

MORFOFISIOLOGIA DO SISTEMA LOCOMOTOR

FISIOLOGIA DAS MEMBRANAS CELULARES

Texto de Apoio

Prof. Doutor Tiago Henriques Coelho

Dr. André Leite-Moreira

Prof. Doutor Manuel Neiva de Sousa

Prof. Doutor André Lourenço

Prof. Doutor Adelino Leite-Moreira

Elaborado no Ano Lectivo de 2013/2014

PARTE I – ESTRUTURA E FUNÇÃO DA MEMBRANA PLASMÁTICA.....	3
1. ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DA MEMBRANA PLASMÁTICA.....	3
2. MECANISMOS DE TRANSPORTE MEMBRANAR.....	5
2.1. <i>Difusão</i>	5
2.2. <i>Osmose</i>	7
2.3. <i>Transporte mediado por proteínas</i>	9
2.4. <i>Endocitose e Exocitose</i>	13
2.5. <i>Transporte Epitelial</i>	14
PARTE II – ATIVIDADE ELÉTRICA DA MEMBRANA.....	16
1. EQUILÍBRIO IÔNICO.....	16
2. POTENCIAL DE REPOUSO.....	18
3. ATIVIDADE ELÉTRICA DA CÉLULA EXCITÁVEL.....	19

por exemplo, a sinalização e transdução de sinal. A distribuição é também assimétrica entre as camadas interna e externa e os movimentos de troca entre camadas (*flip-flop*) são extremamente raros, o que reflete as diferentes funções das duas superfícies de membrana. Moléculas de colesterol interpõem-se na bicamada, com o núcleo esteróide disposto paralelamente às cadeias de ácidos gordos, funcionando como um regulador que reduz a fluidez membranar na temperatura fisiológica e aumentando-a na hipotermia.

As **proteínas** (que constituem a maior parte da massa) são determinantes funcionais essenciais e podem dividir-se, com base na força de interação com os fosfolípidos, em intrínsecas e extrínsecas. As extrínsecas ou periféricas ligam-se à bicamada por forças electrostáticas e podem remover-se por procedimentos químicos fracos (ex.: alterações na composição iónica do meio), enquanto que as intrínsecas ou integrais formam ligações hidrófobas que só detergentes potentes ou solventes orgânicos podem quebrar. Os seus domínios hidrófobos têm uma estrutura secundária α -helicoidal e os domínios hidrófilos estendem-se para o citoplasma ou para o fluido extracelular. As proteínas membranares podem classificar-se quanto às suas funções em: (i) recetores, envolvidos na conversão de sinais extracelulares em respostas intracelulares, (ii) proteínas de reconhecimento, que marcam ou sinalizam células, permitindo que o sistema imune distinga as células normais de células estranhas ou cancerígenas, (iii) transportadores, conferem permeabilidade a solutos polares e iões, (iv) proteínas de junção, permitem a adesão entre células ou destas à matriz extracelular, e, também, (v) enzimas que catalisam reações específicas de substratos no fluido intra- e extracelular. Finalmente, a arquitetura celular é mantida à custa da interligação entre proteínas de membrana e proteínas do citoesqueleto.

Os **carboidratos** ligam-se, predominantemente na superfície externa, às proteínas (glicoproteínas) e lípidos membranares (glicolípidos). O revestimento resultante constitui o glicocálice. Participa na adesão entre células, nas reacções imunológicas e atuam como recetores. Muitas são ricas em ácido siálico, que lhes confere uma carga negativa e assim repele substâncias carregadas negativamente.

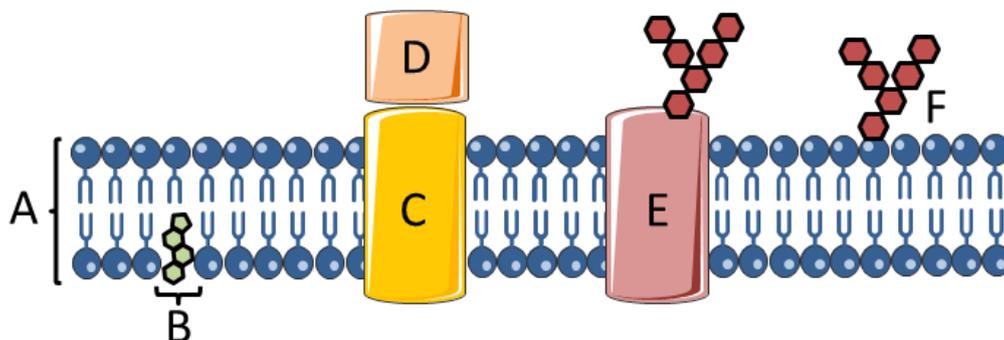


Figura 2. Representação esquemática dos principais componentes da membrana plasmática. A, membrana plasmática, B, colesterol, C, proteína intrínseca, D, proteína extrínseca, E, glicoproteína, F, glicolípido.

2. MECANISMOS DE TRANSPORTE MEMBRANAR

As moléculas lipófilas, de menor peso molecular e apolares podem atravessar a membrana através da bicamada fosfolipídica, enquanto moléculas hidrófilas, de maior peso e polares só atravessam a membrana por intermédio da ação de proteínas transportadoras.

2.1. Difusão

Os átomos, iões e moléculas movimentam-se aleatoriamente (movimento Browniano) em virtude da sua energia cinética. As partículas colidem entre si e aumentam a entropia do sistema. A difusão é a movimentação diferencial que resulta de gradientes de concentração e ocorre dos locais de maior concentração para os de menor concentração. O movimento individual aleatório das partículas nas zonas de maior concentração resulta num movimento global orientado para as zonas de menor concentração até ser atingido o estado de equilíbrio, no qual a distribuição é uniforme, a entropia é máxima e a energia livre é mínima (figura. 3). Exemplificando: se colocarmos açúcar granulado num copo com água, numa primeira fase, os grãos depositar-se-ão no fundo do copo. Seguir-se-á um fluxo (quantidade de partículas que atravessa uma superfície por unidade de tempo) predominante de moléculas em direção ao topo (onde a concentração de açúcar é baixa) e um fluxo menor na direção oposta. O fluxo resultante será a soma vetorial dos dois. O sistema evoluirá para o estado de equilíbrio em que as moléculas de glicose se distribuem homogeneamente e se movem igualmente em todas as direções.

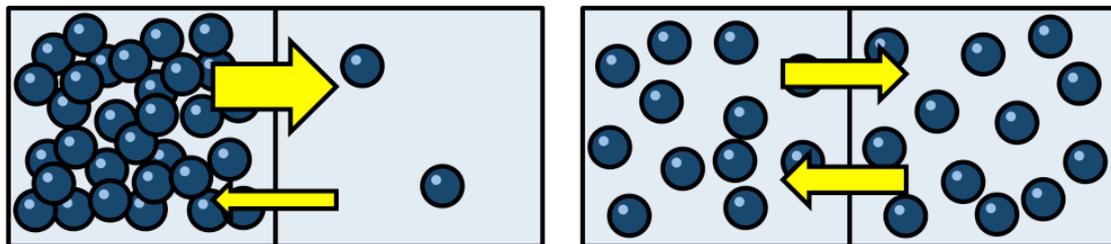


Figura 3. Difusão. as moléculas de soluto fluem, ou difundem-se, até atingirem um estado de equilíbrio.

