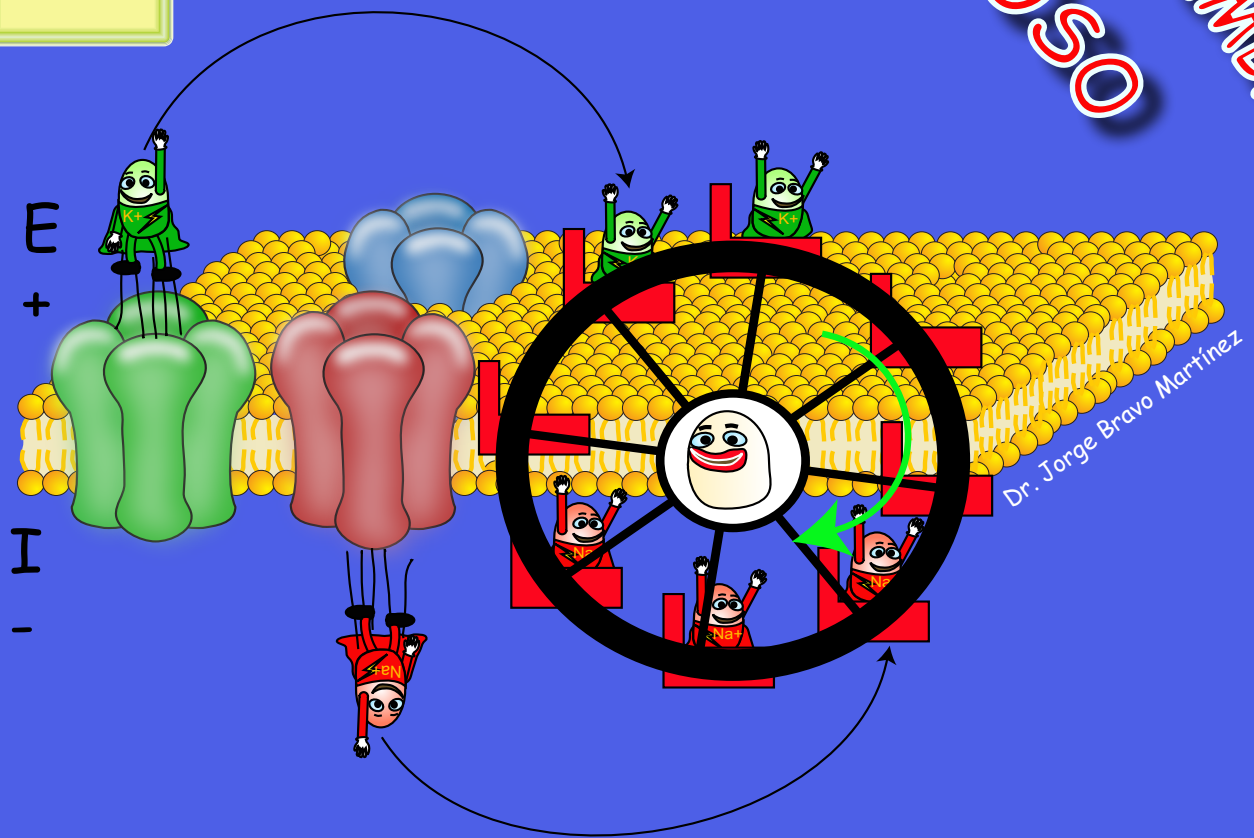
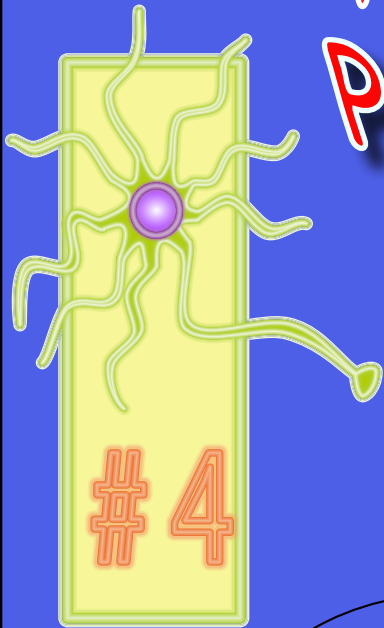


SERIE: FISIOLÓGÍA PARA TODOS

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

POTENCIAL EN REPOSO DE MEMBRANA

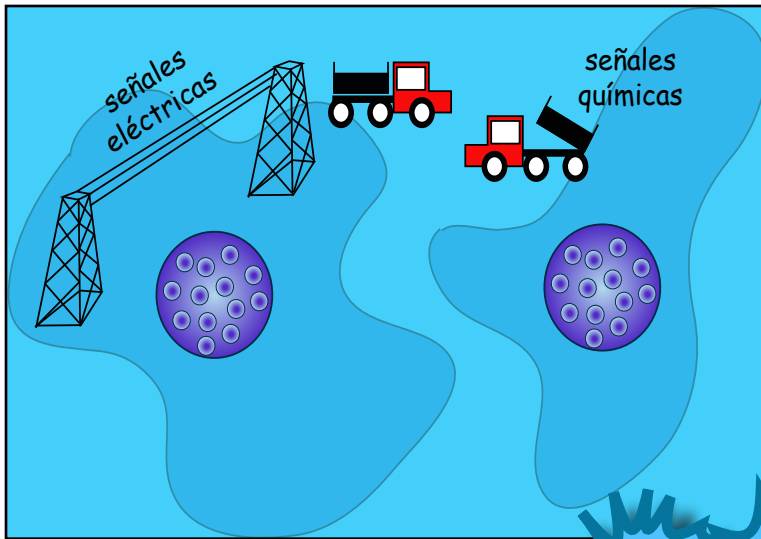


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA



Facultad de Medicina



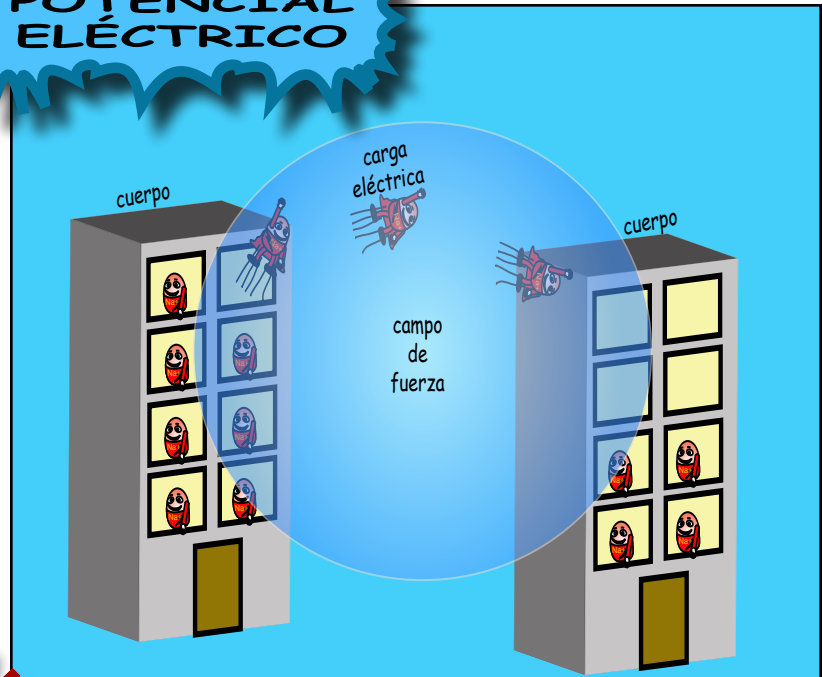


El flujo de información entre neuronas es generado por señales eléctricas y químicas. Las señales eléctricas son importantes para llevar información rápidamente a través de largos trayectos y dependen de cambios temporales en las corrientes entrantes y salientes de iones que determinan potenciales eléctricos a través de la membrana. Es decir, estas corrientes están dadas por la distribución asimétrica de iones en ambos lados de la membrana.

