

Anexo Teórico - Práctico 4

POTENCIAL DE MEMBRANA

Sección Biofísica

Facultad de Ciencias, Universidad de la República

Las células animales mantienen una diferencia de potencial a través de la membrana plasmática que ronda los 100 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 que cualquier porción macroscópica de una solución es electroneutra (la cantidad de cargas positivas es igual a la de cargas negativas en esa porción macroscópica de solución). 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 mantener una diferencia de potencial medible con los instrumentos usuales. El cálculo que se debe realizar en el Ejercicio 5 contribuye a comprender este aspecto. El resultado que se obtiene al resolver este ejercicio es que con pequeñas variaciones en la concentración (en el orden de micromolar) es posible mantener una diferencia de potencial de 100 mV en una célula de 10 μm de diámetro. La concentración de los iones involucrados en la generación del potencial de membrana se halla en el orden de las decenas o de las centenas de milimolar (véase como ejemplo la Tabla que aparece en la Figura 1), valor de concentración muy superior (entre 10 a 100.000 veces) a la diferencia de concentración entre cargas positivas y negativas necesaria para que se verifique un potencial eléctrico a través de la membrana de unos 100 mV. Esto último permite comprender que el potencial de membrana se genera con una pequeña desviación de la electroneutralidad.

Los Orígenes del Potencial de Membrana

En principio podríamos distinguir varios motivos por los que existe una separación de cargas a través de diversos tipos de membranas biológicas. 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 genera una separación de 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, debe tenerse en cuenta que la presencia de un electrolito en un medio en el que las cargas pueden moverse libremente provocaría la neutralización parcial de las cargas de esos componentes, por parte de los contraiones en solución. Sin embargo, no es imposible que, de existir diferencias de densidad superficial de carga entre ambas láminas de las bicapas, éstas contribuyan a la generación o a la 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.

Sin embargo, son otros los factores que se consideran fundamentales en la generación 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 de la bomba es, en términos generales, de aproximadamente 3 moles de iones Na^+ transportados hacia el exterior celular y 2 moles de iones K^+ hacia el interior celular por cada mol de ATP hidrolizado, o sea, en cada ciclo de la bomba se transporta un mol de cargas positivas hacia el exterior de la célula. En las células excitables el flujo de la bomba en condiciones de reposo genera una corriente de $1,8 \mu A.cm^{-2}$.

En condiciones de reposo, la contribución electrogénica de la bomba de sodio y potasio al valor del potencial de membrana en células excitables, y en la mayoría de las células animales, suele ser menor al 10 % del potencial de membrana. En otras palabras, la bomba de sodio y potasio NO es la responsable del potencial de reposo

El papel más importante de la bomba es indirecto, es decir, es la “encargada” de mantener el gradiente electroquímico de los iones sodio y potasio a través de la membrana plasmática celular. 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, el cual será considerado en detalle en la siguiente sección.

La Composición Iónica y la Permeabilidad: Potencial de Difusión

En la Figura 1 se esquematiza la situación de los principales iones, y se presentan las concentraciones típicas de los iones sodio, potasio y cloro en una célula de músculo esquelético de rana.

Como puede apreciarse, la concentración intracelular de potasio es mucho mayor que la concentración extracelular, mientras que lo opuesto 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 de cloro es menor que la extracelular, pero esto depende del potencial de membrana, como se verá más adelante.

