

Fisiologia da Membrana, Nervo e Músculo

**4. O Transporte de Substâncias Através da
Membrana Celular**

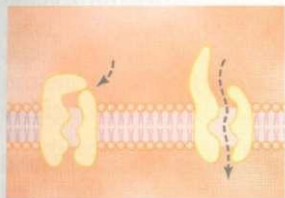
5. Potenciais de Membrana e Potenciais de Ação

6. Contração do Músculo Esquelético

**7. Excitação do Músculo Esquelético: Transmissão
Neuromuscular e Acoplamento Excitação-Contração**

8. Contração e Excitação do Músculo Liso

O Transporte de Substâncias Através da Membrana Celular



A Figura 4-1 apresenta as concentrações aproximadas de importantes eletrólitos e de outras substâncias nos líquidos extra e intracelular. Note que o líquido extracelular contém grande quantidade de *sódio*, mas somente uma pequena quantidade de *potássio*. O oposto é exatamente válido para o líquido intracelular. O líquido extracelular contém, também, grande quantidade de íons cloreto, ao passo que o líquido intracelular contém uma quantidade muito pequena. Porém, as concentrações de fosfato e de proteínas no líquido intracelular são consideravelmente maiores do que no líquido extracelular. Essas diferenças são muito importantes para a vida das células. O propósito deste capítulo é explicar como essas diferenças são produzidas pelos mecanismos de transporte das membranas celulares.

A Barreira Lipídica da Membrana Celular e as Proteínas de Transporte da Membrana Celular

A estrutura da membrana que reveste externamente cada célula do corpo é discutida no Cap. 2 e mostrada nas Figura 2-3 e 4-2. Essa membrana consiste quase que inteiramente em uma *bicamada lipídica*, contendo também grande número de moléculas de proteínas, incrustadas nos lipídios, muitas delas penetrando por toda a espessura da membrana, como mostra a Figura 4-2.

A bicamada lipídica não é miscível nos líquidos extra e intracelular. Assim, ela constitui uma barreira para os movimentos das moléculas de água e de substâncias hidrossolúveis entre os compartimentos dos líquidos intra e extracelulares. Todavia, como demonstrado na Figura 4-2, pela seta da extrema esquerda, algumas substâncias podem atravessar essa bicamada lipídica dispersando-se diretamente através da substância lipídica; isso ocorre, principalmente, com substâncias lipossolúveis, como descritas adiante.

As moléculas de proteína na membrana apresentam propriedades totalmente diferentes para o transporte de substâncias. Suas estruturas moleculares interrompem a continuidade da bicamada lipídica, representando uma via alternativa através da membrana celular. A maioria das substâncias protéicas, por essa razão, pode funcionar como *proteínas transportadoras*. Diferentes proteínas funcionam de modos distintos. Algumas contêm espaços aquosos por toda a extensão da molécula, permitindo o livre movimento da água, bem como de íons ou de moléculas selecionados; elas são referidas como *proteínas canais*. Outras, conhecidas como *proteínas transportadoras*, se ligam às moléculas ou aos íons a serem transportados; alterações estruturais nas moléculas da proteína, então, movem a substância através dos interstícios da proteína até o outro lado da membrana. Tanto as proteínas canais como as proteínas transportadoras são, via de regra, extremamente seletivas para os tipos de moléculas ou de íons que serão permitidos atravessar a membrana.

“Difusão” versus “Transporte Ativo.” O transporte através da membrana celular, tanto diretamente, através da bicamada lipídica, como por meio de proteínas, ocorre por um de dois processos básicos: *difusão* ou *transporte ativo*.

Embora existam muitas variações desses mecanismos básicos, difusão significa o movimento molecular aleatório de substâncias, molécula a molécula, através dos espaços intramoleculares da membrana ou em combinação com proteína transpor-

LÍQUIDO EXTRACELULAR	LÍQUIDO INTRACELULAR
Na ⁺142 mEq/l	10 mEq/l
K ⁺4 mEq/l	140 mEq/l
Ca ⁺⁺2,4 mEq/l	0,0001 mEq/l
Mg ⁺⁺1,2 mEq/l	58 mEq/l
Cl ⁻103 mEq/l	4 mEq/l
HCO ₃ ⁻28 mEq/l	10 mEq/l
Fosfatos4 mEq/l	75 mEq/l
SO ₄ ⁻1 mEq/l	2 mEq/l
Glicose90 mg/dl	0 a 20 mg/dl
Aminoácidos30 mg/dl	200 mg/dl ?
Cholesterol	
Fosfolipídios } 0,5 g/dl	2 a 95 g/dl
Gordura neutra }	
PO ₂35 mm Hg	20 mmHg ?
PCO ₂46 mm Hg	50 mmHg ?
pH7,4	7,0
Proteínas2 g/dl	16 g/dl
(5 mEq/l)	(40 mEq/l)

Figura 4-1

Composição química dos líquidos extra e intracelular.

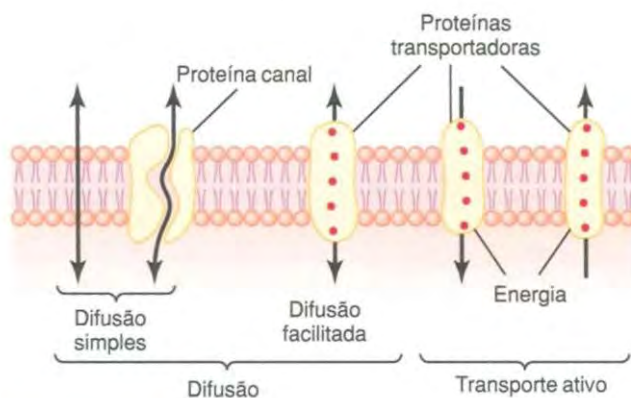


Figura 4-2

Vias de transporte através da membrana celular e seus mecanismos básicos de transporte.

tadora. A energia causadora da difusão é a energia da movimentação cinética normal da matéria.

Como contraste, transporte ativo significa o movimento dos íons ou de outras substâncias, através da membrana em combinação com uma proteína transportadora, de modo tal que a proteína transportadora faz com que a substância se mova em direção oposta à de um gradiente de energia, como passando de estado de baixa concentração para um estado de alta concentração. Esse movimento requer uma fonte adicional de energia, além da energia cinética. A seguir é apresentada uma explicação



Figura 4-3

Difusão em líquido molecular durante um milésimo de segundo.

mais detalhada da física básica e da físico-química desses dois processos.

Difusão

Todas as moléculas e íons no corpo, inclusive as moléculas de água e as substâncias dissolvidas nos líquidos corporais, estão em constante movimento, cada partícula movendo-se por seu modo distinto. A movimentação dessas partículas é o que os físicos chamam de “calor” — quanto maior a movimentação, maior a temperatura — e o movimento nunca cessa, sob qualquer circunstância, a não ser à temperatura do zero absoluto. Quando uma molécula em movimento, A, se aproxima de molécula estacionária, B, a força eletrostática e outra força nuclear da molécula A repelem a molécula B, transferindo parte da energia do movimento da molécula A para a molécula B. Consequentemente, a molécula B ganha a energia cinética do movimento, enquanto a molécula A passa a se mover mais lentamente, perdendo parte de sua energia cinética. Desse modo, como mostrado na Figura 4-3, uma só molécula em solução colide violentamente com as outras moléculas, primeiro em uma direção, e, depois, em outra, e assim por diante, sempre aleatoriamente, colidindo milhares de vezes a cada segundo. Esse movimento contínuo de moléculas, umas contra as outras, nos líquidos ou nos gases, é chamado *difusão*.

Os íons difundem-se da mesma maneira que as moléculas inteiras, e até mesmo partículas coloidais em suspensão difundem-se de modo semelhante, a não ser pelo fato de a dispersão dos colóides ser bem mais lenta do que a das substâncias moleculares, por eles serem maiores.

Difusão Através da Membrana Celular

A difusão através da membrana celular é dividida em dois subtipos, chamados *difusão simples* e *difusão facilitada*. A difusão simples significa que o movimento cinético das moléculas ou dos íons ocorre através de uma abertura na membrana ou através dos espaços intermoleculares, sem que ocorra qualquer interação com as proteínas transpor-

tadoras da membrana. A intensidade da difusão é determinada pela quantidade de substância disponível, pela velocidade do movimento cinético, e pelo número e tamanho das aberturas na membrana, através das quais as moléculas e os íons podem se mover.

A difusão facilitada requer a interação com uma proteína transportadora. A proteína transportadora ajuda a passagem das moléculas ou dos íons, através da membrana, por meio de ligação química com eles, transportando-os dessa forma em movimento de vaivém — como o de ponte aérea — através da membrana.

A difusão simples pode ocorrer através da membrana celular por duas vias: (1) pelos interstícios da bicamada lipídica, no caso da substância que se difunde ser lipossolúvel, e (2) pelos canais aquosos que penetram por toda a espessura da membrana, por meio de alguma das grandes proteínas transportadoras, como mostrados à esquerda da Figura 4.2.

Difusão das Substâncias Lipossolúveis Através da Bicamada Lipídica. Um dos fatores mais importantes que determinam quão rapidamente uma substância se difunde pela bicamada lipídica é a *lipossolubilidade* da substância. As lipossolubilidades do oxigênio, do nitrogênio, do dióxido de carbono e do álcool, p. ex., são altas, assim, todas elas podem se dissolver diretamente na bicamada lipídica e se difundir através da membrana celular, do mesmo modo como ocorre a difusão hidrossolúvel nas soluções aquosas. Por razões óbvias, a velocidade de difusão de cada uma dessas substâncias através da membrana é diretamente proporcional à sua lipossolubilidade. De modo especial, grandes quantidades de oxigênio podem ser transportadas dessa maneira; por essa razão, o oxigênio pode ser levado para o interior das células quase como se não existisse a membrana celular.

Difusão das Moléculas de Água e Outras Moléculas Insolúveis em Lipídios Pelos Canais Protéicos. Ainda que a água seja extremamente insolúvel nos lipídios da membrana, ela passa com facilidade pelos canais das moléculas de proteínas ou penetram por toda a espessura das membranas. A rapidez com que as moléculas de água podem se deslocar através da maioria das membranas celulares é impressionante. Como exemplo, a quantidade total de água que se difunde em cada direção pelas membranas das hemácias a cada segundo é cerca de 100 vezes maior que o volume da própria hemácia.

Outras moléculas insolúveis em lipídios podem passar pelos canais dos poros das proteínas do mesmo modo que as moléculas de água, caso sejam hidrossolúveis e suficientemente pequenas. Todavia, à medida que suas dimensões aumentam, sua penetração diminui rapidamente. Por exemplo, o diâmetro da molécula da uréia é somente 20% maior que o da água, e mesmo assim sua penetração através dos poros da membrana celular é cerca de 1.000 vezes menor que a da água. Ainda assim, considerando-se a incrível velocidade de penetração da água, essa intensidade da penetração da uréia ainda permite o rápido transporte da uréia através da membrana em poucos minutos.

Difusão Pelos Canais Protéicos e as “Comportas” Desses Canais

As reconstruções tridimensionais computadorizadas dos canais protéicos demonstraram vias tubulares por toda a

espessura da membrana entre os líquidos extra e intracelular. Por conseguinte, substâncias podem se deslocar por difusão simples diretamente através desses canais de um lado ao outro da membrana. As proteínas canais são distinguidas por duas características importantes: (1) elas em geral são seletivamente permeáveis a certas substâncias, e (2) muitos dos canais podem ser abertos ou fechados por *comportas*.

Permeabilidade Seletiva das Proteínas Canais. Muitas das proteínas canais são altamente seletivas para o transporte de um ou mais íons ou moléculas específicas. Isso resulta das características do canal propriamente dito, como seu diâmetro, sua forma, e a natureza das cargas elétricas e das ligações químicas ao longo de suas superfícies internas. Para dar um exemplo, uma das mais importantes proteínas canais, o conhecido *canal de sódio*, tem apenas 0,3 por 0,5 nanômetro de diâmetro, mas, o que é mais importante, a superfície interna desse canal tem *forte carga negativa*, como mostrado pelos sinais negativos no interior da proteína canal no painel superior da Figura 4.4. Essas fortes cargas negativas podem puxar os íons sódio *desidratados* para dentro desses canais, na verdade afastando os íons sódio das moléculas de água que os hidratam. Uma vez no canal, os íons sódio se dispersam em qualquer direção, de acordo com as leis usuais de difusão. Desse modo, o canal de sódio é especificamente seletivo para a passagem de íons sódio.

De modo distinto, outro grupo de proteínas canais é seletivo para o transporte de potássio, como mostrado no painel inferior da Figura 4-4. Estes canais são pouco menores do que os canais de sódio, com diâmetro de apenas 0,3 por 0,3 nanômetro mas *eles não têm cargas negativas* e suas ligações químicas são diferentes. Assim, não existem fortes forças atrativas para puxar esses íons para dentro dos canais, e os íons potássio não são separados das moléculas de água que os hidratam. A forma hidratada do íon potássio é consideravelmente menor que a forma

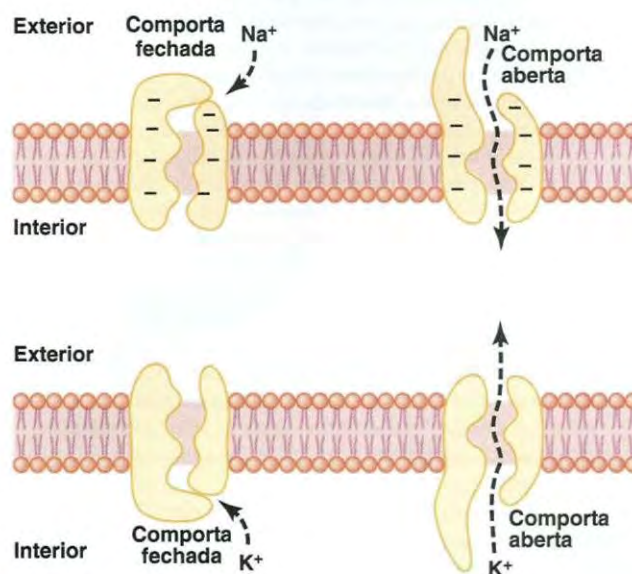


Figura 4-4

Transporte de íons sódio e potássio através das proteínas canais. Também são mostradas as mudanças conformacionais nas moléculas de proteína para abrir e fechar as “comportas” dos canais.

hidratada do sódio, porque o íon sódio atrai muito mais moléculas de água do que o do íon potássio. Portanto, os menores íons hidratados de potássio podem passar com facilidade por esse estreito canal, enquanto os maiores íons sódio hidratados são rejeitados, promovendo, dessa forma, a permeabilidade seletiva para um íon específico.

As Comportas das Proteínas Canais. As comportas das proteínas canais fornecem um meio para controlar a permeabilidade iônica dos canais. Isso é mostrado nos dois painéis da Figura 4.4 para os controles da seletividade dos íons potássio e sódio. Acredita-se que algumas dessas comportas sejam extensões da molécula — como se fossem comportas — semelhantes às das proteínas transportadoras que podem ocluir a abertura de um canal ou podem ser retiradas dessa abertura por alteração da conformação da própria molécula de proteína.

A abertura e o fechamento desses canais podem ser controlados por dois modos:

1. *Por variações da voltagem.* Nesse caso, a conformação molecular do canal ou das suas ligações químicas reage ao potencial elétrico através da membrana celular. Por exemplo, no painel superior da Figura 4-4, se existir forte carga negativa no lado interno da membrana celular, presumivelmente as aberturas externas do canal do sódio permanecerão fechadas; de modo inverso, se o lado interno da membrana perdesse sua carga negativa, essas aberturas poderiam, de modo abrupto, se abrir, permitindo que grande quantidade de sódio entrasse na célula, passando pelos poros de sódio. Esse é o mecanismo básico para a geração de potenciais de ação nas fibras nervosas responsáveis pelos sinais nervosos. No painel inferior da Figura 4-4, as comportas para o potássio ficam localizadas na extremidade intracelular dos canais de potássio, e abrem-se quando a parte interna da membrana celular fica positivamente carregada. A abertura desses canais é responsável, em parte, pelo término do potencial de ação, como discutido com mais detalhes no Capítulo 5.
2. *Por controle químico (por ligantes).* Algumas comportas das proteínas canais dependem da ligação de substâncias químicas (ou ligante) com a proteína; isso causa alteração conformacional da proteína ou de suas ligações químicas na molécula da proteína que abre ou fecha sua comporta. Esse tipo é conhecido como *controle químico* ou como *controle por ligante*. Um dos mais importantes exemplos de controle químico é o efeito da acetilcolina no chamado *canal de acetilcolina*. A acetilcolina abre esse canal, formando um poro negativamente carregado, com diâmetro de cerca de 0,65 nanômetro, que permite a passagem de moléculas sem carga ou de íons positivos menores que seu diâmetro. Esse tipo de comporta é extremamente importante para a transmissão dos sinais nervosos de uma célula nervosa para outra (Cap. 45) e das células nervosas para as células musculares, para causar a contração muscular (Cap. 7).

Estado Aberto versus Estado Fechado dos Canais com Controle. A Figura 4-5A mostra uma característica especialmente interessante da maioria dos canais controlados por voltagem. Essa figura mostra dois registros da corrente elétrica que flui por canal único (isolado) de sódio, sob um gradiente de potência aproximado de 25 milivolts, através da membrana. Observe que o canal conduz ou não conduz corrente elétrica, ou seja, é do tipo “tudo ou

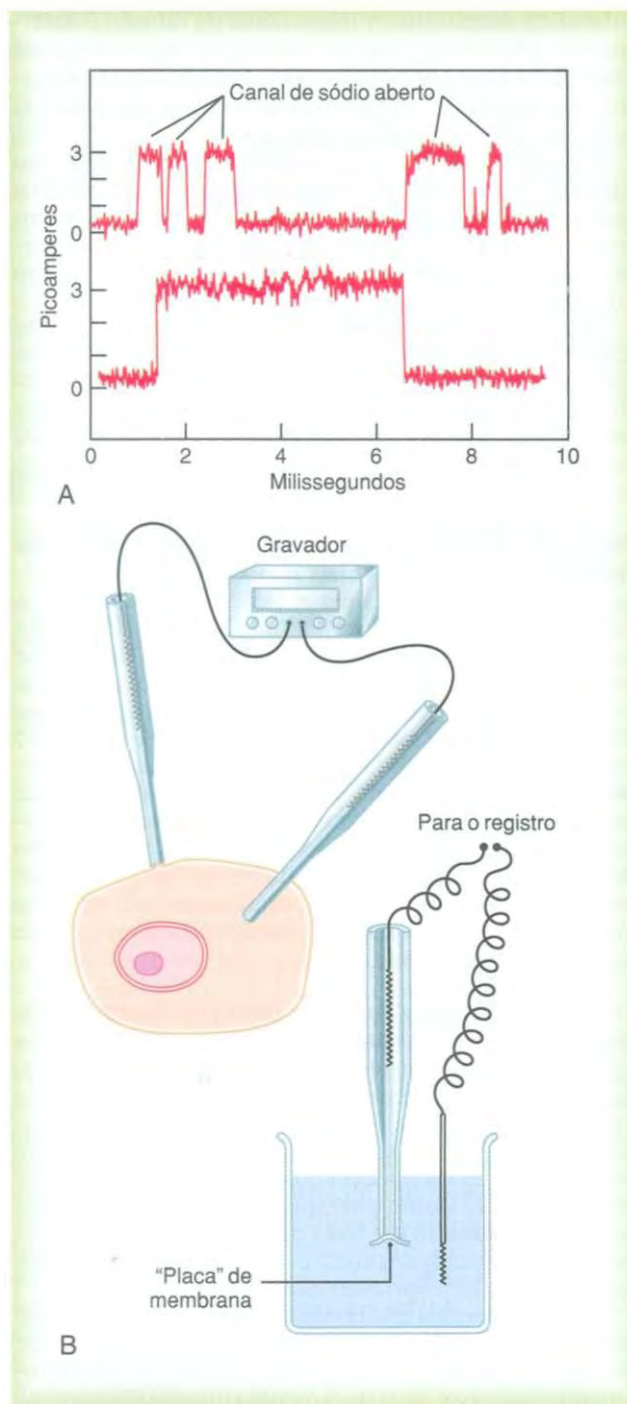


Figura 4-5

A, Registro do fluxo de corrente por um canal de sódio, ligado à voltagem isolada, demonstrando o princípio “tudo ou nada” da abertura e do fechamento do canal. B, O método de “fixação de placas” (*patch-clamp*) para o registro do fluxo corrente através de um canal protéico isolado. À esquerda, o registro é realizado em uma “placa” da membrana celular viva. À direita, o registro é em placa de membrana retirada da célula.

nada”. Isto é, a comporta do canal abre de estalo e, em seguida, fecha também de estalo, com cada período do estado aberto do canal durando apenas uma fração de milissegundo a vários milissegundos. Isso demonstra a extrema rapidez com que as alterações podem ocorrer

durante a abertura e o fechamento das comportas moleculares dos canais da proteína molecular. Em determinado potencial de voltagem, o canal pode permanecer fechado por todo o tempo, ou por quase todo o tempo, enquanto em outro nível de voltagem pode permanecer aberto por todo o tempo, ou por quase todo o tempo. Em voltagens intermediárias, como mostradas na figura, o canal tende a abrir e fechar subitamente de modo intermitente, resultando em fluxo médio da corrente que se situa entre os valores mínimo e máximo.

Método da Fixação de Placa (*Patch-Clamp*) para Registrar a Corrente Iônica que Flui por Cada Canal.

Pode-se indagar como é possível registrar a corrente iônica que flui por cada um dos canais protéicos, como mostrado na Figura 4-5A. Isso foi realizado pelo método da “fixação de placa” (*patch-clamp*), ilustrado na Figura 4-5B. De forma muito simplificada, uma micropipeta com diâmetro de apenas 1 ou 2 micrômetros é colocada sobre a parte externa da membrana celular. Em seguida, é feita sucção pela pipeta, para aspirar a membrana contra a ponta da pipeta. Isso cria uma selagem entre a ponta da pipeta e a membrana celular. O resultado é placa diminuta de membrana que se “fixa” na ponta da pipeta, por onde o fluxo de corrente elétrica pode ser registrado.

Alternativamente, como mostrado à direita na Figura 4-5B, a pequena placa de membrana celular na ponta da pipeta pode ser removida da célula. A pipeta com a placa selada é então colocada em solução livre. Isso permite que as concentrações iônicas dentro da micropipeta na solução externa possam ser modificadas à vontade — i. é, a voltagem está “fixada” (*clamped*) em determinado valor.

Foi possível a obtenção de placas suficientemente pequenas para só conter um canal protéico único na membrana a ser estudada. Por meio da variação da concentração de diferentes íons, bem como da voltagem através da membrana, podem-se determinar as características do transporte de um canal isolado e também as propriedades de suas comportas.

Difusão Facilitada

A difusão facilitada é também conhecida como *difusão mediada por transportador*, porque a substância que é transportada por esse processo se difunde através da membrana usando uma proteína transportadora específica para auxiliar. Isto é, o transportador *facilita* a difusão da substância para o outro lado.

A difusão facilitada difere, de modo importante, da difusão simples pela seguinte maneira: Apesar da velocidade da difusão simples através de um canal aberto aumentar em proporção direta à concentração da substância difusora, na difusão facilitada a velocidade da difusão tende a um máximo, designado como $V_{\text{máx}}$, à medida que a concentração da substância difusora aumenta. Essa diferença entre a difusão simples e a difusão facilitada é demonstrada na Figura 4-6. Essa figura mostra que, enquanto a concentração da substância difusora aumenta, a intensidade da difusão simples continua a aumentar proporcionalmente, mas na difusão facilitada a velocidade da difusão não pode aumentar acima do nível do $V_{\text{máx}}$.

O que limita a velocidade da difusão facilitada? A resposta provável é o mecanismo ilustrado na Figura 4-7. Essa figura mostra a proteína transportadora com um poro suficientemente grande para transportar a molécula específica



Figura 4-6

Efeito da concentração de uma substância sobre a velocidade de difusão através da membrana, por difusão simples e por difusão facilitada. A figura mostra que a difusão facilitada tende para uma velocidade máxima, chamada $V_{\text{máx}}$.

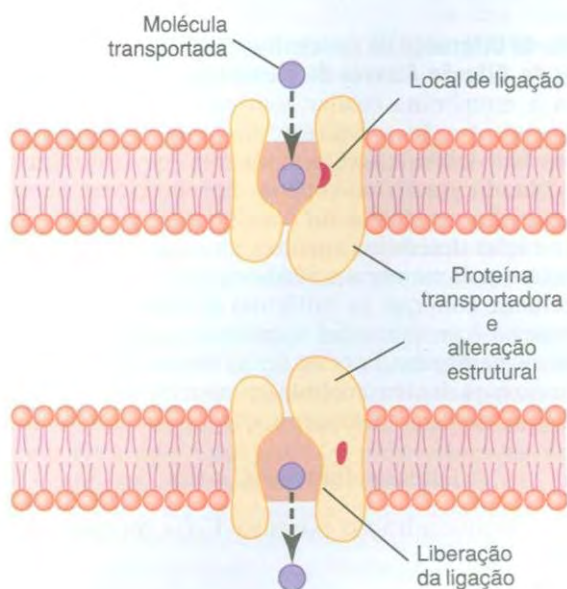


Figura 4-7

Mecanismo postulado para a difusão facilitada.

por parte de seu trajeto. Mostra também um “receptor” de ligação na parte interna da proteína transportadora. A molécula a ser transportada entra no poro e torna-se ligada. Então, em uma fração de segundos, ocorre alteração conformacional ou química na proteína transportadora, de forma que o poro, agora, se abre para o lado oposto da membrana. Em razão de a ligação do receptor ser fraca, a movimentação térmica da molécula ligada faz com que esta se separe e seja liberada no lado oposto da membrana. A velocidade com que moléculas podem ser transportadas

por esse mecanismo nunca pode ser maior do que a velocidade com que a molécula de proteína transportadora pode se alterar entre suas duas conformações. Não obstante, note, especificamente, que esse mecanismo permite que a molécula transportada se mova — ou seja, “se difunda” — em qualquer direção através da membrana.

Entre as substâncias mais importantes que atravessam a membrana das células por da difusão facilitada estão a *glicose* e a maioria dos *aminoácidos*. No caso da glicose, a molécula transportadora já foi descoberta, e tem peso molecular em torno de 45.000; essa molécula pode, também, transportar vários outros monossacarídeos com estruturas semelhantes à da glicose, incluindo a galactose. A insulina também pode aumentar por 10 a 20 vezes a velocidade da difusão facilitada da glicose. Esse é o principal mecanismo pelo qual a insulina controla o uso da glicose pelo organismo, como discutido no Capítulo 78.

Fatores Que Afetam a Velocidade Efetiva da Difusão

Até agora, já ficou evidente que muitas substâncias podem se difundir através da membrana celular. O que, em geral, é mais importante, é a velocidade *efetiva* da difusão da substância em uma determinada direção desejada. Essa velocidade efetiva é determinada por diversos fatores.

O Efeito da Diferença de Concentração sobre a Velocidade Efetiva da Difusão Através da Membrana. A Figura 4-8A mostra a membrana celular com uma substância com maior concentração no lado externo e concentração mais baixa no lado interno. A velocidade com que a substância vai se difundir para o *lado interno* é proporcional à concentração das moléculas no *lado externo*, porque essa concentração determina quantas moléculas atingem a parte externa da membrana a cada segundo. Ao contrário, a velocidade com que as moléculas se difundem para o *lado externo* é proporcional à sua concentração no *lado interno* da membrana. Por essa razão, a velocidade efetiva da difusão para dentro da célula é proporcional à concentração externa *menos* a concentração interna, ou:

$$\text{Difusão efetiva} \propto (C_e - C_i)$$

onde C_e é a concentração externa e C_i é a concentração interna.

Efeito do Potencial Elétrico da Membrana sobre a Difusão dos Íons — O “Potencial de Nernst.” Se um potencial elétrico for aplicado através da membrana, como mostrado na Figura 4-8B, a carga elétrica dos íons faz com que eles se movam através da membrana mesmo que não exista diferença de concentração para provocar esse movimento. Assim, no painel esquerdo da Figura 4-8B, a concentração iônica *negativa* é a mesma em ambos os lados da membrana, mas aplicou-se uma carga positiva ao lado direito da membrana e uma carga negativa ao lado esquerdo, criando um gradiente elétrico através da membrana. A carga positiva atrai os íons negativos, ao passo que a carga negativa os repele. Assim, a difusão efetiva ocorre da esquerda para a direita. Depois de algum tempo, grandes quantidades de íons negativos se moveram para a direita, criando a condição mostrada no painel direito da Figura 4-

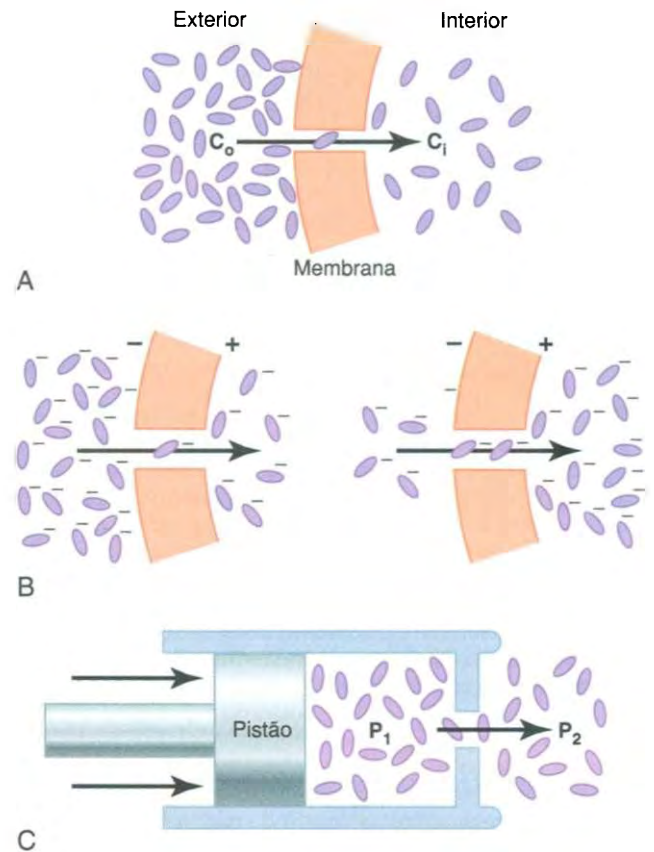


Figura 4-8

Efeito da diferença de concentração (A), diferença do potencial elétrico afetando os íons negativos (B), e da diferença de pressão (C) para causar a difusão das moléculas e íons através da membrana celular.

8B, na qual se desenvolveu uma diferença da concentração iônica na direção oposta à diferença de potencial elétrico. Agora, a diferença de concentração tende a mover os íons para a esquerda, enquanto a diferença elétrica tende a movê-los para a direita. Quando a diferença da concentração aumenta o bastante, os dois efeitos se contrabalançam. Na temperatura normal do corpo (37°C), a diferença elétrica que vai calibrar uma dada diferença de concentração de íons *univalentes* — como íons sódio (Na^+) — pode ser determinada pela fórmula a seguir, chamada de *equação de Nernst*:

$$\text{EMF (em millivolts)} = \pm 61 \log \frac{C_2}{C_1}$$

na qual EMF é a força eletromotriz (voltagem) entre o lado 1 e o lado 2 da membrana, C_1 é a concentração no lado 1, e C_2 é a concentração no lado 2. Essa equação é extremamente importante para a compreensão da transmissão dos impulsos nervosos e é discutida com mais detalhes no Cap. 5.

Efeito da Diferença de Pressão Através da Membrana. Algumas vezes, diferenças consideráveis de pressão se desenvolvem entre os dois lados de membrana difusível. Isso

ocorre, p. ex., na membrana capilar sangüínea em todos os tecidos do corpo. A pressão é cerca de 20 mm Hg, maior dentro do capilar do que fora.

Pressão, na verdade, significa a soma de todas as forças das diferentes moléculas que se chocam com uma determinada área de superfície em um certo instante. Então, quando a pressão é maior em um lado da membrana do que no outro lado, isso significa que a soma de todas as forças das moléculas se chocando contra o canal em um lado da membrana é maior que do outro lado. Na maioria das vezes, isso é causado por grande número de moléculas se chocando a cada segundo com um dos lados da membrana, do que no outro lado. O resultado é uma quantidade maior de energia disponível para causar o movimento efetivo das moléculas do lado de alta pressão para o lado de menor pressão. Esse efeito é demonstrado na Figura 4-8C, que mostra um pistão desenvolvendo alta pressão de um lado do “poro”, desse modo fazendo com que mais moléculas se choquem contra um lado do poro e, assim, mais moléculas “se difundam” para o outro lado.

Osmose Através de Membranas Seletivamente Permeáveis — “Difusão Efetiva” de Água

De longe, a substância mais abundante que se difunde através da membrana celular é a água. A água se difunde usualmente nas duas direções, através da membrana das hemácias, a cada segundo, em um volume correspondente a cerca de 100 vezes o volume da própria célula. Todavia, nas condições normais, a quantidade que se difunde nas duas direções é equilibrada tão precisamente que o movimento efetivo da água que ocorre é zero. Conseqüentemente, o volume da célula permanece constante. Entretanto, sob certas circunstâncias, pode-se desenvolver diferença da concentração da água através de uma membrana, do mesmo modo como as diferenças de concentração podem ocorrer para outras substâncias. Quando isso ocorre, passa a existir movimento efetivo de água através da membrana celular, fazendo com que a célula inche ou encolha, dependendo da direção do movimento da água. Esse processo efetivo de movimento da água causado por sua diferença de concentração é designado como *osmose*.

Para dar um exemplo de osmose, vamos assumir as condições mostradas na Figura 4-9, com água pura de um lado da membrana celular e solução de cloreto de sódio do outro lado. As moléculas de água passam facilmente através da membrana celular para o outro lado, enquanto os íons sódio e cloreto só passam com dificuldade. Assim, a solução de cloreto de sódio é, na verdade, uma mistura de moléculas de água permeáveis e de íons sódio e cloreto não-permeáveis, sendo a membrana tida como *seletivamente permeável* para a água, mas bem menos para os íons sódio e cloreto. Contudo, a presença do sódio e do cloreto deslocou parte das moléculas de água do lado da membrana, no qual estão presentes esses íons, e, por conseguinte, reduziu a concentração de moléculas de água para menos do que a concentração da água pura. Como resultado, no exemplo da Figura 4-9, mais moléculas de água se chocam com os canais do lado esquerdo, onde está a água pura, do que do lado direito, onde a concentração de água

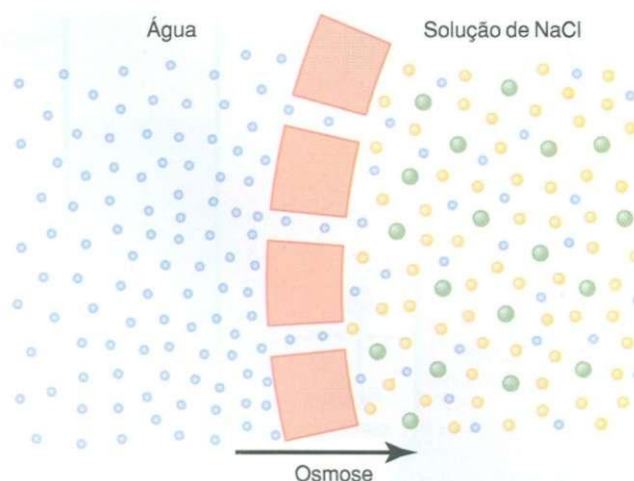


Figura 4-9

A osmose na membrana celular, quando a solução de cloreto de sódio é colocada em um lado da membrana e a água é colocada do outro lado.

foi reduzida. Dessa maneira, o movimento efetivo de água ocorre da esquerda para a direita — ou seja, ocorre osmose da água pura para a solução de cloreto de sódio.

Pressão Osmótica

Se, na Figura 4-9, fosse aplicada pressão sobre a solução de cloreto de sódio, a osmose da água para essa solução poderia diminuir, parar, ou até mesmo se inverter. A quantidade exata de pressão necessária para interromper a osmose é conhecida como *pressão osmótica* da solução de cloreto de sódio.

O princípio de diferença de pressão contrária à osmose é demonstrado na Figura 4-10, a qual mostra uma membrana seletivamente permeável separando duas colunas de líquido, uma contendo água pura e a outra contendo a solução de água e qualquer soluto que não possa penetrar a membrana. A osmose de água da coluna B para a coluna A faz com que o nível do líquido nas colunas fique cada vez mais diferente até que eventualmente a diferença de pressão desenvolvida entre os dois lados da membrana seja suficientemente intensa para se opor ao efeito osmótico. A diferença de pressão através da membrana nesse ponto é igual à pressão osmótica da solução que contém o soluto não-difusível.

