



Osmose, osmolaridade e tonicidade: transporte de água e regulação do volume celular

Prof. Ricardo Leão – Departamento de Fisiologia – FMRP-USP

COMO SE DÁ O FLUXO DE ÁGUA ATRAVÉS DA MEMBRANA?

Vamos falar de osmose, osmolaridade e
pressão osmótica...



Wilhelm Pfeffer (1877)

Estudos pioneiros sobre a pressão desenvolvida pelo fluxo passivo de água através de uma membrana semi-permeável (**osmose**).

Célula de Pfeffer

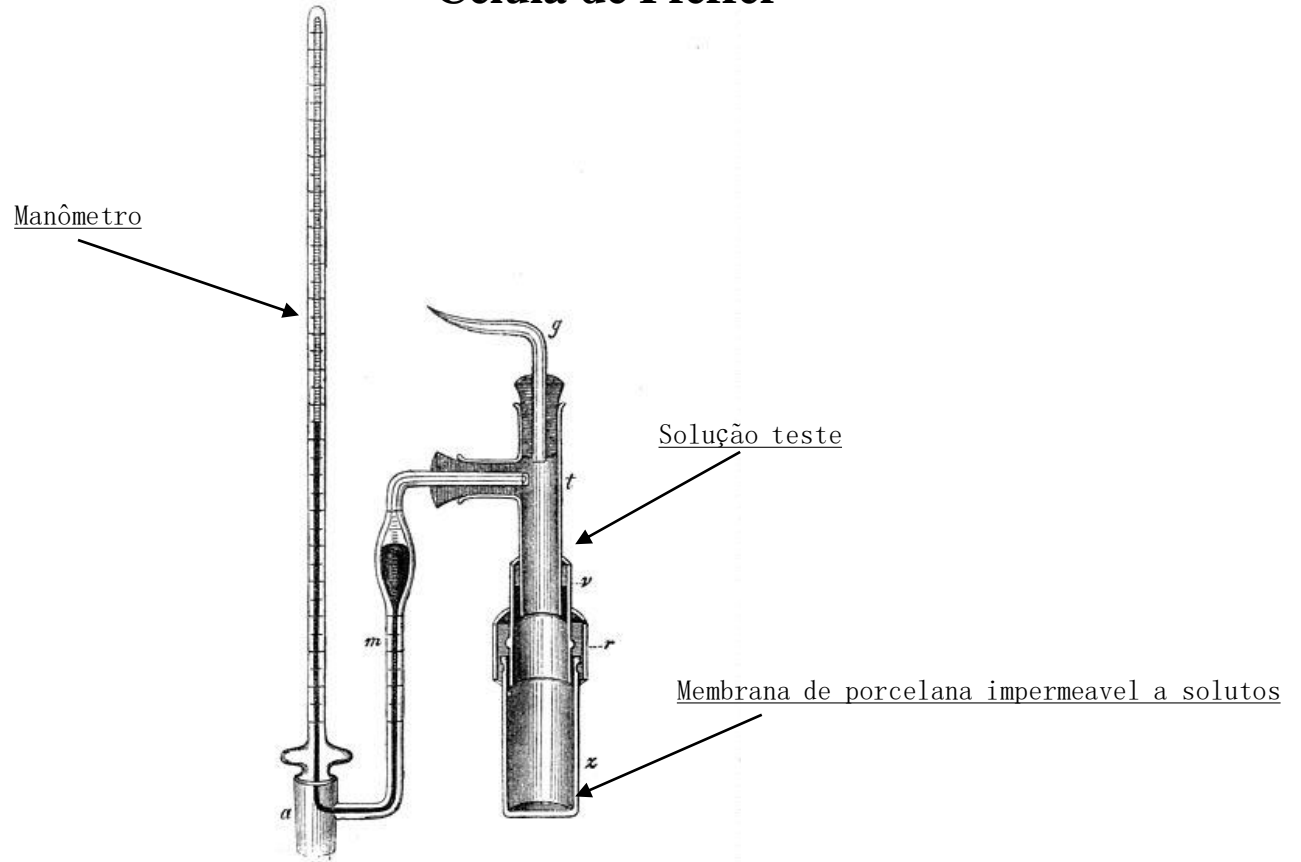


Fig. 1.

PFEFFER VIU QUE A PRESSÃO DESENVOLVIDA VARIA LINEARMENTE COM A CONCENTRAÇÃO DO SOLUTO

Altura da coluna de mercúrio (pressão) em relação a concentração de sacarose = **pressão osmótica**

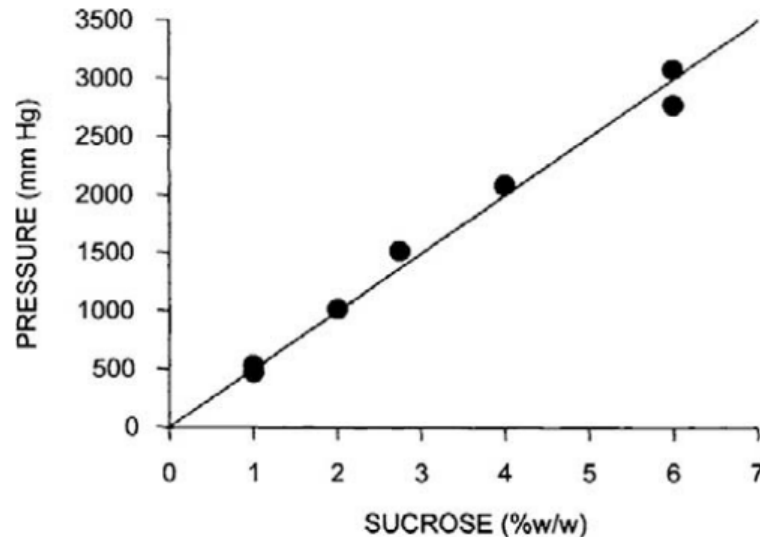
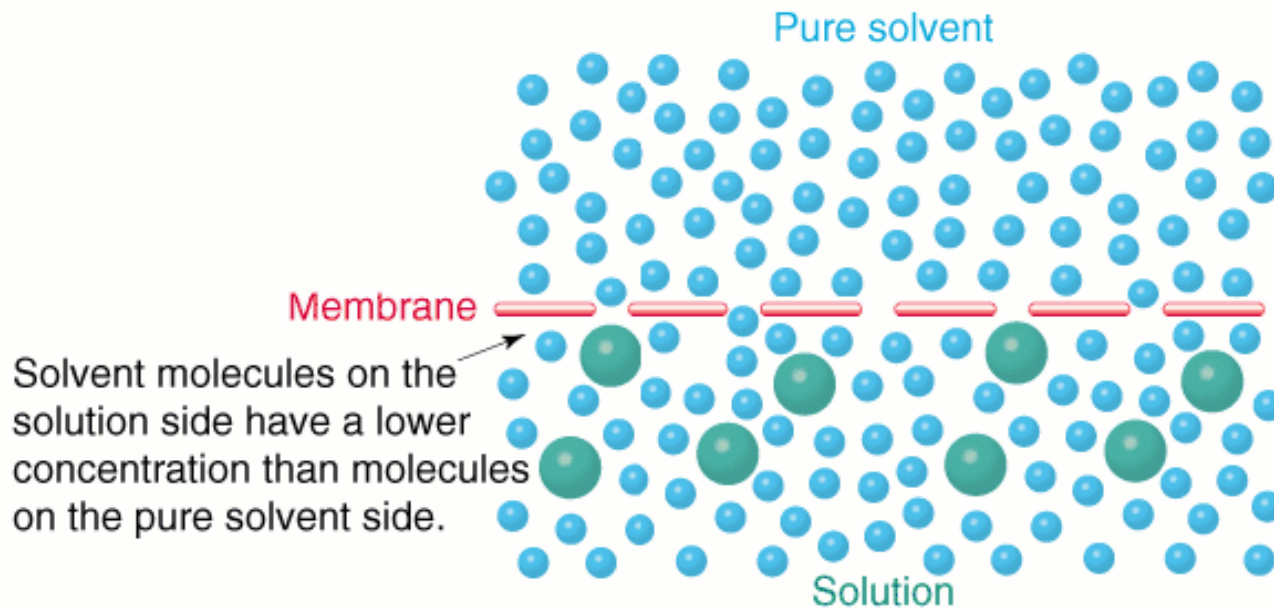


FIGURE 16.2 Plot of data from Pfeffer (1877) for the osmotic pressure of sucrose solutions. A copper ferrocyanide precipitation membrane was formed in the walls of an unglazed porcelain cup. The membrane separated a sucrose solution in the inner chamber from water in the outer chamber. The inner chamber was then attached to a manometer and sealed. The linear relation between the pressure measured with this device and the sucrose concentration were the experimental impetus for deriving van't Hoff's law.

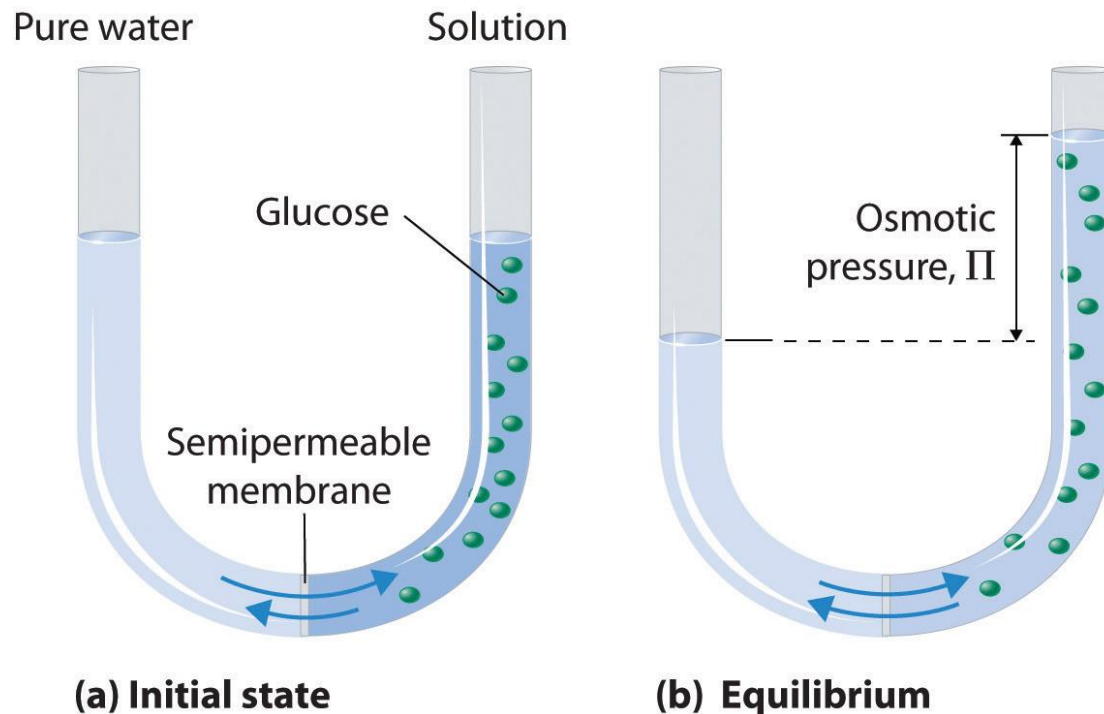
Osmose

- Osmose é definido como o fluxo de água através de uma **membrana semipermeável**
 - Membrana semipermeável: membrana permeável ao solvente (água) mas **não** aos solutos



Osmose

O fluxo ocorre de onde a concentração do soluto é MENOR para onde a concentração do soluto é MAIOR

