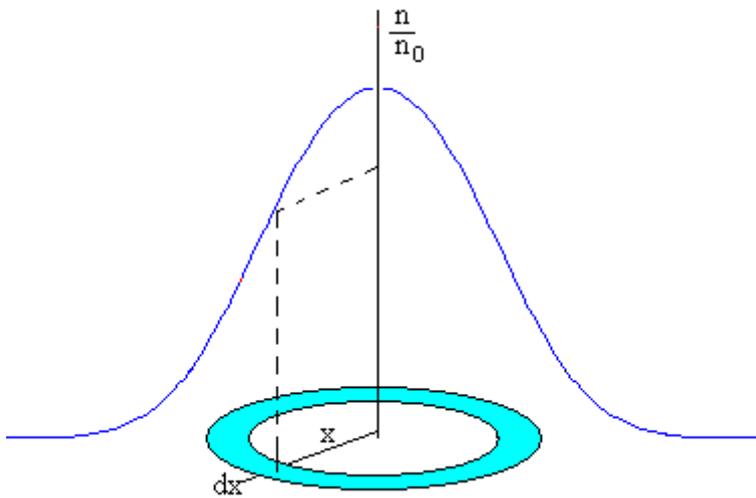


## GRADIENTE DE CONCENTRACIÓN

El flujo depende de la inclinación de la curva de concentración. Donde la curva es más inclinada se produce el mayor flujo.

Esta inclinación está indicando cuanto cambia la concentración por unidad de distancia.



Esta inclinación o pendiente de la curva de concentración, se denomina “gradiente de concentración”.

La densidad de flujo es proporcional al gradiente de concentración

$$M = -D \cdot \text{grad } C$$

Esta relación se denomina primera Ley de Fick.

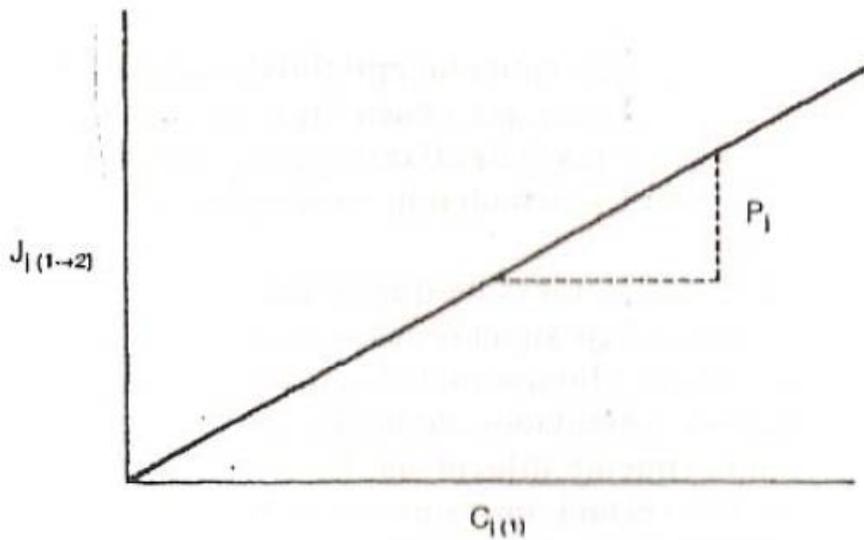
Dado un soluto S, a mayores gradientes de concentración corresponden mayores densidades de flujo. Si consideramos otro soluto T, molécula más grande. Tendrá más dificultad para moverse, a iguales gradientes corresponderán flujos menores de T que de S. A ambos solutos le es aplicable la ley de Fick, pero se introduce el concepto de difusibilidad.

Coefficiente de difusión

Unidad:  $\text{cm}^2/\text{seg}$ .

En el espesor de las membranas los coeficientes de difusión son mucho menores que en el agua para la mayoría de los solutos iónicos.