A **Lei de Fick** para a difusão postula que o fluxo de difusão (J) é proporcional ao coeficiente de difusão (D), o gradiente de concentração (ΔC , mol.m^{-3}) e inversamente proporcional à distância a que ocorre a difusão (x , m). A velocidade individual das partículas é expressa pelo **Coefficiente de Difusão** que depende da temperatura (quanto maior a temperatura maior a velocidade das moléculas) e da massa molecular (quanto menor a massa, maior a velocidade). As unidades são $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

$$J = D \frac{\Delta C}{x}$$

Quanto maior a área de secção e menor a distância a percorrer, maior a velocidade ou taxa de difusão. Os princípios atômicos da difusão foram estudados por Albert Einstein. A lei de Stokes-Einstein para a difusão indica que o tempo necessário para a difusão aumenta proporcionalmente ao quadrado da distância a percorrer. Por exemplo, se a glicose demora 3,5 segundos a atingir 90% do equilíbrio de difusão num local que dista 1 μm da fonte de glicose (como ocorre fisiologicamente, entre o sangue e as células justa-capilares), seriam necessários 11 anos para atingir este equilíbrio se a distância fosse de 10 cm. A difusão é, assim, um meio de transporte rápido e eficaz para curtas distâncias mas muito ineficaz para distâncias superiores a alguns micrómetros. Devido à lentidão da difusão para distâncias macroscópicas, os organismos multicelulares desenvolveram mecanismos que asseguram um movimento rápido de partículas para longas distâncias (ex: sistema circulatório e transporte axonal).

Os mesmos princípios aplicam-se ao movimento de substâncias através das membranas plasmáticas com uma diferença: a substituição, na Lei de Fick, do coeficiente de difusão pelo **coeficiente de permeabilidade membranar** (P , $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), em que é incluída a espessura da membrana como constante para cada membrana biológica a considerar. Uma vez que a permeabilidade é uma propriedade intrínseca da membrana, diferentes tipos de células têm diferentes constantes de permeabilidade para a mesma substância. Deve notar-se que, para a maioria dos solutos, os coeficientes de permeabilidade são cerca de um milhão de vezes inferiores aos coeficientes de difusão.

O principal fator limitante da difusão através de uma membrana celular é a lipossolubilidade da substância a transportar (figura. 4). Moléculas **apolares** como o oxigénio, dióxido de carbono, ácidos gordos e hormonas esteróides difundem-se rapidamente pela porção lipídica da membrana. O mesmo acontece com moléculas **polares de pequenas dimensões e sem carga**, como a ureia e o glicerol. Moléculas **polares ionizadas** difundem-se muito lentamente ou não atravessam a membrana de todo pela sua parte lipídica. Iões como o Na^+ , o K^+ , o Cl^- e o Ca^{2+} difundem através da membrana plasmática muito mais rapidamente do que seria previsível pela sua reduzida lipossolubilidade, o que se explica pela presença de canais iónicos. Estes canais apresentam seletividade iónica, quer pelo diâmetro quer pela carga. Moléculas **polares de grandes dimensões**, como os carboidratos e os aminoácidos, não podem atravessar a membrana celular por difusão simples e fazem-no por intermédio de proteínas transportadoras.

Apesar das moléculas de água serem polares, o seu pequeno tamanho (0,3 nm de diâmetro), permite-lhes uma rápida difusão através das membranas celulares. A maioria das membranas plasmáticas tem, no entanto, uma permeabilidade à água 10 vezes maior que uma membrana lipídica artificial, o que se explica pela presença de **aquaporinas**, proteínas membranares que formam canais através dos quais se dá a difusão da água, designados por canais de água.

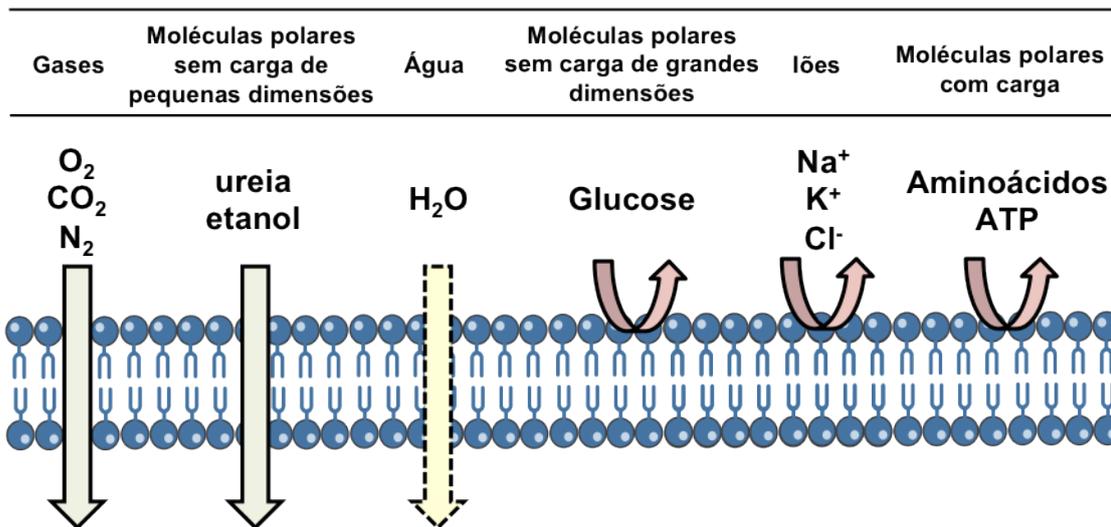


Figura 4. *Permeabilidade relativa da bicamada lipídica a diferentes classes de moléculas.* Quanto mais pequena e lipossolúvel for a molécula, mais rapidamente se difunde.

2.2. Osmose

Osmose é o processo pelo qual a água se move espontaneamente através de uma membrana das regiões de maior concentração de água para as de menor concentração (figura 4). As diferenças na concentração de água devem-se aos solutos nela dissolvidos. A **pressão osmótica** de uma solução define-se como a pressão que é necessário exercer para impedir a osmose de água para a solução quando estas estão separadas por uma membrana impermeável a pelo menos um soluto. A pressão osmótica exercida pelas partículas em solução é determinada pelo número de partículas por unidade de massa ou volume de solvente, porque cada partícula em solução exerce, em média, a mesma pressão sobre a membrana, independentemente da sua massa. As propriedades físicas de soluções, aquosas ou não, que dependem única e exclusivamente do número de partículas de soluto e que, pelo contrário, não dependem do solvente, como é o caso da pressão osmótica, dizem-se coligativas. Como a pressão osmótica exercida por um soluto é proporcional à concentração do soluto em número de moléculas ou iões, a unidade que exprime a concentração em termos de número partículas designa-se osmole. Por exemplo, 1M solução de glicose tem 1 osm por litro; 1M de solução de NaCl contém 2 Osm de solutos por litro de solução. A Pressão osmótica (π) pode ser calculada pela **lei de van't Hoff**, onde **R** é a constante dos gases perfeitos, **T** a temperatura absoluta, ϕ o coeficiente osmótico, **i** o número de iões formados pela dissociação do soluto e **c** a concentração molar do soluto. O coeficiente osmótico depende da concentração do soluto e das suas propriedades químicas.

$$\pi = RT\phi ic$$

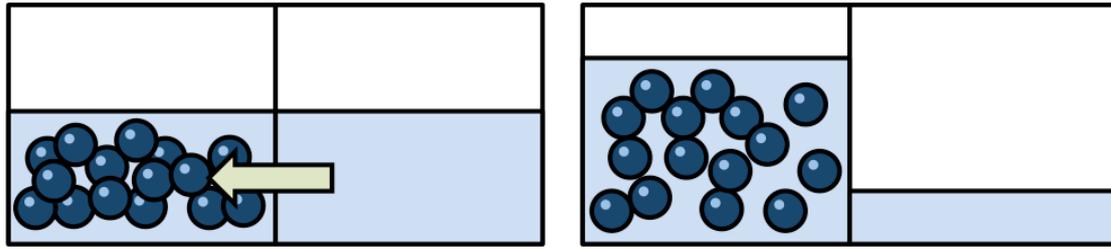


Figura 5. Osmose. A água desloca-se através de uma membrana semipermeável do compartimento com menor concentração de soluto para o compartimento com maior concentração.

A **osmolalidade** expressa-se em osmoles por quilograma de água. Devido à dificuldade da medição em quilogramas de água em solução, por motivos de ordem prática utiliza-se geralmente o termo **osmolaridade** que exprime a osmolaridade em osmoles por litro de solução.

