

PARTICULARIDADES DA ELECTROFISIOLOGIA DO MÚSCULO LISO POTENCIAIS DE MEMBRANA, POTENCIAIS DE ACÇÃO E JUNÇÃO NEURO-MUSCULAR.

L. Silva Carvalho

Instituto de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Lisboa

SUMÁRIO

O Autor começa por rever as características electrofisiológicas do músculo estriado, apresentando as bases iónicas dos seus potenciais de repouso e acção. Apresenta a classificação dos músculos lisos segundo Bozler. Trata depois separadamente a electrofisiologia do músculo liso visceral (unitário) e vascular (multiunitário). Relativamente ao primeiro, começa por referir os valores do potencial de repouso. Em seguida, são abordadas as ondas lentas, e os potenciais de acção "em flecha" e com plateau, e apresentadas as bases iónicas destes potenciais. É igualmente referida a condução da actividade eléctrica ao longo do músculo liso visceral, relacionando-a com a presença de "vias" de baixa resistência entre células adjacentes. Em relação ao músculo liso vascular, aborda sucessivamente os potenciais de repouso, acção e suas bases iónicas. São realçadas as semelhanças e diferenças com o músculo liso visceral. Finalmente, revê a junção neuroefectora no músculo liso, procurando correlacionar os aspectos morfológicos e electrofisiológicos.

INTRODUÇÃO

A compreensão das particularidades electrofisiológicas do músculo liso torna-se mais fácil quando apresentadas em comparação com as de um modelo mais estudado e conhecido - o músculo esquelético. Nesta breve apresentação são sucessivamente abordados: I - Características electrofisiológicas do músculo esquelético; II - Classificação do músculo liso; III - Características electrofisiológicas do músculo liso visceral; IV - Características fisiológicas do músculo liso multi-unitario; V - Canais de cálcio activados por receptores; VI - Aspectos electrofisiológicos da transmissão neuro-muscular no músculo liso.

Palavras-chave: Músculo liso, potenciais de membrana, potenciais de acção, junção neuro-muscular

I - Características electrofisiológicas do músculo esquelético

Como e do conhecimento geral (1), na célula muscular esquelética em repouso existe uma diferença de potencial de cerca de -90mV sendo o interior, negativo em relação ao exterior. Esta diferença pode ser medida com um dispositivo em que um voltímetro ou um osciloscópio compara o potencial de dois eléctrodos (um microeléctrodo e um eléctrodo de referência). Quando ambos estão colocados perto da face externa da membrana celular, o voltímetro não regista nenhuma diferença do potencial. Quando o microeléctrodo é introduzido na célula, o voltímetro acusa uma diferença de potencial entre os dois eléctrodos estando o microeléctrodo negativo em relação ao eléctrodo extra-celular. Esta diferença de potencial que se verifica na célula na ausência de qualquer estímulo chama-se potencial de repouso. Este deve-se à diferente distribuição de iões de um lado e doutro da membrana, e à diferente permeabilidade da membrana celular para os iões. A observação de um esquema de uma pequena extensão da membrana celular (Fig. I), permite notar: que o interior é rico em potássio e pobre em sódio, ao inverso do que acontece no exterior; bem como a presença junto à membrana, do lado de dentro, de aniões proteicos, e do lado de fora um número igual de iões de potássio. Pelo seu tamanho, os aniões proteicos, ao contrário do potássio, sódio e cloro, não podem atravessar a membrana. Esses 6 pares de iões cujo número é insignificante relativamente ao número total de iões presentes na sua proximidade, são no entanto suficientes para criar o potencial de repouso.

