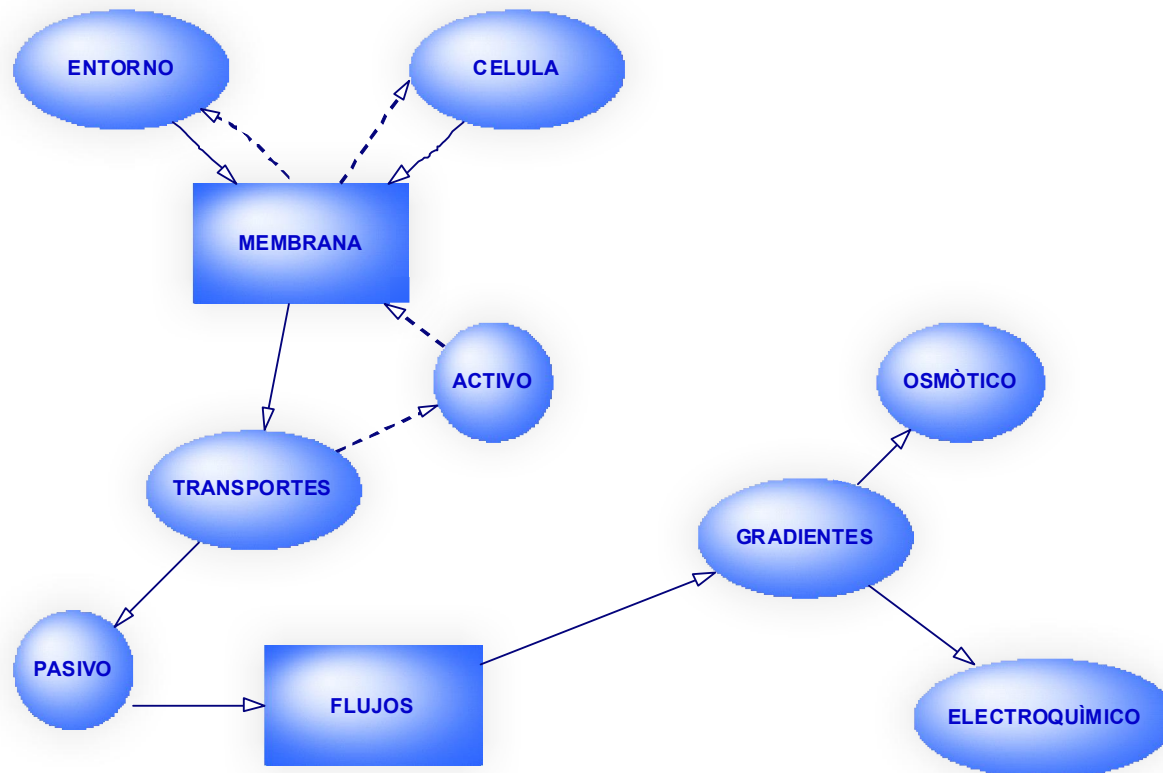


POTENCIAL DE
MEMBRANA Y
POTENCIAL DE
DIFUSIÓN

Biofísica 2015

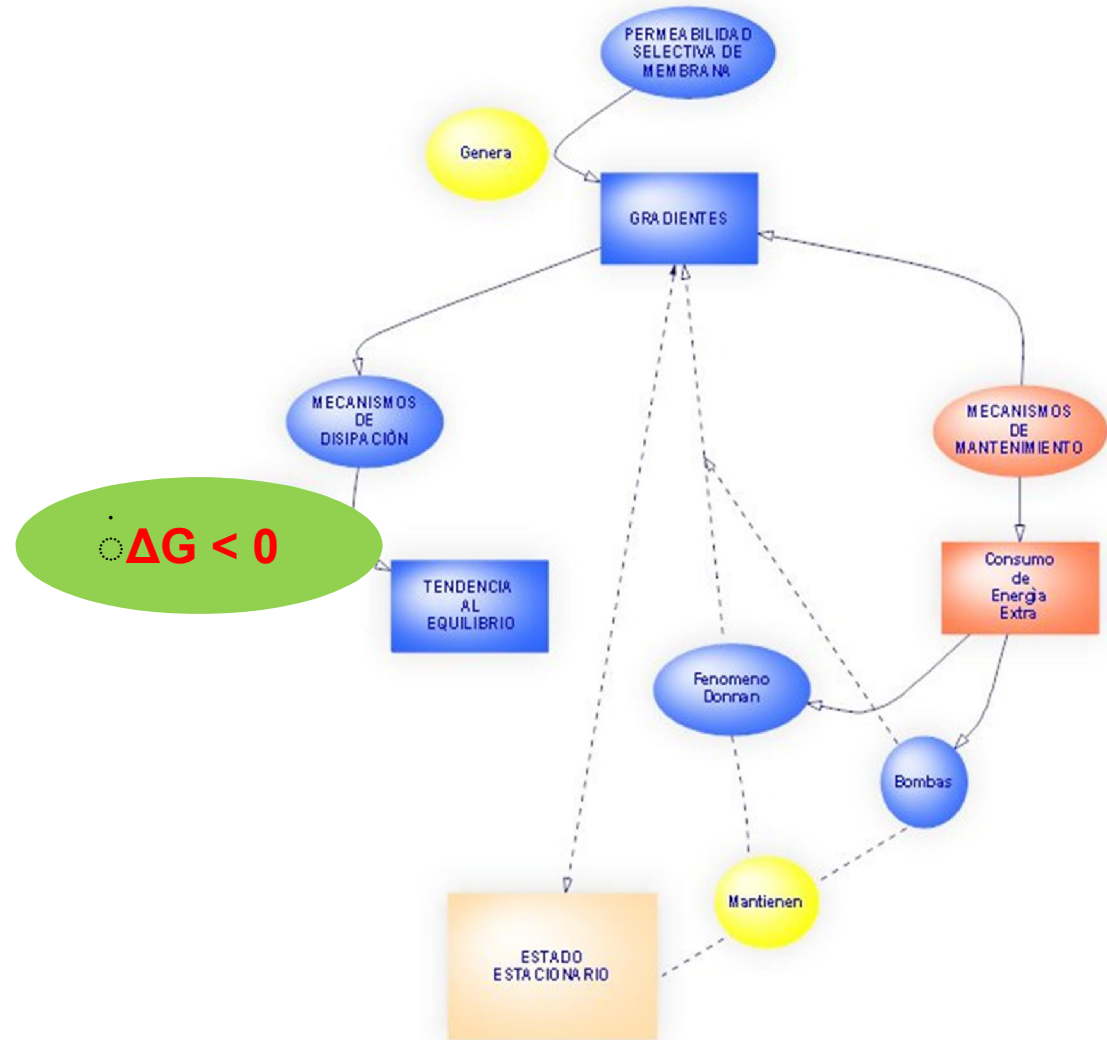
Revisemos los temas estudiados hasta el momento

