

POTENCIAL DE DIFUSIÓN

Biofísica 2016

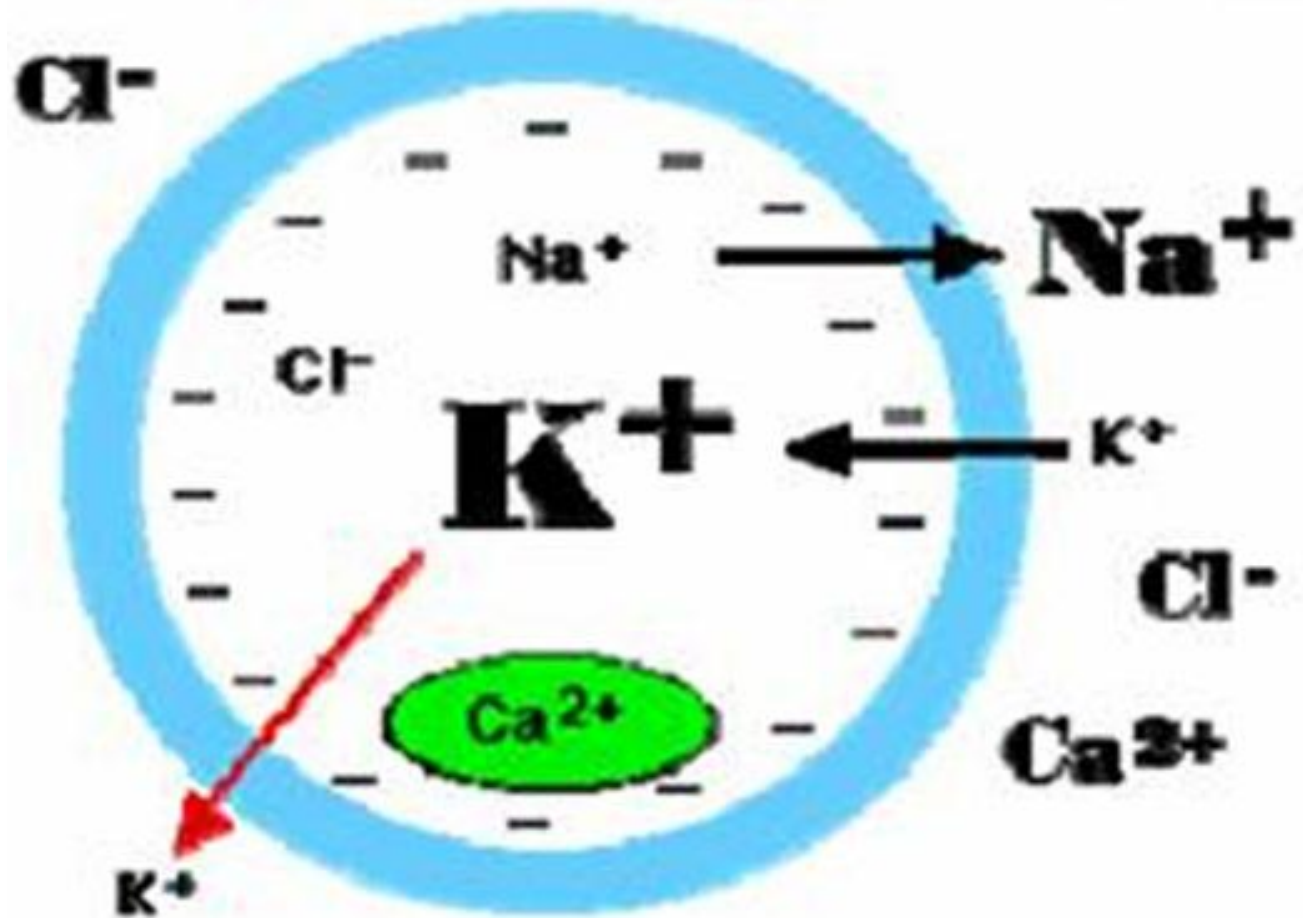
¿Qué es el potencial de membrana?

A ambos lados de la **membrana celular** hay cargas eléctricas: cara interna, **NEGATIVA** y cara externa **POSITIVA**. Esto genera una **DIFERENCIA DE POTENCIAL ELÉCTRICO**, llamado **POTENCIAL DE MEMBRANA**.

¿Por qué la cara interior es **NEGATIVA**?

