4.7 EL MOVIMIENTO DE SUSTANCIAS A TRAVÉS DE LAS MEMBRANAS CELULARES

Como el contenido de una célula está rodeado por su membrana plasmática, toda la comunicación entre la célula y el medio extracelular debe estar regulada por esta estructura. En cierto modo, la membrana plasmática posee una función doble. Por un lado, debe retener los materiales disueltos de la célula para que no se escapen hacia el ambiente, mientras que por otro lado debe permitir el intercambio necesario de materiales al interior y exterior de la célula. La bicapa lipídica de la membrana es una estructura ideal para prevenir la pérdida de los solutos cargados y polares de la célula. Por consiguiente, debe haber alguna provisión especial que permita el movimiento de nutrimentos, iones, productos de desecho y otros compuestos, hacia el interior y exterior de la célula. Hay dos medios básicos para el movimiento de sustancias a través de una membrana: en forma pasiva por difusión y en forma activa mediante un proceso de transporte con gasto energético. Ambos tipos de movimientos permiten el flujo neto de un ion o compuesto particular. El término *flujo neto* indica que el movimiento de la sustancia hacia el interior de la célula (*entrada*) y exterior (*salida*) de la célula no está equilibrado, sino que uno excede al otro.

Se conocen varios procesos diferentes mediante los cuales las sustancias cruzan las membranas: difusión simple por la bicapa de lípidos; difusión simple por un canal acuoso recubierto con proteína; difusión facilitada por un transportador proteico, y transporte activo, que requiere una "bomba" de proteína impulsada por energía capaz de mover sustancias contra un gradiente de concentración (fig. 4-32). Se considera cada uno en su momento, pero primero se describe la energética del movimiento de solutos.

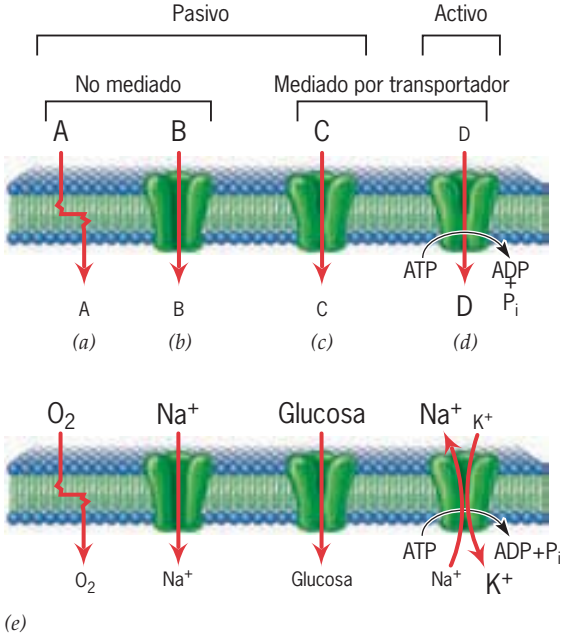


FIGURA 4-32 Cuatro mecanismos básicos por los cuales las moléculas de soluto se mueven a través de la membrana. Los tamaños relativos de las letras indican las direcciones de los gradientes de concentración. *a*) Difusión simple a través de la bicapa, que siempre avanza de la mayor concentración a la menor. *b*) Difusión simple por un canal acuoso formado dentro de una proteína integral de membrana o un cúmulo de estas proteínas. Como en *a*, el movimiento siempre es en favor de un gradiente de concentración. *c*) Difusión facilitada en la que las moléculas de soluto se unen de manera específica con un portador proteico en la membrana (transportador facilitador). Como en *a* y en *b*, el movimiento siempre va de la concentración alta a la baja. *d*) Transporte activo mediante un transportador proteico con un sitio de unión específico que sufre un cambio en la afinidad y se impulsa con la energía que libera un proceso exergónico, como la hidrólisis de ATP. El movimiento ocurre contra un gradiente de concentración. *e*) Ejemplos de cada tipo de mecanismo como suceden en la membrana de un eritrocito.

La energética del movimiento de solutos

La **difusión** es un proceso espontáneo en el que una sustancia se mueve de una región de alta concentración a otra con baja concentración, lo que al final elimina la diferencia de concentración entre las dos regiones. Como se describe en la página 87, la difusión depende del movimiento térmico aleatorio de solutos y es un proceso exergónico impulsado por un aumento de la entropía. La discusión siguiente se limita a la difusión de sustancias a través de membranas.

El cambio de energía libre que ocurre cuando un soluto sin carga (un no electrólito) se difunde a través de una membrana depende de la magnitud del gradiente de concentración, esto es, la diferencia de la concentración a cada lado de la membrana. La siguiente relación describe el movimiento de un no electrólito *hacia dentro* de la célula:

$$\Delta G = RT \ln \frac{[C_i]}{[C_o]}$$

$$\Delta G = 2.303\ RT \log_{10} \frac{[C_i]}{[C_o]}$$

donde ΔG es el cambio de energía libre (sección 3.1), R la constante de gas, T la temperatura absoluta del soluto y $[C_i]/[C_o]$ la proporción entre la concentración del soluto en las superficies interna (i) y externa (o) de la membrana. A 25°C,

$$\Delta G = 1.4 \text{ kcal/mol} \cdot \log_{10} \frac{[C_i]}{[C_o]}$$

Si la proporción $[C_i]/[C_o]$ es menor a 1.0, el logaritmo de la proporción es negativo, ΔG es negativo y la entrada neta de soluto está favorecida desde el punto de vista termodinámico (exergónico). Por ejemplo, si la concentración externa de soluto es 10 veces mayor a la interna, $\Delta G = -1.4$ kcal/mol. Por lo tanto, el mantenimiento del gradiente de concentración de 10 veces representa un almacenamiento de 1.4 kcal/mol. Conforme el soluto entra a la célula, disminuye el gradiente de concentración, la energía almacenada se disipa y ΔG decrece hasta que, en equilibrio, es de cero. (Para calcular ΔG para el movimiento de un soluto hacia fuera de la célula, el término para las proporciones de concentración se cambia a $[C_o]/[C_i]$.)

Si el soluto es un electrólito (una especie con carga), también debe considerarse la diferencia de carga general entre los dos compartimientos. Como resultado de la repulsión mutua de

iones con cargas similares, el paso de un electrólito a través de la membrana de un compartimiento a otro con una carga neta del mismo signo es un cambio no favorecido, desde el punto de vista termodinámico. Por el contrario, si la carga del electrólito es de signo contrario al que tiene el compartimiento hacia el cual se dirige, el proceso se favorece en sentido termodinámico. Mientras mayor sea la diferencia en la carga (diferencia potencial o voltaje) entre ambos compartimientos, mayor es la diferencia en la energía libre. Por lo tanto, la tendencia de un electrólito para difundir entre dos compartimientos depende de dos gradientes: un gradiente químico determinado por la diferencia de la concentración entre los dos compartimientos y un gradiente de potencial eléctrico, determinado por la diferencia en la carga. Juntas, estas diferencias se combinan para formar un **gradiente electroquímico**. El cambio de energía libre para la difusión de un electrólito hacia el interior de la célula es

$$\Delta G = RT \ln \frac{[C_i]}{[C_o]} + zF\Delta E_m$$

donde z es la carga del soluto, F la constante de Faraday (23.06 kcal/V · equivalente, donde un equivalente es la cantidad del electrólito que tiene un mol de carga) y ΔE_m la diferencia de potencial (en voltios) entre los dos compartimientos. En el ejemplo previo se vio que una diferencia de 10 veces en la concentración de un no electrólito a través de una membrana a 25°C genera una ΔG de –1.4 kcal/mol. Supóngase que el gradiente de concentración consistiera en iones de sodio (Na^+), que tienen una concentración 10 veces mayor fuera de la célula que en el citoplasma. Como el voltaje a través de la membrana de una célula casi siempre es cercano a –70 mV (pág. 164), el cambio de energía libre para el movimiento de un mol de iones Na^+ hacia el interior de la célula en estas condiciones sería:

$$\Delta G = -1.4 \text{ kcal/mol} + zF\Delta E_m$$
$$\Delta G = -1.4 \text{ kcal/mol} + (1)(23.06 \text{ kcal/V} \cdot \text{mol})(-0.07 \text{ V})$$
$$= -3.1 \text{ kcal/mol}$$

En consecuencia, en las condiciones descritas, la diferencia de concentración y el potencial eléctrico hacen contribuciones similares al almacenamiento de energía libre a través de la membrana.

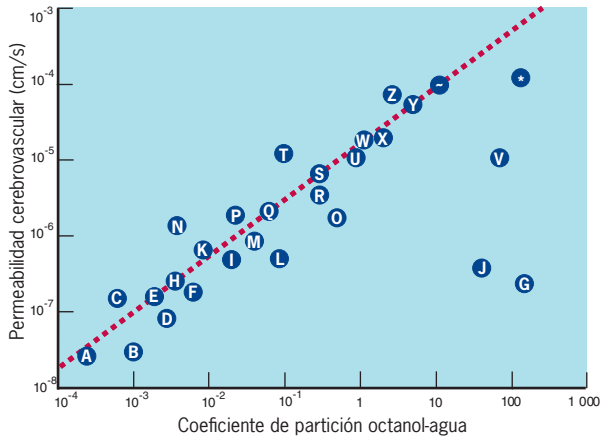
La interrelación entre las diferencias de concentración y potencial se ve en la difusión de los iones de potasio (K^+) hacia el exterior de la célula. La salida de este ion se ve favorecida por el gradiente de concentración de K^+, ya que la concentración de K^+ es más alta dentro de la célula, pero está amortiguada por el gradiente eléctrico que su difusión crea, la cual deja una carga negativa mayor dentro de la célula. Este tema se trata con más detalle cuando se considera el tema de potenciales de membrana e impulsos nerviosos en la sección 4.8.

Difusión de sustancias a través de las membranas

Antes que un no electrólito se difunda en forma pasiva a través de una membrana plasmática deben cumplirse dos condiciones. La sustancia debe estar presente en mayor concentración en un lado de la membrana que en el otro y la membrana debe ser permeable a la sustancia. Una membrana puede ser permeable a determinado soluto: a) porque ese soluto puede pasar en forma directa por la bicapa de lípidos o b) porque ese soluto puede atravesar un poro acuoso que cruza la membrana e impide que el soluto entre en contacto con las moléculas lipídicas de la bicapa. Para empezar, considérese la primera vía en la que una sustancia debe disolverse en la bicapa de lípidos para pasar por la membrana.

La descripción de la difusión simple lleva a considerar la polaridad de un soluto. Una medida simple de polaridad (o no polaridad) de una sustancia es su **coeficiente de partición**, que es la proporción entre su solubilidad en un solvente no polar, como octanol o un aceite vegetal, y la solubilidad en agua en condiciones en las que el solvente no polar y el agua se mezclen. La figura 4-33 muestra la relación entre el coeficiente de partición y la permeabilidad de la membrana de diversas sustancias y fármacos. Resulta evidente que mientras mayor sea la solubilidad en lípidos es más rápida la penetración.

Otro factor que determina la velocidad de penetración de un compuesto a través de la membrana es su tamaño. Si dos moléculas tienen coeficientes de partición similares, la molécula más pequeña tiende a penetrar la bicapa de lípidos de una membrana con más rapidez que la molécula más grande. Las moléculas muy pequeñas sin carga penetran con gran rapidez



A. Sacarosa
B. Epipodofilotoxina
C. Manitol
D. Arabinosa
E. *N*-metilnicotinamida
F. Metotrexato
G. Vincristina
H. Urea
I. Formamida
J. Vinblastina
K. Curare
L. Tiourea
M. Dianhidrogalacticol
N. Glicerol
O. 5-FU
P. Etilenglicol
Q. Acetamida
R. Torafur
S. Misonidazol
T. Propilenglicol
U. Metronidazol
V. Mostaza de espirohidantoína
W. Procarbacina
X. PCNU
Y. Antipirina
Z. Cafeína
~. BCNU
***.** CCNU

FIGURA 4-33 Relación entre el coeficiente de partición y la permeabilidad de la membrana. En este caso se midió la penetración de diversas sustancias y fármacos a través de las membranas plasmáticas de las células que recubren los capilares cerebrales. Las sustancias penetran porque pasan a través de la bicapa lipídica de estas células. El coeficiente de partición se expresa como el índice entre la solubilidad de un soluto en octanol y su solubilidad en agua. La permeabilidad se expresa como la penetrancia (P) en cm/seg. Para todos los compuestos, excepto unos cuantos como la vinblastina y la vincristina, la penetración es directamente proporcional a la solubilidad en lípidos. (Tomada de N. J. Abbott e I. A. Romero, Molec Med Today 2:110, 1996; © 1996, con autorización de Elsevier Science.)

las membranas celulares. Por consiguiente, las membranas son muy permeables a las moléculas inorgánicas pequeñas, como O_2, CO_2, NO y H_2O, que se considera que pasan entre los fosfolípidos adyacentes. A diferencia de las moléculas polares más grandes, como los azúcares, aminoácidos e intermediarios fosforilados, poseen poca penetrabilidad en la membrana. Como resultado, la bicapa lipídica de la membrana plasmática constituye una barrera efectiva que impide la difusión de estos metabolitos esenciales hacia el exterior. Algunas de estas moléculas (p. ej., azúcares y aminoácidos) deben entrar a las células a partir de la corriente sanguínea, pero no pueden hacerlo por difusión simple. En lugar de eso, debe haber mecanismos especiales disponibles que permitan su penetración a través de la membrana plasmática. El uso de éstos permite que la célula regule el movimiento de sustancias a través de su barrera superficial. Más adelante se regresará a esta característica.

