

Resolvendo o modelo de Hodgkin – Huxley : uma proposta didática

D. C. Soriano***, R. A. Ricardo*** e J. W. M. Bassani***

*Departamento de Engenharia Biomédica / Faculdade de Engenharia Elétrica e Computação, UNICAMP, Campinas, Brasil

**Centro de Engenharia Biomédica, UNICAMP, Campinas, Brasil

e-mail: bassani@ceb.unicamp.br

Abstract: This work presents a computational solution to the Hodgkin-Huxley (H-H) equations of the non-propagating nerve action potential (AP) to be used as a teaching tool. We numerically integrated the H-H equations by using the MATLAB 6.5[®] software and presented the written program code in a way that it can be easily modified to solve other membrane equation sets. The H-H model is briefly introduced and some classical solutions are calculated. To illustrate the possibility of solving other sets of membrane equations, we have simulated APs as predicted by the Noble model for the cardiac Purkinje fibers. The program has been applied for teaching purposes at the undergraduate level.

Palavras-chave: modelo H-H, simulação, didática.

Introdução

O potencial elétrico propagável por células nervosas e musculares, o chamado potencial de ação (PA), consiste de uma variação não-linear do potencial transmembrana (V_m) em resposta a um estímulo suficientemente intenso (supra limiar). Tal resposta está intrinsicamente ligada a variações seletivas na permeabilidade da membrana celular aos íons distribuídos assimetricamente nos compartimentos intra e extracelulares [1]. A natureza destes potenciais bioelétricos foi minuciosamente estudada e modelada por Hodgkin e Huxley (H-H) em um intenso trabalho teórico e experimental [2, 3]. O conhecimento extraído deste estudo possibilitou a construção de um modelo matemático capaz de reproduzir de forma acurada diversos fenômenos eletrofisiológicos observados nas células excitáveis.

O modelo de H-H para o PA em axônio gigante de lula é descrito por um sistema de quatro equações diferenciais ordinárias, não-lineares, acopladas. O circuito apresentado na Figura 1 ilustra uma síntese do modelo. Assume-se que as diferenças de concentração dos íons considerados atuam como baterias com forças eletromotrizes correspondentes aos potenciais de equilíbrio calculados pela equação de Nernst (V_{Na} , V_K , V_L), e as variações na permeabilidade seletiva da membrana correspondem as condutâncias iônicas variáveis (G_{Na} , G_K e G_L), controladas por V_m e tempo. O controle das condutâncias é feito pelo estabelecimento

de configurações particulares para partículas existentes na membrana, denominadas, no modelo, de variáveis de ativação (m e n) e inativação (h) (que variam de 0 a 1) para se referir ao controle dependente de tempo e potencial da condutância aos íons, no intervalo de 0 a 1.

No circuito da Figura 1, V_m se aproxima do potencial de equilíbrio do íon K^+ no repouso, dado que a condutância G_K é muito maior que G_{Na} , nesta condição. A estimulação desloca V_m para valores mais positivos, devido à ativação de G_{Na} (aumento de m e redução de h). Este processo corresponde à ativação de canais iônicos de Na^+ e é representado no modelo pelo produto das variáveis m (ativação do Na^+) e h (inativação do Na^+). O produto de m e h e de uma condutância \bar{G}_{Na} máxima (mS/cm^2) determina a condutância final da membrana ao íon Na^+ , e de modo semelhante, \bar{G}_k (mS/cm^2) e n para o caso do K^+ . Os expoentes das variáveis m , h e n foram determinados experimentalmente, e relacionados com o número de partículas eventualmente envolvidas no controle da condutância [2, 3].

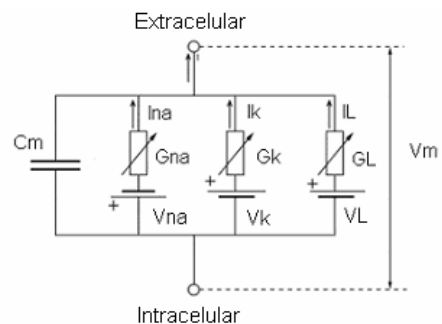


Figura 1: Circuito equivalente à membrana celular no modelo de H-H. G_{Na} , G_K são respectivamente as condutâncias aos íons Na^+ e K^+ (mS/cm^2). G_L é uma condutância não específica ($leak = vazamento$). V_{Na} , V_K , V_L e V_L são os potenciais de equilíbrio (mV) e as correntes ($\mu A/cm^2$) para os mesmos íons. C_m é a capacitância específica de membrana em $\mu F/cm^2$.

