

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Serviço de Fisiologia



Aula Teórico-Prática

FISIOLOGIA DAS MEMBRANAS CELULARES

Texto de Apoio

Dr. Tiago Henriques Coelho
Prof. Doutor Adelino Leite Moreira

Porto, Ano Lectivo 2001 / 02

ÍNDICE:

1. Organização Estrutural da Membrana	Pg. 3
2. Transporte Membranar	Pg. 5
2.1 – Difusão	Pg. 5
2.2 – Osmose	Pg. 8
2.1 – Transporte Mediado por Proteínas	Pg. 10
2.1 – Endocitose e Exocitose	Pg. 15
2.1 – Transporte epitelial	Pg. 15
3. Equilíbrio iónico	Pg. 16
4. Potencial de repouso	Pg. 17
5. Actividade eléctrica da membrana	Pg. 19
5.1 – Potenciais gradativos	Pg.20
5.2 – Potencial de acção	Pg. 21
5.3 – Propagação dos potenciais de membrana	Pg. 25
5.4 – Cronaxia e Reobase	Pg. 28

BIBLIOGRAFIA:

1. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD, editors. Molecular Biology of the Cell. New York: Garland, 1994:477-549
2. Berne RM, Levy MN, editors. Physiology. St Louis: Mosby, 1998:3-42.
3. Beme RM, Levy MN, editors. Principles of Physiology. St Louis: Mosby, 2000:4-38.
4. Guyton AO, Hall JE, editors. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia: Saunders, 2000:40-66.
5. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. Harper's Biochemistry. Connecticut: Appieton & Lange, 1993:467-485.
6. Schauff C., Moffett D., Moffett S, editors. Human Physiology. Dubuque: Wn C Brown Publisber, 1993:137-186.
7. Vander A, Sherman J, Luciano D, editors. Human Physiology. Boston: Me Graw Hill, 1998:112-140; 178-192.

1. ORGANIZAÇÃO ESTRUTURAL DA MEMBRANA

A membrana celular é uma camada com apenas 7,5 a 10 nm de espessura, constituída por lípidos intercalados com proteínas que define os limites de cada célula. Funciona como uma barreira de permeabilidade que permite à célula manter um meio químico apropriado para os seus processos metabólicos, regular o volume citoplasmático e transferir informação sob a forma de sinais químicos e eléctricos. As membranas que revestem os vários organelos (núcleo, mitocôndria, retículo endoplasmático, lisossomas e aparelho de Golgi) permitem a compartimentalização funcional da célula, com possibilidade de limitar processos bioquímicas a certos locais.

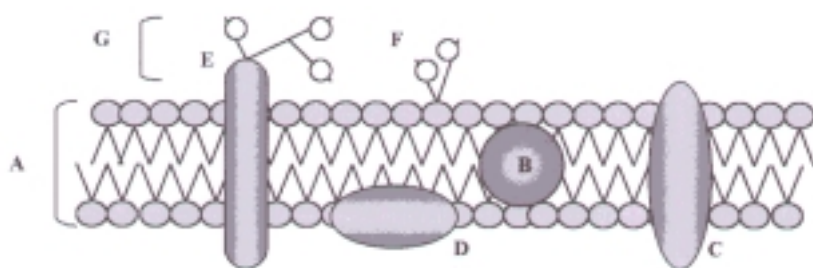


Figura 1 – Modelo do Mosaico Fluído: Bicamada fosfolipídica (A), Colesterol (B), Proteínas intrínsecas (C) e extrínsecas (D), glicoproteínas (E), Glicolipídios (F) e Glicocálice (G).

Apesar das particularidades individuais, todas as membranas biológicas são formadas por uma dupla camada fosfolipídica e por proteínas unidas por ligações covalentes e que se comportam segundo o *Modelo, Mosaico Fluído* (figura 1). A maioria dos lípidos e das proteínas movem-se livremente no plano da membrana. Em alguns casos, há restrição deste movimento de forma a permitir à célula a realização de algumas funções em partes selectivas da sua membrana. É o caso da sequestração de receptores de acetilcolina ao nível da placa motora das células musculares esqueléticas.

Os principais **lípidos** presentes na membrana celular são os fosfolípidos, o colesterol e os glicolípidos. A sua distribuição pelas duas camadas é assimétrica, o que pode reflectir as diferentes funções das duas superfícies da membrana. Os fosfolípidos são moléculas antipáticas e dispõem-se em bicamada com a porção hidrófoba não polar (caudas de ácidos gordos) dirigida para o centro da membrana e com a porção hidrofílica polar (cabeça com terminal fosfato) direccionada para o exterior ou interior da célula. Os fosfolípidos mais abundantes são os fosfolípidos ligados à colina (fosfatidilcolina e esfingomiéline) e os aminofosfolípidos (fosfatidilserina e fosfatidiletanolamina). O fosfatidilglicerol, o fosfatidilinositol e a cardiolipina são também importantes mas estão presentes em menores quantidades. Os fosfolípidos que a constituem podem-se mover rapidamente na sua monocamada por difusão lateral, rotação e flexão. Os movimentos de *flip-flop* entre as duas camadas são um fenómeno raro. O colesterol interpõe-se na bicamada fosfolipídica com o seu núcleo esteróide disposto paralelamente às cadeias de ácidos gordos. Actua no sentido de reduzir a fluidez membranar a temperaturas fisiológicas ou de a

aumentar face a descidas de temperatura, funcionando como um 'tampão de fluidez'. Contribui para o grau de permeabilidade da bicamada fosfolipídica dos :fluidos corporais. Enquanto que a bicamada lipídica determina a estrutura básica das membranas biológicas, as **proteínas** são responsáveis pela maioria das funções da membrana celular. As proteínas membranares dividem-se, com base na força de interacção com os fosfolípidos, em intrínsecas e extrínsecas. As proteínas extrínsecas ou periféricas ligam-se às superfícies interna ou externa por forças electrostáticas e podem ser removidas por procedimentos químicos fracos (ex.: alterações na composição iónica do meio). As proteínas intrínsecas ou integrais interactuam com os lípidos membranares por ligações hidrófobas e só detergentes potentes ou solventes orgânicos as removem. Os seus domínios hidrófobos têm uma estrutura secundária α -helicoidal e os domínios hidrofílicos estendem-se para o citoplasma ou para o fluido extracelular. Tal como os lípidos, muitas proteínas podem difundir-se rapidamente no plano da membrana. As proteínas membranares podem classificar-se, funcionalmente, em seis categorias. Os *Receptores* estão envolvidos na conversão de sinais químicos extracelulares em respostas intracelulares (ex.: receptor da acetilcolina). As *Proteínas de Reconhecimento* funcionam como marcadores, permitindo que o sistema imune distinga as células normais de células cancerígenas e células do próprio de células estranhas (ex.: antígenos de histocompatibilidade MHC). As *Proteínas de Transporte* conferem permeabilidade a solutos polares específicos e a iões. Algumas funcionam também como receptores que respondem a alterações na permeabilidade dos solutos (ex.: bomba de sódio e potássio, canal de sódio). As *Proteínas de Junção* permitem a adesão entre células adjacentes ou à matriz extracelular (ex.: integrinas). No caso das junções do hiato, permitem também a comunicação entre o citoplasma das células. As Enzimas catalisam reacções específicas de substratos no fluido intra e extracelular (ex.: Acetilcolinesterase). A ancoragem ao Citosqueleto permite que o citosqueleto altere a forma da célula e que certas proteínas fiquem restritas a certos locais (ex.: Anquirina).

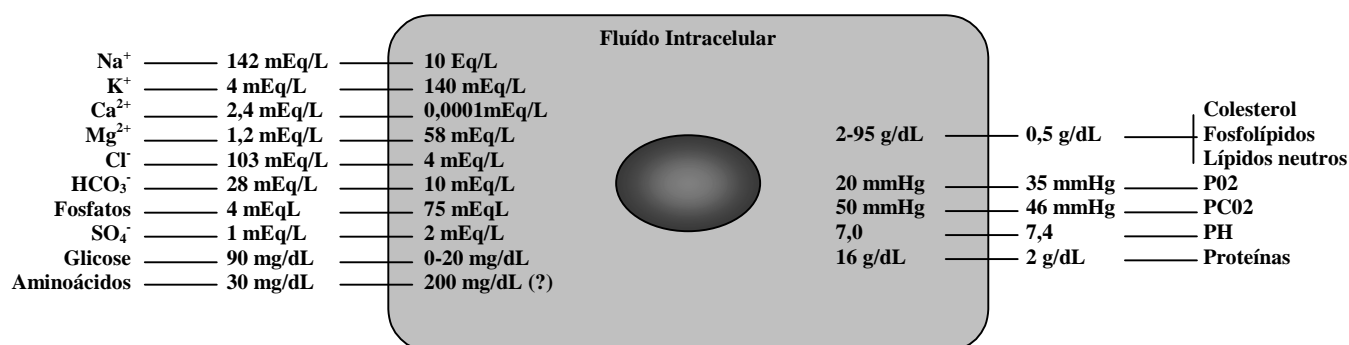


Figura 2 - Composição iónica dos fluidos intra e extracelulares.