La difusión del agua a través de las membranas Las moléculas de agua se mueven con mucha más rapidez a través de la membrana celular que los iones disueltos o los pequeños solutos orgánicos polares, que son incapaces de penetrar. A causa de esta diferencia en la penetrabilidad del agua en comparación con los solutos, se dice que las membranas son **semipermeables**. El agua se mueve con facilidad a través de una membrana semipermeable de una región con menor concentración de *solutos* a una región con mayor concentración de *solutos*. Este proceso se llama **ósmosis** y es fácil de demostrar si se coloca una célula en una solución que contenga un soluto no penetrante con una concentración diferente a la presente dentro de la célula.

Cuando se separan dos compartimientos con diferente concentración de solutos mediante una membrana semipermeable, se dice que el compartimiento con mayor concentración de solutos es **hipertónico** (o **hiperosmótico**) en relación con el compartimiento que tiene la menor concentración de soluto, que se describe como **hipotónico** (o **hipoosmótico**). Cuando se coloca una célula en una solución hipotónica, muy pronto la célula capta agua por ósmosis y se hincha (fig. 4-34*a*). Por el contrario, una célula que se coloca en una solución hipotónica pierde agua por ósmosis y se encoge (fig. 4-34*b*). Estas simples observaciones muestran que el volumen de una célula está controlado por la diferencia entre la concentración de soluto dentro de la célula y la concentración en el medio extracelular. Por lo general, la hinchazón y el encogimiento de las células en medios un poco hipotónicos e hipertónicos son fenómenos temporales. Después de unos cuantos minutos, las células se recuperan y regresan a su volumen original. En un medio hipotónico, la recuperación se produce conforme las células pierden iones, lo que reduce su presión osmótica interna. En un medio hipertónico, la recuperación se logra cuando la célula obtiene iones del medio. Una vez que la concentración interna de solutos (que incluye una alta concentración de proteínas disueltas) iguala a la concentración externa de solutos, los líquidos interno y externo son **isotónicos** (o **isoosmóticos**) y ya no se produce desplazamiento de agua hacia dentro o fuera de la célula (fig. 4-34*c*).

La ósmosis es un factor importante en muchas funciones corporales. Por ejemplo, el tubo digestivo secreta varios litros de jugo al día y las células que recubren el intestino lo resorben por ósmosis. Si este líquido no se reabsorbiera, como sucede en el caso de la diarrea extrema, la persona enfrentaría la posibilidad de deshidratación rápida. Las plantas recurren a la ósmosis de distintas maneras. A diferencia de las células animales que casi siempre son isotónicas respecto del medio en el que se encuentran inmersas, las células vegetales casi siempre son hipertónicas en comparación con su ambiente líquido. Como resultado, existe una tendencia a que el agua ingrese a la célula, lo que ocasiona una presión interna (*turgencia*) que empuja contra la

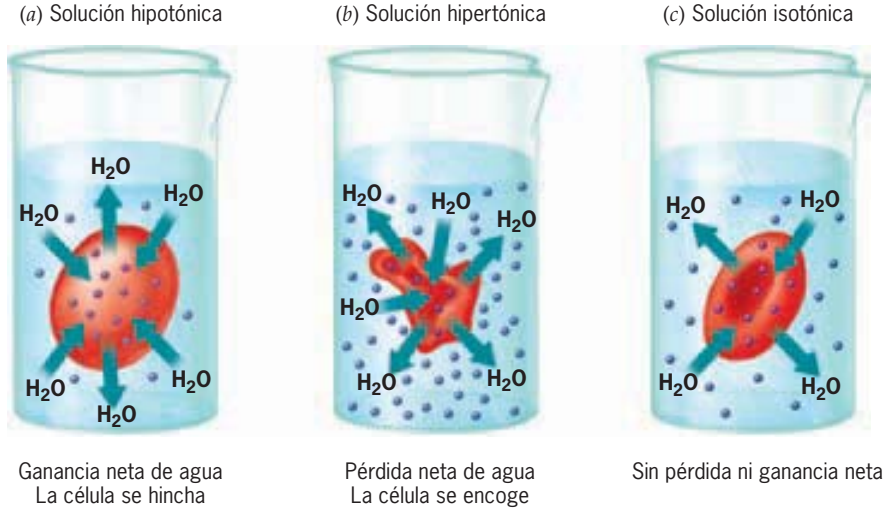


FIGURA 4-34 Efectos de las diferencias de la concentración de solutos en los lados contrarios de la membrana plasmática. *a*) Una célula colocada en una solución hipotónica (con menor concentración de soluto que la célula) se hincha por la ganancia neta de agua mediante ósmosis. *b*) Una célula en una solución hipertónica se encoge por la pérdida neta de agua mediante ósmosis. *c*) Una célula colocada en una solución isotónica mantiene un volumen constante porque la entrada y salida de agua son iguales.

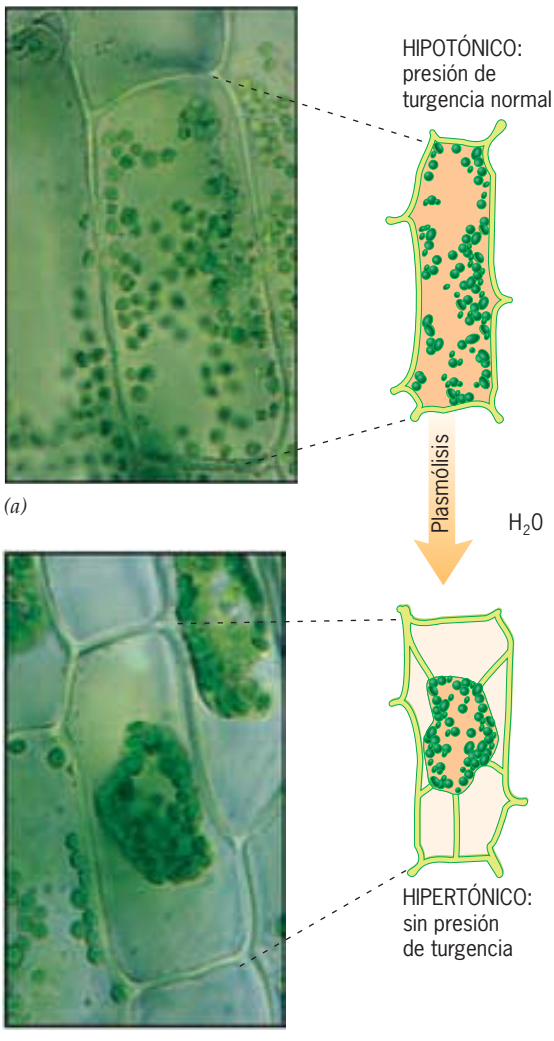


FIGURA 4-35 Efectos de la ósmosis en una célula vegetal. *a*) Las plantas acuáticas que viven en agua dulce están rodeadas por un ambiente hipotónico. Por lo tanto, el agua tiende a entrar a las células, lo que crea la presión por turgencia. *b*) Si la planta se coloca en una solución hipertónica, como el agua marina, la célula pierde agua y la membrana plasmática se aleja de la pared celular. (© Ed Reschke.)

pared circundante (fig. 4-35*a*). La presión de la turgencia suministra soporte a las plantas no leñosas y las partes no leñosas de las plantas, como las hojas. Si una célula vegetal se coloca en un medio hipertónico, su volumen se reduce conforme la membrana plasmática se separa de la pared celular que la rodea, un proceso conocido como **plasmólisis** (fig. 4-35*b*). La pérdida de agua debida a la plasmólisis hace que las plantas pierdan su soporte y se marchiten.

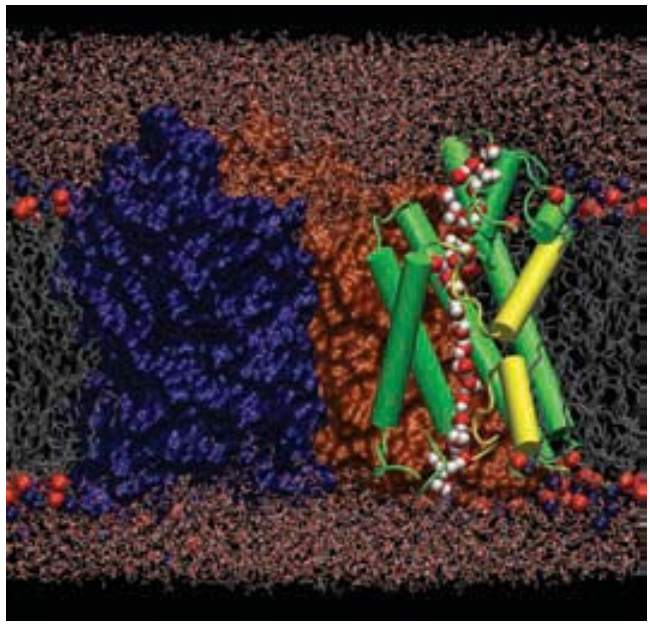
Muchas células son mucho más permeables al agua de lo que puede explicarse por la difusión simple a través de la bicapa de lípidos. A principios del decenio de 1990, Peter Agre y colaboradores de la *Johns Hopkins University* intentaban aislar y purificar las proteínas de membrana que constituyen el antígeno Rh presente en la superficie de los eritrocitos. Durante esta tarea identificaron una proteína la cual pensaron que podría ser el largamente buscado canal de agua de la membrana eritrocítica. Para probar su hipótesis, modificaron mediante ingeniería genética oocitos de rana para incorporar la proteína recién descubierta en sus membranas plasmáticas y luego colocaron los oocitos en un medio hipotónico. Exactamente como habían predicho, los oocitos se hincharon debido al ingreso de agua y al final estallaron. Los investigadores habían descubierto una familia de pequeñas proteínas integrales, llamadas *acuaporinas*, que permiten el movimiento pasivo de agua de un lado de la membrana plasmática al otro. Cada subunidad de acuaporina (en la proteína de cuatro subunidades) contiene un canal central que está recubierto principalmente con aminoácidos hidrófobos y es altamente específico para las moléculas de agua. Alrededor de mil millones de moléculas de agua, en una sola fila, pueden pasar por cada canal cada segundo. Al mismo tiempo, los iones H^+, que por lo general saltan a lo largo de una cadena de moléculas de agua, no pueden penetrar estos poros abiertos. El posible mecanismo por el cual estos canales son capaces de excluir protones ha sido sugerido por una combinación de estudios cristalográficos por rayos X, que han revelado la estructura de la proteína, y simulaciones por computadora (pág. 60), que pusieron a funcionar esta estructura proteínica. En la figura 4.36*a* se presenta un modelo basado en estas simulaciones. Muy cerca de su punto más estrecho, la pared de un canal de acuaporina contiene un par de cargas positivas situadas de manera muy precisa (residuos N203 y N68 en la figura 4.36*b*) que atraen el átomo de oxígeno de cada molécula de agua conforme ésta se acelera para pasar por la constricción de la proteína. Esta interacción orienta la molécula de agua central en una posición que impide que mantenga los enlaces de hidrógeno que normalmente la unen a las moléculas de agua adyacentes. Esto elimina el puente que en circunstancias normales permitiría a los protones moverse de una molécula de agua a la siguiente.

Las acuaporinas son muy abundantes en células, como las de los túbulos renales o las raíces de las plantas, en las que el paso de agua tiene un papel crucial en las actividades fisiológicas de los tejidos. La hormona vasopresina, que estimula la retención de agua en los túbulos colectores del riñón, actúa a través de una de estas proteínas (AQP2). En algunos casos del trastorno hereditario *diabetes insípida nefrógena congénita* se ha rastreado el defecto hasta una mutación en este canal de acuaporina. Las personas que sufren esta enfermedad eliminan enormes cantidades de orina porque sus riñones no responden a la vasopresina.

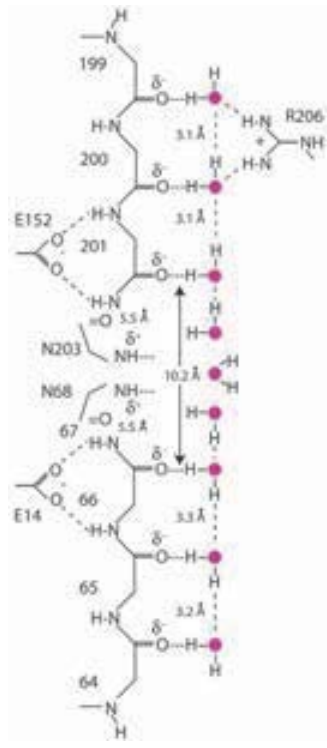
La difusión de iones a través de las membranas

La bicapa de lípidos que constituye el centro de las membranas biológicas es impermeable a las sustancias con carga eléctrica, incluidos iones pequeños como Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-. Aun así, el movimiento (**conductancia**) de estos iones a través de las membranas tiene una función esencial en múltiples actividades celulares, incluidas la formación y propagación de un impulso nervioso, secreción de sustancias hacia el espacio celular, contracción muscular, regulación del volumen celular y la abertura de estomas en las hojas de las plantas.