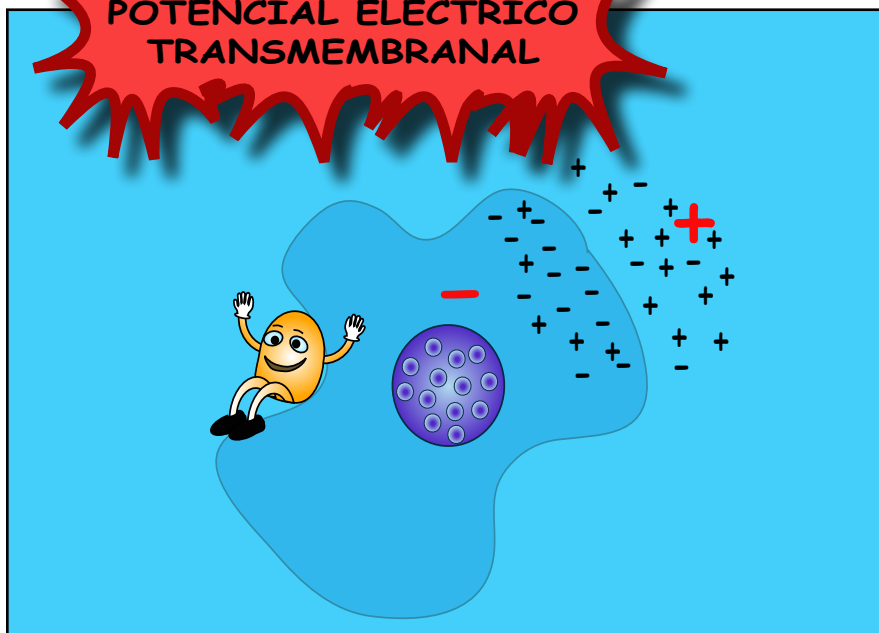
POTENCIAL ELÉCTRICO

Toda materia tiene igual número de cargas positivas y negativas, una mol de átomos de hidrógeno tiene 6×10^{23} (conocido como número de Avogadro) electrones y protones. La carga eléctrica de una mol de protones es de 96,500 coulombs, es el llamado número de Faraday. Debido a que las cargas eléctricas opuestas se atraen, la materia siempre tiende a ser electroneutra, que es termodinámicamente más estable.

Sin embargo, siempre es posible extraer una carga y transferirla a otro cuerpo. La primera carga es fácil de mover generando una diferencia de potencial eléctrico. Conforme esta diferencia aumenta, las cargas se vuelven difíciles de mover en contra del campo eléctrico que aparece. Así, el potencial eléctrico (E, medido en volts) se define como: el trabajo para mover una carga prueba entre dos puntos, a través de un campo eléctrico.

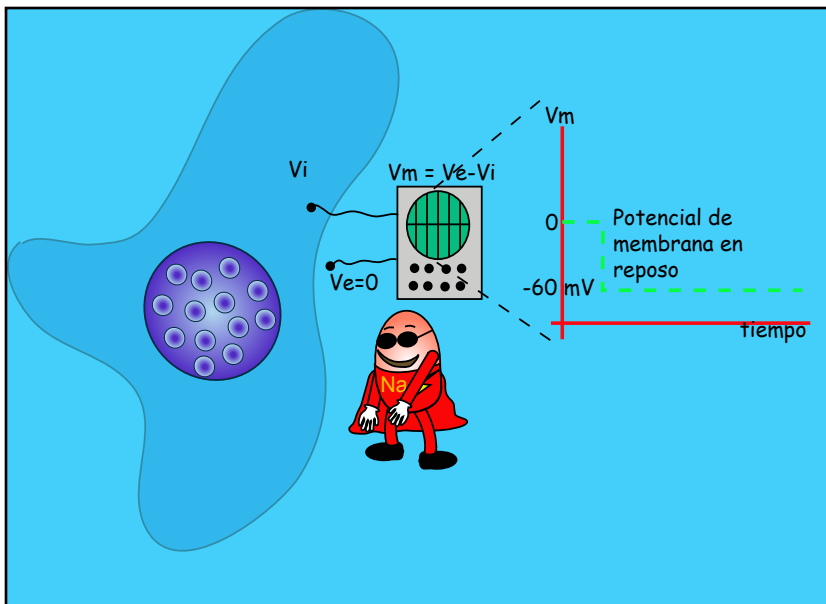


POTENCIAL ELÉCTRICO TRANSMEMBRANAL



DISTRIBUCIÓN DE IONES

En la membrana plasmática de las células excitables existe una diferencia de potencial eléctrico que es determinado por la distribución asimétrica de los distintos iones. Cada neurona tiene una separación de cargas eléctricas a través de la membrana celular, la cual consiste en una nube de iones positivos y negativos esparcidos en la superficie interna y externa de la membrana. En reposo, la neurona tiene un exceso de cargas positivas en el exterior y negativas en el interior. Esta separación de cargas es mantenida por la bicapa lipídica que es impermeable a los iones (todas las células eucariotas están polarizadas eléctricamente).



La separación de cargas provoca una diferencia de potencial eléctrico o voltaje a través de la membrana que se llama potencial de membrana (V_m) que se define como $V_m = V_e - V_i$, donde V_i es el potencial dentro de la célula y V_e es el potencial fuera de ella. Por convención $V_e = 0$, así que el V_i es negativo y oscila entre -60 y -70 mV.

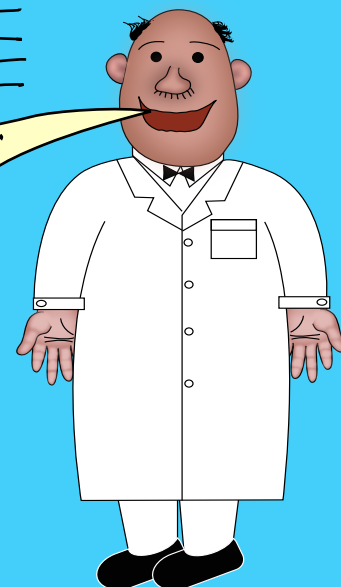
Todo potencial que no abre canales voltaje dependientes se llama electrotonico y es una respuesta pasiva de la membrana. Así, el potasio tiene mayor concentración en el interior de la célula, al igual que los aniones orgánicos; mientras que el sodio, cloro, calcio y magnesio abundan en el exterior. Esta asimetría genera un potencial de difusión.

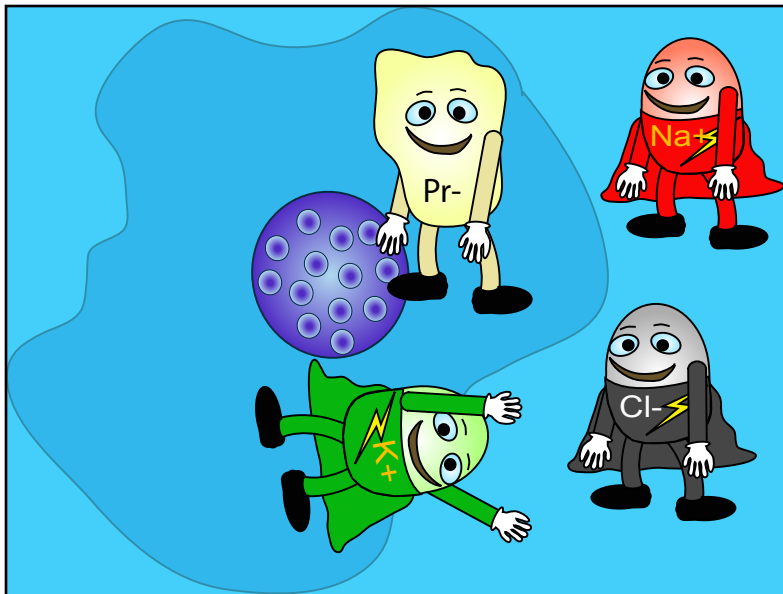


CREACIÓN DE UN POT. DE DIFUSIÓN Y SU MANTENIMIENTO

Los potenciales de difusión solo duran el tiempo en que se dan las diferencias de concentración y se pueden producir y mantener constantes mediante varios mecanismos:

- Por la presencia de un ion no difusible en uno de los compartimientos, lo que genera un equilibrio de Donnan a través de los canales que no dependen del voltaje.
- Por la existencia de un mecanismo de transporte activo que "bombea" los iones que se pierden del compartimiento.