Assim as expressões para as correntes iônicas são dadas por (1):

$$\begin{aligned}
I_{Na} &= \bar{G}_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot (V_m - V_{Na}) \\
I_k &= \bar{G}_k \cdot n^4 \cdot (V_m - V_k) \\
I_L &= G_L \cdot (V_m - V_L)
\end{aligned} \quad (1)$$

O circuito da Figura 1 nos permite estabelecer que a corrente total através da membrana é dada por (2):

$$I = C_m \cdot \frac{dV_m}{dt} + I_{Na} + I_k + I_L \quad (2)$$

Isolando dV_m/dt e considerando as equações para as variações de m , h e n , chegamos a um sistema não-linear composto por 4 equações diferenciais ordinárias (3), sendo I_{st} a corrente que representa o estímulo aplicado em $\mu A/cm^2$.

$$\begin{aligned}
\frac{dV_m}{dt} &= \frac{1}{C_m} \cdot (I_{st} - I_{Na} - I_k - I_L) \\
\frac{dm}{dt} &= \alpha_m \cdot (1 - m) - \beta_m \cdot m \\
\frac{dh}{dt} &= \alpha_h \cdot (1 - h) - \beta_h \cdot h \\
\frac{dn}{dt} &= \alpha_n \cdot (1 - n) - \beta_n \cdot n
\end{aligned} \quad (3)$$

Os parâmetros variáveis α e β são funções dependentes de V_m , determinadas experimentalmente, que representam a taxa de transição da condição inativada para a ativada e vice-versa, para as variáveis de ativação e inativação que regulam as condutâncias iônicas.

Esse artigo tem como objetivo apresentar uma solução numérica para o modelo H-H (sistema de equações 3). O código de programação é fornecido, de modo que possa ser facilmente modificado e mostrar soluções clássicas do modelo. Além de seu uso como ferramenta de ensino, o código aqui apresentado pode ser estendido para a solução de outros modelos mais complexos.

Materiais e Métodos

Os programas implementados foram escritos como aplicativos MATLAB 6.5[®] (apêndice) sem nenhum encapsulamento ou interface mais amigável, proposadamente. A idéia é que o estudante possa receber treinamento sobre a composição das equações básicas, possibilitando modificações ou mesmo implementações em outros softwares disponíveis. Os programas fornecem uma solução numérica do modelo H-H por meio do método Runge Kutta de quarta ordem, com passo fixo de integração de 0.1. A solução pode ser encontrada em poucos segundos quando executada em um microprocessador PENTIUM 4, 2.8 GHz. O usuário teve ter um mínimo de conhecimento de programação em MATLAB[®] para entender e realizar modificações no

código fornecido, embora este seja extremamente simples e faça parte do treinamento de estudantes de engenharia.

Os dois programas apresentados no Apêndice devem ser salvos no mesmo diretório, e o programa “chamando_H_H” deve ser executado para a obtenção das formas de onda.

Os resultados aqui apresentados devem ser interpretados como exercícios didáticos com as respectivas soluções. Nas figuras apresentadas a seguir, o potencial de repouso foi subtraído de V_m conforme os originais de Hodgkin e Huxley [2] e Weiss [3]. Assim sendo, o potencial de repouso em todas as figuras aproxima-se de zero, com o pico do PA em valores mais positivos em relação aos dados experimentais, preservando, entretanto, a forma do PA obtido. O estímulo aplicado é um pulso monopolar de duração e amplitude definidos na legenda de cada figura.

Resultados

1. Simulação de um PA a partir de um único estímulo supralimiar (amplitude de I_{st} de $6\mu A/cm^2$, duração 2 ms, aplicado no instante 25 ms), mostrando V_m , m , h , n , G_{Na} , G_K , I_{Na} e I_K (Figura 2).