Còmo se generan los gradientes entre cèlula y entorno



Mantenimiento del Estado Estacionario

Mecanismos
disipativos
y
mantenedores
de gradientes



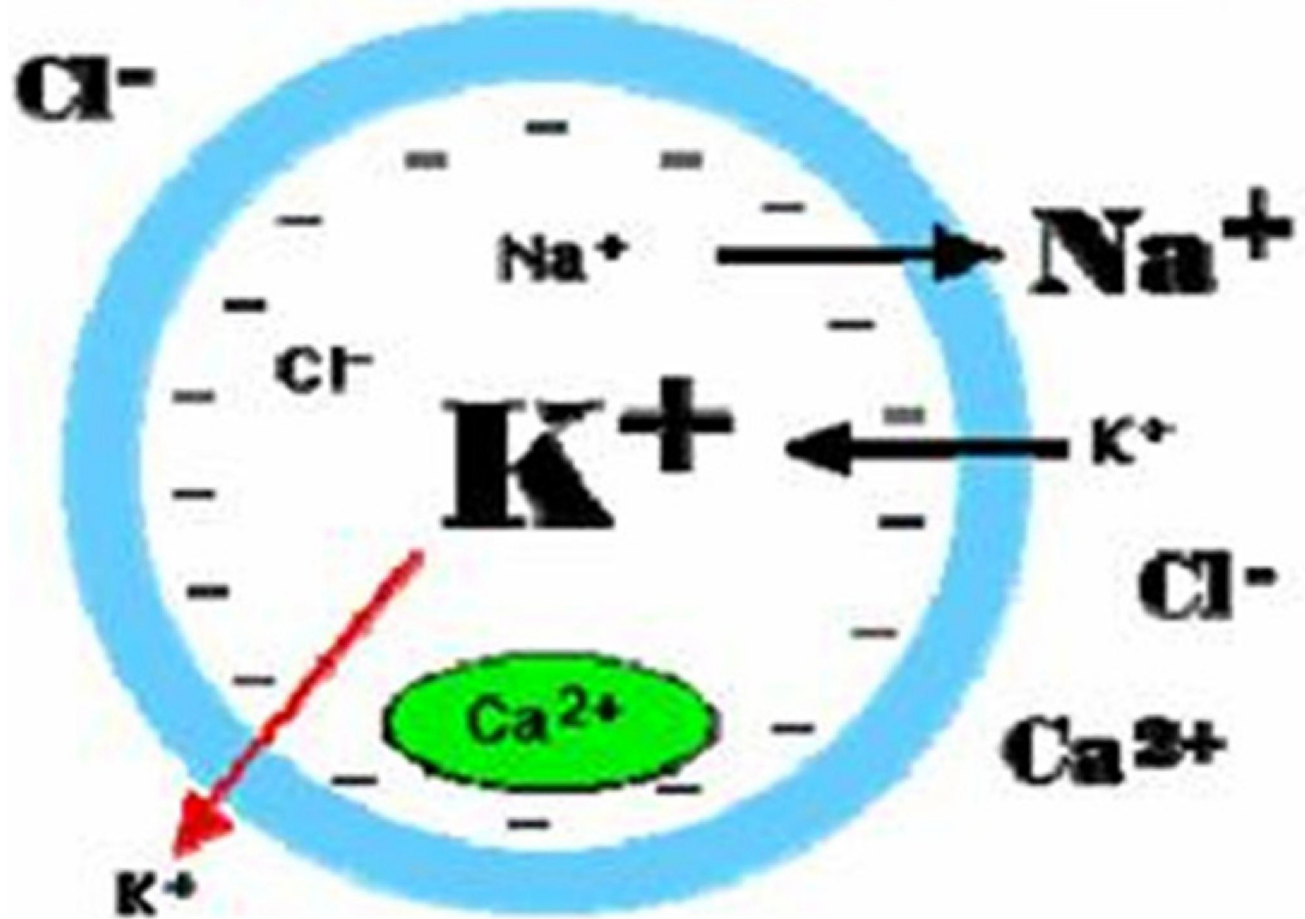
¿Qué es el potencial de membrana?

