

Capítulo 2 PARTE 3/4

- Relación de Nernst

La diferencia de potencial eléctrico ($V_1 - V_2$) tiene, en el equilibrio, como se vio, un solo y único valor, ya sea que se tomen las concentración de equilibrio del Cl^- o el K^+ . Por lo tanto, se puede escribir:

$$\frac{RT}{zF} \ln \frac{\text{Cl}^-_1}{\text{Cl}^-_2} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{\text{K}^+_2}{\text{K}^+_1} \quad \text{de donde}$$

$\frac{\text{Cl}^-_1}{\text{Cl}^-_2} = \frac{\text{K}^+_2}{\text{K}^+_1} \quad \text{y} \quad \text{Cl}^-_1 \cdot \text{K}^+_1 = \text{Cl}^-_2 \cdot \text{K}^+_2$
--

Esta última es una relación que nos indica que, en el equilibrio el producto de los iones es constante.

- Valores de las concentraciones C_1 y C_2 en la ecuación de Nernst: Si ahora queremos USAR cualquiera de estas ecuaciones para calcular el potencial eléctrico en equilibrio, por ejemplo, nos encontraremos con el inconveniente de que no sabemos cuanto valen C_1 y C_2 , las concentraciones de equilibrio. Sólo sabemos las concentraciones INICIALES, las que habíamos colocado en los compartimientos. Estas eran, en el ejemplo de la Fig. 2.35:

	Compartimiento 1	Compartimiento 2
Cl^- inicial	150 mEq	0
K^+ inicial	150 mEq	150 mEq
Pr-	0	150 mEq
Volumen	1 litro	1 litro

Como muestra la Fig. 2.34d), de 1 hacia 2 pasó una cantidad de Cl^- que llamaremos x. También pasó, de 1 a 2, una cantidad de K^+ que

INDICE – Parte 3	Pág.
- Ecuación de Nernst	1
- Cálculo de la diferencia de potencial eléctrico de equilibrio	3
- Potencial de membrana potencial de equilibrio en células	6
5) TRANSPORTE ACTIVO	9
- La ATPasa, una enzima y un transportador	13
- Modelos para la bomba de Na^+ / K^+	14
- Bombas neutras y bombas electrogénicas	16
La ENDOCITOSIS: una forma de transporte activo.	16
2.4 Los epitelios	17

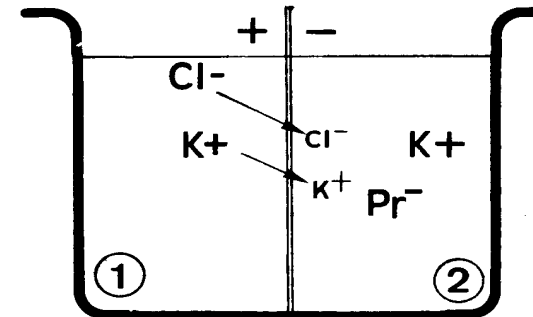


FIG. 2.35 CAMBIO EN LA CONCENTRACION DE LOS IONES DIFUSIBLES Cl^- Y K^+ . POR LA PRESENCIA DE UN ION NO DIFUSIBLE (Pr^-) LA CONCENTRACION DE Cl^- EN 1 DISMINUYE Y EN 2 AUMENTA. POR LA DIFERENCIA DE POTENCIAL ELECTRICO QUE SE CREA, LA CONCENTRACION DE K^+ DISMINUYE EN 1 Y AUMENTA EN 2

será igual a x. Por lo tanto, la cantidad que queda, en cada compartimiento será:

	1	2
Cl ⁻ _{eq}	Cl ⁻ _{inicial} - x	x
K ⁺ _{eq}	K ⁺ _{inicial} - x	K ⁺ _{inicial} + x

Reemplazando en la relación de Nernst:

$$\frac{Cl^-_1}{Cl^-_2} = \frac{K^+_2}{K^+_1}$$

$$\frac{(Cl^-_{inicial})_1 - x}{x} = \frac{(K^+_{inicial})_2 + x}{(K^+_{inicial})_1 - x}$$

donde se deduce que:

$$x = \frac{(Cl^-_{inicial})_1 \cdot (K^+_{inicial})_1}{2 \cdot (K^+_{inicial})_1 + (Cl^-_{inicial})_1}$$

reemplazando en nuestro caso:

$$x = \frac{150 \cdot 150}{2 \cdot 160 + 150} = 50 \text{ mEq}$$

lo que decir que en el EN EL EQUILIBRIO:

	1	2
Cl ⁻ _{eq}	100 mEq/L	50 mEq/L
K ⁺ _{eq}	100 mEq/L	200 mEq/L
Pr ⁻	0	150 mEq/L

Nótese que en el equilibrio se sigue manteniendo la ELECTRO-NEUTRALIDAD de CADA UNA de las soluciones, ya que en 1 hay la misma concentración de aniones y de cationes e igual cosa ocurre en 2

PRESION OSMOTICA Y EQUILIBRIO DONNAN.

La presencia de un ion no difusible, en un lado de una membrana, determina una redistribución iónica cuyo resultado final será el equilibrio Donnan, donde el potencial químico es igual, pero de sentido opuesto, al potencial eléctrico. En los dos compartimientos hay igual número de cargas positivas y negativas, pero el compartimiento que contiene el ion no difusible tiene, con respecto al otro compartimiento, un mayor número de partículas. De no existir algún otro mecanismo que compense esta distinta osmolaridad, deberá aparecer un flujo de agua desde el compartimiento que NO contiene a ion no difusible hacia el lado **que contiene el ion no difusible**. Este flujo de agua haría que este compartimiento aumentara de volumen.

Si se piensa en una célula animal, como en el interior hay proteínas no difusibles, por equilibrio Donnan las células tenderían a hincharse. Sin embargo, esto no ocurre ya que en el exterior hay OTRO ION que se, comporta como NO-DIFUSIBLE. Este es el Na⁺, que crea también, un efecto Donnan, pero de sentido contrario: el desbalance osmótico, por las proteínas intracelulares se ve, así, compensado.

El Na⁺, sin embargo, no es totalmente impermeable y, por gradiente eléctrico y químico, tiende, permanentemente a entrar al interior celular. Será la bomba de Na⁺ la que lo hará permanecer en el exterior, COMO SI FUERA IMPERMEABLE. Una consecuencia notable de este efecto del Na⁺ es el que ocurre si se inhibe la bomba de Na⁺: la célula aumenta de volumen

- Cálculo de la diferencia de potencial eléctrico de equilibrio.

En base a los cálculos anteriores podemos conocer la concentración los IONES DIFUSIBLES, cloruro y potasio, en el equilibrio y estamos en condiciones ahora de usar la ecuación de Nernst para calcular la diferencia de potencial eléctrico.

Para el CLORURO será:

$$\Delta V = RT/zF \ln Cl^-_1 / Cl^-_2 = RT/zF \ln 100/50$$

Si **R** es igual a 8,3 Joule . mol⁻¹ . °K⁻¹

T es igual a 310 °K (37 °C, la temperatura corporal de un mamífero, **z** es igual a 1, ya que es un ion monovalente, **F** es igual a 96500 Coulomb/mol (Constante de Faraday)

El término RT/zF quedará:

$$RT/zF = \frac{8,3 \text{ Joule} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{°K}^{-1} \cdot 310 \text{ °K}}{96500 \text{ Coulomb} \cdot \text{mol}^{-1}} = 0,0267 \frac{\text{Joule}}{\text{Coulomb}}$$

$RT/zF = 0,0267 \text{ Volt} = 26,7 \text{ milivolt}$

En Fisiología es tradicional, al calcular la ecuación de Nernst, utilizar logaritmos decimales en vez de logaritmos naturales. En ese caso, deberá multiplicarse el término RT/zF por 2,303 y entonces:

$$\Delta V = - RT/zF \cdot 2,303 \log Cl^-_1 / Cl^-_2 = - 26,7 \text{ mV} \cdot 2,303 \cdot \log Cl^-_1 / Cl^-_2$$

$$\Delta V = - 61 \text{ mV} \cdot \log 100 / 50 = - 18,5 \text{ mV}$$

Este valor de potencial significa que se necesita que el compartimiento 2 tenga un potencial eléctrico de -18,5 mV para que el CLORURO, que tiene una mayor concentración en 1 que en 2, mantenga esa diferencia de concentración. Con ese potencial eléctrico, el Cl⁻ en 1 se mantendrá constante en 100 mEq/L y el Cl⁻ en 2 mantendrá constante en 50 mEq/L (Fig. 2.36).