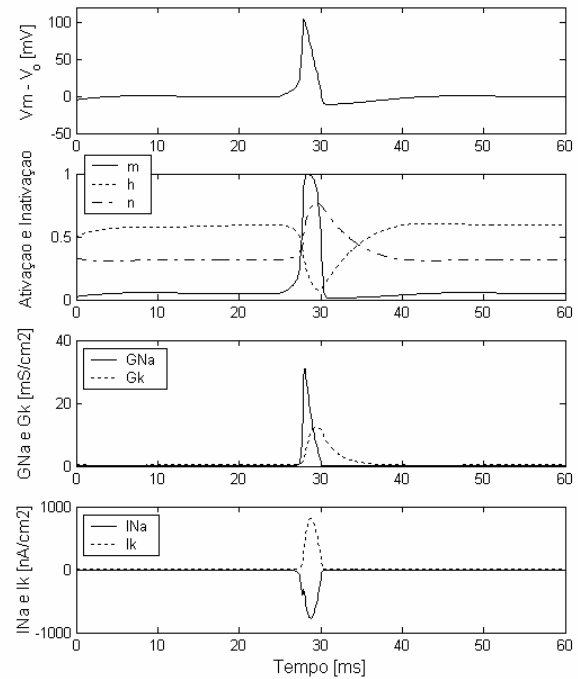


Figura 2: Solução do modelo H-H para $V_{Na} = 115$; $V_K = -12$; $V_L = 12.3$ [mV]. Condições iniciais $[V_m, m, h, n] = [-5, 0, 0.5, 0.33]$. Estímulo de corrente $I_{st} = 6\mu A/cm^2$ aplicado de 25 a 27 ms. São mostrados do painel superior para o inferior: curso temporal do potencial de membrana, variáveis de ativação e inativação, condutâncias e correntes de Na^+ e K^+ .

2. Simulação de um PA e variações sub-limiar de V_m para valores próximos do limiar (amplitude de 3,5; 3,9 e 4.0 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, duração de 2ms) iniciados a partir do instante 25 ms (Figura 3).

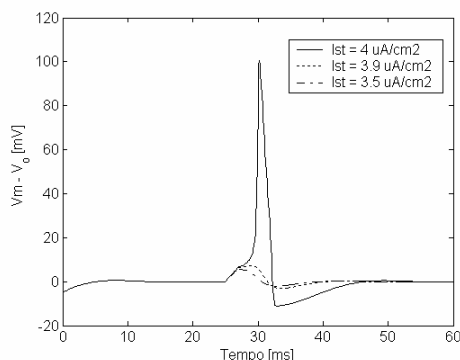


Figura 3: Potencial de membrana para diferentes amplitudes de corrente. Evidencia-se respostas passivas para $I_{st} = 3.5$ e $3.9 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, e o PA quando $I_{st} = 4 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. As condições iniciais e o tempo de estimulação foram mantidos em relação à Figura 2.

3. Obtenção da curva intensidade vs. duração, e cálculo do valor reobase e da cronaxia. Sucessivas simulações devem ser feitas a fim de se determinar a intensidade do estímulo I_{st} que dispara o PA para uma determinada duração do estímulo. A primeira duração estipulada é de 0,5 ms, incrementada de 0,5 ms até 5 ms (Figura 4).

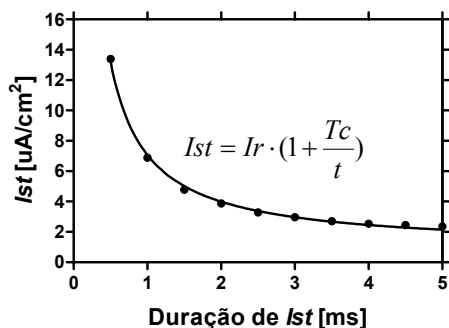


Figura 4: Curva intensidade vs. duração ajustada para a equação de Lapique. I_r é a reobase ($2,63 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) e T_c é a cronaxia ($1,34 \text{ ms}$). A reobase é definida como a intensidade do estímulo de duração “infinita” necessária para disparar um PA. A cronaxia é a duração do estímulo com intensidade igual ao dobro da reobase.