En el interior celular y al pH 7,4, abundan las proteínas cargadas **NEGATIVO**

El catión K está más concentrado en el interior y tiende a salir.



En resumen....

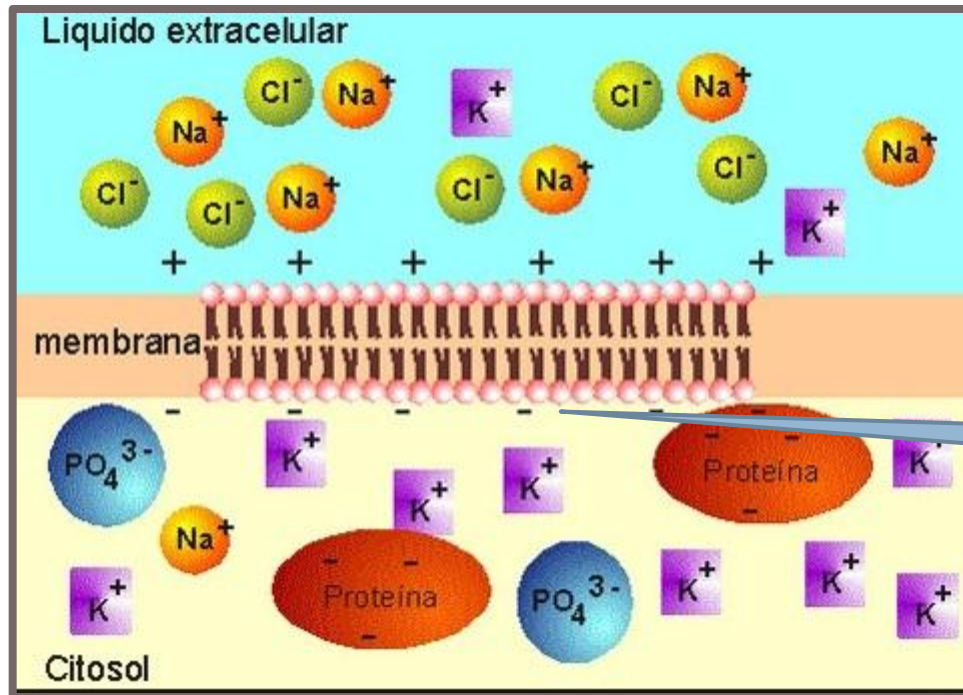
En las membranas celulares ocurren movimientos de iones:

- Los cationes K salen por canales sin restricción favorecidos por la permeabilidad de la membrana y debido al gradiente de concentración. Esto favorece la **alta electropositividad del exterior (fuerza química)**
- Los cationes Na, ingresan atraídos por la **alta electronegatividad del interior** generada por las proteínas citoplasmáticas cargadas negativas al pH intracelular. Y favorecidos por el gradiente de concentración. Hay pocos canales de Na abiertos en una membrana en reposo (**fuerza electroquímica**)

¿Cómo se **mantiene** la diferencia de potencial de la membrana?

Debemos tener en cuenta que los mecanismos de **difusión** ocurren de manera **espontánea**, lo cual llevaría a un **equilibrio** (no deseado), a menos que haya mecanismos que limiten el movimiento de iones y contribuyan a mantener el estado **estacionario**.

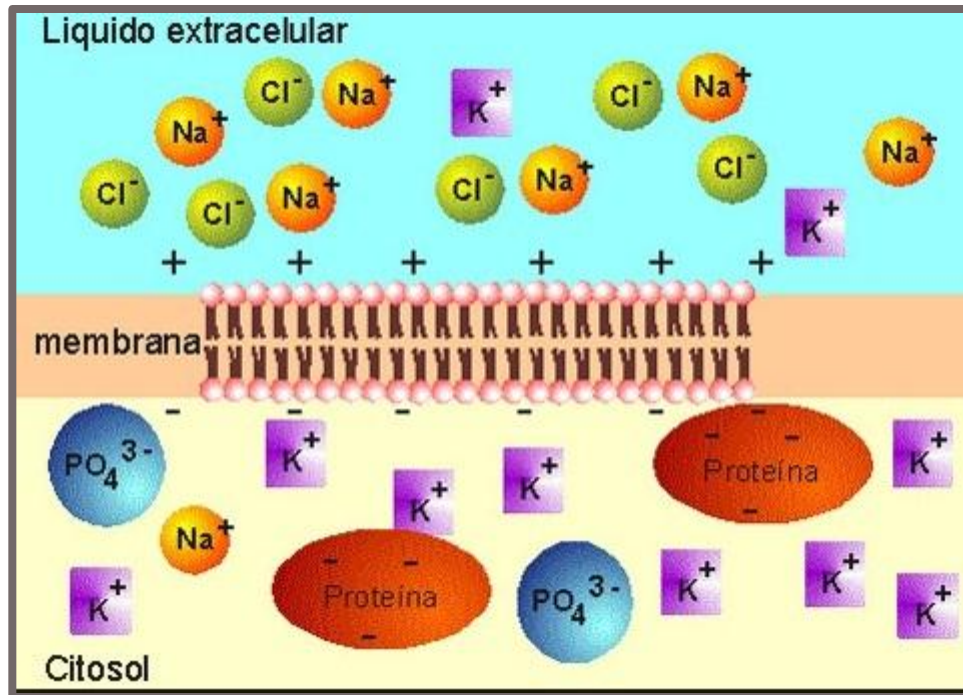
¿Qué frena la salida de catión K?