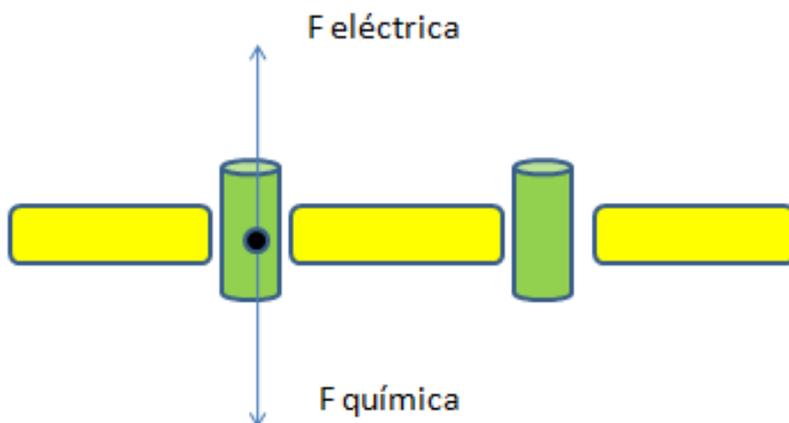
Si realizamos un gráfico de flujo en función de la concentración, obtenemos:



Observamos una relación lineal entre flujo y concentración, donde a través de su pendiente podemos obtener la permeabilidad, la cual se define como la capacidad de la membrana de permitir el paso de diversas moléculas. Además, es una propiedad de la membrana y del ion.

#### EQUILIBRIO ELECTROQUÍMICO

El equilibrio electroquímico se establece cuando las fuerzas eléctricas y las químicas (debidas a diferencias de concentración) son iguales y de sentido contrario.



Para que un ion este en equilibrio electroquímico debe haber una relación definida entre las concentraciones y la diferencia de potencial eléctrico entre ambos compartimentos.

## TRANSPORTE ACTIVO

El ion sodio se encuentra en una situación particular. Por gradiente de concentración y por atracción eléctrica entra constantemente a la célula. Su potencial de equilibrio es  $V_{IE} = +65$  Mv.

Sin embargo, el valor del potencial de reposo de la membrana es de  $-90$  mV. El sodio entra a la célula espontáneamente, a favor de un gradiente electroquímico, por lo tanto se debe realizar trabajo para extraerlo. Esto lo realiza la bomba sodio/ potasio, la cual necesita la energía proveniente del metabolismo del ATP. La misma requiere, potasio extracelular, sodio intracelular y ATP intracelular.

A medida que aumenta la concentración extracelular de potasio, aumenta la velocidad de extracción de sodio por la bomba.

El bombeo tiene una pequeña corriente saliente, ya que según razones estequiometrias, la bomba expulsa cada una molécula de ATP  $3 Na^+$  e ingresa  $2 K^+$ .

Entonces, hacemos referencia a transporte activo, aquel movimiento de soluto que se da gracias a una reacción química, la cual permite que el soluto se mueva en contra de su gradiente electroquímico.

## SISTEMA DE TRANSPORTE ACTIVO

El transporte activo se debe a la existencia de sistemas especializados localizados en la membrana, llamados sistemas de transporte activo o bombas de cationes.

Propiedades:

- Los solutos sometidos a transporte activo son cationes inorgánicos pequeños.
- Los sistemas de transporte activo están constituidos por proteínas asociados íntimamente a la membrana.
- Los sistemas de transporte activo poseen sitios a los que los cationes deben unirse para ser transportados.

## ADENOSINTRIFOSFATASAS DEL TRANSPORTE (ATPasas)

Los sistemas de transporte activo usan como fuente de energía la hidrólisis del adenosíntrifosfato (ATP), adenosíndifosfato (ADP) y fosfato inorgánico. Por este motivo, los sistemas poseen poder catalítica de ATPasa, la que esta acoplada a la transferencia de cationes, lo que conlleva a que se dé la reacción, únicamente si hay presencia de los cationes que la bomba transporta.

