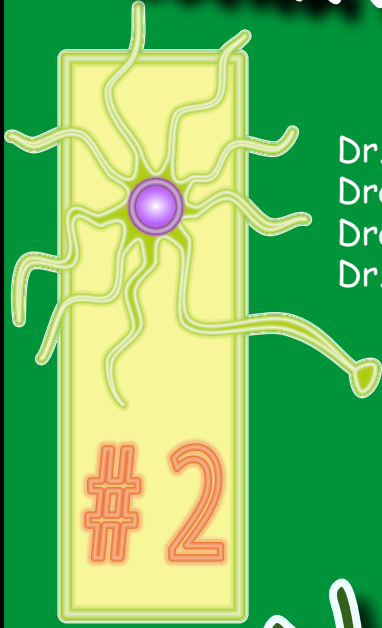
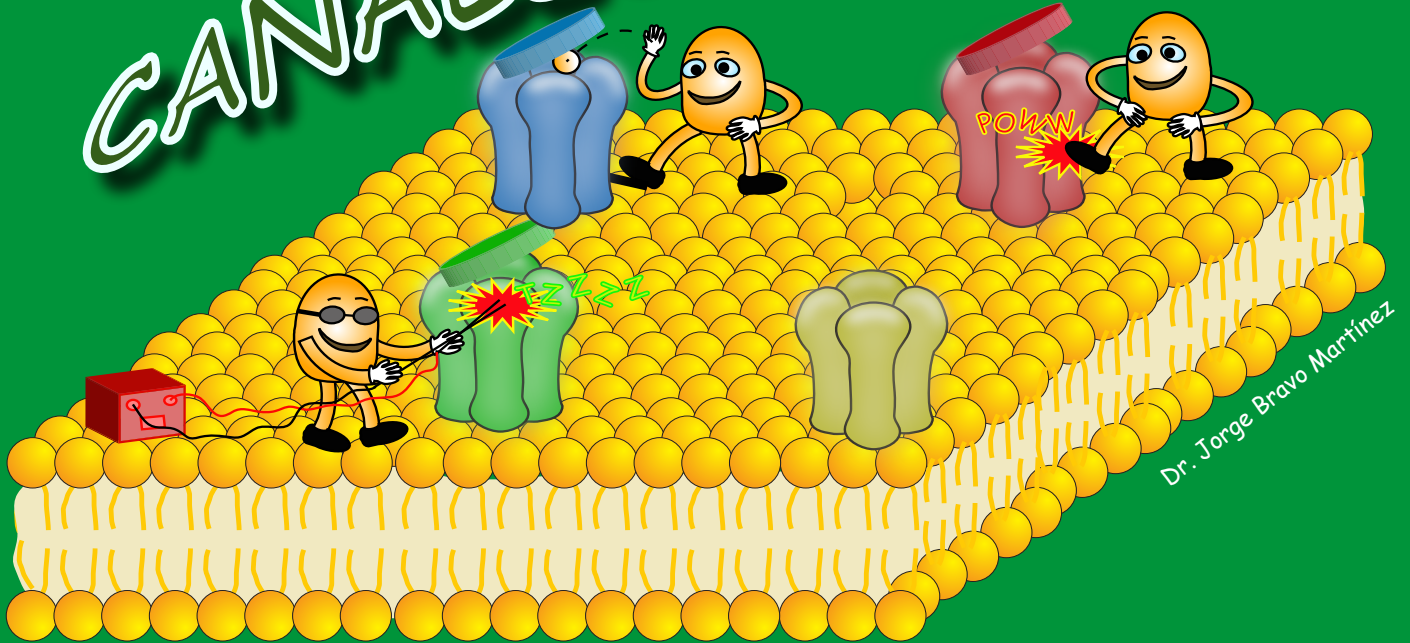


SERIE: FISIOLÓGÍA PARA TODOS



Dr. Jorge Bravo Martínez
Dra. Blanca Alicia Delgado-Coello
Dra. Julieta Garduño Torres
Dr. Raúl Sampieri Cabrera

CANALES IÓNICOS



Dr. Jorge Bravo Martínez

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA



Facultad de Medicina

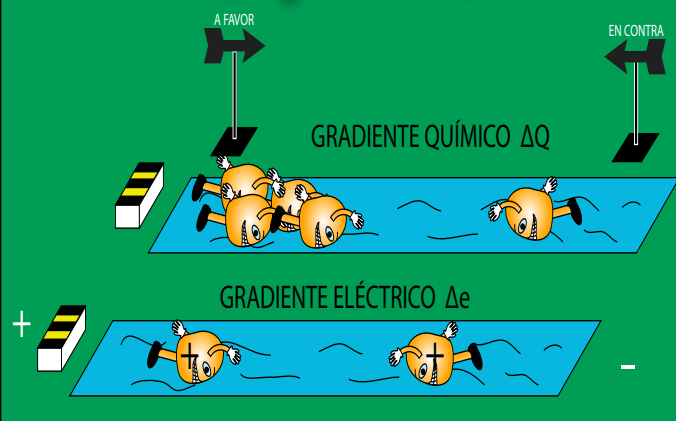


DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

La difusión de partículas liposolubles (oxígeno, bióxido de carbono, alcohol y ácidos grasos, entre otros), a través de la bicapa lipídica, se realiza sin ningún obstáculo. En cambio, las partículas polares requieren de puentes de agua entre el exterior e interior de la célula llamados canales iónicos. Estos canales están formados por dos o más subunidades protéicas que cruzan la totalidad de la bicapa lipídica y que entre ellas forman un espacio intermolecular por donde cruzan iones.



Conducen Iones



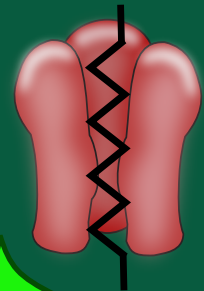
Las dos grandes fuerzas que impulsan a los iones a moverse son la diferencia de concentración y la diferencia o gradiente eléctrico, a ambas se les conoce como fuerza electromotriz. Ya que en la región de mayor concentración la probabilidad de que las partículas choquen entre sí es mayor, la migración de una partícula de esta región a una de menor concentración es termodinámicamente favorecida, se dice que la partícula se mueve en favor de un gradiente químico o de concentración. Lo contrario es ir en contra de un gradiente químico. Dado que las cargas opuestas se atraen, la migración de una partícula de una cierta carga hacia una región de la carga opuesta se dice que va en favor de un gradiente eléctrico.

Como la corriente iónica que cruza la membrana se comporta de manera similar a la corriente eléctrica, se puede predecir su comportamiento con los modelos matemáticos de la corriente eléctrica.