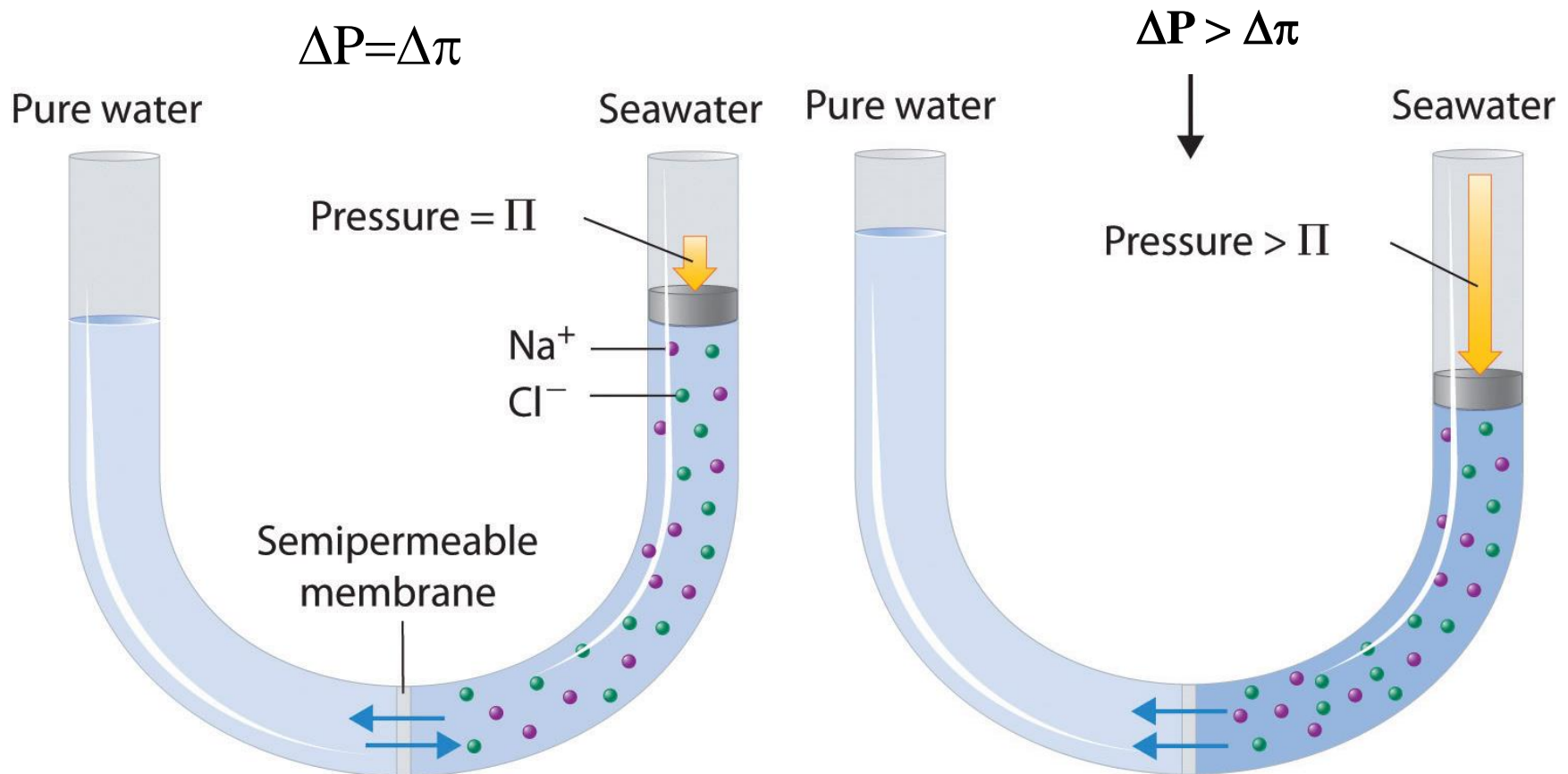


$$J_v = L_p \Delta \pi$$

- O fluxo (J_v) de água através da membrana semipermeável é dado pela equação acima, onde L_p é o coeficiente de permeabilidade hidráulica da membrana e $\Delta \pi$ diferença de pressão osmótica entre os dois compartimentos

Pressão Osmótica ($\Delta\pi$) da Solução como sendo igual aquela Pressão Hidrostática (ΔP) que **EQUILIBRA O SISTEMA $\Delta\pi = \Delta P$**

Osmose reversa = $\Delta P > \Delta\pi$



$$\Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{total}} = \Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}} + \Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{pressão}}$$

$$\underbrace{\Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{total}}}_{\text{Diferença de energia total}} = \underbrace{RT \ln \frac{[\text{H}_2\text{O}]_i}{[\text{H}_2\text{O}]_o}}_{\text{Parte química}} + \underbrace{\bar{V}_w (P_i - P_o)}_{\text{Parte pressórica}}$$

A pressão osmótica (π) é derivada da **osmolaridade**

Osmolaridade representa o número de partículas de uma solução por litro

$$\text{Osmolaridade (Osm)} = \phi i C$$

ϕ = coeficiente osmótico* * ~1 para maioria dos solutos fisiológicos em baixas concentrações; maior para proteínas

i =número de partículas dissociadas

C =concentração Molar do soluto

1 M sacarose = 1 Osmol/l

2 M glicose = 2 Osmol/l

1M NaCl = 2 Osmol/l

1M CaCl₂ = 3 Osmol/l

Pressão osmótica (π)

Equação de van't Hoff : $\pi = RT(Osm)$

$$\Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{total}} = \Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}} + \Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{pressão}}$$

$$\underbrace{\Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{total}}}_{\text{Diferença de energia total}} = \underbrace{RT \ln \frac{[\text{H}_2\text{O}]_i}{[\text{H}_2\text{O}]_o}}_{\text{Parte química}} + \underbrace{\bar{V}_w (P_i - P_o)}_{\text{Parte pressórica}}$$

$$\ln \frac{[\text{H}_2\text{O}]_i}{[\text{H}_2\text{O}]_o} \cong \bar{V}_w (\text{Osm}_o - \text{Osm}_i)$$

$$\underbrace{\Delta\mu_{\text{H}_2\text{O}, \text{total}}}_{\substack{\text{Energia} \\ \text{mol}}} \cong \underbrace{\bar{V}_w}_{\substack{\text{Volume} \\ \text{mol}}} \cdot \underbrace{[RT(\text{Osm}_o - \text{Osm}_i) + (P_i - P_o)]}_{\text{Pressão}}$$

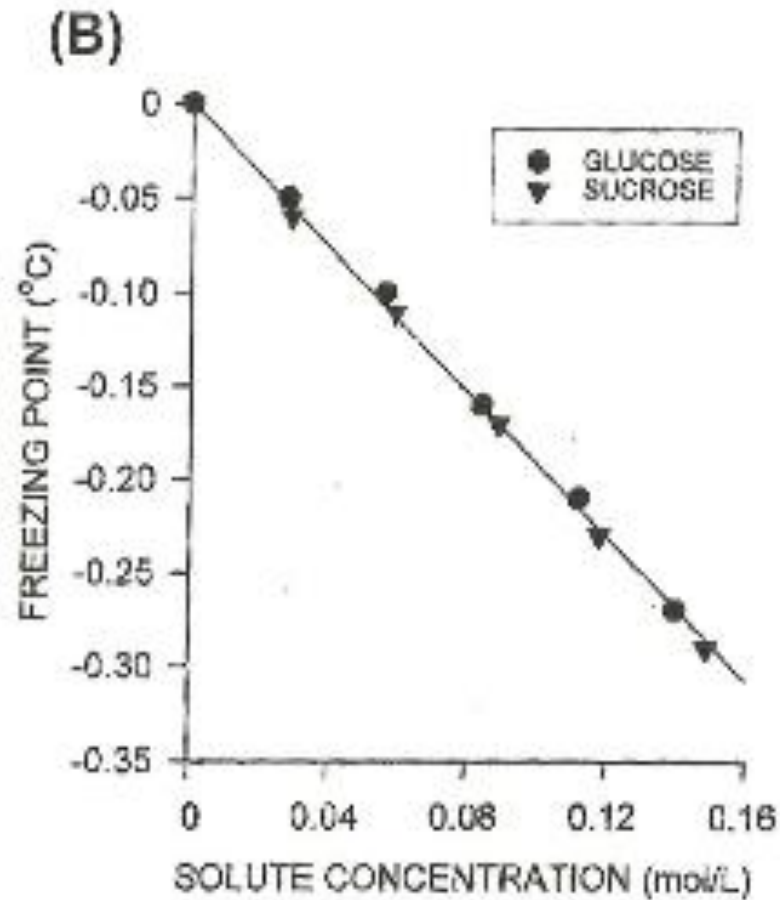
$$RT(\text{Osm}_i - \text{Osm}_o) = (P_i - P_o)$$

$$\underbrace{(\pi_i - \pi_o)}_{\text{Diferença de pressão osmótica } \Delta\pi} = \underbrace{(P_i - P_o)}_{\text{Diferença de pressão hidrostática } \Delta P}$$

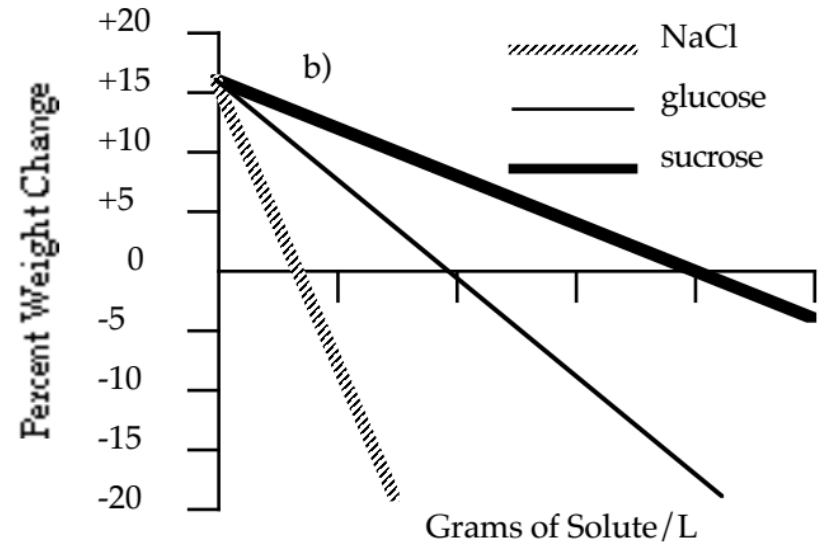
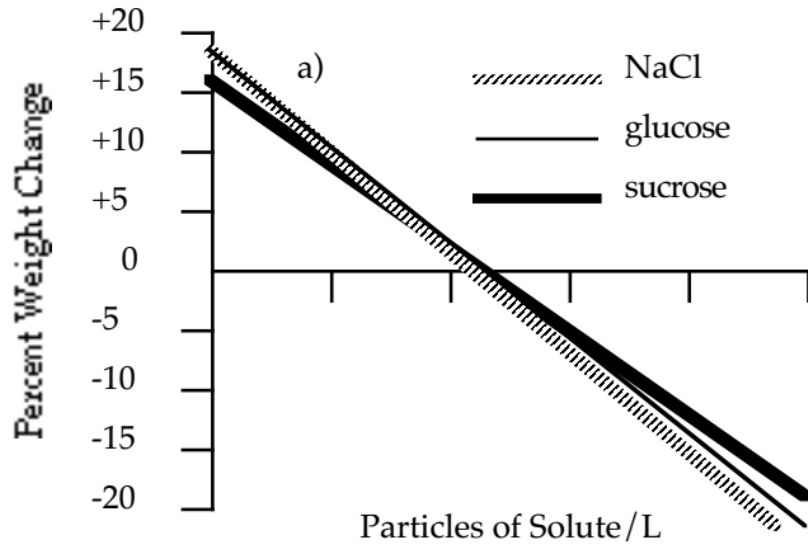
A pressão osmótica é uma propriedade coligativa da solução

- As propriedades coligativas se originam de uma queda do potencial químico da água.
- Outras propriedades coligativas
 - Pressão de vapor
 - Ponto de fusão
 - Ponto de ebulição
- **Osmômetros** usam algumas dessas propriedades coligativas para determinar a osmolaridade

