

A Origem do Potencial de Membrana e a Equação de Nernst

A razão pela qual existe uma diferença de potencial elétrico através da membrana neuronal é porque ela é permeável a íons, permitindo que haja transporte de cargas elétricas através dela.

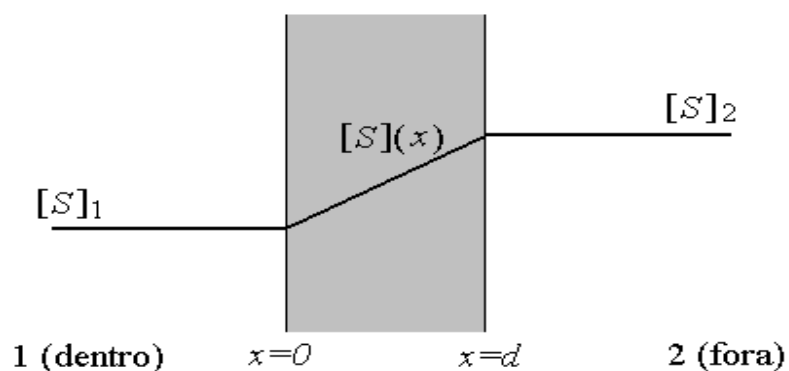
Nesta aula, vamos apresentar algumas leis físicas essenciais para descrever o movimento de íons por difusão através de uma membrana celular. A difusão ocorre quando há uma diferença de concentração iônica entre os dois lados da membrana e o movimento de cargas gera uma diferença de potencial elétrico através da membrana.

Difusão e a Lei de Fick

O fisiologista Adolph Fick (1829-1901) foi um dos primeiros a estudar o processo de difusão através de membranas biológicas. Considere o modelo da figura abaixo: uma fina barreira permeável (membrana) separa dois reservatórios contendo uma solução neutra. A espessura da membrana é d e há uma diferença na concentração do soluto S de um lado para o outro da membrana,

$$\Delta[S] = [S]_1 - [S]_2,$$

onde 1 é o lado de dentro da célula e 2 é o lado de fora da célula.



Em analogia com o fluxo de calor entre dois corpos a temperaturas diferentes, Fick propôs que o fluxo J_S do soluto S é proporcional ao gradiente de concentração,

$$J_S = -D \frac{\partial[S]}{\partial x}, \quad (1)$$

onde D é o coeficiente de difusão (suposto como independente de x).

Supondo que medimos as dimensões espaciais em cm, as unidades de D são:

$$\left(\frac{\text{partículas}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}}\right) / \left(\frac{\text{partículas}}{\text{cm}^4}\right) = \text{cm}^2 / \text{s}.$$

Portanto, as unidades de D são independentes das unidades usadas para a quantidade de partículas (moles ou número de partículas), desde que sejam usadas unidades consistentes tanto para a concentração como para o fluxo.

O termo “fluxo” de alguma coisa representa a quantidade dessa coisa que passa através de uma superfície de área unitária por unidade de tempo. Segundo essa definição, o fluxo é, em geral, um vetor. Porém, por simplicidade, vamos considerar aqui movimento apenas em uma direção (a direção x no desenho). Esta aproximação é válida quando o fluxo do soluto cruzar a membrana transversalmente, que será o caso considerado aqui.

O sinal negativo na Lei de Fick indica que o fluxo se dá de uma região de alta concentração para uma de baixa concentração.

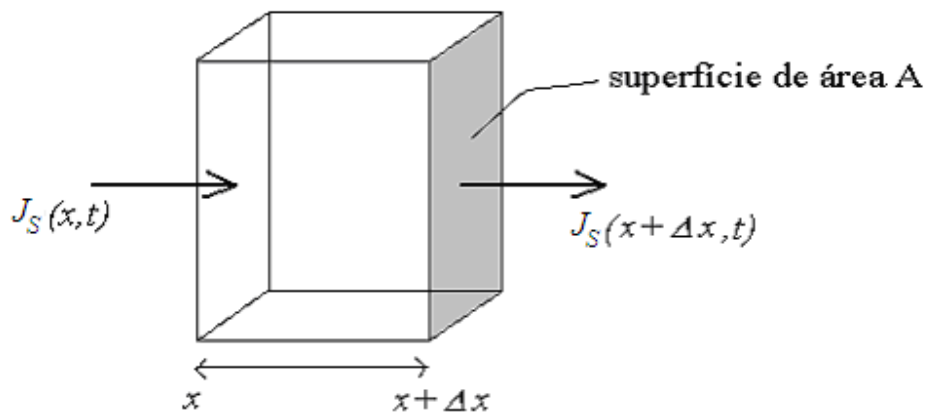
Duas características da Lei de Fick devem ser notadas:

Primeiro, ela é uma lei linear: por maior que a diferença de concentração entre os dois lados da membrana seja, o fluxo permanece proporcional ao gradiente, ou seja, não existe um processo de saturação.

Segundo, a lei implica em uma independência de fluxos: o fluxo do soluto S é independente do fluxo de outros solutos X e Y , ou seja, não existe acoplamento entre os fluxos.

Quando existe conservação de partículas, ou seja, quando não há criação ou destruição de partículas em qualquer ponto do espaço, existe outra relação entre o fluxo J_S e a concentração $[S]$.

Imaginemos um elemento de volume retangular suficientemente pequeno para que a concentração não varie significativamente com a posição dentro do elemento (figura abaixo).



O número de partículas que passa pela superfície de área A do elemento de volume na posição x em um intervalo de tempo entre t e $t + \Delta t$ é dado por $J_S(x, t) \cdot A \Delta t$. Note, pelo desenho, que essas partículas estão entrando no elemento de volume. Da mesma forma, o número de partículas que passa pela superfície de área A do elemento de volume em $x + \Delta x$ no mesmo intervalo de tempo é $J_S(x + \Delta x, t) \cdot A \Delta t$. Pelo desenho vemos que essas partículas estão saindo do elemento de volume.