Uma solução diz-se **isosmótica** quando tem uma concentração de solutos por unidade de volume igual a uma solução padrão (ou de referência), independentemente da natureza do soluto. Para o fluido extracelular, esse valor é de 290 mOsmol.L⁻¹. Diz-se **hiperosmótica** ou **hiposmótica** quando tem uma concentração de solutos, respetivamente, maior (>290 mOsmol.L⁻¹) ou menor (<290 mOsmol.L⁻¹) em relação à solução de referência, independentemente da natureza dos solutos.

A **tonicidade** de uma solução refere-se à tendência do volume celular para diminuir ou aumentar quando as células são colocadas em solução e é atingido um novo equilíbrio osmótico. Uma solução diz-se **isotónica** quando tem uma concentração extracelular de solutos impermeantes (isto é, incapazes de atravessar a membrana plasmática) igual à intracelular (290 mOsmol.L⁻¹), não havendo variação do volume celular, e **hipertónica** ou **hipotónica** quando esta é, respetivamente, superior ou inferior a 300 mOsmol.L⁻¹ e causa, portanto, retração ou expansão celular por osmose. Os solutos permeantes não interferem na tonicidade.

Exemplificando, consideremos uma célula numa solução isotónica à qual se adiciona uma certa quantidade de soluto (figura 6). Se a célula for permeável ao soluto parte deste passa para o citoplasma. Após o equilíbrio difusional e osmótico, a osmolaridade intra e extracelular ficam iguais. Neste caso, a adição de soluto torna a solução extracelular isotónica e hiperosmótica relativamente à inicial. Se a célula for impermeável ao soluto adicionado, o aumento da concentração de soluto extracelular cria um gradiente de pressão osmótica que causa saída de água. Neste caso, as soluções intra- e extracelular tornam-se isosmóticas, à custa da redução do volume celular. A solução extracelular final fica, assim, hipertónica e hiperosmótica relativamente à inicial. Assim sendo, as soluções hiperosmóticas podem ou não ser hipertónicas, de acordo com as características do soluto, serão hipertónicas se os solutos forem impermeantes ou isotónicas se forem permeantes. Os solutos permeantes causam apenas alterações muito transitórias do volume celular, uma vez que os solutos arrastam consigo água.

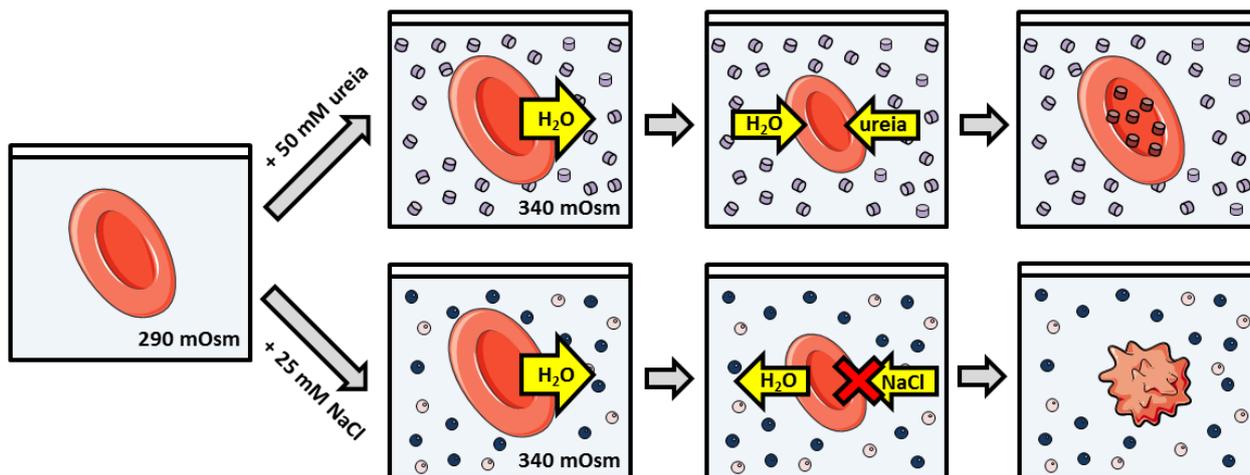


Figura 6. Exemplo ilustrativo das diferenças entre osmolaridade e tonicidade de soluções. Efeito da adição de um soluto permeante (**acima**) ou impermeante (**abaixo**).

A forma como os solutos permeantes e impermeantes influenciam o volume celular pode ser resumida em três regras práticas:

- O volume da célula é apenas determinado pela concentração de solutos impermeantes;
- Os solutos permeantes causam apenas alterações transitórias no volume celular;
- As alterações transitórias são tanto mais rápidas quanto maior a velocidade de difusão do soluto permeante.

Para o fluido extracelular ser isotônico deverá conter uma concentração de solutos impermeantes que iguale as partículas impermeantes intracelulares. Os principais impermeantes intracelulares são alguns solutos orgânicos (como as proteínas) e os iões K^+ . O K^+ , apesar de poder difundir para o meio extracelular, é bombeado ativamente para o citoplasma pela bomba Na^+/K^+ . No fluido extracelular, os iões Na^+ e Cl^- são os principais iões impermeantes. O Na^+ é bombeado ativamente para o meio extracelular pela bomba Na^+/K^+ e comporta-se, assim como um soluto confinado ao fluido extracelular. O Cl^- , através do transporte ativo secundário e do potencial de repouso da membrana, é exteriorizado rapidamente à medida que entra na célula.

2.3. Transporte mediado por proteínas

O transporte de solutos polares e iões através de uma membrana celular realiza-se por intermédio de proteínas membranares intrínsecas. Este transporte designa-se por transporte mediado. Tem como características básicas:

- a) Ser mais rápido do que aquele que seria de esperar por difusão simples de uma molécula com peso molecular e solubilidade similares;
- b) Apresentar saturação (figura 7);
- c) Apresentar especificidade estereoquímica;
- d) Apresentar cinética competitiva, isto é, moléculas estruturalmente semelhantes podem competir pelo sistema de transporte (competição análoga à inibição competitiva de uma enzima);
- e) Ser suscetível de inibição (diminuição da afinidade da proteína de transporte).

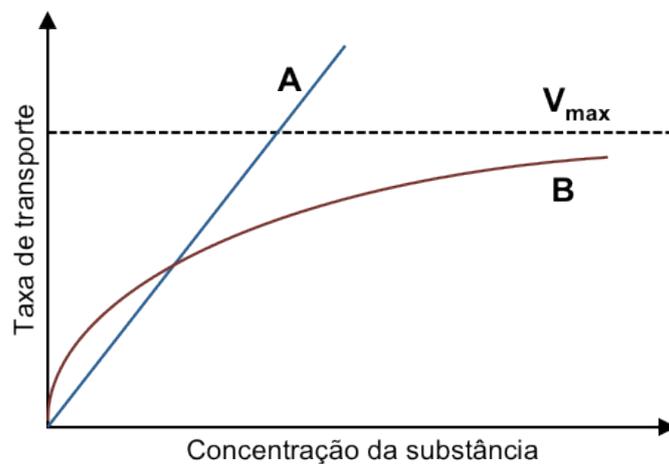


Figura 7. Difusão simples versus transporte mediado. Efeito da concentração de uma substância sobre a taxa de difusão numa membrana em que há difusão simples (A) e numa onde há transporte mediado por proteínas (B). Podemos verificar que o transporte mediado aproxima-se de um valor máximo de taxa de difusão (V_{max}).

O transporte mediado classifica-se, sob o ponto de vista termodinâmico, em ativo e passivo. As principais diferenças são a bidirecionalidade do transporte passivo e o gasto energético do transporte ativo. As proteínas de transporte podem ser divididas em 2 grupos principais: canais e transportadores. As principais diferenças entre eles estão sumariadas na tabela seguinte:

	CANAIS	TRANSPORTADORES
Constituição	Tubo ou poro formado por uma ou mais proteínas membranares intrínsecas, geralmente com um local de abertura ou encerramento do canal	Proteínas transmembranares que se submetem a um ciclo de ligação ao soluto a transportar e a uma alteração conformacional
Velocidade de transferência	Elevada (vários milhões a centenas de milhão de iões por segundo)	Baixa (algumas centenas de milhar de moléculas por segundo)
Tipo de transporte	Passivo	Passivo ou Ativo

Tabela 1. Características sumárias dos canais e transportadores.