Os **carboidratos** ligam-se predominantemente à superfície externa das proteínas membranares e dos lípidos, formando as glicoproteínas e os glicolípidos, respectivamente. A camada resultante de carboidratos na superfície membranar externa constitui o glicocálice, que desempenha importantes funções. Alguns glicolípidos e glicoproteínas têm ácido siálico que confere uma carga negativa à célula, permitindo-lhe repelir substâncias carregadas negativamente; participa na adesão entre células e em reacções imunes e algumas funcionam como receptores para ligação de hormonas como é o caso da insulina.

A composição relativa de uma membrana celular é cerca de 55% em proteínas, 25 % em fosfolípidos, 10% em colesterol, 4% em outros lípidos e 3% em carboidratos. A membrana celular possibilita diferentes posições iónicas entre os fluídos intra e extracelular: elevada concentração de sódio e cloreto no fluído racelular e de potássio e fosfatos no fluído intracelular (figura. 2).

2. MECANISMOS DE TRANSPORTE MEMBRANAR

As moléculas lipofílicas sem carga podem atravessar a membrana pela bicamada fosfolipídica, como acontece com o oxigênio ou com o dióxido de carbono. As substâncias hidrofílicas necessitam de proteínas especiais para poderem transpor a membrana. São exemplo a glicose e os iões.

2.1. DIFUSÃO

Difusão é o movimento espacial e aleatório (*movimento Browniano*) de átomos, moléculas ou partículas, determinado pela energia térmica da própria partícula. A liberdade de movimentos é máxima em meio gasoso, diminui em meio líquido e é mínima em meio sólido. As moléculas de água e de solutos em solução colidem continuamente e, por isso, as suas trajectórias tornam-se imprevisíveis. A difusão é um processo espontâneo que aumenta a desordem ou entropia. Deste modo, o estado de equilíbrio de um sistema contendo moléculas com movimento aleatório é aquele em que a desordem/entropia é máxima, a energia livre é mínima e os solutos estão uniformemente distribuídos pelo sistema.

Se existir um gradiente de concentração no sistema, o movimento individual dos solutos causa um movimento orientado dos locais de maior concentração para os de menor concentração até ser atingido um estado de equilíbrio em que a distribuição de soluto é uniforme (figura. 3). Exemplificando: se colocarmos açúcar granulado num copo com água, numa primeira fase, a água à volta dos grãos de açúcar dissolve-os mas estes permanecem no fundo do copo. Segue-se então um grande fluxo (quantidade de partículas que atravessa uma superfície por unidade de tempo) unidireccional de moléculas em direcção ao topo (onde a

concentração de açúcar é baixa) e um pequeno fluxo em direcção oposta. O fluxo resultante é a soma algébrica destes dois fluxos unidireccionais. À medida que mais moléculas se aproximam do topo, menor é o gradiente, até que se atinge o estado de equilíbrio em que as moléculas de glicose se movem igualmente em todas as direcções.

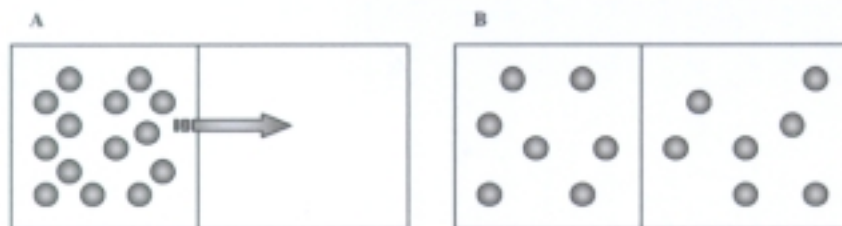


Figura 3 - Difusão.
As moléculas do soluto difundem-se (A) até atingirem um estado de equilíbrio (B).

A **Taxa de Difusão** de uma substância entre dois pontos no espaço é determinada pela velocidade individual das partículas, pelo gradiente de concentração e pelas dimensões da via de difusão.

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 cm^2/s .

O **Gradiente de Concentração** deve ser interpretado como uma força química que conduz o sistema em direcção ao seu estado de equilíbrio. Deste modo, o movimento individual de partículas não é afectado pelo gradiente de concentração.

As **Dimensões** da via de difusão incluem a **área de secção** e a **distância**. Quanto maior a área de secção e menor a distância a percorrer, maior o fluxo. No pulmão e no intestino, onde a difusão é importante para a troca de substâncias entre os meios interno e externo, a área de difusão é grande e a distância a percorrer pequena. A relação de *Einstein* mostra que o tempo necessário para a difusão aumenta com o quadrado da distância a percorrer. Por exemplo, a glicose demora 3,5 segundos a atingir 90% do equilíbrio de difusão num local que dista $1 \mu\text{m}$ da fonte de glicose (como ocorre no sangue) mas levaria 11 anos a atingir a mesma concentração num ponto a 10 cm da fonte. A difusão é um meio de transporte rápido e eficaz para curtas distâncias mas muito ineficaz para distâncias com mais de alguns microns. Devido à lentidão da difusão para distâncias macroscópicas, os organismos multicelulares desenvolveram sistemas circulatórios (ex: sangue, transporte axonal) que asseguram um movimento rápido de partículas para longas distâncias. A difusão proporciona o movimento de partículas entre células e sangue.

A **Lei de Fick** para a difusão define quantitativamente as relações entre estes três factores. Postula que a quantidade de uma substância difundida por unidade de tempo num dado momento, isto é, o fluxo de difusão (J) é proporcional ao coeficiente de difusão (D , cm^2/s), à área disponível de troca (A) e ao gradiente de concentração (ΔC) e inversamente proporcional à distância a que ocorre a difusão (l):

$$J = D \cdot A \cdot \Delta C \quad (\text{moles/s})$$

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 **Coefficiente de Permeabilidade membranar** (P , cm^2/s), uma vez que a espessura da membrana celular pode ser considerada uma constante:

$$J = P \cdot A \cdot \Delta C$$

Para a maioria dos solutos, os coeficientes de permeabilidade são cerca de um milhão de vezes inferiores aos coeficientes de difusão. Uma vez que a permeabilidade é uma propriedade da membrana, diferentes tipos de células têm diferentes constantes de permeabilidade para a mesma substância.

O principal factor limitante da difusão através de uma membrana celular é a lipossolubilidade da substância a transportar (figura. 4). **Moléculas apolares** como o oxigênio, dióxido de carbono, ácidos gordos e hormonas esteróides difundem rapidamente pela porção lipídica da membrana. **Moléculas polares** de pequenas dimensões e **sem carga**, como a ureia e o glicerol, atravessam a bicamada lipídica rapidamente. **Moléculas polares ionizadas** difundem muito lentamente ou não atravessam a membrana 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 selectividade iónica, quer pelo diâmetro quer pela carga. **Moléculas polares com carga**, como os carbohidratos e os aminoácidos, não podem atravessar a membrana celular por difusão simples. Fazem-no por intermédio de proteínas transportadoras.

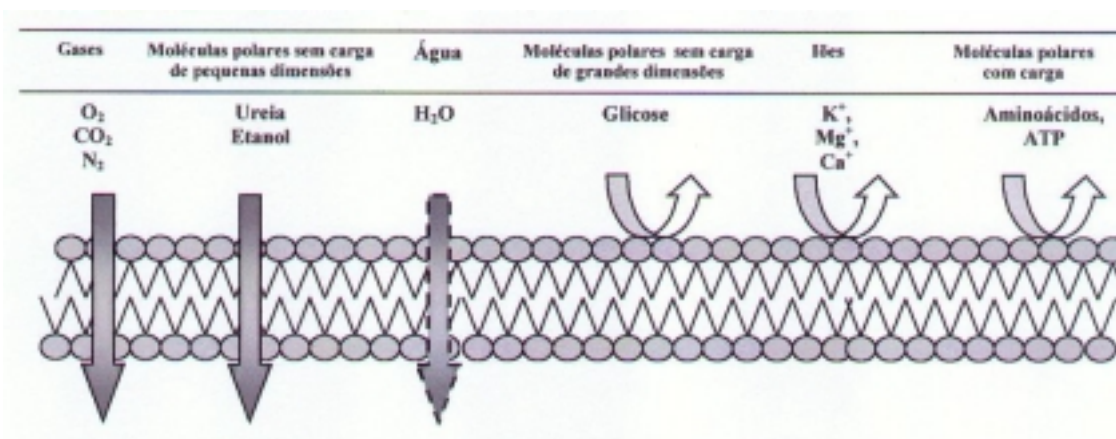


Figura 4 - Permeabilidade relativa da bicamada lipídica a diferentes classes de moléculas: quanto mais pequena e lipossolúvel for a molécula mais rapidamente se difunde pela bicamada.

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. Esta constatação pode ser explicada pela presença das *aquaporinas* - proteínas membranares que formam canais através dos quais se dá a difusão da água.

2.2. OSMOSE

Osmose é o processo pelo qual a água se move espontaneamente através de uma membrana semipermeável (i.e., permeável à água mas não aos solutos) das regiões de maior concentração de água para as de menor concentração (figura 5). As diferenças na concentração de água devem-se aos solutos nela dissolvidos. A adição de um soluto à água baixa a concentração desta na solução, comparativamente à concentração da água pura, uma vez que cada molécula de soluto ocupa um espaço previamente preenchido por uma molécula de água. Deste modo, quanto maior a concentração de soluto, menor a concentração de água.

