

Potencial de membrana

Las células animales mantienen una diferencia de potencial a través de la membrana plasmática que ronda los 90 mV, siendo el interior electronegativo con respecto al exterior. Lo que intenta responder este pequeño texto es a qué se debe esa diferencia de potencial. Para una real comprensión del tema es necesario leer la bibliografía recomendada en el curso de Biofísica.

La electroneutralidad

La existencia de una diferencia de potencial es ante todo una indicación de la existencia de una separación de cargas. De alguna manera las membranas biológicas contribuyen a que se mantenga un exceso relativo de cargas negativas en el interior celular con respecto al medio extracelular. Sin embargo, es un hecho empírico muchas veces elevado a nivel de principio, el que cualquier porción macroscópica de una solución es electroneutra. La contradicción aparente se despeja cuando se considera lo que se entiende por “macroscópica” en la frase precedente. El entorno inmediato de las membranas biológicas puede ser lo suficientemente pequeño para ser considerado no macroscópico, y sin embargo soportar una diferencia de potencial medible con los instrumentos usuales. Un modesto (y muy aproximado) cálculo aclarará las cosas. Ver para ello el ejercicio 1. El resultado es que con variaciones pequeñas de la concentración es posible mantener una diferencia de potencial del orden de 100 mV. El pequeño exceso de carga se distribuye rápidamente en una delgada capa cercana a las proximidades de la membrana plasmática, haciendo al interior celular electroneutro.

Las posibles fuentes

En principio podríamos distinguir varios motivos por los que existe una separación de cargas. Por un lado, muchos de los componentes estructurales de la membrana son ionizables a pH celular y podría pensarse que una distribución asimétrica de estos grupos con diferentes pK daría lugar a una diferencia de potencial similar a la observada. Por otro lado, algunas proteínas transportadoras acopladas a la hidrólisis de ATP-notablemente la bomba de sodio y potasio- son electrogénicas. Esto significa que en la operación normal del transportador se separan cargas, o dicho de otra forma, son generadores de corriente. Por último, en situaciones en las que existen gradientes de potencial electroquímico de iones a través de la membrana pueden aparecer potenciales de difusión. Con respecto a los componentes cargados de las membranas biológicas, no es imposible que de existir diferencias de densidad superficial de carga entre ambas láminas de las bicapas, estas contribuyan a la generación o estabilización del potencial de membrana. Se ha propuesto que estas cargas, si bien no contribuyen al potencial transmembrana global, pueden tener un efecto local sobre las proteínas de transporte. La consideración de estos aspectos excede los objetivos de este texto.

Las otras fuentes son las más aceptadas como generadoras del potencial de membrana. Entre los transportadores electrogénicos, es obvia la contribución de la bomba de sodio y potasio al potencial de membrana. El carácter electrogénico se pone en evidencia al constatar que la estequiometría fenomenológica es de aproximadamente 3Na^+ transportados hacia afuera / 2K^+ hacia adentro, por cada hidrólisis de ATP, o sea en cada ciclo de la bomba se transporta una carga positiva hacia el exterior celular. En las células excitables, el flujo de la bomba en condiciones de reposo transporta una corriente cercana a los $1,8 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

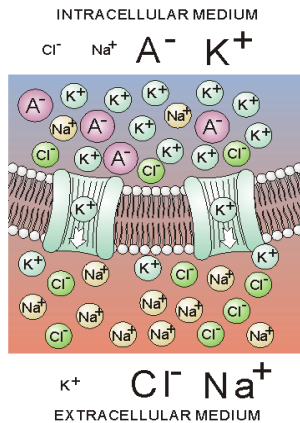
En condiciones de reposo la contribución electrogénica de la bomba de sodio en células excitables y en la mayoría de las células animales es del orden del 10 % del potencial.

