

André Fábio Kohn

## I. Potencial de Repouso de Membrana

A membrana é permeável a íons. O fluxo destes íons devido a diferenças de concentração entre o meio extra e intracelular é dado pela 1ª lei de Fick.

Difusão é o movimento aleatório de partículas de uma região de alta concentração para uma mais baixa. A adoção de modelo unidimensional é razoável, pois a membrana é muito fina (de 70 a 100 Angstroms).

O fluxo de partículas ao longo de  $x$  (em partículas/m<sup>2</sup>.s) é dado por  $J(x,t)$ . A lei de Fick, para diferenças de concentração pequenas diz que

$$(1) \quad J(x,t) = -D \cdot \frac{\partial [P](x,t)}{\partial x}$$

onde  $[P]$  é a concentração da partícula  $P$  ao longo de  $x$ , e  $D$  é o coeficiente de difusão.

Fazendo a análise dimensional, temos:

$$\frac{\text{partícula}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}} = D \cdot \frac{\text{partícula}}{\text{m}^3 \cdot \text{m}}$$

∴  $D$  tem dimensão de m<sup>2</sup>/s.

Se  $\frac{\partial [P](x,t)}{\partial x} > 0 \Rightarrow [P]$  é maior à direita  $\Rightarrow$  o fluxo  $J$  é para a direita.

Em três dimensões, temos  $J = -D \cdot \text{grad}[P]$ , onde  $\text{grad}[P]$  é dado por:

$$\text{grad}[P] = \frac{\partial [P]}{\partial x} \vec{i}_x + \frac{\partial [P]}{\partial y} \vec{i}_y + \frac{\partial [P]}{\partial z} \vec{i}_z$$

O coeficiente de difusão relaciona o fluxo de partículas com o gradiente de concentração das mesmas.

Caso as partículas sejam carregadas (íons) e estejam sob um campo elétrico (uma diferença de potencial), elas irão se mover de modo semelhante ao de partículas sujeitas a um gradiente de concentração, e estarão sujeitas ao mesmo tipo de "fritção". A relação de Einstein é representação formal do fato de que a resistência ao movimento de uma partícula independe do mecanismo que

causa seu movimento. Pode ser escrita como  $D = k.T.\mu_B$ , onde  $k$  é a constante de Boltzman ( $1,38.10^{-23}$  J/K),  $T$  é a temperatura do sistema (em equilíbrio térmico) e  $\mu_B$  é a mobilidade no meio em que está. Para ilustrar o que é  $\mu_B$ , no caso de movimento de partículas sujeitas a uma força  $F$  em um líquido:  $\mu_B = 1/\nu$  (em geral, velocidade = mobilidade.força. No caso de força elétrica,  $f = q.E$ , a força tem unidade C.V/m, e  $\mu$  terá unidade  $m^2/s.C.V$ ), onde  $\nu$  é a viscosidade do fluido ( $|força\ viscosa| = |\nu. velocidade|$ ). O fato de interesse é que a mobilidade  $\mu_B$  entra na expressão do fluxo de íons quando estes estão em um meio sujeito a uma diferença de potencial. A equação genérica é uma expressão da lei de Ohm:

$$(2) \quad J_x = (\pm Z.q). \mu_B.[P](-dV/dx)$$

O sinal  $\pm$  indica o sentido do fluxo de partículas carregadas; para se falar em corrente, deve-se observar o sinal da carga do íon.

$J_x$  = fluxo de partículas = número de partículas/unid. Área\*unid. tempo.

$Z$  = valência do íon (para  $Cl^-$ ,  $z=1$ ; para  $Ca^{++}$ ,  $z=2$ ).

$q$  = carga do elétron ( $q = 1,602.10^{-19}C$ ).

$(Zq)$  = carga do íon, com sinal "-" para ânions e "+" para cátions.

$\mu_B$  = mobilidade do íon no meio (na membrana, no citoplasma) em  $m^2/s.C.V$ .

$-dV/dx$  = intensidade do campo elétrico agindo sobre os íons.

Temos então dois compartimentos (considerados infinitos) contendo um íon e separados pela membrana permeável: o compartimento 1 (extracelular) e 2 (intracelular).