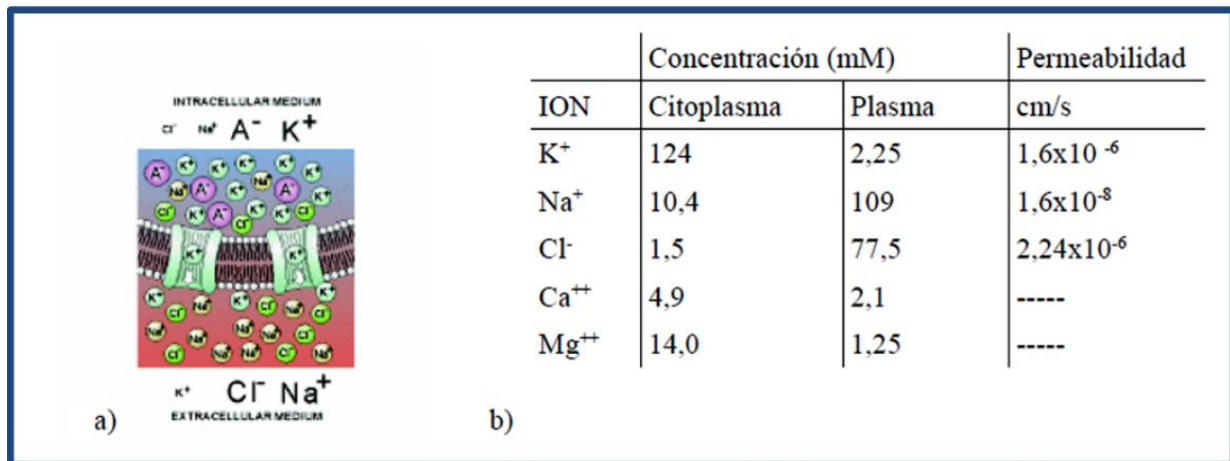


Figura 1: Esquema de las proximidades de la membrana celular mostrando los iones involucrados en la generación del potencial de membrana. b) Tabla que muestra las concentraciones intra y extracelulares de los principales iones en una fibra del músculo esquelético de rana. (tomado de Weiss, 1996) y las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

Es posible imaginar lo que ocurriría en una situación hipotética en donde el potencial de membrana se “cortocircuita” a 0 mV 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 y sentido opuestos, podemos analizar en nuestro experimento conceptual el resultado de manipular la permeabilidad de la membrana 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, se ha supuesto, como ocurre en las células animales, que la permeabilidad de la membrana que separa los compartimientos 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 Ejercicio 5) determina la existencia de un potencial que retarda el flujo de potasio y acelera el flujo de sodio. A esta diferencia de potencial que mantiene en un valor nulo el flujo neto de carga, a pesar de que se verifica la electrodifusión pasiva de iones con diferente permeabilidad, se la conoce como **Potencial de Difusión**. En la mayoría de los casos, la principal contribución al potencial de membrana la realiza el potencial de difusión. Se puede enunciar una explicación concisa del potencial de membrana que incluya este mecanismo, y a los transportadores electrógenos activos, de la siguiente forma:

El potencial de membrana en reposo es aquel potencial que determina que la suma vectorial de todos los flujos electrógenos, ponderados por la valencia de los iones que atraviesan la membrana, sea nula. (*)

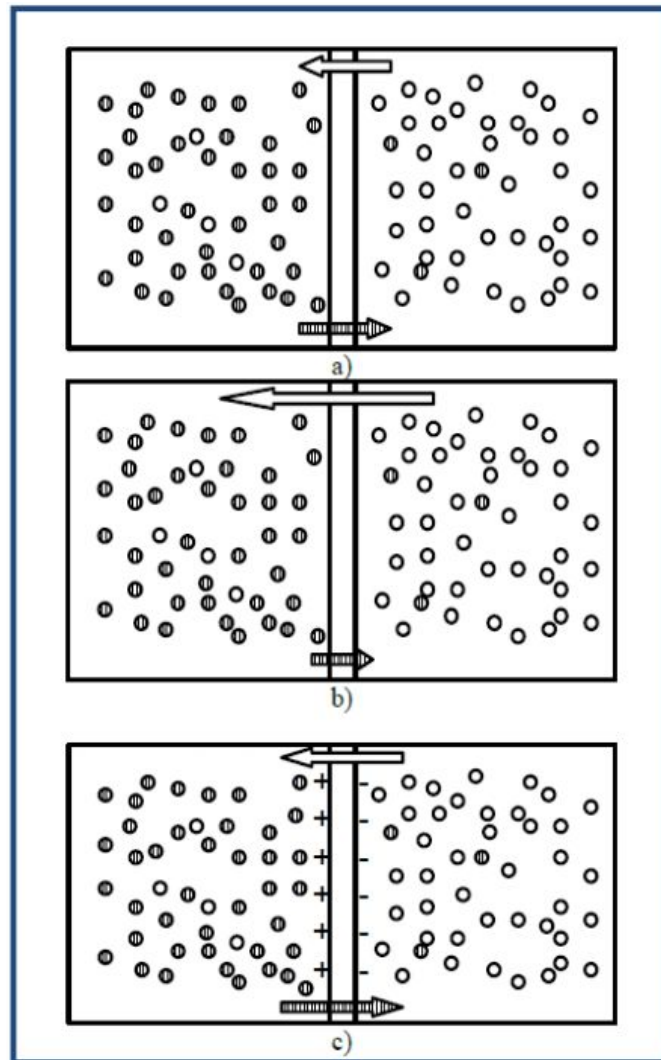


Figura 2: Un esquema que ilustra la generación del Potencial de Membrana como un Potencial de Difusión. Los círculos a rayas representan iones Sodio y los círculos blancos iones Potasio. A la izquierda el exterior y a la derecha el interior celulares. a) Situación en la que el valor absoluto de los gradientes de concentración y las permeabilidades son iguales. b) Situación transitoria con gradientes de igual 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 inicial de cargas positivas.