**Carga
(-)**

1. La salida de K se detiene cuando hay suficientes cargas (-) en el citoplasma, tal que atrae los cationes K. (gradiente eléctrico)
2. Los aniones Cl ingresan por gradiente de concentración.
3. El equilibrio, se alcanza cuando $\Delta V = (-) 70 \text{ mV}$

¿Y qué frena la entrada de catión Na?



1. La permeabilidad al catión Na es 100 veces menor que la del catión K.
2. Los canales de Na son dependientes del potencial y permanecen «cerrados».
3. La bomba de Na/K ATP usa, saca el Na que ingresa favorecido por el gradiente electroquímico.

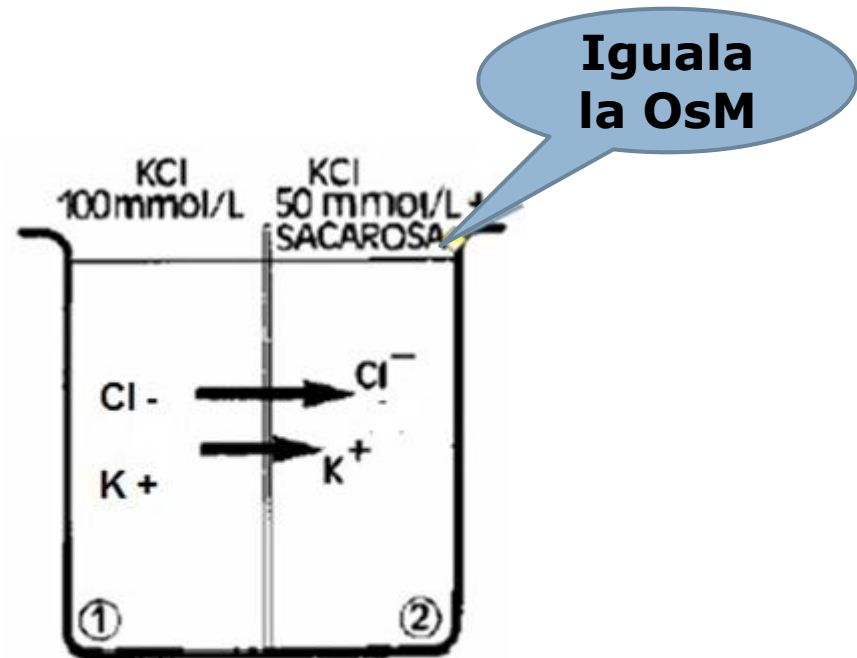
Modelo experimental de membrana con permeabilidad selectiva a iones difusibles

Supongamos un sistema:

1. Sistema de dos compartimentos, separados por una membrana de permeabilidad selectiva a favor del anión Cloruro.

2. Con un gradiente de concentración de ClK.

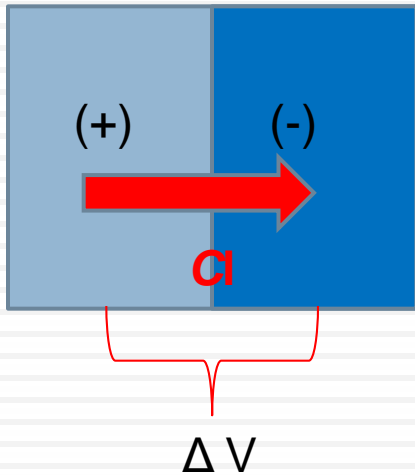
3. Con un soluto en un compartimento que inhibe el flujo osmótico. Ej. Sacarosa, manitol ($\sigma = 1$)



