

TRANSPORTE MOLECULAR Y IÓNICO A TRAVÉS DE MEMBRANA CELULAR

INTRODUCCIÓN

Como hemos visto, el hombre está constituido por una serie de compartimentos, los cuales se encuentran separados por barreras biológicas: membranas celulares, que limitan el compartimiento intracelular, y las barreras epiteliales, que limitan el compartimiento intersticial, tubo digestivo, etc.

Estas estructuras efectúan un control cuali y cuantitativo de la **entrada** y la **salida** de sustancias esenciales, como iones, glucosa, aminoácidos, y lípidos, así permiten que tales sustancias entren fácilmente en la célula y los compuestos de desechos la abandonen.

Como consecuencia de este intercambio *selectivo*, se contribuye a mantener las diferencias en la composición de los medios que la separan.

Veremos además, **la gran importancia** en mantener las diferencias de concentración y de cargas dentro y fuera de la célula.

MEMBRANA CELULAR

Comenzaremos a analizar mediante preguntas y respuestas el tema que nos compete.

1) **¿Cuál es la composición química de nuestra membrana celular?**

Es una barrera que hay que atravesar para ingresar a cualquier célula. Todas están formadas por **lípidos, proteínas e hidratos de carbono**, en proporción decreciente.

La estructura de base de la membrana celular, está formada por una **bicapa lipídica**, los tres principales lípidos que la componen son fosfolípidos, glicolípidos y colesterol. Los fosfolípidos, están compuestos por una cabeza (ácido fosfórico + alcohol), la cual compone el extremo **hidrofilico**, y dos colas hidrocarbonadas (ácidos grasos) que componen el extremo **hidrofóbico**. La cabeza además de hidrofílica es polar, como consecuencia de esto las moléculas de fosfolípidos se agrupan espontáneamente en el agua de forma tal que exponen sus cabezas y ocultan sus colas, esto da a distintos ordenamientos como los siguientes:

- ❖ **Micelas:** ocultando sus colas hidrofóbicas y exponiendo sus cabezas polares, al plegarse sobre si
- ❖ **Bicapas:** esconden sus colas hidrofóbicas, que quedan enfrentadas como un sándwich
- ❖ **Vesículas:** la bicapa lipídica se pliega sobre si misma, protegiéndolos componentes hidrofóbicos

Los glicolípidos tienen una cabeza polar, constituida por uno o más azúcares, están dispuestos en el lado externo de la bicapa.

El colesterol se encarga de disminuir la fluidez y la permeabilidad de la membrana a pequeñas moléculas solubles en agua, como pueden ser los iones

El segundo componente central de la membrana son las proteínas, estas mayormente atraviesan la membrana de lado a lado, cumplen varias funciones como receptores, sistemas enzimáticos, transportadoras, canales, etc

Los carbohidratos se encuentran asociados a las proteínas y lípidos, dispuestos en la cara externa de la membrana plasmática.

Para más detalles acerca de la estructura química de la membrana celular, se podrá consultar el **Apéndice I**

dispuesto al final del apunte.

2) ¿Qué propiedades fundamentales cumplen las membranas biológicas?

- Son insolubles y resistentes a presiones apreciables.
- Son flexibles, por lo cual deformables y acompañan el crecimiento y el movimiento de células y de organelas.
- Son autoensamblantes, por lo que se autorreparan siguiendo el principio termodinámico de disminuir la energía libre a un mínimo.
- Son *selectivamente permeables*, transportan metabolitos, participan en procesos transformadores de energía y en la generación y transmisión de señales físicas y químicas. En este último caso, integran las estructuras que participan de la “comunicación” de “mensajes fisiológicos”.

3) ¿Cuáles son las funciones de la membrana que son de nuestro interés?

- ✓ Mantienen las *diferencias de composición química* entre el interior y exterior celular, por medio del filtrado selectivo de las sustancias que pueden atravesarla.
- ✓ Participan en procesos metabólicos complejos ofreciendo una *matriz* donde las reacciones químicas se hacen ubicuas.
- ✓ *Mediar la entrada y la salida* de nutrientes y de residuos del metabolismo.
- ✓ Establecer *el límite de células*, de organelas intracelulares y de los compartimentos del organismo.

4) ¿Qué significa que la membrana sea selectivamente permeable?

Según experimentos realizados con membrana sintética se observó que dado un tiempo suficientemente largo la mayoría de las sustancias podían atravesarlas, con tiempos de pasajes muy distintos. Estas diferencias de **velocidades** se debían a tres propiedades principalmente:

- **Tamaño:** que a menor tamaño de las moléculas, mayor es la velocidad de difusión
- **Polaridad y carga eléctrica:** cuanto más polar sea una molécula más hidrofílico es su comportamiento, por el contrario las moléculas poco polares o hidrofóbicas, se muestran más afines a sustancias tipo aceite (principal componente de la membrana plasmática).

En conclusión, se demostró entonces, que las moléculas más favorecidas a la hora de atravesar la bicapa eran las pequeñas moléculas no polares que podían disolverse en los lípidos; como por ejemplo los gases como O₂ y N₂; y las sin carga pero polares tenían mayor dificultad, pero lo lograban si eran lo suficientemente pequeñas, es el caso de CO₂ o glicerol.

Podríamos expresar que se ha demostrado que **“a mayor hidrofobicidad de las moléculas, mayor permeabilidad muestra la membrana por ellas”**

Las moléculas cargadas eran las que presentaban mayores dificultades, ya que aunque tengan un tamaño muy pequeño como los iones monoatómicos, la carga hace que éstas se hidraten, es decir que se rodeen de moléculas de agua e impida el pasaje por la barrera lipídica.

El agua aunque es una molécula hidrofílica por excelencia, es una molécula no cargada y tan pequeña que no encuentra dificultad para pasar de un lado a otro de la membrana, filtrándose por los lípidos. La membrana celular muestra bastante permeabilidad al agua y prueba de ello, es que en condiciones fisiológicas, no existe gradiente osmótico entre el medio intracelular y el intersticial. Así mismo, las investigaciones han conducido a descubrir otros modos de transporte del agua, a través de canales proteicos llamados **acuaporinas**. Estos canales han sido muy estudiados y existe una amplia información acerca de sus estructuras, distribución y características.

En el siguiente cuadro se resumen se muestran las características sobresalientes de los tipos moleculares e iónicos a los que la membrana celular muestra una permeabilidad mayor o menor. Están jerarquizados los tipos moleculares e iónicos comenzando por los más permeables a la doble capa de fosfolípidos.

Tipo de molécula	Ejemplo	Permeabilidad
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hidrofóbica ✓ No polar ✓ Pequeña 	<p>O₂ N₂ Hidrocarburos</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Polar ✓ Pequeña ✓ No cargada 	<p>H₂O (levemente permeable) CO₂ Glicerol Urea</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Polar ✓ Grande ✓ No cargada 	<p>Glucosa Disacáridos Polisacáridos</p>	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Con carga ✓ Iones 	<p>Aminoácidos H⁺, HCO₃⁻ Na⁺, Ca²⁺ Cl⁻, K⁺, Mg²⁺</p>	

5) TIPOS DE TRANSPORTES A TRAVÉS DE MEMBRANAS CELULARES

Usaremos una clasificación de los transportes de moléculas y de iones a través de las membranas celulares, basándonos en un **criterio termodinámico**, el cual consiste en valorar si el transporte requiere de una **energía adicional proveniente del metabolismo**, a la requerida para disipar los gradientes químicos y electroquímicos o para “conservar” los gradientes.

