

POTENCIAL DE MEMBRANA

Bibliografía

- Temas de Biofísica
 - Mario Parisi
 - Capítulo 5
 - Páginas 87 - 94
-

Objetivos

- Discutir el potencial que se debe aplicar para que no haya flujo neto de iones en presencia de un gradiente químico (Ecuación de Nernst).
- Explicar como la aparición de un potencial eléctrico se debe a la asimetría de iones no difusibles (Potencial de equilibrio de Donnan).
- Describir como es necesario que se mantengan los gradientes a fin de preservar el potencial de membrana (Ecuación GHK).

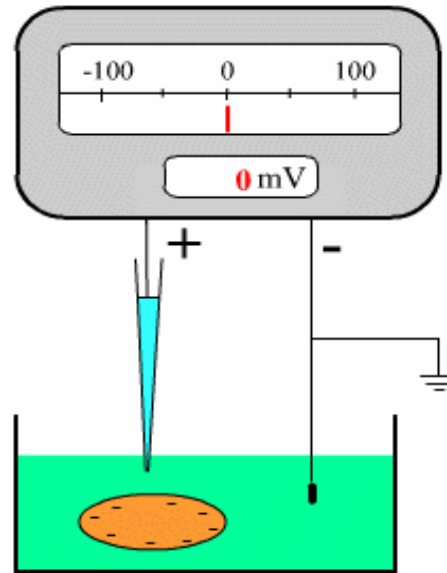
Introducción

- Todas las células vivas mantienen una diferencia de potencial a través de su membrana celular
- Normalmente el interior es más negativo que el exterior



Potencial de membrana

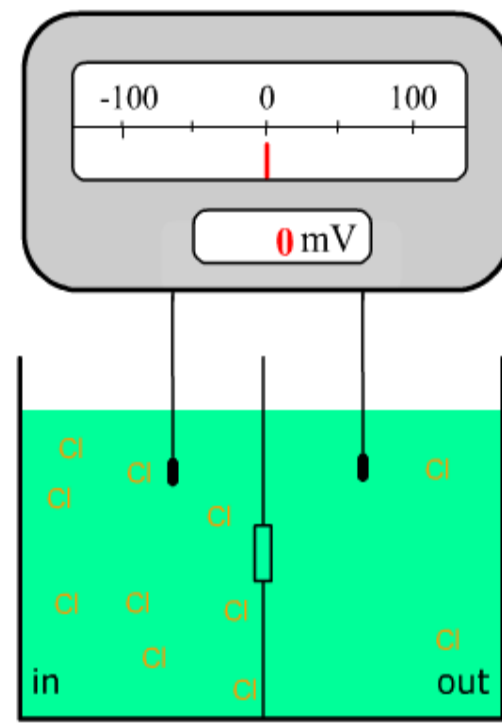
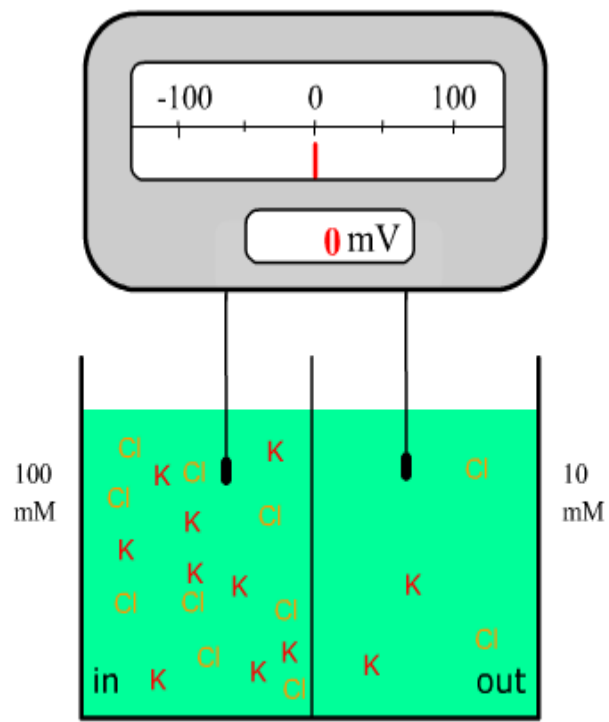
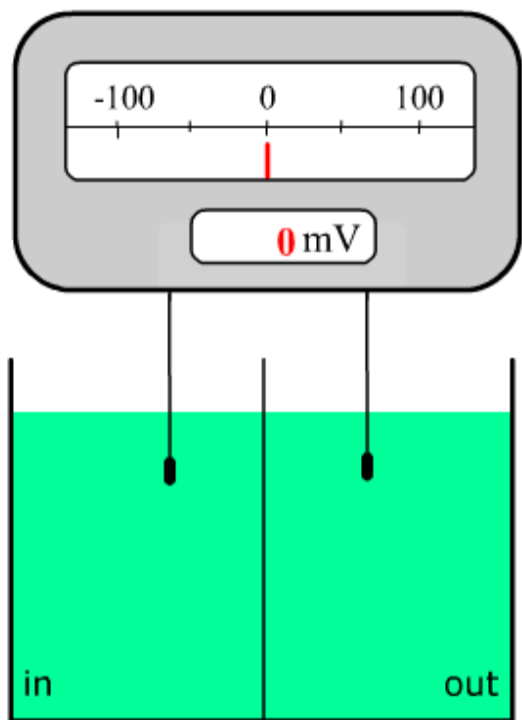
Se puede medir esa diferencia insertando un microelectrodo en la célula y conectarlo a un voltímetro