¿Qué ocurre con el paso del tiempo?
Plantearemos dos etapas para mejor comprensión:

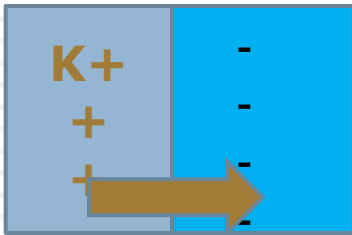
Etapas 1

1. El anión Cl^- difunde de 1 a 2 por **gradiente químico** y más rápido que el catión K^+ . ($P_{\text{Cl}^-} > P_{\text{K}^+}$)
2. Se acumulan cargas (-) en 2.
3. Se genera una **diferencia de potencial eléctrico**: en 1 se acumulan cargas (+) y en 2, las cargas (-).
4. El potencial eléctrico **influye** sobre el fenómeno de difusión.



¿Qué ocurre con el paso del tiempo?

Etapa 2



1. Las cargas (-) en 2 más el gradiente químico, arrastran el catión K hacia 2 (**gradiente electroquímico**).
2. El paso de Cl hacia 2 se ve “frenado” por la repulsión de cargas.
3. El paso de K se ve “acelerado” por el gradiente electroquímico.
4. Es decir: tenían distintas “velocidades” de difusión al inicio, pero luego se asemejan.
5. Apareció una nueva **fuerza impulsora**: ΔV

¿Cuál es la consecuencia de esta situación experimental?

1. Se ha generado un **potencial de difusión**.

El **Potencial de difusión** es un potencial eléctrico vinculado a la difusión de iones que tienen distinta permeabilidad, a **favor de un gradiente de concentración**.

¿Cuál es la consecuencia del potencial de difusión?

2.El potencial de difusión es el **voltaje** necesario para que el catión K deje de pasar a 2, aumentando su concentración en ese compartimento.

Es un **valor de voltaje** que indica un estado de **equilibrio electroquímico**.

Alcanzado ese **voltaje**, deja de pasar el catión K.

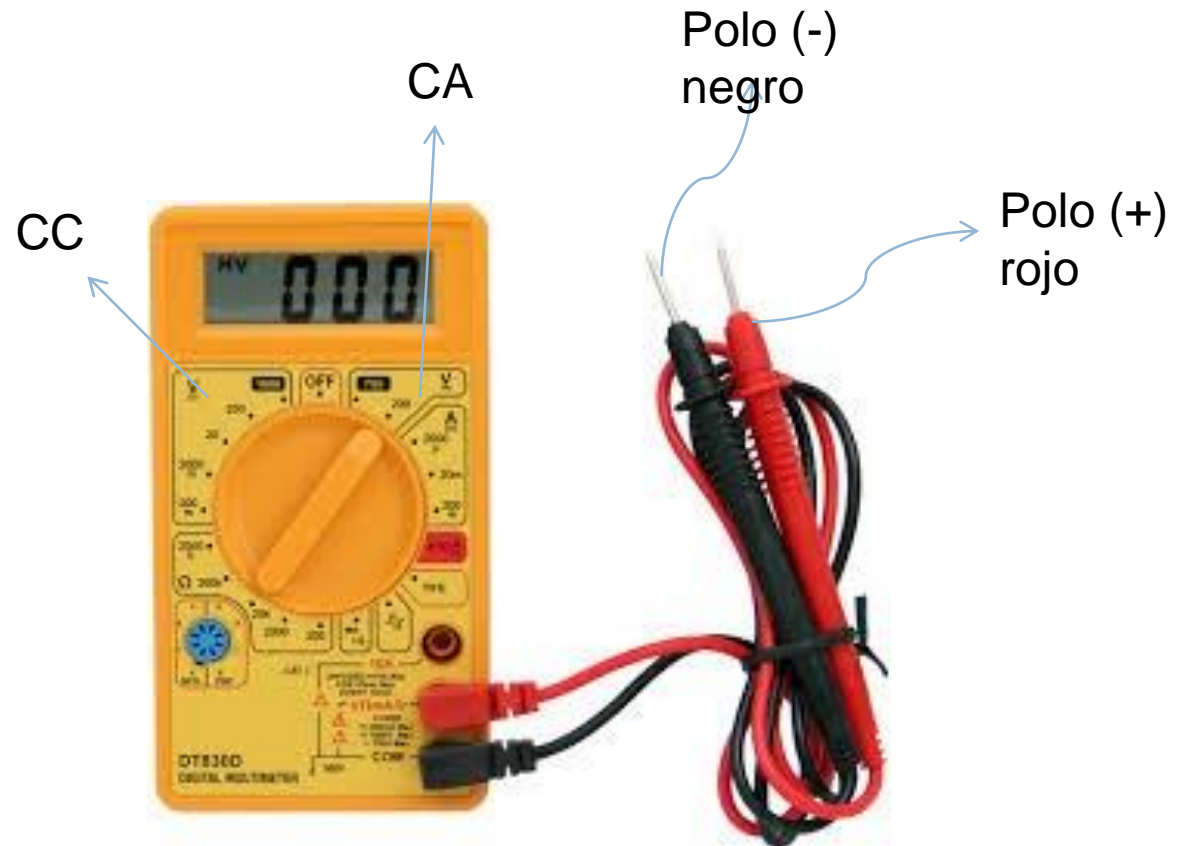
Consecuencia del potencial de difusión:

