

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR
PROGRAMA DE ESPECIALIZAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR

JOÃO VICTOR CAPELLI PEIXOTO

ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO CONTRAÇÃO EM MÚSCULO CARDÍACO: ESTUDO DE
REVISÃO

CURITIBA
2012

JOÃO VICTOR CAPELLI PEIXOTO

ACOPLAMENTO EXCITAÇÃO CONTRAÇÃO EM MÚSCULO CARDÍACO: ESTUDO DE
REVISÃO

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de especialista em Biologia Celular, curso de Pós-Graduação em Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Rosalvo T. H. Fogaça

CURITIBA
2012

Agradecimentos:

Agradeço a Deus pelo berço onde nasci, a meus pais que sempre fizeram o melhor por mim e me incentivaram a estudar, a minha irmã, pela amizade, pelo incentivo e pelo apoio, ao meu orientador Professor Dr. Rosalvo Fogaça por estar presente e pelos ensinamentos, ao Professor Dr. Carlos Damiani pela disposição e a Professora Dr. Ilana Kassouf Silva pelo incentivo.

Agradeço aos Professores do Programa de Biologia Celular e a todos que participaram de alguma forma durante esta fase.

Sumário:

Introdução-----	6
Anatomia-----	7
Parede do coração-----	8
Sistema de condução-----	8
Sinalização celular-----	13
Células e organelas-----	16
Canais bombas e trocadores-----	20
Potencial de ação no músculo cardíaco-----	25
Acoplamento excitação contração-----	29
Conclusão-----	30
Bibliografia-----	32

Lista de Figuras:

Figura 1: Localização do coração-----	9
Figura 2: Anatomia cardíaca-----	10
Figura 3: As válvulas cardíacas-----	11
Figura 4: As camadas do coração-----	12
Figura 5: A fibra muscular cardíaca-----	17
Figura 6: O sarcômero-----	18
Figura 7: As proteínas contráteis-----	18
Figura 8: Junções comunicantes, de aderência e desmosomos-----	19
Figura 9: Organização do retículo sarcoplasmático-----	22
Figura 10: Os potenciais de ação cardíaco-----	25

1-Introdução:

A existência do coração já era conhecida pelos antigos gregos, que deram o nome de *kardia*, como cardíaco e taquicardia. Os romanos modificaram *kardia* para *cor*. A palavra teutônica *herton*, também derivada de *cor* originou a palavra heart, através do inglês medieval *heorte*.

Galen, o pai da fisiologia experimental, por volta de 200 a.C. sabia que o coração punha o sangue em movimento. Ele descobriu que as artérias continham sangue e, não ar. Galen pensava que havia poros entre o lado direito e esquerdo do coração e, que o espírito vital era formado nos pulmões de uma mistura de ar e sangue. Anos mais tarde, Versalius (1514-1564) mostrou claramente através de dissecações que não havia poros, mas sim um septo separando o lado direito do esquerdo. O ponto crucial foi quando Servetus (1511-1553) identificou a circulação direita e a circulação esquerda (Opie, 1998).

O presente estudo de revisão tem por objetivo analisar bibliografias relacionadas ao acoplamento excitação contração do músculo cardíaco, evento que define desde o momento da despolarização da membrana até a liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático (Sandow, 1952).

2- Anatomia:

O coração é um órgão em forma de cone, com o tamanho aproximado de uma mão fechada, e localizado por entre os pulmões num espaço denominado mediastino, onde se situa obliquamente. É descrito como possuindo uma base, um ápice, faces diafragmática e esternocostal (figura 1) (Spence, 1991; Silverthorn, 2003). A base do coração está voltada para cima, para trás e para direita, ao nível da segunda e terceira costelas. É formada pelo átrio esquerdo, parte do átrio direito, e a porção proximal dos grandes vasos que penetram pela parte posterior do coração. O ápice ocupa o quinto espaço intercostal esquerdo. A face diafragmática é a região entre a base e o ápice que repousa sobre o músculo diafragma. Esta envolve os ventrículos direito e esquerdo. A face esternocostal é a face anterior do coração, formada pelo ventrículo e átrio direitos.

O coração é uma bomba que move o sangue através de um sistema circulatório. Possui quatro câmaras providas de valvas que direcionam o fluxo sanguíneo. Suas paredes são compressíveis e proporcionam força capaz de impulsionar o sangue através dos vasos a partir do coração e de volta para o coração.

Câmaras do coração:

O coração apresenta quatro câmaras: átrio direito, átrio esquerdo, ventrículo direito e ventrículo esquerdo. Os átrios são menores e se localizam na parte superior do coração, os ventrículos são maiores e constituem o volume principal do órgão. Os átrios são separados entre si por um septo interatrial e os ventrículos separados por um septo interventricular (Powers & Howley, 2000).

Veias e artérias do coração:

Vários vasos sanguíneos de grande calibre entram ou saem do coração pela sua base, como veia cava superior e veia cava inferior, que trazem o sangue venoso para o átrio direito, artéria troncopulmonar que se divide em artéria pulmonar direita e esquerda, e que levam o sangue do ventrículo direito para os pulmões, veias pulmonares, duas direitas e duas esquerdas, que trazem o sangue do pulmão para o átrio esquerdo e artéria aorta, que leva o sangue do ventrículo esquerdo para o corpo (figura 2) (Spence, 1991; Silverthorn, 2003).

Valvas do coração:

Existem quatro grupos de válvulas cardíacas que direcionam o fluxo sanguíneo através das câmaras cardíacas, impedindo que o sangue reflua. São as valvas atrioventriculares e as valvas semilunares (figura 3).

Valvas atrioventriculares:

Localizadas entre os átrios e os ventrículos, as duas valvas atrioventriculares são pregas de endocárdio com uma estrutura de tecido conjuntivo. As cúspides são ancoradas aos músculos papilares dos ventrículos através de cordas tendíneas. Os papilares que são prolongamentos de miocárdio exercem tensão sobre as cúspides das valvas, impedindo que as

valvas sejam forçadas para o interior dos átrios quando da contração ventricular, sendo que a valva atrioventricular direita possui três cúspides, e por isso denominada tricúspide e a valva atrioventricular esquerda possui duas cúspides e é conhecida como bicúspide ou mitral.

Valvas semilunares:

Após a contração ventricular o sangue é impedido de retornar aos ventrículos pela função das valvas semilunares que são duas, a valva do tronco pulmonar e a valva da aorta. Ambas possuem três cúspides e estão presas às paredes dos vasos. Quando os ventrículos se contraem, a força do sangue empurra as cúspides contra as paredes dos vasos, abrindo-as e, quando os ventrículos relaxam, o sangue retorna e fecha as valvas (Spence, 1991; Opie, 1998; Silverthorn, 2003).

2.1- Parede do coração:

A parede do coração está constituída por três camadas: Uma camada externa chamada pericárdio, uma membrana serosa muito fina que adere à superfície externa do órgão, permitindo apenas a entrada e saída dos grandes vasos. É composto por duas camadas, uma em contato com o coração e outra em contato com os pulmões e outros tecidos que circundam o coração. As camadas possuem entre si um líquido lubrificante que permite o movimento do coração durante a sístole e a diástole. Uma camada média chamada miocárdio, responsável pela contração e ejeção de sangue do coração. O miocárdio é revestido internamente pelo endocárdio, que é composto por tecido conjuntivo e é contínuo com o endotélio que reveste todos os vasos do corpo (artérias, veias e capilares) (figura 4) (Spence, 1991; Opie, 1998; Powers & Howley, 2000).

Impulso Apical:

A parede ventricular esquerda é três vezes mais grossa que a parede ventricular direita e possui fibras dispostas em várias camadas. Nas camadas interna e externa as fibras correm longitudinalmente em direção do ápice à base do coração. As fibras do centro correm circunferencialmente. Com este padrão de fibras, quando o músculo se contrai, ele não apenas impulsiona o sangue, mas gira o coração pra frente em direção ao tórax, de forma que isso pode ser sentido pelo lado de fora, e é conhecido como impulso apical (Opie, 1998).

2.2- Sistema de condução:

O músculo cardíaco funciona involuntariamente sendo inervado por fibras do sistema nervoso autônomo. O nodo sino atrial é inervado por fibras simpáticas e parassimpáticas que funcionam reciprocamente para controlar a frequência cardíaca, aumentando ou diminuindo a frequência das despolarizações (Costanzo, 2004). Cada vez que o coração bate, é devido a uma onda elétrica que inicia espontaneamente em células especializadas no átrio direito. Do nodo sino atrial, o impulso elétrico percorre rapidamente através de fibras internodais o átrio direito e esquerdo até chegar a um segundo nodo, o nodo átrio ventricular. O impulso diminui a velocidade e então se espalha por outro tecido especializado de condução, o feixe de His. Na

sequência se divide pelos feixes direito e esquerdo das fibras de Purkinje iniciando a contração ventricular (Opie, 1998).

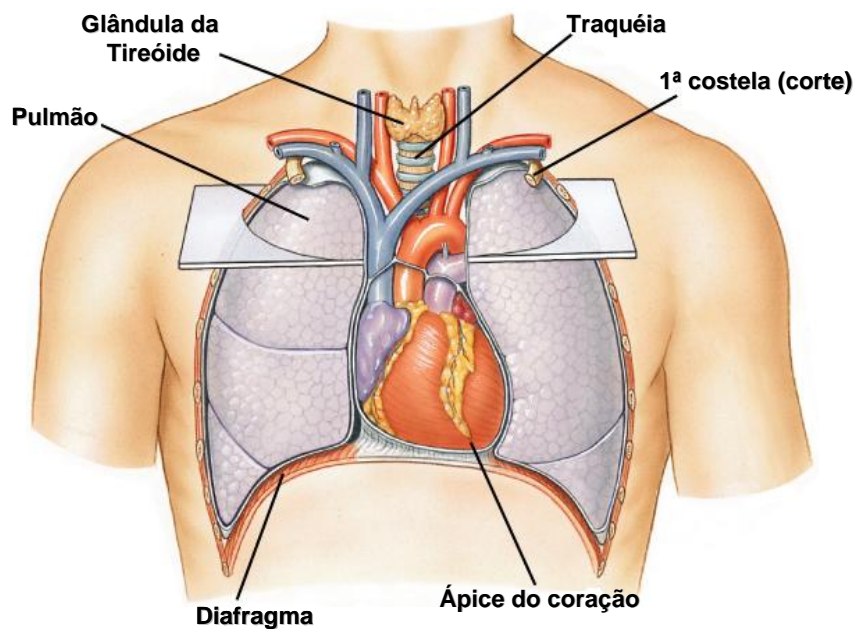


Figura 1- O coração está no lado ventral da cavidade torácica, entre os dois pulmões. (Fonte: Dee U. Silverthorn. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada. Editora Manole, 2ª edição, 2003).