A ambos lados de la **MC** (membrana citoplasmática o 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

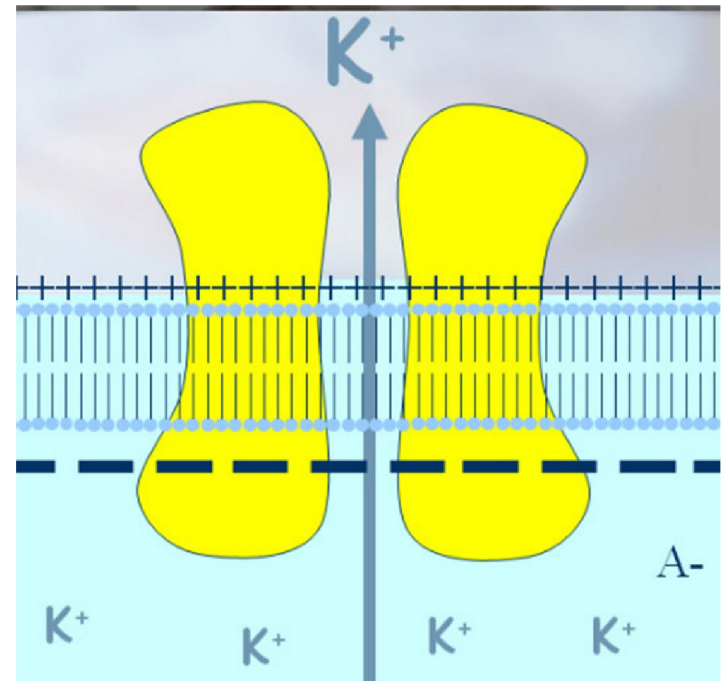
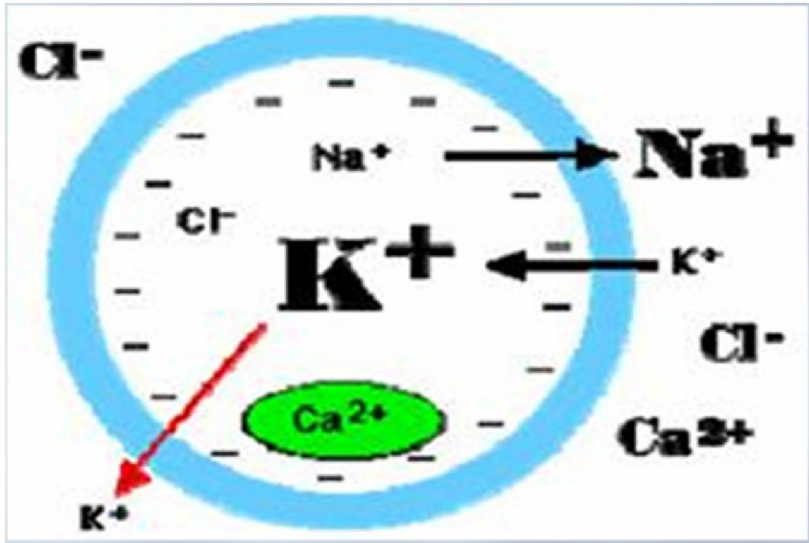
El catión K está más concentrado en el interior y tiende a salir.