Debe quedar claro que estos transportes son verdaderos fenómenos de **difusión** de partículas (moléculas, iones) que se ajustan al modelo físico y matemático enunciado por la 1ª Ley de Fick y por lo tanto, se pueden calcular los flujos netos de difusión.

Es recomendable que el alumno integre las magnitudes termodinámicas bioenergéticas con las características analizadas bajo el modelo físico-químico que en gran medida, depende de los tipos de transportes a través de

membranas.

Presentamos un cuadro resumen con la clasificación de los transportes a través de membranas biológicas más relevantes para moléculas e iones.

Cuadro 1. Clasificación de los transportes a través de membranas biológicas

TIPOS DE TRANSPORTES A TRAVÉS DE MEMBRANAS CELULARES						
TRANSPORTE PASIVO (DIFUSIÓN)			TRANSPORTE ACTIVO			
Libre	Facilitada					
	por canales	por transportadores				
	-----	único o uniport			acoplado	
	-----	-----			simport	antiport

Es importante aclarar que hay otros mecanismos de transportes no menos importantes, que involucran interesantes mecanismos donde la membrana participa de manera especial, como en las endocitosis y exocitosis. Estos mecanismos no serán abarcados en este curso, si bien revisten gran importancia en la biología celular y molecular.

5.1) Transportes pasivos

Mecanismos por los cuales se logra el pasaje de sustancias a través de la membrana cuando éstas constituyen la “frontera” entre dos medios con un **gradiente de concentración** de solutos. El movimiento de las sustancias se produce de forma espontánea (sin gasto de energía)

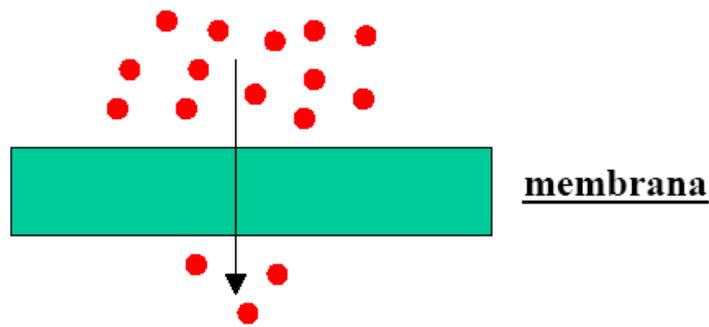
Así, por ejemplo, en el caso de que lo que se va a transportar es un ión, este se moverá a favor de su gradiente electroquímico, por lo que no requiere de un gasto de energía adicional al potencial necesario para disipar el gradiente.

En otras palabras, los transportes pasivos son aquellos que no requieren de la **energía metabólica** para que ocurran.

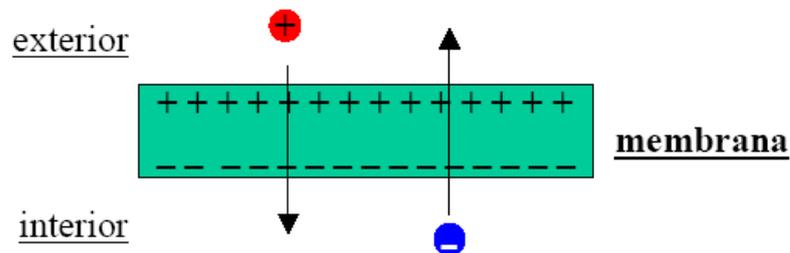
Resumen:

Las dos causas que gobiernan sobre el movimiento de iones a través de transporte pasivo son:

- a) **un gradiente de concentración:** las moléculas se mueven espontáneamente de una región de alta concentración a una región de baja concentración



b) en el caso de iones o moléculas cargadas: **fuerzas eléctricas**



El lado interior de la membrana se encuentra, generalmente, a un potencial eléctrico negativo respecto al lado exterior, lo que da lugar a una fuerza eléctrica que tiende a introducir iones positivos y sacar fuera iones negativos

Analizaremos los diferentes tipos de Transporte Pasivo:

5.1.a) Difusión simple y ósmosis

Sabemos que en una solución, las moléculas de solvente y las de soluto están sujetas a continuo movimiento de traslación al azar debido a la agitación térmica. Este movimiento determina, que si existen diferencias de concentración en una solución, las partículas se desplacen desde donde están más concentradas hacia donde lo están menos, disminuyendo así esas diferencias. Al interponer una membrana semipermeable entre dos soluciones de distintas concentraciones, las moléculas experimentan, además de los movimientos de choques al azar entre sí, choques contra la membrana y si las características en cuanto a polaridad, tamaño y carga, se lo permiten, la atravesarán, desde la zona de **mayor concentración de solutos hacia la de menor**, lo que se conoce como el fenómeno de **difusión simple**. El agua como solvente, se desplaza también según esta tendencia, pero en sentido contrario al que lo hacen las moléculas del soluto, fenómeno llamado **ósmosis**.

Entonces cuando decimos que una sustancia puede atravesar la membrana mediante **difusión simple**, significa que la agitación térmica es suficiente como para provocar el pasaje del medio más concentrado al más diluido, ya que en cierta manera podemos decir, que la molécula es "soluble" en la membrana, siendo el caso de gases, hormonas esteroides y algunas pequeñas moléculas como el glicerol, urea y etanol, los cuales pueden moverse con cierta

rapidez a través de la doble capa de fosfolípidos.

En este tipo de pasaje, no se gasta energía metabólica, porque el movimiento va desde una concentración alta hasta una baja, es decir a favor de su gradiente de concentración químico. Además, tales reacciones de transporte son **espontáneas**, debido a que tienen un valor **positivo ΔS** y por ende **negativo ΔG** , con disminución de energía libre.

La velocidad relativa de difusión de cualquier sustancia a través de la bicapa, es proporcional al gradiente de concentración y a su hidrofobicidad y tamaño. Cuanto mayor sea el gradiente de concentración de la sustancia, mas rápida será la velocidad de difusión a través de la bicapa. La **hidrofobicidad** se mide por el coeficiente de partición, cuanto mas alto sea el mismo, mas soluble será la sustancia en el lípido, mas rápido se difundirá por la bicapa fosfolipídica

5.1.b) Difusión facilitada

Éste caso es más complejo: en principio la molécula considerada es poco permeable (la velocidad por difusión pasiva no es lo suficientemente rápido como para satisfacer las necesidades celulares) o impermeable en la bicapa lipídica, pero existe otra estructura de la membrana que facilita o acelera su paso.