5. Modificação do modelo de H-H para obtenção do modelo de Noble. A modificação pode ser implementada por meio das expressões análogas ao modelo H-H encontradas na literatura [4]. O modelo para PAs em fibras de Purkinje destaca-se por apresentar dois componentes distintos para a condutância ao potássio, um rápido e outro lento em relação à V_m . A corrente I_{st} é nula e V_m oscila evidenciando sua característica marca-passo.

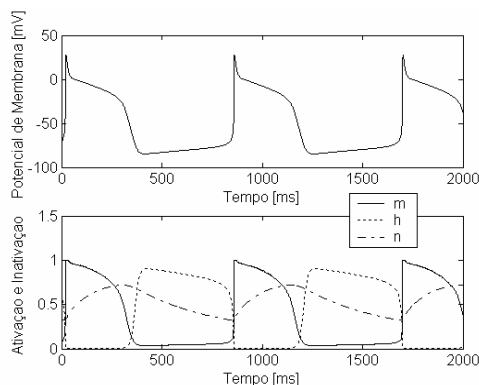


Figura 5: Curso temporal dos potenciais marca-passo e das partículas m , h e n para fibras de Purkinje. $I_{st} = 0$. Condições Iniciais $[V m h n] = [-70.64 \ 0.07 \ 0.60 \ 0.32]$.

Discussão

Neste trabalho apresentamos uma alternativa para o ensino do comportamento elétrico de células excitáveis, usando o modelo clássico de H-H. Além de possibilitar que a solução numérica apresentada de modo aberto possa ser também implementada em outros softwares, visamos deixar disponível um material com o qual se possa treinar estudantes para o exercício do modelamento com equações de membrana e, conseqüentemente, possibilitar que, aprendida a técnica aqui apresentada, outros modelos possam ser facilmente montados. Como exemplo, além do PA nervoso (modelo H-H), modificamos o conjunto de equações para simular um PA cardíaco, usando o modelo clássico de Noble [4], (Figura 5).

O exercício da Figura 2 é importante para que o aluno veja a relação temporal, entre o PA e as respectivas condutâncias aos íons, bem como a influência das variáveis de ativação e inativação para explicar o conceito de inativação tempo e potencial dependente dos canais.

Quando estímulos sublimiares são aplicados, a membrana celular pode ser modelada como um circuito RC. A inspeção da resposta sublimiar é importante sob o ponto de vista do conhecimento e observação do fenômeno, e também como exercício para conhecimento e estimativa da corrente e do potencial limiar o que pode ser visto na transição da atividade eletrotônica passiva para o PA (Figura 3).

A determinação da curva intensidade vs. duração (Figura 4) não só possibilita a fixação do conhecimento sobre as condições mínimas para geração da estimulação que produz PA, como possibilita a discussão sobre aspectos tecnológicos envolvidos na produção do pulso estimulatório, como, por exemplo, o efeito polarizador de eletrodos da duração prolongada, necessidade de altas tensões para pulsos de duração muito reduzida (abaixo da cronaxia), táticas para evitar polarização e outros.

Existem softwares livres com interfaces amigáveis para a solução do modelo de H-H (e.g. <http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/>) e PA cardíaco

(http://www.luhs.org/depts/physio/personal_pages/bers_d/main_frame.cfm). Este tipo de abordagem não foi o foco no presente trabalho. O programa aqui apresentado permite ao usuário (aluno ou instrutor) a manipulação direta das equações do modelo, possibilitando alterações simples para o desenvolvimento de modelos que tiveram como origem o modelo H-H e que hoje constituem grande parte dos modelos disponíveis (Noble, Luo & Rudi, Jafri, [5]). Trata-se, portanto, de um exercício computacional importante em Engenharia Biomédica que temos aplicado com sucesso para ensino de alunos de graduação.

Apêndice

São apresentados dois arquivos (“m - files”) que devem ser salvos no mesmo diretório. O arquivo 1 deve ser executado para obtenção das formas de ondas. O arquivo 2 contém as equações do modelo e a geração do pulso estimulatório. O arquivo 1 permite alterar as condições iniciais por meio dos valores passados à função ode45 (Runge-Kutta de quarta ordem), assim como o intervalo e o passo de integração, definidos pelo vetor *tspan*.