Para el POTASIO será:

EQUILIBRIO DONNAN ENTRE PLASMA E INTERSTICIO

Entre el compartimiento intravascular y el intersticio se establece, como ya se habfa anticipado en el Cap. 1, una redistribución iónica debido a la existencia de un anión no difusible: las proteínas plasmáticas. Si se toma para éstas una concentración entre 1 y 2 mmol/ L y una valencia de alrededor de 17 (Ver Cap. 1), se puede calcular una redistribución iónica del orden del 5%. Esto quiere decir que habrá un 5% menos Cl⁻ en el agua plasmática que en el intersticio y habrá un 5% menos de Na⁺ en el intersticio que en el agua plasmática. Aparece una diferencia de presión osmótica, dirigida hacia el intravascular, equivalente a una diferencia de osmolaridad del orden de 1,5 mOsm/ L y un potencial eléctrico de - 1,5 mV, con el signo negativo en el intravascular.

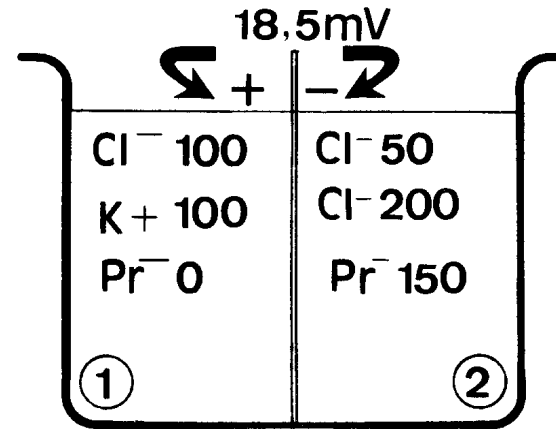


FIG.2.36 CONDICION DE EQUILIBRIO ELECTROQUIMICO

$$\Delta V = - RT/zF \ln K^+_{2} / K^+_{1}$$

$$\Delta V = - 61 \text{ mV} \log 200 / 100 = - 18,5 \text{ mV}$$

Este valor de potencial significa que se necesita que el compartimiento 2 tenga un potencial eléctrico de -18,5 mV para que el POTASIO mantenga constante su concentración de equilibrio, que es de 200 mEq/L en 2 y de 100 mEq/L en 1 . En conclusión, con -18,5 mV, tanto el K⁺ como el Cl⁻ están en equilibrio electroquímico, sus FLUJOS NETOS son IGUALES A CERO y sus CONCENTRACIONES SE MANTIENEN CONSTANTES.

b) A uno de los compartimientos le llega un flujo constante de iones.

Como se vio en a), para que un potencial de difusión se mantenga constante, sin desaparecer con el tiempo, puede ser suficiente que en de los compartimientos haya un ION NO DIFUSIBLE. Esto determinará una REDISTRIBUCION IONICA y un equilibrio electroquímico. Existe la posibilidad de que esta misma situación de equilibrio se logre aun en ausencia del ion no permeable, como se demuestra en el siguiente experimento, diseñado por Teorell en 1951 . En la Fig. 2.37 hay otra vez dos compartimientos, con la diferencia que el compartimiento 2 tiene un volumen mucho mayor que el compartimiento 1 . Puede, en ese sentido, considerarse INFINITO, lo que significa que sus concentraciones no cambiarán durante el experimento, cualquiera sea cantidad de soluto que entre o salga de él. En 1 y en 2 hay soluciones de bromuro de potasio (KBr) de IGUAL CONCENTRACION y la membrana es IGUALMENTE PERMEABLE al Br⁻ y al K⁺. En esas condiciones, no aparece, por supuesto, ningún potencial de difusión o flujo neto de algún ion.

Comencemos, ahora, a gotear, en el compartimiento 1, una solución de HCl y supongamos que la membrana, siendo permeable al H⁺ y al Cl⁻, es MAS PERMEABLE al H⁺ que al Cl⁻ (P_{H+} > P_{Cl-}). El lado 2 se hará (+) con respecto al lado 1, que será (-). La aparición de este potencial determinará que aparezca un flujo neto de Br⁻ de 1 hacia 2, arrastrado por el potencial. La concentración de Br⁻ disminuirá en 1. Esto creará un gradiente de concentración para el Br⁻, pudiéndose llegar a una condición de equilibrio electroquímico, en el que las fuerzas eléctricas se vean contrarrestadas por las fuerzas químicas.

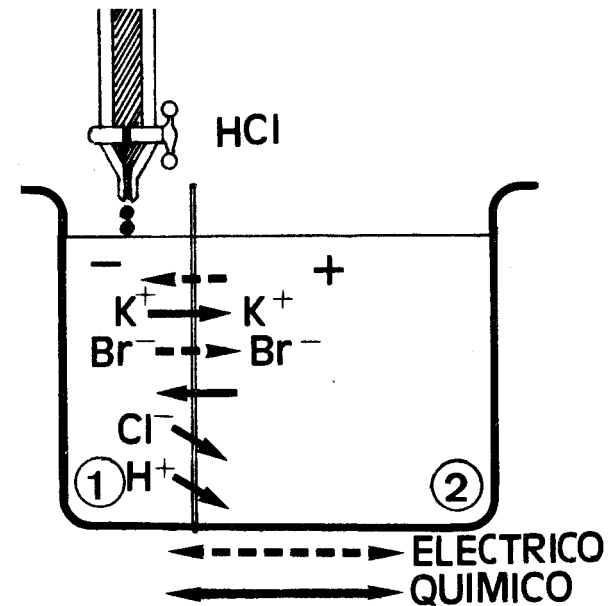


FIG. 2.37 MANTENIMIENTO DE UN POTENCIAL DE DIFUSION CONSTANTE. LOS COMPARTIMIENTOS 1 Y 2 TIENEN, INICIALMENTE, SOLUCIONES DE KBr DE IGUAL CONCENTRACION Y LA MEMBRANA SE ESCOGE DE MODO QUE SEA MAS PERMEABLE AL H⁺ QUE AL Cl⁻. POR UNA BURETA SE COMIENZA A GOTEAR UNA SOLUCION DE HCl EN EL LADO 1. COMO LA PERMEABILIDAD ES MAYOR PARA EL H⁺ QUE PARA EL Cl⁻ APARECE UN POTENCIAL (+) EN 2 QUE DETERMINA UN AUMENTO DEL FLUJO DE Br⁻ DE 1 HACIA 2. EL AUMENTO DE CONCENTRACION DE Br⁻ EN 2 PROVOCA UN FLUJO DE Br⁻ DE 2 HACIA 1 POR GRADIENTE QUIMICO. SIMILARMENTE, POR GRADIENTE ELECTRICO, EL K⁺ AUMENTA EN 1, DANDO UN FLUJO DE 1 A 2 POR QUIMICO. EN EL EQUILIBRIO

$$K^+ (1) > K^+ (2) \quad Y \quad Br^- (2) > Br^- (1)$$

LA CONCENTRACION DE H⁺ Y Cl⁻ EN 2 PERMANECE CERCANA A CERO POR SER UN COMPARTIMIENTO INFINITO

La aparición de esta diferencia de potencial eléctrico determinará que aparezca un flujo neto de K^+ de 2 hacia 1, lo que hará que su concentración en 1 aumente. Aquí también se puede llegar a una condición de equilibrio electroquímico. Tanto para el Br^- como para el K^+ , las concentraciones se pueden calcular por las relaciones de Nernst-Donnan y los potenciales por la ecuación de Nernst.

La diferencia con la situación en la que hay un ion no difusible es muy clara. Aquí TODOS los iones son difusibles y se necesita que se agregue constantemente HCl en 1. Si cesa el goteo, desaparece el flujo de H^+ , se disipan los gradientes de concentración y se anula la diferencia de potencial eléctrico.

c) Hay un mecanismo de transporte activo que bombea los iones que se pierden del compartimiento.

Al explicar la situación b), señalamos que se debe agregar, constantemente, HCl en 1. Supongamos que, en vez de agregar desde un recipiente externo, disponemos de un mecanismo EN LA MEMBRANA. Este mecanismo estaría encargado de bombear HCl de 2 hacia 1, al mismo ritmo que el HCl difunde de 1 hacia 2 (Fig. 2.38). Será cuestión de agregar una pequeña cantidad de HCl en 1 para que, sin ningún otro goteo externo, el potencial de difusión se mantenga y aparezcan todos los fenómenos relatados en b).

Es muy importante hacer notar que esta BOMBA está trabajando CONTRA UN GRADIENTE DE CONCENTRACION: el HCl pasa de 1 a 2 a favor de su gradiente de concentración y vuelve a 1 contra ese gradiente. Obviamente, esta bomba debe estar gastando energía de alguna fuente.

Adelantándonos a lo que veremos pronto, esta bomba iónica es una bomba NEUTRA, ya que bombea, de 2 hacia 1, H^+ y Cl^- en la misma proporción. El potencial es un POTENCIAL DE DIFUSION, creado, como todo ellos, por el movimiento de 2 iones, de distinta permeabilidad, a favor de su gradiente de concentración.