El papel más importante de la bomba es indirecto, más concretamente es el mantenimiento del gradiente electroquímico de los iones sodio y potasio. Estos gradientes son fundamentales en el establecimiento del potencial de difusión. La mayor parte de las células deben su potencial de membrana a este mecanismo, que pasamos a considerar en detalle en la siguiente sección.

La composición iónica y la permeabilidad: potencial de difusión.

En la figura 1 se esquematizan la situación de los principales iones y se presentan las

concentraciones típicas de los iones sodio, potasio y cloro en una célula muscular esquelética de rana.



ION	Concentración (mM)		Permeabilidad cm/s
	Citoplasma	Plasma	
K ⁺	124	2,25	1,6x10 ⁻⁶
Na ⁺	10,4	109	1,6x10 ⁻⁸
Cl ⁻	1,5	77,5	2,24x10 ⁻⁶
Ca ⁺⁺	4,9	2,1	-----
Mg ⁺⁺	14,0	1,25	-----

a)

b)

Figura 1. a) Esquema de las proximidades de la membrana celular mostrando los iones involucrados en la generación del potencial de membrana. b) Tabla que muestra las concentraciones intra y extracelulares de los principales iones en una fibra del músculo esquelético de rana. (tomado de Weiss, 1996).y las permeabilidades (estimadas por Hodgkin & Horowicz, 1959).

Como puede apreciarse la concentración intracelular de potasio es mucho mayor que la extracelular y lo contrario ocurre para el sodio. Estos gradientes están mantenidos por la bomba de sodio y potasio a expensas de la energía metabólica (ATP). La concentración intracelular del cloro es menor que la extracelular, pero esto depende más bien del potencial de membrana, como veremos.

Podemos imaginar lo que ocurriría en una situación hipotética en donde el potencial de membrana se cortocircuita a 0 bruscamente. En ese caso los iones de sodio tenderían a entrar, los de potasio a salir y los de cloro a entrar. Tomando en cuenta, por el momento, lo que ocurre solamente con el sodio y el potasio, y asumiendo que los gradientes de concentración son aproximadamente iguales pero de dirección opuesta, podemos analizar en nuestro experimento conceptual el resultado de manipular la permeabilidad a estos iones. En la figura 2a, la permeabilidad es igual para ambos iones y sus flujos son iguales y opuestos (hemos supuesto que los gradientes son iguales). Como no hay corriente neta no se genera una separación de cargas. En la figura 2b sin embargo, hemos supuesto, como ocurre en las células animales, que la permeabilidad es mucho mayor para el potasio que para el sodio. La situación mostrada constituye un transitorio que rápidamente se relaja hacia la situación mostrada en la figura 2c, en donde una pequeña separación de las cargas (ver el problema 1) determina la existencia de un potencial que retarda el flujo de potasio y acelera el flujo de sodio, de manera que el flujo neto de carga es nulo. A esta diferencia de potencial, que mantiene en un valor nulo el flujo neto de carga, a pesar de que ocurra la electrodifusión pasiva de iones con diferente permeabilidad, se la conoce como **potencial de difusión**. En la mayoría de los casos la mayor contribución al potencial de membrana la hace el potencial de difusión.

Se puede enunciar una explicación concisa del potencial de membrana que incluya este mecanismo y a los transportadores electrogénicos activos, como sigue:

El potencial de membrana en reposo es aquel potencial que determina que la suma vectorial de todos los flujos electrogénicos, ponderados por la valencia de los iones transportadores, sea nula.

