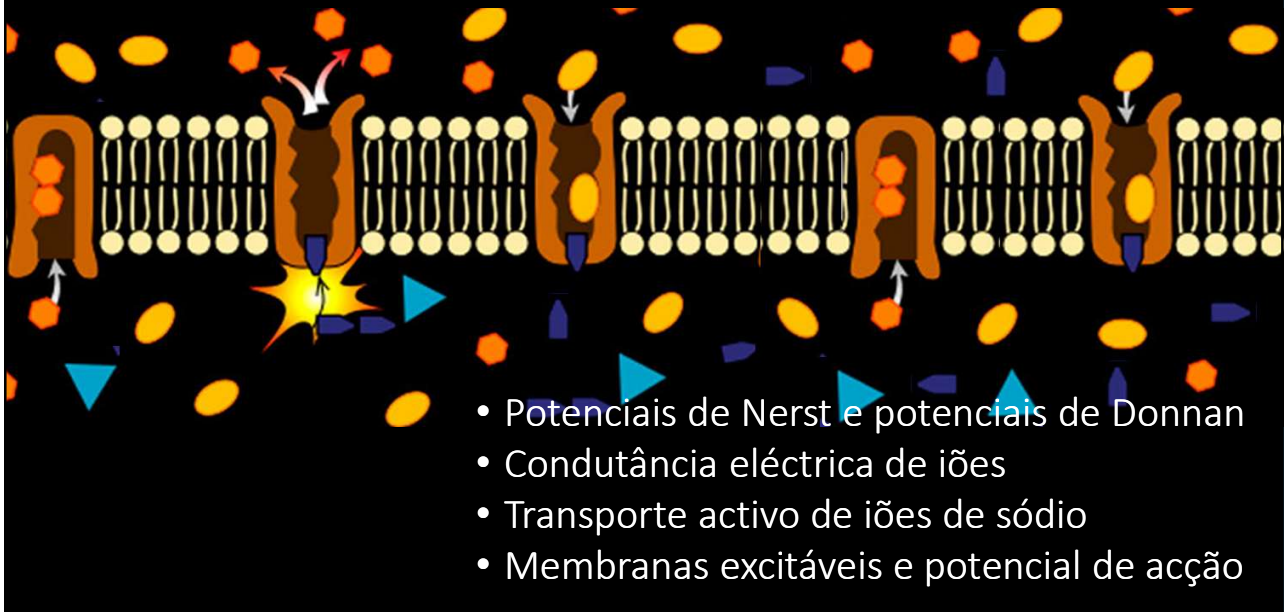


Aula 12 – Bioelectricidade 2



Na ultima aula vimos que:

- O gradiente de potencial químico na membrana dá origem a uma densidade de corrente iónica por difusão.
- O gradiente de potencial eléctrico na membrana dá origem a uma densidade de corrente iónica eléctrica.
- O potencial de Nerst para um dado ião, é a diferença de potencial que tem que existir na membrana para que, para este ião, a soma destas duas correntes seja nula.

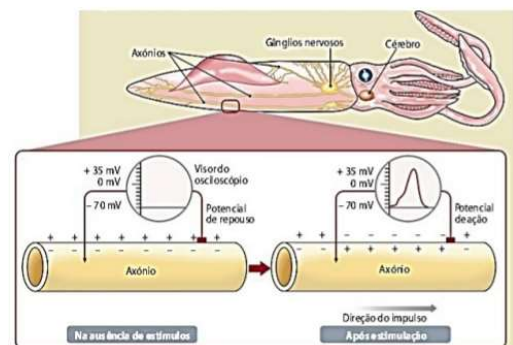
Na ultima aula:

- Um ião está em equilíbrio de Donnan, quando o potencial de Nerst para esse ião é igual ao potencial de repouso da membrana, ou seja quando as concentrações desse ião, dentro e fora da célula, dão origem a uma corrente de difusão que é compensada pela corrente eléctrica provocada pelo potencial de membrana.
- Mas, embora as concentrações se mantenham ao longo do tempo, nem todos os iões estão em equilíbrio de Donnan: terá que haver mais algum “factor” ou “mecanismo” a considerar, para justificar os valores estáveis das concentrações

Exemplo: axónio de uma lula

Vamos considerar a situação em que a célula está em repouso.

Nesta situação o potencial de membrana mantém-se estável, as concentrações dos iões também e o balanço das correntes iónicas através da membrana é nulo.



Vamos considerar apenas o que se passa com três iões, K^+ , Na^+ e Cl^- .

Exemplo: axónio de uma lula

O potencial de repouso da membrana do axónio é $V_0 = -61 \text{ mV}$.

As concentrações dos iões de potássio, cloro e sódio nos meio intra e extra celular são dados na tabela.

Vamos ver se estas concentrações podem ser explicadas apenas pelo equilíbrio entre as forças eléctricas e de difusão.

ião	$C_{in}(mM)$	$C_{out}(mM)$
K^+	400	10
Na^+	41	460
Cl^-	40	540

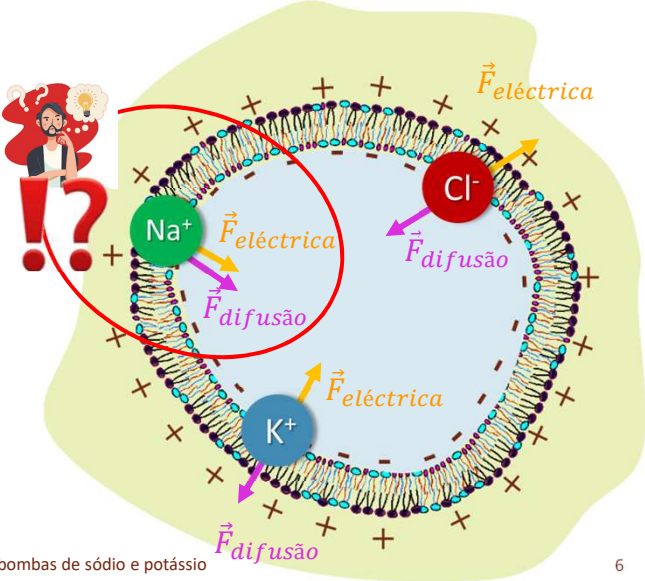
Concentrações iónicas no axónio de lula

Que forças actuam em cada ião?