En 1955, Alan Hodgkin y Richard Keynes de la *Cambridge University* propusieron por primera vez que las membranas celulares contenían **canales iónicos**, es decir, aberturas en la membrana que son permeables a iones específicos. A finales del decenio de 1960 y en el de 1970, Bertil Hille de la *University of Washington* y Clay Armstrong de la *University of Pennsylvania*



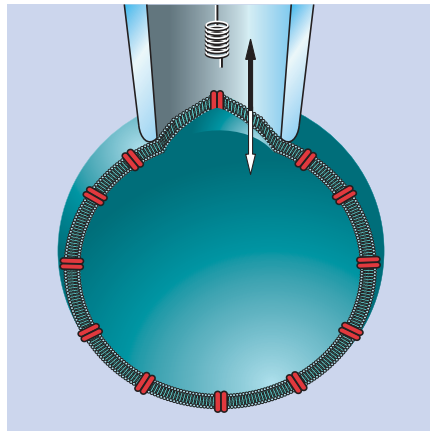
(*a*)



(*b*)

FIGURA 4-36 Paso de moléculas de agua a través de un canal de acuaporina. *a*) Instantánea de una simulación dinámica molecular de una corriente de moléculas de agua (esferas rojo y blanco) que pasan en una sola fila por un canal en una de las subunidades de una molécula de acuaporina que residen dentro de la membrana. *b*) Modelo que describe el mecanismo por el cual las moléculas de agua pasan por un canal de acuaporina con la exclusión simultánea de protones. Se muestran nueve moléculas de agua alineadas en una sola fila a lo largo de la pared del canal. Cada molécula de agua se ilustra como un átomo de oxígeno (O) circular rojo con dos hidrógenos (H) unidos a él. En este modelo, las cuatro moléculas de agua de las partes superior e inferior del canal están orientadas, como resultado de su interacción con los grupos carbonilo (C═O) del esqueleto de proteína (pág. 51), con sus átomos de hidrógeno dirigidos en sentido opuesto al centro del canal. Estas moléculas de agua son capaces de formar puentes de hidrógeno (líneas discontinuas) con sus vecinas. En cambio, la molécula de agua individual en el centro del canal está en una posición que le impide formar enlaces de hidrógeno con otras moléculas de agua, lo cual tiene el efecto de interrumpir el flujo de protones por el canal. Puede verse una animación de los canales de acuaporina en www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2003/animations.html. (*A*, Reimpresa de Benoit Roux and Klaus Schulten, Structure 12:1344, 2004, con autorización de Cell Press; *B*, Reimpresa de R. M. Stroud, et al., Curr. Opin. Struct. Biol. 13:428, 2003. Copyright 2003, con autorización de Elsevier Science.)

empezaron a obtener evidencia de la existencia de estos canales. La "prueba" final surgió del trabajo de Bert Sakmann y Erwin Neher del *Instituto Max Planck*, de Alemania a finales del decenio de 1970 y en el de 1980 desarrollaron técnicas para vigilar la corriente iónica que pasa por un solo canal iónico. Lo lograron con micropipetas muy finas con electrodos hechas de vidrio pulido que se colocan en la superficie externa de la célula y sellan la membrana por succión. Así puede mantenerse el voltaje a través de la membrana (*fijarse*) en cualquier valor particular y se puede medir la corriente que se origina en el pequeño parche de



(*a*)



(*b*)

FIGURA 4-37 Medición de la conductancia de un canal iónico mediante registro con pinza de parche. *a*) En esta técnica, una micropipeta de vidrio bien pulida se coloca contra una porción de la superficie externa de la célula y se aplica aspiración para sellar el borde de la pipeta contra la membrana plasmática. Dado que la pipeta está equipada con un electrodo (un *microelectrodo*), puede suministrarse un voltaje a través del parche de membrana encerrado por la pipeta y es posible medir la respuesta del flujo de iones a través de los canales de la membrana. Como se indica en la figura, la micropipeta puede rodear un parche de membrana que contenga un solo canal iónico, lo que permite a los investigadores vigilar la abertura y cierre de un solo canal con compuerta, además de medir su conductancia con la aplicación de diferentes voltajes. *b*) La micrografía evidencia los registros con pinza de parche que se tomaron de una sola célula fotorreceptora de la retina de una salamandra. Una porción de la célula entra a la micropipeta de vidrio por la aspiración, mientras una segunda micropipeta con electrodo (abajo a la derecha) se sella contra un pequeño parche de membrana plasmática en otra parte de la célula. (*B*, tomada de T. D. Lamb, H. R. Matthews y V. Torre, J Physiol 372:319, 1986; reproducida con autorización.)

membrana rodeado por la pipeta (fig. 4-37). Estos estudios fundamentales marcaron las primeras investigaciones exitosas de las actividades de las moléculas individuales de proteína. Ahora, los biólogos ya identificaron una variedad asombrosa de canales iónicos, cada uno formado por proteínas integrales de membrana que rodean un poro acuoso central. Como podría haberse predicho, las mutaciones en los genes que codifican canales iónicos tienen la capacidad de causar muchas enfermedades graves (véase el cuadro 1 de la sección Perspectiva humana, pág. 160).

Casi todos los canales iónicos son muy selectivos y sólo permiten el paso de un tipo particular de iones por el poro. Como sucede con la difusión pasiva de otros tipos de solutos a través de las membranas, la difusión de iones a través de un canal siempre es "colina abajo", es decir, de un estado de mayor energía a un estado de menor. La mayoría de los canales iónicos que se han identificado puede encontrarse en su conformación abierta o cerrada; se dice que estos canales son controlados por una especie de compuerta (o simplemente **controlados**). La abertura y cierre de puertas están sujetos a la regulación fisiológica compleja y pueden inducirse con diversos factores, según sea el canal particular. Las dos categorías principales de los canales con puerta son las siguientes:

1. **Canales abiertos por voltaje**, cuya conformación depende de la diferencia de la carga iónica a los dos lados de la membrana.
2. **Canales abiertos por ligando**, cuya conformación depende de la unión con una molécula específica (el ligando), que casi nunca es el soluto que pasa por el canal. Algunos canales abiertos por ligando se abren (o cierran) después de la unión de una molécula con la superficie externa del canal; otros se abren (o cierran) después de la unión de un ligando con la superficie interna del canal. Por ejemplo, los neurotransmisores como la acetilcolina actúan en la superficie externa de ciertos canales catiónicos, mientras que ciertos nucleótidos, como el cAMP, actúan sobre la superficie interna de ciertos canales iónicos para calcio.
3. **Canales controlados mecánicamente**, cuyo estado conformacional depende de fuerzas mecánicas (p. ej., tensión por estiramiento) que se aplican a la membrana. Por ejemplo, los miembros de una familia de canales catiónicos son abiertos por los movimientos de estereocilios (véase fig. 9-54) en las células pilosas del oído interno en respuesta a sonido o movimientos de la cabeza.

La descripción siguiente se enfoca en la estructura y función de los canales iónicos de potasio porque son los que mejor se conocen.

En 1998, Roderick MacKinnon y colaboradores de la *Rockefeller University* obtuvieron la primera imagen de resolución atómica de una proteína de canal iónico, en este caso un canal iónico bacteriano para el potasio llamado KcsA. La relación entre estructura y función es evidente en todos los confines del mundo biológico, pero resulta difícil encontrar un mejor ejemplo que el del canal iónico de K^+ que se ilustra en la figura 4-38. Como se verá pronto, la formulación de esta estructura condujo directamente a un entendimiento del mecanismo por el cual estas notables máquinas moleculares son capaces de seleccionar de manera abrumadora iones K^+ sobre iones Na^+, y al mismo tiempo permitir una conductancia increíblemente gran-

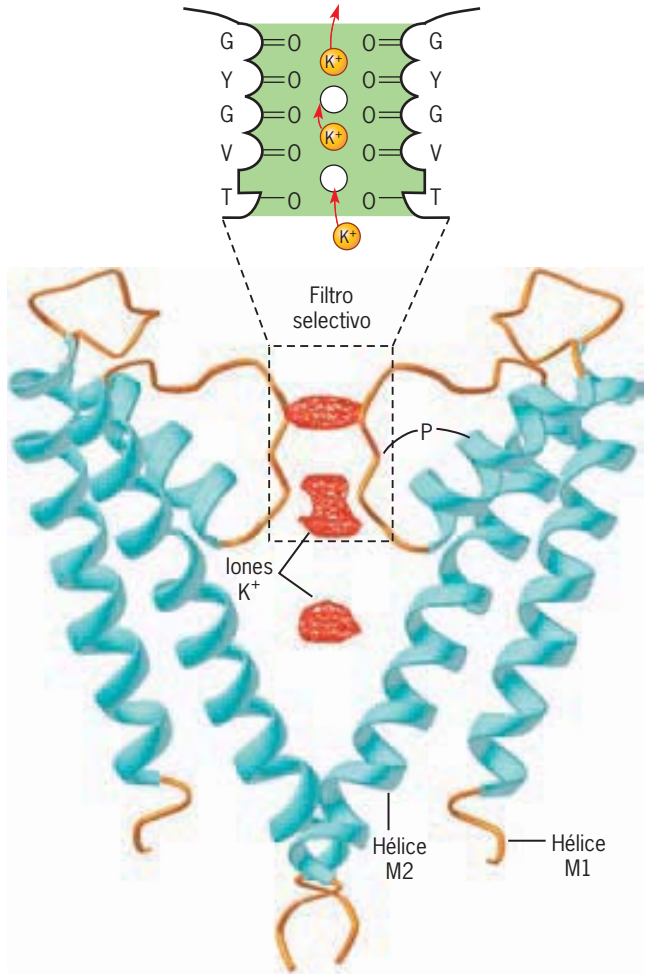


FIGURA 4-38 Estructura tridimensional del canal bacteriano KcsA y la selección de iones K^+. Este canal iónico para el K^+ posee cuatro subunidades, dos de las cuales se muestran aquí. Cada subunidad se compone de hélices M1 y M2 unidas por un segmento P (poro) que consiste en una hélice corta y una porción no helicoidal que recubre el canal a través del cual pasan los iones. Una porción de cada segmento P contiene un pentapéptido conservado (GYGVT), cuyos residuos recubren el filtro de selectividad que elige los iones K^+. Los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo de estos residuos se proyectan en el canal, donde pueden interactuar en forma selectiva con los iones K^+ (indicados por las mallas rojas) dentro del filtro. Como se indica en el inserto superior, el filtro de selectividad contiene cuatro anillos de átomos O carbonilo y un anillo de átomos O treonilo; cada uno de estos cinco anillos posee cuatro átomos O, uno donado por cada subunidad. El diámetro de los anillos es apenas lo bastante grande para que los ocho átomos O puedan coordinar un solo ion K^+ y repongan su agua normal de hidratación. Aunque se muestran cuatro sitios de unión para K^+, sólo dos se ocupan cada vez. (Tomada de Roderick MacKinnon, reimpresa con autorización de Nature Med 5:1108, 1999; © 1999, Macmillan Magazines Limited.)

de de iones K^+ a través de la membrana. También se observará que los mecanismos de selectividad y conductancia iónica en este canal bacteriano son virtualmente idénticos a los que operan en los canales de mamífero, mucho más grandes. Resulta evidente que los desafíos básicos en la operación de un canal iónico se resolvieron relativamente temprano en la evolución,

aunque muchas depuraciones aparecieron en los mil o dos mil millones de años siguientes.

El canal KcsA consiste en cuatro subunidades, dos de las cuales se muestran en la figura 4-38. Se puede ver que cada subunidad de la figura contiene dos hélices que cruzan la membrana (M1 y M2) y una región poro (P) en el extremo extracelular del canal. P incluye una hélice poro corta que abarca cerca de un tercio del grosor del canal y un asa no helicoidal (en café claro en la figura 4-38) que forma el recubrimiento de un *filtro de selectividad* estrecho, llamado así por su papel para permitir sólo el paso de iones K^+.

El recubrimiento del filtro de selectividad contiene un pentapéptido bien conservado: Gli-Tir-Gli-Val-Tre (o GYGVT en la nomenclatura de una sola letra). La estructura cristalográfica con rayos X del canal KcsA muestra que la columna vertebral de grupos carbonilo (C═O) del pentapéptido conservado (véase la estructura de la columna en la página 51) forma el recubrimiento del filtro de selectividad. Los residuos conservados del filtro de selectividad crean cinco anillos sucesivos de átomos de oxígeno (cuatro anillos están formados por oxígenos carbonilo de la columna de polipéptido y un anillo consiste en átomos de oxígeno de la cadena lateral de la treonina). Cada anillo contiene cuatro átomos de oxígeno (uno de cada subunidad) y tiene un diámetro aproximado de 3 Å un poco mayor que el diámetro de 2.7 Å del ion K^+ que perdió su cubierta normal de hidratación. Por consiguiente, los átomos de O electronegativos que recubren el filtro de selectividad pueden sustituir la cubierta de moléculas de agua que se desplazan conforme cada ion K^+ entra al poro. En este modelo, el filtro de selectividad contiene cuatro sitios potenciales para unión con iones K^+. Como se indica en la entrada superior de la figura 4-38, un ion K^+ unido en cualquiera de estos cuatro sitios ocuparía el centro de una "caja" que tiene cuatro átomos de O en un plano sobre el ion y cuatro átomos de O en un plano por debajo del átomo. Como resultado, cada ion K^+ en uno de estos sitios se coordinaría con ocho átomos de O del filtro de selectividad. Aunque el filtro de selectividad tiene un ajuste preciso para un ion K^+ deshidratado, es mucho más grande que el diámetro del ion Na^+ deshidratado (1.9 Å). Por consiguiente, un ion Na^+ no puede interactuar en forma óptima con los ocho átomos de oxígeno necesarios para estabilizarlo en el poro. Como resultado, los iones Na^+ más pequeños no pueden vencer la barrera de mayor energía necesaria para penetrar el poro.

