Capítulo 2 PARTE 4/4

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 (Vm) 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 stá 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 CI- tiende a entrar por químico y salir por eléctrico y su potencial electroquímico de equilibrio es igual al potencial de membrana: -90 mV.

INDICE Parte 4	Pág
EI POTENCIAL DE MEMBRANA Y LA ECUACION DE GOLDMAN	<u>-</u>
Problema 1 Problema 2 Problema 3 Problema 4 Discusión Lecturas recomendadas	1 2 5 8 9 10 13

Al no estar en equilibrio el Na+, un aumento de la permeabilidad de la membrana a este ion haría que el Vm se acercara al VNa+ de +66 mV mientras que un aumento de la permeabilidad al K+, que tampoco está en equilibrio, haría que el Vm se acercara al VK+ de -98,8 mV. Para el Cl-, un aumento de la permeabilidad no cambiaría el Vm 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 ECUACION DE GOLDMAN:

$$V_{m} = 61 \text{ mV} \cdot \log \frac{(P_{Na+} \cdot Na^{+})_{i} + (P_{K+} \cdot K^{+})_{i} + (P_{Cl-} \cdot Cl^{-})_{0}}{(P_{Na+} \cdot Na^{+})_{0} + (P_{K+} \cdot K^{+})_{0} + (P_{Cl-} \cdot Cl^{+})_{i}}$$

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. Así, un potencial de acción en una célula nerviosa o muscular (ver Tomo 2, Cap 10) se debe a que, frente a estímulo, se abre muy rápidamente un canal para el Na+ y el V_m se acerca al V_{Na+}.

PREGUNTAS Y PROBLEMAS

PROBLEMA 1

- Determinar los valores de un flujo difusional.
- Calcular la concentración de equilibrio que se alcanza por flujo difusional entre dos compartimientos.

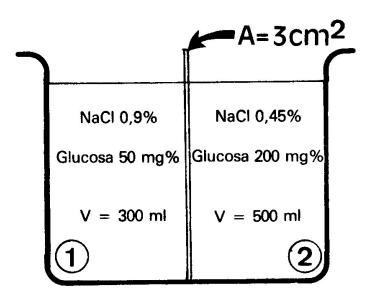
La DIFUSION es, básicamente, un proceso de mezcla en el que suficiente, los gradientes de concentración desaparecen. Mientras ϵ son proporcionales a los parámetros indicados en la Ley de Fick.

1A En un recipiente, como el que se muestra en la figura, características similares a las de una membrana celular. Los volúme las soluciones a cada lado son las indicadas en la misma figura.

En base a estos datos y usando los valores de permeabilidad de la Tabla 2.II, calcule:

a) El valor, en micromol/ segundo, del flujo neto INICIAL de Na+.

Cap 2 Parte 4 p. 2



- b) El valor, en micromol/ segundo, del flujo neto inicial de glucosa.
- c) La concentración de equilibrio del Na+.
- d) La concentración de equilibrio del Cl⁻.
- e) La concentración de equilibrio de la glucosa.
- f) El valor, en micromol/ segundo, del flujo unidireccional de Na + en el equilibrio.

Respuestas: El primer paso debe ser transformar las concentraciones en una expresión común: micromoles/ cm³. No volveremos sobre esto, ya estudiado en el Cap.1. Simplemente:

	Compartimiento 1	Compartimiento 2
Na+	154 μmol/ cm ³	77 μmol/ cm ³
Glucosa	2,78 μmol/ cm ³	11,1 μmol/cm ³

Verifique estos valores. Si tiene dificultades, vuelva al Cap. 1)

a) El FLUJO NETO de Na+ se calcula de acuerdo a Fick como:

$$J_{neto} = P_{Na+} \cdot A \cdot C_1 \cdot C_2$$

$$J_{neto} = 2.7. \ 10^{-10} \ cm/s \ . \ 3 \ cm^2 \ . \ (154 - 77 \ \mu mol/cm^3)$$

$$J_{neto} = 6.2 . 10^{-8} \mu mol/s$$

b) EL FLUJO NETO de glucosa se calcula como:

$$J_{neto} = 1.5 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s} \cdot 3 \text{ cm}^2 \cdot (2.78 - 11.1 \ \mu \text{mol/cm}^3)$$

$$J_{neto} = 3.7 \cdot 10^{-5} \, \mu mol/s$$

COMENTARIO: se puede ver que el flujo neto inicial de glucosa es casi 2000 veces mayor que el flujo de Na⁺.