$V_0 = -61 \text{ mV}$

ião	$C_{in}(mM)$	$C_{out}(mM)$
K^+	400	10
Na^+	41	460
Cl^-	40	540

Concentrações iónicas no axónio de lula



Potencial de Nernst para cada ião:

$$V_i^N = -\frac{k_B T}{q_{i\tilde{a}o}} \ln\left(\frac{[i\tilde{a}o]_2}{[i\tilde{a}o]_1}\right)$$

(vou supor $T = 290\text{ K}$)

ião	$C_{in}(mM)$	$C_{out}(mM)$
K^+	400	10
Na^+	41	460
Cl^-	40	540

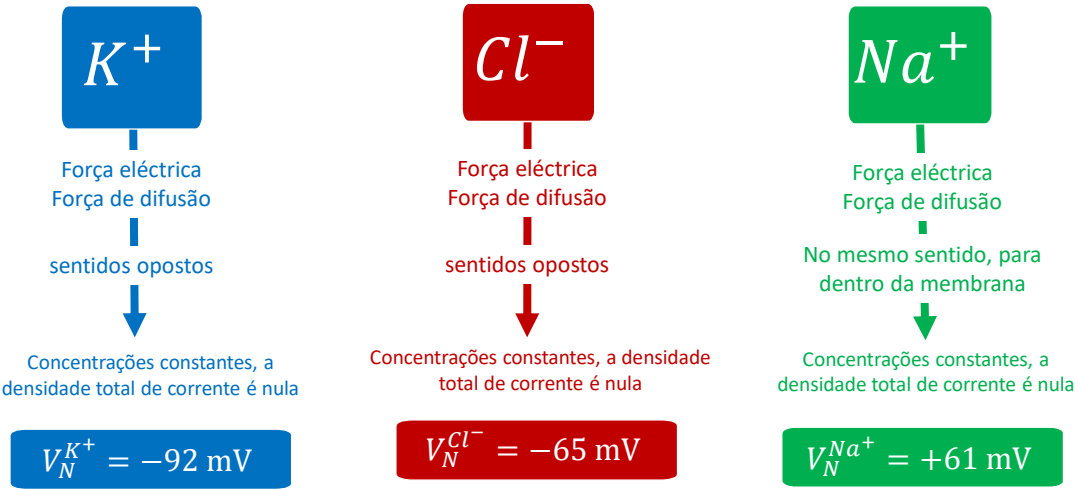
Concentrações iónicas no axónio de lula

$$V_{K^+}^N = -\frac{1.38 \times 10^{-23} \times 290}{1.6 \times 10^{-19}} \ln\left(\frac{400}{10}\right) \quad V_{K^+}^N = -92.3\text{ mV}$$

$$V_{Na^+}^N = -\frac{1.38 \times 10^{-23} \times 290}{1.6 \times 10^{-19}} \ln\left(\frac{41}{460}\right) \quad V_{Na^+}^N = +60.5\text{ mV}$$

$$V_{Cl^-}^N = -\frac{1.38 \times 10^{-23} \times 290}{-1.6 \times 10^{-19}} \ln\left(\frac{40}{540}\right) \quad V_{Cl^-}^N = -65.1\text{ mV}$$

Resumindo, os resultados para os três iões:



Como justificar estes resultados tão diferentes?

- Os valores obtidos para o potencial de Nerst mostram que o potássio e o sódio não estão em equilíbrio de Donnan, ou seja **as forças de difusão e eléctricas não estão equilibradas**.
- O potencial de repouso é um potencial de difusão, ou seja, a diferença de potencial entre o interior e o exterior resulta de uma difusão bidireccional dos iões mas **é um estado dinâmico**.

Então...

Tem que haver algum outro mecanismo que permita que as concentrações de sódio e potássio se mantenham constantes apesar das forças eléctricas e de difusão não estarem equilibradas.

Transporte activo

- Se apenas houvesse o transporte passivo através da membrana, as células veriam as concentrações dos iões alteradas, ao fim de um certo tempo.
- Para que essas concentrações se possam manter constantes, tem que ocorrer um outro tipo de transporte de iões - o transporte activo.

Transporte activo

- A densidade de corrente devida ao movimento de cada ião, J_n , vai ser o resultado da corrente passiva de cada ião, J_n^p , (fluxo electro - difusivo) e da corrente activa, J_n^a

$$J_n = J_n^p + J_n^a$$

Densidade de corrente passiva e activa

Já vimos na aula anterior que a densidade de corrente passiva (ou corrente electro – difusiva) é dada por:

$$J_n^p = -q_n \mu_n [q_n C_n \text{grad}(V) + k_B T \text{grad}(C_n)]$$

$\mu_n = \frac{D_n}{k_B T}$

Então, podemos escrever:

$$J_n - J_n^a = -q_n \frac{D_n}{k_B T} [q_n C_n \text{grad}(V) + k_B T \text{grad}(C_n)]$$

Densidade de corrente passiva e activa

Admitindo, como já fizemos antes, que as variações de potencial e de concentração se dão apenas na direcção xx , perpendicular à face da membrana e escrevendo a mobilidade em função do coeficiente de difusão:

$$J_n - J_n^a = -q_n^2 \frac{D_n}{k_B T} C_n \frac{d}{dx} \left[V(x) + \frac{k_B T}{q_n} \frac{1}{C_n} C_n(x) \right]$$

$$(J_n - J_n^a) dx = -q_n^2 \frac{D_n}{k_B T} C_n \cdot d \left[V(x) + \frac{k_B T}{q_n} \frac{1}{C_n} C_n(x) \right]$$

