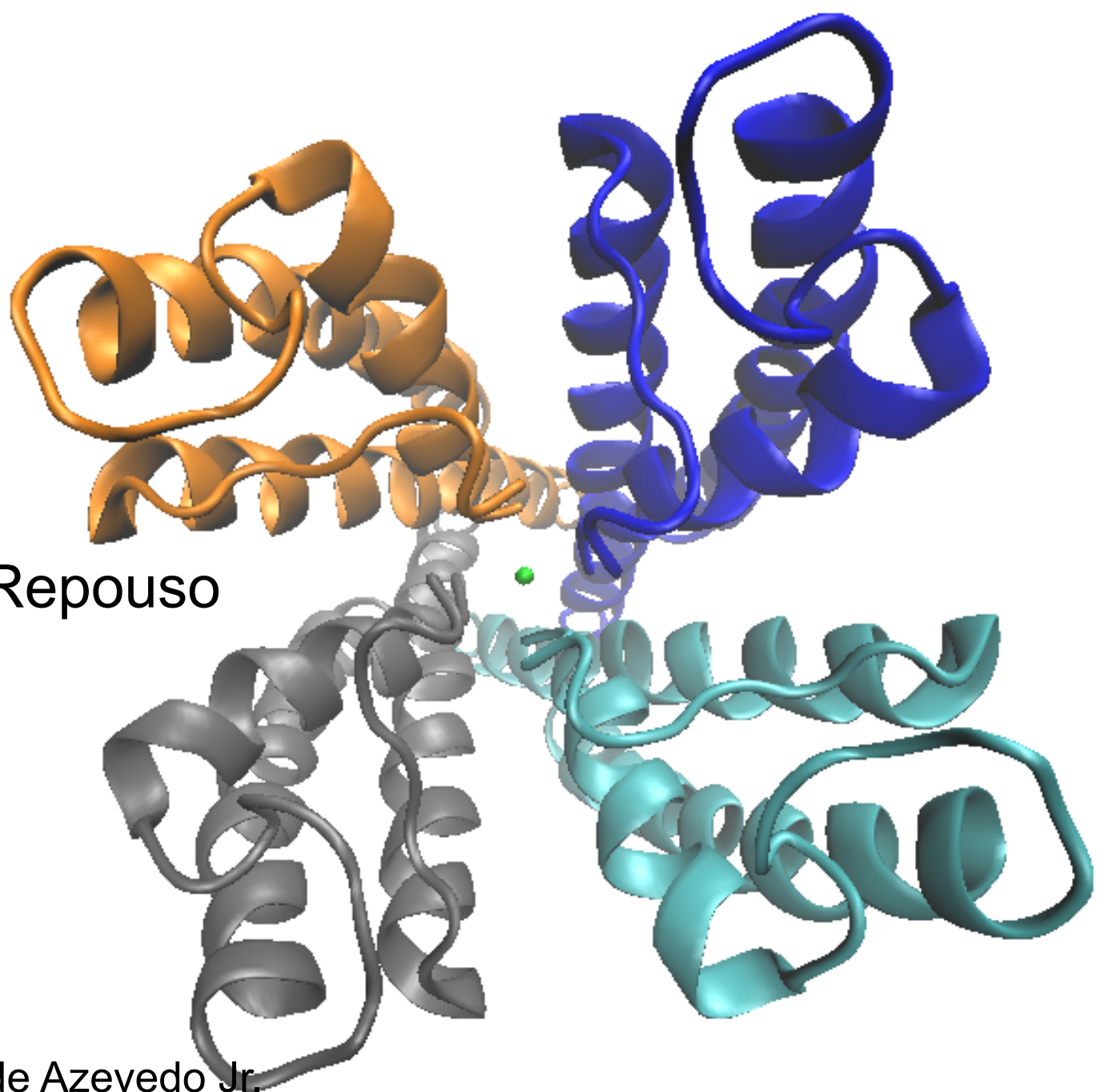


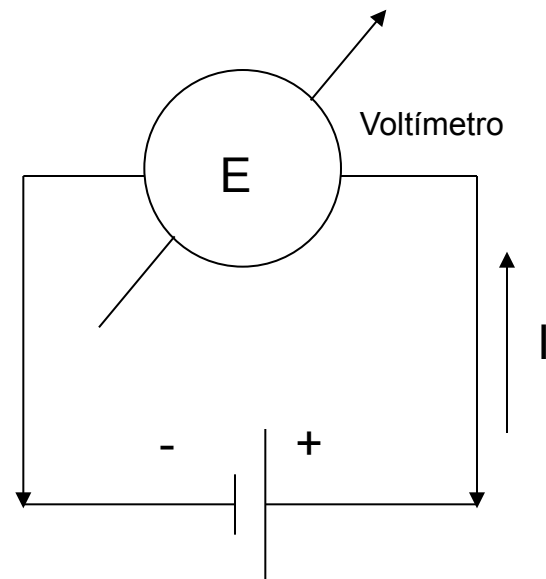
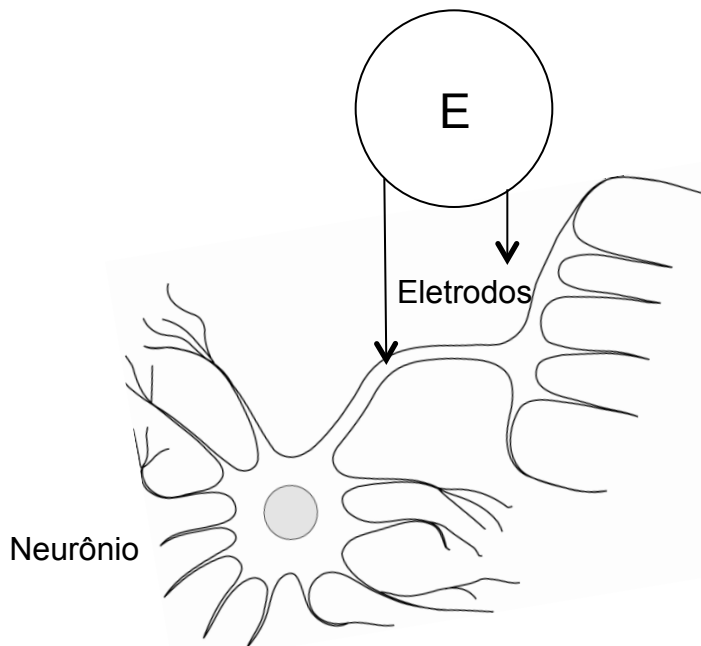
Biofísica