No debemos confundirnos y creer que esta bomba CREA diferencias de concentración: la bomba, lo que hace, es MANTENER las diferencias de concentración. La diferencia de concentración la creamos nosotros al agregar una cantidad de HCl en 1,

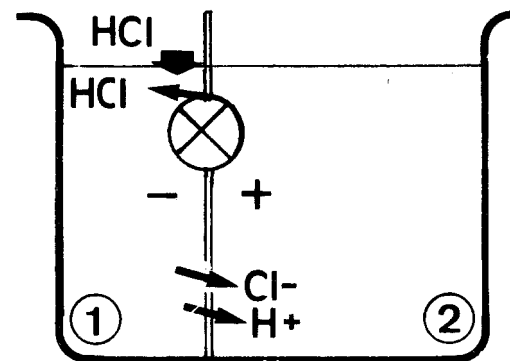


FIG. 2.38 EL POTENCIAL DE DIFUSION CREADO POR EL PASAJE DE H^+ Y DE Cl^- , SIENDO LA PERMEABILIDAD AL H^+ MAYOR QUE LA DEL Cl^- PUEDE SER MANTENIDA POR EL FUNCIONAMIENTO DE UNA BOMBA UBICADA EN LA MEMBRANA, QUE BOMBEE HCl AL MISMO RITMO QUE DIFUNDE. EN ESE CASO, SOLO HACE FALTA EL AGREGADO INICIAL DE HCl PARA QUE EL POTENCIAL APAREZCA Y SE MANTENGA.

- Potencial de membrana y potencial de equilibrio en células

Después de este largo camino a través de modelos, con recipientes y compartimientos, podemos ahora ir a estudiar qué ocurre con una CELULA VIVA.

La Tabla 2.IV muestra la concentración intra y extracelular de los principales iones, en una célula muscular. Podemos ver que la concentración de K^+ es mayor adentro que afuera de la célula, constituyendo el principal catión intracelular. La concentración de Na^+ , por el contrario, es mayor afuera que adentro, constituyendo el principal catión extracelular. Hay también, diferencias de concentración para el HCO_3^- , el Cl^- y el H^+ .

Esas diferencias de concentración no son transitorias, sino que se mantienen constantes. Por lo tanto, DEBE HABER algún mecanismo las mantenga. ¿Es un mecanismo ACTIVO, una **bomba** que, tomando energía de la célula, trabaja, día y noche, para mantener las concentraciones? ¿Es, por el contrario, un mecanismo PASIVO, basado, como el equilibrio Nernst-Donnan, en la distinta permeabilidad de uno y otro ion?

Para responder a estas preguntas claves debemos realizar, en esa célula, los siguientes procedimientos:

- 1) MEDIR la diferencia de potencial eléctrico entre ambos lados de la membrana.
- 2) MEDIR las concentraciones intra y extracelulares de cada uno de los iones.
- 3) CALCULAR el potencial eléctrico que **debería** existir si el ion o los iones estuvieran en equilibrio electroquímico, usando la ecuación de Nernst.
- 4) COMPARAR el potencial MEDIDO en 1) con el potencial CALCULADO en 3). Si el potencial de membrana que se MIDE es IGUAL al potencial de equilibrio que se CALCULA, se puede hacer un "diagnóstico" y decir que la diferencia de concentración PUEDE ser explicada por simples fenómenos PASIVOS. Si, por el contrario, el potencial de membrana que se MIDE es DIFERENTE al potencial de

TABLA 2.IV CONCENTRACIONES IONICAS DE EQUILIBRIO Y POTENCIAL DE MEMBRANA EN CELULAS MUSCULARES DE MAMIFERO

	INTERSTICIAL (mmol/L)	INTRACELULAR mmol/L
CATIONES		
Na^+	145	12
K^+	4	155
H^+	$3,8 \cdot 10^{-5}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$
pH	7,43	6,9
otros	5	
ANIONES		
Cl^-	120	4
HCO_3^-	27	8
otros (A-)	7	155
POTENCIAL	0	-90 mV

Valores tomados de Ruch TC y Patton HD. *Physiology and Biophysics*, WB Saunders, Co. 1965

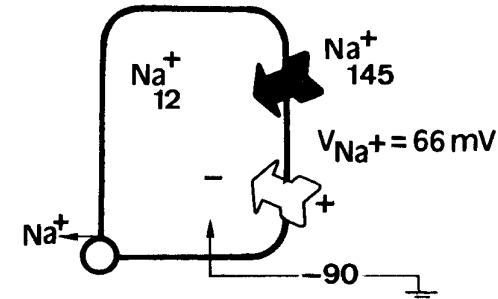


FIG. 2.39 SITUACION DEL ION Na^+ EN UNA CELULA. LA CONCENTRACION DE Na^+ EN EL INTERIOR CELULAR ES MENOR QUE EN EL EXTERIOR, POR LO QUE TIENDE A ENTRAR POR GRADIENTE QUIMICO. COMO EL INTERIOR ES (-) TAMBIEN TIENDE A ENTRAR POR GRADIENTE ELECTRICO.

equilibrio que se CALCULA, podemos decir que DEBE HABER algún mecanismo ACTIVO, encargado de mantener las diferencias en las concentraciones

- Determinación de la existencia o no de mecanismos activos

Usando la Tabla 2.IV, podemos realizar el diagnóstico de si un ion está o no en equilibrio.

Veamos el caso del Na⁺ (Fig. 2.39):

Concentración de Na⁺ intracelular: Na⁺_i = 12 mEq/L

Concentración de Na⁺ extracelular: Na⁺_o = 145 mEq/L

Potencial de membrana: V_m = -90 mV

Con los datos de las concentraciones intra y extracelulares podemos calcular, de acuerdo a Nernst, el potencial de equilibrio PARA ESTE ION, el Na⁺, que lo designaremos como V_{Na⁺}. Entonces:

$$V_{Na^+} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{Na^+_o}{Na^+_i}$$

$$V_{Na^+} = 61 \text{ mv} \cdot \log 145/12 = 66 \text{ mv}$$

¿Cuál es el significado de este potencial de 66 mV POSITIVOS? Como la concentración de Na⁺ es mayor afuera que adentro de la célula, podemos pensar que hay una tendencia del ion a ENTRAR a la célula por gradiente QUÍMICO. Se **necesitaría**, dentro de la célula, un POTENCIAL POSITIVO para contrarrestar esta tendencia.

Ese potencial positivo TENDRIA QUE TENER un valor de +66 mV. En esa célula muscular ¿hemos medido un potencial positivo en el interior? No, hemos MEDIDO un POTENCIAL NEGATIVO de -90 mV. Por lo tanto, el gradiente eléctrico, lejos de oponerse a que el Na⁺ entre, lo que hace es FAVORECER su entrada a la célula.

Si el Na⁺ está entrando por gradiente químico y eléctrico ¿cómo es que la concentración de Na⁺ se mantiene, en el intracelular, en un

MEDICION DEL V_m

Para MEDIR el potencial de membrana de una célula (V_m), se necesita disponer de 2 elementos claves: un ELECTRODO que penetre en el interior celular sin dañar gravemente la célula y un VOLTÍMETRO que registre adecuadamente la diferencia de potencial. Lo primero se resuelve usando un microelectrodo, formado por un tubo de vidrio de pequeño diámetro. Un extremo de este tubo es calentado y estirado, de modo que la punta tenga un diámetro de, aproximadamente, 1 μm (0,001 mm). Este microelectrodo se llena, generalmente, con una solución de KCl de 3 mol/L, que es altamente conductora. Por el otro extremo se lo conecta a un voltímetro de ALTA IMPEDANCIA, instrumento que tiene la característica de medir voltaje usando muy poca corriente de la preparación (menos de 1 nanoampere). Esto se logra, electrónicamente, haciendo que la RESISTENCIA de ENTRADA del voltímetro sea superior a los "10 a la 12" ohms. Para cerrar el circuito, el otro extremo del voltímetro se conecta a otro electrodo, ya no un microelectrodo, sumergido en el líquido que rodea el tejido donde está la célula en la que se quiere medir el potencial. Este electrodo EXTRACELULAR está, a su vez, conectado a TIERRA, de modo que debe ser considerado como CERO o potencial de referencia. Al tejido se lo coloca en una cámara y al microelectrodo se lo mueve hacia la superficie celular por medio de un MICROMANIPULADOR. Mientras el microelectrodo y el electrodo EC se encuentran, ambos, sumergidos en el medio que rodea la célula, el voltímetro lee CERO, indicando que no hay diferencia de potencial entre ambos. Moviendo el microelectrodo, BAJO CONTROL MICROSCÓPICO, se puede lograr que su punta penetre la membrana celular y aparezca una diferencia de potencial que por lo general, es NEGATIVA con respecto al EC. De allí, por ejemplo, que se MIDA un potencial de membrana V_m de " - 90 mV". Son 90 mV POR DEBAJO del potencial cero, el EC. La diferencia de potencial que se mide, entre las dos CÁMARA de un epitelio, se llama potencial TRANSEPITELIAL y es algo más fácil de medir. Bastará colocar el tejido (intestino, piel de rana, vejiga de sapo, etc.) entre dos cámaras y medir la diferencia de potencial a través de electrodos sumergidos en las soluciones que bañan cada cara. Si bien no se necesitan microelectrodos y micromanipuladores, es necesario disponer de un voltímetro apropiado, también de alta impedancia.

valor tan bajo como 12 mEq/L? De acuerdo al razonamiento que venimos siguiendo, deducimos que TIENE QUE HABER una bomba, que, gastando energía metabólica, trabaje, día y noche, SACANDO Na^+ del interior celular.

