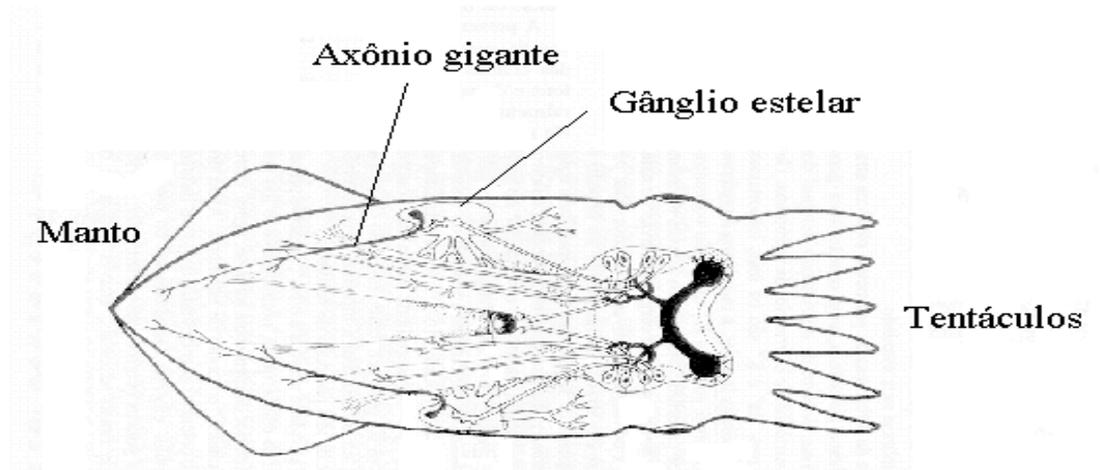


## O Modelo de Hodgkin-Huxley

Os mecanismos iônicos responsáveis pela geração de um potencial de ação foram elucidados pelos trabalhos de Hodgkin e Huxley com o axônio gigante da lula na primeira metade do Século XX.

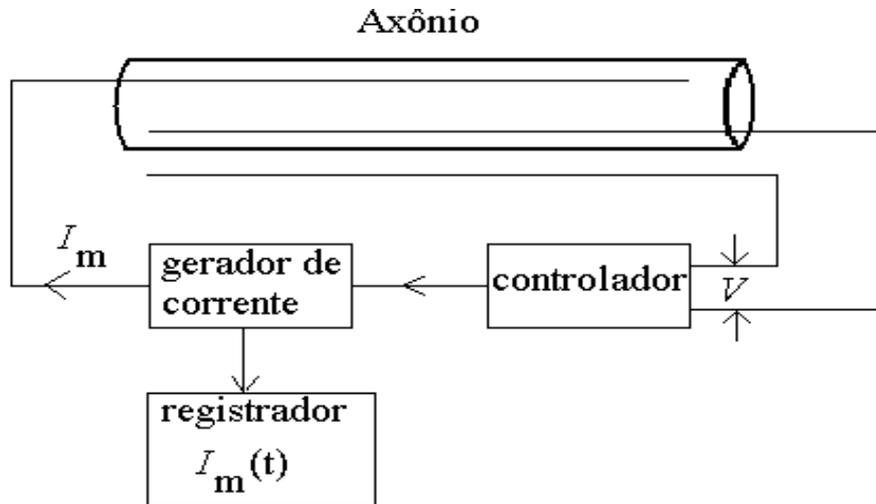


A lula é um invertebrado marinho que utiliza propulsão a jato para se movimentar. Por contrações do seu músculo do manto, ela controla um órgão chamado de sifão (não mostrado no desenho acima) por onde entra ou sai água do mar em jatos, fazendo com que ela se movimente. O músculo do manto é controlado pelos neurônios do gânglio estelar, que enviam longos axônios para inervá-lo. O axônio mais comprido é também o mais grosso, e por isso é chamado de axônio gigante.

O axônio gigante da lula é uma fibra não-mielinizada com um diâmetro em torno de meio milímetro e vários centímetros de comprimento. Ela é uma das maiores células de animais conhecidas. Para comparação, as células dos vertebrados possuem diâmetros de alguns poucos micrometros.

Por causa disso, o axônio gigante da lula constitui um sistema ideal para a realização de experimentos.

Para a realização de seus experimentos, Hodgkin e Huxley utilizaram duas técnicas experimentais, conhecidas como grampeamento espacial e grampeamento de voltagem.