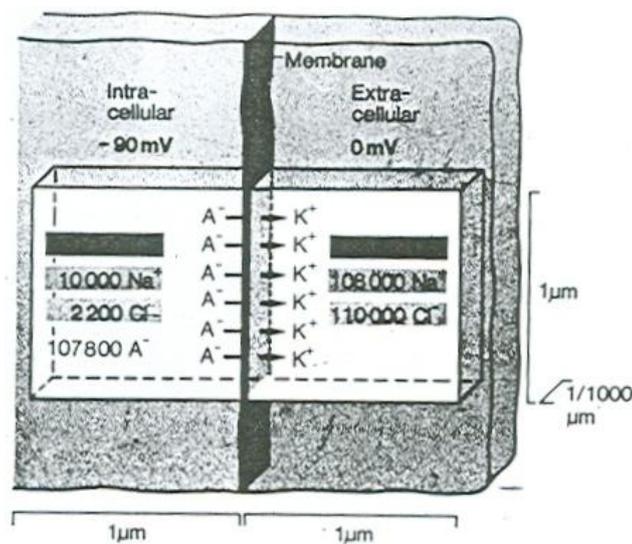


FIGURA I

Distribuição de cargas na membrana celular durante o potencial de repouso. As setas indicam efluxo de potássio (segundo Schmidt)

A contribuição de cada ião para o potencial de repouso é representada pela equação de Goldman:

$$E = RT \cdot \ln \frac{P_K \cdot [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_e}{P_K \cdot [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_i}$$

em que R é a constante dos gases, T a temperatura absoluta. O facto de a membrana, ser muito mais permeável ao potássio que ao sódio faz com que o primeiro ião contribua de forma mais importante para o potencial de repouso. Este aproxima-se na verdade do potencial de equilíbrio para o potássio. Recordemos que o potencial de equilíbrio para o potássio, calculado pela equação de Nernst, é cerca de - 90 mv. (interna negativo relativamente ao exterior), e o calculado para o sódio é de + 40 mv. (interior positivo relativamente ao exterior). O potencial de repouso do músculo esquelético permanece constante se a célula não for estimulada. A bomba de sódio e potássio é responsável pelas diferentes concentrações destes iões do lado de dentro e de fora da membrana celular, mas ela é, em si, electroneutra, ou seja, em condições normais o número de cargas eléctricas que transporta para fora da célula, idêntico ao que transporta em sentido contrário.

Quando à célula é aplicado um estímulo de intensidade e duração suficiente, ou seja, um estímulo eficaz, toda esta situação se altera (Fig. II), tornando-se o interior rapidamente menos negativo, depois positivo retornando rapidamente em seguida as condições eléctricas à situação inicial.

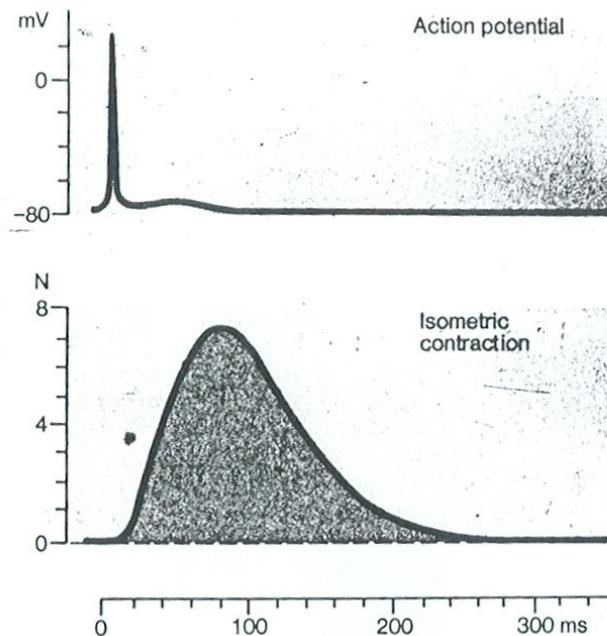


FIGURA II

Em cima: registo do potencial de acção numa fibra muscular esquelética. Em baixo: registo da contracção isométrica da mesma fibra a qual sucede ao potencial de acção.

