

CAPÍTULO 2

Transporte

Pablo Mobili, Nicolás Enrique

2.1 Introducción

2.1.1 Movimiento espontáneo de solutos no cargados

2.1.2 Movimiento espontáneo de solutos cargados

2.2 Transporte pasivo de solutos no polares

2.3. Transporte pasivo de sustancias polares no cargadas

2.3.1 Transporte de agua - Ósmosis

2.3.2 Transporte pasivo de solutos polares no cargados

2.4 Transporte pasivo de solutos cargados

2.5. Transporte activo

2.6 Regulación del transporte

2.7 Transporte mediante vesículas (endocitosis – exocitosis)

2.1 Introducción

En las células animales, la membrana citoplasmática es la única estructura que se encuentra en contacto directo con el espacio extracelular. Esta membrana actúa como un límite efectivo que permite la coexistencia de dos espacios adyacentes de diferente composición: el líquido intracelular y el líquido extracelular. Los procesos celulares consumen sustratos y generan desechos constantemente, por lo que el mantenimiento de la constancia de la composición química del medio intracelular requiere un continuo intercambio de materia con el medio extracelular. Además, muchos de estos procesos celulares son regulados por señales que llegan desde el exterior celular. Es a través de la membrana citoplasmática que se produce el intercambio de materia e información con el medio circundante.

La capacidad de la membrana citoplasmática de actuar como barrera efectiva entre dos compartimentos acuosos está dada principalmente por su componente mayoritario, una doble capa de fosfolípidos que limita el pasaje de sustancias polares desde un compartimento hacia el otro.

Los fosfolípidos derivan del ácido fosfatídico, que consiste en un esqueleto de glicerol fosforilado al cual se unen dos colas de ácido graso a través de enlaces éster. En los fosfolípidos, el grupo fosfato puede estar esterificado a su vez con colina, etanolamina, inositol o serina. Las moléculas de fosfolípido contienen una región más soluble en agua (la cabeza polar, formada por el fosfato conjugado) y dos colas poco solubles en agua (las colas no polares o hidrofóbicas, formadas por los esqueletos hidrocarbonados de los ácidos grasos) (Figura 2.1).

En la membrana citoplasmática los fosfolípidos se encuentran formando una capa doble (o bicapa), orientados de manera tal que, en cada capa, las cabezas polares están en contacto con el medio acuoso (medio intra- o extracelular), mientras que las colas no polares se asocian formando interacciones hidrofóbicas con las moléculas vecinas de la misma capa y con las colas no polares de la otra capa, formando así el espesor de la bicapa (Figura 2.2).

Las membranas citoplasmáticas de las células animales, además de fosfolípidos, poseen otros lípidos como esfingolípidos y colesterol (Figura 2.1).

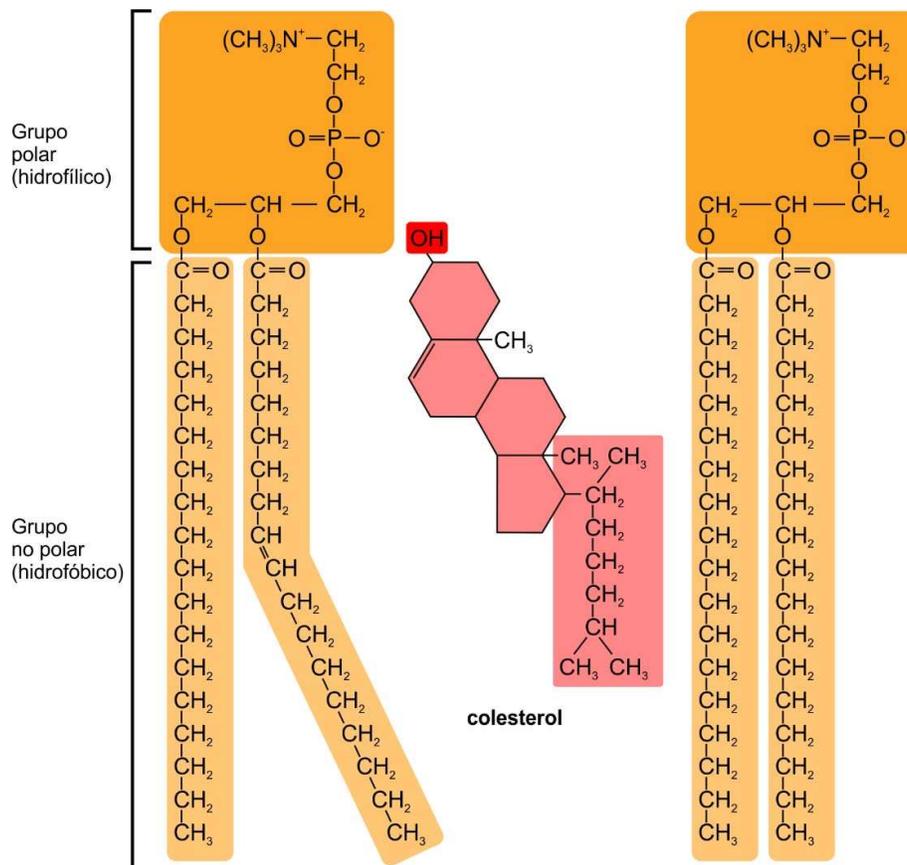


Figura 2.1: Fosfolípido insaturado, fosfolípido saturado y colesterol, presentados en escala.

Debido a la orientación de los lípidos que las forman, las caras intracelular y extracelular de la membrana plasmática son hidrofílicas, mientras que el núcleo central es altamente hidrofóbico.

Otro componente fundamental de la membrana citoplasmática de las células animales son las proteínas, que pueden hallarse asociadas a la superficie interna o externa de la membrana o integradas atravesando total o parcialmente la bicapa lipídica. Las proteínas de superficie se encuentran unidas mediante interacciones no covalentes con las cabezas polares de los fosfolípidos mientras que las que están integradas a la membrana forman interacciones hidrofóbicas entre los aminoácidos no polares de la proteína y las colas no polares de los lípidos (Figura 2.2). Como veremos más adelante, las proteínas que atraviesan completamente la membrana son fundamentales para el pasaje de sustancias polares desde el compartimento intracelular hasta el extracelular y viceversa.

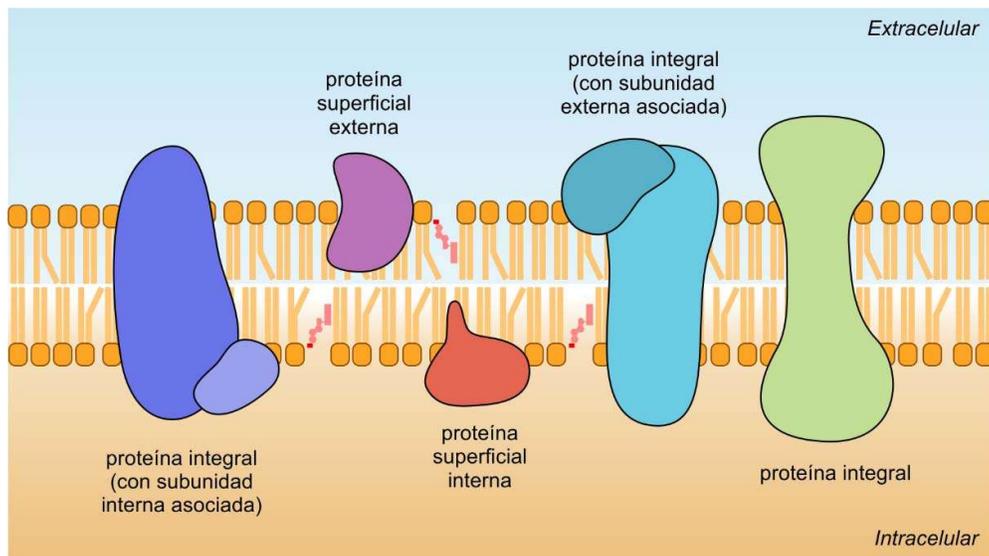


Figura 2.2: Representación de la membrana citoplasmática según el modelo del mosaico fluido, presentando fosfolípidos, colesterol y proteínas.

Numerosos fenómenos fisiológicos involucran el pasaje de sustancias a través de la membrana citoplasmática mediante diferentes mecanismos de **TRANSPORTE**. Los siguientes son algunos ejemplos relevantes:

- Pasaje de O_2 desde la luz del alveolo hasta el capilar sanguíneo (Aparato Respiratorio)
- Pasaje de CO_2 desde el capilar sanguíneo hasta la luz del alveolo (Aparato Respiratorio)
- Pasaje de glucosa desde la luz del duodeno hasta el capilar sanguíneo (Aparato Digestivo)
- Pasaje de glucosa desde el espacio extracelular hasta el interior de la célula (general)
- Pasaje de aminoácidos desde la luz del duodeno hasta el capilar sanguíneo (Aparato Digestivo)
- Pasaje de enzimas desde el interior de las células acinares pancreáticas hasta la luz del ducto pancreático (Aparato Digestivo)
- Pasaje de H^+ y Cl^- desde el interior de la célula parietal hasta la luz del estómago (Aparato Digestivo)

- Pasaje de insulina desde el interior de la célula β del páncreas hasta el espacio extracelular (Sistema Endócrino)
- Pasaje de colesterol desde la sangre hasta el interior celular (general)
- Pasaje de agua desde la luz de los túbulos renales hasta el capilar sanguíneo (Aparato Renal)
- Pasaje de Na^+ desde la luz de los túbulos renales hasta el capilar sanguíneo (Aparato Renal)

El primer objetivo de este capítulo es entender cuáles son los mecanismos que utilizan las distintas sustancias de interés fisiológico (agua, iones, glucosa, aminoácidos, oxígeno, CO_2 , urea, colesterol y hormonas liposolubles, entre otras) para atravesar la membrana citoplasmática.