A Importância do Número das Partículas Osmóticas (Concentração Molar) na Determinação da Pressão Osmótica. A pressão osmótica exercida pelas partículas em solução, sejam elas moléculas ou íons, é determinada pelo *número* dessas partículas por unidade de volume de líquido, e *não pela massa* das partículas. A razão para isso é que cada partícula em solução, independente de sua massa, exerce, em média, a mesma quantidade de pressão contra a membrana. Isto é, partículas grandes, com mais massa (*m*) do que as pequenas partículas, movem-se com velocidade menor (*v*). As partículas pequenas movem-se com maior

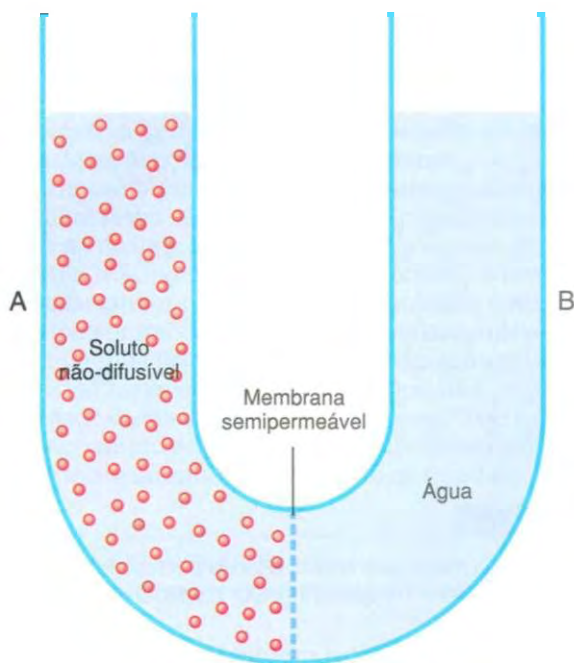


Figura 4-10

Demonstração da pressão osmótica causada por osmose em uma membrana semipermeável.

velocidade, de modo tal que suas energias cinéticas médias (k), determinadas pela equação

$$k = \frac{mv^2}{2}$$

são as mesmas para cada pequena partícula, bem como para cada partícula maior. Conseqüentemente, o fator que determina a pressão osmótica de uma solução é a concentração da solução em termos de número de partículas (que é o mesmo que a *concentração molar*, no caso de uma molécula não dissociada), e não em termos de massa do soluto.

“Osmolalidade” — O Osmol. Para expressar a concentração de uma solução em termos do número de partículas, a unidade, chamada *osmol*, é usada no lugar de gramas.

Um osmol é o peso de 1 molécula grama de soluto osmoticamente ativo. Desse modo, 180 gramas de glicose, que correspondem a 1 molécula grama de glicose, é igual a 1 osmol de glicose porque a glicose não se dissocia em íons. De modo contrário, caso um soluto se dissocie em dois íons, 1 molécula grama desse soluto vai corresponder a 2 osmóis, porque o número de partículas osmoticamente ativas é agora duas vezes maior do que para o soluto não dissociado. Assim, quando totalmente dissociado, 1 molécula grama de cloreto de sódio, 58,5 gramas, é igual a 2 osmóis.

Nesse caso, a solução que contém 1 osmol de soluto dissolvido em cada quilograma de água é conhecido por ter osmolalidade de 1 osmol por quilograma, e a solução com 1/1.000 osmol dissolvido por quilograma tem osmolalidade de 1 miliosmol por quilograma. A osmolalidade nor-

mal dos líquidos extra e intracelular é de cerca de 300 miliosmóis por quilograma de água.

Relação entre a Osmolalidade e a Pressão Osmótica. Na temperatura normal do corpo, 37°C, a concentração de 1 osmol por litro vai causar 19.300 mmHg de pressão osmótica na solução. Da mesma maneira, a concentração de 1 miliosmol por litro é equivalente a 19,3 mmHg de pressão osmótica. Ao se multiplicar esse valor pela concentração de 300 miliosmóis dos líquidos do corpo, obtém-se a pressão osmótica total dos líquidos corporais, calculada como sendo de 5.790 mmHg. O valor medido é, no entanto, em média, de cerca de 5.500 mmHg. A razão para essa diferença é que muitos dos íons nos líquidos do corpo, como os íons sódio e cloreto, são muito atraídos uns pelos outros; conseqüentemente, eles não podem se mover de forma intimamente livre, sem qualquer restrição, nesses líquidos e gerar sua pressão osmótica potencial total. Por essa razão, em média, a pressão osmótica real dos líquidos corporais fica em cerca de 0,93 vez o valor calculado.

O Termo “Osmolaridade”. Em função da dificuldade de se medir os quilogramas de água em uma solução, o que é necessário para determinar sua osmolalidade, o termo *osmolaridade*, que é a concentração osmolar expressa em osmóis por litro de solução, em vez de osmóis por quilograma de água, é então utilizado. Apesar de, em termos precisos, serem os osmóis por quilograma de água (osmolalidade) que determinam a pressão osmótica para soluções diluídas, como as existentes no corpo, a diferença quantitativa entre osmolalidade e a osmolaridade é de menos de 1%. Em razão de ser bem mais prático se medir a osmolaridade do que a osmolalidade, ela é mais utilizada na maioria dos estudos fisiológicos.

“Transporte Ativo” de Substâncias Através das Membranas

As vezes, é necessária grande concentração de uma substância no líquido intracelular, embora o líquido extracelular só contenha baixa concentração. Isso é válido, p. ex., para os íons potássio. De modo contrário, é importante manter baixas concentrações de outros íons dentro das células, mesmo que sua concentração no líquido extracelular seja alta. Isto é especialmente válido para os íons sódio. Nenhum desses dois efeitos pode ocorrer por difusão simples, porque a difusão simples, com o passar do tempo, equilibra a concentração nos dois lados da membrana. Assim, alguma fonte de energia deve causar maior deslocamento dos íons potássio para o interior da célula e deslocamento mais intenso dos íons sódio para fora das células. Quando a membrana celular transporta as moléculas ou íons “para cima”, contra um gradiente de concentração (ou “para cima”, contra um gradiente elétrico ou de pressão), o processo é chamado de *transporte ativo*.

As diversas substâncias que são ativamente transportadas através das membranas de pelo menos algumas células incluem muitos íons (sódio, potássio, cálcio, ferro, hidrogênio, cloreto, urato), vários açúcares diferentes e a maioria dos aminoácidos.

Transporte Ativo Primário e Transporte Ativo Secundário. O transporte ativo é dividido em dois tipos, de acordo com a fonte de energia usada para causar o transporte: o *transporte ativo primário* e o *transporte ativo secundário*. No transporte ativo primário, a energia é derivada diretamente da degradação do trifosfato de adenosina (ATP) ou de qualquer outro composto de fosfato com alta energia. No transporte ativo secundário, a energia é derivada secundariamente da energia armazenada na forma de diferentes concentrações iônicas de substâncias moleculares secundárias ou iônicas, entre os dois lados da membrana da célula, gerada originariamente por transporte ativo primário. Nos dois casos, o transporte depende de *proteínas transportadoras*, que penetram por toda a membrana celular, como ocorre na difusão facilitada. Entretanto, no transporte ativo, as proteínas transportadoras funcionam de modo distinto daquelas da difusão facilitada, pois são capazes de transferir energia para a substância transportada para movê-la contra o gradiente eletroquímico. A seguir estão alguns exemplos de transporte ativo primário e transporte ativo secundário, com explanações mais detalhadas dos seus princípios de funcionamento.

Transporte Ativo Primário

Bomba de Sódio-Potássio

Entre as substâncias que são transportadas por transporte ativo primário estão o sódio, o potássio, o cálcio, o hidrogênio, o cloreto e alguns outros íons.

O mecanismo de transporte ativo, estudado em maiores detalhes, é a *bomba de sódio-potássio* ($\text{Na}^+\text{-K}^+$), um processo de transporte que bombeia íons sódio para fora, através da membrana celular de todas as células, e, ao mesmo tempo, bombeia íons potássio de fora para dentro. Essa bomba é a responsável pela manutenção das diferenças de concentração entre o sódio e o potássio, através da membrana celular, bem como pelo estabelecimento da voltagem elétrica negativa dentro das células. De fato, o Capítulo 5 mostra que essa bomba é também a base para função nervosa, transmitindo sinais nervosos por todo o sistema nervoso.

A Figura 4-11 mostra os componentes físicos básicos da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. A *proteína transportadora* é um complexo de duas proteínas globulares separadas: a maior é chamada de subunidade α , com peso molecular em torno de 100.000, e a menor é chamada de subunidade β , com peso molecular em torno de 55.000. Apesar da função da proteína menor não ser conhecida (a não ser que, talvez, fixe esse complexo protéico à membrana lipídica), a maior proteína (subunidade α) apresenta três características específicas importantes para o funcionamento da bomba:

1. Ela contém três *locais receptores para a ligação de íons sódio* na porção da proteína que se projeta para dentro da célula.
2. Ela contém dois *locais receptores para os íons potássio* na sua porção externa.
3. A porção interna dessa proteína, perto do local de ligação do sódio, tem atividade ATPase.

Para se ter uma visão global dessa bomba: quando dois íons potássio se ligam à parte externa da proteína trans-

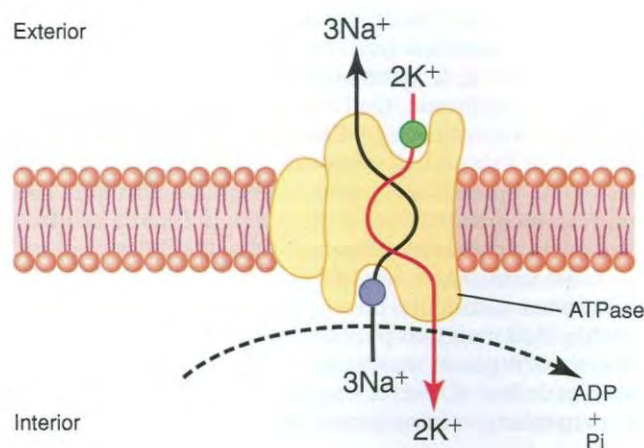


Figura 4-11

Mecanismo postulado para a bomba de sódio-potássio. ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina; P_i , íon fosfato.

portadora e três íons sódio se ligam à parte interna, a função de ATPase da proteína torna-se ativada. Isso, então, cliva uma molécula de ATP, dividindo-a em difosfato de adenosina (ADP) e liberando uma ligação fosfato de alta energia. Acredita-se que essa energia liberada cause alteração química e conformacional da molécula da proteína transportadora, extrudando os três íons sódio para fora e os dois íons potássio para dentro.

Do mesmo modo como outras enzimas, a bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase pode funcionar de forma inversa. Caso os gradientes eletroquímicos para Na^+ e K^+ forem experimentalmente aumentados o suficiente, de forma tal que a energia armazenada em seus gradientes seja maior que a energia química da hidrólise da ATP, esses íons vão baixar seus gradientes de concentrações e a bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ vai sintetizar o ATP a partir de ADP e de fosfato. A forma fosforilada da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, por conseguinte, pode tanto doar seu fosfato para o ADP, para produzir ATP, quanto usar a energia para mudar sua estrutura e bombear Na^+ para fora da célula e o K^+ para dentro da célula. As concentrações relativas da ATP, ADP e fosfato, assim como os gradientes eletroquímicos de Na^+ e K^+ , determinam a direção da reação das enzimas. Para algumas células, como as células nervosas eletricamente ativas, de 60% a 70% das necessidades de energia das células talvez sejam direcionadas para bombear o Na^+ para fora da célula e o K^+ para dentro.

A Importância da Bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ no Controle do Volume Celular.

Uma das mais importantes funções da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ é controlar o volume de cada célula. Sem a função dessa bomba, a maioria das células de corpo incharia até estourar. O mecanismo para controlar o volume celular é o seguinte: dentro da célula, existe grande número de proteínas e de outras moléculas orgânicas que não podem sair das células. A maioria delas tem carga negativa, atraindo grande número de potássio, sódio e outros íons positivos. Todas essas moléculas e íons vão provocar a osmose de água para o interior da célula. A menos que essa osmose seja interrompida, a célula irá inchar até estourar. O mecanismo normal para impedir que isso

ocorra é o da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Note, de novo, que esse mecanismo bombeia três íons Na^+ para fora da célula a cada dois íons de K^+ que são bombeados para o interior da célula. A membrana, também, é bem menos permeável aos íons e sódio do que aos íons potássio; desse modo, uma vez que os íons sódio estão do lado de fora, eles apresentam forte tendência a permanecerem ali. Portanto, isso representa uma perda real de íons para fora da célula, o que inicia a osmose da água para fora da célula.

Caso uma célula comece a inchar por alguma razão, isso automaticamente ativa a bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, transferindo ainda mais íons para fora da célula e conseqüentemente carregando mais água com eles. Por essa razão, a bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ exerce um papel de vigilância contínua para manter o volume normal da célula.

Natureza Eletrogênica da Bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. O fato de a bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ transferir três íons Na^+ para o exterior da célula e ao mesmo tempo dois íons K^+ para o seu interior, significa que, na realidade, apenas uma carga positiva é transportada do interior da célula para o exterior, a cada ciclo da bomba. Isso resulta em positividade do lado externo da célula mas cria um déficit interno de íons positivos. Conseqüentemente, o bombeamento de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ é dito ser *eletrogênico* por produzir um potencial elétrico através da membrana celular. Como discutido no Capítulo 5, esse potencial elétrico é um requisito básico, nas fibras musculares e nervosas, para a transmissão dos sinais musculares e nervosos.

Transporte Ativo Primário dos Íons Cálcio

Outro mecanismo importante de transporte ativo primário é o da *bomba de cálcio*. Os íons cálcio são, nas condições normais, mantidos em concentração extremamente baixa no citosol intracelular de, virtualmente, todas as células do corpo, concentração essa que é cerca de 10.000 vezes menor do que no líquido extracelular. Essa situação resulta, em grande parte, do transporte ativo primário por duas bombas de cálcio. Uma está na membrana celular, transportando cálcio para o exterior. A outra bombeia os íons cálcio para dentro de uma ou mais organelas vesiculares intracelulares da célula, como o retículo sarcoplasmático das células musculares e as mitocôndrias de todas as células. Em cada um desses casos, a proteína transportadora atravessa a membrana e atua como enzima ATPase, tendo a mesma capacidade de clivar o ATP como a ATPase da proteína transportadora do sódio. A diferença é que esta proteína contém um local de ligação extremamente específico para o cálcio, em vez de para o sódio.

Transporte Ativo Primário dos Íons Hidrogênio

Em dois locais no corpo, o transporte ativo primário dos íons hidrogênio é muito importante: (1) nas glândulas gástricas do estômago e (2) nos túbulos distais finais e nos ductos coletores corticais dos rins.

Nas glândulas gástricas, as *células parietais* das camadas mais profundas apresentam o mecanismo ativo primário mais potente para transportar os íons hidrogênio de qualquer parte do corpo. Ele é a base para a secreção de ácido clorídrico das secreções digestivas do estômago. Nas extremidades secretoras das células parietais da glândula gástrica, a concentração de íons hidrogênio aumenta por até um milhão de vezes, sendo, então, libe-

rada no estômago, junto com íons cloreto, para formar o ácido clorídrico.

Nos túbulos renais, existem *células intercaladas* especiais, nos túbulos distais finais e nos ductos coletores corticais, que também transportam íons hidrogênio por transporte ativo primário. Nesse caso, grandes quantidades de íons hidrogênio são secretadas do sangue para a urina, para promover a eliminação do excesso de íons hidrogênio dos líquidos corporais. Os íons hidrogênio podem ser secretados na urina contra um gradiente de concentração de cerca de 900 vezes.

Energética do Transporte Ativo Primário

A quantidade de energia necessária para transportar ativamente uma substância através da membrana é determinada pela concentração da substância durante o transporte. Comparada com a energia necessária para concentrar a substância por 10 vezes, para poder concentrá-la em 100 vezes será preciso duas vezes mais energia, e para concentrá-la 1.000 vezes será preciso três vezes mais energia. Em outras palavras, a energia necessária é proporcional ao *logaritmo* do grau de concentração da substância, como expressa pela seguinte fórmula:

$$\text{Energia (em calorias por osmol)} = 1.400 \log \frac{C_1}{C_2}$$

Desse modo, em termos de calorias, a quantidade de energia necessária para concentrar 1 osmol da substância por 10 vezes é de cerca de 1.400 calorias; para concentrá-la por 100 vezes, 2.800 calorias. Pode-se notar que o consumo de energia para concentrar substâncias no interior das células ou para remover substâncias das células contra um gradiente de concentração pode ser muito grande. Algumas células, como as que revestem os túbulos renais e várias outras células glandulares, consomem, apenas para essas atividades, cerca de 90% de sua energia.

Transporte Ativo Secundário — Co-transporte e Contratransporte

Quando o sódio é transportado para fora da célula por transporte ativo primário, em geral forma-se grande gradiente de concentração dos íons sódio através da membrana celular — alta concentração fora da célula e concentração interna muito baixa. Esse gradiente representa um reservatório de energia, porque o excesso de sódio, do lado de fora da membrana celular, está sempre tentando se difundir para o interior. Sob condições apropriadas, essa energia de difusão do sódio pode empurrar outras substâncias, junto com o sódio, através da membrana celular. Esse fenômeno é referido como *co-transporte*; é uma forma de *transporte ativo secundário*.

Para o sódio levar consigo outras substâncias, é necessário um mecanismo de ligação. Esse mecanismo é alcançado por meio de outra proteína transportadora na membrana celular. O transportador, neste caso, atua como local de ligação para o íon sódio e para a substância a ser co-transportada. Uma vez em que ambos estejam ligados, o gradiente de energia do íon sódio faz com que o íon sódio e a outra substância a ser transportada entrem para o interior da célula.

No *contratransporte*, os íons sódio tentam outra vez se difundir para o interior da célula, devido a seu grande gradiente de concentração. Entretanto, dessa vez, a substância a ser transportada está na parte interna da célula e deve ser transportada para o lado externo. Por essa razão, o íon sódio se liga à proteína transportadora onde se projeta para o exterior da membrana, enquanto a substância a ser contratransportada se liga à projeção da proteína transportadora para o interior da célula. Uma vez que ambos já se ligaram, ocorre alteração conformacional, e a energia liberada pelo sódio em sua difusão para dentro da célula faz com que a outra substância seja transportada para o exterior.

Co-transporte de Glicose e Aminoácidos junto com os Íons Sódio

A glicose e muitos aminoácidos são transportados para dentro das células contra grandes gradientes de concentração; o mecanismo para isso é, em sua totalidade, o de co-transporte, como mostra a Figura 4-12. Note que a proteína transportadora tem dois locais de ligação em seu lado externo, um para o sódio e o outro para a glicose. Também, a concentração dos íons sódio é muito alta do lado externo e muito baixa no lado interno da membrana, o que fornece energia para o transporte. Uma propriedade especial da proteína transportadora é que a alteração conformacional, para permitir que o sódio se movimente para o interior, não ocorre até que a molécula da glicose também se ligue. Quando ambos estão ligados, a alteração conformacional se dá de forma automática, com o sódio e a glicose sendo transportados para a parte interna da célula a um só tempo. Por isso, esse é o mecanismo de *co-transporte sódio-glicose*.

O *co-transporte do sódio dos aminoácidos* ocorre da mesma maneira que para a glicose, a não ser que dele participa um conjunto diferente de proteínas transportadoras. Até o presente, já foram identificadas cinco *proteínas transportadoras de aminoácidos*, cada uma delas sendo responsável pelo transporte de um subgrupo de aminoácidos com características moleculares específicas.

O co-transporte do sódio da glicose e dos aminoácidos ocorre de modo especial nas células epiteliais do trato intestinal e dos túbulos renais, para promover a absorção dessas substâncias pelo sangue, como discutido em capítulos adiante.

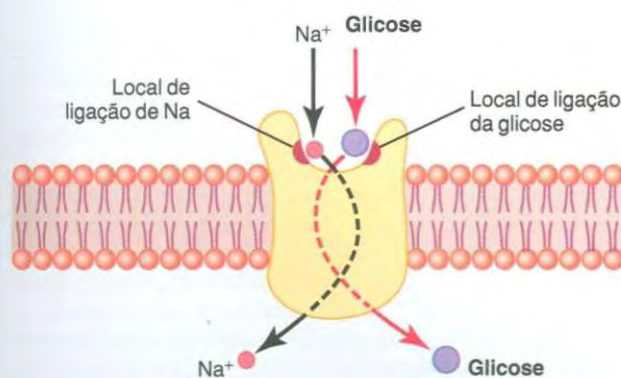


Figura 4-12

Mecanismo postulado para o co-transporte de sódio-glicose.

Outro importante mecanismo de co-transporte em pelo menos algumas células inclui o co-transporte dos íons cloreto, íons iodo, íons ferro e íons urato.

Contratransporte do Sódio e Íons Cálcio e Hidrogênio

Dois importantes mecanismos de contratransporte (transporte na direção oposta à do íon primário) são os *contratransportes de sódio-cálcio* e de *sódio-hidrogênio*.

O contratransporte de sódio-cálcio ocorre através de todas ou quase todas as membranas celulares, com os íons sódio se movendo para o interior e os íons cálcio para o exterior, ambos ligados à mesma proteína transportadora, no modo de contratransporte. Isso acontece em adição ao transporte ativo primário de cálcio que ocorre em algumas células.

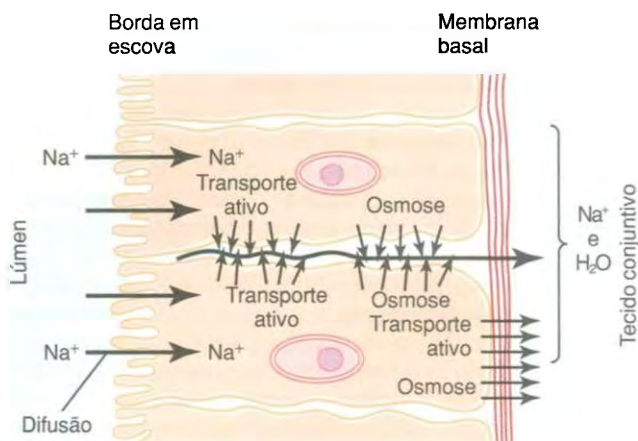
O contratransporte de sódio-hidrogênio ocorre em vários tecidos. Um exemplo especialmente importante é o que ocorre nos *túbulos proximais* dos rins, onde os íons sódio se movem do lúmen dos túbulos para o interior da célula tubular, enquanto os íons hidrogênio são contratransportados para o lúmen dos túbulos. Como mecanismo para concentrar os íons hidrogênio, o contratransporte sódio-hidrogênio é bem menos potente que o transporte ativo primário dos íons hidrogênio dos túbulos renais mais distais, que é extremamente potente mas pode transportar *uma quantidade muito grande de íons hidrogênio*, sendo, assim, uma etapa importante no controle dos íons hidrogênio nos líquidos corporais, como discutido em detalhes no Capítulo 30.

Transporte Ativo Através das Camadas Celulares

Em vários locais do corpo, as substâncias devem ser transportadas através de toda a espessura das camadas de células, em vez de, simplesmente, através da membrana celular. Esse tipo de transporte ocorre através dos epitélios (1) intestinal, (2) tubular renal, (3) de todas as glândulas exócrinas, (4) da vesícula biliar e (5) da membrana do plexo coróide do cérebro e outras membranas.

O mecanismo básico de transporte de uma substância através da camada celular é (1) *transporte ativo* através da membrana celular *de um lado* das células transportadoras nas camadas e então (2) *difusão simples* ou *difusão facilitada* através da membrana *no lado oposto* da célula.

A Figura 4-13 mostra o mecanismo para o transporte dos íons sódio através da camada epitelial dos intestinos, da vesícula biliar e dos túbulos renais. Essa figura mostra que as células epiteliais são fortemente conectadas perto de seus pólos luminiais, por meio de junções chamadas “beijos”. A borda em escova da superfície luminal das células é permeável tanto aos íons sódio quanto à água. Portanto, o sódio e a água se difundem prontamente do lúmen para o interior da célula. Então, nas membranas basais e laterais da célula, os íons sódio são ativamente transportados para o líquido extracelular do tecido conjuntivo circundante e para os vasos sanguíneos. Isso cria um forte gradiente de concentração para os íons sódio através destas membranas, que, por sua vez, provocam osmose da água. Desse modo, o transporte ativo dos íons sódio pelas superfícies basolaterais das células epiteliais

**Figura 4-13**

Mecanismo básico do transporte ativo através das camadas celulares.

resulta em transporte não apenas dos íons sódio como também da água.

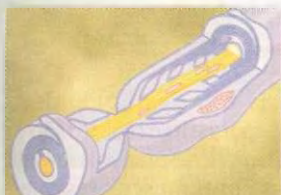
Esses são os mecanismos pelos quais a maioria dos nutrientes, dos íons e de outras substâncias é absorvida para o sangue pelo intestino; eles também são o modo como as mesmas substâncias são reabsorvidas do filtrado glomerular pelos túbulos renais.

Por todo este texto, existem vários exemplos dos diferentes tipos de transporte discutidos neste capítulo.

Referências

- Agre P, Kozono D: Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett* 555:72, 2003.
- Benos DJ, Stanton BA: Functional domains within the degenerin/epithelial sodium channel (Deg/ENaC) super-family of ion channels. *J Physiol* 520:631, 1999.
- Caplan MJ: Ion pump sorting in polarized renal epithelial cells. *Kidney Int* 60:427, 2001.
- Decoursey TE: Voltage-gated proton channels and other proton transfer pathways. *Physiol Rev* 83:475, 2003.
- De Weer P: A century of thinking about cell membranes. *Annu Rev Physiol* 62:919, 2000.
- Dolphin AC: G protein modulation of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev* 55:607, 2003.
- Jentsch TJ, Stein V, Weinreich F, Zdebik AA: Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev* 82:503, 2002.
- Kaupp UB, Seifert R: Cyclic nucleotide-gated ion channels. *Physiol Rev* 82:769, 2002.
- Kellenberger S, Schild L: Epithelial sodium channel/degenerin family of ion channels: a variety of functions for a shared structure. *Physiol Rev* 82:735, 2002.
- MacKinnon R: Potassium channels. *FEBS Lett* 555:62, 2003.
- Peres A, Giovannardi S, Bossi E, Fesce R: Electrophysiological insights into the mechanism of ion-coupled cotransporters. *News Physiol Sci* 19:80, 2004.
- Philipson KD, Nicoll DA, Ottolia M, et al: The $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange molecule: an overview. *Ann N Y Acad Sci* 976:1, 2002.
- Rossier BC, Pradervand S, Schild L, Hummler E: Epithelial sodium channel and the control of sodium balance: interaction between genetic and environmental factors. *Annu Rev Physiol* 64:877, 2002.
- Russell JM: Sodium-potassium-chloride cotransport. *Physiol Rev* 80:211, 2000.

Potenciais de Membrana e Potenciais de Ação



Existem potenciais elétricos em todas as membranas de virtualmente todas as células do corpo. Além disso, algumas células, como as células nervosas e as dos músculos, são capazes de gerar impulsos eletroquímicos que se modificam com grande rapidez em suas membranas, e esses impulsos são usados para transmitir sinais por toda a membrana dos nervos e músculos.

Ainda, em outros tipos de células, como, por exemplo, as células glandulares, os macrófagos e as células ciliadas, alterações locais dos potenciais de membrana também ativam muitas funções celulares. A presente discussão é sobre os potenciais de membrana gerados tanto durante o repouso quanto durante a atividade das células nervosas e musculares.

Física Básica dos Potenciais de Membrana

Potenciais de Membrana Causados pela Difusão

“Potencial de Difusão” Causado pela Diferença entre as Concentrações Iônicas nos Dois Lados da Membrana. Na Figura 5-1A, a concentração de potássio é maior no *lado interno* da membrana da fibra nervosa, mas bastante *baixa* na sua face *externa*. Vamos então assumir que a membrana, nesse instante, é permeável aos íons potássio e a mais nenhum outro íon. Por causa do alto gradiente de concentração do potássio de dentro para fora, existe uma forte tendência para que um maior número de íons potássio se difunda para fora, através da membrana. Quando o fazem, eles levam cargas elétricas positivas para o exterior, criando, assim, eletropositividade do lado externo da membrana e eletronegatividade interna, por causa dos ânions negativos que permanecem no lado interno, não se difundindo para fora com o potássio. Em cerca de um milissegundo, a diferença de potencial entre as partes interna e externa, chamada *potencial de difusão*, torna-se suficientemente grande para bloquear a difusão efetiva do potássio para o exterior, apesar do alto gradiente de concentração dos íons potássio. Nas fibras nervosas normais de mamíferos, a *diferença de potencial necessária é de cerca de 94 milivolts, com negatividade no lado interno da membrana*.

A Figura 5-1B mostra o mesmo fenômeno que a Figura 5-1A, só que, dessa vez, com alta concentração de íons sódio *fora* da membrana e baixa quantidade de sódio do *lado de dentro*. Esses íons têm também carga positiva. Nesse instante, a membrana é muito permeável aos íons sódio, mas impermeável a todos os outros íons. A difusão dos íons sódio, positivamente carregados, para a parte interna, cria um potencial de membrana com polaridade oposta à da Figura 5-1A, com negatividade externa e positividade interna. Novamente, o potencial de membrana aumenta o suficiente, dentro de milissegundos, para bloquear a difusão efetiva dos íons sódio para dentro; entretanto, a esse tempo, nas fibras nervosas de mamíferos, *o potencial fica em torno de 61 milivolts, positivo dentro da fibra*.

Desse modo, nas duas partes da Figura 5-1, vê-se que as diferenças entre as concentrações iônicas nos dois lados de uma membrana seletivamente permeável, pode, sob condições apropriadas, criar um potencial de membrana. Nas seções seguintes deste capítulo, mostraremos que muitas variações rápidas dos potenciais de membrana durante a transmissão dos impulsos nervosos e musculares resultam da ocorrência dessas rápidas variações dos potenciais de difusão.

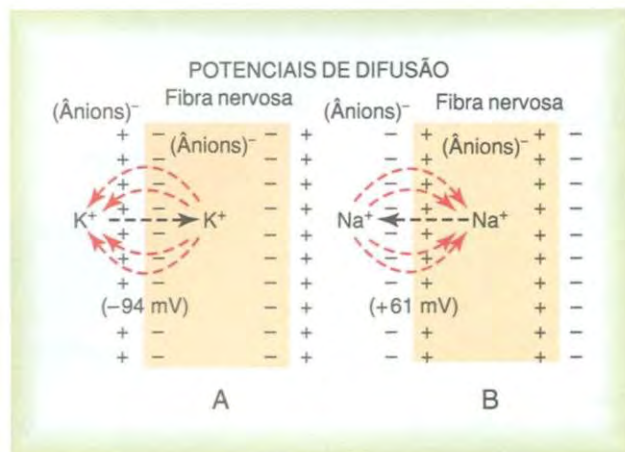


Figura 5-1

A, O estabelecimento do potencial de "difusão" através da membrana da fibra nervosa, causado pela difusão dos íons potássio de dentro da célula para fora, através da membrana que é seletivamente permeável somente ao potássio. B, O estabelecimento de "potencial de difusão" quando a membrana da fibra nervosa só é permeável aos íons sódio. Note que o potencial de membrana interno é negativo quando os íons potássio se difundem e positivo quando os íons sódio se difundem, em razão dos gradientes de concentração opostos desses dois íons.

Relação do Potencial de Difusão com a Diferença de Concentração — O Potencial de Nernst. O nível do potencial de difusão em toda a membrana que se opõe exatamente ao da difusão efetiva de um íon em particular, através da membrana, é conhecido como *potencial de Nernst* para esse íon, termo já introduzido no Capítulo 4. A grandeza desse potencial de Nernst é determinada pela *proporção* entre as concentrações desse íon específico nos dois lados da membrana. Quanto maior essa proporção, maior será a tendência para que o íon se difunda em uma direção, e, por conseguinte, maior o potencial de Nernst necessário para evitar difusão efetiva adicional. A equação a seguir, chamada de *equação de Nernst*, pode ser usada para o cálculo do potencial de Nernst para qualquer íon univalente, na temperatura normal do corpo de 37°C:

$$\text{EMF (milivolts)} = \pm 61 \log \frac{\text{Concentração interna}}{\text{Concentração externa}}$$

onde EMF é a força eletromotiva.

Quando se usa essa fórmula, em geral se assume que o potencial no líquido extracelular, por fora da membrana, permanece no potencial zero, e o potencial de Nernst é o potencial no lado interno da membrana. Também, o sinal do potencial é positivo (+) se o íon, difundindo-se de dentro para fora, for um íon negativo, e negativo (-) se o íon for positivo. Dessa maneira, quando a concentração dos íons positivos de potássio, na parte interna, for 10 vezes maior que na parte externa, o log de 10 é 1, de modo que o potencial de Nernst é calculado como -61 milivolts no lado interno da membrana.

Cálculo do Potencial de Difusão Quando a Membrana é Permeável a Vários Íons Diferentes Quando a membrana é permeável a vários íons diferentes, o potencial de difusão que se desenvolve depende de

três fatores: (1) a polaridade das cargas elétricas de cada íon, (2) a permeabilidade da membrana (P) para cada íon e (3) as concentrações (C) dos respectivos íons no lado interno (i) e no lado externo (e) da membrana. Assim, a seguinte fórmula, referida como *equação de Goldman* ou como *equação de Goldman-Hodgkin-Katz*, dá o potencial calculado do lado interno da membrana quando dois íons positivos univalentes, sódio (Na^+) e potássio (K^+) e um íon univalente negativo, cloreto (Cl^-), estão envolvidos.

EMF (milivolts)

$$= -61 \cdot \log \frac{C_{\text{Na}^+}_i P_{\text{Na}^+} + C_{\text{K}^+}_i P_{\text{K}^+} + C_{\text{Cl}^-}_o P_{\text{Cl}^-}}{C_{\text{Na}^+}_o P_{\text{Na}^+} + C_{\text{K}^+}_o P_{\text{K}^+} + C_{\text{Cl}^-}_i P_{\text{Cl}^-}}$$

Vamos estudar a importância e o significado dessa equação. Primeiro, os íons sódio, potássio e cloreto são os íons mais importantes envolvidos no desenvolvimento dos potenciais de membrana nas fibras musculares e nervosas, bem como nas células neuronais do sistema nervoso. O gradiente de concentração de cada um desses íons, através da membrana, ajuda a determinar a voltagem do potencial de membrana.

Segundo, o grau de importância de cada um desses íons na determinação da voltagem é proporcional à permeabilidade da membrana para cada íon em particular. Isto é, se a membrana tiver permeabilidade zero para os íons potássio e cloreto, o potencial de membrana passa a ser totalmente dominado pelo gradiente de concentração dos íons sódio, e o potencial resultante será igual ao potencial de Nernst para o sódio. O mesmo acontece para cada um dos outros dois íons, se a membrana ficar seletivamente permeável somente para um ou para outro.

Terceiro, um gradiente positivo de concentração iônica de *dentro* para *fora* da membrana causa eletronegatividade no lado de dentro da membrana. A razão para isso é que o excesso de íons positivos se difunde de fora quando sua concentração é maior dentro do que fora. Isso leva cargas positivas para fora mas deixa os ânions negativos não-difusíveis na parte interna, criando, assim, eletronegatividade na parte interna. O efeito oposto ocorre quando existe um gradiente para um íon negativo. Isto é, um gradiente de íon cloreto da parte *externa* para a *parte interna* causa eletronegatividade dentro da célula porque o íon cloreto, com cargas negativas, difunde-se para dentro, deixando os íons positivos não-difusíveis do lado de fora.

Quarto, como explicado adiante, a permeabilidade dos canais de sódio e potássio passa por rápidas alterações durante a transmissão dos impulsos nervosos, enquanto a permeabilidade dos canais de cloreto não tem grandes alterações durante esse processo. Assim, rápidas alterações da permeabilidade do sódio e do potássio são primariamente responsáveis pela transmissão de sinais nos nervos, o que é o objeto do restante deste capítulo.

Medida do Potencial de Membrana

O método para medir o potencial de membrana é simples na teoria mas em geral complicado na prática, em razão das pequenas dimensões da maioria das fibras. A Figura 5-2 mostra uma pequena pipeta cheia com solução eletrolítica.

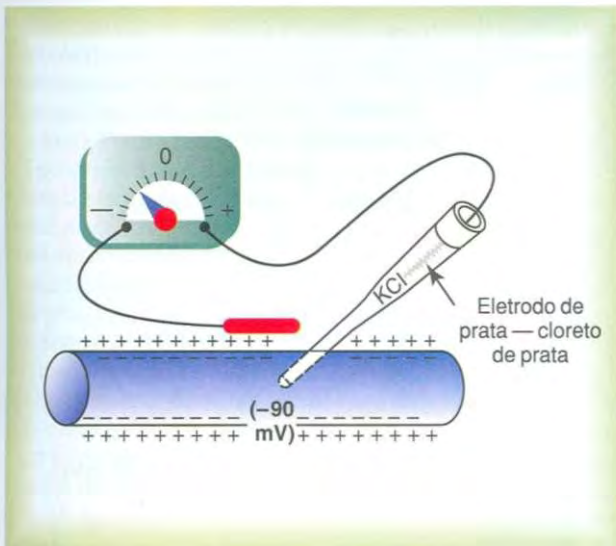


Figura 5-2

Medida do potencial de membrana da fibra nervosa usando um microeletrodo.

A pipeta é introduzida, através da membrana celular, para o interior da fibra. Então, outro eletrodo, chamado “eletrodo indiferente”, é colocado no líquido extracelular, e a diferença potencial entre as partes interna e externa da fibra é medida usando-se um voltímetro apropriado. Esse voltímetro é um aparelho eletrônico altamente sofisticado que é capaz de medir voltagens muito pequenas, apesar da extremamente alta resistência ao fluxo elétrico da ponta da micropipeta, a qual tem um lúmen de diâmetro geralmente menor que 1 micrômetro e resistência maior que um milhão de ohms. Para registrar as rápidas alterações do potencial de membrana durante a transmissão dos impulsos nervosos, o microeletrodo é conectado a um osciloscópio, como explicado adiante, neste capítulo.

A parte inferior da Figura 5-3 mostra o potencial elétrico que é medido em cada ponto ou próximo da membrana da fibra nervosa, começando do lado esquerdo da figura e passando para o direito. Enquanto o eletrodo está do lado externo da membrana, o registro do potencial é zero, que é o potencial do líquido extracelular. Então, conforme o eletrodo que está registrando passa através da área de variação da voltagem na membrana celular (chamada *camada do dipolo elétrico*), o potencial passa, abruptamente, para -90 milivolts. Ao se mover o microeletrodo para o centro da fibra, o potencial permanece no nível constante de -90 milivolts, mas volta de novo a zero no instante em que passa através da membrana para o lado oposto da fibra.