Veamos el caso de K^+ (Fig. 2.40): nuevamente, aplicando la ecuación de Nernst:

$$V_{\text{K}^+} = 61 \text{ mV} \cdot \log \text{K}^+_{\text{o}} / \text{K}^+_{\text{i}}$$

$$V_{\text{K}^+} = 61 \text{ mV} \cdot \log 4 / 155 = - 98,8 \text{ mV}$$

El **gradiente de concentración** es hacia **adentro** por, lo que se **necesitaria** que el interior celular fuera **NEGATIVO** y de un valor de $- 98,8 \text{ mV}$ para que el ion estuviera en equilibrio electroquímico. El **POTENCIAL MEDIDO** es algo menor: $- 90 \text{ mV}$. Por lo tanto, si bien las fuerzas eléctricas y químicas, en este caso, son opuestas, **FALTAN 8,8 mV** para que el ion esté en total equilibrio. Si faltan 8,8 mV quiere decir que persiste la tendencia del K^+ a **SALIR** de la célula a favor de su gradiente de concentración. Nuevamente debemos postular un **mecanismo activo**, una bomba que constantemente esté **INTRODUCIENDO** potasio hacia el interior celular. Si esta bomba llegara a fallar, la célula **PERDERIA K^+** .

Veamos el caso del Cl^- (Fig. 2. 41):

$$V_{\text{Cl}^-} = 61 \text{ mV} \cdot \log \text{Cl}^-_{\text{i}} / \text{Cl}^-_{\text{o}} = 61 \text{ mV} \cdot \log 4 / 120 = - 90 \text{ mV}$$

Nótese que se ha puesto, en el numerador, la concentración intracelular de Cl^- y que se ha puesto la concentración extracelular en el denominador. Esta es una condición inversa a la que se usó para el Na^+ y el K^+ . Debe entenderse que el sentido de las fuerzas eléctrico es el del movimiento de las **CARGAS POSITIVAS**. Como el Cl^- es negativo se invierte el cociente de concentraciones y el signo del potencial. Lo más sencillo es olvidarse de cuál concentración va arriba y cuál abajo, calcular el cociente sin importar el signo y asignárselo después, pensando en qué signo **debería tener** el potencial eléctrico ara contrarrestar el potencial químico (ver la Nota Aparte: **SIGNO DEL POTENCIAL ELECTRICO**).

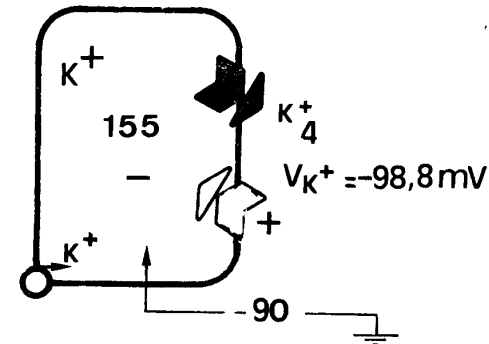


FIG. 2.40 SITUACION DEL ION K^+ . LA CONCENTRACION DE K^+ EN INTRACELULAR ES MAYOR QUE EN EL EXTRA, POR QUE TIENDE A SALIR POR GRADIENTE QUIMICO. COMO EL INTERIOR ES (-), EL K^+ TIENDE A ENTRAR POR GRADIENTE ELECTRICO. POR SER FUERZAS OPUESTAS PODRIA HABER EQUILIBRIO ELECTROQUIMICO, PERO COMO EL V_{K^+} ES $- 98,8 \text{ mV}$ Y EL V_m ES DE $- 90 \text{ mV}$, PERSISTE LA TENDENCIA A SALIR.

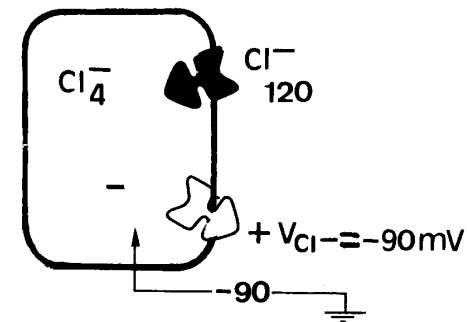


FIG. 2.41 SITUACION DEL ION Cl^- . LA CONCENTRACION DE Cl^- ES MAYOR EN EL IC POR LO QUE TIENDE A ENTRAR POR QUIMICO Y COMO EL INTERIOR ES (-), TIENDE A SALIR POR ELECTRICO. COMO EL V_{Cl^-} ES CERCANO AL V_m LA CONCENTRACION IC SE PODRIA MANTENER POR FUERZAS PASIVAS

El gradiente de concentración para el Cl⁻ está orientado hacia adentro, por lo que se necesitaría que el potencial intracelular fuera NEGATIVO y de -90 mv. Como el potencial MEDIDO es, exactamente, de ese valor, se puede decir que el ion Cl⁻ está en equilibrio electroquímico. En esas condiciones, mantiene su concentración intracelular por MECANISMOS PASIVOS, sin intervención de bomba alguna.

RESOLVER EL CASO DEL BICARBONATO Y DE OTROS IONES QUEDA A SU CARGO. RESUELVA EN ESTE MOMENTO EL PROBLEMA 4, PLANTEADO AL FINAL DE ESTE CAPITULO

5) TRANSPORTE ACTIVO

La desigualdad entre el potencial de equilibrio, calculado por la ecuación de Nernst y el potencial de membrana, medido directamente en la célula, es, sin duda un buen criterio para **sospechar** que se está en presencia de un TRANSPORTE ACTIVO. Sin embargo, éste no puede ser el UNICO criterio, ya que esta técnica de "diagnóstico" no se puede aplicar, por ejemplo, al caso de los FLUJOS ACOPLADOS.

Supongamos que, sin que haya una diferencia de osmolaridad en las soluciones, hay un flujo de agua entre dos compartimientos y que este flujo se detiene si se INHIBE la bomba de Na⁺. No hay posibilidades de aplicar la ecuación de Nernst al agua, de modo que el camino a seguir deber ser un poco más largo. Primero hay que demostrar que, en ese sistema en el que se mueve agua, hay un transporte de Na⁺. Luego demostrar que el flujo de agua está ligado al transporte activo de Na⁺. Por fin, decir que en ese caso, el transporte de agua necesita de una fuente de energía celular, a través del transporte de Na⁺.

¿Hay en ese caso, un transporte activo de agua? No, lo que se mueve es Na⁺ e, indirectamente, agua: los flujos están acoplados. ¿Cuál es, entonces, una definición de transporte activo? Lo más simple sería decir:

TRANSPORTE ACTIVO ES TODO PROCESO QUE PUEDA DETERMINAR EL FLUJO NETO DE UNA SUSTANCIA EN CONTRA DE SU GRADIENTE ELECTROQUIMICO.

POTENCIAL DE MEMBRANA Y ELECTRONEUTRALIDAD

No debe caerse en el error de considerar que el potencial de difusión se debe a que las dos soluciones tienen, como tales, "diferentes cargas". Las soluciones 1 y 2, en nuestros ejemplos, siguen siendo eléctricamente neutras, ya que al medir la concentración de aniones y cationes se ve que persiste la igualdad entre ambos. Es sólo a nivel de membrana que se ha producido la separación de cargas, como si el lado derecho a izquierdo de la membrana fueran las dos caras de un CONDENSADOR plano. Como en estos, existe una sustancia DIELECTRICA, formada principalmente por los lípidos de la membrana, que evita que las cargas negativas y positivas se unan. La capacidad de la membrana celular es de, aproximadamente 1 microfaradio (1 µF) por centímetro cuadrado. Si se recuerda que:

$$\text{Capacidad} = \text{carga} / \text{voltaje}$$

la cantidad de cargas que hay que poner un capacitor para obtener un potencial parecido al de una membrana celular es:

$$\text{Carga} = 10^{-6} \text{ F/cm}^2 \cdot 90 \cdot 10^{-3} \text{ V}$$

y, como $F = \text{Coulomb/volt}$

$$\text{Carga} = 9 \cdot 10^{-8} \text{ coulomb/cm}^2$$

Como lo que hay, a ambos lados de la membrana, son iones, la carga, en coulomb, puede ser transformada en moles de iones y de ese modo saber el número de cationes y aniones que están separados por la membrana.

$$96500 \text{ coulomb} \dots\dots 1 \text{ mol}$$

$$9 \cdot 10^{-8} \text{ coulomb} \dots\dots x = 9,3 \cdot 10^{-13} \text{ mol.}$$

Esto quiere decir que bastará que esa cantidad de iones se coloquen a los lados de 1 cm² de una membrana de 1 µF para que existan 90 mV de diferencia de potencial. Así, para el caso del K⁺, esta cantidad de cargas en cada solución determinará un cambio INDETECTABLE .