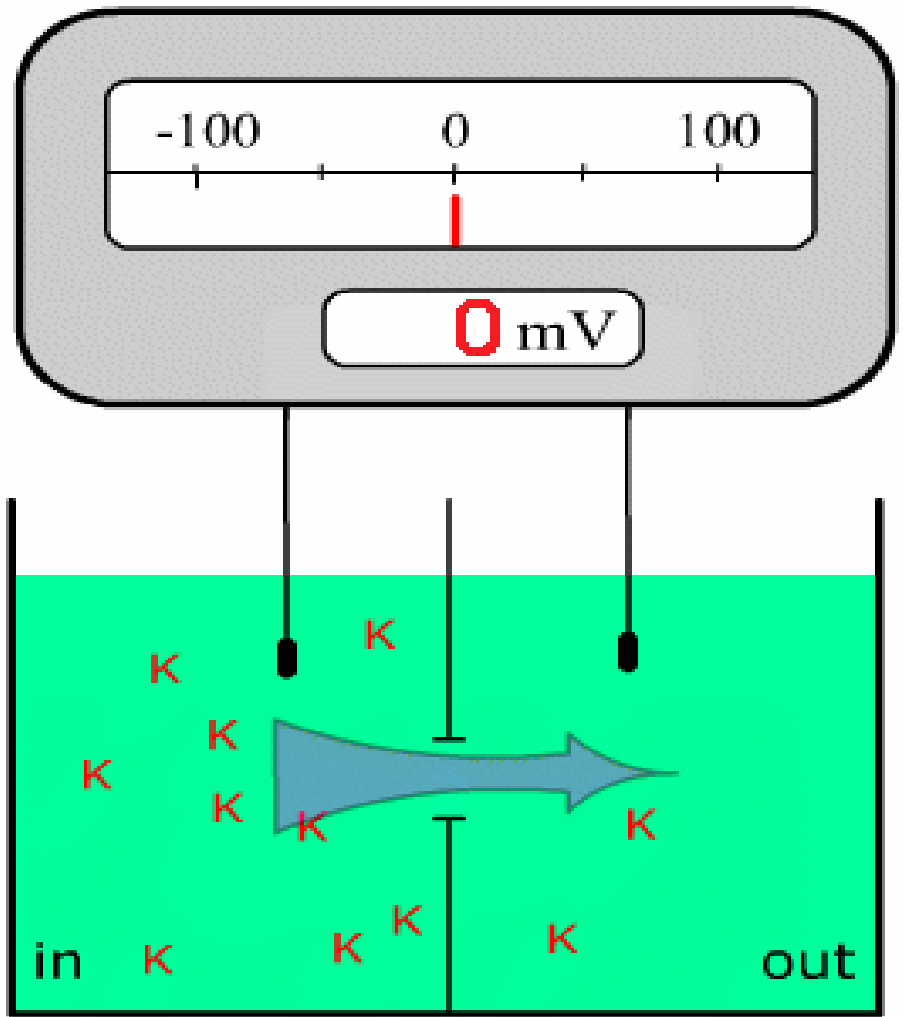


¿De donde sale esta diferencia de potencial?

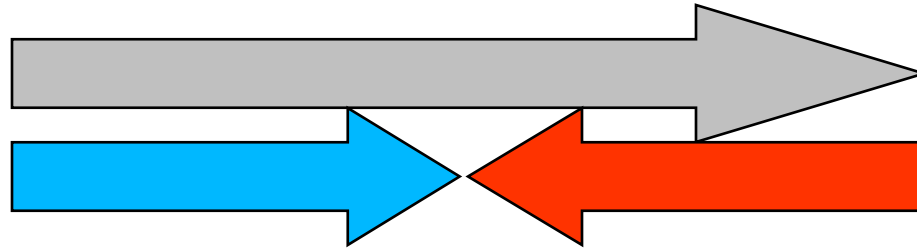
Explicación de Bernstein

- A mediados del siglo XX Bernstein propuso que el mecanismo se debía a 3 factores:
 - La membrana es permeablemente selectiva al ion potasio (K^+)
 - La concentración del ion $[K_{in}]$ es grande en el interior de la célula
 - La concentración del ion $[K_{ext}]$ es pequeña en el exterior de la célula





[K]
gradient 



- La diferencia entre el gradiente químico y el **gradiente eléctrico** es denominada la *fuerza de arrastre*

- Cuando la fuerza de arrastre es cero, significa que los iones de potasio están en equilibrio.
- En equilibrio el movimiento de iones se sigue dando, pero el número de iones que entran son iguales al que salen.

Ecuación de Nernst

- Hemos visto empíricamente como se origina el potencial de membrana como una situación de equilibrio entre la concentración química y la concentración eléctrica
- La ecuación de Nernst da una formula que relaciona el valor mínimo de los gradientes de concentración con el gradiente eléctrico para balancearlo
- La ecuación de Nernst no solo es fundamental para entender los mecanismos que generan el potencial de membrana sino que ayudan a explicar la generación de potenciales de acción y potenciales sinápticos

$$W_{quim} = \Delta E = NRT \ln \left(\frac{[X_1]}{[X_2]} \right)$$

W_{quim} es el cambio de energía asociado con el movimiento de N moles de la concentración X_1 a la concentración X_2 (mol/l), R la constante de los gases ($8,31 J/molK$) T la temperatura absoluta, y \ln es el logaritmo natural (base e)

$$W_{elec} = \Delta E = NzFV$$

W_{elec} es el cambio de energía asociado con el movimiento de N moles de partículas con valencia z en una diferencia de potencial V (volt), y F es el número de Faraday ($96480 C/mol$)