Para esto se debe considerar:

- La estructura y características de la membrana citoplasmática.
- Las propiedades de las sustancias a transportar (polaridad, carga, tamaño).
- Las condiciones existentes a ambos lados de la membrana.

En primer término, se analizará la **espontaneidad** del pasaje de una sustancia que se mueve desde el interior celular hasta el espacio extracelular o viceversa.

Las partículas microscópicas que se hallan en un medio fluido presentan un movimiento aleatorio (movimiento browniano) propulsado por la energía térmica. Si uno observa a una partícula de soluto en un fluido a lo largo del tiempo, verá que se desplaza de manera aleatoria por todo el espacio disponible, sin seguir ningún patrón particular. Sin embargo, si uno divide imaginariamente el medio total en distintos elementos de volumen y cuenta, a lo largo del tiempo, el número de partículas de soluto presentes en un dado elemento de volumen, observará que:

- Si la distribución de las partículas de soluto en el solvente es homogénea, todos los elementos de volumen contienen la misma cantidad de partículas. Debido al movimiento browniano de las partículas, algunas partículas saldrán de un elemento de volumen dado hacia los elementos de volumen vecinos, y otras partículas ingresarán desde dichos elementos. Como la cantidad de partículas es la misma en todos los elementos de volumen, existe la misma probabilidad de que las partículas entren o salgan, por lo que el número de partículas que entran y salen de ese volumen por unidad de tiempo impulsadas por el movimiento browniano es el mismo. Como resultado, el número de partículas en cada elemento de volumen se mantiene constante.
- Si la distribución de las partículas de soluto en el solvente no es homogénea, tendremos elementos de volumen donde las partículas se encuentren más concentradas que en otros. Debido al movimiento browniano de las partículas, algunas saldrán hacia los elementos de volumen vecinos, y otras partículas ingresarán desde dichos elementos. Sin embargo, en el elemento donde la concentración es mayor, habrá un mayor número de partículas que salen con respecto a las que entran a dicho elemento desde las zonas vecinas con menor concentración de partículas de solutos, por lo que el número de partícu-

las no se mantendrá constante en cada elemento. Existirá entonces una tendencia neta de las partículas de soluto a pasar del elemento más concentrado al más diluido, distribuyéndose finalmente de manera uniforme por todo el volumen (Figura 2.3).

A este desplazamiento neto espontáneo de partículas desde un sitio de mayor concentración hasta otro de menor concentración, debido al movimiento aleatorio impulsado por la energía térmica, se lo denomina **DIFUSION**.

Una vez que las moléculas de soluto se encuentren distribuidas de manera homogénea en la solución, el sistema se encontrará en equilibrio y, aunque los desplazamientos aleatorios de las moléculas individuales continuarán, ya no habrá flujo neto de soluto en ninguna dirección, como se indicó al inicio.

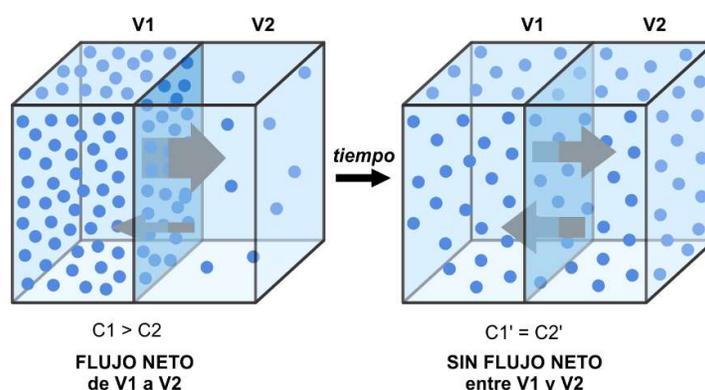


Figura 2.3: Difusión en un medio fluido. Un soluto en un medio fluido como el agua, presenta un movimiento aleatorio debido a la agitación térmica de las moléculas (movimiento Browniano). Si dividimos el espacio en pequeños elementos de volumen, entre dos elementos de volumen cualesquiera V1 y V2 adyacentes, el movimiento aleatorio hace que pasen moléculas de soluto de un elemento de volumen al otro en ambos sentidos. Si las concentraciones de soluto en dichos elementos de volumen son C1 y C2 respectivamente, tal que $C1 > C2$, la probabilidad de que pasen moléculas de soluto de V1 a V2 es mayor que la probabilidad de que pasen de V2 a V1. Esto generará un flujo neto de moléculas de soluto desde V1 hasta V2. A ese flujo neto de partículas se le llama DIFUSIÓN. A medida que pasa soluto de manera neta desde V1 hasta V2, la concentración de soluto de V1 disminuye (y con ello disminuye la probabilidad de que otras moléculas de soluto salgan de V1), mientras que la concentración de soluto en V2 aumenta (y con ello aumenta la probabilidad de que las moléculas de soluto pasen de V2 a V1). En algún momento se alcanza la situación en la que $C1' = C2'$, y por lo tanto el pasaje de soluto de V1 a V2 será igualmente probable que el pasaje de soluto de V2 a V1, por lo que las concentraciones de soluto de V1 y V2 se mantendrán invariables en el tiempo y el sistema habrá alcanzado el equilibrio.

Los sistemas evolucionan espontáneamente hacia estados de menor energía. Si se conocen la energía libre del sistema al inicio (G_i) y al final (G_f) del proceso, se puede predecir si un determinado fenómeno se desarrollará o no en forma espontánea (considerando la presión y la temperatura constantes). Si la diferencia (ΔG) entre la energía libre final (G_f) y la energía libre inicial (G_i) del sistema es menor que cero, ese proceso puede ocurrir espontáneamente:

$$\Delta G_{(i \rightarrow f)} = (G_f - G_i) < 0 \text{ es } \textit{espontáneo}$$

Por lo contrario, si el ΔG del proceso es mayor que cero, el fenómeno planteado no podrá ocurrir de manera espontánea.

La energía libre molar parcial de un soluto en una fase determinada es el **potencial electroquímico (μ)** de dicho soluto. Por lo tanto:

$$G = \mu \cdot n$$

n = número de moles

μ = potencial electroquímico (o G molar)

$$\mu = \mu_0(P, T) + R \cdot T \cdot \ln(C) + z \cdot F \cdot E$$

donde:

R = constante del gas ideal ($8,31 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$)

T = temperatura absoluta (310 K a 37 °C)

C = concentración molar del soluto ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) (estrictamente, correspondería actividad)

z = carga del soluto

F = constante de Faraday ($96500 \text{ coulombios} \cdot \text{mol}^{-1}$)

E = potencial eléctrico de la fase o compartimento (voltios).

Si consideramos un soluto que se mueve entre el interior celular y el espacio extracelular, se puede definir el μ de dicho soluto para cada compartimento:

$$\mu_i = \mu_0(P, T) + R \cdot T \cdot \ln(C_i) + z \cdot F \cdot E_i \quad \text{espacio intracelular}$$

$$\mu_e = \mu_0(P, T) + R \cdot T \cdot \ln(C_e) + z \cdot F \cdot E_e \quad \text{espacio extracelular}$$

Si se plantea el proceso de **salida del soluto**, desde el espacio intracelular al espacio extracelular, el **estado final** será **afuera** y el **estado inicial** será **adentro**. Entonces, la diferencia de potencial electroquímico ($\Delta\mu$) para la salida de soluto puede expresarse:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = \mu_e - \mu_i = R \cdot T \cdot \ln(C_e) + z \cdot F \cdot E_e - R \cdot T \cdot \ln(C_i) - z \cdot F \cdot E_i$$

Ecuación que se puede reordenar como:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R \cdot T \cdot \ln(C_e/C_i) + z \cdot F \cdot (E_e - E_i) \quad (1)$$

La **diferencia de potencial electroquímico** puede interpretarse como un tipo de energía potencial que podría utilizarse para realizar trabajo en la célula. Tiene un componente de energía química, que proviene del gradiente² de concentración del soluto entre ambos comparti-

² NOTA DE VOCABULARIO: cuando existe una diferencia en la magnitud de una propiedad continua a lo largo del espacio se dice que hay un "gradiente" de dicha propiedad (p. ej.: si una sustancia presenta una diferencia en la concentración o en el potencial electroquímico entre dos regiones, se dice que tiene un "gradiente de concentración" o un "gradiente de potencial electroquímico").

mentos, y un componente de energía electrostática, que depende de la carga eléctrica del soluto y de la diferencia de potencial eléctrico entre ambos compartimentos.

Definimos como **potencial de membrana**³ (V_m) a la diferencia de potencial eléctrico que existe entre el líquido en contacto con la cara intracelular de la membrana y el líquido en contacto con la cara extracelular de la membrana ($V_m = E_i - E_e$). Si reemplazamos en (1) el término ($E_e - E_i$) por $-V_m$, obtenemos entonces la siguiente ecuación:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i) - z.F.V_m \quad (2)$$

Como se mencionó anteriormente, la salida de soluto desde la célula será espontánea cuando $\Delta G_{(i \rightarrow e)} < 0$. Y como $\Delta G_{(i \rightarrow e)} = n \cdot \Delta\mu_{(i \rightarrow e)}$, entonces la **salida** del soluto será **espontánea** cuando $\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} < 0$, lo cual dependerá del balance entre el componente químico [$R.T.\ln(C_e/C_i)$] y el componente electrostático [$z.F.V_m$].