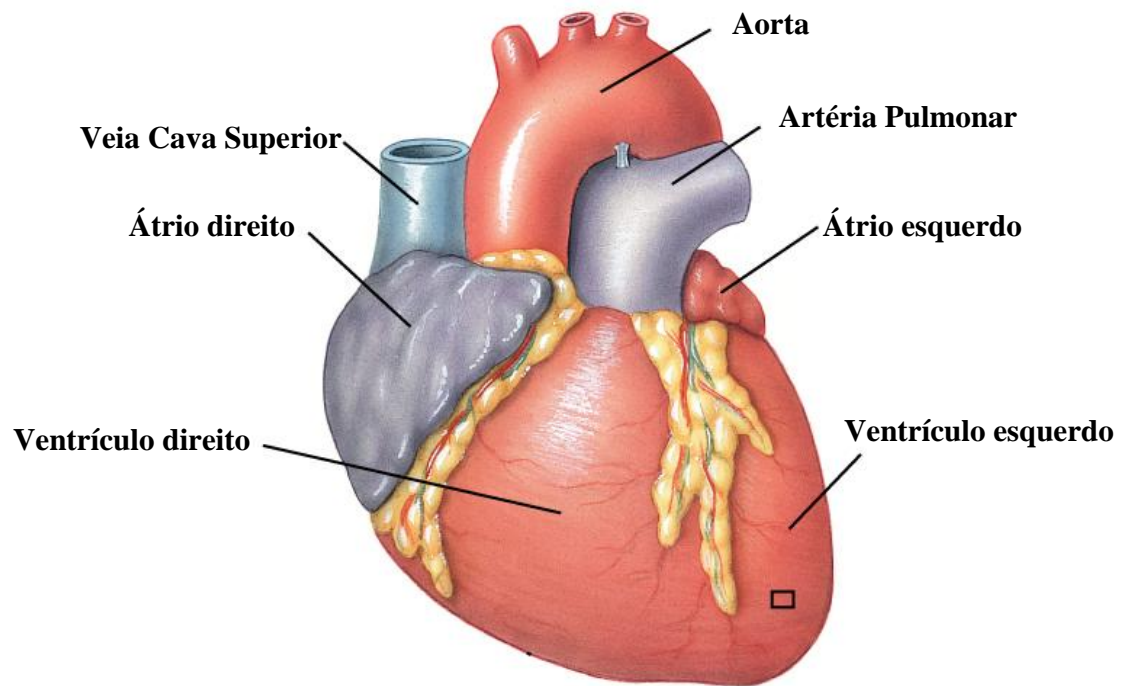


Figura 2- Os ventrículos ocupam o maior volume do coração. Todas as artérias e vasos ligam-se à base do coração. (Fonte: Dee U. Silverthorn. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada. Editora Manole, 2ª edição, 2003).

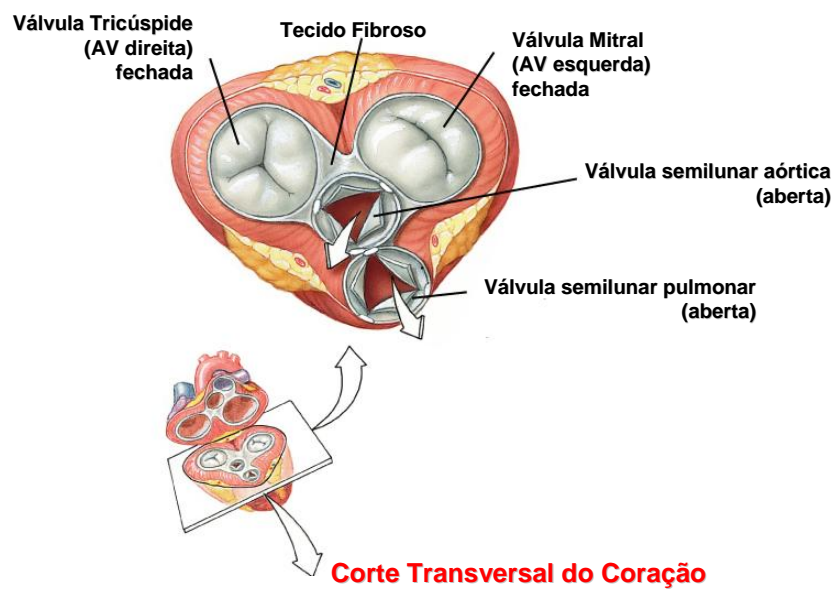


Figura 3- As válvulas cardíacas: As atrioventriculares (AV), são valvas que separam os átrios dos ventrículos. Durante a contração ventricular, essas valvas permanecem fechadas para impedir que o sangue flua de volta para os átrios. As válvulas semilunares impedem que o sangue que entrou nas artérias volte para os ventrículos durante o relaxamento ventricular. A figura mostra as válvulas AV direita e esquerda fechadas e as válvulas semilunares aórtica e pulmonar abertas. (Fonte: Dee U. Silverthorn. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada. Editora Manole, 2ª edição, 2003).

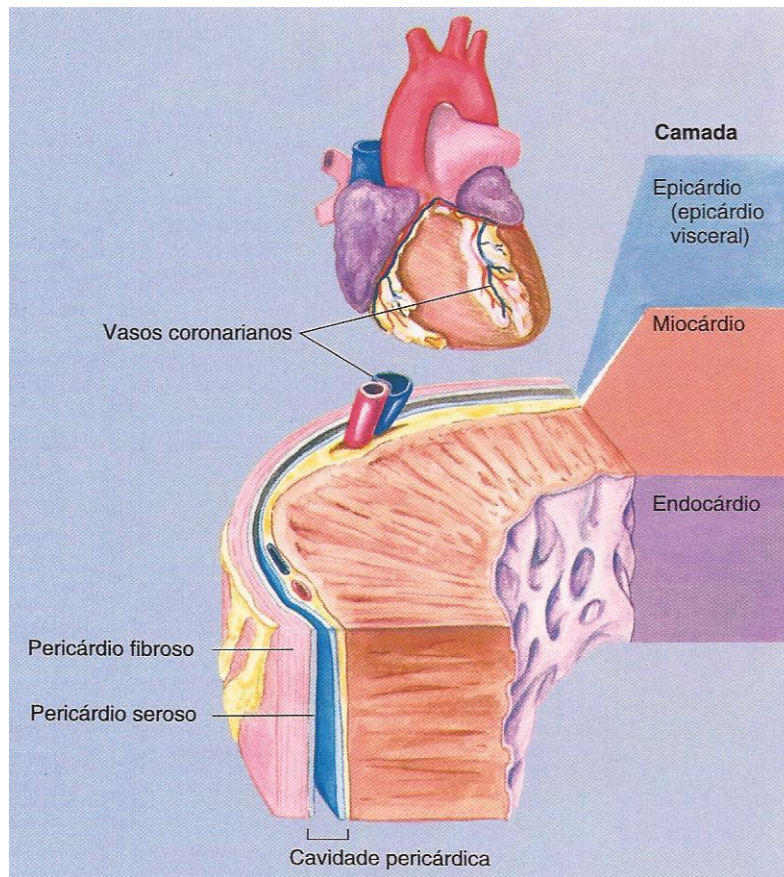


Figura 4- As camadas do coração: endocárdio, um tecido conjuntivo que é contínuo com o endotélio que reveste todos os vasos do corpo, miocárdio, tecido responsável pela contração e ejeção de sangue do coração e pericárdio, dividido em pericárdio fibroso e pericárdio seroso, que possuem entre si um líquido lubrificante que permite o movimento do coração durante a sístole e a diástole. (Fonte: Powers & Howley. Fisiologia do exercício. Editora Manole, 3ª edição. 2000)

3- Sinalização celular: Receptores acoplados a proteína G.

Uma proteína G é um interruptor molecular (Berne & Levy, 2000), heterotrímeros constituídos de subunidades alfa, beta e gama (Aires *et al*, 2008). A ligação de uma molécula sinalizadora extracelular ao receptor transmembrana sete passos, induz a uma mudança conformacional que permite ativar uma proteína G localizada na parte de dentro da membrana plasmática. Todas as proteínas G são semelhantes na sua estrutura e desempenham funções de forma semelhante, são formadas por três unidades, alfa, beta e gama, duas das quais estão ligadas a membrana plasmática por caudas lipídicas curtas. No estado não estimulado a subunidade alfa possui uma GDP ligada e a proteína G está inativa. A ligação de um ligante extracelular com seu receptor causa sua alteração e conseqüente ativação da proteína G pela perda da afinidade da subunidade alfa por GDP, que é trocada por uma molécula de GTP. Esta ativação separa as subunidades da proteína G. A subunidade alfa ligada, em união a seu GTP, se separa do complexo beta/gama gerando duas moléculas separadas que se deslocam independentemente ao longo da membrana. As duas partes da proteína G ativada (subunidade alfa e o complexo beta/gama) podem interagir diretamente com as proteínas alvo localizadas na membrana plasmática, que por sua vez podem transmitir os sinais para outros destinos. O espaço de tempo que as unidades alfa e beta/gama permanecem dissociadas e por tanto disponíveis para transmitir sinais é limitado pelo comportamento da subunidade alfa. Esta subunidade tem atividade de hidrólise de GTP (GTPase), hidrolisando sua GTP em GDP e associando novamente ao complexo beta/gama, desligando o sinal. Essa reassociação ocorre alguns instantes após a ativação da proteína G. Após reassociada, a proteína G está pronta para ser reativada por outro receptor ativo (Alberts *et al*, 2006; Aires *et al*, 2008; Berne & Levy, 2000).

As proteínas alvo das subunidades da proteína G são canais iônicos ou enzimas ligadas à membrana. O batimento cardíaco é controlado por dois grupos de fibras nervosas, um acelera (simpático) outro diminui (parassimpático) seus batimentos. As fibras que sinalizam uma redução dos batimentos o fazem pela liberação de acetilcolina, que se liga a um receptor associado à proteína G na superfície das células musculares cardíacas. A ligação da acetilcolina ao seu receptor inativa uma proteína G pela dissociação em subunidade alfa e complexo beta/gama. O componente ativo é o complexo beta/gama, que se liga a face intracelular de um canal de potássio, forçando a abertura do canal e o efluxo de potássio. Isso altera as propriedades elétricas da célula, fazendo com que a frequência cardíaca diminua. Quando a subunidade alfa hidrolisa sua GTP e se reassocia ao complexo beta/gama a proteína G volta a ficar inativa (Alberts *et al*, 2006).

A interação das proteínas G com os canais iônicos causa uma mudança imediata no estado e comportamento da célula. Suas interações com enzimas alvo provocam a produção de moléculas sinalizadoras intracelulares adicionais. Os alvos mais freqüentes são a adenilato ciclase, que é a enzima responsável pela síntese do AMP cíclico e a fosfolipase C, enzima responsável pela síntese das moléculas sinalizadoras trifosfato de inositol e diacilglicerol. As moléculas geradas nessas cascatas intracelulares são chamadas de segundos mensageiros. Os primeiros mensageiros são os sinais extracelulares. Os segundo mensageiros são produzidos em grande quantidade quando as enzimas adenilato ciclase ou a fosfolipase C são ativadas e transmitem o sinal por toda a célula (Alberts *et al*, 2006; Nelson & Cox, 2006).