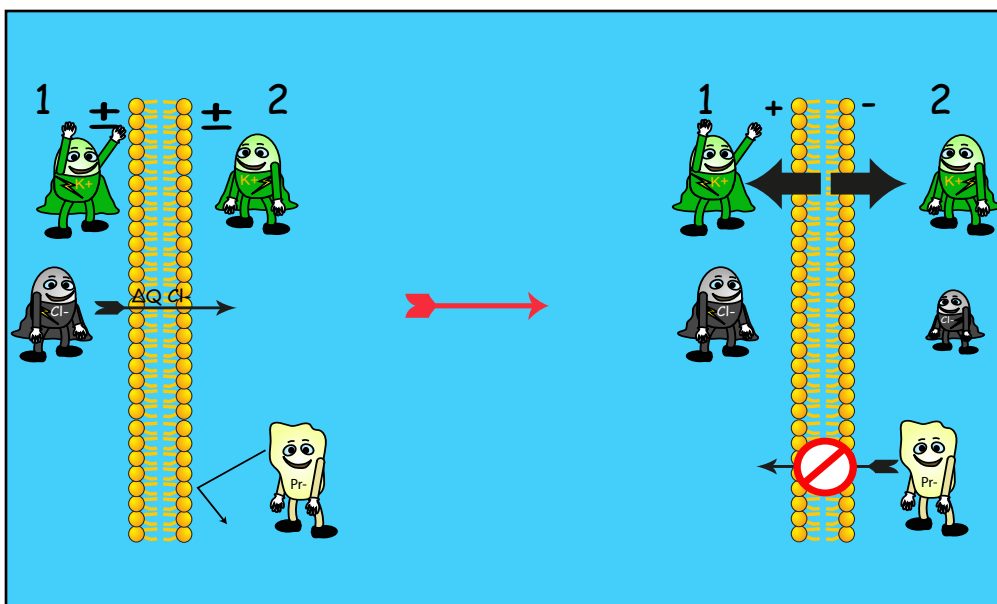
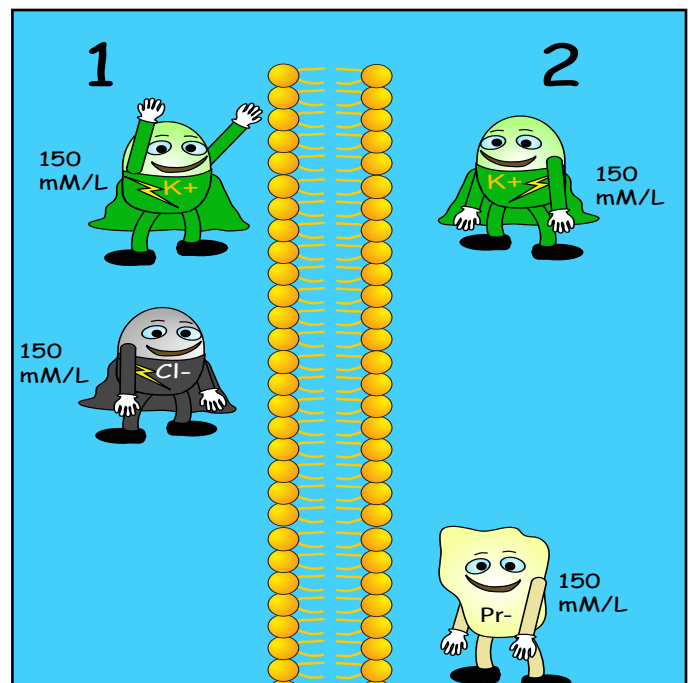
a) Por un equilibrio de Donnan:

Cuando existe un ion no difusible a un lado de la membrana, la distribución de los otros iones para los cuales la membrana es permeable tiende a la electroneutralidad. Así, en el axoplasma existe una cantidad apreciable de proteínas cargadas negativamente que no pueden cruzar la membrana. La membrana plasmática en reposo es mucho más permeable al potasio y al cloro que a otros iones. Tanto el potasio como el cloro se distribuyen hasta establecer un equilibrio de Donnan.

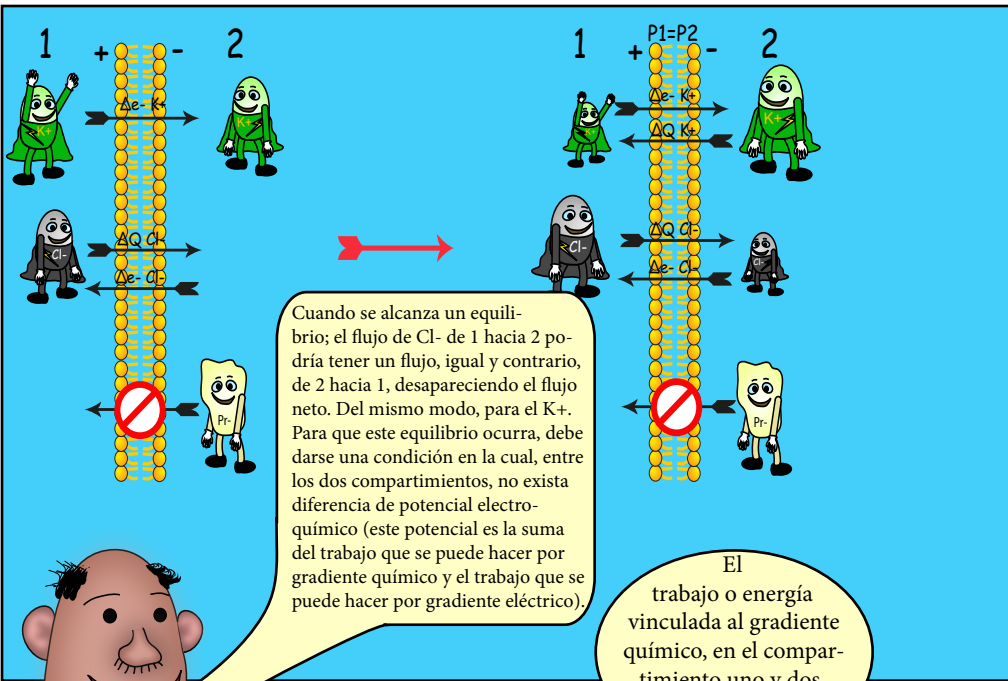
Repasemos lo que ocurre si se colocan 2 soluciones de KCl (permeabilidad del ion Cl^- mayor que la permeabilidad del ion K^+), y un anión cuya permeabilidad es cero, y no atraviesa la membrana. Esto sería posible si pensamos en las proteínas contenidas en el interior celular y que, por el pH al que se encuentran, se comportan como aniones (Pr^-). Como la solución que las contiene es eléctricamente neutra, habrá un número igual de cationes K^+ que lo acompañan. Del otro lado no hay proteínas (Pr^-), pero hay aniones Cl^- difusibles, que pueden atravesar la membrana y estarán acompañados por un número igual de cationes K^+ . Las concentraciones a cada lado son:

Lado 1: 150 mmol/L de KCl, disociados en 150 mM/L de K^+ y 150 mM/L de Cl^- . Volumen= 1 litro.