**DETENER EL FLUJO DE IONES
A TRAVÉS DE LA MEMBRANA!**

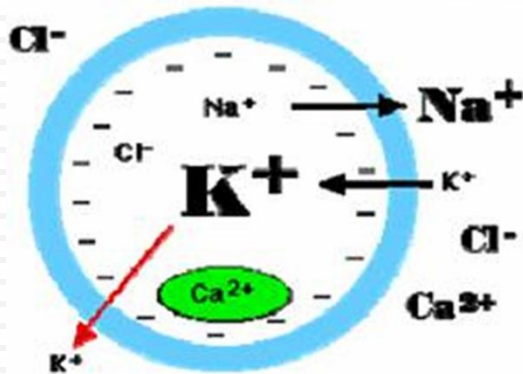
**Una vez que se detiene el flujo
neto, DESAPARECE el potencial de
difusión, el $\Delta V = 0$**

Medición experimental de la diferencia de potencial eléctrico entre el medio IC y EC

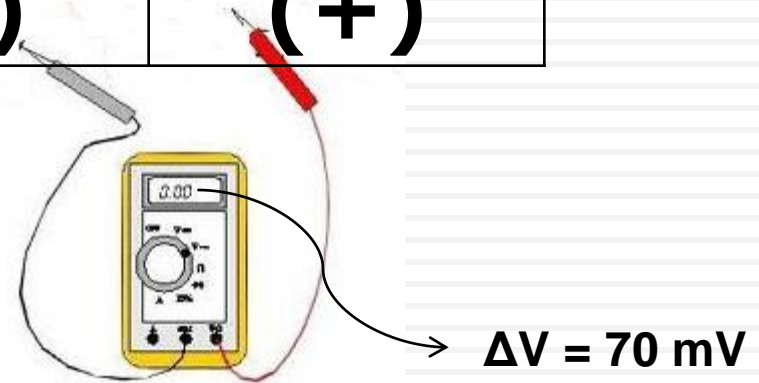
Multímetro digital o *tester*. Funciona como amperímetro, voltímetro y óhmetro



Medición experimental de la diferencia de potencial eléctrico entre el medio IC y EC



IC	EC
(-)	(+)



Interpretación de las mediciones obtenidas con un multímetro

Ejemplos

ΔV medido	Interpretación
(+) 70 mV	Hay Difusión neta de iones
0 mV	No hay Difusión neta de iones
(-) 70 mV	Hay Difusión neta de iones, pero los electrodos se aplicaron en la polaridad invertida

El voltaje del potencial de difusión se puede calcular con la ecuación de NERNST

$$\Delta V = V_2 - V_1 = (-) \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln \frac{C_2}{C_1}$$

Para una T= 37 °C y reemplazando por logaritmo decimal:

$$V_2 - V_1 = \Delta V = (-) 61 / z \cdot \text{Log} (C_2/C_1)$$

El voltaje del potencial de difusión generado entre el medio IC y el EC

$$\Delta V = V_{IC} - V_{EC} = (-) \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln \frac{C_{IC}}{C_{EC}}$$