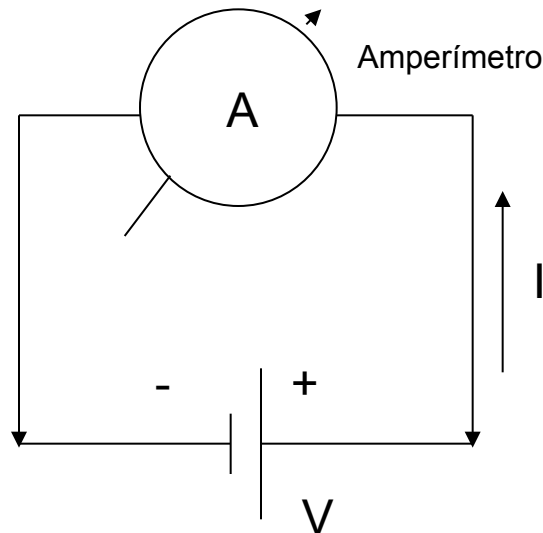
Potencial de Repouso

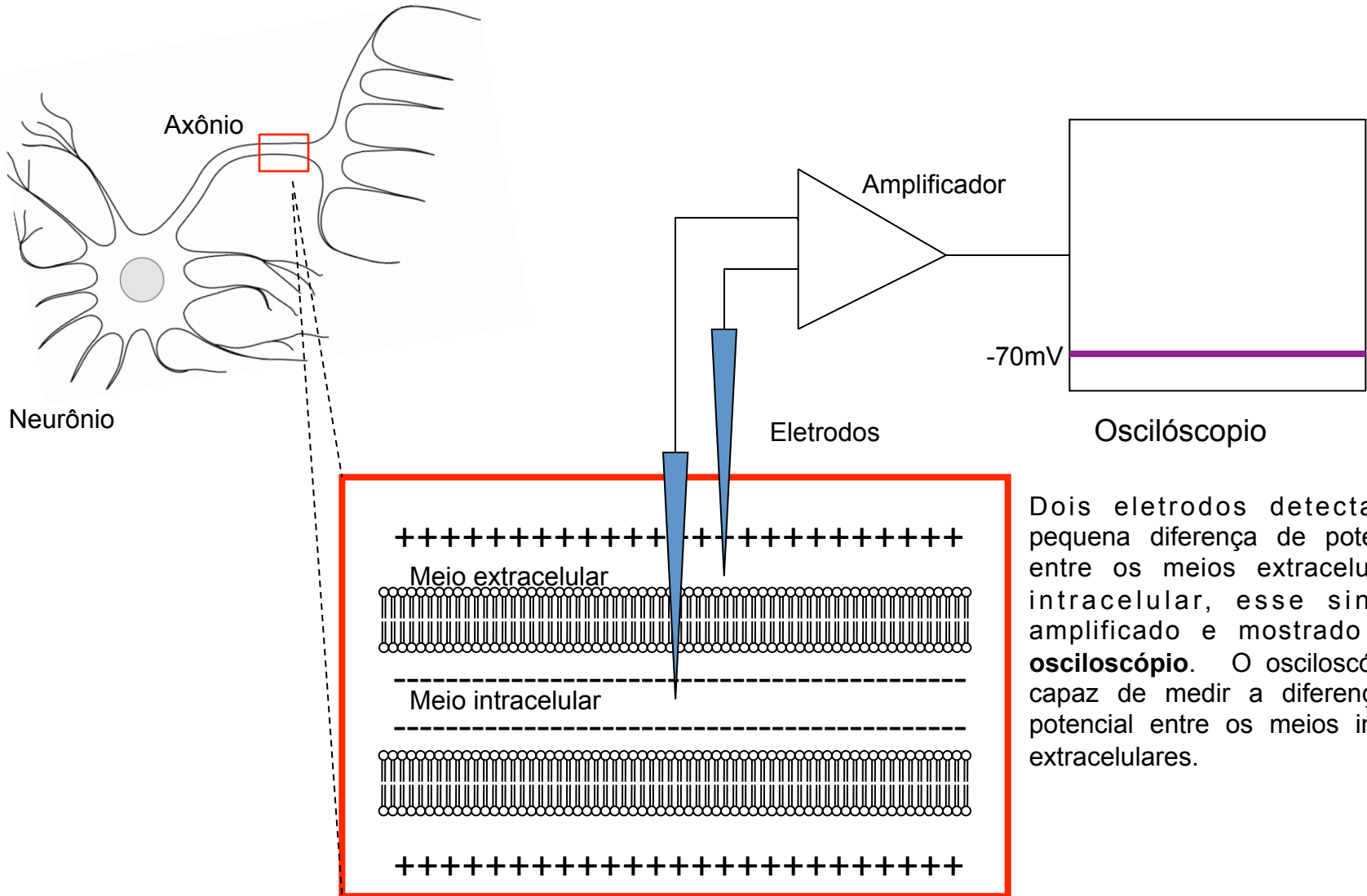
Prof. Dr. Walter F. de Azevedo Jr.

