influxo de potássio é irrelevante, mas mesmo assim esse canal tem uma corrente significativa de saída de potássio no repouso para estabilizar o potencial de membrana, porém sem se opor fortemente a despolarizações, devido a sua retificação. Essa retificação é criada pelo bloqueio interno pelo magnésio, e poliaminas. A chegada do potencial de ação pelas fibras condutoras leva a ativação de canais para sódio dependentes de voltagem $Na_v1.5$, que possuem uma dependência de voltagem similar aos canais de sódio do nervo, e dos canais de cálcio do tipo T. esses canais tem baixa sensibilidade a TTX.

Então temos a fase 0 (zero) do potencial de ação cardíaco, que é a rápida despolarização da membrana pela abertura dos canais de sódio $Na_v1.5$. Logo depois temos a fase 1, que é uma rápida e pequena hiperpolarização, porém mantendo ainda a membrana em valores bem positivos, devido a inativação dos canais $Na_v1.5$, e a ativação de correntes de potássio de ativação rápida, e baixo limiar, chamadas genericamente de I_o (*transiente outward currents*). Essas correntes são geradas pelos canais para potássio $K_v1.4$ e $K_v4.2/4.3$, esses últimos bloqueados pela 4-aminopiridina (4-AP). Esses canais são ativados rapidamente em potenciais em torno de -30 mV, e também entram logo no estado inativado, produzindo uma rápida hiperpolarização do potencial de ação de sódio.

Os canais $Na_v1.5$ possuem uma inativação rápida (em alguns milisegundos) como os outros canais para sódio dependentes de voltagem. Porém o potencial de ação nos miócitos atriais, ventriculares e das fibras de Purkinje são especialmente duradouros, podendo durar de 200 a 500 ms, dependendo de sua posição no miocárdio. Esse platô despolarizante representa a fase 2 do potencial de ação cardíaco, e se deve a abertura de canais para cálcio do tipo L (*long lasting*), sensíveis a dihidropiridinas (DHP) $Ca_v1.2$. Esses canais são diferentes dos canais do tipo T pela sua cinética de ativação mais lenta, ativação em potenciais mais despolarizados (em torno de -30 mV) e sua inativação bem mais lenta (que leva centenas de milisegundos). Essa inativação é dependente da ligação do cálcio ao próprio canal, e é removida na ausência de cálcio, por exemplo, quando se usa bário como íon carreador de corrente. O cálcio que permeia esse canal não apenas é importante para gerar o platô despolarizante característico da fase 2, mas também para a liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático, via a interação do cálcio com o receptor de rianodina, que iniciará a contração do miócito cardíaco. Essa longa duração do PA cardíaco então é importante para uma entrada sustentada de cálcio no miócito para garantir uma contração forte e longa, fundamental para a função de bomba do músculo cardíaco. A fase 2 é caracterizada pela competição entre a despolarização causada pela corrente para cálcio do tipo L e ativação de condutâncias para potássio, como as que passam pelos canais para potássio retificadores retardados (I_{KDR}), que tem ativação lenta.

À medida que os canais para cálcio do tipo L se inativam e os canais para potássio dependentes de potencial são ativados, entramos na fase 3, onde as correntes de saída de potássio se sobrepõem as de entrada de cálcio e temos a repolarização do potencial de ação. Os canais para potássio que participam dessa repolarização são os canais de desativação lenta $K_v7.1$ (KCNQ1) e $K_v11.1$ (ERG1). E também os de ativação rápida dos tipos $K_v1.5$ e $K_v3.1$. No final da repolarização os canais K_{ir} auxiliam a chegar no potencial de repouso. Chega-se então a fase 4, chamada também de fase diastólica, mantida pelos canais para potássio vazantes K_{2P} , em conjunto com os canais para potássio retificadores de entrada $K_{ir2.1}$ e $K_{ir2.2}$, que em conjunto com os canais estabilizam o potencial de repouso em valores negativos, e evitam o automatismo dos miócitos atriais e

ventriculares, onde são expressos em grandes quantidades. Mesmo sem ter automatismo, os miócitos ventriculares também expressam canais HCN, porém em menor quantidade, e além disso esses canais nesses miócitos tem um $V_{1/2}$ de ativação bastante negativo o que os torna pouco ativos no potencial de repouso, evitando assim o automatismo dos miócitos ventriculares. No coração, a atividade eletrogênica da sódio/potássio ATPase (Na/K-ATPase) contribui de forma pequena mas significativa para o potencial de membrana na fase diastólica com algo em torno de -5 a -10 mV.