Aunque hay cuatro sitios potenciales para unión con el ion K^+, sólo dos se ocupan en un momento determinado. Se cree que los iones de potasio se mueven, dos a la vez, de los sitios 1 y 3 a los sitios 2 y 4, como se indica en la entrada superior de la figura 4-38. La entrada de un tercer ion K^+ en el filtro de selectividad crea una repulsión electrostática que expulsa el ion unido en el extremo contrario de la línea. Algunos estudios indican que no existe ninguna barrera energética para que un ion se mueva de un sitio de unión al siguiente, lo cual explica el flujo tan rápido de iones a través de la membrana. Cuando se consideran en conjunto, estas conclusiones acerca de la selectividad del ion K^+ y la conductancia proporcionan un ejemplo magnífico de lo mucho que se puede aprender sobre la función biológica mediante la comprensión de la estructura molecular.

El canal KcsA mostrado en la figura 4-38 tiene una puerta, tal como los canales eucariotas. En la figura 4-20 se ilustra la abertura de la puerta del canal KcsA como respuesta a un pH muy bajo. La estructura de KcsA que se muestra en la figura 4-38 que en realidad es la conformación cerrada de la proteína (a pesar del hecho de que muestra la presencia de iones en su canal). Aún no es posible cristalizar el canal KcsA en su conformación abierta, pero se pudo cristalizar un canal del K^+ homólogo de las células procariotas (llamado MthK) en la conformación abierta y se identificó su estructura. La comparación de la estructura abierta de MthK y la estructura cerrada de la proteína homóloga KcsA sugiere que la abertura de estas moléculas se logra mediante cambios en la conformación de los extremos citoplásmicos de las hélices internas (M2). Como se ve en la figura 4-38 y en la parte izquierda de la figura 4-39, en la conformación cerrada las hélices M2 son rectas y están cruzadas unas sobre otras para formar un "haz de hélices" que sella la cara citoplásmica del poro. En el modelo de la figura 4-39, el canal se abre cuando las hélices M2 se flexionan en el punto de bisagra específico en el que se localiza el residuo de glicina.

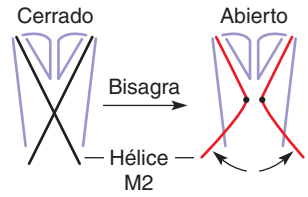


FIGURA 4-39 Ilustración esquemática del modelo de flexión por bisagra de la abertura del canal bacteriano KcsA. Las hélices M2 de cada subunidad se flexionan hacia fuera en un residuo de glicina específico, el cual abre el extremo intracelular del canal a los iones K^+. (Tomada de B. L. Kelly y A. Gross, reimpresa con autorización de Nature Struct Biol 10:280, 2003. © 2003, Macmillan Magazines Limited.)

Ahora que se vio cómo operan estos canales procariotas para el K^+, es más fácil comprender la estructura y función de las versiones eucariotas más complejas, que se cree son similares. Ya se aislaron los genes que codifican distintos canales para el K^+ activados por voltaje (o Kv) y se estudió la anatomía molecular de sus proteínas. Los canales Kv de las plantas tienen un cometido importante en el balance de sal y agua y en la regulación del volumen celular. Los canales Kv de los animales son mejor conocidos por su cometido en el funcionamiento de músculos y nervios, que se explora al final del capítulo. Los canales Kv de los eucariotas contienen seis hélices relacionadas con la membrana, llamadas S1-S6, que se muestran en dos dimensiones en la figura 4-40. Estas seis hélices pueden agruparse en dos dominios funcionalmente distintos:

1. Un ***dominio de poro*** que posee la misma configuración básica que la del canal bacteriano completo ilustrado en la figura 4-38 y contiene el filtro de selectividad que promueve el paso de los iones K^+. Las hélices M1 y M2 y el segmento P del canal KcsA de la figura 4-38 son homólogos de las hélices S5 y S6 y el segmento P de los canales eucariotas abiertos por voltaje ilustrados en la figura 4-40. Al igual que las hélices M2 de KcsA, las hélices S6 recubren gran parte del poro y su configuración determina si la puerta del canal está abierta o cerrada.

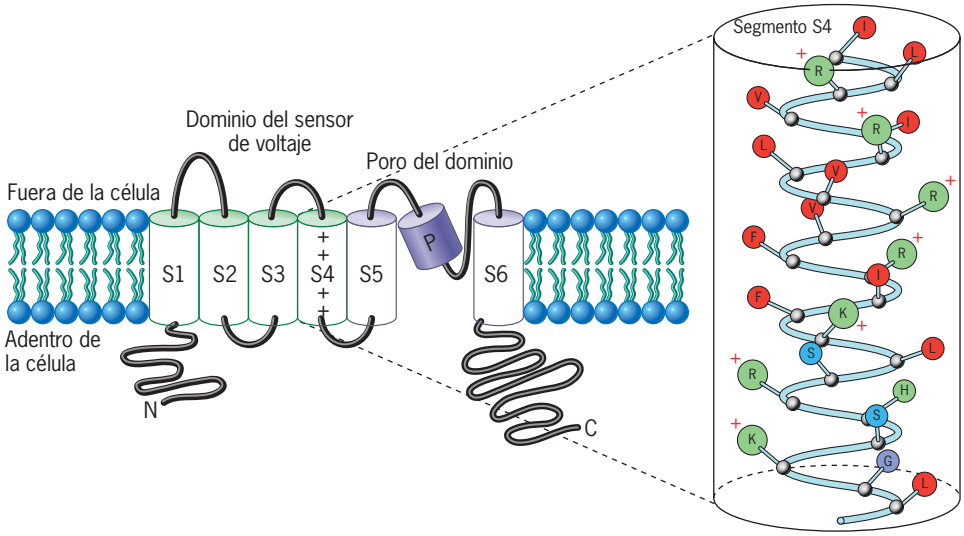


FIGURA 4-40 Estructura del canal de K^+ activado por voltaje de células eucariotas. Imagen bidimensional de una subunidad del canal de K^+ que muestra sus seis hélices relacionadas con la membrana y una porción del polipéptido (llamado hélice del poro o P) que entra a la proteína para formar parte de la pared del canal. El detalle ilustra la secuencia de aminoácidos de la hélice S4 del canal iónico K^+ *sacudidor* de *Drosophila* sp., que contiene siete cadenas laterales con carga positiva que sirven al parecer como sensor de voltaje. Las cadenas laterales con carga positiva se sitúan en cada tercer residuo a lo largo de la hélice, por lo demás hidrófoba. Este miembro de la familia Kv se llama canal *sacudidor* porque las moscas con ciertas mutaciones en la proteína se sacuden con vigor cuando se anestesian con éter. El canal *sacudidor* fue el primer canal del K^+ identificado y clonado en 1987.

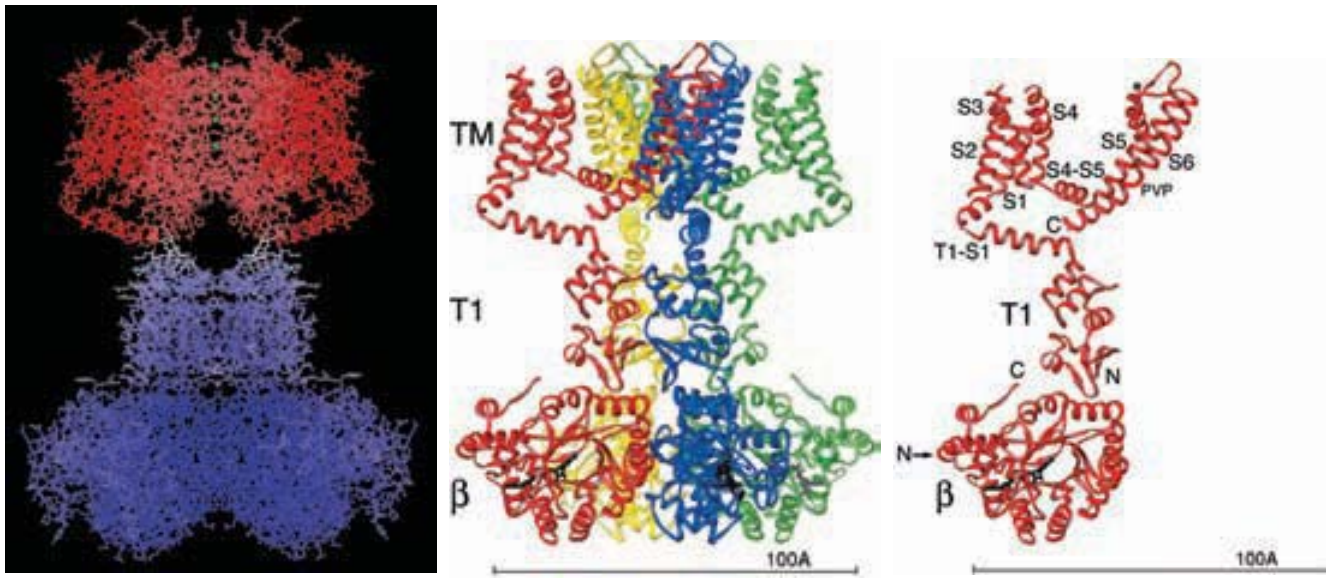
2. Un ***dominio sensor de voltaje*** que consiste en las hélices S1-S4 que perciben el voltaje a través de la membrana plasmática (como se describe más adelante).

En la figura 4-41 se presenta la estructura cristalina tridimensional de un canal Kv eucariota completo purificado de cerebro de rata. La determinación de esta estructura fue hecha posible por el uso de una mezcla de detergente y lípido durante todo el proceso de purificación y cristalización. Como el canal KcsA, un solo canal Kv eucariota consta de cuatro subunidades homólogas dispuestas en forma simétrica alrededor del poro central que conduce iones. El filtro de selectividad, y por tanto el mecanismo supuesto de selección de iones K^+, es virtualmente idéntico en las proteínas KcsA procariotas y las Kv eucariotas. La compuerta que conduce a un canal Kv está formada por los extremos internos de las hélices S6 y se cree que se abre y cierra de modo similar a como ocurre en el caso de las hélices M2 del canal bacteriano (que se muestra en la figura 4-39). La proteína ilustrada en la figura 4-41 representa el estado abierto del canal.

La hélice S4, que contiene varios aminoácidos con carga positiva espaciados a lo largo de la cadena polipeptídica (detalle de la figura 4-40), actúa como el elemento clave del sensor de voltaje. En el modelo de la figura 4-41 se observa que el dominio sensor de voltaje está conectado al dominio del poro mediante una hélice de unión corta denotada como S4-S5. En condiciones de reposo, el potencial negativo a través de la membrana (pág. 164) mantiene la compuerta cerrada. Un cambio del potencial a un valor más positivo (una despolarización, pág. 165) ejerce una fuerza eléctrica sobre la hélice S4. Se cree que esta fuerza hace que la hélice S4 transmembranosa se mueva de tal manera que sus residuos con carga positiva cambian de una posición en la que están expuestos al citoplasma a una nueva posición en la que están expuestos al exterior de la célula. La percepción del voltaje es un proceso dinámico cuyo mecanismo no puede dilucidarse mediante una concepción estática de la proteína como la que se muestra en la figura 4-41. De hecho, en la actualidad se debaten varios modelos antagónicos que describen el mecanismo de acción del sensor de voltaje. Cualquier cosa que ocurra, el movimiento de la hélice S4 en respuesta a la despolarización de la membrana inicia una serie de cambios conformacionales dentro de la proteína que abre la compuerta en el extremo citoplásmico del canal.

Una vez abierto el canal, más de diez millones de iones potasio pueden pasar por él cada segundo, que es casi la velocidad que se produciría mediante difusión libre en solución. Debido al gran influjo de iones, la abertura de una cantidad relativamente pequeña de canales de K^+ tiene un impacto significativo en las propiedades eléctricas de la membrana. Después de que el canal se abre por unos cuantos milisegundos, el movimiento de iones K^+ cesa "de modo automático" por un proceso conocido como desactivación. Para comprender la desactivación del canal hay que considerar una porción adicional de un canal Kv aparte de los dos dominios transmembranosos descritos antes.

Los canales Kv de los eucariotas típicamente contienen una gran estructura citoplásmica cuya composición varía entre los diferentes canales. Como se indica en la figura 4-42*a*, la desactivación del canal se logra mediante el movimiento de un pequeño péptido de desactivación que pende de la porción citoplásmica de la proteína. Se cree que el péptido de desactivación llega a la boca citoplásmica del poro serpenteando a través de una de cuatro "ventanas laterales" indicadas en la figura. Cuando uno



(*a*) (*b*) (*c*)

FIGURA 4-41 Estructura tridimensional de un canal de K^+ activado por voltaje de mamífero. *a*) Estructura cristalina del canal Kv1.2 tetramérico completo, miembro de la familia Kv (*sacudidor*) de canales iónicos de K^+ presentes en las células nerviosas del encéfalo. La porción transmembranosa se muestra en rojo, y la porción citoplásmica en azul. Los sitios de unión para iones potasio se indican en verde. *b*) Modelo de listón del mismo canal mostrado en *a* con las cuatro subunidades que constituyen el canal en diferentes colores. Si el lector se concentra en la subunidad roja, podrá ver: 1) la separación espacial entre los dominios de detección de voltaje y los dominios de poro de la subunidad y 2) el modo en que los dominios de detección de voltaje de cada unidad están dispuestos sobre el borde externo del dominio de poro de una subunidad vecina. La porción citoplásmica de este canal específico consta de un dominio T1, que es parte del polipéptido mismo del canal, y un polipéptido β separado. *c*) Modelo de listón de una subunidad individual que muestra la orientación espacial de las seis hélices transmembranosas y también la presencia de la hélice de unión S4-S5, que conecta los dominios sensores de voltaje y de poro. Este enlazador transmite la señal del sensor de voltaje S4 que abre el canal. La superficie interna del canal bajo el dominio de poro está recubierta por la hélice S6 (un tanto parecida a la hélice M2 del canal bacteriano que se muestra en la figura 4-38). El canal mostrado aquí se encuentra en la configuración abierta con las hélices S6 curvadas hacia fuera (compare con la figura 4-39) en el sitio marcado PVP (por Pro-Val-Pro, que probablemente es la secuencia de aminoácidos de la "bisagra"). (Reimpresa con permiso de Stephen B. Long, et al., Science 309:867, 899, 2005, cortesía de Roderick MacKinnon; copyright 2005, American Association for the Advancement of Science.)