Algo más completa sería la definición que dice (Curran y Schultz, 1976):

HAY TRANSPORTE ACTIVO CUANDO UN FLUJO NETO NO PUEDE SER EXPLICADO POR UNA PROPIA FUERZA IMPULSORA MEDIDA EN LAS SOLUCIONES

Si se encuentra que un determinado flujo PUEDE ser debido a un transporte activo, el próximo paso debe ser determinar si ese flujo neto está asociado al metabolismo celular

- Pruebas para determinar si hay acoplamiento entre un flujo de solutos o de solvente y el metabolismo celular.

Para saber si hay asociación o acoplamiento entre un cierto flujo y el metabolismo celular, se pueden realizar varios procedimientos. El más sencillo sería ENFRIAR un conjunto de células, de modo de bajar su tasa metabólica. ¿Qué deberá ocurrir con la concentración intracelular de Na^+ , por ejemplo? Si, como vimos, DEBE HABER una bomba que permanentemente saque Na^+ del interior celular, al enfriar las células, la concentración intracelular de Na^+ debe AUMENTAR. Por el contrario, en el caso del K^+ , como se necesita que la bomba funcione metiendo K^+ en la célula, al bajar la temperatura la concentración intracelular de K^+ debe DISMINUIR. Otra consecuencia del enfriamiento de las células será una disminución de la diferencia de potencial eléctrico y un aumento del volumen celular. Lo primero se debe a que, al disminuir los gradientes de concentración, tienden a desaparecer los POTENCIALES DE DIFUSION. La célula se hincha porque el Na^+ ya no estará actuando como catión extracelular para balancear el efecto de las proteínas intracelulares (ver Nota Aparte: PRESION OSMOTICA Y EQUILIBRIO DONNAN (p. 104). Si se mantienen glóbulos rojos, por ejemplo, toda la noche a 5°C se verá, a la mañana siguiente, que los glóbulos han GANADO Na^+ y han perdido K^+ . Si ahora, se los recalienta a 38°C , poco tiempo después los glóbulos vuelven a tener sus concentraciones intracelulares normales. También, para demostrar el acoplamiento entre un flujo neto y el metabolismo celular, se pueden medir los flujos de Na^+ , por ejemplo de adentro hacia afuera y de afuera hacia adentro, utilizando **isótopos radiactivos**.

MEDICION DE LAS CONCENTRACIONES INTRA Y EXTRACELULARES DE IONES

Para realizar la comparación entre los potenciales de equilibrio para cada ion (V_{eq}) y el potencial de membrana (V_m), hay que realizar una serie de procedimientos, algo complicados, sobre todo si se lo quiere hacer en el animal intacto. El primer problema es medir la concentración, por ejemplo de K^+ , en el medio que baña la célula (K_o), y en el interior celular (K_i). La medida extracelular es bastante sencilla, ya que el K^+ es un catión que se distribuye casi por igual entre el plasma y el intersticial. Una medida, con un instrumento adecuado, como el FOTOMETRO DE LLAMA, nos da la concentración plasmática de K^+ . Conociendo la cantidad de solutos del plasma, se puede conocer la concentración de K^+ en el agua plasmática. Por último, conociendo el factor o relación de Donnan, se puede conocer la concentración de K^+ en el agua intersticial (K_o). La concentración intracelular de K^+ , o de cualquier otro ion, es algo más complicado de obtener, ya que es imposible conseguir, por biopsia, por ejemplo, una masa intracelular que esté totalmente libre de líquido extracelular. En ese caso, lo que se hace es determinar, antes que nada, el volumen de extracelular que hay en esa muestra, usando la técnica de dilución de indicadores como la inulina o el manitol. Luego, conociendo, por el procedimiento anterior, la concentración extracelular, se sabe qué masa de K^+ por ejemplo, hay en el extracelular de esa muestra. Luego, entonces, homogeneizando todo el tejido (EC + IC) se sabe la masa total del ion. A ésta se le resta la masa EC y se obtiene la concentración IC. Con esta concentración se puede, ahora, calcular, a través de la ecuación de Nernst, el potencial de equilibrio del ion. Como esta determinación IN VIVO es algo engorrosa, es más práctico colocar las células AISLADAS en un medio (Ringer) donde la concentración EC se conoce y se lo puede variar a voluntad.

El ^{22}Na y el ^{24}Na son dos isótopos del sodio que tiene características, como la vida media y la energía de las radiaciones, que los hace diferenciables. Siguiendo su emisión radiactiva se puede saber, en el caso de los glóbulos, cuál de los dos flujos está más afectado por el frío. A 5°C , la ENTRADA de Na^+ , que es PASIVA, por gradiente de concentración (DIFUSION SIMPLE) estará, lógicamente, disminuida porque, a baja temperatura, hay menor agitación de las partículas. Sin embargo, la SALIDA de Na^+ , que es ACTIVA, lo estará mucho más. Si ambos flujos es debieran a fenómenos pasivos o activos, el COCIENTE entre los flujos unidireccionales debería mantenerse constate. Si llamamos:

J_{io} al flujo de adentro (i) hacia afuera (o)

J_{oi} al flujo de afuera hacia adentro

y medimos los cocientes a distintas temperaturas y encontramos:

$$\frac{J_{io}}{J_{oi}} \text{ a } 38^\circ\text{C} = \frac{J_{io}}{J_{oi}} \text{ a } 5^\circ\text{C}$$

NO debe pensarse en la existencia de bombas asociadas a procesos metabólicos. Por el contrario, si los cocientes son diferentes, UNO de los flujos está ligado al metabolismo. En el caso del Na^+ , hay una disminución del J_{io} a 5°C , y el cociente es J_o / J_{oi} es menor que a 38°C .

Muy frecuentemente se utilizan, del mismo modo que el FRIO, ciertas drogas que inhiben **alguno** de los pasos del sistema de transporte activo. Las más habituales son el CIANURO, el DINITROFENOL, IODOACETATO y la OUABAINA, permitiendo, muchas veces, una "disección" farmacológica de estos sistemas (ver la Nota Aparta: INHIBIDORES Y DISECCION FARMACOLOGICA).

- Modelo de transporte activo que utiliza transportadores: bomba da Na^+ o bomba de Na^+ / K^+ .

Si, por alguno de los procedimientos señalados, es logra demostrar la dependencia de un cierto flujo con el metabolismo celular, el siguiente paso es saber cómo la energía metabólica de la célula actúa, cómo es que determina un movimiento o flujo neto de partículas.

LA REASORCION DE GLUCOSA EN EL RIÑON: UN SISTEMA QUE USA TRANSPORTADORES.

Uno de los métodos más sencillos para detectar si una persona es diabética es buscar, en su ORINA, la presencia de GLUCOSA. Es un método fácil, ya que basta mojar, con orina del paciente, una cinta o tira que tiene un reactivo apropiado y observar el color que adquiere. Una persona sana NO tiene glucosa en orina y una persona con hipérglucemia, como lo diabéticos, sí ¿Por qué? Por los TRANSPORTADORES. La concentración de glucosa en plasma de una persona sana oscila, cuando está en ayunas, alrededor de 1 g/L ($100\text{ mg/dL} = 5,5\text{ mmol/L}$) Ese plasma se filtra a nivel de los glomérulos renales y a los túbulos llega una concentración de glucosa muy parecida a la del plasma. Al final del túbulo proximal ya no hay glucosa en el líquido tubular, lo que indica que la glucosa ha sido transportada de la luz tubular a la sangre en su totalidad (reabsorción). El mecanismo de reabsorción se realiza utilizando transportadores, de modo que no es ilimitada la capacidad de los túbulos de reabsorber. Cuando la concentración de glucosa en plasma y la luz tubular llega a un cierto valor el sistema se SATURA, ya no se reabsorbe más y aparece glucosa en orina. El UMBRAL, para la aparición de glucosa en orina, se encuentra en alrededor de $1,80\text{ g/L}$ de glucosa en plasma. Por lo tanto, las personas, como los diabéticos, que tienen cifras altas de glucosa en plasma, presentarán GLUCOSURIA (glucosa en orina). Por supuesto que un método crudo ya que detecta solo hiperglucemias importantes y debe saberse que se considera diabético a todo paciente que tenga, en ayunas, 126 o más miligramos de glucosa por decilitro de plasma. Una excepción a esta regla lo constituyen las personas con GLUCOSURIA IDIOPATICA. Aquí la falla está a nivel renal: sus transportadores no funcionan adecuadamente y, aun con cifras normales de glucosa en plasma, tienen glucosa en orina. Es un trastorno congénito y sin trascendencia clínica importante, pero conviene estar alerta de su existencia. En todo caso de glucosuria hay que confirmar el diagnóstico de diabetes con una medición de la concentración de glucosa en plasma.