Al comparar las membranas sintéticas constituidas especialmente por lípidos, con las membranas biológicas, los investigadores observaron, que no permitían el pasaje de un lado a otro de moléculas polares, las que en las membranas plasmáticas si lo hacían. Esto se puede explicar, recordando la constitución de las membranas biológicas, que además de estar formadas por lípidos, como ya mencionamos anteriormente poseen **proteínas** las cuales son responsables del transporte de tales sustancias, con una especificidad única

Las proteínas de transporte pueden:

- **Formar canales:**
- **Actuar como transportadoras (llamados también "carriers")**

Los **canales proteicos** forman pequeños poros llenos de agua (pasaje hidrófilo), que cuando están abiertos permiten que solutos específicos pasen a través de ellos. La mayoría de éstos solo permiten el paso de agua y de iones Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , que debido a la a la cabeza de los fosfolipidos que forman la bicapa le representan una barrera a su paso, por lo que se denominan **canales iónicos**, los cuales no están acoplados a una fuente de energía, por lo que los iones que los atraviesan sólo lo hacen a favor de su gradiente. Son bastantes específicos (canales de sodio, canales de potasio, etc) su selectividad se debe a su tamaño, dejando pasar solo iones de determinada carga y dimensiones. Pueden sufrir cambios conformacionales que les permiten pasar de un estado abierto a cerrado, controlando así la permeabilidad de la membrana. Algunos están abiertos todo el tiempo, pero muchos otros presentan regulación de apertura y cierre, según a cambios de voltajes en la membrana plasmática, de concentración intracelular, o los cambios de presión (estímulo mecánico).

Un canal abierto deja pasar entre **10^6 a 10^8 iones por segundo**, esto es por lo menos tres órdenes de magnitud mayor a lo transportado por una bomba o transportador y alrededor de 11 órdenes de magnitud superior que la difusión simple.

Los **carriers**, por otro lado, se unen de forma específica y reversible a la / las molécula/s que van a transportar de manera similar a las enzimas y sus sustratos. El mecanismo de transporte es a través de un **cambio conformacional**

de la proteína carrier. El carrier sufre un “movimiento”, tal que lleva la sustancia transportada hacia el otro lado de la membrana donde es liberada. El pasaje ocurre como resultado de la probabilidad de encuentro entre la sustancia transportada y el transportador y a su vez de la concentración de la misma en uno y otro lado

La velocidad de transporte a través de la membrana aumenta con la concentración de soluto a transportar, hasta que se saturan los sitios de unión, y la velocidad se mantiene constante en su máximo

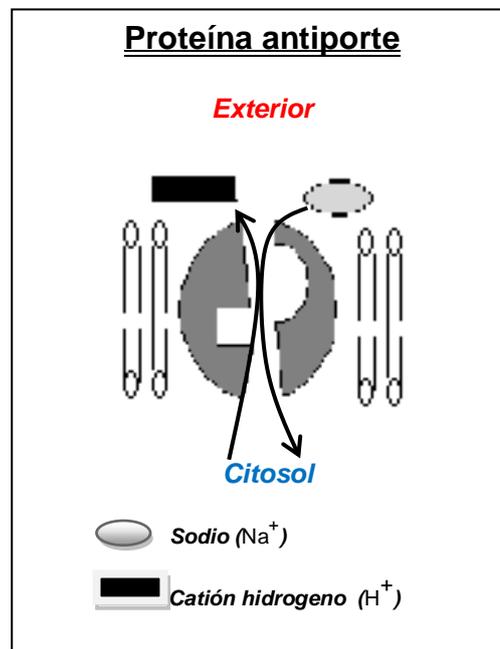
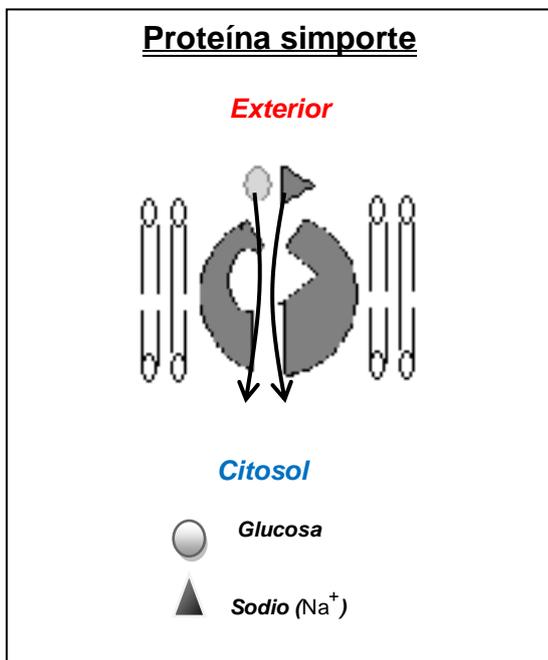
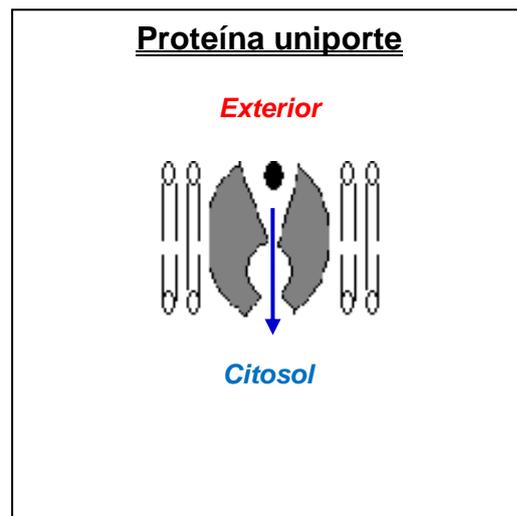
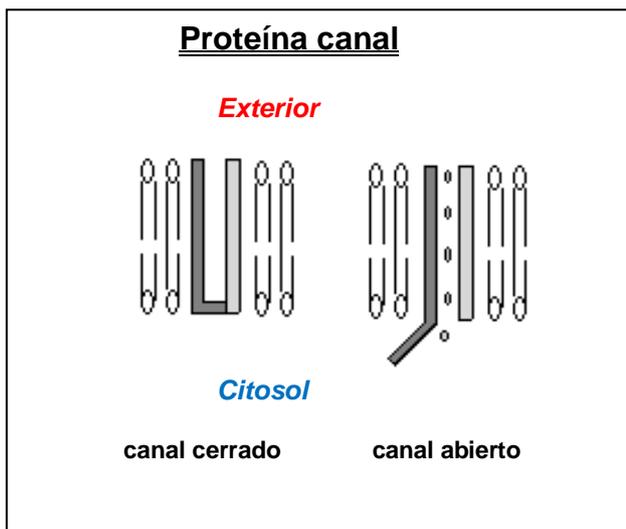
Pueden transportar una molécula por vez, o de a dos solutos simultáneamente en el mismo sentido o contrario (Ver figura 1). Por ello podemos clasificar las proteínas transportadoras en:

- I. **Transporte unico (uniport):** la proteína transporta solamente un único tipo de soluto, a favor de su gradiente de concentración, de un lado al otro de la membrana, mediante difusión facilitada. Caso de glucosa y aminoácidos.
- II. **Transporte acoplado:** el transporte de un soluto depende de la transferencia simultánea de un segundo soluto, estos acoplan el movimiento de un tipo de ión o molécula en contra de su gradiente de concentración, con el movimiento de uno o más iones diferentes a favor de su gradiente de concentración. Estas proteínas median las reacciones, en las cuales una reacción es energéticamente desfavorable (por ejemplo movimientos de moléculas “cuesta arriba”) está acoplada a una reacción energéticamente favorable. De éstas hay de dos tipos según el sentido del pasaje
 - II. a) **Cotransporte (simport):** cuando se transportan dos o mas solutos en la **misma dirección**, un ejemplo es el transporte de glucosa, para este caso el ingreso espontáneo de la glucosa al interior celular, por medio de una proteína específica que la transporta, es debido a su gradiente de concentración, a la necesidad temporal de la célula o porque en el exterior sea mayor, la glucosa ingresa de forma pasiva por difusión facilitada.
Existen casos, como en células intestinales en los que la glucosa es tomada de un lugar en donde su concentración es muy baja, las células entonces deben transportarlas en contra de su gradiente, lo hacen en contratransporte con el Na^+ , cuya concentración extracelular es muy alta, y por lo tanto tiende a ingresar a favor de su gradiente de concentración a la célula en forma espontánea. Se podría pensar en este mecanismo de la siguiente forma, el catión sodio impulsado por la fuerza que le imprime la diferencia de concentración, entre el interior y exterior celular, ingresa a la célula por difusión simple y este proceso “arrastra” la glucosa. Lo que lo hace interesante a éste mecanismo es que el transporte del sodio esta “acoplado” al de la glucosa, y la energía que necesita la glucosa para trasladarse en contra de su gradiente, proviene de la disipación del gradiente del sodio y no de la hidrólisis del ATP, por lo que se lo llama también “transporte activo secundario”. Existe un mecanismo similar con el catión sodio y los aminoácidos
 - II. b) **Contratransporte (antiport):** cuando se transportan en dirección opuesta. En glóbulos rojos existe otro cotransporte bidireccional como el intercambio de iones Cl^- por HCO_3^- . Existen una serie de sistemas que intercambian iones a través de la membrana de forma neutra, en este caso una transferencia equimolar en ambos sentidos, como ejemplo podemos dar los intercambiadores $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ y Na^+ / H^+ , cuyo principio general de funcionamiento, depende solamente de la concentración

relativa de ambos iones, en los dos lados de la membrana, y tienen suma importancia en la regulación de equilibrio ácido-base que puede modificar el pH de las soluciones a ambos lados de la membrana plasmática.

Estas proteínas se caracterizan por velocidades de transporte relativamente lentas que van entre 10^0 a 10^4 iones o moléculas por segundo (Ver el cuadro resumen de mecanismos de transporte)

Fig 1. Vista general de las proteínas transportadoras por mecanismos pasivos

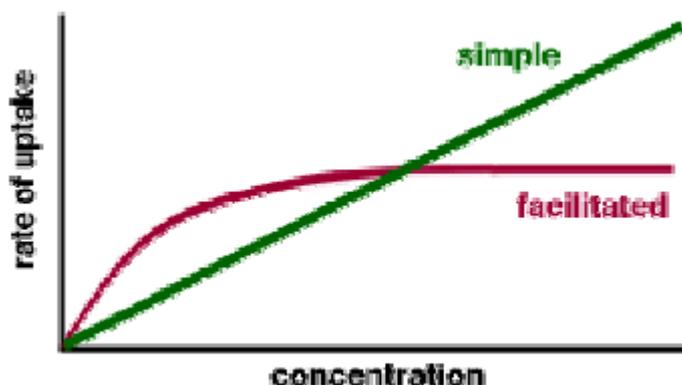


Cuadro 2. Mecanismos para el transporte de iones o moléculas pequeñas a través de membranas celulares

MECANISMOS DE TRANSPORTE				
Propiedad	Difusión pasiva	Difusión facilitada (único soluto)	Difusión facilitada (más de un soluto)	Transporte activo
Requiere proteínas específicas	-	+	+	+
Soluto transportado en contra de su gradiente	-	-	+	+
Acoplado a la hidrólisis de ATP	-	-	-	+
Conducido por movimiento de un ión cotransportado a favor de su gradiente	-	-	+	-
Ejemplos de moléculas transportadas	O ₂ , CO ₂ Hormonas esteroides, muchos fármacos	Glucosa y aminoácidos (uniportadores); iones y agua (canales)	Glucosa – aminoácidos (simportadores); diversos iones y sacarosa (antiportadores)	Iones, pequeñas moléculas hidrofílicas, lípidos (bombas impulsadas por ATP)

Conclusión Importante:

- ⊙ En el caso de transporte pasivo por difusión simple, la velocidad de transporte aumenta de forma continua con la concentración de la sustancia que se transporta.



- ⊙ En el caso de transporte facilitado, la velocidad de transporte está limitada por el número de proteínas transportadoras y se satura para concentraciones suficientemente grandes de sustancia.

5.2) Transporte activo

Los mecanismos de transporte activos impulsados por **bombas ATP**, se denominan ATPasas porque utilizan la hidrólisis del ATP para obtener la energía necesaria para mover iones y moléculas pequeñas, en **contra de su gradiente de concentración** o en contra de un **gradiente eléctrico**.

El transporte activo es un ejemplo de **reacción termodinámicamente acoplada**, porque mientras los iones o moléculas que se transportan lo hacen en contra de su gradiente químico o eléctrico, lo cual cursa con un ΔG positivo, la hidrólisis del ATP lo hace con un ΔG negativo. Finalmente, la reacción acoplada rinde un ΔG negativo, como puede calcularse en cada caso, haciendo finalmente al proceso “favorable” energéticamente.

La concentración de K^+ en el interior del citoplasma es alrededor de treinta veces mayor que en el interior de la célula, el Na^+ , por el contrario se encuentra diez veces más concentrado en el medio externo que en el citoplasma. Según los mecanismos estudiados son esperables que por medio del proceso de transporte pasivo salga potasio de la célula e ingrese sodio a la misma por difusión simple, de hecho esto ocurre, pero cómo se mantienen estas diferencias de concentración iónicas? La respuesta está en las proteínas transportadoras, en este caso **la bomba de sodio y potasio** que se encarga de bombear estas sustancias cuesta arriba de su gradiente químico

Estas bombas son efectivas para mantener las concentraciones de Na^+ y de Ca^{+2} **bajas** en el medio **intracelular** de prácticamente todas las células animales. También estas bombas son responsables de mantener el pH bajo en el interior de los lisosomas de las células animales y en la luz del estómago.