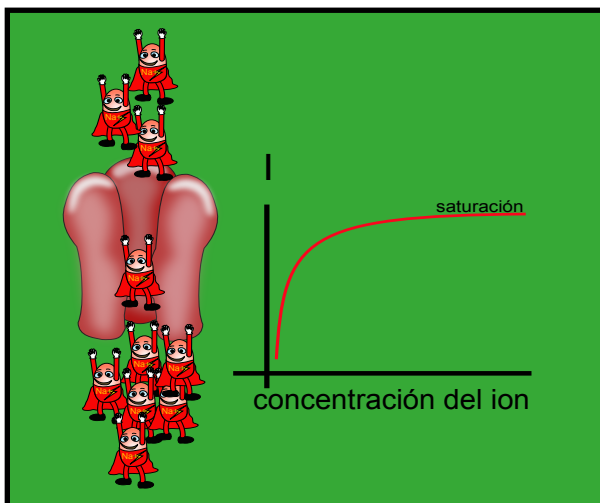
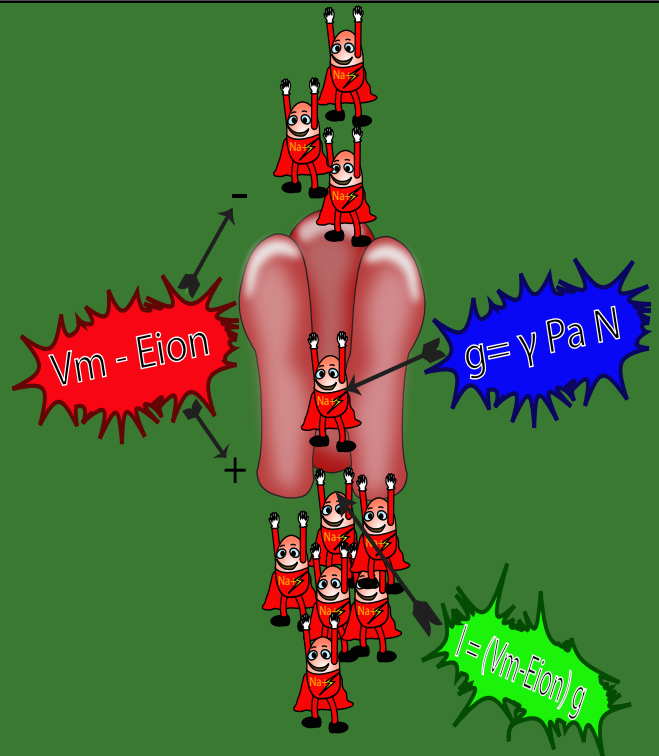
Una de las leyes más importantes para entender el funcionamiento de los circuitos eléctricos es la Ley de Ohm ($i=v/r$), que establece que la intensidad de la corriente eléctrica es directamente proporcional a la diferencia de voltaje entre los extremos que se van a medir, e inversamente proporcional a la resistencia que ofrezca el conductor al paso de esta corriente. El canal se comporta como una resistencia cuyas unidades son los ohms (Ω) (mide qué tan difícil le resulta pasar a los iones por el canal). El inverso de la resistencia ($1/R$) es la conductancia (g) que se mide en siemens (S), que mide qué tan fácil le resulta al ion pasar por el canal.

$$I = V / R$$

$$I = Vg$$



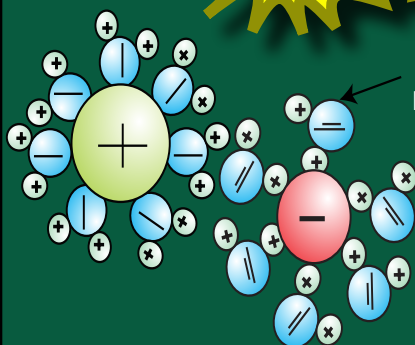
El flujo de iones a través de un canal es pasivo porque no necesita gasto de energía por parte de la célula. La dirección y la intensidad del flujo depende del gradiente electro-químico (o fuerza impulsora). La intensidad de la corriente que fluye por los canales está determinada por dos cosas: A) la conductancia de la membrana al ion en particular y ésta, a su vez, está determinada por la conductancia de un solo canal (γ) multiplicada por la probabilidad de que el canal esté abierto en un momento determinado (P_a) y por el número de canales (N) ($\gamma P_a N$). B) la fuerza impulsora dada por la diferencia entre el potencial de membrana y el de equilibrio del ion involucrado ($V_m - E_i$). $I = g (V_m - E_i)$.



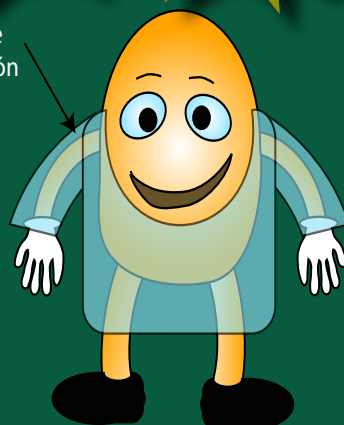
La corriente iónica a través del canal puede saturarse. Dado que el ion se pega al filtro con una cinética parecida a la de las enzimas. Por ello, se deduce que la corriente iónica varía con respecto a la concentración externa del ion en forma de una hipérbola cuadrada.

El agua, al tener ambas cargas eléctricas, es atraída por los iones. A los iones positivos, las moléculas de agua se le pegan con su oxígeno y a los negativos se les pega con su hidrógeno formando puentes de hidrógeno. De esta manera,