Esta alteração brusca do potencial transmembranar que representa a resposta de um tecido excitável a um estímulo eficaz, chama-se potencial de acção. Nele existem duas fases: a primeira (perda rápida da negatividade interior seguida de inversão da polaridade) é a despolarização; a segunda (recuperação da negatividade normal do interior) chama-se repolarização. Um potencial de acção que tem uma forma estreita e alta, em que a despolarização e repolarização se processam rapidamente, chama-se potencial em flecha ou spike". Nos músculos esqueléticos de tipo fásico, é necessário que ocorra um potencial de acção para que exista contracção.

As bases iónicas (2), (3), do potencial de acção podem ser esquematicamente resumidas do seguinte modo (Fig. III): quando o potencial transmembranar se aproxima do limiar de excitação há uma abertura dos canais rápidos de sódio, e o conseqüente aumento da permeabilidade ao sódio, o qual é independente do estímulo, e é designado por excitação.

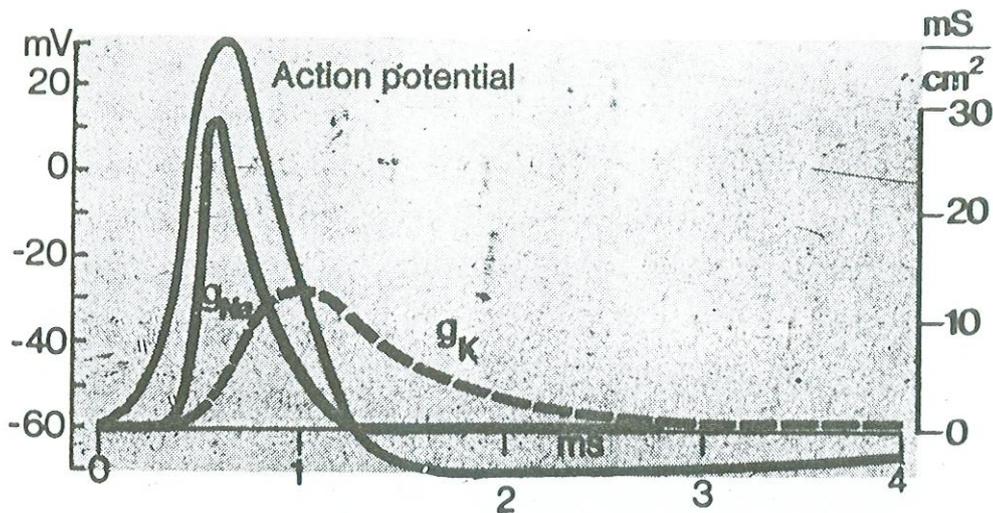


FIGURA III

Representação de um potencial de acção e das variações de condutância da membrana para o sódio e o potássio que estão na sua base.

De acordo com a equação de Goldman, tal significa que o sódio passa a ser o principal ião determinante do potencial transmembranar. Como o potencial de equilíbrio para o sódio é atingido com o interior celular positivo em relação ao exterior, o aumento da permeabilidade ao sódio traduz-se pela inversão do potencial transmembranar. Perto do cume do potencial de acção dá-se a inactivação do mecanismo do sódio. Enquanto este estiver inactivado é impossível provocar outro potencial de acção. São assim explicados os períodos refractários absolutos e relativos. A repolarização deve-se ao aumento da permeabilidade ao potássio, ou seja, à saída de potássio do interior da célula. Quando se recupera o potencial de repouso há pequenas diferenças iónicas relativamente à situação inicial, já que entrou sódio e saiu potássio. A recuperação das condições iónicas de repouso deve-se à reentrada em actividade da bomba de sódio-potássio.