Para criar um potencial negativo dentro da membrana, devem ser transportados para o exterior somente íons positivos suficientes para desenvolver a camada do dipolo elétrico na própria membrana. Todos os íons que permanecem dentro da fibra nervosa podem ser positivos ou negativos, como mostra o painel superior da Figura 5-3. Por essa razão, um número inacreditavelmente pequeno de íons precisa ser transferido através da membrana para estabelecer o “potencial de repouso” normal de -90 milivolts dentro da fibra nervosa; isso significa que somente 1/3.000.000 a 1/100.000.000 da carga positiva total dentro da fibra precisa ser transferido. Também, um número igualmente pequeno de íons positivos movendo-se de fora

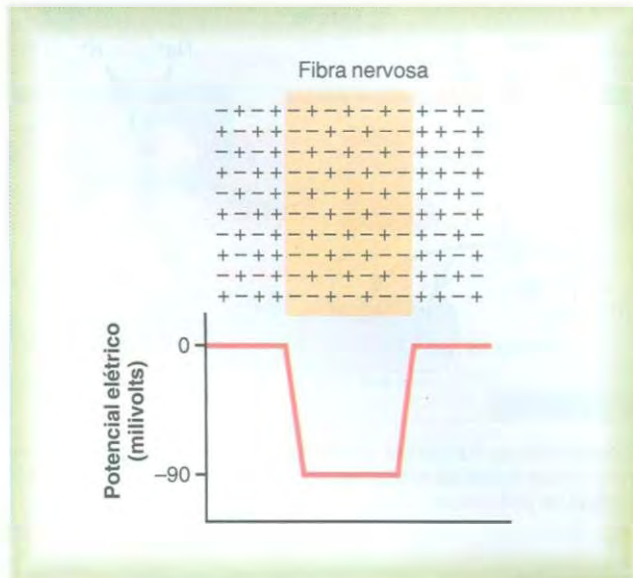


Figura 5-3

A distribuição dos íons com cargas positivas e negativas no líquido extracelular, em volta da fibra nervosa, e no líquido dentro da fibra; observe o alinhamento das cargas negativas ao longo da superfície interna da membrana e das cargas positivas pela superfície externa. O painel inferior mostra as alterações abruptas no potencial de membrana que ocorrem nas membranas nos dois lados da fibra.

para dentro da fibra pode inverter o potencial de -90 milivolts para o máximo de +35 milivolts, dentro de apenas 1/10.000 de segundo. A rápida alternância de íons, dessa maneira, causa os sinais nervosos discutidos nas seções seguintes deste capítulo.

Potencial de Repouso das Membranas dos Nervos

O potencial de repouso das membranas das fibras nervosas mais grossas, quando estas não estão transmitindo sinais nervosos, é de cerca de -90 milivolts. Isto é, o potencial *dentro da fibra* é 90 milivolts mais negativo do que o potencial no líquido extracelular, do lado de fora da fibra. Nos próximos parágrafos, iremos explicar todos os fatores que determinam esse nível do potencial de repouso mas, antes disso, precisamos descrever as propriedades de transporte da membrana nervosa em repouso para o sódio e para o potássio.

Transporte Ativo dos Íons Sódio e Potássio através da Membrana — A Bomba de Sódio-Potássio ($\text{Na}^+\text{-K}^+$). Primeiro, vamos recordar, do Capítulo 4, que todas as membranas celulares do corpo contêm uma forte bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ que transporta continuamente íons sódio para fora da célula e íons potássio para dentro da célula, como ilustrado no lado esquerdo na Figura 5-4. Além disso, note que essa é uma *bomba eletrogênica*, porque mais cargas positivas são bombeadas para fora que para dentro (três íons Na^+ para fora, a cada dois íons K^+ para dentro), deixando um déficit real de íons positivos na parte de dentro;

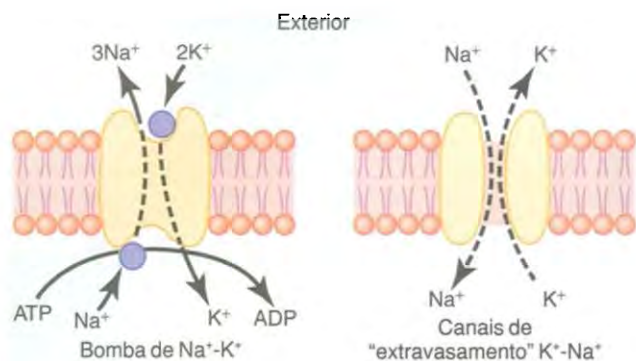


Figura 5-4

Características funcionais da bomba de Na⁺-K⁺ e os canais de "extravasamento" de K⁺-Na⁺. ADP, difosfato de adenosina; ATP, trifosfato de adenosina.

isso gera um potencial negativo no lado de dentro das membranas celulares.

A bomba de Na⁺-K⁺ produz, também, grande gradiente de concentração para o sódio e para o potássio, através da membrana nervosa em repouso. Esses gradientes são os seguintes:

Na ⁺ (externo):	142 mEq/l
Na ⁺ (interno):	14 mEq/l
K ⁺ (externo):	4 mEq/l
K ⁺ (interno):	140 mEq/l

As proporções entre esses dois íons respectivos, de dentro para fora, são:

$$\frac{\text{Na}^+_{\text{interno}}}{\text{Na}^+_{\text{externo}}} = 0,1$$

$$\frac{\text{K}^+_{\text{interno}}}{\text{K}^+_{\text{externo}}} = 35,0$$

Extravasamento do Potássio e do Sódio através da Membrana Nervosa. O lado direito da Figura 5-4 mostra um canal protéico na membrana nervosa, pelo qual íons potássio e sódio podem extravasar, referido como canal de "extravasamento" de potássio-sódio (Na⁺-K⁺). A ênfase é no extravasamento de potássio porque, em média, os canais são muito mais permeáveis ao potássio do que ao sódio, normalmente cerca de 100 vezes mais permeáveis. Como discutido adiante, esse diferencial na permeabilidade é muito importante na determinação do nível do potencial de repouso normal da membrana.

Origem do Potencial de Repouso Normal da Membrana

A Figura 5-5 mostra os fatores importantes para o estabelecimento do potencial de repouso normal da membrana em -90 milivolts. Eles são os seguintes.

Contribuição do Potencial de Difusão do Potássio. Na Figura 5-5A, admite-se que o único movimento iônico através da membrana é o de difusão dos íons potássio, como demonstrado pelos canais abertos entre os símbolos de potássio (K⁺) dentro e fora da membrana. Por causa da

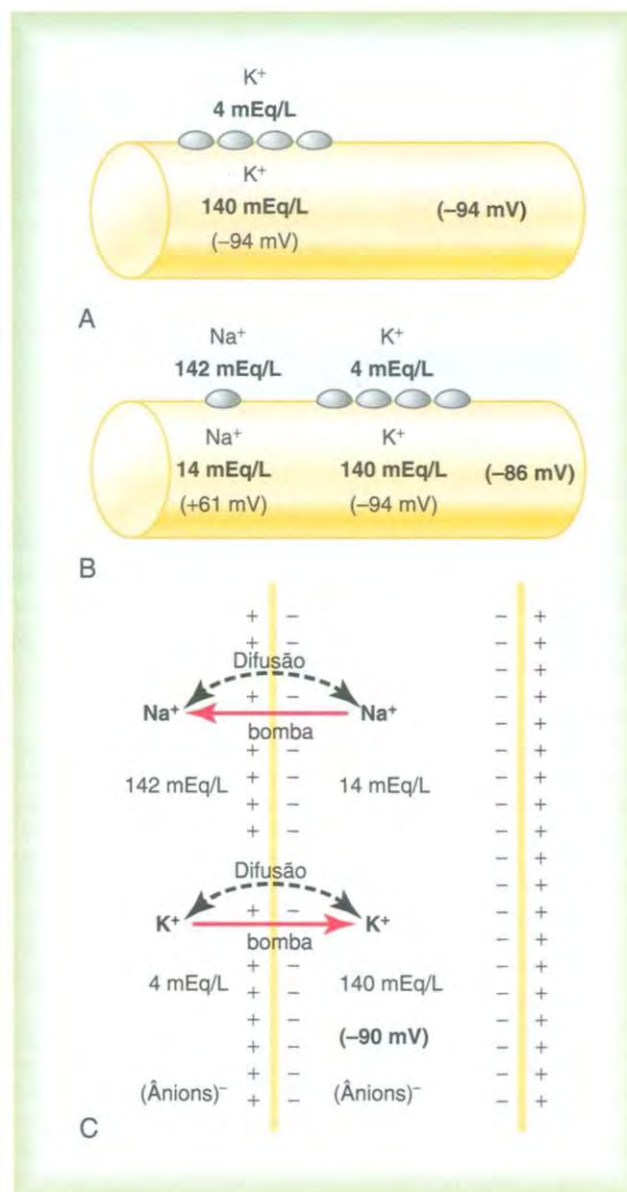


Figura 5-5

O estabelecimento do potencial de repouso da membrana nas fibras nervosas sob três condições: A, quando o potencial de membrana é causado somente pela difusão do potássio; B, quando o potencial de membrana é causado pela difusão de ambos os íons, potássio e sódio; e C, quando o potencial de membrana é causado tanto pela difusão dos íons potássio e sódio mais o bombeamento desses dois íons pela bomba de Na⁺-K⁺.

alta proporção dos íons potássio dentro e fora, 35:1, o potencial de Nernst correspondente a essa proporção é de -94 milivolts, porque o logaritmo de 35 é 1,54, que, multiplicado por -61 milivolts, dá -94 milivolts. Portanto, se os íons de potássio fossem os únicos fatores causadores do potencial de repouso, o potencial de repouso dentro da fibra seria igual a -94 milivolts, como mostra a figura.

Contribuição da Difusão do Sódio através da Membrana Nervosa. A Figura 5-5B mostra a adição da pequena permeabilidade da membrana nervosa aos íons sódio causada pela difusão diminuta dos íons sódio pelos canais de extra-

vasamento de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. A proporção entre os íons sódio, através da membrana, de dentro para fora, é de 0,1, o que corresponde ao potencial calculado de Nernst no lado de dentro da membrana de +61 milivolts. Mas também é mostrado, na Figura 5-5B, o potencial de Nernst para a difusão do potássio, que é de -94 milivolts. Como eles interagem entre si e qual será o potencial resultante? Essas perguntas podem ser respondidas pela equação de Goldman, descrita anteriormente. Intuitivamente, pode-se observar que se a membrana for muito permeável ao potássio mas apenas pouco permeável ao sódio, é lógico que a difusão do potássio contribuirá muito mais para o potencial de membrana do que para a difusão do sódio. Na fibra nervosa normal, a permeabilidade da membrana ao potássio é cerca de 100 vezes maior do que sua permeabilidade ao sódio. Ao usar este valor na equação de Goldman, será obtido o potencial do lado de dentro da membrana de -86 milivolts, que se aproxima do potencial de potássio mostrado na figura.

Contribuição da Bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Na Figura 5-5C, a bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ é mostrada como contribuindo, adicionalmente, para o potencial de repouso. Nessa figura, ocorre bombeamento contínuo de três íons sódio para o exterior para cada dois íons potássio bombeados para o interior da membrana. O fato de mais íons sódio serem bombeados para fora do que íons potássio para dentro produz perda contínua de cargas negativas pelo lado interno da membrana; isso cria um grau adicional de negatividade (em torno de -4 milivolts adicionais) no lado interno, além da produzida pela difusão. Por essa razão, como mostra a Figura 5-5C, o potencial de membrana efetivo, com todos esses fatores atuantes ao mesmo tempo, é de cerca de -90 milivolts.

Em resumo, os potenciais de difusão causados pela difusão do sódio e do potássio atuando isoladamente, produziram um potencial de membrana de cerca de -86 milivolts, quase todo determinado pela difusão do potássio. Então, -4 milivolts adicionais são somados ao potencial de membrana pela bomba eletrogênica contínua de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, resultando no potencial de membrana efetivo de -90 milivolts.

Potencial de Ação dos Nervos

Os sinais nervosos são transmitidos por *potenciais de ação*, que são rápidas alterações do potencial de membrana que se propagam com grande velocidade por toda a membrana da fibra nervosa. Cada potencial de ação começa por uma alteração súbita do potencial de membrana normal negativo para um potencial positivo, terminando, então, com retorno quase tão rápido para o potencial negativo. Para conduzir um sinal nervoso, o potencial de ação se desloca ao longo da fibra nervosa até sua extremidade final.

O painel superior da Figura 5-6 mostra as alterações que ocorrem na membrana durante o potencial de ação, com a transferência de cargas positivas para o interior da fibra, no seu início, e o retorno das cargas positivas para o exterior, a seu término. O painel inferior mostra, graficamente, as sucessivas alterações do potencial de membrana, por poucos décimos de milésimos de segundo,

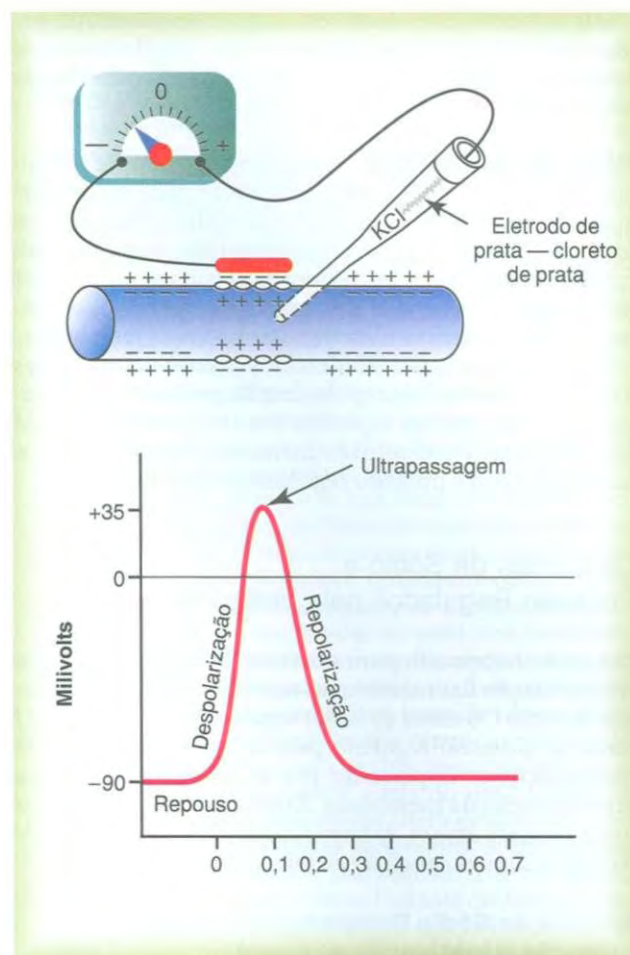


Figura 5-6

Potencial de ação típico registrado pelo método mostrado no painel superior da figura.

ilustrando o início explosivo do potencial de ação e sua quase idêntica recuperação.

Os estágios sucessivos do potencial de ação são os seguintes.

Estágio de Repouso. É o potencial de repouso da membrana, antes do início do potencial de ação. Diz-se que a membrana está “polarizada” durante esse estágio, em razão do potencial de membrana de -90 milivolts negativo existente.

Estágio de Despolarização. A esse tempo, a membrana fica subitamente muito permeável aos íons sódio, permitindo que grande número de íons sódio, positivamente carregados, se difunda para o interior do axônio. O estado normal de “polarização” de -90 milivolts é, de imediato, neutralizado pelo influxo dos íons sódio com carga positiva, com o potencial aumentando, rapidamente, para um valor positivo. Isso é referido como *despolarização*. Nas fibras nervosas de maior calibre, o grande excesso dos íons sódio positivos que se deslocam para o interior da fibra faz com que o potencial de membrana “ultrapasse” (*overshoot*) rapidamente o nível zero e torne-se positivo. Em algumas

fibras delgadas, bem como em muitos neurônios do sistema central, o potencial de membrana simplesmente se aproxima do nível zero, não o ultrapassando para chegar ao estado positivo.

Estágio de Repolarização. Em alguns décimos de milésimos de segundo após a membrana ter ficado muito permeável aos íons sódio, os canais de sódio começam a se fechar e os canais de potássio se abrem mais que o normal. Então, a rápida difusão dos íons potássio para o exterior restabelece o potencial de repouso negativo da membrana. Isso é referido como *repolarização* da membrana.

Para explicar com mais detalhes os fatores causadores da depolarização e da repolarização, precisamos descrever as características especiais dos dois outros tipos de canais de transporte através das membranas nervosas: os canais de sódio e potássio regulados pela voltagem.

Os Canais de Sódio e Potássio Regulados pela Voltagem

O agente necessário para provocar a depolarização e a repolarização das membranas nervosas durante o potencial de ação é o *canal de sódio regulado pela voltagem*. O *canal de potássio regulado pela voltagem* também tem participação importante, por aumentar a rapidez da repolarização da membrana. *Esses dois canais regulados pela voltagem atuam, de forma adicional, com a bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ e com os canais de extravasamento de $\text{K}^+ - \text{Na}^+$.*

O Canal de Sódio Regulado pela Voltagem — Ativação e Inativação do Canal

O painel superior da Figura 5-7 mostra o canal de sódio regulado pela voltagem em três estados distintos. Esse canal tem duas *comportas* — uma perto da abertura externa do canal, referida como *comporta de ativação*, e a outra perto da abertura interna do canal, referida como *comporta de inativação*. A parte superior esquerda da figura mostra o estado dessas duas comportas na membrana normal em repouso, quando o potencial de membrana é -90 milivolts. Nessa condição, a comporta de ativação está fechada, impedindo a entrada, por menor que seja, de íons sódio para o interior da fibra através desses canais de sódio.

Ativação do Canal de Sódio. Quando o potencial de membrana se torna menos negativo que durante o estado de repouso, aumentando de -90 milivolts até zero, ele atinge a voltagem — em geral, de cerca de -70 a -50 milivolts — o que provoca alteração conformacional abrupta da comporta de ativação, fazendo com que o canal fique totalmente aberto. Essa condição é referida como *estado ativado*; durante esse estado, os íons sódio podem se derramar pelo canal, aumentando a permeabilidade da membrana ao sódio por 500 a 5.000 vezes.

Inativação do Canal de Sódio. A parte superior direita da Figura 5-7 mostra o terceiro estado do canal de sódio. O mesmo aumento da voltagem que faz com que a comporta seja ativada também faz com que essa comporta seja inativada. A comporta é desativada em poucos décimos de milésimos de segundo após ter sido ativada. Isto é, a alte-

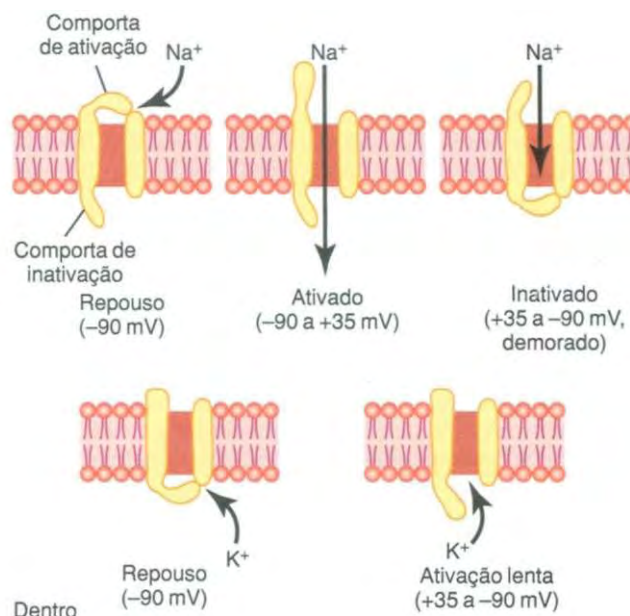


Figura 5-7

Características dos canais regulados pela voltagem de sódio (*acima*) e potássio (*abaixo*), mostrando sucessivas ativações e inativações dos canais de sódio e a ativação demorada dos canais de potássio, quando o potencial de membrana foi alterado do valor normal negativo de repouso para um valor positivo.

ração conformacional que provoca o fechamento da comporta de ativação é um processo mais lento que a alteração conformacional que abre a comporta de ativação. Assim, após o canal de sódio ter permanecido aberto por alguns décimos de milésimos de segundo, o canal é inativado e se fecha, e os íons sódio não podem atravessar a membrana. Nesse momento, o potencial de membrana começa a retornar ou se aproxima de seu estado normal de repouso, que é o processo de repolarização.

Outra característica importante do processo de inativação do canal de sódio é que a comporta inativada só vai reabrir quando o potencial de membrana retornar ou se aproximar do potencial de repouso na condição original. Por essa razão, usualmente, não é possível para o canal de sódio voltar a abrir sem que a fibra nervosa seja primeiro repolarizada.

O Canal de Potássio Regulado pela Voltagem e Sua Ativação

O painel inferior da Figura 5-7 mostra o canal de potássio regulado pela voltagem em dois estados: durante o estado de repouso (à esquerda), e durante o final de um potencial de ação (à direita). Durante o estado de repouso, a comporta do canal de potássio está fechada, e os íons potássio são impedidos de passarem, através desse canal, para o exterior. Quando o potencial de membrana aumenta, de -90 milivolts para zero, essa variação da voltagem provoca a abertura conformacional da comporta, permitindo aumento da difusão de potássio para fora, por meio desses canais. Entretanto, devido ao pequeno retardo na abertura dos canais de potássio, em sua maioria eles só abrem exatamente no mesmo momento em que os canais

de sódio estão começando a se fechar, em função de sua inativação. Assim, a redução da entrada de sódio na célula e o aumento simultâneo da saída de potássio da célula fazem com que o processo de repolarização seja acelerado, levando à completa recuperação do potencial de repouso da membrana dentro de poucos décimos de milésimos de segundo.

Método de Pesquisa para Medir o Efeito da Voltagem sobre a Abertura e o Fechamento dos Canais Controlados por Voltagem — O “Grampo de Voltagem”. A pesquisa original que levou ao entendimento quantitativo dos canais de potássio e de sódio foi tão engenhosa que os cientistas responsáveis, Hodgkin e Huxley, ganharam o Prêmio Nobel. A essência desses estudos é mostrada nas Figuras 5-8 e 5-9.

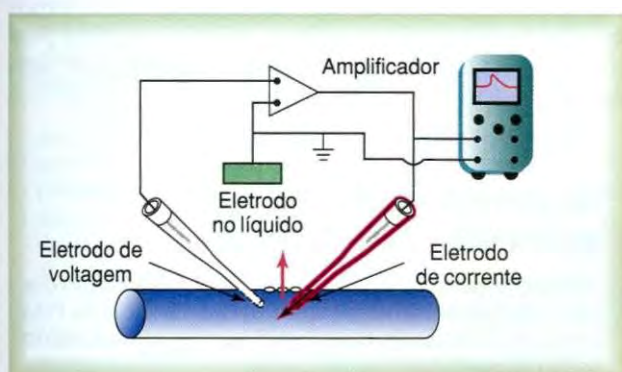


Figura 5-8

O método do “grampo de voltagem” para estudar o fluxo dos íons através de um canal específico.

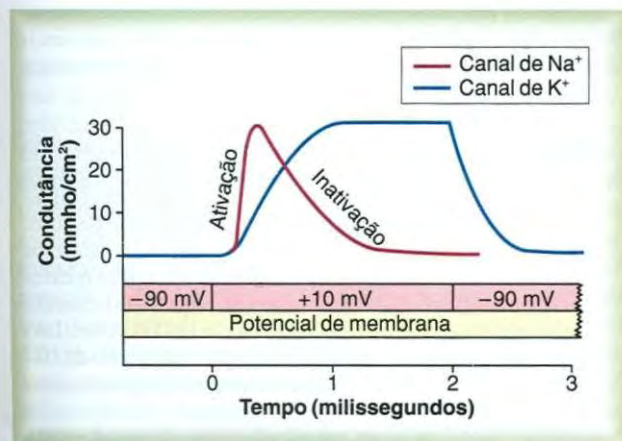


Figura 5-9

Alterações típicas da condutância dos canais dos íons sódio e potássio, quando o potencial de membrana aumenta abruptamente do valor de repouso normal de -90 milivolts para o valor positivo de +10 milivolts por 2 milissegundos. Esta figura mostra que os canais de sódio abrem (ativados) e, em seguida, fecham (inativados) antes do final desses 2 milissegundos, enquanto os canais de potássio só abrem (ativados), e a velocidade é bem mais lenta do que a da abertura dos canais de sódio.

A Figura 5-8 mostra a montagem experimental, chamada de *grampo de voltagem* (ou de fixação da voltagem), utilizada para medir os fluxos iônicos pelos diferentes canais. Para se usar essa montagem, dois eletrodos são inseridos na fibra nervosa. Um deles é para medir a voltagem do potencial de membrana, e o outro é para conduzir corrente elétrica para dentro ou para fora da fibra nervosa. Essa montagem é utilizada da seguinte maneira: o pesquisador decide qual a voltagem que ele deseja estabelecer dentro da fibra nervosa. O componente eletrônico da montagem é então ajustado para a voltagem desejada, e isso automaticamente injeta eletricidade positiva ou negativa por meio do eletrodo de corrente, na intensidade que seja necessária para fixar a voltagem, como medida pelo eletrodo de voltagem, no nível estabelecido pelo operador. Quando o potencial de membrana é repentinamente alterado por esse grampo de voltagem, de -90 milivolts para zero, os canais de potássio e sódio regulados pela voltagem se abrem, e os íons sódio e potássio começam a fluir por esses canais. Para contrabalançar os efeitos desses fluxos iônicos sobre os valores fixados da voltagem intracelular, corrente elétrica é injetada automaticamente por meio dos eletrodos dos grampos de voltagem, para manter a voltagem intracelular no nível zero constante que é necessário. Para isso, a corrente injetada deve ser igual, só que com polaridade oposta ao fluxo efetivo de corrente que flui pelos canais. Para se medir a intensidade de fluxo que está ocorrendo a cada instante, o eletrodo de corrente é conectado a um osciloscópio que registra o fluxo corrente, como mostra a tela do osciloscópio na Figura 5-8. Por fim, o pesquisador altera as concentrações iônicas intra- e extracelulares para valores diferentes dos normais, e repete a medida. Isso pode ser feito facilmente quando se usam fibras nervosas bastante calibradas, obtidas de alguns crustáceos, de modo especial o axônio gigante da lula, que em alguns desses animais pode ter 1 milímetro em diâmetro. Quando o sódio é o único íon permeante nas soluções intra- e extracelular do axônio da lula, o grampo de voltagem só mede o fluxo corrente pelos canais de sódio. Quando o potássio é o único íon permeante, só o fluxo corrente pelos canais de potássio é medido.

Outra maneira de se estudar o fluxo iônico por meio de um tipo individual de canal é pelo bloqueio de um tipo de canal por vez. Por exemplo, os canais de sódio podem ser bloqueados pela toxina chamada *tetrodotoxina*, aplicando-a na parte externa da membrana celular, onde a comporta de ativação do sódio está situada. Alternativamente, o íon *tetraetilamônio* bloqueia os canais de potássio quando aplicado no interior da fibra nervosa.

A Figura 5-9 mostra as variações típicas da condutância dos canais de sódio e potássio regulados pela voltagem, quando o potencial de membrana é repentinamente alterado pelo uso do grampo de voltagem, de -90 milivolts para +10 milivolts, e, então, 2 milissegundos depois, de volta para -90 milivolts. Note a abertura abrupta dos canais de sódio (o estágio de ativação) em uma pequena fração de milissegundo, após o potencial de membrana ser elevado para o valor positivo. Entretanto, durante os próximos milissegundos, os canais de sódio automaticamente se fecham (o estágio de inativação).

Note a abertura (ativação) dos canais de potássio. Eles se abrem lentamente, atingindo seu estado de abertura total somente depois que os canais de sódio se tenham fechado quase completamente. Além disso, uma vez tendo ocorrido a abertura dos canais de potássio, eles permanecem abertos durante todo potencial positivo de membrana e não se fecham de novo até que o potencial de membrana retorne a um valor negativo.

Resumo dos Eventos Causadores do Potencial de Ação

A Figura 5-10 resume os eventos sequenciais que ocorrem durante e logo após o potencial de ação. A parte de baixo da figura mostra as alterações na condutância da membrana para os íons sódio e potássio. Durante o período de repouso, antes que o potencial de ação se inicie, a condutância para os íons potássio é cerca de 50 a 100 vezes maior que a condutância para os íons sódio. Isso é causado pelo maior extravasamento dos íons potássio que dos íons sódio, através dos canais de extravasamento. Todavia, com o desencadeamento do potencial de ação, o canal de sódio instantaneamente torna-se ativado, permitindo um aumento de até 5.000 vezes da condutância do sódio. Então, o processo de inativação fecha os canais de sódio em uma fração de milissegundo. O desencadeamento do potencial de ação causa também a regulação pela voltagem da abertura dos canais de potássio, fazendo com que ela ocorra mais lentamente, em uma fração de milissegundo após a abertura dos canais de sódio. Ao final do potencial de ação, o retorno do potencial de membrana ao estado negativo faz com que os canais de potássio se

fechem novamente, voltando ao seu estado original mas, de novo, somente após um retardo adicional de um milissegundo ou mais.

A parte média da Figura 5-10 mostra a proporção entre as condutâncias do sódio e do potássio a cada instante, durante o potencial de ação, e, logo acima, é mostrado o potencial de ação propriamente dito. Durante a parte inicial do potencial de ação, a proporção entre as condutâncias do sódio e potássio aumenta mais de 1.000 vezes. Por isso, muito mais íons sódio fluem para o interior da fibra do que íons potássio para o exterior. Essa é a causa do potencial de membrana ficar positivo no início do potencial de ação. Em seguida, os canais de sódio começam a se fechar e os canais de potássio a se abrir, de modo que a proporção entre as condutâncias varie para o predomínio da condutância do potássio, aumentando em muito a condutância do potássio e reduzindo a condutância do sódio. Isso permite perda muito rápida dos íons potássio para o exterior, mas, virtualmente, fluxo nulo de íons sódio para o interior. Consequentemente, o potencial de ação rapidamente retorna ao seu nível basal.

Os Papéis de Outros Íons no Potencial de Ação

Até este ponto, consideramos apenas a participação dos íons sódio e potássio na geração do potencial de ação. Pelo menos dois outros tipos de íons devem ser considerados: os ânions negativos e os íons cálcio.

Íons (Ânions) Impermeantes com Carga Negativa no Interior do Axônio. Nos axônios existem muitos íons com carga negativa que não podem passar pelos canais da membrana. Dentre eles estão os ânions das proteínas moleculares e de muitos compostos orgânicos de fosfato, compostos de sulfato e assim por diante. Como esses íons não podem sair do axônio, qualquer déficit de íons positivos no lado de dentro da membrana cria excesso desses ânions impermeantes negativos. Por conseguinte, esses íons impermeantes negativos são responsáveis pela carga negativa dentro da fibra, quando existe um déficit real de íons potássio com carga positiva e de outros íons positivos.

Íons Cálcio. A membrana de quase todas as células do corpo contém uma bomba de cálcio semelhante à bomba de sódio, e o cálcio, em algumas células, junto com (ou no lugar do) sódio, causa a maior parte do potencial de ação. Como a bomba de sódio, a bomba de cálcio transfere os íons cálcio do interior da membrana celular para o exterior (ou para o retículo endoplasmático da célula), criando gradiente iônico de cálcio de cerca de 10.000 vezes. Isso deixa concentração celular de íons cálcio em torno de 10^{-7} molar, em contraste com a concentração externa de cerca de 10^{-3} molar.

Além disso, existem canais de cálcio regulados pela voltagem. Esses canais são ligeiramente permeáveis aos íons sódio, assim como aos íons cálcio; quando se abrem, os íons cálcio e os íons sódio fluem para o interior da fibra. Assim, esses canais são conhecidos como *canais de Ca^{++} - Na^{+}* . Os canais de cálcio são de lenta ativação, necessitando de 10 a 20 vezes mais tempo para serem ativados do que os canais de sódio. Por essa razão, eles são chamados de *canais lentos*, em contraste com os canais de sódio, que são chamados de *canais rápidos*.

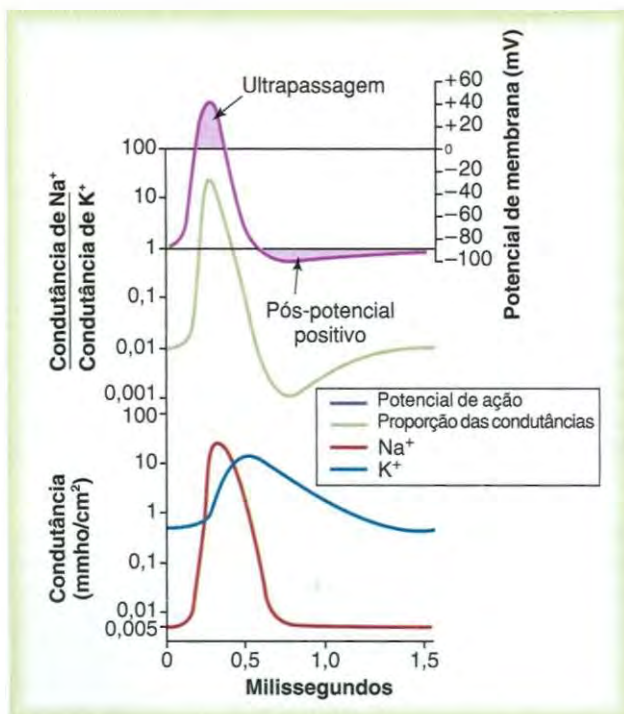


Figura 5-10

Alterações da condutância de sódio e potássio durante o curso do potencial de ação. A condutância do sódio aumenta por vários milhares de vezes durante os estágios iniciais do potencial de ação, enquanto a condutância do potássio só aumenta cerca de 30 vezes durante os estágios finais do potencial de ação e por um pequeno período após. (Essas curvas foram construídas da teoria apresentada em artigos por Hodgkin e Huxley, mas transpostas do axônio da lula para se aplicar ao potencial de membrana das fibras nervosas mais grossas dos mamíferos.)

Os canais de cálcio são muito numerosos no músculo cardíaco e no músculo liso. Na verdade, em alguns tipos de músculo liso, os canais rápidos de sódio são bastante raros, de forma que o potencial de ação ocorre, quase exclusivamente, pela ativação dos lentos canais de cálcio.

Permeabilidade Aumentada dos Canais de Sódio Quando Existe Déficit de Íons Cálcio. A concentração dos íons cálcio no líquido extracelular também exerce efeito intenso sobre o nível de voltagem em que os canais de sódio são ativados. Quando existe déficit de íons cálcio, os canais de sódio são ativados (abertos) por pequeno aumento do potencial de membrana de seu nível normal, nível ainda muito negativo. Por conseguinte, a fibra nervosa fica muito excitável, algumas vezes descarregando repetitivamente sem qualquer estímulo, em vez de permanecer no estado de repouso. Na realidade, a concentração de íons cálcio precisa diminuir apenas 50% abaixo do normal antes que ocorra descarga espontânea em alguns nervos periféricos, geralmente causando “tetania” muscular. Isso, por vezes, pode ser letal, devido à contração tetânica dos músculos respiratórios.

O modo provável pelo qual os íons cálcio afetam os canais de sódio é o seguinte: esses íons parecem ser ligar à superfície externa dos canais de sódio das moléculas de proteína. A carga positiva dos íons cálcio, por sua vez, altera o estado elétrico do próprio canal da proteína, e, desse modo, altera o nível da voltagem necessário para abrir o canal de sódio.

Início do Potencial de Ação

Até este ponto, explicamos a alteração da permeabilidade da membrana ao sódio e ao potássio, bem como o desenvolvimento do potencial de ação propriamente dito, mas ainda não explicamos como se origina esse potencial de ação. A resposta é bastante simples.

Um Circuito Vicioso de Feedback Positivo Abre os Canais de Sódio. Primeiro, contanto que a membrana da fibra nervosa permaneça sem ser perturbada, nenhum potencial de ação ocorre no nervo normal. Entretanto, caso ocorra qualquer evento capaz de provocar o aumento inicial do potencial de membrana de -90 milivolts para o nível zero, a própria voltagem crescente causa a abertura de vários canais de sódio regulados pela voltagem. Isso permite o influxo rápido de íons sódio, resultando em maior aumento do potencial de membrana, e, conseqüentemente, abrindo mais canais regulados pela voltagem e permitindo fluxo mais intenso de íons sódio para o interior da fibra. Esse processo é um círculo vicioso de *feedback* positivo que, uma vez que esse *feedback* seja suficientemente intenso, continua até que todos os canais de sódio regulados pela voltagem tenham sido ativados (abertos). Então, em outra fração de milissegundo, o aumento do potencial de membrana causa o fechamento dos canais de sódio e a abertura dos canais de potássio, e o potencial de ação termina.

O Limiar para o Início do Potencial de Ação. O potencial de ação só vai ocorrer se o aumento inicial do potencial de membrana for suficientemente intenso para gerar o círculo vicioso descrito no parágrafo anterior. Isso ocorre quando o número de íons Na^+ que entram na fibra fica maior que o número de íons K^+ que saem da fibra. Um aumento repentino do potencial de membrana entre 15 e

30 milivolts em geral é necessário. Assim, qualquer aumento abrupto do potencial de membrana de uma fibra nervosa calibrosa de -90 milivolts para cerca de -65 milivolts usualmente provoca o explosivo desenvolvimento do potencial de ação. Esse nível de -65 milivolts é referido como o *limiar* para a estimulação.