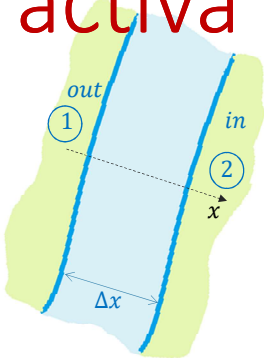
Densidade de corrente passiva e activa

Integrando, através da membrana do exterior para o interior:

$$\int_{x_1}^{x_2} (J_n - J_n^a) dx = -q_n^2 \frac{D_n}{k_B T} C_n \cdot \left[V_2 - V_1 + \frac{k_B T}{q_n} \ln \frac{C_{n(2)}}{C_{n(1)}} \right]$$

$$\int_{x_1}^{x_2} (J_n - J_n^a) dx = -q_n^2 \frac{D_n}{k_B T} C_n \cdot [V_{0M} - V_n^N]$$

σ_n (condutividade eléctrica dos iões n)



Densidade de corrente passiva e activa

Considerando que, para o deslocamento iónico de x_1 até x_2 , o fluxo eletrodifusivo de iões do tipo n através da membrana dá origem uma densidade de corrente aproximadamente constante, então a densidade de corrente devido aos fluxos activo e passivo dos iões do tipo n , será,

$$(J_n - J_n^a)(x_2 - x_1) = -\sigma_n \cdot [V_{0M} - V_n^N] \quad J_n = J_n^a + \frac{\sigma_n}{x_2 - x_1} \cdot [V_n^N - V_{0M}]$$
$$J_n = J_n^a + g_n [V_n^N - V_{0M}]$$

g_n (condutância eléctrica iónica da membrana para o ião do tipo, ou seja, permeabilidade da membrana para o ião de tipo n ($\Omega^{-1} \cdot m^{-2}$)).

Modelo eléctrico da condutância da membrana

Se existe uma diferença entre o potencial de membrana e o potencial de Nerst para um dado ião a força resultante que actua no ião não é nula.

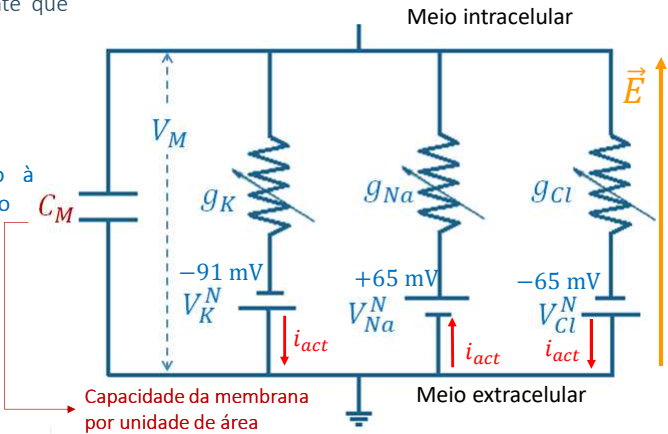
$$J_n = J_n^a + \boxed{g_n \cdot [V_n^N - V_{OM}]}$$

Corrente passiva

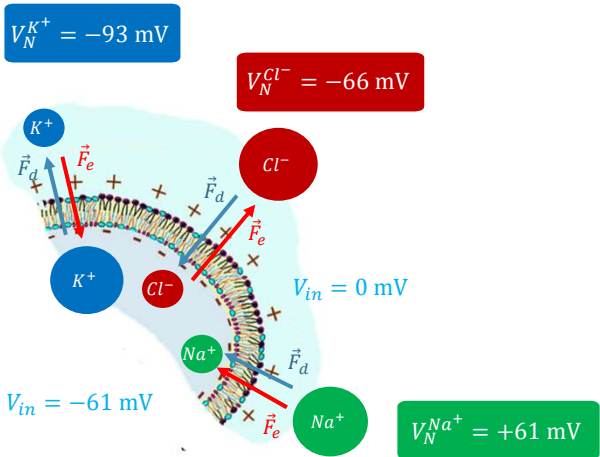
Desvio em relação à situação de equilíbrio

A densidade de corrente total será o somatório das densidades de corrente para cada um dos iões:

