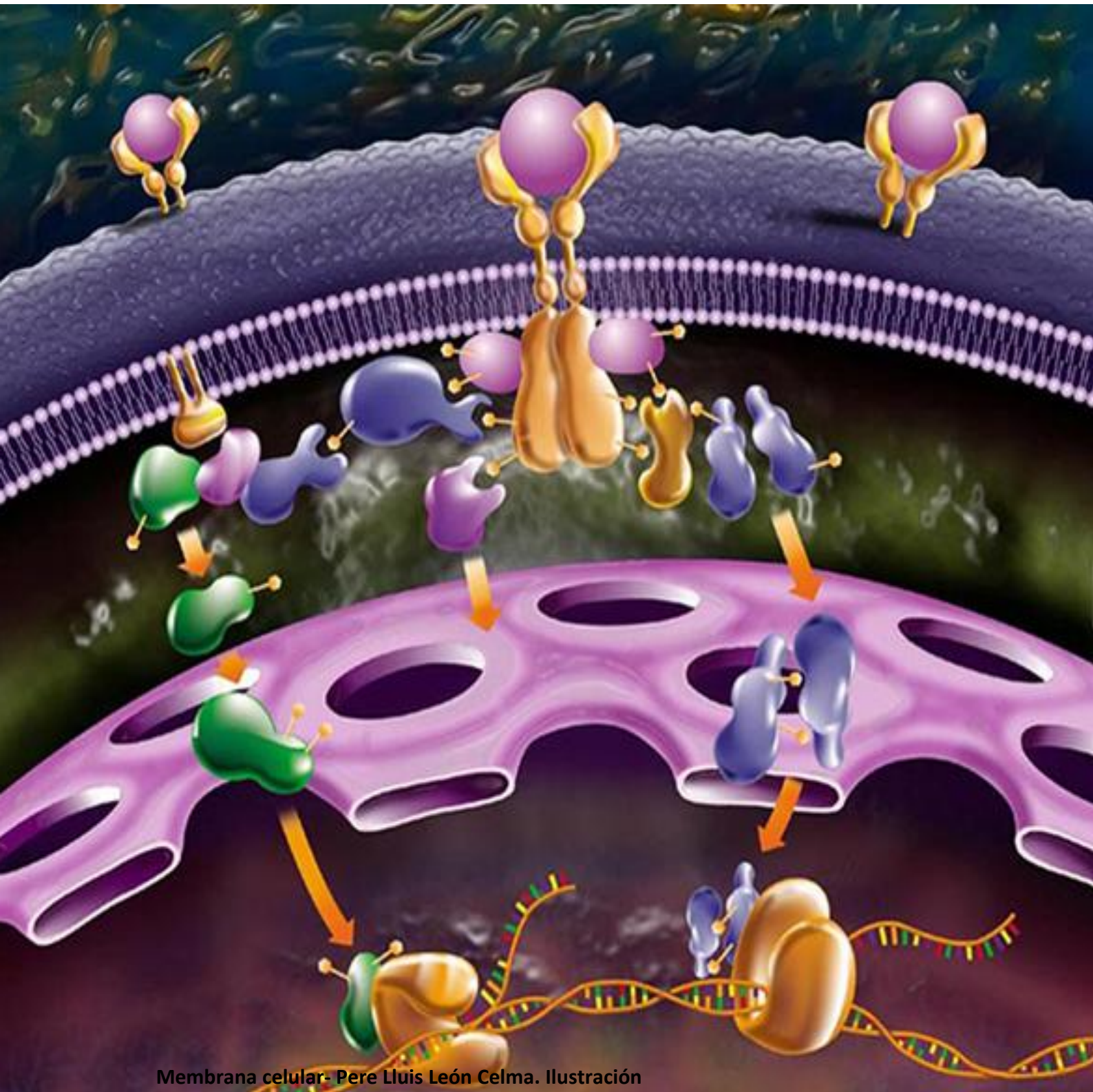


UNIDAD I

MEMBRANA PLASMÁTICA. Composición, estructura y función. Mecanismos de transporte: activo y pasivo. Potencial de membrana. Membranas eléctricamente activas. Potencial de acción y potencial graduado. Mecanismo de la contracción muscular.



Membrana celular- Pere Lluís León Celma. Ilustración

1. CARACTERISTICAS- FUNCIONES

Las membranas biológicas se presentan en la superficie de todas las células, así como en el interior de las células eucariotas.

Sus funciones son muy importantes, difundidas y variadas. La función más obvia es la **compartimentación**; las membranas forman compartimentos cerrados, el más grande es el citosol, encerrado por la membrana celular. Los orgánulos forman compartimentos intracelulares, más pequeños, que son separados del citosol por sus propias membranas.

Las membranas actúan como **barreras** para la difusión libre de solutos, lo que ayuda a regular el movimiento neto y, por tanto, la concentración de sustancias en los distintos compartimentos celulares y subcelulares.

La existencia de gradientes de concentración a través de las membranas implica que éstas participan activamente en la traslocación de sustancias entre compartimentos. La membrana también **regula la concentración** citosólica de iones disueltos y de otras moléculas para la realización de actividades metabólicas.

Otras funciones incluyen la **recepción de mensajeros químicos** extracelulares mediante moléculas receptoras superficiales que, a su vez, activan proteínas reguladoras en la membrana.

Hay moléculas de la membrana que tienen **actividad enzimática**, como la conversión de ATP en AMPc, fosforilación de ADP a ATP, oxidación del ácido succínico, transporte de e-, fosforilación respiratoria, etc. El ensamblaje enzimático de productos de secreción en las membranas del Aparato de Golgi; la **transducción de estímulos** ambientales en señales eléctricas; la **liberación de sustancias transmisoras sinápticas**; la pinocitosis; etc.

FUNCIONES

Compartimentación

Regulación de la concentración

Recepción de mensajeros químicos

Liberación de sustancias transmisoras

Actividad enzimática

Barrera de libre difusión

Transducción de estímulos

Conducción de impulsos nerviosos

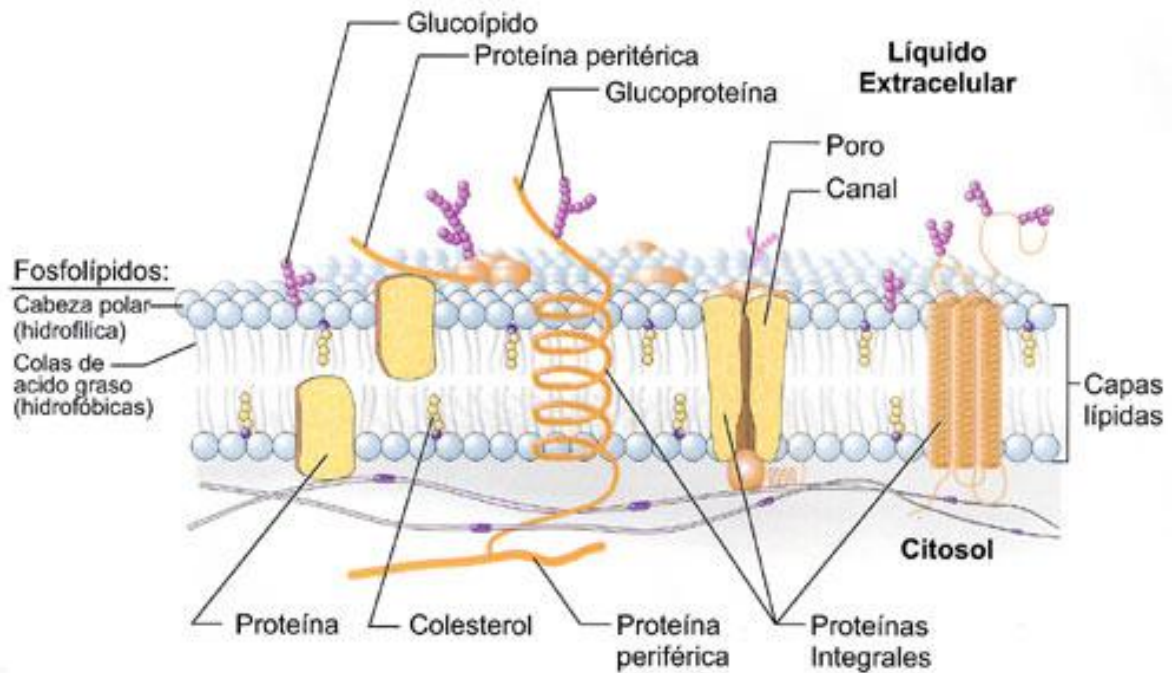


Fig. 1: Modelo de Membrana plasmática.

2. COMPOSICION

La membrana biológica consiste mayoritariamente en **lípidos** y **proteínas**. La cantidades relativas de unos y otros varían enormemente según los orgánulos de que se trate (*Tabla 1*).

Los lípidos de la membrana, por ser moléculas más pequeñas y sencillas que las proteínas, son los más conocidos. Se dividen en tres clases principales: los fosfolípidos cuentan con **fosfoglicéridos**, que se caracterizan por un esqueleto de glicerina (fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina) y **esfingolípidos**, que tienen un esqueleto con bases de esfingosina (esfingomiolina) y los **esteroles**.

Estas moléculas son anfipáticas, característica muy importante para la organización de las membranas biológicas. Las cabezas polares son hidrofílicas y las colas apolares, al ser hidrofóbicas, se atraen mutuamente por fuerzas de Van der Waals, permitiendo formar una bicapa de fosfolípidos. Estas bicapas son ideales para formar una interfase entre un medio lipídico, no acuoso, en el interior de la membrana y las fases acuosas extra e intracelulares. En consecuencia forman bicapas espontáneamente, constituyendo base de los modelos de estructura de membrana.

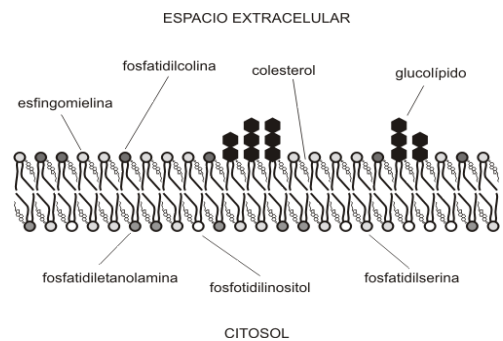


Fig. 2: Bicapa lipídica.

Tabla 1

Porcentaje de diferentes tipos de lípidos

Membrana	Fosfolípidos	Glucolípidos	Esteroles
<i>Animal</i>			
Plasmática	50-60	5-17	15-22
Mitocondrial interna	80-90	<5	<5
Mitocondrial externa	80-90	<5	5-8
Lisosomas	70-80	5-10	10-15
Retículo endoplásmico	70-80	<5	5-10
Núcleo	85-90	<5	10-15
Golgi	85-90	<5	5-10
Peroxisomas	90-95	<5	<5
Mielina	50-60	15-25	20-25
Eritrocito	70-80	5-10	20-25
<i>Vegetal</i>			
Plasmática	30-65	10-20	25-50
Mitocondria	90-95	<5	<5
Cloroplasto (envoltura)	20-30	65-80	<5
Cloroplasto (tilacoide)	35-45	50-70	<5
Retículo endoplásmico	70-80	5-15	10-20
<i>Bacterias</i>			
Plasmática	50-90	10-50	0

Los fosfolípidos tienen 2 ácidos grasos unidos a 1 molécula de glicerol. El 3^{er} grupo (OH) se esterifica a un ácido fosfórico. Este fosfato está unido también a una molécula de alcohol (azúcar) como *inositol*, o amino, como *colina*, *etanolamina*, *serina*.

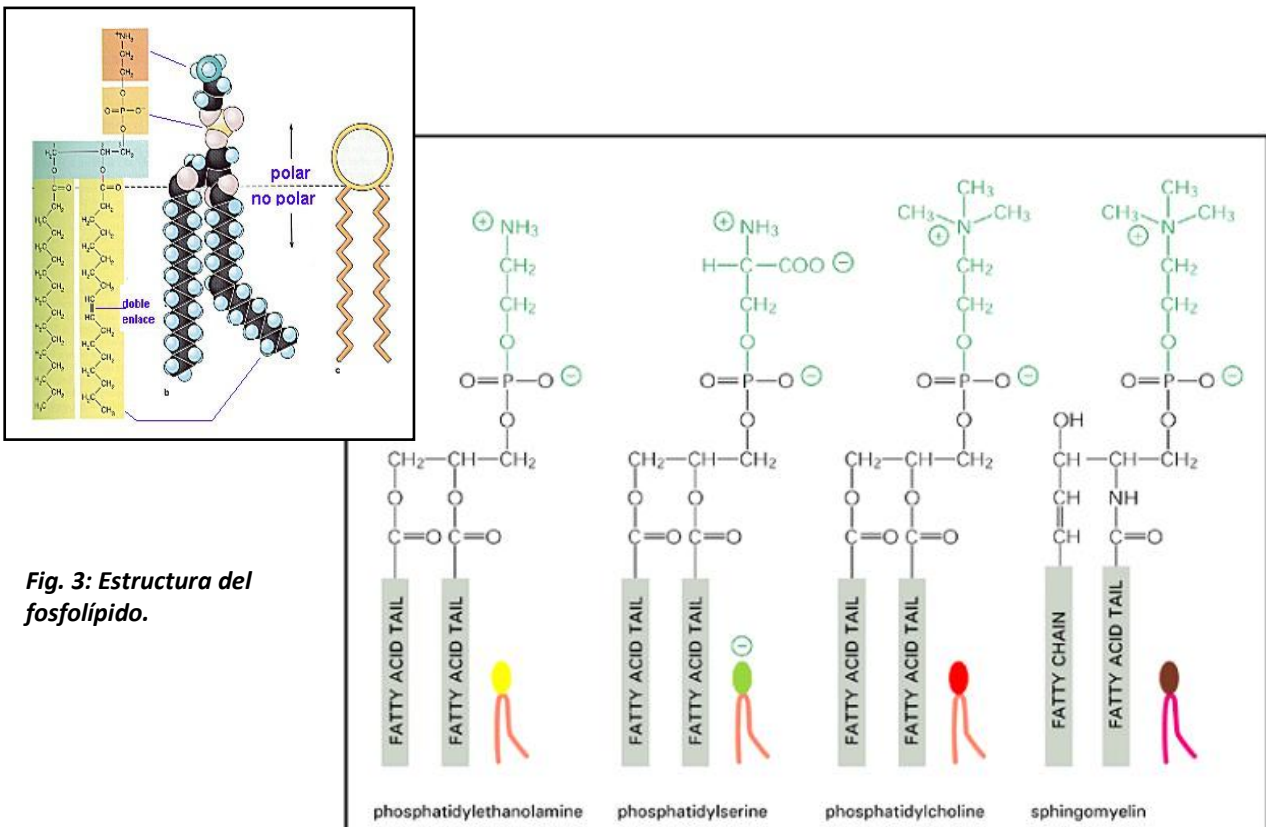


Fig. 3: Estructura del fosfolípido.