A **Pressão Osmótica** de uma solução define-se como a pressão que é necessário exercer para impedir a osmose de água pura para a solução quando estas estão separadas por uma membrana impermeável ao soluto (figura 6). Pode ser expressa em *cm H₂O* ou em *mmHg*. A pressão osmótica exercida pelas partículas em solução é determinada pelo número de partículas por unidade de volume porque cada partícula em solução exerce, em média, a mesma pressão sobre a membrana, independentemente da sua massa. Por isso, é uma das propriedades 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**:

$$\pi = RT(\phi ic) \quad (\text{moles/s})$$

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 (moles de soluto por litro de solução). O **coeficiente osmótico** depende da concentração do soluto e das suas propriedades químicas.

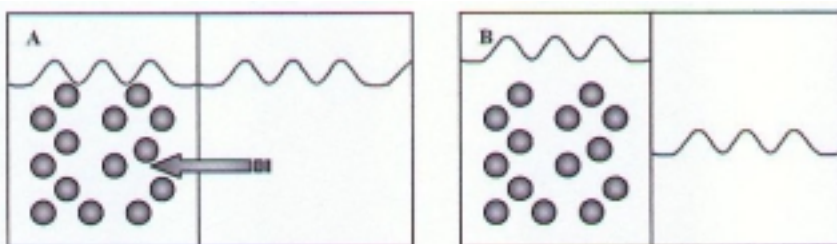


Figura 5 - Osmose.
A água desloca-se através de uma membrana semipermeável dos locais de menor concentração de soluto (A) para os de maior concentração de soluto (B).

À temperatura corporal normal, uma concentração de 1 miliosmole por litro equivale a 19,3 mmHg de pressão osmótica. Multiplicando este valor pela osmolalidade normal dos fluídos intra e extracelulares (300 miliosmolar), obtemos uma pressão osmótica calculada da totalidade dos fluídos corporais de 5790 mmHg. O valor real é, no entanto de 5500 mmhg. Esta diferença pode ser explicada pelo facto de muitos iões, como o Na^+ e o Cl^- , se atraírem mutuamente e, como tal, não contribuírem com todo o seu potencial osmótico.

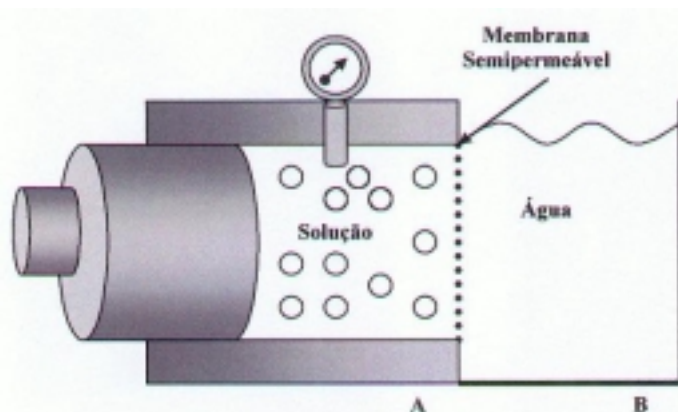


Figura 6 - Pressão Osmótica.

Resulta de uma diferença de concentração de água entre a água pura e uma solução. Pode ser medida pela Pressão Hidrostática que é necessário aplicar ao compartimento A de modo a não haver movimento de água através da membrana. A pressão osmótica é igual mas oposta à pressão hidrostática exercida.

A **Osmolalidade** expressa-se em *osmoles por quilograma de água*. Devido à dificuldade da medição em quilogramas de água em solução, utiliza-se geralmente o termo **Osmolaridade** que exprime a concentração osmolar em *osmoles por litro de solução*. Apesar de ser a osmolalidade que determina a pressão osmótica, as diferenças quantitativas, para soluções diluídas, entre osmolalidade e osmolaridade são inferiores a um por cento. Apesar da osmolaridade se referir à concentração de soluto, também determina a concentração de água na solução, uma vez, que quanto maior a osmolaridade, menor a concentração de água.

Uma solução diz-se **isosmótica** quando tem uma concentração de solutos por unidade de volume igual à solução padrão (ou de referência), independentemente da natureza do soluto. Para o fluído extracelular, esse valor é de 300 mOsmol/L. Diz-se **hiperosmótica ou hipoosmótica** quando tem uma concentração de solutos, respectivamente, maior (>300 mOsmol/L) ou menor (<300 mosmol/L) em relação à solução de referência, independentemente da natureza dos solutos.

A **Tonicidade** de uma solução refere-se à tendência do volume celular diminuir ou aumentar quando as células são colocadas em solução. A osmolaridade normal do citoplasma e do fluído extracelular é de 300 mOsmol/L. Os fluídos intra e extracelulares são isosmóticos mas deverão ser também isotónicos. Uma solução diz-se **isotónica** quando tem uma concentração extracelular de solutos impermeantes (isto é, incapazes de atravessar a membrana plasmática) igual à intracelular (300 mOsmol/L), não havendo variação do volume celular. Diz-se **hipertónica** quando contém uma concentração de *solutos impermeantes* superior a 300 mOsmol/L e causa retracção celular pela saída

osmótica de água. Diz-se **hipotónica** se, pelo contrário, a concentração de *solutos impermeantes* for inferior a 300 mOsmol/L, causando expansão celular pela entrada osmótica de água.

Exemplificando as diferenças entre tonicidade e osmolaridade, consideremos uma célula numa solução isotónica à qual se adiciona uma certa quantidade de soluto. Se a célula for permeável ao soluto parte deste passa para o citoplasma. Após o equilíbrio difusional e osmótico ser atingido, 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, havendo diminuição do volume celular. A solução extracelular fica, assim, hipertónica e hiperosmótica relativamente à inicial.

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

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

Para o fluído extracelular ser isotónico 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 potássio. As proteínas são moléculas de grandes dimensões e polares incapazes de atravessar a membrana. Os iões potássio, apesar de poderem difundir para o meio extracelular, são bombeados activamente para o citoplasma pela bomba Na^+/K^+ . No fluído extracelular, os iões Na^+ e Cl^- são os principais impermeantes. O sódio é bombeado activamente para o meio extracelular pela bomba Na^+/K^+ e comporta-se, assim como um soluto confinado ao fluído extracelular. Os iões cloreto, através do transporte activo secundário e do potencial de repouso da membrana, são exteriorizados rapidamente à medida que entram na célula.

2.3. TRANSPORTE MEMBRANAR 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 por proteínas** ou simplesmente, transporte mediado. Tem como características básicas:

- O transporte é mais rápido do que aquele que seria de esperar por difusão simples de uma molécula com peso molecular e solubilidade similares;
- A taxa de transporte atinge saturação (figura 7);
- As proteínas de transporte possuem especificidade estereoquímica;
- Moléculas estruturalmente semelhantes podem competir pelo sistema de transporte (competição análoga à inibição competitiva de uma enzima);
- O transporte pode ser inibido pela diminuição da afinidade da proteína de transporte para o substrato normal.

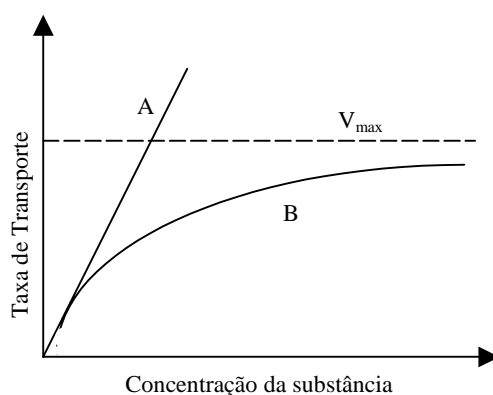


Figura 7 - Efeito da concentração de uma substância sobre a taxa de difusão numa membrana em que há difusão simples (A) e numa onde há transporte mediado por proteínas (B). Podemos verificar que o transporte mediado aproxima-se de um valor máximo de taxa de difusão (V_{max}).

O transporte mediado classifica-se, sob o ponto de vista termodinâmico, em activo e passivo. As principais diferenças são a bidireccionalidade do transporte passivo e o gasto energético do transporte activo. As proteínas de transporte podem ser divididas em 2 grupos principais: canais e transportadores. As principais diferenças entre eles estão sumariadas no quadro I.

Quadro I - Características diferenciais entre canais e transportadores.

	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.
Taxa 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 (segundo o gradiente de concentração).	Activo ou passivo.

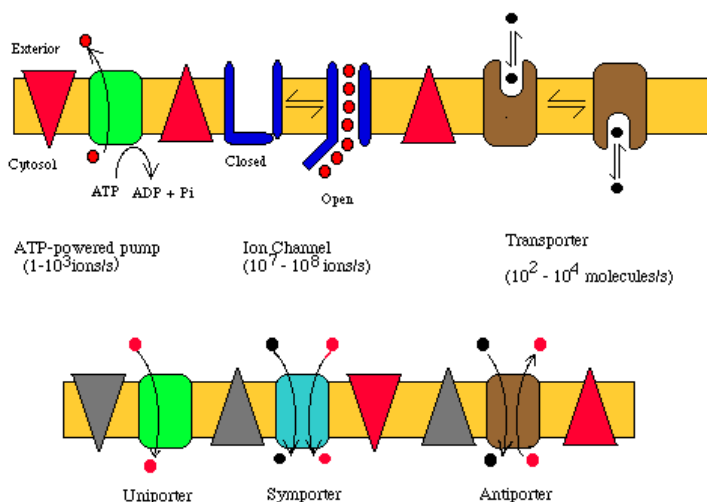


Figura 8 -Tipos de Transporte Mediado: Difusão Facilitada (canal iônico), transporte activo primário (ATPase) e transporte activo secundário (antiporte e simporte).