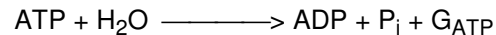
En las células y tejidos de los seres vivos hay una muy amplia gama de sistemas de transporte activo, que serán mostrados en las diferentes partes de este libro. De todos ellos, los sistemas que usan TRANSPORTADORES o "**carriers**" y que obtienen su energía de la hidrólisis del ADENOSINTRIFOSFATO (ATP) son los más conocidos. El ejemplo típico es la "BOMBA DE Na⁺" o, como también se la conoce, la "**BOMBA Na⁺ / K⁺**".

¿Cómo se sabe si un determinado sistema está usando transportadores? Si se recuerda lo dicho para la DIFUSION FACILITADA se verá que, siempre que haya un número finito de sitios en la cinta transportadora, existirá un flujo máximo que no puede ser superado por más que se aumente la concentración. Este es el fenómeno de SATURACION.

Como la SALIDA de Na⁺ de la célula es un flujo que tiene un máximo, se sospecha que hay transportadores en la membrana. Como, también, hay INHIBICION COMPETITIVA y NO COMPETITIVA, se puede pensar en transportadores ESPECIFICOS para el Na⁺.

El modelo para transporte activo que utiliza transportadores podría representarse, muy sencillamente, con el mismo esquema de la cinta transportadora de la Fig. 2.17, pero ahora con un MOTOR que mueva esa cinta. Para la difusión facilitada es necesitaba que la cinta se moviera **a favor** de un gradiente de concentración. En este caso, como hay un motor, hay posibilidades de CREAR y mantener un gradiente de concentración.

¿Cuál es la fuente de energía para el transporte? Si hablamos de un motor, estamos obligados a indicar quién provee la energía para ese motor. Como en muchos otros sistemas biológicos, la energía para la bomba de Na⁺ proviene del ATP. En el esquema de la Fig. 2.40 se muestra que el ATP es generado al partir del ADP (ADENOSINDIFOSFATO) en las reacciones oxidativas. El ATP formado es un compuesto que libera energía al desdoblarse en:



donde **P_i** es fósforo inorgánico y **G_{ATP}** la variación de energía libre

SIGNO DEL POTENCIAL ELECTRICO

Al utilizar la ecuación del Nernst o al medir con un voltímetro el potencial de membrana surge el problema del signo: ¿qué es (+) y qué es (-)?. Para la medición directa, con el voltímetro, el problema desaparece ya que SIEMPRE se considera el extracelular como cero, porque el electrodo que se encuentra en contacto con este medio está conectado a tierra. Por lo tanto, un potencial intracelular que sea, por ejemplo, de - 70 mV, significa 70 mV "por debajo de cero" o negativo.

En la ecuación de Nernst la cosa es un poco más complicada, ya que el signo depende de como se coloca el cociente: si Co/Ci o Ci/Co. Así, en el caso del K⁺, si el cociente es 4/155, el potencial será de - 98,8 mV y si es 155/4, el potencial será de + 98,8 mV. Se pueden hacer una serie de reglas y consideraciones, pero ninguna será superior a la lógica: el potencial químico y el eléctrico son vectores y para llegar al equilibrio electroquímico deben ser opuestos. El K⁺ se mueve de adentro hacia afuera por gradiente químico (flecha negra en la Fig. 2.40) y el potencial eléctrico de equilibrio, calculado por Nernst deberá estar orientado de afuera hacia adentro. Como en el caso del potencial eléctrico el movimiento es, por convención, el de las cargas positivas, para que haya equilibrio TIENE que ser negativo adentro para que el K⁺ se mueva siguiendo la flecha blanca y por eso se coloca **4/144**, que es Co/Ci. Lo mismo ocurre con el Na⁺: entra por gradiente químico y para que haya equilibrio TENDRIA que ser positivo adentro. Para calcular cuan positivo tendría que ser adentro para que se logre el equilibrio, se coloca, en la ecuación de Nernst, 145/12, que es Co/Ci. Para el caso del Cl⁻, nuevamente entra por gradiente químico y para alcanzar el equilibrio, por ser un anión, tendría que ser negativo adentro. Para obtener ese signo se colocará 4/120 en la ecuación, que es Ci/Co.

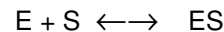
¿Resolvió el caso del bicarbonato, planteado al final del capítulo?

La cantidad de energía que, en una determinada situación, es liberada por el ATP está influenciada por varios factores, pero los principales son el pH y la concentración de Mg^{2+} del medio. En las condiciones habituales de una célula, la variación de la energía libre por la hidrólisis del ATP es de alrededor de 12,5 kcal/mol (~ 52 Joule/mol). (Fig. 2. 42)

- La ATPasa, una enzima y un transportador

La ATPasa es una enzima, presente en las células, que es capaz de acelerar, aun *in vitro*, el proceso de hidrólisis del ATP. Para que ello ocurra, el ensayo debe hacerse en presencia de Mg^{2+} . Lo interesante es que la velocidad con que se forma ADP a partir del ATP se hace mayor a medida que aumenta la concentración de Na^+ y de K^+ . No basta que aumente uno de estos iones: el aumento debe ser de ambos, por lo que a la enzima también se la conoce como **ATPasa Na^+ / K^+ dependiente**.

La ATPasa, como muchas enzimas, tiene características comunes con lo que conocemos como **moléculas transportadoras**: hay especificidad entre enzima y sustrato como hay especificidad entre transportador y molécula transportada. Hay saturación de la reacción enzimática, como hay saturación de los transportadores. Como con los transportadores, hay un acopleamiento entre la enzima y el sustrato, de acuerdo a la reacción:

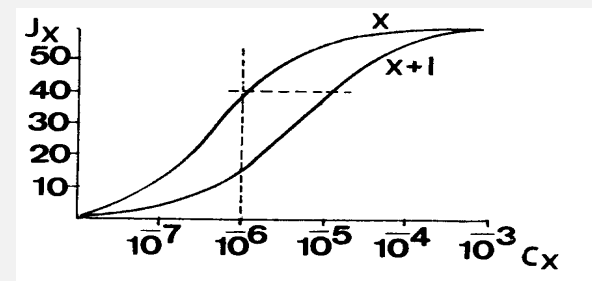


La ATPasa Na^+ / K^+ dependiente ha sido localizada en la membrana de numerosas células y tiene las características de una proteína de un peso molecular entre 180000 y 270000 dalton, de acuerdo a la célula de donde se aísle. En esta proteína hay varias unidades enzimáticas, pero, dato interesante, una estimación del tamaño de esta molécula da un diámetro de unos 85 Å (8,5 nm), un valor muy cercano al espesor de la membrana celular.

El NUMERO de moléculas de ATPasa que se encuentran, así, incrustadas en la membrana celular y atravesándola de un lado a otro, es bastante bajo, si se considera el volumen total de la membrana. Las estimaciones más altas indican que apenas el 0,04% del volumen de la membrana está ocupado por moléculas de ATPasa.

EL USO DE INHIBIDORES PARA EL ESTUDIO DE LOS SISTEMAS DE TRANSPORTE

Una de las muchas maneras que existen para estudiar el transporte de una sustancia a través de una membrana celular o a través de un epitelio, es medir su flujo (J_x) a distintas concentraciones de x y luego medir este mismo flujo en presencia de un INHIBIDOR. No debe crearse que un inhibidor produce siempre el cese TOTAL del flujo: bastará que, PARA UNA CONCENTRACION DADA de x , el flujo J_x sea menor en presencia del inhibidor que en su ausencia. Eso se reflejará en lo que se llama "un desplazamiento a la derecha de la curva dosis-respuesta". Observemos la siguiente figura.



¿Qué vemos? Que para una concentración de x de $1 \mu\text{mol/L}$, si levantamos una vertical sobre esa concentración, el flujo es de 40 en ausencia del inhibidor y de unos 12 en presencia del inhibidor. Podemos decir que hubo una inhibición del 70%, ya que sólo queda un 30% del flujo original. ¿qué otra cosa podemos sacar de esta curva? Que para volver a obtener el mismo flujo de 40 necesitamos aumentar la concentración una 10 veces, a $10 \mu\text{mol/L}$ (línea horizontal). Esta última condición es sólo visible en las inhibiciones competitivas o reversibles. En la inhibición no competitiva que se muestra en la Fig. 2.19 se puede ver que llega un momento en que, por más que se aumente la concentración del agonista, no se puede volver a obtenerse el mismo flujo.