Mientras exista una diferencia en el potencial electroquímico del soluto a ambos lados de la membrana, el soluto siempre tenderá a moverse espontáneamente desde el lugar donde su μ es mayor hasta el lugar donde su μ es menor. Si este movimiento ocurre, los μ en ambos compartimentos tenderán a igualarse, y cuando esto suceda el soluto se encontrará en equilibrio electroquímico y ya no habrá movimiento **neto** espontáneo en ninguno de los dos sentidos. Es decir, **el soluto tiende a moverse de manera espontánea en el sentido en el que se acerca al estado de equilibrio electroquímico**⁴.

Debe notarse que la diferencia de energía libre sólo indica en qué **sentido** se produciría el pasaje **neto espontáneo** del soluto a través de la membrana si la membrana permitiera el pasaje de dicho soluto, pero no predice si efectivamente se producirá este pasaje. El pasaje del soluto a través de la membrana dependerá de la permeabilidad que presente dicha membrana para el soluto.

La **permeabilidad** (P) de la membrana para un determinado soluto depende de factores propios del soluto (naturaleza química polar o no polar, carga, peso molecular), de la membrana (estructura, composición, espesor) y de la relación entre ambos (solubilidad del soluto en la membrana). La permeabilidad es un parámetro empírico y sus unidades corresponden a una velocidad lineal (distancia/tiempo). Cuando una membrana permite que una sustancia pase a través de ella, se dice que la membrana es "permeable" a dicha sustancia. A una sustancia que puede atravesar una membrana se le dice que es "permeante" para esa membrana.

Si la permeabilidad de la membrana para el soluto es cero, no se verificará pasaje de soluto a través de la misma, aunque exista una diferencia de potencial electroquímico a ambos lados de dicha membrana.

³ La génesis del potencial de membrana se discutirá más adelante, en el Capítulo 3

⁴ NOTA DE VOCABULARIO: cuando una sustancia se mueve en el sentido en el que pasa desde una región donde su concentración o su potencial electroquímico es mayor hasta otra región donde dicha propiedad es menor, se dice que se mueve "a favor del gradiente de ...".

El análisis de la espontaneidad del proceso de transporte es diferente dependiendo de la carga del soluto.

2.1.1 Movimiento espontáneo de solutos no cargados

La situación más sencilla se da para **solutos no cargados**, donde $z = 0$ y por lo tanto, el segundo término de la ecuación (2) es nulo, quedando reducida a:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i)$$

La **salida** del soluto no cargado será espontánea cuando $\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} < 0$, lo cual ocurrirá siempre que $C_e < C_i$.

Si se realiza el mismo análisis para la entrada a la célula de un soluto no cargado (el estado final será adentro y el estado inicial será afuera), se obtiene que el proceso es espontáneo cuando $\Delta\mu_{(e \rightarrow i)} = R.T.\ln(C_i/C_e) < 0$, es decir cuando $C_e > C_i$.

Por lo tanto, el soluto **no cargado** tenderá a moverse espontáneamente de forma neta⁵ desde la zona en la que su concentración es mayor hacia la zona donde su concentración es menor.

Como se indicó antes, cuando el flujo de soluto se realiza a través de la membrana celular, independientemente de que sea espontáneo o no, la magnitud del mismo depende de la **permeabilidad** que presente la membrana para dicho soluto. Por lo tanto, si se conoce la permeabilidad de la membrana para el soluto, una vez que se determina en qué sentido se desarrollará el transporte espontáneo de soluto mediante la ecuación (1), se puede calcular el **flujo difusional neto de soluto**, es decir, la cantidad de soluto que podría atravesar mediante el mecanismo de difusión un área determinada de membrana por unidad de tiempo.

Podemos realizar un análisis más detallado de este caso, en forma similar a la desarrollada por Johnson en su libro *Essential Medical Physiology* (3rd Ed, 2003, Elsevier):

Supongamos que tenemos un recipiente que está dividido a la mitad por un tabique de espesor Δx que contiene un gran número de perforaciones, y que el área conjunta total de dichas perforaciones es **A**. En una mitad del recipiente (compartimento 1) hay una solución acuosa de un soluto no cargado, con una concentración molar C_1 ; en la otra mitad del recipiente (compartimento 2) hay una solución acuosa del mismo soluto no cargado, con una concentración molar C_2 . Supongamos que los compartimentos son grandes (y están bajo agitación continua), de

⁵ NOTA DE VOCABULARIO: se llama **flujo neto** a la resultante de los flujos de soluto en dos sentidos opuestos (por ejemplo, entrando y saliendo de la célula) debidos a los movimientos aleatorios de soluto.

manera que la concentración de soluto en cada uno se mantiene constante (y uniforme) a lo largo del tiempo.

Debido a la energía térmica, las moléculas de soluto están en continuo movimiento aleatorio, y algunas moléculas de soluto pueden entrar en un orificio y salir por el extremo contrario, hacia el compartimento vecino. Por lo tanto, pueden pasar moléculas desde 1 hacia 2 y desde 2 hacia 1 a través de los orificios. La velocidad a la que ocurre el pasaje de moléculas de soluto desde el compartimento 1 hasta el 2 debido a los movimientos aleatorios será proporcional a la concentración de soluto en 1 (C_1) ya que la concentración del soluto determina la probabilidad de que una molécula de 1 entre a uno de los orificios. De la misma manera, la velocidad a la que ocurre el pasaje de moléculas de soluto desde el compartimento 2 hasta el 1 será proporcional a la concentración de soluto en 2 (C_2). Entonces la velocidad neta de migración de las moléculas será proporcional a la diferencia entre C_1 y C_2 .

Además, la velocidad de migración será directamente proporcional al área total de los orificios (A) e inversamente proporcional al espesor de la barrera (Δx) que los solutos deben atravesar.

Teniendo en cuenta todo esto, podemos decir que la **velocidad neta de migración (Vel)** del soluto desde 1 hasta 2 a través de la barrera será:

$$\text{Vel} = D.A.(C_1 - C_2) / \Delta x \quad (3)$$

donde D: coeficiente de difusión del soluto (unidades: área / tiempo)

El **coeficiente de difusión** del soluto (D) depende de la naturaleza del soluto (p. ej. su peso molecular) y de la naturaleza del medio en el cual el soluto se mueve (p. ej. viscosidad, temperatura, presión). El coeficiente D será menor cuanto mayor sea el peso molecular del soluto y cuanto mayor sea la viscosidad del medio a través del cual difunde.

Si dividimos por el área A, obtenemos la velocidad neta de migración de soluto por unidad de área, o **flujo neto (F)**.

Entonces:

$$F = D.(C_1 - C_2) / \Delta x \quad (4) \quad (\text{unidades de F: masa / área.tiempo})$$

En este ejemplo supusimos que los poros son tan grandes que el soluto no interactúa con el poro a través del cual migra, por lo que sería homólogo a la difusión del soluto en un solvente.

Sin embargo, si consideramos un soluto atravesando una membrana lipídica, es necesario considerar la interacción del soluto con la membrana, la cual será diferente a su interacción con el medio acuoso o solvente, afectando las concentraciones de soluto en las cercanías de las interfases agua-lípido de la membrana.

Para tener en cuenta este efecto, se debe considerar el **coeficiente de partición aceite/agua del soluto (β)**, el cual muestra cómo se reparte un soluto cuando éste se pone en contacto con una mezcla aceite/agua. Si se tiene en cuenta la interacción del soluto con la membrana, la ecuación (4) queda:

$$F = D \cdot \beta \cdot (C_1 - C_2) / \Delta x \quad (5)$$

Donde β se utiliza como estimador del coeficiente de partición entre la membrana y el agua. Es decir que, para el mismo espesor de membrana y gradiente de concentración de soluto, si el soluto es hidrofílico ($\beta < 1$) el flujo neto a través de la membrana será menor que si el soluto es hidrofóbico ($\beta > 1$).

Como en las membranas celulares resulta difícil determinar el coeficiente de partición de un soluto en la interfase membrana/agua, el D y el Δx de manera individual, estos términos son agrupados en un sólo coeficiente llamado **permeabilidad (P)**, de manera tal que:

$$P = D \cdot \beta / \Delta x \quad (\text{unidades de P: distancia/tiempo}).$$

Teniendo en cuenta los factores que determinan P , se observa que entre solutos con pesos moleculares similares, la permeabilidad a través de la membrana lipídica será mayor para aquellos que tengan mayor coeficiente de partición membrana/agua, es decir, para aquellos que sean más lipofílicos (o menos hidrofílicos). Por otro lado, entre solutos con similar lipofiliidad, la permeabilidad a través de la membrana lipídica será mayor para aquellos que tengan menor tamaño molecular (mayor D).

En general, como las variaciones de β entre solutos pueden ser de varios órdenes de magnitud mayores que las variaciones de peso molecular, los coeficientes de permeabilidad para la difusión simple de solutos no cargados dependen más fuertemente de las diferencias en β que de las diferencias en peso molecular (Figura 2.4).

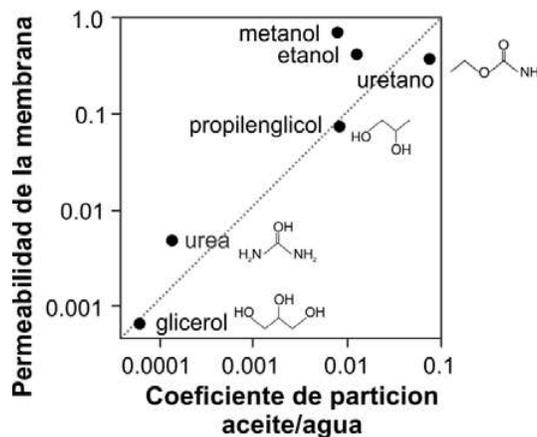


Figura 2.4: Relación entre la permeabilidad de la membrana citoplasmática a un soluto y el coeficiente de partición aceite / agua de dicho soluto, para diferentes solutos de interés biológico. Obsérvese la buena correlación entre ambos parámetros, independientemente de las dimensiones moleculares de cada soluto. Ejemplo: el uretano tiene dimensiones similares al glicerol pero es más liposoluble, y como resultado es 1000 veces más permeable.