2.3.1. TRANSPORTE PASSIVO

O **transporte passivo**, 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, sendo muito mais rápido do que seria de esperar pela sua lipossolubilidade. 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 através da membrana;
- Número de proteínas transportadoras;
- Velocidade de interacção soluto-proteína de transporte;
- Velocidade de alteração conformacional da proteína de transporte.

2.3.2. TRANSPORTE ACTIVO

Por definição, **transporte activo** é um processo que desloca solutos contra o seu gradiente electroquímico e que está ligado a uma fonte de energia. Esta pode ser o ATP (transporte activo primário) ou um gradiente transmembranar de um segundo soluto (transporte activo secundário)

No **transporte activo primário** o transportador é uma ATPase que catalisa o ATP e se auto-fosforila. Esta fosforilação pode alterar a afinidade do seu local de ligação para o soluto e a taxa de alteração conformacional, causando uma assimetria na distribuição da substância transportada (figura. 9). 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 (Quadro II).

Quadro II -ATPases transportadoras de iões.

CLASSE	EXEMPLOS	LOCALIZAÇÃO	FUNÇÃO*
ATPase tipo P	ATPase Na ⁺ /K ⁺	Todas as membranas celulares	Transporta 3 iões Na ⁺ para o exterior e 2 iões K ⁺ para o interior; a sua taxa de transporte é regulada pela concentração intracelular de Na ⁺
	ATPase Ca ²⁺	Membrana plasmática	Bombeia cálcio para o fluído extracelular
		Retículo sarcoplasmático e endoplasmático	Bombeia o cálcio para o seu interior
	ATPase H ⁺ /K ⁺	Membrana celular das células parietais gástricas	Secreção gástrica no estômago; Não é electrogénica (ao contrário das restantes)
ATPase tipo V	ATPase H ⁺	Lisossomas, endossomas, vesículas de secreção e grânulos de armazenamento	Acidificação dos organelos onde estão presentes
ATPase tipo F	ATPase H ⁺	Membrana mitocondrial interna	Usa a energia do gradiente de iões H ⁺ para a síntese de ATP

*Como todas as reacções químicas são reversíveis, as ATPases dos tipos P e V podem usar a energia do gradiente iónico para a produção de energia; a ATPase do tipo F pode usar o ATP para bombear protões.

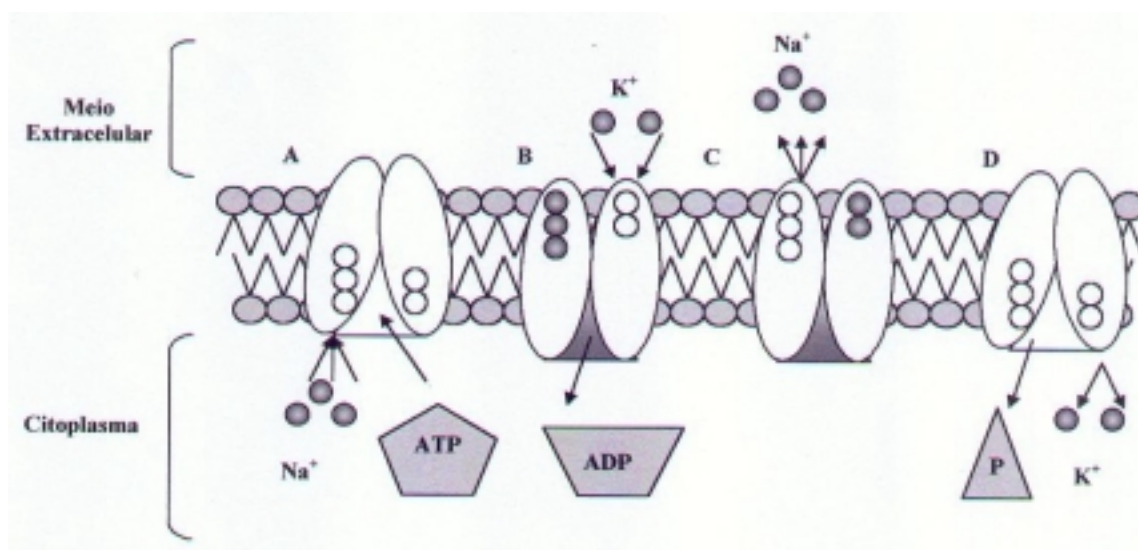


Figura 9 -Ciclo da Bomba de Sódio-Potássio. **A**- três iões Na⁺ ligam-se no lado citoplasmático; **B**- a proteína transportadora é fosforilada pelo ATP; **C**- A fosforilação causa uma alteração conformacional da proteína, diminuindo a afinidade para o Na⁺ e aumentando a do K⁺; os três iões Na⁺ são libertados para o exterior da célula; **D**- Dois iões K⁺ ligam-se do lado exterior da proteína e, após o regresso à conformação inicial, são libertados no citoplasma.

No **transporte activo secundário** é utilizada a energia potencial química armazenada num gradiente de concentração de outra molécula. Assim, o fluxo de iões dos locais de maior concentração (estado energético mais elevado) para os de menor concentração (estado energético mais baixo) fornece a energia necessária para o transporte activo contra-gradiente do soluto.

As proteínas de transporte secundário têm um local de ligação para o soluto transportado activamente mas também um local de ligação alostérica para o ião. O ião é geralmente o sódio mas, em alguns casos, pode ser o bicarbonato, o cloreto ou o potássio. Em última análise, a energia para o transporte activo secundário provém do ATP que é utilizado pela bomba Na^+/K^+ para criar o gradiente de sódio. Se inibirmos a produção de ATP, o transporte activo primário de sódio cessa, deixa de existir o gradiente de sódio, o que conduz à falência dos sistemas de transporte activo secundário dependentes do gradiente de sódio. Deste modo, no transporte activo secundário, o movimento de sódio é sempre segundo o seu gradiente enquanto que o soluto é transportado activamente contra-gradiente, isto é, para os locais de maior concentração.

Se o movimento do soluto e do ião ocorrem na mesma direcção designa-se por **simporte** (ou co-transporte). Se ocorrer em direcções opostas diz-se tratar de um **antiporte** (ou contra-transporte). Exemplos: co-transportador de Na^+ -glicose (forma de absorção intestinal da glicose), co-transportador $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$ (importante na reabsorção de solutos nos túbulos renais); trocador $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ (entrada de sódio e saída de cálcio).

Quadro III - Principais características dos diferentes tipos de transporte.

	DIFUSÃO SIMPLES		TRANSPORTE MEDIADO	
	Bicamada fosfolipídica	Transporte passivo	Transporte activo primário	Transporte activo secundário
Direcção do fluxo	Segundo gradiente	Segundo gradiente	Contra gradiente	Contra gradiente
Equilíbrio	$C_e = C_i$	$C_e = C_i$	$C_e \neq C_i$	$C_e \neq C_i$
Utilização de uma proteína integral da membrana	N	S	S	S
Saturação	N	S	S	S
Especificidade química	N	S	S	S
Uso de energia (fonte)	N	N	S (ATP)	S (Gradiente iónico)
Ex. de moléculas que transportam	Não polares: O_2 , CO_2 , ác. gordos	Polares: glicose	Iões: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , H^+	Polares: aminoácidos, glicose, alguns iões

Legenda: N -Não; S -Sim; C_e -Concentração extracelular; C_i - Concentração intracelular .

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.

A **Endocitose** é o processo que permite a entrada de material para a célula sem atravessar a sua membrana celular que requer energia metabólica (activo). Ocorre quando regiões da membrana plasmática se invaginam e formam vesículas intracelulares que encerram um pequeno volume de matriz extracelular. A maior parte das vesículas endocíticas fundem-se com lisossomas primários, constituindo os lisossomas secundários onde o conteúdo da vesícula é digerido. A *Endocitose mediada por receptores* é um tipo particular de endocitose que envolve regiões membranares com a proteína clatrina que permitem a formação de vesículas franjadas ou revestidas. A *Fagocitose* ocorre apenas em células especializadas, como os macrófagos e os granulócitos envolve 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 fluídos e dos seus constituintes.

A **Exocitose** que ocorre quando vesículas intracelulares se fundem com a membrana plasmática, é uma forma de adicionar componentes à membrana plasmática e uma via pela qual moléculas impermeantes (como proteínas sintetizadas pelas células) podem ser libertadas para o fluído extracelular. A libertação de neurotransmissores dos terminais axonais ocorre por exocitose.