Los *esteroles*, son moléculas que derivan del compuesto llamado Ciclopentano-perhidrofenentreno. Son principalmente apolares y solo ligeramente solubles en agua. En soluciones acuosas forman complejos con proteínas, haciéndose más solubles. En las membranas se acomodan entre las colas de los fosfolípidos y esfingolípidos, regulando la fluidez del núcleo de hidrocarburo.

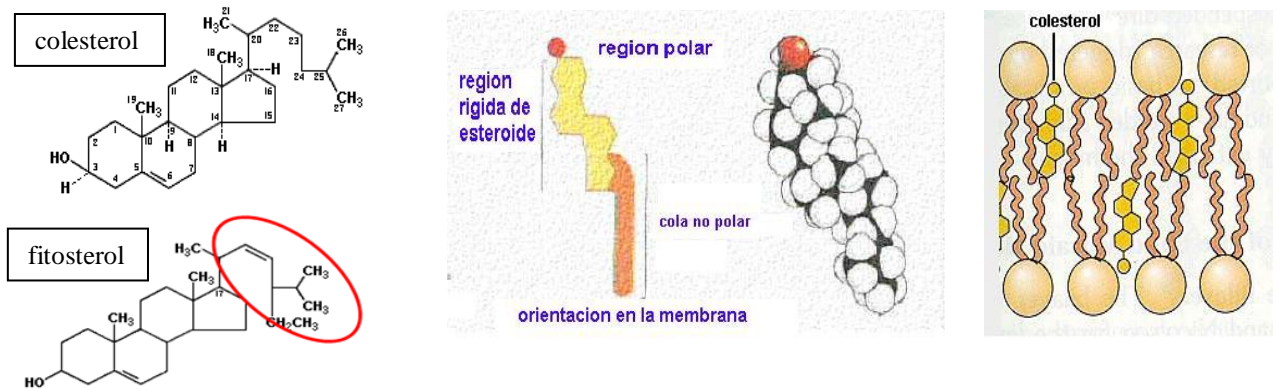


Fig. 4: Estructura del Colesterol.

Los lípidos de la membrana son importantes para la actividad de alguna molécula enzimática unida a la membrana. Por ej. los sistemas enzimáticos altamente organizados de las membranas mitocondriales se inactivan cuando se extraen y aíslan de los lípidos de membrana. Lo mismo sucede con ciertas enzimas de transporte si se las priva de lípidos específicos.

Se cree que las propiedades hidrofóbicas de las colas de hidrocarburos son las responsables de la baja permeabilidad de las membranas a las sustancias polares (ej. Iones inorgánicos, no electrolitos polares -sacarosa, inulina-). La fluidez de la membrana es una propiedad de los lípidos. Normalmente son fluidos a temperatura corporal, pero hay que considerar el largo y el grado de saturación de las cadenas carbonadas. Los ácidos grasos de cadenas cortas o no saturados (con enlaces dobles o triples) tienen un punto de fusión inferior al de los ácidos grasos de cadenas largas o saturadas. En comparación con las cadenas largas, las cortas tienen menos superficie para formar interacciones de Van der Waals entre sí. Dado que el estado de gel se estabiliza mediante estas interacciones, los lípidos de cadena corta se fusionan a temperaturas más bajas que los lípidos de cadena larga. De modo similar las angulaciones de las cadenas de ácidos grasos insaturados producen interacciones de Van der Waals menos estables con otros lípidos que las cadenas saturadas. En consecuencia los lípidos de cadenas cortas o insaturadas mantienen un estado fluido aleatorio a T° inferiores que los lípidos con cadenas de ácidos grasos largas o saturadas.

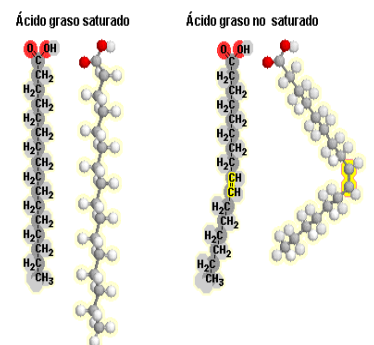
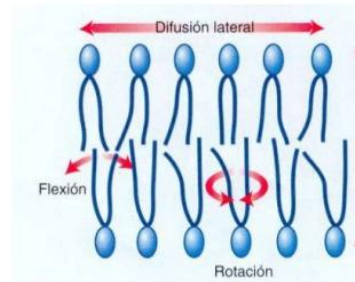


Fig. 5: Ácidos grasos saturados e insaturados.

Las células animales y vegetales se adaptan a una disminución de la temperatura de crecimiento de la célula a través de un aumento de la proporción de ácidos grasos insaturados respecto a saturados en la membrana, que tiende a mantener la fluidez de la bicapa a menor temperatura, por debajo de la temperatura fisiológica. Los organismos cuya

temperatura fluctúa con la del ambiente alteran la composición de los ácidos grasos de sus membranas para mantener una fluidez relativamente constante *-Adaptación homeoviscosa-*.

Las moléculas lipídicas intercambian fácilmente su lugar con el de las moléculas vecinas, dentro de una monocapa. Esto da lugar a una rápida ***difusión lateral***, con un coeficiente de difusión $D \sim 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{seg}^{-1}$, lo cual significa que una molécula lipídica promedio difunde la longitud de una célula bacteriana ($\sim 2 \mu\text{m}$) en 1 seg. Los estudios también indican que las moléculas giran con gran rapidez alrededor de su eje longitudinal ***-Difusión de***



rotación-. Además, los lípidos de una monocapa pueden saltar a la otra monocapa, en un fenómeno denominado ***flip-flop***.

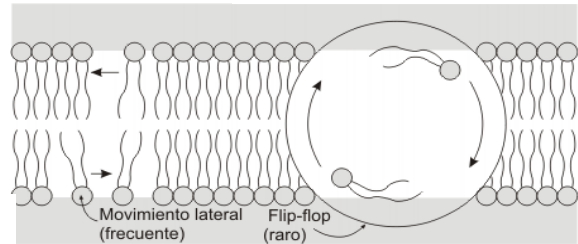


Fig. 6: Movilidad de los lípidos.

El colesterol es otro determinante de la fluidez de la bicapa. Es demasiado hidrófobo para formar una estructura laminar por sí solo, pero se intercala entre los fosfolípidos. Su grupo **-OH-** polar, está en contacto con la solución acuosa, cerca de las cabezas polares de los fosfolípidos. El anillo esteroide interactúa con las cadenas de ácidos grasos y tiende a inmovilizarlos. El efecto del colesterol sobre la fluidez de la bicapa varía con la composición lipídica.

El colesterol, en las concentraciones en que se presenta, ejerce el efecto de impedir que las cadenas carbonadas de los fosfolípidos se junten y cristalicen, frente a un descenso de la temperatura. Este fenómeno de mantenimiento de la estabilidad mecánica de las membranas queda en evidencia en las líneas celulares mutantes, de animales, que son incapaces de sintetizar colesterol. Estas células se lisan rápidamente, a menos que se añada colesterol al medio.

En las membranas plasmáticas que han sido analizadas, la composición lipídica de las dos mitades de la bicapa es marcadamente diferente. La asimetría se da tanto para los grupos de cabeza como para la distribución de las colas hidrocarbonadas, lo que se traduce en una asimetría de cargas entre las dos monocapas, presentando un predominio de cargas (-) en la mitad interior. Esta asimetría lipídica ha de tener alguna función, por ej. es posible que ayude a mantener las proteínas de membrana orientadas adecuadamente.

Las moléculas lipídicas que presentan la asimetría más marcada y constante pertenecen al grupo de los ***glucolípidos***, lípidos unidos a un oligosacárido. Estas moléculas se hallan solamente en la mitad exterior de la bicapa y sus grupos azúcar quedan al descubierto en la superficie de la célula, constituyendo aproximadamente un 5% de la monocapa exterior. Están ausentes en las membranas mitocondriales internas y en las laminillas de los cloroplastos. Varían considerablemente de una a otra especie, e incluso en distintos tejidos de una misma especie.

El otro componente principal de las membranas son las **proteínas**, de pueden ser **integrales**, cuando están integradas en la bicapa lipídica, penetrándola por completo; o **periféricas** cuando se hallan encaramadas hacia un lado y otro de la membrana y difieren marcadamente entre sí. Normalmente no atraviesan la membrana.

Las proteínas integrales son anfipáticas, con sus porciones apolares enterradas en el núcleo de hidrocarburo y sus porciones polares haciendo protrusión desde el núcleo para formar una superficie hidrofílica, con los grupos laterales cargados de los aminoácidos, en la fase acuosa. Los grupos laterales hidrofóbicos se asocian a la bicapa de hidrocarburos impidiendo que las proteínas integrales abandonen la bicapa lipídica. Las proteínas de membrana son fundamentalmente enzimas, como flavoproteínas, citocromos, ATPasas, etc.

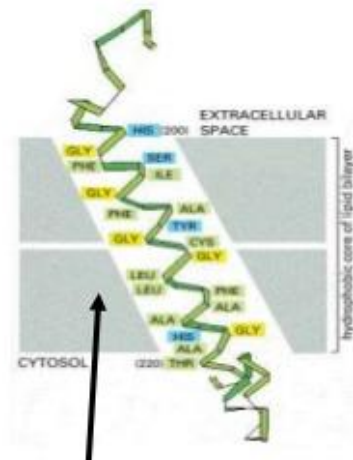


Fig. 7: Segmento hidrofóbico de una proteína integral.

Las proteínas también aportan fluidez a la membrana ya que pueden girar alrededor de un eje perpendicular al plano de la bicapa **-Difusión de rotación-** y pueden desplazarse lateralmente en la monocapa **-Difusión lateral-**, pero no pueden moverse a través de la bicapa **-flip-flop-**. Las mediciones de velocidad de difusión para las proteínas han dado una gama notablemente amplia de valores, variando el coeficiente de difusión **D** entre $5 \cdot 10^{-9} \text{cm}^2 \cdot \text{seg}^{-1}$ y $10^{-12} \text{cm}^2 \cdot \text{seg}^{-1}$. También se sabe que muchas proteínas de membrana tienen una movilidad lateral restringida (en células epiteliales que revisten cavidades corporales), determinadas enzimas de transporte y proteínas de membrana están confinadas en su sitio debido a barreras establecidas por un tipo especializado de unión celular **-Unión hermética-**.

Tabla 2

Relación proteína/lípido en diferentes membranas

<i>Tipo de membrana</i>	<i>Proteína/lípido</i>
<i>Animal</i>	
Mielina	0,25
Plasmática hígado	1,5
RER hígado	2,5
REL hígado	2,1
Mitocondrial interna hígado	3,6
Mitocondrial externa hígado	1,2
Golgi hígado	2,4
Núcleo hígado	2,0
Bastón retinal	1,0
<i>Vegetal</i>	
Plasmática	0,9
Cloroplasto	1,9
<i>Procariotas</i>	
<i>Bacillus</i>	2,8
<i>Staphylococcus</i>	2,4
<i>Escherichia coli</i>	2,8

Todas las células eucariotas tienen **hidratos de carbono** en su superficie, constituyendo el **-Glucocalix-** y la mayor parte de ellos se halla en forma de cadenas laterales de oligosacáridos unidas covalentemente a las glucoproteínas o los glucolípidos (en menor grado). La mayoría de las proteínas que se hallan expuestas en la superficie celular contienen residuos de azúcar, mientras que solo 1 de cada 10 lípidos de la monocapa externa presenta hidratos de carbono. Además, mientras que una glucoproteína puede presentar numerosas cadenas laterales de oligosacáridos, cada molécula de glucolípido tiene solo una. La proporción de hidratos de carbono en las membranas plasmáticas oscila entre 2 – 10 % del peso de la membrana.