Lado 2: 150 mmol/L de proteinato de potasio, disociado en 150 mM/L de Pr^- y 150 mM/L de K^+ . Volumen= 1 litro.



Se puede ver que hay una diferencia o gradiente de concentración para el Cl^- de 1 hacia 2, que hay un gradiente de Pr^- de 2 hacia 1 y que no hay gradiente para el K^+ . Como la proteína no puede difundir a través de la membrana, el flujo de Cl^- determinará la aparición de una diferencia de potencial eléctrico, con signo (-) en 2 y (+) en 1.



Cuando se alcanza un equilibrio; el flujo de Cl- de 1 hacia 2 podría tener un flujo, igual y contrario, de 2 hacia 1, desapareciendo el flujo neto. Del mismo modo, para el K+. Para que este equilibrio ocurra, debe darse una condición en la cual, entre los dos compartimientos, no exista diferencia de potencial electroquímico (este potencial es la suma del trabajo que se puede hacer por gradiente químico y el trabajo que se puede hacer por gradiente eléctrico).

El trabajo o energía vinculada al gradiente químico, en el compartimiento uno y dos, respectivamente, es:

La diferencia de potencial se convierte en una fuerza impulsora para el K+, que ahora tendrá un flujo neto de 1 hacia 2. La diferencia de potencial también será una fuerza que se opone al movimiento del ion Cl-.

En estas condiciones, el Cl- tiende a moverse de 1 hacia 2, por gradiente químico y también tiende a moverse de 2 hacia 1, por gradiente eléctrico. El K+, por su parte, tiende a moverse de 1 hacia 2 por gradiente eléctrico, lo que determinará que aumente su concentración en 2. Dicho aumento determinará la aparición de un gradiente de concentración, por lo que el K+ tenderá, también, a moverse de 2 hacia 1, por gradiente químico.



$RT \ln C_1$
 $RT \ln C_2$

$E_1 = zF V_1$
 $E_2 = zF V_2$

$\mu_1 = RT \ln C_1 + zF V_1$
 $\mu_2 = RT \ln C_2 + zF V_2$

$\Delta\mu = \mu_1 - \mu_2 = RT \ln (C_1/C_2) + zF (V_1 - V_2)$

$\mu_1 - \mu_2 = 0$ y
 $RT \ln (C_1/C_2) = -zF(V_1 - V_2)$

donde las concentraciones C1 y C2 son las concentraciones de un determinado ion, en cada uno de los compartimientos, luego que se ha llegado al equilibrio. El trabajo o energía vinculada con el gradiente eléctrico es:

Si llamamos μ_1 y μ_2 al potencial electroquímico de los compartimientos 1 y 2, respectivamente, éste será:

La diferencia de potencial electroquímico entre ambos compartimientos será:

para que haya equilibrio no debe haber diferencia de potencial electroquímico, por lo tanto, se debe cumplir que:

$$\Delta V = V_1 - V_2 = (RT/zF) \ln (C_1/C_2)$$

De la ecuación general de equilibrio anterior, cuando la energía química se iguala con la energía eléctrica, se puede deducir:

$$\Delta V = V_1 - V_2 = (RT)/(zF) \ln (C_1 / C_2)$$

donde ΔV es la diferencia de potencial eléctrico, en voltios, necesaria para mantener constantes las concentraciones en 1 y 2, pese al gradiente de concentración. Esta expresión es la ecuación de Nerst y debe ser entendida como: una ecuación de equilibrio. Nos dice qué potencial eléctrico se necesita para equilibrar un gradiente de concentración y, al mismo tiempo, qué gradiente de concentración se necesita para equilibrar un potencial eléctrico.

Dicho de otra manera, para que el gradiente de concentración de Cl^- , en nuestro caso, deje de determinar un flujo neto, debe contrarrestarse con el gradiente eléctrico.

$$(RT) / (zF) \ln (Cl^-_1 - Cl^-_2) = (RT) / (zF) \ln (K^{+2} / K^{+1})$$

de donde:

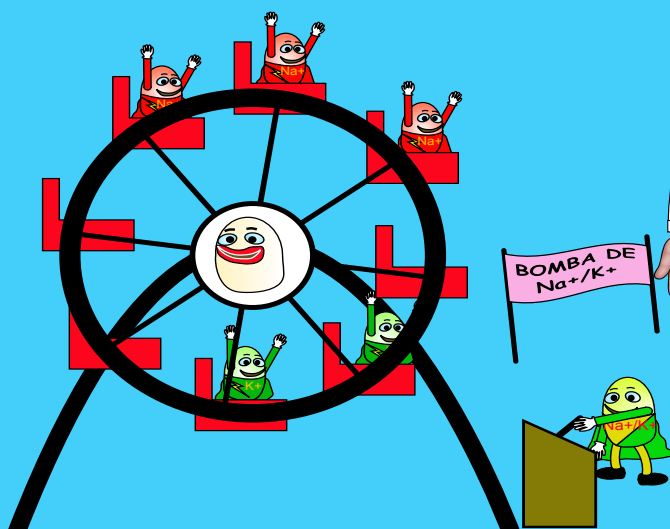
$$(Cl^-_1/Cl^-_2) = K^{+2}/K^{+1} \text{ y } Cl^-_1 \times K^{+2} = Cl^-_2 \times K^{+2}$$

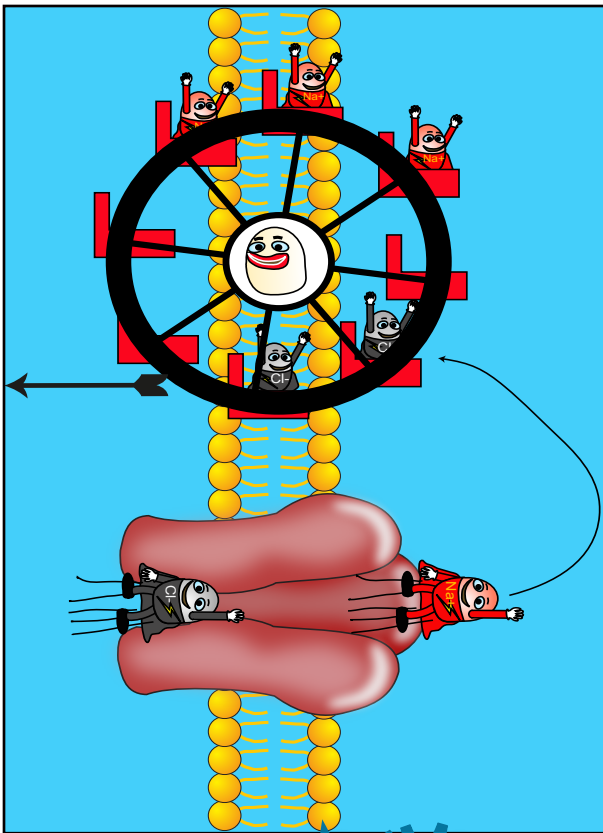
Recordemos que la diferencia de potencial eléctrico ($V_1 - V_2$) en el equilibrio, tiene un único valor, ya sea que se tome la concentración de equilibrio del Cl^- o el K^+ . Por lo tanto, se puede escribir:

Esta última es una relación que nos indica que, en el equilibrio, el producto de los iones es constante.

b) Por un mecanismo de transporte activo

Como ya vimos, para que un potencial de difusión se mantenga constante sin desaparecer con el tiempo, puede ser suficiente que en uno de los compartimientos haya un ion no difusible. Esto determinará una redistribución iónica y un equilibrio electroquímico. Existe la posibilidad de que esta misma situación de equilibrio se logre, aun en ausencia del ion no permeable.