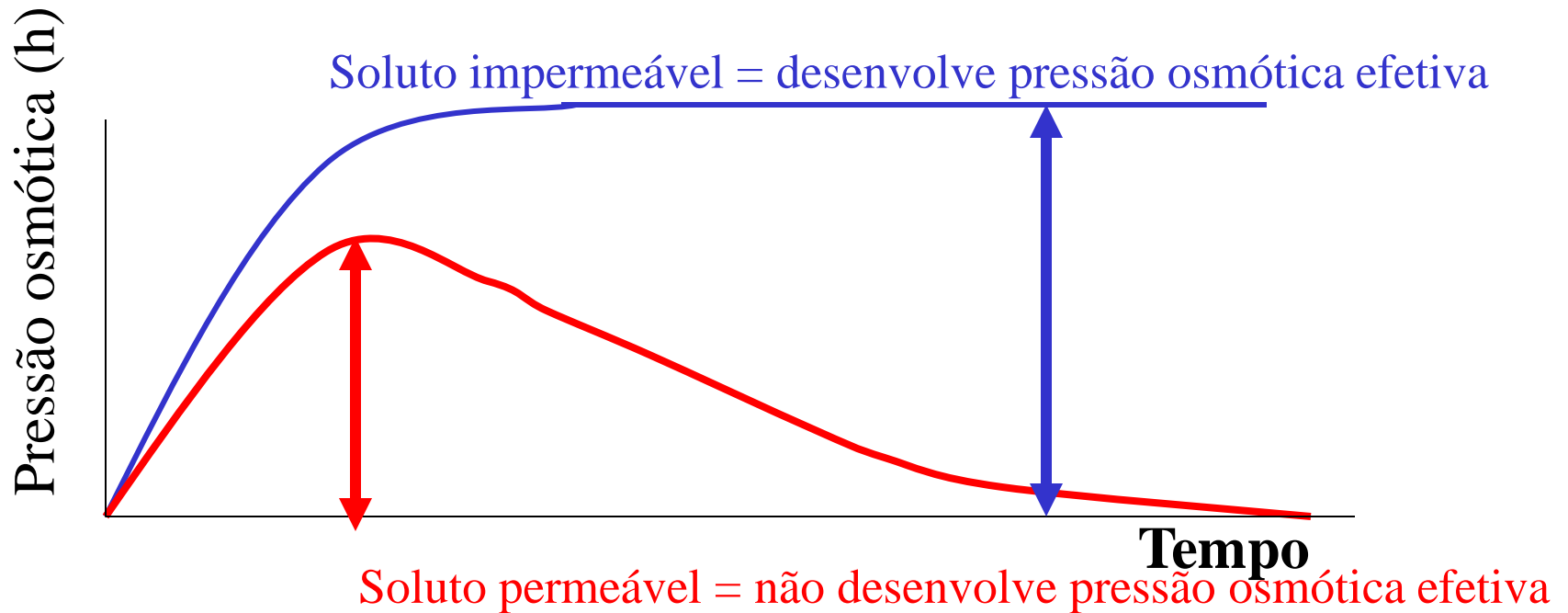
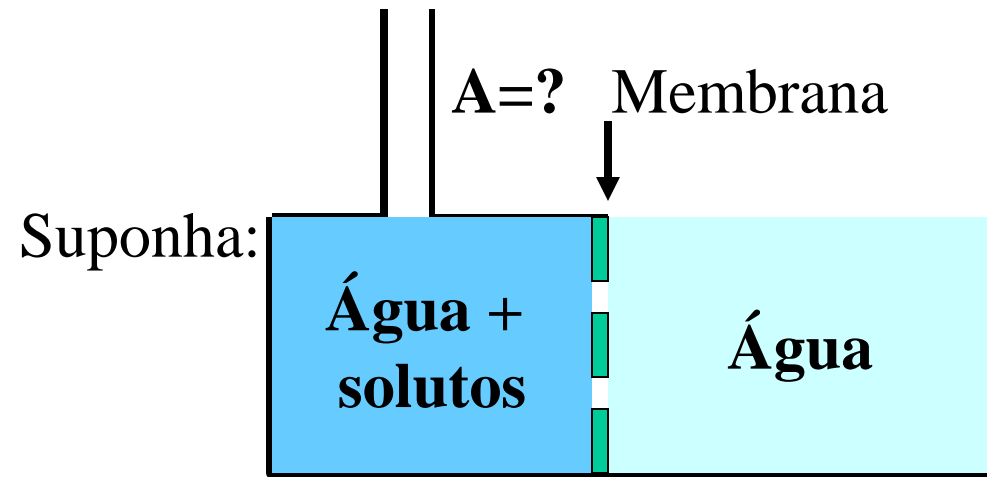
O ponto de congelamento depende apenas do número de partículas na solução



A pressão osmótica depende apenas do número de partículas da solução



Gerando PRESSÃO OSMÓTICA

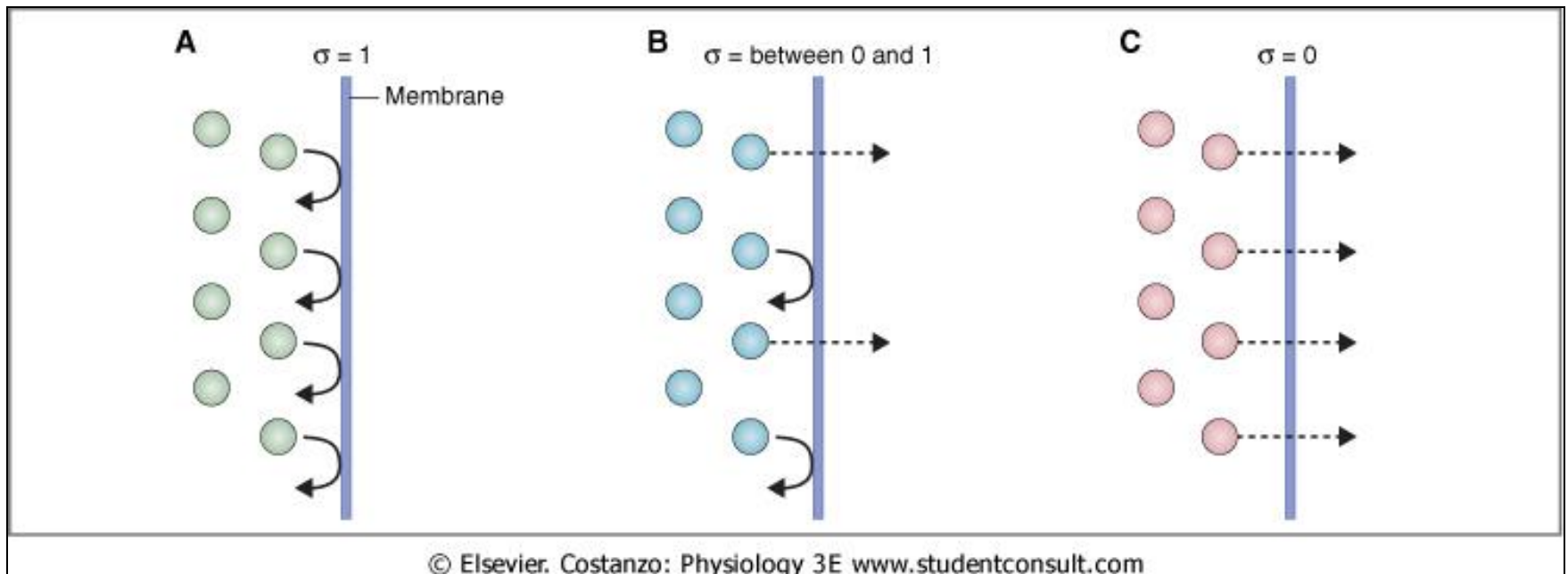


A permeabilidade de um soluto a uma determinada membrana é determinada pelo seu **coeficiente de reflexão** (σ)

$$\sigma = \frac{P}{\pi} = \frac{\Delta P}{\Delta \pi}$$

σ é dependente de um soluto em particular em relação a uma determinada membrana.

Pressão osmótica (π) = $RT\sigma$ (osmolaridade)



Qual é o mecanismo que gera pressão osmótica?

Opinion

Cell
P R E S S

Osmosis is not driven by water dilution

Eric M. Kramer¹ and David R. Myers²

¹ Department of Physics, Bard College at Simon's Rock, Great Barrington, MA 01201, USA

² Department of Chemistry, Bard College at Simon's Rock, Great Barrington, MA 01201, USA

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2012.12.001> Trends in Plant Science, April 2013, Vol. 18, No. 4

A hipótese da diluição da água

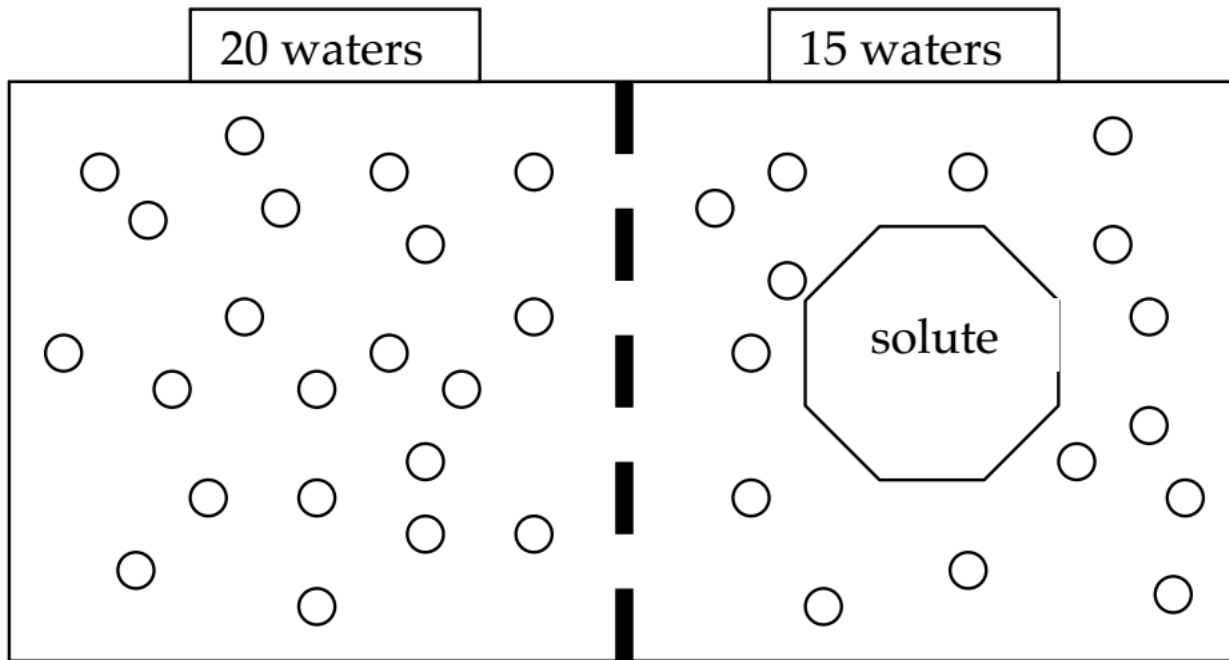


Figure 2. The “concentration of water” explanation for osmosis. The circles are water molecules and the dotted line is a semipermeable membrane.

A hipótese da água “livre”