Portanto, o fluxo líquido de partículas para dentro do elemento de volume (o número de partículas que entra menos o número de partículas que sai) no intervalo de tempo entre t e $t + \Delta t$ é dado por

$$(J_S(x, t) - J_S(x + \Delta x, t))A \Delta t. \quad (2)$$

A variação líquida de partículas dentro do elemento de volume durante o intervalo de tempo entre t e $t + \Delta t$ também pode ser expressa em termos da concentração $[S](x, t)$.

Vamos supor que o número de partículas dentro do elemento de volume (cujo volume vale $A\Delta x$) em qualquer instante de tempo pode ser aproximado por $[S](x + \Delta x/2, t) \cdot A\Delta x$, ou seja, pegamos a concentração no ponto médio do elemento de volume para representar a concentração dentro do volume.

Sendo assim, podemos escrever a variação líquida no número de partículas dentro do elemento de volume entre t e $t + \Delta t$ como (o número de partículas em $t + \Delta t$ menos o número de partículas em t):

$$([S](x + \Delta x/2, t + \Delta t) - [S](x + \Delta x/2, t))A\Delta x. \quad (3)$$

O princípio de conservação da matéria nos diz que se não há criação ou destruição de partículas dentro do elemento de volume à medida que as partículas fluem por ele, a variação no número de partículas dentro dele durante um intervalo de tempo Δt só pode ser devida a uma entrada ou saída líquida de partículas nesse mesmo período.

O que entra menos o que sai = variação na quantidade de partículas

Portanto, as equações (3) e (2) podem ser igualadas, resultando em

$$\frac{J_S(x, t) - J_S(x + \Delta x, t)}{\Delta x} = \frac{[S](x + \Delta x/2, t + \Delta t) - [S](x + \Delta x/2, t)}{\Delta t}. \quad (4)$$

Em geral, costuma-se expressar o fluxo líquido como o que sai do elemento de volume menos o que entra nele, $J_S(x + \Delta x, t) - J_S(x, t)$. Nesta notação, a equação acima fica

$$\frac{J_S(x + \Delta x, t) - J_S(x, t)}{\Delta x} = - \frac{[S](x + \Delta x/2, t + \Delta t) - [S](x + \Delta x/2, t)}{\Delta t}. \quad (5)$$

Note o sinal negativo multiplicando o termo da direita.

Tomando os limites da equação (5) para $\Delta x \rightarrow 0$ e para $\Delta t \rightarrow 0$, obtemos a equação da continuidade:

$$\frac{\partial J_s(x,t)}{\partial x} = -\frac{\partial [S](x,t)}{\partial t} . \quad (6)$$

A equação da continuidade é a expressão matemática do princípio da conservação da matéria.

Combinando esta lei de conservação com a Lei de Fick obtemos a **equação de difusão**,

$$\frac{\partial [S]}{\partial t} = D \frac{\partial^2 [S]}{\partial x^2} . \quad (7)$$

Podemos resolver a equação (7) para obter como a concentração $[S](x,t)$ varia com o tempo no interior da membrana à medida que o transporte se processa.

Entretanto, para uma membrana fina como a bicamada lipídica os transientes do processo de difusão são muito rápidos, de maneira que a concentração $[S](x,t)$ atinge um estado estacionário em um tempo muito curto.

Portanto, podemos considerar um **fluxo estacionário** através da membrana, para o qual $\partial[S]/\partial t = 0$. Nesta situação, a equação (7) nos dá

$$\frac{\partial [S]}{\partial x} = a , \quad (8)$$

onde a é uma constante.

Combinando a equação (8) com a Lei de Fick (equação (1)), temos

$$J_s = -Da . \quad (9)$$

Integrando a equação (8), obtemos

$$[S](x) = ax + b, \quad (10)$$

onde b é outra constante.

As constantes a e b podem ser determinadas pelas condições de contorno do problema (veja o desenho da página 1):

$$[S](0) = [S]_1 = b; \quad \text{e} \quad [S](d) = [S]_2 = ad + b = ad + [S]_1.$$

Substituindo os valores de a e b assim determinados na equação (10), obtemos a solução de estado estacionário para $[S](x)$:

$$[S](x) = [S]_1 + ([S]_2 - [S]_1) \frac{x}{d} = [S]_1 - \Delta[S] \frac{x}{d}. \quad (11)$$

Esta equação nos diz que a concentração do soluto S varia linearmente no interior da membrana no estado estacionário, conforme mostrado na ilustração da página 1.

O valor da constante a (o termo que multiplica x) pode ser retirado desta equação e substituído em (9), nos dando uma expressão para o fluxo J_S :

$$J_S = \frac{D}{d} \Delta[S] = P \Delta[S]. \quad (12)$$

Esta equação nos diz que o fluxo é constante, independente de x . Note que J_S é proporcional à diferença de concentração entre o interior e o exterior da célula, não havendo saturação para grandes valores de $\Delta[S]$ (Lei de Fick).

Note que quando $\Delta[S] > 0$ (maior concentração de soluto no interior da célula do que no exterior) a equação (12) implica num fluxo positivo, isto é, saindo do volume da célula segundo a nossa definição.

A equação (12) define a permeabilidade P da membrana para moléculas neutras.

Quando não há diferença de potencial elétrico através da membrana, esta definição de P é válida para íons também, mas na presença de forças elétricas outra equação deve ser usada (a equação de Goldman-Hodgkin-Katz, como veremos adiante).

Da maneira como foi definida, P é a permeabilidade da membrana por unidade de área, com dimensões de espaço por tempo (em geral, ela é medida em cm/s).

Difusão na Presença de Outros Processos

Em geral, quando partículas se difundem através de um meio existem outros fenômenos de transporte ocorrendo simultaneamente.