II - Classificação do músculo liso

Em 1941, Bozler (4) propôs uma classificação do músculo liso, o qual dividiu em unitário (visceral) e multiunitário. Os músculos lisos unitários são caracterizados fisiologicamente por actividade eléctrica espontânea, ou seja, pela capacidade de gerarem em si o estímulo que leva à sua contracção e por se comportarem como um sincício funcional. Neste tipo de músculo existem áreas pacemakers onde se gera o estímulo que depois é conduzido às outras células através de zonas de contacto de baixa resistência eléctrica. O músculo liso multiunitário não apresenta actividade eléctrica espontânea; é activado em mais de uma região por nervos motores, e está organizado sob a forma de unidades motoras. Unidades motoras menos definidas, mais difusas e de limites menos nítidos que os das unidades motoras dos músculos esqueléticos. São exemplos do músculo liso visceral ou unitário, os do tacto gastro-intestinal, o útero; e de músculo liso multi-unitário, os músculos pilo-erectores, ciliares, "íris", membrana nictitante e vasos sanguíneos de grande calibre. Esta classificação, cómoda e hoje muito aceite, não deve ser encarada como rígida. Assim, os músculos dos canais deferentes que são normalmente activados pelos seus nervos extrínsecos, quando colocados num banho de órgãos tornam-se espontaneamente activos, e algumas arteríolas apresentam actividade auto-rítmica.

III - Músculo liso visceral

Entre 1938 e 1948, Bozler (4), (5) realizou uma série de trabalhos que representaram o ponto de partida dos nossos conhecimentos actuais sobre o músculo liso. Aquele autor registou, com eléctrodos extracelulares, a actividade eléctrica em músculo liso visceral, e relacionou-a com a actividade mecânica observada. As contracções espontâneas que observava periodicamente na sua preparação, eram precedidas por salvas de potenciais de acção. Estas observações foram confirmadas pelo uso de microeléctrodos (6). Com estes, foi possível registar o potencial transmembranar na ausência de estímulos externos. Verificou-se que nestas condições, e ao contrário do que acontece no músculo esquelético, aquele não é estável, antes varia espontaneamente entre - 55 e - 60 mv. Nestas condições é difícil definir potencial de repouso no músculo liso visceral. Existe um ritmo básico de variação do potencial transmembranar denominado de ondas lentas. (Fig. IV). Esse ritmo é diferente de tecido para tecido. É muito nítido na camada longitudinal dos músculos intestinais e no miométrio durante o parto. Nestas condições considera-se potencial de repouso o valor máximo (mais negativo) atingido pelo potencial transmembranar entre períodos de actividade. Assim, o potencial de repouso de um músculo liso visceral difere do músculo esquelético em dois aspectos: é menos negativo e é mais lábil. Algumas áreas (grupo de células), de um músculo liso visceral apresentam em sobreposição a esta actividade rítmica, outra mais rápida e localizada, os pré-potenciais, cuja forma é semelhante à dos observados no músculo cardíaco.

Quando uma célula atinge o limiar de excitação, surge um potencial de acção, o qual precede a contracção. Esquemáticamente podemos dizer que as ondas lentas aproximam e afastam, periodicamente, o potencial transmembranar do limiar de excitação. Quando o potencial transmembranar está mais próximo do limiar de excitação, os pré-potenciais existentes em células pacemakers levam ao aparecimento de potenciais de acção. Assim, as ondas lentas determinam o intervalo entre as contracções, e os pré-potenciais a frequência dos, potenciais de acção, e conseqüentemente a força e duração de cada contracção.