AMP cíclico:

Muitos sinais extracelulares que se ligam a receptores associados a proteína G afetam a atividade da adenilato ciclase e por tanto alteram a concentração intracelular da molécula mensageira AMP cíclico. A subunidade alfa da proteína G estimulada ativa a adenilato ciclase causando aumento na síntese de AMP cíclico a partir do ATP. Esta proteína G é denominada Gs porque estimula a ciclase. Uma segunda enzima denominada fosfodiesterase do AMP cíclico converte rapidamente o AMP cíclico em AMP para eliminar o sinal (Alberts *et al*, 2006; Nelson & Cox, 2006).

O AMP cíclico exerce seus efeitos pela ativação da enzima proteínquinase dependente de AMP cíclico (PKA). Esta enzima é mantida inativa em complexo com outra proteína. A ligação do AMP cíclico causa uma mudança conformacional deste complexo liberando a quinase ativa. A PKA ativada catalisa a fosforilação de serinas e treoninas específicas em determinadas proteínas intracelulares, alterando suas atividades (Alberts *et al*, 2006; Nelson & Cox, 2006).

Fosfolipase C:

A fosfolipase C quando ativada propaga o sinal pela degradação de uma molécula lipídica que é um componente da membrana plasmática. A molécula é o fosfolipídio de inositol (um fosfolipídio que contém um açúcar de inositol ligado à sua cabeça polar) que está presente na face citosólica da bicamada lipídica da membrana plasmática. A cascata funciona quando a fosfolipase C remove o açúcar-fosfato do fosfolipídio de inositol e gera duas moléculas mensageiras, o 1,4,5 trifosfato de inositol (IP3) e o diacilglicerol (DAG). O IP3 se difunde para o citosol enquanto DAG permanece na membrana plasmática. Estas moléculas têm atuação na sinalização dentro da célula (Alberts *et al*, 2006; Nelson & Cox, 2006).

O IP3 é liberado no citosol, chega ao retículo sarcoplasmático e se liga aos canais de cálcio do retículo, ou receptores de IP3 (IP3R), abrindo-os. O cálcio armazenado dentro do retículo é liberado para o citosol, causando aumento na concentração citoplasmática do íon. Juntamente com o cálcio, o diacilglicerol ativa uma proteínquinase. Esta enzima é denominada proteínquinase C (PKC), porque ela precisa se ligar ao cálcio para se tornar ativa. Uma vez ativada, a PKC fosforila um conjunto de proteínas intracelulares. A PKC tem o mesmo mecanismo de ação da PKA, mas suas proteínas alvo são diferentes.

Um sinal de cálcio desencadeia muitos processos biológicos, como por exemplo, inicia a contração muscular. A concentração de cálcio livre no citoplasma de uma célula não estimulada é baixa, cerca de 10^{-7} M, quando comparado a concentração de cálcio extracelular ou no retículo sarcoplasmático. Essas diferenças são mantidas por bombas inseridas nas membranas que bombeiam o cálcio para dentro do retículo ou para fora da célula, resultando num alto gradiente eletroquímico de cálcio através da membrana do retículo ou da membrana plasmática. Quando um sinal abre transitoriamente os canais de cálcio, o íon se desloca rapidamente a favor do seu gradiente de concentração e desencadeia mudanças nas proteínas sensíveis a ele. Estas são chamadas proteínas ligadoras de cálcio. A mais comum é a calmodulina (Alberts *et al*, 2006). A calmodulina é uma proteína com quatro sítios de ligação

com alta afinidade pelo cálcio (Nelson & Cox, 2006). Esta proteína está presente no citosol de todas as células eucarióticas (Alberts *et al*, 2006).

Quando o cálcio intracelular aumenta até cerca de 10^{-6} M a ligação do cálcio à calmodulina direciona uma mudança de conformação na proteína que a torna capaz de alterar as atividades de uma ampla gama de proteínas alvo (Alberts *et al*, 2006; Nelson & Cox, 2006). A calmodulina é membro de uma família de proteínas de ligação ao cálcio que também incluem a troponina, que desencadeia a contração muscular em resposta ao aumento de cálcio. A calmodulina é também uma subunidade integral de uma família de enzimas, as proteínas quinases dependentes de cálcio/calmodulina (CaM quinase 1- 4) (Nelson & Cox, 2006). Quando a concentração de cálcio no meio intracelular aumenta em resposta a alguns estímulos, a calmodulina liga-se ao cálcio, sofre uma alteração na conformação e ativa a CaM quinase. A quinase fosforila então varias enzimas alvo regulando suas atividades.

Estimulação dos receptores beta adrenérgicos do coração: CaMK2

A estimulação simpática dos receptores beta adrenérgicos do coração induz a efeitos inotrópicos (aumento da força de contração) e cronotrópicos (aumento da frequência cardíaca). O AMP cíclico é formado através de mediação beta adrenérgica, ativando a adenil ciclase e subseqüentemente ativando a PKA dependente de AMP cíclico. Os eventos moleculares seguintes culminam na ativação da cálcio/calmodulina dependente de proteína quinase 2. Segundo Grimm & Brown, 2010, suas funções não são completamente conhecidas.

A auto fosforilação da enzima no sítio thr 287 prende cálcio e calmodulina, ativando a CaMK2 (Cálcio calmodulina dependente de proteína quinase A). Este evento só ocorre na presença de cálcio. Por seguinte CaMK2 se liga a sítios nas proteínas reguladoras de cálcio, fosforilando-as. As mais estudadas são thr 17 no fosfolambano e ser 2815 nos receptores de rianodina 2. Estes sítios são aceitos por alvos da estimulação beta adrenérgica, regulando a contração e o relaxamento do músculo cardíaco, afetando a recaptação de cálcio e sua liberação do reticulo sarcoplasmático. Os sítios thr 17 e ser 2815 são específicos de CaMK2.

A inibição do influxo de cálcio pelos canais tipo L bloqueiam os alvos no fosfolambano de fosforilação por CaMK2. Em contraste os alvos no fosfolambano de fosforilação por PKA permanecem sendo fosforilados, independente da entrada de cálcio pelos canais tipo L. Os autores sugerem, baseando-se na cinética da calmodulina, que o CaMK2 é ativado em resposta a altos níveis de cálcio em alguns locais restritos, e não em todo citosol, durante o processo de acoplamento excitação contração. O local mais possível que isso ocorra é na fenda da díade devido à presença de canais tipo L próximos a receptores de rianodina2. Durante a estimulação beta adrenérgica há influxo de cálcio pelos canais tipo L e liberação de cálcio pelos RyR2 do retículo sarcoplasmático. Isso aumenta o nível de cálcio na fenda da díade, ativando CaMK2 (Grimm & Brown, 2010).

4- Células e organelas do coração:

Sarcolema:

A membrana celular que envolve a célula muscular cardíaca é denominada sarcolema, sendo esta de natureza lipoprotéica. A porção lipídica é formada por moléculas fosfolipídicas contendo duas cadeias de ácidos graxos na parte central ligadas a porções globulares fosfatadas nas regiões periféricas. A porção protéica tem forma globular, localizando-se na porção interna ou externa da membrana, ou ainda transpassando-a completamente. São de natureza glicoprotéica com funções diversas como receptores ou como canais para diversos tipos de íons. As células do miocárdio ou cardiomiócitos são menores que as células esqueléticas e têm em média 10 a 20 micrômetros de diâmetro e 100 micrômetros de comprimento (Aires *et al*, 2008).

Sarcoplasma:

Abaixo do sarcolema localiza-se o sarcoplasma, onde estão as organelas e as miofibrilas, estas invaginadas pelos túbulos transversos ou túbulos T, que penetram e percorrem transversalmente as células, ramificando-se, envolvendo os sarcômeros ao nível dos discos Z. É um sistema tubular que se abre na membrana superficial estando em contato com o meio extracelular. Os túbulos T estão frente ao retículo sarcoplasmático, uma estrutura intracelular em forma de túbulo que corre entre as miofibrilas e ao nível dos discos Z formam vesículas ou cisternas, que entram em contato com o sistema transverso. A combinação entre um túbulo e duas cisternas forma uma tríade, se for um túbulo e uma cisterna forma-se uma díade (figura 5) (Aires *et al*, 2008).

Túbulo transverso e retículo sarcoplasmático:

Os túbulos transversos ou túbulos T são invaginações da membrana celular muscular que penetram profundamente no interior da fibra muscular e são responsáveis por conduzir a despolarização da superfície da membrana celular até o interior da fibra. Estes túbulos se conectam com o retículo formando tríades e díades e contém um canal voltagem dependente denominado canal diidropiridínico ou DHPP (Costanzo, 2004). O retículo sarcoplasmático é uma estrutura tubular interna, onde é armazenado cálcio para o acoplamento excitação contração. Seu volume nos miócitos ventriculares em diferentes espécies de mamíferos varia entre 0,87 a 7,9% do volume celular. Consiste de duas regiões distintas, o retículo sarcoplasmático juncional que formam as díades com os túbulos transversos e o retículo sarcoplasmático livre que fica junto as miofibrilas. São divididos quase que igualmente entre retículo juncional e retículo livre (Gyorke & Carnes, 2008). O retículo sarcoplasmático também possui um canal, sendo este liberador de cálcio, denominado receptor de rianodina (RyR2). O cálcio se acumula no retículo sarcoplasmático pela ação de uma bomba que usa ATP como fonte de energia denominada SERCA. A SERCA Ca^{2+} ATPase localiza-se na membrana do retículo e bombeia cálcio do líquido intra celular para o interior do retículo, mantendo a concentração intracelular de cálcio baixa enquanto o músculo está relaxado. No interior do retículo o cálcio se liga a uma proteína com capacidade de ligação muito alta, a calsequestrina. Assim a quantidade de cálcio ligado à calsequestrina dentro do retículo é alta e a quantidade de cálcio livre no retículo é extremamente baixa (Costanzo, 2004).

