

EL HOMBRE COMO SISTEMA BIOFISICO (IV)

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:

$$\frac{RT}{zF} \ln \frac{Cl_1}{Cl_2} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{K_2}{K_1} \quad \text{de donde}$$

$$\frac{Cl_1}{Cl_2} = \frac{K_2}{K_1} \quad \text{y} \quad Cl_1 \cdot K_1 = Cl_2 \cdot K_2$$

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:

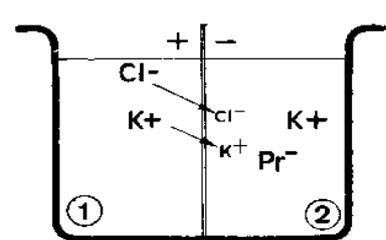


FIG. 2.35 CAMBIO EN LA CONCENTRACION DE LOS IONES DIFUSIBLES Cl⁻ Y K⁺. POR LA PRESENCIA DE UN ION NO DIFUSIBLE (Pr⁻) LA CONCENTRACION DE Cl⁻ EN 1 DISMINUYE Y EN 2 AUMENTA. POR LA DIFERENCIA DE POTENCIAL ELECTRICO QUE SE CREA, LA CONCENTRACION DE K⁺ DISMINUYE EN 1 Y AUMENTA EN 2

	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 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:

$$x = \frac{150 \cdot 150}{2 \cdot 160 + 160} = 50 \text{ mEq} \text{ lo que decir que en el EN EL EQUILIBRIO:}$$

	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:

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

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:

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

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

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).

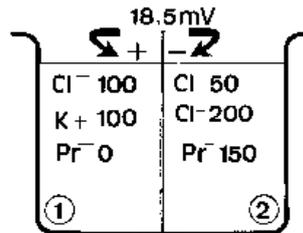


FIG.2.36 CONDICION DE EQUILIBRIO ELECTROQUIMICO

Para el POTASIO será:

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

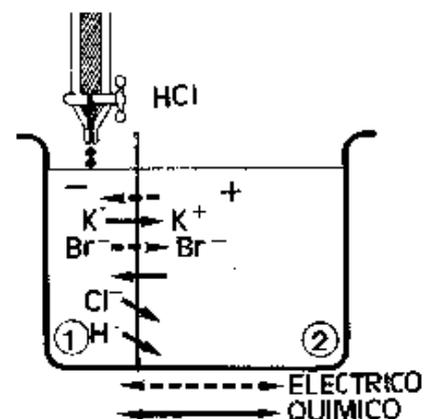
$$\Delta V = - 61 \text{ mV} \log 200 / 100 = - 18, 5 \text{ mV}$$

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 COMPARTIMENTOS 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.

(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 más 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) y Br⁻ (2) > Br⁻ (1) la concentracion de H⁺ y Cl⁻ en 2 permanece cercana a cero por ser un compartimiento infinito)



En 1 y en 2 hay soluciones de bromuro de potasio (KBr) de igual concentracion y le 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.

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 BOMBEEA 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).

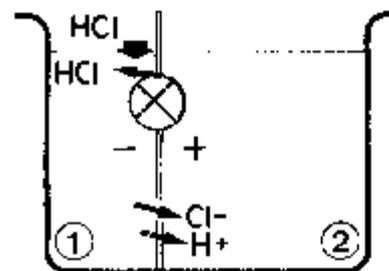


FIG. 2.38 EL POTENCIAL DE DIFUSION CREADO POR EL PASAJE DE H⁺ Y DE Cl⁻, SIENDO LA PERMEABILIDAD AL H⁺ MAYOR QUE LA DEL Cl⁻ PUEDE SER MANTENIDA POR EL FUNCIONAMIENTO DE UNA BOMBA UBICADA EN LA MEMBRANA, QUE BOMBEE HCl AL MISMO RITMO QUE DIFUNDE. EN ESE CASO, SOLO HACE FALTA EL AGREGADO INICIAL DE HCl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

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 relacionados en b).

Es muy importante hacer notar que esta BOMBA está trabajando contra un gradiente de concentración: 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 difusión, creado, como todos 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,

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 célula 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 HCO₃⁻, el Cl⁻ y el H⁺. Esas diferencias de concentración no son transitorias, sino que se mantienen constantes. Por lo tanto, debe haber algún mecanismo

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 · 10 ⁻⁵	1,3 · 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

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 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 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⁺:

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:

$$V_{Na^+} = RT / zF \ln (Na^+_o / Na^+_i)$$

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

¿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 tendría 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 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⁺: nuevamente, aplicando la ecuación de Nernst:

$$V_{K^+} = 61 \text{ mV} \cdot \log (K^+_o / K^+_i)$$

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

El gradiente de concentración es hacia adentro por, lo que se necesitaría que el interior celular fuera negativo y de un valor de -98,8 mV para que el ion estuviera en equilibrio electroquímico. El potencial medido es algo menor: -90 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 perdería K⁺.

Veamos el caso del Cl⁻:

$$V_{Cl^-} = 61 \text{ mV} \cdot \log (Cl^-_i / Cl^-_o) = 61 \text{ mV} \cdot \log 4 / 120 = -90 \text{ mV}$$

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 para contrarrestar el potencial químico

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.