Várias drogas podem alterar a ritmicidade e a força de contração cardíaca. Inibidores da corrente h poderiam ser úteis para o controle de arritmias, porém o melhor inibidor da corrente h, a droga ZD7288, não é segura clinicamente, nem muito específica. O mesmo problema é observado com o bloqueador dos canais para cálcio do tipo T mibefradil, que chegou a ser comercializado, mas saiu do mercado em pouco tempo. Anestésicos locais, que são inibidores dependentes de atividade de canais para sódio ativados por potencial, como a lidocaína, são antiarrítmicos. Da mesma forma, dihidropiridinas como a nifedipina, que inibem os canais para cálcio do tipo L, diminuem a força de contração cardíaca e o ritmo cardíaco e tem imensa utilidade clínica. Interessantemente a digoxina, que é um inibidor da Na/K-ATPase tem a capacidade de aumentar a força de contração do músculo cardíaco em doses subtóxicas. Isso se deve a inibição preferencial da subunidade alfa2 Na/K-ATPase pela digoxina. Essa subunidade não faz o trabalho de *housekeeping* de manter os gradientes iônicos, feito pela subunidade alfa-1, da Na/K-ATPase, estando presente fisicamente perto do retículo sarcoplasmático liso, acoplada ao trocador sódio-cálcio (NCX), mantendo o gradiente de sódio local necessário para o funcionamento do trocador NCX. A inibição da subunidade alfa2 por baixas doses de digoxina, aumenta a concentração do sódio intracelular próximo ao NCX, diminuindo a atividade do trocador, impedindo assim o *clearance* eficiente do cálcio, podendo até reverter a direção do transporte, transportando o cálcio para dentro do miócito, aumentando assim o cálcio mioplasmático e a força de contração.

Os canais iônicos dos miócitos cardíacos também são modulados por neurotransmissores do sistema nervoso autônomo. A noradrenalina (NA) liberada pelas fibras simpáticas, ativa os receptores beta-adrenérgicos ligados a proteínas G_s , o que aumenta a velocidade de despolarização nos miócitos nodais, e a força de contração nos miócitos do miocárdio. Nos miócitos nodais a ativação beta-adrenérgica estimula a produção do cAMP que se liga aos canais HCN, alterando sua sensibilidade a voltagem para valores mais positivos ($V_{1/2}$ mais despolarizado), levando o potencial de membrana ao limiar mais rapidamente e assim aumentando a frequência dos PAs. Nos miócitos atriais e ventriculares a NA aumenta a corrente de cálcio do tipo L, aumenta a afinidade dos receptores de rianodina pelo cálcio e a atividade da Ca-ATPase reticular. Todos esses fatores levam a um aumento da força de contração muscular dos miócitos,

por potencializarem o aumento do cálcio intracelular durante o PA, e a manutenção dos estoques intracelulares de cálcio o que garante que o cálcio estará disponível.

Já a ativação das aferências parassimpáticas vagais, leva a liberação de acetilcolina que atua em receptores muscarínicos do tipo 2 (M2). Esses receptores são ligados a proteínas $G_{i/o}$ que inibem a adenilato ciclase, reduzindo os níveis de cAMP mioplasmáticos. Como o cAMP se liga aos canais HCN sua redução move a faixa de ativação desse canal para valores mais negativos, reduzindo a velocidade de despolarização dos miócitos marca passo, já que o canal HCN irá ser ativado em potenciais de membrana mais negativos, e sua ativação demorará então mais tempo para levar o potencial de membrana ao limiar do PA. As subunidades beta-gama das proteínas $G_{i/o}$ também têm efeitos fisiológicos importantes. Essas subunidades que estão ancoradas a face interna da membrana, tem fluidez para “viajar” pela membrana onde se ligam aos canais para potássio retificadores de entradas ativados por proteínas G (GIRKS) $K_{ir3.1}$ e $K_{ir3.4}$ e os ativam, hiperpolarizando a membrana, e assim nessas circunstâncias o miócito leva mais tempo para atingir o limiar do potencial de ação. Esses canais estão presentes tanto nos miócitos atriais e ventriculares, quanto nos miócitos dos nodos AV e SA. Além disso, a ativação dos receptores M2 leva a inibição das correntes de cálcio do tipo L. Todos esses efeitos levam a uma diminuição do ritmo e da força de contração cardíacas.

Finalmente vale a pena mencionar que os miócitos cardíacos expressam canais de potássio sensíveis a ATP (K_{ir6}). Esses canais são bloqueados internamente pelo ATP metabólico e quando desbloqueados hiperpolarizam fortemente a membrana, especialmente devido a sua fraca retificação. Em concentrações fisiológicas normais de ATP esses canais estão bloqueados pelo ATP e não participam significativamente da geração do potencial de repouso da membrana. Porém em situações de isquemia cardíaca, onde as concentrações metabólicas de ATP caem, esses canais podem vir a ser desbloqueados, hiperpolarizando a membrana e tornando os potenciais de ação mais curtos, o que teria um efeito protetor contra arritmias produzidas pela diminuição do gradiente de sódio e potássio pelo funcionamento precário da Na/K-ATPase devido a redução da produção do ATP metabólico pela situação de isquemia.

Vimos então que os miócitos cardíacos são células eletrofisiologicamente muito complexas que expressam um conjunto de canais iônicos que permitem que o coração tenha uma atividade contrátil eficiente e confiável para a manutenção da perfusão sanguínea constante durante toda a vida do organismo.