Por lo tanto, reemplazando la expresión para la permeabilidad en la ecuación (5), nos queda:

$$F = P (C_1 - C_2)$$

Esta expresión es la ecuación de la **difusión simple** de Fick, que establece que el **flujo neto (F) de un soluto no cargado** entre dos puntos separados por una membrana es proporcional al gradiente de concentración de dicho soluto a los lados de la membrana. El coeficiente de proporcionalidad es la permeabilidad (P).

lidad es la permeabilidad (P) que presenta la membrana para el soluto. Es decir, un soluto liposoluble (permeabilidad P distinta de 0), distribuido asimétricamente a los lados de una membrana biológica (presencia de un gradiente de concentración), podrá atravesar dicha membrana espontáneamente generando un flujo neto de soluto desde la región donde está más concentrado hacia la región donde está menos concentrado. Este flujo neto continuará hasta que la distribución del soluto a ambos lados de la membrana sea homogénea (condición de equilibrio).

El proceso de transporte mediante el cual se produce el flujo neto pasivo de un **soluto liposoluble no cargado**, directamente a través de la bicapa lipídica es un tipo de **difusión simple**⁶. Ocurre siempre a favor del gradiente de concentración del soluto transportado y no requiere de un aporte de energía metabólica⁷, ya que es el resultado del movimiento aleatorio de las moléculas impulsadas por la energía térmica.

Otro punto importante a tener en cuenta es que, debido a que el proceso de difusión depende del movimiento aleatorio de las partículas en el medio en que están disueltas, este proceso es muy lento, por lo que sólo es eficiente en distancias muy cortas.

El gradiente de concentración es la fuerza impulsora necesaria para que se produzca el flujo neto del soluto no cargado desde la región donde está más concentrado hacia la región donde está menos concentrado ($\Delta G < 0$, espontáneo). Este flujo neto tiende a llevar al sistema a una situación final de equilibrio con una distribución homogénea del soluto a ambos lados de la membrana.

Es importante notar que, para un gradiente de concentración de soluto dado, si la membrana presenta una alta permeabilidad al soluto, el flujo neto (F) será elevado y el estado de equilibrio se alcanzará en un tiempo corto. Mientras que, si la membrana presenta una permeabilidad baja al soluto, el flujo neto (F) será más reducido y el equilibrio se alcanzará en tiempos más largos. Esta dependencia de la magnitud del flujo pasivo con la permeabilidad se analizará más adelante, en las secciones 2.2 y 2.3.

2.1.2 Movimiento espontáneo de solutos cargados

Si el soluto es **cargado** ($z \neq 0$) el segundo término de la ecuación (2) también se debe considerar, por lo que el cambio en el potencial electroquímico del soluto al salir de la célula estará dado por:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(C_e/C_i) - z.F.V_m$$

El movimiento espontáneo neto de un soluto cargado a través de la membrana dependerá no sólo de la diferencia de concentración de dicho soluto sino también de la diferencia de potencial eléctrico a ambos lados de la membrana. Como los solutos cargados, debido a

⁶ Se usa el término difusión **simple** para destacar el hecho de que ocurre a través de los fosfolípidos de la membrana sin necesidad de una proteína de membrana que actúe como transportadora del soluto, diferenciándose de esta manera de otros flujos espontáneos de solutos que sí requieren de la presencia de una proteína transportadora, como p. ej. la difusión **facilitada**, ver sección 2.3.2.

⁷ A los procesos que no requieren del aporte de energía metabólica se los denomina **procesos pasivos**; por lo contrario, cuando el proceso requiere la utilización de energía metabólica se lo denomina proceso activo, como se verá en la sección 2.5.

su baja lipofilicidad, en general tienen una baja permeabilidad en las membranas celulares, su capacidad de atravesar la membrana a velocidades compatibles con los procesos celulares está vinculada a la existencia de proteínas que brinden una vía de pasaje de un compartimento al otro (permeabilidad distinta de 0), facilitando de esta manera el transporte. Esta situación se analizará más adelante, en la sección 2.4.

Utilizando los conceptos fundamentales presentados en las secciones anteriores, a continuación, se analizarán en particular los procesos de transporte de distintas sustancias de interés fisiológico:

2.2 Transporte de gases (O_2 y CO_2) y otros solutos liposolubles

Siendo el O_2 y el CO_2 solutos no cargados liposolubles, y por lo tanto permeantes a través de las membranas celulares, la ley de Fick puede aplicarse para describir los flujos de estos solutos a través de la membrana celular.

Dado que el O_2 es un soluto no cargado, el sentido de su movimiento espontáneo a través de la membrana depende únicamente de la diferencia de concentración de O_2 entre el medio intracelular y el medio extracelular. En una célula animal, el O_2 se está consumiendo continuamente para generar ATP, por lo que existe una mayor concentración de O_2 en el medio extracelular que en el intracelular, y esto hace que la entrada de O_2 a la célula esté favorecida termodinámicamente. Dado que la molécula de O_2 es no polar, la bicapa lipídica presenta una elevada permeabilidad para este soluto. El O_2 puede entonces moverse pasivamente por difusión simple, pasando entre las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos de la membrana (Figura 2.5).

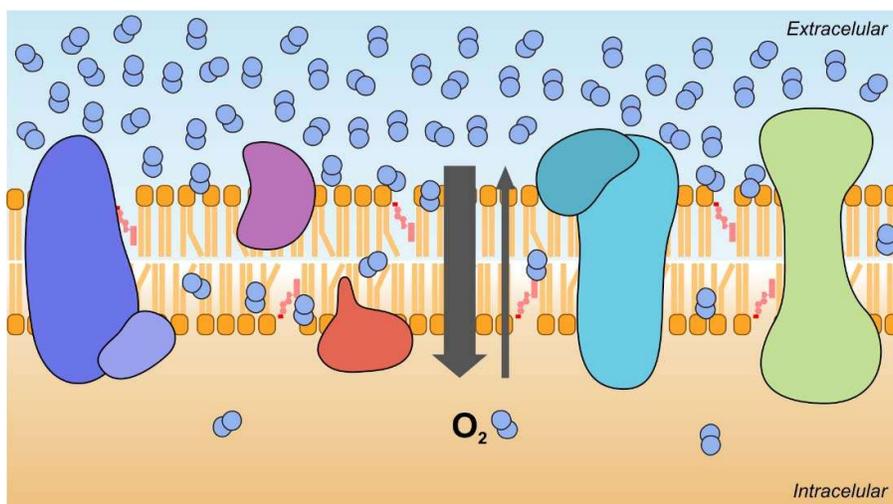


Figura 2.5: Flujo de oxígeno (O_2) entre el medio extracelular y el medio intracelular mediante difusión simple a través de la bicapa lipídica.

De manera inversa, debido al metabolismo oxidativo, las células están continuamente produciendo CO_2 . Por esta razón, existe una mayor concentración de CO_2 en el medio intracelular que en el extracelular, y esto hace que la salida de CO_2 desde la célula esté favorecida termodinámicamente. Dado que la molécula de CO_2 no es polar, la bicapa lipídica presenta una elevada permeabilidad para este soluto. El CO_2 puede entonces moverse pasivamente por difusión simple, pasando entre las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos de la membrana.

Otros ejemplos de solutos fisiológicos que usan este mecanismo de transporte a través de las membranas biológicas son: monóxido de nitrógeno (NO), hormonas esteroides y vitaminas lipofílicas.

2.3 Transporte pasivo de sustancias polares no cargadas

Numerosas funciones celulares requieren el transporte transmembrana de sustancias que, por su naturaleza polar, tienen muy baja permeabilidad en la membrana celular, entre ellos el agua y diversos solutos como glucosa, aminoácidos, etc.

El flujo pasivo de estas sustancias hidrofílicas a una velocidad compatible con los requerimientos de las células, requiere de la presencia de proteínas de transmembrana que faciliten su pasaje de un lado al otro de la membrana citoplasmática.

Cuando las sustancias transportadas **no tienen carga eléctrica neta**, los flujos **pasivos** mediados por proteínas transportadoras de membrana se generan a **favor del gradiente de concentración de la sustancia**. De esta manera, la energía potencial acumulada en el gradiente **de concentración** es la que impulsa el transporte neto de la sustancia.

2.3.1 Transporte de agua – Ósmosis

Si dos compartimentos que contienen agua se encuentran comunicados por algún medio que permita el pasaje del agua entre ambos de manera libre, las moléculas de agua, por agitación térmica y moviéndose al azar, podrán pasar desde un compartimento al otro en ambos sentidos, de forma análoga a lo explicado anteriormente para un soluto. Si la presión hidrostática en uno de los compartimentos es mayor que en el otro, el agua se moverá de forma neta desde el sitio donde la presión hidrostática es mayor hasta donde la presión hidrostática es menor (Figura 2.6A).

Por otra parte, en una solución acuosa la presencia de moléculas de soluto (independientemente de su naturaleza) modifica la concentración de agua. Por lo tanto, dos soluciones acuosas que contengan concentraciones diferentes de soluto, puestas en contacto a través de una membrana permeable al agua, generan un gradiente de concentración de agua que servirá como fuerza impulsora para que se genere un **flujo neto de agua a favor del gradiente de concentración de agua**, fenómeno denominado **flujo osmótico** u **ósmosis**.