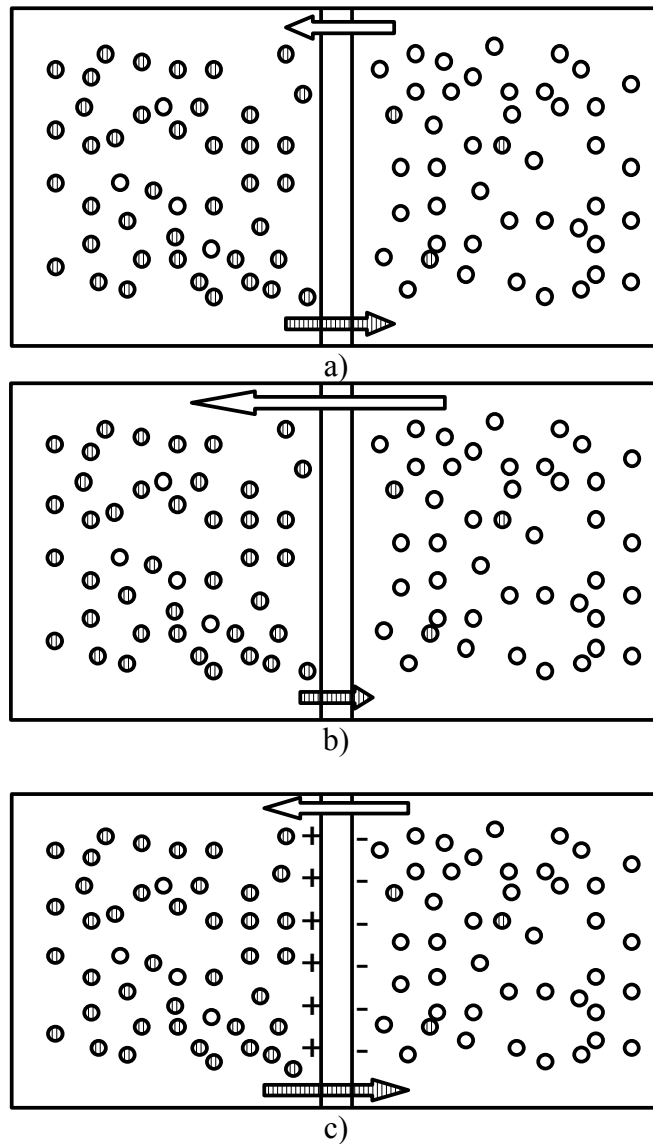


Figura 2. Un esquema que ilustra la generación del potencial de membrana como un potencial de difusión. Los círculos a rayas representan iones sodio y los círculos blancos iones potasio. A la izquierda el exterior y a la derecha el interior celular. a) Situación en la que el valor absoluto de los gradientes de concentración y las permeabilidades son iguales. b) Situación transitoria con gradientes de misma magnitud y permeabilidades diferentes. Con $P_K \gg P_{Na}$ cuando $V=0$. c) Situación generada espontáneamente a partir de b); los flujos se igualan luego de un breve transitorio, debido al potencial eléctrico generado por la salida de cargas positivas al inicio.

Ecuaciones

La última frase del apartado anterior se puede expresar de la siguiente manera:

En condiciones de reposo, el potencial V es tal que

$$z_K J_K(V) + z_{Na} J_{Na}(V) + z_{Na} \phi_{Na} + z_K \phi_K + z_{Cl} J_{Cl} + \dots + \text{otros} = 0, \quad (\text{ec. 1})$$

con $J_x(V)$ el flujo de el ion x al potencial V , z_x la valencia del ion x y ϕ_K y ϕ_{Na} son los flujos activos debidos a la bomba de sodio y potasio (que dependen también del potencial y de la energía metabólica). Si multiplicamos la ecuación 1 por la constante de Faraday, la misma establece que la corriente neta es 0. O sea modificando nuestra oración anterior:

El potencial de membrana en reposo es aquel potencial que determina que la corriente iónica neta que atraviesa la membrana sea nula.

De la ecuación 1 puede deducirse (en casos simplificados) una ecuación para el potencial de membrana. Por ejemplo, es usual asumir que los flujos debidos a la bomba de sodio y potasio, son despreciables, y considerar únicamente las contribuciones de los flujos pasivos de sodio, potasio y

cloro (ver el problema 3 para una discusión muy preliminar de la contribución de la bomba). Utilizando la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz para el flujo electrodifusional de un ion a través de una membrana, se puede sustituir en la ecuación anterior y despejar el potencial. Al hacer esa manipulación se obtiene la célebre ecuación de potencial de Goldman-Hodgkin y Katz del potencial:

$$\Delta V = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e} \quad (ec.2)$$

Al introducir los valores de concentraciones iónicas y permeabilidades (figura 1b) se obtiene $\Delta V = -94,75$ mV (a 20 °C), que es cercano a los valores medidos experimentalmente.