Los hidratos de carbono se disponen en el espacio extracelular e interactúan con componentes de la matriz extracelular, como anticuerpos, factores de crecimiento. Por ej. los antígenos del grupo sanguíneo; A, B, 0 son cadenas de oligosacáridos unidas a glucolípidos o glucoproteínas de la membrana plasmática del eritrocito. Todas las personas producimos el antígeno 0, algunas personas tienen enzimas para añadir una galactosa extra al antígeno 0 y se forma el antígeno B. Otras personas tienen enzimas que adicionan un grupo N-acetil galactosamina -Gal-N-Ac- al antígeno 0 y se forma el antígeno A.

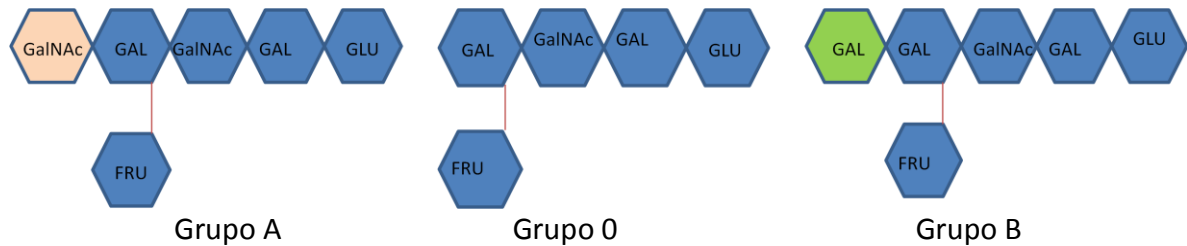


Fig. 8: Antígenos de la membrana del eritrocito

En bacterias y plantas casi todos los glucolípidos derivan del glicerol, mientras que en las células animales derivan casi siempre de la esfingosina (amino-alcohol). Estos glucolípidos tienen una estructura general similar a la de los fosfolípidos y se distinguen por el hecho de que el grupo de cabeza polar consiste en uno o más residuos de azúcar. Uno de los glucolípidos más sencillo es el galactocerebrósido que tan solo tiene galactosa como grupo polar y es el glucolípido principal (40%) de la mielina, en las células nerviosas. Un glucolípido más complejo es el grupo de los gangliosidos, son abundantes en las membranas plasmáticas de las neuronas (6%).

La función de las cadenas laterales de oligosacáridos es muy variada. i) Los azúcares de ciertas glucoproteínas transmembrana ayudan a anclar y orientar las proteínas de la membrana impidiendo que se deslicen. ii) También desempeñan un papel en la estabilización de la estructura plegada de una glucoproteína. iii) Protegen la superficie de la célula de posibles lesiones. iv) Le confieren viscosidad a la superficie celular permitiendo el deslizamiento de las células en movimiento. v) La complejidad de algunos oligosacáridos, así como su posición al descubierto sobre la superficie celular tienen un importante desempeño en los complicados procesos de reconocimiento célula-célula. vi) Participa en el reconocimiento y fijación de determinadas sustancias que la célula debe incorporar por endocitosis. vii) Los gametos de una misma especie presentan especificidad de reconocimiento gracias a los oligosacáridos de membrana, es especialmente importante entre los animales acuáticos, en los cuales pueden mezclarse las gametas de diferentes

especies. viii) Los glúcidos de membrana son los responsables del rechazo de los injertos al comportarse como antígenos.

3. FACTORES FISICOS DE LA PERMEABILIDAD DE MEMBRANA

3.1. DIFUSION

Se refiere al movimiento térmico aleatorio de las moléculas disueltas o suspendidas, provocando su dispersión gradual desde las regiones de concentraciones elevadas hacia las de menor concentración. La dispersión es un proceso muy lento visto a gran escala, sin embargo para las dimensiones microscópicas de la célula, los tiempos de difusión son cortos y se llegan a medir en milésima de seg.

La **tasa de difusión** de un soluto s , puede definirse por la ecuación de Fick:

$$\frac{dQ_s}{dt} = D_s A \frac{dC_s}{dx}$$

donde:

$\frac{dQ_s}{dt}$ = es la tasa de difusión (cantidad de soluto s que difunde por unidad de tiempo)

D_s = coeficiente de difusión del soluto s , varía con la naturaleza y PM del soluto.

A = área de la sección por la que el soluto s difunde.

$\frac{dC_s}{dx}$ = es el gradiente de concentración de soluto s , es muy importante puesto que dx determinará la tasa a la que s difundirá a favor de su gradiente.

3.2. FLUJO DE MEMBRANA

Puede expresarse como la cantidad de soluto que penetra por un área de membrana por unidad de tiempo, en una dirección indicada. Es unidireccional. Si existe soluto a ambos lados de una membrana, el flujo en una dirección será considerado independientemente del flujo en la dirección opuesta. Si son iguales, el flujo neto será 0 (cero).

$$J = \frac{dQ_s}{dt}$$

La **permeabilidad** de la membrana para una sustancia hace referencia a la tasa a la que la sustancia penetra la membrana pasivamente, bajo un conjunto dado de condiciones.

Si se asume que la membrana es una barrera homogénea y que para una sustancia no electrolítica existe un gradiente continuo de concentración entre el lado de mayor concentración y el de menor concentración.

$$\frac{dQ_s}{dt} = P (C_I - C_{II})$$

Se expresa como una modificación de la Ley de Fick, donde:

dQ_s = es la cantidad de soluto s que atraviesa un área de membrana, por unidad de tiempo, dt en la dirección considerada.

$C_I - C_{II}$ = son las respectivas concentraciones de soluto s a los dos lados de la membrana.

P = constante de Permeabilidad del soluto s , con dimensiones de velocidad.

En esta fórmula se excluyen las sustancias transportadas activamente y los electrolitos (que también dependen del gradiente eléctrico). La constante de permeabilidad P incorpora todos los factores inherentes a la membrana y a la sustancia en cuestión.

$$P = \frac{Dm K}{X}$$

donde:

Dm = es el coeficiente de difusión de la sustancia en la membrana. Cuanto más viscosa sea la membrana o mayor la molécula, menor valor tendría.

K = coeficiente de partición de la sustancia: solubilidad relativa en aceite y en agua, en el equilibrio.

X = espesor de la membrana.

P para distintas membranas y sustancias, varía enormemente. La permeabilidad del eritrocito a los diferentes solutos oscila entre 10^{-12} y 10^{-2} cm.seg⁻¹. Además la permeabilidad de muchas membranas para sustancias determinadas puede alterarse mucho con hormonas y otras moléculas que reaccionan con centros receptores sobre la membrana.

3.3. OSMOSIS

Es el movimiento de agua a través de una membrana semipermeable, a favor de su gradiente de concentración.

Dada la situación **A**, los solutos disueltos en el compartimento **A-II** ejercen una presión sobre el agua, que hace que esta difunda de **A-I** a **A-II**. Este fenómeno produce un gradiente de presión hidrostática en el compartimento **B-II** debido al aumento en el nivel de la solución **B-II**. Cuando la presión hidrostática en este compartimento es suficiente como para forzar a las moléculas de agua a retroceder del compartimento **B-II** al **B-I**, a la misma tasa a la que la ósmosis hace que las moléculas de agua difundan desde **I** a **II**, el flujo neto se hace 0 (cero).

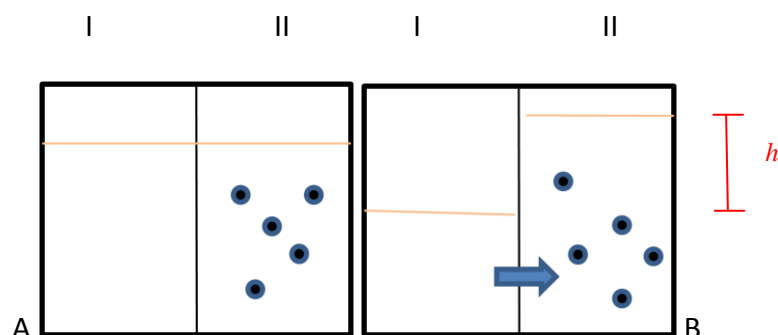


Fig. 9: Osmosis.

La presión hidrostática de retroceso requerida para cancelar la ósmosis, es equivalente a la Presión Osmótica.

La Presión Osmótica π es proporcional no sólo a la concentración de soluto C , sino también a la T° absoluta. Se ha demostrado que las moléculas de soluto en solución se comportan termodinámicamente como las moléculas de gas.

$$P \cdot V = n \cdot R \cdot T \Rightarrow P = \frac{n \cdot R \cdot T}{V} = C \cdot R \cdot T = \pi$$

Donde:

n = número de equivalentes molares de soluto

R = cte. molar de los gases: 0,082 L. atm/°K.mol

V = volumen en litros

3.4. OSMOLARIDAD

Todas las soluciones con el mismo número de partículas disueltas por unidad de volumen tienen la misma osmolaridad y se definen como isoosmóticas.

Se dice que dos soluciones son isoosmóticas si ejercen la misma presión osmótica a través de una membrana, solo permeable al agua. La solución pasa a ser hipoosmótica si ejerce menor presión osmótica respecto a otra solución. Si la presión osmótica es mayor, se dice que la solución es hiperosmótica.

Solución

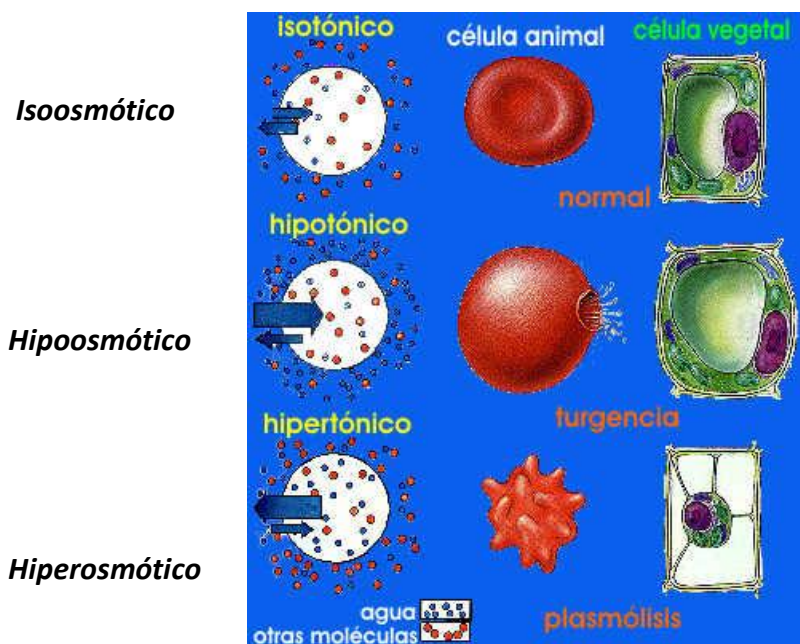


Fig. 10: Relaciones osmóticas.

La tonicidad se define en función de la respuesta de los tejidos inmersos en una solución. Se considera que una solución es isotónica para un tejido si este no se arruga ni se hincha. Si el tejido se hincha, se dice que la solución es hipotónica y si se arruga, la solución es hipertónica.

Ej.: Los huevos de erizo de mar se mantienen isotónicos en una solución de NaCl, que es isoosmótica con el agua de mar. Pero se hinchan en una solución de Ca_2Cl que es isoosmótica respecto al agua de mar. La solución de NaCl actúa isotónicamente respecto al tejido, mientras que la solución de Ca_2Cl se comporta hipotónicamente para el tejido. La tonicidad de la solución depende de la tasa de acumulación intracelular del soluto en los tejidos, así como de la concentración de la solución. Cuanto más fácilmente se acumula el soluto en la célula, más rápidamente entra el agua siguiendo principios osmóticos, haciendo que esta se hinche y por lo tanto menor será la tonicidad de la solución.

4. INFLUENCIAS ELECTRICAS SOBRE LA DISTRIBUCION IONICA

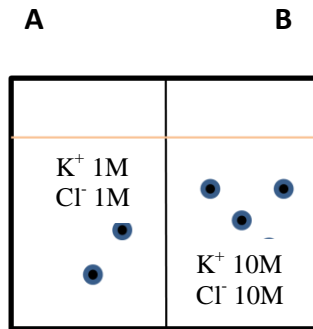
Si una molécula es portadora de cargas eléctricas *-ion-*, su flujo neto a través de la membrana estará determinado no solo por la permeabilidad de la misma al ion y el gradiente de concentración del ion, sino también por la diferencia de potencial eléctrico entre ambos lados de la membrana.

Los potenciales electroquímicos son responsables directos de casi todos los fenómenos eléctricos que tienen lugar en el cuerpo del animal. Estos potenciales se originan a partir de dos características que poseen las células; 1) la distribución asimétrica de iones dentro y fuera de la célula y 2) la permeabilidad selectiva de los canales iónicos.

El equilibrio electroquímico de un ion se establece cuando se logra el equilibrio entre el gradiente de concentración iónica y la diferencia de potencial eléctrico.

La difusión pasiva de un ion tendrá lugar en contra de su gradiente químico si el gradiente eléctrico a través de la membrana tiene una dirección opuesta y excede el gradiente de concentración.