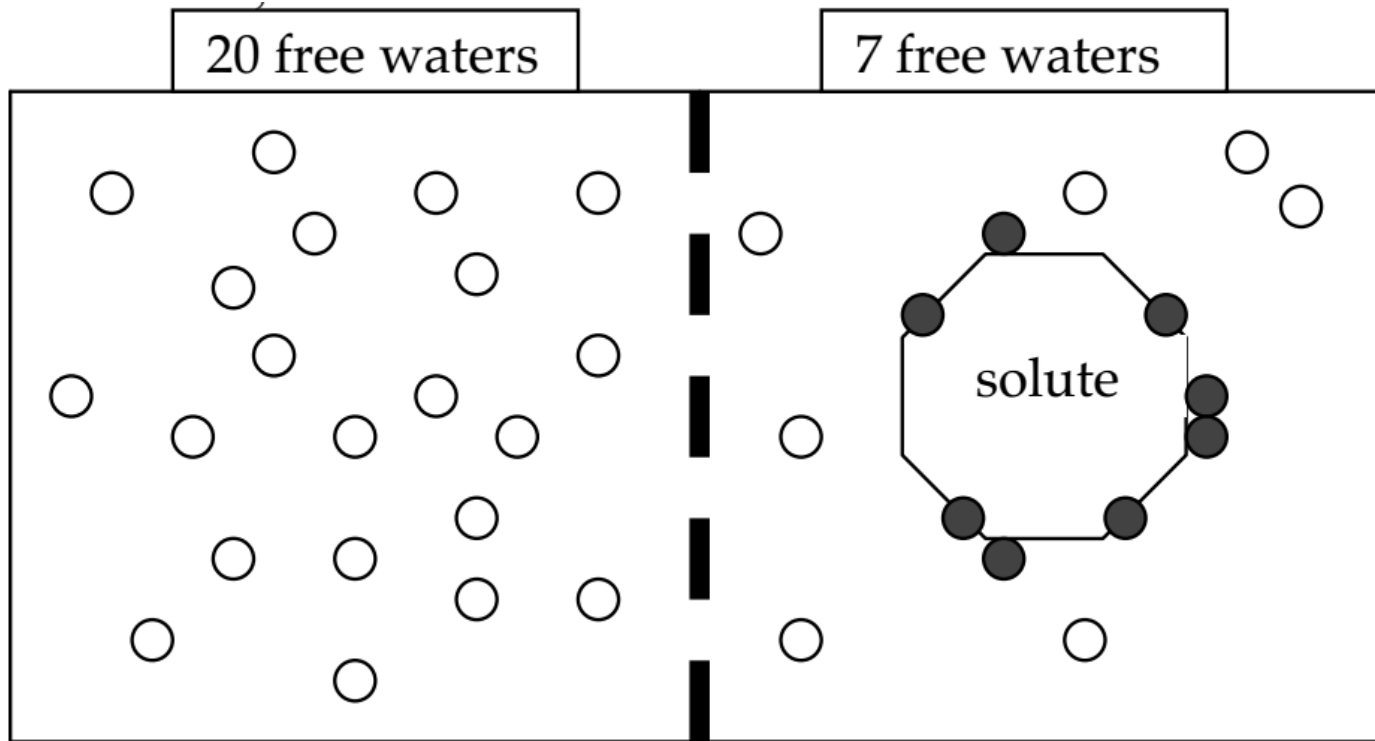
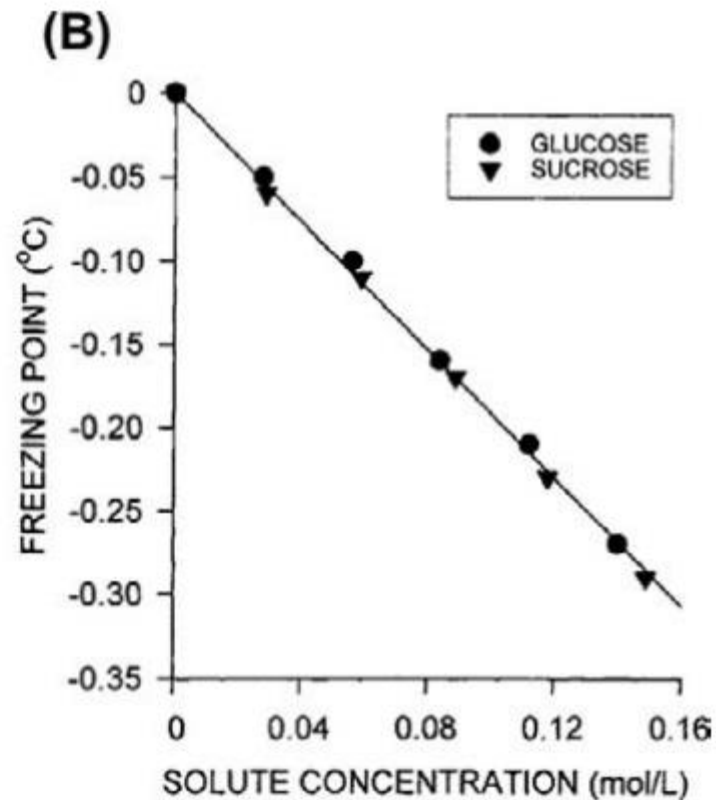
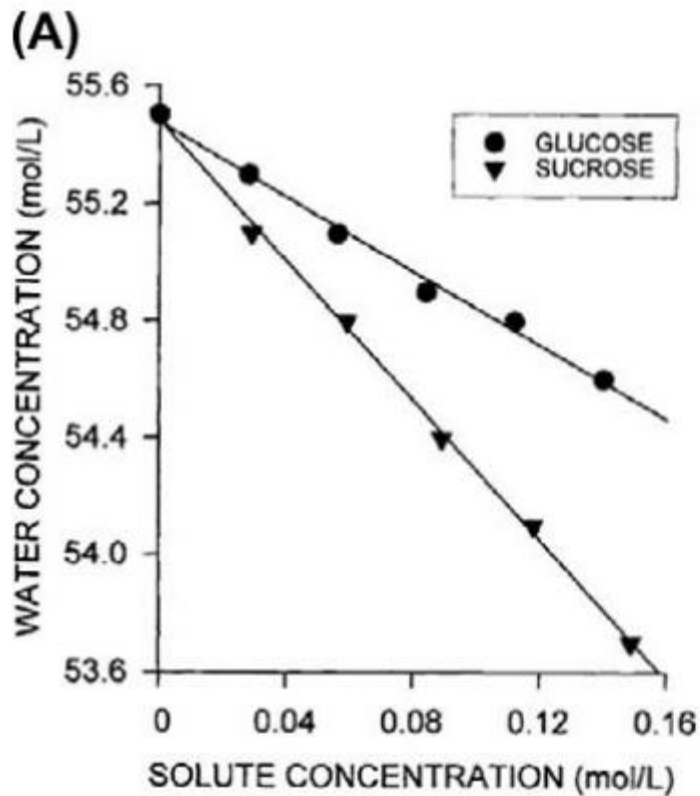


Figure 3. The “bound water” explanation for osmosis. The open circles are free water molecules, the darkened circles are water molecules bound to a hydrophilic solute, and the dotted line is a semipermeable membrane. In addition to displacing water molecules, solutes also bind them.

Porquê elas não podem ser verdade



A história é mais complexa...

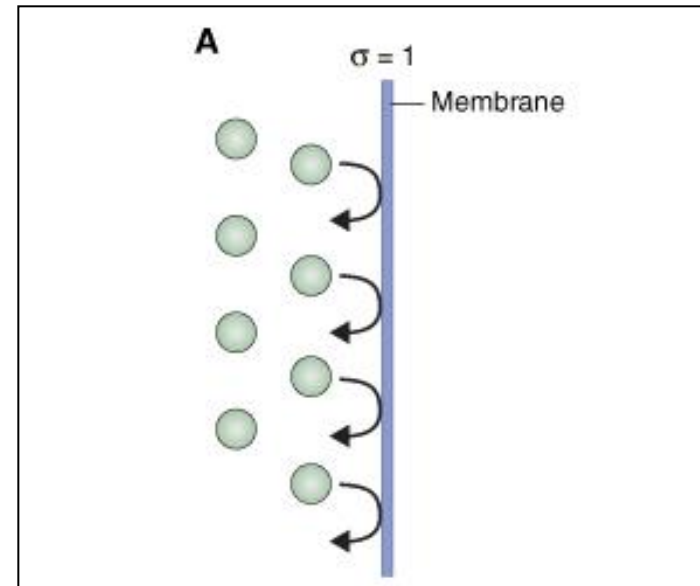
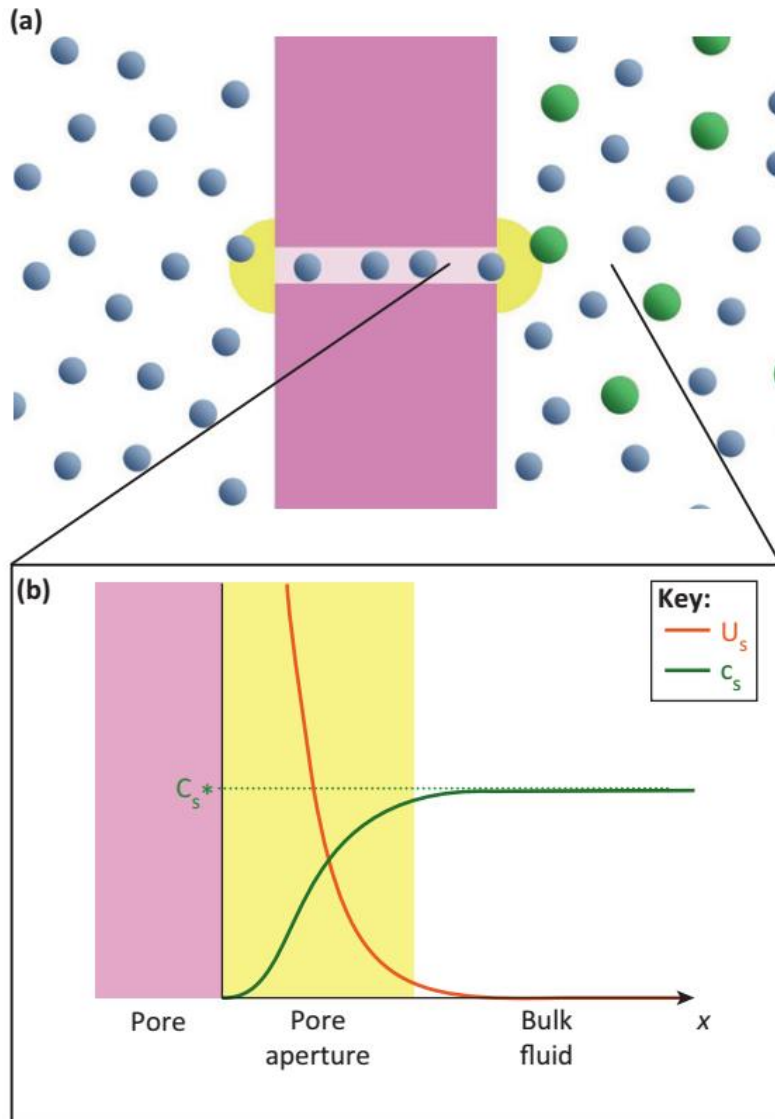


Figure 1. Sketch of an osmotic system. **(a)** A semipermeable membrane (pink) separates a system of pure water (left) from a mix of water and solute (right). The neighborhood of the pore aperture (yellow) exerts a repulsive force on the solute, but has no effect on the water. **(b)** The role of the pore aperture can be described using a repulsive potential energy function $U_s(x)$ (orange curve) that is felt by the solute but not the water. The solute concentration $c_s(x)$ (green curve) is depleted near the pore and approaches its bulk value c_{s^*} far from the pore.

CLASSIFICANDO SOLUÇÕES

Padrão de comparação = PLASMA - $P_{osm} \approx 290 \text{ mOSm/l}$

A) Quanto a Osmolaridade

Compara-se número de partículas/volume
propriedade da solução unicamente!

B) Quanto a Tonicidade

Compara-se a capacidade de desenvolver **pressão osmótica efetiva - propriedade do sistema soluto-membrana.**

É Dependente de σ

CLASSIFICANDO SOLUÇÕES

Padrão de comparação = PLASMA - $P_{osm} \approx 290 \text{ mOsm/l}$

Quanto a osmolaridade

Sacarose $\sigma = 1,0$

290 mM sacarose = 290 mOsm/l

Uréia $\sigma = 0,65$

290 mM uréia = 290 mOsm/l

soluções ISOSMÓTICAS

Quanto a tonicidade

290 mM sacarose = $RT\sigma(\text{Osm}) = 25 \cdot 1 \cdot (0,29) = 7,25 \text{ atm}$

290 mM uréia = $RT\sigma(\text{Osm}) = 25 \cdot (0,65) \cdot (0,29) = 5,85 \text{ atm}$

Obs: $RT \sim 25 \text{ L.atm/mol}$ a 37°C

Sol. Sacarose ISOTÔNICA

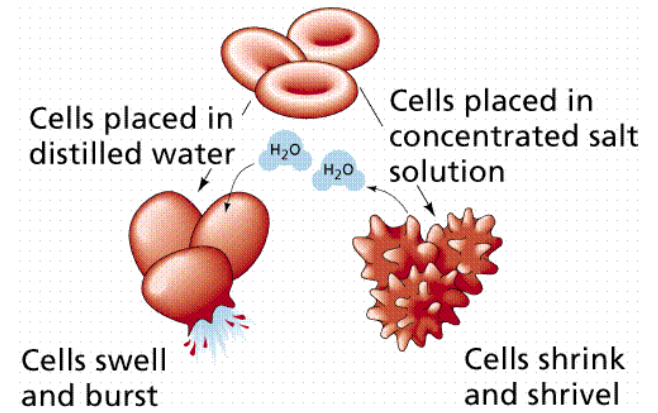
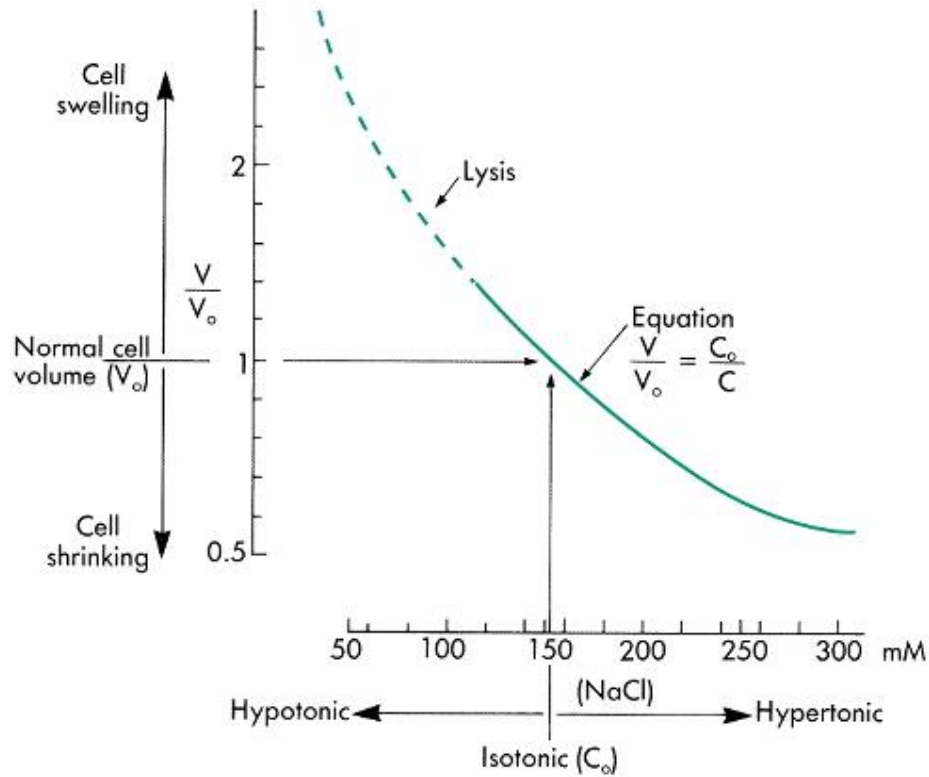
Sol. Uréia HIPOTÔNICA