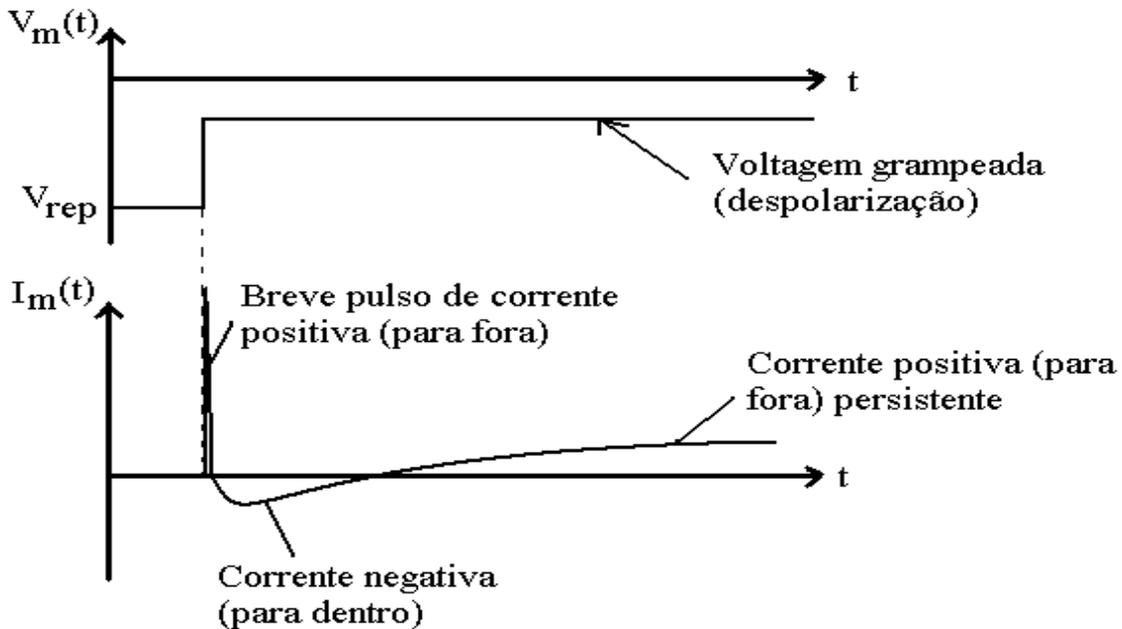


**Esquema do arranjo experimental para medidas com grampo espacial e de voltagem**

Dois eletrodos finos e longos são inseridos ao longo do axônio e conectados aos instrumentos mostrados. A resistência dos eletrodos é tão baixa que todos os pontos ao longo do axônio têm o mesmo potencial elétrico em cada instante de tempo. Portanto, o potencial passa a depender apenas do tempo e não do espaço, como numa célula pontual. Dizemos que a célula está sob um *grampo espacial*.

Um dos eletrodos está emparelhado com um eletrodo externo ao axônio, para medir a diferença de voltagem  $V$  através da membrana. O outro eletrodo é usado para injetar ou retirar corrente da célula, na quantidade justa para manter a diferença de potencial através da membrana num valor constante qualquer. A medida dessa corrente permite o cálculo da condutância (ou da resistência) da membrana. Esta técnica é chamada de *grampo de voltagem* e permite controlar o potencial de membrana, fazendo com que ele tenha qualquer valor que se queira.

Quando o potencial de membrana é elevado abruptamente, do seu valor de repouso para um outro valor e mantido neste valor, a corrente de membrana  $I_m(t)$  apresenta um valor como o mostrado abaixo.



A corrente de membrana  $I_m(t)$  tem três componentes:

1. Um brevíssimo pulso de corrente (de alguns poucos micro-segundos) para fora da célula. Esta corrente corresponde ao carregamento do capacitor que constitui a membrana, pois o aumento da voltagem implica num aumento da carga armazenada na superfície da membrana.
2. Um fluxo de corrente para dentro da célula com duração de 1 a 2 ms. Vários experimentos, como por exemplo substituindo-se os íons de sódio no meio extra-celular por outros íons monovalentes, mostraram que esta corrente é devida à entrada na célula de íons de sódio.
3. Uma corrente para fora da célula que se manifesta em aproximadamente 4 ms e permanece estável pelo tempo que durar o grampo de voltagem. Estudos com traçadores revelaram que esta corrente é devida a íons de potássio. (Em uma escala de tempo de várias dezenas de mili-segundos, esta corrente de potássio também cai para zero como a de sódio).

Além dessas três componentes, há também uma pequena corrente constante para fora (imperceptível na escala do desenho) que corresponde a íons de cloro e outros íons que passam pela membrana.