¿Por qué la cara externa es POSITIVA?

La cara exterior es positiva, debido a la alta concentración de cationes Na. Los canales de Na están muy poco abiertos durante el reposo de las membranas.

Los cationes K salen porque la membrana posee canales "de fuga" abiertos



En resumen....

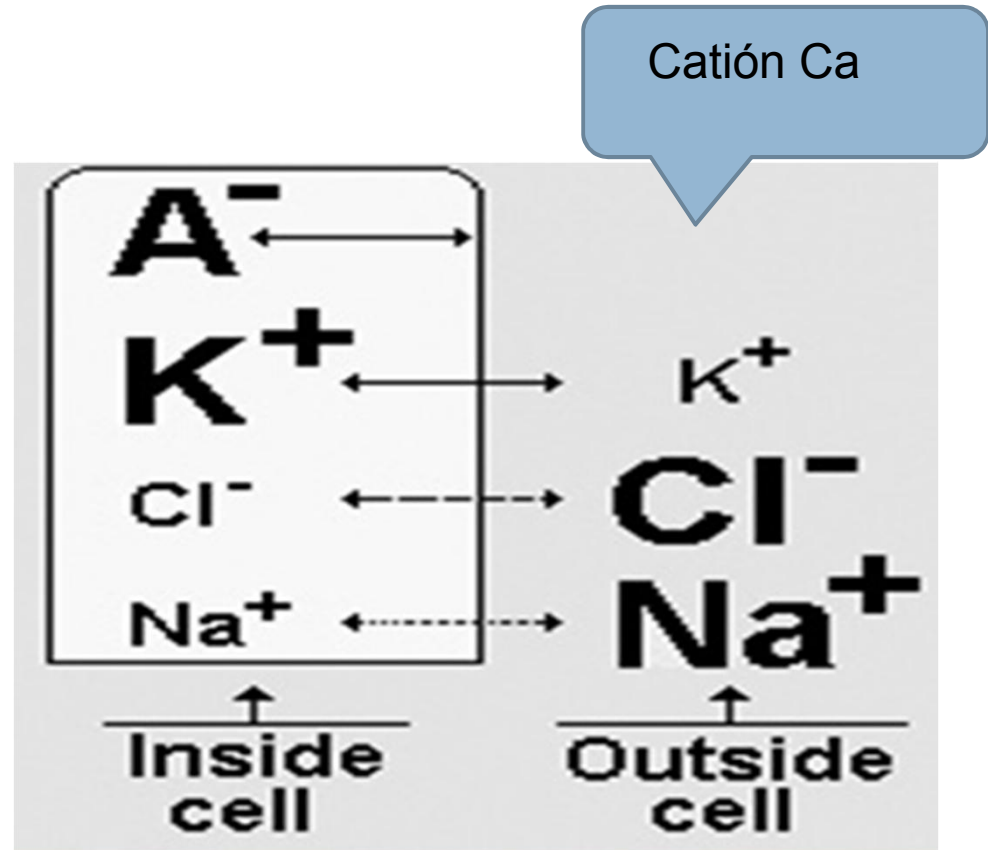
En las membranas celulares ocurren movimientos de iones:

- los iones 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 iones 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)**

Iones intra y extracelulares predominantes

Es importante reconocer esta distribución básica de iones.

