## UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS UNICAMP

# FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE COMPUTAÇÃO - FEEC DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA

EA-097 - Técnicas Experimentais em Engenharia Biomédica (Preparado por: Rafael de Almeida Ricardo e José W. M. Bassani)

Aluno(s):

## Equação de Nernst e o potencial de equilíbrio iônico

#### 1. A Equação de Nernst

Vamos assumir dois compartimentos separados por uma membrana contendo canais seletivos (neste exemplo, permeável apenas ao íon  $X^{\dagger}$ ). Primeiramente, considere que estes canais estão "fechados" e adicionamos 10mM do sal XY em um compartimento (vamos chamá-lo de meio externo) e 100mM de XY no outro (meio interno). Como o número de cargas positivas e negativas é o mesmo em cada um dos lados da membrana, apesar do "meio interno" possuir uma quantidade maior de íons, não há excesso de cargas livres em nenhum dos lados da membrana (eletroneutralidade). Conseqüentemente o potencial de membrana também será nulo. De fato:

$$V = \frac{Q}{C} \tag{1}$$

onde V é o potencial de membrana, C é a capacitância da membrana e Q é diferença de cargas elétricas através da membrana.

Vamos considerar agora que o canal permeável ao X<sup>+</sup> esteja "aberto". Teremos então um fluxo de X<sup>+</sup> para o meio menos concentrado. Com o aumento de cargas positivas no "meio extracelular", tem-se a formação de um campo elétrico através da membrana que tenderá a se opor ao fluxo de X<sup>+</sup>. O resultado final deste processo é o surgimento de um potencial elétrico através da membrana que crescerá até que se atinja o equilíbrio, ou seja, fluxo resultante de X<sup>+</sup> através da membrana nulo. Quantitativamente temos:

$$j=-D\left(\frac{\partial c}{\partial x}+\frac{zF}{RT}\,c\,\frac{\partial V}{\partial x}\right) \tag{2}$$
 onde  $j$  é o fluxo resultante do íon,  $D$  é o coeficiente de difusão,  $c$  é a concentração

onde j é o fluxo resultante do íon, D é o coeficiente de difusão, c é a concentração do íon, c é a valência, c é a espessura da membrana, c é a constante de Faraday, c é a constante dos gases ideais, c é a temperatura e c0 diferença de potencial.

Considerando o fluxo resultante nulo (j = 0) e integrando a equação 2, temos:

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_o}{C_i} \tag{3}$$

onde V é conhecido como potencial de equilíbrio do íon em questão, ou seja, o potencial elétrico através da membrana quando permeável apenas à este íon

(Garcia, 1997). Os índices *o* e *i* indicam o meio extracelular e intracelular, respectivamente.

#### 2. Potencial de membrana

De maneira geral, todas as células animais apresentam uma diferença de potencial elétrico entre os meios intracelular e extracelular (Aidley, 1998). Como vimos anteriormente, este biopotencial é gerado principalmente pela diferença de concentração de diversos íons entre o meio externo e interno e pelo fluxo dos mesmos através da membrana celular, que depende, entre outros fatores, da permeabilidade da membrana celular a cada um destes íons.

Em um caso bem próximo do real, no qual a membrana possui vários tipos de canais seletivos à diferentes íons, como por exemplo, canais permeáveis aos íons  $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Cl^-$ , o potencial de membrana fica:

$$E_{m} = \frac{RT}{F} \ln \frac{p_{k}[k^{+}]_{o} + p_{Na}[Na^{+}]_{o} + p_{Cl}[Cl^{-}]_{i}}{p_{k}[k^{+}]_{i} + p_{Na}[Na^{+}]_{i} + p_{Cl}[Cl^{-}]_{o}}$$
(4)

onde  $p_X$  indica a permeabilidade da membrana ao íon x.

A Equação 4 é conhecida como equação de Goldman-Hodgkin-Katz (Weiss, 1997) e determina o potencial de membrana celular em função das concentrações iônicas e da permeabilidade da membrana a cada um dos íons.

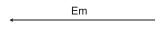
Em células excitáveis, o potencial de membrana desempenha importantes funções relacionadas com a sinalização elétrica da célula: propagação do potencial de ação, contração celular, secreção de neurotransmissores, entre outros.

O estudo dos mecanismos pelos quais o potencial de membrana é gerado pode contribuir para um bom entendimento dos mecanismos apresentados acima. Contudo, medições *in vivo* do potencial de membrana celular tornam-se bastante complexas devido ao aparato experimental necessário na sua realização.

Uma abordagem relativamente simples mas que ilustra muito bem o fenômeno da geração dos biopotenciais é a utilização de um modelo celular, composto por dois compartimentos separados por uma membrana semi-permeável (Moran, 1999). Desta maneira, preenchendo os dois compartimentos com a mesma solução salina, porém com concentrações diferentes, tem-se a geração de um potencial elétrico através da membrana, considerando que esta seja permeável ao fluxo de cátions mas não ao fluxo de ânions.