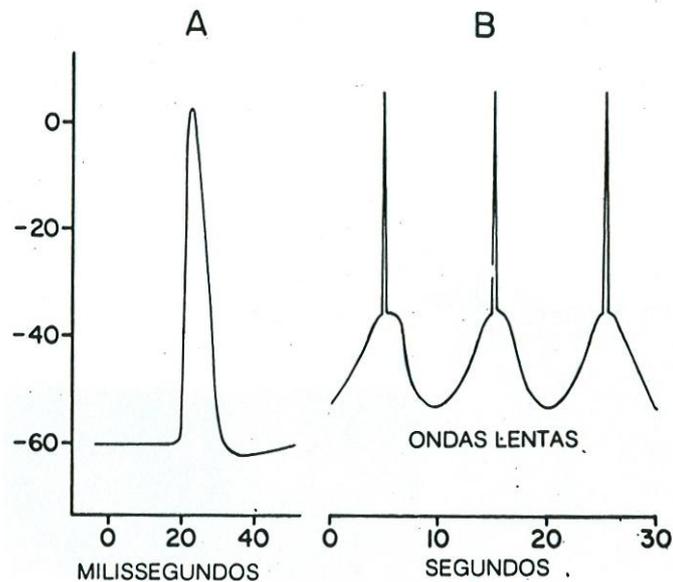


FIGURA IV

A - Potencial de acção provocado no músculo liso por um estímulo externo. B - Série de potenciais de acção associados à ocorrência espontânea de ondas lentas nos músculos lisos da parede intestinal.

Os potenciais de acção que surgem nas áreas pacemakers parecem propagar-se às outras células através de zonas de contacto entre elas, que apresentam uma baixa resistência eléctrica (7). A presença de um potencial de acção de um lado dessa "barreira" de baixa resistência, provocará uma alteração do potencial do outro lado, a qual atinge o valor suficiente para desencadear um potencial de acção. Portanto a transmissão de um potencial de acção de uma célula a outra do músculo liso visceral parece dar-se pelo desencadear de potenciais electrónicos de amplitude suficiente para excitarem a célula. Esta hipótese é apoiada por experiências (8) em que era introduzida numa célula um microeléctrodo através do qual se injectava corrente. Outros microeléctrodos de registo, colocados em células vizinhas a diferentes distâncias, permitiram verificar que o sinal eléctrico registado diminuía exponencialmente com a distância à célula estimulada, o que é próprio de um potencial electrotónico.

a) Bases iónicas do potencial de repouso.

A relação entre as permeabilidades ao sódio e ao potássio é maior no músculo liso visceral que no esquelético, ou seja, na equação de Goldman a importância relativa na génese do potencial transmembranar, do sódio é maior no músculo liso visceral que no esquelético (10,16 e 0,01 respectivamente) (7). É de esperar, assim, que o potencial de repouso se afaste mais do potencial de equilíbrio para o potássio no primeiro (músculo liso visceral) que no segundo músculo esquelético), aproximando-se mais do potencial de equilíbrio para o sódio. Com efeito, o potencial de repouso atrás referido para o músculo liso visceral foi de - 60 mv e para o esquelético - 80 mv.

As flutuações do potencial transmembranar do músculo liso visceral, em contraste com o potencial de repouso estável do músculo esquelético, tem sido explicado pelas diferenças entre as bombas de sódio-potássio dos dois tipos de músculo. Assim, foi referido que a do músculo esquelético funcionava de forma electroneutra, ou seja, por si só ela não contribuía para a negatividade do interior celular. No músculo liso visceral ela parece ser electrogénica, isto é, transporta para o exterior da célula mais cargas positivas do que as que transporta em sentido inverso, contribuindo deste modo, pelo simples facto de funcionar, para a negatividade do interior da célula (9). Outra característica desta bomba do músculo liso visceral parece ser flutuações no seu funcionamento, não trabalhando sempre com a mesma intensidade. Estas flutuações de funcionamento, de causa não conhecida, explicariam as variações em repouso do potencial transmembranar.

b) Bases iónicas do potencial de acção

No músculo estriado, a despolarização rápida que se observa no potencial de acção é devida à entrada rápida do sódio, e a repolarização à saída do potássio. No músculo liso visceral, existe uma diferença importante quanto a base iónica da fase de despolarização do potencial de acção, já que neste tipo de músculo essa fase depende do sódio e do cálcio, e a contribuição relativa destes dois iões varia de um tipo muscular para outro. (6), (10). Assim, no músculo da camada longitudinal do intestino, a velocidade de subida (despolarização) do potencial de acção e a sua amplitude não são modificados pela alteração da concentração do sódio extracelular, mas ambas diminuem acentuadamente com pequenas reduções na, concentração extracelular de cálcio. Por outro lado, no músculo liso do útero, tanto a redução das concentrações de sódio como de cálcio provocam diminuições da amplitude do potencial de acção e da velocidade de despolarização.