Diz-se que há equilíbrio entre os dois compartimentos quando o fluxo  $1 \rightarrow 2$  é igual ao fluxo  $2 \rightarrow 1$ , ou seja, quando o fluxo "líquido" é nulo. Isto pode ser imposto no caso em estudo:

$J_{x,difusão} + J_{x,campo\ elétrico} = 0$ , supondo independência de efeitos. Nos meios 1 e 2 há homogeneidade macroscópica com as respectivas concentrações de íons  $[P]_1$  e  $[P]_2$ . Os fluxos  $J_{x,difusão}$  e  $J_{x,campo\ elétrico}$  se dão através da membrana, em cujas bordas existe uma descontinuidade de concentração.

$$-D. d[P]/dx = \pm Z.q.\mu_B.[P](-dV/dx)$$

$$\text{mas } D = k.T.\mu_B$$

$$(2) \quad -k.T.d[P]/dx = \pm Z.q.[P](-dV/dx)$$

Chamemos "s" a carga do íon (carga positiva,  $s=1$ ; carga negativa,  $s=-1$ ).

Integrando (3) entre as duas superfícies da membrana:

$$-k.T.\int_{1 \rightarrow 2} (1/[P]) d[P] = s.Z.q.\int_{1 \rightarrow 2} dV$$

$$V_2 - V_1 = \frac{-kT}{sZq} (\ln[P]_2 - \ln[P]_1)$$

$$(4) \quad V_2 - V_1 = \frac{-k.T}{s.Z.q} \cdot \ln \frac{[P]_2}{[P]_1} \quad (\text{equação de Nernst})$$

ou, colocando-se o referencial de potencial do meio externo (o – out) junto à membrana ( $V_o = 0$ ), supondo-se que os dois meios sejam equipotenciais e tenham o mesmo coeficiente de partição  $\beta$  ( $[P]_2 = \beta.[P]_i$  e  $[P]_1 = \beta.[P]_o$ )

$$(5) \quad V_i = \frac{k.T}{s.Z.q} \cdot \ln \frac{[P]_o}{[P]_i} \quad (\text{equação de Nernst})$$

Uma forma mais usada desta equação substitui  $k$  (constante de Boltzman) por  $R/N_A$ , onde (constante dos gases) =  $8,314 \text{ J/K.mol} = N_A.k$ .

Mas,  $N_A.q$  é a carga de 1 mol de elétrons, que é a constante de Faraday  $F = 96485C$ , portanto:

$$(6) \quad V_i = \frac{R.T}{s.F.Z} \cdot \ln \frac{[P]_o}{[P]_i} \quad (\text{equação de Nernst})$$

Por exemplo, a  $20^\circ\text{C}$  (293K):

$$V_i = \frac{25,25}{s.Z} \cdot \ln \frac{[P]_o}{[P]_i} \quad (\text{mV})$$

$$\text{ou:} \quad V_i \cong \frac{58}{s.Z} \cdot \log_{10} \frac{[P]_o}{[P]_i} \quad (\text{mV})$$

Vejamos que  $V_i$  devemos ter para haver equilíbrio de  $K^+$  em células nervosas, por exemplo para o axônio gigante de lula (“squid” axon):

$$[K^+]_o \cong 20 \text{ mmol/l}, [K^+]_i \cong 400 \text{ mmol/l}$$

$$\text{para equilíbrio, } V_i = 58 \cdot \log_{10}(20/400) = -75,5 \text{ mV}$$

na prática, o potencial de repouso medido é de  $V_i \cong -70 \text{ mV}$  (in situ) o que mostra que  $K^+$  está próximo do equilíbrio.

Ao contrário, se  $[P]_i$  e  $[P]_o$  forem dados, poderemos equilibrar o íon com a aplicação de uma diferença de potencial dada por (4), (5) ou (6).

Usando valores de  $[Na^+]_i$  e  $[Na^+]_o$  do axônio gigante de lula, calculamos qual o potencial de equilíbrio do  $Na^+$ : para  $[Na^+]_i = 50$  e  $[Na^+]_o = 440$ , temos  $V_{Na^+} \cong 440/50 = 54,8$  mV, de onde observamos que  $Na^+$  em um neurônio está muito distante de seu potencial de equilíbrio. Isto poderia explicar-se por não ser a membrana permeável ao sódio, ou por existir algum mecanismo que mantenha as concentrações de  $Na^+$ . A última hipótese se mostra verdadeira, com a membrana apresentando uma permeabilidade bem menor (mas não nula) para  $Na^+$  que para  $K^+$ .

Esta análise deve ser complementada, pois há outros íons intra e extracelularmente nos neurônios. No axônio gigante da lula temos as seguintes concentrações (em mmol/l):

	extra	intra
$Na^+$	440	50
$K^+$	20	400
$Cl^-$	560	40 a 150
$Ca^{++}$	10	$0,3 \cdot 10^{-3}$ (sem precisão garantida)
Isetionato <sup>-</sup>		270 *
Aspartato <sup>-</sup>		75 *
outros		*

\*Observação: Indicaremos estes ânions como  $A^-$ .