Com base nos seus estudos experimentais, Hodgkin e Huxley postularam o seguinte modelo fenomenológico para explicar os eventos observados durante a ocorrência de um potencial de ação no axônio gigante da lula;

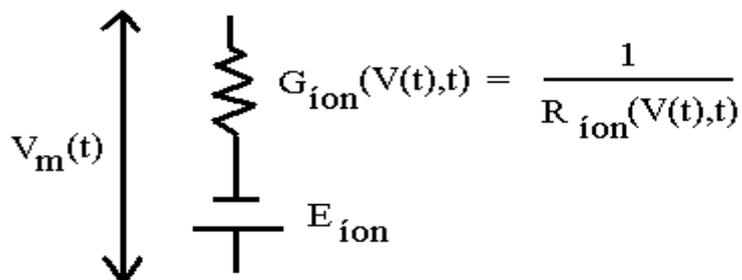
1. A corrente de membrana é dada pela soma da corrente capacitiva e de uma corrente iônica:

$$I_m(t) = I_{iônica}(t) + C_m \frac{dV_m(t)}{dt}.$$

2. A corrente iônica é dada pela soma de correntes iônicas para íons específicos. A corrente de um dado íon é independente das correntes iônicas dos outros íons. Há três correntes iônicas responsáveis pela geração do potencial de ação: de sódio, de potássio e dos outros íons (cloro etc). Esta última corrente é chamada de corrente de vazamento:

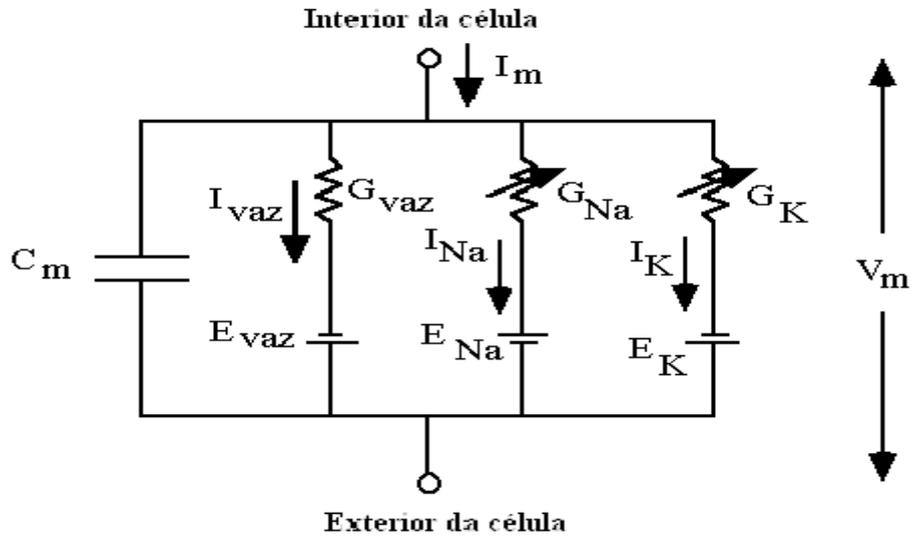
$$I_{iônica}(t) = I_{Na} + I_K + I_{vaz}.$$

3. A corrente iônica para um dado íon é modelada por uma resistência (variável com a voltagem e com o tempo) em série com uma bateria cuja voltagem é dada pelo potencial de Nernst do íon:



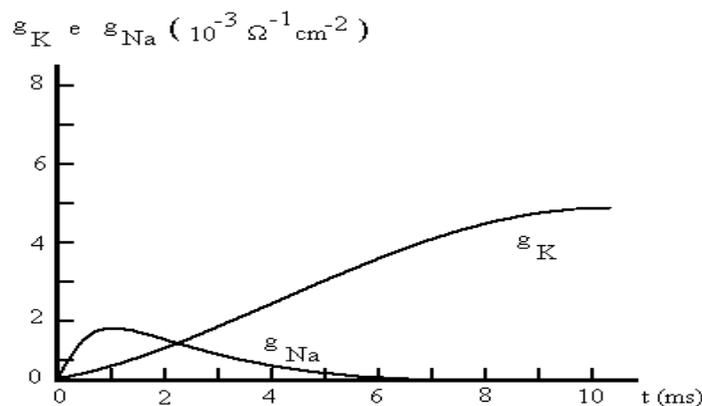
$$I_{ion}(t) = G_{ion}(V_m(t), t)(V_m(t) - E_{ion})$$

O circuito elétrico equivalente ao modelo de Hodgkin-Huxley para a membrana do axônio gigante da lula é dado pela figura abaixo:

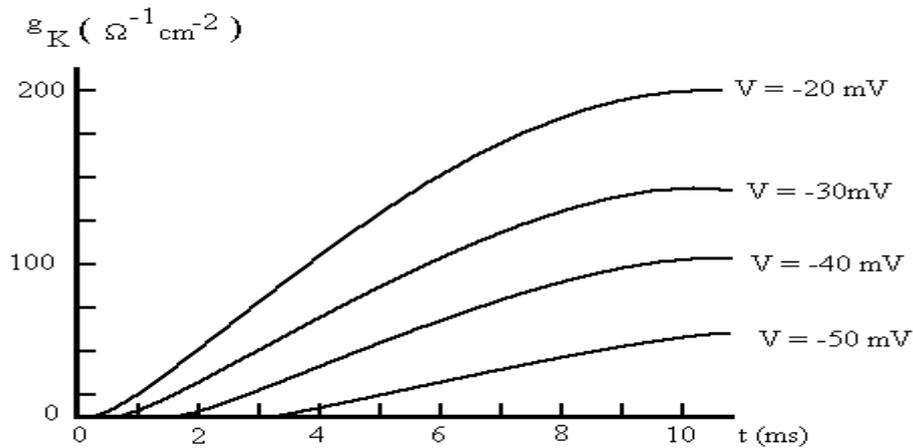


Notem as posições das baterias: a posição de  $E_K$  indica que o potencial de Nernst do potássio é negativo (negativo no interior da célula em relação ao exterior) e a posição de  $E_{Na}$  indica que o potencial de Nernst do sódio é positivo (positivo no interior da célula em relação ao exterior).