A membrana celular pode ser modelada como um **circuito resistivo-capacitivo (RC)** quando em repouso. Vamos rever alguns conceitos básicos de eletricidade, para elaborarmos um modelo computacional da membrana celular. Colocando-se eletrodos (pequenos fios), dentro e fora do **axônio de um neurônio**, temos uma **diferença de potencial (ddp)(E)** de aproximadamente -70 mV , ou seja, há um potencial negativo no interior do neurônio em relação ao meio extracelular. O instrumento usado para medir a diferença de potencial é o **voltímetro**, sua colocação está representada do diagrama esquemático abaixo.



A **corrente elétrica** (I) é o movimento de **cargas elétricas** em meios condutores, é medida em **Ampères** (A), o que equivale a 1 Coulomb/segundo, uma unidade relativamente grande para os propósitos da biofísica. Na análise de fenômenos elétricos na célula, usamos normalmente os submúltiplos do Ampère, tais como, miliampère (mA, 10^{-3} A), microampère (μ A, 10^{-6}), nanoampère (nA, 10^{-9}) e picoampère (pA, 10^{-12} A). As cargas para os fenômenos elétricos na membrana celular são íons, tais como, Na^+ , K^+ , Ca^{++} e Cl^- . O instrumento elétrico **amperímetro** é usado para a medida de correntes elétricas, como indicado no circuito abaixo.





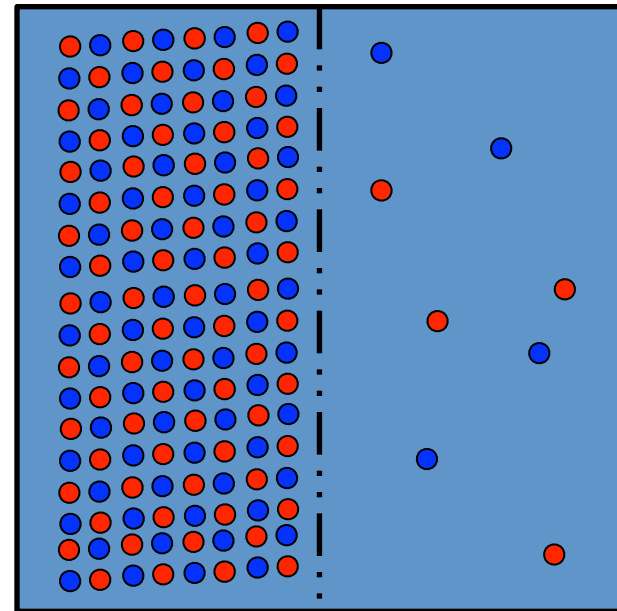
Dois eletrodos detectam a pequena diferença de potencial, entre os meios extracelular e intracelular, esse sinal é amplificado e mostrado num **osciloscópio**. O osciloscópio é capaz de medir a diferença de potencial entre os meios intra e extracelulares.

Em 1952, os neurocientistas A.L Hodgkin and A.F. Huxley desenvolveram um modelo matemático para explicar o potencial de membrana. O modelo foi capaz de prever a resposta do neurônio em diversas situações fisiológicas (<http://www.swarthmore.edu/NatSci/echeeve1/Ref/HH/HHmain.htm>). Eles realizaram seus estudos usando o **axônio gigante da sépia**, uma espécie de cefalópode que apresenta axônio com diâmetro bem maior que os de mamíferos. As dimensões do axônio da sépia facilitam a inserção de eletrodos para a medida de potenciais de membrana. A medição do potencial de membrana do axônio de sépia forneceu os dados experimentais precisos, que foram fundamentais para a **modelagem do potencial de membrana dos neurônios**. Nos próximos slides veremos modelos que explicam o potencial elétrico da membrana.



Foto da sépia. Disponível em: <http://www.sciencephoto.com/media/374777/enlarge> .
Acesso em: 17 de setembro 2018.