Ej., si tenemos 2 compartimentos separados por una membrana permeable solo a un ion de los que componen la solución de KCl: el K^+ y la concentración de este en ambos compartimentos es diferente, se producirá una difusión neta de K^+ del compartimento más concentrado -B- al menos concentrado -A-, originando un aumento de cargas eléctricas (+) en -A-, por lo tanto una diferencia de potencial eléctrico entre ambos compartimentos. Conforme pasa el K^+ de -B- hacia -A- crece el potencial (+) en -A-, lo que va dificultando el paso del resto de K^+ por repulsión electrostática. Así se desarrollan 2 fuerzas sobre cada ion K^+ que atraviesa la membrana: 1- una diferencia de potencial químico que favorece el flujo neto de K^+ de -B- a -A- y 2- una diferencia de potencial eléctrico que favorece el flujo neto de K^+ de -A- a -B-. Cuando ambas fuerzas logran balancearse se dice que el ion K^+ logra su **Equilibrio electroquímico -E-**



Un mayor gradiente químico a través de la membrana requiere una mayor diferencia de potencial eléctrico a través de la misma, para eliminar la mayor tendencia de estos iones a difundir a favor de su gradiente de concentración. Así, **Walter Nernst** dedujo que el *Potencial de equilibrio* es proporcional al log. de la relación de concentraciones en los dos compartimentos.

Ecuación de Nernst

$$E_x = \frac{R \cdot T}{F \cdot z} \ln \frac{[X]_I}{[X]_{II}}$$

Donde:

E_x = es el potencial de equilibrio para un ion (voltios)

R = cte. general de los gases

T = temperatura absoluta (°K)

F = cte. de Faraday (96500 coul.mol⁻¹)

z = valencia del ion x

$[X]_I$ y $[X]_{II}$ = concentraciones del ion x a ambos lados de la membrana. Por convención el compartimento exterior de la célula se coloca en el numerador.

E_x será (+) si x es un catión y si la relación entre $[X]_I$ y $[X]_{II}$ es > 1. Con esta misma relación E_x será (-) si x es un anión, debido a que z será (-).

De la ecuación de Nernst, Goldman dedujo una ecuación en la cual se considera cada especie iónica que influye en el potencial de membrana.

Potencial de membrana

$$V_m = \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{P_K [K]_I + P_{Na} [Na]_I + P_{Cl} [Cl]_I}{P_K [K]_{II} + P_{Na} [Na]_{II} + P_{Cl} [Cl]_{II}}$$

Donde:

P = es la permeabilidad de la membrana al ion x .

La **Fuerza electromotriz -Fem-** que actúa sobre una especie iónica **x**, que fluye a través de los canales de una membrana, se describe como la diferencia entre el *Potencial de membrana -Vm-* y el *Potencial de equilibrio del ion -Ex-*.

$$Fem = Vm - Ex$$

4.1. EQUILIBRIO DONNAN

Donnan fue un físico-químico que examinó la distribución de solutos difusibles, separados por una membrana totalmente permeable al agua, pero impermeable a alguna de las especies iónicas.

Si colocamos agua pura en dos compartimentos y disolvemos KCl en uno de ellos, la sal difundirá por la membrana hasta lograr el equilibrio en el sistema, o sea que las concentraciones de K^+ y Cl^- a ambos lados de la membrana serán iguales. El equilibrio Donnan se caracteriza por una distribución recíproca del anión y el catión, que cumpla neutralidad.

$$a) \quad [K^+]_I \cdot [Cl^-]_I = [K^+]_{II} \cdot [Cl^-]_{II} \quad \gg \quad \frac{[K^+]_I}{[K^+]_{II}} = \frac{[Cl^-]_{II}}{[Cl^-]_I}$$

El equilibrio Donnan debe cumplir las siguientes consideraciones físicas:

- 1) Debe existir electroneutralidad en ambos compartimentos. En cada uno de ellos el número total de cargas (+) debe igualar al número total de cargas (-).
- 2) Los iones difusibles K^+ y Cl^- cruzan la membrana estadísticamente emparejados, para mantener la neutralidad eléctrica.
- 3) En el equilibrio, la tasa de difusión del KCl en una dirección a través de la membrana debe igualar la tasa de difusión del KCl en la dirección opuesta. Por esto el producto $[K^+] \cdot [Cl^-]$ en un compartimento debe igualar el producto en otro compartimento.

Si se añade a la solución de un compartimento la sal potásica de un anión no difusible A^- , se producirá una redistribución del K^+ y del Cl^- hasta que se establezca un nuevo equilibrio. En este equilibrio el catión difusible K^+ está más concentrado en el compartimento en el que está confinado el anión no difusible A^- , mientras que el anión difusible Cl^- está menos concentrado en este compartimento.

$$b) \quad [K^+]_I \cdot [Cl^-]_I = [K^+]_{II} \cdot [Cl^- + A^-]_{II} \quad \gg \quad \frac{[K^+]_I \cdot [Cl^-]_I}{[Cl^-]_{II}} = \frac{[K^+]_{II} \cdot [Cl^- + A^-]_{II}}{[K^+]_I} \quad c)$$

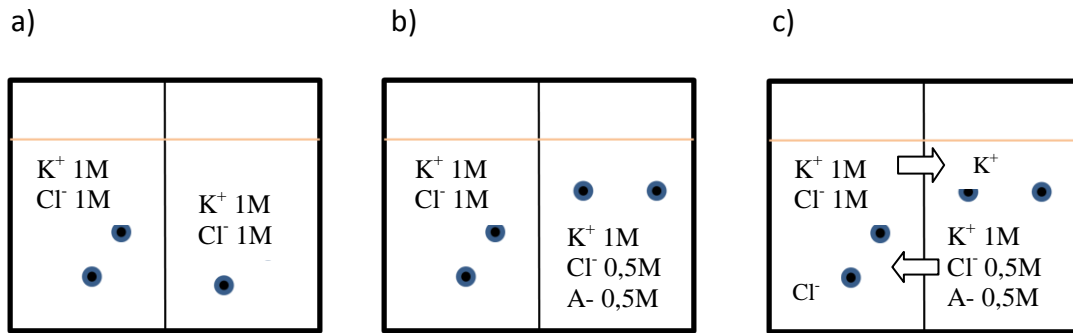


Fig. 11: Equilibrio Donnan

Al aumentar la concentración del ion no difusible A^- , la concentración de los iones difusibles se hace progresivamente divergente. El rasgo principal del equilibrio Donnan es la distribución desigual de los iones difusibles.

Una consecuencia importante del equilibrio Donnan es que el agua tenderá a moverse en la dirección del compartimento de osmolaridad superior, debido a la diferencia de distribución osmótica de las partículas de soluto en el equilibrio. Esta diferencia de presión osmótica, además de cualquier otro incremento de presión hidrostática en ese compartimento se denomina **Presión Oncótica** o **Coloidosmótica**.

5. MECANISMOS DE DIFUSION PASIVA

Son aquellos mecanismos que no consumen energía de la célula para que ocurra el transporte de los solutos.

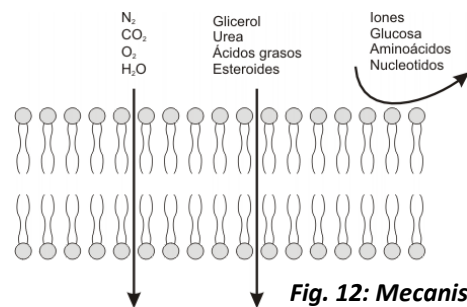


Fig. 12: Mecanismos de transporte pasivo

5.1. DIFUSION SIMPLE A TRAVES DE LA CAPA LIPIDICA

Para que esto ocurra la sustancia debe abandonar la fase acuosa de un lado de la membrana, ponerse en contacto con la fase lipídica y atravesarla, apareciendo finalmente de nuevo en la fase acuosa del otro lado. Para esto:

- 1) Debe romper todos sus enlaces de *Puente H* con el agua, lo que requiere energía cinética (5 kcal/enlace H). Así, aquellas moléculas con menor cantidad de enlaces H con el agua, entrarán con mayor facilidad por la bicapa lipídica.
- 2) Debe disolverse en la bicapa lipídica, ya que su solubilidad en los lípidos hará decisivo su paso a través de la membrana. Pero la propiedad que determina la difusión de un no-electrolito es el coeficiente de partición lípido/agua.

$$K = \frac{\text{conc. de soluto en la fase lipídica}}{\text{conc. de soluto en la fase acuosa}}$$

Actualmente se ha comprobado que la permeabilidad de una sustancia muestra una relación prácticamente lineal con su liposolubilidad. Factores como el PM y la forma de la molécula ejercen modificaciones sobre la movilidad en el interior de la membrana, pero no tanto como el coeficiente de partición $-K-$.

El agua, así como otras moléculas pequeñas, polares, no cargadas, como CO_2 , urea, etanol, tienen permeabilidad elevada a través de la capa lipídica. En el caso del agua, exhibe una permeabilidad mucho mayor de la que puede predecirse por su coeficiente de partición, pero esto se debe a que pasa a través de canales selectivos temporales,

La difusión simple posee una tasa de entrada proporcional al gradiente de concentración de soluto, esta proporcionalidad lo distingue de los mecanismos de transporte por canales o de transporte mediado por proteínas.

5.2. DIFUSION A TRAVES DE CANALES DE MEMBRANA

Las moléculas cargadas eléctricamente, como los iones inorgánicos Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Cl^- , son incapaces de penetrar la membrana por difusión simple a través de la bicapa lipídica. La permeabilidad de la membrana a estos iones polares, sugiere que éstas contienen canales específicos llenos de agua, por donde pueden difundir.

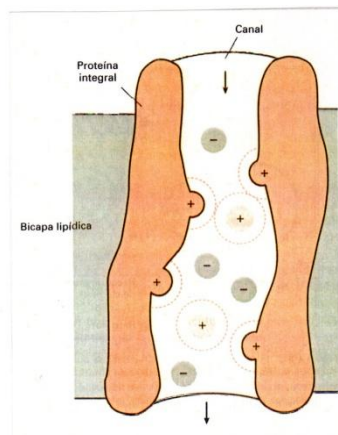


Fig. 13: Canal acuoso.

Estos canales acuosos son ofrecidos por proteínas de transporte que reciben el nombre de proteínas de canal y permiten que los solutos de un tamaño y carga apropiados atraviesen la capa por simple difusión. Este transporte se ve influido tanto por el gradiente de concentración como por el potencial eléctrico >> *Potencial electroquímico: Ex.*

Cada proteína distinta está destinada al transporte de una clase diferente de ion y con frecuencia, de una especie molecular específica. Los canales de membrana tienen, aparentemente un diámetro $< 1 \text{ nm}$ y reciben el nombre del ion que difunde: canales de Na^+ , canales de Ca^{+2} , canales de K^+ .

5.3. ACUAPORINAS

Hay proteínas de membrana que aumentan la permeabilidad de la célula al agua. Están formadas por un tetrámero de subunidades idénticas de 28 kDa, cada una de las cuales posee seis hélices α transmembrana que forman tres pares de homólogos. Se cree que el canal por el cual pasa el agua está formado por 8 hélices α transmembrana, dos de cada subunidad.

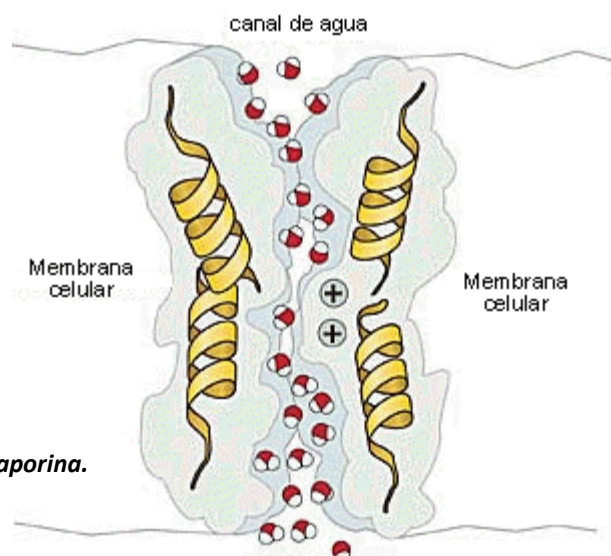


Fig. 14: Acuaporina.

En vertebrados encontramos seis canales de agua resultantes de duplicaciones génicas consecutivas: AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5 y AQP6. El número de acuaporinas se desconoce en invertebrados; hasta la fecha, se ha descrito sólo una AQP en tres especies de insectos. La acuaporina-8 se encuentra en todos los animales. El mayor número de acuaporinas se encuentra en el reino vegetal. La primera acuaporina que se aisló en plantas se denominó ALFA-TIP.

La mayoría de las células de nuestro cuerpo poseen acuaporinas. Las células principales del túbulo colector renal, por ejemplo, expresan AQP2, AQP3 y AQP4; los astrocitos y células gliales de determinadas zonas cerebrales, en cambio, expresan sólo AQP4; se han hallado indicios de la presencia de acuaporinas en las neuronas. Se desconoce la razón de tal diversidad. En coherencia con su función de canal hídrico, el ojo, el riñón, el pulmón, el tracto gastrointestinal o las glándulas secretoras, órganos que se caracterizan por un alto transporte de agua, presentan varias de estas proteínas. En el cerebro, en cambio, donde escasea el flujo de agua a través de la membrana celular (para minimizar las variaciones del medio extracelular que pudieran afectar a la función neuronal) hay una presencia y distribución limitadas de AQP. Con excepción de AQP2 y AQP6, las acuaporinas intervienen en la composición de la membrana celular. Tras su síntesis, AQP2 permanece como una proteína de membrana en vesículas intracelulares; sólo bajo la acción de la hormona antidiurética (arginina-vasopresina), las vesículas se fusionan con la cara apical de las células principales del túbulo colector renal; de ese modo las células exponen en la membrana la proteína responsable del aumento de la permeabilidad al agua en dicho túbulo.