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 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 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 tendría 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.

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 único 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 debe 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 $\text{Na}^+ + \text{e}^-$, 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 electroquímico.**

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 e izquierdo de la membrana fueran las dos caras de un condensador plano. Como en estos, existe una sustancia dieléctrica, 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 cm^2 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.

MODELO DE TRANSPORTE ACTIVO QUE UTILIZA TRANSPORTADORES: BOMBA DE Na^+ O BOMBA DE Na^+ / K^+ .

Si, por alguno de los procedimientos señalados, se 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.

En las células y tejidos de los seres vivos hay una muy amplia gama de sistemas de transporte activo. 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^+ / K^+** ".

¿Cómo se sabe si un determinado sistema está usando transportadores? Si se recuerda lo dicho para la difusión 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 **saturación**.

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 **inhibición competitiva y no competitiva**, se puede pensar en transportadores específicos 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**. El **ATP** es generado a partir del **ADP** (adenosindifosfato) en las reacciones oxidativas. El **ATP** formado es un compuesto que libera energía al desdoblarse en:

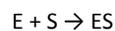


donde P_i es fósforo inorgánico y G_{ATP} la variación de energía libre. La cantidad de energía que, en una determinada situación, es liberada por el ATP está influenciada por varios factores, pero los principales son el pH y la concentración de Mg^{2+} del medio. En las condiciones habituales de una 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 aisló. 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 número 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.

MODELOS PARA LA BOMBA DE Na^+/K^+

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:

- 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.
- La ATPasa funciona como una especie de rueda, que tiene sitios específicos para el Na^+ y el K^+ .
- La ATPasa, como proteína, tiene dos estados conformacionales. Uno en que se une a Na^+ interno, por lo que 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.

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 estímulo, de modificar algunas características de su membrana y producir un **potencial de acción**. 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-excitabile" ya que al ser estimulada no responde con un potencial de acción, sino que responde al estímulo nervioso secretando saliva.

BOMBAS NEUTRAS Y BOMBAS ELECTROGÉNICOS

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 **ecuación 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 eléctrica. Como la membrana tiene una resistencia, al producto de la intensidad de la corriente (i) por la resistencia (R) dará una diferencia de potencial (V), de acuerdo a la ley de Ohm ($V = i \cdot R$).

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. 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.

LOS EPITELIOS: ALGO MAS QUE UN CONJUNTO DE CELULAS

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 están 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 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.

Los epitelios, y las células que los componen, tienen dos sistemas de transporte de agua y de solutos funcionando simultáneamente. 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 en células, pero con objetivos diferentes: absorber, secretar, excretar, etc. Y serán específicos para cada epitelio.

EL POTENCIAL DE MEMBRANA Y LA ECUACION DE GOLDMAN

De acuerdo a lo visto en este capítulo es posible afirmar que la diferencia de potencial eléctrico (V_m) que se registra entre el lado interno (i) y el externo (o) de una célula es debido, en su mayor parte, a un potencial de difusión. Una parte más pequeña de este potencial corresponde a las bombas electrogénicas presentes en algunas células. Aunque esto es algo más difícil de entender, también se puede decir que el potencial de membrana se acercará a al potencial de equilibrio del ion más permeable.

Veamos: el Na⁺ tiende a entrar por gradiente eléctrico y por gradiente químico, pero su potencial electroquímico de equilibrio es de +66 mV, un valor que está muy lejos del potencial de membrana de -90 mV; el K⁺ tiende a salir por químico y a entrar por eléctrico y su potencial electroquímico de equilibrio es de -98,8 mV, un valor muy cercano al potencial de membrana. Por último, el Cl⁻ tiende a entrar por químico y salir por eléctrico y su potencial electroquímico de equilibrio es igual al potencial de membrana: -90 mV.

Al no estar en equilibrio el Na⁺, un aumento de la permeabilidad de la membrana a este ion haría que el V_m se acercara al V_{Na+} de +66 mV mientras que un aumento de la permeabilidad al K⁺, que tampoco está en equilibrio, haría que el V_m se acercara al V_{K+} de -98,8 mV. Para el Cl⁻, un aumento de la permeabilidad no cambiaría el V_m porque el Cl⁻ está en equilibrio electroquímico.

Para calcular el potencial de membrana habrá, entonces, que tener en cuenta todos los iones presentes, tanto en cuanto a su concentración intra y extracelular como su permeabilidad.

Esto queda expresado en la ecuación de **Goldman**:

$$V_m = 61 \text{ mV} \cdot \log \frac{(P_{Na^+} \cdot Na^+)_i + (P_{K^+} \cdot K^+)_i + (P_{Cl^-} \cdot Cl^-)_o}{(P_{Na^+} \cdot Na^+)_o + (P_{K^+} \cdot K^+)_o + (P_{Cl^-} \cdot Cl^-)_i}$$

donde P es la permeabilidad. Si se supone, por ejemplo, que la permeabilidad al K⁺ es mucho mayor que la de Na⁺ y la de Cl⁻, la ecuación podrá quedar reducida a:

$$V_m = 61 \text{ mV} \cdot \log \frac{K^+_i}{K^+_o}$$

que es la ecuación de **Nernst** que describimos antes.