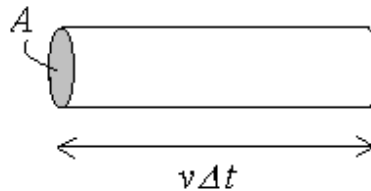
Convecção

As partículas do soluto podem estar em uma solução que está sendo transportada em uma corrente de convecção, como quando a solução está sendo movimentada por pressão hidráulica.

No caso em que as partículas de soluto estão se difundindo através do solvente e ao mesmo tempo sendo transportadas por convecção a uma velocidade constante v , o fluxo de soluto, $J_S(x,t)$ pode ser escrito como a soma do fluxo difusivo (dado pela primeira lei de Fick) e do fluxo convectivo.

O fluxo convectivo é simplesmente dado por $J_S = v \cdot [S]$, o produto da velocidade de movimento da solução pela concentração do soluto. Para demonstrar isto, consideremos uma superfície de área A .

A quantidade de solução movendo-se a uma velocidade constante v que passa por essa área A em um intervalo de tempo Δt está dentro de um volume dado por $A \cdot v \Delta t$ (veja a figura abaixo, em que consideramos a área A como circular por simplicidade).



O número de moles de soluto dentro desse volume é igual a $[S] \cdot A v \Delta t$ e o fluxo é o número de moles que passa pela área A no intervalo Δt , portanto $[S] \cdot v$.

Desta forma, a equação para o fluxo de soluto no caso em que há difusão acoplada a convecção é:

$$J_s = -D \frac{\partial [S]}{\partial x} + v[S]. \quad (13)$$

Campo de Força

Outro mecanismo de transporte de soluto ocorre quando as partículas estão sujeitas a um campo de força, como o campo gravitacional ou um campo elétrico (no caso em que as partículas têm carga). O movimento do soluto causado por um campo de força é chamado de migração ou arrasto.

A componente do fluxo de soluto devida ao arrasto em um campo de força também pode ser escrita como o produto da velocidade de movimento das partículas devido à força pela concentração, $v[S]$. A mobilidade mecânica de uma partícula, μ , é definida como a razão entre a velocidade da partícula e a força sobre a partícula, $\mu \equiv v/f_p$.

Em termos da mobilidade mecânica, o fluxo de partículas de soluto na presença de difusão e arrasto devido a um campo de força pode ser escrito como

$$J_s = -D \frac{\partial[S]}{\partial x} + \mu[S]f. \quad (14)$$

Reações Químicas

Pode acontecer que as partículas que estejam se difundindo através de um volume fixo estejam fazendo reações químicas com outros elementos da solução, por exemplo, ligando-se a outras moléculas presentes. Neste caso, existe perda ou criação de partículas de soluto no interior do volume e a equação da continuidade tem que ser modificada para continuar expressando a lei da conservação da matéria:

$$\begin{aligned} & \text{Variação na quantidade de partículas} = \\ & = \text{o que entra menos o que sai} + \text{produção ou remoção local de partículas.} \end{aligned}$$

Supondo que as partículas de soluto são removidas por se ligar a outros compostos da solução a uma taxa α (em ligações por segundo), a equação da continuidade pode ser estendida para a equação de reação-difusão:

$$\frac{\partial J_s(x,t)}{\partial x} = -\frac{\partial[S](x,t)}{\partial t} - \alpha[S]. \quad (15)$$

Eletródifusão e a Equação de Nernst-Planck

Até agora, não consideramos o fluxo de partículas carregadas (por exemplo, íons) através da membrana celular. No caso em que houver uma diferença de concentração iônica entre os dois lados de uma membrana celular, o fluxo de íons através da membrana será afetado não apenas pelo gradiente de concentração, mas também pelo campo elétrico gerado através da membrana pelo movimento dos íons.

A ação do campo elétrico resulta numa força de arrasto sobre as partículas. Vamos supor que esta força esteja na direção positiva de x , implicando que entre duas colisões as partículas sejam aceleradas na direção x . Essa aceleração causa um incremento da velocidade na direção x durante o intervalo entre colisões. Conforme a Equação 14, essa velocidade incremental, chamada de velocidade de arrasto na direção x , é dada por $v = \mu f$, onde f é a força por partícula e μ é a mobilidade mecânica (definida como $\mu = v/f$). O fluxo de partículas devido a esse arrasto provocado pela força externa é

$$J_{S\text{arrasto}} = [S]v = [S]\mu f .$$

Vamos considerar que as partículas são íons (portanto, com carga) de valência z e que a força f é causada por um campo elétrico com intensidade $E = -\partial V/\partial x$, onde V é o potencial elétrico. Então, a força elétrica sobre uma partícula é,

$$f = qE = zeE = -ze \frac{\partial V}{\partial x} ,$$

onde z é a valência do íon e e é a carga elementar ($1,602 \times 10^{-19}$ C). Combinando as duas últimas equações,

$$J_{S\text{arrasto}} = -[S]\mu ze \frac{\partial V}{\partial x} .$$

Esta equação é chamada de **lei de Planck**.

A lei de Planck é apenas uma maneira de escrever a Lei de Ohm ($J = \sigma E$) para o movimento de partículas carregadas em um meio viscoso. Note que ela implica que o movimento de cargas elétricas positivas ($z > 0$) ocorre no sentido oposto ao do gradiente do potencial elétrico $V(x)$.

Existe uma relação, determinada por Einstein em seu trabalho sobre o movimento browniano de 1905, entre a mobilidade iônica μ e o coeficiente de difusão D , conhecida como relação de Einstein (veja a dedução desta relação no Apêndice):

$$D = \mu kT, \quad (16)$$

onde k é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23}$ J/K) e T é a temperatura absoluta.