5.4. TRANSPORTE FACILITADO

Algunos solutos presentan un comportamiento en el cual a pesar de un elevado aumento en la concentración del soluto de un lado de la membrana no se produce un aumento en la velocidad de transporte. Esta cinética de saturación indica que hay una limitante en el proceso de penetración. Por esto se propone la presencia de 1) una molécula transportadora -proteína de transporte-, de manera que la velocidad de penetración está limitada por la etapa de fijación del soluto al transportador y, 2) la velocidad de transporte mediado alcanzará un máximo cuando todas las moléculas de transportador estén ocupadas por el soluto.

Esta hipótesis postula la formación de un complejo *sustrato/transportador* similar al concepto de *enzima/sustrato*, o sea que el transportador y el soluto forman un complejo temporal basado en la especificidad del enlace. Es muy poco probable que este proceso implique oscilación y movimientos de las proteínas en la bicapa. Lo más probable es que sufran un cambio reversible de conformación al transferir al soluto.

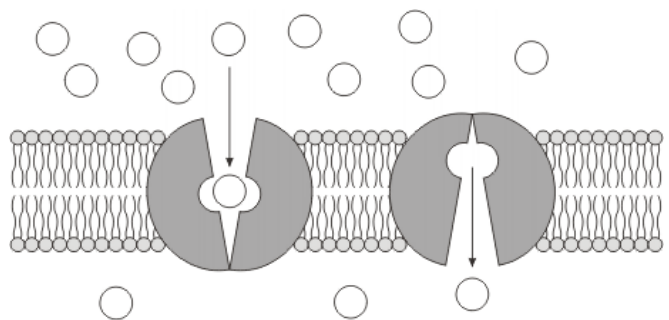


Fig. 15: Proteínas transportadoras.

Proteínas Transportadoras

- Son proteínas de membrana que transportan moléculas que no pueden difundir por la bicapa lipídica.
- Poseen sitios específicos de unión para el soluto transportado.
- Presentan una velocidad máxima de transporte (V_{max}), cuando todos los sitios de unión están ocupados.
- Cada proteína transportadora tiene una constante característica de unión al soluto (K_M), es la concentración del soluto cuando la velocidad de transporte es la mitad del valor máximo.
- El soluto no es modificado por la proteína transportadora, simplemente es llevado de un lado a otro de la membrana mediante un cambio conformacional, reversible, que expone alternativamente el sitio de unión al soluto a una y otra cara.
- La unión de la proteína al soluto puede ser bloqueada específicamente por inhibidores competitivos y no competitivos.

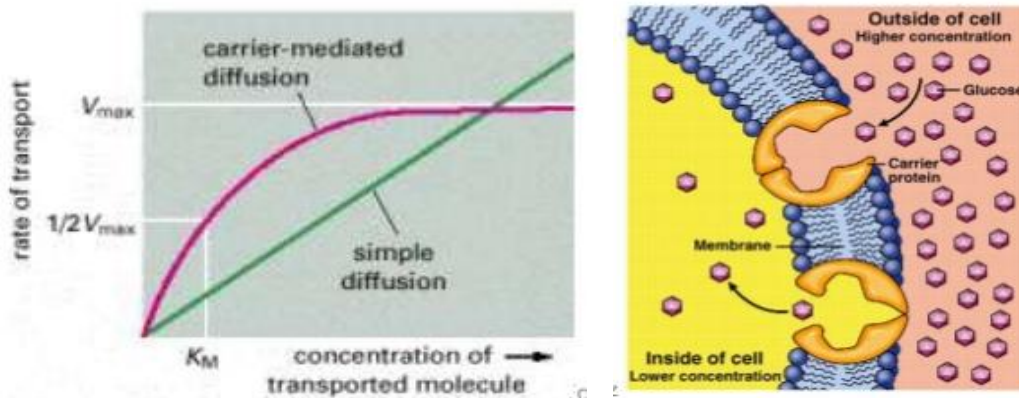


Fig. 16: Velocidad de transporte mediado por proteínas (izq) y comportamiento del transportador (der).

6. MECANISMOS DE DIFUSION ACTIVA

6.1. BOMBAS IONICAS

La mayoría de los solutos distribuidos a través de la membrana de una célula viva no están en equilibrio. Son los procesos activos los que mantienen las concentraciones transmembrana lejos del equilibrio, con un continuo consumo de energía química (ATP). Los mecanismos que transportan solutos activamente, en contra de un gradiente se denominan *Bombas*.

En la célula, los solutos intracelulares osmóticamente activos, consisten en moléculas e iones difusibles. La concentración de iones no difusibles es mayor en el interior de la célula que fuera de ella. Así, la célula se enfrenta al problema del hinchamiento osmótico por entrada de agua e iones difusibles.

Hay dos modos de evitar esto, 1) bombeando agua hacia afuera, tan de prisa como entra o 2) regulando la extrusión activa de solutos que entran en la célula. Así, por ej. El Na^+

(principal constituyente extracelular) tiende a entrar pasivamente, por gradiente de potencial electroquímico, pero es expulsado activamente de la célula, impidiendo el posterior flujo osmótico de entrada de agua.

Además de cumplir con las propiedades mencionadas para las *Proteínas Transportadoras*, pueden reconocerse varios rasgos característicos del transporte activo:

- Ocurre en contra de un gradiente electro-químico.
- Se requiere energía, por lo tanto está acoplado a una ATPasa.
- A veces se intercambia una especie iónica por otra >> transporte acoplado.
- Puede ser electrogénico, o sea que realiza un trabajo eléctrico, generando un potencial eléctrico >> $2K^+ / 3Na^+$.
- Ej.: Bomba de Na^+ , de Ca^{+2} , de H^+ .

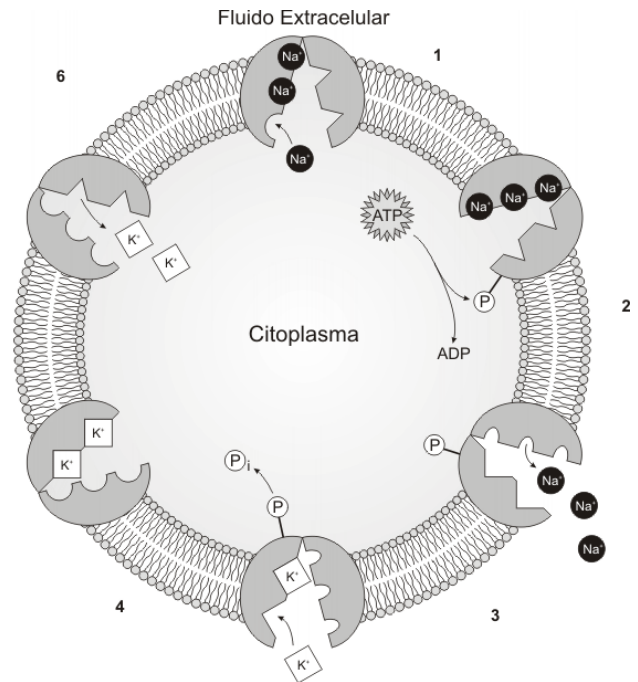


Fig. 17: Bomba de Na/K.

6.2. TRANSPORTE ACOPLADO

El movimiento de algunas moléculas en contra de un gradiente de concentración está dirigido por el movimiento de otra sustancia a favor de su gradiente de concentración. Por ej. el aminoácido alanina, en presencia de Na^+ , es transportado al interior de la célula en contra de una concentración de 7 a 10 veces superior. En ausencia de Na^+ la concentración intracelular de alanina se aproxima a la concentración extracelular. El gradiente universal de Na^+ se usa para transportar consigo ciertos azúcares y aminoácidos, a través de la membrana, por un mecanismo de contratransporte o antiporte, cuando ocurre un intercambio de solutos y cotransporte o simporte, cuando ambos solutos se transportan de manera simultánea, en una misma dirección.

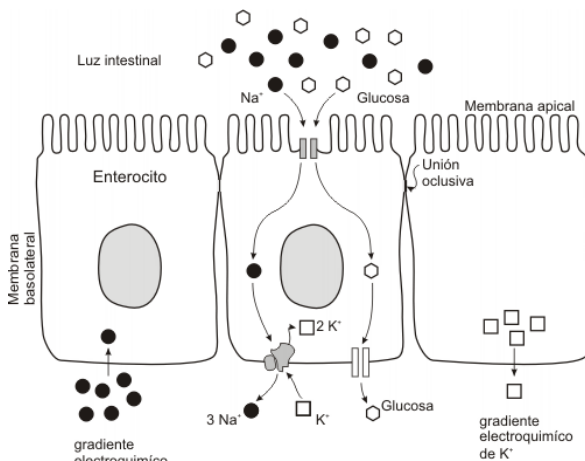


Fig. 18: Simporte.

-Cotransporte o simporte- El transporte de aminoácidos y azúcares está acoplado a la entrada pasiva de Na^+ , mediante un transportador común. Este transportador parece ir y venir pasivamente entre los dos lados de la membrana, sin utilización directa de energía metabólica. El transporte contragradiente acoplado a moléculas orgánicas obtiene su energía de la difusión de iones Na^+ a favor de su gradiente, pero la energía potencial almacenada en el gradiente metabólica que dirige la bomba de Na^+ .

-Contratransporte o antiporte- Se produce un intercambio de iones a través de un transportador de intercambio común. En los casos de Ca^{+2} o de H^+ con Na^+ , la fuente inmediata de energía es el gradiente de Na^+ , que depende, en última instancia, del transporte activo de Na^+ . En la mayoría de las células, la concentración de Ca^{+2} intracelular es mucho menor que la concentración extracelular y ciertas funciones celulares dependen de los cambios intracelulares de Ca^{+2} . La reducción de Ca^{+2} intracelular sugiere que es intercambiado por Na^+ , en un movimiento acoplado de los dos iones mediante un transportador común.

Otro ej. encontramos en el intercambio de Na^+/H^+ del túbulo proximal del riñón de mamíferos. Por cada H^+ expulsado de la célula al túbulo se capta 1 Na^+ , permitiendo así la recuperación renal de Na^+ y la excreción de H^+ . Se utiliza el gradiente de Na^+ , que se mantiene con la bomba de Na^+ , localizada en la membrana del otro polo de la célula, que mira hacia la sangre.

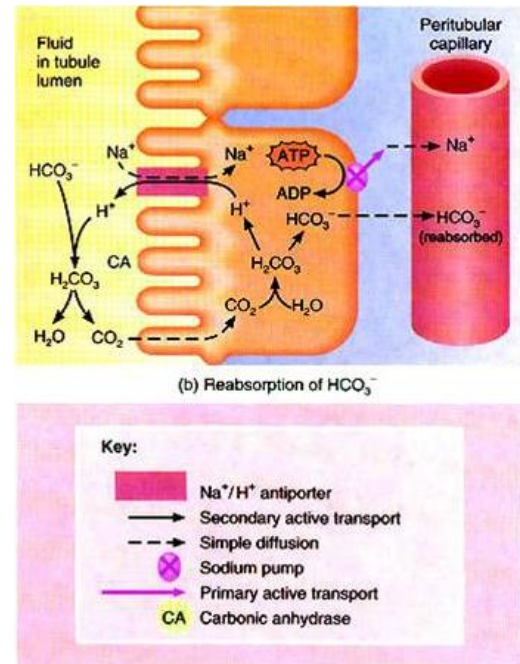


Fig. 19: Antiporte.

6.3. GRADIENTES IONICOS COMO FUENTE DE ENERGIA CELULAR

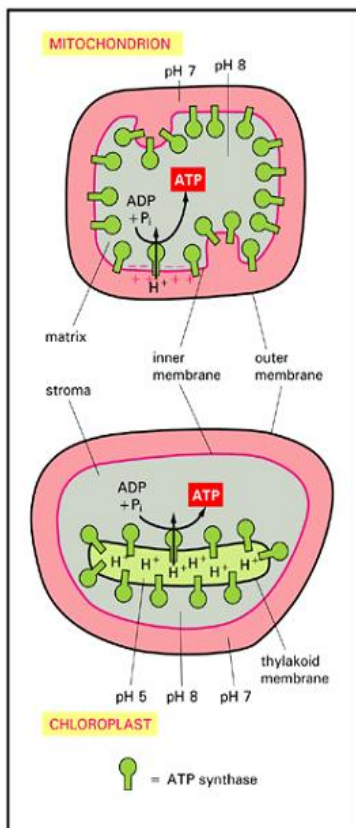


Fig. 20: Síntesis de ATP.

El gradiente electroquímico que hay a través de la membrana es una fuente importante de energía. La energía almacenada en un gradiente electroquímico depende de la relación de las concentraciones iónicas o de las actividades químicas de una especie iónica a ambos lados de la membrana. La energía es liberada cuando se deja que los iones fluyan a favor de su gradiente a través de la membrana.