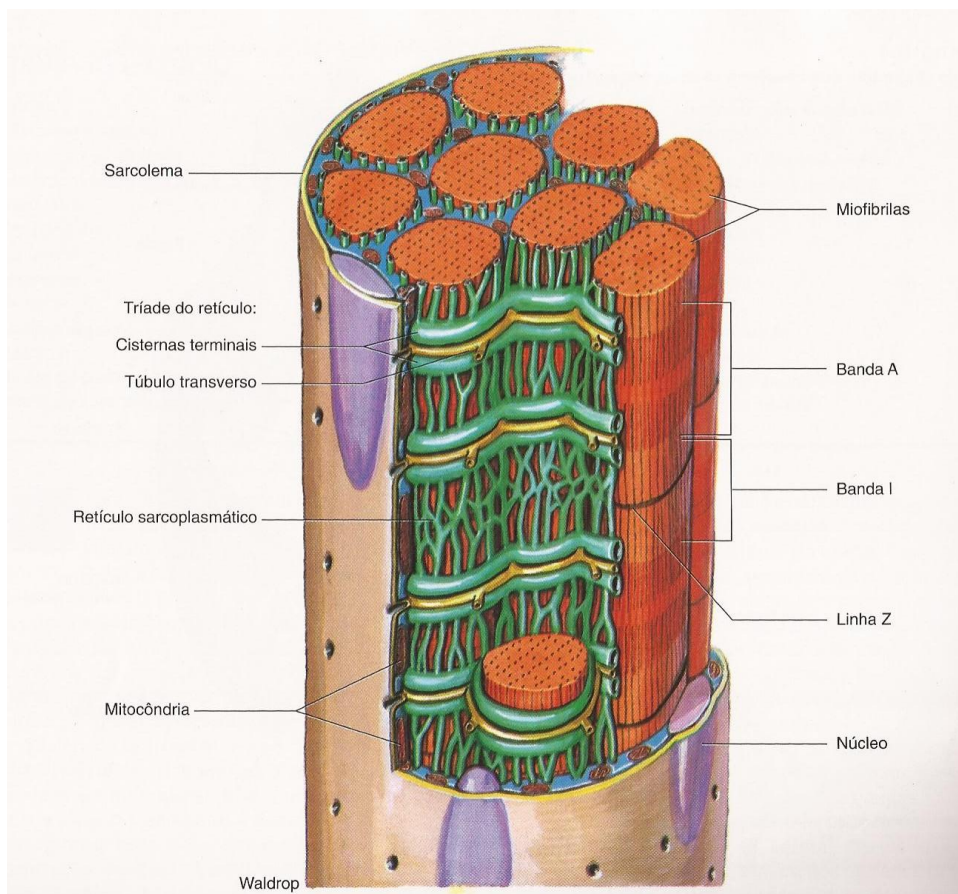


Figura 5- Esquema mostrando detalhes da fibra muscular cardíaca, como miofibrilas, retículo sarcoplasmático e túbulos transversos. (Fonte: Powers & Howley. Fisiologia do exercício. Editora Manole, 3ª edição. 2000)

Proteínas contráteis:

O sarcômero é a unidade contrátil básica, sendo limitado por discos Z. As faixas A são escuras e ficam situadas no centro dos sarcômeros onde estão contidos os filamentos de miosina. Na faixa A os filamentos de miosina e actina se sobrepõem nos locais de formação de pontes cruzadas. As faixas I, são claras, estão localizadas em cada lado da faixa A. Nelas estão contidos os filamentos finos, proteínas dos filamentos intermediários e discos Z. Os discos Z são o local onde toda a estrutura do sarcômero está ancorada, juntamente com as proteínas do citoesqueleto estabelece a arquitetura das miofibrilas. A faixa H está situada no centro de cada sarcômero e possui apenas filamentos grossos. A linha M divide a faixa H em duas partes iguais e possuem proteínas que ancoram os filamentos grossos. Em repouso o sarcômero mede 2,02 micrômetros de comprimento. A partir da linha Z até a extremidade dos filamentos finos mede 1,6 micrômetros e os filamentos grossos 1,5 micrômetros. São nestes filamentos que se encontram as proteínas que participam do processo de contração (Costanzo, 2004; Aires *et al*, 2008) (figura 6). Os filamentos espessos são compostos pela proteína miosina, contendo seis cadeias polipeptídicas, um par de cadeias pesadas e dois pares de cadeias leves. A cadeia pesada da miosina tem estrutura de alfa hélice formando uma cauda. As quatro cadeias leves e a extremidade N terminal de cada cadeia pesada formam as duas cabeças globulares da molécula de miosina, que possui um sítio de ligação para a actina, necessário para a formação das pontes cruzadas. Os filamentos finos são compostos por três proteínas,

actina, tropomiosina e troponina. A actina é uma proteína globular chamada de actina G. Nos filamentos finos ela é formada por dois cordões em forma de alfa hélice formados por actina filamentosa, ou actina F (Costanzo, 2004). A tropomiosina é uma proteína filamentosa em forma de bastão (Berne & Levy, 2000) que se localiza na fenda de cada filamento torcido de actina. Seu propósito é bloquear os locais de ligação entre a miosina e a actina. Caso ocorra a contração, a tropomiosina deve se mover para que haja interação entre miosina e actina. A troponina é uma proteína disposta ao longo da tropomiosina, é formada por um complexo de três proteínas globulares, troponina T, troponina I e troponina C. A troponina T é referente à tropomiosina, ou seja, o local de ligação da troponina, troponina I referente à inibição do sítio de interação da actina com a miosina e a troponina C, referente ao sítio de ligação do cálcio, desempenhando papel no início da contração (figura 7) (Costanzo, 2004).

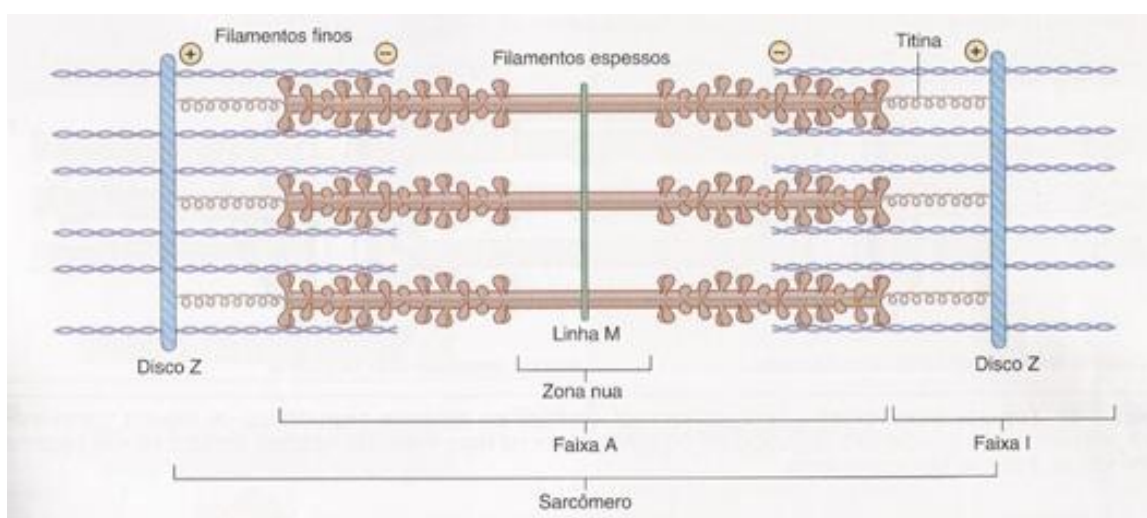


Figura 6- Estrutura do sarcômero. (Fonte: Linda Costanzo. Fisiologia. Editora Elsevier. 2004)

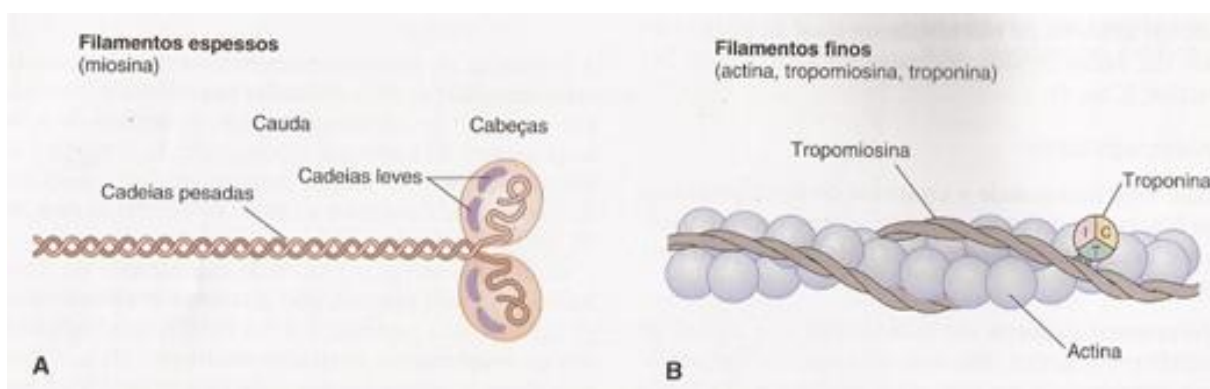


Figura 7- Estrutura dos filamentos grossos (miosina) e dos filamentos finos (actina). (Fonte: Linda Costanzo. Fisiologia. Editora Elsevier. 2004)

Citoesqueleto:

As proteínas do citoesqueleto estabelecem a estrutura das miofibrilas, fazendo com que filamentos espessos e finos estejam alinhados e com a distância correta entre cada um deles. As proteínas do citoesqueleto formam uma malha unindo os filamentos espessos e finos e unindo todos os sarcômeros, mantendo as miofibrilas lado a lado. Toda a disposição miofibrilar está ancorada à membrana celular por uma proteína que se liga à actina, chamada de distrofina. A distrofina ancora os filamentos finos no citoesqueleto, através da membrana, na matriz extracelular (Berne & Levy, 2000). As proteínas longitudinais do citoesqueleto incluem a titina, que está associada aos filamentos espessos e se estende das linhas M aos discos Z. A titina centraliza os filamentos espessos no sarcômero (Costanzo, 2004). A nebulina está associada aos filamentos finos, se estendendo de uma extremidade à outra, regulando o comprimento dos filamentos finos. A alfa actinina ancora os filamentos finos aos discos Z.

Comunicação:

Nas regiões de contato entre as células encontramos inúmeras especializações, tais como desmossomos, regiões de ancoramento e junções de baixa resistência elétrica do tipo gap. As junções do tipo gap permitem ao miocárdio se comportar como um sincício funcional. Estas interconexões por discos intercalares permitem os íons atravessar a célula de um lado a outro, permitindo a transmissão de impulsos nervosos de uma célula à outra. Assim, quando a célula é despolarizada e se contrai, as células conectadas se contraem junto, como uma unidade (figura 8). As células dos átrios não se comunicam com as células dos ventrículos, sendo separados por uma camada de tecido conjuntivo que não permite a transmissão de impulsos elétricos. Desta forma os átrios se contraem separadamente dos ventrículos (Berne & Levy, 1996; Powers & Howley, 2000; Aires *et al*, 2008).

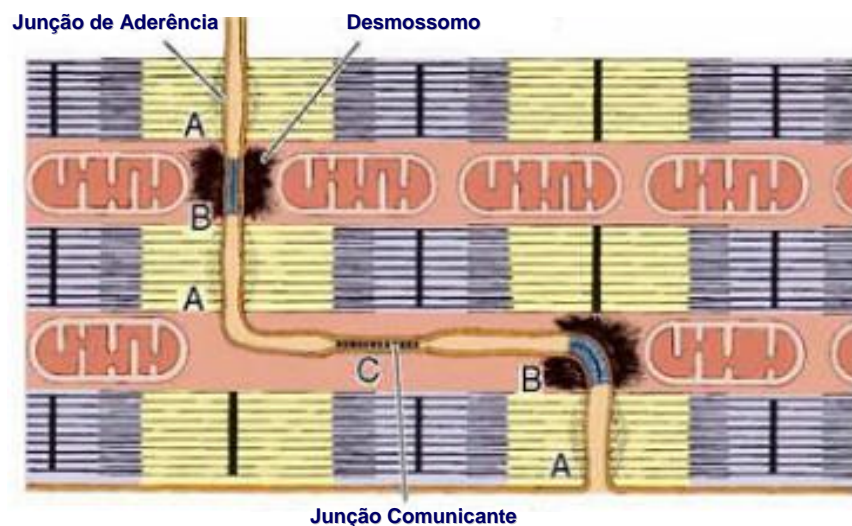


Figura 8- Junções que constituem os Discos Intercalares. Junções de Aderências (A) situadas na parte transversal dos discos prendem ao plasmalema os filamentos de actina dos sarcômeros terminais. Desmossomos (B), encontrados principalmente na parte transversal do disco, unem as células impedindo sua separação durante as contrações. Junções Comunicantes (C) localizadas longitudinalmente, onde as trações são menores, permitem a passagem de íons de uma célula para outra, facilitando a propagação da despolarização da membrana que promove a contração muscular.