Supongamos que en un frasco dividido en dos compartimentos solo hay una solución de cloruro de sodio (NaCl) en el compartimento (1) y la membrana es igualmente permeable al Cl^- y al Na^+ . En esas condiciones aparece, por supuesto, un potencial de difusión y un flujo neto de Na^+ y Cl^- de 1 hacia 2.

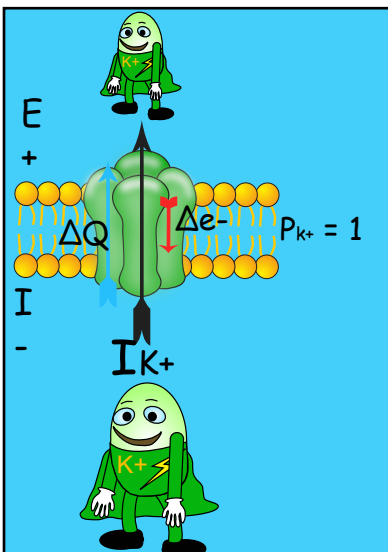
Supongamos que disponemos de un mecanismo en la membrana que estaría encargado de bombear Na^+ y Cl^- de 2 hacia 1, al mismo ritmo que ambos iones difunden de 1 hacia 2. Supongamos que la membrana, siendo permeable al Na^+ y al Cl^- , es más permeable al K^+ que al Cl^- ($P_{\text{Na}^+} > P_{\text{Cl}^-}$). Es muy importante hacer notar que esta bomba está trabajando contra un gradiente de concentración: el Na^+ y Cl^- pasa de 1 a 2 a favor de su gradiente de concentración y vuelve a 1 contra ese gradiente.

Obviamente, la bomba debe estar gastando energía de alguna fuente, y esta bomba iónica es una bomba neutra, ya que bombea, de 2 hacia 1, Na^+ y Cl^- en la misma proporción. El potencial es un potencial de difusión creado por el movimiento de dos iones de distinta permeabilidad a favor de su gradiente de concentración.

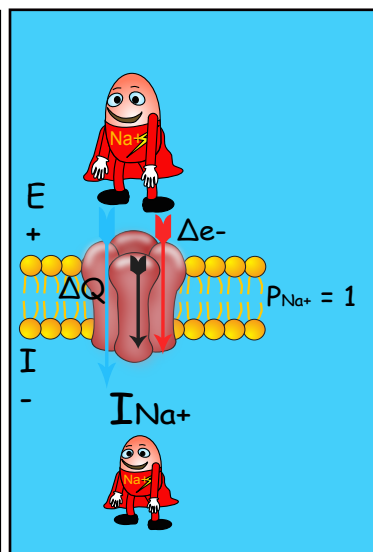
No debemos confundirnos y creer que esta bomba genera diferencias de concentración; lo que hace es mantener las diferencias de concentración.



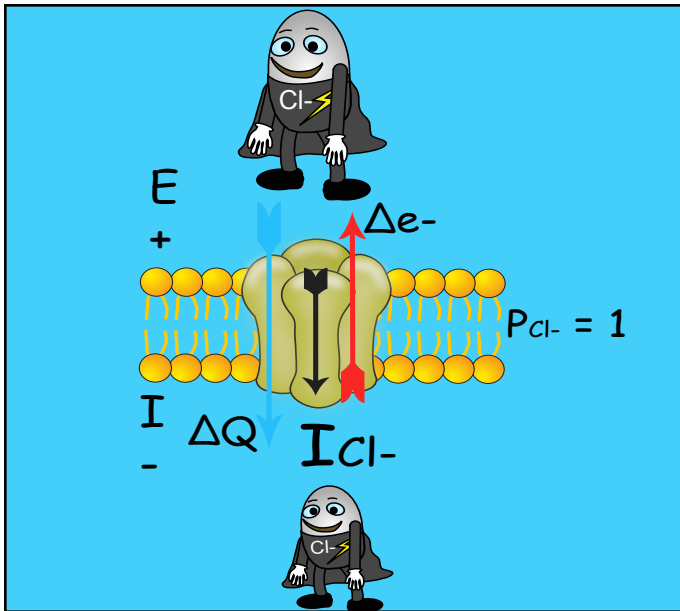
De todos los distintos iones que existen en ambos lados de la membrana, cuatro son los más importantes para el establecimiento del potencial de reposo: el sodio, el potasio, el cloro y aniones orgánicos. Para cada uno de estos iones existe un canal específico, el cual está abierto permanentemente. El canal de potasio es más permeable que el de sodio y cloro, la relación es: $P_{\text{K}^+} : P_{\text{Na}^+} : P_{\text{Cl}^-} = 1 : 0.04 : 0.45$. Esto quiere decir que mientras que el canal de potasio transporta 100 iones, el de sodio transporta 4 y el de cloro 5. Como estos canales están permanentemente abiertos, el flujo de iones (llamado corriente iónica y medido en nanoamperes, nA) obedece a las diferencias de concentración de los iones y de las cargas eléctricas en ambos lados de la membrana, es decir, los gradientes electroquímicos.



En el caso del ion potasio, es más abundante en el interior de la célula, por lo tanto, el flujo de este ion es de dentro hacia afuera de la célula (a favor de un gradiente químico). Sin embargo, el exterior de la célula tiene más cargas positivas frenando el flujo de potasio al exterior (en contra de un gradiente eléctrico). Por este motivo, el flujo neto de potasio sería muy pequeño si no fuera porque el canal de potasio es muy permeable a este ion.

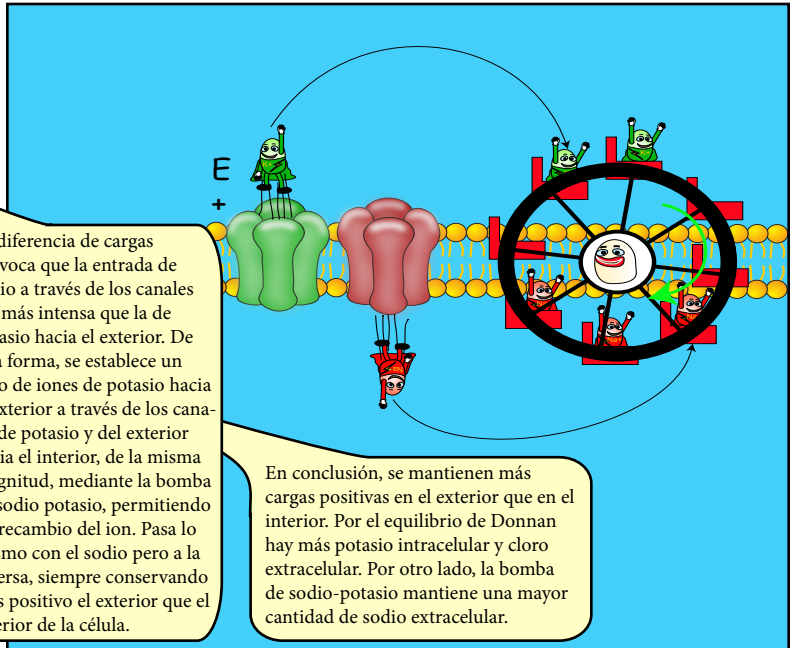


El ion sodio penetra a la célula a favor de un gradiente químico, ya que hay más iones de sodio en el exterior que en el interior de la célula. Además, como el interior de la célula es negativo también penetra a favor de un gradiente eléctrico. Por esto, la corriente de sodio sería mayor de no ser porque el canal de sodio es muy poco permeable. De esta forma, el flujo de sodio hacia el interior de la célula es de la misma magnitud que el flujo de potasio hacia el exterior de la célula, permaneciendo constantes las cargas eléctricas en ambos lados de la célula.