Osmólito

Osmólito = substância osmoticamente ativa

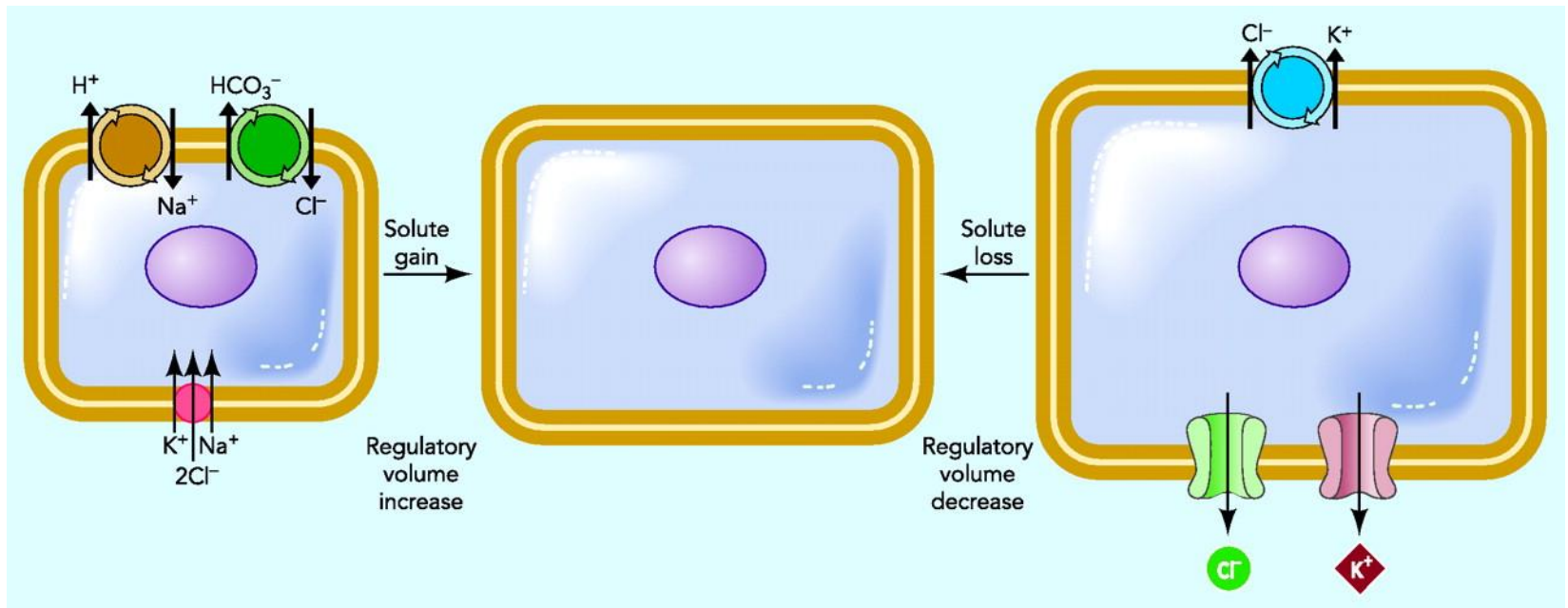
Ou seja, com $\sigma = 1$

As hemácias como sensores de tonicidade



Como a célula reage a alterações
agudas de volume?

Molecular mediators of cell volume regulation The homeostatic counter-responses that maintain normal cell volume are mediated by changes in the activity of ion transporters and channels, which occur within seconds of the volume perturbation.



Kristopher T. Kahle et al. *Physiology* 2009;24:257-265

Physiology

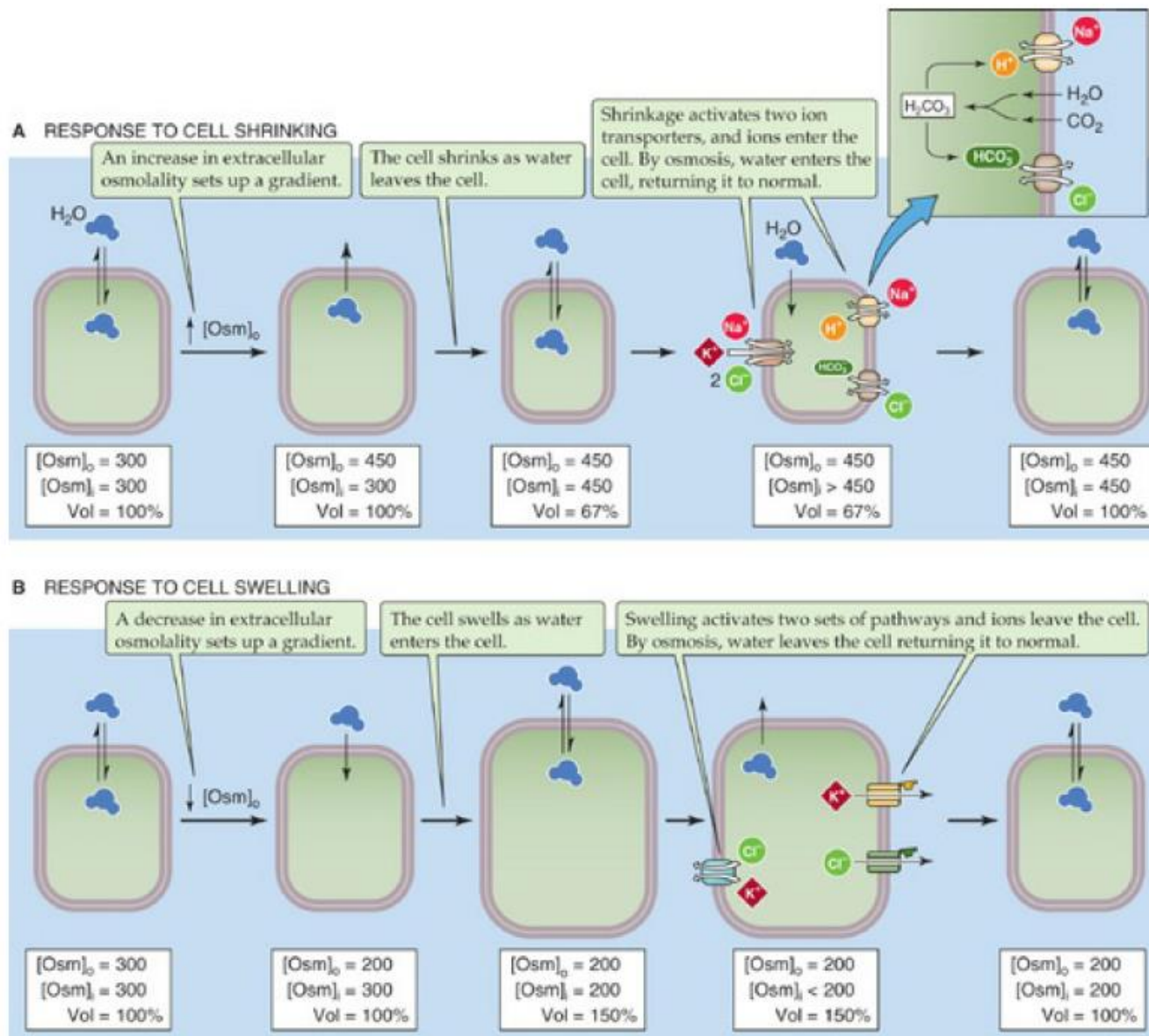
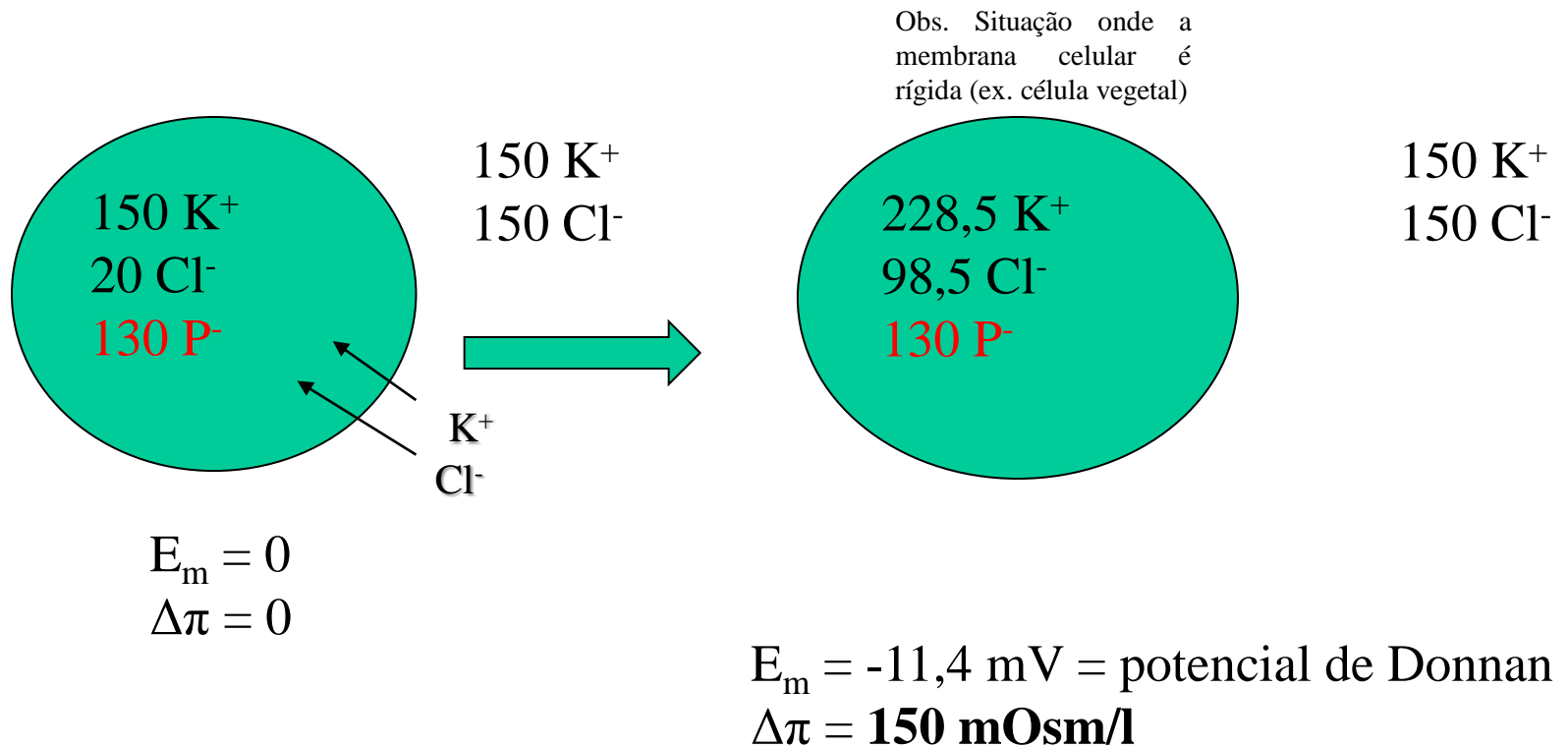


Figure 5-17 Short-term regulation of cell volume.

O que acontece quando temos
osmólitos imobilizados?

Controle do volume celular: **equilíbrio de Gibbs-Donnan**.