En equilibrio las dos energías son iguales $W_{elec} = W_{quim}$

$$W_{quim} = NRT \ln\left(\frac{[X_1]}{[X_2]}\right) = W_{elec} = NzFV$$

Reagrupando y cancelando términos semejantes

$$zFV = RT \ln\left(\frac{[X_1]}{[X_2]}\right)$$

Oficialmente la ecuación es:

$$V = \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{[X_1]}{[X_2]}\right) \quad \text{Ecuación de Nernst}$$

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[X_1]}{[X_2]} \right)$$

Como R y F son constantes, T es generalmente la temperatura ambiente (293K=20 °C); y usando el *log* en base 10 en lugar de *ln*, la diferencia de potencial en *mV* en lugar de *V*, considerando 1 como adentro (in) y 2 como afuera (out)

$$V(mV) = \frac{-58}{z} \log \left(\frac{[C_{in}]}{[C_{out}]} \right) \quad \text{Forma útil de la Ecuación de Nernst}$$

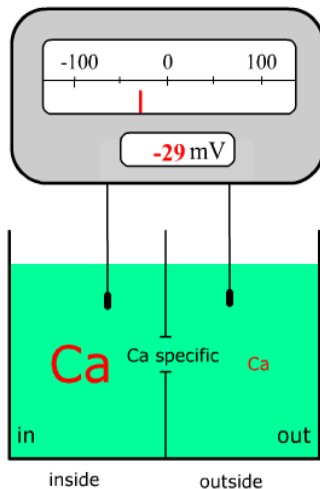
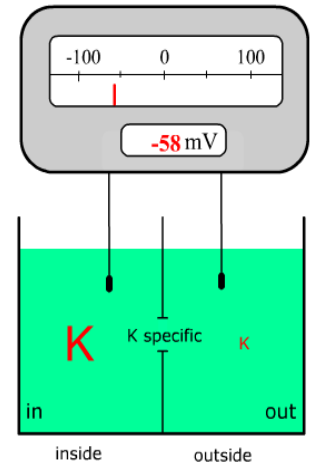
La ecuación de Nernst define el potencial de equilibrio; es decir **el voltaje que equilibra el gradiente de concentración de un ion particular.**

Este es conocido también como potencial reverso

Ejemplos

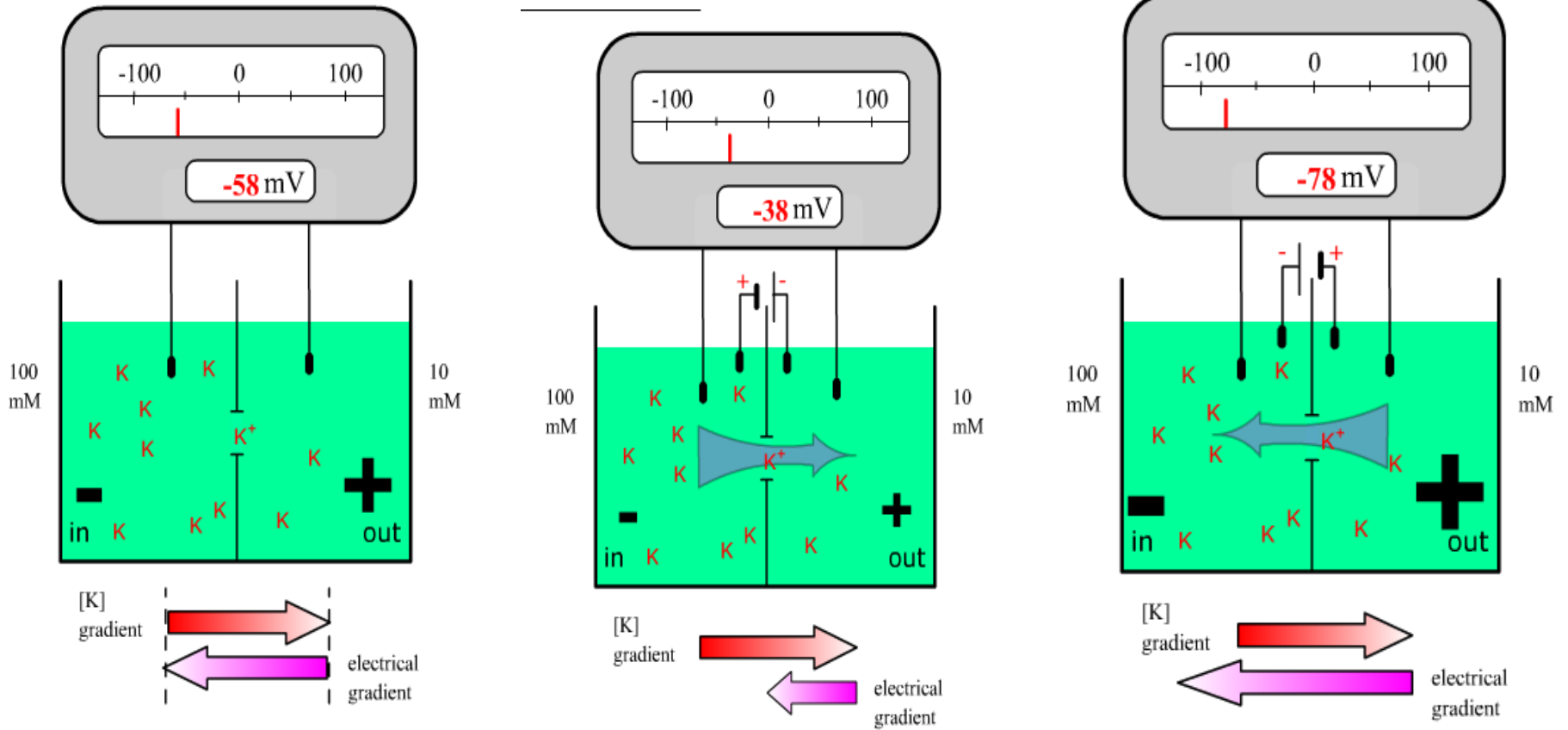
Si tenemos una concentración de 100mM de K^+ adentro de la célula y 10mM de K^+ afuera de la célula, y z es 1 tenemos $\log(10)$ y entonces $V(mV)=-58mV$