Supongamos que tenemos dos compartimentos con dos soluciones acuosas con la misma presión hidrostática y diferente concentración de soluto, separados por una membrana **permeable a las moléculas de agua e impermeable al soluto**⁸, tal como se presenta en la Figura 2.6B. El gradiente de concentración de agua lo establece la cantidad de soluto disuelto en las soluciones a ambos lados de la membrana; por lo tanto, la solución más concentrada en soluto tiene la menor concentración de agua y la solución de menor concentración de soluto posee la mayor concentración de agua. El **flujo neto** de agua se verificará desde la solución más diluida en soluto hacia la solución más concentrada en soluto.

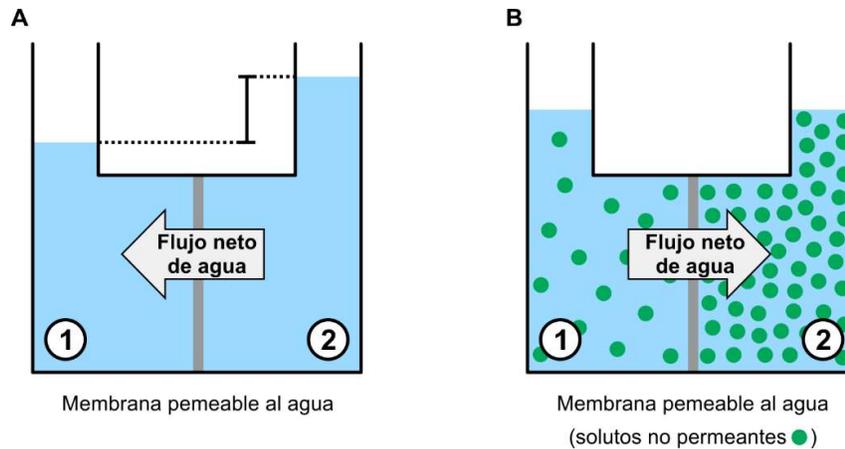


Figura 2.6: Representación esquemática del flujo neto de agua entre dos soluciones con diferencia de presión hidrostática (A) y con diferente concentración de soluto no permeante (B), separadas por una membrana permeable solamente al agua.

Si las paredes de los compartimentos que alojan las soluciones son distensibles, como se muestra en la Figura 2.7A, el flujo neto de agua que va desde el compartimento 1 hasta el compartimento 2, generado por la diferencia en la concentración de agua entre las dos soluciones a los lados de la membrana, provocará un aumento de volumen en el compartimento 2, disminuyendo la concentración del soluto en ese ambiente. Al mismo tiempo, en el compartimento 1 disminuirá el volumen y aumentará la concentración de soluto. Debido al flujo neto de agua desde 1 hacia 2, el sistema evolucionará de manera que el gradiente de concentración de agua (y también el de concentración de soluto) serán cada vez menores, hasta que dichos gradientes se anulen. En ese momento, el sistema habrá alcanzado un estado de equilibrio (con nuevos volúmenes de los compartimentos) y ya no habrá más flujo neto de agua en ningún sentido.

En cambio, si los compartimentos que alojan las soluciones son cerrados y rígidos, como se muestra en la Figura 2.7B, el flujo de agua desde 1 hacia 2 provocará un aumento de presión hidrostática en 2, y esta diferencia de presión hidrostática impulsará al agua desde 2 hacia 1. En algún momento, en el compartimento 2 se alcanzará una presión hidrostática tal que el flujo

⁸ NOTA DE VOCABULARIO: a una membrana permeable a las moléculas de agua e impermeable al soluto se la llama **membrana semipermeable**.

de agua desde 2 hacia 1 debido a la diferencia de presión hidrostática se equilibrará con el flujo de agua desde 1 hacia 2 debido a la diferencia de concentración de agua. En ese momento se alcanzará un estado de equilibrio que se mantendrá en el tiempo, sin flujo neto de agua en ningún sentido. A diferencia de la situación anterior, en este caso el equilibrio no se debe a que el agua tiene la misma concentración en ambos compartimentos, sino a que la menor concentración de agua en el compartimento 2 es compensada con una mayor presión hidrostática del agua en dicho compartimento.

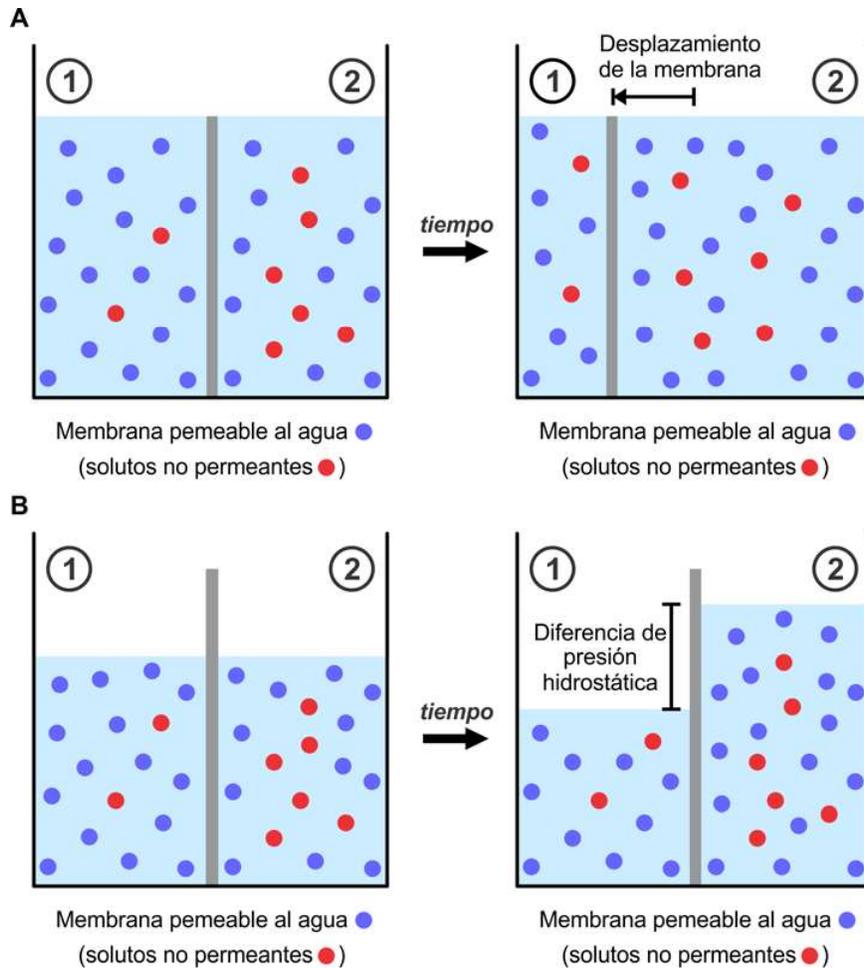


Figura 2.7: Representación esquemática del flujo neto de agua que se genera entre dos compartimentos que contienen soluciones con diferente concentración de soluto no permeante separadas por una membrana permeable solamente al agua. (A) Si los compartimentos son distensibles, el flujo de agua genera un cambio en el volumen de los mismos. (B) Si los compartimentos son rígidos el flujo de agua genera un cambio en la presión de los mismos.

Para explicar el transporte de agua desde el punto de vista termodinámico, se debe tener en cuenta que, para el agua, el potencial electroquímico (μ) está dado por la expresión:

$$\mu = \mu_0 + R.T.\ln(a) + V_p.P_H \quad (6)$$

donde:

μ_0 : potencial electroquímico estándar

R : constante de los gases ideales ($R = 0,082 \text{ l.atm/K.mol}$)

T : temperatura absoluta (K)

a : actividad del agua

V_p : volumen molar parcial del agua

P_H : presión hidrostática

Es decir, el potencial electroquímico del agua depende no sólo de la actividad (concentración) del agua en el compartimento en que se encuentra sino también de la presión hidrostática en dicho compartimento. Como la actividad del agua depende de la concentración de partículas de soluto disueltas en ella, para soluciones diluidas se puede reemplazar:

$$\ln(a) = -V_p \cdot C$$

donde C es la concentración molar de partículas de soluto disueltas en el agua. Reemplazando en (6) queda:

$$\mu = \mu_0 - R.T.V_p.C + V_p.P_H = \mu_0 + V_p.(P_H - R.T.C) \quad (7)$$

Para analizar la espontaneidad de un flujo de agua en un determinado sistema debemos analizar el cambio de potencial electroquímico asociado a dicho pasaje de agua. Por ejemplo, si planteamos el flujo de agua desde el compartimento 2 al compartimento 1, el cambio de potencial electroquímico del agua está dado por:

$$\begin{aligned} \Delta\mu_{(2 \rightarrow 1)} &= \mu_1 - \mu_2 \\ &= V_p.(P_{H1} - R.T.C_1) - V_p.(P_{H2} - R.T.C_2) \\ &= V_p.[(P_{H1} - P_{H2}) + R.T.(C_2 - C_1)] \end{aligned} \quad (8)$$

Si $\Delta\mu_{(2 \rightarrow 1)} < 0$ habrá flujo neto espontáneo de agua desde 2 hasta 1, y si $\Delta\mu_{(2 \rightarrow 1)} > 0$ el flujo neto espontáneo de agua será desde 1 hasta 2.

Cuando $\Delta\mu_{(2 \rightarrow 1)} = 0$ el sistema habrá alcanzado el equilibrio y no habrá flujo neto de agua entre los compartimentos en ningún sentido.

Reordenando a partir de (8) obtenemos que, para el agua, la condición de equilibrio se alcanza cuando:

$$(P_{H1} - P_{H2}) = R.T.(C_1 - C_2) \quad (9)$$

Es decir, la diferencia de presión hidrostática necesaria para detener el flujo osmótico de agua es proporcional a la diferencia en la concentración de soluto de ambas soluciones.