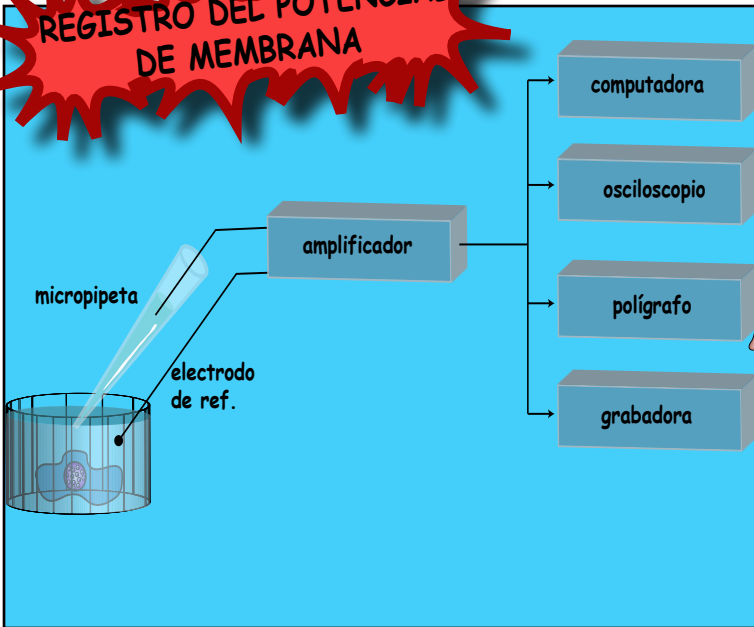
El ion cloro es más abundante en el exterior de la célula, por lo tanto, la tendencia del ion es entrar a la célula a favor de un gradiente químico. Sin embargo, esta entrada de cloro es bloqueada por las cargas negativas en el interior de la célula haciendo que el flujo neto de iones de cloro sea bajo. El cloro tiene su canal no voltaje dependiente en todas las células. Sin embargo, hay células que no tienen acarreadores de cloro, por lo que su distribución es pasiva hasta llegar a su equilibrio, así que en reposo no hay flujo de iones de cloro. En otras células donde hay acarreador antiporador de cloro-potasio, sí tiene una distribución activa y su movilización por los canales hace que contribuya al potencial de membrana en reposo.

En estas condiciones, el potasio se acumularía en el exterior de la célula y el sodio en el interior invirtiéndose los gradientes de concentración y variando el potencial de membrana. Esto no sucede por la acción de la bomba de sodio-potasio. Por cada dos iones de potasio que transporta al interior de la célula, transporta tres iones de sodio al exterior. Como la ATPasa de sodio-potasio transporta menos potasio hacia el interior y más sodio hacia el exterior, se acumulan más cargas positivas en el exterior de la célula que en el interior. Esto por convención se representa como el exterior con carga positiva y el interior con carga negativa.

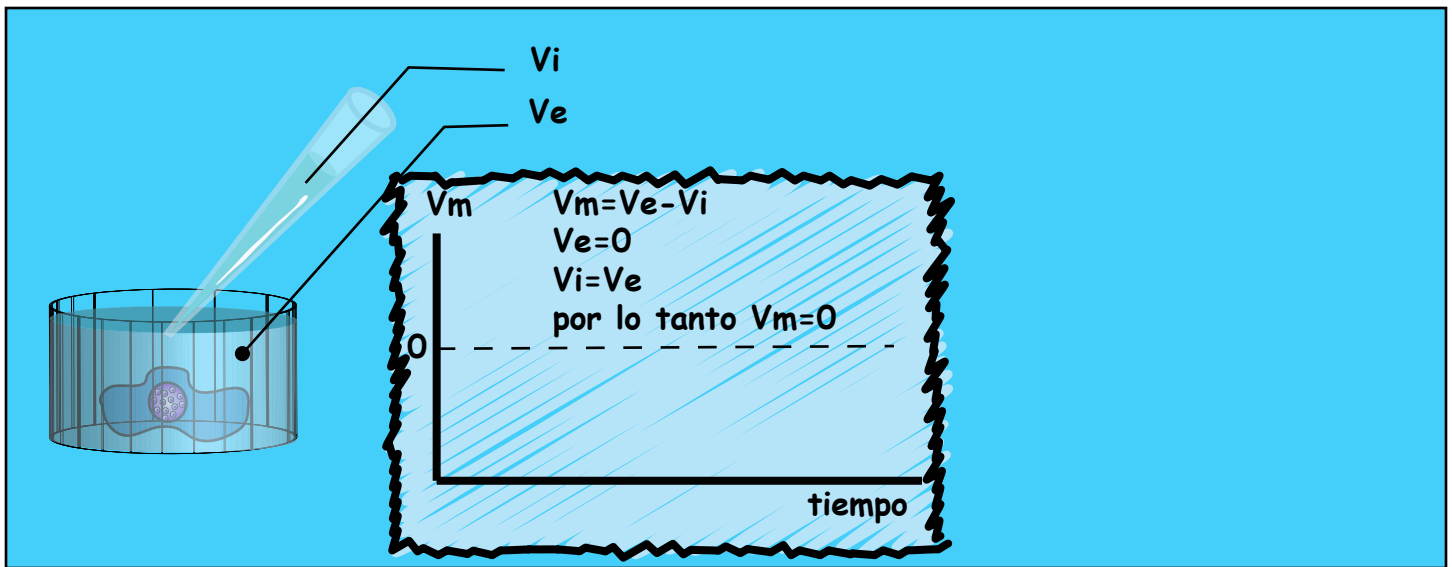


En conclusión, se mantienen más cargas positivas en el exterior que en el interior. Por el equilibrio de Donnan hay más potasio intracelular y cloro extracelular. Por otro lado, la bomba de sodio-potasio mantiene una mayor cantidad de sodio extracelular.