-Energía quimioosmótica- Las enzimas de membrana *ATP sintasas* se hallan en las membranas mitocondriales y cloroplásticas, así como en bacterias aeróbicas y en ellas el gradiente de H^+ impulsa la síntesis de ATP a partir de $\text{ADP} + \text{Pi}$. Estos gradientes de H^+ se generan durante los procesos de transporte electrónico en el proceso de fosforilación oxidativa o de fotofosforilación. En todos los casos las enzimas pueden actuar en ambas direcciones, según las condiciones reinantes. Pueden llegar a hidrolizar ATP y bombear H^+ a través de la membrana o pueden sintetizar ATP cuando fluyen H^+ a través de las enzimas, en dirección opuesta.

Durante la *respiración celular*, moléculas complejas (glucosa) son oxidadas liberando e^- con alto nivel energético. Estos e^- descienden paso a paso, hasta el bajo nivel energético del

oxígeno, en lo que se conoce como *Cadena transportadora de e-*. Estos e- están en una posición tal que siguen un curso zigzagueante, en la membrana interna, atravesándola tres veces en el curso de su pasaje desde el NADH (1er aceptor de H⁺) hasta el oxígeno.

Cada vez que 2 e- viajan desde el interior al exterior de la membrana interna, recogen 10 H⁺ de la matriz mitocondrial y los descargan en el espacio intermembrana. Así se genera una concentración diferencial de H⁺ entre la matriz y el exterior que representa una energía potencial, que no solo proviene de la diferencia de pH, sino de cargas eléctricas.

Hay tres grandes complejos transportadores de e- en la membrana interna de la mitocondria; *NADH-CoQ reductasa*, *CoQH₂-cit c reductasa* y *Citocromo oxidasa*. En estos sitios se produce la traslocación de H⁺ desde la matriz de la mitocondria al espacio intermembrana. Como la membrana interna es impermeable prácticamente a todas las partículas iónicas, no pueden entrar iones con carga (+) a la matriz para neutralizar la pérdida de H⁺, ni pueden salir iones (-). Esta energía potencial está asociada a un complejo enzimático de *ATP sintasa*, que proporciona un canal de paso para los H⁺ que siguen el gradiente electroquímico desde afuera hacia la matriz. La energía liberada propulsa la síntesis de ATP a partir de ADP y Pi. Es casi seguro que se necesitan 4 H⁺ para sintetizar 1 ATP.

Esta energía también se aplica en otros procesos de sistemas vivos, por ej, proporciona la energía para la rotación del flagelo bacteriano, interviene en la fotosíntesis para formar ATP a partir de la energía que los e- reciben del sol. Puede emplearse para el transporte de sustancias, como propulsor: fosfato, ácido pirúvico.

En la membrana del tilacoide es la *Plastoquinona* la responsable de trasladar los H⁺ desde la matriz del cloroplasto hacia el interior del tilacoide, generando el gradiente de pH y electroquímico.

La enzima de membrana *ATP sintasa* tiene un diámetro de 10 nm, trabaja con un grado de efectividad cerca al 100 % y está formada por dos complejos principales. Uno anclado a la membrana mitocondrial interna o al tilacoide, llamada F₀ (CF₀ en caso de los tilacoides) y otro que sobresale por la cara interna de la estructura llamada F₁ (CF₁ en caso de los tilacoides).

El componente F₀ es el motor impulsado por protones. Es conocido como la fracción sensible a la oligomicina, está formado por las subunidades a, b₂ y c₁₀₋₁₄. Las subunidades c forman el "anillo c", que rota en sentido horario en respuesta al flujo de H⁺ por el complejo. Las dos proteínas b inmovilizan el segundo complejo F₁, que está orientada hacia la matriz mitocondrial. Por interacciones electrostáticas, se asocia a F₁ a F₀.

F₁ está formada por las subunidades α₃, β₃, γ, δ y ε. La parte principal del complejo F₁ está formado por tres dímeros αβ, esta unidad

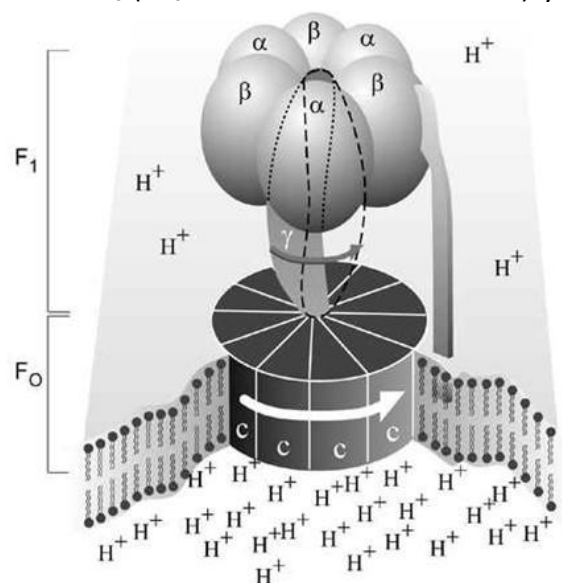


Fig. 21: ATP sintasa.

tiene forma de hexamero. La actividad catalítica de este hexamero está localizada en las subunidades β . Las subunidades γ y ϵ están unidas al anillo c y giran con él. Cada rotación de 120° de la subunidad γ induce la aparición de cambios de conformación en los centros catalíticos de las unidades β del los dímeros $\alpha\beta$, provocando la alteración de los centros de fijación de los nucleótidos situado en β . El hexamero α_3 y β_3 finalmente libera el ATP.

La subunidad F_0 consiste de once subunidades diferentes a_1 y c_{10} , estas subunidades forman un canal de protones central y finalmente la subunidad b_2 OSCP1 (Oligomycin Sensitivity Conferring Protein) enlaza las unidades F_1 y F_0 .

6.4. ENDOCITOSIS Y EXOCITOSIS

Son mecanismos de transporte de grandes moléculas, que no pueden atravesar la membrana plasmática, por lo tanto son transportadas en vesículas a través de la misma, con gasto directo de energía.

ENDOCITOSIS- Es el proceso por el cual la célula es capaz de tomar partículas del medio externo en incorporarlas a la célula. Se denomina *pinocitosis* cuando son fluidas las partículas y de menor tamaño y *fagocitosis* cuando son sólidas y de mayor tamaño. La pinocitosis atrapa sustancias de forma indiscriminada (macrófagos, neutrófilos), mientras que la endocitosis que está mediada por receptores sólo incluye a aquellas moléculas que se unen a dicho receptor, es decir, es un tipo de endocitosis muy selectivo (proteínas plasmáticas, hormonas, virus, toxinas, inmunoglobulinas, transferrina).

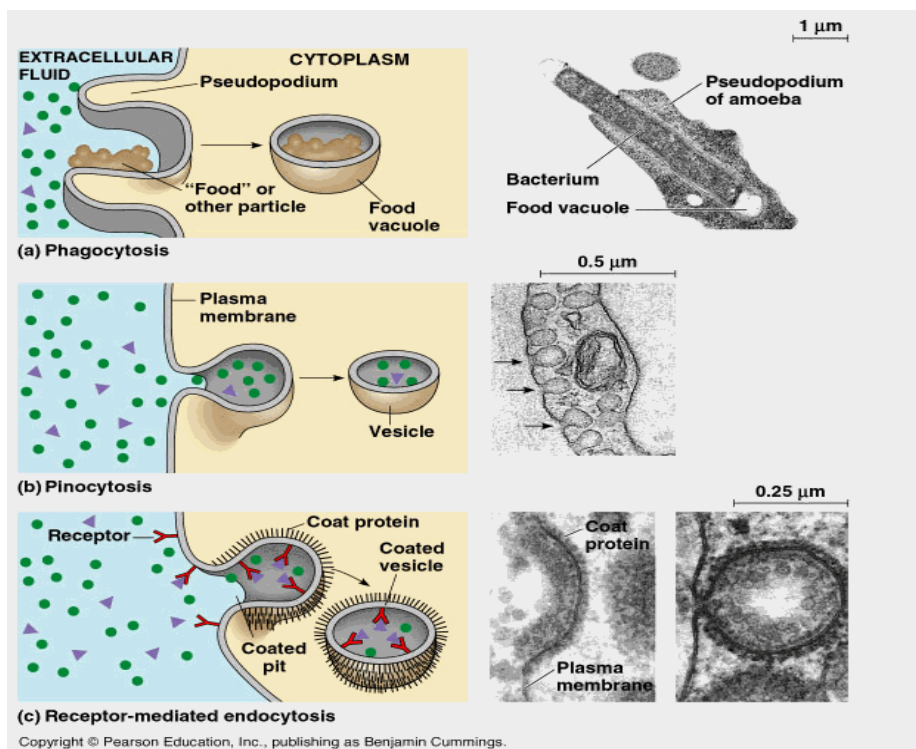


Fig. 22: Mecanismos de endocitosis.

Cuando el receptor se une a su ligando se forma un complejo, que tiende a acumularse en las depresiones de la membrana llamadas hoyos o fositas recubiertas. La cola citoplasmática del receptor interactúa con una proteína celular, denominada *clatrina*, quien la recubre por dentro. Este complejo es el que inicia la invaginación de la membrana y, por lo tanto la internalización del ligando, contando con kinasas GTP-dependientes.

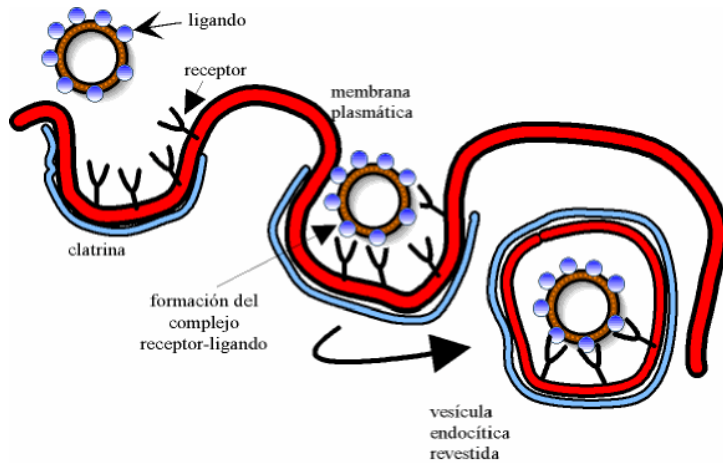


Fig. 23: Detalle de la endocitosis mediada por receptor.

Una vez formada la vesícula, la proteína clatrina se desprende (proceso que depende de ATP) y se forma un *endosoma*. Hay distintos tipos de endosomas y sus funciones principales son la de regenerar receptores de membrana y procesar al ligando.

La endocitosis puede llegar a incorporar al interior celular un importante porcentaje de membrana plasmática, por ej.

Un macrófago fagocita de su membrana en 1 minuto. Se postula que hay un ciclo endocítico- exocítico para regenerar nuevamente la membrana.

EXOCITOSIS- Es el mecanismo mediante el cual macromoléculas contenidas en vesículas citoplasmáticas son transportadas desde el interior al exterior celular. La *exocitosis constitutiva* se produce en todas las células y se encarga de liberar moléculas que van a formar parte de la matriz extracelular (glucoproteínas) o bien sirven para regenerar la propia membrana celular. Es un proceso constante de producción, desplazamiento y fusión, con diferente intensidad de tráfico según el estado fisiológico de la célula. La *exocitosis regulada* se produce sólo en aquellas células especializadas en la secreción, como por ejemplo las productoras de hormonas, las neuronas, las células del epitelio digestivo y las glándulas.

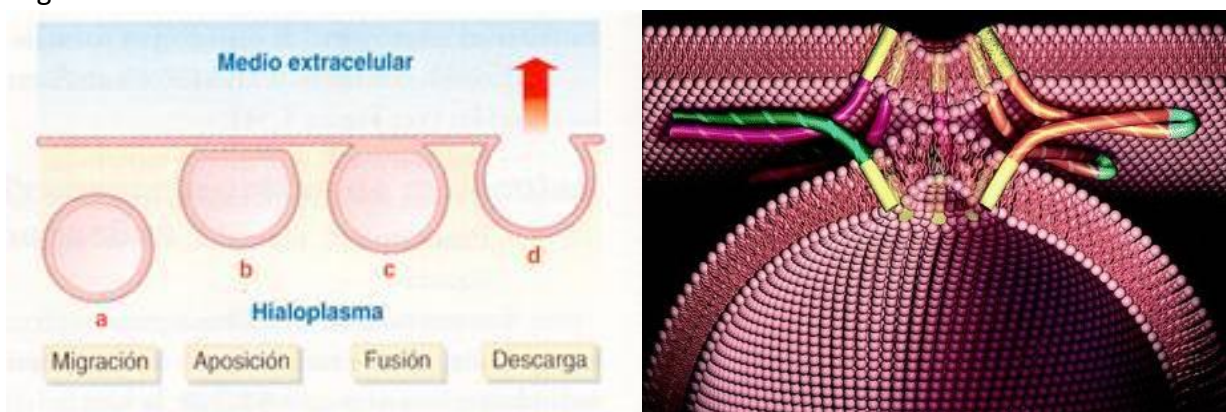


Fig. 24: Exocitosis. Detalle del poro de exocitosis.