Las bombas requieren de una proteína transportadora de la membrana celular que tiene una participación activa durante el transporte, como se describe luego. Hay hasta el momento, cuatro clases de proteínas transportadoras impulsadas por ATP: **clase P, clase F, clase V son transportadoras de iones y la superfamilia ABC, que transporta moléculas pequeñas.**

Las bombas iónicas de **clase P**, son de nuestro interés por ser la que participa en el transporte activo Na^+ y K^+ . Estas proteínas transportadoras, constan de dos subunidades: la subunidad α catalítica transmembranosa, tiene un sitio específico de unión para el ATP y la subunidad β , de menor tamaño, que cumple funciones de regulación. Hay algunos casos de proteínas de esta familia, que son tetrámeros (tiene dos subunidades α y dos β) como el caso de la asociada al transporte de Na^+/K^+ ATPasa.

Durante el transporte, por lo menos, una subunidad α , se **fosforila** y se postula que a través de la unidad fosforilada, se produce el movimiento de los iones. Estas características, parecen ser las de la proteína transportadora del Na^+ y K^+ por el mecanismo activo y también del transporte activo del catión Ca^{+2} , desde el citosol al medio extracelular o hacia la luz del retículo sarcoplásmico de las células musculares.

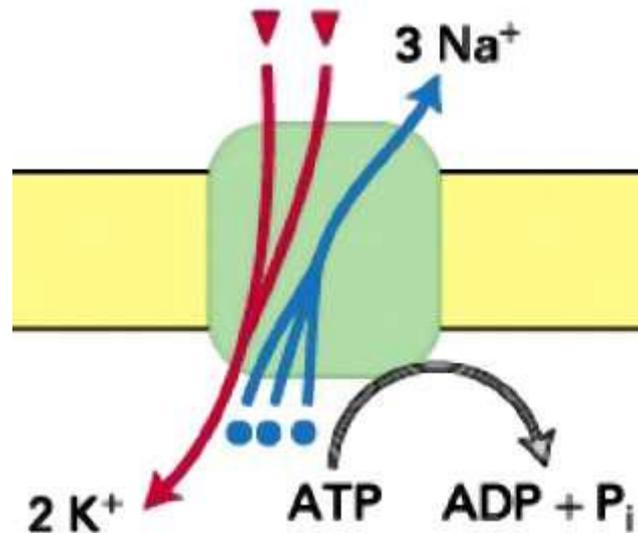
Otra proteína transportadora de la clase P está asociada al **transporte activo de cationes H^+** en las células secretoras de ácido del estómago de mamíferos, transportando estos cationes hacia la luz del estómago y a los iones K^+ , hacia adentro de las células de este epitelio.

En estas proteínas, el sitio de unión al ATP está ubicado en la cara citosólica de la membrana y el ATP sólo se hidroliza cuando en forma simultánea, se transportan iones u otras moléculas en contra de un gradiente. La denominación de bomba ATPasa se refiere a la función de la proteína comparable con la de una enzima, teniendo en cuenta la característica recién descrita, que sólo hidroliza el ATP, en la situación de transporte de iones. La energía liberada en esa hidrólisis puede ser almacenada por las proteínas para impulsar el transporte en contra-corriente de iones y moléculas.

La energía consumida por las células para mantener sus gradientes entre el medio intra y extracelular, es considerable. Por ej., el 25 % del ATP hidrolizado en las células nerviosas y renales se utiliza para el transporte iónico y en los eritrocitos, hasta el 50 % del ATP hidrolizado se usa para este fin.

En células tratadas con “venenos” que inhiben la producción aeróbica del ATP, como el 2,4- dinitrofenol, gradualmente, se van “disipando” los gradientes iónicos hasta llegar al equilibrio. En este punto, las células mueren, en parte, porque no pueden recuperar K^+ para su interior hasta la concentración alta de este ión que requiere la síntesis proteica; y también, la muerte celular ocurre porque la falta del gradiente de Na^+ , impide a la célula importar nutrientes, como los aminoácidos, a través de un mecanismo acoplado al transporte de este catión.

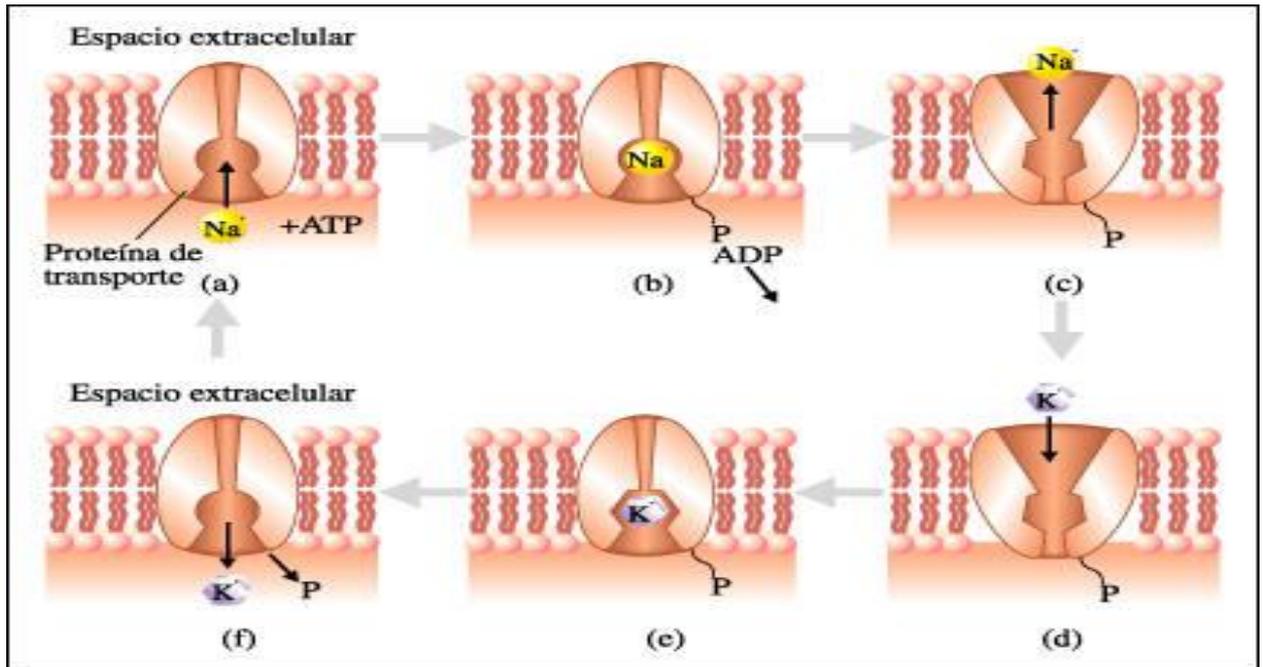
- Revisemos el mecanismo del transporte activo de Na^+ y K^+ por la **bomba Na^+/K^+ ATPasa**:



En el esquema que sigue, se presenta una secuencia de momentos, que sólo pretende ser didáctica, a fin de que comprendan aspectos moleculares y físico-químicos de este transporte.

La proteína “bomba” muestra **cambios conformacionales** durante el transporte de estos iones. En un estadio, llamado E1, muestra tres sitios específicos de alta afinidad para la unión de los tres cationes Na^+ , dos sitios de baja afinidad para unir los dos cationes K^+ y otro sitio específico de unión del fosfato proveniente de la hidrólisis del ATP. Estos sitios están ubicados en la cara citosólica de la proteína.