c) La concentración de equilibrio del Na+ resulta de MEZCLAR los dos volúmenes de solución. De ese modo:

MASA
$$Na^+ = (V_1 . C_1) + (V_2 . C_2)$$

MASA Na⁺ =
$$(0.3 L. 154 \text{ mmol/ L}) + (0.5 . 77 \text{ mmol/ L})$$

MASA
$$Na+ = 84,7 \text{ mmol}$$

y como el VOLUMEN TOTAL es de 0,8 L:

d) La concentración de equilibrio del Cl⁻ ES igual a la del Na⁺ y no hace falta calcularla.

Conc.
$$CI^-$$
 eq = 105,8 mmol/L = 105,8 mEq/L

e) La concentración de equilibrio de la glucosa se calcula del mismo modo.

MASA gluc =
$$(2.78 \text{ mmol/ L} \cdot 0.3 \text{ L}) + (11.1 \text{ mmol/ L} \cdot 0.5 \text{ L})$$

y la concentración de equilibrio:

Con. gluc eq =
$$\frac{6,384 \text{ mmol}}{0.8 \text{ L}}$$
 = 7,98 mmol/L

f) Un vez que se llega a la concentración de equilibrio, el flujo unidireccional de Na⁺, de Cl⁻ y glucosa de 1 a 2 será igual flujo de 2 a 1. Para el caso del Na⁺ se calcula como:

$$J_{12} = J_{21} = P_{Na+} \cdot A \cdot C_1$$

$$J_{12} = J_{21} = 2.7 \cdot 10^{-10} \cdot 3 \cdot 105.8 = 8.5 \cdot 10^{-8} \, \mu mol/s$$

COMENTARIO: Nótese que el **flujo unidireccional en equilibrio** es algo mayor que el **flujo neto inicial**. Esto no debe llamar la atención ya que el flujo neto es la resta de los dos flujos unidireccionales. Así, el flujo unidireccional inicial de 1 hacia 2 es mayor el flujo unidireccional de 2 hacia 1 y con el tiempo, va disminuyendo y haciéndose igual al 2-1.

Para entender más claramente esto, resuelva la parte B de este problema.

1B Usando los datos del problema anterior, calcule:

- a) El flujo unidireccional INICIAL de Na+ de 1 hacia 2.
- b) El flujo unidireccional INICIAL de Na+ de 2 hacia 1.
- c) Compruebe si la resta de los flujos unidireccionales coincide con el flujo neto inicial de Na⁺ calculado en la parte a) del problema 1 A.

Respuestas:

- a) $1,25 . 10^{-7} \mu mol/s$
- b) 6,24 10⁻⁸ μmol/s
- c) Si

COMENTARIO: se comprueba, para el Na⁺, lo señalado en la parte final del problema 1. Verifíquelo para el Cl⁻ y la glucosa.

PROBLEMA 2

Objetivo: - Determinar el valor del coeficiente de permabilidad osmótica en una preparación biológica.

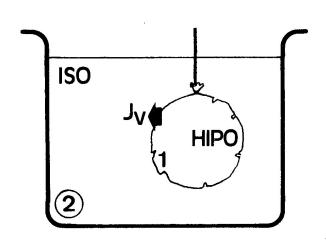
> Analizar la acción de agentes modificadores de la permeabilidad al agua.

Si se examina nuevamente el dibujo que acompaña al Problema 1 se observará que, aparte de los gradientes de entración de Na⁺, Cl⁻ y glucosa, hay un importante gradiente de concentración de agua: la osmolaridad del recipiente 1 es mayor que la del recipiente 2 y el agua tenderá a moverse de 2 hacia 1. En esas condiciones, la

concentración de Na⁺ en 1, por ejemplo, disminuirá en el tiempo no sólo por el pasaje del ion hacia 2 sino también por la entrada de agua. En situaciones experimentales controladas, como la de estos experimentos con recipientes de vidrio, lo habitual es diseñar el experimento de modo que haya gradiente de concentración del soluto que se quiere estudiar, pero no haya gradiente de agua. Esto se logra agregando, en este caso en lado 2, un soluto no difusible (manitol, por ejemplo) hasta que la osmolaridad sea la misma a ambos lados. Otra manera es haciendo que la concentración total de las sustancias sea la misma a ambos lados. En ausencia de gradientes, se agrega, EN UNO DE LOS LADOS, una muy pequeña cantidad Na⁺, Cl⁻ o glucosa pero RADIACTIVOS. El flujo UNIDIRECCIONAL del isótopo podrá ser fácilmente seguido sin que se haya introducido un gradiente de osmolaridad.