4.1- Canais, bombas e trocadores:

Trocador sódio/cálcio (NCX):

Localizado na membrana sarcoplasmática, o NCX funciona como uma bomba eletrogênica, contribuindo para o potencial de repouso da célula, uma vez que troca 3 sódio pra 1 cálcio. No modo à frente, o NCX faz o efluxo do cálcio sendo responsável por remover aproximadamente 28% do cálcio do citosol, (Bers, 2002). No modo reverso, o NCX permite o influxo de cálcio. Segundo Bers, 2008, este influxo seria centenas de vezes menor do que o influxo via canais tipo L. Alguns autores admitem a possibilidade disso contribuir para CICR (Clark *et al*, 1996; Satoh *et al*, 2003), mas outros dizem que não (Lines *et al*, 2006; Sham *et al*, 1992). No músculo cardíaco o que permite o modo reverso do NCX são o potencial positivo de membrana e o aumento do sódio intracelular (Larbig *et al*, 2010). Estas fases existem durante as primeiras fases do potencial de ação cardíaco. Mas esse dado é controverso, uma vez que Evans & Canell, 1997 negaram a possibilidade da corrente de sódio fizesse o NCX trabalhar no modo reverso. Neste estudo foi reexaminado o papel da corrente de sódio no NCX e no CICR usando cardiomiócitos de ratos nocaute para NCX. Segundo os autores, o abalo de NCX causa efeitos modestos na função cardíaca e os miócitos se adaptam a falta do mecanismo de efluxo de cálcio, diminuindo o influxo de cálcio para a célula para cerca de 80%. A diminuição do influxo de cálcio deve-se a mecanismos auto-regulatórios nos canais do tipo L. Os autores afirmam que nos miócitos com NCX intactos, a corrente de sódio aumentou o transiente de cálcio, mas nos miócitos nocaute para NCX a corrente de sódio não alterou o transiente de cálcio. Esses resultados suportam a hipótese de que o NCX no modo reverso engatilhado pela corrente de sódio no potencial de ação age sinergicamente com o cálcio que influi pelos canais do tipo L para iniciar a liberação de cálcio do retículo. Estudos propõem que NCX e canais do tipo L agem sinergicamente na diáde para prover cálcio para CICR. Em 1992, Sham *et al* relatou que o NCX não opera rápido o suficiente para iniciar a liberação de cálcio do retículo. Suas conclusões foram que o cálcio que influi pelos canais do tipo L é responsável por iniciar a CICR. Em 2010, Larbig *et al*, sugeriu que o NCX no modo reverso completa a fenda da diáde com cálcio em sinergia com o cálcio que influi pelos canais do tipo L. A conclusão deste trabalho foi que a somação do NCX em modo reverso com os canais tipo L resultam numa ativação mais extensiva dos receptores de rianodina.

Receptores de rianodina:

Os receptores de rianodina (RyR) são canais que liberam o cálcio do retículo sarcoplasmático, sendo estes necessários para a contração muscular. Durante a despolarização da membrana sarcoplasmática, o cálcio entra na célula através de canais voltagem dependente conhecidos por receptores dihidropiridínicos ou canais tipo L. O cálcio que influi, induz a liberação de cálcio das reservas no retículo sarcoplasmático através dos RyR para a contração muscular cardíaca. A isoforma encontrada no músculo cardíaco é RyR2(Bers, 2002). Este processo é conhecido como cálcio induz a liberação de cálcio (CICR). A amplitude do transiente do cálcio gerado pelo retículo determina a força da contração do músculo cardíaco (Wehrens, *et al*, 2005). A atividade dos canais RyR é modulada por fosforilação e por proteínas associadas incluindo a calmodulina, calsequestrina e proteínas estabilizadoras FKBP (Ozawa, 2010).

Após estimulação beta adrenérgica, os RyR2 podem ser fosforilados por PKA, aumentando a liberação de cálcio. O sítio de fosforilação do PKA no RyR2 é ser 2808 e quando fosforilado dissocia uma proteína estabilizadora do canal, o FKBP 12,6 ou calstabin2, o que alivia a inibição do canal e aumenta a possibilidade de abertura (Ahern *et al*, 1994; Marx *et al*, 2000), mas estes dados são controversos. Xiao *et al*, 2006 usou o beta agonista proterenol para estimular ser 2808 e ser 2030 em RyR2 de ratos. O autor relatou que não houve fosforilação no sítio ser 2808, mas sim no sítio 2030 e concluiu que, ser 2030 é o principal sítio de fosforilação por PKA em RyR2 após estimulação beta adrenérgica. Outros pesquisadores não detectaram nenhuma mudança nos RyR2 após dissociação de FKBP 12,6 como por exemplo Xiao *et al*, 2007 relatou que a remoção ou ausência de FKBP 12,6 não altera a sensibilidade de RyR2 por ativação com Ca²⁺ ou cafeína.

Os RyR2 também pode ser fosforilado por CaMK2 em frequências cardíacas elevadas. O aumento na atividade do canal é comparável ao efeito da fosforilação por PKA. O sítio de fosforilação de CaMK2 no RyR2 é ser 2815. A fosforilação de RyR2 por CaMK2 não dissocia a proteína estabilizadora do canal FKBP 12,6 do complexo e geralmente é acompanhado da fosforilação por PKA. Segundo Wehrens *et al*, 2004 e Ozawa, 2010, a fosforilação por CaMK2 acompanha a fosforilação por PKA para prevenir a dissociação excessiva de FKBP 12,6 no complexo RyR2, prevenindo a possibilidade de arritmias cardíacas.

Proteínas associadas ao retículo sarcoplasmático: Calsequestrina, Triadina e Junctina (figura 9):

Calsequestrina e triadina são proteínas localizadas em áreas especializadas do retículo, onde este forma uma junção com o sarcolema, denominado retículo sarcoplasmático juncional. Calsequestrina, triadina e junctina formam um complexo protéico associado com RyR2 facilitando a liberação de cálcio que ocorre durante a contração muscular. (Knollmann, 2009; Terentyev *et al*, 2008; Zhang *et al*, 1997).

A Calsequestrina 2 (Casq2) é a isoforma encontrada no músculo cardíaco, e sua principal função parece ser proteger o coração de liberações espontâneas de cálcio. A calsequestrina se junta ao cálcio com alta capacidade e baixa afinidade. Aproximadamente 50% do cálcio armazenado no retículo sarcoplasmático está associado à calsequestrina. Estudos apontaram que ratos nocaute para Casq2 apresentavam uma drástica redução nos níveis de triadina e junctina, justificando a hipótese de Casq2 regular o lúmen do retículo além de estabilizar o complexo protéico calsequestrina/triadina/junctina (Knollmann, 2009).

A Triadina prende RyR2 e Casq2 servindo como um link entre as duas, organizando estruturalmente o retículo (Guo *et al*, 1996). Um dos papéis propostos para triadina e junctina é de ancorar Casq2 aos RyR2 e contribuir para a retenção de Casq2 na junção do retículo. A ausência de triadina ocasiona uma remodelação dramática na junção do retículo com o sarcolema, reduzindo o contato entre estes, culminando em um impariamento no acoplamento excitação contração e impariamento contrátil no miócito (Knollmann, 2009).

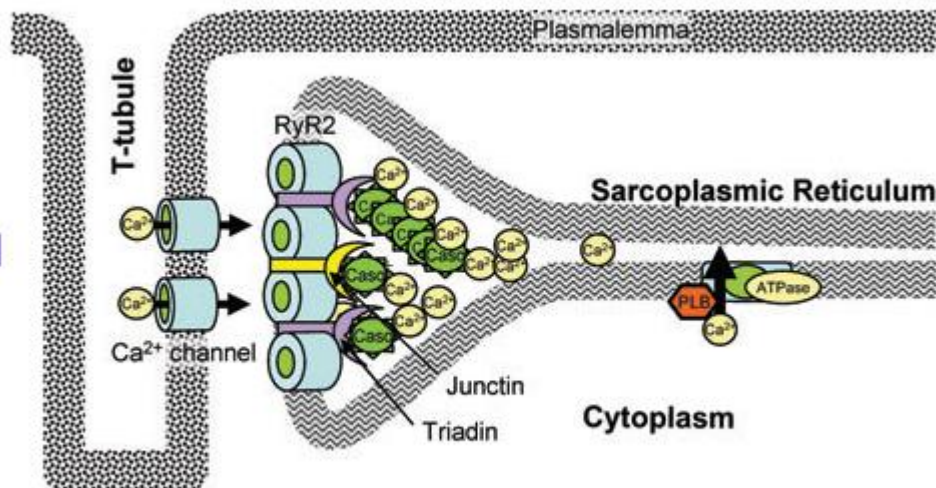


Figura 9- Estrutura interna do retículo sarcoplasmático e o complexo proteico Calsequestrina/Triadina / Junctina. (Fonte: Knollmann, 2009)

Bomba de cálcio do retículo sarcoplasmático: SERCA 2a

O retículo sarcoplasmático cardíaco não serve apenas como reservatório de cálcio, mas também para manter a concentração de cálcio no citoplasma durante a contração e o relaxamento muscular. Durante o acoplamento excitação contração o cálcio entra através dos canais tipo L ativando a liberação dos estoques de cálcio do retículo através dos receptores de rianodina. Isso aumenta o cálcio citoplasmático e inicia o processo de contração muscular. A concentração de cálcio no citosol determina a extensão da contração muscular e o desenvolvimento da força. A remoção do cálcio do citosol pela bomba do retículo (SERCA) para o retículo resulta no relaxamento muscular. Em coelhos, a SERCA remove aproximadamente 70% do cálcio do citosol (Bers, 2002). A razão do relaxamento é determinado pela recaptação de cálcio pela SERCA 2a que é regulada por duas moléculas protéicas, o fosfolambano e a sarcolipina (Periasamy *et al*, 2008).

A SERCA 2a é a isoforma mais expressa no coração de mamíferos. Em roedores SERCA 2a é aproximadamente duas vezes mais encontrada no átrio comparado com o ventrículo, sendo este um motivo para a duração da contração do átrio ser mais rápida que a do ventrículo. As expressões de SERCA 2a são alteradas conforme a idade, sendo relatado um decréscimo de quantidade e atividade de acordo com o envelhecimento, tanto em animais quanto em humanos. Esta diminuição está associada ao prolongamento da contração e diminuição da função cardíaca.

O hormônio da tireóide T4 é um potente regulador da expressão da bomba SERCA e da contração muscular cardíaca. O hipotireoidismo causa diminuição da SERCA 2a e um aumento no fosfolambano, enquanto o hipertireoidismo causa aumento nos níveis de SERCA 2a e redução nos níveis de fosfolambano. Os aumentos na expressão de SERCA consistem com aumento da recaptação de cálcio e aumento das funções cardíacas, observado no hipertireoidismo (Bhupathy *et al*, 2007; Periasamy *et al*, 2008).