Arquivo 1 (chamando_H_H): definição das constantes, integração numérica, cálculo das condutâncias e correntes, obtenção das formas de onda.

```
%Constantes
global VNa GNa Gk Vk VL GL;
VNa = 115; GNa = 120;
Vk = -12; Gk = 36;
VL = 10.6; GL = 0.3;
tspan=0:0.1:60; j = 1;
%Integração numerica
[t,y] = ode45('H_H',tspan,[-5 0 0.5 0.33]);
%Resposta da integração numerica
V = y(:,1); m = y(:,2); h = y(:,3); n = y(:,4);
%Calculo das correntes e condutancias
for j = 1:length(V)
    GNa_barra(j) = GNa*m(j)^3*h(j);
    INa(j) = GNa_barra(j)*(V(j)-VNa);
    Gk_barra(j) = Gk*n(j)^4;
    Ik(j) = Gk_barra(j)*(V(j)-Vk);
    IL(j) = GL*(V(j)-VL);
end
%Geração de gráficos
figure(1)
subplot(4,1,1); plot(t,V,'k');
ylabel('Vm - V_o [mV]');
subplot(4,1,2);
plot(t,m,'k-',t,h,'k-',t,n,'k-');hold on;
ylabel('Ativação e Inativação');
legend('m','h','n',2);
subplot(4,1,3)
plot(t,GNa_barra,'k-',t,Gk_barra,'k');hold on;
legend('GNa','Gk',2);
ylabel('[mS/cm2]');
subplot(4,1,4)
plot(t,INa,'k-',t,Ik,'k');hold on;
```

```
xlabel('Tempo [ms]');
ylabel('INa e Ik [nA/cm2]');
legend('INa','Ik',2);
```

Arquivo 2. Salvo como “H_H”: definição da forma de onda do pulso estimulatório, e das equações a serem integradas.

```
function dydt = H_H(t,y)
dydt = zeros(size(y));
%Constantes
global VNa GNa Gk Vk VL GL;
Ist = 0; Cm = 1;
%Condições iniciais
V = y(1); m = y(2); h = y(3); n = y(4);
%Geração do pulso estimulatorio
if t >= 25 & t <= 27
    Ist = 6;
else
    Ist = 0;
end
%Equações diferenciais e transição entre estados
dydt(1) = (1/Cm)*(Ist - (GNa*m^3*h*(V - VNa) +
Gk*n^4*(V - Vk)+GL*(V - VL)));
a_m = 0.1*(25 - V)/(exp(0.1*(25-V))-1);
b_m = 4*exp(-V/18);
dydt(2) = a_m*(1-m) - b_m*m;
a_h = 0.07*exp(-V/20);
b_h = 1/(exp(0.1*(30-V))+1);
dydt(3) = a_h*(1-h) - b_h*h;
a_n = 0.01*(10 - V)/(exp(0.1*(10-V))-1);
b_n = 0.125*(exp(-V/80));
dydt(4) = a_n*(1-n) - b_n*n;
```

Agradecimentos

CNPq processo n. 300632/2005-3; FAPESP, processos n° 05/52601-1 e n° 03/04688-5.

Referências

- [1] Aidley, J.D. (1989), *The Physiology of Excitable Cells*, Cambridge: Cambridge University Press. 3rd ed.
- [2] Hodgkin, A.L.; Huxley, A.F. (1952) “A Quantitative Description of Membrane Current and Its Application to Conduction and Excitation in Nerve” *Journal of Physiology*, v. 117, p. 500 – 544.
- [3] Weiss, T.F. (1996), *Cellular Biophysics*, v. 2, Cambridge: The MIT Press.
- [4] Noble, D. A. (1962) “Modification of Hodgkin-Huxley Equations Applicable to Purkinje Fibre Action and Pace – Maker Potentials” *Journal of Physiology*, v. 160, p. 317 – 352.
- [5] Puglisi, J. L.; Wang, F.; Bers, D.M. (2004) “Modeling the isolated cardiac myocyte” *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, v. 85, p. 163 – 178.