IV - Características electrofisiológicas do músculo liso multi-unitário.

Dos vários exemplos possíveis para ilustrar o comportamento do músculo liso multi-unitário, usaremos o músculo liso da parede de grandes vasos. Este músculo não apresenta actividade eléctrica espontânea e o seu potencial transmembranar é estável na ausência de qualquer estímulo (11). Existe pois um potencial de repouso verdadeiro, tal como no músculo esquelético. O valor desse potencial é porém cerca de - 50 mv, mais próximo portanto do verificado no músculo liso visceral, o que é explicável pela relação entre a permeabilidade relativa da membrana para o sódio e para o potássio (0,38) a qual é ainda maior que no músculo liso multi-unitário. Apesar deste baixo valor do potencial transmembranar de repouso, o músculo liso visceral não apresenta actividade espontânea. A causa não é ainda completamente conhecida, mas parece relacionar-se com um aumento marcado da permeabilidade do músculo liso vascular para o potássio quando o potencial se aproxima dos - 40 mv (11), (12). Com efeito, um estímulo eléctrico que despolarize a membrana, do músculo liso vascular dificilmente provoca um potencial de acção. O aumento da saída de potássio, à medida que a membrana, despolariza, contraria este efeito e tende a impedir o potencial de acção. Experiências com a artéria do ouvido do coelho parecem apoiar esta hipótese (13). O músculo desta, artéria comporta-se como músculo multi-unitário, mas na presença de um inibidor das correntes de saída de potássio, como a procaína ou o TEA, apresenta actividade eléctrica espontânea.

Os potenciais de acção observados em vasos de grande calibre como resultado da estimulação do nervo que com eles entra em contacto, são insensíveis à tetrodoxina e muito sensíveis ao verapamil, o que indica serem devidos principalmente a uma entrada de cálcio (14). A importância fisiológica desta forma de activação do músculo liso vascular (acompanhada de potenciais de acção), não é ainda clara.

V - Canais de cálcio activados por receptores.

Como é do conhecimento geral, o cálcio é essencial para a contracção dos músculos esquelético e liso. Dado o pequeno desenvolvimento do seu retículo sarcoplasmático, o cálcio necessário para a contracção deste último provém em grande parte do meio extracelular. Nesta breve revisão, temos referido a entrada de cálcio associada à despolarização no potencial de acção, ou seja, entrada de cálcio através dos canais voltagem dependentes. Existem porém outros canais de cálcio activados por receptores, o que é exemplificado pela acção da noradrenalina na artéria do ouvido do coelho, a qual provoca vasoconstricção sem alteração do potencial transmembranar (13). Admite-se, (14) (15), que os agonistas ao ligarem-se aos receptores provoquem duas acções independentes: primeiro, a libertação do cálcio intracelular, e em seguida, a abertura dos canais de cálcio com a entrada deste ião. Estes canais comandados por agonistas são menos sensíveis à nifedipina e ao D 600 que os voltagem dependentes.

VI - Aspectos electrofisiológicos da transmissão neuromuscular no músculo liso.