El FLUJO NETO DE AGUA POR GRADIENTE OSMOTICO es más fácil medir y será muy claramente entendido si se sigue el experimento siguiente, en el que se usa la vejiga urinaria del sapo.

2A El sapo tiene un sistema renal que no es capaz de formar orinas con una osmolaridad mayor a la de su plasma. En esas condiciones, no puede "AHORRAR" agua, como lo hace el hombre cuando no tiene agua para beber y produce orinas concentradas. Sin embargo, el sapo puede almacenar orina en su vejiga cuando está en un ambiente húmedo y transferirla desde allí al medio interno cuando está en un ambiente seco. Esta transferencia de agua se hace a favor de un gradiente de osmolaridad, donde el medio interno es hiperosmolar con respecto al contenido de la vejiga y está bajo el control de una hormona, la HORMONA ANTIDIURETICA (ADH). Este sistema puede ser utilizado en el laboratorio: para ello se diseca y aisla la vejiga del sapo, se la llena con una solución hipo-osmótica y se la sumerge en un vaso de precipitado que tenga una solución iso-osmótica.



Se establecerá un flujo de agua de dentro hacia afuera que será propo

$$J_V = P_{OSM}$$
 . A . (Osm 1 - Osm 2

Si, a intervalos regulares, se saca la vejiga del líquido y se la pesa en una balanza apropiada, se verá que ésta, por la salida del agua, pierde peso. Como 1 $g = 1 \text{ cm}^3$, el cálculo de Jv es sencillo. El siguiente gráfico muestra la evolución del peso de la vejiga aislada en un experimento típico. Se puede ver que al agregarse la ADH hay un brusco cambio de la pendiente, indicando un aumento de la permeabilidad al agua.

Para calcular el **Posm** que la vejiga tenía ANTES del agregado de la hormona disponemos de los siguientes datos: Osm 1 (interior) = 26 mOsm/L

Osm 2 (exterior) = 260 mosm/L

 Δ Osm = 234 mOsm/L Δ Osm = 0,234 . 10⁻³ Osm/cm³

Area = 12 cm^2

Pérdida de peso = 0,036 g en 40 min. (este dato se calculó a partir del gráfico)

En consecuencia, el J_V es de

$$J_V = 0.036 \text{ cm}^3 / 2400 \text{ s}$$

$$J_V = 1.5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 / \text{ s}$$

Y el coeficiente de permeabilidad osmótica es de:

$$P_{OSM} = \frac{J_V}{A \cdot \Delta Osm}$$

Posm =
$$\frac{1.5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 / \text{s}}{12 \text{ cm}^2 \cdot 0.234 \cdot 10^{-3} \text{ Osm/cm}^3}$$

$$P_{osm} = 0.0053 \text{ cm}^4 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Osm}^{-1}$$

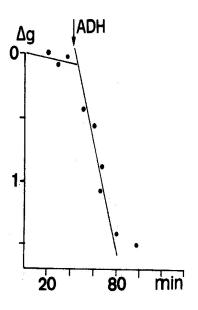
Este mismo coeficiente se puede expresar del siguiente modo:

$$\Pi = R . T. \Delta Osm$$

$$\Pi = (0.082 \text{ L. atm/ Osm} \cdot {}^{\circ}\text{K}) \cdot 293 {}^{\circ}\text{K} \cdot 0.234 \text{ Osm/ L}$$

 $\Pi = 5,62 \text{ atm}$

Cap 2 Parte 4 p. 7



$$P_{OSM} = \frac{1,5 \cdot 10-5 \text{ cm/ s}}{12 \text{ cm}^2 \cdot 5,62 \text{ atm}}$$

$$P_{osm} = 2,22 \cdot 10^{-7} \cdot s^{-1} \cdot atm^{-1}$$

2B Ahora usted calcule el Posm de este vejiga después del agregado de la hormona. Los datos del gradiente osmótico y el área son los mismos que en el caso anterior. La variación de peso obténgalo de la gráfica.