$$J_{total} = \sum (J_n^a + J_n^p)$$



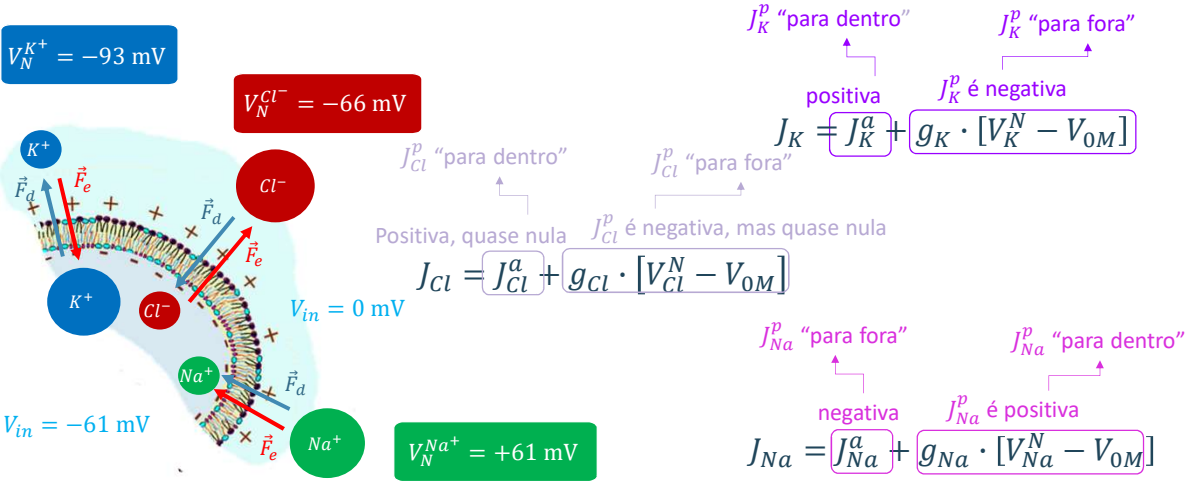
Exemplo: voltando à lula



Concentrações iónicas no axónio de lula

ião	C _{in} (mM)	C _{out} (mM)
K ⁺	400	10
Na ⁺	41	460
Cl ⁻	40	540

Correntes passiva e activa

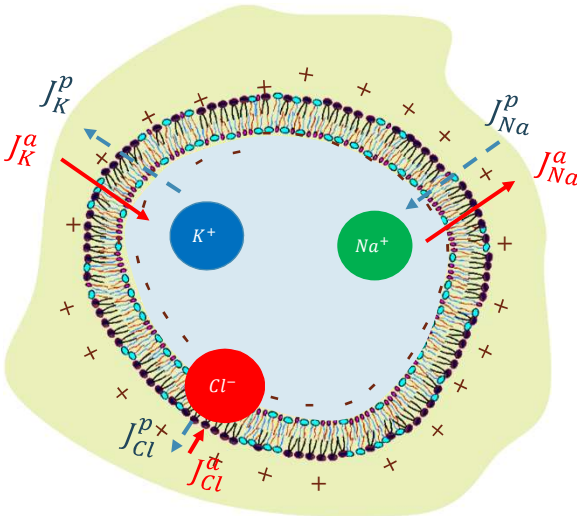


Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

19

Correntes activas e passivas



Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

20

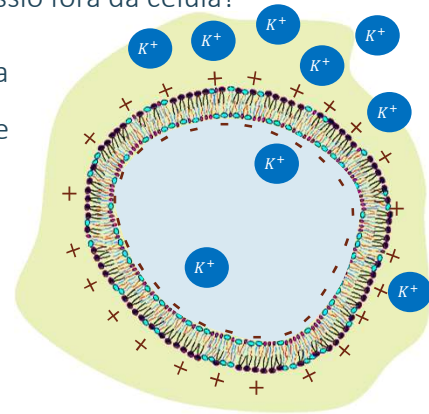
O sódio e o potássio

Há uma corrente activa de sódio para dentro da célula e uma corrente activa de potássio para fora da célula - vamos olhar “mais de perto” para o movimento destes iões.

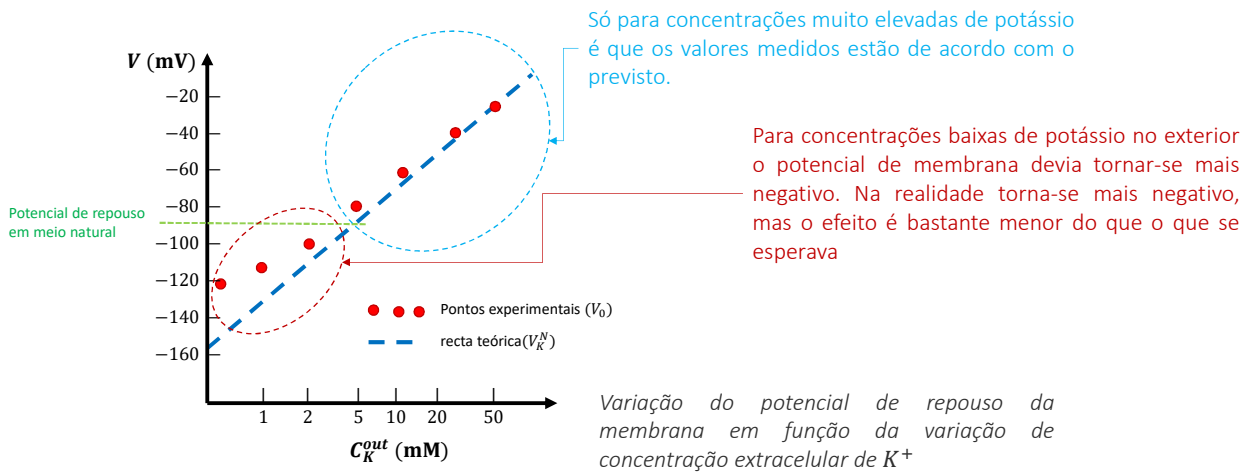
Fluxo de K^+ e Na^+ através da membrana

O que acontece se se aumentar a concentração de potássio fora da célula?

Como a membrana é muito permeável ao potássio, seria de esperar que o potencial de membrana aumentasse de acordo com o potencial de Nerst do potássio.



Na⁺, K⁺ e o potencial de repouso

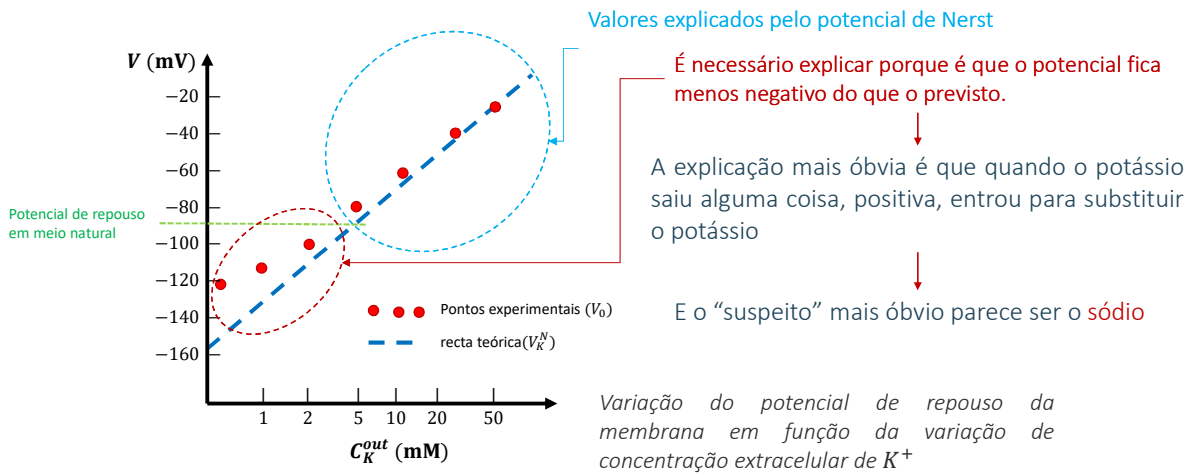


Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

23

Na⁺, K⁺ e o potencial de repouso



Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

24

Concentração iónica dentro e fora da célula

Concentrações iónicas dentro e fora de uma célula muscular de rã, em repouso.