Vamos considerar uma cuba de vidro, como mostrada no desenho ao lado. Na cuba temos íons de cloro (Cl^-) e sódio (Na^+), dissolvidos em água. A cuba está dividida em 2 setores por uma **membrana permeável a ambos os íons**. No instante inicial, temos alta concentração de ambos os íons do lado esquerdo ($[\text{Na}^+]_{\text{esquerdo}}$, $[\text{Cl}^-]_{\text{esquerdo}}$) e baixa concentração de íons de lado direito ($[\text{Na}^+]_{\text{direito}}$, $[\text{Cl}^-]_{\text{direito}}$). Como a membrana é permeável a ambos os íons, ocorre o fenômeno da **difusão**, que leva os íons a atravessarem a membrana, movimentando-se para o setor do lado direito. A difusão dos íons, tem como consequência a movimentação do ambiente de mais alta concentração, para o de mais baixa concentração, sem gasto de energia, o que chamamos de **transporte passivo**.

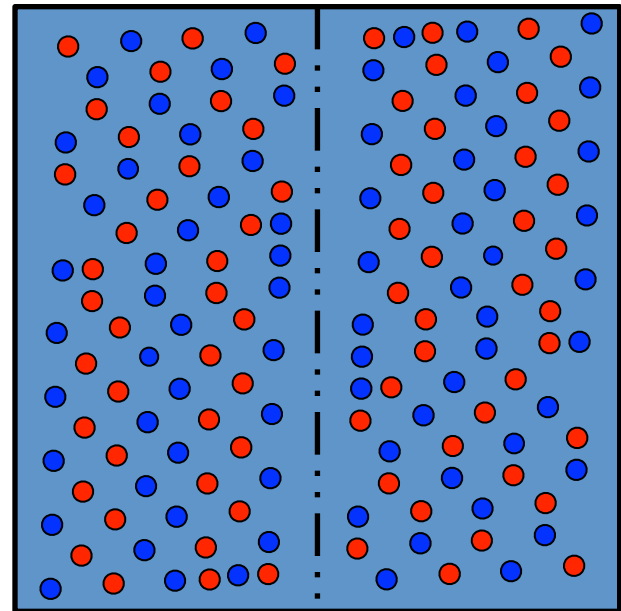


Cuba dividida em dois setores por uma membrana permeável.

Inicialmente temos concentrações iônicas maiores do lado esquerdo. Os íons difundem-se do setor de mais alta concentração, para o de mais baixa concentração.

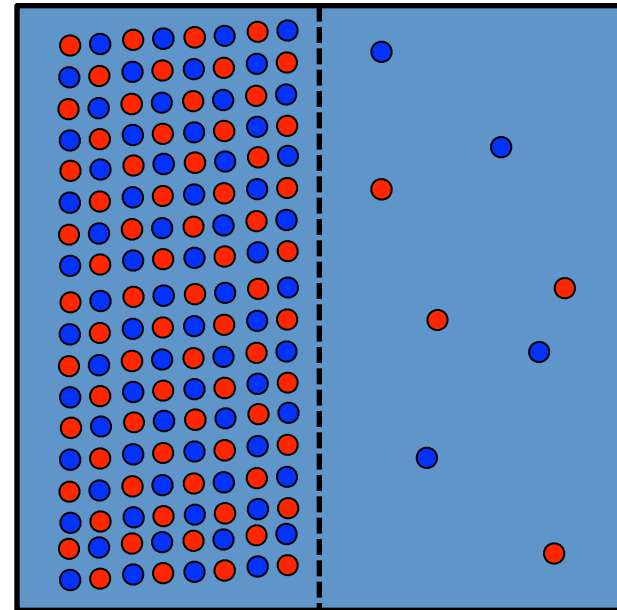
A difusão dos íons, do setor de maior concentração, para o setor de menor concentração, leva ao equilíbrio, onde temos as concentrações iônicas idênticas em ambos os setores. Tal fenômeno de difusão está presente na célula, e move os íons a ao longo dos canais iônicos, levando íons de meio de mais alta concentração, para o de mais baixa concentração. Se o único fenômeno de transporte iônico atuando, fosse a difusão de íons, chegaríamos ao equilíbrio das concentrações iônicas, nos meios intracelular e extracelular, ou seja, a diferença de potencial entre os meios intra e extracelulares seria zero.

$$\begin{aligned} [\text{Na}^+]_{\text{esquerdo}} &= [\text{Na}^+]_{\text{direito}} \\ [\text{Cl}^-]_{\text{esquerdo}} &= [\text{Cl}^-]_{\text{direito}} \end{aligned}$$



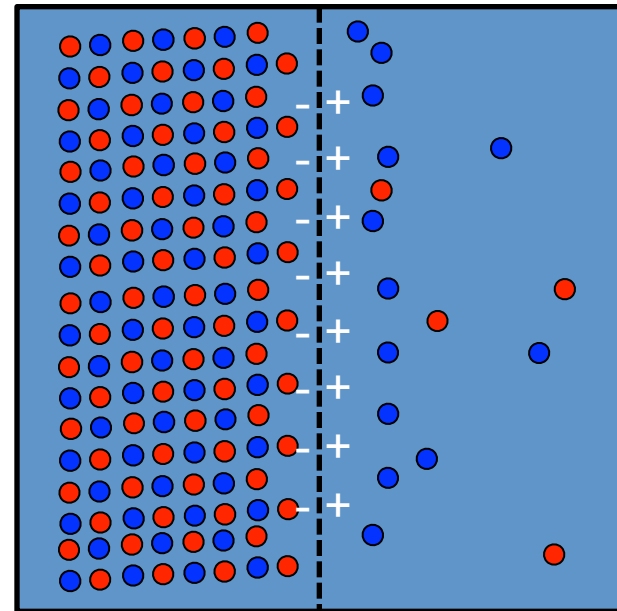
Cuba dividida em dois setores por uma membrana permeável. O sistema atingiu o equilíbrio.