2.3.1. Transporte Passivo

O transporte passivo (também designado, vulgarmente, por difusão facilitada), por definição, não requer energia metabólica e ocorre apenas segundo o gradiente de concentração. Também se designa difusão facilitada porque o transporte de substâncias mediado por proteínas ocorre dos locais de maior concentração para os locais de menor concentração. É um mecanismo particularmente eficaz na captação celular de substâncias que são metabolizadas (como a glicose), uma vez que a sua conversão química intracelular sustenta o gradiente de concentração.

O transporte passivo é determinado pelo(a):

- Gradiente de concentração;
- Número de proteínas transportadoras;
- Velocidade de interação soluto-proteína transportadora;
- Velocidade de alteração conformacional da proteína transportadora.

2.3.2. Transporte Ativo

Por definição, transporte ativo é um processo que desloca solutos contra o seu gradiente eletroquímico consumindo energia. Esta pode ser fornecida diretamente pelo ATP (transporte ativo primário) ou por um gradiente transmembranar previamente estabelecido de um segundo soluto (transporte ativo secundário).

No **transporte ativo primário** o transportador é uma ATPase que catalisa o ATP e se auto-fosforila. Esta fosforilação pode alterar quer a afinidade do local de ligação ao soluto quer a velocidade de alteração conformacional (figura 8). Existem três classes de ATPases transportadoras de iões: tipo P, tipo V e tipo F. A ATPase tipo F mitocondrial é a principal fonte de ATP e as de tipo P e V são as principais consumidoras de ATP.

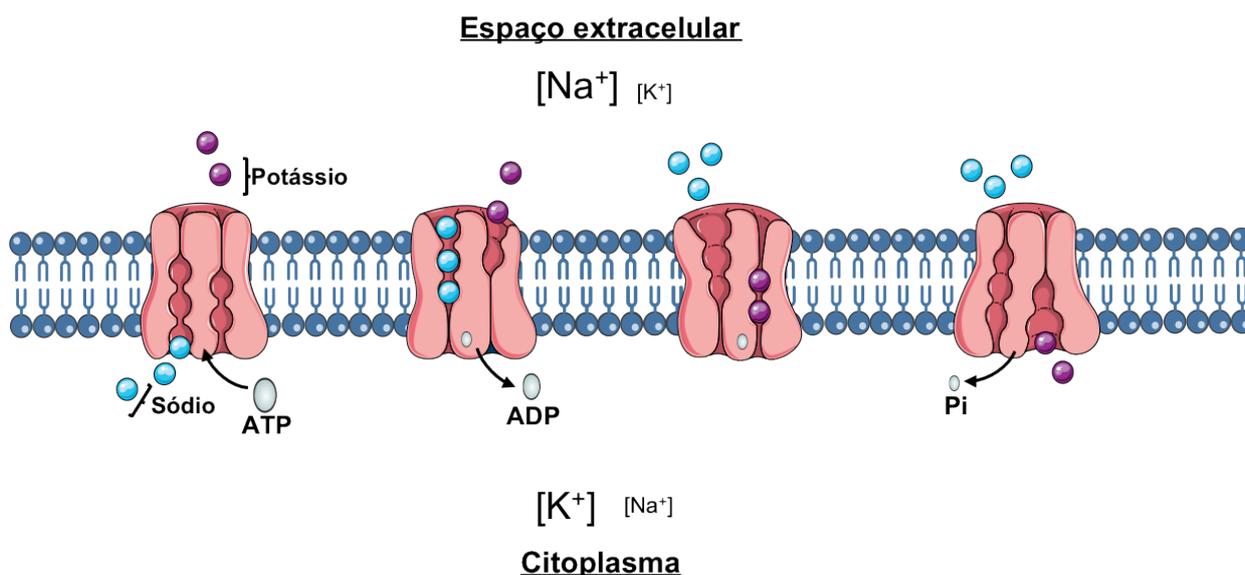


Figura 8. Ciclo de atividade da bomba Na^+/K^+ .

CLASSE	EXEMPLOS	LOCALIZAÇÃO	FUNÇÃO
Tipo P	ATPase Na ⁺ /K ⁺	Membrana citoplasmática	Transporta 3 íões Na ⁺ para o exterior e 2 íões K ⁺ para o interior; a sua taxa de transporte é regulada pela [Na ⁺] _i .
		Membrana citoplasmática	Bombeia Ca ²⁺ para o fluido intersticial.
	ATPase Ca ²⁺	Membrana do retículo endoplasmático e sarcoplasmático	Bombeia Ca ²⁺ para o interior dos organelos.
	ATPase H ⁺ /K ⁺	Membrana apical das células parietais gástricas	Secreção ácida pelo estômago; Não é eletrogénica, ao contrário das restantes.
Tipo V	ATPase H ⁺	Lisossomas, endossomas, vesículas de secreção e grânulos de armazenamento	Acidificação dos organelos.
Tipo F	ATPase H ⁺	Membrana mitocondrial interna	Uso de gradiente de H ⁺ para síntese de ATP.

Tabela 2. Classes de ATPases transportadoras de íões. Como todas as reações químicas são reversíveis, as ATPases dos tipos P e V podem usar a energia potencial do gradiente iónico para a produção de energia sob a forma de ATP a ATPase do tipo F pode usar o ATP para bombear protões.

No **transporte ativo secundário** é utilizada a energia potencial química armazenada num gradiente de concentração de outro soluto, geralmente um ião. Assim, o fluxo de íões a favor do gradiente fornece a energia necessária para o transporte ativo contra-gradiente do soluto.

As proteínas de transporte secundário têm um local de ligação para o soluto transportado ativamente mas também um local de ligação alostérica para o ião. O ião é geralmente o Na⁺ e, neste caso, a energia para o transporte ativo secundário provém do ATP que é utilizado pela bomba Na⁺/K⁺ para criar o gradiente, mas, em alguns casos, pode ser o HCO₃⁻, o Cl⁻ ou o K⁺. (figura 9).

Se o movimento do soluto e do ião ocorrem na mesma direção, este designa-se por **simporte** (ou co-transporte). Se ocorrer em direções opostas, trata-se de um **antiporte** (ou contra-transporte). Exemplos: co-transportador de Na⁺-glicose (SGLT1, forma de absorção intestinal da glicose), co-transportador Na⁺-K⁺-2Cl⁻ (NKCC2, importante na reabsorção de solutos nos túbulos renais); antiportador Na⁺-Ca²⁺ (NCX, entrada de Na⁺ e saída de Ca²⁺ nos miócitos cardíacos).