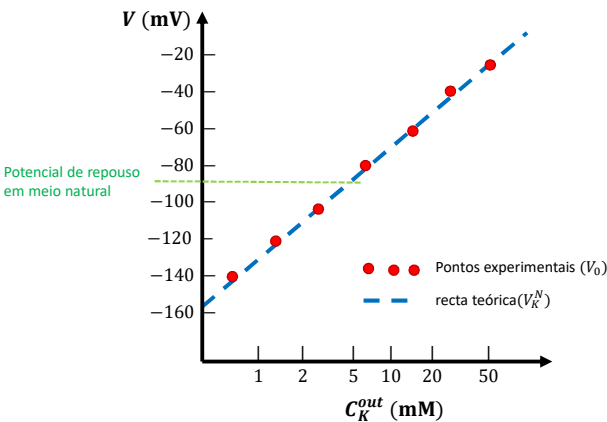
ião	$C_{out} (10^{-3}mol/l)$	$C_{in} (10^{-3}mol/l)$
K^+	2.25	124
Na^+	109	10.4
Ca^{++}	2.1	4.9
Mg^{++}	1.25	14.0
Cl^-	77.5	1.5
HCO_3^-	26.5	12.4
iões orgânicos (negativos)	13	74

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

25

Na^+ , K^+ e o potencial de repouso



Pode fazer-se uma experiência para confirmar:

Repete-se a experiência substituindo os iões de sódio no exterior por outro ião positivo (para manter a mesma distribuição de carga da experiência anterior), mas para o qual a membrana é impermeável

Se o sódio não está disponível, o potencial de repouso da membrana segue claramente o potencial de Nernst do potássio.

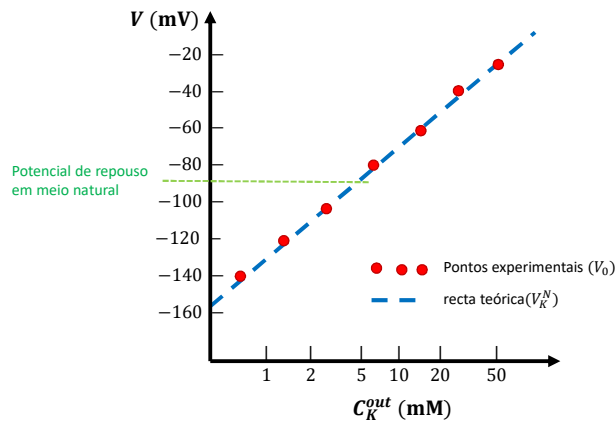
Variação do potencial de repouso da membrana em função da variação de concentração extracelular de K^+ quando os iões de Na^+ por outros catões (colina) que não podem atravessar a membrana.

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

26

Na⁺, K⁺ e o potencial de repouso



Conclusão:

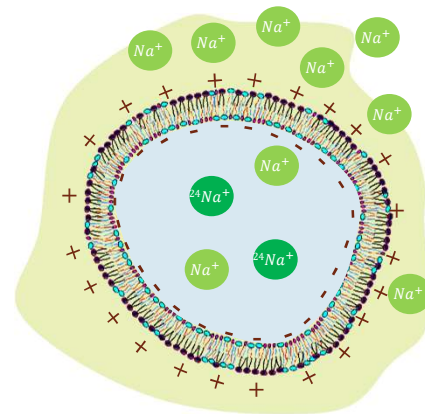
Para baixas concentrações de potássio há uma contribuição de corrente activa de sódio, para o interior da célula para substituir o potássio e repor o potencial de membrana, tornando-o menos negativo.

Variação do potencial de repouso da membrana em função da variação de concentração extracelular de K⁺ quando os iões de Na⁺ por outros catões (colina) que não podem atravessar a membrana.

Fluxo de Na⁺ através da membrana

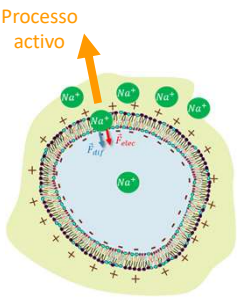
Experiência para confirmar a existência de um processo activo para o transporte de iões de Na⁺ para fora da célula:

1. Adicionam-se iões de $^{24}\text{Na}^+$ ao meio intracelular.
2. Mede-se, em função do tempo, a presença de $^{24}\text{Na}^+$ fora da célula.
3. Altera-se a temperatura

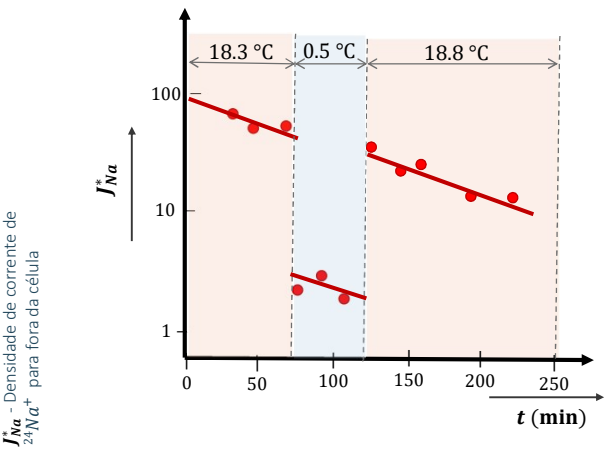


Fluxo de Na^+ através da membrana

Passado algum tempo observou-se um fluxo significativo de sódio de dentro para fora da célula, contrariando as forças de difusão e eléctricas, indicando a existência de um mecanismo só possível com “gasto” de energia, ou seja, de um tipo de transporte activo.