Las vesículas que llevan proteínas del aparato Golgi a la superficie de la célula usarán proteínas como motor y una pista de citoesqueleto para ponerse cerca de su objetivo antes de ligarse a él. Tanto la actina como los citoesqueletos basados en microtúbulos están

implicados en estos procesos, junto con varias proteínas motoras. La direccionalidad del camino de estas vesículas está determinada por la orientación del citoesqueleto, el cual, mediante la intervención de las proteínas motoras, las transporta hasta su lugar de fusión apropiado.

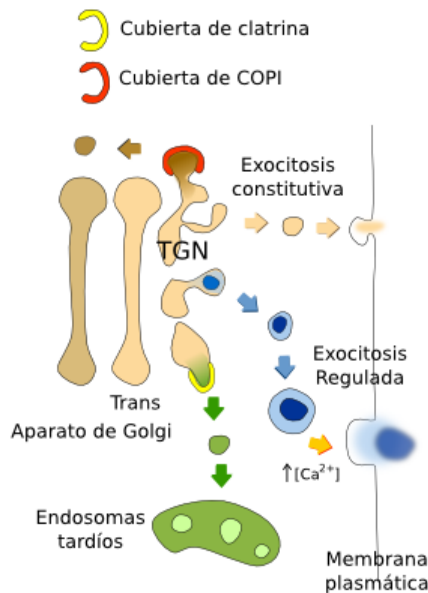


Fig. 25: Tránsito de vesículas de exocitosis.

Las moléculas que no tienen una señal específica serán empaquetadas en vesículas de exocitosis constitutiva. En el caso de las vesículas de secreción regulada se forman inicialmente pequeñas vesículas que una vez en el citosol se fusionan entre sí para formar otras más grandes que permanecen en el interior celular hasta que llega una señal que permite la fusión con la membrana plasmática.

Es fundamental el aumento de la concentración de Ca^{+2} citosólico para que el proceso se inicie. Por un lado se propone que el Ca^{+2} elimina el anclaje de la vesícula exocítica al citoesqueleto. Por otro lado se propone que el Ca^{+2} activa proteínas (fodrina, gelsolina, nexina) que fijan la vesícula a la membrana plasmática, movilizan los fosfolípidos y generan el poro (Fig. abajo der.).

En la teoría de la exocitosis está implícito que la membrana de la vesícula se incorpora a la membrana externa, permitiendo que se difunda el contenido, llevando a un crecimiento de la membrana celular.

7. MEMBRANAS ELECTRICAMENTE ACTIVAS

Los fenómenos eléctricos en los tejidos vivos pueden detectarse colocando dos electrodos en el tejido para medir el campo potencial originado por las corrientes eléctricas que fluyen a través de los líquidos extracelulares. Como estas corrientes se originan a través de las membranas, tales medidas se realizan comparando el potencial eléctrico (voltaje) de un lado y de otro de la membrana. La diferencia entre ambos resultados es la Diferencia de Potencial y se denomina normalmente *Potencial de membrana*.

Este potencial de membrana se mide en milivoltios -mV- y en todas las células es (-) en estado de reposo *-Potencial de reposo-* Cuando se eliminan cargas (+) del interior de la célula, el interior negativo de la célula se hace todavía más (-) y se dice que la célula se *Hiperpolariza*. Por el contrario, si se añaden cargas (+) a la superficie interna de la membrana celular, la diferencia de potencial disminuirá y entonces se dice que la célula se *Despolariza*, el potencial intracelular se hace menos (-).

La membrana de las células excitables, tales como las neuronas y células musculares, tienen un potencial umbral, más allá del cual, la membrana producirá una fuerte respuesta activa, el *Potencial de Acción (PA)*. Este PA es causado por la activación de los canales de membrana permeables al Na^{+} . Estos canales tienen la propiedad de ser activados (abiertos) por la

reducción de la diferencia de potencial de membrana *-despolarización-*. La abertura de los canales de Na^+ en respuesta a una despolarización y el flujo de iones Na^+ hacia el interior, proporciona un ej. de excitación de membrana.

Las membranas celulares responden a estímulos eléctricos con dos clases de comportamiento eléctrico:

a) Una respuesta eléctricamente pasiva: una corriente eléctrica fluye a través de la membrana celular, principalmente a través de los canales no excitables, que pasan selectivamente iones K^+ -canales de reposo de K^+ -

b) Una respuesta eléctricamente activa: se halla en los tejidos excitables y depende de la actividad sobre las compuertas de numerosos canales iónicos en respuesta a un estímulo. Esto controla el flujo de corriente iónica de uno a otro lado de la membrana.

Algunos canales iónicos se activan mediante cambios en el potencial de membrana, otros lo hacen por la unión de moléculas transmisoras o mensajeras a los centros receptores y otras se activan por energías específicas del estímulo (luz, tensión mecánica). La mayoría de los canales excitables tienen cierto grado de selectividad iónica, a menudo reciben el nombre de la especie iónica que normalmente se mueve a su través -canales de Na^+ -

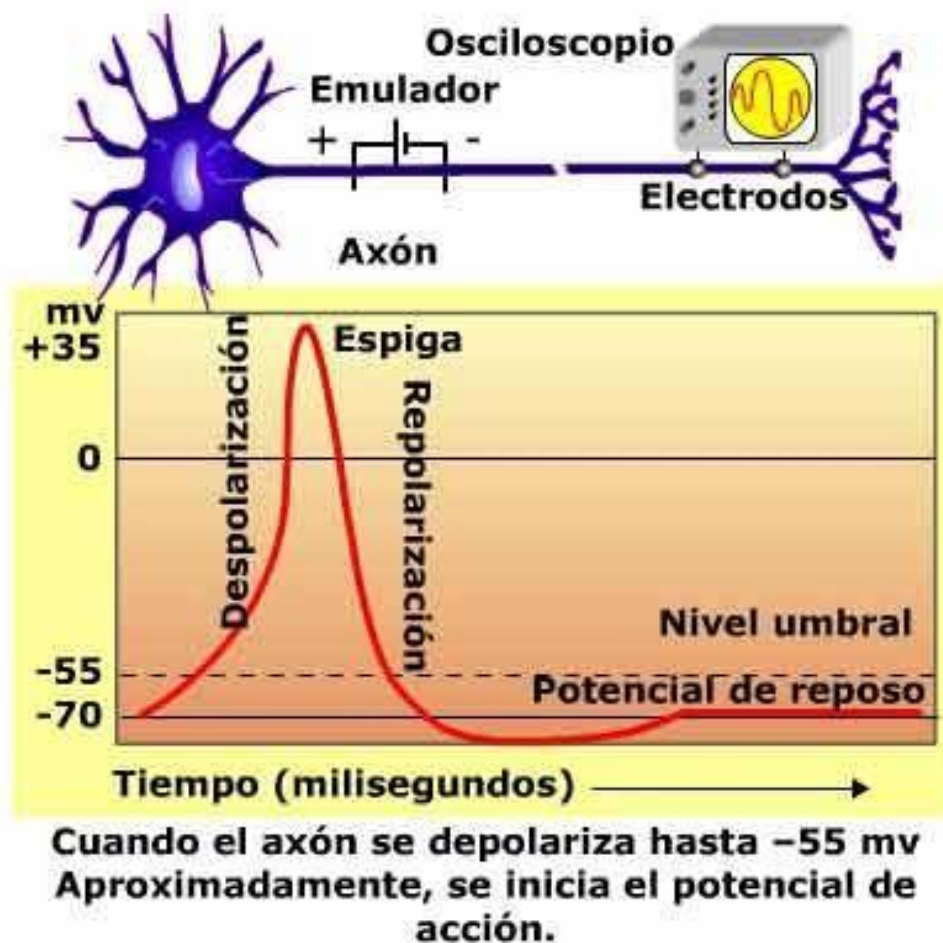


Fig. 26: Despolarización de la membrana neuronal.

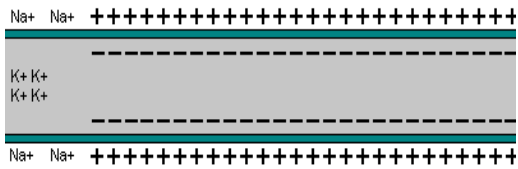


Fig. 27: Polaridad de la membrana neuronal.

Normalmente la concentración extracelular de Na^+ excede a la concentración interna en un factor de 10. Así la F_{em} que actúa sobre el Na^+ tenderá a empujarlo hacia el interior de la célula a través de la membrana. Puesto que el Na^+ transporta cargas (+), en el interior de la célula se producirá un

cambio de polaridad de la membrana -despolarización-. Lo mismo sucede si aplicamos una corriente procedente de un electrodo, que añade cargas (+) al lado intracelular, se va reduciendo el potencial de reposo, provocando la lenta despolarización. A medida que la membrana se aproxima al potencial umbral, se empiezan a abrir canales de Na, permitiendo que los iones Na^+ transporten una corriente al interior de la célula.

Por debajo del Potencial Umbral, el flujo de salida de K^+ (canales abiertos de reposo K^+) es suficiente para cancelar la carga transportada hacia el interior de la célula por el flujo de entrada de Na^+ . El potencial al que el flujo de entrada de Na^+ empieza a exceder el flujo de salida de K^+ , es el *Potencial Umbral*.

La corriente de entrada neta hace que la membrana se despolarice más y que cada incremento de cargas (+) origine un incremento en el potencial (+), lo que hace que se abran nuevos canales de Na^+ , que aceleran el flujo de entrada de Na^+ -Ciclo de Hodgkin- y provoca el Potencial de Acción.

Estos canales que se activan en respuesta a una despolarización, muestran un aumento de selectividad para el Na^+ y el Li^+ respecto de otros iones. Esto se ha denominado filtro de selectividad. El modo por el cual la despolarización de la membrana mueve las compuertas del canal de Na^+ no se conoce completamente, pero pareciera ser que hay una barrera mecánica cargada en los canales en reposo, que cambian a una nueva posición de manera que desbloquea el canal cuando se despolariza la membrana.

¿Cómo ocurre esto? Frente a una despolarización de unos 50 mV se activa una gran fracción de canales de Na^+ en la membrana. Estos canales consisten en moléculas proteicas insertadas a través de la bicapa lipídica (que tiene un espesor ~5 nm). Estas proteínas (con carga) sufren un cambio de voltaje durante la despolarización y esto podría originar los cambios conformacionales que subyacen al mecanismo de compuerta de los canales que se excitan eléctricamente.

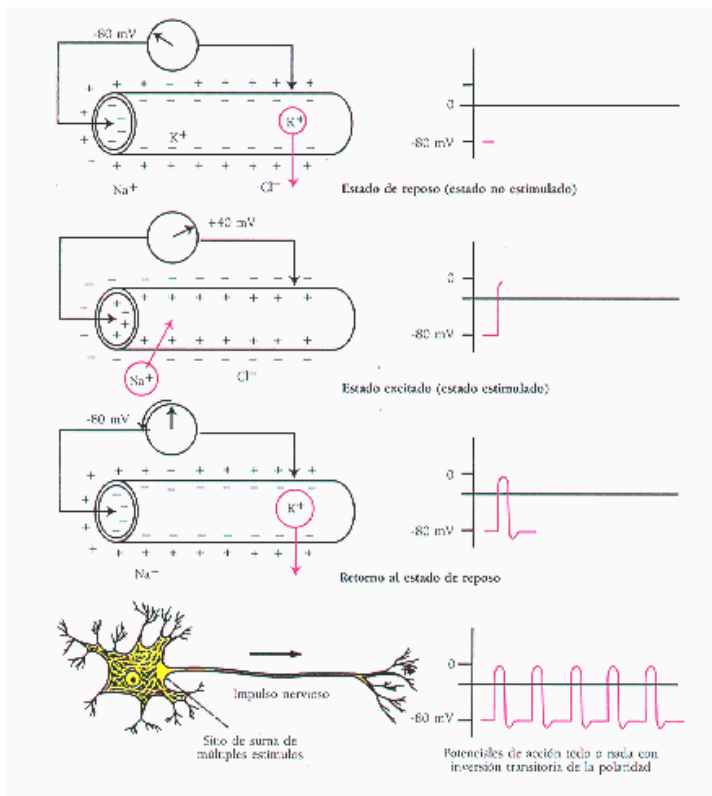


Fig. 28: Registro de la polaridad de membrana.

La inactivación de estos canales es completamente anatómica.

La sobredescarga del PA se aproxima al potencial de equilibrio para el Na^+ , calculado a partir de la relación 10:1 entre las concentraciones exterior e interior de Na^+ . Esta sobredescarga varía con la concentración extracelular de Na^+ , como se deduce del cambio en E_{Na} . Numerosas observaciones indican que la corriente de Na^+ pasa a través de un número finito de canales, selectivos para el Na^+ , en la membrana excitada. Conforme el potencial de membrana se aproxima al equilibrio E_{Na} , la *Fem* que actúa sobre el Na^+ se hace progresivamente menor. Esta disminución hace que la tasa de cambio de potencial se haga lenta de manera progresiva, hasta que la sobredescarga es de alrededor de +120 mV, desde el Potencial de reposo. La despolarización pasiva inicial hasta el umbral se amplifica de 5 a 6 veces por la despolarización regeneradora de la membrana.