Consideremos o mesmo experimento anterior, com uma pequena modificação. Trocamos a membrana que separa os dois setores, por uma membrana permeável a só um íon (semipermeável), digamos que seja o **cátion**, o íon sódio. A situação inicial é a mesma, as concentrações iônicas maiores no setor do lado esquerdo, como mostrado na figura ao lado. **A membrana semipermeável** permite somente a passagem do íon positivo (cátion), e impede a circulação do íon negativo (**ânion**).



Cuba dividida em dois setores por uma membrana semipermeável, que permite a passagem do íon sódio (cátion) e impede a circulação do íon cloro (ânion).

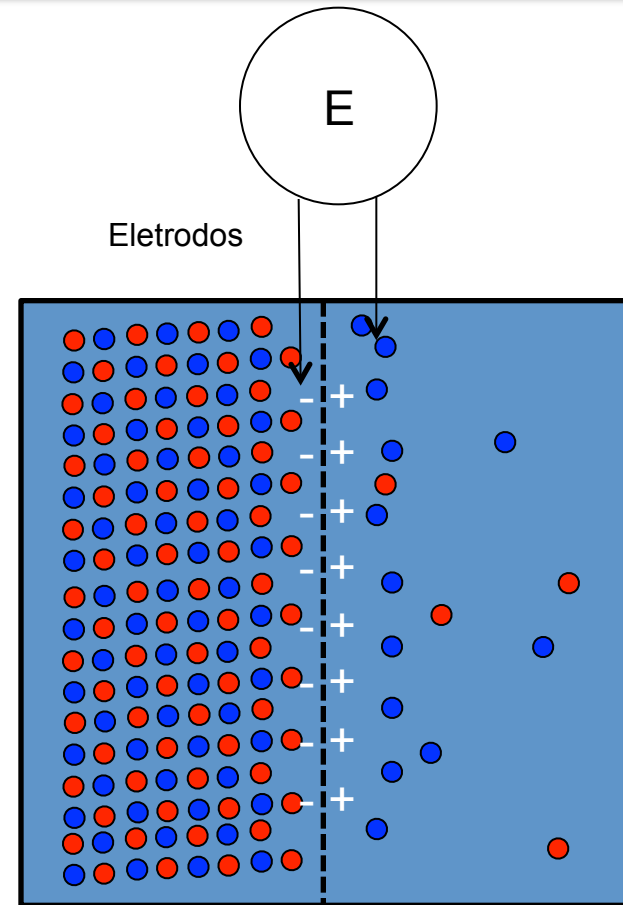
A difusão de cátions para o lado direito da cuba, leva a um aumento de carga positiva do lado direito. Temos, também, um aumento da carga negativa do lado esquerdo. Tal situação cria um **campo elétrico** na membrana semipermeável. **Um campo elétrico é uma região do espaço sujeita à força elétrica.** Uma vez estabelecido o campo elétrico, temos uma **força elétrica**, que empurra os cátions de volta para o lado direito. Assim, é como se tivéssemos um cabo de guerra. A difusão empurra os cátions para o lado direito, e o campo elétrico leva o cátions de volta ao lado esquerdo. O sistema chega a um equilíbrio entre a difusão e a força elétrica. O equilíbrio constrói um acúmulo de cargas desiguais entre os lados, e, conseqüentemente, o aparecimento de uma diferença de potencial.



Cuba dividida em dois setores por uma membrana semipermeável, que permite a passagem do íon sódio e impede a circulação do íon cloro. A passagem do cátion, leva a um acúmulo de carga positiva do lado direito da cuba e negativa do lado esquerdo.