Transporte activo de Na^+



Resultados da experiência:

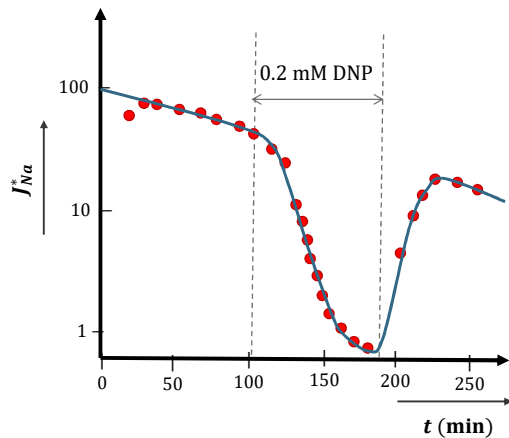
A redução da temperatura faz diminuir abruptamente a densidade de corrente de íões de sódio para fora da célula.

Quando a temperatura volta ao valor inicial o fluxo de íões para fora da célula retoma a tendência inicial.

Este comportamento mostra que o processo não é uma difusão passiva, mas sim um processo que necessita de energia para ocorrer.

A tendência descendente da densidade de corrente ao longo do tempo é explicada pela diminuição do gradiente de concentração à medida que a experiência decorre

Transporte activo de Na^+



Outra experiência:

Variação da densidade de corrente dos iões de $^{24}\text{Na}^+$ quando DNP (uma substância que bloqueia os processos metabólicos de produção de energia) é adicionado ao meio intracelular.

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

31

As bombas sódio - potássio

- Bombas electrogénicas $\rightarrow J_M^a > 0$

O transporte é feito com o consumo de energia armazenada nas moléculas de ATP – cada molécula de ATP fornece energia ao transporte de 3 iões de sódio para fora e 2 iões de potássio para dentro da célula

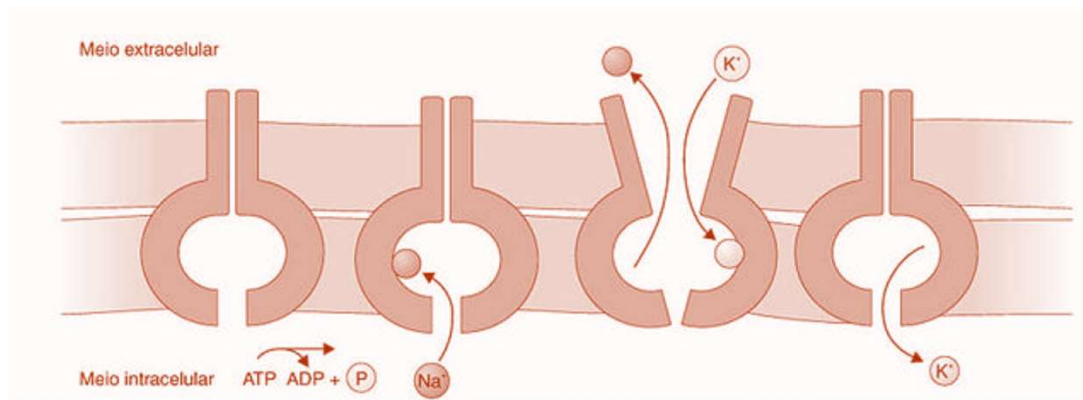
- Bombas não electrogénicas \rightarrow no repouso $\rightarrow J_M = 0 \rightarrow J_M^a = 0$ e $J_M^p = 0$

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

32

As bombas sódio - potássio

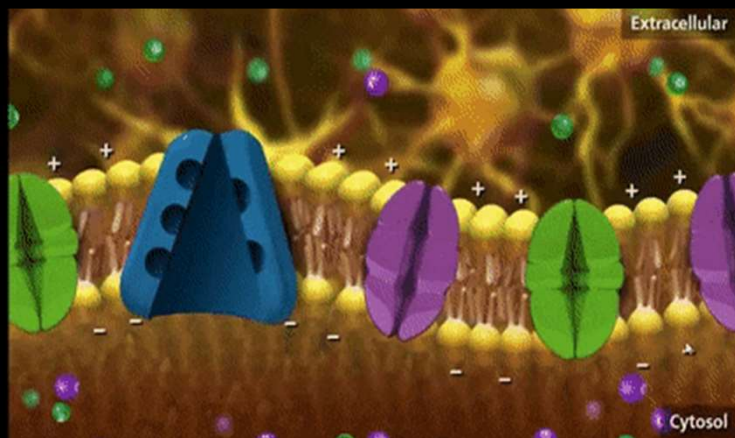


Esquema simplificado do funcionamento de uma bomba de sódio-potássio. A proteína inicia o transporte de Na para fora da célula “usando” a energia da molécula de ATP

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

33



Bombas não-eletrogénicas

Em repouso $\rightarrow J_M = 0 \rightarrow J_M^a = 0$ e $J_M^p = 0 \rightarrow J_K + J_{Na} + J_{Cl} = 0$

Substituindo as densidades de corrente de cada ião:

$$g_{Cl} \cdot [V_{Cl}^N - V_{0M}] + g_{Na} \cdot [V_{Na}^N - V_{0M}] + g_K \cdot [V_K^N - V_{0M}] = 0$$

Nestas condições, o potencial de repouso da membrana, vem:

$$V_{0M} = \frac{g_K V_K^N + g_{Na} V_{Na}^N + g_{Cl} V_{Cl}^N}{g_K + g_{Na} + g_{Cl}}$$