Em seus experimentos de grampeamento de voltagem, Hodgkin e Huxley aumentavam a voltagem por um certo valor em relação ao repouso e determinavam o comportamento das condutividades (obtidas pelo comportamento das densidades de corrente) dos íons de sódio e potássio. Um comportamento típico de  $g_K$  e de  $g_{Na}$  para um aumento de 26 mV no potencial, a  $T = 6^\circ\text{C}$ , está mostrado na figura abaixo.



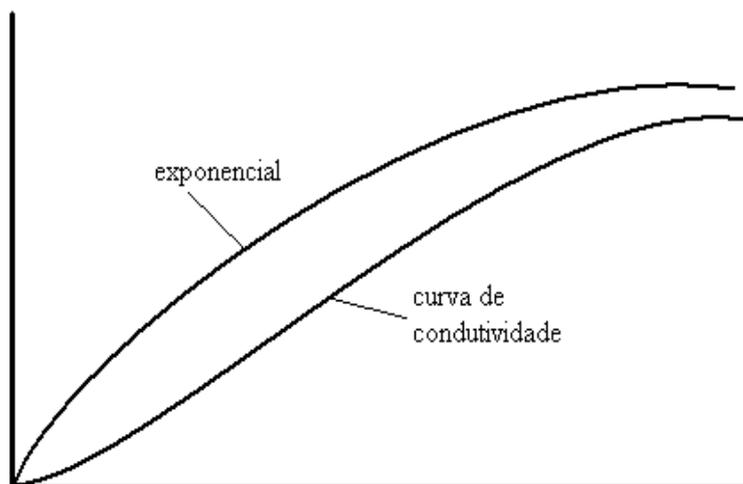
A figura abaixo mostra os comportamentos da condutividade do potássio para vários valores da voltagem grampeada:



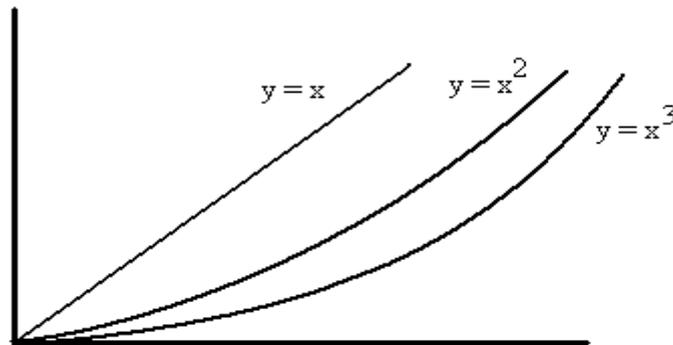
Observando seus dados, Hodgkin e Huxley pensaram em *fitar* as curvas de condutividade por uma função envolvendo uma exponencial, tal como

$$g_K(V, t) = g_K(V) \left( 1 - e^{-t/\tau(V)} \right),$$

com  $g_K$  e  $\tau$  dependentes do valor da voltagem. No entanto, uma exponencial simples como a da função acima não daria um bom ajuste. A figura abaixo mostra porque. Uma curva de condutividade tem inclinação nula em  $t = 0$ , enquanto que uma exponencial tem inclinação não nula.