2.5 TRANSPORTE EPITELIAL

A membrana das células epiteliais encontra-se polarizada relativamente às suas características de transporte e permeabilidade. As células epiteliais do intestino delgado e do túbulo proximal do rim são bons exemplos desta polaridade. As junções apertadas que unem as células lateralmente, evitam que as proteínas transportadoras das membranas luminal e basolateral se misturem. A membrana luminal destas células tem sistemas de transporte activo secundário que permitem a entrada de glicose e de aminoácidos pelo gradiente de sódio, mas deixam a célula por sistemas de transporte passivo presentes na membrana basolateral. Nos epitélios, as moléculas podem ser transportadas de dois modos diferentes: através das junções apertadas entre as células -**Via paracelular** ou atravessando a membrana luminal, o citoplasma da célula e a membrana basolateral- **Via transcelular**.

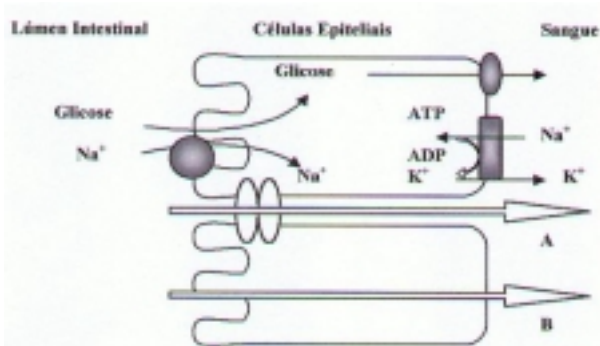


Figura 10 - Tipos de transporte epitelial: B paracelular (A) e transcelular (R).

3. EQUILÍBRIO IÓNICO

A difusão iónica de sódio e de potássio segundo os seus gradientes transmembranares origina potenciais 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 K^+ /L. Nestas condições, o gradiente de concentração transmembranar de potássio irá conduzir à saída destes iões. No entanto, cada ião K^+ que sai da célula deixa uma carga negativa desemparelhada, conduzindo à acumulação de cargas negativas na superfície membranar interna, criando-se um potencial membranar negativo no interior. Após alguns milisegundos, o potencial eléctrico produz um fluxo iónico igual mas oposto ao fluxo criado pelo gradiente de concentração. O potencial de difusão correspondente ao ponto em que os dois fluxos do ião são iguais em grandeza mas opostos em direcção, designa-se por **potencial de equilíbrio** para esse ião, neste caso, do potássio. O valor do potencial de equilíbrio para qualquer tipo de ião depende do gradiente de concentração desse ião: 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.

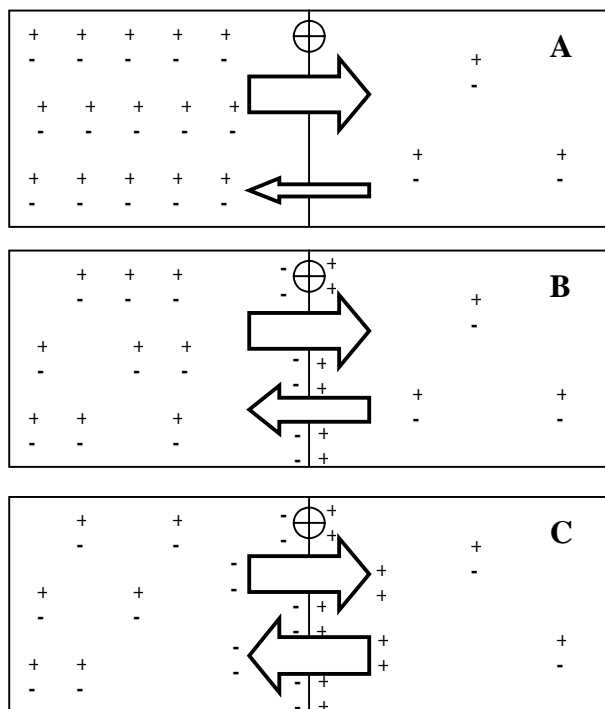


Figura 11 -Estabelecimento do equilíbrio electroquímico numa célula imaginária, apenas permeável ao potássio (+).

- A- Grande efluxo de potássio através da membrana (pelo gradiente de concentração);
- B- Diminuição do efluxo de íons potássio (pela diminuição da grandeza do gradiente de concentração) e aumento do seu influxo (pela atracção eléctrica intracelular).
- C- Estado de equilíbrio electroquímico em que as forças eléctrica e de concentração são iguais em grandeza e opostas em direcção.

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

$$E_x = (R T / Z F) \ln ([X]_e / [X]_i)$$

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

T é temperatura absoluta (310K 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

ln -logaritmo natural

[X] a concentração molal 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:

$$E_x = (60 / z) \log ([X]_e / [X]_i) \quad (\text{mV})$$

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

A equação de Nernst pode, também, ser utilizada para prever a direcção do fluxo de iões:

- Se, para um dado ião, a diferença de potencial medida na membrana for igual à calculada pela equação de Nernst, então esse ião está em equilíbrio electroquímico e não há fluxo
- Se, para um dado ião, o potencial eléctrico medido tem o mesmo sinal do calculado pela equação de Nernst mas é numericamente superior, a força eléctrica é superior à força da concentração; o fluxo do ião é determinado pela força eléctrica
- Se, para um dado ião, o potencial eléctrico medido tem o mesmo sinal do calculado pela equação de Nernst mas é numericamente inferior, a força da concentração é superior à força eléctrica, o fluxo do ião é determinado pelo gradiente de concentração
- Se, para um dado ião, o potencial eléctrico medido tem um sinal oposto ao que seria previsível pela equação de Nernst, as forças eléctrica e de concentração actuam no mesmo sentido e a direcção do fluxo iónico é determinado por ambas as forças.

4. POTENCIAL DE REPOUSO

Todas as células em condições de repouso têm uma diferença de cargas eléctricas entre os dois lados da membrana celular, sendo o interior da célula negativo. Este potencial denomina-se potencial membranar de repouso ou, simplesmente, **potencial de repouso**.

Por convenção, assume-se que o fluido extracelular tem uma voltagem de zero e que a polaridade (negativa ou positiva) do potencial de membrana é definido em termos do sinal do excesso de carga presente no interior da célula.

Os potenciais de membrana podem ser quantificados através de um microeléctrodo intracelular e de um eléctrodo extracelular conectados a um voltímetro. O potencial de repouso varia geralmente entre os -40 e os -80 m V, dependendo do tipo de célula.

O número de cargas positivas e negativas que estão separadas pela membrana celular representam uma ínfima parte do total das cargas dos dois compartimentos.

O potencial de repouso é determinado principalmente por dois factores:

- 1) Diferenças nas concentrações iónicas específicas dos fluidos intra e extracelular;
- 2) Diferenças na permeabilidade da membrana para os diferentes iões (reflectem o número de canais iónicos abertos para os vários iões).

Na maioria dos tecidos, os iões não se encontram em equilíbrio entre o fluido extracelular e o citoplasma. Os iões mais importantes na génese do potencial de repouso são o sódio, o potássio e o cloreto (Quadro IV).

Quadro IV- Composição iónica do citoplasma e fluido extracelular (Concentração em mMol).

	CITOPLASMA	FLUÍDO 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

O potencial de membrana é, aproximadamente, -70 mV para células musculares e nervosas típicas. Apesar do potencial de repouso não ser igual ao potencial de equilíbrio do potássio (-90 m V) nem ao do sódio (+60 m V), está mais próximo do potencial de equilíbrio do potássio, uma vez que a permeabilidade da membrana ao potássio é muito maior do que a permeabilidade ao sódio. Assim, há um movimento contínuo através dos canais iónicos de sódio para o interior e de potássio para o exterior. A razão pela qual não há aumento progressivo do sódio intracelular e do potássio extracelular é a existência da bomba Na⁺/K⁺, que repõe os gradientes destes dois iões. Na célula em repouso, as concentrações destes iões não variam porque o número de iões deslocados pela bomba é igual ao número de iões que se deslocam em direcção oposta através dos canais iónicos.

A **bomba Na⁺/K⁺** é responsável pela manutenção dos gradientes de sódio e de potássio entre os fluidos intra e extracelulares. Como bombeia para o exterior três iões sódio e apenas dois iões potássio para o interior, causa uma transferência de cargas positivas para o fluido extracelular (é electrogénica), contribuindo, assim, para o potencial de repouso. Nas células musculares estriadas e nos neurónios dos vertebrados, a contribuição electrogénica para o potencial de repouso é pequena (inferior a 5 m V). Nestes

tecidos, o potencial de repouso deve-se, sobretudo, à difusão de Na^+ e de K^+ segundo os seus gradientes electroquímicos.

Em conclusão: nos neurónios e nas células musculares estriadas, o potencial de repouso resulta directamente da difusão dos iões Na^+ e K^+ segundo os seus gradientes electroquímicos e, indirectamente, pela bomba Na^+/K^+ que mantém estes gradientes. Nas células musculares lisas e em várias outras células, o efeito electrogénico da bomba pode contribuir para uma fracção substancial do potencial de repouso.

O ião cloreto está em equilíbrio electroquímico em muitas células, pelo que não contribui para o potencial de repouso. Nas células em que o Cl^- é transportado activamente para o exterior a sua difusão para o citoplasma contribui para o excesso de cargas negativas no interior da célula.