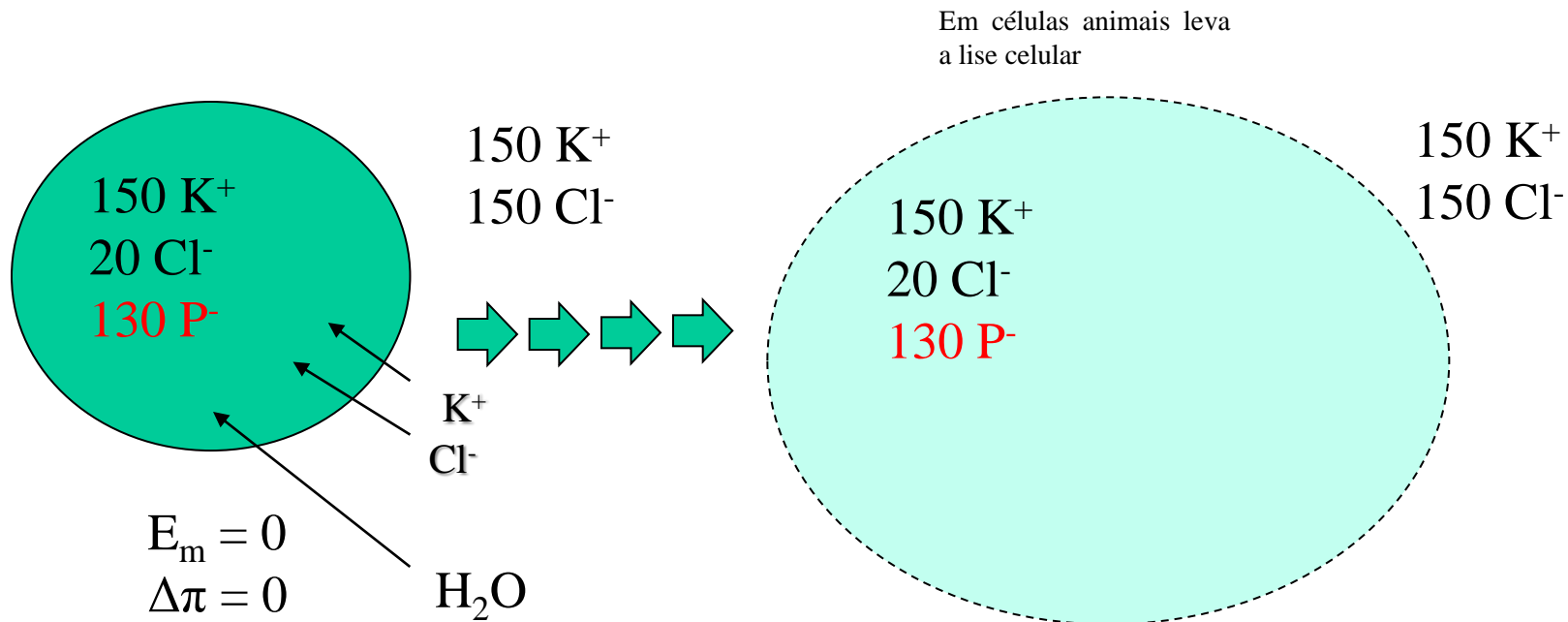
O que acontece quando temos osmólitos imobilizados?



$$[K^+]_i \cdot [Cl^-]_i = [K^+]_e \cdot [Cl^-]_e$$

Controle do volume celular: **equilíbrio de Gibbs-Donnan**.

O que acontece quando temos osmólitos imobilizados?

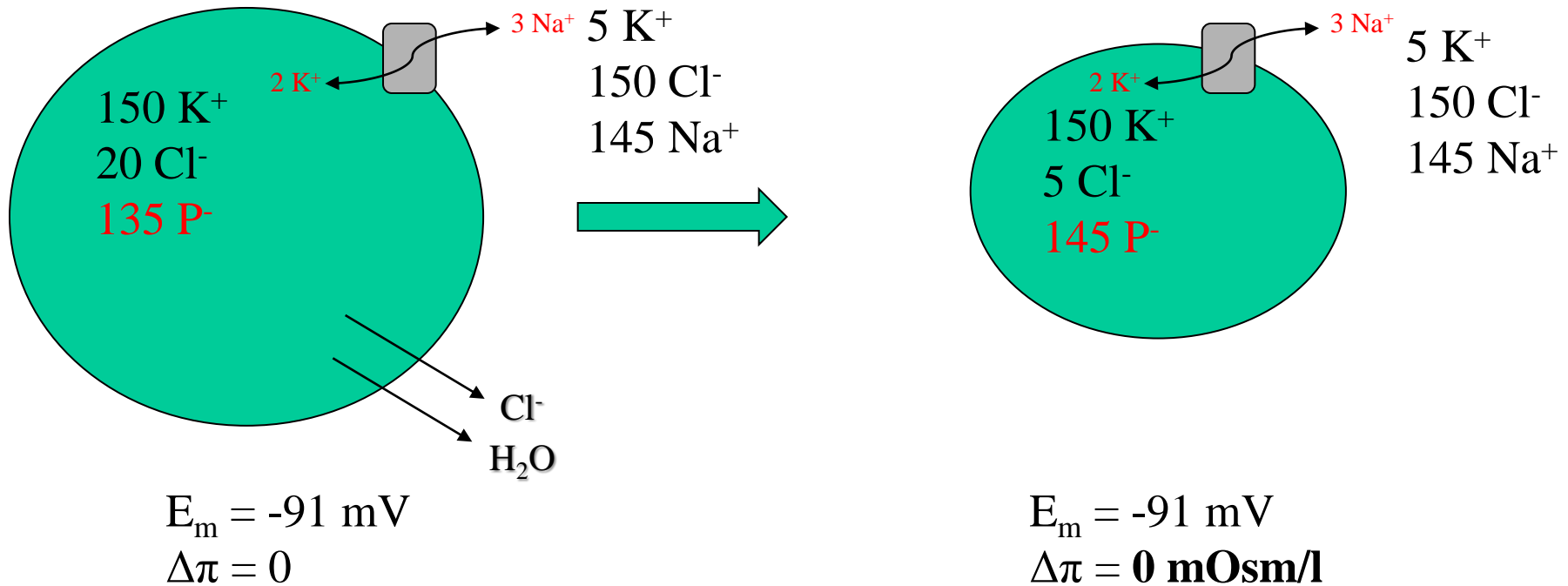


$$\Delta\pi = 150 \text{ mOsm/l}$$

$$[K^+]_i \cdot [Cl^-]_i = [K^+]_e \cdot [Cl^-]_e$$

Controle do volume celular: equilíbrio de Gibbs-Donnan

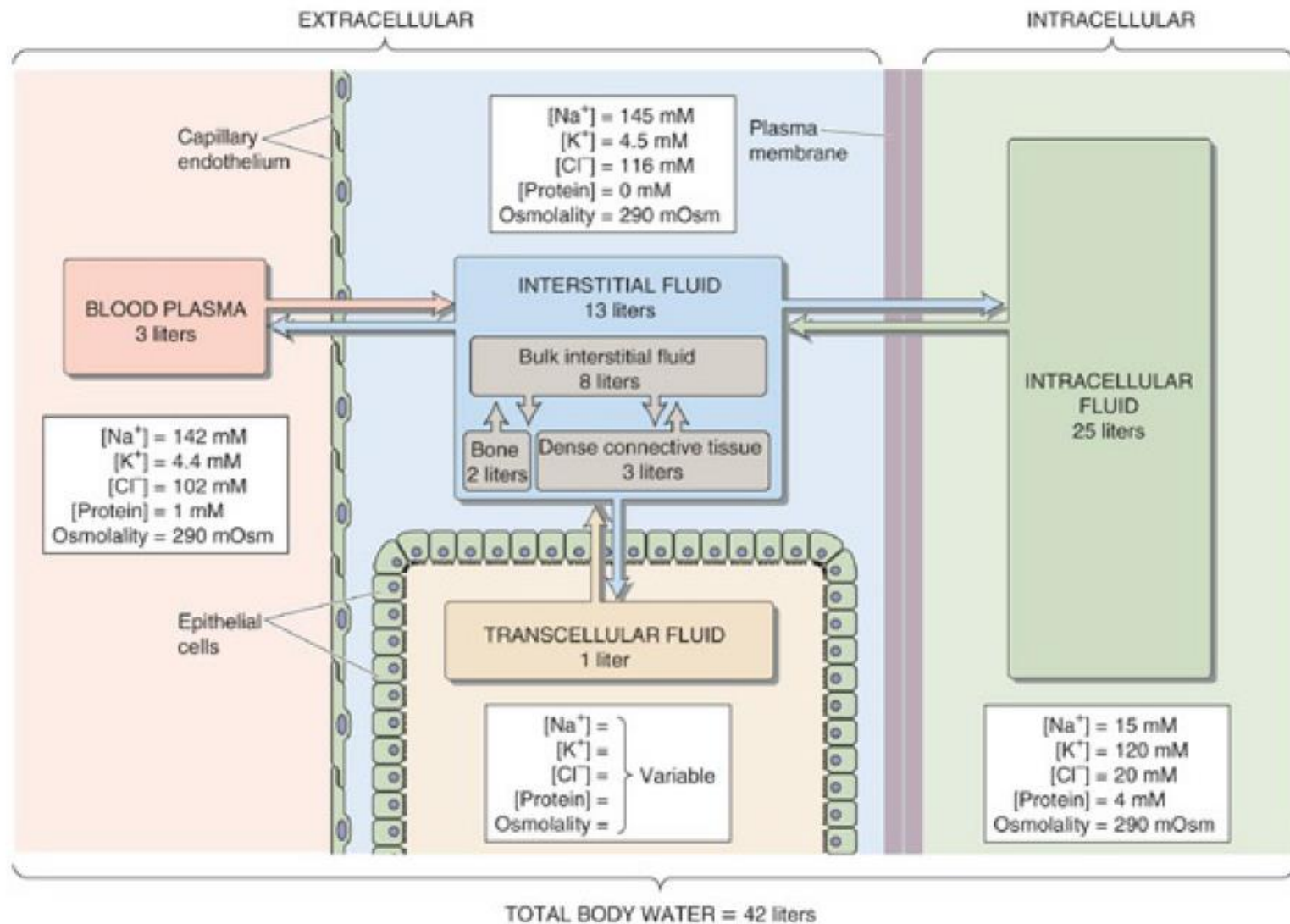
Donnam-duplo = presença de uma bomba mantenedora dos gradientes iônicos



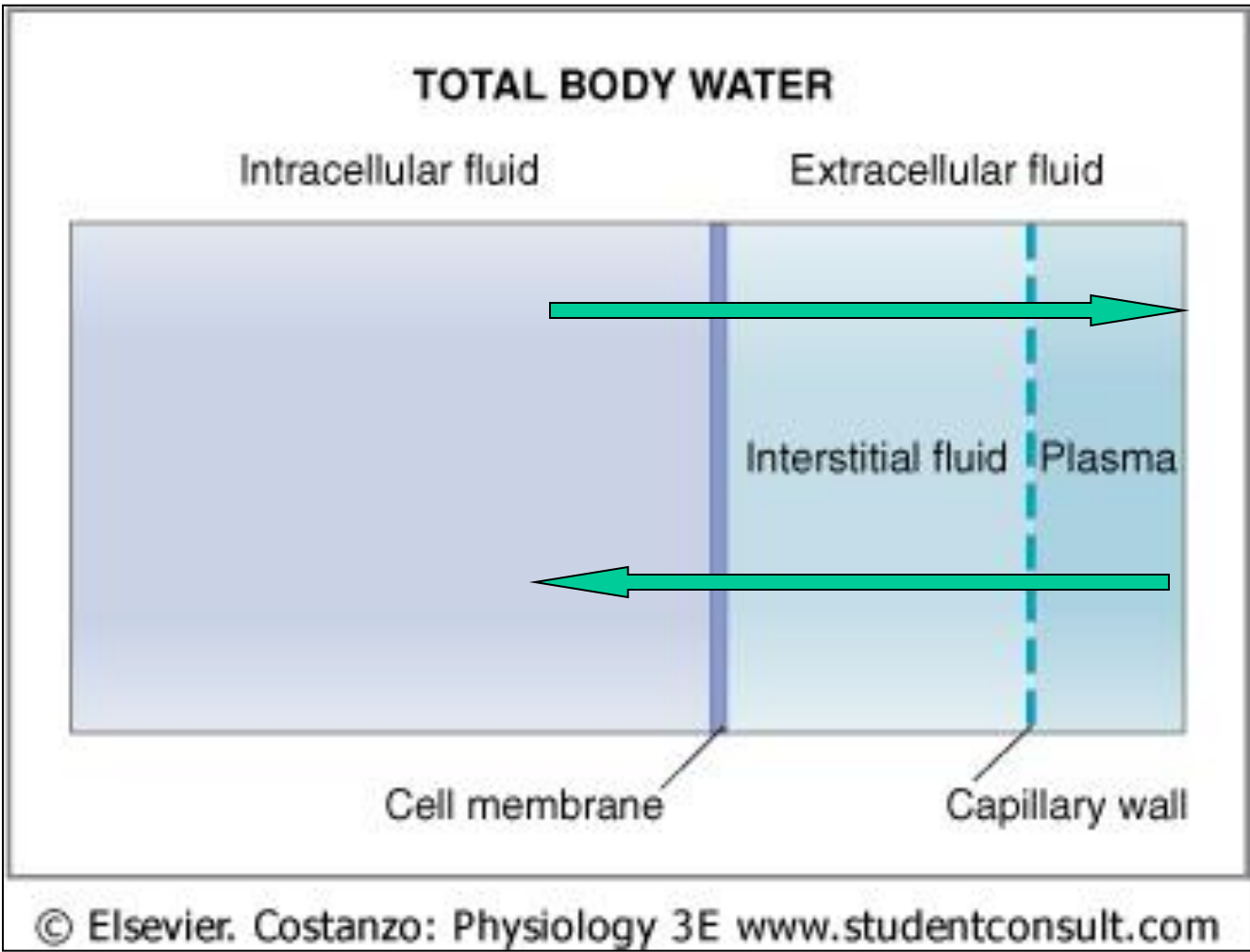
$$[C^+]_i \cdot [A^-]_i = [C]_e \cdot [A^-]_e$$



Como a água se movimenta
através das membranas?