Las 2 clase de ATPasa del transporte

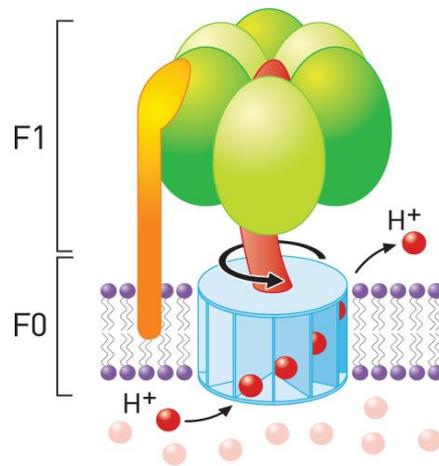
ATPasa  $F_0F_1$ : Estas se ubican en la membrana externa de células procariotas y en las membranas de la mitocondrias, cloroplastos y vesículas secretorias de vesículas eucariotas.

Estas acoplan reversiblemente la transferencia de  $H^+$  a la hidrólisis de ATP.

Su nombre se debe a que posee 2 componentes: el componente  $F_1$  se encuentra adosado a la superficie de la membrana, pero no la penetra. Es la responsable de la actividad ATPásica del sistema, pero por sí sola, es incapaz de acoplar esta actividad con el transporte de  $H_+$ .

El componente  $F_0$  está formado por proteínas hidrofóbicas, que atraviesan la membrana de lado a lado y que por uno de sus extremos se une a  $F_1$ . No posee actividad ATPasa, pero si permite la transferencia de  $H_+$  a través de la membrana.

Las membranas que poseen ATPasas  $F_0F_1$  poseen también sistemas que catalizan reacciones de oxidoreducción. Por ejemplo, la cadena respiratoria en la membrana celular procariotas y en la membrana interna de las mitocondrias. La energía liberada por las reacciones de oxidoreducción se usa para impulsar un transporte activo de  $H^+$ , que da origen a una diferencia de potencial electroquímico de  $H^+$  a ambos lados de la membrana.



A modo de ejemplo, en la membrana mitocondrial interna se encuentra una proteína formada por estos dos tipos de constituyentes; la ATP sintasa.

La ATP sintasa mitocondrial cataliza la formación de ATP a partir de ADP y fosfato acompañada por el flujo de protones desde el lado P de la membrana al lado N de la misma. El componente  $F_1$  es una proteína periférica y el constituyente  $F_0$  es una proteína integral (el subíndice significa que es sensible a la oligomecina).

EN LA SUPERFICIE DE  $F_1$  EL ATP ESTA ESTABILIZADO FRENTE AL ADP

En la superficie de la enzima, la reacción  $ADP + P_i \leftrightarrow ATP + H_2O$  es fácilmente reversible: La energía libre de la síntesis de ATP es cercana a cero. En solución, se necesita  $-30$  KJ/mol para hidrolizar el ATP.

¿A qué se debe esta gran diferencia?

La ATP sintasa estabiliza el ATP con respecto al DAP y al  $P_i$  uniéndolo más fuerte, liberando la energía suficiente para contrarrestar el efecto de fabricar ATP. La enzima, une ATP con mayor afinidad que ADP.

**Es el gradiente protónico el que provoca que la enzima libere el ATP de su superficie.**

ATPasas  $E_1E_2$

Las más importantes son las responsables del transporte activo de  $Na^+$  y  $K^+$ , de  $Ca^+$ , de  $H^+$  y  $K^+$ .

Durante su funcionamiento adquieren conformaciones diferentes, las cuales difieren en su aspecto funcional.