Nas células nervosas

Voltando ao exemplo da lula, vimos que a contribuição do cloro era quase nula. Geralmente para valores típicos do potencial de repouso, V_{0M} , das células nervosas a condutância g_{Cl} é muito pequena e a contribuição dos iões Cl^- é, em geral, desprezável, então:

$$g_{Na} \cdot [V_{Na}^N - V_{0M}] + g_K \cdot [V_K^N - V_{0M}] = 0 \quad \frac{g_K}{g_{Na}} = \frac{[V_{Na}^N - V_{0M}]}{[V_{0M} - V_K^N]}$$

E o repouso da membrana, vem:
$$V_{0M} = V_K^N + \frac{[V_{Na}^N - V_K^N]}{1 + g_K/g_{Na}}$$

Nas células nervosas típicas:

Para as células nervosas, com valores típicos de potenciais de Nernst:

$$(V_{0M} - V_K^N) \ll -(V_{0M} - V_{Na}^N)$$

Como: $\frac{g_K}{g_{Na}} = \frac{[V_{Na}^N - V_{0M}]}{[V_{0M} - V_K^N]} \Rightarrow \frac{g_K}{g_{Na}} \gg 1$

Potencial de acção de uma célula nervosa

Potencial de acção

As propriedades eléctricas das membranas podem ser alteradas através de estímulos químicos, eléctricos ou mecânicos.

A membrana possui canais de iões que podem reagir a esses estímulos, abrindo ou fechando, alterando a condutância essencialmente do sódio e do potássio e como consequência alterando a densidade de corrente através da membrana e o potencial da membrana.

Um bom exemplo deste comportamento é a transmissão de sinais através dos axónios.

Membranas excitáveis

Sob o ponto de vista eléctrico, um nervo pode apresentar dois estados:

- Num estado de repouso em que a corrente eléctrica através da membrana do axónio é praticamente nula;
- Num estado activo, onde ocorre um potencial de acção, acompanhado por correntes eléctricas de solutos iónicos para fora e para dentro da célula.

A transição de um estado para outro ocorre pela aplicação de estímulos.

Potencial de acção

Na ausência de estímulos externos, o potencial de membrana permanece constante e igual a V_{0M} . No entanto quando ocorre um estímulo externo o potencial de membrana pode ser bruscamente alterado de uma quantidade v . A esta variação rápida, v , chama-se potencial de acção.

$$V_M = V_{0M} + v$$

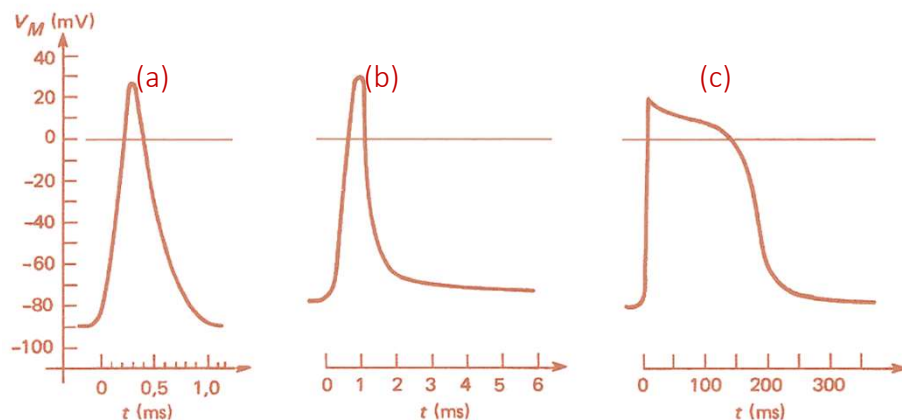
Em geral o valor máximo atingido pelo potencial de membrana é de cerca de **+30 mV**. O tempo de resposta da membrana depende da célula em causa – pode ir de **1 ms** até mais de **200 ms**.

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

41

Potencial de acção



Potenciais de acção de uma célula nervosa (a), uma célula muscular (b) e uma célula cardíaca (c)

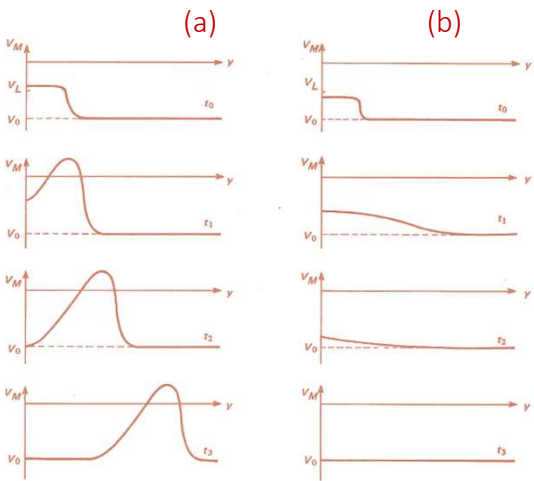
Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

42

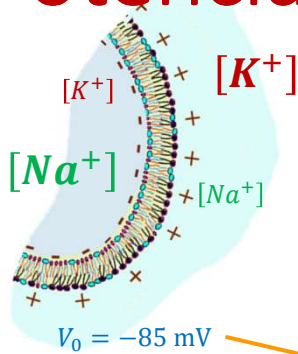
Potencial limiar

Nas células excitáveis, para que o pulso de potencial seja transmitido através da membrana, o potencial de membrana tem que ter um valor mínimo, característico do tipo de célula, o potencial limiar, V_L .



Resposta temporal de uma membrana a dois estímulos diferentes: (a) $V_M > V_L$, (b) $V_M < V_L$

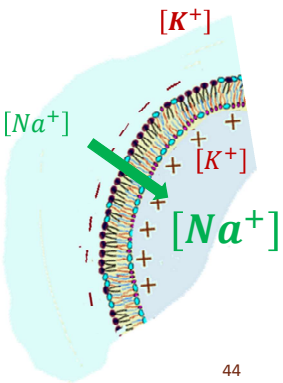
Potencial de ação



Antes do estímulo o potencial de membrana está negativo

Depois do estímulo, a difusão repentina de Na^+ para dentro da célula, através da membrana origina um excesso de cargas positivas no lado interior da membrana celular – ocorre a **despolarização da membrana**

$V_M = +60 \text{ mV}$



Potencial de acção

Após um estímulo, e durante cerca de 0.2 ms, a membrana torna-se subitamente 100 vezes mais permeável aos iões Na^+ do que a K^+ .