Fosfolambano (PLB):

É o maior regulador da bomba SERCA e sua estrutura primária é altamente conservada através das espécies. É o principal mediador de respostas beta adrenérgicas no coração, aumentando o transporte de cálcio para o retículo. Tem sido documentado que a fosforilação de ser 16 e thr 17 por PKA e CaMK2 aumenta a atividade da bomba SERCA, e a defosforilação age como um inibidor da mesma. Um aumento ou diminuição nos níveis de PLB ou sua fosforilação impactam diretamente na recaptção de cálcio pelo retículo e na função contrátil do músculo. O PLB é expresso tanto nos átrios quanto nos ventrículos, mas em menores níveis nos átrios. Baixos níveis de PLB podem facilitar a recaptção de cálcio pelo retículo, provendo mais cálcio para a liberação (Bluhm *et al*, 2000).

A expressão de PLB é altamente sensível aos níveis de hormônios da tireóide. Sua expressão diminui no hipertireoidismo e aumenta no hipotireoidismo. No hipertireoidismo, a diminuição do fosfolambano e o aumento da SERCA 2a levam a um aumento na recaptção de cálcio e aumento na função cardíaca. O oposto ocorre no hipotireoidismo (Bhupathy *et al*, 2007; Periasamy *et al*, 2008).

Um estudo realizado em 1994 por Luo *et al*, mostrou evidências que o PLB é regulador das respostas beta adrenérgicas no coração, utilizando ratos nocaute para PLB comparado com ratos Wild Type. Os ratos deficientes de PLB não mostravam nenhuma anormalidade no desenvolvimento, mas exibiam melhora da performance cardíaca sem mudanças na frequência cardíaca. O relaxamento do miocárdio era significativamente reduzido nos animais nocaute quando comparados com os WT. Quando os corações dos ratos WT foram maximamente estimulados com o beta agonista isoproterenol, apresentaram comportamento igual dos corações deficientes em PLB. Os autores concluíram que o PLB pode ser a fosfoproteína chave, mediando às respostas contrateis de agonistas beta adrenérgicos.

Sarcolipina (SLN):

A relevância fisiológica da SLN no coração só foi identificada recentemente (Babu *et al*, 2006). Análises na expressão cardíaca de SLN mostram que SLN é expressa predominantemente nos átrios, e em menor quantidade nos ventrículos. A estrutura primária da SLN é altamente conservada através das espécies na porção C terminal, mas não na porção N terminal, variando entre as espécies. Treonina 5 no domínio citoplasmático é altamente conservada, o que sugere que pode ser sítio de fosforilação, mas esse dado é especulativo e o sítio verdadeiro é desconhecido (Bhupathy *et al*, 2007). Autores sugerem um mecanismo similar de regulação ao PLB (Buffy *et al*, 2006; MacLennah *et al*, 2003). A super expressão de SLN causa diminuição da afinidade da SERCA 2a pelo cálcio, diminuição do transiente de cálcio e diminuição no relaxamento do miócito (Asahi *et al*, 2004). Estes dados são similares aos encontrados para super expressão de PLB e sugere que a SLN é também inibidor da bomba SERCA.

A SLN não depende do PLB para exercer sua função. Segundo Bhupathy *et al*, 2007 seu efeito sobre a SERCA 2a é direto e independe, não variando conforme os níveis e estado de fosforilação de PLB. Mais um motivo possível são resultados de exames bioquímicos que mostram que a expressão de SLN é maior em tecidos onde PLB é baixa, como nos átrios, por

exemplo, é duas vezes maior que nos ventrículos (Luss *et al*, 1999). Isso sugere a independência do papel da SLN na SERCA 2a, onde se liga e altera sua afinidade por cálcio. Da mesma forma como o PLB, a função inibitória da SLN foi revertida por estimulação com isoproterenol, o que sugere que a SLN tem papel mediador de respostas beta adrenérgicas no coração (Asahi *et al*, 2004).

Bomba de cálcio da membrana sarcoplasmática (PMCA):

A PMCA tem alta afinidade por cálcio e baixa velocidade de transporte. Foi proposto que seu papel na regulação diastólica é sutil e a contribuição em retirar cálcio da célula é de menor importância (Caroni & Carafoli, 1981). Experimentos com um bloqueador específico de PMCA, a carboxieosina, provaram que a PMCA é de fato importante para a concentração diastólica de cálcio e contribui significativamente para o relaxamento (Gatto & Milanick, 1993). Evidências mais recentes mostram que a atividade da PMCA pode ter um importante papel na regulação da contração cardíaca, embora suas funções sejam menores no relaxamento (Mackiewski & Lewartowski, 2006).

A PMCA é reguladora da óxido nítrico sintetase. Isso representa conseqüências funcionais no AMP cíclico e no GMP cíclico, que regulam a contração cardíaca (Mohamed *et al*, 2011). O gás NO é produzido pela desaminação da arginina, catalizada pela enzima NO sintetase. Como o NO é gás, ele atravessa a membrana plasmática, se difunde rapidamente para fora da célula onde foi produzido e para as células vizinhas. Atua somente localmente porque tem uma meia vida curta, entre cinco a dez segundos no espaço extracelular, antes de se converter em nitratos e nitritos pela ação da água e do oxigênio. O NO se liga ao ferro no sítio ativo da enzima guanilil ciclase, estimulando-a a produzir GMP cíclico (Alberts *et al*, 2002).

Segundo Mohamed *et al*, 2011 a PMCA é um transportador de cálcio que tem papel exclusivo na sinalização celular, mais especificamente por ligar a NO sintetase na membrana cardíaca. Afirma ainda que a PMCA não contribua para remoção global do cálcio e não contribui para a diástole. O autor conclui que a PMCA regula a contração cardíaca através de um mecanismo que liga e modula a NO sintetase. Quando a freqüência da modulação está menos intensa, existem diminuições nos níveis de GMP cíclico, acompanhado de uma elevação nos níveis de AMP cíclico. A atividade da PKA e a fosforilação dos receptores de rianodina no sítio ser 2808 é aumentada, alterando a amplitude do transiente de cálcio, aumentando efeitos inotrópicos e cronotrópicos.

5- Potencial de ação no músculo cardíaco:

Existem dois potenciais de ação no músculo cardíaco, o potencial de ação rápido e o potencial de ação lento. O rápido caracteriza-se por a fase 0 ser dependente de canais de sódio dependentes de voltagem. Ocorrem nos átrios, ventrículos, feixe de His e fibras de Purkinje. O potencial de ação lento caracteriza-se por a fase 0 ser dependente dos canais de cálcio do tipo L dependentes de voltagem e é de ativação mais lenta e de densidade inferior à corrente de sódio. Isto resulta de uma fase 0 mais lenta e a propagação do potencial de ação também ser mais lenta. Imediatamente antes de iniciar a fase 0 a abertura dos canais de cálcio estão vinculadas a uma corrente ativada por hiperpolarização, conhecida como corrente *funny* (I_f), que é que um canal de sódio. Em corações humanos normais a corrente *funny* é ativada em torno de 72 vezes por minuto quando em repouso. Após a fase 0 segue-se uma repolarização contínua dependente de canais de potássio voltagem dependentes. Ocorre no nodo sinoatrial e atrioventricular (figura 10).

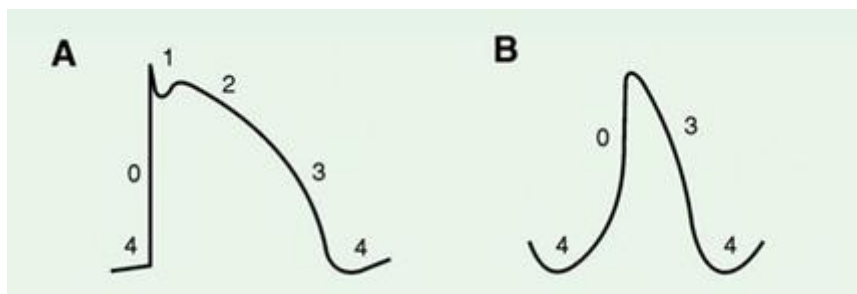


Figura 10- Os potenciais de ação do músculo cardíaco: A- potencial de ação rápido, B- potencial de ação lento. (Fonte: Aires M.M. *et al.* Fisiologia. Guanabara Koogan. 2008)

O potencial de ação cardíaco caracteriza-se por sua longa duração, de mais de 200ms (Aires *et al.*, 2008). É gerado no nodo sino atrial que atua como marca passo. O potencial de ação se propaga do nodo sino atrial para os átrios direito e esquerdo por meio das vias internodais atriais. Ao mesmo tempo é conduzido para o nodo átrio ventricular. A velocidade de transmissão do potencial de ação pelo nodo átrio ventricular é menor que nos outros tecidos de condução cardíacos. Desta forma, o sangue flui para os ventrículos antes da contração. Do nodo átrio ventricular o potencial de ação passa para os tecidos de condução dos ventrículos, o feixe de His, por onde a despolarização atinge os dois ramos do feixe, e em seguida as fibras de Purkinje. Os ventrículos são despolarizados rapidamente permitindo a contração e ejeção eficiente do sangue. O potencial de ação cardíaco pode ser descrito em cinco fases, sendo elas (Costanzo, 2004; Aires *et al.*, 2008):

Bases iônicas do potencial de ação no coração: (Berne & Levy, 2000; Costanzo, 2004; Aires *et al.*, 2008)

Fase 0: O potencial de ação começa com uma rápida despolarização devido à abertura dos canais de sódio voltagem dependente, ocorrendo o fluxo de íons sódio para dentro da célula atrial, ventricular e fibras de Purkinje.

Fase 1: Essa fase se caracteriza por uma rápida e transitória repolarização, associada a abertura de canais de potássio transiente de efluxo (I_{to}), permitindo fluxo deste íon para fora da célula, ocasionando a fase de repolarização inicial.

Fase 2: Canais de cálcio do tipo L se abrem, a condutância ao cálcio é aumentada ocorrendo fluxo deste íon para dentro da célula, ao mesmo tempo existe uma corrente de efluxo de potássio, mantendo o potencial transmembrana relativamente estável. A entrada de cálcio durante o platô do potencial de ação inicia a liberação de cálcio das reservas intracelulares no retículo sarcoplasmático. Este processo é chamado liberação de cálcio induzida por cálcio (CICR). Tanto as correntes despolarizantes (influxo) quanto as correntes repolarizantes (efluxo) são pequenas e de amplitudes iguais, de forma que uma anula a outra, ocorrendo o platô.

Fase 3: Após o platô ocorre a repolarização, com a diminuição do influxo de cálcio e o aumento do efluxo de potássio através dos canais retificadores retardados (I_k). O potássio eflui até o potencial de repouso da membrana ser restaurado. A fase de repolarização rápida caracteriza-se pela absoluta predominância de correntes de efluxo.

Fase 4: Nesta fase há um balanço entre as correntes de influxo e efluxo, de modo que a corrente é nula. O componente do influxo é a corrente de sódio e os componentes do efluxo são principalmente a corrente de potássio retificada de influxo (I_{k1}) e a corrente carregada pela bomba sódio/potássio.