En el caso de un compartimento 1 con una solución acuosa de concentración de soluto C_1 separado por una membrana semipermeable de un compartimento 2 con agua pura ($C_2 = 0$), la diferencia de presión hidrostática necesaria para oponerse al flujo de agua generado por el gradiente de concentración de soluto es proporcional a la concentración de soluto en 1. Reemplazando a partir de (9):

$$(P_{H1} - P_{H2}) = R.T.C_1$$

Este valor de diferencia de presión hidrostática ($P_{H1} - P_{H2}$), que se opone al flujo de agua impulsado por la diferencia en la concentración de soluto, se denomina **presión osmótica (π)**. Es decir:

$$\pi = R.T.C_1 \quad (10)$$

Cuando los solutos son disociables, un mol de soluto puede generar más de un mol de partículas disueltas, y esto debe ser tenido en cuenta ya que la presión osmótica es proporcional a la concentración de partículas independientes en solución.

Para el caso de una solución acuosa de concentración C_1 (mol/l) de un soluto que se disocia en i partículas, en la ecuación (10) debe multiplicarse a C_1 por el valor i , y además debe incluirse un término que tenga en cuenta las interacciones entre las partículas (Φ). De esta manera se obtiene la ecuación de Van't Hoff, que permite calcular la presión osmótica (π) que se genera cuando un compartimento rígido que contiene una solución acuosa de concentración de soluto C_1 se encuentra separado por una membrana semipermeable de un compartimento rígido que contiene agua pura ($C_2 = 0$):

$$\pi = R.T. \Phi.i.C_1$$

R: constante de los gases ideales ($R = 0,082 \text{ l.atm/K.mol}$)

T: temperatura absoluta (K)

C_1 : concentración molar del soluto en el compartimento 1

i : número de iones producidos por la disociación del soluto en el medio acuoso

Φ : coeficiente osmótico (factor de corrección empírico que considera la interacción entre las partículas de soluto. Φ vale cerca de 1 cuando no hay interacción entre las partículas y se comportan como partículas totalmente independientes, lo cual ocurre en soluciones muy diluidas; Φ toma valores menores a 1 cuando luego de la disolución del soluto las partículas se mantienen parcialmente atraídas unas con otras).

La unidad que se utiliza para referirse al número de partículas independientes disueltas en una solución, se denomina **osmol**. El número de osmoles (osm) es igual al número de moles multiplicado por el número de partículas independientes en que se disocia cada molécula de soluto al disolverse ($\Phi.i$). La **osmolaridad** de una solución es el número de osmoles por litro de solución.

Si hay un solo soluto presente en la solución entonces:

$$\text{Osmolaridad de la solución} = \Phi.i.C \quad ^9$$

⁹ Una solución 0,1 M de NaCl contiene 0,1 mol de NaCl por litro de solución, y como el NaCl se disocia en Na^+ y Cl^- , el número de partículas que originaría el NaCl es $i_{\text{NaCl}} = 2$; por lo tanto, si los iones Na^+ y Cl^- fueran completamente independientes entre sí (es decir, si no hubiera ningún tipo de interacción entre ellos) una solución 0,1 M de NaCl contendría $0,1 \text{ mol/l} \times 2 = 0,2 \text{ moles/l}$ de partículas independientes.

Sin embargo, como las partículas de carga opuesta tienen una atracción parcial entre ellas, no se comportan como totalmente independientes y para obtener el número de partículas independientes se debe incluir el coeficiente osmótico Φ , que para el NaCl en concentración 0,1 M es aproximadamente $\Phi_{\text{NaCl}} = 0,93$; por lo tanto, aunque una solución 0,1 M de NaCl tiene $0,1 \times 2 = 0,2 \text{ moles}$ de iones por litro, éstos se comportan como $0,1 \times 2 \times 0,93 = 0,186 \text{ moles}$ de partículas independientes por litro, por lo que una solución 0,1 M de NaCl tiene una osmolaridad de 0,186 osmoles por litro.

La osmolaridad es una propiedad coligativa, depende del número total de partículas de soluto independientes disueltas en la solución y no de la naturaleza de dichas partículas. Es decir, una solución de 1 osmol/l de NaCl se comportará igual que una solución de 1 osmol/l de glucosa. Si la solución está compuesta por diferentes solutos (1, 2, ..., n), las contribuciones de todos ellos deben ser consideradas para calcular la osmolaridad de la solución:

$$\text{Osmolaridad de la solución} = \sum \phi_i \cdot i \cdot C = \phi_1 \cdot i_1 \cdot C_1 + \phi_2 \cdot i_2 \cdot C_2 + \dots + \phi_n \cdot i_n \cdot C_n$$

Cuando se comparan las osmolaridades de dos soluciones, se utilizan los términos **hiposmolar**, **isoosmolar** e **hiperosmolar** para indicar que una solución tiene una osmolaridad menor, igual o mayor que la otra, respectivamente.

En general, en fisiología celular se utiliza como unidad de osmolaridad los **miliosmoles** por litro (mOsm/L). En los mamíferos la osmolaridad del líquido intracelular es aproximadamente 290-300 mOsm/L.

Flujo osmótico en células animales

Los conceptos anteriores pueden aplicarse a nivel celular para predecir si se generarán flujos netos de agua entre los medios intra y extracelular separados por la membrana citoplasmática. La primera consideración que tenemos que hacer es que las membranas biológicas son permeables al agua, pero también poseen una permeabilidad selectiva para distintos tipos de solutos. Esto tendrá que ser analizado en cada caso, para definir si existe o no un gradiente de solutos que efectivamente genere una diferencia en la concentración de agua para dar lugar a un flujo neto de agua, es decir que sean solutos osmóticamente activos.

Es importante considerar la permeabilidad de la membrana para el soluto, porque si inicialmente el soluto está distribuido asimétricamente a los lados de la membrana citoplasmática, pero permea a través de ella, sufrirá un flujo neto hasta igualar su concentración dentro y fuera de la célula. Por lo tanto, su presencia no será efectiva para generar un gradiente de agua a los lados de la membrana. Es decir, un soluto que atraviesa libremente la membrana no generará un flujo neto de agua a través de la misma cuando el sistema alcance el estado estacionario, y por lo tanto dicho soluto no será osmóticamente activo.

Para **predecir si habrá flujo neto de agua entre el citosol de una célula y el medio extracelular**, en primer lugar se debe analizar si existe un gradiente efectivo de concentración de agua, comparando las osmolaridades de las soluciones intra y extracelular, pero considerando para esto únicamente a aquellos **solutos que no permean a través de la membrana** (como se indicó anteriormente, los solutos que permean no contribuyen al establecimiento de un flujo neto de agua en el estado estacionario).

Como se dijo previamente, las membranas biológicas no son membranas semipermeables sino que poseen una permeabilidad selectiva para los distintos solutos, por lo que el comportamiento osmótico de una célula es complejo y se define el término **tonicidad** para describir el comportamiento de una solución en contacto con células, generalmente considerando como membrana típica a la membrana citoplasmática del glóbulo rojo. Una **solución extracelular será:**

- **Isotónica:** si no existe flujo neto de agua a través de la membrana citoplasmática. En consecuencia, las células sumergidas en esta solución mantienen su volumen constante.
- **Hipertónica:** si existe flujo neto de agua desde el medio intracelular hacia la solución. En consecuencia las células sumergidas en esta solución disminuyen su volumen.
- **Hipotónica:** si existe flujo neto de agua desde la solución extracelular hacia el medio intracelular. En consecuencia, las células sumergidas en esta solución aumentan su volumen y pueden lisarse.

Es decir, la tonicidad de una solución se refiere a la capacidad que tiene esa solución para “atraer” agua desde otra solución de la que está separada por una membrana.

La **tonicidad** de una solución debe ser analizada en función de las propiedades de los solutos presentes, considerando su capacidad para atravesar la membrana. Por ejemplo, si la **osmolaridad “efectiva”** de una solución, es decir, el número de **osmoles de soluto no permeante por litro de solución**, es mayor a la osmolaridad del líquido intracelular (aprox. 300 mOsm/L de solutos no permeantes), entonces la solución extracelular “atraerá” agua desde el interior celular y por lo tanto será **hipertónica** con respecto a esa célula. Si el número de osmoles de soluto no permeantes por litro en la solución extracelular es menor que en el líquido intracelular, la solución extracelular será **hipotónica** respecto a la célula, y el flujo de agua irá desde la solución extracelular hacia el interior celular (el líquido intracelular será hipertónico con respecto a la solución extracelular) (Figura 2.8).¹⁰

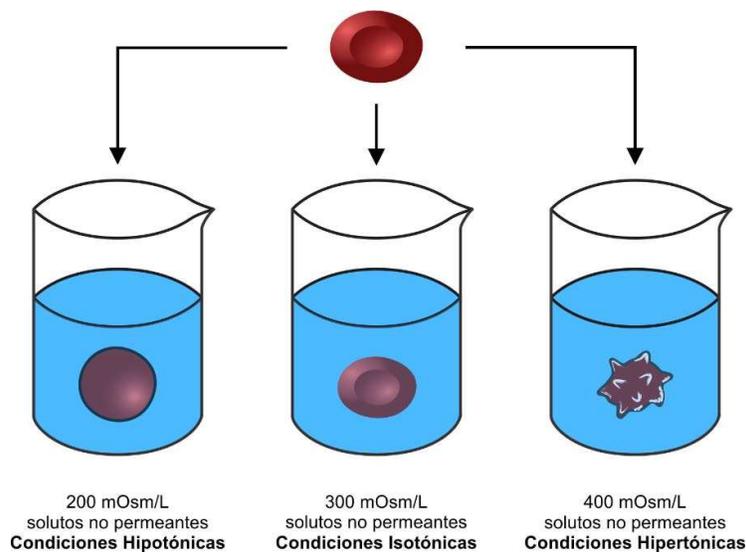


Figura 2.8: Esquema del comportamiento tónico que generan soluciones con distintas concentraciones de solutos no permeantes en contacto con un glóbulo rojo (considerado como una célula tipo).