O potencial de acção é protagonizado pelos iões de sódio, cujos canais são extremamente rápidos.

O sódio entra na célula por transporte passivo, de acordo com o gradiente de pressão, do exterior onde a concentração é maior, para o interior. O excesso de sódio no interior leva à inversão do potencial de membrana, que durante alguns instantes fica positivo

Voltar ao repouso

Passados 0.2 ms, a membrana celular torna-se outra vez impermeável a Na^+ e permeável a K^+ .

O ião K^+ difunde através da membrana, a favor do campo eléctrico (o potencial de membrana está invertido), compensando o défice de carga positiva na lado exterior da membrana originado pela difusão de Na^+ para o interior durante o estímulo da célula.

É então restabelecida a situação inicial característica da célula em repouso.

Propagação do impulso

O impulso nervoso é constituído pela propagação do potencial de acção ao longo de um axónio com uma velocidade constante.

O estímulo que dá origem ao potencial de acção não depende simplesmente da diferença de potencial (**tensão**) que se aplica entre dois pontos próximos no axónio (ou através da membrana plasmática), mas também da **duração do estímulo**.

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

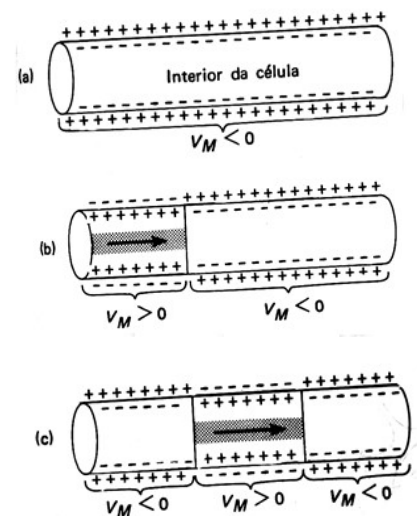
47

Propagação ao longo do axónio

Célula em repouso

Um estímulo provoca uma maior permeabilidade a Na^+ originando um potencial de acção e invertendo o potencial de membrana.

No exterior, as cargas **positivas** deslocam-se de modo a compensar as cargas **negativas**. Ao contrário, no interior, as cargas **negativas** deslocam-se de modo a compensar as cargas **positivas**



Júlia Tovar

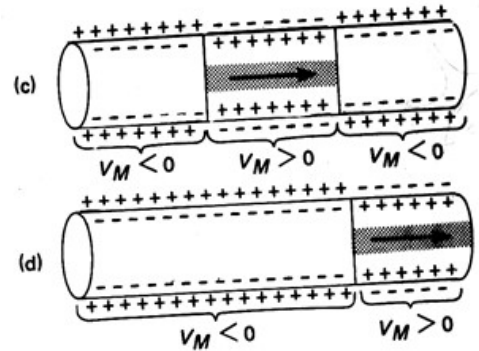
Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

48

Propagação ao longo do axónio

Esta alteração constitui um estímulo eléctrico que faz mudar a permeabilidade da membrana a Na^+ nessas zonas. São gerados potenciais de acção que se propagam ao longo do axónio. Entretanto (~ 1.5 ms) a região inicialmente estimulada volta ao estado de repouso.

Como resultado, o potencial de acção vai-se propagando ao longo do axónio e as zonas por onde já passou vão voltando ao estado normal. O potencial de acção propaga-se até ao fim do axónio.

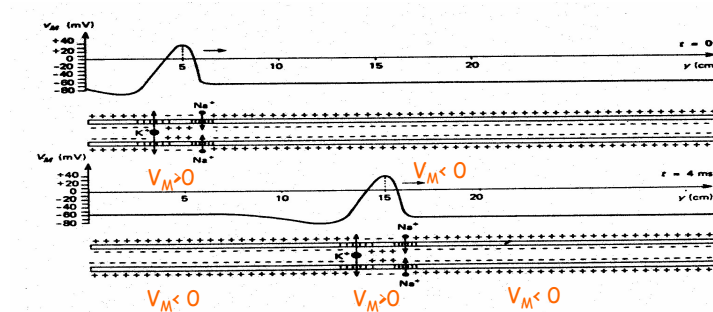


Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

49

Propagação ao longo do axónio



Durante a propagação do potencial de acção, ocorre uma mudança no sinal das cargas eléctricas nas superfícies da membrana, causada pela entrada de iões de Na^+ . A distribuição original de cargas é restabelecida com a saída de iões K^+ . Para que a propagação do potencial de acção ocorra, é necessária que a saída de iões de potássio se dê com um certo atraso em relação à entrada de iões de sódio.

Júlia Tovar

Aula 12 – as bombas de sódio e potássio

50

Propagação ao longo do axónio

Quando o potencial da membrana varia de V_{0M} para um valor $V_M > V_{0M}$, e depois volta à situação de repouso, a corrente eléctrica resultante vai ter três componentes:

1. Uma componente que faz mudar a carga superficial σ_M sobre a membrana, durando alguns microsegundos (estímulo);
2. A componente que flui para o interior da membrana devido ao fluxo dos iões Na^+ (durante 1ms a 2ms);
3. A componente que flui para fora da membrana devido ao fluxo dos iões K^+ (4ms). Esta componente pode ficar estacionária por algum tempo, dependendo do potencial da membrana.

Transmissão do potencial de acção:

<https://www.youtube.com/watch?v=GAU4r0XleRU>

Bombas de sódio e potássio

<https://www.youtube.com/watch?v=8hZGeVrjRyg>