Por causa dessa relação, quando os efeitos do gradiente de concentração e do gradiente de potencial elétrico são combinados para o cálculo do fluxo de partículas carregadas, obtemos a seguinte equação (chamada de **Equação de Nernst-Planck**):

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} - \mu q c \frac{\partial V}{\partial x} = -D \left(\frac{\partial c}{\partial x} + \frac{q c}{kT} \frac{\partial V}{\partial x} \right). \quad (17)$$

Nota: a partir daqui, para simplificar a notação, vamos passar a designar o fluxo do soluto S apenas por J e a sua concentração, $[S]$, por c .

A equação de Nernst-Planck costuma ser escrita de diversas formas. Outra forma bastante comum pode ser obtida lembrando que

$$k = \frac{R}{N_A} \Rightarrow \frac{k}{q} = \frac{R}{N_A q} = \frac{R}{N_A z e} = \frac{R}{z F},$$

onde R é a constante dos gases (1,98 cal/K.mol), N_A é o número de Avogadro ($6,02 \times 10^{23}$ mol⁻¹), z é a valência do íon, e é a carga elementar ($1,602 \times 10^{-19}$ C) e F é a constante de

Faraday (a carga de um mol de partículas univalentes, $F = N_A \cdot e$), cujo valor é $9,648 \times 10^4$ C/mol.

Substituindo $k/q = R/zF$ na equação (17) temos outra forma de escrever a equação de Nernst-Planck:

$$J = -D \left(\frac{\partial c}{\partial x} + \frac{zF}{RT} c \frac{\partial V}{\partial x} \right). \quad (18)$$

A equação de Nernst-Planck descreve o fluxo de íons através de uma membrana celular devido aos efeitos combinados do gradiente de concentração e de diferença de potencial elétrico. Faça uma análise dimensional da equação (18) para se convencer de que as unidades de J são as de fluxo de íons: íons por unidade de área por unidade de tempo.

O sinal negativo indica que íons positivos se movem na direção oposta dos seus gradientes de concentração e de potencial elétrico. Já íons negativos se movem na direção oposta à do seu gradiente de concentração, mas na mesma direção do seu gradiente de potencial elétrico.

Esta é a equação mais utilizada para o cálculo de fluxos iônicos em neurofisiologia e vamos encontrá-la em diversas situações ao longo deste curso.

A Equação de Nernst

Várias equações importantes descrevendo o fluxo de corrente elétrica através de membranas podem ser obtidas a partir da equação de Nernst-Planck.

Uma situação importante para ser estudada é aquela em que o fluxo líquido de íons através da membrana é nulo, ou seja, a situação em que o potencial de membrana está em repouso.

Vamos considerar aqui uma situação ideal em que a membrana celular é permeável apenas a um tipo de íon. Neste caso, fazendo-se $J = 0$ na equação de Nernst-Planck, temos:

$$\frac{\partial c}{\partial x} + \frac{zF}{RT} c \frac{\partial V}{\partial x} = 0,$$

ou (separando as variáveis):

$$\frac{1}{c} \frac{\partial c}{\partial x} = - \frac{zF}{RT} \frac{\partial V}{\partial x}. \quad (19)$$

Vamos supor que a membrana se estende de $x = 0$ (o interior) até $x = d$ (o exterior), ou seja, ela tem espessura d . Então, integrando (19) de $x = 0$ a $x = d$ (e usando os subíndices i e e para indicar variáveis internas e externas à célula, respectivamente):

$$\ln(c) \Big|_{c_i}^{c_e} = \frac{zF}{RT} (V_i - V_e),$$

o que implica que, definindo-se o potencial de membrana como a diferença de potencial entre o interior e o exterior da célula ($V = V_i - V_e$):

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{c_e}{c_i} \right). \quad (20)$$

A equação (20) é a **equação de Nernst**. Ela determina o valor do potencial de membrana para o qual os fluxos de uma espécie iônica para dentro e para fora da célula se igualam, o potencial de equilíbrio, ou potencial de Nernst.

A tabela abaixo dá os valores dos potenciais de equilíbrio, calculados pela equação de Nernst, para alguns íons para o axônio gigante da lula.

	Dentro (mM)	Fora (mM)	Potencial de Equilíbrio (Nernst)
K⁺	400	20	-75 mV
Na⁺	50	440	+55 mV
Cl⁻	40-150	560	-66 - (-33) mV
Ca²⁺	0,4x10 ⁻⁴	10	+145 mV

Concentrações iônicas de repouso para o axônio gigante da lula a 20°C.

Note que $[K^+]_{dentro} > [K^+]_{fora}$, $[Na^+]_{dentro} < [Na^+]_{fora}$, $[Cl^-]_{dentro} < [Cl^-]_{fora}$ e $[Ca^{2+}]_{dentro} < [Ca^{2+}]_{fora}$. Apesar de haver diferenças entre as espécies, estas relações entre as concentrações desses quatro íons permanecem válidas para a maioria das células animais.

A equação de Nernst implica que os potenciais de equilíbrio do Na⁺ e do Ca²⁺ são positivos e que os potenciais de equilíbrio do K⁺ e do Cl⁻ são negativos.

Isto tem implicações na determinação dos potenciais de repouso das células e na geração dos potenciais de ação em células nervosas, como será visto mais para frente neste curso.

A Equação de Goldman-Hodgkin-Katz

O potencial elétrico V no interior da membrana celular é determinado pela densidade local de carga elétrica. Uma das equações fundamentais do eletromagnetismo é a lei de Gauss (1ª lei de Maxwell), que escrita na forma diferencial em uma dimensão é:

$$\frac{\partial E(x,t)}{\partial x} = \frac{\rho}{\epsilon}, \quad (21)$$

onde ρ é a densidade de carga (C/cm³) e ϵ é a permissividade elétrica do meio, no caso a membrana neuronal. Expressando o campo elétrico em termos do potencial elétrico, $E(x,t) = -\partial V(x,t)/\partial x$, esta lei pode ser escrita como,

$$\frac{\partial^2 V(x,t)}{\partial x^2} = -\frac{\rho}{\epsilon}, \quad (22)$$

que é conhecida como equação de Poisson.