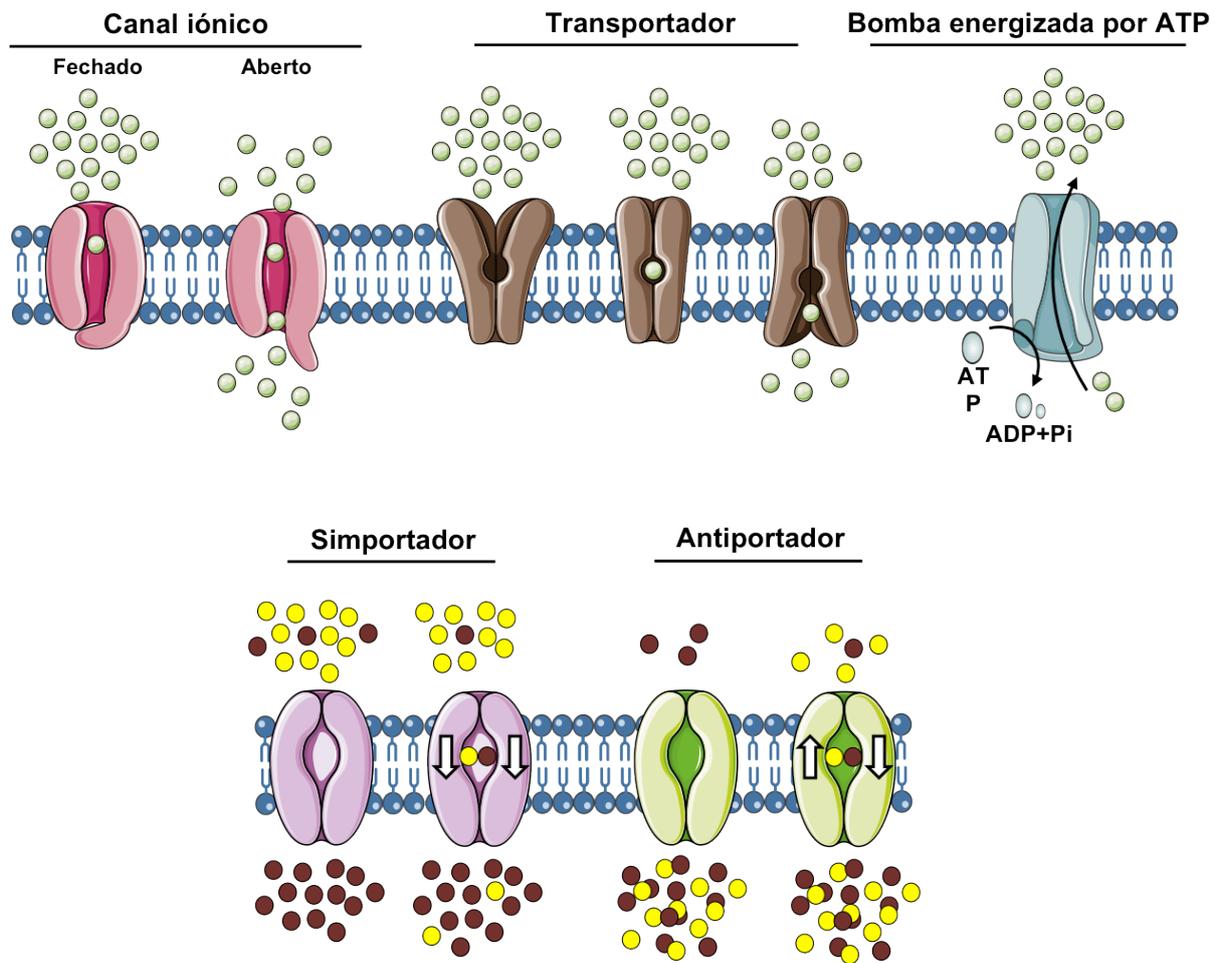


Figura 9. Tipos de transporte mediado.

2.4. Endocitose e Exocitose

As células também podem transportar macromoléculas através da sua membrana plasmática. Para tal, utilizam os processos de endo- e exocitose (figura 10).

A **Endocitose** é o processo ativo que permite a entrada de material para a célula sem atravessar a sua membrana plasmática. Ocorre quando regiões da membrana plasmática se invaginam e formam vesículas intracelulares que enclausuram um pequeno volume de matriz extracelular. A maior parte destas funde-se com lisossomas, onde o conteúdo da vesícula é digerido. A Endocitose mediada por recetores é um tipo particular de endocitose que pode envolver regiões membranares com a proteína clatrina, permitindo a formação de vesículas revestidas. Para além da clatrina, a caveolina é abundante em pequenas invaginações da membrana abundantes em colesterol e esfingolípidos designadas **cavéolas**. Para além de estarem envolvidas na endocitose mediada por recetores, pensa-se que as cavéolas desempenham um papel importante na sinalização intracelular, porque concentram na mesma área da membrana um grande número de recetores.

A **Fagocitose** ocorre apenas em células especializadas, como os macrófagos e os granulócitos, envolvendo a digestão de partículas de grandes dimensões (ex.: vírus, bactérias, detritos celulares). A **Pinocitose** é característica de todas as células e permite a captação de fluidos e respectivos constituintes.

A **Exocitose** ocorre quando vesículas intracelulares se fundem com a membrana plasmática, sendo uma forma de lhe adicionar componentes, incluindo a reposição de fosfolípidos captados por endocitose. É uma via pela qual moléculas impermeantes (como proteínas sintetizadas pelas células) são libertadas para o fluido extracelular. A libertação de neurotransmissores dos terminais axonais ocorre por exocitose.

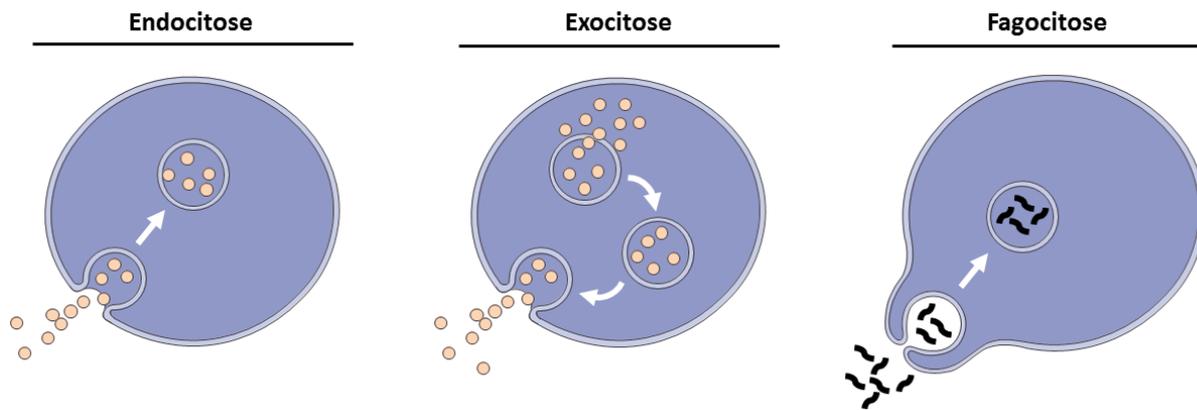


Figura 10. Endocitose, exocitose e fagocitose.

2.5. Transporte Epitelial

A membrana das células epiteliais é desigual, diz-se que se encontra polarizada relativamente às suas características de transporte e permeabilidade. As células epiteliais do intestino delgado e do túbulo proximal do rim são bons exemplos. As junções apertadas ou estanques (*tight junctions*) que unem as células lateralmente evitam que as proteínas transportadoras da membrana apical (voltada para o lúmen) e basolateral (voltada para a membrana basal) se misturem. O movimento sequencial de catiões, como o Na^+ , através destas membranas, isto é, por **via transcelular**, leva a um excesso relativo de cargas positivas no pólo basolateral do epitélio e a um excesso relativo de cargas negativas no pólo luminal. Este gradiente elétrico transepitelial pode favorecer a difusão de aniões do lúmen para o pólo basolateral da célula ou de catiões no sentido inverso diretamente através das *tight junctions* entre duas células adjacentes, isto é, por **via paracelular** (figura 11). Os espaços entre as células epiteliais podem ser mais ou menos estanques, dependendo dos epitélios, propriedade que pode condicionar a facilidade com que certos solutos atravessam o epitélio por via paracelular.