Para se determinar o potencial da membrana celular, é necessário considerar as permeabilidades e os gradientes de concentração para todos os iões. Por definição, a equação de Nernst descreve estados de equilíbrio electroquímico. É necessário modificá-la de modo a exprimir a relação entre os gradientes de concentração dos vários iões, a permeabilidade da membrana para esses iões e o potencial de repouso, já que, nenhum destes iões está em equilíbrio electroquímico. O resultado é a **Equação de Goldman**:

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

Onde P_k - permeabilidade ao K^+ ; P_{Na} -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 transportados activamente e pelas suas permeabilidades relativas. Assim, para as células que transportam activamente o Cl^- , tem que ser adicionado um novo termo à equação para este ião.

5. ACTIVIDADE ELÉCTRICA DA MEMBRANA

A manutenção do potencial de membrana é uma propriedade de todas as células vivas mas a capacidade de gerar potenciais de acção está presente apenas em células especializadas como os nervos e os músculos.

Considerando o potencial de repouso, que é o ponto de referência para a medição das alterações do potencial de membrana, designamos **hiperpolarização** quando o potencial de membrana está mais polarizado (internamente mais negativo) e **despolarização** quando o potencial de membrana se torna menos negativo intracelularmente (deslocando-se em direcção aos 0 mV).

As alterações do potencial de membrana em células excitáveis podem ser devidas a modificações temporárias na permeabilidade iónica. Quanto mais canais de um ião estiverem abertos, mais o potencial de repouso se desloca na direcção do potencial de equilíbrio desse ião. A corrente eléctrica provocada por um ião está dependente do número de canais abertos e da *driving force* para esse ião. A *driving force* é a diferença, em milivolts, entre o potencial de equilíbrio desse ião e o potencial de membrana. Por exemplo, a *driving force* para o potássio é de apenas 20mV, enquanto que para o sódio é de 130mV. A elevada *driving force* que tende a mover o Na^+ através da membrana celular, é contrariada pela baixa permeabilidade ao Na^+ da mesma. Pelo contrário, a pequena *driving force* do potássio é compensada pela maior permeabilidade da membrana celular ao K^+ no estado de repouso.

As modificações do potencial de membrana podem decorrer em pequenas regiões da membrana ou serem transmitidas ao longo da superfície da célula. As modificações locais podem representar a resposta a um estímulo, como ocorre nos potenciais dos receptores ou nos potenciais sinápticos. Os potenciais de acção são utilizados na sinalização, a grande distância, dos nervos e músculos.

5.1. POTENCIAIS GRADATIVOS

Podemos encontrar vários potenciais gradativos que tomam designações relacionadas com o local onde ocorrem ou com a função que desempenham: *potenciais dos receptores*, *potenciais sinápticos*, *potenciais de pacemaker* e *potenciais da placa terminal*.

Diferentes tipos de receptores sensitivos estão especializados na resposta a diferentes estímulos, como o toque, o som, o odor. Os *inputs* resultantes de respostas a estímulos determinam a actividade da célula sensitiva. Por outro lado, a actividade das células que recebem *inputs* de outros neurónios é determinada pelos potenciais sinápticos desencadeados pela activação dos neurónios que com elas contactam. Certas células são capazes de gerar espontaneamente potenciais de pacemaker nas quais a actividade de diferentes tipos de canais iónicos presentes na membrana causam despolarização gradativa da membrana; se o limiar for atingido, desencadeiam um potencial de acção. Os potenciais de pacemaker estão implicados em fenómenos rítmicos, como a ventilação e os batimentos cardíacos.

Estes potenciais têm características comuns:

- 1) As suas **amplitudes** são **gradativas** e aumentam com a grandeza dos estímulos que os desencadeiam
- 2) Não podem ser transmitidos por longas distâncias porque a corrente propaga-se para as regiões vizinhas por **condução decremental**
- 3) Podem sofrer **somação**, isto é, os potenciais desencadeados por diferentes estímulos adicionam-se (figura. 12).

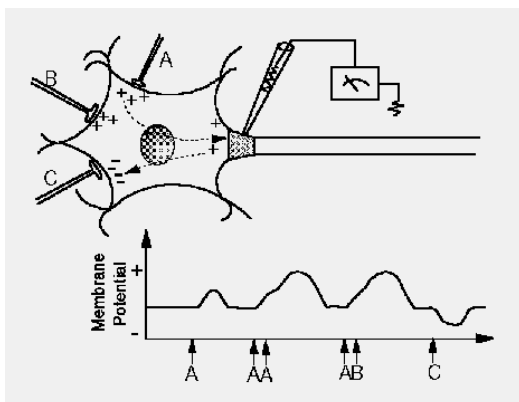


Figura 12 – Estímulo despolarizante (A, B); Somação temporal (AA); Somação espacial (AB); Estímulo hiperpolarizante (C).

Dependendo da natureza do estímulo, o potencial gradativo pode ser despolarizante ou hiperpolarizante. Quando uma pequena região de uma membrana é despolarizada por um dado estímulo, a face externa da membrana fica negativa e a interna positiva relativamente às regiões adjacentes. O fluxo destas correntes locais despolarizam a membrana adjacente à região de despolarização inicial. Estas novas áreas de despolarização causam fluxos de corrente que despolarizam outros segmentos da membrana. A grandeza das correntes vai decrescendo à medida que se afastam do local de despolarização inicial porque a membrana é permeável a iões que anulam rapidamente estas correntes locais. Por esta razão, diz-se que as correntes locais têm uma condução decremental.

5.2. POTENCIAIS DE ACÇÃO

Os potenciais de acção diferem dos potenciais gradativos em dois aspectos importantes:

- 1) são eventos de **"tudo ou nada"** (a sua amplitude é praticamente constante e independente da grandeza do estímulo);
- 2) têm **condução não decremental**, isto é, propagam-se ao longo da membrana sem perda de intensidade.

As células musculares e nervosas, bem como algumas células do sistema endócrino, reprodutivo e imunitário são capazes de produzir potenciais de acção (figura. 13). Estas membranas dizem-se excitáveis e a sua capacidade de gerarem potenciais de acção designa-se por **excitabilidade**.

Da mesma forma que a grandeza do potencial de repouso depende dos gradientes de concentração e das permeabilidades iónicas da membrana, também os potenciais de acção resultam de uma alteração transitória na permeabilidade iónica da membrana que permite o movimento de certos iões segundo os seus gradientes de concentração.

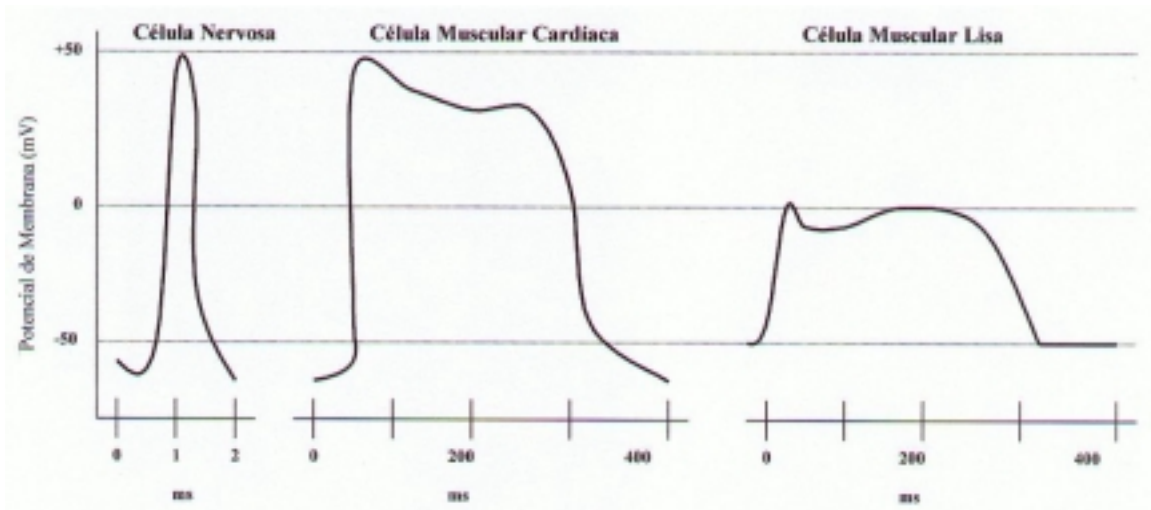


Figura 13 -Exemplos de células excitáveis e respectivas durações dos potenciais de acção.

O potencial de acção pode ser dividido em três fases sucessivas.

A **fase de repouso** corresponde ao potencial de repouso da membrana antes de ocorrer o potencial de acção.

Na **fase de despolarização**, a membrana torna-se permeável aos iões sódio de modo súbito, permitindo a entrada de um grande fluxo de iões sódio para o interior da célula. O potencial de membrana aproxima-se, assim, do potencial de equilíbrio do sódio (+60m V). O estímulo provoca a abertura de alguns canais de sódio dependentes da voltagem, aumentando a permeabilidade da membrana para este ião. Consequentemente os iões sódio difundem para o interior da célula. Este aumento da positividade intracelular despolariza a membrana, abrindo mais canais de sódio dependentes da voltagem, aumentando ainda mais a permeabilidade ao sódio e assim sucessivamente, descrevendo um ciclo de *feedback* positivo (figura 14).