A densidade de carga ρ é formada por dois termos, um devido às cargas móveis (íons) e outro devido às cargas fixas, imóveis no meio. Supondo que a concentração de cada espécie iônica n presente na membrana é representada por $c_n(x, t)$ (íons por unidade de volume), podemos escrever a densidade de carga no interior da membrana como:

$$\rho(x,t) = e \sum_{n=1}^N z_n c_n(x,t) + \rho_f(x,t), \quad (23)$$

onde $z_n e$ é a carga de um íon da espécie n e ρ_f é a densidade de cargas fixas. Normalmente, a concentração iônica de uma dada espécie iônica n é expressa em unidades de moles do íon por unidade de volume. Se c_n for expressa nessas unidades, então a densidade de carga será dada por

$$\rho(x,t) = F \sum_{n=1}^N z_n c_n(x,t) + \rho_f(x,t), \quad (24)$$

onde $z_n F$ é a carga de um mol de íons do tipo n .

Se cada espécie iônica n for conservada, cada íon terá sua própria equação de continuidade. Conforme visto na equação (6),

$$\frac{\partial J_n(x,t)}{\partial x} = -\frac{\partial c_n(x,t)}{\partial t}. \quad (25)$$

Um sistema de eletrodifusão em que existem n diferentes espécies iônicas fluindo através da membrana é completamente especificado pelas equações (18), (22), (24) e (25). Assim, existem N equações de Nernst-Planck (Equação 18) relacionando $2N + 1$ variáveis:

$$J_1, J_2, J_3, \dots, J_N, c_1, c_2, \dots, c_N, V.$$

Se cada uma das espécies iônicas for conservada, então teremos mais N equações de continuidade adicionais (equação 25) relacionando essas variáveis. Finalmente, a equação de Poisson (22) também define outra relação entre essas $2N + 1$ variáveis.

Se as cargas fixas forem especificadas como uma propriedade da membrana e se condições de contorno apropriadas forem especificadas, estão todas essas equações permitem uma determinação completa do problema de eletrodifusão, isto é, existem $2N + 1$ variáveis e $2N + 1$ equações.

Em princípio, essas equações podem ser resolvidas para a concentração e a densidade de corrente de cada uma dos íons móveis bem como para o potencial elétrico. Porém, estas equações podem ser não lineares por causa do termo $c_n(x, t)(\partial V(x, t)/\partial x)$ na equação (18), o que complica sua solução.

Desta forma, para se obter o fluxo de cada espécie iônica n , J_n , a partir da equação de Nernst-Planck é necessário resolver um sistema acoplado de equações diferenciais. Isto está além dos objetivos deste curso e apenas uma situação simplificada será considerada aqui.

Uma situação importante que pode ser tratada com o auxílio das equações desenvolvidas acima é a da eletrodifusão no estado estacionário.

Por definição, no estado estacionário nenhuma das variáveis do modelo de eletrodifusão deve depender do tempo (mas elas podem ter valores diferentes de zero que variem com a posição x).

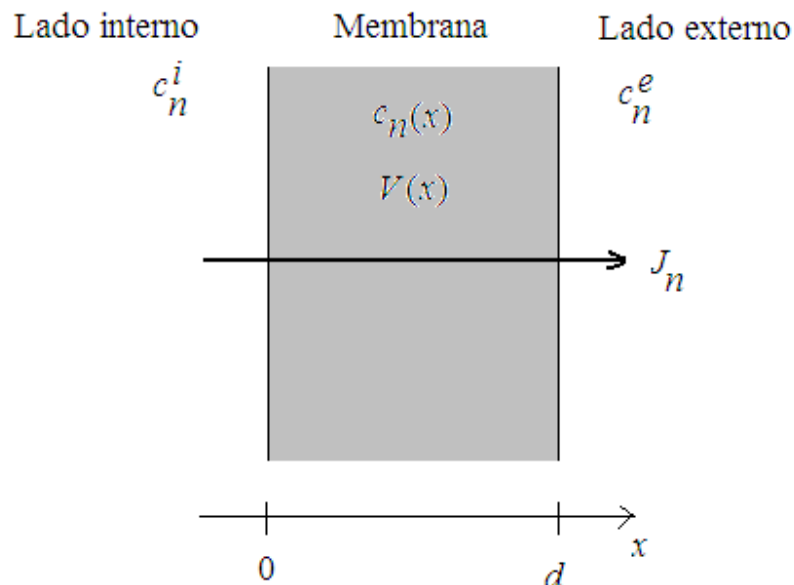
Se c_n for independente do tempo, a equação da continuidade para a n -ésima espécie iônica (equação 25) implica que J_n é uma constante, independente do tempo e do espaço. Portanto, neste caso a equação de Nernst-Planck para a n -ésima espécie iônica se torna (note que as derivadas parciais são agora derivadas totais),

$$J_n = -D_n \left(\frac{dc_n(x)}{dx} + \frac{z_n F}{RT} c_n(x) \frac{dV(x)}{dx} \right), \quad (26)$$

e a equação de Poisson fica,

$$\frac{d^2V(x)}{dx^2} = -\frac{\rho(x)}{\epsilon}. \quad (27)$$

As equações (26) e (27), que descrevem o processo de eletrodifusão no estado estacionário, não são fáceis de ser resolvidas. Porém, adotando-se algumas simplificações elas podem ser resolvidas. Uma das soluções mais bem conhecidas é a de Goldman, que foi proposta inicialmente em 1943 como um modelo microscópico para o transporte iônico através de membranas e que foi desenvolvida posteriormente por Hodgkin e Katz em 1949. Nesse modelo, a membrana é vista como um meio homogêneo e não poroso (veja a figura abaixo) pelo qual os íons podem se movimentar segundo as leis da eletrodifusão.