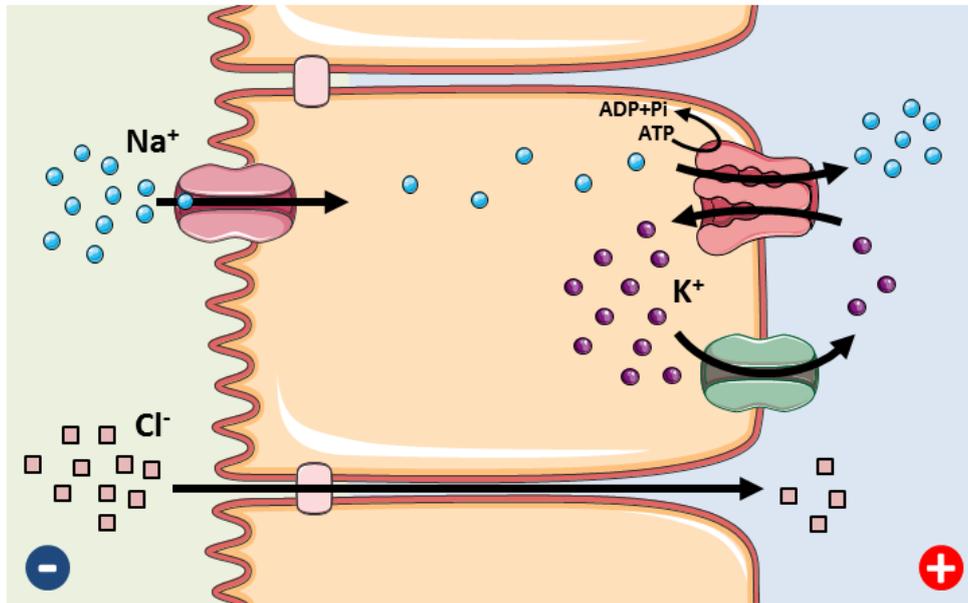


Figura 11. Transporte epitelial por via transcelular e paracelular.

PARTE II – ATIVIDADE ELÉTRICA DA MEMBRANA

1. EQUILÍBRIO IÔNICO

Os íons e muitas das moléculas dissolvidas no citoplasma são dotados de cargas eléctricas que interagem entre si, sendo que as cargas de sinais opostos têm tendência para se emparelhar. No meio intracelular, o íon K^+ corresponde à principal fracção do *pool* de cargas positivas, enquanto que as cargas negativas são atribuídas sobretudo a proteínas e fosfatos. Já no meio extracelular, as cargas positivas e negativas provêm principalmente do catião Na^+ e dos aniões Cl^- e HCO_3^- , respectivamente. A difusão iónica segundo os seus gradientes químicos transmembranares origina potenciais eléctricos que se designam **potenciais de difusão**.

Para uma melhor compreensão deste conceito, consideremos o seguinte modelo (figura 11): uma célula cuja membrana é apenas permeável ao potássio, cuja concentração intracelular é de 150 mEq/L, banhada por uma solução isotónica que contém 5 mEq/L K^+ . Nestas condições, o gradiente de concentração de K^+ irá conduzir à saída destes íons. No entanto, cada íon K^+ que sai da célula deixa uma carga negativa desemparelhada, conduzindo à acumulação de cargas negativas na superfície membranar interna (atraídas pelas cargas positivas dispostas do lado oposto da membrana), criando-se um potencial membranar negativo no interior. Com a saída de catiões, o gradiente eléctrico crescente produz um fluxo iónico no sentido oposto ao fluxo criado pelo gradiente de concentração. O potencial de difusão correspondente ao ponto em que os dois fluxos do íon são iguais em grandeza, designa-se por **potencial de equilíbrio** para esse íon, neste caso, do K^+ . O valor do potencial de equilíbrio para qualquer tipo de íon depende do gradiente de concentração desse íon: quanto maior o gradiente de concentração, maior o potencial de equilíbrio, uma vez que maior será o movimento iónico devido ao potencial eléctrico necessário para contrabalançar o movimento iónico pela diferença das concentrações.

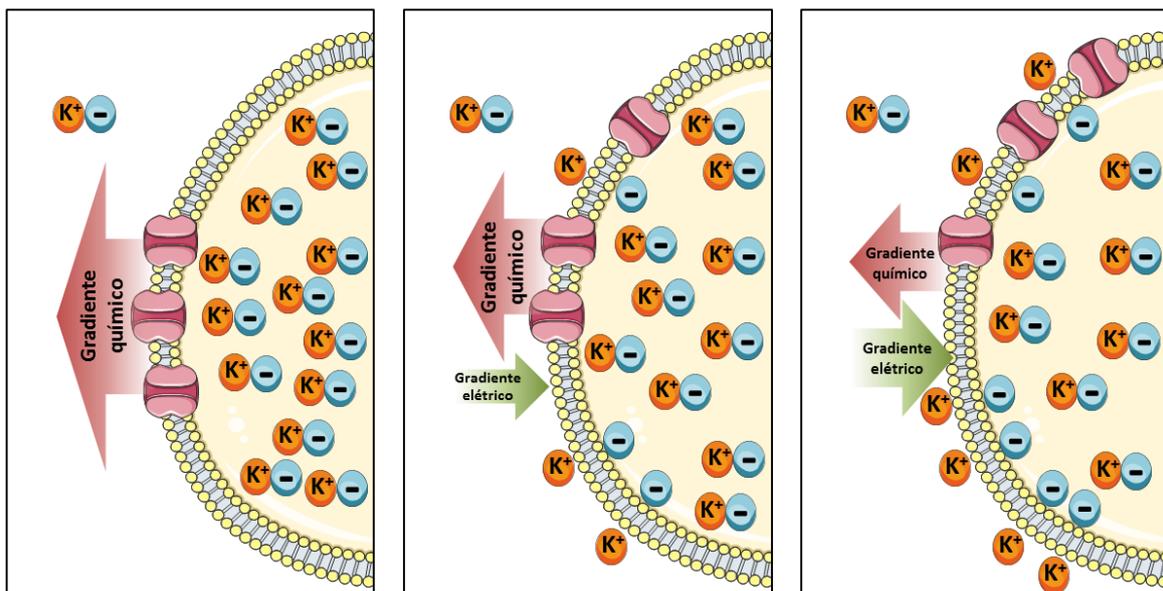


Figura 12. *Potencial de equilíbrio*. Ilustração dos mecanismos subjacentes.

A relação entre o gradiente de concentração e o potencial de equilíbrio para um ião X (E_x), em mV, é dado pela equação de Nernst:

$$E_x = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

Onde **R** é a constante dos gases perfeitos ($8,314 \text{ K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$)

T é temperatura absoluta (310 K no corpo humano)

F é a constante de Faraday (carga por mole = $9,65 \times 10^4 \text{ A.s.mol}^{-1}$)

z é o número de cargas do ião

[X] a concentração molar do ião no exterior (e) e no interior (i) da célula.

À temperatura ambiente, substituindo os valores das constantes e convertendo o logaritmo natural para um logaritmo de base 10, obtemos:

$$E_x = \frac{60}{z} \log \frac{[X]_e}{[X]_i}$$

Se, por exemplo, o ião for o K^+ temos: $E_{\text{K}^+} = (60/1) \log (5/150) = -90 \text{ mV}$.

A equação de Nernst pode ser utilizada para prever o fluxo iónico:

- Se a diferença de potencial de membrana for igual à calculada pela equação de Nernst o ião está em equilíbrio eletroquímico e não há fluxo;
- Se o potencial de membrana tem o mesmo sinal do calculado pela equação de Nernst mas é numericamente superior, a força elétrica é superior à força química e o fluxo do ião é determinado pela força elétrica, contrariando o gradiente;
- Se o potencial membranar tem o mesmo sinal do calculado pela equação de Nernst mas é numericamente inferior, a força química é superior à eléctrica e o fluxo do ião é determinado pelo gradiente de concentração;
- Se o potencial de membrana tem sinal oposto ao que seria previsível pela equação de Nernst, as forças elétrica e química atuam no mesmo sentido ambas determinando o fluxo iónico.

2. POTENCIAL DE REPOUSO

Todas as células em condições de repouso têm uma diferença de carga elétrica entre as duas faces da membrana celular, sendo usualmente o interior negativo (entre os -40 e os -80 mV, dependendo do tipo de célula). Este potencial denomina-se potencial (membranar) de repouso. Por convenção, assume-se que a polaridade do potencial de membrana é reportada em termos da carga presente no interior da célula. Embora esta perspectiva de desemparelhamento de carga ao nível da membrana seja pedagogicamente ilustrativa, devemos manter em linha de conta que o número de cargas separadas pela membrana celular representa uma parte ínfima e negligenciável do total das cargas dos dois compartimentos, e que em regiões macroscópicas de qualquer solução se aplica o princípio da eletroneutralidade.