$$V(mV) = \frac{-58}{z} \log\left(\frac{[C_{in}]}{[C_{out}]}\right)$$

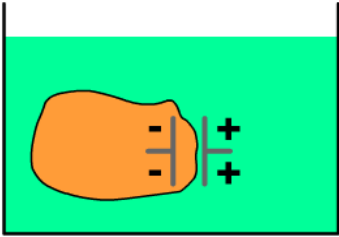


Si tomamos un ion de $z=2$, por ejemplo Ca^{2+} con $[C_{in}]=20mM$ y $[C_{out}]=2mM$, $V(mV)=-29mV$

Potential reverso



¿Cuántos iones se mueven?



La membrana se puede equiparar a un condensador

Las membranas biológicas tienen una capacitancia de $1\mu\text{F}/\text{cm}^2$.

Consideremos una célula esférica de diámetro $50\mu\text{m}$, esta tendrá una superficie de $(4\pi r^2) 7,8 \cdot 10^{-5}\text{ cm}^2$.

Por lo que la capacitancia neta es de $C=7,8 \cdot 10^{-11}\text{ F}$

¿Cuántos iones se mueven?

Si el potencial de membrana es de -78mV ,
y la carga en un condensador es de:

$$Q=CV$$

$$Q= (7,8 \times 10^{-11})(75 \times 10^{-3}) = 5,9 \times 10^{-12} \text{ C}$$

Si consideramos el potencial generado solo por K^+

un ion de K^+ tiene una carga de $1,6 \times 10^{-19} \text{ C}$

el número de iones que equivalen a esa carga es de

$$(5,9 \times 10^{-12}) / (1,6 \times 10^{-19}) = 37'680.000 \text{ iones}$$

Es decir, 38 millones de iones

¿Qué tanto se altera el gradiente de concentración ?

- Para generar ese potencial suponemos una concentración interna de K^+ de $400mM$
- Como hemos supuesto una célula esférica ($\frac{4}{3} \pi r^3$) es decir un volumen de $2,6 \cdot 10^{-12}$ / por lo que el número de moles en esa esfera es $1,04 \cdot 10^{-12}$ mol
- Entonces el número de iones, usando $6,03 \cdot 10^{23}$ partículas por mol, es $6,2 \cdot 10^{11}$ iones
- Entonces 38 millones que salen para equilibrar es de solo
- $(38'000.000)/(6,2 \cdot 10^{11}) = 0,00006$
- Es decir 0,006%

Ecuación de Nernst

- La ecuación de Nernst define el potencial eléctrico a través de la membrana que balancea un gradiente de concentración químico particular de un ion al cual la membrana es permeable
- Este potencial es llamado potencial de equilibrio o potencial reverso. Depende del gradiente de concentración y de la valencia del ion pero **NO** depende del grado de permeabilidad de la membrana al ion o de las concentraciones absolutas

Ecuación de Nernst

- Relativamente pocos iones deben ser movidos por el potencial, es decir el gradiente de concentración no se perturba significativamente cuando se esta buscando el equilibrio
- Cuando la membrana es permeable a un sólo ion el potencial que se alcanza es el de equilibrio, pero ¿Qué pasa si la membrana es permeable a varios iones?

.... continuara

$$V(mV) = \frac{-58}{z} \log \left(\frac{[C_{in}]}{[C_{out}]} \right)$$

- Si $C_{in} = C_{out}$ implica que $zV/-58=0$ si hay potencial de membrana (V distinto de 0) implicaría que $z=0$, es decir que solo las sustancias sin carga eléctrica igualan sus concentraciones a ambos lados al alcanzar el equilibrio, en presencia de potencial de membrana.
- Cuando la membrana es permeable a un sólo ion el potencial que se alcanza es el de equilibrio, pero ¿Qué pasa si la membrana es permeable a varios iones?

Equilibrio de Donnan

- Si consideramos que la membrana es permeable a varios iones debemos utilizar para analizar la situación el equilibrio de Donnan
- El equilibrio de Donnan es aplicado solo cuando la restitución de los voltajes es de forma pasiva, es decir no hay energía involucrada en el movimiento de iones a través de la membrana

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[X_1]}{[X_2]} \right)$$

Si tenemos KCl en ambos lados de la membrana se debe dar un solo voltaje de equilibrio, y debe ser igual a las razones de las concentraciones de cada ion individual

$$\frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[K_{in}]}{[K_{out}]} \right) = V = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[Cl_{out}]}{[Cl_{in}]} \right)$$

Por lo tanto

$$\left(\frac{[K_{in}]}{[K_{out}]} \right) = \left(\frac{[Cl_{out}]}{[Cl_{in}]} \right)$$