Resultados: $P_{OSM} = 0.316 \text{ cm}^4. \text{ s}^{-1}. \text{ Osm}^{-1}$ $P_{OSM} = 1.30 \cdot 10^{-5} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ $P_{OSM} = 0.017 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$

COMENTARIOS: la ADH actúa aumentando el coeficiente de permeabilidad osmótico, lo que determina que, aun cuando el gradiente sea el mismo, el flujo de agua sea mucho mayor. De ese modo, el sapo podrá transferir agua desde el interior de la vejiga al espacio extracelular, a FAVOR DE UN GRADIENTE OSMOTICO. En ausencia ADH, pese a la existencia del gradiente osmótico, el flujo de agua era bajo y el agua quedaba "guardada" en la vejiga.

PROBLEMA 3

Objetivo: - Aprender a reconocer las condiciones en las que un potencial eléctrico es un potencial de difusión.

Los potenciales de difusión son debidos a la presencia de un gradiente de concentración, que determina el flujo de iones, y a la existencia de una permeabilidad diferente para aniones y cationes. A continuación se dará un ejemplo experimental y una serie de posibles respuestas. Analizaremos cada una de ellas, para quedarnos con la o las más posibles.

Una membrana separa 2 soluciones de NaCl: la que está en el compartimiento 1 tiene 15 mmol/ L y la que está en 2 tiene 150 mmol/L. Se ha agregado sacarosa en 1 de modo de hacer iguales las dos osmolaridades. Con un voltímetro se observa que el lado 2 tiene un potencial positivo con respecto al lado 1. Esta situación puede ser debida a:

a) La permeabilidad al Na+ en la membrana es mayor que la permeabilidad al Cl-.

- b) Hay un gradiente de concentración para el Na+.
- e) Existe un transporte activo de NaCl de 1 hacia 2.
- d) Existe un gradiente de concentración para el Cl-.
- e) La permeabilidad al Cl- es mayor que la permeabilidad al Na+.
- f) Hay una bomba que mueve Na+ de 1 hacia 2.
- g) Hay una bomba que mueve Cl⁻ de 2 hacia 1.

Respuestas:

- a) Esto no justifica el potencial (+) en 2, ya que el gradiente es de 2 hacia 1 .
- b) El gradiente es cierto, pero tiene que haber otra condición para que aparezca el potencial, por ejemplo, una permeabilidad diferente para sodio y cloruro,
- c) Si hubiera un transporte de NaCl como tal, como molécula neutra, no habría aparecido el potencial. Este transporte determinaría el potencial sólo si se estuviera moviendo más rápidamente el Na⁺ que el Cl⁻.
- d) Nuevamente, como en b), el gradiente de Cl⁻ es cierto, pero de por si no determinará un potencial: debe haber una permeabilidad diferente.
- e) Es una condición que, sin ningún otro agregado, sí puede justificar el potencial: el NaCl se mueve de 2 hacia 1 a favor del gradiente de concentración y como la permeabilidad del Cl⁻ es mayor que la del Na⁺, se crea una diferencia de potencial con el signo (+) en 1.
- f) Es posible que el signo del potencial sea debido a esta bomba, pero para afirmarlo se debe investigar la dependencia metabólica del potencial eléctrico.
- g) También es posible, pero para afirmarlo, como en f), hay que realizar otras pruebas.

PROBLEMA 4

Objetivo: - Calcular el potencial eléctrico de equilibrio del HCO3-

- Determinar si existe o no necesidad de postular la

Cap 2 Parte 4 p. 9

existencia de un mecanismo activo para mantener las concentraciones.

Habiéndose explicado los casos del Na+, el K+ y Cl-, usted deber resolver sin problemas el caso del HC03⁻. Use los datos de la Tabla 2.IV para las concentraciones extra e intracelulaares

- a) El potencial eléctrico de equilibrio del HCO3⁻ es de mV.
- b) Se necesita-no se necesita (subraye lo que corresponde) postular la existencia de una bomba para mantener las concentraciones.
- c) si hay una bomba, esta deber sacar-meter (subraye lo que corresponde) HCO3- de la celula.