Vamos supor que a membrana separa duas soluções iônicas com concentrações do íon n iguais a c_n^i e c_n^e (representando os lados interno e externo de uma célula, por exemplo). O fluxo iônico associado a esta espécie iônica é J_n . O modelo está ilustrado na figura abaixo.

O potencial de membrana será definido como

$$V_m = V(0) - V(d), \quad (28)$$

isto é, como a diferença entre o potencial do lado de dentro e o potencial do lado de fora da célula.

Vamos supor que as soluções dos dois lados da membrana têm composição uniforme, isto é, são bem misturadas. Vamos assumir também que o regime de eletrodifusão da espécie iônica n é de estado-estacionário, ou seja, J_n é constante. No entanto, os valores da concentração, $c_n(x)$, e do potencial elétrico, $V(x)$, podem variar no interior da membrana.

No modelo de Goldman, assume-se que a densidade líquida de carga dentro da membrana, devida tanto às cargas em movimento como às fixas, é zero. Com esta hipótese simplificadora, a equação de Poisson (27) torna-se,

$$\frac{d^2V(x)}{dx^2} = 0, \quad (29)$$

o que implica que $dV(x)/dx$ é uma constante e, portanto, que o campo elétrico também é constante no interior da membrana. Por causa disso, esta hipótese é chamada de hipótese do campo constante. Ela é uma boa aproximação para membranas bastante finas como as membranas bilipídicas celulares.

Supondo que a membrana tem espessura d , o valor do campo elétrico constante é $E = V_m/d$, de maneira que,

$$\frac{dV(x)}{dx} = -\frac{V_m}{d}. \quad (30)$$

Integrando esta equação entre $x = 0$ e x , temos que,

$$V(x) - V(0) = -\frac{V_m}{d}x,$$

ou, para $x = d$,

$$V(0) - V(d) = V_m, \quad (31)$$

conforme esperado.

Para resolver a segunda equação do sistema de equações para o estado estacionário (equação 26), que é a equação de Nernst-Planck, vamos inicialmente multiplicá-la pelo fator integrante $e^{z_n FV(x)/RT}$,

$$J_n e^{z_n FV(x)/RT} = -D_n \left(e^{z_n FV(x)/RT} \frac{dc_n(x)}{dx} + \frac{z_n F}{RT} e^{z_n FV(x)/RT} c_n(x) \frac{dV(x)}{dx} \right),$$

de maneira que ela pode ser re-escrita como,

$$J_n e^{z_n FV(x)/RT} = -D_n \frac{d}{dx} \left(c_n(x) e^{z_n FV(x)/RT} \right). \quad (32)$$

Integrando esta equação entre os limites $x_0 = 0$ e $x = d$,

$$J_n \int_0^d e^{z_n FV(x)/RT} dx = -D_n \left(c_n(d) e^{z_n FV(d)/RT} - c_n(0) e^{z_n FV(0)/RT} \right),$$

ou,

$$J_n = -D_n \left(\frac{c_n(d) e^{z_n FV(d)/RT} - c_n(0) e^{z_n FV(0)/RT}}{\int_0^d e^{z_n FV(x)/RT} dx} \right). \quad (33)$$

Vamos assumir que nas interfaces da membrana com as soluções interna e externa o potencial é contínuo e que as concentrações do íon n satisfazem,

$$\frac{c_n(0)}{c_n^i} = \frac{c_n(d)}{c_n^e} = 1. \quad (34)$$

Resolvendo a integral no denominador de (33) (obtenha o resultado abaixo como exercício),

$$\int_0^d e^{z_n FV(x)/RT} dx = \frac{dRT}{z_n FV_m} e^{z_n FV(0)/RT} \left(1 - e^{-z_n FV_m/RT} \right),$$

que, substituída na equação (33) e usando-se as equações (31) e (34) nos dá (faça isso como exercício também),

$$J_n = \frac{z_n FV_m D_n}{RTd} \left(\frac{c_n^i - c_n^e e^{-z_n FV_m/RT}}{1 - e^{-z_n FV_m/RT}} \right). \quad (35)$$

Esta equação nos dá o fluxo de íons da espécie n no estado estacionário. Em geral, ela é medida em moles por unidade de área por unidade de tempo. As suas unidades podem ser convertidas para carga por unidade de área por unidade de tempo, que corresponde a corrente por unidade de área e, portanto, a densidade de corrente, pela multiplicação da equação acima por $z_n F$ (a carga de um mol de íons da espécie n). Fazendo esta multiplicação (note que agora J_n passa a indicar densidade de corrente):

$$J_n = \frac{z_n^2 F^2 V_m D_n}{RTd} \left(\frac{c_n^i - c_n^e e^{-z_n FV_m/RT}}{1 - e^{-z_n FV_m/RT}} \right). \quad (36)$$

A permeabilidade P_n de uma membrana de espessura d a um soluto n foi definida pela equação (12) como,

$$P_n = \frac{D_n}{d}.$$

Substituindo esta equação em (36) temos,

$$J_n = P_n \frac{z_n^2 F^2}{RT} V_m \left(\frac{c_n^i - c_n^e e^{-z_n F V_m / RT}}{1 - e^{-z_n F V_m / RT}} \right). \quad (37)$$

Esta é a chamada **equação de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK)** para a densidade de corrente da espécie iônica n através de uma membrana. Ela determina como esta densidade de corrente depende das concentrações do íon dos dois lados da célula e do valor do potencial de membrana V_m (veja no apêndice um estudo mais detalhado sobre ela).

A primeira coisa que podemos fazer com a equação de GHK é supor que existe apenas uma espécie iônica n fluindo através da membrana e verificar qual é a condição imposta por ela para que a corrente dessa espécie iônica através da membrana seja nula.