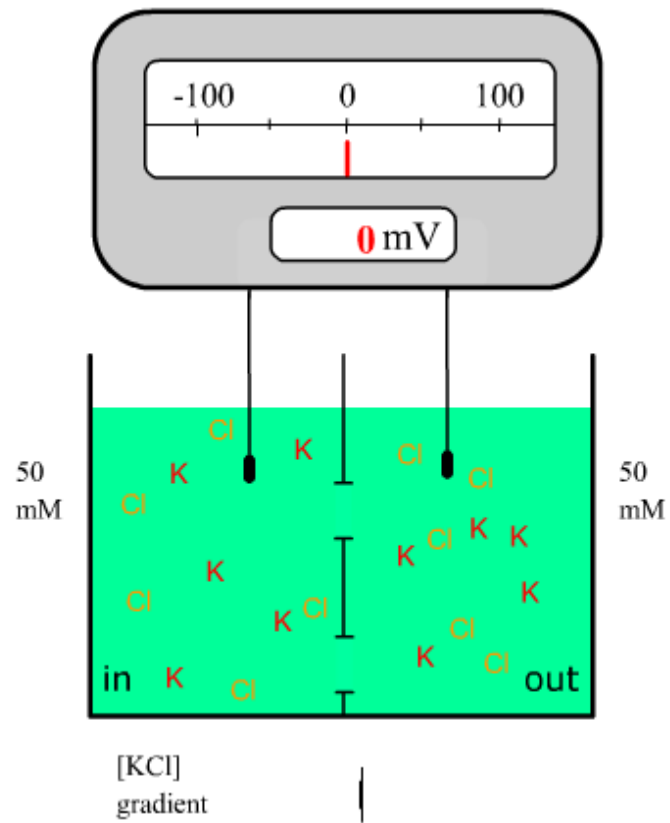
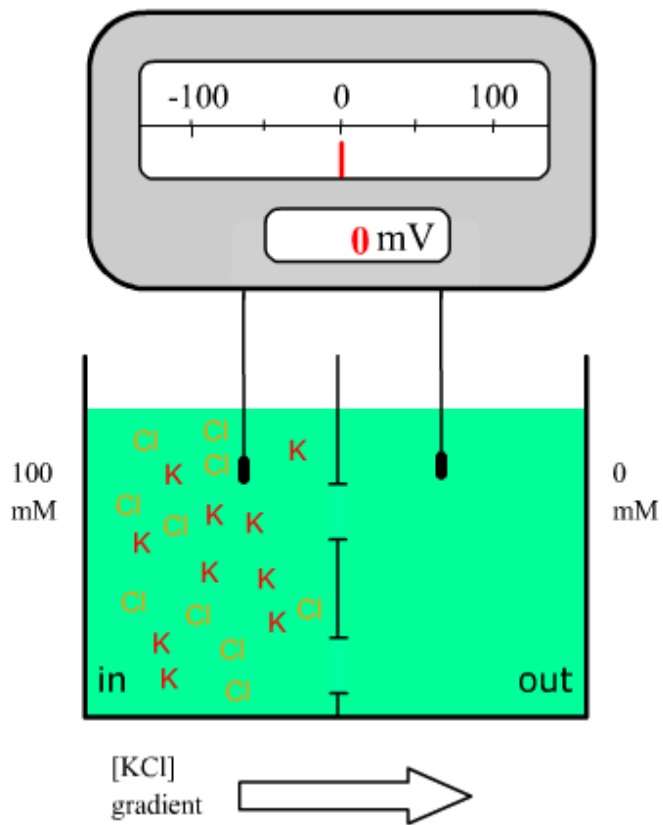
$$K_{in} * Cl_{in} = K_{out} * Cl_{out}$$

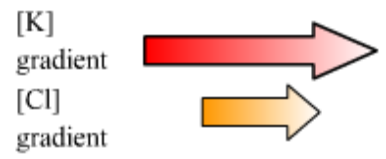
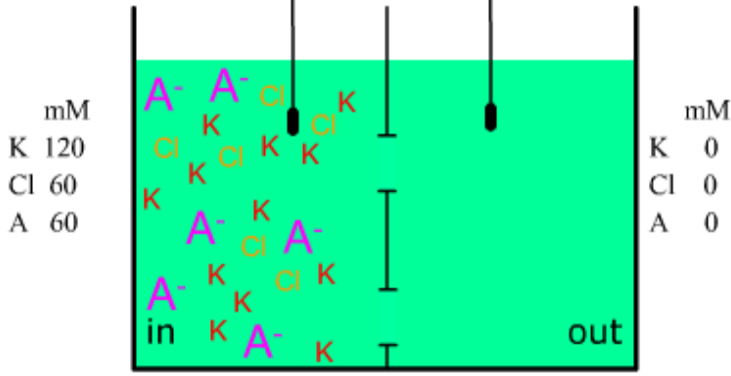
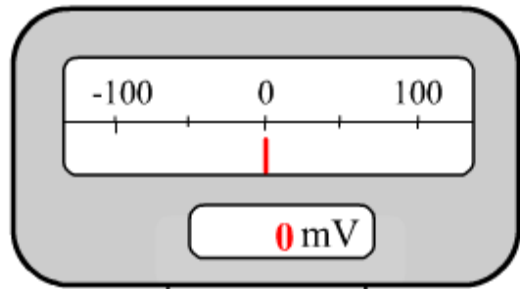
En general para cualquier par de iones a los que la membrana es permeables

$$\frac{RT}{z_C F} \ln \left(\frac{[C_1]}{[C_2]} \right) = V = \frac{RT}{z_D F} \ln \left(\frac{[D_1]}{[D_2]} \right)$$