Al catión Ca debemos considerarlo en algunos mecanismos siendo un ión extracelular

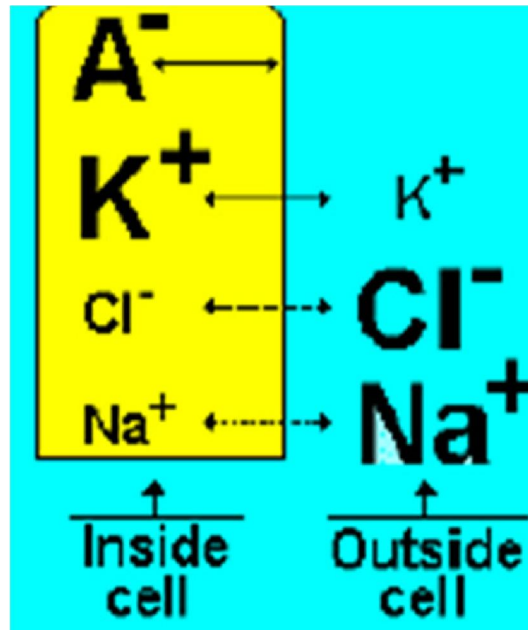


¿Cómo se mantiene la diferencia de potencial de la membrana?

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?

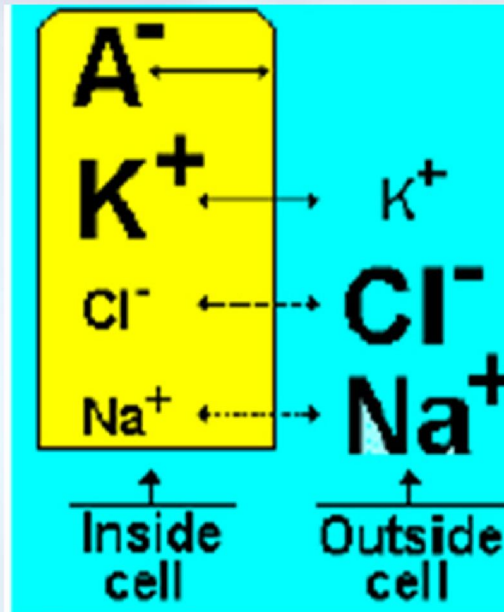
Veamos un ejemplo típico del potencial de la membrana de una neurona



- La salida de K^+ se detiene cuando el interior de la célula es lo suficientemente negativo como para retener cargas (+)
- A favor de gradiente químico, comienzan entrar iones Cl^- (cargas negativas)
- Se llegará a un equilibrio en el cual el potencial de membrana es de -70 mV en una neurona típica.

¿Y qué frena la entrada de catión Na?

Seguimos el ejemplo del potencial de membrana en reposo de una neurona.

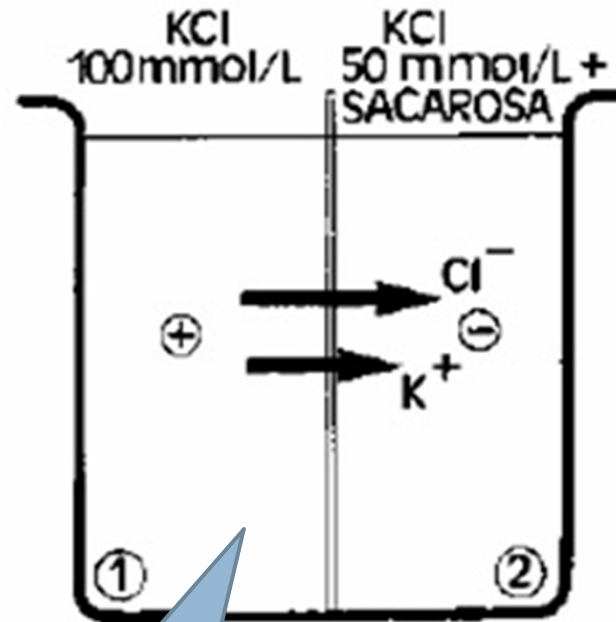


- En condición de reposo la permeabilidad al Na^+ es mínima (la del K^+ es 100 veces mayor), lentamente, y a favor de gradiente de concentración irían entrando iones Na^+ (que neutralizarían el potencial de membrana)
- Pero, existe la ATPasa de Na-K que expulsa iones Na^+ e introduce iones K^+ lo que restablece los gradientes.