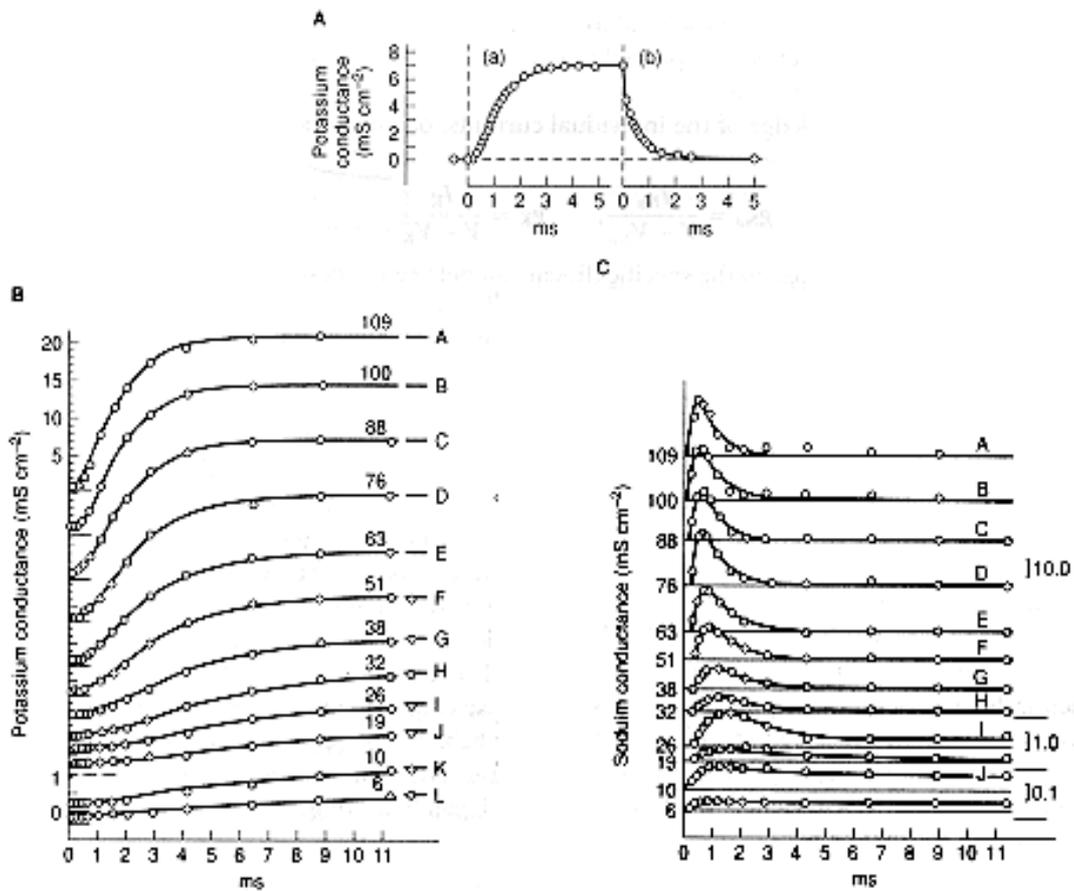
Existem muitas maneiras de se gerar uma função matemática que se pareça melhor com a curva experimental de uma condutividade. Uma delas é lembrando que, para  $x$  pequeno,  $(1 - e^{-x})$  é aproximadamente igual a  $x$ . A função  $x$  elevada a uma potência se aproxima da origem com inclinação nula (veja a figura abaixo). Por outro lado, para  $x \rightarrow \infty$ ,  $(1 - e^{-x}) \rightarrow 1$ , assim como  $(1 - e^{-x})$  elevada a qualquer expoente. Isto implica que uma função que envolva um termo do tipo  $(1 - e^{-t/\tau})$  pode ser capaz de *fitar* a curva experimental da condutividade: para  $t \rightarrow 0$  ela se aproxima da origem com inclinação nula e para  $t \rightarrow \infty$  ela *satura* em um valor constante.



Hodgkin e Huxley propuseram uma expressão do tipo abaixo para descrever o comportamento da condutividade do potássio para cada valor de  $V$ .

$$g_K(V, t) = \bar{g}_K \left[ n_\infty(V) \left( 1 - e^{-t/\tau} \right) \right]^N$$

Nesta expressão,  $\bar{g}_K$  é o maior valor possível que a condutância por unidade de área pode atingir durante a aplicação do grampo de voltagem por um longo tempo. O valor  $n_\infty(V)$  varia entre 0 e 1 e determina o valor assintótico da condutividade  $g_K$  para um dado valor de voltagem grampeada (ele determina qual a fração de  $\bar{g}_K$  que vai ser atingida em  $t \rightarrow \infty$  para um dado valor de voltagem).



Variações nas condutividades do potássio e do sódio em função do tempo para diferentes valores do grampo de voltagem. **A:** Resposta de  $g_K$  a um aumento em  $V$  do tipo degrau, seguido por um decréscimo também do tipo degrau. **B:** Respostas de  $g_K$  a aumentos em  $V$  do tipo degrau de diferentes valores. O número em cada curva dá a despolarização aplicada em mV. Os pontos são os dados experimentais e as curvas sólidas são as soluções do modelo de Hodgkin-Huxley com a condição inicial  $g_K(t=0) = 0,24 \text{ mS/cm}^2$ . A escala vertical é a mesma nas curvas de A e J, mas está aumentada por um fator 4 nas demais curvas. Para maior clareza, a linha de base de cada curva foi desviada para cima. **C:** Respostas de  $g_{Na}$  a aumentos em  $V$  do tipo de grau de diferentes valores, indicados pelos números à esquerda (em mV). As curvas suaves são as soluções do modelo de Hodgkin-Huxley. As escalas verticais à direita estão em unidades de  $\text{mS/cm}^2$ . (Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F., A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Journal of Physiology, London*, 117: 500-544, 1952. Figuras 2, 3 e 6).