Por lo tanto

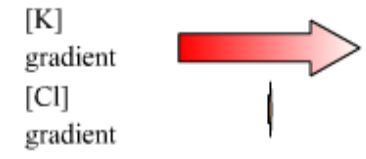
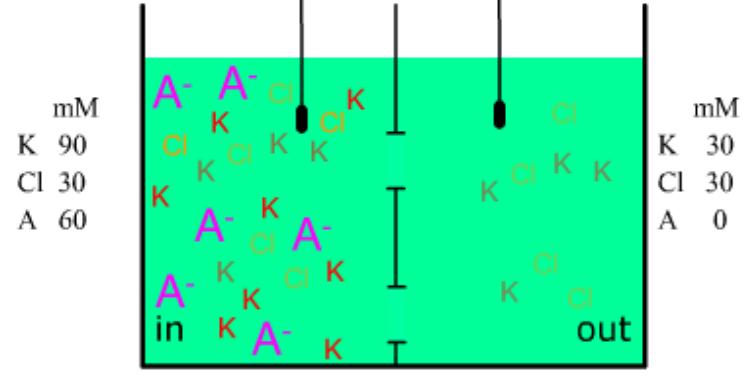
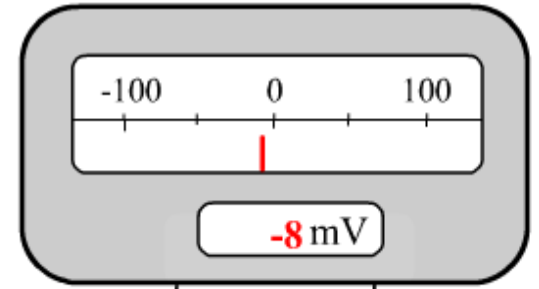
$$\left(\frac{[C_1]}{[C_2]} \right)^{\frac{1}{z_C}} = \left(\frac{[D_1]}{[D_2]} \right)^{\frac{1}{z_D}}$$





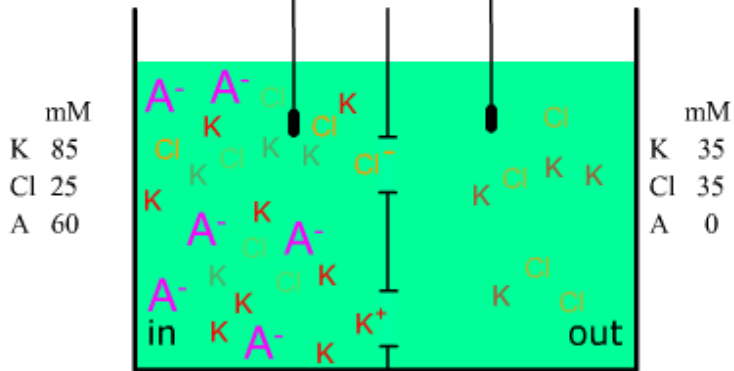
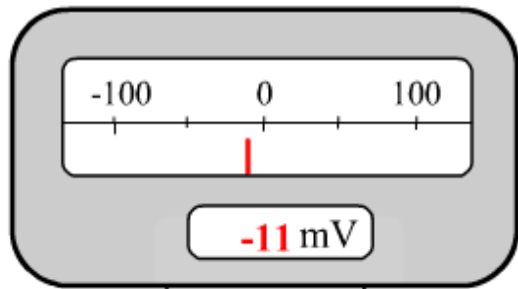
Adentro
Afuera

	+	-	+	-
K	120		0	
Cl		60		0
A		60		0
Total	+120	-120	+0	-0



Adentro **Afuera**

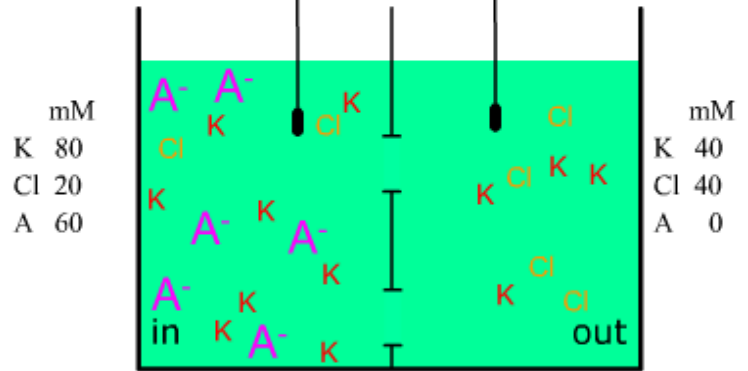
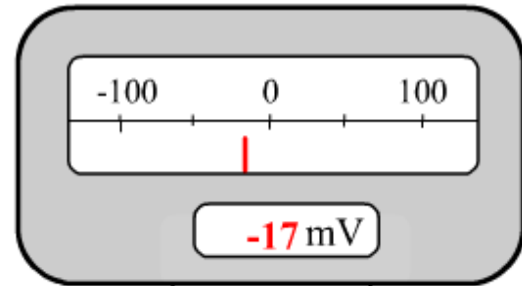
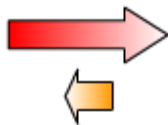
	+	-	+	-
K	90		30	
Cl		30		30
A		60		0
total	+90	-90	+30	-30



mM
K 85
Cl 25
A 60

mM
K 35
Cl 35
A 0

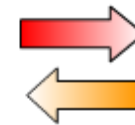
[K]
gradient
[Cl]
gradient



mM
K 80
Cl 20
A 60

mM
K 40
Cl 40
A 0

[K]
gradient
[Cl]
gradient



	Adentro		Afuera	
	+	-	+	-
K	85		35	
Cl		25		35
A		60		0
total	+85	-85	+35	-35

	Adentro		Afuera	
	+	-	+	-
K	80		40	
Cl		20		40
A		60		0
total	+80	-80	+40	-40

$$V(mV) = \frac{-58}{z} \log \left(\frac{[C_{in}]}{[C_{out}]} \right)$$

$$V(mV) = -58 \log \left(\frac{P_K [K_{in}] + P_{Na} [Na_{in}]}{P_K [K_{out}] + P_{Na} [Na_{out}]} \right)$$