Canais iônicos no músculo cardíaco:

No coração, a principal categoria de canais envolvidos na gênese do potencial de ação são os canais iônicos de sódio, cálcio e potássio ativados por voltagem. Os canais de sódio e cálcio têm uma estrutura comum, constituída de quatro domínios homólogos, cada um contendo seis segmentos transmembrana e uma região P, responsável pela formação do canal iônico, através do qual os íons permeiam a membrana plasmática. Os canais de potássio possuem apenas um domínio homólogo contendo seis segmentos transmembrana e uma região P. Todos esses canais apresentam em comum uma região responsável pela sensibilidade ao potencial elétrico, um sensor de voltagem localizado no segmento transmembrana quatro.

Um canal é nomeado pelo íon ao qual é seletivo. Como existem vários tipos de canais seletivos a um mesmo íon, o canal é nomeado segundo suas propriedades.

Canais de sódio voltagem dependentes:

O canal de sódio da célula cardíaca é uma proteína integral de membrana. No repouso, com o potencial de membrana próximo a -90mV este canal está fechado e portanto impermeável. Uma pequena despolarização para cerca de -60mV desencadeia dois eventos. Primeiro a abertura do canal ou ativação, seguido da inativação ou estado não condutivo, que ocorre mais lentamente. Assim, em resposta à despolarização, os canais de sódio se abrem permitindo influxo passivo de sódio de acordo com o potencial eletroquímico deste íon. Isto positivar o meio intracelular, o que permitirá a abertura de outros canais de sódio,

permitindo maior influxo de sódio e conseqüentemente despolarizando mais a célula em direção ao potencial de equilíbrio do sódio. Em seguida ocorre uma diminuição na corrente de sódio em função da inativação do canal, o que o torna impermeável. A inativação do canal de sódio tem conseqüência importante na eletrofisiologia do coração. Isso se refere ao período refratário da célula cardíaca, ou seja, um período onde ela não pode ser novamente excitada até que seja repolarizada primeiro.

Canais de cálcio:

No miocárdio existem dois tipos de canais de cálcio voltagem dependentes ativados por despolarização. São os canais tipo L e tipo T.

Os canais do tipo L são o tipo predominante no coração. São ativados quando os valores de membrana são menos negativos, cerca de -30mV . Após a corrente de cálcio ter atingido seu valor máximo, ela retorna a zero de forma muito gradual, ou seja, o canal se inativa de forma muito lenta e as correntes que passam por esse canal tem longa duração, razão pela qual foram chamados de canais tipo L. O canal de cálcio do tipo L é o principal responsável pela corrente despolarizante no nodo sinusal e atrioventricular, sendo responsável pela fase 0 e pela propagação do potencial de ação. No miocárdio contrátil atrial, ventricular e tecido de condução ventricular (feixe de His e fibras de Purkinje), o canal de cálcio do tipo L participa na fase de platô e exerce função primordial no acoplamento excitação contração, já que é o influxo de cálcio através dos canais tipo L dispara o sistema de liberação de cálcio intracelular que culmina com a contração. Os canais de cálcio tipo T são muito menos abundantes no coração e são ativados em potenciais mais negativos, cerca de -70mV . Quando os valores de membrana são aumentados subitamente a partir de um potencial de base (cerca de -80mV) é ativada uma corrente de cálcio que é inativada muito rapidamente. A natureza transiente dessa corrente explica a designação dos canais que a conduzem como canais do tipo T. São mais comumente encontrados em miócitos ventriculares, nodo sinusal e em fibras de Purkinje, onde participa da despolarização diastólica (Aires *et al*, 2008; Berne & Levy, 2000).

Esses canais têm poucas características em comum além da seletividade para o cálcio. Eles diferem na faixa de voltagem de ativação e inativação, características cinéticas e sensibilidade a drogas.

Canais de potássio (Aires *et al*, 2008; Berne & Levy, 2000):

O miocárdio apresenta uma grande variedade de canais de potássio com propriedades distintas, tendo em comum o fato de serem seletivamente permeáveis ao potássio. O processo de repolarização final começa no fim da fase 2, quando o efluxo de potássio na célula cardíaca começa a exceder o influxo de cálcio e sódio. São alguns deles:

Canal de potássio transiente de efluxo (I_{to}):

A corrente transiente de efluxo participa na determinação de duração do platô, e como conseqüência na repolarização. Esta corrente é mais pronunciada nos miócitos atriais em relação aos ventriculares. Nos átrios, a corrente de efluxo de potássio supera a corrente de

influxo de cálcio no início do platô. Por esse motivo o platô nos miócitos ventriculares é mais pronunciado em relação aos miócitos atriais.

Canal de potássio retificador de influxo (I_{K1}):

É o responsável pela manutenção do potencial de repouso próximo ao potencial de equilíbrio do potássio, na maior parte das células miocárdicas. Esse canal se fecha quando o potencial transmembrana se afasta do potencial de equilíbrio do potássio no sentido despolarizante, assim ele se fecha após a despolarização da fase 0, diminuindo a corrente de efluxo e colaborando para que a célula fique despolarizada durante o platô do potencial de ação. Durante a fase 3 a condutância desses canais aumenta progressivamente. Isso é refletido entre os valores de membrana de -20mV a -70mV , onde o efluxo de potássio aumenta, acelerando a repolarização.

Canal de potássio retificador retardado (I_K):

É ativado próximo ao fim da fase 0 mas sua ativação é muito lenta. Como resultado a corrente de efluxo tende a aumentar durante a duração do platô. Ao mesmo tempo a corrente lenta de cálcio está ativada. A medida que o efluxo de potássio excede o influxo de cálcio, o valor de membrana se torna menos positivo, o que inicia a repolarização. Esta corrente é responsável pela repolarização final, ou a fase 3. Tem papel fundamental na determinação do potencial de ação, ou seja, o potencial de ação será mais longo quando a ativação desse canal for mais lenta. É um canal ativado por despolarização.

6- Acoplamento excitação contração:

Um potencial de ação ocorre e uma onda despolarizante percorre o sarcolema, abrindo os canais rápidos de sódio e os canais de cálcio dependentes de voltagem. O cálcio do meio extracelular entra na célula e inicia a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático através dos receptores de rianodina, num processo denominado cálcio induz a liberação de cálcio. Os íons cálcio também entram no sarcoplasma pelo trocador sódio/cálcio atuando no modo reverso, na proporção 3 sódio fora, 1 cálcio dentro. Autores afirmam que o sódio que entrou na célula pela despolarização se acumule numa micro zona junto ao sarcolema, num espaço denominado “fuzzy space” (Bers, 2002; Opie, 1998). Este aumento de sódio intracelular pode reverter o trocador e fazer o influxo de cálcio.

O cálcio é liberado para o sarcoplasma, onde se liga à troponina C, que interage com a tropomiosina e expõe o sítio ativo da actina, ocorrendo interação da miosina com a actina desencadeando a contração muscular, ou sístole. Para que o músculo relaxe é necessário remover o cálcio do sarcoplasma (Aires *et al*, 2008; Berne & Levy, 1996; Bers, 2002; Costanzo, 2004).

A recaptação do cálcio é realizada por uma bomba localizada na membrana do retículo sarcoplasmático, denominada SERCA (sarco endo plasmic reticulum calcium ATPase)(Opie, 1998) que utiliza ATP como fonte de energia e faz a retirada da maior parte do cálcio do sarcoplasma. A SERCA é modulada pelo fosfolambano, uma proteína que inibe a atividade da SERCA. A estimulação beta adrenérgica fosforila o fosfolambano, que alivia a inibição e a recaptação de cálcio é estimulada. O aumento do cálcio citoplasmático atuando via calmodulina dependente de proteína quinase é também um estímulo para a fosforilação do fosfolambano (Bhupathy *et al*, 2007; Bluhm *et al*, 2000; Periasamy *et al*, 2008).

O cálcio recaptado pela SERCA é armazenado ligado a uma proteína que organiza o retículo sarcoplasmático e permite que o cálcio esteja pronto para ser liberado próximo ao receptor de rianodina. A calsequestrina se liga ao cálcio com alta capacidade e baixa afinidade. Outra proteína que organiza calsequestrina com os receptores de rianodina é a triadina e a junctina, formando um complexo organizado de armazenamento para liberação (Knollmann, 2009; Opie, 1998).

Além de o cálcio ser retirado do sarcoplasma pela SERCA, ele pode ser retirado para o meio extracelular pela bomba sódio/cálcio, que no modo à frente faz o efluxo de cálcio, movido pelo acúmulo de cálcio no sarcoplasma e a bomba de cálcio do sarcoplasma, que move o cálcio para o meio extracelular com energia do ATP. O cálcio é removido, a troponina I inibe a interação da actina com a miosina, o músculo relaxa, ocorre a diástole (Aires *et al*, 2008; Bers, 2002; Opie, 1998).

7- Conclusão:

O coração é um músculo com característica de bomba que faz o sangue fluir por um sistema tubular de artérias e veias, levando-o a todas as partes do corpo, entregando oxigênio e nutrientes e removendo produtos de degradação. O coração recebe inervação simpática e parassimpática, responsáveis pela modulação da frequência cardíaca.

Cada célula muscular cardíaca é composta por sarcômeros (de uma linha Z até a linha Z seguinte) que contém filamentos grossos compostos por miosina e filamentos finos compostos por actina. O músculo cardíaco funciona como um sincício, de forma que um estímulo quando aplicado a qualquer parte do músculo resulta na contração de todo o músculo. Isso é possível graças aos discos intercalados que permitem a passagem de íons de uma célula para outra, fazendo-as contrair como se fossem uma unidade. O músculo cardíaco possui invaginações que penetram na célula profundamente. São os túbulos transversos que em contato com o retículo sarcoplasmático formam díades.

A excitação do músculo cardíaco começa quando uma onda excitatória percorre a superfície da membrana da célula e penetra pelos túbulos T levando a despolarização até seu interior. Durante a despolarização são necessários íons para que exista a contração do músculo. Estes íons são o Na^+ , o K^+ e o Ca^{2+} . O Na^+ é responsável pela despolarização da membrana e a condução do potencial de ação. O K^+ apresenta pouco efeito sobre a excitação e contração, mas produz perda do potencial de membrana e perda da excitabilidade das células, fazendo-as relaxar. O Ca^{2+} é essencial para a contração cardíaca. Durante o platô do potencial de ação, a permeabilidade do sarcolema ao cálcio é aumentada e este flui para dentro da célula a favor do seu gradiente eletro químico. É o Ca^{2+} intracelular livre que é responsável pela contração do miocárdio.

O Ca^{2+} influi através de canais diidropiridínicos ou canais do tipo L voltagem dependentes e estimula a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático num evento denominado cálcio induz a liberação de cálcio. O cálcio que está no retículo sarcoplasmático em união com a calsequestrina é liberado através de receptores de rianodina para o sarcoplasma, desencadeando a contração muscular ou sístole. A estimulação beta adrenérgica faz com que as despolarizações do nodo sino atrial sejam mais frequentes, aumentando o influxo de Ca^{2+} na célula, aumentando a velocidade e a força das contrações.