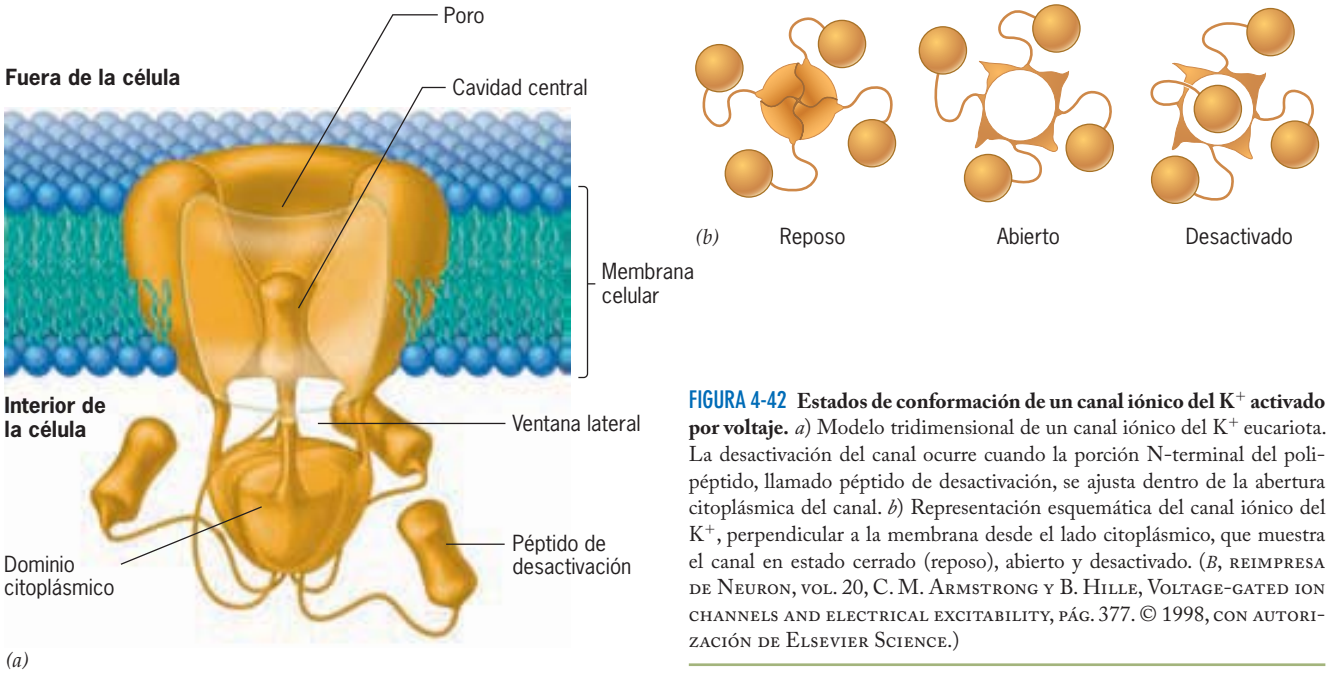


FIGURA 4-42 Estados de conformación de un canal iónico del K^+ activado por voltaje. *a*) Modelo tridimensional de un canal iónico del K^+ eucariota. La desactivación del canal ocurre cuando la porción N-terminal del polipéptido, llamado péptido de desactivación, se ajusta dentro de la abertura citoplásmica del canal. *b*) Representación esquemática del canal iónico del K^+, perpendicular a la membrana desde el lado citoplásmico, que muestra el canal en estado cerrado (reposo), abierto y desactivado. (*B*, reimpresa de Neuron, vol. 20, C. M. Armstrong y B. Hille, Voltage-gated ion channels and electrical excitability, pág. 377. © 1998, con autorización de Elsevier Science.)

de estos péptidos colgantes de desactivación se mueve hacia la boca del poro (fig. 4-42*a*), se bloquea el paso de iones y se desactiva el canal. En una etapa posterior del ciclo se libera el péptido de desactivación y la compuerta del canal se cierra. A partir de esta descripción se deduce que el canal del potasio puede encontrarse en tres estados diferentes: abierto, desactivado y cerrado, que se ilustran en la figura 4-42*b*.

Existen diferentes variedades de canales para el potasio. Resulta notable que *C. elegans*, un nematodo cuyo cuerpo consiste sólo en unas 1 000 células, contenga más de 90 genes diferentes que codifican canales de potasio. Resulta evidente la probabilidad de que una sola célula, ya sea de un nematodo, un ser humano o una planta, contenga diversos canales del K^+ diferentes que se abren y cierran como respuesta a distintos voltajes. Además, el voltaje necesario para abrir o cerrar un canal de K^+ particular varía según que la proteína del canal esté fosforilada, lo que a su vez está regulado por hormonas y otros factores. Es evidente que la función del canal iónico está bajo el control de un conjunto diverso y complejo de agentes reguladores. La estructura y la función de un tipo muy diferente de canal iónico, el receptor nicotínico para acetilcolina activado por ligando, es el tema de la sección Vías experimentales al final de este capítulo.

Difusión facilitada

Las sustancias siempre se difunden a través de una membrana de una región de mayor concentración en un lado a una región de menor concentración del lado contrario, pero no siempre se difunden a través de la bicapa lipídica o por un canal. En muchos casos, la sustancia que se difunde se une primero en forma selectiva con una proteína que cruza la membrana llamada **transportador facilitador**, el cual promueve el proceso de difusión. Se piensa que la unión del soluto con el transportador facilitador en un lado de la membrana desencadena un cambio en la conformación de la proteína, lo que expone al soluto a la otra superficie de la membrana, a partir de donde se puede difundir en favor del gradiente de concentración. La figura 4-43 ilustra un ejemplo de este mecanismo. Como operan en forma pasiva, es decir, sin unirse con un sistema que libere energía, los transportadores facilitadores pueden mediar el movimiento de solutos en ambos sentidos con la misma facilidad. La dirección del flujo neto depende de la concentración relativa de la sustancia en ambos lados de la membrana.

La **difusión facilitada**, como se conoce a este proceso, tiene muchas similitudes con una reacción catalizada por una enzima. Al igual que las enzimas, los transportadores facilitadores son específicos para las moléculas que transportan, por ejemplo, discriminan entre los estereoisómeros D y L (pág. 43). Además, tanto las enzimas como los transportadores tienen cinética de tipo saturación (fig. 4-44). A diferencia de los canales iónicos que pueden conducir millones de iones por segundo, la mayoría de los transportadores facilitadores sólo puede mover de cientos a miles de moléculas de soluto por segundo a través de la membrana. Otro rasgo importante de los transportadores facilitadores es que, al igual que las enzimas y los canales iónicos, su actividad puede regularse. La difusión facilitada es muy importante para mediar la entrada y salida de los solutos polares, como los azúcares y aminoácidos, que no penetran la bicapa de lípidos. Esto se ilustra en la sección siguiente.

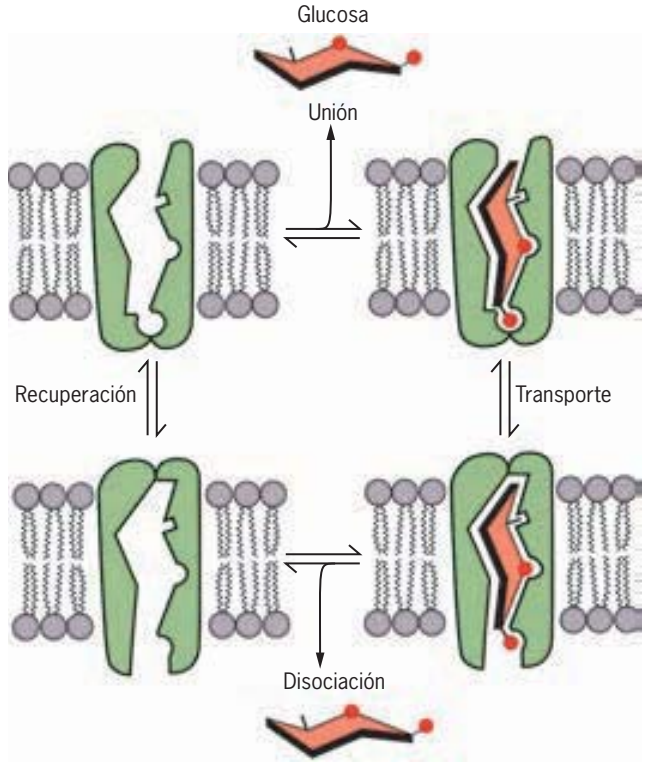


FIGURA 4-43 Difusión facilitada. Modelo esquemático para la difusión facilitada de la glucosa que muestra la conformación alternada de un portador que expone el sitio de unión con glucosa en el interior o exterior de la membrana. (Tomada de S. A. Baldwin y G. E. Lienhard, Trends Biochem Sci 6:210, 1981.)

El transportador de la glucosa: un ejemplo de difusión facilitada La glucosa es la principal fuente corporal de energía directa y la mayoría de las células de los mamíferos contiene una proteína de membrana que facilita la difusión de la

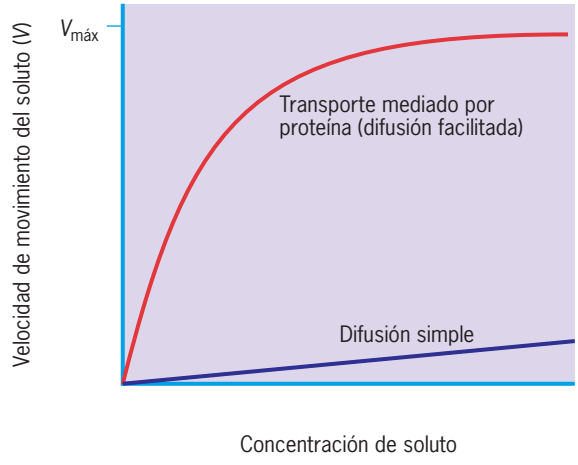


FIGURA 4-44 La cinética de la difusión facilitada comparada con la de la difusión física simple.

glucosa de la sangre a la célula (como se muestra en la figura 4-43). El gradiente que favorece la difusión continua de glucosa hacia la célula se mantiene mediante la fosforilación del azúcar después que entra al citoplasma, lo que disminuye la concentración intracelular de glucosa. Los seres humanos tienen por lo menos cinco proteínas relacionadas (isoformas) que actúan como transportadores facilitadores de glucosa. Estas isoformas, llamadas GLUT1 a GLUT5, se distinguen por los tejidos en los que se localizan, así como por su cinética y características de regulación.

La insulina es una hormona producida por las células endocrinas del páncreas que tiene un papel clave en el mantenimiento de los niveles adecuados de azúcar en la sangre. El aumento de la concentración de glucosa en sangre induce la secreción de insulina, la cual estimula la captación de glucosa en varias células blanco, sobre todo en las células de músculo esquelético y las adiposas (adipocitos). Las células que responden a la insulina comparten una isoforma común del transportador facilitador de glucosa, la GLUT4. Cuando los niveles de insulina son bajos, estas células presentan relativamente pocos transportadores de glucosa en la superficie. En su lugar, los transportadores se encuentran dentro de las membranas de las vesículas citoplásmicas. El incremento de las concentraciones de insulina actúa en las células blanco estimulando la fusión de las vesículas citoplásmicas a la membrana plasmática, lo cual proporciona los transportadores necesarios para llevar glucosa al interior de la célula (véase fig. 15-24).

Transporte activo

La vida no puede existir en condiciones de equilibrio (pág. 93). En ningún sitio esto es más evidente como en el desequilibrio de iones a ambos lados de la membrana plasmática. La concentración típica de K^+ dentro de una célula de mamífero es cercana a 100 mM, mientras que fuera de la célula es sólo de 5 mM. Por consiguiente, existe un intenso gradiente de concentración de K^+ a través de la membrana plasmática que favorece la difusión de K^+ hacia fuera de la célula. Los iones de sodio también se distribuyen de manera muy desigual a ambos lados de la membrana plasmática, pero el gradiente es opuesto, la concentración de Na^+ es cercana a 150 mM fuera de la célula y de 10 mM dentro de ésta. La diferencia de concentración para el calcio es aún mayor; la concentración citosólica típica de 10^{-7} M es 10 000 veces menor que la concentración extracelular. La capacidad de una célula para generar estos gradientes de concentración tan grandes a ambos lados de su membrana plasmática no puede ocurrir por difusión simple o difusión facilitada. Estos gradientes deben generarse mediante **transporte activo**.