P_K es la Permeabilidad de la membrana al **K**
 P_{Na} es la Permeabilidad de la membrana al **Na**

¿Es siempre obedecido el equilibrio de Donnan?

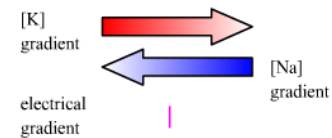
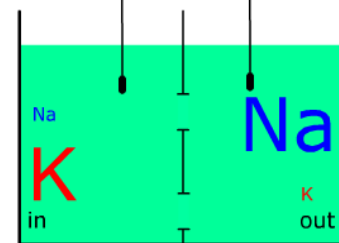
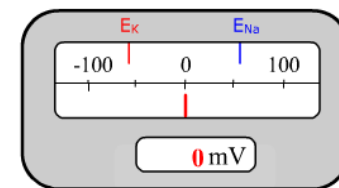
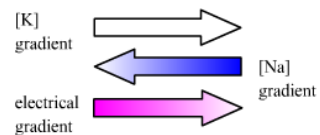
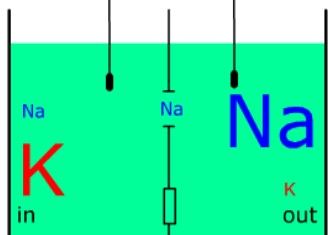
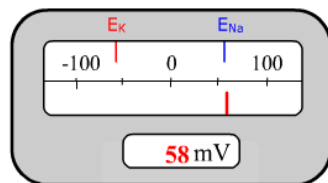
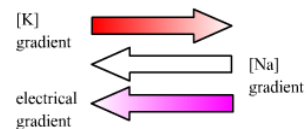
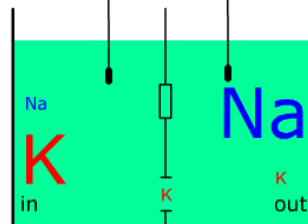
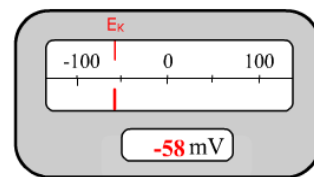
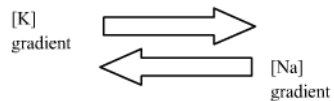
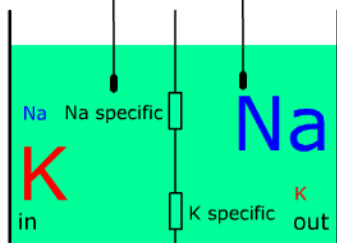
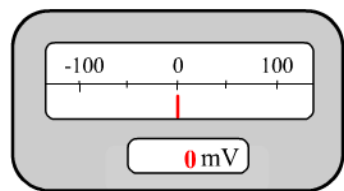
	Ade.	Afu.	Vne
K	124	2,25	-101
Cl	1,5	72,5	-99
K*Cl	186	174	