As duas preparações que tem sido mais extensamente estudadas (16), (17), são as do nervo hipogástrico - canal deferente e nervo - músculo intestinal, tendo esta a particularidade de o músculo receber uma dupla inervação, simpática e parassimpática, enquanto os canais deferentes são inervados apenas pelo simpático

A introdução de um microeléctrodo numa célula (em qualquer célula) do músculo liso do canal deferente permite registar um potencial estável de cerca de - 65 mv. Nestas condições, a estimulação repetida do nervo hipogástrico com estímulos de 1 ms de duração, provocará despolarizações localizadas (uma por cada estímulo) (Fig. V). O aumento da frequência de estimulação leva à somação destes potenciais individuais atingindo o potencial transmembrana, o valor de - 35 mv. e surgindo então um potencial de acção. Estas pequenas despolarizações localizadas, produzidas por cada estímulo, são denominadas potenciais excitatórios de junção, e são o análogo a nível do músculo liso dos potenciais de placa da junção neuro-muscular do músculo esquelético. O tratamento prévio da preparação com fentolamina, impede que a estimulação do nervo hipogástrico desencadeie potenciais excitatórios de junção, apoiando a hipótese de que eles sejam devidos à libertação de noradrenalina pelas terminações nervosas, e a subsequente ligação destes neurotransmissores a receptores pós-simpáticos musculares. Na ausência de qualquer estímulo nervoso, os microeléctrodos colocados no interior das fibras musculares, registam pequenos potenciais que tem sido interpretados como análogos dos potenciais mínimos de placa observados no músculo esquelético. Outra preparação que tem sido muito usada para estudo da electrofisiologia da junção neuromuscular no músculo liso, é o músculo da camada longitudinal do cólon do coelho. É possível estudar nessa preparação os efeitos da estimulação parassimpática e simpática. A estimulação do parassimpático, a qual provoca a libertação da acetilcolina leva ao aparecimento de potenciais excitatórios de junção. Com frequência adequada estes potenciais somam-se e a despolarização é suficiente para atingir

o limiar de excitação da fibra muscular, surgindo então um potencial de acção. O estudo dos potenciais excitatórios de junção é mais complicado nesta preparação do que na do canal deferente, já que por um lado, o intestino apresenta actividade eléctrica espontânea, e por outro, os movimentos a que esta actividade dá origem provocam deslocamento dos microeléctrodos, o que torna difícil mantê-los durante muito tempo no interior da célula em estudo. Esta preparação permite, porém, estudar o efeito dos nervos inibitórios sobre o músculo liso. A distensão de um músculo liso visceral, provoca a diminuição do seu potencial transmembranar, o qual se aproxima do limiar de excitação. Nesta condição, a frequência de potenciais de acção aumenta, e se a distensão for adequada, torna-se contínua. A estimulação, então, das fibras simpáticas que inervam o músculo, provoca a hiperpolarização da membrana celular e o desaparecimento da descarga contínua de potenciais de acção provocada pela distensão prévia. Esta hiperpolarização é impedida, por bloqueadores adrenérgicos. Foi ainda esta preparação que permitiu observar potenciais inibitórios de junção. Os nervos intramurais, os que existem entre as camadas musculares, quando activados com pulsos de corrente de curta duração (inferior a 1 ms), provocam o aparecimento de hiperpolarizações localizadas, as quais se somam para produzirem hiperpolarização e desaparecimento de potenciais de acção. Estes potenciais inibitórios não são impedidos pelo bloqueio adrenérgico e consideram-se actualmente mediados por nervos purinérgicos.