Al igual que la difusión facilitada, el transporte activo depende de las proteínas integrales de la membrana que se unen en forma selectiva con un soluto particular y lo mueven a través de la membrana en un proceso impulsado por los cambios en la conformación de la proteína. Sin embargo, a diferencia de la difusión facilitada, el movimiento de un soluto contra un gradiente requiere el ingreso de energía. En consecuencia, el movimiento endergónico de iones u otros solutos a través de la membrana contra un gradiente de concentración se une con un proceso exergónico, como la hidrólisis del ATP, la absorbancia de luz, el transporte de electrones o el flujo de otras sustancias a favor de sus gradientes. Las proteínas que realizan el transporte activo a menudo se conocen como "bombas".

Unión del transporte activo con la hidrólisis de ATP En 1957, el fisiólogo danés Jens Skou descubrió la enzima que hidroliza el ATP en las células nerviosas de un cangrejo que sólo se activaba en presencia de iones Na^+ y K^+ juntos. Skou propuso, y tenía razón, que esta enzima que produce la hidrólisis del ATP era la misma proteína que realizaba el transporte de ambos iones; la enzima se llamó ATP-asa de Na^+/K^+, o *bomba de sodio-potasio*.

A diferencia del movimiento mediado por proteína de un sistema de difusión facilitada que transporta la sustancia por igual en cualquiera de las dos direcciones, el transporte activo impulsa el movimiento de iones sólo en una dirección. La ATP-asa de Na^+/K^+ es la que produce el gran exceso de iones Na^+ fuera de la célula y el exceso de iones K^+ dentro de ella. Las cargas positivas que tienen estos dos cationes se equilibran con las cargas negativas de varios aniones, de manera que los compartimientos extracelular e intracelular permanecen neutros, desde el punto de vista eléctrico. Los iones cloro tienen mayor concentración fuera de las células, donde equilibran a los iones Na^+ extracelulares. La abundancia de iones K^+ intracelulares se equilibra sobre todo con las cargas negativas excesivas de las proteínas y los ácidos nucleicos.

Muchos estudios mostraron que la proporción entre Na^+/K^+ bombeados por la ATP-asa de Na^+/K^+ no es 1:1, sino 3:2 (véase fig. 4-45). En otras palabras, por cada ATP hidrolizado, se bombean tres iones de sodio hacia el exterior mientras se bombean dos iones de potasio al interior de la célula. A causa de este índice de bombeo, la ATP-asa de Na^+/K^+ es *electrogénica*, lo que significa que contribuye en forma directa a la separación de cargas a través de la membrana. La ATP-asa de Na^+/K^+ es un ejemplo de una bomba iónica de tipo P. La "P" se refiere a la fosforilación, lo que indica que durante el ciclo de bombeo, la hidrólisis del ATP conduce a la transferencia del grupo fosfato liberado a un residuo de ácido aspártico de la proteína de transporte, lo que a su vez induce un cambio en la conformación dentro de la proteína. Los cambios de la conformación son necesarios para modificar la afinidad de la proteína por los dos cationes que transporta. Considérese su actividad. Ésta debe recoger los iones de sodio o potasio de una región de baja concentración, lo cual significa debe tener afinidad relativamente alta por los iones. Luego la proteína debe liberar los iones en el otro lado de la membrana en un ambiente con mucho mayor concentración de cada ion. Para hacerlo, es preciso que disminuya la afinidad de la proteína por ese ion. Por lo tanto, la afinidad por cada ion en los dos lados de la membrana debe ser diferente. Esto se logra con la fosforilación, lo que cambia la forma de la molécula de proteína. El cambio en la forma de la proteína también sirve para exponer los sitios de unión con los iones a los diferentes lados de la membrana, como se explica en el párrafo siguiente.

La figura 4-45 muestra un esquema propuesto del ciclo de bombeo de la ATP-asa de Na^+/K^+. Cuando la proteína se une con tres iones Na^+ en el interior de la célula (paso 1) y se fosforila (paso 2), cambia de la conformación E_1 a la E_2 (paso 3). Al hacerlo, los sitios de unión quedan expuestos al compartimiento extracelular y la proteína pierde su afinidad por los iones

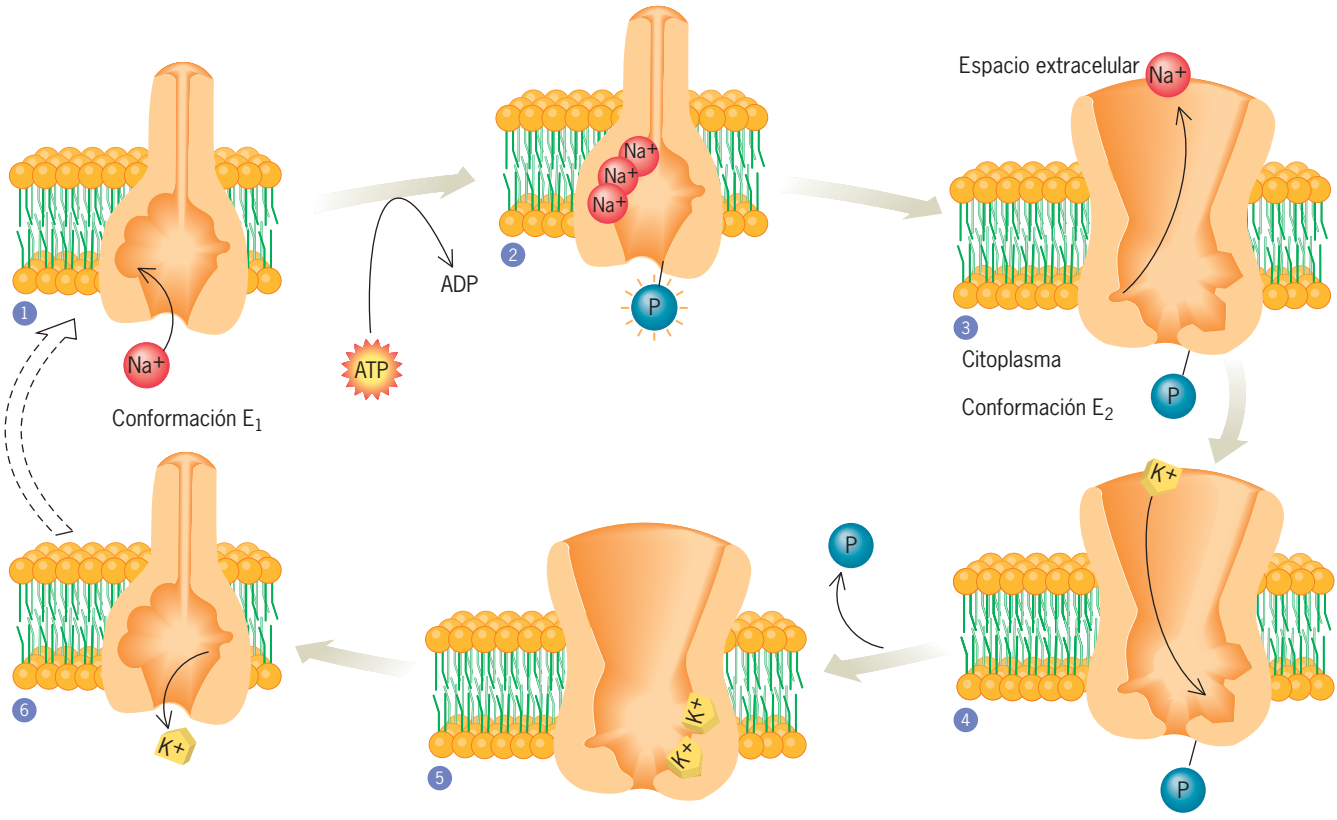


FIGURA 4-45 Modelo esquemático simplificado del ciclo de transporte de la ATP-asa de Na^+/K^+. Los iones de sodio (1) se unen con la proteína en la cara interna de la membrana. El ATP se hidroliza y el fosfato se transfiere a la proteína (2), lo que cambia su conformación (3) y permite que los iones sodio se expulsen hacia el espacio extracelular. Luego, los iones potasio se unen con la proteína (4) y el grupo fosfato se pierde (5), lo cual hace que la proteína regrese a su conformación original y permite que los iones potasio se difundan al interior de la célula (6). Nótese que la ATP-asa de Na^+/K^+ real se compone de dos subunidades diferentes que cruzan la membrana: una subunidad alfa más grande que realiza la actividad transportadora y una subunidad beta más pequeña que participa sobre todo en la maduración y ensamble de la bomba dentro de la membrana. Los sitios de unión de cationes se localizan en el dominio transmembranoso, que consta de diez hélices transmembranosas. (No se incluyeron los pasos en que el ATP se une a la proteína antes de la hidrólisis.) Puede verse una animación del ciclo de bombeo en www.mark-hilge.com/nak/nak-atpase_f.htm

de sodio, los cuales se liberan fuera de la célula. Una vez que se liberan los tres iones de sodio, la proteína recoge dos iones de potasio (paso 4), se desfosforila (paso 5) y regresa a la conformación E_1 original (paso 6). En este estado, el sitio de unión se abre a la superficie interna de la membrana y pierde su afinidad por los iones K^+, lo que permite la liberación de estos iones dentro de la célula. Luego se repite el ciclo.

La importancia de la bomba de sodio-potasio se vuelve evidente cuando se considera que consume alrededor de un tercio de la energía producida por la mayoría de las células animales y dos tercios de la energía producida por las células nerviosas. La digital, un esteroide obtenido de la planta dedalera que se ha utilizado durante 200 años como tratamiento para la insuficiencia cardiaca congestiva, se une con la ATP-asa de Na^+/K^+. La digital fortalece la contracción cardiaca porque inhibe la bomba de Na^+/K^+, lo cual deriva en una cadena de fenómenos que aumentan la disponibilidad de Ca^{2+} dentro de las células musculares del corazón.

Otros sistemas de transporte de iones Los biólogos esperan ansiosamente una estructura de alta resolución de la ATP-asa de Na^+/K^+. Mientras tanto, puede aprenderse mucho sobre las bombas tipo P si se estudia una proteína relacionada, la ATPasa de Ca^{2-}, cuya estructura tridimensional se ha determinado en varias etapas del ciclo de bombeo. La bomba de calcio se encuentra en las membranas del retículo endoplásmico, donde transporta en forma activa los iones de calcio del citosol a la luz de este organelo. El transporte de los iones de calcio por la ATP-asa de Ca^{2+} se acompaña de grandes cambios en la conformación, los cuales se cree que vinculan la hidrólisis del ATP con los cambios en el acceso y afinidad de los sitios de unión con iones.

La bomba de sodio-potasio sólo se encuentra en células animales. Se cree que esta proteína evolucionó en los animales primitivos como el principal mecanismo para mantener el volumen celular y como mecanismo para generar grandes gradientes de Na^+ y K^+ que tienen un papel crucial en el origen

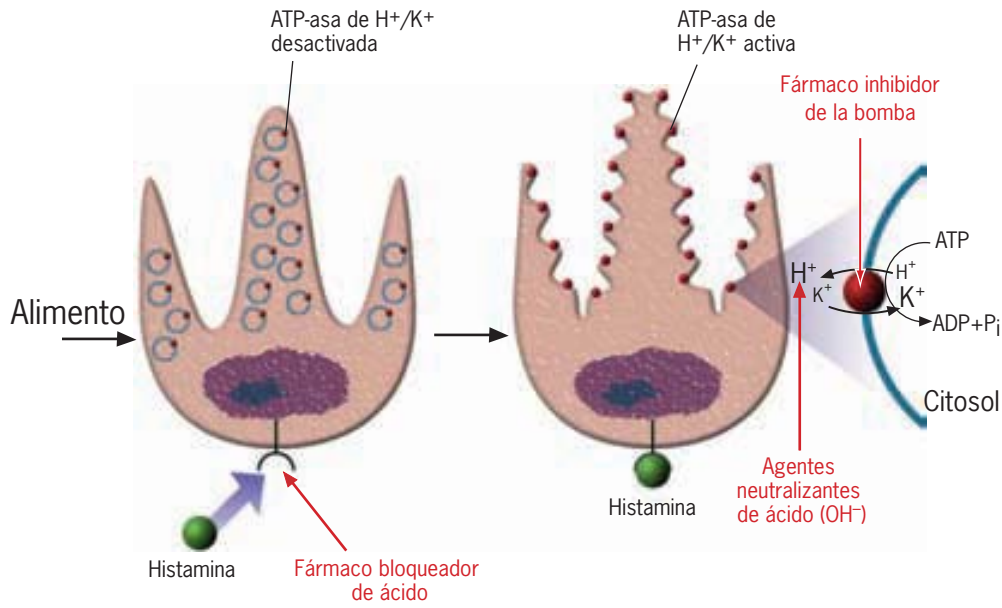


FIGURA 4-46 Control de la secreción de ácido en el estómago. En estado de reposo, las moléculas de ATP-asa de H^+/K^+ están en las paredes de las vesículas citoplásmicas. El alimento que llega al estómago activa una cascada de reacciones estimuladas por hormonas en la pared gástrica que conducen a la liberación de histamina, la cual se une con un receptor en la superficie de las células parietales secretoras de ácido. La unión de la histamina con su receptor estimula una respuesta que deriva en la fusión de las vesículas que contienen la ATP-asa de H^+/K^+ con la membrana plasmática, con lo que se forman pliegues profundos o canalículos. Una vez en la superficie, la proteína de transporte se activa y bombea protones hacia la cavidad gástrica contra un gradiente de concentración (indicado por el tamaño de las letras). El fármaco omeprazol que se utiliza contra la pirosis bloquea la secreción de ácido porque inhibe en forma directa la ATP-asa de H^+/K^+, mientras que varios otros medicamentos antiácidos interfieren con la activación de las células parietales. Los fármacos que neutralizan el ácido proporcionan aniones alcalinos que se combinan con los protones secretados.

de impulsos en las células nerviosas y musculares. Las células vegetales tienen una bomba tipo P que transporta H^+ en la membrana plasmática. En las plantas, esta bomba de protones posee una función clave en el transporte secundario de solutos (descrito más adelante), en el control del pH del citosol y tal vez en el control del crecimiento celular mediante la acidificación de la pared de la célula vegetal.