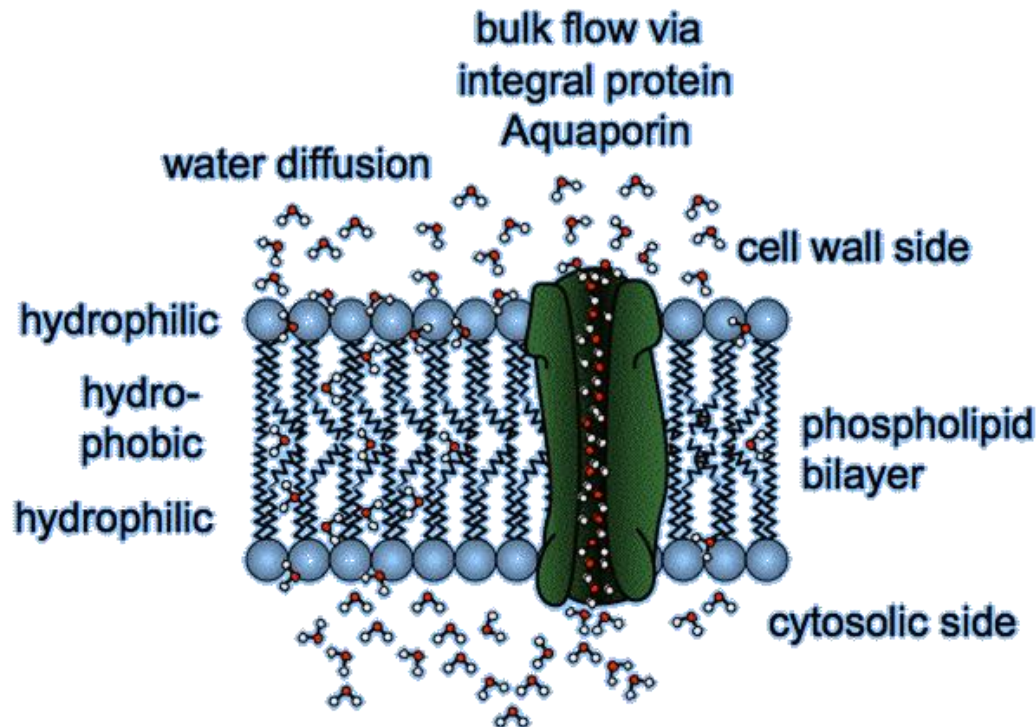


A água se difunde igualmente pelos diferentes compartimentos

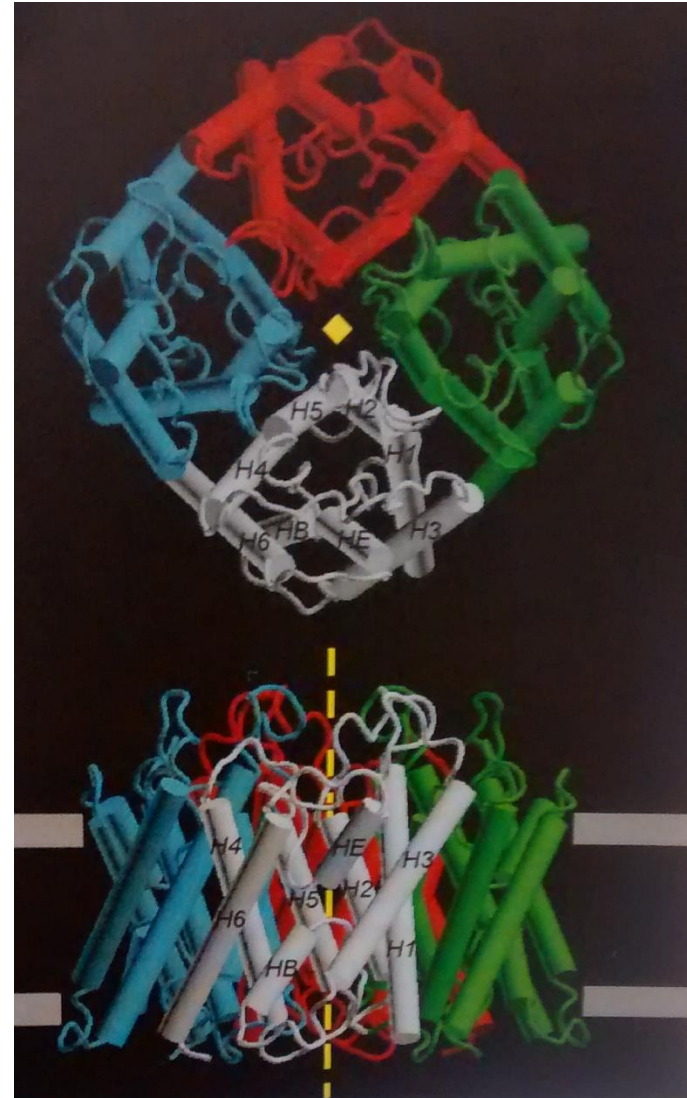
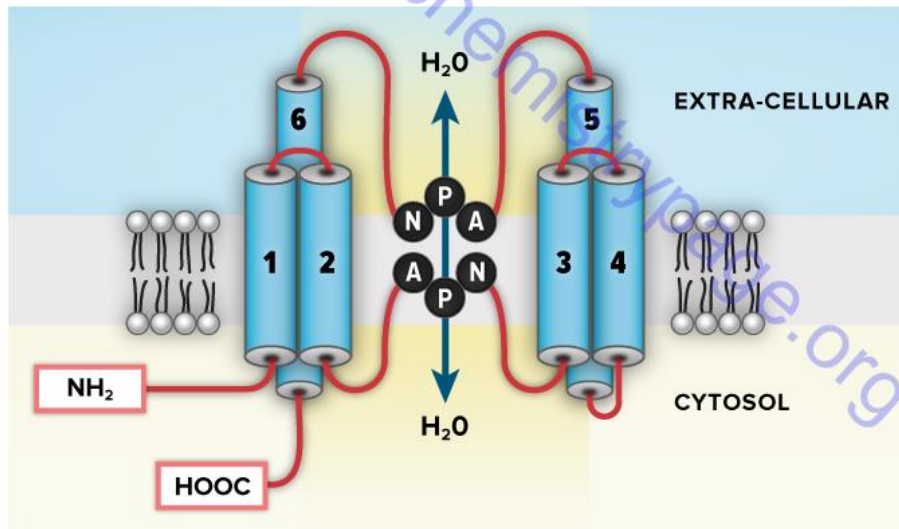
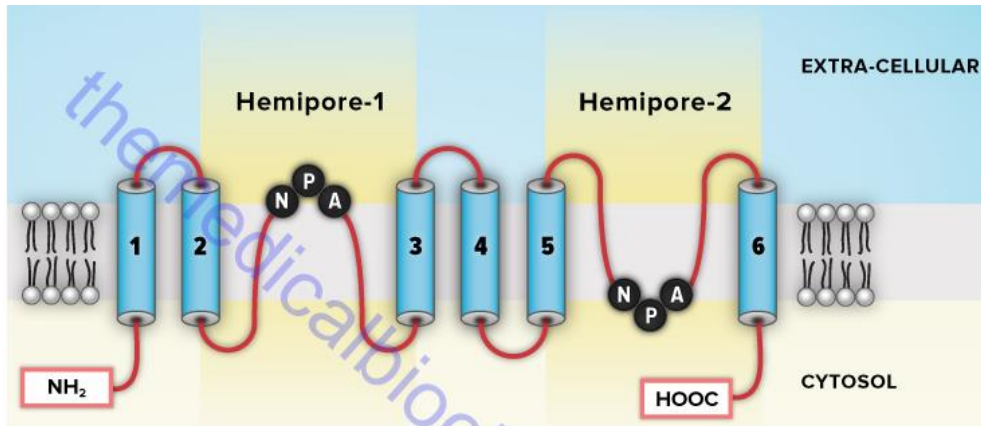


Água se difunde pela membrana por duas maneiras

- Difusão direta através da membrana
 - Partição entre o citoplasma e a membrana
 - Por pequenos espaços criados momentaneamente por dois fosfolípidos adjacentes
- Por poros formados por proteínas permeáveis à água (**aquaporinas**)



Estrutura da aquaporina



Oócito de *Xenopus* expressando ou não aquaporina

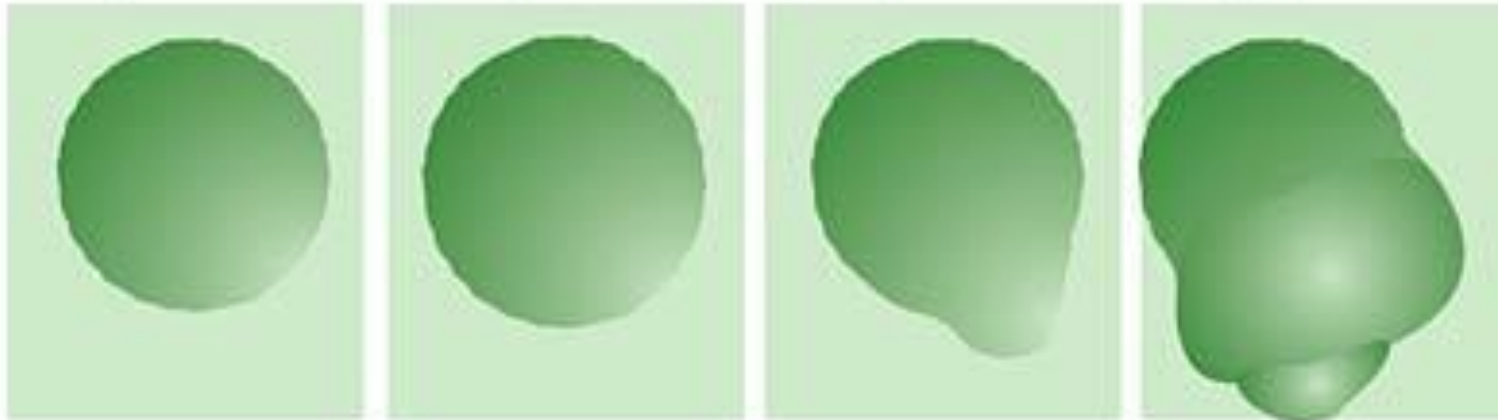
0.5 min

1.5 min

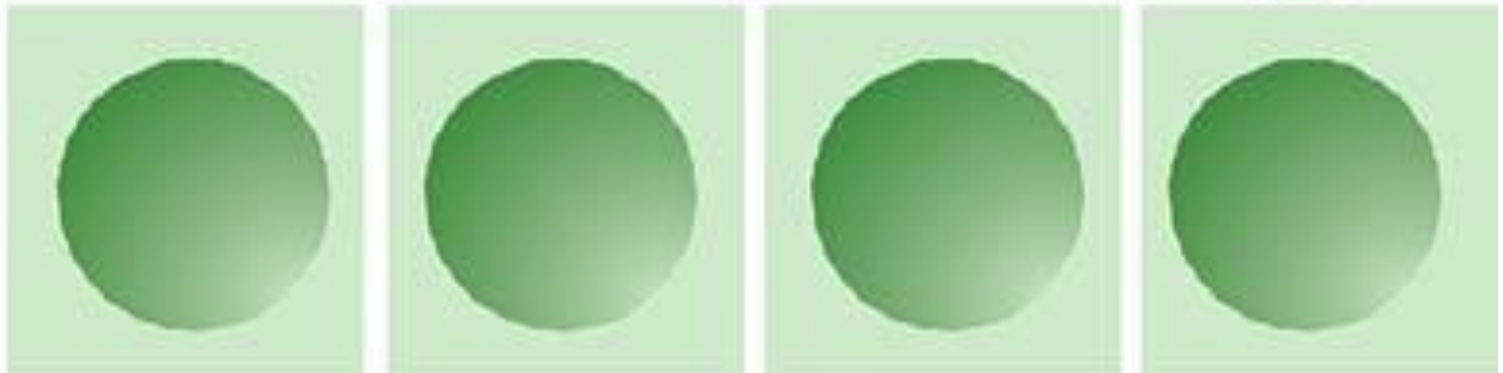
2.5 min

3.5 min

Cell with aquaporin



Cell without aquaporin



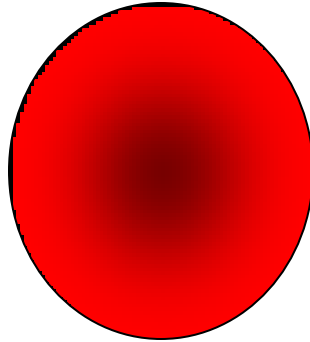
A aquaporina aumenta a permeabilidade hidráulica e diminui a energia de ativação da osmose