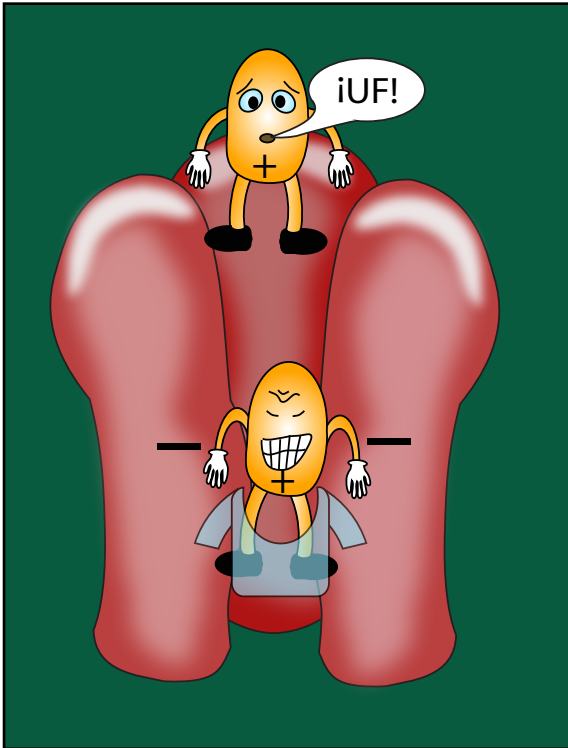
Reconocen y seleccionan los iones



Agua de Hidratación



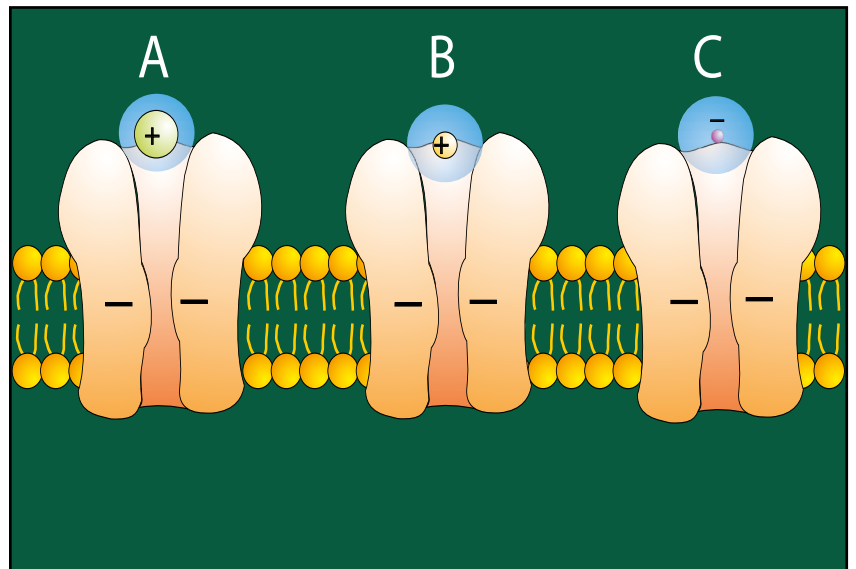
se forma una nube de moléculas de agua alrededor del ion, llamada agua de hidratación. Entre menos radio tenga un ion, más localizada está su carga y, por lo tanto, atrae más agua y la fija con mayor fuerza. Esta agua de hidratación crea un aumento artificial del diámetro del ion. Así que entre más agua contenga, mayor su diámetro y menor su movilidad.



Los canales son selectivamente permeables a uno o más iones, esta selectividad depende de la estructura del canal. En él existe una región, el filtro, en donde el canal se angosta y tiene cargas eléctricas. El ion con su agua de hidratación, al pasar por el filtro, forman atracciones electrostáticas entre el ion y los aminoácidos provocando, por un lado, la pérdida del agua de hidratación y, por el otro, que el ion se pegue temporalmente (menos de $1 \mu\text{s}$). Esto sucede sólo si las interacciones entre el ion y los aminoácidos compensan la pérdida del agua. A esto se debe el fenómeno de saturación.

Por ejemplo, si tenemos un canal iónico cuya región del filtro tiene cargas negativas y tenemos tres iones que tratan de pasar por él. El ion A es de diámetro grande y con carga +, por lo que atrae menos agua de hidratación y la fija con menor fuerza que el ion B con carga + que es de menor tamaño; mientras que el ion C es de menor diámetro que B y con carga -. La región del filtro tiene un diámetro suficiente para que pasen los iones B y C, sólo el B logra pasar. Esto se debe a que:

- 1) Al tener carga negativa repele iones con carga negativa, por lo tanto, sólo pueden pasar cationes.
- 2) El ion A tiene mayor diámetro que la región del filtro, así que queda descartado.
- 3) Dado que los iones al pasar por la región del filtro tienen que desprenderse de su agua de hidratación, sólo si la fuerza iónica de las cargas del filtro sustituye la del agua de hidratación, el ion puede desprenderse del agua. Como los iones de menor diámetro atraen más agua y la fijan más, al pasar el ion C por el filtro no se desprende de su agua por completo, ya que la fuerza iónica de las cargas negativas del filtro no son lo suficientemente intensas para que se desprenda el agua del ion C, pero sí del ion B. Así que el ion C tiene un diámetro mayor que el de B al tener su agua de hidratación.



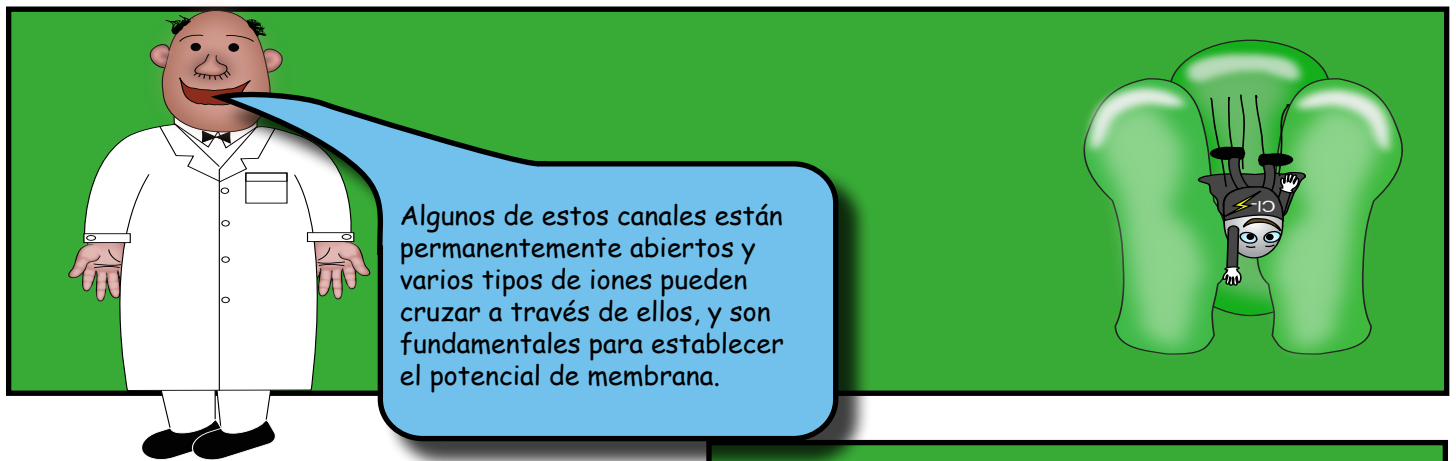
Entonces, la selección de iones depende de: el tamaño de la luz del filtro, la carga eléctrica del filtro, la carga eléctrica del ion y la sustitución del agua de hidratación por las cargas del filtro.