Los canales de Na^+ abiertos se inactivan (cierran) y el PA disminuye progresivamente hasta retomar al potencial de reposo. El retorno al potencial de reposo se ve acelerado por la apertura de canales de K^+ que permiten una rápida difusión de K^+ hacia afuera. Para completar la repolarización, el número de iones de K^+ que tienen que salir de la célula iguala al número de iones Na^+ que entraron inicialmente, restaurando el potencial de reposo.

La inactivación del ion Na^+ y la elevada conductancia para el K^+ durante varios miliseg. después del PA, producen una excitabilidad deprimida característica de los periodos refractarios. En estos no puede activarse un número suficiente de canales de Na^+ como para producir suficiente corriente de entrada, capaz de superar el flujo de salida de K^+ .

Fibra muscular-

En el caso de las células musculares el *sarcómero* es la unidad anatómica y funcional de la fibra y está formado por las proteínas *actina* y *miosina*. La contracción del músculo consiste en el deslizamiento de los miofilamentos de actina sobre los miofilamentos de miosina.

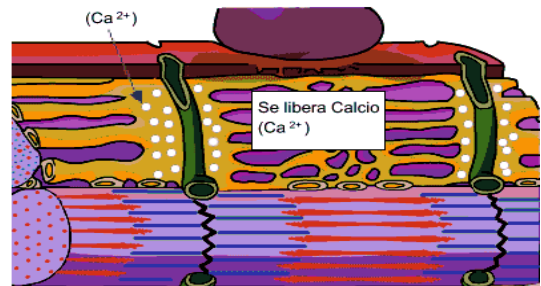


Fig. 29: Fibra muscular.

Los filamentos de actina (filamento fino) que nacen de los discos Z, poseen la *actinina*, que es la proteína que une la actina y la titina, esta última es una proteína elástica (la más grande del organismo). La titina posee dos funciones: mantiene a la miosina en su posición, debido a que tiene una parte elástica y actúa como resorte recuperando la longitud de la miofibrilla después de la contracción muscular.

Las proteínas actina, tropomiosina y troponina, son proteínas de contracción rápida y constituyen el filamento delgado. La actina: es una proteína globular constituida por 2 cadenas de moléculas esféricas muy pequeñas, a cada monómero se une una molécula de ADP. La tropomiosina: es una molécula en forma de bastón, formada por 2 cadenas helicoidales enrolladas entre sí. La troponina: es una proteína globular que se dispone sobre la molécula de actina. Existen 3 subunidades de troponina: **I**, **T** y **C**; la subunidad TnI cubre el punto activo de la actina, que interactúa con la miosina; TnT se une a la tropomiosina y TnC se une al Ca^{+2} .

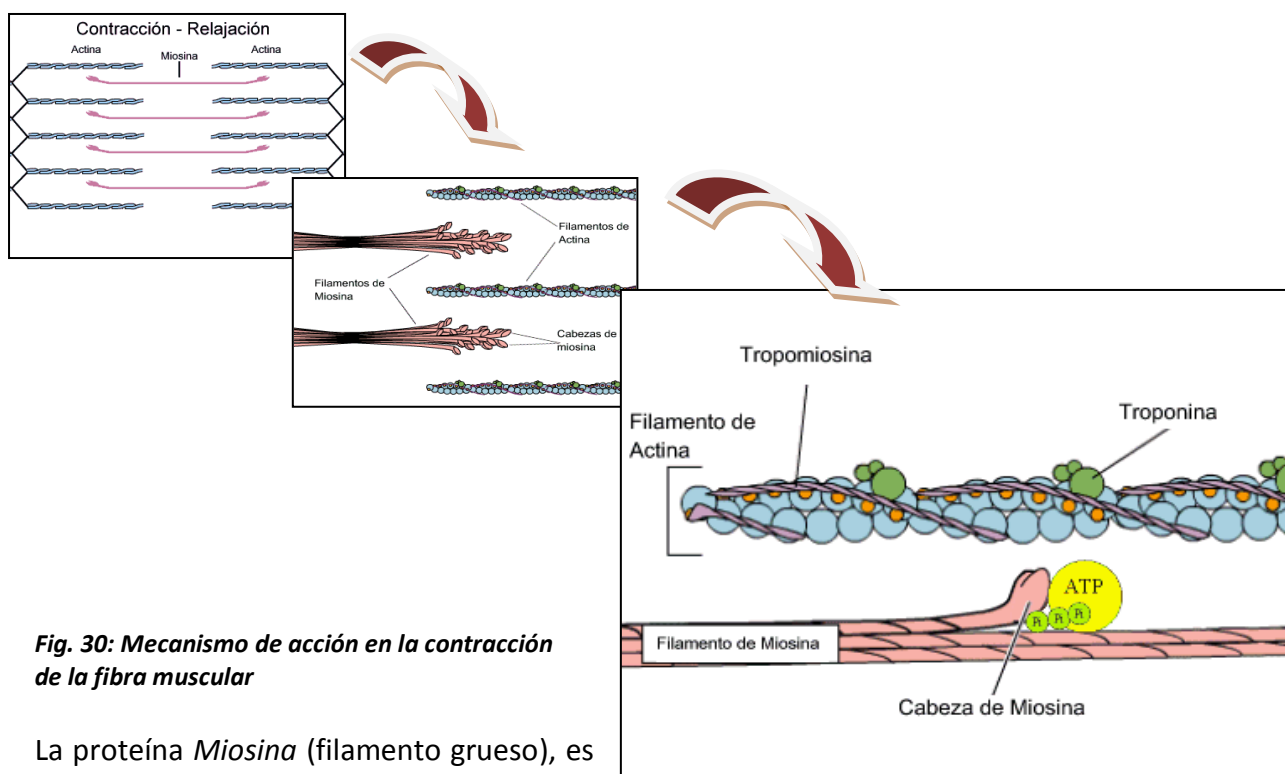


Fig. 30: Mecanismo de acción en la contracción de la fibra muscular

La proteína *Miosina* (filamento grueso), es una proteína con dos cadenas polipeptídicas, con un diámetro de 150μ y longitud de 1,6 nanómetros. Está compuesta por 6 cadenas polipeptídicas; dos cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras. Las cadenas pesadas asemejan 2 bastones de golf, de tal forma que es posible distinguir un cuerpo, en el que los bastones se enrollan entre si y 2 cabezas globulares que se disponen como proyecciones laterales que sobresalen fuera del filamento. Las cadenas ligeras se disponen dos a cada lado de estas cabezas globulares.

Cuando el impulso nervioso llega a la unión neuromuscular, ésta libera una sustancia llamada *Acetilcolina*. La acetilcolina activa la fibra muscular, abriendo canales de Na^+ y despolarizando la membrana. Esta despolarización actúa sobre los canales de Ca^{+2} , eléctricamente activos, que se hallan en la membrana plasmática o en el RE y se libera el Ca^{+2} que tiene almacenado. El Ca^{+2} liberado en la fibra muscular (10^{-5}M) se distribuye entre los filamentos de la miofibrilla y se une a la subunidad TnC de la *Troponina*, produciéndose un cambio conformacional de la molécula de troponina y el desplazamiento de la molécula de tropomiosina hacia la parte más profunda de la hendidura de la hélice de actina. Como consecuencia los sitios, en la G-actina, capaces de interactuar con las cabezas de la miosina quedan libres.

La Tropomiosina cumple dos funciones complementarias: previene que entren en contacto la actina y la miosina, cuando el músculo debe estar relajado y facilita su contacto cuando se requiere la contracción muscular

Por lo que respecta a la molécula de ATP, ésta constituye en sí misma el reservorio para el almacenamiento de la energía necesaria para que se lleve a cabo la contracción muscular. Una vez que el filamento de actina está físicamente dispuesto para entrar en contacto con el filamento de miosina y por efecto de la presencia de un ión de magnesio en este filamento, se desprende de la molécula de ATP uno de sus tres fosfatos, el cual es captado por la *creatinina*. Así el ATP se convierte en una molécula de ADP, mientras la creatinina, más el

fosfato que captó se convierte en *fosfocreatina* o CP. Con dicho desprendimiento, la energía química almacenada en la molécula de ATP se convierte en la energía mecánica que hace que se mueva la cabeza del filamento de miosina, jalando a la actina, y volviendo inmediatamente después a su posición original.

Es entonces la fosfocreatina (CP) reacciona ante la presencia de la enzima CPK y libera su fosfato, donándolo a la molécula de ADP, la cual se convierte nuevamente en ATP, y queda lista para un nuevo ciclo en el que esa misma cabeza de miosina contribuirá a la contracción de un músculo. Por su parte, la CPK ya utilizada, se va al torrente sanguíneo, de donde luego será eliminada.

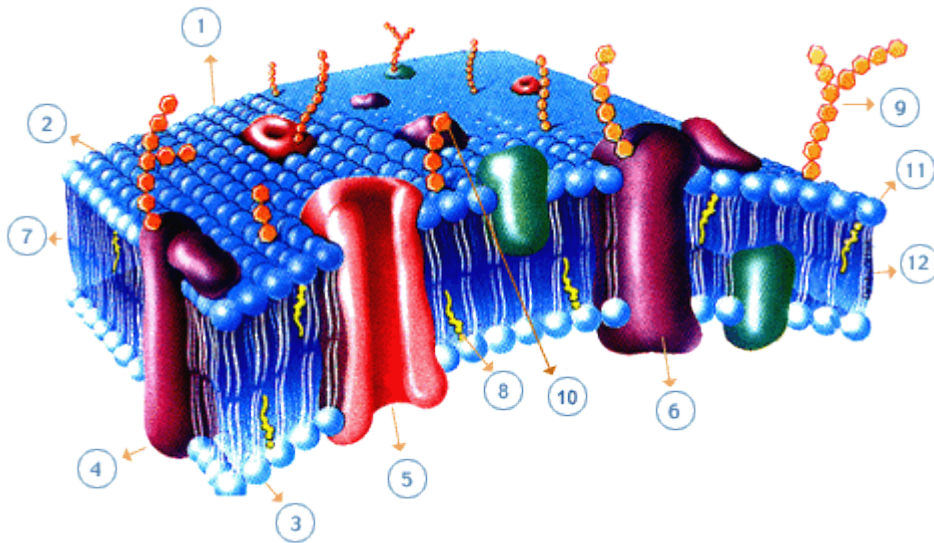
BIBLIOGRAFIA

Alberts, B; Bray, D; Lewis, J; Raff, M; Roberts, K. & Watson, J.D. 2002. Biología Molecular de la Célula. Ed. Omega.

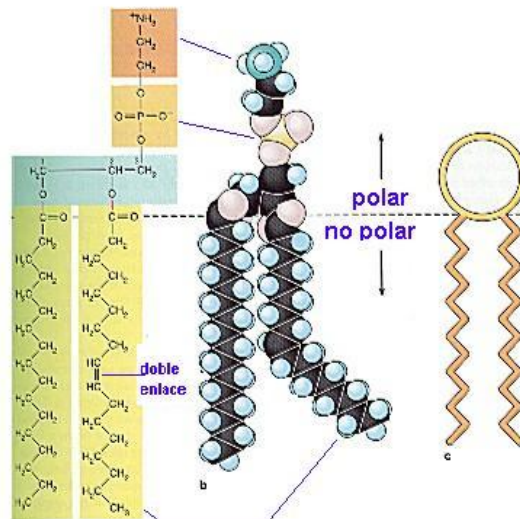
Echevarría, M. & Zardoya, R. 2006. Acuaporinas: Los canales de agua celulares. Investigación y Ciencia. Dic: 60-67.

ACTIVIDADES DE REPASO

1- Indica en el siguiente gráfico las estructuras que reconoces.



2- El siguiente esquema representa una molécula de un lípido de membrana. Explica el significado de "Anfipática". ¿Por qué esta característica determina el modelo de bicapa lipídica?



3- ¿Por qué las proteínas pueden actuar como canales para el pasaje de determinadas sustancias?

4- Si se tiene un recipiente con una membrana semipermeable que separa dos compartimentos, A y B:

A: Analiza el comportamiento del sistema si se agrega al compartimento A una solución 100 mM de KCl y se deja el compartimento B con agua pura. ¿Qué fuerzas actúan sobre dichos iones para alcanzar el equilibrio?

B: Define y desarrolla los conceptos de gradiente electroquímico y potencial de equilibrio para un ion **-Ex-**

5- Ahora analiza el comportamiento del sistema si en el compartimento A se agrega una sal KX (X: Anión no difusible).

6- En la siguiente tabla se encuentran expresados en mV algunos valores de las diferencias de potencial en función del tiempo (mseg), de una fibra nerviosa, durante un Potencial de Acción -PA-

Tiempo mseg	Δ Potencial electroquímico -Vm-
0	-60
0,25	-30
0,50	+20
0,75	0
1,0	-20
1,5	-50
2,5	-65
3,5	-60

A: Dibuja en un eje de coordenadas la configuración del PA de esta fibra.

B: Señala en el diagrama cada una de las fases que componen esta señal bioeléctrica.

C: Trazando líneas horizontales ubica en el diagrama los potenciales de equilibrio electroquímico del Na^+ y del K^+ , cuyos valores son +55 mV y -75 mV, respectivamente.

D: Señala y explica el mecanismo de hiperpolarización que se produce al finalizar el PA de esta fibra nerviosa.

7- Describe las bases iónicas del PA.

8- ¿Qué es el Potencial umbral?