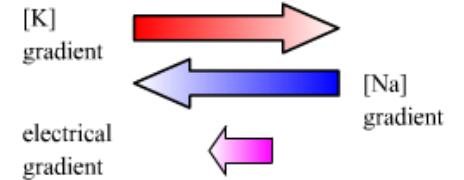
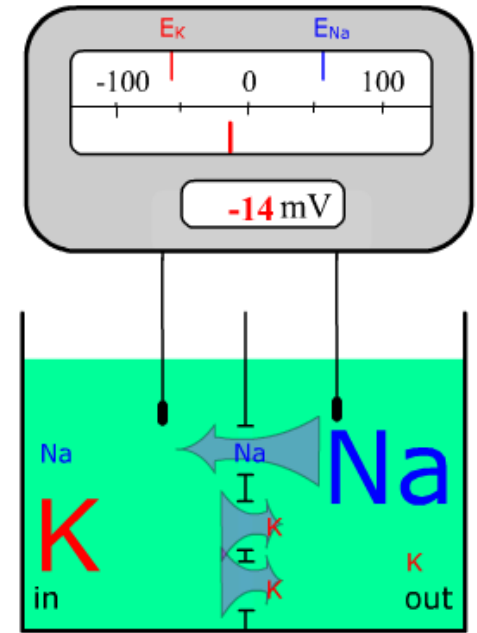
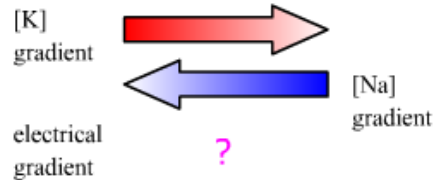
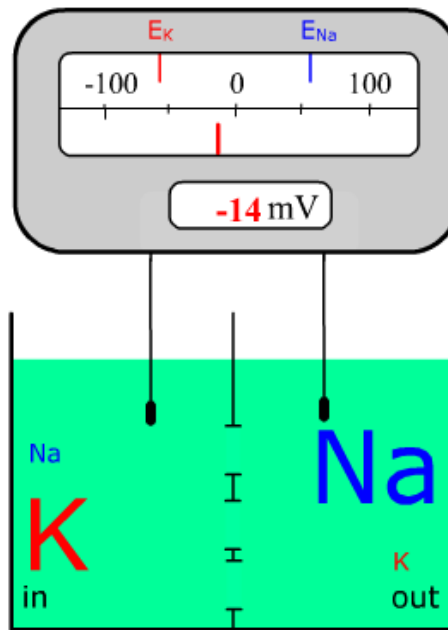
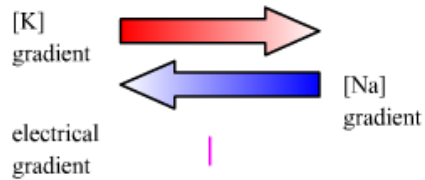
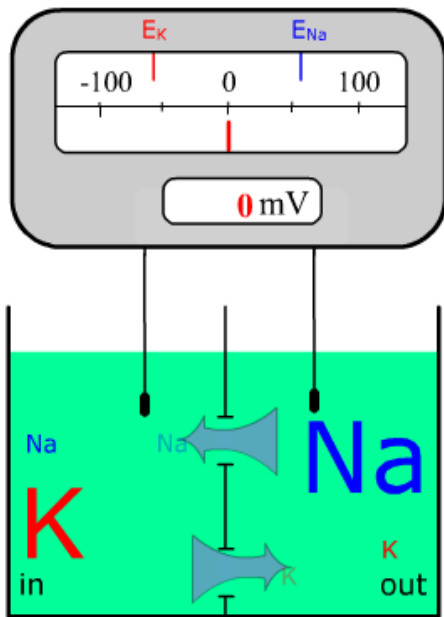
Pot de restitución -90 a -100 mV

Músculo de rana

		Ade.	Afu.	Vne
	K	400	20	-75
Axon de calamar	Cl	108	560	-41
	K*Cl	43200	11200	

Pot de restitución -60 mV





Requisitos del equilibrio Donnan

- Se aplica a difusión pasiva de iones
- Electroneutralidad $zP + A_i = C_i$ $A_e = C_e$

- **Equilibrio termodinámico**

$$C_i * A_i = C_e * A_e$$

$$C_i > C_e \text{ y } A_i < A_e$$

- **Desequilibrio osmótico**

$$C_i + A_i > C_e + A_e$$

Presión osmótica_i > presión osmótica_e

**presión oncótica o presión
coloidosmótica**

La corriente es la conductancia por la fuerza de arrastre

$$I = G^*(\phi_m - \phi_{eq})$$

En el estado de equilibrio

$$I = G_{Na}^*(\phi_m - \phi_{Na}) + G_K^*(\phi_m - \phi_K) = 0$$

$$\frac{G_{Na}}{G_K} = - \left(\frac{\phi_m - \phi_{Na}}{\phi_m - \phi_K} \right)$$

El potencial de membrana de una membrana permeable a mas de un ion depende de:

- 1) Los gradientes de concentración
- 2) La concentración absoluta
- 3) Las permeabilidades relativas

Ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz

- No solo debemos considerar el paso de iones K y Cl también, como sucede en las células nerviosas existe concentraciones apreciables de Na.
 - Para poder entender como funciona esto utilizamos la ecuación Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) llamada generalmente ecuación de Goldman
-

$$V(mV) = -58 \log \left(\frac{P_K [K_{in}] + P_{Na} [Na_{in}]}{P_K [K_{out}] + P_{Na} [Na_{out}]} \right)$$

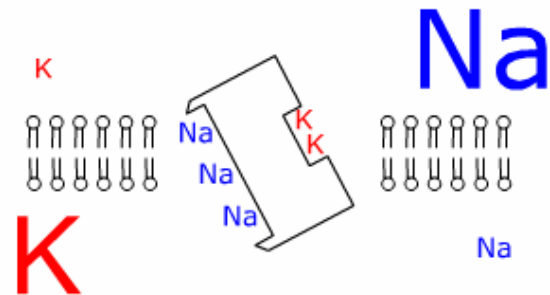
Cuando ademas de iones de sodio y potasio, tenemos cloro...

$$V(mV) = 58 \log \left(\frac{P_K [K_{in}] + P_{Na} [Na_{in}] + P_{Cl} [Cl_{out}]}{P_K [K_{out}] + P_{Na} [Na_{out}] + P_{Cl} [Cl_{in}]} \right)$$

Donde P_K , P_{Na} , P_{Cl} son las permeabilidades de potasio, sodio y cloro de la membrana

Transporte activo

- Diferencia de presión osmótica (presión oncótica)
- Aumento progresivo del volumen interno por entrada de agua (lisis coloidosmotica)
- Para mantener el volumen celular se requiere de procesos que den lugar a movimientos iónicos que promueven distribuciones alejadas del equilibrio termodinámico.
- Fuente de energía



Conclusión

- Cada ion tiene un potencial de membrana distinto del potencial de membrana de los otros iones.
 - El potencial de membrana es un “compromiso” entre los distintos potenciales de membrana de cada ion
 - Este potencial esta descrito por la ecuación GHK
 - El potencial esta predominantemente definido por el estado de restitución de K
 - Un potencial de membrana permanentemente igual a cero implica muerte celular
-