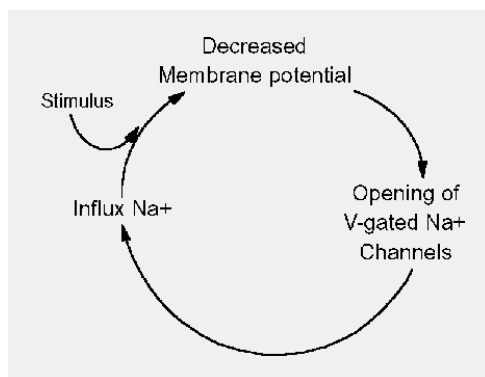


Figura 14- Ciclo de *feedback* positivo entre a despolarização da membrana e a permeabilidade aumentada ao sódio que conduz à rápida fase de despolarização do potencial de acção.

O simples encerramento dos canais de sódio permitiria restabelecer o potencial de repouso mas tomaria a fase de repolarização extremamente lenta. Este processo é acelerado pelo aumento simultâneo da permeabilidade ao potássio através da activação de canais de potássio dependentes da voltagem cuja abertura está atrasada relativamente à despolarização.

Na **fase de repolarização**, a difusão de potássio para o exterior excede largamente a difusão de sódio para o interior, permitindo atingir rapidamente o potencial de repouso. Como alguns canais de potássio dependentes da voltagem permanecem abertos após todos os canais de sódio dependentes da voltagem estarem encerrados, há geralmente uma hiperpolarização da membrana que se designa por **hiperpolarização pós-potencial** (figura. 15).

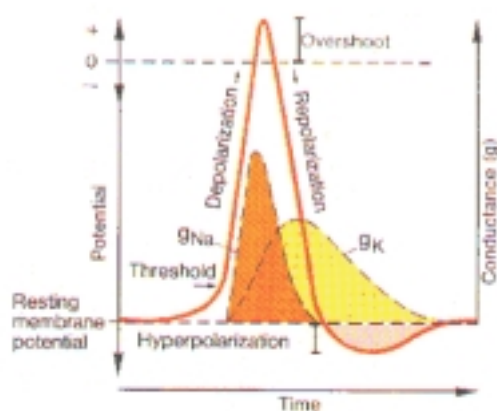


Figura 15 – Gráfico que relaciona as alterações da voltagem durante o potencial de acção e as condutâncias dos iões sódio e potássio.

Os principais intervenientes nas fases de despolarização e de repolarização durante um potencial de acção são os canais de sódio e de potássio dependentes da voltagem.

Os **canais de sódio dependentes da voltagem** têm três estádios funcionais diferentes: repouso, activo e inactivo (figura. 16). Quando ocorre uma despolarização da membrana há uma rápida alteração conformacional e o canal fica activado. Os iões sódio difundem, então, para o interior da célula. O mesmo aumento da voltagem que abre a 'porta' de activação, encerra também a 'porta' de inactivação do canal, conduzindo-o ao seu estádio inactivo. Esta 'porta' de inactivação só reabre quando o potencial de membrana regressa para o nível do potencial de repouso.

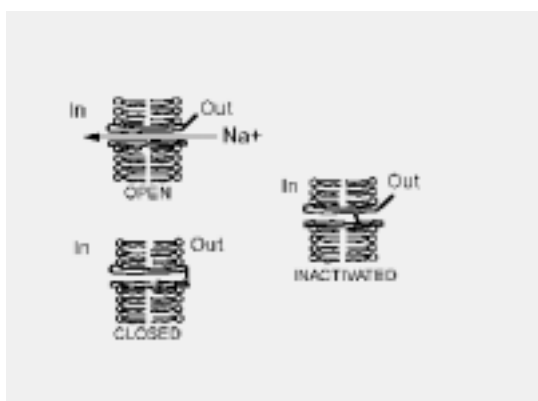


Figura 16 – Estádios dos canais de sódio dependentes da voltagem: activado (aberto), inactivado e repouso (encerrado).

Os **canais de potássio dependentes da voltagem** possuem apenas dois estádios. Durante o estádio de repouso, o canal está encerrado. A despolarização da membrana causa uma lenta alteração conformacional de abertura do canal e permite um aumento da difusão de potássio. Como o processo de abertura do canal é lento, os canais de potássio só se encontram abertos quando os de sódio começaram já a fechar devido à inativação.

Deve-se salientar que o número de iões sódio que entram na célula durante o potencial de acção e o número de iões potássio que difundem para o exterior durante a repolarização, são uma ínfima parte do número total de iões da célula. A acumulação celular de sódio e a perda de potássio são prevenidas pela acção permanente da bomba Na^+/K^+ .

Nem todos os estímulos despolarizantes desencadeiam, nas células excitáveis, potenciais de acção. Estes só ocorrem se a despolarização abrir o número de canais de sódio dependentes da voltagem suficiente para se iniciar o ciclo de *feedback* positivo.

O potencial de membrana que corresponde ao movimento em que o influxo de sódio excede o efluxo de potássio e que o ciclo de *feedback* positivo desencadeia um potencial de acção designa-se **potencial limiar**. O estímulo com a grandeza necessária para despolarizar a membrana até este nível é o estímulo limiar. O limiar da maioria das membranas excitáveis é cerca de 15 mV inferior ao potencial de repouso (ex.: se o potencial de repouso de um neurónio for -70mV, o seu limiar será -55mV). Nas despolarizações inferiores ao limiar, o efluxo de potássio aumenta (devido à diminuição do potencial de membrana), excedendo a entrada de sódio e não se desencadeia o ciclo de feedback positivo. Estas despolarizações designam-se por **potenciais infra-liminares**. Estímulos com uma grandeza superior ao limiar, isto é, **estímulos supra-liminares**, desencadeiam potenciais de acção com uma amplitude igual à de um estímulo limiar, uma vez que, ultrapassado o limiar, as alterações membranares são independentes da grandeza do estímulo. Os potenciais de acção são, pois, eventos de "tudo ou nada".

Durante a maior parte do potencial de acção é impossível que um segundo estímulo produza um segundo potencial de acção e diz-se que a membrana está no **período refractário absoluto**. Este fenómeno ocorre porque os canais de sódio encontram-se inactivados pela voltagem e não reabrem antes da membrana repolarizar. Durante a parte final do potencial de acção, a célula pode gerar um segundo potencial de acção desde que o estímulo seja substancialmente superior ao limiar. Trata-se do **período refractário relativo** (que pode durar 10-15 ms) e coincide, *grosso modo*, com o período da hiperpolarização pós-potencial. Durante o período refractário relativo, alguns dos canais de sódio dependentes da voltagem permanecem inactivos e a condutância ao potássio está aumentada (figura. 17). Os períodos refractários limitam o número de potenciais de acção que pode ser produzido por uma membrana excitável num dado período de tempo. A geometria celular, a densidade e características dos

canais iónicos presentes na célula influenciam também a frequência com que são desencadeados os potenciais de acção.

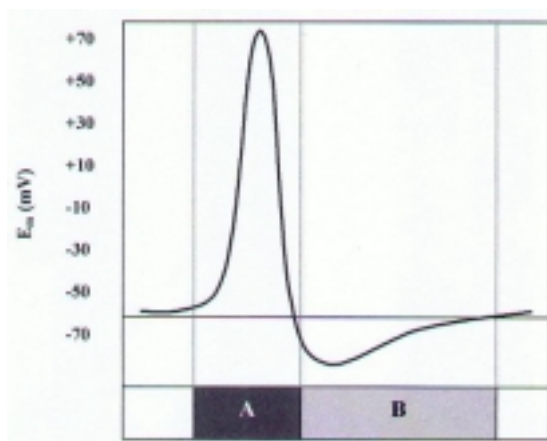


Figura 17 – Durante o *período refractário absoluto* (A), nenhum estímulo, independentemente da sua intensidade, consegue gerar um potencial de acção. No *período refractário relativo* (B), um estímulo supra-liminar poderá gerar um segundo potencial de acção.

As alterações na concentração do Ca^{2+} extracelular podem afectar a excitabilidade da membrana pela modificação do potencial de repouso. O ião cálcio tem um papel estabilizador na membrana porque interaccua com as cargas negativas nas extremidades polares dos fosfolípidos e nas extensões extracelulares de proteínas membranares. Por outro lado, o ião cálcio parece ligar-se à superfície externa dos canais de sódio, aumentando o nível de voltagem necessário para abrir o canal. Deste modo, nas condições que elevam o Ca^{2+} plasmático (*Hipercalcemia*), o potencial de repouso está mais afastado do limiar de excitabilidade, pelo que é necessário um estímulo muito elevado para desencadear um potencial de acção. As células nervosas e musculares tornam-se mais refractárias. Na *Hipocalcemia*, o potencial de repouso está mais próximo do limiar porque a voltagem necessária para a abertura dos canais de sódio está diminuída. As células nervosas e musculares tornam-se hiper-excitáveis.

5.3. INÍCIO E PROPAGAÇÃO DOS POTENCIAIS DE ACÇÃO

Em condições normais, os potenciais de acção iniciam-se nas regiões da membrana que receberam o estímulo (perto da porção electricamente não excitável da célula). Nos neurónios, o local de iniciação é a membrana adjacente ao **cone axonal** que responde à corrente de despolarização originada na parte receptora da célula. Se a despolarização for supra-liminar é desencadeado um potencial de acção, que percorre o axónio desde o cone axonal até ao botão pré-sináptico, devido à activação dos canais de sódio dependentes de voltagem presentes na membrana excitável.