- **ATPasa y ouabaina:** otra característica muy importante de esta enzima es que su acción es inhibida por una sustancia conocida como OUABAINA. Esta es una droga que pertenece, junto con la digital, al grupo de los glucúcidos cardiotónicos, usados en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. En células aisladas, la ouabaina, **añadida por fuera de las células**, determina que el sistema transportador se detenga y las células se "carguen" de Na^+ y pierdan K^+ .

La ATPasa requiere la presencia de Mg^{2+} , es dependiente de la concentración de Na^+ y K^+ y es sensible a la ouabaina.

- Modelos para la bomba de Na^+ / K^+

Con estos elementos se ha tratado de construir un modelo que explique cómo, por acción de la enzima y la energía del ATP, el Na^+ es sacado de las células y al K^+ es introducido en ellas. Lo cierto es que los modelos son muchos y que, hasta ahora, no se puede saber, con exactitud, qué es lo que ocurre, a nivel molecular, dentro del espesor de la membrana. Las ideas más comúnmente manejadas son:

- a) La ATPasa funciona como un transportador móvil dentro de la membrana: se asocia con el K^+ en el interior de la célula, se mueve con él EN la membrana, hacia la superficie interior, donde lo libera. Allí, esa misma molécula, en el interior celular, toma Na^+ , con el que se mueve hacia el exterior, donde lo libera.
- b) La ATPasa funciona como una especie de rueda, que tiene sitios específicos para el Na^+ y el K^+ . (Fig, 2. 42)
- c) La ATPasa, como proteína, tiene dos estados conformacionales. Uno en que se une a Na^+ interno, por lo promueve la hidrólisis de ATP, se libera energía y la ATPasa cambia de conformación. Ahora es el K^+ externo el que se une, el Na^+ se libera y el K^+ se mueve hacia la cara interna de la membrana.

Si bien la última idea es la más aceptada actualmente, los modelos mecánicos son útiles para entender que existe un flujo de K^+ , desde afuera hacia adentro, contra su gradiente de concentración y un flujo de Na^+ , desde adentro hacia afuera, también contra un gradiente de concentración.

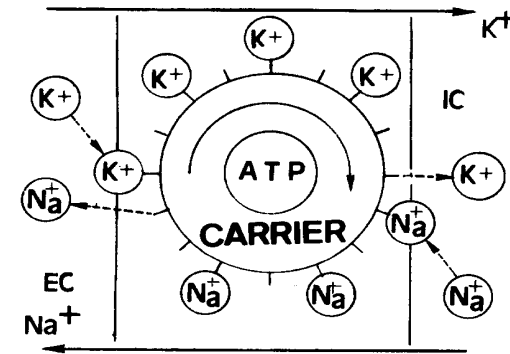


FIG. 2.42 MODELO HIPOTETICO DE LA BOMBA ACOPLADA DE Na^+ / K^+ . LA MOLECULA TRANSPORTADORA TENDRIA 2 LUGARES RECEPTORES Y LA ENERGIA LIBERADA POR EL ATP ACCIONARIA EL MECANISMO, TRANSPORTANDO K^+ DEL EC AL IC Y Na^+ DEL IC AL EC,

CELULAS "NO-EXCITABLES" Y CELULAS "EXCITABLES"

TODAS las células, de todos los tejidos y órganos de un hombre, son capaces de crear y mantener diferencias de concentración y potencial gracias a las características de permeabilidad y transporte que hemos venido describiendo. ALGUNAS de ellas, además, tienen la propiedad, ante un ESTIMULO, de modificar algunas características de su membrana y producir un POTENCIAL DE ACCION. Este es un cambio transitorio del potencial intracelular que, de negativo, se hace bruscamente positivo, para volver rápidamente a la condición inicial. Las células que pueden desarrollar un potencial de acción son las células musculares y nerviosas y, porque responden de este modo frente a un estímulo, se las llama células excitables. Una célula muscular no estimulada presentará un potencial de membrana llamado POTENCIAL DE REPOSO, para el que valen todos los razonamientos dados en este capítulo. Una célula de la glándula salival, por ejemplo, será considerada "no- excitable" ya que al ser estimulada no responde con un potencial de acción, pose que responde al estímulo nervioso secretando saliva

- Bombas neutras y bombas electrogénicas

En el caso de la bomba de Na^+ / K^+ hemos indicado que la bomba saca Na^+ y mete K^+ , pero no hemos dicho si los flujos son exactamente iguales. Si fueran IGUALES, no habría ganancia neta de cargas para ninguna de las dos caras de la membrana, ya que el número de cargas positivas que salen del EC y van al IC (K^+) sería igual al número de cargas positivas que salen del IC y van al EC (Na^+). Esta es la característica de una BOMBA NEUTRA. Su trabajo será básicamente, el de mantener una diferencia de concentración, pero no puede atribuirse a ella la creación de ninguna diferencia de potencial eléctrico. La diferencia de potencial entre el IC y el EC, en este caso, será debida a un potencial de difusión que puede ser calculado, para UN ion en el equilibrio, por la ecuación de Nernst. Para el caso en que haya varios iones que determinen, simultáneamente, potenciales de difusión, el potencial puede ser calculado usando la ECUACION GOLDMAN (Ver más adelante). También puede ser una bomba neutra la que permita que **dos aniones** se muevan, a través de la membrana, **en sentido contrario** o que **un anión y un catión** se muevan **en el mismo sentido**.

Una bomba será ELECTROGENICA (que genera potencial) cuando transporte, por ejemplo, Na^+ y K^+ en direcciones opuestas, pero con FLUJOS DIFERENTES. Si, como se ha demostrado, la bomba expulsa 3 iones Na^+ en el mismo tiempo en que ha introducido 2 iones K^+ , hay un movimiento neto de cargas positivas HACIA EL EXTERIOR celular. Esto constituye una CORRIENTE ELECTRICA. Como la membrana tiene una RESISTENCIA (Fig. 2.43), al producto de la INTENSIDAD de la corriente (i) por la resistencia (R) dará una diferencia de potencial (ΔV), de acuerdo a la ley de Ohm ($\Delta V = i \cdot R$)

- Bombas electrogénicas y no-electrogénicas en la misma célula.

Sobre esta bomba electrogénica, la ouabaina tiene, también, una acción y nos puede permitir separar, en una cierta célula, la parte del potencial que es electrogénico de la parte que es no-electrogénico (potencial de difusión). En la Fig. 2.44 se muestra el registro del potencial intracelular de una célula epitelial. Al agregar ouabaina hay una rápida, pero pequeña caída del potencial que, partiendo de -60 mV, se acerca a cero. Luego el potencial sigue cayendo, pero más

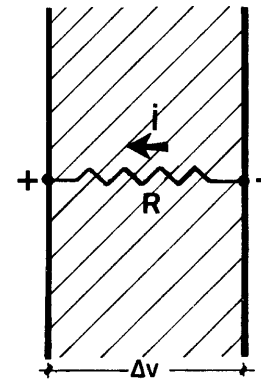


fig. 2. 43 UN FLUJO NETO DE IONES POSITIVOS O NEGATIVOS ES SIMILAR A UNA CORRIENTE ELECTRICA (i). COMO LA MEMBRANA TIENE UNA CIERTA RESISTENCIA (R) APARECE UNA DIFERENCIA DE POTENCIAL ΔV PROPORCIONAL A ($i \cdot R$)

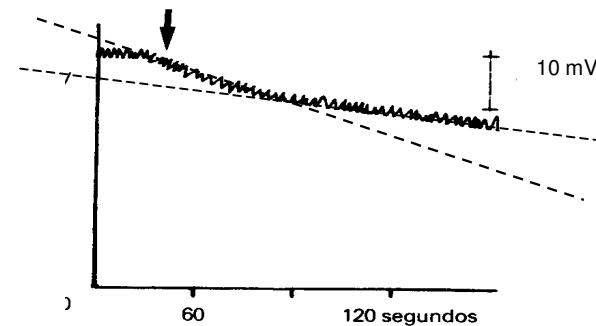


fig. 2.44 REGISTRO DEL POTENCIAL INTRACELULAR DEL EPITELIO DE LA VESICULA BILAR DE Necturus. SE PUEDEN DISTINGUIR 2 FASES EN LA CAIDA DEL POTENCIAL POR LA APLICACION DE OUABAINA (flecha) UNA RAPIDA (COMPONENTE ELECTROGENICO) Y UNA LENTA (DISIPACION DE LOS GRADIENTES DE CONCENTRACION) (adaptado de Baerensten, Cristensen, Thomsen y Zeuthen. J Mem Biol 68: 215-225, 1982)

lentamente. La primera parte, rápida, correspondería a la inhibición del componente electrogénico del potencial: al pararse la bomba, por acción de la ouabaina, cae el potencial. La segunda parte estaría en relación con la disipación del gradiente de concentración, principalmente del K^+ . Sin bomba, el gradiente de concentración tiende a desaparecer y el potencial desaparece con él. Esta disipación del gradiente toma su tiempo y de allí que la fase no-electrogénica sea lenta. Para esta segunda fase, si se conociera, en cada instante, la concentración que van alcanzando cada uno de los iones, se podría calcular, para cada instante, el potencial eléctrico por la ecuación de Nernst.