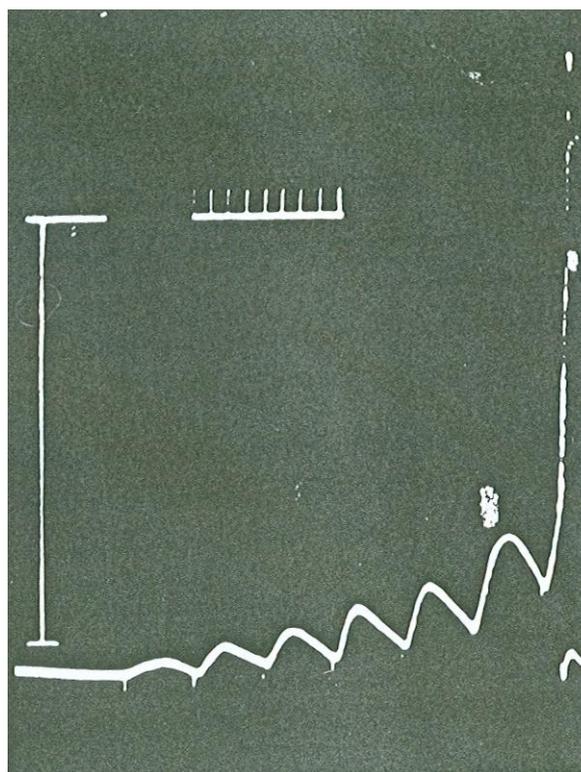


FIGURA V

Efeito da estimulação repetitiva do nervo hipogástrico sobre o potencial transmembrana de uma fibra muscular lisa isolada do canal deferente de cobraia (segundo Burnstock e Holman).

SUMMARY

The main aspects of the electrophysiology of skeletal muscle are reviewed as well as the ionic basis of resting and action potentials. Bozler's classification of smooth muscle as unitary or multi-unitary is referred. The electrophysiological aspects of the two groups are reviewed in separate: first, the ionic basis of resting potential, slow waves, prepotential and spikes in unitary muscles; then, the ionic basis of resting and action potentials in arterial smooth muscle. Neuroeffector junctions in smooth muscle are briefly reviewed.

BIBLIOGRAFIA

1. SCHMIDT, RF e THEWS, G - Human Physiology. Ed. Springer Verlag 1983
2. HILLE, B - Ionic basis of resting and action potentials. Handbook of Physiology. Sec. I, pg. 99, 1977
3. HODGKIN, AL e HOROWICZ, P - The effect of sudden changes in ionic concentrations on the membrane potential of single muscle fibres - J. Physiol. 153: 370, 1960
4. BOZLER, E - Action potentials and conduction of excitation in muscle. - Biol. Symp. 3, 95, 1941 - cit. em Medical Physiology, Mountcastle, pg. 123, 1980
5. BOZLER, E. Conduction, automaticity and tonus of visceral smooth muscle *Experientia*, 4: 213, 1948
6. PROSSFR, CL - Smooth muscle - *Ann. Rev. Physiol.* 36; 503, 1974
7. MOUNTCASTLE, Medical Physiology. Cap. 4 , 1980
8. TOMITA, T - Electrophysiology of mammalian smooth muscle - *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 30; 185, 1975
9. GUYTON, A - *Fisiologia Médica*. Cap. 12, 1981
10. INOMATE, H e KAO, CY - Ionic currents in the guinea-pig taenia coli - *J. Physiol.* 255, 347, 1976
11. SOMLYO, AP e SOMLYO, AV - Vascular smooth muscle. II Pharmacology of normal and hypertensive vessels - *Pharmacol. Rev.* 22; 249, 1970
12. MEKATA, F - Current spread in the smooth muscle of the rabbit aorta - *J. Physiol.* 242, 143, 1974
13. DROOGMANS, G; RAEYMAEKERS, L e CASTELS, R - Electro and pharmacomechanical coupling in the smooth muscle cells of the rabbit ear artery - *J. Gen. Physiol.* 70; 129, 1977
14. CASTEELS, R e DROOGMANS, G - The role of calcium in contraction of vascular smooth muscle. In: Calcium channel blocking agents in the treatment of cardiovascular disorders. Ed. Stone e Antman, 1983
15. BEVAN, JA e WATERSON, JB - Biphasic constrictor response of the rabbit ear artery - *Circ. Res.* 28; 655, 1971
16. BURNSTOCK, G e HOLMAN, ME - The transmission of excitation from autonomic nerve to smooth muscle - *J. Physiol.* 155; 115, 1961
17. GILLESPIE, JS - The electrical and mechanical responses of intestinal muscle cells to stimulation of their extrinsic parasympathetic nerves - *J. Physiol.* 162; 76, 1962