Observe-se que todos os íons passam pela membrana, exceto os ânions orgânicos  $A^-$ . Como vimos nos exemplos de cálculo ( $K^+$  e  $Na^+$ ), os íons não estão em equilíbrio no neurônio.

Para levar em conta os fluxos de todos os íons e sua contribuição para o potencial de membrana  $V_2 - V_1$ , utilizamos uma análise semelhante à feita anteriormente e ignoramos o efeito dos íons não permeáveis. Em vez de impor uma condição de equilíbrio para cada íon – o que não faz sentido em termos reais em que as concentrações iônicas são “pré-estabelecidas” – impomos apenas um regime estacionário para carga elétrica (“steady state”), em que  $\sum_i s_i \cdot q_i \cdot Z_i \cdot J_i = 0$  através da membrana. Isto significa que a quantidade de carga dentro da célula e da membrana são constantes (com o tempo), embora as concentrações iônicas dentro e fora da célula mudem se não houver algo que as mantenha. Ainda neste regime estacionário, temos que  $J_i(x)$  dentro da membrana não depende de  $x$ , pois, caso contrário, poderia ocorrer acúmulo de íons na membrana. Poder-se-ia então usar a condição de regime estacionário aplicada aos fluxos iônicos, mas ainda faltaria uma equação relacionando  $V$  com concentrações em função de  $x$ . A equação de Poisson ( $\partial^2 V / \partial x^2 = -e/\epsilon$ ) seria essa equação, que, através de condições de contorno adequadas, poderia ser integrada numericamente. Adotando-se a hipótese simplificadora, em que não há cargas dentro da membrana, e que o campo elétrico dentro dela é constante, temos que:  $\partial^2 V / \partial x^2 = 0 \Rightarrow -dV/dx = \text{campo elétrico} = \text{constante}$  (e o potencial na membrana é dado por

$V = ax + b$ ). Supondo-se também que cada íon se comporta independentemente dos outros (ou seja,  $J_{Na^+} = \text{função}(Na^+)$ ):

$$(7) \quad J_{Na^+} = -q \cdot \mu_{Na^+} \cdot [Na] \cdot dV/dx - k \cdot T \cdot \mu_{Na^+} \cdot d[Na]/dx \quad (\text{equação de Nernst-Planck})$$

$$(8) \quad J_{Cl^-} = q \cdot \mu_{Cl^-} \cdot [Cl] \cdot dV/dx - k \cdot T \cdot \mu_{Cl^-} \cdot d[Cl]/dx$$

Como  $J_i$  não é função de  $x$ , as equações (7) e (8) podem ser integradas em  $x$ , fornecendo uma expressão para as concentrações  $[A]$ , uma vez que  $dV/dx = -E = (V_2 - V_1) / \delta = V_i / \delta = V_m / \delta$ , onde  $\delta$  é a espessura da membrana. Para  $C = \text{cátion}$  e  $A = \text{ânion}$ , temos:

$$(9) \quad d[C]/dx = q \cdot E \cdot [C] / k \cdot T - J_C / k \cdot T \cdot \mu_C \quad \text{cuja solução é:}$$

$$(10) \quad [C] = a + b \cdot \exp\{(q \cdot E / k \cdot T) \cdot x\} \quad \text{com:}$$

$$[C] |_{x=0} = [C]_1 = a + b \quad \text{e:}$$

$$[C] |_{x=\delta} = [C]_2 = a + b \cdot e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T} \quad \text{onde:}$$

$$b = ([C]_1 - [C]_2) / (1 - e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T}) \quad \text{e:}$$

$$a = ([C]_2 - [C]_1 \cdot e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T}) / (1 - e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T})$$

Voltando à equação do fluxo para cátions  $J_C$ , temos para  $Na^+$  e  $K^+$ , nas condições de contorno em  $[C]$ :

$$(11) \quad J_C = q \cdot \mu_C \cdot (a + b \cdot e^{(q \cdot E / k \cdot T) \cdot x}) \cdot E - k \cdot T \cdot \mu_C \cdot b \cdot d e^{(q \cdot E / k \cdot T) \cdot x} / dx$$