Amostra	L_p (10^{-10} L/Ns)	E_a (kcal/mol)
Hemácias humanas	18,0	3,9
Hemácias hum. + PCMBS	1,3	11,6
Lipossomas	1,9	16,0
Lipossomas + Aquaporina	30,8	3,9

As hemácias como sensores de tonicidade

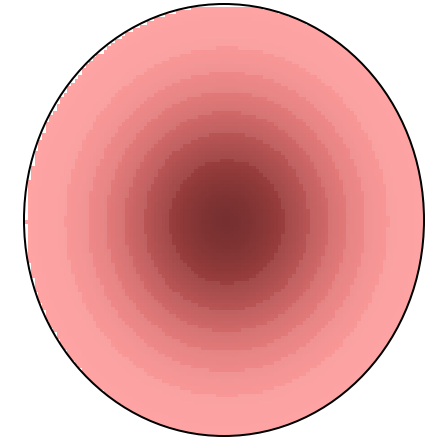
Sacarose $\sigma = 1$

Em 290 mOsm
sacarose ($\pi = 7,25$ atm) →



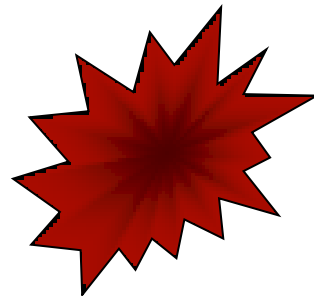
Sol. Isoosmótica e isotônica

Em 100 mOsm
sacarose ($\pi = 2,5$ atm) →



Sol. hipoosmótica e hipotônica

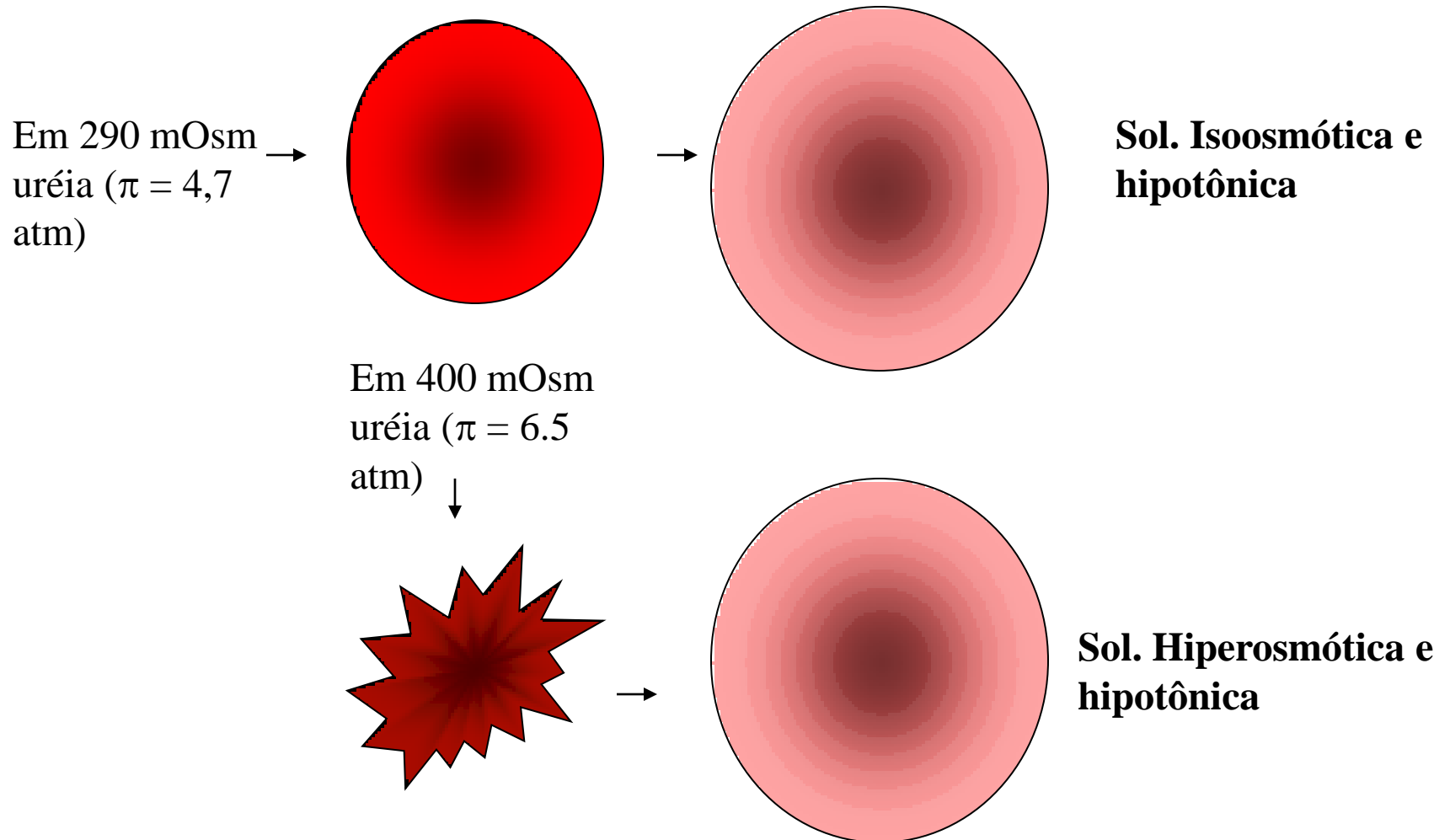
Em 400 mOsm
sacarose (10 atm) ↓



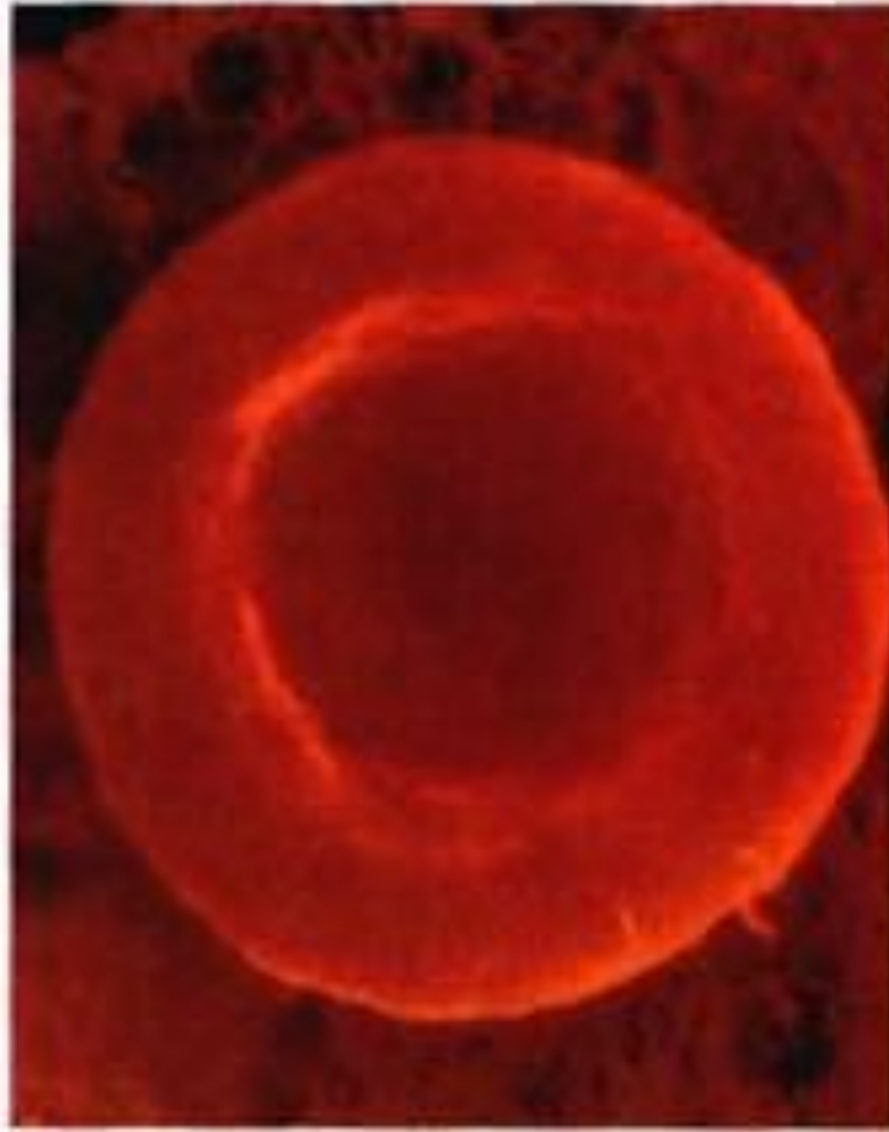
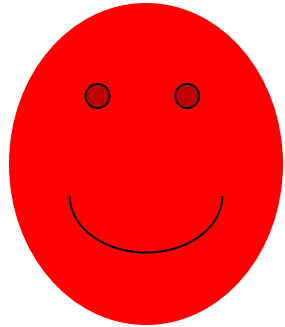
Sol. Hiperosmótica e hiperotônica

As hemácias como sensores de tonicidade

Uréia $\sigma \sim 0,65$



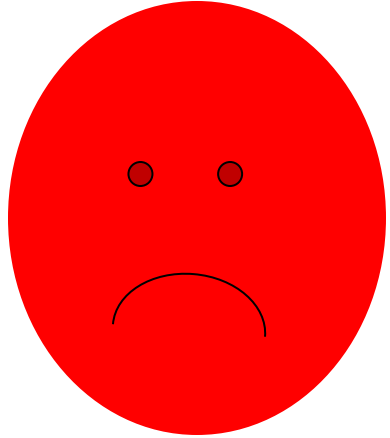
Era uma vez uma hemácia feliz em uma solução de **150 mM NaCl**...



...que foi transportada para uma solução de 250 mM NaCl...



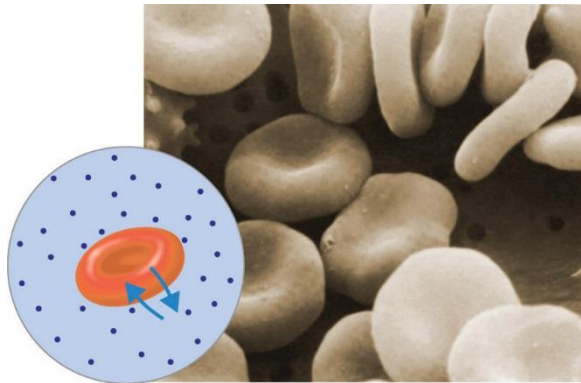
... e depois para uma solução de 100 mM NaCl.



TONICIDADE

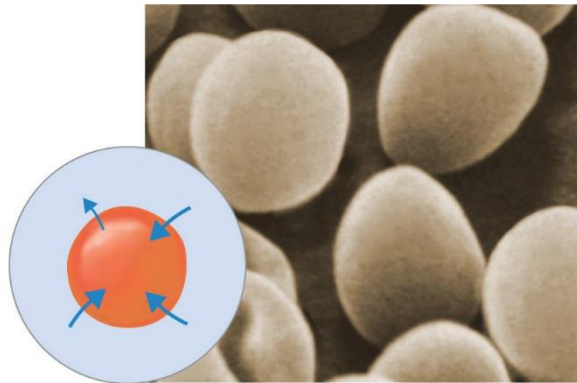
Definição menos específica: Capacidade de uma solução de reduzir ou aumentar o volume celular

Isotônica



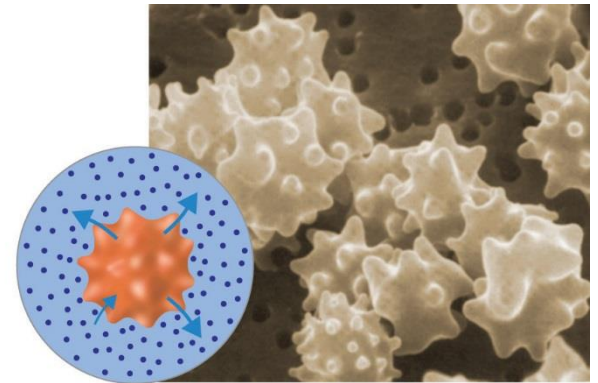
(a) Cells in dilute salt solution

Hipotônica



(b) Cells in distilled water

Hipertônica



(c) Cells in concentrated salt solution

O fluxo líquido de **água** através da membrana é responsável pela alteração do volume celular.