Após muitas tentativas, Hodgkin e Huxley obtiveram um bom ajuste para os seus dados com um expoente  $N = 4$  na expressão proposta (este valor foi o menor expoente capaz de fornecer uma concordância aceitável da equação aos dados experimentais). Desta maneira, para cada valor de  $V$ , o comportamento experimental da condutividade do potássio (veja a figura da página anterior) pode ser bem descrito empiricamente pela expressão

$$g_K(V, t) = \bar{g}_K n^4(V, t),$$

com

$$n(V, t) = n_\infty(V) \left( 1 - e^{-t/\tau(V)} \right).$$

Note que, para um dado valor de  $V$ , a função  $n(V, t)$  acima é solução da equação diferencial

$$\tau_n(V) \frac{dn}{dt} = n_\infty(V) - n,$$

para constantes  $\tau_n(V)$  e  $n_\infty(V)$  (para cada valor de  $V$  estas constantes assumem valores diferentes). Notem que começamos a usar o sub-índice  $n$  nas constantes, para indicar que elas são relativas à variável  $n$  sendo usada para o potássio.

A variável  $n(V, t)$  é chamada de variável de ativação do potássio. A equação diferencial acima descreve como a ativação do potássio aumenta até atingir a saturação para um dado valor de voltagem.

Para completar a modelagem fenomenológica da variação da condutividade do potássio, Hodgkin e Huxley tiveram que determinar como os parâmetros  $\tau_n(V)$  e  $n_\infty(V)$  dependem de  $V$ . Isto foi feito com base na análise de gráficos como os mostrados na página anterior. As equações obtidas por eles para  $\tau_n(V)$  e  $n_\infty(V)$  serão mostradas mais adiante.

A determinação da variação temporal da condutividade do sódio para cada valor de grampo de voltagem foi feita de maneira similar por Hodgkin e Huxley. Porém, olhando para as curvas dando  $g_{Na}$  contra  $t$ , vemos que o comportamento de  $g_{Na}$  é mais complicado que o de  $g_K$ . A condutância do sódio inicialmente sobe em resposta ao aumento do potencial, mas depois decai enquanto o potencial fica mantido num valor alto.

Para explicar este comportamento, Hodgkin e Huxley propuseram que a condutância do sódio deve ser da forma

$$g_{Na}(V, t) = \bar{g}_{Na} m^3(V, t)h(V, t),$$

onde  $\bar{g}_{Na}$  é o máximo valor que a condutividade do sódio pode atingir (quando todos os canais de sódio estiverem abertos) e  $m$  e  $h$  são funções de  $V$  e  $t$  com valores entre 0 e 1 que determinam, de fato, qual a fração desses canais que está aberta a cada instante de tempo para um dado valor de voltagem aplicado.

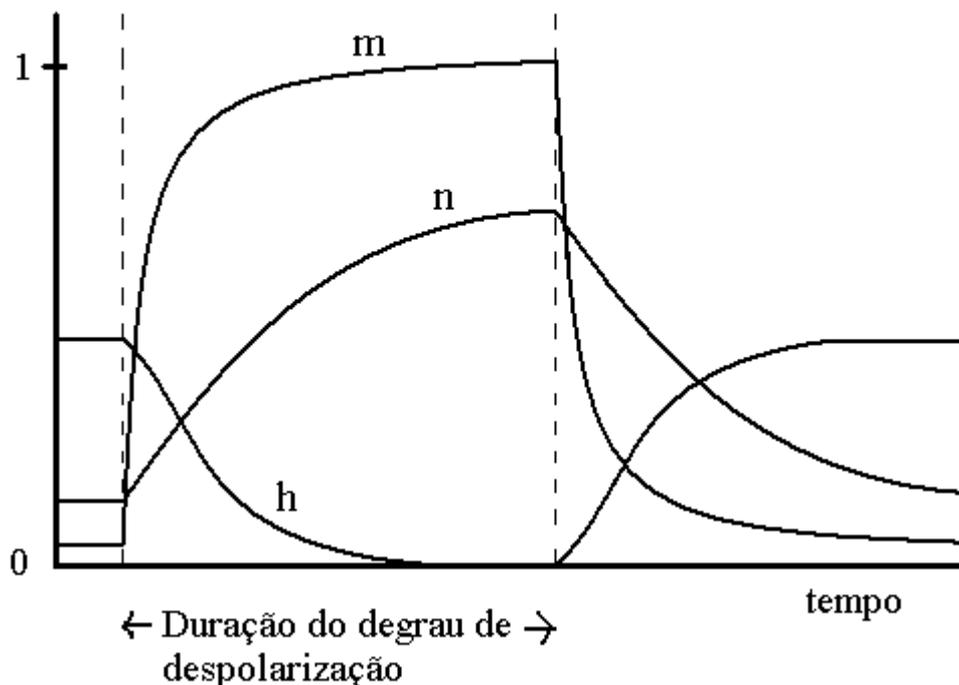
As variáveis  $m$  e  $h$  obedecem equações diferenciais similares àquela para a variável  $n$  do potássio:

$$\tau_m(V) \frac{dm}{dt} = m_\infty(V) - m \quad \text{e} \quad \tau_h(V) \frac{dh}{dt} = h_\infty(V) - h,$$

onde  $\tau_m(V)$ ,  $m_\infty(V)$ ,  $\tau_h(V)$  e  $h_\infty(V)$  têm a mesma interpretação que as variáveis  $\tau_n(V)$  e  $n_\infty(V)$  para o potássio.