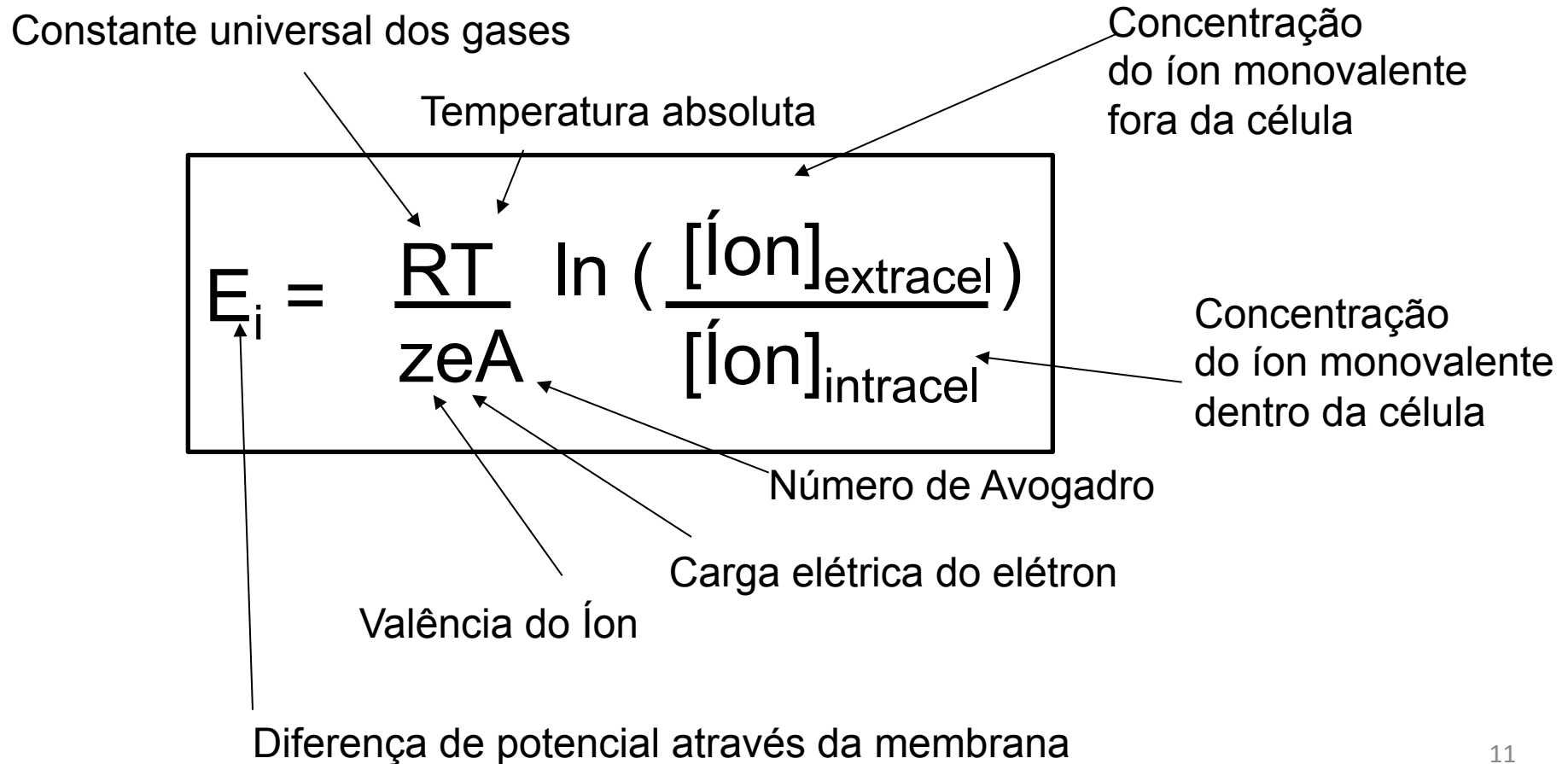
A diferença na distribuição de carga elétrica na cuba, é análoga à diferença de distribuição de cargas na membrana celular. Se colocarmos eletrodos em ambos os lados da cuba, como indicado ao lado, teremos a medida do potencial de membrana.

O potencial devido à diferença da concentração de íons, pode ser calculada a partir da **equação de Nernst**, onde a diferença de concentração de um dado íon, é usada para determinarmos o potencial. Vemos que o acúmulo de cargas elétricas leva à formação de um capacitor, como temos na membrana celular. Assim, tal abordagem elétrica é consistente com a observação experimental da membrana celular.



Inserção do voltímetro, para o registro da diferença de potencial entre os dois setores da cuba.

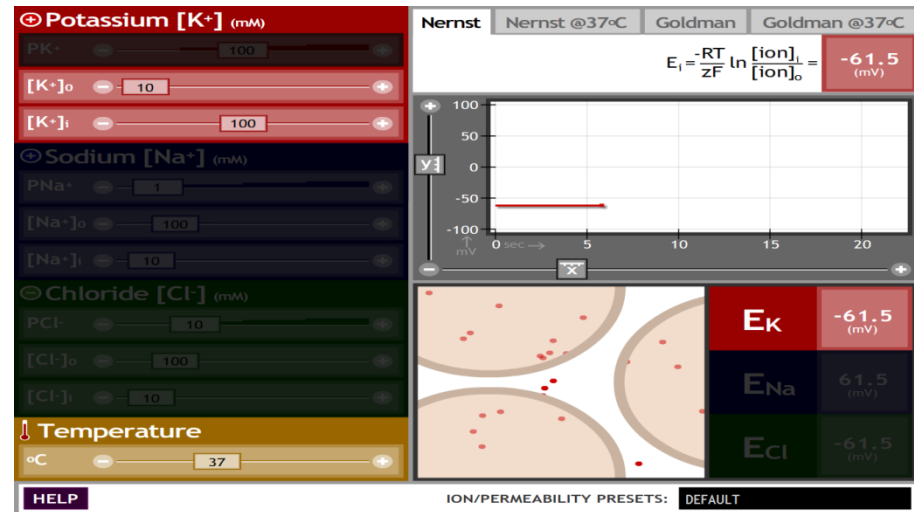
A equação de Nernst prevê o potencial de membrana (E_i), inclusive na situação de repouso (potencial de repouso), levando-se em consideração a concentração iônica. Abaixo temos uma descrição detalhada de cada termo da equação de Nernst.