Propagação do Potencial de Ação

Nos parágrafos anteriores, discutimos o potencial de ação como ocorre em um local na membrana. Contudo, um potencial de ação provocado em qualquer parte de uma membrana excitável em geral excita as porções adjacentes da membrana, resultando na propagação do potencial de ação por toda a membrana. Esse mecanismo é demonstrado na Figura 5-11. A Figura 5-11A mostra uma fibra nervosa em repouso normal, e a Figura 5-11B mostra a fibra nervosa que foi estimulada na sua região central — isto é, essa região repentinamente desenvolve permeabilidade aumentada para o sódio. As setas mostram o “circuito local” do fluxo de corrente das áreas despolarizadas da membrana para as áreas adjacentes da membrana em repouso. Isto é, cargas elétricas positivas são levadas pelos íons sódio que se difundem para o interior através das membranas despolarizadas, e então por muitos milímetros em ambas as direções, ao longo do cerne do axônio.

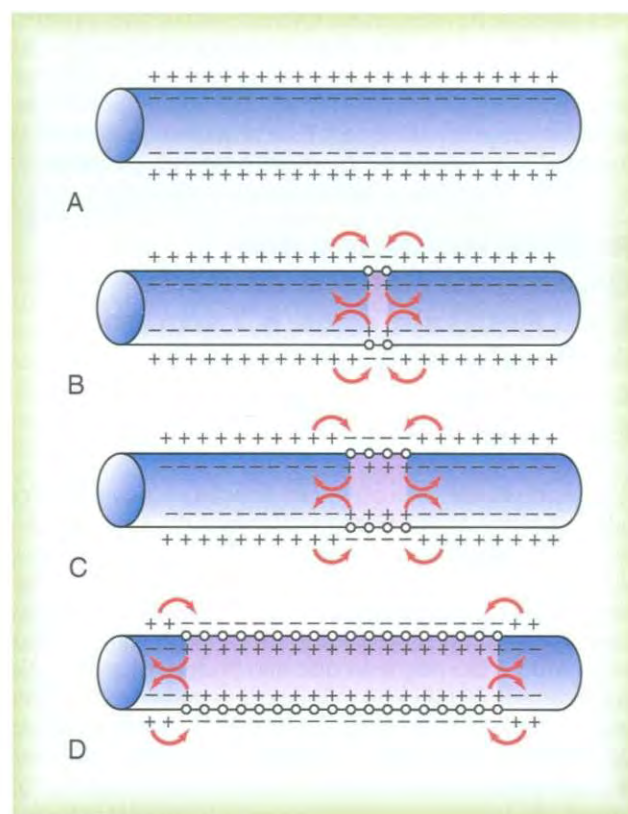


Figura 5-11

Propagação do potencial de ação em ambas as direções pela fibra condutora.

Essas cargas positivas aumentam a voltagem em cerca de 1 a 3 milímetros pelo interior das grandes fibras mielinizadas até um valor maior que o da voltagem limiar para o desencadeamento do potencial de ação. Como consequência, os canais de sódio, nessas novas áreas, imediatamente se abrem, como mostra a Figura 5.11C e D, e o explosivo potencial de ação se alastra. Essas novas áreas despolarizadas produzem, por sua vez, outros circuitos locais de fluxo de corrente nas áreas adjacentes da membrana, causando, progressivamente, mais e mais despolarização. Assim, o processo de despolarização percorre todo o comprimento da fibra. Essa transmissão do processo de despolarização por uma fibra nervosa muscular é referida como *impulso nervoso* ou *muscular*.

Direção da Propagação. Como demonstrado na Figura 5-11, a membrana excitável não tem direção única de propagação, mas o potencial de ação trafega em todas as direções para longe do estímulo — mesmo por todas as ramificações da fibra nervosa — até que toda a membrana tenha sido despolarizada.

Princípio do Tudo ou Nada. Uma vez em que o potencial de ação foi gerado em algum lugar da membrana de fibra normal, o processo de despolarização trafega por toda a membrana se as condições forem adequadas, ou não se propaga de nenhum modo se as condições não forem adequadas. Isso é conhecido como *princípio do tudo ou nada*, e se aplica a todos os tecidos excitáveis normais. Ocasionalmente, o potencial de ação atinge uma região da membrana que não gera voltagem suficiente para estimular a área seguinte da membrana. Quando isso ocorre, a propagação da despolarização é interrompida. Por conseguinte, para que ocorra propagação contínua de um impulso, a proporção entre o potencial de ação e o limiar de excitação deve ser sempre maior que 1. Este requisito “maior que 1” é referido como *fator de segurança* para a propagação.

Restabelecimento dos Gradientes Iônicos do Sódio e do Potássio após o Término do Potencial de Ação — A Importância do Metabolismo Energético

A transmissão de cada potencial de ação ao longo de fibra nervosa reduz muito pouco a diferença de concentração de sódio e potássio dentro e fora da membrana, devido à difusão para o interior dos íons sódio durante a despolarização, e pela difusão para o exterior dos íons potássio, durante a repolarização. Para um só potencial de ação, esse efeito é tão pequeno que não pode ser medido. Na verdade, de 100.000 a 50 milhões de impulsos podem ser transmitidos por fibras nervosas calibrosas antes que as diferenças de concentração atinjam o ponto em que cessa a condução dos potenciais de ação. Ainda assim, com o passar do tempo, é necessário o restabelecimento das diferenças de concentração entre o sódio e o potássio na membrana. Isso é realizado pela ação da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, da mesma maneira como descrita anteriormente, neste capítulo, para o estabelecimento original do poten-

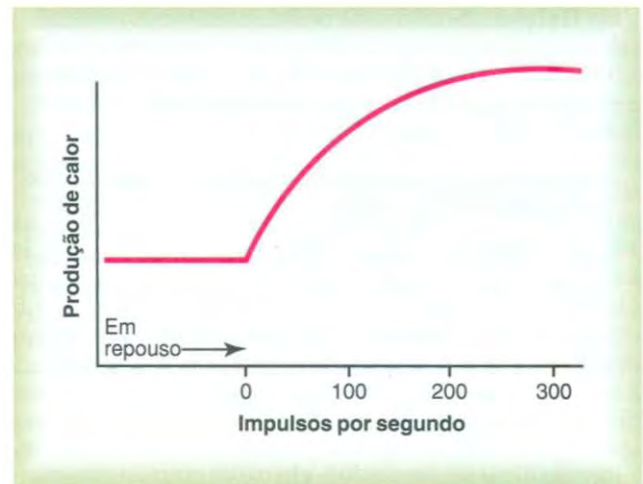


Figura 5-12

Produção de calor pela fibra nervosa em repouso e com aumento progressivo da frequência de estimulação.

cial de repouso. Ou seja, os íons sódio que se difundiram para o interior da célula durante o potencial de ação e os íons potássio que se difundiram para o exterior devem retornar aos seus estados originais pela bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Como essa bomba requer energia para seu funcionamento, essa “recarga” da fibra nervosa é processo metabólico ativo, usando energia derivada do trifosfato de adenosina (ATP) do sistema de energia da célula. A Figura 5-12 mostra que a fibra nervosa produz excesso de calor durante a recarga, que é uma medida do consumo de energia quando a frequência dos impulsos nervosos aumenta.

Uma característica especial da bomba da $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase é que o grau de sua atividade é intensamente estimulado quando ocorre acúmulo excessivo de íons sódio no interior da membrana celular. Na verdade, a atividade da bomba aumenta aproximadamente em proporção à terceira potência da concentração intracelular do sódio. Isto é, enquanto a concentração interna de sódio aumenta em 10 a 20 mEq/l, a atividade da bomba não apenas duplica, mas aumenta em cerca de oito vezes. Portanto, é fácil de entender como o processo de “recarga” da fibra nervosa pode ser posto rapidamente em ação, toda vez que as diferenças de concentrações dos íons sódio e potássio através da membrana comecem a “diminuir”.

O Platô em Alguns Potenciais de Ação

Em alguns casos, a membrana estimulada não se repolariza imediatamente após a despolarização; ao contrário, o potencial permanece em um platô perto do pico do potencial em ponta, por vários milissegundos, e somente então é que se inicia a repolarização. Esse platô é mostrado na Figura 5-13; pode-se ver facilmente que o platô prolonga muito o período de despolarização. Esse tipo de potencial de ação ocorre nas fibras musculares do coração, onde o platô dura por um período de 0,2 a 0,3 segundo e faz com que a contração dos músculos do coração dure por esse mesmo período de tempo.

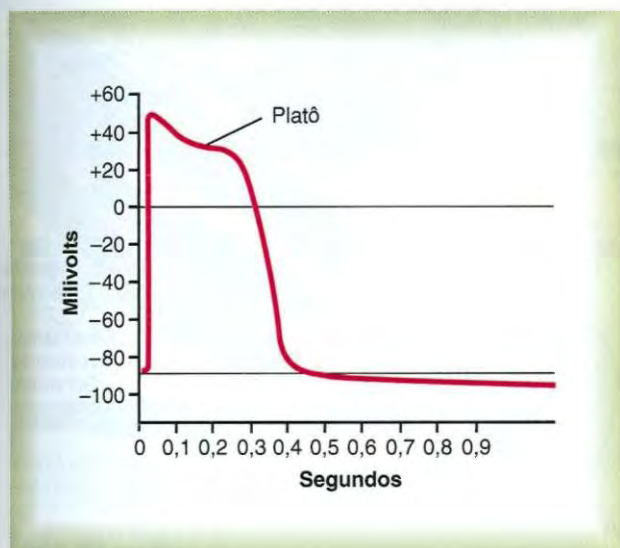


Figura 5-13

Potencial de ação (em milivolts) de fibra de Purkinje do coração, mostrando um "platô".

A causa do platô é uma combinação de vários fatores. Primeiro, no músculo do coração, dois tipos de canais participam do processo de despolarização: (1) os canais usuais de sódio regulados pela voltagem, conhecidos como *canais rápidos*, e (2) os canais de cálcio-sódio regulados pela voltagem, conhecidos como *canais lentos*. A abertura dos canais rápidos causa a parte em ponta (*spike*) do potencial de ação, enquanto a morosa e prolongada abertura dos canais lentos de cálcio-sódio permite principalmente o influxo de íons cálcio para a fibra, sendo, também, responsável, em grande parte, pela parte de platô do potencial de ação.

Um segundo fator que pode ser parcialmente responsável pelo platô é que a abertura dos canais de potássio regulados pela voltagem é mais lenta do que a usual, em geral só se abrindo de forma completa até o final do platô. Isso retarda o retorno do potencial de membrana a seu valor negativo normal de -80 a -90 milivolts.

RITMICIDADE DE ALGUNS TECIDOS EXCITÁVEIS — DESCARGA REPETITIVA

Descargas repetitivas espontâneas ocorrem normalmente no coração, na maior parte dos músculos lisos, e em muitos neurônios do sistema nervoso central. Essas descargas rítmicas causam (1) o batimento ritmado do coração, (2) o peristaltismo rítmico dos intestinos e (3) alguns eventos neuronais como o controle ritmado da respiração.

Quase todos os outros tecidos excitáveis podem descarregar repetitivamente se o limiar de excitabilidade dos tecidos celulares for suficientemente reduzido. Por exemplo, mesmo as fibras nervosas mais calibrosas e as fibras dos músculos esqueléticos, que são normalmente muito estáveis, descarregam de forma repetitiva quando coloca-

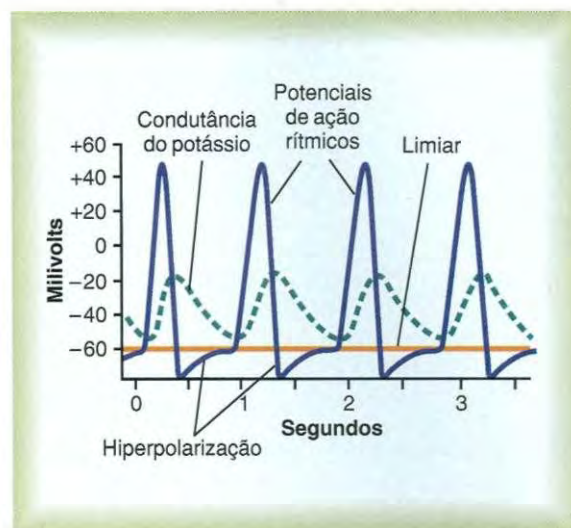


Figura 5-14

Potenciais de ação rítmicos (em milivolts) semelhantes aos registrados no centro de controle rítmico do coração. Note suas relações com a condutância do potássio e com o estado de hiperpolarização.

das em uma solução contendo a substância veratrina ou quando a concentração dos íons cálcio cai abaixo de valor crítico, em ambos os casos, elas aumentam a permeabilidade da membrana ao sódio.

O Processo de Reexcitação Necessário para a Ritmicidade Espontânea. Para que ocorra a ritmicidade espontânea, a membrana, mesmo em seu estado natural, deve ser suficientemente permeável aos íons sódio (ou aos íons cálcio e sódio, pelos canais lentos de cálcio-sódio) para permitir a despolarização automática da membrana. Assim, a Figura 5-14 mostra que o potencial de "repouso" da membrana no centro de controle do ritmo cardíaco é de somente -60 a -70 milivolts. Essa não é voltagem negativa suficiente para manter os canais de sódio e cálcio totalmente fechados. Por essa razão, a seguinte sequência ocorre: (1) alguns íons sódio e cálcio fluem para dentro; (2) isso aumenta a voltagem da membrana na direção positiva, o que aumenta ainda mais a permeabilidade da membrana; (3) ainda mais íons fluem para dentro e (4) a permeabilidade aumenta mais e mais, até que o potencial de ação seja gerado. Então, ao final do potencial de ação, a membrana se repolariza. Após outro retardo de alguns milissegundos ou segundos, a excitabilidade espontânea causa nova despolarização, e novo potencial de ação ocorre espontaneamente. Esse ciclo continua ininterruptamente, causando a excitação rítmica auto-induzida dos tecidos excitáveis.

Por que a membrana do centro de controle do coração não se despolariza, imediatamente, após ter se repolarizado, em vez de retardar, por quase um segundo, antes do início do próximo potencial de ação? A resposta pode ser encontrada pela observação da curva rotulada como "condutância do potássio" na Figura 5-14. Ela mostra que perto do término de cada potencial de ação e persistindo por um breve período após, a membrana torna-se excessivamente permeável aos íons potássio. O excessivo efluxo dos íons potássio transfere um número enorme de cargas

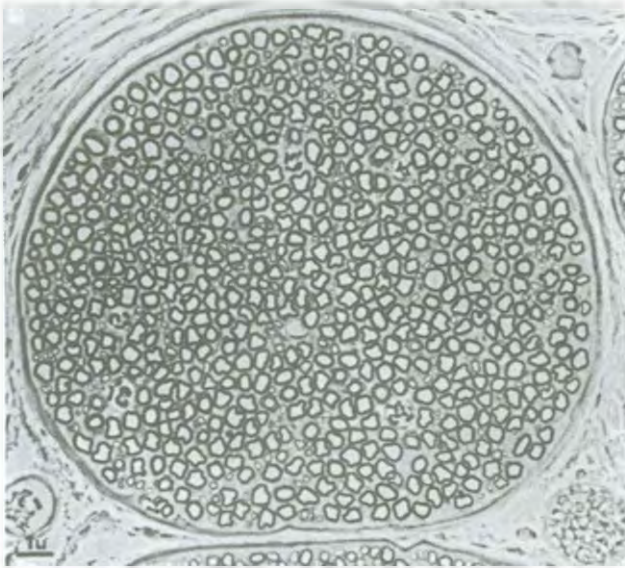


Figura 5-15

Corte transversal de pequeno tronco nervoso contendo fibras mielinizadas e amielinizadas.

positivas para fora da membrana, deixando o interior da fibra muito mais negativo do que deveria acontecer. Essa condição continua por aproximadamente um segundo após o término do potencial de ação antecedente, e desse modo desloca o potencial de membrana para valor mais próximo do potencial de Nernst para o potássio. Esse é o estado referido como *hiperpolarização*, mostrado também na Figura 5-14. Enquanto persistir esse estado, a auto-reexcitação não vai ocorrer. Mas a condutância excessiva de potássio (e o estado de hiperpolarização) gradualmente desaparece, como mostrado na figura, depois que cada potencial de ação termina, permitindo, então, que o potencial de membrana aumente de novo até seu *limiar* de excitação. Então, de repente, ocorre novo potencial de ação e o processo acontece outra vez e assim por diante.

Características Especiais da Transmissão dos Sinais nos Troncos Nervosos

Fibras Nervosas Mielinizadas e Amielinizadas. A Figura 5-15 mostra um corte transversal de um típico nervo pequeno, revelando muitas fibras nervosas calibrosas que constituem a maior parte da área desse corte transversal. Entretanto, um olhar mais cuidadoso revela grande número de fibras muito delgadas localizadas entre as fibras mais grossas. As fibras calibrosas são *mielinizadas*, e as mais delgadas são *amielinizadas*. A maioria dos troncos nervosos contém cerca de duas vezes mais fibras amielinizadas do que fibras mielinizadas.

A Figura 5-16 mostra uma fibra mielinizada típica. O cerne central da fibra é o *axônio*, e a membrana do axônio é a membrana que, de fato, conduz o potencial de ação. O axônio é preenchido, na sua parte central, por *axoplasma*, que é um líquido intracelular viscido. Em volta do axônio existe a *bainha de mielina*, que é freqüentemente mais

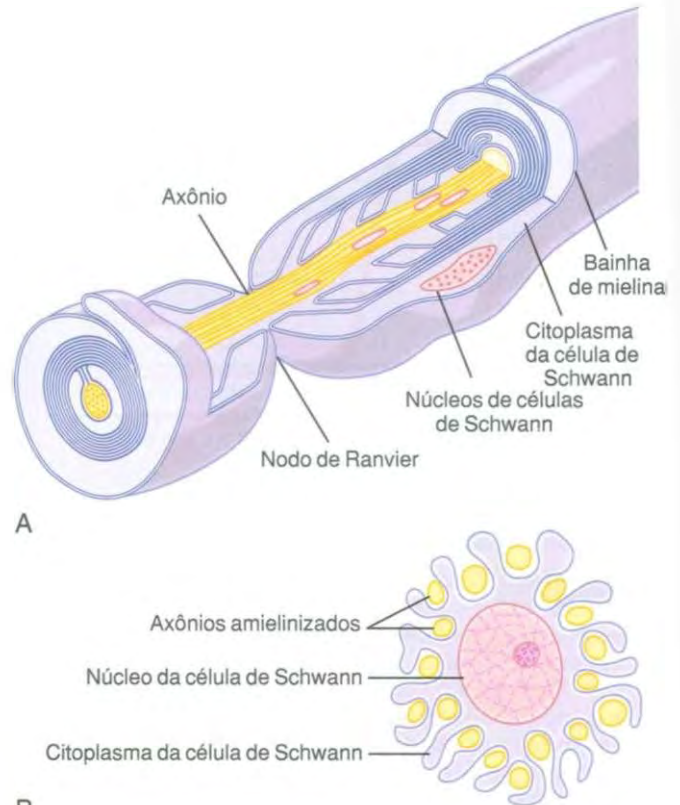


Figura 5-16

Função da célula de Schwann no isolamento das fibras nervosas. A, Revestimento da membrana da célula de Schwann, em torno de um axônio calibroso para formar a bainha de mielina da fibra nervosa mielinizada. B, Revestimento parcial da membrana e do citoplasma da célula de Schwann em torno de várias fibras nervosas amielinizadas (mostrado em corte transversal). (A, Modificado de Leeson TS, Leeson R: Histologia. Philadelphia: WB Saunders, 1979.)

espessa que o próprio axônio. A cada 1 a 3 milímetros da extensão da bainha de mielina, existe um *nodo de Ranvier*.

A bainha de mielina é depositada em torno do axônio pelas células de Schwann da seguinte maneira: a membrana das células de Schwann, primeiro, envolve o axônio. Em seguida, as células de Schwann giram muitas vezes em torno do axônio, formando camadas múltiplas de membrana celular de Schwann, contendo a substância lipídica *esfingomielina*. Essa substância é um excelente isolante elétrico, reduzindo o fluxo iônico através da membrana em cerca de 5.000 vezes. Na junção entre duas células Schwann sucessivas ao longo do axônio, existe uma área não isolada, com comprimento de 2 a 3 micrômetros, por onde os íons ainda podem passar facilmente através da membrana do axônio, do líquido extracelular para o intracelular, dentro do axônio. Essa área forma o *nodo de Ranvier*.

Condução "Saltatória" de Nodo a Nodo nas Fibras Mielinizadas. Mesmo que quase nenhum íon possa fluir através das grossas bainhas de mielina dos nervos mielinizados, eles podem passar, com facilidade, através dos nodos de Ranvier. Assim, potenciais de ação *só ocorrem nos nodos de Ranvier*. Os potenciais de ação são então conduzidos de nodo para nodo, como mostra a Figura 5-17; esse tipo de condução é chamado de *condução saltatória*. Ou seja, a corrente elétrica flui pelo líquido extracelular que cir-

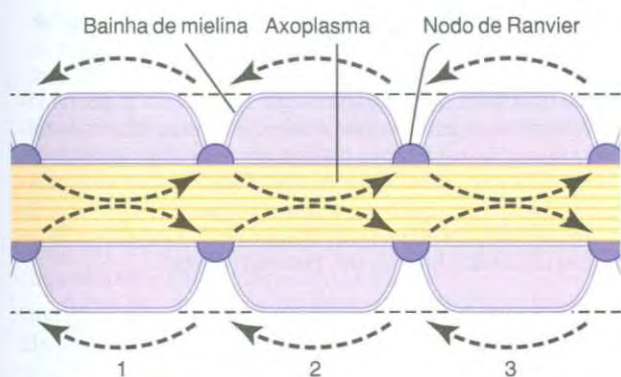


Figura 5-17

Condução saltatória pelo axônio mielinizado. O fluxo de corrente elétrica de nó a nó é indicado pelas setas.

cunda a parte externa da bainha de mielina, assim como pelo axoplasma dentro do axônio, de nó a nó, excitando os nós sucessivos, um após o outro. Desse modo, os impulsos nervosos saltam ao longo da fibra nervosa, que é a origem do termo “saltatória”.

A condução saltatória é de grande valor por duas razões. Primeira, ao fazer com que o processo de despolarização pule longos trechos ao longo do eixo da fibra nervosa, esse mecanismo aumenta a velocidade da transmissão nervosa nas fibras mielinizadas em cinco a 50 vezes. Segunda, a condução saltatória conserva energia para o axônio, porque somente os nós se despolarizam, permitindo talvez apenas perda de íons até 100 vezes menor da que seria necessária, e, por conseguinte, requerendo metabolismo menos intenso para restabelecer as diferenças de concentração de sódio e potássio através da membrana, após uma série de impulsos nervosos.

Ainda outra característica da condução saltatória, nas fibras mielinizadas mais grossas, é a seguinte: o excelente isolamento produzido pela membrana de mielina e a redução de 50 vezes da capacitância dessa membrana permitem que a repolarização ocorra com transferência muito pequena de íons.

Velocidade de Condução nas Fibras Nervosas. A velocidade de condução nas fibras nervosas varia do mínimo de 0,25 m/s, nas fibras amielínicas mais delgadas, até o máximo de 100 m/s (o comprimento de um campo de futebol em um segundo) nas fibras mielinizadas mais calibrosas.

Excitação — O Processo de Geração do Potencial de Ação

Basicamente, qualquer fator que promova a difusão de grande número de íons sódio para o interior da célula pode desencadear a abertura regenerativa automática dos canais de sódio. Isso pode resultar de distúrbio mecânico da membrana, de efeitos químicos na membrana, ou da passagem de eletricidade através da membrana. Todos estes são utilizados em pontos diferentes do corpo para fazer surgir o potencial de ação muscular ou nervoso: a pressão mecânica para excitar as terminações sensoriais nervosas na pele, os neurotransmissores químicos para transmitir sinais de um neurônio para o próximo no cérebro, e a corrente elétrica para transmitir sinais entre as sucessivas células musculares no coração e no intestino. Para o propó-

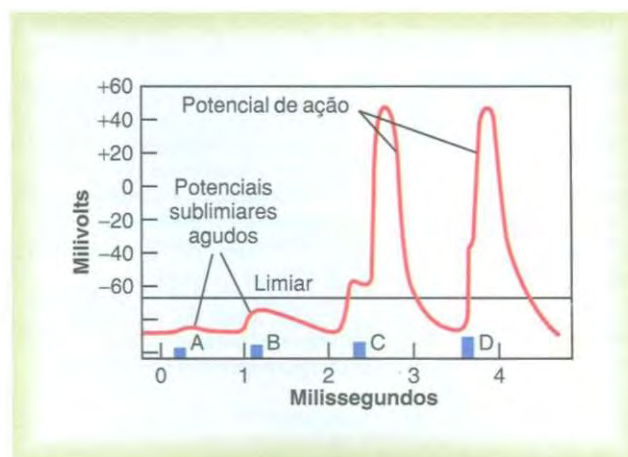


Figura 5-18

Efeito de voltagens crescentes do estímulo para produzir um potencial de ação. Note o desenvolvimento de “potenciais sublimiares agudos” quando os estímulos estão abaixo do valor limiar necessário para produzir um potencial de ação.

sito de compreender o processo da excitação, começaremos discutindo os princípios da estimulação elétrica.

Excitação da Fibra Nervosa por um Eletrodo Metálico com Carga Negativa. O meio usual para excitar um nervo ou músculo nos laboratórios experimentais é aplicar eletricidade à superfície do nervo ou do músculo por meio de dois pequenos eletrodos, um dos quais tem carga negativa e o outro carga positiva. Quando isso é feito, a membrana excitável é estimulada no eletrodo negativo.

A causa desse efeito é a seguinte: lembre-se de que o potencial de ação é iniciado pela abertura dos canais de sódio regulados pela voltagem. Posteriormente, maior número desses canais é aberto pela redução da voltagem elétrica normal de repouso através da membrana. Isto é, a corrente negativa do eletrodo diminui a voltagem do lado de fora da membrana até valor negativo próximo à voltagem do potencial negativo dentro da fibra. Isso reduz a voltagem elétrica através da membrana, permitindo que os canais de sódio se abram, resultando no potencial de ação. De modo contrário, no eletrodo positivo, a injeção de cargas positivas no lado externo da membrana nervosa aumenta a diferença de voltagem através da membrana, em vez de reduzi-la. Isso causa o estado de hiperpolarização, que, na verdade, diminui a excitabilidade da fibra, em vez de causar o potencial de ação.

O Limiar para a Excitação e o “Potencial Local Agudo”. Um estímulo negativo fraco pode não ser suficiente para excitar a fibra. Todavia, quando a voltagem do estímulo é aumentada, atinge-se um valor no qual ocorre excitação. A Figura 5-18 mostra o efeito de estímulos aplicados sucessivamente, de intensidade progressivamente crescente. Um estímulo muito fraco no ponto A faz com que o potencial de membrana varie de -90 para -85 milivolts, mas essa não é uma alteração suficiente para que o processo regenerativo automático do potencial de ação se desenvolva. No ponto B, o estímulo é maior mas, de novo, a intensidade ainda não é suficiente. Contudo, esse estímulo modifica o potencial de membrana local por um período de 1 milissegundo ou mais após esses dois estímulos fracos. Essas alterações dos potenciais locais são refe-

ridas como *potenciais locais agudos*, e quando deixam de desencadear um potencial de ação, elas são designadas como *potenciais subliminares agudos*.

No ponto C da Figura 5-18, o estímulo é ainda mais intenso. Agora o potencial local atingiu, nitidamente, o nível necessário para a produção do potencial de ação, conhecido por *nível limiar*, mas o potencial de ação só ocorre após um pequeno “período latente”. No ponto D, o estímulo é ainda mais forte, o potencial agudo local é também mais intenso, e o potencial de ação ocorre em menos tempo do que o período latente.

Assim, essa figura mostra que até mesmo estímulos muito fracos causam alteração local do potencial da membrana, mas a amplitude do potencial local deve aumentar até o nível limiar para que seja produzido o potencial de ação.

“Período Refratário” após o Potencial de Ação, durante o Qual um Novo Estímulo Não Pode Ser Evocado

Um novo potencial de ação não pode ocorrer na fibra excitável enquanto a membrana ainda estiver despolarizada pelo potencial de ação precedente. A razão para isso é que logo após o potencial de ação ser desencadeado, os canais de sódio (ou canais de cálcio, ou ambos) ficam inativos, e qualquer quantidade de sinal excitatório aplicado a esses canais nesse momento não vai abrir as comportas de inativação. A única condição que permitirá sua reabertura é o retorno do potencial de membrana ao valor original, ou próximo disso, do potencial de repouso da membrana. Então, em uma pequena fração de segundo, as comportas de inativação dos canais se abrirão, e novo potencial de ação poderá ser iniciado.

O período durante o qual o segundo potencial de ação não pode ser produzido, mesmo com estímulo muito intenso, é designado como *período refratário absoluto*. Esse período, para as fibras nervosas mielinizadas mais calibrosas, é de cerca de 1/2.500 segundo. Portanto, pode-se prontamente calcular que esse tipo de fibra pode transmitir cerca de no máximo 2.500 impulsos por segundo.

Inibição da Excitabilidade — “Estabilizadores” e Anestésicos Locais

Em contraste com os fatores que aumentam a excitabilidade nervosa, ainda outros, conhecidos como *fatores estabilizadores da membrana*, podem diminuir a excitabilidade. Por exemplo, *alta concentração de íons cálcio no líquido extracelular* diminui a permeabilidade para os íons sódio, ao mesmo tempo reduzindo a excitabilidade. Por essa razão, os íons cálcio são ditos serem “estabilizadores”.

Anestésicos Locais. Entre os estabilizadores mais importantes estão as muitas substâncias usadas clinicamente como anestésicos locais, incluindo a *procaína* e a *tetracaina*. A maioria desses agentes atua diretamente sobre as comportas de ativação dos canais de sódio, dificultando, de forma muito acentuada, a abertura dessas comportas, e, desse modo, reduzindo a excitabilidade da membrana. Quando a excitabilidade tiver diminuído de modo que a proporção da *intensidade do potencial de ação para o limiar da excitabilidade* (conhecida como o “fator de segurança”) fique reduzida para menos de 1,0, os impulsos nervosos deixam de passar pelos nervos anestesiados.

Registro dos Potenciais de Membrana e dos Potenciais de Ação

O Osciloscópio de Raios Catódicos. No começo deste capítulo, destacamos que o potencial de membrana varia de forma extremamente rápida durante o curso do potencial de ação. Na verdade, a maior parte do complexo do potencial de ação nas fibras nervosas mais grossas ocorre em menos de 1/1.000 segundo. Em algumas figuras deste capítulo, mostrou-se um medidor elétrico registrando essas alterações do potencial. Entretanto, deve ser compreendido que qualquer medidor capaz de registrar a grande maioria dos potenciais de ação deve ser capaz de responder extremamente rápido. Para objetivos práticos, o único

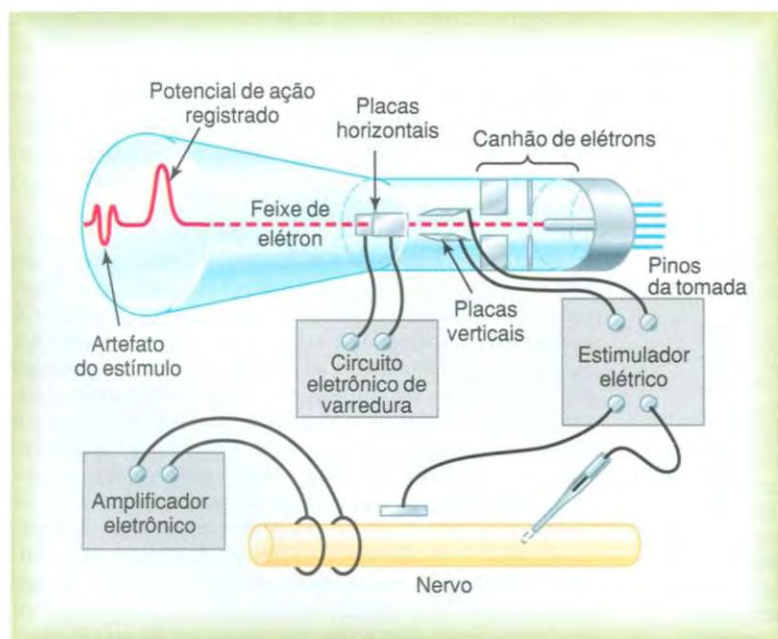


Figura 5-19

Osciloscópio de raios catódicos para registro de potenciais de ação transitórios.

tipo comum de medidor capaz de responder corretamente às rápidas variações do potencial de membrana é o osciloscópio de raios catódicos.

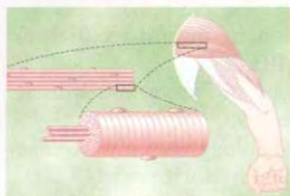
A Figura 5-19 mostra os componentes básicos do osciloscópio de raios catódicos. O tubo de raios catódicos é composto, basicamente, por um *canhão de elétrons* e por *tela fluorescente* contra a qual os elétrons são disparados. Onde os elétrons atingem a superfície da tela, o material fluorescente brilha. Caso o feixe de elétron seja movido pela tela, o local da luz brilhante também se movimenta e desenha uma linha fluorescente na tela.

Além do canhão de elétrons e da superfície fluorescente, o tubo de raios catódicos contém dois conjuntos de placas eletricamente carregadas — um conjunto posicionado nos dois lados do feixe de elétron e o outro conjunto posicionado acima e abaixo desse feixe. Um circuito de eletrônico de controle apropriado modifica a voltagem dessas placas, de forma que o feixe de elétron possa ser deslocado para cima e para baixo, em resposta aos sinais elétricos vindos dos eletrodos de registro, nos nervos. O feixe de elétrons também varre horizontalmente a tela com velocidade constante, determinada por um circuito eletrônico interno do osciloscópio. Esse conjunto produz o registro na face do tubo de raios catódicos na figura, fornecendo uma linha de tempo no eixo horizontal e a variação da voltagem dos eletrodos dos nervos mostrada no eixo vertical. Note que na extremidade esquerda do registro ocorre o pequeno *artefato do estímulo* causado pelo estímulo elétrico usado para desencadear o potencial de ação nervoso. Em seguida, para a direita, aparece o registro do potencial de ação propriamente dito.

Referências

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al: *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science, 2002.
- Grillner S: The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks. *Nat Rev Neurosci* 4:573, 2003.
- Hodgkin AL: *The Conduction of the Nervous Impulse*. Springfield, IL: Charles C Thomas, 1963.
- Hodgkin AL, Huxley AF: Quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol (Lond)* 117:500, 1952.
- Kleber AG, Rudy Y: Basic mechanisms of cardiac impulse propagation and associated arrhythmias. *Physiol Rev* 84:431, 2004.
- Lu Z: Mechanism of rectification in inward-rectifier K⁺ channels. *Annu Rev Physiol* 66:103, 2004.
- Matthews GG: *Cellular Physiology of Nerve and Muscle*. Malden, MA: Blackwell Science, 1998.
- Perez-Reyes E: Molecular physiology of low-voltage-activated T-type calcium channels. *Physiol Rev* 83:117, 2003.
- Poliak S, Peles E: The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci* 12:968, 2003.
- Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology*. Philadelphia: Elsevier Science, 2002.
- Ruff RL: Neurophysiology of the neuromuscular junction: overview. *Ann N Y Acad Sci* 998:1, 2003.
- Xu-Friedman MA, Regehr WG: Structural contributions to short-term synaptic plasticity. *Physiol Rev* 84:69, 2004.

Contração do Músculo Esquelético



Cerca de 40% do corpo é composto por músculo esquelético, e, talvez, outros 10%, por músculos liso e cardíaco. Alguns dos princípios básicos da contração se aplicam a todos estes diferentes tipos de músculos. Neste capítulo, a função do músculo esquelético é considerada como tema principal; as funções específicas do músculo liso são discutidas no Capítulo 8 e as do músculo cardíaco no Capítulo 9.

Anatomia Fisiológica do Músculo Esquelético

Fibra do Músculo Esquelético

A Figura 6-1 mostra a organização do músculo esquelético, demonstrando que todos esses músculos são compostos por numerosas fibras, com diâmetro de 10 a 80 micrômetros. Cada uma dessas fibras é formada por subunidades sucessivamente ainda menores, também mostradas na Figura 6-1 e descritas nos parágrafos seguintes.

Na maioria dos músculos esqueléticos, cada fibra se prolonga por todo o comprimento do músculo. Exceto por 2% das fibras, cada uma, em geral, é inervada por apenas uma terminação nervosa, situada perto do meio da fibra.

Sarcolema. O sarcolema é a membrana celular da fibra muscular. O sarcolema consiste em uma verdadeira membrana celular, chamada *membrana plasmática*, e um revestimento de uma fina camada de material polissacarídeo contendo muitas fibras colágenas delgadas. Em cada extremidade da fibra muscular, essa camada superficial do sarcolema funde-se com uma fibra do tendão, e a fibra do tendão, por sua vez, se agrupa em feixes, para formar os tendões dos músculos que se inserem nos ossos.

Miofibrilas; Filamentos de Actina e de Miosina. Cada fibra muscular contém centenas a milhares de *miofibrilas*, demonstradas pelos pequenos pontos abertos no corte transversal da Figura 6-1C. Cada miofibrila (Fig. 6-1D e E) é composta por cerca de 1.500 *filamentos de miosina* adjacentes e por 3.000 *filamentos de actina*, que são longas moléculas de proteínas polimerizadas responsáveis pelas reais contrações musculares. Isso pode ser visto no corte longitudinal da micrografia eletrônica da Figura 6-2 e representado diagramaticamente na Figura 6-1, partes E a L. Os filamentos mais espessos, nesse diagrama são *miosina*, e os filamentos mais finos são *actina*.