Uma vez gerado, um determinado potencial de acção não se desloca ao longo da membrana. A corrente local gerada por um potencial de acção serve como estímulo que despolariza a membrana

adjacente até ao potencial liminar. Desencadeia-se o ciclo de *feedback* positivo do sódio e ocorre um novo potencial de acção. Esta é a base da propagação do potencial de acção ao longo de uma membrana (figura. 18). Uma vez que cada potencial de acção depende do ciclo de *feedback* do sódio da membrana onde ocorre, o potencial de acção final é virtualmente igual ao inicial. Por esta razão, os potenciais não têm uma condução decremental.

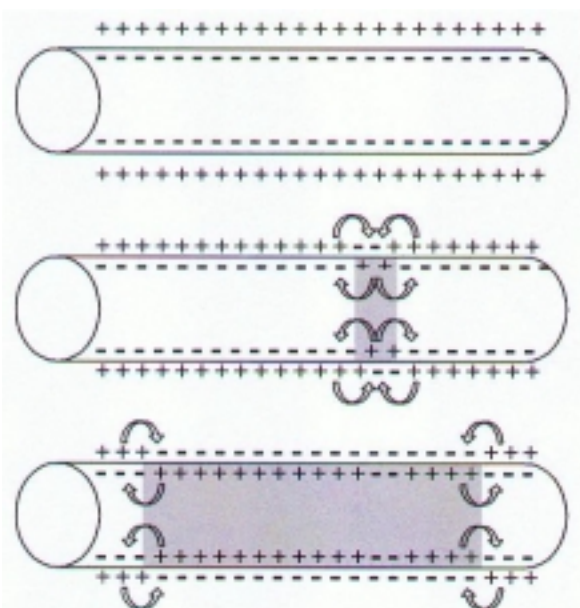


Figura 18 -Propagação do Potencial de Acção em ambas as direcções numa fibra condutora.

Quadro V- Diferenças entre Potenciais gradativos e Potenciais de acção.

CARACTERÍSTICA	POTENCIAIS GRADATIVOS	POTENCIAIS DE ACÇÃO
Localização	Receptores sensitivos. Sinapses	Axónios dos neurónios, células musculares
Evento inicial	Físico ou químico	Eléctrico
Natureza da resposta	Gradativa	Tudo ou Nada
Intensidade	Variável (geralmente < 10 mV)	Geralmente > 10 mV
Difusão da corrente	Condução decremental	Condução não decremental
Sumação	Sim	Não
Propagação	Não	Sim
Limiar	Não	Sim
Período refractário	Não	Sim
Alteração do potencial	Despolarizante ou Hiperpolarizante	Despolarizante
Tipo de canal iónico	Dependente de ligandos ou de alterações químicas ou físicas	Dependente da voltagem

Como as áreas da membrana que acabaram de produzir um potencial de acção estão refractárias a novos estímulos, a única direcção possível de propagação do potencial de acção é a jusante da região da membrana que acabou de ser despolarizada. Se a membrana em que se propaga o potencial de acção não for refractária, como nas células musculares esqueléticas, os potenciais são conduzidos nas duas direcções.

A velocidade de propagação do potencial de acção depende de dois factores principais:

- 1) **Diâmetro da fibra** -quanto maior for o diâmetro da fibra, maior a velocidade de propagação (pela diminuição da resistência à corrente local)
- 2) **Mielina** -permite um isolamento da fibra nervosa, dificultando o fluxo de cargas entre os fluídos intra e extracelulares; é interrompida ao nível dos nódulo de *Ranvier* onde a concentração de canais de sódio é elevada. Nas fibras mielínicas, os potenciais de acção ocorrem apenas nos nódulos de *Ranvier*, pelo que, à medida que percorrem o axónio como que saltam de nódulo em nódulo. Este tipo de propagação designa-se por condução saltatória (figura.19). O fluxo de corrente é unidireccional porque os canais a montante da onda de despolarização estão inactivados. A distância intenodular é geralmente pequena e a grandeza da corrente está acima do limiar, pelo que, um potencial de acção que se inicia num determinado nódulo, despolariza vários nódulos a jusante. A propagação por condução saltatória é muito mais rápida do que a propagação em neurónios amielínicos com o mesmo diâmetro.

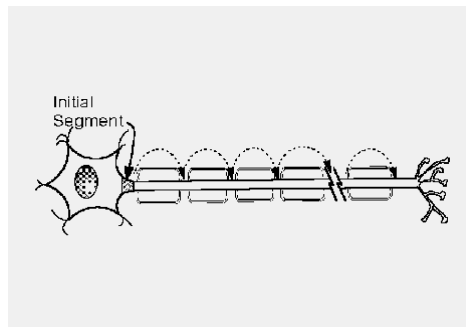


Figura 19 – *Condução Saltatória* ao longo de um axónio mielinizado, desde o segmento inicial até ao terminal pré-sináptico.

As velocidades de condução variam desde 0,5m/s (para fibras amielínicas de pequeno calibre) até 100m/s (para fibras mielínicas de grande calibre). Com a velocidade de 0.5m/s, o tempo necessário para um potencial de acção percorrer a distância desde o cérebro até um músculo de um dedo do pé de uma pessoa de estrutura média é cerca de 4s; à velocidade de 100m/s é cerca de 0.02s.

5.4. CRONAXIA E REOBASE

Um estímulo pode ser caracterizado quanto à sua natureza (mecânico, eléctrico, químico, luminoso, osmótico) e quanto à sua grandeza (dependente da intensidade, tempo de variação e tempo de actuação).

Tomemos por exemplo um estímulo térmico. A **Intensidade** desse estímulo é a diferença entre os valores inicial e final da temperatura. O **Tempo de Variação** é o intervalo de tempo entre o valor inicial e o valor máximo atingido. O **Tempo de Actuação** é o intervalo de tempo durante o qual é mantido o valor máximo da temperatura (figura. 20).

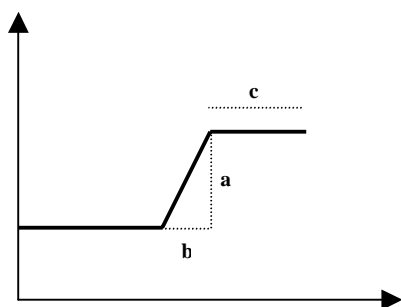


Figura 20 -Determinantes da Grandeza de um estímulo:
 (a) Intensidade
 (b) Tempo de variação
 (c) Tempo de actuação.

Para uma mesma grandeza podemos ter um número infinito de estímulos, na medida em que podem ser considerados valores diferentes de intensidade, tempo de variação e tempo de actuação. Deste modo, um estímulo será tanto mais eficaz quanto maior a sua intensidade e o seu tempo de actuação e quanto menor o seu tempo de variação.

Se representarmos graficamente tempo de actuação *versus* intensidade, obtemos um conjunto de pontos que correspondem a todos os estímulos possíveis. Os estímulos liminares definem uma hipérbole equilátera que se designa por **Curva de Excitabilidade** (figura. 21). Os estímulos à direita da curva são supra-liminares e à esquerda infra-liminares. Todas as estruturas vivas apresentam uma curva de excitabilidade que varia em conformidade com a modificação do limiar de excitabilidade.

Os estímulos eléctricos dependem sobretudo da intensidade e do tempo de actuação, visto que o tempo de variação é reduzido. A excitabilidade de um nervo pode ser caracterizada por dois parâmetros:

- a) **Reobase** -valor da intensidade do menor estímulo capaz de, pela primeira vez, gerar uma resposta (potencial de acção) para valores finitos de tempo de actuação, i.e., valor da intensidade do estímulo abaixo da qual não é possível obter uma resposta para valores finitos de tempo de actuação.

- b) **Cronaxia** - tempo de actuação necessário para obter uma resposta ou gerar um potencial de acção quando a intensidade do estímulo é o dobro da reobase.

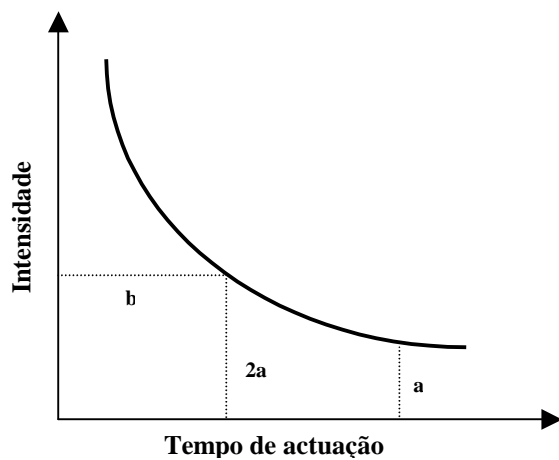


Figura 21 -Curva de Excitabilidade
(a) Reobase
(b) Cronaxia

O grau de excitabilidade de uma estrutura viva é tanto maior quanto menores for a sua cronaxia e a sua reobase. O conceito de cronaxia é o mais utilizado dado que uma pequena variação de intensidade traduz uma muito maior variação do tempo de actuação. A cronaxia permite, então, medir , excitabilidade de um nervo sem ser necessário conhecer a intensidade da corrente das suas fibras individuais bem como a medição da velocidade de condução desse nervo.