El recubrimiento epitelial del estómago también contiene una bomba tipo P, la ATP-asa de H^+/K^+, que secreta una solución de ácido concentrado (HCl hasta 0.16 N) hacia la luz gástrica. En estado de reposo, estas moléculas bomba se sitúan en las membranas citoplásmicas de las células parietales del estómago y no son funcionales (fig. 4-46). Cuando el alimento llega al estómago, se transmite un mensaje hormonal a las células parietales que hace que las membranas que contienen las bombas se muevan hacia la superficie apical, donde se fusionan con la membrana plasmática y empiezan a secretar ácido (fig. 4-46). Además de funcionar en la digestión, el ácido gástrico también puede ocasionar pirosis. El omeprazol es un fármaco de uso frecuente que previene la pirosis porque inhibe la ATP-asa de H^+/K^+. Otros medicamentos para la pirosis que bloquean la secreción de ácido (p. ej., antagonistas H_2) no inhiben en forma directa la ATP-asa de H^+/K^+, sino que bloquean un receptor en la superficie de las células parietales, lo que impide que las células se activen con la hormona.

A diferencia de las bombas de tipo P, las de tipo V utilizan la energía del ATP sin formar una proteína fosforilada intermedia. Las bombas tipo V transportan en forma activa iones hidrógeno por las paredes de los organelos citoplásmicos y vacuolas (de ahí su designación, tipo V). Se encuentran en las membranas que recubren los lisosomas gránulos secretores y vacuolas de las células vegetales. Las bombas tipo V también están en las membranas plasmáticas de diversas células. Por ejemplo, una bomba así en las membranas plasmáticas de los túbulos renales ayuda a mantener el equilibrio acidobásico del cuerpo mediante la secreción de protones hacia la orina en formación. Las bombas tipo V tienen una estructura similar a la de la sintasa de ATP que se muestra en la figura 5-23.

Los *transportadores de casete para unión con ATP (ABC)* llamados así porque todos los miembros de esta superfamilia comparten un dominio homólogo para unión con ATP, son otro grupo diverso de proteínas que transporta en forma activa iones. El transportador ABC mejor estudiado se describe en la sección Perspectiva humana.

PERSPECTIVA HUMANA



Defectos en los canales iónicos y transportadores como causa de enfermedad hereditaria

El origen de varias enfermedades hereditarias graves se rastreó hasta mutaciones en los genes que codifican las proteínas de canales iónicos (cuadro 1). La mayoría de los trastornos listados en el cuadro 1 afectan el movimiento de iones a través de las membranas plasmáticas de células excitables (células musculares, nerviosas y sensoriales), lo que reduce la capacidad de estas células para desarrollar o transmitir impulsos (pág. 165). En cambio, la fibrosis quística, el trastorno hereditario de los canales iónicos más frecuente y mejor estudiado, se debe a un defecto en los canales iónicos de las células epiteliales.

En promedio, una de cada 25 personas descendientes de europeos del norte porta una copia del gen mutante que causa fibrosis quística. Como no tienen síntomas del gen mutante, la mayoría de los sujetos heterocigotos no sabe que es portador. Por consiguiente, casi uno de cada 2 500 lactantes de esta población caucásica ($1/25 \times 1/25 \times 1/4$) es recesivo homocigótico para este locus y nace con fibrosis quística (FQ). Aunque la fibrosis quística afecta varios órganos, incluidos el intestino, páncreas, glándulas sudoríparas y aparato reproductor, el sistema respiratorio casi siempre muestra los efectos más graves. Los pacientes con FQ producen moco espeso y pegajoso que es muy difícil de expulsar de las vías respiratorias. Las personas afectadas casi siempre sufren infecciones e inflamación pulmonares crónicas que reducen la función pulmonar en forma progresiva.

El gen causante de la fibrosis quística se aisló en 1989. Una vez que se identificó la secuencia del gen de la FQ y se dedujo la secuencia de aminoácidos del polipéptido correspondiente, resultó aparente que el polipéptido era miembro de la superfamilia de transportadores ABC. La proteína recibió el nombre de *regulador de la conductancia transmembranosa de fibrosis quística* (CFTR), un término ambiguo que reflejaba el hecho de que los investigadores no estaban seguros de su función precisa. La interrogante se resolvió cuando la proteína se purificó, se incorporó en bicapas de lípidos artificiales y se demostró que funcionaba como canal del cloro regulado por AMP cíclico, no como transportador. Sin embargo, estudios realizados después han añadido numerosas complicaciones al cuadro, pues se ha comprobado que el CFTR también: a) conduce iones bicarbonato (HCO_3^-), b) suprime la actividad de un canal iónico epitelial de Na^+ (ENaC) y c) estimula la actividad de una familia de intercambiadores epiteliales de cloruro/bicarbonato. A medida que se ha hecho más compleja la función del CFTR, también se ha hecho más difícil dilucidar cómo es que un defecto en esta proteína ocasiona el desarrollo de infecciones pulmonares crónicas. Si bien existe mucho debate, los investigadores concuerdan con los siguientes enunciados.

1. Como el movimiento del agua hacia fuera de las células epiteliales por ósmosis sigue al movimiento de las sales, las anormalidades en el flujo de Cl^-, HCO_3^-, Na^+ o alguna combinación de ellos a causa de la deficiencia de CFTR podría disminuir el volumen de líquido que baña las células epiteliales de las vías respiratorias. La disminución del volumen del líquido superficial y el aumento consecuente de la viscosidad del moco secretado pueden afectar la función de los cilios que empujan las bacterias fuera de las vías respiratorias.

2. De las bacterias que infectan las vías respiratorias de los pacientes con FQ, *Pseudomonas aeruginosa* es la especie más frecuente y destructiva (fig. 1). Esta bacteria rara vez se encuentra en las vías respiratorias de individuos que sufren otros tipos de enfermedades pulmonares y no se sabe con certeza por qué los pacientes con FQ son tan susceptibles a ella. Los estudios indican que *P. aeruginosa* se une con el extremo extracelular de la proteína CFTR y se conjetura que esta unión puede

Cuadro 1

Trastorno hereditario	Tipo de canal	Gen	Consecuencias clínicas
Migraña hemipléjica familiar (FHM)	Ca^{2+}	*CACNL1A4*	Cefaleas migrañosas
Ataxia episódica tipo 2 (EA-2)	Ca^{2+}	*CACNL1A4*	Ataxia (falta de equilibrio y coordinación)
Parálisis periódica hipopotasiémica	Ca^{2+}	*CACNL1A3*	Miotonía periódica (rigidez muscular) y parálisis
Ataxia episódica tipo 1	K^+	*KCNA1*	Ataxia
Convulsiones neonatales familiares benignas	K^+	*KCNQ2*	Convulsiones epilépticas
Sordera dominante no sindromática	K^+	*KCNQ4*	Sordera
Síndrome de QT largo	K^+	*HERG*	Mareo, muerte súbita por fibrilación ventricular
		KCNQ1, o	
	Na^+	*SCN5A*	
Parálisis periódica hiperpotasiémica	Na^+	*SCN4A*	Miotonía y parálisis periódicas
Síndrome de Liddle	Na^+	B-*ENaC*	Hipertensión (presión sanguínea alta)
Miastenia grave	Na^+	*nAChR*	Debilidad muscular
Enfermedad de Dent	Cl^-	*CLCN5*	Cálculos renales
Miotonía congénita	Cl^-	*CLC-1*	Miotonía periódica
Síndrome de Bartter tipo IV	Cl^-	*CLC-Kb*	Disfunción renal, sordera
Fibrosis quística	Cl^-	*CFTR*	Congestión e infecciones pulmonares
Arritmias cardiacas	Na^+	muchos genes	Latidos cardiacos irregulares o rápidos
	K^+	diferentes	
	Ca^{2+}		

Véase una lista más completa en *Nature Cell Biol* 6:1040, 2004, o en *Nature* 440:444, 2006.

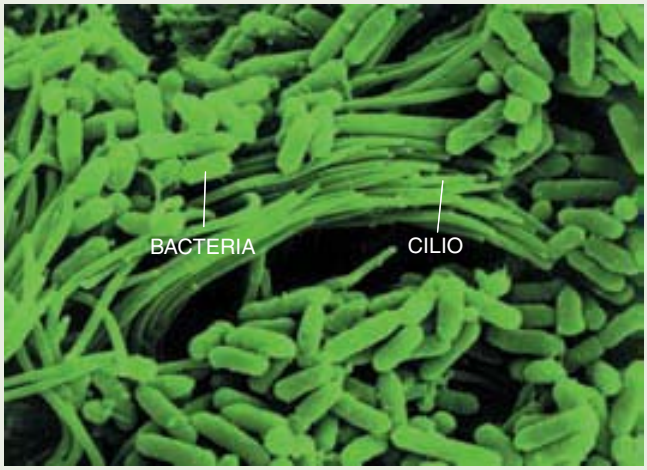


FIGURA 1 **Bacteria en forma de bacilo *P. aeruginosa*** que crece en un cultivo de células epiteliales de las vías respiratorias humanas. (Cortesía de Thomas Moninger, reimpresa con autorización de Nature 406:948, 2000; © 2000, Macmillan Magazines Limited.)

conducir a la ingestión y destrucción de la bacteria por parte de las células epiteliales. Las personas que carecen de la proteína CFTR en la membrana plasmática, como sucede con muchos pacientes con FQ (véase más adelante), tal vez sean incapaces de eliminar la bacteria de las vías respiratorias.

En el último decenio, los investigadores han identificado más de 1 000 mutaciones diferentes que causan fibrosis quística. Sin embargo, alrededor de 70% de los alelos causantes de la fibrosis quística en Estados Unidos contiene la misma alteración genética (designada ΔF508); todas las formas carecen de los tres pares de bases del DNA que codifican una fenilalanina en la posición 508, dentro de uno de los dominios de unión con nucleótidos del polipéptido CFTR. Investigaciones posteriores revelaron que los polipéptidos CFTR que carecen de este aminoácido particular no pueden procesarse en forma normal dentro de las membranas del retículo endoplásmico y, de hecho, nunca llegan a la superficie de las células epiteliales. Como resultado, los pacientes con FQ que son homocigóticos para el alelo ΔF508 tienen una ausencia absoluta del canal CFTR para el cloro en la membrana plasmática y poseen una forma grave de la enfermedad. Cuando las células de estos pacientes se cultivan a menor temperatura, la proteína mutante es transportada a la membrana plasmática, donde funciona bastante bien. Este descubrimiento ha motivado a algunas compañías farmacéuticas a buscar moléculas pequeñas capaces de unirse a estas moléculas CFTR mutantes, para prevenir su destrucción en el citoplasma y permitirles llegar a la superficie celular.

De acuerdo con una estimación, la mutación ΔF508 tuvo que originarse hace más de 50 000 años para alcanzar una frecuencia tan alta en la población. El hecho de que el gen FQ llegara a esta frecuencia sugiere que los sujetos heterocigotos pueden tener cierta ventaja selectiva sobre aquellos que carecen de una copia del gen defectuoso. Se propuso la posibilidad de que los heterocigotos para FQ estén protegidos de los efectos del cólera, una enfermedad que se caracteriza por la secreción excesiva de líquido en la pared del intestino. Una dificultad de esta proposición es que no existen registros de epidemias de cólera en Europa hasta el decenio de 1820. Una explicación alternativa sugiere que los heterocigotos están protegidos contra la fiebre tifoidea porque la bacteria causante de esta enfermedad se adhiere poco a la pared del intestino cuando las moléculas de CFTR son escasas.

Desde el aislamiento del gen causante de la FQ, el desarrollo de una curación mediante terapia genética, es decir, la sustitución del gen defectuoso con una versión normal, ha sido el principal objetivo de los investigadores en este campo. La fibrosis quística es un buen candidato para la terapia genética porque los peores síntomas de la afección se deben a las actividades defectuosas de las células epiteliales que recubren las vías respiratorias, por lo que son accesibles a los agentes que pueden aplicarse mediante inhalación de un aerosol. Se han realizado pruebas clínicas con varios tipos de sistemas de administración. En un grupo de pruebas, el gen *CFTR* normal se incorporó en el DNA de un adenovirus defectuoso, un tipo de virus que en condiciones normales causa infecciones de vías respiratorias superiores. Se permitió que las partículas virales recombinantes infectaran las células de la vía respiratoria, con lo que entregaron el gen normal a las células con la deficiencia genética. La principal desventaja del uso de adenovirus es que el DNA viral (junto con el gen *CFTR*) no se integra en los cromosomas de la célula hospedadora infectada, por lo que el virus debe administrarse con frecuencia. Como resultado, el procedimiento induce a menudo una reacción inmunitaria que elimina al virus y causa inflamación pulmonar. Los investigadores están renuentes a emplear virus que integren sus genomas, por temor a iniciar la formación de cánceres. En otras pruebas, el DNA que codifica el gen *CFTR* normal se unió con liposomas con carga positiva (pág. 128) que pueden fusionarse con las membranas plasmáticas de las células de las vías respiratorias, lo que hace llegar el contenido de DNA al citoplasma. La aplicación basada en lípidos tiene la ventaja sobre los virus de una menor probabilidad de estimulación de respuestas inmunitarias destructivas en el paciente después de tratamientos repetidos; empero, tiene la desventaja de una menor efectividad para lograr modificaciones genéticas de las células blanco. Hasta ahora, ninguna de las pruebas clínicas de terapia génica ha logrado una mejoría significativa de los procesos fisiológicos ni de los síntomas de la anormalidad. Es necesario el desarrollo de sistemas de administración de DNA más efectivos, capaces de inducir una alteración genética en un mayor porcentaje de células de las vías respiratorias, para obtener un tratamiento para la FQ con base en la terapia génica.