Analicemos lo que ocurre con un modelo experimental

Supongamos un sistema:

1. Con 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 ($\sigma = 1$)



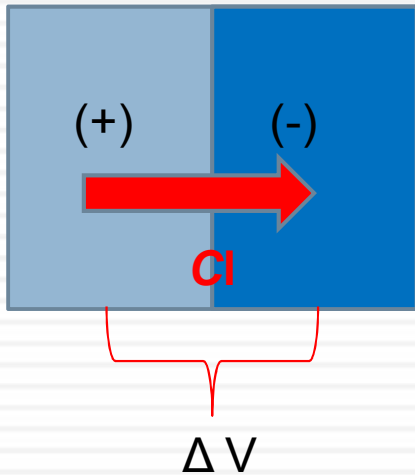
Iguala la OsM

| Ps | Cl ⁻ | K ⁺ |
|--------------------|------------------|------------------|
| cm.s ⁻¹ | 10 ⁻⁶ | 10 ⁻⁹ |

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

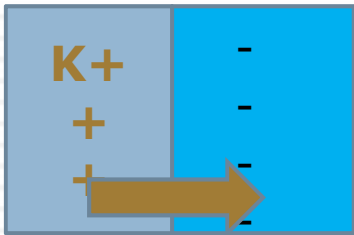
Etapa 1

1. El anión Cl difunde de 1 a 2 por **gradiente químico** y más rápido que el catión K. ($P_{s\text{ Cl}^-} > P_{s\text{ K}^+}$)
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 que **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.

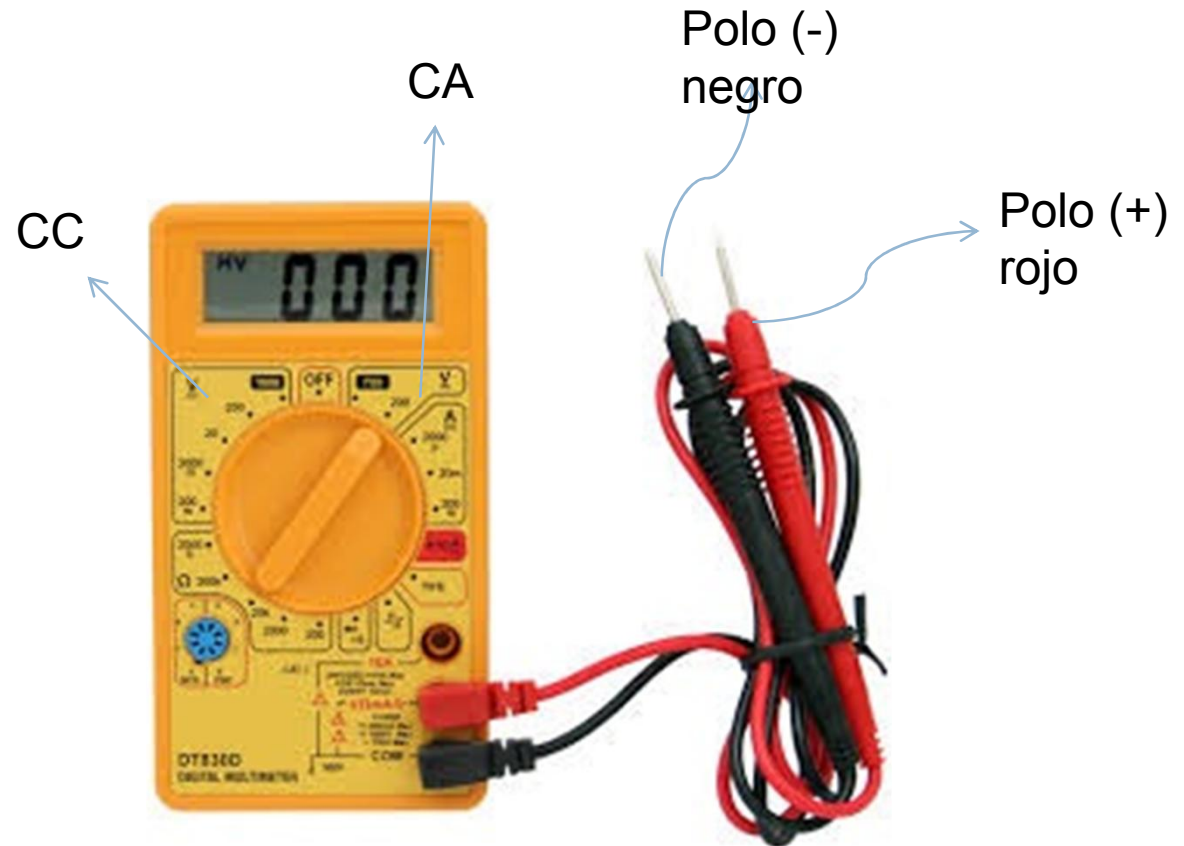
Consecuencia del potencial de difusión:

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

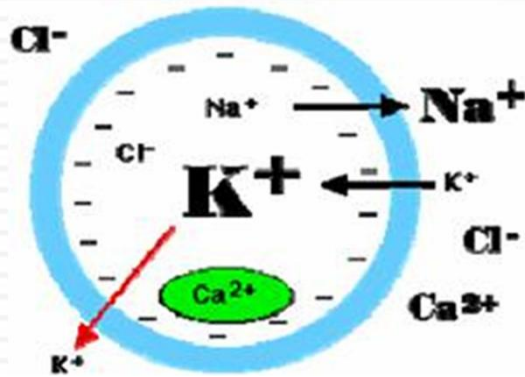
**Una vez que se detiene el flujo
neto, DESAPARECE el potencial de
difusión, el $\Delta V = 0$**

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

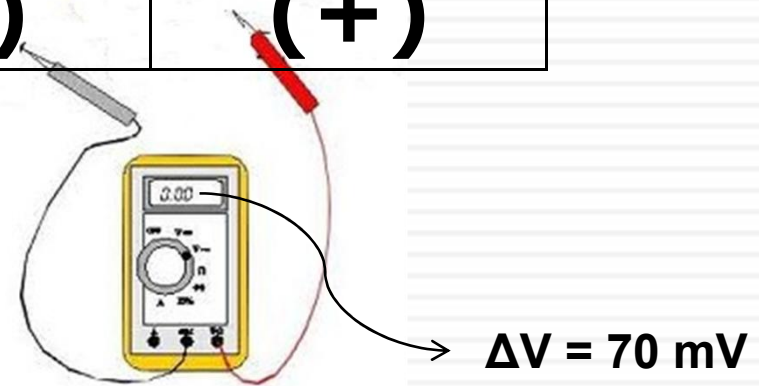
Multímetro digital o *tester*. Funciona como amperímetro, voltímetro y óhmetro



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

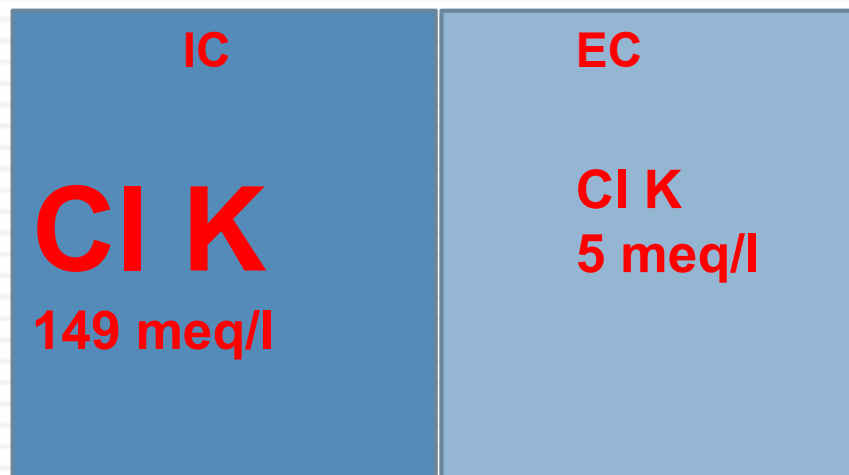
Calcular la diferencia de voltaje (ΔV) necesario para que el catión K^+ detenga su difusión desde el medio IC al EC.