Note, na Figura 6-1E, que os filamentos de miosina e actina estão parcialmente interdigitados, fazendo com que a miofibrila alterne faixas escuras e claras, como ilustrado na Figura 6-2. As faixas claras só contêm filamentos de actina, sendo conhecidas como *faixas I*, por serem *isotrópicas* à luz polarizada. As faixas escuras contêm filamentos de miosina, assim como as extremidades dos filamentos de actina, onde se superpõem aos de miosina, sendo chamadas de *faixas A*, por serem *anisotrópicas* à luz polarizada. Note também as pequenas projeções laterais dos filamentos de miosina na Figura 6-1E e L. Essas projeções são as *pontes cruzadas*. E são as interações entre os filamentos de actina e as pontes cruzadas que causam as contrações.

A Figura 6-1E mostra também que as extremidades dos filamentos de actina estão ligados ao chamado *disco Z*. Desse disco, esses filamentos se estendem em ambas as direções para se interdigitarem com os filamentos de miosina. O disco Z,

MÚSCULO ESQUELÉTICO

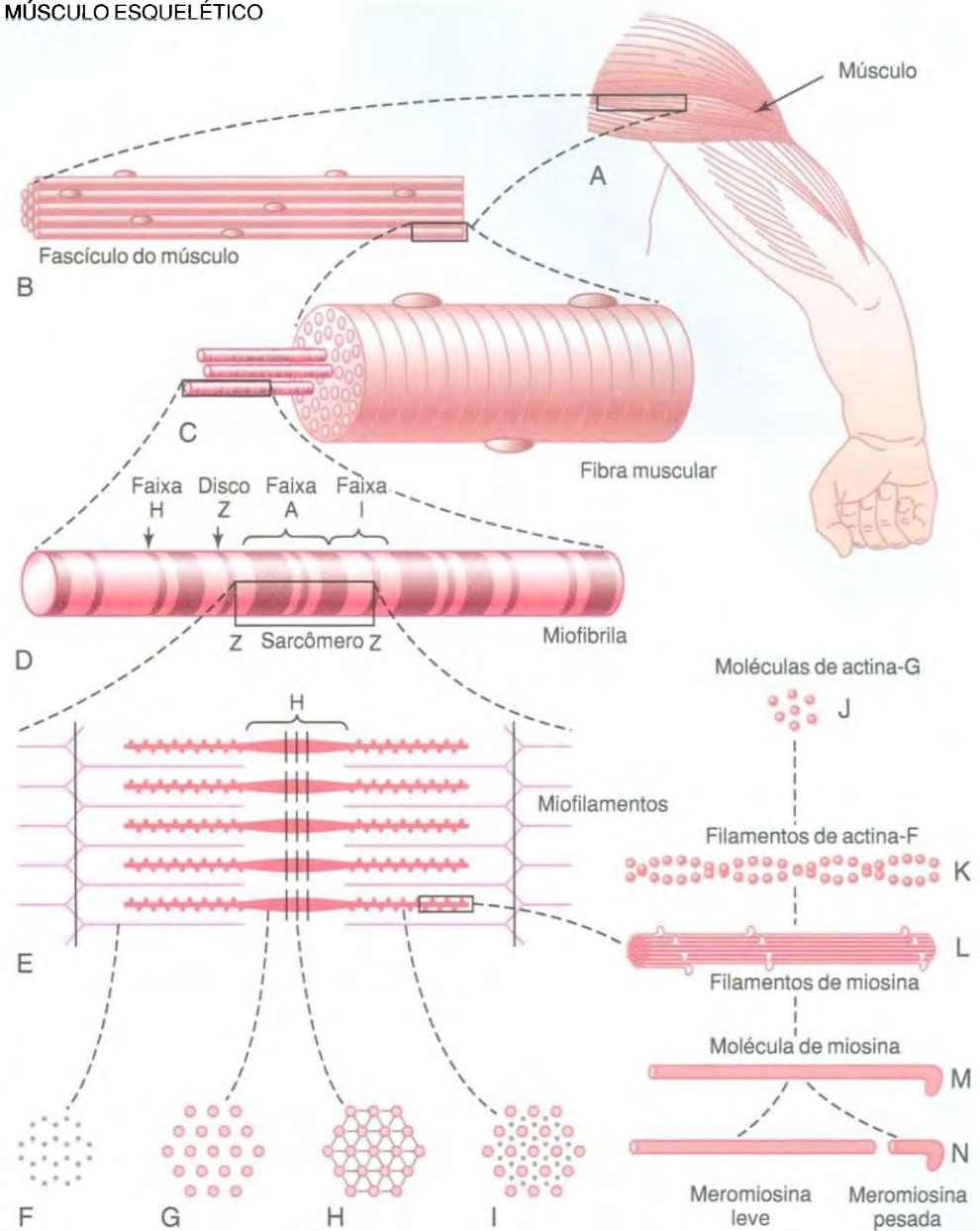


Figura 6-1

Organização do músculo esquelético, do nível macroscópico ao molecular. As letras F, G, H e I são cortes transversais nos níveis indicados. (Desenhada por Sylvia Colard Keene. Modificada do Fawcett DW: Bloom e Fawcett: A textbook of Histology. Philadelphia: WB Saunders, 1986.)

que é composto por filamentos de proteína diferentes dos filamentos de actina e miosina, cruza transversalmente toda a miofibrila e também, de forma transversa, de miofibrila para miofibrila, conectando as miofibrilas umas às outras, por toda fibra muscular. Por essa razão, a fibra muscular, por toda sua espessura, apresenta faixas claras e escuras, como as miofibrilas individuais. Essas faixas dão aos músculos esqueléticos e cardíacos sua aparência estriada.

O segmento da miofibrila (ou de toda a fibra muscular) situado entre dois discos Z sucessivos é referido como *sarcômero*. Quando a fibra muscular está contraída, como mostra a parte inferior da Figura 6-4, o comprimento do sarcômero é de cerca de 2 micrômetros. Nesse comprimento, os filamentos de actina se sobrepõem completamente aos filamentos de miosina, e as pontas dos filamentos de actina estão quase começando a se sobre-

por. Será visto adiante que, nesse comprimento, o músculo é capaz de gerar sua força máxima de contração.

O que Mantém os Filamentos de Miosina e Actina no Lugar? As Moléculas Filamentares de Titina. O posicionamento lado a lado dos filamentos de miosina e actina é difícil de ser mantido. Essa manutenção é realizada pelo grande número de moléculas filamentosas de uma proteína chamada *titina*. Cada molécula de titina tem peso molecular de cerca de três milhões, o que faz dela a maior molécula de proteína no corpo. Também, por ser filamental, é *muito flexível*. Essa flexibilidade das moléculas de titina atua como um arcabouço que mantém os filamentos de miosina e actina em seus lugares, de modo que a maquinaria contrátil possa entrar em ação. Existe razão para se acreditar que a própria molécula de titina atue como molde para a formação inicial de porções dos

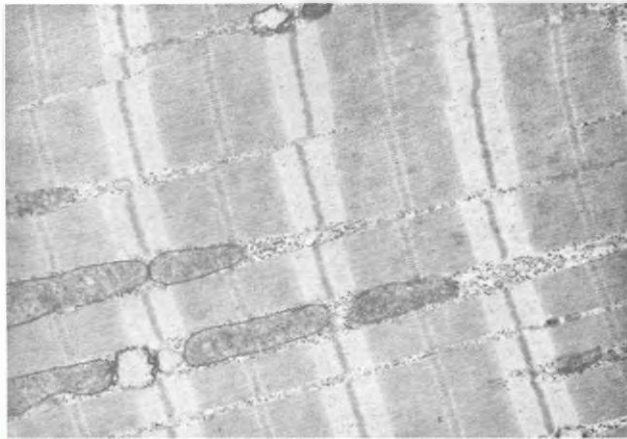


Figura 6-2

Micrografia eletrônica das miofibrilas musculares mostrando, detalhadamente, a organização dos filamentos de actina e miosina. Note as mitocôndrias situadas entre as miofibrilas. (De Fawcett DW: The Cell. Philadelphia: WB Saunders, 1981.)

filamentos contráteis do sarcômero, em especial os filamentos de miosina.

Sarcoplasma. As numerosas miofibrilas de cada fibra muscular ficam em suspensão, lado a lado, na fibra muscular. Os espaços entre as miofibrilas são preenchidos pelo líquido intracelular, conhecido como sarcoplasma, contendo grande quantidade de potássio, magnésio e fosfato, além de múltiplas enzimas protéicas. Também está presente nessa substância um número imenso de *mitocôndrias*, situadas paralelas às miofibrilas. Elas fornecem às miofibrilas que se contraem, grande quantidade de energia, na forma de trifosfato e adenosina (ATP) formado pelas mitocôndrias.

Retículo Sarcoplasmático. Também no sarcoplasma, circundando as miofibrilas de cada fibra muscular, existe extenso retículo (Fig. 6-3), referido como *retículo sarcoplasmático*. Esse retículo tem uma organização especial que é extremamente importante para o controle da contração muscular, como discutido no Capítulo 7. Os tipos de fibras musculares com contração muito rápida apresentam retículos sarcoplasmáticos especialmente muito extensos.

Mecanismo Geral da Contração Muscular

O início e a execução de uma contração muscular ocorrem nas seguintes etapas sequenciais.

1. Os potenciais de ação cursam pelo nervo motor até suas terminações nas fibras musculares.
2. Em cada terminação, o nervo secreta pequena quantidade da substância neurotransmissora *acetilcolina*.
3. A acetilcolina age em uma área local da membrana da fibra muscular para abrir múltiplos canais “regulados

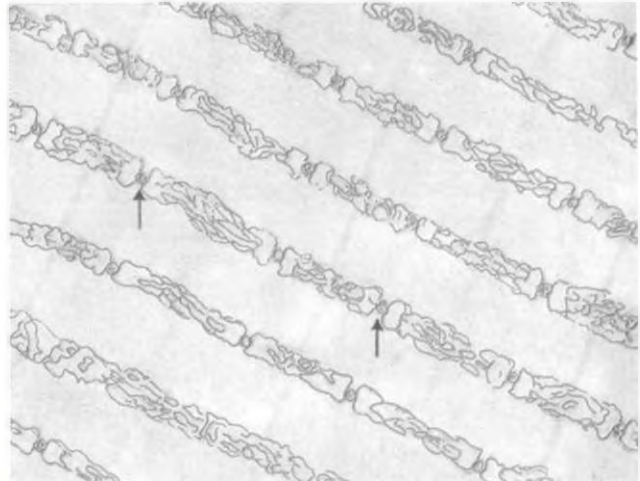


Figura 6-3

Retículo sarcoplasmático nos espaços extracelulares entre as miofibrilas, mostrando o sistema longitudinal, paralelo às miofibrilas. São mostrados, também, em corte transversal, os túbulos T (*setas*) que levam ao exterior da membrana das fibras e que são importantes condutores do sinal elétrico para o interior da fibra muscular. (De Fawcett DW: The Cell. Philadelphia: WB Saunders, 1981.)

pela acetilcolina” por meio de moléculas de proteína que flutuam na membrana.

4. A abertura dos canais regulados pela acetilcolina permite a difusão de grande quantidade de íons sódio para o lado interno da membrana das fibras musculares. Isso desencadeia o potencial de ação na membrana.
5. O potencial de ação se propaga por toda a membrana da fibra muscular do mesmo modo como o potencial de ação cursa pela membrana das fibras nervosas.
6. O potencial de ação despolariza a membrana muscular, e grande parte da eletricidade do potencial de ação flui pelo centro da fibra muscular. Aí, ela faz com que o retículo sarcoplasmático libere grande quantidade de íons cálcio que estavam armazenados nesse retículo.
7. Os íons cálcio ativam as forças atrativas entre os filamentos de miosina e actina, fazendo com que eles deslizem ao lado um do outro, que é o processo contrátil.
8. Após fração de segundo, os íons cálcio são bombeados de volta para o retículo sarcoplasmático pela bomba de Ca^{++} da membrana, onde permanecem armazenados até que novo potencial de ação muscular se inicie; essa retirada dos íons cálcio das miofibrilas faz com que a contração muscular cesse.

Agora será descrito o mecanismo molecular do processo de contração muscular.

Mecanismo Molecular da Contração Muscular

Mecanismo de Deslizamento dos Filamentos da Contração Muscular. A Figura 6-4 demonstra o mecanismo básico da contração muscular. Ela mostra o estado relaxado de um sarcômero (na parte superior) e o estado contraído (na parte inferior). No estado relaxado, as extremidades dos filamentos de actina que se estendem de dois discos Z sucessivos, mal se sobrepõem. Inversamente, no estado

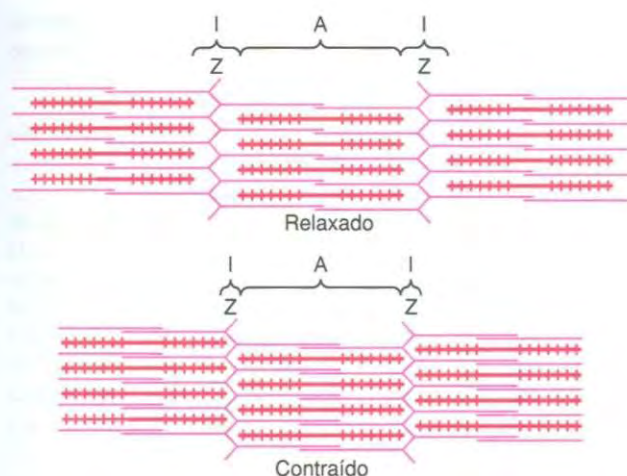


Figura 6-4

Estados contraídos e relaxados da miofibrila mostrando (acima) o deslizamento dos filamentos de actina (rosa), pelos espaços entre os filamentos de miosina (vermelho), e (abaixo) puxando as membranas Z umas contra as outras.

contraído, esses filamentos de actina são tracionados por entre os filamentos de miosina, de forma que suas extremidades se sobrepõem, umas às outras, em sua extensão máxima. Também, os discos Z foram tracionados pelos filamentos de actina até as extremidades dos filamentos de miosina. Desse modo, a contração muscular ocorre por *mecanismo de deslizamento dos filamentos*.

Mas o que faz com que os filamentos de actina deslizem por entre os filamentos de miosina? Isso resulta da força gerada pela interação das pontes cruzadas dos filamentos de miosina com os filamentos de actina. Em condições de repouso, essas forças estão inativas, mas quando um potencial de ação passa pela fibra muscular, ele faz com que o retículo sarcoplasmático libere grande quantidade de íons cálcio, que, rapidamente, circulam pelas miofibrilas. Os íons cálcio, por sua vez, ativam as forças entre os filamentos de miosina e de actina, e a contração se inicia. Mas energia é necessária para que o processo de contração continue. Essa energia deriva das ligações de alta energia da molécula de ATP, que é degradada difosfato de adenosina (ADP) para liberar energia. Nas próximas seções, descrevemos o que é conhecido sobre os detalhes desse processo molecular de contração.

Características Moleculares dos Filamentos Contráteis

Filamento de Miosina. O filamento de miosina é composto por múltiplas moléculas de miosina, cada uma com peso molecular em torno de 480.000. A Figura 6-5A mostra uma molécula isolada; a Figura 6-5B mostra a disposição de muitas moléculas para formar os filamentos de miosina, assim como a interação desses filamentos com um dos lados das extremidades de dois filamentos de actina.

A *molécula de miosina* (Fig. 6-5A) é composta por seis cadeias polipeptídicas — duas *cadeias pesadas*, cada uma com um peso molecular em torno de 200.000, e quatro

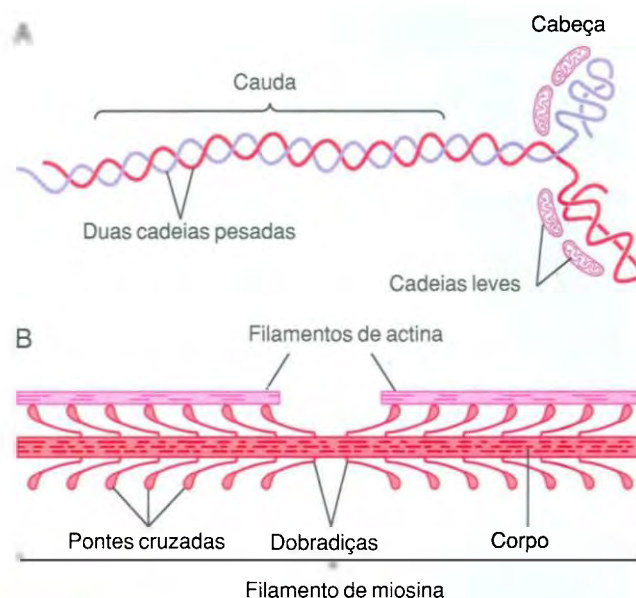


Figura 6-5

A, Molécula de miosina. B, Combinação de muitas moléculas de miosina para formar o filamento de miosina. São mostrados, também, milhares de *pontes cruzadas* de miosina e interações entre as *cabeças* das pontes com os filamentos adjacentes de actina.

cadeias leves, com peso molecular em torno de 20.000 cada. As duas cadeias pesadas se espiralam uma com a outra, para formar uma dupla hélice, chamada *cauda* ou *haste* da molécula de miosina. Uma ponta de cada uma dessas cadeias é dobrada para um dos lados, formando a estrutura polipeptídica globular chamada *cabeça* da miosina. Assim, existem duas cabeças livres na extremidade livre da molécula de miosina de dupla hélice. As quatro cadeias leves também fazem parte da cabeça da miosina, duas para cada cabeça. Essas cadeias leves ajudam a regular o funcionamento da cabeça durante a contração muscular.

O *filamento de miosina* é formado por 200 ou mais moléculas individuais de miosina. A região central de um desses filamentos é mostrada na Figura 6-5B, exibindo as caudas das moléculas de miosina se agrupando em feixes para formar o *corpo* do filamento, enquanto muitas cabeças das moléculas se projetam para fora, nos lados do corpo. Também, partes do corpo de cada molécula de miosina estão penduradas nas partes laterais, junto com as cabeças, formando, assim, um *braço* que estende a cabeça para fora do corpo, como mostra a figura. As projeções dos braços e das cabeças formam as *pontes cruzadas*. Cada ponte cruzada é flexível em dois locais, designados como *dobradiças* — um na junção entre o braço e o corpo do filamento de miosina, e o outro no ponto de ligação da cabeça ao braço. Os braços móveis permitem que as cabeças sejam estendidas, afastando-se do corpo do filamento de miosina, ou seja, aproximadas do corpo. Já as cabeças móveis participam, sucessivamente, do processo real da contração, discutido nas seções seguintes.

O comprimento total de cada filamento de miosina é uniforme, quase que exato 1,6 micrômetro. Note, entretanto, que não existem cabeças com pontes cruzadas bem no centro do filamento de miosina, por uma distância de cerca de 0,2 micrômetro, porque os braços móveis se estendem para longe do centro.

Agora, para completar o quadro, o próprio filamento de miosina é retorcido de forma que cada par sucessivo de pontes cruzadas é axialmente deslocado do par anterior por 120 graus. Isso assegura a extensão das pontes cruzadas em todas as direções em torno de um filamento.

Atividade da ATPase da Cabeça de Miosina. Outra característica da cabeça da miosina, fundamental para contração muscular, é sua função como uma *enzima ATPase*. Como explicado adiante, essa propriedade permite que a cabeça clive o ATP e utilize a energia derivada das ligações de alta energia do fosfato do ATP para energizar o processo de contração.

Filamento de Actina. O filamento de actina também é complexo. Ele é formado por três componentes protéicos: *actina*, *tropomiosina* e *troponina*.

O arcabouço do filamento de actina é o duplo filamento da *molécula protéica da actina-F*, representada pelos dois filamentos mais claros na Figura 6-6. Esses dois filamentos formam uma dupla hélice, como ocorre com as moléculas de miosina.

Cada filamento em dupla hélice da actina-F é composto por *moléculas de actina-G* polimerizadas, cada uma com peso molecular em torno de 42.000. Ligada a cada molécula de actina-G existe uma molécula de ADP. Acredita-se que essas moléculas de ADP sejam os locais ativos nos filamentos de actina com as quais interagem as *pontes cruzadas* dos filamentos de miosina para produzir a contração muscular. Os locais ativos nos dois filamentos na dupla hélice de actina-F são alternados, fazendo com que, por todo o filamento de actina, exista um local ativo a cada 2,7 nanômetros.

Cada filamento de actina tem comprimento em torno de 1 micrômetro. A base dos filamentos de actina está fortemente inserida nos discos Z; as extremidades dos filamentos projetam-se em ambas as direções, para ficarem nos espaços entre as moléculas de miosina, como mostrado na Figura 6-4.

As Moléculas de Tropomiosina. Os filamentos de actina contêm também outra proteína, a *tropomiosina*. Cada molécula de tropomiosina tem peso molecular de 70.000 e comprimento de 40 nanômetros. Essas moléculas ficam espiraladamente pelos sulcos da dupla hélice da actina-F. Durante o período de repouso, as moléculas de tropomio-

sina recobrem os locais ativos de filamento de actina, de forma a impedir que ocorra atração entre os filamentos de actina e de miosina para produzir contração.

A Troponina e Seu Papel na Contração Muscular. Ligado intermitentemente aos lados das moléculas de tropomiosina, existe ainda outro tipo de molécula de proteína, referida como *troponina*. Ela é, na realidade, um complexo de três subunidades protéicas frouxamente ligadas, cada uma com participação específica na regulação da contração muscular. Uma das subunidades (troponina I) tem forte afinidade com a actina, outra (troponina T) com a tropomiosina e a terceira (troponina C) com os íons cálcio. Admite-se que esse complexo seja responsável pela ligação da tropomiosina com a actina. Acredita-se que a forte afinidade da troponina com os íons cálcio seja o evento que desencadeia o processo da contração, como explicado na próxima seção.

A Interação de um Filamento de Miosina com Dois Filamentos de Actina e com os Íons Cálcio para Causar a Contração

Inibição do Filamento de Actina pelo Complexo Troponina-Tropomiosina; Ativação pelos Íons Cálcio. O filamento puro de actina, na falta do complexo troponina-tropomiosina (mas em presença de íons magnésio e de ATP) se liga instantânea e fortemente às cabeças das moléculas de miosina. Então, se o complexo troponina-tropomiosina for adicionado ao filamento de actina, a união entre a miosina e a actina não ocorre. Por isso, acredita-se que os locais ativos do filamento normal de actina no músculo em repouso sejam inibidos ou fisicamente recobertos pelo complexo troponina-tropomiosina. Assim, esses locais não podem se ligar às cabeças dos filamentos de miosina para produzir a contração. Antes que a contração possa ocorrer, os efeitos inibidores do complexo troponina-tropomiosina devem ser inibidos.

Essa situação nos leva ao papel dos íons cálcio. Em presença de grande quantidade de íons cálcio, os efeitos inibidores do complexo troponina-tropomiosina são inibidos. O mecanismo dessa inibição não é conhecido, mas uma das sugestões é a seguinte: quando os íons cálcio se ligam à troponina C — e cada uma dessas moléculas pode se unir fortemente a até quatro íons cálcio — o complexo de troponina supostamente passa por alteração conformacional que, de algum modo, traciona, com grande intensidade, a molécula de tropomiosina, deslocando-a para o fundo do sulco entre os dois filamentos de actina. Isto “descobre” os locais ativos da actina, permitindo, desse modo, que atraiam as pontes cruzadas das cabeças da miosina e fazendo com que a contração prossiga. Mesmo sendo um mecanismo hipotético, ele enfatiza que a relação normal entre o complexo troponina-tropomiosina com a actina é alterada pelos íons cálcio, criando nova condição que leva à contração.

A Interação Entre o Filamento de Actina “Ativado” e as Pontes Cruzadas de Miosina — A Teoria de “Ir para Diante” (Walk-Along) da Contração. Tão logo os filamentos de actina tornam-se ativados pelos íons cálcio, as pontes cruzadas das cabeças dos filamentos de miosina são atraídas pelos locais ativos do filamento de actina, o que, de alguma maneira, produz a contração. Embora o modo preciso como essa interação entre as pontes cruzadas e a

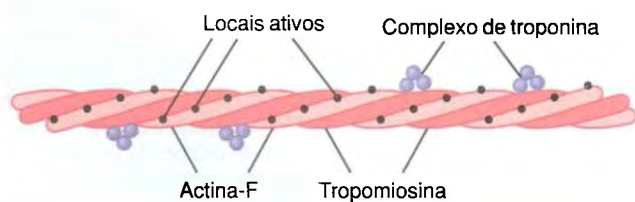


Figura 6-6

Filamento de actina, composto por dois filamentos helicoidais de moléculas de *actina-F* e dois filamentos de moléculas de *tropomiosina* que se encaixam nos sulcos entre os filamentos de actina. Ligado a uma extremidade de cada molécula de tropomiosina está o complexo de *troponina* que inicia a contração.

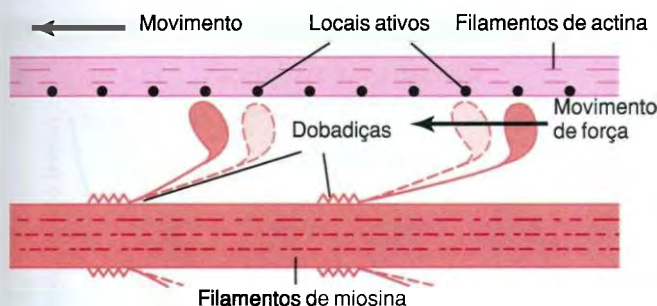


Figura 6-7

Mecanismo de "ir para diante" para contração dos músculos.

actina produz contração ainda seja em parte teórico, uma hipótese para a qual existem consideráveis evidências é a teoria do "ir para diante" (*walk-along*) (ou *teoria da "catraca"* [*ratchet*]) da contração.

A Figura 6-7 demonstra esse mecanismo postulado de ir para diante para a contração. A figura mostra as cabeças de duas pontes cruzadas se ligando e se desligando dos locais ativos de filamento de actina. Postula-se que quando a cabeça se liga ao local ativo, essa ligação provoca, ao mesmo tempo, profundas alterações nas forças intramoleculares entre a cabeça e o braço dessas pontes cruzadas. O novo alinhamento de forças faz com que a cabeça se incline em direção ao braço e leve com ela o filamento de actina. Essa inclinação da cabeça é chamada de *força de deslocamento* ou movimento de força (*power stroke*). Então, imediatamente após a inclinação, a cabeça, de forma automática, se separa do local ativo. Em seguida, retorna para sua direção estendida. Nessa posição, ela se combina com novo local ativo, situado mais adiante no filamento de actina; então, a cabeça volta a se inclinar para efetuar novo movimento de força, e o filamento de actina move outro passo. Desse modo, as pontes cruzadas das cabeças se inclinam para a frente e para trás, passo a passo, ao longo do filamento de actina, puxando as extremidades livres de dois filamentos sucessivos de actina em direção ao centro do filamento de miosina.

Acredita-se que cada uma das pontes cruzadas atue de forma independente das demais, cada uma se ligando e puxando, em ciclo contínuo e repetitivo. Assim, quanto maior o número de pontes cruzadas ligadas ao filamento de actina a qualquer tempo, maior será, teoricamente, a força da contração.

ATP como Fonte de Energia para a Contração — Eventos Químicos na Movimentação das Cabeças de Miosina. Quando um músculo se contrai, é realizado trabalho, com necessidade de energia. Grandes quantidades de ATP são degradadas, formando ADP, durante o processo da contração; quanto maior a quantidade de trabalho realizada pelo músculo, maior a quantidade de ATP degradada, o que é referido como *efeito Fenn*. Acredita-se que esse efeito ocorra na seguinte sequência:

1. Antes do início da contração, as pontes cruzadas das cabeças ligam-se ao ATP. A atividade da ATPase das cabeças de miosina imediatamente cliva o ATP, mas deixa o ADP e o íon fosfato como produtos dessa clivagem, ainda ligados à cabeça. Nessa etapa, a con-

formação da cabeça é tal que se estende perpendicularmente em direção ao filamento de actina, só que ainda não está ligada à actina.

2. Quando o complexo troponina-tropomiosina se liga aos íons cálcio, os locais ativos no filamento de actina estão descobertos, e as cabeças de miosina então se unem a eles, como mostra Figura 6-7.
3. A ligação entre a ponte cruzada da cabeça e o local ativo no filamento de actina causa alteração conformacional na cabeça, fazendo com que esta se incline em direção ao braço da ponte cruzada. Essa alteração gera um *movimento de força* para puxar o filamento de actina. A energia que ativa o movimento de força é a energia já armazenada, como uma mola "engatilhada", pela alteração conformacional que ocorreu na cabeça quando as moléculas de ATP foram clivadas.
4. Uma vez em que a cabeça da ponte cruzada esteja inclinada, isso permite a liberação de ADP e de íons fosfato que estavam ligados à cabeça. No local onde foi liberado o ADP, nova molécula de ATP se liga. A ligação desse novo ATP causa o desligamento da cabeça pela actina.
5. Após a cabeça ter sido desligada da actina, a nova molécula de ATP é clivada para que seja iniciado um novo ciclo, levando a novo movimento de força. Ou seja, a energia volta a "engatilhar" a cabeça em sua posição perpendicular, pronta para começar o novo ciclo do movimento de força.
6. Quando a cabeça engatilhada (com a energia armazenada derivada da clivagem do ATP) se liga a novo local ativo no filamento de actina, ela se descarrega e, de novo, fornece outro movimento de força.

Desse modo, o processo ocorre sucessivamente até que os filamentos de actina puxem a membrana Z contra as extremidades dos filamentos de miosina, ou até que a carga sobre os músculos fique demasiadamente forte para que ocorra mais tração.

Efeito do Grau de Sobreposição dos Filamentos de Actina e de Miosina sobre o Desenvolvimento de Tensão pela Contração Muscular

A Figura 6-8 mostra o efeito do comprimento do sarcômero e do grau de sobreposição dos filamentos de miosina-actina sobre a tensão ativa desenvolvida pela fibra muscular em contração. A direita, em preto, são mostrados diferentes graus de sobreposição dos filamentos de miosina e actina em diversos comprimentos do sarcômero. No ponto D do diagrama, os filamentos de actina foram puxados por toda sua extensão até a extremidade do filamento de miosina, sem nenhuma sobreposição de actina-miosina. Nesse ponto, a tensão desenvolvida pelo músculo ativado é zero. Então, à medida que o sarcômero encurta e os filamentos de actina começam a se sobrepor aos filamentos de miosina, a tensão aumenta progressivamente até o comprimento de sarcômero diminuir para cerca de 2,2 micrômetros. Nesse ponto, os filamentos de actina já estão sobrepostos a todas as pontes cruzadas dos filamentos de miosina, mas ainda não atingiram o centro do filamento de miosina. Mesmo com encurtamento adicional, o sarcômero mantém tensão máxima até que o ponto B seja atingido, o que ocorre quando o sarcômero

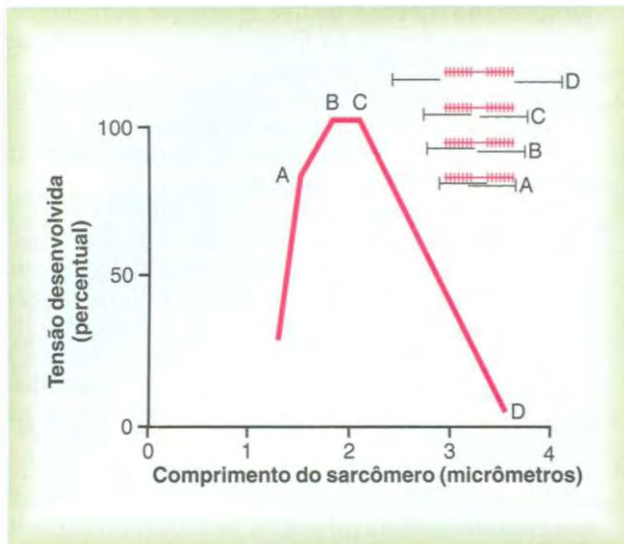


Figura 6-8

Diagrama do comprimento-tensão para sarcômero único, totalmente contraído, mostrando a força máxima de contração quando o sarcômero tem 2,0 a 2,2 micrômetros de comprimento. No lado superior direito, estão as posições relativas dos filamentos de actina e miosina em diferentes comprimentos do sarcômeros do ponto A ao ponto D. (Modificada de Gordon AM, Huxley AF, Julian FJ: The length-tension diagram of single striated muscle fibers. J Physiol 171:28P, 1964.)

encurta até 2 micrômetros. Nesse ponto, as extremidades dos dois filamentos de actina começam a se sobrepor, além da sobreposição dos filamentos de miosina. Como o comprimento do sarcômero cai de 2 micrômetros para 1,65 micrômetro no ponto A, a força da contração é reduzida rapidamente. Nesse ponto, os dois discos Z do sarcômero entram em contato com as extremidades dos filamentos de miosina. Então, como as contrações prosseguem com comprimentos do sarcômero cada vez menores, as extremidades dos filamentos de miosina são enrugadas e, como mostra a figura, a força da contração aproxima-se do zero, mas todo o músculo está agora contraído até seu menor comprimento.

Efeito do Comprimento Muscular sobre a Força de Contração no Músculo Totalmente Intacto. A curva superior da Figura 6-9 é semelhante à curva da Figura 6-8, mas a curva na Figura 6-9 retrata a tensão do músculo total intacto, e não de apenas fibra muscular única. O músculo, em sua totalidade, contém grande quantidade de tecido conjuntivo; também, os sarcômeros, em partes diferentes do músculo, nem sempre se contraem do mesmo grau. Por essa razão, a curva possui dimensões algo diferentes das curvas mostradas para a fibra muscular individual, mas exibe a mesma forma geral para a inclinação, na *faixa normal de contração*, como se observa na Figura 6-9.

Note, na Figura 6-9, que quando o músculo está no seu comprimento normal de *repouso*, que corresponde ao comprimento do sarcômero de cerca de 2 micrômetros, o músculo se contrai, quando ativado, com sua força máxima de contração. Todavia, o *aumento* da tensão que ocorre durante essa contração, chamada *tensão ativa*, diminui com o estiramento do músculo além de seu comprimento normal — ou seja, até comprimentos do sarcô-

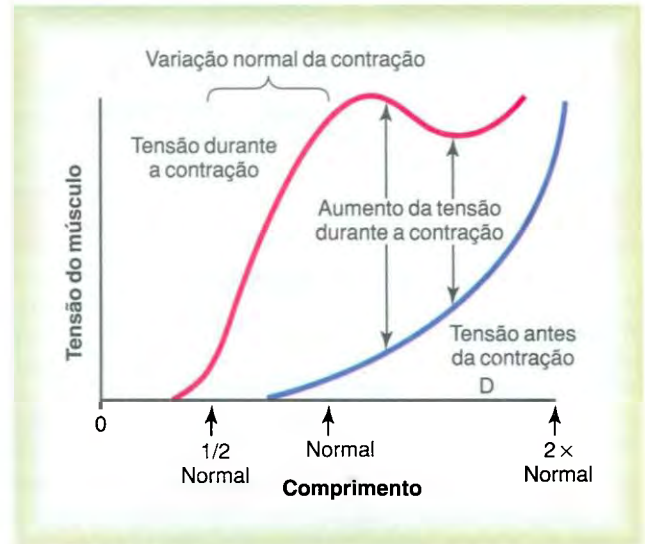


Figura 6-9

Relação do comprimento muscular com a tensão, tanto antes quanto durante a contração muscular.

mero maiores do que 2,2 micrômetros. Isso é demonstrado pela diminuição do tamanho da seta na figura, nos tamanhos maiores que o normal do músculo.

Relação entre a Velocidade de Contração e a Carga

O músculo esquelético se contrai extremamente rápido, quando não está sem qualquer carga — para um estado de contração total em torno de 0,1 segundo para um músculo médio. Quando é aplicada carga, a velocidade de contração fica progressivamente menor à medida que a carga aumenta, como mostra a Figura 6-10. Ou seja, quando a carga é aumentada até um valor igual à força máxima que o músculo pode exercer, a velocidade de contração é zero, não ocorrendo qualquer contração, apesar de a fibra muscular ter sido ativada.

Essa velocidade decrescente da contração com carga é causada pelo fato de uma carga, na contração do músculo, ser uma força reversa que se opõe à força contrátil, causada pela contração do músculo. Portanto, a força efetiva, disponível para causar a velocidade de encurtamento, é de modo correspondente, reduzida.

Energética da Contração Muscular

Rendimento do Trabalho durante a Contração Muscular

Quando o músculo se contrai contra uma carga, ele realiza *trabalho*. Isso significa que a *energia* é transferida do músculo para a carga externa, para levantar um objeto até a maior altura ou para superar a resistência a um movimento.

Em termos matemáticos, o trabalho é definido pela seguinte equação:

$$T = C \times D$$

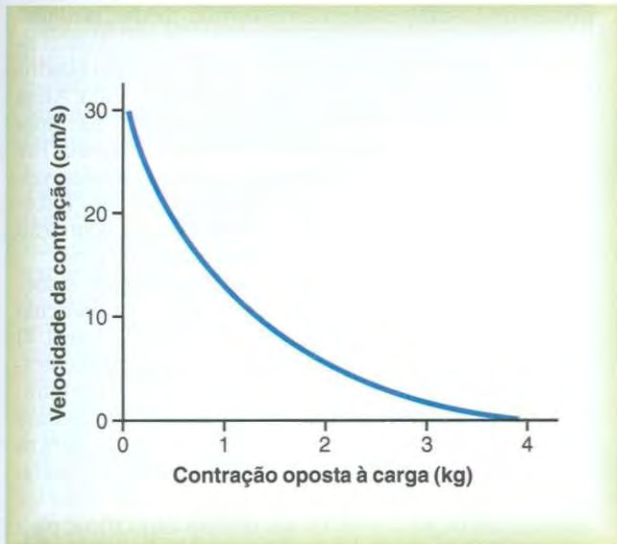


Figura 6-10

Relação entre a carga e a velocidade da contração do músculo esquelético com seção transversal de 1 centímetro quadrado e comprimento de 8 centímetros.

na qual T é o rendimento do trabalho, C é a carga, e D é a distância do movimento contra a carga. A energia necessária para se realizar trabalho é derivada de reações químicas nas células musculares durante a contração, conforme descrito nas próximas seções.