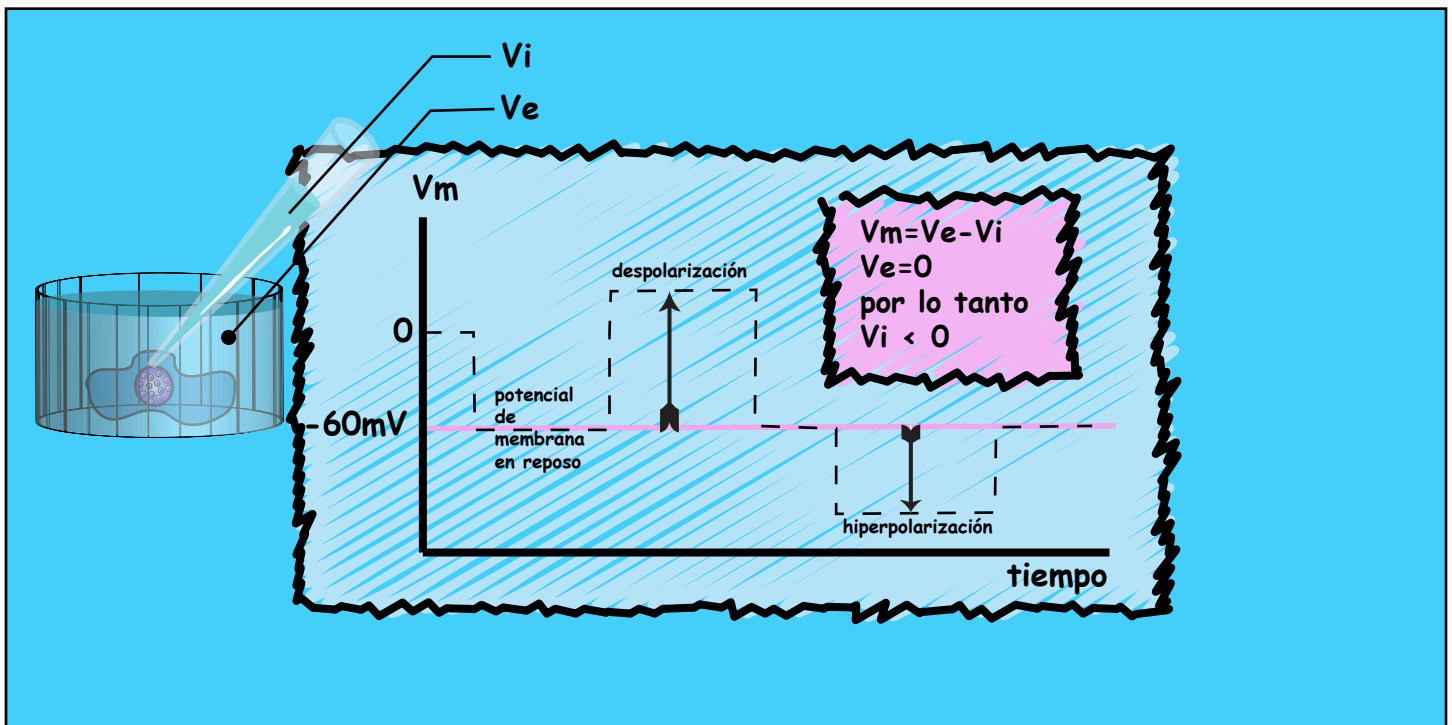
REGISTRO DEL POTENCIAL DE MEMBRANA



Su medición requiere de un electrodo intracelular como lo es la micropipeta (electrodo activo), que es un tubo capilar cuya punta tiene 0.5 μm de diámetro. La pipeta se llena con una solución conductora de electricidad y se conecta a un amplificador. Para completar el circuito eléctrico se conecta la tierra del amplificador al líquido extracelular de la célula mediante otro electrodo (de referencia).

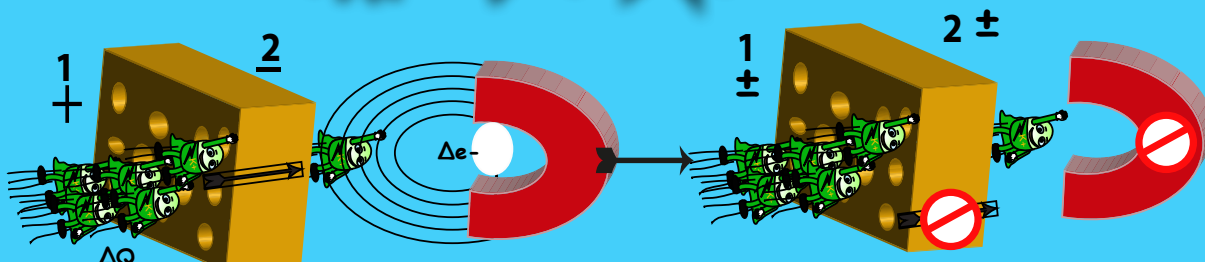


El objetivo es medir diferencias del potencial eléctrico entre ambos electrodos. La pipeta se mueve cuidadosamente hacia la célula hasta introducirse midiendo el potencial intracelular (V_i). Mientras el electrodo está afuera de la célula, no mide cambios en el potencial, ya que ambos están midiendo el mismo potencial extracelular (V_e) y que al conectar el electrodo de referencia a tierra, hace que este potencial extracelular sea de cero ($V_e=0$).



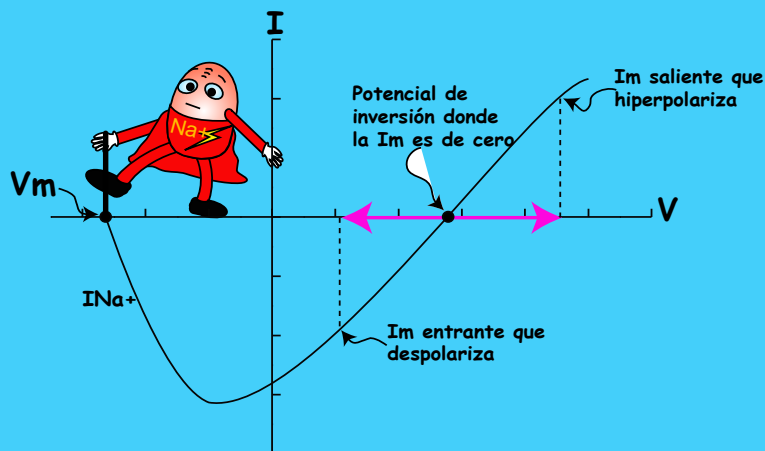
Al penetrar la célula, los electrodos registran una diferencia de potencial ($V_i - V_e = V_m$), el cual es negativo. A este cambio de potencial a valores negativos se le llama potencial de membrana (V_m) en reposo. En la mayoría de las neuronas el potencial de reposo varía entre -60mV y -70mV . La diferencia de cargas en ambos lados de la membrana puede alterarse cuando hay un flujo neto de iones al interior o al exterior celular. Cuando hay una disminución de la diferencia (el interior se vuelve menos negativo y el exterior menos positivo) se le llama despolarización, cuando la diferencia aumenta (el interior es más negativo y el exterior más positivo) se le llama hiperpolarización.

POTENCIAL DE EQUILIBRIO



ESTABLECIMIENTO DEL POTENCIAL DE EQUILIBRIO DEL ION (E_{ion})

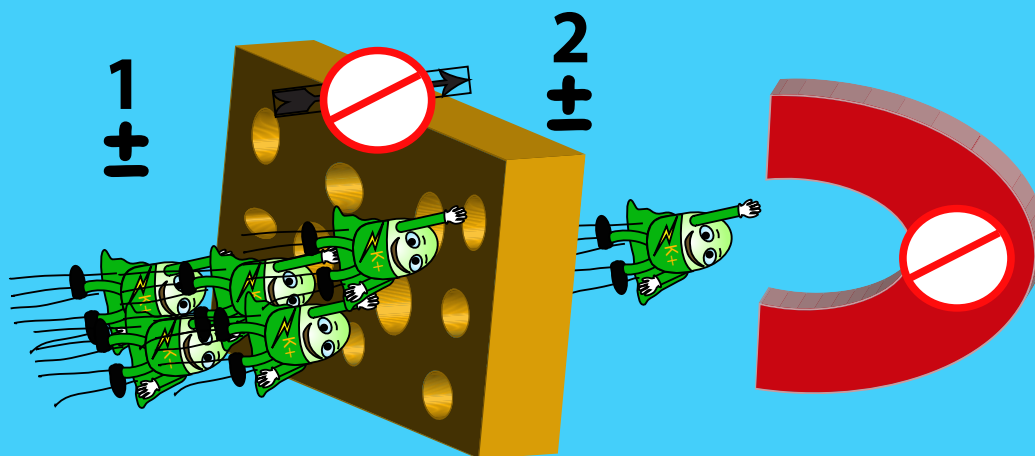
Los iones se mueven a través de la membrana por dos fuerzas; una química o gradiente de concentración y otra eléctrica o gradiente eléctrico. Este movimiento llega al equilibrio (cuando la corriente entrante es igual a la saliente, por lo tanto, el flujo neto de iones es de cero) cuando ambas fuerzas son iguales en magnitud. Al potencial de membrana cuando se llega a este equilibrio se le llama potencial de equilibrio de un ion (E_{ion}).