Antes de unirse al fosfato, tres cationes Na^+ se disponen a pasar a través del canal, es decir, se unen a los sitios específicos de la proteína-bomba (Momento a).



El fosfato proviene de la hidrólisis del ATP, reacción que cursa con liberación de energía libre proveniente de la ruptura del enlace de alta energía del ATP ($\Delta G = -25$ y -40 Kcal / mol). Esta energía no se disipa, sino que es almacenada por la proteína transportadora.

Cuando se fija el fosfato, se hidroliza y se fosforila un aspartato de la proteína, ésta cambia su conformación y gatilla el paso de los cationes Na⁺ hacia el exterior de la célula (Momento b y c)

La conformación abierta hacia el medio extracelular, deja el sitio de unión a dos cationes K⁺, los que se fijarán ahora con alta afinidad, disociándose los tres cationes Na⁺. Mientras esto ocurre, el fosfato sigue unido a la proteína (Momento d y e).

Los cationes K⁺ pasan el canal y para ser liberados al interior celular, la proteína separa el fosfato unido al aspartato, cambiando nuevamente la conformación, quedando disponible para el Na⁺, nuevamente (Momento f).

El nombre dado a esta “bomba” se debe a que la **velocidad de la bomba** es dependiente de la cantidad de Na⁺ intracelular. Si por algún motivo, aumenta la concentración del Na⁺ intracelular, dicho aumento hace funcionar al complejo **Na⁺ / K⁺ ATPasa** como una enzima, de allí la terminación “asa”. En este caso, este “complejo enzimático” cataliza la transferencia del Na⁺ desde el medio intracelular al extracelular.

➤ **Importancia biológica de la bomba Na⁺/K⁺ ATPasa:**

Como ya se ha expresado, esta bomba es fundamental para mantener los gradientes de concentración de Na⁺ y K⁺ en los compartimentos y contribuir a la preservación del estado estacionario.

Tiene gran relevancia en las células excitables, para la transmisión de la información y para la producción de trabajo mecánico muscular.

Esta bomba contribuye en alguna medida al potencial eléctrico de las células, ya que el intercambio de iones que se llevan a cabo, consiste en sacar tres cargas positivas de Na^+ por cada dos cargas positivas de K^+ de esta manera la bomba no solo mantiene la diferencias de concentración de estos iones sino genera una diferencia de cargas entre ambos lados de la membrana, por este motivo se llama electrogénica

Esta diferencia de potencial actúa de la misma manera que potencial químico, pero por supuesto solo afecta las moléculas cargadas

Las células colmadas de K^+ y pobres en Na^+ “no pueden evitar” que el primero salga ni que el segundo entre. Lo único que la célula puede “hacer” es bombear nuevamente K^+ hacia el interior y sacar Na^+ con un enorme esfuerzo energético

➤ **¿Qué pasaría si no existiese esta bomba que bombea en contra corriente?**

Imaginemos una célula a la que se le corte todo aporte energético, no hay más ATP para hidrolizar, esta tiene toda la maquinaria parada, el primer fenómeno que reconoceríamos sería la difusión de Na^+ y K^+ a favor de sus respectivos gradientes. Pero no debemos olvidar que la célula está colmada de muchas sustancias algunas cargadas que se encuentran a diferentes concentraciones que comenzarían a cruzar la membrana a distintas velocidades cada uno siguiendo a su tendencia natural al equilibrio, igualdad de concentraciones. Con esta tendencia sería esperable que se igualaran todas las concentraciones adentro y afuera de la célula.

Otro factor para tener en cuenta, es que las macromoléculas (aminoácidos, azúcares, nucleótidos) que existen en el interior de la célula no podrían escapar por difusión simple, estas al poseer carga, atraen a iones de carga opuesta, los cuales quedarían pegados, no pudiendo salir de la célula aunque su gradiente químico sea favorable. Existen moléculas confinadas, por distintos motivos al interior de la célula, como lo son las macromoléculas (aminoácidos, azúcares, nucleótidos) que contribuyen a la presión osmótica intracelular. La presión osmótica extracelular, en cambio está dada por los iones inorgánicos que sí pueden atravesarla libremente, esta desigualdad de condiciones crea un verdadero problema que consiste en que la presión osmótica interna es siempre mayor que la externa, entonces si una célula carece de energía para hacer funcionar sus bombas, esta diferencia de presiones osmóticas hace que el agua entre a la célula continuamente por osmosis, con la consecuencia de la ruptura de la membrana debido a la alta presión, por ello ante esta dificultad la célula, responde con estas bombas que continuamente sacan iones inorgánicos fuera de la célula, disminuyendo la concentración de iones inorgánicos intracelular estos compensan no solo el exceso de carga sino la alta concentración de macromoléculas y evitan la entrada excesiva de agua

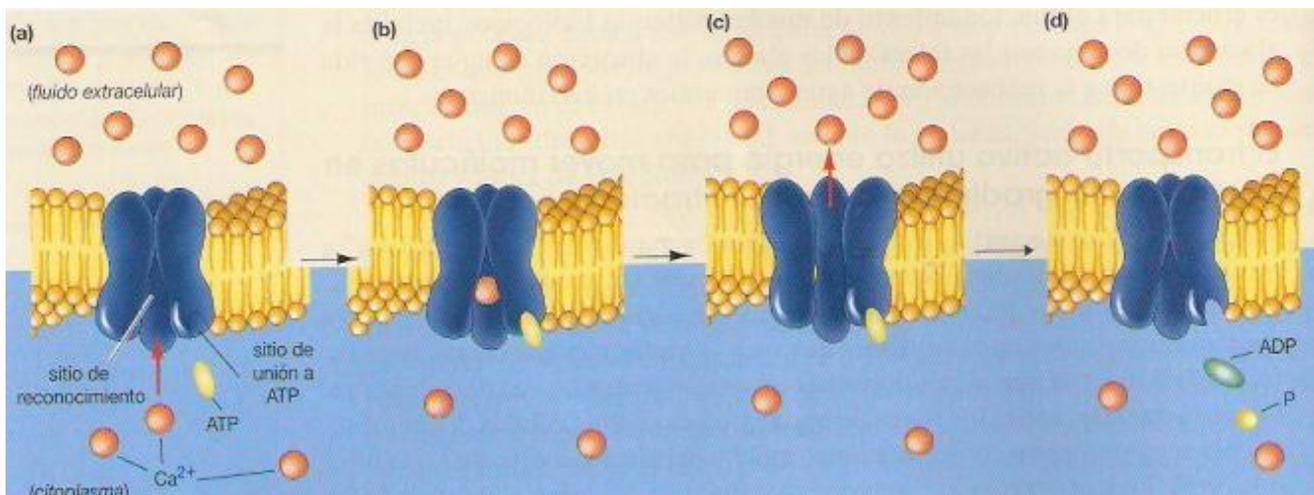
➤ Otro caso interesante y de relevancia, lo constituyen, **las bombas de Ca^{+2}** :

Las bombas de calcio que funcionan como ATPasas en el citoplasma, mantienen una baja concentración celular de este ion por medio de un permanente transporte hacia el exterior, también existe una bomba de calcio en el retículo sarcoplásmico de las fibras musculares (corazón también) que contribuyen a mantener bajas las concentraciones de calcio en el citoplasma, esto es necesario para que la célula pueda responder a un impulso nervioso, liberando este ion en grandes cantidades, del retículo sarcoplásmico al citoplasma, con lo que se produce contracción muscular

En la membrana plasmática de células animales hay proteínas que constituyen la bomba de Ca^{+2} ATPasa, que transportan este ión **hacia el medio extracelular, en contra de su gradiente de concentración**. Más precisamente, lo hace contra un gradiente electroquímico, recordemos que las membranas celulares tienen carga positiva en su cara externa.