Es interesante considerar el significado de la ecuación, tomando en cuenta algunos casos límites. En primer lugar es necesario considerar lo que ocurre cuando un solo ion es permeante a través de la membrana. Por ejemplo, asumamos que la membrana es únicamente permeable al potasio. En ese caso la ecuación anterior se reduce a:

$$\Delta V = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i}$$

en donde desaparecen los términos de los otros iones y se pueden cancelar las permeabilidades. Esta ecuación se conoce como ecuación de Nernst y puede derivarse sin hacer consideraciones cinéticas a partir de principios termodinámicos (ejercicio 4).

El potencial que expresa la ley de Nernst es el potencial de equilibrio del ion. Podemos definir el potencial de equilibrio de un ion (E_{ion}) como aquella diferencia de potencial que hay que aplicar a la membrana para que, dadas las concentraciones extra e intracelulares del ion, el flujo pasivo neto del mismo sea nulo. Utilizando los datos de la figura 1, se puede calcular el potencial de equilibrio del potasio, lo que da un valor de $E_K = -101,2$ mV (a 20 °C, estos números varían con la temperatura y el sistema experimental del que se trate). Los iones que son transportados únicamente por medios pasivos (esto es fluyen en el sentido descendente del gradiente de potencial electroquímico) tienden a ajustar sus concentraciones de manera de que el potencial de membrana sea el potencial de equilibrio (en donde cesan los flujos netos de esos iones). El cloro es uno de ellos, y por estar en equilibrio¹ puede omitirse de la ecuación de Goldman (ver el ejercicio 2).

El caso del potasio es algo diferente. El potasio se encuentra cercano a su potencial de equilibrio, pero esto es debido a que su permeabilidad es mucho mayor que la permeabilidad al sodio. En la ecuación de Goldman, si omitimos el cloro y dividimos al dividendo y al divisor dentro del logaritmo entre la permeabilidad del potasio obtenemos,

$$\Delta V = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_e + (P_{Na}/P_K)[Na^+]_e}{[K^+]_i + (P_{Na}/P_K)[Na^+]_i}$$

Si como ocurre generalmente, $P_K \gg P_{Na}$ los términos que incluyen el cociente son despreciables (para concentraciones finitas) y se pueden obviar en una aproximación gruesa, justificando la afirmación de que el potencial de reposo es esencialmente gobernado por el potasio, o que el potencial de membrana en reposo se asemeja al potencial de equilibrio del potasio.

Referencias

Hodgkin, A. & Horowicz, P., (1959) The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. *J. Gen. Physiol.*, 148:127-160.

Weiss, T.F. (1996) Cellular Biophysics, Vol. 1, Transport. The MIT Press, Cambridge

¹ Si se procede al cálculo con los valores de la tabla de la figura 1 hay una discrepancia de algunos milivoltios, pero esto es producto de utilizar datos de fuentes diversas para los valores de concentraciones y permeabilidades.

Ejercicios

1. Como se verá más adelante en el curso, una membrana biológica puede ser considerada como un circuito con una capacidad específica de $1\mu\text{F}/\text{cm}^2$ y resistencias en paralelo. La medida de V_m es equivalente a medir el potencial en las placas del capacitor. Supongamos que analizamos la diferencia de potencial en una célula esférica de radio $10\mu\text{m}$.

a) ¿Qué densidad superficial de carga es necesaria para mantener una diferencia de potencial de 100 mV?

b) Expresar el resultado anterior en términos del volumen celular, esto es obtenga el exceso de concentración de cargas negativas que se requiere para sustentar una diferencia de potencial de 100 mV.