- La ENDOCITOSIS: una forma de transporte activo.

En todos los procesos de transporte que se han nombrado hasta ahora, ya sean pasivos o activos, se ha partido de la idea de que la sustancia transportada puede atravesar las membranas celulares porque se disuelve en ellas, porque encuentra poros o porque encuentra transportadores. En cualquier caso se trata de iones o moléculas de pequeño radio: las proteínas y otras partículas de no penetrarían al interior celular. Hay, sin embargo, un sistema ACTIVO capaz de incorporar a la célula no sólo moléculas grandes sino hasta bacterias y partículas visibles al microscopio, como lo hacen los macrófagos del sistema sistema retículoendotelial. Esto ocurre por un proceso llamado de **endocitosis** que incluye dos fases: la adhesión de la molécula a la superficie celular y su penetración a la célula.

Bajo el nombre de endocitosis se describen dos fenómenos: el de FAGOCITOSIS (del griego: comer), que se aplica cuando se incorporan partículas sólidas y el de PINOCITOSIS (del griego: beber), que se aplica cuando se incorporan vesículas llenas de líquido (Fig. 2.45). La endocitosis no es un proceso que esté presente, como la difusión, la ósmosis el transporte activo, en TODAS las células de un ser humano. Es un sistema especializado de algunas células y de algunos epitelios, pero lo importante es que debe ser descrito como un fenómeno de membrana. Es la membrana celular que rodea a la partícula y la internaliza. La Citocalasina B es un inhibidor de la endocitosis y como este fármaco es un bloqueador de la acción de los microfilamentos citoplasmáticos, se puede suponer que es este sistema el que lleva la partícula hasta el lisosoma, donde es digerida.

INHIBIDORES Y DISECCION FARMACOLOGICA

Quo el flujo de una sustancia x se encuentre inhibido por la acción o presencia de otra (i), no nos dice nada sobre DONDE está actuando esta sustancia i , ya que para que una sustancia sea transportada o, en general TRASLOCADA (pasada de un lado a otro), pueden ser necesarios varios pasos y el inhibidor actuar en uno o varios de ellos. El flujo de Na^+ , por ejemplo, puede ser inhibido por el AMILORIDE. Esta sustancia actúa inhibiendo, disminuyendo, la permeabilidad al ion. Ya sea que el transporte sea activo o pasiva, el Na^+ se ve impedido o frenado en su pasaje y el flujo cae. También se puede obtener inhibición del flujo de Na^+ por acción del CIANURO. Este reacciona con el hierro, al estado férrico, de la enzima oxidasa del citocromo-c mitocondrial, formando un complejo que impide el ciclo normal de la respiración celular. El transporte ACTIVO, la BOMBA de Na^+ se para porque cesan las reacciones oxidativas y cesa la formación de ATP. El DINITROFENOL desacopla las fuentes de energía que forman ATP. Desde este punto de vista, actúa de un modo similar al cianuro y, en ambos casos, en una célula, por ejemplo, la SALIDA de Na^+ esté inhibida, pero puede ser restablecida por el agregado de ATP. La OUABAINA es otro inhibidor del transporte ACTIVO de Na^+ , pero esta vez por acoplamiento con la ATPasa Na^+ / K^+ dependiente. Otros inhibidores enzimáticos también pueden actuar en esta etapa del mecanismo del transporte y ese es el caso del IODOACETATO. Como se ve, el término INHIBIDOR es sólo una denominación genérica y el uso de varios de ellos, en una misma preparación, puede permitir separar sus distintas etapas, una suerte de "disección" farmacológica.

2.4 LOS EPITELIOS: ALGO MAS QUE UN CONJUNTO DE CELULAS

Si volvemos atrás, al comienzo de este libro, se verá que dijimos que los epitelios son los límites del compartimiento corporal. En el intestino, por ejemplo, la cara del epitelio que mira hacia la luz (lado mucoso) puede considerarse en contacto con el medio EXTERNO mientras que el lado en que se encuentran los vasos sanguíneos (lado seroso) está en contacto con el medio interno. Las células intestinales, tomadas aisladamente, tienen características muy similares a muchas otras células del cuerpo: son permeables al agua, tienen bajo contenido de Na^+ , alto contenido de K^+ , tienen bomba de Na^+/K^+ , su interior es negativo con respecto al exterior, etc., etc. Estas células, sin embargo, están muy frecuentemente en contacto, por ejemplo, con soluciones diluidas. Bastará que bebamos una cierta cantidad de agua, para que esto ocurra. ¿Qué pasaba con un eritrocito si lo colocábamos en una solución de este tipo? Se hinchaba y podía haber destrucción celular. Esto no ocurre en el caso de las células del intestino CUANDO ESTAN COLOCADAS FORMANDO UN EPITELIO.

Para demostrar esto bastará poner la mucosa intestinal de un animal de experimentación, como la rata y el sapo, entre dos cámaras (Fig.2.46) y agregar una solución hipotónica en el lado mucoso y una solución isotónica en el lado seroso. Habrá un movimiento de agua de mucoso al seroso, pero no habrá cambios notables en la estructura de las células o el epitelio. Si, por el contrario, en esa misma cámara, se coloca agua o una solución hipotónica en el lado seroso, las células se hinchan y se destruyen. Este sencillo experimento demuestra que las células intestinales, como las de todos los epitelios, están POLARIZADAS: cada una de sus caras tiene propiedades diferentes. Es muy interesante ver lo que ocurre cuando a estas células, en un medio especial, se las separa del epitelio y se las cultiva *in vitro*: pierden su polaridad y no hay caras que se puedan distinguir. Si, en su vida en el medio de cultivo, se unen formando otra vez, un epitelio, las células recuperan su ASIMETRIA.

Es lógico, entonces, deducir que los epitelios, y las células que los componen, tienen DOS sistemas de transporte de agua y de solutos funcionando SIMULTANEAMENTE. Un sistema, igual al que describimos, en general, para cualquier célula, y que mantiene la vida celular y otro sistema que determina y regula los FLUJOS

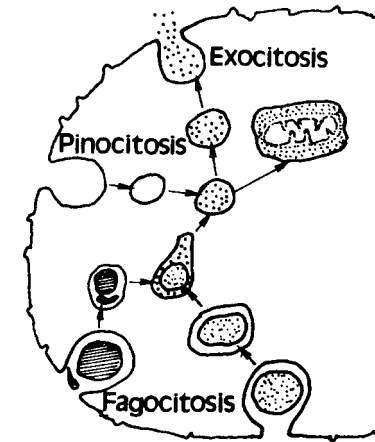


FIG. 2. 45 ESQUEMA DE LOS ASPECTOS DINAMICOS DEL SISTEMA LISOSOMICO CON LAS RELACIONES ENTRE FAGOCITOSIS, PINOCITOSIS, EXOCITOSIS Y AUTOFAGIA (Redibujado de De Robertis y De Robertis, Biología Celular y Molecular, El Ateneo, 1981)

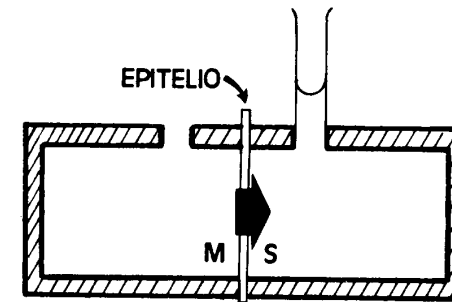


FIG. 2.46 EN LA CAMARA SE HA MONTADO LA MUCOSA INTESTINAL DE UN ANIMAL DE EXPERIMENTACION. SI SE COLOCA UNA SOLUCIÓN HIPOTONICA DEL LADO MUCOSO DEL EPITELIO (M) Y UNA SOLUCION ISOTONICA EN EL LADO SEROSO (S) EL EPITELIO SE MANTIENE Y PUEDE HABER UN FLUJO DE AGUA M --> S. SI SE COLOCA UNA SOLUCION DILUIDA EN EL LADO (S) LAS CELULAS SE HINCHAN Y PIERDEN SU INTEGRIDAD TRANSPITELIALES. Su funcionamiento está basado en principios e ideas similares al de los sistemas de transporte

en células, pero con objetivos diferentes: absorber, secretar, excretar, etc. y serán ESPECIFICOS para cada epitelio, como se verá en los capítulos siguientes.

**FIN DE LA
PARTE 3 DEL CAPITULO 2,
CONTINUA PARTE 4**