Fontes de Energia para a Contração Muscular

Já foi visto que a contração muscular depende da energia fornecida pelo ATP. A maior parte dessa energia é necessária para ativar o mecanismo de ir para diante (*walk-along*), pelo qual as pontes cruzadas puxam os filamentos de actina, mas pequenas quantidades são necessárias para (1) o bombeamento dos íons cálcio do sarcoplasma para o retículo sarcoplasmático, depois do término da contração, e (2) o bombeamento dos íons sódio e potássio através da membrana da fibra muscular, para manter o ambiente iônico apropriado para a propagação do potencial de ação das fibras musculares.

A concentração de ATP na fibra muscular, em torno de 4 milimolar, é suficiente para manter a contração total por no máximo um a dois segundos. O ATP é clivado para formar ADP, o qual transfere a energia das moléculas de ATP para o mecanismo de contração da fibra muscular. Então, como descrito no Capítulo 2, o ADP é refosforilado para formar novo ATP em outra fração de segundo, o que permite que o músculo continue sua contração. Existem muitas fontes de energia para essa refosforilação.

A primeira fonte de energia que é utilizada para reconstituir o ATP é a substância *fosfocreatina*, a qual transporta uma ligação fosfato de alta energia similar às ligações do ATP. As ligações fosfato de alta energia da fosfocreatina têm teor de energia livre pouco maior que cada ligação do ATP, o que é discutido, em maiores detalhes, nos Capítulos 67 e 72. Assim, a fosfocreatina é clivada ins-

tantaneamente, e sua energia liberada causa a ligação de novo íon fosfato ao ADP, para reconstituir o ATP. Entretanto, a quantidade total de fosfocreatina na fibra muscular é também muito pequena — apenas cerca de cinco vezes maior que a quantidade de ATP. Por isso, a energia combinada do ATP armazenado e da fosfocreatina no músculo é capaz de manter a contração muscular máxima por apenas cinco a oito segundos.

A segunda fonte importante de energia, que é utilizada para reconstituir o ATP e a fosfocreatina, é a “glicólise” do *glicogênio* previamente armazenado nas células musculares. O rápido desdobramento enzimático do glicogênio a ácidos pirúvico e lático, libera energia que é utilizada para converter o ADP em ATP; o ATP pode, então, ser utilizado diretamente para energizar contrações musculares adicionais e também para reconstituir as reservas de fosfocreatina.

A importância desse mecanismo de glicólise é dupla. Primeiro, as reações glicolíticas podem ocorrer mesmo na ausência de oxigênio, de forma que a contração muscular pode ser mantida por muitos segundos e muitas vezes por mais do que um minuto, mesmo quando o oxigênio liberado pelo sangue não estiver disponível. Segundo, a velocidade de formação do ATP pelo processo glicolítico é cerca de 2,5 vezes mais rápida do que a formação do ATP em resposta à reação dos nutrientes celulares com o oxigênio. Entretanto, como muitos produtos finais da glicólise se acumulam nas células musculares, a glicólise perde, também, sua capacidade de sustentar a contração muscular máxima após um minuto.

A terceira e última fonte de energia é o *metabolismo oxidativo*. Isso significa combinar o oxigênio com os produtos finais da glicólise e com vários outros nutrientes celulares para liberar ATP. Mais de 95% de toda a energia usada pelos músculos para contração mantida por longo tempo é derivada dessa fonte. Os nutrientes alimentares consumidos são carboidratos, gorduras e proteínas. Para a atividade muscular máxima extremamente longa — por um período de várias horas — a maior proporção de energia, de longe, vem da gordura, mas por um período de duas a quatro horas, e a metade da energia vem dos carboidratos armazenados.

Os mecanismos detalhados desse processo energético são discutidos nos Capítulos 67 a 72. Além disso, a importância dos diferentes mecanismos de liberação de energia durante o desempenho de diferentes esportes é discutida no Capítulo 84, sobre a fisiologia esportiva.

Eficiência da Contração Muscular. A eficiência de uma máquina ou de um motor é calculada conforme o percentual de energia fornecida que é convertida em trabalho em vez de calor. O percentual da quantidade de energia fornecida ao músculo (a energia química dos nutrientes) que pode ser convertida em trabalho, mesmo sob as melhores condições, é menor que 25%, com o restante se transformando em calor. A razão para essa baixa eficiência é que cerca da metade da energia dos nutrientes é perdida durante a formação do ATP, e, mesmo assim, somente 40% a 45% da energia do ATP pode ser posteriormente convertida em trabalho.

A eficiência máxima só pode ser conseguida quando a contração muscular ocorre com velocidade moderada. Se o músculo se contrair lentamente ou sem qualquer movimento, pequenas quantidades do *calor de manutenção* são liberadas durante a contração, mesmo que pouco ou nenhum trabalho seja realizado, fazendo com que a eficiência da conversão diminua a zero. De modo inverso, se a contração for muito rápida, grande quantidade de energia é usada para superar a fricção viscosa no próprio músculo, o que também reduz a eficiência da contração. Geralmente, ocorre eficiência máxima quando a velocidade da contração fica em torno de 30% da máxima.

Características da Contração do Músculo Como um Todo

Muitas características da contração muscular podem ser demonstradas pela produção de um *abalo muscular* (*muscle twitch*). Este pode ser produzido por meio da excitação elétrica instantânea do nervo muscular ou por um breve estímulo elétrico, originando contração breve e abrupta que dura uma fração de segundo.

Contração Isométrica versus Isotônica. A contração muscular é dita *isométrica* quando o músculo não encurta durante contração, e *isotônica* quando encurta mas sua tensão permanece constante por toda a contração. Sistemas para registrar os dois tipos de contração muscular são mostrados na Figura 6-11.

No sistema isométrico, o músculo se contrai contra um transdutor de força sem que ocorra encurtamento do músculo, como mostrado no lado direito da Figura 6-11. No sistema isotônico, o músculo se encurta contra uma carga fixa; esse sistema está ilustrado no lado esquerdo da figura, onde se pode observar o músculo levantando peso. As características das contrações isotônicas dependem da carga contra a qual o músculo se contrai, além da inércia da carga. Entretanto, o sistema isométrico, em termos estritos, só registra a variação da força da própria contração muscular. Por isso, o sistema isométrico é comumente mais utilizado quando se comparam as características funcionais dos diferentes tipos de músculo.

Características dos Abalos Isométricos Registrados em Diferentes Músculos. O corpo humano contém músculos esqueléticos com dimensões muito diferentes — desde o muito

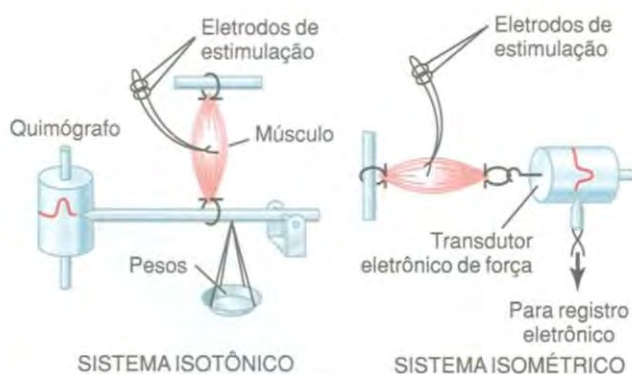


Figura 6-11

Sistemas isotônico e isométrico para registro das contrações musculares.

pequeno músculo estapédio no ouvido médio, medindo somente uns poucos milímetros de comprimento e um milímetro ou mais de diâmetro, até o grande músculo quadríceps, meio milhão de vezes maior que o estapédio. Além disso, as fibras podem ser tão delgadas quanto 10 micrômetros de diâmetro, ou tão grossas quanto 80 micrômetros. Por fim, a energética da contração muscular varia consideravelmente entre os diferentes músculos. Por isso, não é surpreendente que as características mecânicas da contração muscular sejam diferentes entre os diversos músculos.

A Figura 6-12 mostra o registro das contrações isométricas de três tipos de músculo esquelético: um músculo ocular, com contração *isométrica* de menos do que 1/40 segundo; o músculo gastrocnêmio, com duração da contração de cerca de 1/15 segundo; e o músculo sóleo, com duração da contração de cerca de 1/3 segundo. É interessante que essas durações da contração sejam adaptadas para as funções dos respectivos músculos. Os movimentos oculares devem ser extremamente rápidos para que possa ser mantida a fixação dos olhos nos objetos específicos, para garantir a acuidade visual. O músculo gastrocnêmio deve se contrair com velocidade moderadamente alta, para permitir o movimento dos membros com velocidade suficiente para a corrida e para o salto, e o músculo sóleo tem como função principal a contração lenta para o suporte contínuo e por longo período do corpo contra a gravidade.

Fibras Musculares Rápidas versus Fibras Lentas. Como discutido mais detalhadamente no Capítulo 84, sobre a fisiologia dos esportes, cada músculo do corpo é composto por uma mistura das chamadas fibras musculares *rápidas* e *lentas*, além das fibras com diferentes graduações entre estes dois extremos. Os músculos que reagem rapidamente são compostos, em sua maior parte, por fibras “rápidas” com apenas um pequeno número da variedade lenta. Inversamente, os músculos que respondem lentamente, mas com contração prolongada, são compostos, na maior parte, por fibras “lentas”. As diferenças entre esses dois tipos de fibras são as seguintes.

Fibras Rápidas. (1) Fibras grandes para uma grande força de contração. (2) Retículo sarcoplasmático muito extenso, para a rápida liberação dos íons cálcio para desencadear a

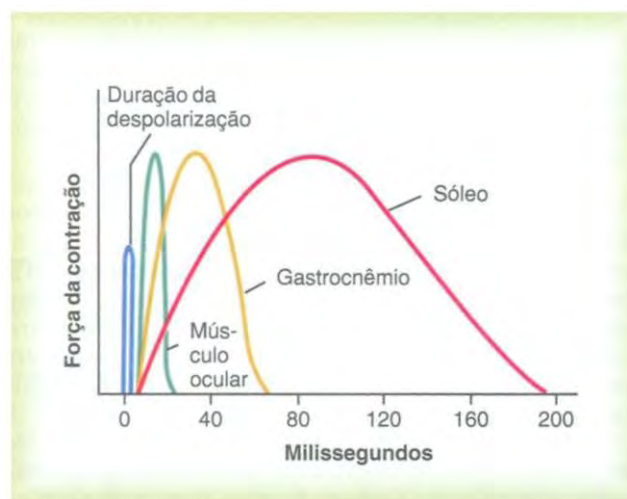


Figura 6-12

Duração das contrações isométricas para diferentes tipos de músculo esquelético de mamíferos, mostrando o período latente entre o potencial de ação (despolarização) e a contração muscular.

contração. (3) Grande quantidade de enzimas glicolíticas, para a rápida liberação de energia pelo processo glicolítico. (4) Suprimento de sangue menos extenso, devido ao metabolismo oxidativo ter importância secundária. (5) Menor número de mitocôndrias, também porque o metabolismo oxidativo é secundário.

Fibras Lentas. (1) Fibras menores. (2) Também innervadas por fibras nervosas pequenas. (3) Sistema dos vasos sanguíneos e dos capilares mais extensos, para suprir quantidades extras de oxigênio. (4) Número de mitocôndrias muito elevado, também para dar suporte aos altos níveis de metabolismo oxidativo. (5) As fibras contêm grande quantidade de mioglobina, uma proteína que contém ferro, semelhante à hemoglobina, nas hemácias. A mioglobina se combina com o oxigênio e o armazena até que ele seja necessário; isso faz também com que o transporte de oxigênio para as mitocôndrias seja acelerado. A mioglobina dá ao músculo lento sua aparência avermelhada e o nome de *músculo vermelho*, enquanto a falta da mioglobina vermelha nos músculos rápidos dá a eles o nome de *músculos brancos*.

Mecânica da Contração do Músculo Esquelético

Unidade Motora. Cada motoneurônio que sai da medula espinhal inerva múltiplas fibras musculares, e essa quantidade depende do tipo de músculo. Todas as fibras musculares innervadas por uma só fibra nervosa formam uma *unidade motora*. Em geral, pequenos músculos que devem reagir rapidamente e nos quais o controle deve ser preciso, têm mais fibras nervosas e menos fibras musculares (p. ex., apenas duas ou três fibras musculares por unidade motora, em alguns dos músculos da laringe). Inversamente, grandes músculos que não necessitam de controle fino, como o músculo sóleo, podem ter muitas fibras musculares em uma unidade motora. Um número médio para todos os músculos do corpo é questionável, mas uma boa suposição seria em torno de 80 a 100 fibras musculares por unidade motora.

As fibras musculares de cada unidade motora não estão agrupadas no músculo, mas misturam-se com outras unidades motoras como microgrupos de 3 a 15 fibras. Essa interpenetração permite que unidades motoras distintas se contraiam em suporte às outras, e não como segmentos individuais.

Contrações Musculares com Forças Diferentes — Somação das Forças. *Somação* significa a soma de contrações individuais para aumentar a intensidade da contração total. A somação ocorre por dois meios: (1) pelo aumento do número de unidades motoras que se contraem ao mesmo tempo, referido como *somação por fibras múltiplas*, e (2) pelo aumento da frequência de contração, que é referido como *somação por frequência* e pode levar à *tetanização*.

Somação por Fibras Múltiplas. Quando o sistema nervoso central envia um sinal fraco para que o músculo se contraia, as menores unidades motoras do músculo podem ser estimuladas, em preferência às unidades motoras maiores. Então, à medida que a força do sinal aumenta, unidades motoras cada vez maiores começam a ser também excitadas, com as maiores unidades motoras apresentando 50 vezes mais força contrátil que as unidades menores. Isso é conhecido como o *princípio do tamanho*. Esse fenômeno é importante, pois permite a gradação da força muscular durante uma contração fraca que ocorre em pequenas etapas, uma vez que essas etapas ficam progressivamente maiores quando grande quantidade de força é necessária. A razão para esse princípio do tamanho é que as pequenas

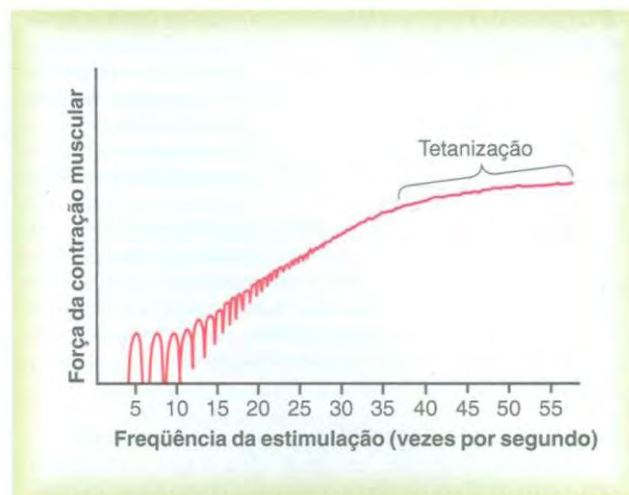


Figura 6-13

Frequência da somação e tetanização.

unidades motoras são innervadas por pequenas fibras nervosas motoras, e os pequenos motoneurônios na medula espinhal são mais excitáveis que os maiores, sendo, por isso, excitados, naturalmente primeiro.

Outra importante característica da somação de múltiplas fibras é que as diferentes unidades motoras são ativadas, de forma assíncrona, pela medula espinhal, de forma que a contração ocorre alternadamente, entre as diferentes unidades motoras, uma após a outra, e, desse modo, produz contração suave e regular, até mesmo sob baixas frequências dos sinais nervosos.

Somação por Frequência e Tetanização. A Figura 6-13 mostra os princípios da somação por frequência e da tetanização. O lado esquerdo mostra contrações musculares individuais sucedendo-se uma após a outra, com baixa frequência de estimulação. Em seguida, à medida que essa frequência vai aumentando, alcança-se um ponto onde cada nova contração ocorre antes que a anterior termine. Como resultado, a segunda contração é parcialmente somada à anterior, de forma que a força total da contração aumenta progressivamente com o aumento da frequência. Quando a frequência atinge um nível crítico, as contrações sucessivas eventualmente ficam tão rápidas que se fundem, e a contração total do músculo aparenta ser completamente uniforme e contínua, como mostra a figura. Isso é referido como *tetanização*. Com uma frequência pouco maior, a força da contração atinge sua capacidade máxima, de modo que qualquer aumento adicional da frequência além desse ponto não exerce novos efeitos para aumentar a força contrátil. Isso ocorre porque quantidades suficientes de íons cálcio são mantidas no sarcoplasma muscular, mesmo entre potenciais de ação, de modo que o estado contrátil total é mantido sem que seja permitido qualquer grau de relaxamento entre os potenciais de ação.

Força Máxima da Contração. A força máxima da contração tetânica de um músculo em atividade, em seu comprimento muscular normal, é em torno do valor médio de 3 a 4 quilogramas por centímetro quadrado de músculo. Dado que o músculo quadríceps pode ter até 40 cm² em seu ventre, até cerca de 363 quilogramas de tensão podem ser aplicados ao tendão patelar. Assim, pode-se facilmente entender como é possível para o músculo arrancar seus tendões de suas inserções ósseas.

Alterações da Força dos Músculos no Início da Contração — O Efeito de Escada (*Treppe*). Quando um músculo começa a se contrair após longo período de repouso, sua força inicial de contração pode ser tão pequena quanto a metade de sua força após 10 a 50 contrações musculares seguintes. Isso quer dizer que a força da contração aumenta até atingir um platô, um fenômeno conhecido por *efeito de escada*, ou *treppe*.

Mesmo que todas as possibilidades da causa do efeito de escada não sejam conhecidas, acredita-se que ele seja causado primariamente pelo aumento dos íons cálcio no citosol, devido à liberação contínua de mais e mais íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático a cada potencial de ação do músculo e à falha do sarcoplasma de recaptar, imediatamente, esses íons.

Tônus do Músculo Esquelético. Mesmo quando os músculos estão em repouso, em geral eles ainda apresentam certa tensão. Essa tensão é conhecida como *tônus muscular*. Como normalmente a fibra muscular esquelética não se contrai sem que ocorra um potencial de ação para estimulá-la, o tônus do músculo esquelético resulta inteiramente de baixa frequência de impulsos nervosos vindos da medula espinhal. Esses impulsos, por sua vez, são controlados, em parte, por sinais transmitidos pelo cérebro para o motoneurônio anterior da medula espinhal, e, em parte, por sinais originados nos *fusos musculares* localizados no próprio músculo. A discussão sobre as relações dos fusos musculares e o funcionamento da medula espinhal é encontrada no Capítulo 54.

Fadiga Muscular. Contrações musculares fortes, perdurando por período prolongado, levam ao bem conhecido estado de fadiga muscular. Estudos em atletas mostraram que a fadiga muscular aumenta em proporção quase direta com a intensidade da depleção do glicogênio muscular. Assim, os efeitos da fadiga surgem, em grande parte, da incapacidade contrátil e do processo metabólico das fibras musculares de continuar a manter a mesma quantidade de trabalho. Entretanto, experimentos mostraram que, também, a transmissão dos sinais nervosos pela junção neuromuscular, discutida no Capítulo 7, pode diminuir pelo menos por pequena quantidade, após intensa e prolongada atividade muscular, e, desse modo, diminuir a contração muscular. A interrupção do fluxo sanguíneo durante a contração do músculo leva à fadiga muscular quase total em um a dois minutos, devido à perda do suprimento de nutrientes, especialmente de oxigênio.



Figura 6-14

Sistema de alavanca ativado pelo músculo bíceps.

Sistemas de Alavancas do Corpo. Os músculos atuam pela aplicação de tensão em seus pontos de inserção nos ossos, e os ossos, por sua vez, formam vários tipos de sistemas de alavancas. A Figura 6-14 mostra o sistema de alavanca que é ativado pelo músculo bíceps para levantar o antebraço. Se assumirmos que um músculo bíceps grande tem área de secção transversa de 15 cm^2 , a força máxima de sua contração seria de cerca de 136 quilogramas. Quando o antebraço está em ângulo reto com o braço, o tendão do bíceps está inserido cerca de 5 cm à frente do fulcro no cotovelo, e o comprimento total da alavanca do antebraço é de cerca de 35 cm. Nesse caso, a quantidade de potência de levantamento pelo bíceps na mão seria somente um sétimo da força muscular de 136 kg ou, mais precisamente, de cerca de 19,5 kg. Quando o braço é totalmente estendido, o tendão do bíceps fica a muito menos que os 5 cm à frente do fulcro, e a força para o movimento da mão para diante é muito menor que 19,5 kg.

Em resumo, a análise dos sistemas de alavancas do corpo depende do conhecimento (1) do ponto da inserção muscular, (2) da distância do fulcro da alavanca, (3) do comprimento do braço da alavanca e (4) da posição da alavanca. Muitos tipos de movimento são requeridos no corpo, alguns deles exigindo grande força, e outros, exigindo grandes extensões de movimento. Por essa razão, existem muitos tipos diferentes de músculo; alguns longos e que se contraem por longa distância; alguns curtos mas com grandes áreas de secção transversa, e capazes de fornecer força extrema de contração por curtas distâncias. O estudo dos diferentes tipos de músculos dos sistemas de alavanca e de seus movimentos é conhecido por *cinesiologia*, sendo um importante componente científico da fisiologia humana.

“Posicionamento” das Partes do Corpo, para a Contração dos Músculos Agonistas e Antagonistas em Lados Opostos de uma Articulação — “Coativação” dos Músculos Antagonistas. Virtualmente, todos os movimentos do corpo são causados por contrações simultâneas dos músculos agonistas e antagonistas nos lados opostos da articulação. Isso é referido como *coativação* dos músculos agonistas e antagonistas, sendo regulado pelos centros de controle motor do cérebro e da medula espinhal.

A posição de cada parte separada do corpo, como um braço ou uma perna, é determinada pelos graus relativos de contração dos grupos musculares agonistas e antagonistas. Por exemplo, vamos assumir que um braço ou perna deve ser colocado em posição média de seu alcance. Para isso, os músculos agonistas e antagonistas recebem praticamente a mesma intensidade de excitação. Lembre-se de que o músculo estirado se contrai com mais força que um músculo não estirado, como demonstrado na Figura 6-9, mostrando força máxima para a contração no comprimento funcional total do músculo e quase nenhuma força de contração na metade do comprimento normal. Desse modo, o músculo estirado em um dos lados da articulação pode se contrair com muito mais força que o músculo não estirado do lado oposto. A medida que o braço ou a perna se move para a posição média, a força dos músculos mais longos diminui, enquanto nos músculos mais curtos aumenta até que as duas forças fiquem iguais. Nesse momento, o movimento do braço ou da perna cessa. Assim, pela variação da relação entre os diferentes graus de ativação dos músculos agonistas e antagonistas, o sistema nervoso determina o posicionamento do braço ou da perna.

Vamos aprender, no Capítulo 54, que o sistema nervoso motor tem mecanismos adicionais importantes para compensar as diferentes cargas musculares, quando dirige esse processo de posicionamento.

Remodelação do Músculo para se Ajustar à sua Função

Todos os músculos do corpo são continuamente remodelados para se ajustar às funções que são requeridas deles. Seus diâmetros podem ser alterados, seus comprimentos podem ser alterados, suas forças podem ser alteradas, seus suprimentos vasculares podem ser alterados, e até mesmo suas fibras musculares, mesmo que discretamente, podem ser alteradas. Esse processo de remodelação é, em geral, bastante rápido, durando no máximo poucas semanas. Na verdade, experimentos em animais mostraram que as proteínas contráteis em alguns dos menores e mais ativos músculos podem ser substituídas em um curto período de duas semanas.

Hipertrofia e Atrofia Musculares. Quando a massa muscular total aumenta, isso é referido como *hipertrofia muscular*. Quando a massa muscular diminui, o processo é referido como *atrofia muscular*.

Virtualmente toda hipertrofia muscular resulta do aumento no número dos filamentos de actina e de miosina em cada fibra muscular, produzindo aumento dessa fibra; isso é designado simplesmente por *fibra hipertrofiada*. Hipertrofia, em grau muito maior, ocorre quando o músculo trabalha contra a carga, durante o processo contrátil. Apenas poucas e fortes contrações a cada dia são necessárias para causar hipertrofia significativa dentro de 6 a 10 semanas.

A maneira pela qual as vigorosas contrações levam à hipertrofia não é conhecida. O que é sabido, entretanto, é que a intensidade da síntese das proteínas contráteis no músculo é bem maior quando a hipertrofia está se desenvolvendo, gerando também aumento progressivo dos filamentos de actina e de miosina nas miofibrilas, com frequência, aumentando em até 50%. Por sua vez, observou-se que algumas miofibrilas, de forma independente, se dividem nos músculos hipertrofiados para formar novas miofibrilas, mas o quanto isso é importante para a hipertrofia muscular usual ainda não é conhecido.

Junto com o aumento crescente do tamanho das miofibrilas, o sistema enzimático que fornece energia também aumenta. Isso é especialmente válido para as enzimas para a glicólise, possibilitando o rápido suprimento de energia durante as curtas e vigorosas contrações musculares.

Quando um músculo fica sem uso por muitas semanas, a intensidade de redução das proteínas contráteis é muito mais rápida do que a intensidade de sua reposição. Disso resulta a atrofia muscular.

Ajuste do Comprimento dos Músculos. Outro tipo de hipertrofia ocorre em geral quando os músculos estão mais estirados que o comprimento normal. Esse estiramento excessivo faz com que novos sarcômeros sejam adicionados às extremidades das fibras musculares, por onde são ligadas aos tendões. De fato, novos sarcômeros podem ser adicionados tão rapidamente quanto vários a cada minuto nos músculos novos em desenvolvimento, ilustrando, assim, a rapidez desse tipo de hipertrofia.

Inversamente, quando um músculo permanece continuamente mais curto do que o seu tamanho normal, os sarcômeros das extremidades das fibras musculares podem desaparecer. É por esse processo que os músculos são continuamente remodelados, para que possam ter o tamanho apropriado para a contração muscular adequada.

Hiperplasia das Fibras Musculares. Sob raras circunstâncias de geração de força muscular extrema, observou-se que o número real de fibras musculares aumentou (mas apenas

por alguns pontos percentuais), independentemente do processo de hipertrofia. Esse aumento do número de fibras musculares é referido como *hiperplasia da fibra*. Quando isto ocorre, o mecanismo é a separação linear das fibras previamente aumentadas.

Efeitos da Desnervação Muscular. Quando um músculo é privado de seu suprimento nervoso, deixa de receber os sinais contráteis necessários para manter as dimensões normais do músculo. Como resultado, o processo de atrofia começa imediatamente. Após dois meses, mudanças degenerativas começam também a aparecer nas próprias fibras musculares. Caso o suprimento nervoso para o músculo seja restabelecido rapidamente, a recuperação total do músculo pode ocorrer em três meses, mas depois desse tempo a capacidade de restabelecimento funcional do músculo até o normal começa a diminuir com o passar do tempo, desaparecendo definitivamente após decorridos um a dois anos.

No estágio final da atrofia de desnervação, a maioria das fibras musculares é destruída e substituída por tecido fibroso e gorduroso. As fibras que ainda persistem são compostas por longas membranas celulares com alinhamento de pequenos núcleos, mas com pouca ou nenhuma propriedade contrátil ou capacidade regenerativa das miofibrilas, caso o nervo cresça novamente.

O tecido fibroso que substitui as fibras musculares durante a atrofia causada pela desnervação tem também a tendência de continuar a se encurtar por vários meses, o que é conhecido por *contratura*. Assim, um dos problemas mais importantes na fisioterapia consiste em evitar que os músculos em atrofia venham a desenvolver contraturas debilitantes ou disformes. Isso é conseguido por meio de exercícios diários de alongamento dos músculos ou pelo uso de aparelhos que mantenham os músculos estirados durante o processo de atrofia.

Recuperação da Contração Muscular na Poliomielite: Desenvolvimento de Unidades Macromotoras. Quando algumas, porém não todas, fibras nervosas de um músculo são destruídas, como ocorre usualmente nos casos de poliomielite, as fibras nervosas remanescentes se ramificam para formar novos axônios, que então vão inervar muitas das fibras musculares paralisadas. Esse tipo de reação forma grandes unidades motoras, referidas como *unidades macromotoras*, podendo ter até cinco vezes o número normal de fibras musculares para cada motoneurônio da medula espinhal. Isso reduz a eficiência e a finura do controle que a pessoa tem sobre seus músculos, mas permite que os músculos voltem a ter a possibilidade de variar sua força.

Rigidez Cadavérica (*Rigor mortis*)

Algumas horas após a morte, todos os músculos do corpo entram em um estado de *contratura*, conhecido como “rigidez cadavérica” (ou *rigor mortis*); ou seja, os músculos se contraem e ficam rígidos mesmo sem potenciais de ação. Essa rigidez resulta da perda de todo ATP que é necessário para a separação das pontes cruzadas dos filamentos de actina durante o processo de relaxamento. Os músculos permanecem rígidos até que as proteínas musculares degenerem, em torno de 15 a 25 horas, o que, provavelmente, resulta da autólise causada pelas enzimas liberadas pelos lisossomos. Todos esses eventos ocorrem mais rapidamente a temperaturas mais altas.

Referências

- Berchtold MW, Brinkmeier H, Muntener M: Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease. *Physiol Rev* 80:1215, 2000.
- Brooks SV: Current topics for teaching skeletal muscle physiology. *Adv Physiol Educ* 27:171, 2003.
- Clausen T: Na^+ - K^+ pump regulation and skeletal muscle contractility. *Physiol Rev* 83:1269, 2003.
- Glass DJ: Molecular mechanisms modulating muscle mass. *Trends Mol Med* 8:344, 2003.
- Glass DJ: Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Nat Cell Biol* 5:87, 2003.
- Gordon AM, Homsher E, Regnier M: Regulation of contraction in striated muscle. *Physiol Rev* 80:853, 2000.
- Gordon AM, Regnier M, Homsher E: Skeletal and cardiac muscle contractile activation: tropomyosin “rocks and rolls.” *News Physiol Sci* 16:49, 2001.
- Huxley AF, Gordon AM: Striation patterns in active and passive shortening of muscle. *Nature (Lond)* 193:280, 1962.
- Huxley HE: A personal view of muscle and motility mechanisms. *Annu Rev Physiol* 58:1, 1996.
- Jurkat-Rott K, Lerche H, Lehmann-Horn F: Skeletal muscle channelopathies. *J Neurol* 249:1493, 2002.
- Kjær M: Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* 84:649, 2004.
- MacIntosh BR: Role of calcium sensitivity modulation in skeletal muscle performance. *News Physiol Sci* 18:222, 2003.
- Matthews GG: *Cellular Physiology of Nerve and Muscle*. Malden, MA: Blackwell Science, 1998.
- Sieck GC, Regnier M: Plasticity and energetic demands of contraction in skeletal and cardiac muscle. *J Appl Physiol* 90:1158, 2001.
- Stamler JS, Meissner G: Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev* 81:209, 2001.
- Szent-Gyorgyi AG: Regulation of contraction by calcium binding myosins. *Biophys Chem* 59:357, 1996.

Excitação do Músculo Esquelético: Transmissão Neuromuscular e Acoplamento Excitação-Contração



Transmissão dos Impulsos das Terminações Nervosas para as Fibras Musculares Esqueléticas: A Junção Neuromuscular

As fibras musculares esqueléticas são inervadas por grandes fibras nervosas mielinizadas que se originam nos grandes neurônios motores, nos cornos anteriores da medula espinhal. Como destacado no Capítulo 6, cada fibra nervosa, depois de penetrar no feixe muscular, normalmente se ramifica e estimula de três a várias centenas de fibras musculares esqueléticas. Cada terminação nervosa faz uma junção, chamada *junção neuromuscular*, com a fibra muscular próxima da porção média desta. O potencial de ação, iniciado na fibra muscular pelo sinal nervoso, viaja em ambas as direções, até as extremidades da fibra muscular. Com exceção de cerca de 2% das fibras musculares, há apenas uma destas junções por fibra muscular.

Anatomia Fisiológica da Junção Neuromuscular — A Placa Motora. A Figura 7-1A e B mostra a junção neuromuscular de uma grande fibra nervosa mielinizada com uma fibra muscular esquelética. A fibra nervosa forma um complexo de *terminais nervosos ramificados* que se invaginam na superfície extracelular da fibra muscular. A estrutura toda é chamada de *placa motora*. Ela é recoberta por uma ou mais células de Schwann que a isolam dos líquidos circunjacentes.

A Figura 7-1C mostra um esquema de uma micrografia eletrônica da junção entre um terminal de um axônio e a membrana da fibra muscular. A membrana invaginada é chamada de *goteira sináptica* ou *canaleta sináptica*, e o espaço entre o terminal e a membrana da fibra é chamado de *espaço sináptico* ou *fenda sináptica*. Este espaço tem de 20 a 30 nanômetros de largura. No fundo da goteira encontram-se numerosas pequenas *dobras* da membrana muscular, chamadas de *fendas sub-neurais*, que aumentam em muito a área de superfície na qual o transmissor sináptico pode agir.

No terminal axonal há muitas mitocôndrias que fornecem trifosfato de adenosina (ATP), a fonte de energia que é usada para a síntese de um transmissor excitatório, a *acetilcolina*. A acetilcolina, por sua vez, excita a membrana da fibra muscular. A acetilcolina é sintetizada no citoplasma do terminal, mas é absorvida rapidamente por muitas pequenas *vesículas sinápticas*, cerca de 300.000, as quais se encontram normalmente nos terminais de uma única placa motora. No espaço sináptico há grandes quantidades da enzima *acetilcolinesterase*, que destrói a acetilcolina alguns milissegundos depois que ela foi liberada das vesículas sinápticas.

Secreção de Acetilcolina pelos Terminais Nervosos

Quando um impulso nervoso atinge a junção neuromuscular, cerca de 125 vesículas de acetilcolina são liberadas dos terminais no espaço sináptico. Alguns dos detalhes deste mecanismo podem ser vistos na Figura 7-2, que mostra uma imagem expandida de um espaço sináptico, com a membrana neural acima e a membrana muscular e suas fendas subneurais abaixo.

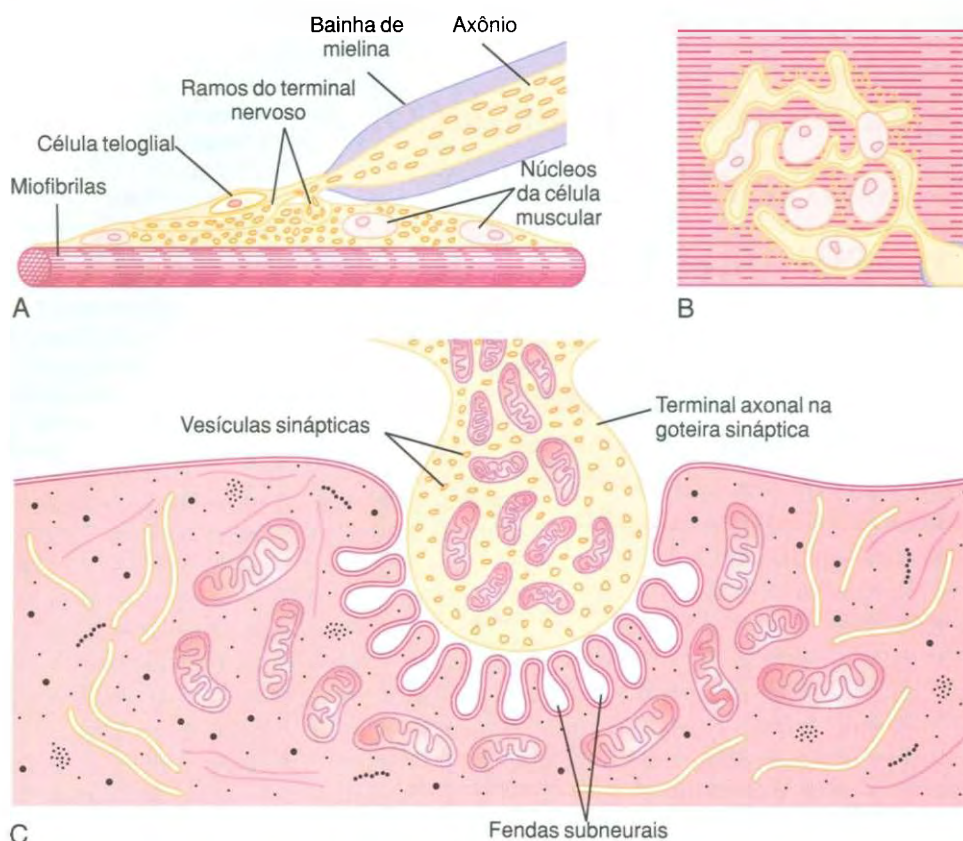


Figura 7-1

Diferentes perspectivas da placa motora. A, Corte longitudinal através da placa motora. B, Visão da superfície da placa motora. C, Aspecto na micrografia eletrônica do ponto de contato entre um terminal isolado de um axônio e a membrana da fibra muscular. (Redesenhada de Fawcett DW, conforme modificação de Coutaux R, in Bloom W, Fawcett DW: A Textbook of Histology. Philadelphia: WB Saunders, 1986.)

Na superfície interna da membrana neural estão as *barras densas* lineares, mostradas num corte transversal na Figura 7-2. De cada lado de cada barra densa estão partículas protéicas que penetram na membrana neural; estas são os *canais de cálcio controlados por voltagem*. Quando um potencial de ação se propaga para o terminal, estes canais se abrem e permitem que os íons cálcio se difundam do espaço sináptico para o interior do terminal nervoso. Considera-se que os íons cálcio, por sua vez, exerçam uma atração sobre as vesículas de acetilcolina, puxando-as para a membrana neural adjacente às barras densas. As vesículas se fundem então com a membrana neural e esvaziam a acetilcolina no espaço sináptico pelo processo da *exocitose*.