CARACTERÍSTICAS DEL E_{ion}

Este potencial de equilibrio se caracteriza por:

1) Si una membrana es exclusivamente permeable a un ion, el movimiento de éste provoca que el valor del potencial de membrana llegue al potencial de equilibrio del ion ($E_m = E_{ion}$). En la curva I/V, el potencial de membrana al cual la corriente es de cero (potencial de inversión), es un punto estable. Esto debido a que la membrana siempre tiende hacia él. Si obligamos a la membrana a tener valores menos positivos o más negativos, la célula responde con una corriente positiva entrante que despolariza a la membrana (la membrana regresa al potencial de equilibrio). Si, por el contrario, la obligamos a tener valores más positivos, ésta responde con una corriente positiva entrante que la hiperpolariza (regresa al potencial de equilibrio). Entre más alejado esté V_m de E_{ion} , la corriente es más intensa. La membrana siempre tiende al potencial de equilibrio del ion al cual es más permeable.



2) Cuando el potencial de membrana llega al de equilibrio del ion, no hay un flujo neto de este ion hacia algún lado de la membrana.

3) La suma de fuerzas del gradiente químico y eléctrico es de cero.

$$E_{ion} = (RT/zF) \ln (C_e/C_i)$$

$$E_k = 26mV \times 2.3 \log_{10} (20/400)$$

Para calcular el potencial de equilibrio de un ion en particular, Walther Nernst en 1889 dedujo la ecuación:

$$E_s = (RT)/(zF) \ln (C_e / C_i)$$

En donde R es la constante de los gases, T la temperatura en grados Kelvin o absolutos, Z es la valencia del ion, F es la constante de Faraday, Ce es la concentración del ion en el exterior de la célula y Ci es la concentración en el interior.

En condiciones de reposo la membrana es mucho más permeable al potasio que al sodio y cloro. Como ya dijimos, cuando una membrana es más permeable a un ion, éste tiende a distribuirse de tal manera que $V_m = E_{ion}$ en este caso $V_m = E_k$, por lo tanto, calculando el E_k con la ecuación de Nernst, tendremos el valor en mV del V_m . Para el ion potasio el valor de $Z = +1$, y resolviendo RT/zF para $20^\circ C$ es de $26mV$ (para $25^\circ C$ es de 25.26). La constante para convertir \ln a \log_{10} es de 2.3 , por lo tanto:

$$E_k = 26mV \times 2.3 \log_{10} (20/400) = -75mV$$

En 1902 Julius Bernstein propuso que el ion potasio era el responsable del potencial de reposo. Sin embargo, en 1949 Alan Hodgkin y Bernard Katz midieron las variaciones del potencial de reposo al modificar las concentraciones externas de sodio, potasio y cloro. Encontraron que la modificación del ion potasio alteraba mucho V_m , mientras que los cambios del sodio y el cloro cambiaban los valores de V_m , pero con menor intensidad.

ECUACIÓN DEL CAMPO CONSTANTE (GOLDMAN, HODGKIN Y KATZ)

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0.04 : 0.45$$

$$V_m = \frac{(RT/F) \ln \left(\frac{P_K(K^+)_e + P_{Na}(Na^+)_e + P_{Cl}(Cl^-)_i}{P_K(K^+)_i + P_{Na}(Na^+)_i + P_{Cl}(Cl^-)_e} \right)}{1}$$

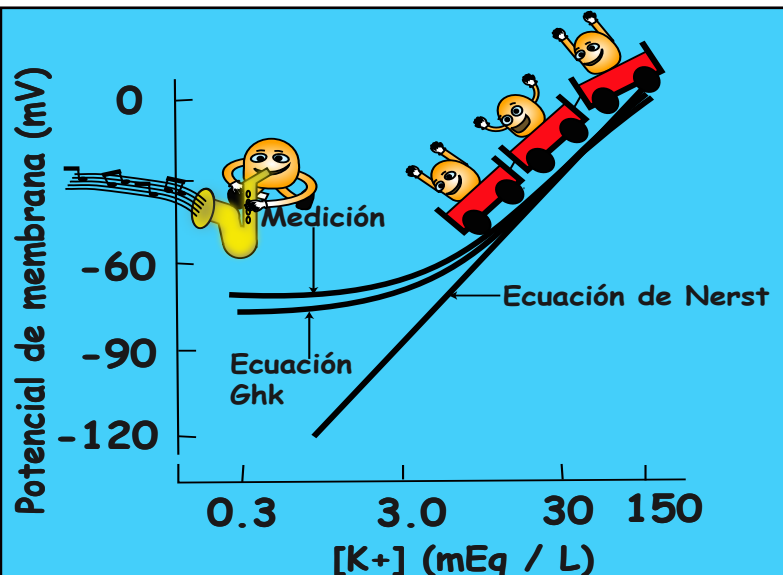
donde P es la permeabilidad. Si se supone, por ejemplo, que la permeabilidad al K^+ es mucho mayor que la de Na^+ y la de Cl^- , la ecuación podrá quedar reducida a:

$$V_m = 61 mV \cdot \log K^+_i / K^+_o$$

Esta ecuación es similar a la de Nernst y establece que los iones con mayor permeabilidad son los más importantes para determinar el potencial de membrana.

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. Con esta premisa Goldman, Hodgkin y Katz (GHK) crearon una ecuación que describe el potencial de membrana dependiente de concentraciones de varios iones para los cuales la membrana es permeable, tomando en cuenta la permeabilidad relativa de dichos iones ($P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0.04 : 0.05$)

Se puede apreciar en gráficas el valor del potencial de reposo cuando varían las concentraciones externas de potasio. Los círculos son valores experimentales, mientras que la recta son los valores calculados del potencial de reposo con la ecuación de Nernst. Nótese que para valores pequeños (fisiológicos) de potasio, la ecuación no predice en forma correcta los valores de V_m . La curva es calculada con la ecuación de GHK tomando en cuenta las permeabilidades relativas antes mencionadas. Esta ecuación se acerca mucho más a predecir los valores del V_m , tanto en bajas como altas concentraciones de potasio extracelular, debido a que también los iones de sodio y cloro intervienen (aunque poco) en determinar el V_m . Nótese también, que, al aumentar el potasio extracelular, el potencial de membrana se vuelve menos negativo, es decir, se despolariza la membrana.



Bibliografía:

Libros.-

Arons P.S., Boron W.F., Boulpaep E.L., Capítulo 5: "Transporte de Solutos y Agua", En: "Fisiología Médica", Eds. Boron W.F. y Boulpaep E.L., 3ra ed, 2017, USA.

Artículos.-

Hill A. Osmosis. Q Rev Biophys. 1979 Feb;12(1):67-99. doi: 10.1017/s0033583500002602. PMID: 386410.

Vujovic P, Chirillo M, Silverthorn DU. Learning (by) osmosis: an approach to teaching osmolarity and tonicity. Adv Physiol Educ. 2018 Dec 1;42(4):626-635. doi: 10.1152/advan.00094.2018. PMID: 30303411.

Kiil F. Molecular Mechanism of Osmosis. Am J Physiol. 1989 Apr;256(4 Pt 2):R801-8. doi: 10.1152/ajpregu.1989.256.4.R801.PMID: 2705569.

Ricco P, Hicks PD. Streamwise-travelling viscous waves in channel flows. J Eng Math. 2018;111(1):23-49. doi: 10.1007/s10665-018-9953-y. Epub 2018 Feb 23. PMID: 30996402; PMCID: PMC6434986.

Videos .-

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

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