O potencial de repouso é determinado por dois fatores:

- Diferenças nas concentrações iónicas dos fluidos intra- e extracelular;
- Diferenças na permeabilidade da membrana para os diferentes iões (refletindo o número de canais iónicos abertos a cada instante).

Do desequilíbrio iónico entre o fluido extracelular e o citoplasma resulta o potencial de repouso. Os iões mais importantes na sua génese são o Na^+ e o K^+ . Em muitas das células o Cl^- encontra-se muito próximo do seu potencial de equilíbrio, pelo que pouco contribui para o potencial de repouso.

	CITOPLASMA	FLUIDO EXTRACELULAR	RATIO	POTENCIAL DE EQUILÍBRIO
Na^+	15	150	10/1	+60 mV
K^+	150	5	1/30	-90 mV
Cl^-	7	110	15/1	-70 mV

Tabela 3. Potencial de equilíbrio dos principais iões que contribuem para o potencial de repouso.

A equação de Nernst descreve estados de equilíbrio eletroquímico para iões particulares. A génese do potencial de repouso é bem mais complexa, é necessário considerar as permeabilidades e os gradientes de concentração de todos os iões. Modificando a equação de Nernst, obtemos a **Equação de Goldman**:

$$V_{rep} = \frac{RT}{F} \ln \frac{(P_{K^+} [K^+]_e + P_{Na^+} [Na^+]_e)}{P_{K^+} [K^+]_i + P_{Na^+} [Na^+]_i}$$

Onde P_{K^+} representa a permeabilidade ao K^+ e P_{Na^+} a permeabilidade ao Na^+ . Os restantes termos são iguais aos da equação de Nernst. Da equação de Goldman pode-se concluir que o potencial de repouso é determinado pela grandeza relativa dos gradientes de concentração de todos os iões permeantes e pelas suas permeabilidades relativas.

O potencial de repouso é, aproximadamente, -70 mV para células musculares e nervosas típicas. Apesar de não ser igual ao potencial de equilíbrio do K^+ (-90 mV) nem ao do Na^+ (+60 mV), está mais próximo do K^+ , uma vez que a permeabilidade da membrana ao K^+ é muito maior que ao Na^+ . Assim, há fluxo contínuo através de canais de Na^+ para o interior e de K^+ para o exterior. Estes pequenos fluxos não dissipam os gradientes iônicos por ação da ATPase Na^+/K^+ . Como bombeia para o exterior 3 Na^+ e apenas 2 K^+ para o interior, a ATPase Na^+/K^+ diz-se eletrogénica, uma vez que transfere cargas positivas para o exterior, contribuindo para a negatividade do potencial de repouso. Nas células musculares estriadas e nos neurónios dos vertebrados, esta contribuição é pequena (inferior a 5 mV), devendo-se o potencial de repouso essencialmente à condutância iónica.

3. ATIVIDADE ELÉTRICA DA CÉLULA EXCITÁVEL

Os potenciais de membrana de repouso são característicos de qualquer célula viva, mas a capacidade de gerar potenciais de ação reside apenas em células especializadas, ditas excitáveis, como os neurónios e os miócitos.

Considerando o potencial de repouso como ponto de referência, as alterações do potencial de membrana designam-se por **hiperpolarização** quando o potencial de membrana se torna mais negativo e **despolarização** quando o potencial de membrana se torna menos negativo, deslocando-se em direção aos 0 mV).

O potencial de membrana sofre flutuações sempre que se altera a permeabilidade iónica, e respetiva condutância. A corrente elétrica gerada depende do número de canais abertos e da força elétrica motriz, que, por sua vez, é dada pela diferença entre o potencial de equilíbrio do ião e o potencial de membrana a cada instante. Ilustrando com o exemplo da tabela 3, a força motriz para o K^+ é de apenas 20 mV, enquanto para o Na^+ é de 130 mV. No entanto, o potencial da membrana é -70mV porque a permeabilidade ao K^+ é muito superior.

O potencial de membrana pode ser alterado localmente, como acontece na resposta a estímulos sinápticos ou ligandos, sendo a alteração conduzida ao longo da membrana com perda no espaço e no tempo, todavia, sempre que é atingido um limiar de excitação e são ativados mecanismos de auto-reforço, surgem alterações estereotipadas que percorrem toda a célula, os potenciais de ação. Estes são utilizados na sinalização à distância e na ativação celular e têm 3 propriedades fundamentais:

- a) Só são desencadeados se os estímulos ultrapassarem um **potencial limiar excitatório**, geralmente cerca de 15 mV acima do potencial de repouso;
- b) Quando desencadeados, são eventos de tipo "**tudo ou nada**", apresentando amplitude homogénea independentemente da grandeza do estímulo;
- c) Têm **condução não-decremental**, isto é, propagam-se sem perda de intensidade.

Os potenciais de ação resultam de alterações transitórias e coordenadas da permeabilidade iónica membranar.

Pode ser dividido em 3 fases sucessivas (figura 13):

- 1) **repouso** - corresponde ao potencial de repouso
- 2) **despolarização** - um estímulo despolarizante ultrapassa o potencial limiar, ativando um número de canais rápidos de Na^+ suficiente para iniciar um ciclo de *feedback* positivo de progressiva despolarização e recrutamento de todos os canais disponíveis. O potencial de membrana aproxima-se rapidamente do potencial de equilíbrio do sódio (+60 mV) e só não o atinge porque os canais de Na^+ vão sendo rapidamente inativados enquanto os canais de K^+ são ativados.
- 3) **repolarização** - restabelece o potencial de repouso como consequência da inativação dos canais de Na^+ e da ativação retardada, relativamente a estes, dos canais de K^+ . No final, como alguns canais de K^+ continuam abertos e muitos canais de Na^+ ainda estão encerrados, ocorre hiperpolarização da membrana, designada hiperpolarização pós-potencial.

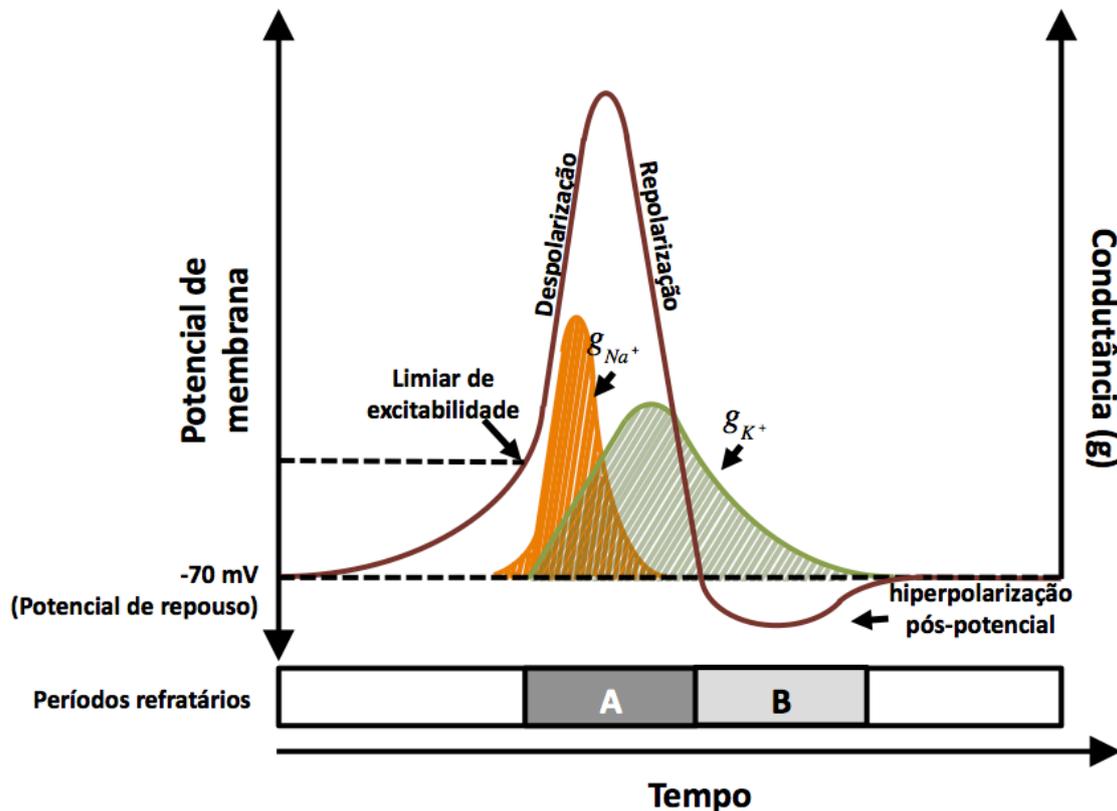


Figura 13. Alterações de voltagem e condutância ao Na^+ e K^+ durante um potencial de ação. A, período refratário absoluto; B, período refratário relativo.