## 3. Objetivos

- a) Estudar o significado do potencial de equilíbrio iônico e da equação de Nernst;
- b) Estudar os fenômenos envolvidos na geração de potencial elétrico através de membranas semi-permeáveis;



Gradiente de Concentração

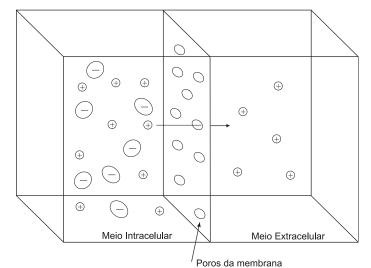


Figura 1 – Diagrama esquemático da montagem experimental, no qual a membrana é permeável apenas aos cátions formados pela dissociação do sal utilizado.

## 4. Procedimento Experimental

#### 4.1. Material necessário

- a) modelo celular com membrana semi-permeável;
- b) solução estoque de NaCl (100mM);
- c) eletrodos de medição (Ag-AgCI);
- d) osciloscópio;
- e) multímetro;
- f) termômetro;
- g) paquímetro.

#### 4.2. Procedimento experimental

- 1) Faça um planejamento para padronizar o seu experimento (escolha de um referencial adequado para a medição do potencial elétrico e atente para variáveis como temperatura, potencial de junção do eletrodo, etc);
- 2) Preencha o compartimento externo do modelo celular com a solução estoque de NaCl (100mM);
- 3) Preencha o compartimento interno do modelo com solução de NaCl 1mM (pense em uma maneira de obter esta solução a partir da solução estoque e anote o volume utilizado);

4) Conecte os eletrodos de medição no osciloscópio e posicione um em cada compartimento do modelo;										
5) Registre o valor do potencial elétrico medido (lembre-se de registrar também a temperatura ambiente);										
V =										
T =										
6) Utilizando um multímetro, meça novamente este potencial e anote seu valor;										
V =										
7) Repita os itens 3 a 5 utilizando soluções de NaCl com diferentes concentrações (2, 3, 5, 10, 50 e 100 mM). Utilize a tabela abaixo para facilitar a obtenção das concentrações necessárias e para anotar o valor de potencial elétrico medido em cada caso.										
[NaCl] (mM)	Volume de água (µL)	Volume de Solução estoque de NaCl (µL)	Potencial medido (mV)							
1										
2										
3										
5										
10										
50										
100										
8) Meça o diâmetro do compartimento interno do modelo celular.										

Ø = \_\_\_\_\_

#### 5. Exercícios

1) Faça a dedução da equação de Nernst.

2) Construa um gráfico ( $E_m \times [Na^+]_o/[Na^+]_i$ ) contendo os dados experimentais obtidos no laboratório e o valor teórico esperado para cada ponto experimental (equação de Nernst). Utilize o valor de temperatura medido durante o experimento e consulte a literatura para obter os valores de z, R, F (tome cuidado com as unidades).

3) Explique detalhadamente porque houve um desvio entre o valor de $V_m$ medido no laboratório e o valor teórico esperado. Faça todas as considerações que achar conveniente, mas cuidado com os absurdos.								
<del></del>								
<del></del> _								
<del></del> _								

	oilidade ao Cl <sup>-</sup> . Jue ao Cl <sup>-</sup> . Utili			a membrana	ė mais perm	eavel a
de carga	ua preparação, as positivas do no meio interno	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç nedido
de carga	ua preparação, as positivas do no meio interno	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç nedido
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç nedido
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç nedido
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç nedido
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç
de carga	as positivas do	que o meio	interno. Po	r que o poter	na maior conc ncial elétrico r	entraç

6) Calcu que o va experima	alor d	deste	ncial pote	de N encial	ernst é o	na co opost	ondi o da	ção [ o cald	Na⁺] <sub>i</sub> ; culad	=100 o no	mM e item	e [Na <sup>+</sup> 7 do	] <sub>o</sub> =10 proce	mM. F edimer	Por nto
7) Por multímet		não	foi	poss	ível	medir	0	pote	ncial	de	mem	brana	utiliz	zando	0
															_
															_
															_
															_
															_
															_

8) Calcule a quantidade de íons Na<sup>+</sup> que atravessa a membrana na condição [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>=10mM e [Na<sup>+</sup>]<sub>o</sub>=100mM. Calcule também a quantidade total de íons Na<sup>+</sup> contida no compartimento interno e externo e compare com a quantidade de íons Na<sup>+</sup> que atravessa a membrana, na sua opinião essa quantidade de íons altera significativamente as concentrações dos compartimentos interno e externo?

Dados: Capacitância da membrana do modelo: 25 pF/cm². Carga elementar do elétron: 1,6 x 10<sup>-19</sup> C. Número de Avogadro: 6,02 x 10<sup>23</sup> partículas/mol. Molaridade = moles/litro.

# 5. Referências Bibliográficas

- 1. Aidley, D. J. *The physiology of excitable cells*. 4 ed. Cambridge University Press, USA, 1998.
- 2. Garcia, E. A. C. *Biofísica*. Editora Sarvier, São Paulo, 1997.
- 3. Moran, W. M., Denton, J., Wilson, K., Willians, M., Runge, S. W. A simple, inexpensive method for teaching how membrane potencials are generated. *Adv. J. Physiol.* 277: 51-59, 1999.
- 4. Weiss, T. F. Cellular Biophysics. The MIT Press, USA, 1997.