Os comportamentos de  $m(t)$  e  $h(t)$  para um dado valor de grampo de voltagem são os seguintes (veja a figura abaixo):  $m$  é inicialmente pequena e aumenta com o tempo; por causa disso, ela é chamada de variável de ativação do sódio. Já  $h$  tem um valor inicial alto e depois decai para zero; por causa disso, ela é chamada de variável de inativação do sódio. Quando  $h = 0$ , a corrente de sódio está completamente inativa. Os expoentes, 3 para  $m$  e 1 para  $h$ , foram determinados por Hodgkin e Huxley como sendo os que proporcionavam o melhor ajuste às curvas experimentais de condutividade obtidas.

### Parâmetros de ativação do modelo de Hodgkin-Huxley



O mecanismo de geração de um potencial de ação pode ser entendido a partir de uma análise da figura acima. Inicialmente, existe um balanço entre a corrente de Na para dentro e a corrente de K para fora. No repouso,  $m$  é pequena e  $h$  é bastante grande, de maneira que  $m^3h$  é pequeno, mas não nulo. A variável de ativação do K,  $n$ , tem um valor intermediário, mas  $n^4$  é também pequeno. Após o início do pulso de voltagem, a despolarização aumenta  $m$  e os canais de Na se abrem. Após alguns milissegundos,  $h$  vai a zero e a condutância do Na se inativa. Enquanto isso,  $n$  aumenta e a condutância do K cresce, atingindo um valor estacionário alto. Após o fim do pulso,  $n$ ,  $m$  e  $h$  retornam aos seus valores de repouso.

## Intrepretação Microscópica dos Parâmetros $n$ , $m$ e $h$ :

Embora na época de Hodgkin e Huxley não se soubesse da existência de canais iônicos, as variáveis  $n$ ,  $m$  e  $h$  propostas por eles são atualmente interpretadas nesses termos.

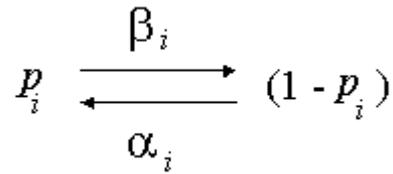
Uma condutividade macroscópica, como por exemplo  $g_K$ , pode ser vista como resultante do efeito combinado de um número enorme de canais microscópicos incrustados na membrana. Pode-se imaginar que cada canal individual contém alguns portões que regulam o fluxo dos íons pelo canal. Um portão individual pode estar em um de dois estados possíveis: permissivo e não-permissivo. Quando todos os portões de um canal individual estão no estado permissivo, o canal está aberto e os íons podem passar por ele. Se pelo menos um dos portões de um canal estiver no estado não-permissivo, os íons não podem passar por ele e ele está fechado.

Podemos supor que a probabilidade de que um portão esteja no estado permissivo ou não-permissivo depende do potencial  $V$  através da membrana.

Para um dado portão de um tipo  $i$ , podemos definir a probabilidade de que ele esteja no estado permissivo como  $p_i$  (um número entre 0 e 1). Se considerarmos um grande número de canais, podemos interpretar  $p_i$  como sendo a fração de portões do tipo  $i$  na população que estejam no estado permissivo. Da mesma maneira,  $(1 - p_i)$  é a fração de portões do tipo  $i$  que está no estado não-permissivo.

Devemos considerar que os portões podem mudar do estado não-permissivo para o permissivo e vice-versa.

Podemos modelar as transições entre os estados não-permissivo e permissivo por um modelo cinético (como na cinética química):



onde  $\alpha_i$  é a taxa (dependente de  $V$ ) de transições entre o estado não-permissivo e o permissivo, e  $\beta_i$  é a taxa (dependente de  $V$ ) de transições do estado permissivo para o não-permissivo. A unidade de  $\alpha_i$  e de  $\beta_i$  é o  $\text{seg}^{-1}$ .