Os canais de Na^+ dependentes da voltagem têm 3 estádios funcionais diferentes: repouso/recrutável, ativo e inativo (figura 14). Na despolarização da membrana o canal é rapidamente ativado por alteração conformacional, mas uma alteração conformacional subsequente inativa o canal. O canal continuará inativado de forma prolongada, até que o potencial de membrana regressa aos níveis de repouso, tornando-se os canais, novamente, recrutáveis.

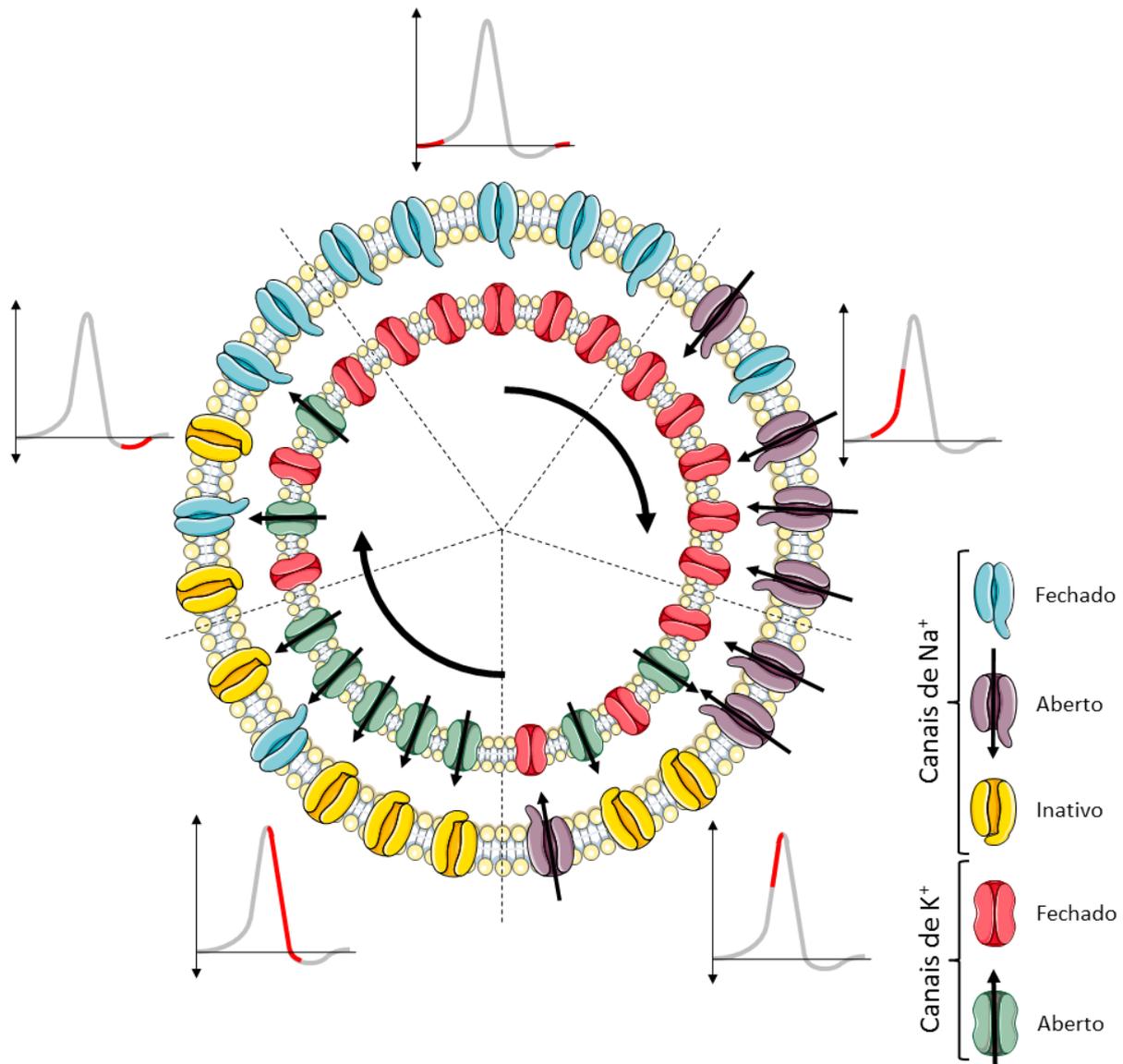


Figura 14. Porção de uma membrana celular excitável ao longo das várias fases de um potencial de ação. Está evidenciado o estado predominante dos canais de Na^+ e K^+ dependentes da voltagem a cada momento.

Os **canais de K^+ dependentes da voltagem** possuem apenas 2 estádios. Durante o potencial de repouso, o canal está inativo. A despolarização suscita uma alteração conformacional lenta que ativa o canal.

Deve salientar-se que o número de íons que entram e saem da célula durante o potencial de ação é praticamente negligenciável. De qualquer modo, a preservação dos gradientes ao longo de milhares de potenciais de ação depende da ATPase Na^+/K^+ .

Durante a maior parte do potencial de ação é impossível que um segundo estímulo desencadeie novo potencial devido à inativação dos canais de Na^+ , pelo que a membrana se encontra em **período refratário absoluto**. Na parte final do potencial, contudo, um estímulo superior ao normal já consegue gerar novo potencial de ação, dizendo-se que a célula se encontra em **período refratário relativo**. O estímulo deverá ser supra-normal porque muitos canais de Na^+ estão ainda inativos e a condutância ao

potássio está aumentada. Os períodos refratários limitam o número de potenciais de ação gerados na membrana excitável num período de tempo.

A alteração das concentrações extracelulares de K^+ pode afetar a excitabilidade da membrana pela modificação do potencial de repouso. Na concentração diminuída (**hipocalémia**), o potencial de equilíbrio para o K^+ e o potencial de repouso tornam-se mais negativos. A hiperpolarização torna as células refratárias a estímulos, sendo necessário um estímulo mais intenso para que seja atingido o potencial limiar e despoletado um potencial de ação. O contrário ocorre na concentração extracelular de K^+ aumentada (**hipercalémia**), o potencial de repouso está mais próximo do limiar de excitabilidade e as células tornam-se hiperexcitáveis.

O Ca^{2+} tem um papel estabilizador na membrana porque interatua com cargas negativas das extremidades polares dos fosfolípidos e extensões extracelulares de proteínas membranares. Adicionalmente, o Ca^{2+} liga-se à superfície externa dos canais de Na^+ , aumentando o limiar de voltagem necessário para ativação do canal. Deste modo, condições que elevam o Ca^{2+} plasmático (**hipercalcemia**) afastam o potencial de repouso do limiar de excitabilidade, dificultando o desencadeamento do potencial de ação e tornando as células refratárias, enquanto a **hipocalcemia** aproxima o potencial de repouso do limiar e torna as células hiperexcitáveis.