A forma apresentada no slide anterior para a equação de Nernst, é o que chamamos de forma computacional, pois é a usada nos programas para o cálculo do potencial de membrana, como o programa *Nernst/Goldman Equation Simulator (NGS)*. Usaremos a equação abaixo para cálculos do potencial de membrana quando for dada a temperatura da membrana (T).

$$E_i = \frac{RT}{zeA} \ln \left(\frac{[\text{íon}]_{\text{extracel}}}{[\text{íon}]_{\text{intracel}}} \right)$$

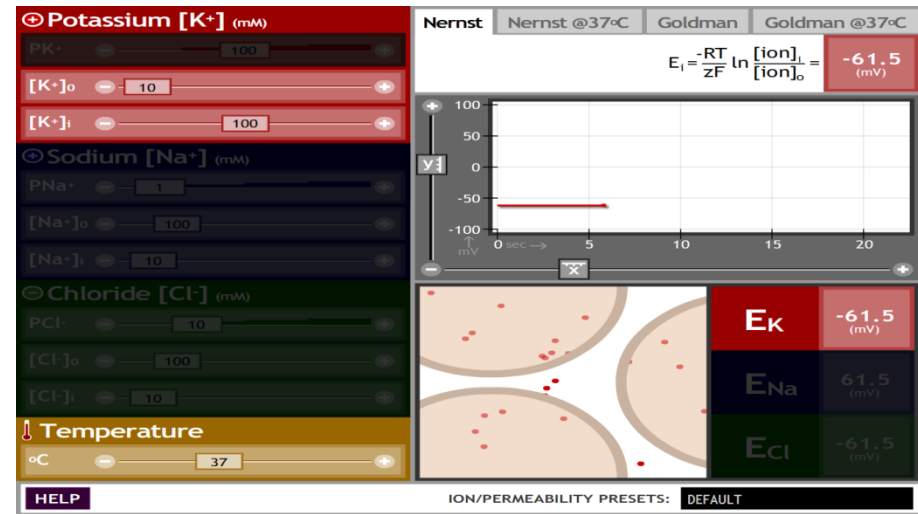
Não se esqueça, ln é o logaritmo natural.



Interface do programa NGS, disponível em: <http://www.nernstgoldman.physiology.arizona.edu/using/>. Acesso em: 17 de setembro 2018. O sinal negativo da equação acima à direita é devido à troca do numerador com denominador no logaritmando. Outra diferença é a notação para concentrações extra e intracelulares, $[\text{ion}]_o$ e $[\text{ion}]_i$, respectivamente. No fundo a equação é idêntica à mostrada ao lado.

Quando a temperatura é 20° e se consideramos que o íon é monovalente positivo, podemos simplificar a equação. Assim temos:

$$E_i = 58,2mV \log\left(\frac{[Na^+]_{extra}}{[Na^+]_{int ra}}\right)$$



Interface do programa NGS, disponível em: <http://www.nernstgoldman.physiology.arizona.edu/using/>. Acesso em: 17 de setembro 2018. O sinal negativo da equação acima à direita é devido à troca do numerador com denominador no logaritmando. Outra diferença é a notação para concentrações extra e intracelulares, $[ion]_o$ e $[ion]_i$, respectivamente. No fundo a equação é idêntica à mostrada ao lado.

Não se esqueça, log é o logaritmo com base 10.

A equação de Nernst, vista anteriormente, é inadequada para determinar o potencial de membrana, pois não leva em consideração que a membrana celular apresenta **permeabilidade** distinta para cada íon. A diferença de permeabilidade, deve-se à presença de diferentes tipos de canais iônicos, inseridos na membrana celular. A análise da permeabilidade (facilidade com a qual os íons atravessam a membrana) levou a uma equação mais realística, como a desenvolvida por Goldman (1943), Hodgkin & Katz (1949) (Equação de GHK). Na equação os termos P_{Na} , P_K e P_{Cl} são as permeabilidades dos íons de Na, K e Cl respectivamente. Como a permeabilidade para os outros íons é desprezível, comparadas às do Na, K e Cl, para as condições do potencial de repouso, os termos referentes aos outros íons não são incluídos na equação. A equação abaixo está em função da temperatura em Kelvin.

$$E_m = \frac{RT}{F} \cdot \ln \left(\frac{P_{Na} [Na^+]_{ex} + P_K [K^+]_{ex} + P_{Cl} [Cl^-]_{in}}{P_{Na} [Na^+]_{in} + P_K [K^+]_{in} + P_{Cl} [Cl^-]_{ex}} \right)$$

[Goldman D. E. potential, impedance, and rectification in membranes J Gen Physiol. 1943;27\(1\):37-60](#)

[Hodgkin A. L., Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of giant axon of the squid . J Physiol. 1949;108\(1\):37-77.](#)