Segundo a equação (37), a densidade de corrente J_n é zero quando o numerador do termo entre parênteses for nulo, o que ocorre quando,

$$\begin{aligned} c_n^i = c_n^e e^{-z_n F V_m / RT} &\Rightarrow \frac{c_n^e}{c_n^i} = e^{z_n F V_m / RT} \Rightarrow \\ \Rightarrow V_m = \frac{RT}{z_n F} \ln \left(\frac{c_n^e}{c_n^i} \right) &= V_n, \end{aligned} \quad (38)$$

onde V_n é o potencial de Nernst do íon n . Portanto, como esperado, o modelo de GHK também nos dá que o potencial de equilíbrio para o fluxo do íon n é o potencial de Nernst desse íon.

Se existirem várias espécies iônicas passando através da membrana, com diferentes valores de concentração dentro e fora da célula, em geral os seus respectivos potenciais de Nernst serão diferentes. Desta forma, não haverá um valor de potencial de membrana único para o qual todas as correntes iônicas sejam nulas.

Mas deve haver um valor de potencial para o qual a corrente líquida (isto é a soma de todas elas) se anule. Este potencial é chamado de potencial de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK).

Consideremos um grupo de íons, todos com valência $z = \pm 1$. Neste caso, o valor do potencial de GHK para o qual a corrente líquida devida a esses íons seja nula pode ser calculado a partir da condição,

$$0 = \sum_j^{z=1} P_j \frac{c_j^i - c_j^e e^{-FV/RT}}{1 - e^{-FV/RT}} + \sum_j^{z=-1} P_j \frac{c_j^i - c_j^e e^{FV/RT}}{1 - e^{FV/RT}}, \quad (39)$$

onde a primeira somatória se refere aos íons com valência $z = 1$ e a segunda se refere aos íons com valência $z = -1$. Esta expressão pode ser resolvida para se isolar o valor de V (faça como exercício), resultando em

$$V = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{\sum_j^{z=-1} P_j c_j^i + \sum_j^{z=1} P_j c_j^e}{\sum_j^{z=-1} P_j c_j^e + \sum_j^{z=1} P_j c_j^i} \right). \quad (40)$$

Como um exemplo, se os íons presentes são o sódio (Na^+ , $z = 1$), o potássio (K^+ , $z = 1$) e o cloro (Cl^- , $z = -1$), o potencial de GHK é,

$$V = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Cl} [Cl]^i + P_{Na} [Na]^e + P_K [K]^e}{P_{Cl} [Cl]^e + P_{Na} [Na]^i + P_K [K]^i} \right),$$

onde voltamos a usar temporariamente a notação $[A]$ para representar a concentração do íon A. Compare esta expressão com a fornecida para o potencial de GHK na aula 2.

É importante ressaltar que, ao contrário da expressão para o potencial de Nernst, que é uma expressão geral válida para qualquer caso em que há apenas um íon fluindo através da membrana, a expressão para o potencial de GHK só é válida dentro da aproximação de campo elétrico constante no interior da membrana.

No caso geral em que existem vários íons fluindo através da membrana, a solução geral vem da resolução do sistema de equações (18), (22), (24) e (25). A solução do modelo de GHK é apenas uma solução para o caso particular em que o campo elétrico é constante e existem outras soluções para esse sistema de equações baseadas em outras aproximações.

Apêndice 1: Dedução das Relações de Einstein e de Stokes-Einstein

Pelo modelo de Einstein para o movimento browniano, o processo de difusão de um conjunto de partículas colocadas em um meio fluido é devido aos espalhamentos dessas partículas quando elas sofrem colisões com as partículas do meio. A distância média percorrida por uma partícula entre duas colisões é l e o intervalo de tempo médio entre duas colisões é τ . Quando há um campo de força externo atuando sobre as partículas, de maneira que a força sobre uma partícula seja f_p , no intervalo entre duas colisões a partícula sofre uma aceleração dada por

$$a = \frac{f_p}{m},$$

onde m é a sua massa. Portanto, no intervalo entre duas colisões a partícula sofre um movimento acelerado e a sua velocidade de arrasto cresce linearmente a partir de $v(0) = 0$ até $v(\tau) = a\tau = (f_p/m)\tau = v_{\max}$. A velocidade média da partícula é $\bar{v} = f_p\tau/2m$ e a sua mobilidade média é

$$\mu = \frac{\bar{v}}{f_p} = \frac{\tau}{2m}. \quad (\text{A1})$$

Por outro lado, pelo teorema da equipartição da energia (procure em um livro de Termodinâmica), a energia cinética média de uma partícula em movimento unidimensional está relacionada à temperatura por,

$$\frac{1}{2}m\overline{v^2} = \frac{1}{2}kT, \quad (\text{A2})$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta e $\overline{v^2}$ é a média do quadrado da velocidade da partícula. Vamos supor que $\overline{v^2}$ é igual a \bar{v}^2 (este é um ponto fraco nesta demonstração). Vamos também supor que $\bar{v} = l/\tau$. Com estas hipóteses, temos que

$$\frac{1}{2} m \frac{l^2}{\tau^2} = \frac{1}{2} kT \Rightarrow \left(\frac{2m}{\tau} \right) \left(\frac{l^2}{2\tau} \right) = kT .$$

Substituindo a equação (A1) nesta equação e lembrando que o coeficiente de difusão, segundo o modelo do movimento browniano de Einstein, pode ser escrito como $D = l^2 / 2\tau$ (veja as notas de aula sobre difusão) obtemos a relação de Einstein em termos da mobilidade da partícula:

$$D = \mu kT . \quad (A3)$$

Lembrando que $k = R/N_A$, onde R é a constante universal dos gases e N_A é o número de Avogadro, e definindo a mobilidade molar como $u = \mu/N_A$, podemos reescrever a relação de Einstein como,

$$D = uRT . \quad (A4)$$

Ainda outra maneira de reescrever a relação de Einstein é em termos do coeficiente de viscosidade do meio, η . Da hidrodinâmica, temos que a força necessária para mover uma partícula esférica de raio r por um fluido com viscosidade η com velocidade v_p é dada pela lei de Stokes,

$$f_p = 6\pi r \eta v_p .$$

Portanto, usando a definição de mobilidade de uma partícula, $\mu = 1/6\pi r \eta$, que substituída em (A3) nos dá

$$D = \frac{kT}{6\pi r \eta} . \quad (A5)$$

Esta é chamada **relação de Stokes-Einstein**.