Ao final da sístole, é necessário que o músculo relaxe. Para isso deve-se remover o cálcio do sarcoplasma, função da bomba SERCA localizada na membrana do retículo controlada por duas proteínas, o fosfolambano e a sarcolipina. Estas proteínas quando fosforiladas permitem que o cálcio seja removido para o interior do retículo ocasionando a diástole. Esta fosforilação via PKA e CaMK2 é aumentada no caso de estimulação beta adrenérgica, fazendo com que mais Ca^{2+} esteja disponível para liberação de acordo com a demanda do sistema.

Ainda na membrana da célula muscular cardíaca existe um trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ que troca 3Na^+ para cada 1Ca^{2+} . Durante a sístole, este trocador trabalha no modo reverso, fazendo influxo de cálcio aumentando a disponibilidade deste para a contração muscular. Durante a

diástole o trocador trabalha fazendo efluxo de cálcio para o líquido extracelular, auxiliando no relaxamento do miocárdio.

Os artigos citados neste trabalho norteiam o conhecimento científico. Foram constatadas diversas controvérsias a respeito do tema, mostrando que é necessário muito estudo e pesquisa em prol um assunto que faz parte da vida de todas as pessoas.

8- Bibliografia:

- 1- Ahern G. ; Junankar P.R. ; Dulhunty A.F. Single channel activity of the ryanodine receptor calcium release channel is modulated by FK 506. *FEBS Letters*. 1994. 352: 369-374
- 2- Aires M.M. *et al.* *Fisiologia*. Guanabara Koogan. 2008.
- 3- Alberts B. *et al.* *Biologia molecular da célula*. Artmed. 2004.
- 4- Alberts B. *et al.* *Fundamentos da biologia celular*. Artmed. 2006.
- 5- Asahi M. ; Otsu K. ; Nakayama H. ; Hikoso S. ; Takeda T. ; Gramolini A.O. *et al.* Cardiac-specific overexpression of sarcolipin inhibits sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA 2a) activity and impairs cardiac function in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004. 101: 9199-9204.
- 6- Babu G.J. ; Bhupathy P. ; Petrashevskaya N.N. ; Wang H. ; Raman S. ; Wheeler D. ; Jagatheesan G. ; Wieczorek D. ; Schwartz A. ; Jansen P.M. ; Ziolo M.T. ; Periasamy M. Targeted overexpression of sarcolipin in the mouse heart decreases sarcoplasmic reticulum calcium transport and cardiac contractility. *J. Biol. Chem.* 2006. 281(7): 3972-3979
- 7- Berne R.M. ; Levy M.N. *Fisiologia*. Guanabara Koogan. 1996.
- 8- Bers D.M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu. Rev. Physiol.* 2008. 70: 23-49.
- 9- Bers D.M. Cardiac excitation contraction coupling. *Nature*. 2002. 415: 198-205.
- 10- Bhupathy P. ; Babu G.J. ; Periasamy M. Sarcolipin and phospholamban as regulators of cardiac sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2007. 42(5): 903-911.
- 11- Bluhm W.F. ; Kranias E.G. ; Dillmann W.H. ; Meyer M. Phospholamban: a major determinant of the cardiac force-frequency relationship. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000. 278: 249-255.
- 12- Buffy J.J. ; Buck-Koehntop B.A. ; Porcelli F. ; Traaseth N.J. ; Thomas D.D. ; Veglia G. Defining the intramembrane binding mechanism of sarcolipina to calcium ATPase using solution NMR spectroscopy. *J. Mol. Biol.* 2006. 358: 420-429.
- 13- Caroni P. ; Carafoli E. The Ca²⁺ pumping ATPase of heart sarcolemma. *J. Biol. Chem.* 1981. 266: 3263-3270.
- 14- Clark R.B. ; Bouchard R.A. ; Giles W.R. Action potential duration modulates calcium influx, Na⁺/Ca²⁺ exchange and intracellular calcium release in rat ventricular myocytes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1996. 779: 417-29.
- 15- Costanzo L.S. *Fisiologia*. Elsevier. 2004.
- 16- Evans A.M. ; Cannell M.B. The role of L-type Ca²⁺ current and Na⁺ current-stimulated Na⁺/Ca²⁺ exchange in triggering SR calcium release in guinea pig cardiac ventricular myocytes. *Cardiovasc. Res.* 1997. 35: 294-302.
- 17- Gatto C. ; Milanick M.A. Inhibition of the red blood cell calcium pump by eosin and other fluorescein analoges. *Am. J. Physiol.* 1993. 264; c1577- c1586.
- 18- Grimm M. ; Brown J.H. Beta adrenergic receptor signaling in the heart: Role of CaMK2. *J.Mol. Cell Cardiol.* 2010. 48: 322-330.
- 19- Guo W. ; Jorgensen A.O. ; Kampbell K.P. Triadin, a linker for calsequestrin and the ryanodine receptor. *Soc. Gen. Physiol. Ser.* 1996. 51: 19-28.

- 20- Guyton A.C. ; Hall J.E. Fisiologia humana e mecanismos de doenças. Guanabara Koogan. 1998.
- 21- Gyorko S. ; Carnes C. Dysregulated sarcoplasmic reticulum calcium release: potential, pharmacological target in cardiac disease. *Pharmacol. Ther.* 2008. 119(3): 340-354
- 22- Knollmann B.C. New roles of calsequestrin and triadin in cardiac muscle. *J. Physiol.* 2009. 587: 3081-3087.
- 23- Larbig R. ; Torres N. ; Bridge J.H.B. ; Goldhaber J.I. ; Philipson K.D. Activation of reverse $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange by the Na^+ current augments the cardiac Ca^{2+} transient: evidence from NCX knockout mice. *J. Physiol.* 2010. 588: 3267-3276.
- 24- Lines G.T. ; Sande J.B. ; Louch W.E. ; Mork H.K. ; Grottum P. ; Sejersted O.M. Contribution of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger to rapid Ca^{2+} release in cardiomyocytes. *Biophys. J.* 2006. 91: 779-792.
- 25- Luo W. ; Grupp I.L. ; Harrer J. ; Ponniah S. ; Grupp G. ; Duffy J.J. *et al.* Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation. *Circ. Res.* 1994. 75: 401-409.
- 26- Luss I. ; Boknik P. ; Jones L.R. ; Kirchhefer U. ; Knapp J. ; Linck B. *et al.* Expression of cardiac calcium regulatory proteins in atrium vs. ventricle in different species. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. 31: 1299-1314.
- 27- Mackiewicz U. ; Lewartowski B. Temperature dependent contribution of Ca^{2+} transporters to relaxation in cardiac myocytes: Important roles of sarcolemmal Ca^{2+} ATPase. *J. Physiol. Pharmacol.* 2006. 57,1,3-15.
- 28- MacLennan D.H. ; Asahi M. ; Tupling A.R. The regulation of SERCA-type pumps by phospholamban and sarcolipin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003. 986: 472-480.
- 29- Marx S.O. ; Reiken S. Hisamatsu Y. ; Jayaraman T. ; Burkhoff D. ; Rosenblit N. ; Marks A.R. PKA phosphorylation dissociates FKBP 12,6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell.* 2000. 101: 365-376.
- 30- Mohamed T.M. ; Oeandy D. ; Zi M. ; Prehar S. ; Alatwi N. ; Wang Y. ; Shaheen M.A. ; Abou-Leisa R. ; Zocollo M. ; Lei M. ; Cartwright E.J. ; Neyses L. Plasma membrane calcium pump (PMCA4)/neuronal nitric oxide synthase complex regulates cardiac contractility through modulation of a compartmentalized cyclic nucleotide micro domain. *J. Biol. Chem.* 2011.
- 31- Nelson D.L. ; Cox M.M. *Lehninger-Princípios de bioquímica.* Sarvier. 2006.
- 32- Opie L.H. *The heart.* Lippincott Raven Publishers. 1998.
- 33- Ozawa T. Modulation of ryanodine receptor Ca^{2+} channels. *Mol. Med. Report.* 2010. 3(2): 199-204.
- 34- Periasamy M. ; Bhupathy P. ; Babu G.J. Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase pump expression and its relevance to cardiac muscle physiology and pathology. *Cardiovascular Research.* 2008. 77: 265-273.
- 35- Powers S.K. ; Howley E.T. *Fisiologia do exercício.* Manole. 2000.
- 36- Sandow A. Excitation contraction coupling. *Yale Journal of Biology and Medicine.* 1952. 176-201.
- 37- Satoh H. ; Mukai M. ; Urushida T. ; Katoh H. ; Terada H. ; Hayashi H. Importance of Ca^{2+} influx by $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger under normal and sodium loaded conditions in mammalian ventricles. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2003. 242: 11-17.

- 38- Sham J.S. ; Cleemann L. ; Morad M. Gating of the cardiac Ca²⁺ release channel: the role of Na⁺ current and Na⁺/Ca²⁺ exchange. *Science*. 1992. 255: 850-853.
- 39- Silverthorn D.U. *Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada*. Editora Manole. 2003.
- 40- Spence A. P. *Anatomia Humana Básica*. Manole. 1991.
- 41- Terentyev D. ; Kubalova Z. ; Valle G. ; Nori A. ; Vedamoorthy S. ; Terentyeva R. ; Viatchenko-Karpinski S. ; Bers D.M. ; Williams S.C. ; Volpe P. ; Gyorke S. Modulation of SR Ca release by luminal Ca and calsequestrin in cardiac myocytes: Effects of Casq2 mutations linked to sudden cardiac death. *Biophys. J.* 2008. 95(4): 2037-2048.
- 42- Xiao B. ; Zhong G. ; Masakazu O. ; Yang D. ; Chen K. ; Walsh M.P. ; Shimoni Y. ; Cheng H. ; Keurs H. ; Chens R.W. Ser 2030 but not Ser 2808 is the major phosphorylation site in cardiac ryanodine receptors responding to protein kinase A activation upon beta adrenergic stimulation in normal and failing hearts. *Bio. Chem. J.* 2006. 396: 7-16.
- 43- Xiao J. ; Tian X. ; Jones P.P. ; Bolstad J. ; Kong H. ; Wang R. ; Zang L. ; Duff H.J. ; Gillis A.M. ; Fleischer S. ; Kotlikoff M. ; Copello J.A. ; Chen S.R.W. Removal of FKBP 12,6 does not alter the conductance and activation of the cardiac ryanodine receptor or the susceptibility to stress-induced ventricular arrhythmias. *J. Biol. Chem.* 2007. 282: 34828-34838.
- 44- Wehrens X.H.T. ; Lehnart S.E. ; Marks A.R. Intracellular calcium release and cardiac disease. *Annu. Rev. Physiol.* 2005. 67:69-98.
- 45- Wehrens X.H.T. ; Lehnart S.E. ; Reiken S.R. ; Marks A.R. Ca²⁺/Calmodulin dependent protein kinase 2 phosphorylation regulates the cardiac ryanodine receptor. *Circ. Res.* 2004. 94: c61-c70.
- 46- Zhang L. ; Kelley J. ; Schmeisser G. ; Kobayashi Y.M. ; Jones L.R. Complex formation between junctin, triadin, calsequestrin and the ryanodine receptor. *J. Biol. Chem.* 1997. 272: 23389-23397.