Matematicamente, o modelo cinético expresso acima corresponde à seguinte equação diferencial:

$$\frac{dp_i}{dt} = \alpha_i(V)(1 - p_i) - \beta_i(V)p_i.$$

Definindo-se duas novas variáveis,

$$p_{i,\infty} = \frac{\alpha_i(V)}{\alpha_i(V) + \beta_i(V)} \quad \text{e} \quad \tau_i = \frac{1}{\alpha_i(V) + \beta_i(V)},$$

a equação acima pode ser reescrita numa forma mais familiar:

$$\tau_i \frac{dp_i}{dt} = p_{i,\infty} - p_i.$$

Note que esta equação é formalmente idêntica à utilizada no modelo de Hodgkin-Huxley para descrever o comportamento temporal dos parâmetros  $n$ ,  $m$  e  $h$ . A sua solução indica que, para uma dada voltagem de grampeamento aplicada, a fração de portões do tipo  $i$  no estado permissivo varia exponencialmente (com uma constante temporal  $\tau_i$ ) até atingir um valor estacionário dado por  $p_{i,\infty}$ .

Quando um canal iônico individual está aberto (isto é, quando todos os seus portões estão no estado permissivo), ele oferece uma pequena contribuição para a condutividade da membrana ao íon. Quando ele está fechado (um dos seus portões está no estado não-permissivo), a sua contribuição para a condutividade é nula.

A condutividade macroscópica de uma membrana a um dado íon é proporcional ao número de canais abertos para aquele tipo de íon. E a probabilidade de que um canal esteja aberto é dada pela probabilidade de que todos os seus portões estejam no estado permissivo. Portanto, a condutividade macroscópica da membrana a um íon  $j$ ,  $g_j$ , com canais iônicos constituídos por portões do tipo  $i$ , pode ser escrita como:

$$g_j = \bar{g}_j \prod_i p_i,$$

onde  $\bar{g}_j$  representa a máxima condutividade possível quando todos os canais estão abertos e o produto da equação acima estende-se pelo número de portões do tipo  $i$ . Note que assumiu-se que as probabilidades de que os portões estejam no estado permissivo são independentes entre si.

O modelo de Hodgkin-Huxley pode ser expresso em termos do modelo cinético descrito acima. Para tanto, basta reinterpretar um canal de potássio como sendo composto por quatro portões do tipo  $n$  e um canal de sódio como sendo composto por três portões do tipo  $m$  e um portão do tipo  $h$ .

Quando a membrana é despolarizada por um grampo de voltagem, a probabilidade de que um portão do tipo  $n$  esteja no estado permissivo cresce com o tempo (veja a figura da página 11). O mesmo se aplica a um portão do tipo  $m$ . Já a probabilidade de que um portão do tipo  $h$  esteja no estado permissivo decresce com o tempo, chegando a zero.

## Resumo do Modelo de Hodgkin-Huxley

Após tudo o que foi apresentado, o modelo de Hodgkin-Huxley pode ser resumido pelo seguinte conjunto de equações diferenciais:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1-n) - \beta_n(V), \text{ (Ativação do Potássio)}$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1-m) - \beta_m(V), \text{ (Ativação do Sódio)}$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1-h) - \beta_h(V), \text{ (Inativação do Sódio)},$$

onde as dependências dos  $\alpha$ s e dos  $\beta$ s com  $V$  foram determinadas com base nos ajustes das curvas de condutividade (pelas determinações de  $n_\infty$ ,  $m_\infty$ ,  $h_\infty$ ,  $\tau_n$ ,  $\tau_m$  e  $\tau_h$ ) por Hodgkin e Huxley como:

$$\alpha_n(V) = \frac{10-V}{100 \left( e^{\frac{(10-V)}{10}} - 1 \right)} \quad \text{e} \quad \beta_n(V) = 0,125 e^{-V/80} \text{ (potássio)}$$

$$\alpha_m(V) = \frac{25-V}{10 \left( e^{\frac{(25-V)}{10}} - 1 \right)} \quad \text{e} \quad \beta_m(V) = 4 e^{-V/18} \text{ (sódio)}$$

$$\alpha_h(V) = 0,07 e^{-V/20} \quad \text{e} \quad \beta_h(V) = \frac{1}{e^{\frac{(30-V)}{10}} + 1} \text{ (sódio)}.$$

A voltagem  $V$  que aparece nestas equações é o potencial de membrana em relação ao potencial de repouso do axônio gigante da lula, em milivolts.

Para o canal passivo de vazamento, Hodgkin e Huxley determinaram experimentalmente:  $g_{vaz} = 0,3 \text{ mS/cm}^2$  e  $E_{vaz} = 10,613 \text{ mV}$ .

$$\boxed{C_m \frac{dV}{dt} = \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V - E_K) + g_{vaz} (V - E_{vaz}) + I_{inj}}$$

A solução numérica das equações do modelo de Hodgkin e Huxley mostra o aparecimento de potenciais de ação para correntes acima de um valor limiar, conforme observado experimentalmente.

O exemplo abaixo é de uma simulação das equações de Hodgkin e Huxley implementada no Matlab, com um potencial de repouso  $V_{rep} = -65\text{mV}$  e uma corrente injetada  $I_{inj} = 10\ \mu\text{A}$  durante 1 ms.