Ecuaciones

La frase (*) del apartado anterior se puede expresar de la siguiente manera:

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

con $J_X(V)$ representando el flujo del ión X al potencial V ; z_X la valencia del ión X ; y ϕ_{Na} y ϕ_K los flujos activos debidos a la bomba de sodio y potasio (los cuales también dependen del potencial eléctrico y de la energía metabólica). Si multiplicamos la Ec. 1 por la constante de Faraday (F), la misma quedaría expresada en términos de Corrientes Iónicas (

$z_X F J_X(V) = I_X$) en lugar de Flujos Iónicos, estableciendo que la corriente neta es 0. O sea, la frase (*) puede ser formulada de la siguiente manera:

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

De la Ec. 1 puede deducirse, en ciertos casos, 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, de potasio y de cloro (considerar el Ejercicio 7). Utilizando la ecuación de Goldman, Hodgkin y Katz (GHK) para el flujo electrodifusional de un ión a través de una membrana, se puede sustituir esa ecuación en la Ec. 1 y despejar el potencial (V). De esta manera se obtiene la célebre ecuación para el potencial de membrana de Goldman, Hodgkin y Katz (GHK):

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

donde T es la temperatura en Kelvin; R la constante universal de los gases; F la constante de Faraday; P_X representa la permeabilidad del ión X ; $[X]_i$ y $[X]_e$ representan las concentraciones del ión en los medios intra y extracelular, respectivamente.

Al introducir los valores de concentraciones iónicas y permeabilidades (medidos independientemente, *Figura 1b*) se obtiene que $\Delta V = -94,75 \text{ mV}$ (a $20^\circ\text{C} \approx 293 \text{ K}$), valor cercano a los medidos experimentalmente.

Resulta interesante considerar el significado de la ecuación, tomando en cuenta algunas “situaciones límite”. En primer lugar, es necesario considerar lo que ocurre cuando un solo ión es permeable 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:

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

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 consideraciones termodinámicas (ver Ejercicio 8).

El potencial que expresa la ley de Nernst es el potencial de equilibrio del ión. Podemos definir **el potencial de equilibrio de un ión (E_{ion}) como la diferencia de potencial que hay que aplicar a través de la membrana para que, dadas las concentraciones extra e intracelulares del ión, el flujo pasivo neto del mismo sea nulo**. Utilizando los datos de la Figura 1, es posible calcular el potencial de equilibrio del ión potasio, dando un valor de $E_K = -101.2 \text{ mV}$, a 20°C (estos números varían con la temperatura y el tipo de sistema

experimental). Los iones que son transportados únicamente por medios pasivos (esto es, que fluyen a favor del gradiente de potencial electroquímico) tienden a ajustar sus concentraciones de una manera tal que el potencial de equilibrio de esos iones (potencial al cual cesan los flujos netos de los mismos) se ajusta al potencial de membrana generado por los otros iones. El cloro es uno de ellos, y por estar en equilibrio¹ puede omitirse de la ecuación de GHK (ver el Ejercicio 2). El caso del ión potasio es algo diferente. El valor del potencial de membrana en condiciones de reposo, en la mayoría de las células animales, suele ser cercano al valor del potencial de equilibrio de potasio, lo cual se debe a que, generalmente, la permeabilidad de la membrana plasmática con respecto al potasio es mucho mayor que la permeabilidad con respecto al sodio. En la ecuación de GHK, si se omite el cloro y se divide al dividendo y al divisor, dentro del logaritmo, por la permeabilidad de potasio se obtiene:

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

Generalmente, $P_K \gg P_{Na}$, por lo que los términos que aparecen multiplicados por el cociente P_{Na}/P_K suelen ser muy pequeños y pueden ser descartados en una primera aproximación, obteniéndose así una ecuación que justifica la afirmación de que el potencial de reposo es esencialmente gobernado por el potasio, o que el valor del potencial de membrana en reposo se aproxima al del potencial de equilibrio del potasio (el ión con mayor permeabilidad en ese estado de la célula).

Referencias Bibliográficas

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 que se muestran en la Tabla de la Figura 1, se verificará una pequeña diferencia de algunos milivoltios, esto es consecuencia de haber empleado datos de diversas fuentes para los valores de concentraciones y permeabilidades.