Apêndice 2: Algumas conseqüências da equação de Goldman-Hodgkin-Katz (fluxo de uma única espécie iônica)

Quando se estuda algum material, seja ele um fio de cobre ou uma membrana celular, uma coisa importante que deve ser feita para caracterizá-lo é determinar a relação entre I e V , ou seja, entre a corrente elétrica que flui através dele quando se estabelece uma diferença de potencial entre suas extremidades e esta diferença de potencial. Essa relação é chamada de relação característica $I - V$ do material.

Por exemplo, é importante determinar se esta relação é linear ou não-linear, ou se a corrente se comporta do mesmo jeito quando se inverte a polaridade (quando se troca o sinal de V).

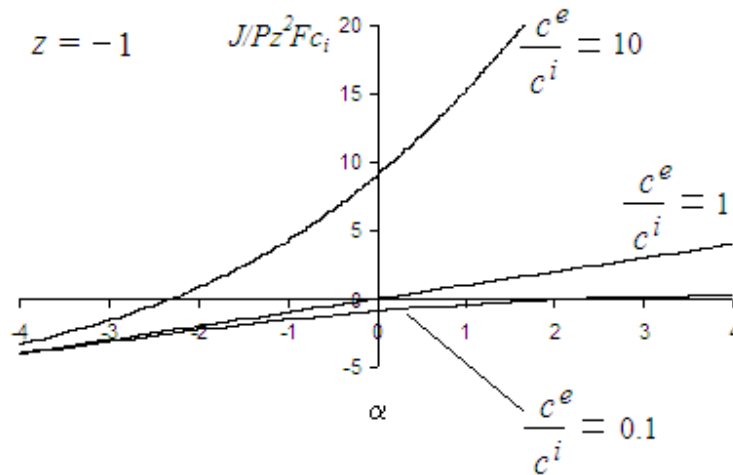
Segundo o modelo de Goldman-Hodgkin-Katz, descrito pela equação (37), a relação característica $I - V$ é não-linear. Podemos ver isso fazendo um gráfico da equação (37). Para simplificar, vamos definir

$$\alpha \equiv \frac{F}{RT} V_m .$$

Note que α é proporcional ao potencial de membrana. Em termos de α , podemos escrever a equação (37) como (já que estamos considerando uma única espécie iônica, podemos omitir o subscrito n para simplificar a notação),

$$\frac{J}{Pz^2 Fc^i} = \left(\frac{1 - \left(\frac{c^e}{c^i} \right) e^{-z\alpha}}{1 - e^{-z\alpha}} \right) \alpha . \quad (\text{A6})$$

Note que o lado esquerdo dessa equação é proporcional à corrente de membrana. A figura abaixo mostra gráficos dessa equação para diferentes valores da razão entre as concentrações do íon fora e dentro da célula.



O gráfico acima foi construído para um íon de valência negativa ($z = -1$). Um gráfico equivalente poderia ser construído para um íon de valência positiva (faça como exercício).

Note que para cada valor da razão (c^e/c^i) existe um valor diferente de α , ou de V , para o qual a corrente é zero. O valor de V para o qual a corrente é nula é chamado de potencial de reversão da membrana, pois a corrente muda de sentido quando o potencial passa por esse valor.

Outra coisa que pode ser notada pela análise do gráfico acima é que a relação característica $I - V$ para o modelo de GHK não é simétrica em torno da origem (a corrente não se comporta da mesma maneira em função de V para as duas polaridades de V). Diz-se que uma relação desse tipo é retificadora (tipo-diodo), ao contrário de uma não-retificadora, que tem como exemplo a relação dada pela lei de Ohm (baseada em um modelo linear),

$$I = \frac{1}{R}V = GV .$$

Para analisar mais a relação característica $I - V$ dada pelo modelo de GHK, vamos estudar os comportamentos assintóticos da equação (37), para $V_m \rightarrow \infty$ e para $V_m \rightarrow -\infty$. Para $V_m \rightarrow \infty$ temos,

$$\lim_{V_m \rightarrow \infty} J_n = P_n \frac{z_n^2 F^2}{RT} V_m c_n^i . \quad (A7)$$

Já para $V_m \rightarrow -\infty$ temos,

$$\lim_{V_m \rightarrow -\infty} J_n = P_n \frac{z_n^2 F^2}{RT} V_m c_n^e. \quad (\text{A8})$$

Estas expressões mostram que os comportamentos assintóticos da relação característica I – V para o modelo de GHK são lineares, porém com inclinações diferentes dependentes do valor de c_n^i ou do valor de c_n^e .

Note que a razão entre as inclinações das duas assintóticas é igual à razão entre as concentrações, c_n^i/c_n^e .

Quando $c_n^i = c_n^e$ esta razão vale 1 e a relação característica I – V para o modelo de GHK torna-se igual à de um elemento linear. Já quando $c_n^i/c_n^e \neq 1$ as inclinações assintóticas são diferentes, como mostram as diferentes curvas características I – V no gráfico acima.

Leituras Recomendadas:

- Johnston, D., and Wu, S.M., *Foundations of Cellular Neurophysiology*, MIT Press, Cambridge, MA, 1995.
- Weiss, T.F., *Cellular Biophysics*. Vol. 1: Transport; Vol. 2: Electrical Properties, MIT Press, Cambridge, MA, 1996.