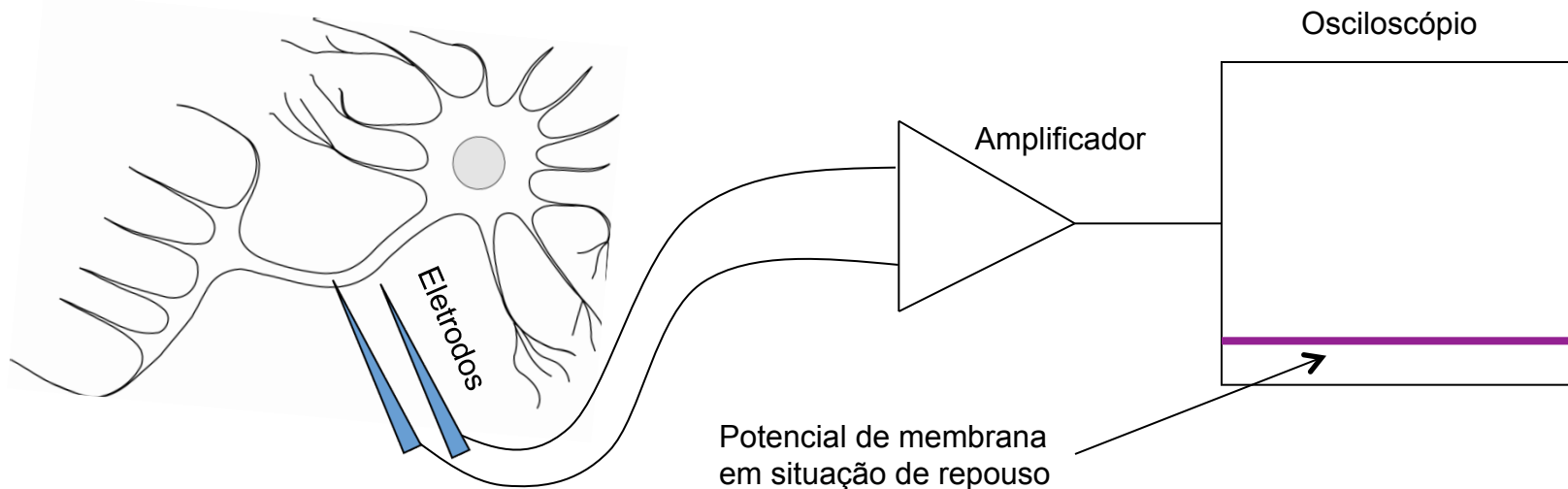
Considerando-se que a temperatura é 37° e que o íon é monovalente positivo, podemos simplificar a equação. Assim temos:

$$E_m = 61,5mV \cdot \log \left(\frac{P_{Na} [Na^+]_{ex} + P_K [K^+]_{ex} + P_{Cl} [Cl^-]_{in}}{P_{Na} [Na^+]_{in} + P_K [K^+]_{in} + P_{Cl} [Cl^-]_{ex}} \right)$$

[Goldman D. E. potential, impedance, and rectification in membranes J Gen Physiol. 1943;27\(1\):37-60](#)

[Hodgkin A. L., Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of giant axon of the squid . J Physiol. 1949;108\(1\):37-77.](#)

Ao inserimos eletrodos na célula e ligarmos tais eletrodos a um voltímetro, podemos medir um potencial elétrico, denominado de uma forma geral **de potencial de membrana da célula**. Assim, para qualquer **situação fisiológica**, o potencial elétrico medido na célula é chamado de potencial de membrana. Não precisa que a célula esteja em repouso. Quando a célula está em repouso, o potencial de membrana recebe um nome específico, **potencial de repouso**. Caso a célula receba um estímulo, alto o suficiente, teremos como resultado que o potencial de membrana apresentará uma súbita elevação, tal etapa é chamada **potencial de ação** e será estudado na aula seguinte.



Selecionei 3 artigos que considero trazem resultados interessantes sobre aplicações farmacológicas da inibição de canais de sódio.

1) Sodium channel inhibitor drug discovery using automated high throughput electrophysiology platforms. Castle N, Printzenhoff D, Zellmer S, Antonio B, Wickenden A, Silvia C. Comb Chem High Throughput Screen. 2009 Jan;12(1):107-22. Review.

2) Clinical pharmacology and mechanism of action of zonisamide. Biton V. Clin Neuropharmacol. 2007 Jul-Aug;30(4):230-40. Review.

3) Insect-selective spider toxins targeting voltage-gated sodium channels. Nicholson GM. Toxicon. 2007 Mar 15;49(4):490-512. Epub 2006 Dec 5. Review.

OLIVEIRA, Jarbas Rodrigues de; WACHTER, Paulo Harald; AZAMBUJA, Alan Arrieira. Biofísica para ciências biomédicas. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2002. 313 p.

OKUNO, Emiko; CALDAS, Iberê Luiz; CHOW, Cecil. Física para ciências biológicas e biomédicas. São Paulo: Harper & Row do Brasil, 1982. 490 p.

PURVES, W. K., SADAVA, D., ORIAN, G. H., HELLER, H. G. *Vida. A Ciência da Biologia*. 6a ed. Artmed editora. 2002.

VOET, Donald; VOET, Judith G. Bioquímica. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2006. 1596 p.