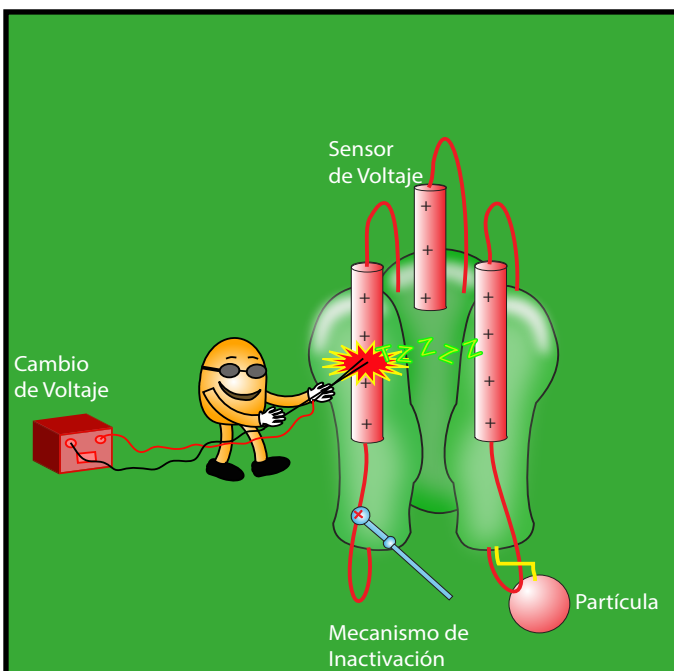


La apertura y cierre de los canales se debe a un cambio conformacional en la estructura tridimensional que requiere de energía. Existen varios mecanismos regulatorios (que dependen de estímulos químicos, eléctricos o mecánicos) que determinan cuánto tiempo pasa el canal en uno de tres estados:

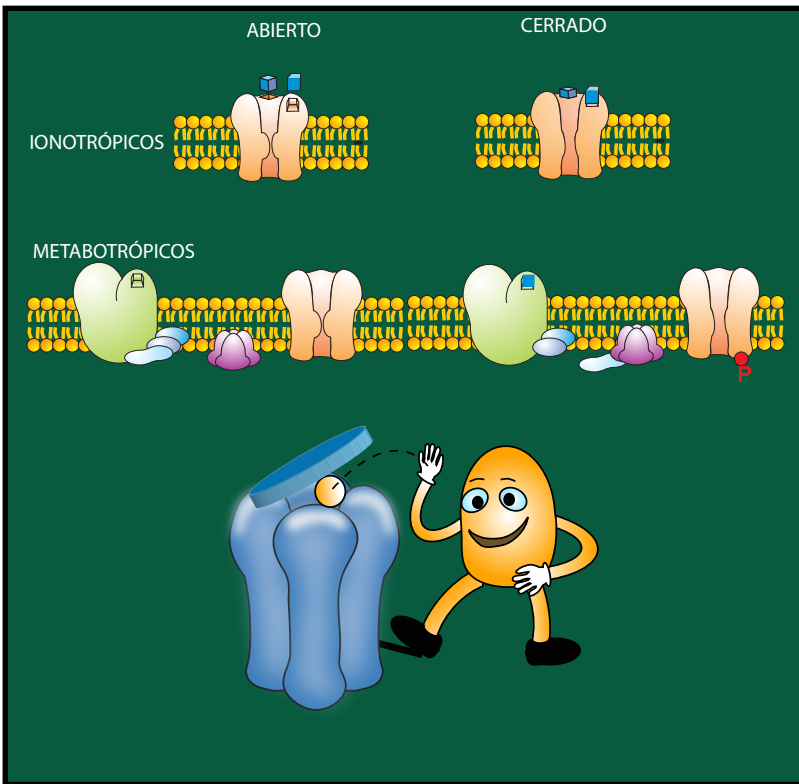
- a) cerrado y activable o cerrado
- b) abierto o activo
- c) cerrado y no activable o inactivado



Algunos de estos canales están permanentemente abiertos y varios tipos de iones pueden cruzar a través de ellos, y son fundamentales para establecer el potencial de membrana.

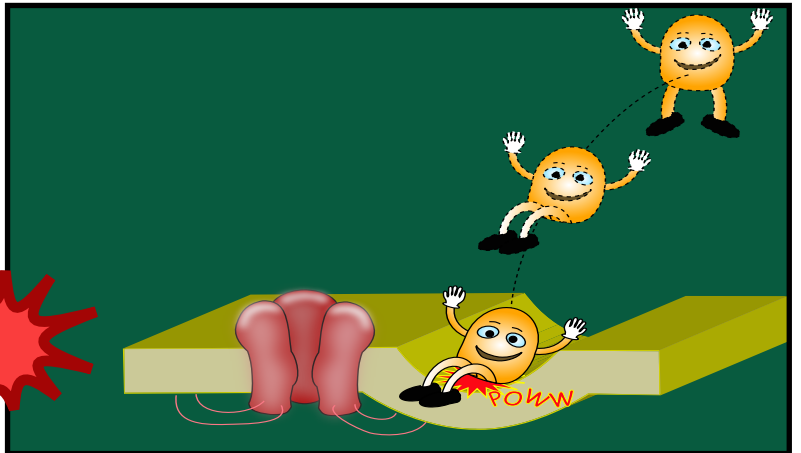


Otros, en cambio, están normalmente cerrados y su apertura puede ocurrir por tres mecanismos: El primero está dado por los cambios en la diferencia de potencial eléctrico en ambos lados de la membrana, estos son canales voltaje dependientes y son importantes en la generación del potencial de acción. Estos canales tienen en su estructura una secuencia de aminoácidos con carga positiva llamada detector de voltaje. El cambio en la diferencia de potencial eléctrico en ambos lados de la membrana provoca el movimiento del sensor creando un movimiento de cargas (llamado corriente de compuerta) que cambia la energía libre que modifica la estructura terciaria del canal abriéndolo o cerrándolo. Algunos de estos canales tienen un estado refractario conocido como inactivación, cuyo mecanismo puede ser el que está dado por una subunidad independiente de aquellas responsables de la apertura y cierre.