Respuestas: a) -32.2 mV

- b) se necesita, ya que el potencial medido (Vm) es de -90 mV.
- c) El potencial de la célula (-90 mV) excede al que se requiere para el equilibrio, por lo que el HCO3⁻ tiende a SALIR: la bomba, para mantener las concentraciones, debe introducir HCO3⁻ en la célula.

DISCUSION

La siguiente historia puede servir, en especial para los estudiantes avanzados, para comprender mejor el significado y utilidad de la ecuación de Nernst con relación al potencial de membrana de una célula.

Un profesor de Fisiología se dirige a un grupo de estudiantes y les plantea del siguiente problema:

- Señores, acabo de medir. en una célula, un potencial intracelular de - 54 mV y quiero saber si el ion K+ está, en esta célula, distribuido activa o pasivamente... díganme ustedes qué debo hacer. Un estudiante dice: - Hay que medir el K+ intra y extracelular.. - Cierto, pero ¿qué valor ESPERARIA usted encontrar si la distribución fuera pasiva? Luego de un largo silencio, otro estudiante dice: - Aplicaría la fórmula. - Si, pero ¿cuál? Nuevo silencio hasta que alguien escribe en la pizarra:

Eso es correcto! Es la relación que se debería esperar si la membrana celular se comportara como un electrodo de K+. Ustedes no han usado electrodos de K+, pero recuerden los electrodos de pH: son electrodos formados por un vidrio permeable al H+. Cuando se sumergen en un medio con un cierto pH, su potencial cambia siguiendo una recta cuya

pendiente es de - 58 mV a 20 ° C o de -61 mV a 37 ° C. Ahora, continua, yo medí el K intracelular y es de 150 mEq/L. Por lo tanto, ¿el K + esté en equilibrio?. La respuesta es :

i) ya que

por lo tanto, se debe postular la existencia de una bomba que opere introduciendo - sacando (subraye lo que corresponde) K+ de la célula.

RESPUESTAS y COMENTARIOS SOBRE LA DISCUSION

- a) 1
- b) 96500 Coulomb/mol
- c) 8,31 Joule/ mol ^o K
- d) 310 ° K
- e) $K_{2}^{+}/K_{1}^{+} = e^{-(0,054 \text{ V})} 37,46 \text{ Coulomb/ Joule} = 0,13 \text{ y} K_{1}^{+}/K_{2}^{+} = 7,69 \text{ lo que indica que debe haber 7 VECES más K+ en el interior celular que en el exterior, por lo que$

f = 30,76 mEq/ L

La curva del estudiante debe entenderse así: 1) en el eje x la escala es logarítmica, por lo que la relación de les concentraciones es, en realidad, el logaritmo de las mismas. 2) Usó la relación K+1 / K+2 o K+ 2 / K+ 1 que le resultara más cómoda. En este caso usó la relación concentración mayor/ concentración menor. 3) los valores de voltaje los obtuvo de la ecuación de Nernst. Con esa curva, partiendo de - 54 mV en ordenadas obtuvo una relación de:

- g) 8, que es bastante similar a la obtenida por la fórmula y con un K+ externo de 4 mEg/L, es lógico que el K+ interno sea de:
- h) 32 mEq

Si se MIDE un K+ interno de 150 mEq/l y un potencial de -54 mV, es evidente que

- i) no puede estar en equilibrio, ya sólo alcanzaría para equilibrar una concentración intracelular de unos 30 mEq/L de K+· Por lo tanto persiste la tendencia del K+ a SALIR de la célula y debe postularse una muy importante bomba que opere.
- j) introduciendo K⁺ en el interior celular, de modo de mantener la concentración constante.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Bases fisiológicas de la Práctica Médica

J. B. West, 12ª edición (1993) Editorial Médica Panamericana, México

- The kidney

B. M. Brenner y F.C. Rector W. B. Saunders, Co. Filadelfia, 1976

Un clásico:

- Introducción al estudio de las membranas biológicas

M. Cereijido y C.A. Rotunno Editorial Universitaria de Buenos Aires, 1966

FIN DEL CAPITULO 2

Manual de Fisiología y Biofísica para estudiantes de medicina - R. Montoreano – Edición electrónica 2002