Calculando a derivada em (11) e lembrando que  $-E \cdot \delta = V_m$ , obtemos a expressão de  $J_C$  que não envolve derivadas:

$$J_C = -q \cdot \mu_C \cdot a \cdot V_m / \delta - q \cdot \mu_C \cdot b \cdot (V_m / \delta) \cdot e^{(q \cdot E / k \cdot T) \cdot x} + k \cdot T \cdot \mu_C \cdot b \cdot q \cdot V_m \cdot e^{(q \cdot E / k \cdot T) \cdot x} / k \cdot T \cdot \delta$$

$$(12) \quad J_C = -q \cdot \mu_C \cdot a \cdot V_m / \delta - q \cdot \mu_C \cdot (V_m / \delta) \cdot ([C]_2 - [C]_1 \cdot e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T}) / (1 - e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T})$$

Da mesma forma, para os ânions, temos:

$$(13) \quad J_A = -q \cdot \mu_A \cdot a \cdot V_m / \delta - q \cdot \mu_A \cdot (V_m / \delta) \cdot ([A]_2 - [A]_1 \cdot e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T}) / (1 - e^{q \cdot E \cdot \delta / k \cdot T})$$

Temos então as expressões gerais (13) e (14) para os fluxos de cátions e ânions quando existem concentrações  $[C]_2$ ,  $[C]_1$ ,  $[A]_2$  e  $[A]_1$  conhecidas bem como uma diferença de potencial  $V_m$  (incógnita).

A permeabilidade da membrana a um certo íon mede a facilidade com que esse íon passa através da membrana. Ela depende da mobilidade  $\mu$  do íon, bem

como do coeficiente de partição  $\beta$  (que nos informa a relação entre a concentração iônica na vizinhança externa e interna de cada parede da membrana):

$$P = \frac{\mu \cdot \beta \cdot R \cdot T}{\delta \cdot F} \text{---que em (12) e (13) resulta:}$$

$$(14) \quad J_C = - \frac{q \cdot P_C \cdot F \cdot V_m}{R \cdot T} \cdot \frac{[C]_i - [C]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}{1 - e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}$$

$$(15) \quad J_A = - \frac{q \cdot P_A \cdot F \cdot V_m}{R \cdot T} \cdot \frac{[A]_i - [A]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}{1 - e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}$$

Consideremos agora a situação em que os três íons ( $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Cl^-$ ) atuam simultaneamente:

$$(16) \quad J_{K^+} + J_{Na^+} + J_{Cl^-} = 0$$

$$(17) \quad P_{K^+} \cdot \frac{[K^+]_i - [K^+]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}{1 - e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}} + P_{Na^+} \cdot \frac{[Na^+]_i - [Na^+]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}{1 - e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}} - P_{Cl^-} \cdot \frac{[Cl^-]_i - [Cl^-]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}}{1 - e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}} = 0$$

Multiplicando-se os dois primeiros termos por  $(e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}) / (e^{-q \cdot V_m / k \cdot T})$ , temos:

$$(18) \quad P_{K^+} \cdot ([K^+]_o - [K^+]_i \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}) + P_{Na^+} \cdot ([Na^+]_o - [Na^+]_i \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}) + P_{Cl^-} \cdot ([Cl^-]_i - [Cl^-]_o \cdot e^{-q \cdot V_m / k \cdot T}) = 0$$

$$(P_{K^+} \cdot [K^+]_i + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_i + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_o) \cdot e^{q \cdot V_m / k \cdot T} = P_{K^+} \cdot [K^+]_o + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_o + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_i \therefore$$

$$(19) \quad V_m = \frac{k \cdot T}{(V_i - V_o) \cdot q} \cdot \ln \frac{P_{K^+} \cdot [K^+]_o + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_o + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_i}{P_{K^+} \cdot [K^+]_i + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_i + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_o} \quad (\text{Eq. Goldman})$$

Vamos rever que hipóteses foram utilizadas para chegar a esta equação:

- 1) membrana homogênea e neutra, íons permeáveis ao longo dela
- 2) campo elétrico constante na membrana
- 3) corrente total através da membrana é nula  $\rightarrow$  quantidade de carga dentro da célula é constante (regime estacionário)
- 4) os coeficientes de partição são iguais nos dois lados da membrana

- 5) os íons se movem independentemente uns dos outros sob a ação de um campo elétrico e de um gradiente de concentração
- 6) os fluidos extra e intracelulares são, ambos, equipotenciais e com concentração uniforme de íons
- 7) consideramos apenas os íons  $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Cl^-$
- 8) não há transporte ativo de íons através da membrana (não há "fontes de corrente").