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

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

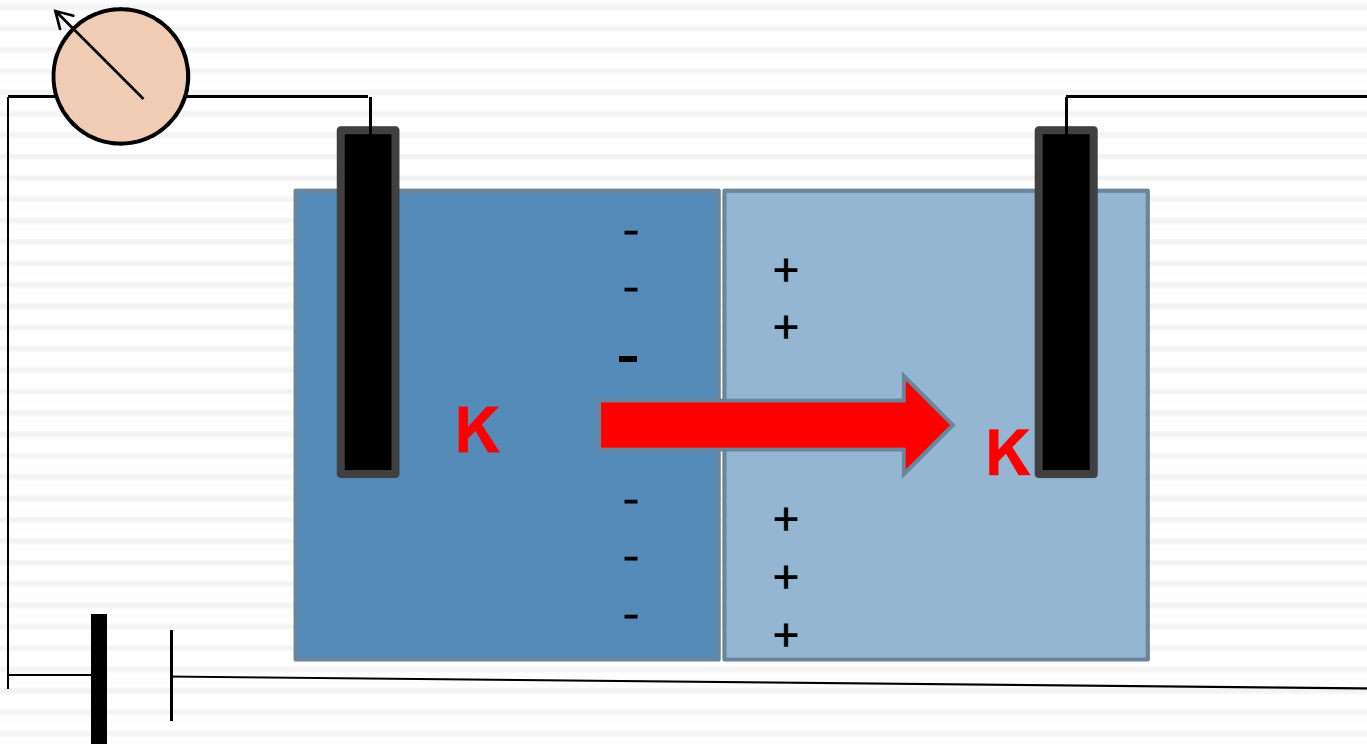
Veamos un ejemplo de lo que ocurre en el medio intra y extracelular

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.

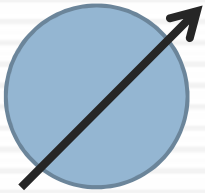
El valor calculado, significa que la fuerza eléctrica o potencial de difusión (ΔV) debiera ser (-) 85 mV para que cese el paso de K^+ hacia afuera.

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 (-) 85 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 | Está en equilibrio EQ |

¿El potencial de difusión se mantiene constante?

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

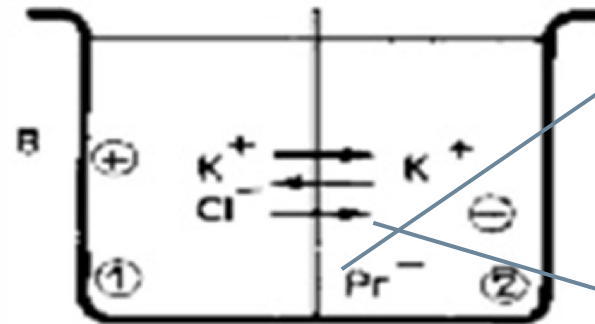
Sin embargo, el potencial de difusión puede mantenerse, si hay un ión **NO DIFUSIBLE** en uno de los compartimentos.

“Equilibrio” de GIBBS - DONNAN

A: Concentración inicial igual de iones difusibles.

B: Existencia de un ion NO DIFUSIBLE en un compartimento, que genera un gradiente químico, eléctrico y osmótico.

C: El “**equilibrio**” es un gradiente con potencial de difusión que se mantiene sin disiparse.



Proteinato:
Ión NO
DIFUSIBLE
que arrastra
cationes K

Cationes K,
arrastran
aniones Cl

Gradiente
electroquímico

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.