Las propiedades generales de estas ATPasas transcurre en una serie de pasos elementales, que se pueden enumerar de la siguiente forma:

1. El ATP se une al  $E_1$ , que da lugar al  $E_1ATP$ . La unión se realiza en un sitio de unión en la cara citoplasmática de la membrana.
2. El fosfato terminal del ATP se transfiere al carboxilo beta de un residuo aspartato de la enzima, con formación de la fosfoenzima  $E_1P$  con liberación de ADP en el citoplasma. Para que ocurra esto, debe estar presente el catión  $Mg^{2+}$ . Este requerimiento es común a todas las ATPasas  $E_1E_2$ , pero en ninguna de ellas es transportado este catión.
3. Lo que ocurre es un cambio conformacional de la enzima, la cual se transforma en  $E_2P$ . Durante esta transición, el catión es liberado al espacio extracelular.
4. La capacidad catalítica de  $E_2P$ , causa la hidrólisis de la fosfoenzima con la siguiente liberación del fosfato inorgánico hacia el citosol y formación de  $E_2$ .

Cuando la ATPasa transporta dos cationes en dirección opuesta, la defosforilación es acelerada por el catión extracitoplasmático, el cual se relaciona con la enzima en el espacio extracelular. Todas las ATPasas son inhibidas por el orlovanadato ( $VO_4$ ), actuando sobre el sitio donde se libera el fosforo.

5. Ocurre la reconversión de  $E_2$  en  $E_1$ . Este paso es el más lento, y por lo tanto, el que limita la velocidad de la reacción global de hidrólisis del ATP.

### TRANSPORTE ACTIVO DE SODIO Y POTASIO

Distribución de los iones entre el citosol y el medio extracelular.

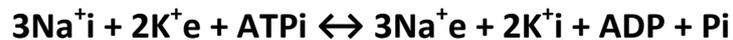
La concentración de  $K^+$  en el citosol es de 150 mM, unas 30 veces mayor que la del medio extracelular, mientras que la de  $Na^+$  es de 10 mM. En consecuencia, existen gradientes de concentración que impulsan flujos pasivos de  $Na^+$  hacia el interior y de  $K^+$  hacia el exterior de la célula.

La distribución de  $Na^+$  y  $K^+$  se mantiene alejada del equilibrio debido a la acción de un único sistema de transporte activo que induce flujos de  $Na^+$  y  $K^+$  que balancean los flujos pasivos y mantiene así la célula en estado estacionario ( estado de no equilibrio, donde existe gasto de energía, ya que se va en contra de un gradiente).

El transporte activo de  $Na^+$  y  $K^+$  esta mediado por una ATPasa del tipo  $E_1E_2$  llamada bomba de  $Na^+$ ,  $K^+$  ATPasa. Esta bomba está ubicada en la membrana plasmática de todas las células eucariotas. En células, donde el transporte es muy rápido, como las de la rama gruesa del asa

de Henle del riñón, hasta el 25% del contenido de proteínas en la membrana, por lo contrario en la membrana de los eritrocitos se encuentra en un porcentaje de 0,1%. Esto revela, que la velocidad de transporte activo de estos iones, depende de la concentración en la membrana plasmática de esta proteína integral.

La bomba sodio/potasio cataliza el intercambio de 3 iones de sodio intracelular por 2 iones de potasio extracelular, por cada molécula de ATP que es hidrolizada.



Debido al número desigual de iones que transporta la bomba, se genera una pequeña corriente de cargas positivas hacia el exterior que incrementa la electronegatividad en el interior celular. Por este motivo, se dice que el intercambio es electrogénico (Bombas iónicas que generan una diferencia de potencial o carga eléctrica entre ambos lados de la membrana celular, como las bombas de sodio-potasio).

#### CURVAS SIGMOIDEAS DE FLUJO DE IONES EN FUNCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES

En condiciones fisiológicas, la activación del intercambio de  $\text{Na}^+$  por  $\text{K}^+$ , por  $\text{Na}^+$  intracelular alcanza su valor semimáximo cuando la concentración de sodio es de 10 a 15 mM. Esto lleva a que en condiciones fisiológicas halla un 50% de unidades de bombas ocupadas con el ion sodio, lo cual implica que pequeñas variaciones en la concentración de sodio intracelular genere grandes flujos de este ion, o en otras palabras genere una mayor velocidad de transporte. El potasio intracelular actúa como un inhibidor competitivo de la activación por sodio. La bomba es altamente selectiva para el sodio intracelular, solo el litio y el hidrógeno pueden sustituirlo.