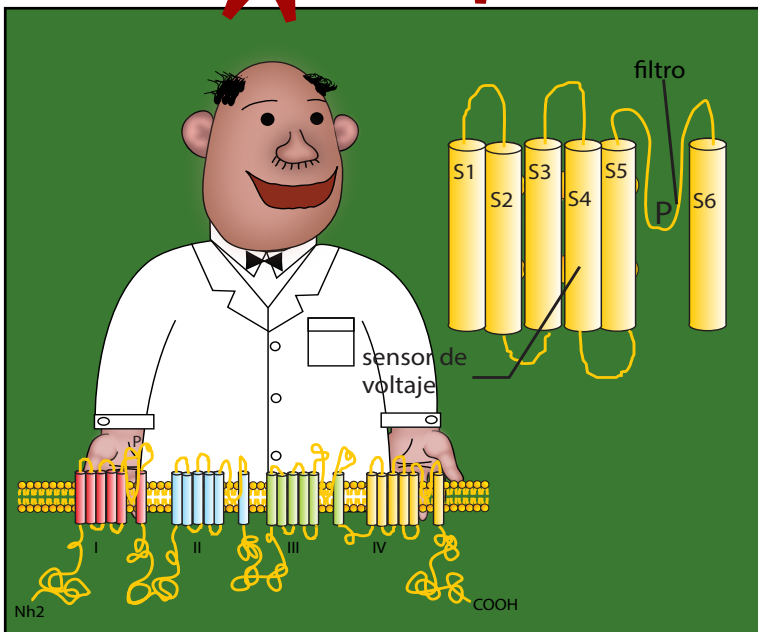


El segundo mecanismo de apertura ocurre por la interacción de una sustancia química (neurotransmisor u hormonas) con una parte del canal llamado receptor, que crea un cambio en la energía libre que modifica la conformación de la proteína y abre el canal. Estos canales son llamados ligando dependientes, son importantes en la transmisión sináptica y tienen dos mecanismos de apertura: por unión del neurotransmisor al receptor asociado, este tipo de canales se llaman ionotrópicos; y por unión del neurotransmisor al receptor que no está asociado al canal y que provoca la activación de vías de señalización por la activación de proteínas G y que activan enzimas fosforiladoras que al fosforilar al canal, lo abre. Estos canales se llaman metabotrópicos. Ambos subgrupos también tienen un estado refractario llamado desensibilización cuando se expone el receptor por tiempo prolongado al neurotransmisor u hormona.

El tercer mecanismo consiste en que los canales se abren por desplazamientos mecánicos de la membrana (ejemplo células receptoras ciliadas).



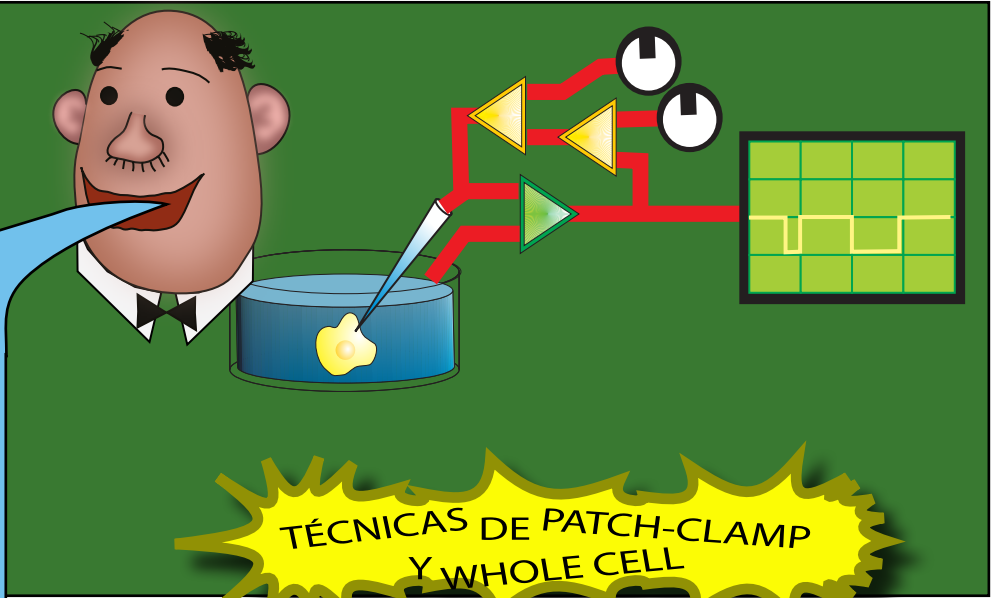
ESTRUCTURA



Revisemos, como ejemplo de un canal dependiente de voltaje, al canal de sodio. Tiene cuatro subunidades estructurales (I a IV), cada una de ellas con seis segmentos hidrofóbicos transmembranales (S1 a S6), conectados por segmentos intracelulares y extracelulares. Debido a la presencia de residuos cargados positivamente (lisina, arginina) S4 es el sensor de voltaje. Los segmentos S5 y S6 están conectados por un tramo largo en forma de asa, llamado H5 o P, cuya importancia reside en que los aminoácidos que lo forman son, junto con los segmentos P de las otras tres subunidades, el poro del canal.

La corriente se inactiva rápidamente por una partícula que bloquea la salida. La región responsable de este mecanismo es el segmento entre las subunidades II y IV, con residuos cargados positivamente impulsados por el gradiente eléctrico durante la despolarización.

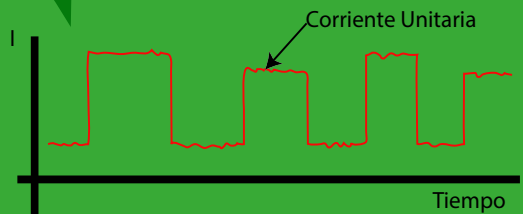
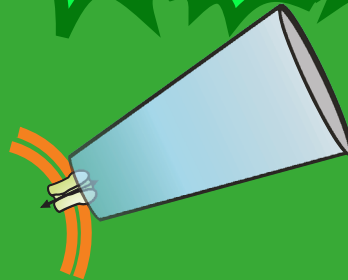
Una técnica para medir las corrientes iónicas a través de un canal específico consiste en que se utiliza un electrodo especial llamado micropipeta que se fabrica de un tubo capilar de vidrio, el cual se calienta y se estira. Este proceso permite que el tubo tenga una punta de una micra de diámetro sin perder su luz. La micropipeta se llena con una solución iónica conductora de electricidad. La micropipeta se conecta a un amplificador. Para completar el circuito eléctrico, se conecta la tierra del amplificador al líquido extracelular. Las células se colocan en una cámara de registro y se baña el tejido con un líquido cerebroespinal artificial.