¹⁰ Comentarios referidos a los fenómenos transitorios de osmosis: la presencia en la solución extracelular de solutos para los cuales las membranas biológicas presentan una permeabilidad relativa puede generar cambios transitorios en la magnitud del gradiente de concentración de agua y por lo tanto fenómenos osmóticos transitorios. Luego, el pasaje de soluto lleva a la disipación del gradiente de soluto y de agua y por lo tanto cesa el flujo neto de agua y el fenómeno osmótico. La velocidad de este proceso dependerá de la permeabilidad de la membrana al soluto con respecto a la del agua.

En muchas células, la permeabilidad al agua está enormemente aumentada gracias a la presencia de **acuaporinas**, proteínas transmembrana que presentan un poro central que permite el pasaje rápido de agua a favor de su gradiente de concentración (es decir, en contra del gradiente de concentración de los solutos no permeantes). Existen varios tipos de acuaporinas diferentes, cuya abundancia relativa varía entre los diferentes tipos celulares. En todas estas acuaporinas la estructura del poro es tal que el agua pasa en forma de una corriente continua de moléculas en fila, con una velocidad de hasta 10^9 moléculas por segundo. El poro presenta alta selectividad para el agua, y no permite el pasaje de iones.

2.3.2. Transporte pasivo de solutos polares no cargados

La ley de Fick, que ya aplicamos para describir flujos de solutos liposolubles a través de la membrana celular, puede aplicarse también para describir flujos de **solutos polares no cargados**. Dado que la permeabilidad de la bicapa lipídica a los solutos polares es muy baja, el flujo de estos solutos por difusión simple es muy pequeño, aún en presencia de grandes asimetrías en la concentración del soluto (Figura 2.9). Para atravesar la bicapa lipídica, las moléculas que están en la solución acuosa deben romper sus enlaces con las moléculas de agua que las rodean y disolverse en las colas no polares de los fosfolípidos. Las moléculas polares grandes (glucosa, aminoácidos) y los iones (H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , etc) forman interacciones muy fuertes con el medio acuoso fuera de la bicapa lipídica, por lo que les resulta energéticamente muy desfavorable romper estas interacciones para atravesar la región central hidrofóbica, ya que interaccionan pobremente con las colas no polares de los fosfolípidos. Como consecuencia, las membranas biológicas son prácticamente impermeables a este tipo de moléculas.

El flujo **pasivo** de **solutos polares no cargados** (glucosa, urea, aminoácidos, etc) a través de la membrana es facilitado por la presencia de proteínas transmembrana que transportan dichos solutos **a favor de su gradiente de concentración**. La presencia de proteínas transportadoras para el soluto permite aumentar enormemente el flujo de soluto a través de la membrana para un dado gradiente de concentración de soluto, haciéndolo mucho mayor que el predicho por la ley de Fick para dicho gradiente. La proteína transportadora presenta sitios de afinidad específicos para el soluto transportado, y la interacción entre ambos desencadena cambios de conformación en la proteína que facilitan el pasaje del soluto a través de la membrana celular. Estos sitios de afinidad se encuentran en dominios intra y extracelulares de la proteína y el flujo neto de soluto se generará desde el lugar donde el soluto se encuentra más concentrado (mayor probabilidad de unirse al sitio de afinidad) hacia donde está más diluido (menor probabilidad de unión del soluto a su sitio de afinidad). Este tipo de transporte pasivo se denomina **difusión facilitada**.

El flujo de un soluto específico a través de estos transportadores también es mayor cuanto mayor es el gradiente de concentración de dicho soluto a los lados de la membrana. Sin embargo, al haber un número limitado de tales transportadores en cada célula, a concentraciones

muy altas de soluto puede ocurrir que los transportadores se saturen (todos los transportadores están movilizando moléculas) por lo que incrementos mayores del gradiente de concentración no producen cambios en la magnitud del flujo de soluto (Figura 2.9).

Son ejemplos de este tipo de transportadores, que median flujos de sustancias polares no cargadas por difusión facilitada, los transportadores de glucosa GLUT2 (en hepatocitos, células beta pancreáticas), GLUT3 (en neuronas) y GLUT4 (en adipocitos, músculo esquelético), y el transportador de urea UT (en túbulos renales), entre otros.

En algunos casos, distintos solutos estructuralmente parecidos pueden competir por el uso de un mismo transportador.

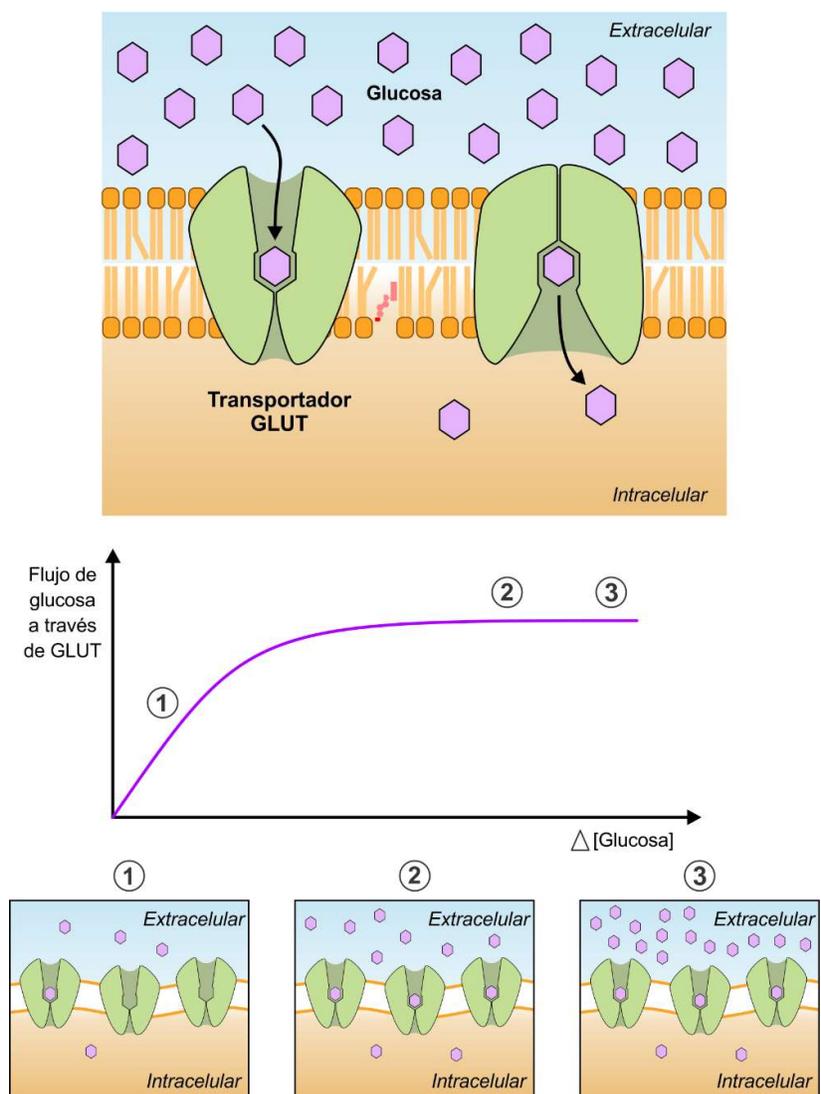


Figura 2.9: Representación esquemática del transporte pasivo de glucosa mediante **difusión facilitada**. El soluto se mueve, a favor de su gradiente de concentración (región 1 de la curva), a través de proteínas de membrana (transportadores específicos afines por la molécula de glucosa). Como el número de transportadores en cada célula es limitado, a concentraciones muy altas de glucosa los transportadores se saturan (región 2 de la curva, todos los transportadores están movilizando moléculas) por lo que incrementos mayores del gradiente de concentración de glucosa no producen cambios en la magnitud del flujo de soluto (región 3 de la curva).

2.4. Transporte pasivo de solutos cargados

Cuando los solutos que se transportan a través de la membrana **tienen carga**, el **transporte pasivo** (espontáneo) también ocurre en el sentido en el cual disminuye el potencial electroquímico (μ) del soluto transportado, sólo que en este caso μ dependerá del gradiente de concentración y del potencial de membrana (V_m), tal como se comentó en la sección 2.1:

$$\Delta\mu_{(i \rightarrow e)} = R.T.\ln(c_e/c_i) - z.F.V_m \quad (2)$$

El **transporte pasivo de iones inorgánicos** puede realizarse a través de proteínas transmembrana llamadas **canales iónicos**. Estos canales tienen un poro acuoso central por el que pasan los iones, y alternan de manera **estocástica** (al azar) entre al menos un estado conformacional cerrado (que no permite el pasaje de iones) y un estado conformacional abierto (que sí permite el pasaje de iones). Si bien el pasaje del estado abierto al cerrado y viceversa ocurre de manera totalmente estocástica, el tiempo que el canal pasa en promedio en cada uno de estos estados puede ser modificado por la acción de diferentes señales sobre la proteína que forma parte del canal: sustancias químicas (p. ej. neurotransmisores u hormonas que se unan a la proteína canal del lado extracelular o del lado intracelular), modificaciones covalentes (p. ej. fosforilación de un dominio intracelular) o cambios físicos (en la temperatura, en el grado de estiramiento mecánico de la membrana o en el potencial eléctrico de la membrana).