La activación del intercambio de sodio por potasio extracelular sigue una curva sigmoide, que para concentraciones fisiológicas de sodio extracelular (140-150 mM), alcanza su valor semimáximo cuando la concentración de potasio es de 1 a 2 mM.

En condiciones fisiológicas, donde la concentración de potasio es de 5 mM, un 70% de unidades estarán combinadas con este catión.

El sodio extracelular actúa como un inhibidor competitivo de la activación por potasio.

Los sitios extracelulares son menos selectivos que los intracelulares. El  $\text{Rb}^+$ , litio, sodio y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) pueden ser transportados hacia el interior reemplazando el potasio.

#### INHIBIDORES DE LA SODIO/POTASIO ATPasa

Como todas las ATPasas  $\text{E}_1\text{E}_2$ , la bomba sodio/potasio es inhibida por el vanadato. La enzima también es inhibida por glucósidos cardíacos, estos son inhibidores altamente específicos de la bomba y ningún otro sistema de transporte activo es sensible a ellos.

#### EL TRANSPORTE ACTIVO DE CALCIO

El calcio citosólico actúa como segundo mensajero que transmite la información del estímulo a los sistemas que inician la respuesta. El calcio puede cumplir con esta especial función, ya que su concentración citosólica es muy baja, y flujos de calcio generaran grandes cambios.

El calcio cumple numerosas funciones con respecto a las respuestas celulares que media, como son:

- Contracción muscular
- Secreción de glándulas endócrinas y exócrinas
- División celular
- Liberación de neurotransmisores.

Una de las estrategias usada por las células es la liberación de calcio estimulada por calcio, donde un estímulo puede aumentar la concentración de calcio citosólica facilitando el ingreso de calcio extracelular, lo cual remueve calcio contenido en organelos intracelulares, como lo son el retículo sarcoplasmático del músculo.

El calcio penetra en la célula gracias a componentes proteicos que se encuentran a nivel de la membrana plasmática, son los canales de calcio dependientes de voltaje, ya que en condiciones de reposo permanecen cerrados, pero con la despolarización de la membrana por un estímulo, estos censan ese cambio de potencial y se abren permitiendo la entrada de calcio de forma pasiva.

Los ejemplos más interesantes sobre el papel del calcio, se radica a nivel del músculo, tanto estriado como cardíaco, donde el calcio participa en el mecanismo de la contracción muscular, función fundamental para la supervivencia.

#### LAS $\text{Ca}^{2+}$ ATPasas (retículo sarcoplasmático)

En condiciones fisiológicas, esta bomba acopla el transporte de iones calcio a la hidrólisis de ATP a ADP y Pi en la superficie citoplasmática de la membrana. El transporte prosigue hasta que lo bloquea el efecto inhibitorio del calcio que se acumula en el espacio intrareticular. Entre el 70% y 80% de proteínas de membrana del retículo corresponden a la bomba calcio ATPasa.

Esto tiene vital importancia para tratar con detalle la contracción muscular, ya que en pocas palabras, luego de la contracción muscular se da la relajación del músculo, y la misma se debe a la rápida captación del calcio citosólico hacia el retículo. Esto está dado, gracias a la bomba que se encuentra en la membrana del retículo a un porcentaje relativamente importante.

#### Calcio ATPasas de la membrana celular

La membrana celular posee dos sistemas capaces de inducir flujos activos de salida de calcio. Son:

- $\text{Ca}^{2+}$  ATPasa (presente en todas las células eucariotas, en un 0,5%).
- Sistema de contratransporte que acopla el flujo de salida de  $\text{Ca}^{2+}$  al flujo de entrada de  $\text{Na}^+$ .

En condiciones fisiológicas el sistema acopla al transporte activo de calcio desde el citosol al espacio extracelular a la hidrólisis de ATP a ADP y Pi en la superficie citoplasmática de la membrana.