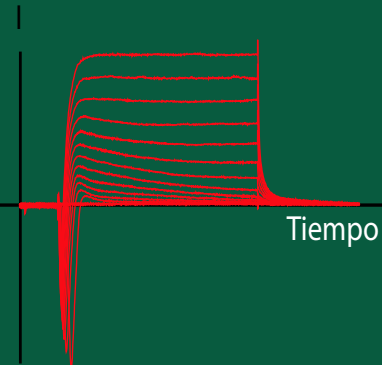
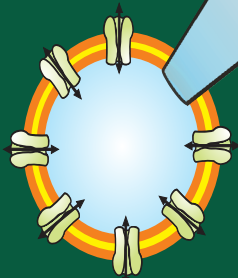
TÉCNICAS DE PATCH-CLAMP Y WHOLE CELL

Patch Clamp

La punta de la micropipeta se pega a un pedazo de la membrana de la neurona que se quiere registrar. Este pedazo de membrana puede contener un o pocos canales iónicos para uno o más iones. La corriente que fluye a través de ellos recibe el nombre de corriente unitaria. Sin embargo, también es posible registrar la corriente que fluye a través de un canal en particular, por ejemplo, la corriente que fluye por los canales de sodio. Lo anterior es posible con el uso de fármacos que bloquean el paso de iones a través de otros canales como los de potasio.

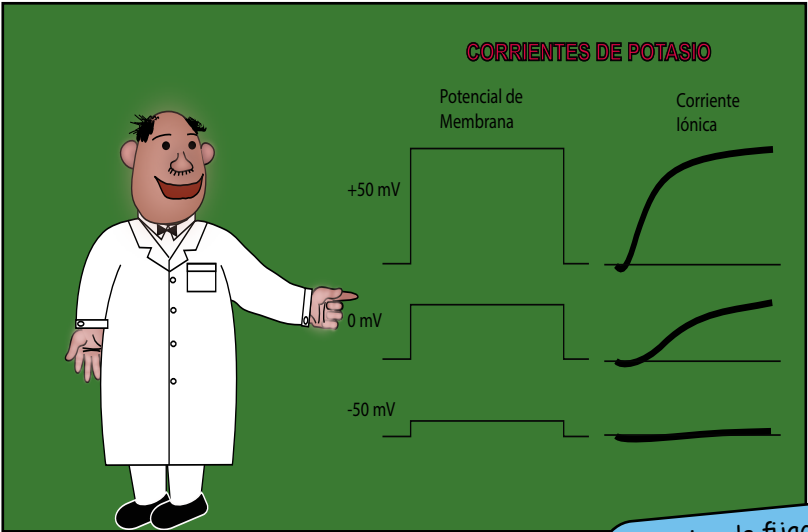


Whole Cell



También es posible registrar la corriente de todos los canales iónicos de una célula. A este modo de registro se le conoce como "whole cell" o "célula completa" y se logra cuando la punta de la micropipeta forma un sello de alta resistencia (no se escapan los iones entre el vidrio de la micropipeta y la membrana celular), que se rompe al hacer una succión. Además, en esta configuración de registro, el interior de la célula es reemplazado con el contenido de la micropipeta, lo que permite conocer con detalle el contenido de iones en el interior. También en esta condición de registro es posible el uso de toxinas o moléculas que permiten el aislamiento farmacológico de una corriente en particular.

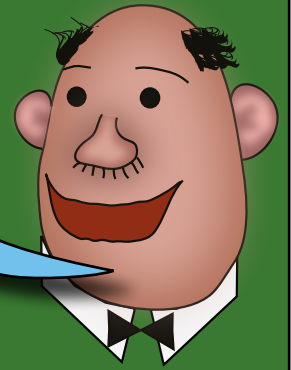
CORRIENTES DE POTASIO



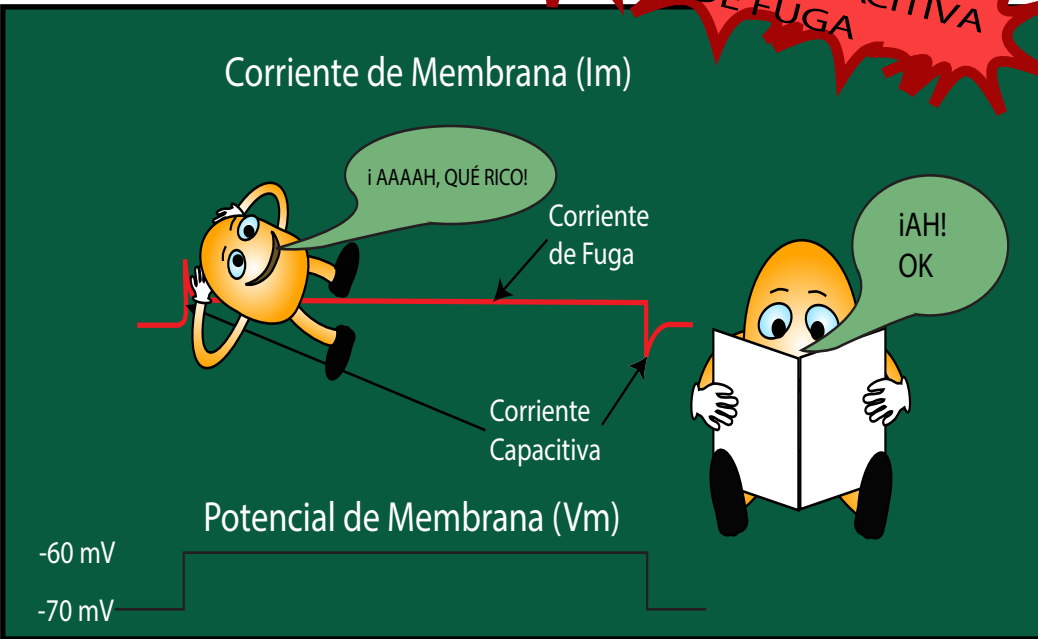
Para poder entender bien el funcionamiento de los canales iónicos, debe registrarse la corriente que cruza a través de ellos en cada valor del potencial de membrana. Esto implica un problema y es que cuando se despolariza la membrana hasta su valor del potencial umbral, se desencadena el potencial de acción. Este es autoregenerativo, es decir, una vez que inicia ya no se puede parar y, por lo tanto, no nos permite registrar las corrientes. En la configuración de whole-cell se registran las corrientes de todos los canales (macroscópicas) a diferencia del patch-clamp que registra la corriente de uno o varios canales (microscópicas).

TÉCNICA DE FIJACIÓN DE VOLTAJE

La técnica de fijación de voltaje consiste en que el experimentador determina el valor de despolarización de la membrana y el amplificador registra el valor de despolarización de la célula. Si hay una diferencia entre lo que el experimentador quiere y lo que la célula tiene, entonces a través del mismo electrodo manda corriente positiva o negativa de la intensidad necesaria para mantener a la célula en el valor que el experimentador decidió. Esta técnica nos permite mantener a la célula en un voltaje fijo y registra las corrientes iónicas que aparecen a ese voltaje.