Embora alguns dos detalhes previamente mencionados sejam especulativos, sabe-se que o estímulo efetivo que causa a liberação da acetilcolina das vesículas é a entrada dos íons cálcio e que a acetilcolina das vesículas é esvaziada através da membrana neural adjacente às barras densas.

Efeito da Acetilcolina na Membrana da Fibra Muscular Pós-sináptica para Abrir os Canais Iônicos. A Figura 7-2 também mostra muitos *receptores de acetilcolina* na membrana da fibra muscular; estes são os *canais iônicos controlados pela acetilcolina*, e se localizam quase inteiramente próximos às aberturas das fendas subneurais, situadas imediatamente abaixo das áreas de barras densas, onde a acetilcolina é esvaziada no espaço sináptico.

Cada receptor é um complexo protéico com um peso molecular total de 275.000. O complexo é composto por

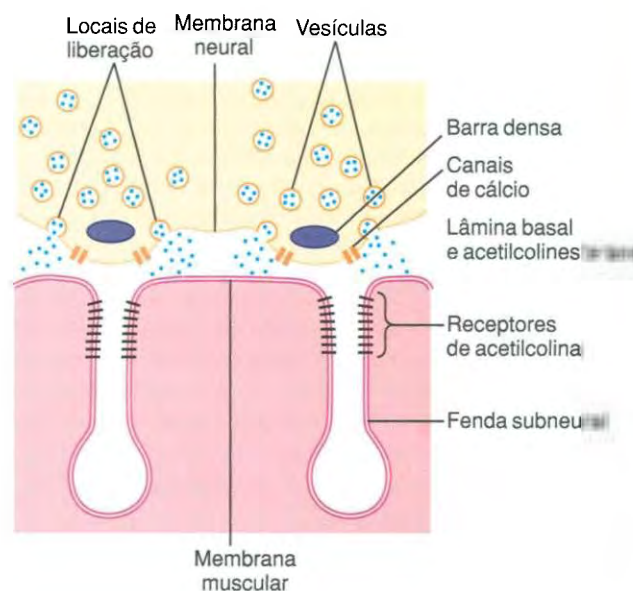


Figura 7-2

Liberação de acetilcolina das vesículas sinápticas na membrana neural da junção neuromuscular. Observe a proximidade entre os locais de liberação na membrana neural para os receptores de acetilcolina na membrana muscular, nas aberturas das fendas subneurais.

cinco subunidades protéicas, duas proteínas *alfa* e uma de cada das proteínas *beta*, *delta* e *gama*. Essas moléculas protéicas penetram por toda a extensão da membrana, situando-se lado a lado, em um círculo, para formar um canal tubular, ilustrado na Figura 7-3. O canal mantém-se fechado, como mostrado na parte A da figura, até que duas moléculas de acetilcolina se liguem às duas subunidades protéicas *alfa*. Isto provoca uma alteração conformacional que abre o canal, como mostrado na parte B da figura.

O canal colinérgico aberto tem um diâmetro de cerca de 0,65 nanômetro, que é grande o suficiente para permitir que íons positivos importantes — sódio (Na^+), potássio (K^+) e cálcio (Ca^{++}) — se movimentem facilmente através da abertura. Porém, íons negativos, tais como os íons cloreto, não passam através do canal por causa das fortes cargas negativas na abertura do canal, que repelem estes íons negativos.

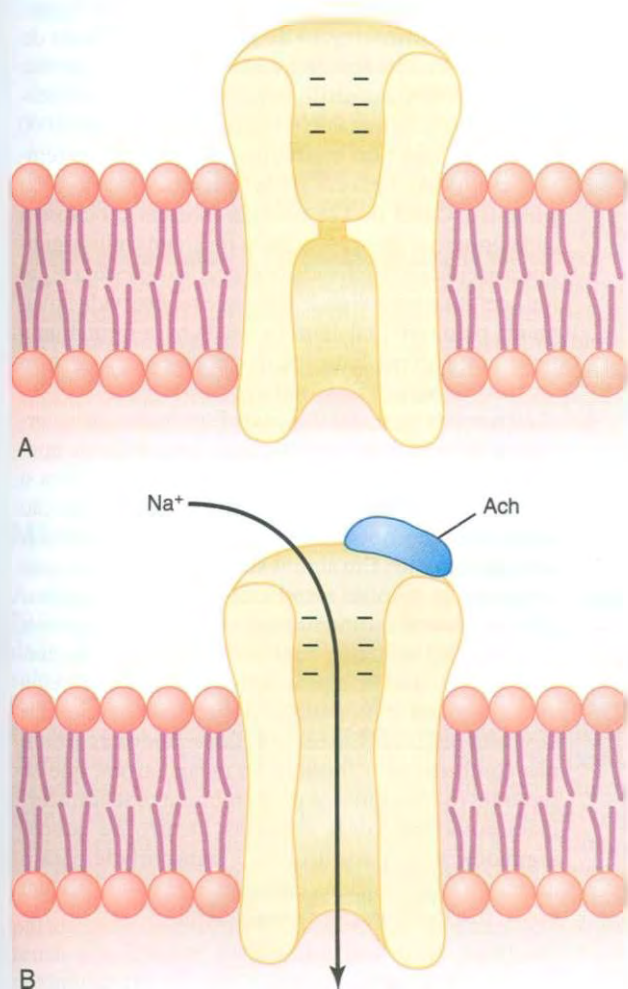


Figura 7-3

Canal colinérgico. A, Estado fechado. B, Depois que a acetilcolina (ACh) se ligou e uma alteração de conformação abriu o canal, permitindo que íons sódio penetrassem na fibra muscular e estimulassem a contração. Observe as cargas negativas na abertura do canal que impedem a passagem de íons negativos como o cloreto.

Na prática, muitos mais íons sódio fluem através dos canais de acetilcolina do que quaisquer outros íons, por duas razões. Primeira, há apenas dois íons positivos em alta concentração: íons sódio no líquido extracelular e íons potássio no líquido intracelular. Segunda, o potencial muito negativo do lado de dentro da membrana muscular, -80 a -90 milivolts, puxa os íons sódio carregados positivamente para o interior da fibra e, simultaneamente, se opõe ao efluxo dos íons potássio carregados positivamente.

Como mostrado na Figura 7-3B, o principal efeito da abertura dos canais controlados pela acetilcolina é permitir que um grande número de íons sódio passe para dentro da fibra, levando com eles um grande número de cargas positivas. Isto provoca uma alteração potencial local positiva no interior da membrana da fibra muscular, chamado *potencial da placa motora*. Por sua vez, este potencial da placa motora inicia um potencial de ação que se propaga ao longo da membrana muscular, causando a contração muscular.

Destruição da Acetilcolina Liberada pela Acetilcolinesterase.

A acetilcolina, uma vez liberada no espaço sináptico, continua a ativar os receptores de acetilcolina enquanto esta persistir no espaço. Entretanto, ela é removida rapidamente por duas maneiras: (1) A maior parte da acetilcolina é destruída pela enzima *acetilcolinesterase*, que está ligada principalmente à camada esponjosa do tecido conjuntivo fino que preenche o espaço sináptico, entre o terminal nervoso pré-sináptico e a membrana muscular pós-sináptica. (2) Uma pequena quantidade de acetilcolina difunde-se para fora do espaço sináptico, e então dispõe de pouco tempo para agir na membrana da fibra muscular.

O pequeno tempo que a acetilcolina se mantém no espaço sináptico — alguns milissegundos se tanto — normalmente é suficiente para excitar a fibra muscular. A rápida remoção da acetilcolina evita a reexcitação continuada do músculo depois que a fibra muscular se recuperou de seu potencial de ação inicial.

Potencial de Placa Motora e Excitação da Fibra Muscular Esquelética.

O influxo de íons sódio na fibra muscular quando os canais colinérgicos se abrem causa variação do potencial elétrico no interior da fibra, no *local da placa motora*, para aumentar a direção positiva em 50 a 75 milivolts, criando um *potencial local* chamado *potencial de placa motora*. Relembre do Capítulo 5 que um súbito aumento no potencial da membrana nervosa de mais de 20 a 30 milivolts é normalmente suficiente para iniciar aberturas de mais e mais canais de sódio, iniciando assim um potencial de ação na membrana da fibra muscular.

A Figura 7-4 mostra a forma pela qual um potencial de placa motora inicia o potencial de ação. Esta figura mostra três potenciais de placa motora. Os potenciais de placa motora A e C são muito fracos para desencadear um potencial de ação, porém eles produzem fracas alterações locais de voltagem na placa motora, como registrados na figura. Em contraste, o potencial de placa motora B é de amplitude maior e faz com que um número suficiente de canais de sódio se abra, de forma que o efeito auto-regenerativo de mais e mais íons sódio fluindo para o interior da fibra inicie um potencial de ação. A baixa amplitude do

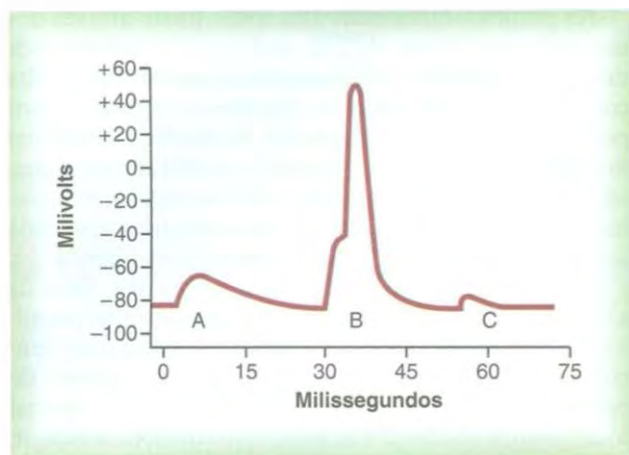


Figura 2-4

Potenciais de placa motora (em milivolts) A, Potencial de placa motora de pequena amplitude, registrado em um músculo curarizado, insuficiente para desencadear um potencial de ação. B, Potencial de placa motora normal, desencadeando um potencial de ação muscular. C, Potencial de placa motora reduzido em amplitude pela toxina botulínica, que diminui a liberação de acetilcolina na placa motora; o potencial é insuficiente para desencadear um potencial de ação muscular.

potencial de placa motora no ponto A foi causada por envenenamento da fibra muscular com *curare*, uma droga que bloqueia o efeito controlador da acetilcolina sobre os canais colinérgicos competindo pelos receptores da acetilcolina. A baixa amplitude do potencial de placa motora no ponto C resultou do efeito da *toxina botulínica*, um veneno bacteriano que diminui a quantidade de acetilcolina liberada pelos terminais nervosos.

Fator de Segurança para a Transmissão na Junção Neuromuscular; Fadiga da Junção. Ordinariamente, cada impulso que chega à junção neuromuscular provoca um potencial de placa motora de amplitude três vezes maior que o necessário para estimular a fibra muscular. Portanto, a junção neuromuscular normal possui um alto *fator de segurança*. No entanto, a estimulação da fibra nervosa com frequências maiores que 100 vezes por segundo, por vários minutos, com frequência diminui tanto o número de vesículas de acetilcolina que os impulsos não são mais transmitidos à fibra muscular. Isto é chamado de *fadiga* da junção neuromuscular, e é o mesmo efeito que causa a fadiga no sistema nervoso central quando as sinapses são superexcitadas. Em condições normais de funcionamento, raramente ocorre fadiga mensurável da junção neuromuscular, e mesmo assim apenas nos níveis mais exaustivos de atividade muscular.

Biologia Molecular da Formação e da Liberação de Acetilcolina

Como a junção neuromuscular é grande o suficiente para ser estudada facilmente, ela é uma das poucas sinapses do sistema nervoso cujos detalhes da transmissão química

foram bem estudados. A formação e a liberação da acetilcolina nesta junção ocorrem nos seguintes estágios:

1. Pequenas vesículas, com tamanho de cerca de 40 nanômetros, são formadas pelo aparelho de Golgi no corpo celular do neurônio motor, na medula espinhal. Estas vesículas são então transportadas pelo axoplasma, que “flui” através do núcleo do axônio desde o corpo celular, na medula espinhal, até a junção neuromuscular nas terminações das fibras nervosas periféricas. Cerca de 300.000 destas pequenas vesículas acumulam-se nos terminais nervosos de uma única placa motora do músculo esquelético.
2. A acetilcolina é sintetizada no citosol do terminal da fibra nervosa e é imediatamente transportada através das membranas das vesículas para seu interior, onde é armazenada em uma forma altamente concentrada, com cerca de 10.000 moléculas de acetilcolina em cada vesícula.
3. Quando um potencial de ação chega ao terminal nervoso, ele abre muitos canais de cálcio na membrana do terminal nervoso, uma vez que este terminal tem canais de cálcio controlados por voltagem. Como resultado, a concentração de íon cálcio no interior do terminal aumenta em cerca de 100 vezes, o que, por sua vez, aumenta a taxa de fusão das vesículas de acetilcolina com a membrana do terminal em cerca de 10.000 vezes. Esta fusão faz muitas das vesículas romperem-se, permitindo a *exocitose* da acetilcolina no espaço sináptico. Cerca de 125 vesículas sofrem exocitose a cada potencial de ação. Depois de alguns milissegundos, a acetilcolina é clivada pela acetilcolinesterase em íon acetato e em colina, e a colina é reabsorvida ativamente pelo terminal neural e usada para formar uma nova acetilcolina. Esta sequência de eventos ocorre em um período de 5 a 10 milissegundos.
4. O número de vesículas disponíveis na terminação nervosa é suficiente para permitir a transmissão de apenas algumas centenas de impulsos do nervo para o músculo. Portanto, para a função contínua da junção neuromuscular, novas vesículas precisam ser reformadas rapidamente. Em alguns segundos depois de cada potencial de ação ter terminado, pequenas invaginações aparecem na membrana do terminal nervoso, causadas por proteínas contráteis na terminação nervosa, especialmente a proteína *clatrina*; esta proteína está associada à membrana nas áreas de fusão das vesículas originais. Em cerca de 20 segundos, as proteínas contraem-se e formam as invaginações, que se separam (para o interior da membrana) e se transformam então em novas vesículas. Dentro de poucos segundos mais, a acetilcolina é transportada para o interior destas vesículas, e elas estão prontas para um novo ciclo de liberação de acetilcolina.

Drogas que Reforçam ou Bloqueiam a Transmissão na Junção Neuromuscular

Drogas que Estimulam a Fibra Muscular pela Ação Semelhante à da Acetilcolina. Muitas substâncias, incluindo a *metacolina*, o *carbacol* e a *nicotina*, têm o mesmo efeito que a acetilcolina sobre o músculo. A diferença entre

estas drogas e a acetilcolina é que elas não são destruídas pela colinesterase ou são destruídas tão lentamente que sua ação, freqüentemente, persiste por muitos minutos ou várias horas. As drogas atuam provocando áreas localizadas de despolarização da membrana da fibra muscular na placa motora, onde estão localizados os receptores de acetilcolina. Assim, a cada vez que a fibra muscular se recupera de uma contração prévia, estas áreas despolarizadas, em virtude do vazamento de íons, iniciam um novo potencial de ação, levando desta forma a um estado de espasmo muscular.

Drogas que Estimulam a Junção Neuromuscular Inativando a Acetilcolinesterase. Três drogas particularmente bem conhecidas, *neostigmina*, *fisostigmina* e *fluorofosfato de diisopropil*, inativam a acetilcolinesterase nas sinapses, de forma que ela não mais hidrolisa a acetilcolina. Desta maneira, a cada impulso nervoso sucessivo, mais acetilcolina se acumula e estimula repetidamente a fibra muscular. Isto provoca *espasmo muscular* mesmo quando poucos impulsos nervosos alcançam o músculo. Infelizmente, isto também pode causar a morte por espasmo da laringe, o qual sufoca o indivíduo.

A neostigmina e a fisostigmina se combinam com a acetilcolinesterase para inativá-la por até várias horas, depois do que elas se deslocam para que a esterase recupere a atividade. De forma inversa, o fluorofostato de diisopropil, que tem potencial militar como um poderoso gás venenoso “para os nervos”, inativa a acetilcolinesterase por semanas, o que o torna um veneno particularmente letal.

Drogas que Bloqueiam a Transmissão na Junção Neuromuscular. Um grupo de drogas conhecidas como *drogas curariformes* pode impedir a passagem dos impulsos da terminação nervosa para o músculo. Por exemplo, a D-tubocurarina bloqueia a ação da acetilcolina nos receptores de acetilcolina da fibra muscular, evitando, assim um aumento na permeabilidade dos canais de membrana muscular suficiente para iniciar o potencial de ação.

Miastenia Gravis

A *miastenia gravis*, que ocorre em cerca de uma em cada 20.000 pessoas, causa paralisia muscular devida à incapacidade de as junções neuromusculares transmitirem sinais suficientes das fibras nervosas para as fibras musculares. Patologicamente, anticorpos que atacam os íons sódio controlados pela acetilcolina foram demonstrados no sangue da maioria dos pacientes com *miastenia gravis*. Portanto, acredita-se que a *miastenia gravis* seja uma doença auto-imune na qual os pacientes desenvolveram imunidade contra seus próprios canais iônicos ativados pela acetilcolina.

Qualquer que seja a causa, os potenciais de placa motora que ocorrem nas fibras musculares são, na maior parte, muito fracos para estimulá-las. Se a doença for intensa o suficiente, o paciente morre de paralisia — em particular, paralisia dos músculos respiratórios. A doença pode ser usualmente melhorada por várias horas pela administração de *neostigmina* ou de alguma outra droga anticolinesterásica, que provoca o acúmulo de quantidades de acetilcolina maiores que a normal no espaço sináptico. Em alguns minutos, algumas das pessoas paralisadas podem recobrar a atividade motora quase normal, até que uma nova dose de neostigmina seja requerida, poucas horas depois.

Potencial de Ação Muscular

Quase tudo o que foi discutido no Capítulo 5, com relação à iniciação e à condução dos potenciais de ação nas fibras nervosas, aplica-se igualmente às fibras musculares esqueléticas, exceto por diferenças quantitativas. Alguns dos aspectos quantitativos dos potenciais musculares são os seguintes:

1. Potencial de repouso da membrana: cerca de -80 a -90 milivolts na fibras musculares esqueléticas — o mesmo das grandes fibras nervosas mielinizadas.
2. Duração do potencial de ação: 1 a 5 milissegundos no músculo esquelético — cerca de cinco vezes mais prolongado que nos grandes nervos mielinizados.
3. Velocidade de condução: 3 a 5 m/s — cerca de 1/13 da velocidade de condução nas grandes fibras nervosas mielinizadas que excitam o músculo esquelético.

Propagação do Potencial de Ação para o Interior da Fibra Muscular por Meio dos “Túbulos Transversos”

A fibra muscular esquelética é tão grande que o potencial de ação na superfície quase não provoca fluxo corrente no interior da fibra. Contudo, para causar o máximo de contração muscular, a corrente tem de penetrar profundamente na fibra muscular até as proximidades das miofibrilas. Isto se dá pela propagação dos potenciais de ação ao longo dos *túbulos transversos* (túbulos T) que penetram a fibra muscular, de um lado a outro, como ilustrado na Figura 7-5. Os potenciais de ação no túbulo T provocam liberação de íons cálcio no interior da fibra muscular, na vizinhança imediata das miofibrilas, e estes íons cálcio causam então a contração. Este processo é chamado de acoplamento *excitação-contração*.

Acoplamento Excitação-Contração

Túbulo Transverso — Sistema Retículo Sarcoplasmático

A Figura 7-5 mostra miofibrilas circundadas pelo sistema túbulos T-retículo sarcoplasmático. Os túbulos T são muito pequenos e correm transversalmente às miofibrilas. Eles começam na membrana celular e penetram toda a fibra muscular. Não está demonstrado na figura o fato de que estes túbulos se ramificam de maneira a formar *planos* inteiros de túbulos T entrelaçando-se entre as miofibrilas. Também, *os túbulos T se abrem para o exterior, no ponto de origem, como uma invaginação da membrana celular*. Desta forma, eles se comunicam com o líquido extracelular circundante da fibra muscular, tendo eles próprios líquido extracelular em seus lumens. Em outras palavras, os túbulos T são de fato extensões internas da membrana celular. Portanto, quando um potencial de ação se propaga pela membrana da fibra muscular, uma alteração do potencial também se propaga ao longo dos túbulos T para o interior da fibra muscular. As correntes

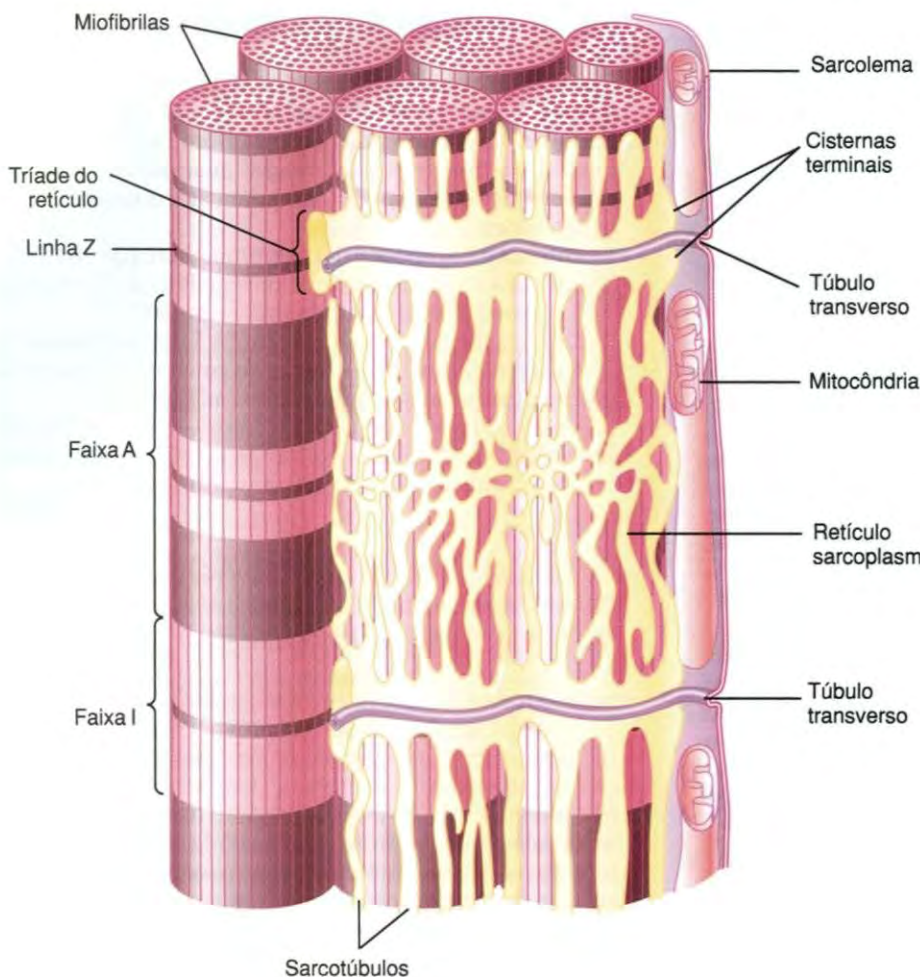


Figura 7-5

Sistema túbulo transverso (T)-retículo sarcoplasmático. Observe que os túbulos T se comunicam com a parte externa da membrana celular e, profundamente na fibra muscular, cada túbulo T se situa adjacente às extremidades dos túbulos longitudinais do retículo sarcoplasmático, que circundam as miofibrilas que de fato contraem. Esta ilustração foi desenhada do músculo de sapo, que tem um túbulo T por sarcômero, localizado na linha Z. Um arranjo similar é encontrado no músculo cardíaco dos mamíferos; porém, o músculo esquelético dos mamíferos tem dois túbulos T por sarcômero, localizados nas junções das bandas A-I. (Redesenhada de Bloom W, Fawcett DW: A Textbook of Histology. Philadelphia: WB Saunders, 1986. Modificada conforme Peachey LD: J Cell Biol 25:209, 1965. Desenhada por Sylvia Colard Keene.)

elétricas que circundam esses túbulos T então provocam a contração muscular.

A Figura 7-5 também mostra o *retículo sarcoplasmático*, em amarelo. Ele é composto por duas partes principais: (1) grandes câmaras denominadas *cisternas terminais*, que fazem contato com os túbulos T, e (2) túbulos longitudinais longos que circundam todas as superfícies das miofibrilas que se contraem realmente.

Liberação dos Íons Cálcio pelo Retículo Sarcoplasmático

Uma das características especiais do retículo sarcoplasmático é que no interior de seus túbulos vesiculares há um excesso de íons cálcio em alta concentração, e muitos destes íons são liberados de cada vesícula quando um potencial de ação ocorre em um túbulo T adjacente.

A Figura 7-6 mostra que o potencial de ação no túbulo T causa um fluxo corrente nas cisternas do retículo sarcoplasmático, nos pontos de contato entre as duas estruturas. Isto, por sua vez, causa uma rápida abertura de grande número de canais de cálcio através das membranas das cisternas, assim como dos túbulos longitudinais ligados a elas. Estes canais permanecem abertos por alguns milissegundos; durante este tempo, uma quantidade suficiente de íons cálcio é liberada no sarcoplasma

adjacente às miofibrilas para causar a contração, como discutido no Capítulo 6.

A Bomba de Cálcio Remove os Íons Cálcio do Líquido Miofibrilar depois que a Contração Ocorre. Uma vez liberados dos túbulos sarcoplasmáticos, os íons cálcio difundem-se nos espaços entre as miofibrilas, provocando a contração muscular que permanece enquanto a concentração do íon continua elevada. Porém, uma bomba de cálcio ativada continuamente, localizada nas paredes do retículo sarcoplasmático, bombeia os íons cálcio para longe das miofibrilas, de volta para os túbulos sarcoplasmáticos. Esta bomba pode concentrar os íons cálcio cerca de 10.000 vezes dentro dos túbulos. Além disso, dentro do retículo há uma proteína chamada *calsequestrina* que pode quelar o cálcio, possibilitando um acúmulo do íon em quantidade 40 vezes maior que a quantidade correspondente ao cálcio livre.

"Pulso" Excitatório de Íons Cálcio. A concentração normal de íons cálcio no estado de repouso (menos de 10^{-7} molar) no citosol que banha as miofibrilas é muito pequena para provocar contração. Portanto, o complexo troponina-tropomiosina mantém os filamentos actínicos inibidos e o músculo em estado relaxado.

Inversamente, a excitação do túbulo T e do sistema retículo sarcoplasmático provoca uma liberação de íons cálcio

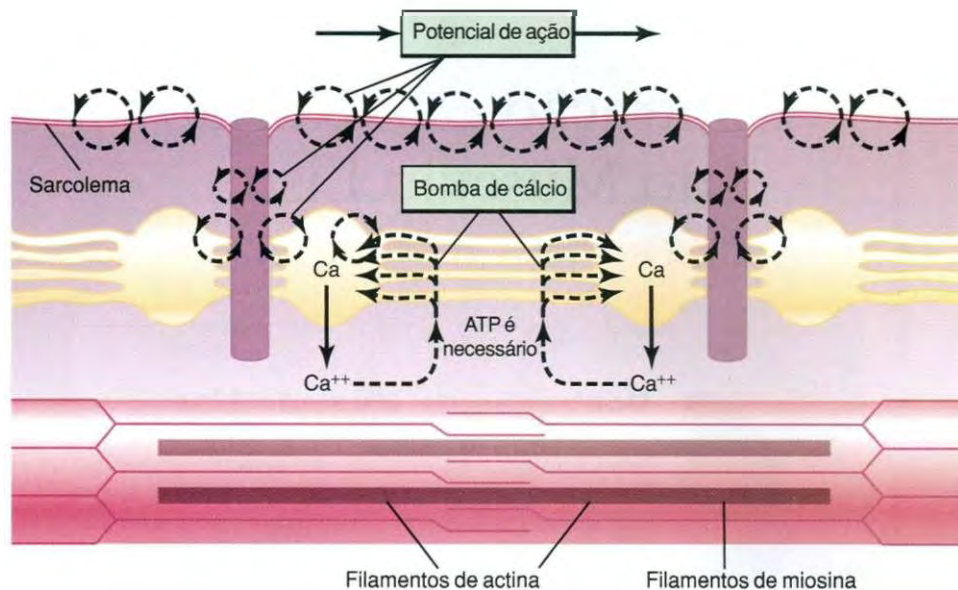


Figura 7-6

Acoplamento excitação-contracção no músculo, mostrando (1) um potencial de ação que causa liberação de íons cálcio do retículo sarcoplasmático e, em seguida, (2) recaptção dos íons cálcio por uma bomba de cálcio.

cio suficiente para aumentar a concentração no líquido miofibrilar a até 2×10^{-4} molar, um aumento de 500 vezes, que é cerca de 10 vezes o nível necessário para provocar uma contracção muscular máxima. Em seguida, a bomba de cálcio reduz a concentração dos íons cálcio outra vez. A duração total deste “pulso” de cálcio na fibra muscular esquelética é de cerca 1/20 de segundo embora possa ser muito maior em algumas fibras e muito menor em outras. (No músculo cardíaco, o pulso de cálcio dura 1/3 de segundo por causa da longa duração do potencial de ação cardíaco.)

Durante este pulso de cálcio, ocorre a contracção muscular. Para a contracção persistir sem interrupção por longos intervalos, uma série de pulsos de cálcio tem que ser iniciada por uma série contínua de potenciais de ação repetitivos, como discutido no Capítulo 6.

Referências

Veja também as referências dos Capítulos 5 e 6.

- Allman BL, Rice CL: Neuromuscular fatigue and aging: central and peripheral factors. *Muscle Nerve* 25:785, 2002.
- Amonof MJ: *Electromyography in Clinical Practice*. New York: Churchill Livingstone, 1998.
- Brown RH Jr: Dystrophin-associated proteins and the muscular dystrophies. *Annu Rev Med* 48:457, 1997.
- Chaudhuri A, Behan PO: Fatigue in neurological disorders. *Lancet* 363:978, 2004.
- Engel AG, Ohno K, Shen XM, Sine SM: Congenital myasthenic syndromes: multiple molecular targets at the neuromuscular junction. *Ann N Y Acad Sci* 998:138, 2003.
- Haouzi P, Chenuel B, Huszczuk A: Sensing vascular distension in skeletal muscle by slow conducting afferent fibers: neu-

rophysiological basis and implication for respiratory control. *J Appl Physiol* 96:407, 2004.

Hoch W: Molecular dissection of neuromuscular junction formation. *Trends Neurosci* 26:335, 2003.

Keesey JC: Clinical evaluation and management of myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 29:484, 2004.

Lee C: Conformation, action, and mechanism of action of neuromuscular blocking muscle relaxants. *Pharmacol Ther* 98:143, 2003.

Leite JF, Rodrigues-Pinguet N, Lester HA: Insights into channel function via channel dysfunction. *J Clin Invest* 111:436, 2003.

Payne AM, Delbono O: Neurogenesis of excitation-contraction uncoupling in aging skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 32:36, 2004.

Pette D: Historical perspectives: plasticity of mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 90:1119, 2001.

Rekling JC, Funk GD, Bayliss DA, et al: Synaptic control of motoneuronal excitability. *Physiol Rev* 80:767, 2000.

Schiaffino S, Serrano A: Calcineurin signaling and neural control of skeletal muscle fiber type and size. *Trends Pharmacol Sci* 23:569, 2002.

Tang W, Sencer S, Hamilton SL: Calmodulin modulation of proteins involved in excitation-contraction coupling. *Front Biosci* 7:583, 2002.

Toyoshima C, Nomura H, Sugita Y: Structural basis of ion pumping by Ca^{2+} -ATPase of sarcoplasmic reticulum. *FEBS Lett* 555:106, 2003.

Van der Kloot W, Molgo J: Quantal acetylcholine release at the vertebrate neuromuscular junction. *Physiol Rev* 74:899, 1994.

Vincent A: Unraveling the pathogenesis of myasthenia gravis. *Nat Rev Immunol* 10:797, 2002.

Vincent A, McConville J, Farrugia ME, et al: Antibodies in myasthenia gravis and related disorders. *Ann N Y Acad Sci* 998:324, 2003.

Contração e Excitação do Músculo Liso



Contração do Músculo Liso

Nos Capítulos 6 e 7, discutiu-se o músculo esquelético. Discutiremos agora o músculo liso, que é composto por fibras bem menores — usualmente com diâmetros de 1 a 5 micrômetros e comprimentos de apenas 20 a 500 micrômetros. As fibras musculares esqueléticas são até 30 vezes maiores no diâmetro e centenas de

vezes mais longas. Muitos dos mesmos princípios de contração aplicam-se tanto ao músculo liso quanto ao músculo esquelético. O mais importante é que essencialmente as mesmas forças de atração entre os filamentos de miosina e de actina causam a contração tanto no músculo liso quanto no músculo esquelético; porém, o arranjo físico interno das fibras musculares lisas é muito diferente daquele das fibras musculares esqueléticas.

Tipos de Músculos Lisos

O músculo liso de cada órgão se distingue dos da maioria dos outros órgãos por vários aspectos: (1) dimensões físicas, (2) organização em feixes ou folhetos, (3) resposta a diferentes tipos de estímulos, (4) características da inervação e (5) função. Porém, com o propósito de simplificação, o músculo liso pode ser dividido em dois grandes tipos, que são mostrados na Figura 8-1: *músculo liso multiunitário* e *músculo liso unitário* (ou de *unidade única*).

Músculo Liso Multiunitário. Este tipo de músculo liso é composto por fibras musculares separadas e discretas. Cada fibra opera independentemente das outras e, com frequência, é inervada por uma única terminação nervosa, como ocorre com as fibras musculares esqueléticas. Além disso, as superfícies externas dessas fibras, como as das fibras musculares esqueléticas, são recobertas por uma fina camada de substância semelhante à da membrana basal, uma mistura de colágeno e glicoproteínas que isola as fibras umas das outras.

A característica mais importante das fibras musculares lisas multiunitárias é que cada fibra se contrai independentemente das outras, e o controle é exercido principalmente por sinais nervosos. Em contraste, a maior parte do controle do músculo liso unitário é exercida por estímulos não-nervosos. Alguns exemplos de músculo liso multiunitário são o músculo ciliar do olho, o músculo da íris do olho e os músculos piloerectores que causam a ereção dos pêlos quando estimulados pelo sistema nervoso simpático.

Músculo Liso Unitário. O termo “unitário” provoca confusão porque não significa fibras musculares isoladas. Ao contrário, ele significa uma massa de centenas a milhares de fibras musculares lisas que se contraem juntas, como uma única unidade. As fibras estão usualmente arranjadas em folhetos ou feixes, e suas membranas celulares estão aderidas entre si em múltiplos pontos, de forma que a força gerada em uma fibra muscular pode ser transmitida à seguinte. Além disso, as membranas celulares são ligadas por muitas *junções comunicantes*, através das quais os íons podem fluir livremente de uma célula para a seguinte, de forma que os potenciais de ação ou o sim-

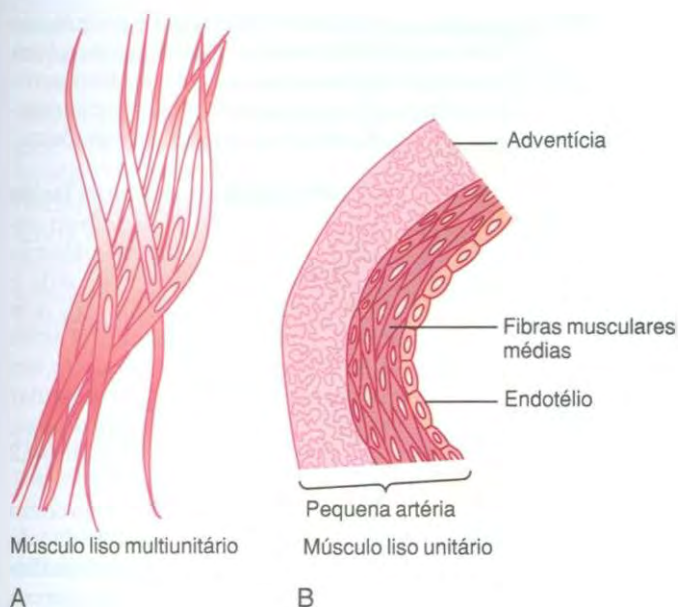


Figura 8-1

Músculo liso multiunitário (A) e unitário (B).

As células, sem potenciais de ação, podem passar de uma fibra para a seguinte e fazer com que se contraiam em conjunto. Este tipo de músculo liso é também conhecido como *músculo liso sincicial* por causa das interconexões entre as fibras. Ele é também chamado de *músculo liso visceral* porque é encontrado nas paredes da maioria das vísceras do corpo, incluindo o intestino, os ductos biliares, os ureteres, o útero e muitos vasos sanguíneos.

Mecanismo Contrátil no Músculo Liso

Base Química para a Contração do Músculo Liso

O músculo liso contém tanto *filamentos de actina* quanto de *miosina*, com características químicas semelhantes às das dos filamentos de actina e miosina do músculo esquelético. Ele não contém o complexo de troponina normal que é necessário no controle da contração do músculo esquelético; o mecanismo de controle da contração é diferente nos dois tipos de músculos. Isto é discutido em detalhes adiante, neste capítulo.

Os estudos químicos mostraram que os filamentos de actina e miosina derivados do músculo liso interagem uns com os outros de maneira semelhante à que se dá no músculo esquelético. Em ambos os tipos de músculos, o processo contrátil é ativado por íons cálcio, e o trifosfato de adenosina (ATP) é degradado a difosfato de adenosina (ADP) para fornecer energia para a contração.

Há, entretanto, importantes diferenças entre a organização física do músculo liso e a do músculo esquelético, bem como diferenças no acoplamento excitação-contracção, controle do processo contrátil pelos íons cálcio, duração da contração e quantidade de energia necessária para a contração.