Para una $T = 37 \text{ }^\circ\text{C}$ y reemplazando por logaritmo decimal:

$$V_{IC} - V_{EC} = \Delta V = (-) 0,61/z \cdot \text{Log}(C_{IC}/C_{EC})$$

Ejemplo de aplicación

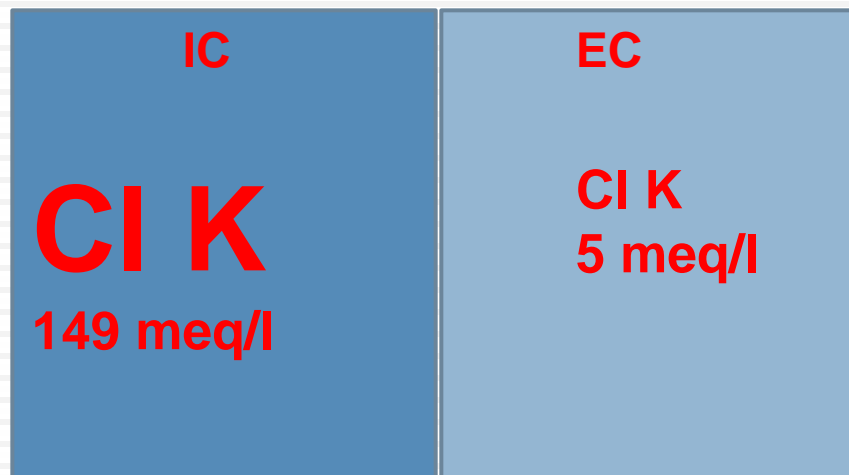
Calcular la diferencia de voltaje (ΔV) necesario para que el catión K^+ detenga su difusión desde el medio IC al EC.

Aplicamos la ecuación de Nernst con las concentraciones del K^+ en el medio IC y EC:

$$\begin{aligned} V_{IC} - V_{EC} &= (-) 61/z \cdot \text{Log}(149 \text{ mEq/l}/5 \text{ mEq/l}) \\ &= (-) 89,9 \text{ mV} = (-) 90 \text{ mV} \end{aligned}$$

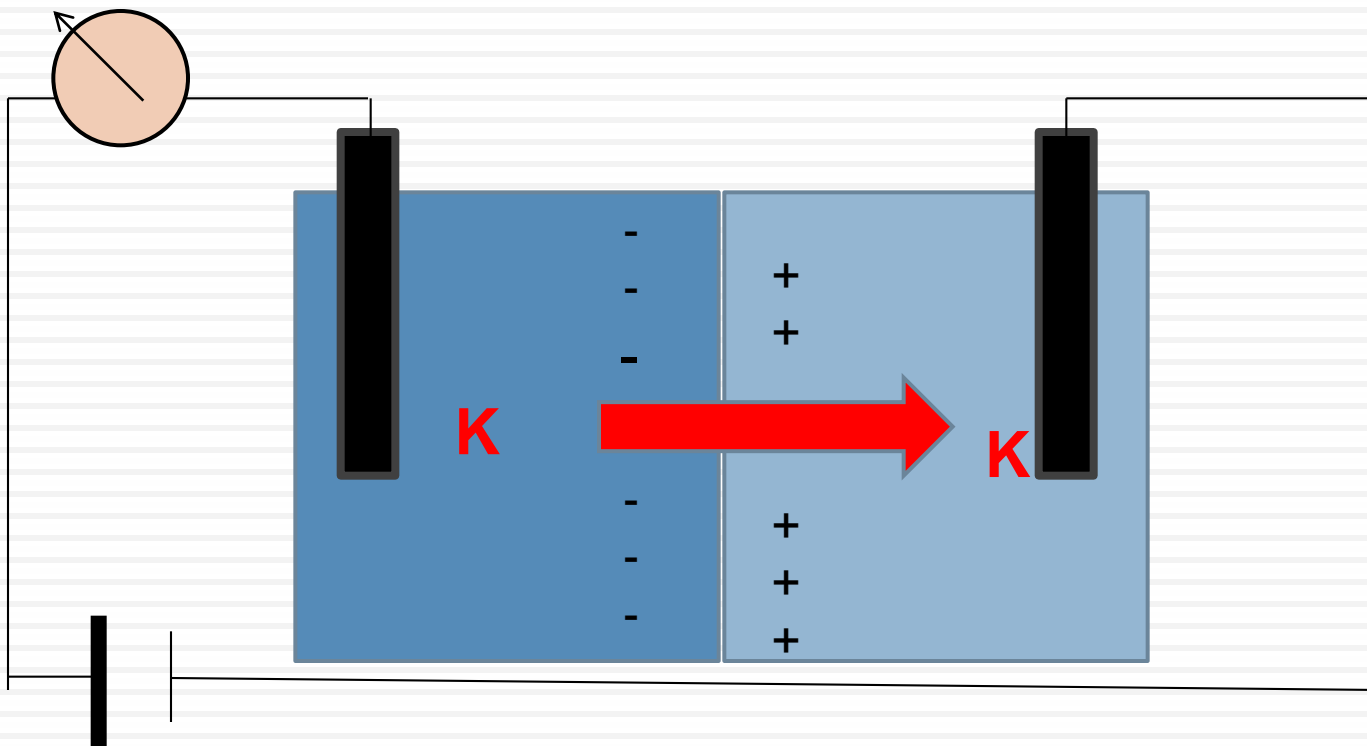
Veamos un ejemplo de lo que ocurre en el medio intra y extracelular