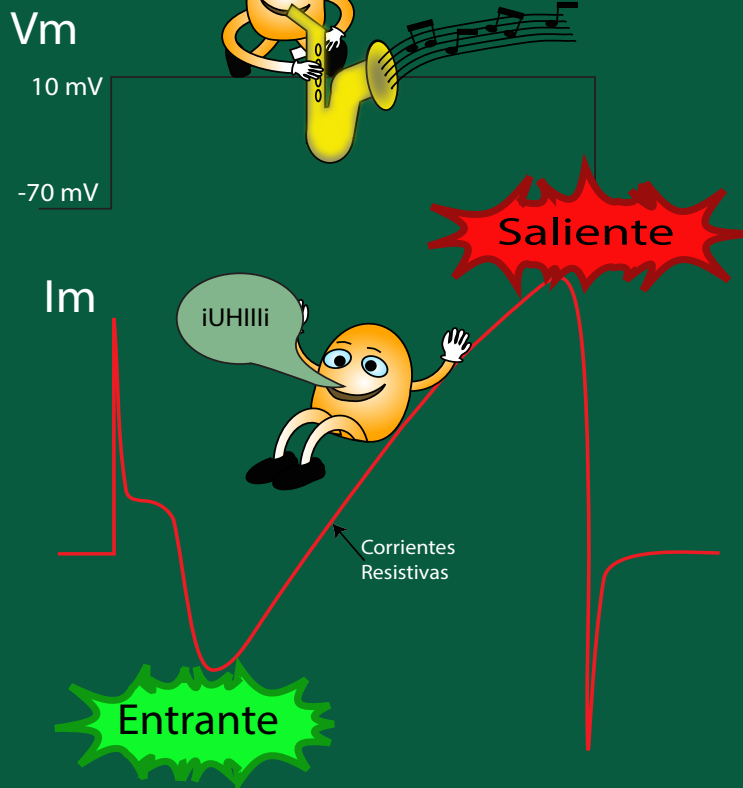
CORRIENTE CAPACITIVA Y DE FUGA



Si se despolariza la membrana a un valor 10 mV más despolarizado que su potencial de membrana, se pueden observar varios eventos. Primero, una pequeña corriente saliente, la cual disminuye sin llegar a cero y que se mantiene todo el momento en que se fija el valor del potencial de membrana. Cuando se deja de estimular, se genera una pequeña corriente entrante. A las corrientes entrante y saliente

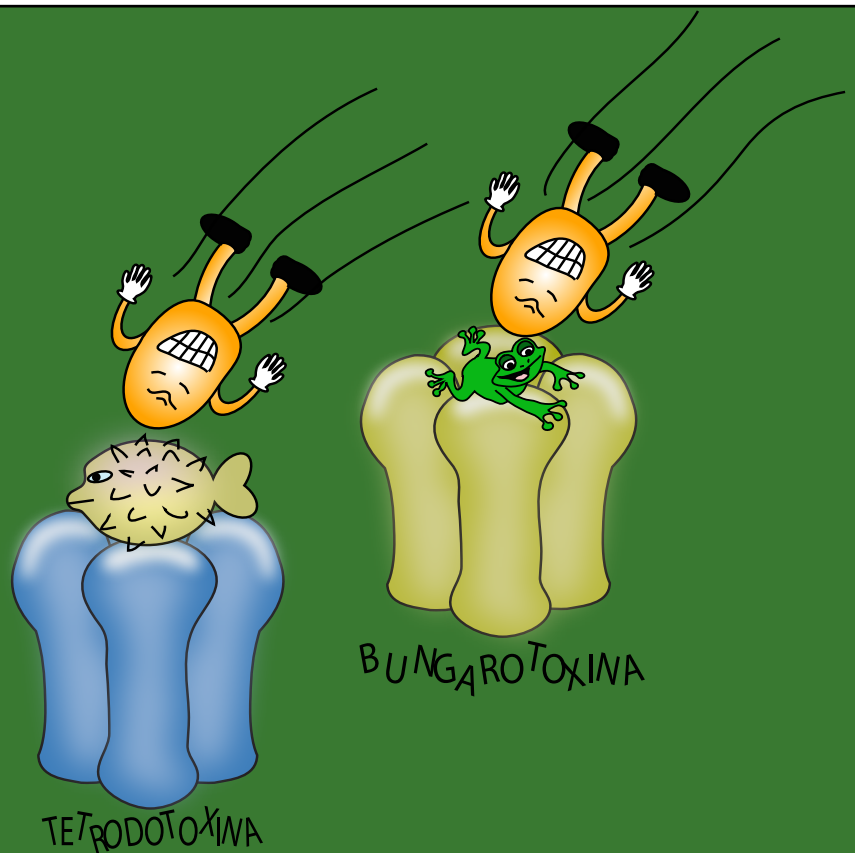
se les llama corrientes capacitivas (por la acumulación de cargas en ambos lados de la membrana, como un capacitor) y a la que se mantiene estable se le llama de fuga. Esta corriente es causada por la movilización de iones a través de canales permanentemente abiertos.

CORRIENTES RESISTIVAS

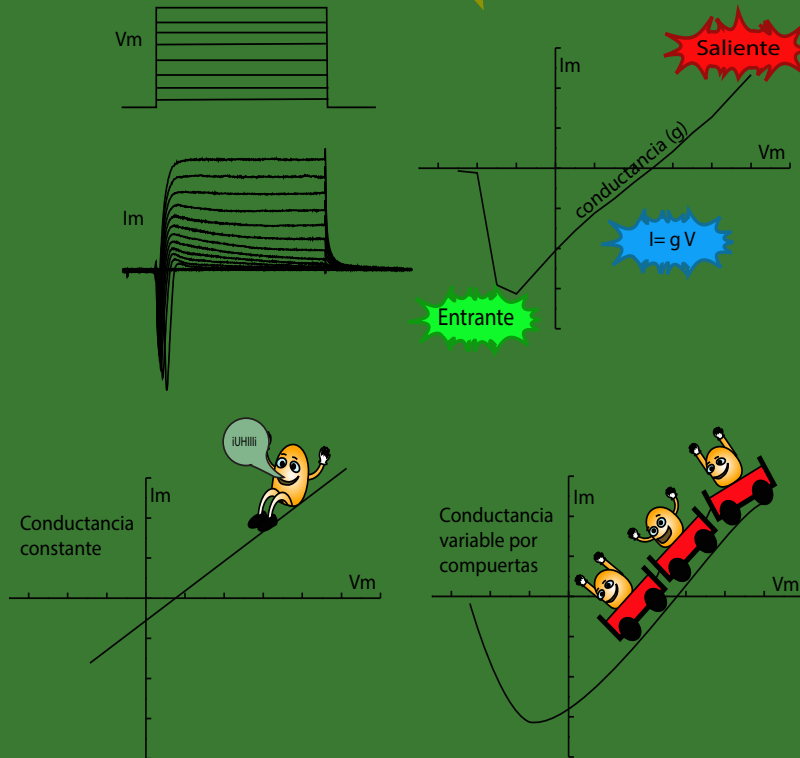


Si obligamos a la célula a mantenerse despolarizada a valores mayores del potencial umbral, las corrientes capacitivas y de fuga aumentan su intensidad y surgen otras corrientes que se generan a través de los canales voltaje dependientes llamadas corrientes resistivas. La primera corriente resistiva que aparece es una entrante que alcanza su máximo valor en unos cuantos milisegundos y después decae para dar lugar a otra corriente saliente. Esta alcanza su máximo y se mantiene ahí hasta que se deja de estimular a la célula. Estas corrientes resistivas están dadas por los iones que cruzan por los canales voltaje dependientes.