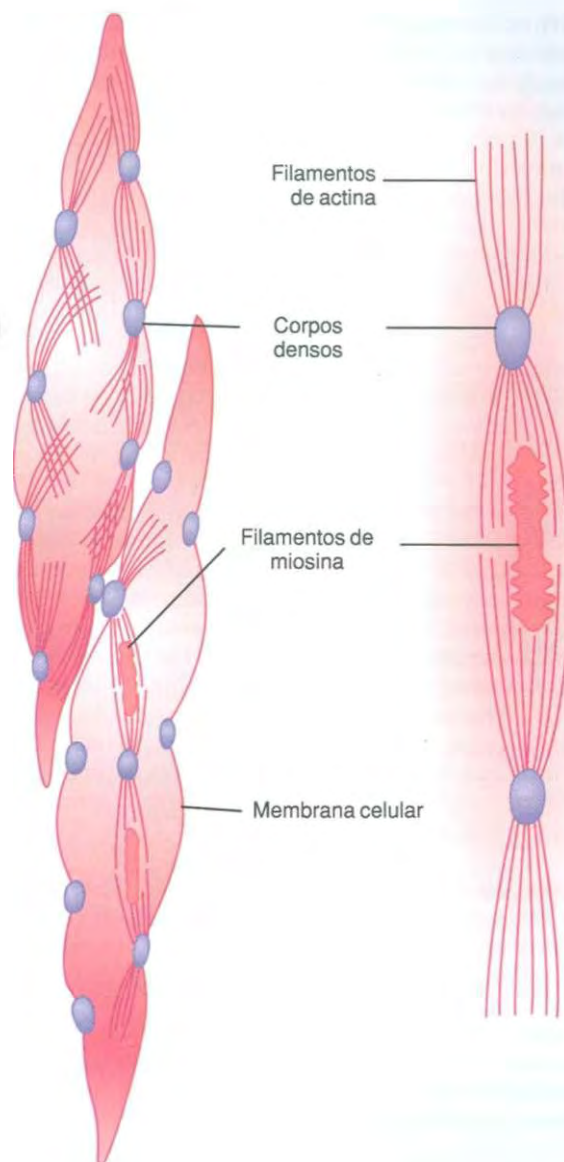


Figura 8-2

Estrutura física do músculo liso. A fibra acima à esquerda mostra filamentos de actina se irradiando dos corpos densos. A fibra abaixo à esquerda e o diagrama à direita mostram a relação entre filamentos de miosina e de actina.

Base Física para a Contração do Músculo Liso

O músculo liso não tem o mesmo arranjo estriado dos filamentos de actina e miosina encontrados no músculo esquelético. Em vez disso, as técnicas de micrografia eletrônica sugerem a organização física mostrada na Figura 8-2. Esta figura mostra um grande número de filamentos de actina ligados aos chamados *corpos densos*. Alguns destes corpos estão ligados à membrana celular. Outros estão dispersos no interior da célula. Alguns dos corpos densos na membrana de células adjacentes estão conectados por pontes de proteína intercelular. E principalmente através dessas conexões que a força da contração é transmitida de uma célula para a outra.

Entre os filamentos de actina na fibra muscular estão os filamentos de miosina. Estes apresentam um diâmetro mais de duas vezes maior que os filamentos de actina. Nas micrografias eletrônicas encontram-se usualmente cinco a 10 vezes mais filamentos de actina que filamentos de miosina.

À direita na Figura 8-2 está a estrutura hipotética de uma unidade contrátil individual em uma célula do músculo liso, mostrando um grande número de filamentos de actina irradiando-se de dois corpos densos; as extremidades destes filamentos se superpõem a um filamento de miosina, localizado a meio caminho entre os corpos densos. Esta unidade contrátil é semelhante à unidade contrátil do músculo esquelético, porém sem a regularidade da estrutura deste; de fato, os corpos densos do músculo liso desempenham o mesmo papel que os discos Z no músculo esquelético.

Há uma outra diferença: a maioria dos filamentos de miosina apresenta as chamadas pontes cruzadas "com polarização lateral", arranjadas de forma que as pontes de um lado dobram em uma direção e as do outro lado dobram na direção oposta. Isto permite que a miosina puxe um filamento de actina em uma direção, de um lado, enquanto simultaneamente puxa na direção oposta outro filamento de actina, no outro lado. O valor desta organização é que ela permite que as células do músculo liso se contraíam em até 80% de seu comprimento, ao contrário de músculo esquelético, nos quais as fibras estão limitadas a uma contração de menos de 30%.

Comparação entre a Contração do Músculo Liso e a Contração do Músculo Esquelético

Enquanto a maioria dos músculos esqueléticos se contrai e relaxa rapidamente, a maior parte da contração do músculo liso é uma contração tônica prolongada, durando às vezes horas ou até mesmo dias. Portanto, espera-se que tanto as características físicas quanto as químicas do músculo liso difiram daquelas do músculo esquelético. A seguir discutem-se algumas das diferenças.

Baixa Frequência de Ciclos das Pontes Cruzadas de Miosina.

A frequência dos ciclos das pontes cruzadas de miosina no músculo liso — isto é, sua ligação com a actina, seguida de desligamento e religamento para o novo ciclo — é muito, muito mais baixa no músculo liso que no músculo esquelético; de fato, a frequência é de 1/10 a 1/300 daquela do músculo esquelético. Ainda assim, acredita-se que a *fração de tempo* que as pontes cruzadas se mantêm ligadas aos filamentos de actina, que é um fator importante na determinação da força de contração, esteja bastante aumentada no músculo liso. Uma possível razão para a baixa frequência dos ciclos é que as cabeças das pontes cruzadas apresentam menos atividade de ATPase do que no músculo esquelético, de forma que a degradação do ATP, que energiza os movimentos das cabeças das pontes cruzadas, é reduzida, com a correspondente baixa velocidade dos ciclos.

Energia Necessária para Manter a Contração do Músculo Liso. Apenas de 1/10 a 1/300 da energia do músculo esquelético é necessária para manter a mesma tensão de contração no músculo liso. Acredita-se que isto também seja o resultado do ciclo longo de conexão e desconexão das pontes cruzadas e porque apenas uma molécula de ATP é necessária para cada ciclo, a despeito de sua duração.

Esta parcimônia na utilização de energia pelo músculo liso é de muita importância para a economia energética total do corpo, porque órgãos como os intestinos, bexiga urinária, vesícula biliar e outras vísceras, com frequência, mantêm por tempo indefinido uma contração muscular tônica.

Lentidão do Início da Contração e do Relaxamento do Tecido Muscular Liso Total. Um tecido muscular liso típico começa a contrair de 50 a 100 milissegundos depois de excitado, alcança a contração plena cerca de 0,5 segundo e depois a força contrátil declina em adicionais um a dois segundos, com um tempo total de contração de um a três segundos. Isto é cerca de 30 vezes mais prolongado, em média, que uma única contração de uma fibra muscular esquelética. Porém, como há muitos tipos de músculo liso, a contração de alguns tipos pode ser tão breve quanto 0,2 segundo ou tão prolongada quanto 30 segundos.

O lento início da contração do músculo liso, bem como sua contração prolongada, são causados pela lentidão da conexão e da desconexão das pontes cruzadas com os filamentos de actina. Além disso, o início da contração em resposta aos íons cálcio é muito mais lento que no músculo esquelético, como discutido adiante.

Força da Contração Muscular. A despeito da quantidade relativamente pequena de filamentos de miosina no músculo liso, e a despeito do longo ciclo de tempo das pontes cruzadas, o máximo da força de contração do músculo liso é frequentemente maior que o do músculo esquelético — tão grande quanto 4 a 6 kg/cm² de área transversal do músculo liso, em comparação com 3 a 4 quilogramas no músculo esquelético. A grande força da contração do músculo liso resulta do período prolongado de conexão das pontes cruzadas de miosina com os filamentos de actina.

Mecanismo de "Trava" para a Manutenção Prolongada das Contrações do Músculo Liso.

Uma vez que o músculo liso tenha desenvolvido uma contração completa, a quantidade de excitação continuada pode ser usualmente reduzida a bem menos que o nível inicial, e ainda assim o músculo mantém sua força de contração. Além disso, a energia consumida para manter a contração é frequentemente minúscula, às vezes tão pouco quanto 1/300 da energia necessária para sustentar uma contração comparável no músculo esquelético. Isto é chamado de mecanismo de "trava".

A importância do mecanismo de trava é que ele pode manter uma contração tônica prolongada no músculo liso por horas com o uso de pouca energia. É necessário um pequeno sinal excitatório continuado das fibras nervosas ou de fontes hormonais.

Estresse-Relaxamento do Músculo Liso. Outra importante característica do músculo liso, especialmente do tipo unitário visceral de muitos órgãos ocos, é a sua capacidade de restabelecer quase a mesma *força* original de contração, segundos ou minutos depois de ter sido alongado ou encurtado. Por exemplo, um súbito aumento no volume de líquido na bexiga urinária, distendendo o músculo liso na parede do órgão, provoca um aumento imediato na pressão na bexiga. Entretanto, nos seguintes 15 segundos a um minuto, apesar do estiramento continuado da parede da bexiga, a pressão retorna quase que exatamente ao nível

original. Então, quando o volume é aumentado por outra etapa, o mesmo efeito ocorre outra vez.

Ao contrário, quando o volume é subitamente diminuído, a pressão cai inicialmente mas eleva-se ao nível original ou a valores muito próximo dele, em alguns segundos ou minutos. Estes fenômenos são chamados de *estresse-relaxamento* e *estresse-relaxamento reverso*. Sua importância é que, exceto por curtos períodos de tempo, eles permitem que um órgão oco mantenha quase a mesma pressão no interior de sua luz a despeito de grandes e prolongadas alterações no volume.

Regulação da Contração pelos Íons Cálcio

Assim como é verdadeiro para o músculo esquelético, o estímulo inicial para a contração do músculo liso é um aumento intracelular dos íons cálcio. Este aumento pode ser causado, nos diferentes tipos de músculos lisos, por estimulação nervosa da fibra muscular lisa, estimulação hormonal, estiramento da fibra ou até mesmo alteração química no ambiente da fibra.

O músculo liso não contém troponina, a proteína reguladora que é ativada pelos íons cálcio para provocar a contração no músculo esquelético. Em vez disso, a contração do músculo liso é ativada por um mecanismo inteiramente diferente, descrito a seguir.

Combinação dos Íons Cálcio com a Calmodulina — Ativação da Miosina Quinase e Fosforilação da Cabeça da Miosina.

Em vez da troponina, as células musculares lisas contêm uma outra proteína reguladora, chamada *calmodulina*. Embora essa proteína seja similar à troponina, a maneira pela qual ela inicia a contração é diferente da maneira da troponina. A calmodulina o faz ativando as pontes cruzadas da miosina. Esta ativação e a contração subsequente ocorrem na seguinte sequência:

1. Os íons cálcio se ligam à calmodulina.
2. O complexo calmodulina-cálcio junta-se e ativa a *miosina quinase*, uma enzima fosforiladora.
3. Uma das cadeias leves de cada cabeça de miosina, chamada *cadeia reguladora*, torna-se fosforilada em resposta a esta miosina quinase. Quando esta cadeia não está fosforilada, o ciclo de conexão-desconexão da cabeça da miosina com o filamento de actina não ocorre. Porém, quando a cadeia reguladora é fosforilada, a cabeça adquire a capacidade de se ligar repetidamente com o filamento de actina e de desenvolver os ciclos de “trações” intermitentes, o mesmo que ocorre no músculo esquelético, e, desta forma, provoca a contração muscular.

Fim da Contração — Papel da Fosfatase de Miosina. Quando a concentração de íons cálcio cai abaixo de um nível crítico, o processo anteriormente mencionado é revertido, exceto pela fosforilação da cabeça da miosina. A desfosforilação é catalisada por outra enzima, a *fosfatase da miosina*, localizada nos líquidos da célula muscular lisa, que cliva o fosfato da cadeia leve reguladora. Desta

forma, o ciclo se interrompe e a contração cessa. O tempo necessário para o relaxamento da contração muscular é, portanto, determinado em grande parte pela quantidade de fosfatase de miosina ativa na célula.

Possível Mecanismo para a Regulação do Fenômeno de Trava

Devido à importância do fenômeno de trava e por ele permitir a manutenção a longo prazo do tônus em muitos órgãos com músculo liso, sem grande dispêndio de energia, muitas tentativas têm sido feitas para explicá-lo. Entre os muitos mecanismos que foram postulados, um dos mais simples é o seguinte.

Quando as enzimas quinase da miosina e fosfatase da miosina estão ambas bastante ativadas, a frequência dos ciclos das cabeças de miosina e a velocidade de contração são elevadas. Em seguida, com a redução na ativação destas enzimas, a frequência dos ciclos diminui, porém, ao mesmo tempo, a desativação delas permite que as cabeças de miosina se mantenham ligadas ao filamento de actina por uma fração cada vez mais longa da duração de um ciclo. Portanto, o número de cabeças ligadas ao filamento de actina em qualquer momento permanece grande. Como o número de cabeças ligadas à actina determina a força estática da contração, a tensão é mantida ou “travada”; pouca energia é usada pelo músculo, porque o ATP não é degradado a ADP, exceto na rara ocasião em que a cabeça se desconecta.

Controles Nervoso e Hormonal da Contração do Músculo Liso

Embora as fibras musculares esqueléticas sejam estimuladas exclusivamente pelo sistema nervoso, o músculo liso pode ser estimulado a contrair-se por múltiplos tipos de sinais: pelos sinais nervosos, por estímulo hormonal, por estiramento do músculo e de várias outras maneiras. A razão principal para a diferença é que a membrana do músculo liso contém muitos tipos de receptores protéticos que podem iniciar o processo contrátil. Outros receptores protéticos inibem a contração do músculo liso, o que é outra diferença em relação ao músculo esquelético. Nesta seção nós discutimos o controle nervoso da contração do músculo liso, seguido pelo controle hormonal e outros modos de controle.

Junções Neuromusculares do Músculo Liso

Anatomia Fisiológica das Junções Neuromusculares do Músculo Liso. As junções neuromusculares dos tipos altamente estruturados das fibras do músculo esquelético não ocorrem no músculo liso. Ao contrário, as *fibras nervosas autônomas* que inervam o músculo liso geralmente ramificam-se difusamente no topo de um folheto de fibras

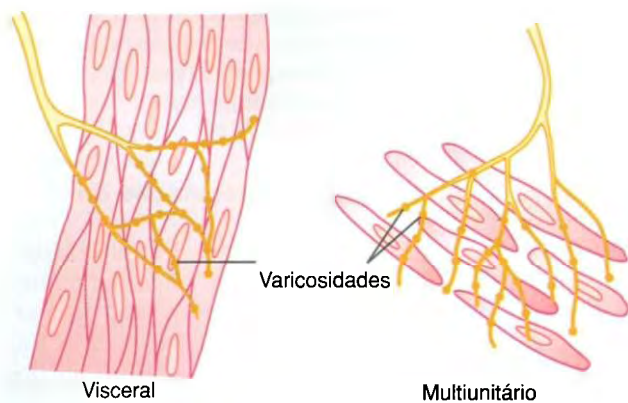


Figura 8-3

Inervação do músculo liso.

musculares, como demonstrado na Figura 8-3. Na maioria dos casos, estas fibras não fazem contato direto com a membrana celular das fibras musculares lisas, mas formam as chamadas *junções difusas* que secretam a substância transmissora na matriz que recobre o músculo liso, freqüentemente alguns nanômetros a alguns micrômetros distante das células musculares, a substância transmissora se difunde então para as células. Além disso, onde há muitas camadas de células musculares, as fibras nervosas inervam freqüentemente apenas a camada externa, e a excitação muscular viaja desta camada externa para as internas por condução do potencial de ação pela massa muscular ou por difusão da substância transmissora.

Os axônios que inervam as fibras musculares lisas não apresentam a ramificação típica e as terminações do tipo que ocorre na placa motora nas fibras musculares esqueléticas. Nas fibras lisas, a maioria dos terminais axonais finos apresentam múltiplas *varicosidades* distribuídas ao longo de seus eixos. Nestes pontos, as *células de Schwann* que envelopam os axônios são interrompidas para que a substância transmissora possa ser secretada através das paredes das varicosidades. Nas varicosidades encontram-se vesículas similares às encontradas na placa motora do músculo esquelético que contém substância transmissora. Porém, diferentemente das vesículas das junções musculares esqueléticas, que sempre contêm acetilcolina, as vesículas das terminações das fibras nervosas autônomas contêm *acetilcolina* em algumas fibras e *norepinefrina* em outras — e, ocasionalmente, também outras substâncias.

Em poucos casos, particularmente no músculo liso do tipo multiunitário, as varicosidades estão separadas da membrana da célula muscular por 20 a 30 nanômetros — a mesma largura da fenda sináptica que ocorre na junção muscular esquelética. Estas são chamadas *junções de contato* e funcionam de maneira parecida à da junção neuromuscular no músculo esquelético; a rapidez da contração destas fibras musculares lisas é consideravelmente maior que a das fibras estimuladas pelas junções difusas.

Substâncias Transmissoras Excitatórias e Inibitórias Secretadas na Junção Neuromuscular do Músculo Liso. As substâncias transmissoras mais importantes secretadas pelos nervos autônomos que inervam o músculo liso são a *acetil-*

colina e a *norepinefrina*, porém elas nunca são secretadas pela mesma fibra nervosa. A acetilcolina é uma substância transmissora excitatória para as fibras do músculo liso em alguns órgãos, porém um transmissor inibitório para o músculo liso em outros. Quando a acetilcolina excita uma fibra muscular, a norepinefrina ordinariamente a inibe. Ao contrário, quando a acetilcolina inibe uma fibra, a norepinefrina usualmente a excita.

Mas qual o porquê destas respostas diferentes? A resposta é que tanto a acetilcolina quanto a norepinefrina excitam ou inibem o músculo liso inicialmente ligando-se a *receptores protéicos* na superfície da membrana da célula muscular. Alguns dos receptores protéicos são *receptores excitatórios*, enquanto outros são *receptores inibitórios*. Assim, o tipo de receptor determina se o músculo liso será inibido ou excitado e também determina qual dos dois transmissores, acetilcolina ou norepinefrina, causa excitação ou inibição. Estes receptores são discutidos com maiores detalhes no Capítulo 60, sobre a função do sistema nervoso autônomo.

Potenciais de Membrana e Potenciais de Ação no Músculo Liso

Potenciais de Membrana no Músculo Liso. A voltagem quantitativa de potencial de membrana do músculo liso depende da situação momentânea do músculo. No estado normal de repouso, o potencial intracelular é de cerca de -50 a -60 milivolts, que é cerca de 30 milivolts menos negativo que no músculo esquelético.

Potenciais de Ação no Músculo Liso Unitário. Os potenciais de ação ocorrem no músculo liso unitário (tal como o músculo visceral) da mesma maneira que no músculo esquelético. Eles não ocorrem normalmente em muitos, se não na maioria, dos músculos lisos do tipo multiunitário, como se discute em uma seção subsequente.

Os potenciais de ação do músculo liso visceral ocorrem em uma de duas formas: (1) potenciais em espículas ou (2) potenciais de ação com platôs.

Potenciais em Espícula. Os potenciais de ação em espícula típicos, como os observados no músculo esquelético, ocorrem na maior parte dos tipos de músculo liso unitário. A duração deste tipo de potencial de ação é de 10 a 50 milissegundos, como mostrado na Figura 8-4A. Tais potenciais de ação podem ser desencadeados de várias formas, por exemplo, pela estimulação elétrica, pela ação de hormônios sobre o músculo liso, pela ação de substâncias transmissoras das fibras nervosas, pelo estiramento, ou como resultado da geração espontânea na própria fibra muscular, como discutiremos subsequente.

Potenciais de Ação com Platôs. A Figura 8-4C mostra um potencial de ação de músculo liso com um platô. O início deste potencial de ação é semelhante ao do potencial em espícula. Entretanto, em vez de uma rápida repolarização da membrana da fibra muscular, a repolarização é retardada por várias centenas a até 1.000 milissegundos (1 segundo). A importância do platô é que ele pode estar associado à contração prolongada que ocorre em alguns

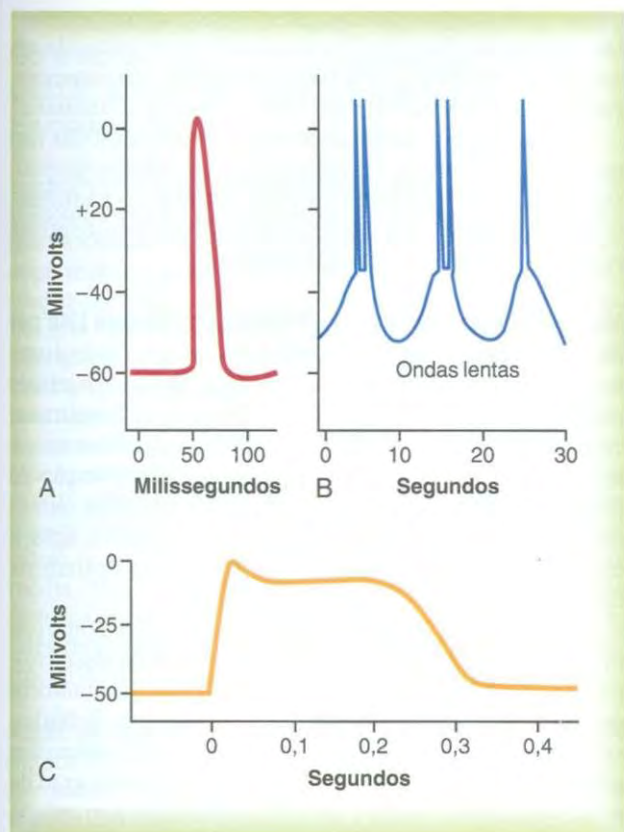


Figura 8-4

A, Potencial de ação típico do músculo liso (potencial em espícula) desencadeado por um estímulo externo. B, Potenciais em espícula repetitivos, desencadeados por ondas elétricas rítmicas que ocorrem espontaneamente no músculo liso da parede intestinal. C, Potencial de ação com platô, registrado de uma fibra muscular lisa do útero.

tipos de músculo liso, como o ureter, o útero em certas condições e certos tipos de músculo liso vascular. (Este tipo de potencial de ação também é observado nas fibras musculares cardíacas que apresentam um período prolongado de contração, como discutido nos Capítulos 9 e 10.)

Importância dos Canais de Cálcio na Geração do Potencial de Ação do Músculo Liso. A membrana celular do músculo liso apresenta muito mais canais de cálcio controlados por voltagem que o músculo esquelético, porém poucos canais de sódio controlados por voltagem. Desta forma, o sódio participa pouco na geração do potencial de ação na maioria dos músculos lisos. Inversamente, o fluxo de íons cálcio para o interior da fibra é o principal responsável pelo potencial de ação. Isto ocorre da mesma maneira auto-regenerativa que a dos canais de sódio nas fibras nervosas e nas fibras musculares esqueléticas. Entretanto, os canais de cálcio se abrem muito mais lentamente que os canais de sódio, e permanecem abertos por um tempo muito maior. Este fato é o que provoca em larga medida o platô prolongado do potencial de ação de algumas fibras musculares lisas.

Outro importante aspecto da entrada dos íons cálcio nas células durante o potencial de ação é que este íon age

diretamente sobre o mecanismo contrátil do músculo liso para provocar a contração. Assim, o cálcio realiza duas tarefas de uma só vez.

Potenciais de Onda Lenta no Músculo Liso Unitário e Geração Espontânea de Potenciais de Ação. Alguns músculos lisos são auto-excitatórios, isto é, os potenciais de ação se originam nas próprias células musculares lisas, sem um estímulo extrínseco. Estes potenciais de ação estão frequentemente associados a um *ritmo em onda lenta* básico do potencial de membrana. Uma onda lenta típica em um músculo liso visceral do intestino é mostrada na Figura 8-4B. A onda lenta não é o potencial de ação, isto é, ela não é um processo auto-regenerativo que se propaga progressivamente pelas membranas das fibras musculares. A onda lenta é uma propriedade local das fibras musculares lisas que compõem a massa muscular.

A causa do ritmo em onda lenta é desconhecida. Uma hipótese é que as ondas lentas sejam causadas pelo aumento e diminuição do bombeamento dos íons positivos (provavelmente íons sódio) para fora na membrana através da fibra muscular; isto é, o potencial de membrana se torna mais negativo quando o sódio é bombeado rapidamente e menos negativo quando a bomba de sódio se torna menos ativa. Outra hipótese é que a condutância dada pelos canais iônicos aumente e diminua ritmicamente.

A importância das ondas lentas é que, quando elas são de amplitude suficiente, podem iniciar potenciais de ação. As próprias ondas lentas não causam contração muscular, porém quando o pico do potencial de onda negativa dentro da membrana celular aumenta na direção positiva de -60 para cerca de -35 milivolts (o limiar aproximado para provocar os potenciais de ação na maioria dos músculos lisos viscerais), um potencial de ação se desenvolve e se propaga pela massa muscular. A contração então ocorre. A Figura 8-4B demonstra este efeito, mostrando que a cada pico de onda lenta ocorrem um ou mais potenciais de ação. Estas seqüências repetitivas de potenciais de ação desencadeiam a contração rítmica da massa muscular lisa. Assim, as ondas lentas são chamadas de *ondas marca-passo*. No Capítulo 62 veremos que este tipo de atividade marca-passo controla as contrações rítmicas do intestino.

Excitação de Músculo Liso Visceral pelo Estiramento Muscular. Quando o músculo liso visceral (unitário) é estirado suficientemente, usualmente são gerados potenciais de ação espontâneos. Eles resultam da combinação de (1) potenciais de onda lenta normais e (2) diminuição da negatividade do potencial de membrana causada pelo próprio estiramento. Esta resposta ao estiramento faz com que a parede do intestino, quando estirada excessivamente, se contraia automática e ritmicamente. Por exemplo, quando o intestino está muito distendido pelo conteúdo intestinal, as contrações automáticas locais formam frequentemente ondas peristálticas que movem o conteúdo para fora da região distendida, usualmente na direção do ânus.

Despolarização do Músculo Liso Multiunitário Sem Potenciais de Ação

As fibras musculares lisas do músculo multiunitário (tais como o músculo da íris do olho ou o músculo piloerector de cada pêlo) contraem-se principalmente em resposta aos

estímulos nervosos. As terminações nervosas secretam acetilcolina, no caso de alguns músculos lisos multiunitários, e norepinefrina, no caso de outros. Em ambos os casos, as substâncias transmissoras provocam despolarização da membrana da musculatura lisa, e isto, por sua vez, provoca contração. Potenciais de ação usualmente não se desenvolvem; a razão é que as fibras são muito pequenas para gerar um potencial de ação. (Para que potenciais de ação sejam desencadeados no *músculo liso unitário visceral*, 30 a 40 fibras musculares lisas têm de ser despolarizadas simultaneamente antes que aconteça um potencial de ação autopropagado.) Nas pequenas células musculares lisas, mesmo sem potencial de ação, a despolarização local (chamada de *potencial juncional*) causada pela substância neurotransmissora propaga-se “eletrotonicamente” por toda a fibra, o que basta para causar a contração muscular.

Efeito dos Fatores Teciduais Locais e dos Hormônios para Causar Contração do Músculo Liso Sem Potenciais de Ação

Muitas das contrações da fibra muscular lisa são iniciadas por fatores estimuladores que agem diretamente sobre a maquinaria contrátil do músculo liso, sem potenciais de ação. Os dois tipos de fatores estimuladores não-nervosos e não-associados a potencial de ação que estão frequentemente envolvidos são (1) fatores químicos teciduais locais e (2) vários hormônios.

Contração do Músculo Liso em Resposta a Fatores Químicos Teciduais Locais. No Capítulo 17, nós discutimos o controle da contração das arteríolas, metarteríolas e dos esfíncteres pré-capilares. Os menores destes vasos têm pouca ou nenhuma inervação. Ainda assim, o músculo liso é muito contrátil, respondendo rapidamente a alterações nas condições químicas locais no líquido intersticial circundante.

No estado normal de repouso, muitos destes pequenos vasos sanguíneos permanecem contraídos. Porém quando é necessário fluxo sanguíneo extra para o tecido, múltiplos fatores podem relaxar a parede do vaso, permitindo, assim, o aumento do fluxo. Desta maneira, um poderoso sistema local de controle por *feedback* controla o fluxo sanguíneo para a área tecidual. Alguns dos fatores de controle específicos são os seguintes:

1. A falta de oxigênio nos tecidos locais causa relaxamento do músculo liso e, portanto, vasodilatação.
2. O excesso de dióxido de carbono causa vasodilatação.
3. O aumento na concentração de íons hidrogênio provoca vasodilatação.

Adenosina, ácido láctico, aumento na concentração de íons potássio, diminuição na concentração dos íons cálcio e aumento da temperatura corporal podem causar vasodilatação local.

Efeitos dos Hormônios na Contração do Músculo Liso. A maior parte dos hormônios que circulam no sangue afeta em

algum grau a contração do músculo liso, e alguns apresentam efeitos profundos. Entre os mais importantes destes estão *norepinefrina*, *epinefrina*, *acetilcolina*, *angiotensina*, *endotelina*, *vasopressina*, *oxitocina*, *serotonina* e *histamina*.

Um hormônio causa contração de um músculo liso quando a membrana da célula muscular contém *receptores excitatórios controlados por hormônio*. Ao contrário, o hormônio provoca inibição se a membrana contiver *receptores inibitórios* para o hormônio.

Mecanismos de Excitação ou Inibição do Músculo Liso por Hormônios ou Fatores Teciduais Locais. Alguns receptores hormonais na membrana do músculo liso abrem canais para íons sódio ou cálcio e despolarizam a membrana, como ocorre após a estimulação nervosa. Algumas vezes, o resultado é um potencial de ação, ou a amplificação de potenciais de ação que já estão ocorrendo. Em outros casos, a despolarização ocorre sem potenciais de ação, e esta despolarização permite que íons cálcio entrem na célula, o que promove a contração.

A inibição, ao contrário, ocorre quando o hormônio (ou outro fator tecidual) *fecha os canais de sódio ou de cálcio* e evita a entrada destes íons positivos; a inibição também ocorre quando *canais de potássio*, normalmente fechados, *são abertos*, permitindo que os íons potássio se difundam para fora da célula. Estas duas ações aumentam o grau de negatividade no interior da célula muscular, um estado chamado de *hiperpolarização*, que inibe fortemente a contração muscular.

Algumas vezes a contração ou a inibição do músculo liso é iniciada pelos hormônios sem causar nenhuma alteração direta no potencial de membrana. Nesses casos, o hormônio pode ativar um receptor de membrana que não abre os canais iônicos, mas que causa uma alteração interna na fibra muscular, tal como a liberação de íons cálcio do retículo sarcoplasmático intracelular; o cálcio então induz a contração. Para inibir a contração, outros mecanismos receptores ativam as enzimas *adenilato ciclase* ou *guanilato ciclase* na membrana celular; as porções dos receptores que fazem protrusão para o interior das células estão acopladas a estas enzimas, levando à formação do *monofostato de adenosina cíclico (AMPc)* ou *monofostato de guanosina cíclico (GMPc)*, chamados de *segundos mensageiros*. O AMPc ou GMPc têm muitos efeitos, um dos quais é alterar o grau de fosforilação de várias enzimas que indiretamente inibem a contração. A bomba que move os íons cálcio do sarcoplasma para o retículo sarcoplasmático é ativada, bem como a bomba na membrana celular que move os íons cálcio para fora da própria célula; estes efeitos reduzem a concentração de íons cálcio no sarcoplasma, inibindo a contração.

Os músculos lisos apresentam uma considerável diversidade na maneira como eles iniciam a contração ou o relaxamento em resposta a diferentes hormônios, neurotransmissores e outras substâncias. Em alguns casos, a mesma substância pode causar relaxamento ou contração dos músculos lisos em diferentes localizações. Por exemplo, a norepinefrina inibe a contração do músculo liso no intestino, porém estimula a contração do músculo liso nos vasos sanguíneos.

Fonte dos Íons Cálcio que Provocam Contração (1) através da Membrana Celular e (2) a partir do Retículo Sarcoplasmático

Embora o processo contrátil no músculo liso, como no músculo esquelético, seja ativado pelos íons cálcio, a fonte dos íons cálcio é diferente; a diferença é que o retículo sarcoplasmático, que fornece todos os íons cálcio para a contração muscular esquelética, é pouco desenvolvido na maioria dos músculos lisos. Ao contrário, quase todos os íons cálcio que provocam a contração entram na célula muscular a partir do líquido extracelular no momento do potencial de ação ou de outros estímulos. A concentração de íons cálcio no líquido extracelular é maior que 10^{-3} molar, em comparação com menos de 10^{-7} molar no interior da célula muscular lisa; isto causa rápida difusão dos íons do líquido extracelular na célula quando o poro de cálcio se abre. O tempo necessário para a difusão é, em média, 200 a 300 milissegundos e é chamado de *período de latência*, antes que a contração comece. Este período de latência é cerca de 50 vezes maior no músculo liso em contração do que no músculo esquelético.

Papel do Retículo Sarcoplasmático do Músculo Liso. A Figura 8-5 mostra uns poucos túbulos sarcoplasmáticos levemente desenvolvidos que se situam próximo à membrana celular em algumas células musculares lisas maiores. Pequenas invaginações da membrana celular, chamadas *cavéolas*, fazem contato com as superfícies destes túbulos. As cavéolas sugerem um análogo rudimentar do sistema de túbulos transversos do músculo esquelético. Quando um potencial de ação é transmitido para as cavéolas, acredita-se que ele provoque a liberação de íons cálcio dos túbulos sarcoplasmáticos com que fazem contato, da mesma maneira que os potenciais de ação nos túbulos transversos no músculo esquelético provocam a liberação dos íons cálcio dos túbulos sarcoplasmáticos longitudinais no músculo esquelético. Em geral, quanto mais extenso o retículo sarcoplasmático na fibra muscular lisa, mais rapidamente ela se contrai.

Efeito na Contração do Músculo Liso Causado pela Alteração da Concentração Extracelular do Íon Cálcio. Embora as alterações na concentração do íon cálcio no líquido extracelular, em relação à normal, tenham pouco efeito sobre a força de contração do músculo esquelético, isto não é verdadeiro para a maior parte dos músculos lisos. Quando a concentração dos íons cálcio no líquido extracelular cai a cerca de 1/3 a 1/10 do normal, a contração do músculo liso usualmente cessa. Portanto, a força de contração do músculo liso é altamente dependente da concentração do íon cálcio no líquido extracelular.

Uma Bomba de Cálcio É Necessária para Causar Relaxamento do Músculo Liso. Para provocar o relaxamento do músculo liso, depois da contração, os íons cálcio têm de ser removidos dos líquidos intracelulares. Esta remoção é efetuada por uma *bomba de cálcio* que bombeia os íons cálcio para fora da fibra muscular lisa, de volta para o líquido extracelular ou para o retículo sarcoplasmático, se presente. Esta bomba é de ação lenta, em comparação com a bomba de

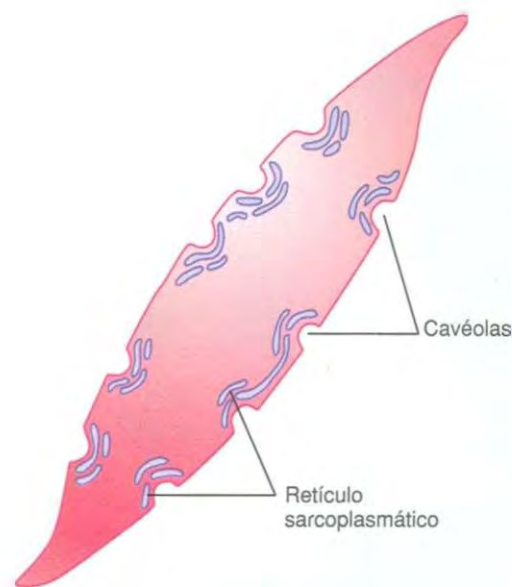


Figura 8-5

Túbulos sarcoplasmáticos em uma grande fibra muscular lisa e suas relações com invaginações na membrana celular, chamadas *cavéolas*.

ação rápida do retículo sarcoplasmático no músculo esquelético. Portanto, uma única contração do músculo liso dura geralmente segundos em vez de centésimos a décimos de segundo, como ocorre no músculo esquelético.

Referências

- Veja também as referências dos Capítulos 5 e 6.
- Blaustein MP, Lederer WJ: Sodium/calcium exchange: its physiological implications. *Physiol Rev* 79:763, 1999.
- Davis MJ, Hill MA: Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol Rev* 79:387, 1999.
- Harnett KM, Biancani P: Calcium-dependent and calcium-independent contractions in smooth muscles. *Am J Med* 115(Suppl 3A):24S, 2003.
- Horowitz A, Menice CB, Laporte R, Morgan KG: Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Rev* 76:967, 1996.
- Kamm KE, Stull JT: Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. *Annu Rev Physiol* 51:299, 1989.
- Kuriyama H, Kitamura K, Itoh T, Inoue R: Physiological features of visceral smooth muscle cells, with special reference to receptors and ion channels. *Physiol Rev* 78:811, 1998.
- Lee CH, Poburko D, Kuo KH, et al: Ca^{2+} oscillations, gradients, and homeostasis in vascular smooth muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282:H1571, 2002.
- Rybalkin SD, Yan C, Bornfeldt KE, Beavo JA: Cyclic GMP phosphodiesterases and regulation of smooth muscle function. *Circ Res* 93:280, 2003.
- Somlyo AP, Somlyo AV: Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol Rev* 83:1325, 2003.
- Stephens NL: Airway smooth muscle. *Lung* 179:333, 2001.
- Walker JS, Wingard CJ, Murphy RA: Energetics of crossbridge phosphorylation and contraction in vascular smooth muscle. *Hypertension* 23:1106, 1994.
- Webb RC: Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ* 27:201, 2003.