Supongamos un experimento: Un sistema que representan el medio IC (izq) y el EC (der.), separados por membrana **selectiva permeable al K^+** y a $20\text{ }^\circ\text{C}$.



Colocamos un par de electrodos y medimos la ΔV

Difusión del K^+ a favor del gradiente **químico**



Continuemos

Si el voltímetro marca un valor, por ej. (-)70 mV, ¿qué significado tiene este valor?

Apliquemos la ecuación de Nernst:

$$V_{IC} - V_{EC} = \Delta V = - \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln \frac{C_{IC}}{C_{EC}}$$

(-) (+)

$$\Delta V = (8,31 \cdot 293) / (1 \cdot 96500) \cdot (\ln 149/5) = 0,086$$

$$(J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1} \cdot K \cdot mol \cdot V \cdot J^{-1}) = V \dots\dots\dots = (-)86 \text{ mV}$$

Comparemos la medición potencio métrica con el valor calculado con Nernst

La medición (-) 70 mV significa que el medio IC está 70 mV más negativo que el medio EC.

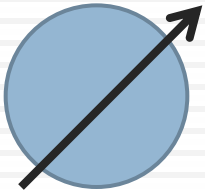
El valor calculado, significa que la fuerza eléctrica o potencial de difusión (ΔV) debiera ser (-) 86 mV para que cese el paso de K^+ hacia afuera.

Decimos: **el K^+ NO alcanzó el equilibrio electroquímico**

¿Y cómo se justifica que el potenciómetro mida (-) 70 mv?

Una razón puede ser que aún no difundió suficiente catión K hacia el medio EC, como para que se incrementa la carga (-) en el medio IC hasta (-) 86 mV.

Para el mismo sistema, supongamos que ahora el potenciómetro da otra medida: (-) **90 mV**



¿Está en equilibrio electroquímico el K^+ ? **NO**. ¿Cómo lo justificamos?

1º Para que cese el paso de K^+ hacia el medio EC, es preciso una fuerza eléctrica de (-) 86 mV.

2º Podemos pensar en algún mecanismo que hace más negativo el medio IC y el catión se vea atraído por ese «exceso» negativo, «en contra de su gradiente»

Análisis del signo de la ecuación de Nernst y las mediciones potenciométricas

Usemos el ΔV calculado para el K^+ : (-) 86 mV como referencia y veamos cuatro valores dados por el multímetro.

Medida 1	Medida 2	Medida 3	Medida 4
- 70 mV	+ 70 mV	0	- 86 mV
(-) - (+) \Rightarrow (-)	(+) - (-) \Rightarrow (+)		(-) - (+) \Rightarrow (-)
V IC - VEC	V EC - VIC	V IC - VEC = 0	V IC - VEC
No está en equilibrio EQ	No está en equilibrio EQ	No hay gradiente. Difusión neto 0	Está en equilibrio EQ

¿El potencial de difusión se mantiene constante?

NO, mientras los **iones** sean todos **difusibles**.

Sin embargo, el potencial de difusión puede mantenerse, si hay un ión **NO DIFUSIBLE** en uno de los compartimentos.

Consecuencias del “equilibrio” de Gibbs-Donnan

- Se mantiene un potencial de difusión a expensas de un gradiente electroquímico generado por la existencia de un ión NO DIFUSIBLE.
- Hay un potencial eléctrico, cuyo voltaje se calcula con la ecuación de NERNST.
- Hay un gradiente osmótico generado por el gradiente químico.