La proteína transportadora pertenece a la familia P y contribuye a mantener baja la concentración del catión **libre**, en el citosol.

El esquema que sigue trata de explicar uno de los mecanismos de transporte activo de este ión divalente desde el citosol hacia el medio extracelular:



Esta bomba es muy efectiva, ante **pequeños aumentos del Ca^{+2} intracelular**. Por ejemplo la función de emisión de señales intracelulares, precisa de una concentración muy baja: 0,1 a 0,2 μM . Parte del Ca^{+2} se une a la carga negativa del citoplasma, y el Ca^{+2} libre es el que participa de esta función.

Cuando aumenta el Ca^{+2} intracelular, es llevado al exterior en contra del gradiente de concentración y en contra del gradiente eléctrico, por lo cual, el Ca^{+2} deberá salir. Para ello, asociada a la proteína transportadora hay otra proteína, llamada calmodulina que une 4 cationes Ca^{+2} por vez. Este complejo, Ca^{+2} / calmodulina, activa la bomba Ca^{+2} ATPasa, favoreciendo así la salida del Ca^{+2} , restaurándose la concentración de Ca^{+2} libre intracelular.

El transporte activo recién descrito muestra diferencias con el transporte activo de catión calcio desde el citosol de la célula muscular hacia la **luz del retículo sarcoplásmico (RS)**. Ambas bombas coexisten en la membrana plasmática muscular.

Revisemos rápidamente esta segunda bomba. La proteína transportadora de esta bomba constituye el 80 % de las proteínas integrales de las membranas del RS. La subunidad α de esta proteína transporta dos Ca^{+2} por cada ATP hidrolizado. En el citosol de las células musculares, la concentración del Ca^{+2} es de 10^{-7} M cuando la célula está en reposo y cuando se contrae, de más de 10^{-6} M, mientras que la concentración total en el interior del RS puede llegar hasta 10^{-2} M. En la cara citosólica de la proteína transportadora, hay sitios de alta afinidad por el Ca^{+2} , por lo que la bomba resulta ser muy efectiva en movilizar el catión en contra de su gradiente. La actividad

ATP es tan eficiente, que si la concentración del Ca^{+2} aumenta de manera importante, la velocidad de bombeo desde el citosol sube tanto que la concentración citosólica puede bajar a $1 \mu\text{M}$.

➤ **Importancia biológica de la bomba Ca^{+2} ATPasa:**

Este catión interviene en procesos muy importantes, por: Un aumento de Ca^{+2} en células beta del páncreas, desencadena la exocitosis de las vesículas secretoras y la consiguiente liberación de insulina. En las células musculares lisas y estriadas, un aumento de Ca^{+2} produce su contracción; en células musculares y en células hepáticas, el aumento de Ca^{+2} activa la glucógenolisis, transformando el glucógeno en glucosa-1- fosfato

Apéndice I
Lípidos de las membranas biológicas.

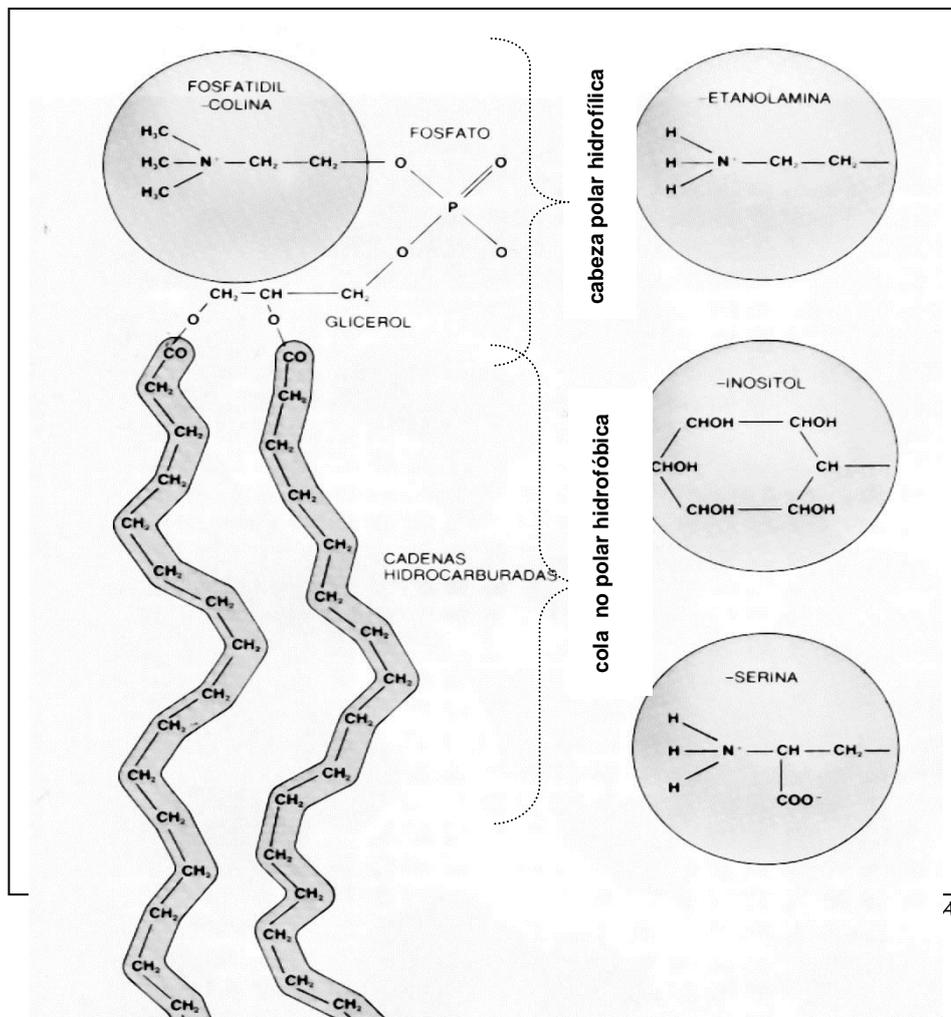
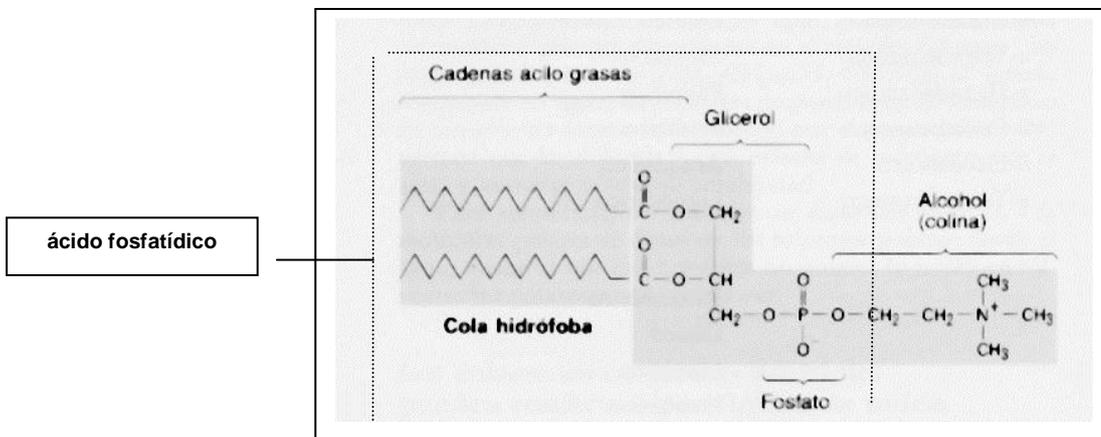
Las membranas biológicas están constituidas principalmente por **fosfolípidos**. Son moléculas **anfipáticas**, cuya naturaleza química los designa como derivados del **ácido fosfatídico**, un diacilglicerol con un grupo fosfato esterificado al C 3 del glicerol y a otro alcohol (colina, etanolamina, inositol) o un aminoácido (serina), si bien, en las membranas celulares es más frecuente la esterificación con **colina**. Las fosfatidilcolinas reciben el nombre general de **lecitinas**.