Uso de energía lumínica para el transporte activo de iones *Halobacterium salinarium* (antes *H. halobium*) es una arqueobacteria que vive en ambientes extremadamente salados, como el que se encuentra en el Gran Lago Salado. Cuando crecen en condiciones anaeróbicas, las membranas plasmáticas de estos procariotas adquieren color púrpura por la presencia de una proteína particular, bacteriorrodopsina. Como se muestra en la figura 4-47, la *bacteriorrodopsina* contiene retinal, el mismo grupo prostético presente en la rodopsina, la proteína que absorbe la luz en los conos de la retina de los vertebrados. La absorción de energía lumínica por el grupo retinal induce una serie de cambios en la conformación de la proteína que dan lugar al

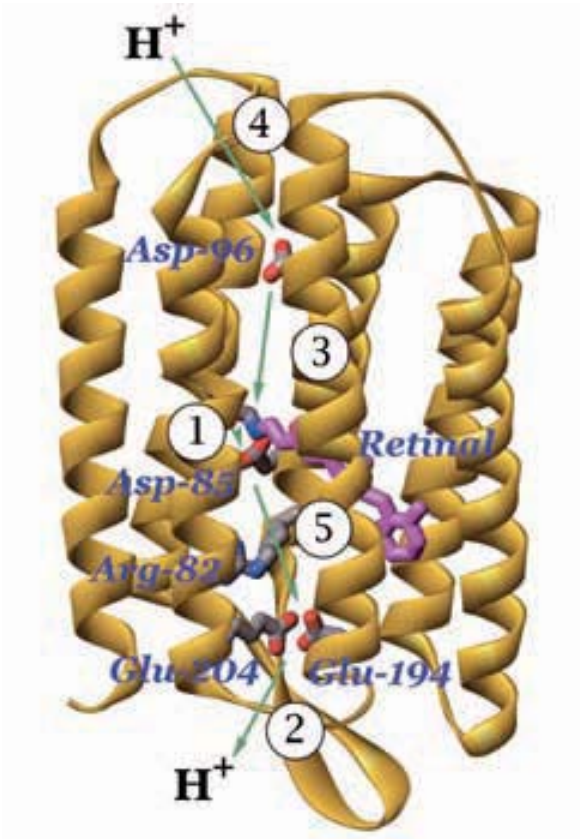


FIGURA 4-47 Bacteriorrodopsina: una bomba de protones impulsada por luz. La proteína contiene siete hélices que cruzan la membrana y un grupo retinal central (mostrado en violeta), que sirve como elemento absorbente de la luz (cromóforo). La absorción de un fotón de luz produce un cambio en la estructura electrónica del retinal, con transferencia de un protón del grupo —NH^+ a un residuo relacionado de ácido aspártico con carga negativa (#85) (paso 1). Después, el protón se libera al lado extracelular de la membrana (paso 2) por un sistema de relevo que consiste en varios residuos de aminoácido (Asp82, Glu204 y Glu194). Los espacios entre estos residuos se llenan con moléculas de agua unidas con hidrógeno que ayudan a lanzar los protones por la vía. El retinal que perdió el protón regresa a su estado original (paso 3) y acepta un protón de un residuo de ácido aspártico no disociado (Asp96) que se localiza cerca del lado citoplásmico de la membrana. En seguida, Asp96 recupera el protón mediante un H^+ del citoplasma (paso 4). Arg85 pierde un protón (paso 5) antes de recibir un protón del retinal en el siguiente ciclo de la bomba. Como resultado de estos fenómenos, los protones se mueven del citoplasma al exterior de la célula a través de un canal central en la proteína. (Tomada de Hartmut Luecke, et al., cortesía de Janos K. Lanyi, Science 286:255, 1999. © 1999, American Association for the Advancement of Science.)

movimiento de un protón del grupo retinal a través de un canal en la proteína hacia el exterior de la célula (fig. 4-47). El protón donado por el retinal excitado por la luz se sustituye por otro protón transferido a la proteína desde el citoplasma. En efecto, este proceso causa la translocación de protones del citoplasma al ambiente exterior, lo que genera un gradiente intenso de H^+ a través de la membrana plasmática. Después, una enzima sintetizadora de ATP utiliza este gradiente para fosforilar el ADP, como se describe en el capítulo siguiente.

Cotransporte: unión del transporte activo con los gradientes iónicos existentes El establecimiento de gradientes de concentración, como los del Na^+, K^+ e H^+, proporciona un medio para almacenar energía libre en la célula. La célula utiliza la energía potencial almacenada en los gradientes iónicos de varias maneras para realizar trabajo, incluido el transporte de otros solutos. Considérese la actividad fisiológica del intestino. En la luz, las enzimas hidrolizan polisacáridos de alto peso molecular hasta azúcares simples, que luego absorben las células epiteliales que recubren el intestino. El movimiento de glucosa a través de la membrana plasmática apical de las células epiteliales contra un gradiente de concentración ocurre por **cotransporte** con los iones de sodio, como se ilustra en la figura 4-48. La concentración de Na^+ se mantiene en niveles muy bajos dentro de las células por efecto del sistema de transporte activo *primario* (la ATP-asa de Na^+/K^+), localizado en la membrana plasmática basal y lateral, que bombea iones sodio fuera de las células contra un gradiente de concentración. La tendencia de los iones

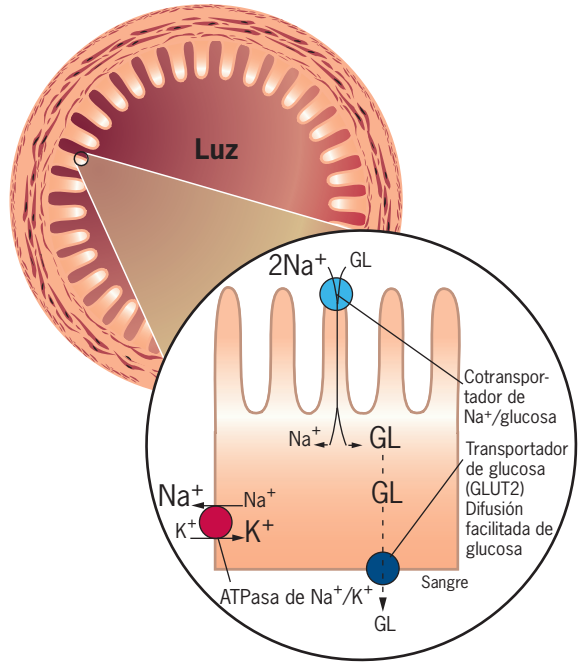


FIGURA 4-48 Transporte secundario: uso de la energía almacenada en un gradiente iónico. La ATP-asa de Na^+/K^+ que reside en la membrana plasmática de la superficie lateral mantiene una concentración citosólica muy baja de sodio. El gradiente de Na^+ a través de la membrana plasmática representa un almacén de energía que puede dirigirse para realizar trabajo, como el transporte de glucosa mediante un cotransportador de Na^+/glucosa que se localiza en la membrana plasmática apical. Una vez que se transporta a través de la superficie apical hacia el interior de la célula, las moléculas de glucosa se difunden a la superficie basal, de donde un transportador facilitador de glucosa las saca de la célula y las traslada a la corriente sanguínea. El tamaño relativo de las letras indica las direcciones de los gradientes de concentración respectivos. Por cada molécula de glucosa se transportan dos iones Na^+; la proporción 2:1 de Na^+/glucosa suministra una fuerza de impulso mucho mayor para mover glucosa hacia la célula en un índice 1:1.

sodio a regresar por la membrana plasmática apical en favor del gradiente de concentración la "aprovechan" las células epiteliales para impulsar el cotransporte de moléculas de glucosa al interior de la célula *contra* un gradiente de concentración. Se dice que el *transporte activo secundario* impulsa las moléculas de glucosa.

En este caso, la proteína transportadora, llamada *cotransportador de Na^+/glucosa*, mueve dos iones sodio y una molécula de glucosa con cada ciclo. En años recientes se ha dilucidado la estructura cristalina de varios cotransportadores bacterianos, lo cual ha dado origen a hipótesis antagónicas acerca de cómo funcionan estas proteínas. De manera sorpresiva, parece ser que algunos cotransportadores contienen un canal iónico controlado, lo cual difumina la distinción entre canales y bombas. Sin importar el mecanismo de captación, una vez dentro, las moléculas de glucosa se difunden por la célula y se mueven a través de la membrana basal mediante difusión facilitada (pág. 157).

Para apreciar el poder de un gradiente iónico en la acumulación de otros tipos de solutos en las células, puede considerarse en forma breve la energética del cotransportador de Na^+/glucosa. En la página 148 se describió que el cambio en la energía libre para el movimiento de un mol de iones Na^+ hacia la célula es igual a –3.1 kcal/mol, 6.2 kcal para dos moles de iones Na^+, que estarían disponibles para transportar un mol de glucosa "colina arriba" hacia el interior de la célula. Hay que recordar también que en la página 147 se mostró la ecuación para el movimiento de un no electrólito, como la glucosa, a través de la membrana

$$\Delta G = RT \ln \frac{[C_i]}{[C_o]}$$

$$\Delta G = 2.303\, RT \log_{10} \frac{[C_i]}{[C_o]}$$

Con esta ecuación se puede calcular qué tan intenso es el gradiente de concentración de la glucosa (X) que puede generar este cotransportador. A 25°C,

$$-6.2 \text{ kcal/mol} = 1.4 \text{ kcal/mol} \cdot \log_{10} X$$

$$\log_{10} X = -4.43$$

$$X = \frac{1}{23\,000}$$

Este cálculo indica que el cotransportador de Na^+/glucosa es capaz de transportar glucosa al interior de la célula contra un gradiente de concentración mayor de 20 000 veces.

Las plantas dependen de sistemas de transporte activo secundario para captar diversos nutrimentos, como la sacarosa, aminoácidos y nitrato. En las plantas, la captación de estos compuestos se une al movimiento "colina abajo" de iones H^+ hacia el interior de la célula, en lugar de iones Na^+. El transporte activo secundario de la glucosa hacia las células epiteliales del intestino o de sacarosa a la célula vegetal son ejemplos de *simporte*, en el que las dos especies transportadas (Na^+ y glucosa o H^+ y sacarosa) se mueven en el mismo sentido. Se han aislado muchas proteínas de transporte secundario que participan en el *antiporte*, en el que las dos especies transportadas se mueven en sentidos contrarios. Por ejemplo, las células a menudo mantienen el pH citoplásmico adecuado mediante la unión del movimiento de entrada "colina abajo" del Na^+ con el movimiento hacia fuera de H^+. Las proteínas que median el antiporte suelen llamarse *intercambiadores*.

REVISIÓN

1. Compare y analice las cuatro formas diferentes en que una sustancia puede cruzar la membrana plasmática (como se indica en la figura 4-32).
2. Compare la diferencia energética entre la difusión de un electrólito y un no electrólito a través de la membrana.
3. Describa la relación entre el coeficiente de partición y el tamaño molecular respecto de la permeabilidad de la membrana.
4. Explique los efectos de poner una célula en un medio hipotónico, hipertónico o isotónico.
5. Describa dos formas en las que se utiliza la energía para mover iones y solutos contra un gradiente de concentración.
6. ¿Cómo ilustra la ATP-asa de Na^+/K^+ la lateralidad de la membrana plasmática?
7. ¿Cuál es el papel de la fosforilación en el mecanismo de acción de la ATP-asa de Na^+/K^+?
8. ¿Cuál es la relación estructural entre las partes del canal de K^+ KcsA de los procariotas y el canal de K^+ regulado por voltaje de los eucariotas?, ¿qué parte del canal participa en la selectividad iónica, cuál en la abertura del canal y cuál en la desactivación del canal?, ¿cómo es que ocurre cada uno de estos procesos (selectividad iónica, abertura y desactivación)?
9. A causa de su menor tamaño se esperaría que los iones Na^+ pudieran penetrar cualquier poro lo bastante grande para un ion K^+. ¿Cómo selecciona el canal del K^+ los iones específicos?

4.8 POTENCIALES DE MEMBRANA E IMPULSOS NERVIOSOS

Todos los organismos responden a la estimulación externa, una propiedad conocida como *irritabilidad*. Incluso una ameba unicelular, si se punza con una aguja fina de vidrio, responde mediante la retracción de sus seudópodos, incurvación y movimiento en otra dirección. La irritabilidad en una ameba depende de las mismas propiedades básicas de las membranas que conducen a la formación y propagación de los impulsos nerviosos, que es el tema del resto del capítulo.