Para diseccionar más la corriente resistiva y poder determinar con precisión qué ion está implicado en la corriente entrante y saliente, se pueden utilizar técnicas farmacológicas. Estas consisten en aplicar a la célula toxinas o fármacos que bloqueen los distintos canales iónicos. Por ejemplo, para bloquear los canales de sodio se utiliza la tetrodotoxina (toxina del pez globo), para los de potasio se usa la alfa-bungarotoxina (toxina de una especie de sapo) o tetraetilamonio (TEA). Por lo tanto, con el método de fijación de voltaje se pueden utilizar las distintas drogas bloqueadoras para determinar la participación de cada ion en las corrientes entrantes y salientes ya descritas.

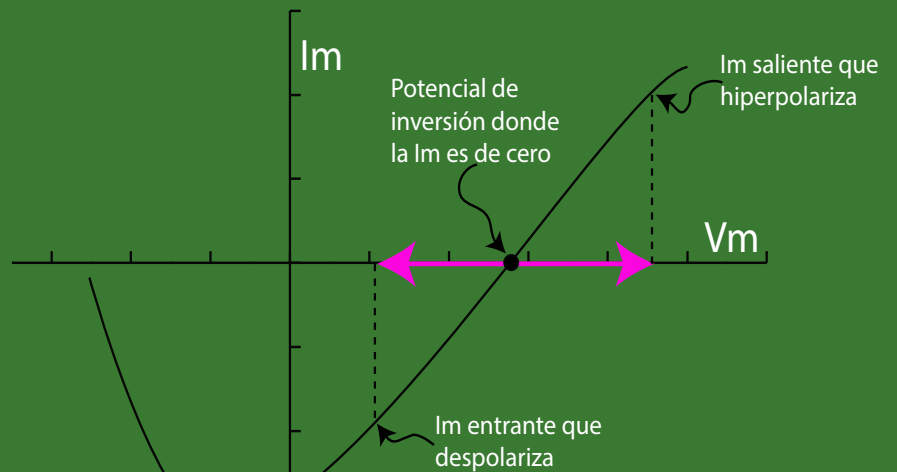


MEDICIÓN DE LAS CORRIENTES Y LEY DE OHM



Si se grafica la corriente que cruza la membrana celular en función de cada valor de potencial de membrana, se construye lo que se llama una curva corriente/voltaje o I/V. Los valores negativos de corriente indican que la corriente está entrando a la célula, si por el contrario son positivos, entonces la corriente está saliendo. La pendiente de la curva es igual a la conductancia (según la ley de Ohm escrita en términos de conductancia $I = gV$). Hay canales cuya corriente se comporta en forma lineal con el gradiente de potencial eléctrico, ya que la conductancia es fija, como los canales permanentemente abiertos. Sin embargo, hay canales que no se comportan así, ya que su conductancia no es constante con respecto al voltaje, a la concentración de sustancias como neurotransmisores o a la intensidad del estímulo mecánico, como los canales que tienen mecanismos de compuerta. Hay canales que conducen la corriente más en un sentido de la membrana (por ejemplo hacia el interior de la célula) que hacia el otro, a estos se les llama canales rectificadores.

El valor de voltaje donde se inicia la corriente, es el potencial de membrana donde se activa esa corriente. El valor del potencial de membrana donde la corriente se vuelve de entrante a saliente o viceversa, es decir se invierte, se le llama potencial de inversión. Lo importante de este punto es que es sumamente estable, la membrana siempre tiende hacia ese punto. Por ejemplo, si el valor del potencial de membrana es más negativo que este punto, la membrana responde generando una corriente entrante que despolariza a la membrana regresando el potencial de membrana al de inversión. Por otro lado, si el valor del potencial de membrana es más positivo que este punto, la membrana genera una corriente saliente que la hiperpolariza y regresa el valor del potencial de membrana al de inversión. Cuando la célula se encuentra en el potencial umbral, la corriente es de cero. Esto es, que el valor del potencial de inversión es el mismo que el potencial de equilibrio para el ion y que se calcula con la ecuación de Nerst.



$$E_{ion} = \frac{RT}{ZF} \ln \left(\frac{C_e}{C_i} \right)$$

Bibliografía:

Libros.-

Siegelbaum S.A. and Koester J. Parte II, Capítulo 5: Ion Channels, En: Principles of Neural Science. Ed. Kandel E.R., Schwartz J. H., Jessell T.M., Siegelbaum S.A., and Hudspeth A.J., 5ta ed., 2013, McGraw-Hill, USA.

Moczydlowski E.G. Parte II, Capítulo 6: Electrofisiología de la membrana Celular, En: Fisiología Médica, Eds. Boron W.F. y Boulpaep E.L., 3ra ed, 2017, USA.

Artículos.-

Jin P, Jan LY, Jan YN. Mechanosensitive Ion Channels: Structural Features Relevant to Mechanotransduction Mechanisms. *Annu Rev Neurosci.* 2020 Jul 8;43:207-229. doi: 10.1146/annurev-neuro-070918-050509. Epub 2020 Feb 21. PMID: 32084327.

Diver MM, Lin King JV, Julius D, Cheng Y. Sensory TRP Channels in Three Dimensions. *Annu Rev Biochem.* 2022 Jun 21;91:629-649. doi: 10.1146/annurev-biochem-032620-105738. Epub 2022 Mar 14. PMID: 35287474; PMCID: PMC9233036.

Catterall WA, Lenaeus MJ, Gamal El-Din TM. Structure and Pharmacology of Voltage-Gated Sodium and Calcium Channels. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2020 Jan 6;60:133-154. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010818-021757. Epub 2019 Sep 19. PMID: 31537174.

Videos .-

<https://www.youtube.com/watch?v=2fMV46R7DXI>