Además los fosfolípidos de las membranas poseen generalmente unido al C 1 del glicerol, una **cadena carbonada saturada** y al C 2 una insaturada. Pueden ser saturadas o insaturadas las dos cadenas.

Hay también un tipo de **lípidos** que no tiene por columna vertebral al glicerol, sino a la **esfingosina** que es un aminoalcohol (esfingomielina).

Para los fines de la Biofísica, sin profundizar en la estructura química, es necesario resaltar que el grupo fosfato y el alcohol al que esterifica, distinto de su "columna vertebral" (glicerol o esfingosina) constituyen la **porción polar hidrofílica** del fosfolípido y las cadenas carbonadas esterificadas al glicerol, constituyen la **porción hidrófoba o colas hidrofóbicas**

En las figuras siguientes se representa la estructura química, sólo a los fines de identificar los grupos polares y no polares de los lípidos de membrana. Es decir, las cabezas hidrofílicas y las colas hidrofóbicas que dan **la forma característica a la doble capa lipídica de las membranas celulares**.



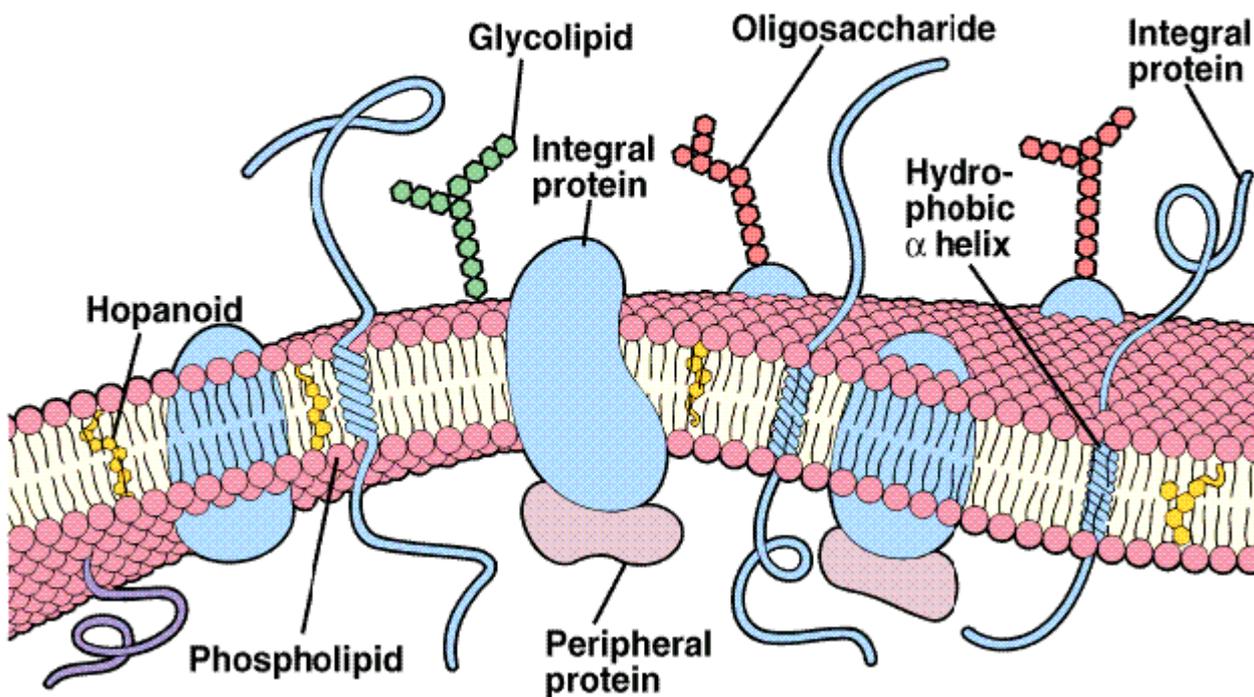
También entre los lípidos integrantes de la doble capa lipídica está descrito el colesterol, un esteroide que es abundante en las membranas plasmáticas de los mamíferos. Esta molécula es hidrocarbonada principalmente, siendo ésta su porción hidrofóbica; tiene también un grupo hidrofílico (-HO) que la hace una molécula anfipática.

Se han descrito **glucolípidos** es decir, un glúcido unido a la porción hidrofílica del lípido. El glucolípido más simple es el glucosilcerebrósido.

En las membranas celulares, la presencia de proteínas es muy importante, cuya estructura está descrita en el fascículo dedicado Moléculas Biológicas. Aquí sólo se presentará un modelo de membrana con todos los componentes químicos integrados.

Lansing M. Prescott, John P. Harley, Donald A. Klein, *Microbiology*, 4e. Copyright © 1999 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Plasma Membrane Structure



Bibliografía de referencia

1. Parisi, M. **Temas de Biofísica**. 2001. Mc Garw Hill.
2. Ganong, W.F. **Fisiología Médica**. 15ª edición. 1995. Manual Moderno.
3. Lodysh, H y col **Biología Celular y Molecular**. 4ª edición. 2002. Ed. Médica Panamericana.
4. Monteorano. **Manual de Biofísica y Fisiología**. Libro on line. 2002