(Nota: $C = \frac{\Delta Q}{\Delta V}$ es la capacidad de un capacitor con carga ΔQ y diferencia de potencial entre las

placas ΔV ; el volumen de la esfera es $V_{\text{esfera}} = \frac{4}{3}\pi r^3$; superficie de la esfera $S_{\text{esfera}} = 4\pi r^2$.

Para el cálculo en b) nos interesa la concentración global intracelular, irrespectivamente de la distribución de esas cargas en el interior celular).

2) A partir de la ecuación de flujo electro-difusional para campo constante (ecuación de flujo de Goldman- Hodgkin & Katz)

$$J_i = \frac{-P_i F \Delta V}{RT} \left[\frac{[i]_e - [i]_i e^{(z_i F \Delta V / RT)}}{1 - e^{(z_i F \Delta V / RT)}} \right]$$

Obtenga la ecuación de voltaje utilizando la condición de que la corriente neta es 0 (ecuación 1 del manuscrito) si intervienen n cationes univalentes y m aniones univalentes (desprecie los flujos activos). ¿En qué condiciones puede omitirse la contribución de un ion en la ecuación de potencial?

3) Si asumimos que el único transporte activo relevante de los iones es el debido a la bomba de sodio y potasio, y que esta mantiene una relación estequiométrica $r = \frac{|\phi_{\text{Na}}|}{|\phi_{\text{K}}|}$, es posible realizar

una estimación aproximada de la contribución de la bomba de sodio y potasio (ecuación de Mullins-Noda). Con ese fin:

a) Considerando que las concentraciones de sodio y potasio intracelular deben mantenerse constantes en condiciones de reposo, deduzca una relación entre el flujo pasivo de sodio J_{Na} y el flujo activo de sodio ϕ_{Na} . Haga lo mismo para la relación entre el flujo activo de potasio y el flujo pasivo de potasio.

b) A partir de los resultados anteriores deduzca una relación entre los flujos pasivos de sodio y potasio utilizando la relación estequiométrica de la bomba (recuerde respetar alguna convención de signo, por ejemplo que los flujos de cationes son positivos cuando son salientes).

c) Sustituyendo la ecuación de flujo GHK en la relación obtenida en b), obtenga la siguiente ecuación para el potencial de membrana:

$$\Delta V = \frac{RT}{F} \ln \frac{r P_{\text{K}} [K^+]_e + P_{\text{Na}} [Na^+]_e}{r P_{\text{K}} [K^+]_i + P_{\text{Na}} [Na^+]_i}$$

d) Utilizando los valores de las permeabilidades y concentraciones empleados en el texto y la relación estequiométrica $r=1,5$, obtenga la contribución de la bomba de sodio y potasio al potencial de membrana comparando lo obtenido en la ecuación de Goldman y lo obtenido en esta ecuación..

4) Deduzca la ley de Nernst para un ion que se distribuye en dos compartimentos bien mezclados separados por una membrana, a partir de la consideración del equilibrio termodinámico. Para ello

debe utilizarse el siguiente enunciado de los principios de la termodinámica:

En un sistema en equilibrio termodinámico, el potencial electroquímico de las sustancias intervinientes es igual en todas las porciones del sistema.

Utilice además el hecho de que en soluciones diluidas, el potencial electroquímico debido a un ion en una porción del sistema se puede aproximar por,

$$\tilde{\mu}_i \equiv \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T,P} \approx \tilde{\mu}_0 + RT \ln c_i + z_i F \Psi \quad ,$$

donde $\tilde{\mu}_i$ es el potencial electroquímico del ion i , $\tilde{\mu}_0$ es una constante (a presión y temperatura fijas), T la temperatura absoluta, R y F las constantes de los gases y de Faraday, mientras que c_i y Ψ representan respectivamente la concentración del ion y el potencial eléctrico en la porción considerada..