Los aminoácidos que están en contacto con el poro acuoso del canal generan interacciones no covalentes con los iones que lo atraviesan, determinando la selectividad iónica del canal. Esta propiedad de selectividad del canal puede ser altamente restrictiva en algunos casos (canales que permiten el pasaje sólo de Na^+ o sólo de K^+ o sólo de Ca^{2+} o sólo de Cl^-) o menos restrictiva (canales catiónicos inespecíficos que dejan pasar con la misma facilidad a los cationes Na^+ , K^+ y Ca^{2+}). En las membranas celulares hay muchos canales iónicos de distintos tipos. Coexisten canales selectivos de K^+ , de Ca^{2+} , de Na^+ , de Cl^- y canales menos selectivos (catiónicos o aniónicos) dependiendo del tipo celular y de su función.

Cuando el potencial electroquímico del soluto cargado es el mismo en ambos compartimentos, el pasaje de soluto desde adentro hacia afuera de la célula tiene $\Delta\mu = 0$ y el **solute está en equilibrio**. En esta situación, el flujo del soluto cargado debido a su gradiente de concentración es balanceado por un flujo de soluto en el sentido opuesto debido a la diferencia de potencial eléctrico de la membrana, de manera tal que no habrá movimiento pasivo neto de soluto en ningún sentido.

El valor del potencial de membrana en el cual un ion se encuentra en equilibrio puede obtenerse partir de la ecuación (2) haciendo $\Delta\mu = 0$, y queda expresado como:

$$V_m = (R.T/z.F) \cdot \ln(c_e/c_i)$$

A este valor de potencial se le llama potencial de equilibrio de Nernst (E_{eq}) para ese ion.

Como se verá en el capítulo 3, el movimiento de iones a través de los canales iónicos genera cambios en el potencial de membrana de la célula. Cuando el potencial de membrana (V_m) es diferente al potencial de equilibrio del ion (E_{eq}), el ion no estará en equilibrio y tenderá a moverse espontáneamente a través de la membrana en el sentido en el cual hace que el potencial de membrana se acerque a su propio potencial de equilibrio. A la diferencia entre el potencial de la membrana y el potencial de equilibrio de Nernst para un ion se le llama **Fuerza impulsora (FI)** para el movimiento neto de ese ion.

Estos conceptos se utilizarán al analizar la generación del potencial de membrana celular y sus variaciones, en el capítulo 3.

2.5. Transporte activo

En la sección 2.1 explicamos que el transporte de un determinado soluto a través de la membrana citoplasmática es termodinámicamente favorable, y por lo tanto puede ocurrir espontáneamente de manera pasiva, sólo cuando ese proceso de transporte tiene un $\Delta G < 0$ asociado (es decir, si el transporte se realiza a favor del gradiente de energía libre). En esta situación, la energía potencial almacenada como diferencia de potencial electroquímico del soluto es la que impulsa el movimiento pasivo del soluto desde un lado de la membrana hasta el otro.

Por otra parte, si el transporte del soluto a través de la membrana citoplasmática en determinado sentido es un proceso con un cambio de energía libre ΔG_1 mayor que cero, no podrá ocurrir de manera espontánea, por lo que el soluto no podrá transportarse en ese sentido de manera pasiva. Esto no quiere decir que el proceso no pueda llevarse a cabo de ninguna manera sino que, para que ocurra ese transporte del soluto, se requiere otro tipo de energía diferente de la del gradiente de potencial electroquímico de dicho soluto. Es decir, este proceso no espontáneo con un cambio de energía libre $\Delta G_1 > 0$ se puede acoplar a otro proceso que sí sea espontáneo y con un cambio de energía libre $\Delta G_2 < 0$, de manera tal que el proceso global tenga un cambio de energía libre total $\Delta G_{total} = (\Delta G_1 + \Delta G_2) < 0$. Esa energía que debe agregarse es energía metabólica, proveniente de la hidrólisis de ATP.

Entonces, el transporte de un soluto en contra de su gradiente de potencial electroquímico, sin importar si el soluto es cargado o no, requiere un **gasto de energía metabólica** (hidrólisis de ATP), ya que el transporte en este sentido no ocurrirá en forma espontánea. Este tipo de transporte que requiere energía metabólica para llevarse a cabo se denomina **transporte activo**.

Si la energía metabólica se usa en forma directa (la misma proteína que transporta al soluto es la que hidroliza el ATP) se denomina transporte activo primario. La proteína transportadora involucrada tiene actividad ATPasa, y muchas veces se la denomina **bomba**. Ejemplos: Ca^{2+} -ATPasas, K^+/H^+ ATPasa, Na^+/K^+ ATPasa, etc.

Los modelos que explican el funcionamiento de estos transportadores activos primarios consideran cambios conformacionales de las proteínas transportadoras asociados a procesos de fosforilación dependiente de ATP y a cambios de los sitios de unión específicos del soluto que se transporta, tanto en la afinidad por dicho soluto como en la orientación de los mismos (hacia adentro o hacia afuera de la célula). Imaginemos que es una proteína que transporta activamente el soluto X desde adentro de la célula hacia afuera, en contra del gradiente de potencial electroquímico de X. La proteína tiene un estado conformacional en el cual tiene un sitio de alta afinidad por X y un sitio con alta afinidad por el ATP, ambos del lado intracelular. Cuando la proteína une X y ATP en el dominio intracelular, hidroliza al ATP, liberando el ADP y fosforilando un aminoácido de la proteína. La fosforilación le causa a la proteína un cambio a otro estado conformacional en el cual el sitio de unión de X queda mirando hacia el lado extracelular, pero ahora con muy baja afinidad por X, por lo que X se disocia de la proteína y la proteína se desfosforila. La desfosforilación hace que la proteína vuelva al estado conformacional inicial, con alta afinidad por X y por ATP en el lado intracelular, y el ciclo se repite mientras haya ATP disponible (Figura 2.10). En el proceso global de este ejemplo una molécula de X pasó desde el líquido intracelular hasta el líquido extracelular y una molécula de ATP se transformó en ADP y fosfato libre. El requerimiento energético para que este mecanismo de transporte sea posible es que el cambio de energía libre asociado a la hidrólisis de ATP (de signo negativo) sea mayor en módulo que el cambio de energía libre asociado a la salida de X de la célula (de signo positivo), o lo que es lo mismo, que el cambio de energía libre del proceso global sea negativo.

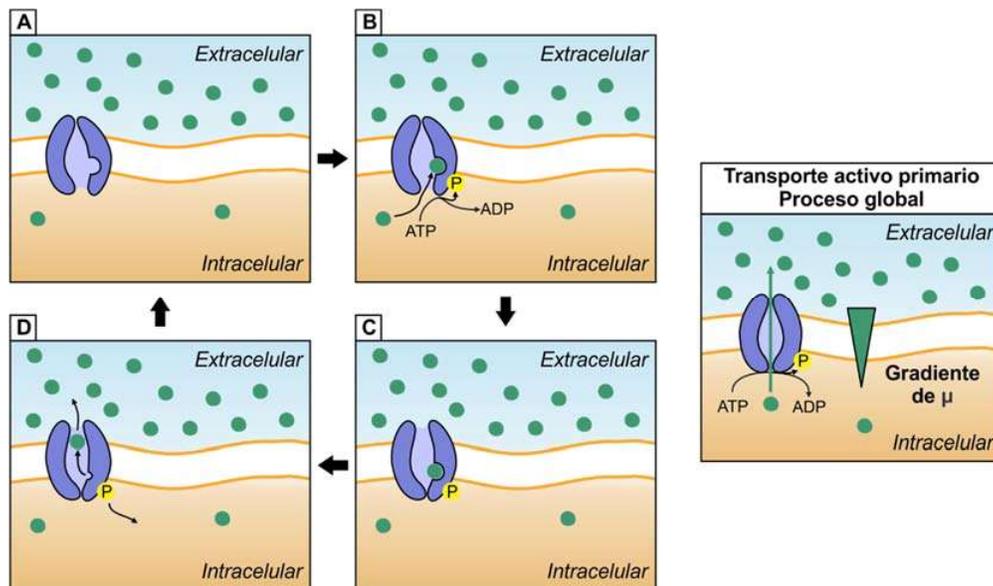


Figura 2.10: Representación esquemática del modelo que explica el funcionamiento de un transportador activo primario (transporte en contra de gradiente de potencial electroquímico): las proteínas transportadoras cambian su estado conformacional y su afinidad por el soluto en función de la unión específica del soluto que transporta y de procesos de fosforilación dependientes de ATP.

Si el uso de energía metabólica se realiza *en forma indirecta*, es decir, cuando la proteína que realiza el transporte no es la proteína que hidroliza el ATP, se denomina **transporte activo secundario**. En este caso la energía potencial de un soluto A que, utilizando una proteína de membrana, se mueve espontáneamente a favor de su gradiente de potencial electroquímico, sirve para transportar otro soluto B en contra de su gradiente de potencial electroquímico. Este transporte requiere que previamente un transportador activo primario haya generado el gradiente de potencial electroquímico del soluto A.

Ejemplos de transporte activo secundario: $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+/\text{aminoácido}$; $\text{Na}^+/\text{glucosa}$; $\text{Na}^+/\text{glutamato}$, $\text{Na}^+/\text{serotonina}$, Na^+/I^- etc.

Para que el transporte activo secundario pueda llevarse a cabo, es necesario que el cambio de energía libre total (es decir, el asociado al soluto que se mueve espontáneamente más el asociado al soluto que se transporta activamente) sea negativo. El acoplamiento entre ambos procesos es realizado por una proteína transportadora, que posee sitios de afinidad para ambos solutos que están expuestos tanto al lado intracelular como al lado extracelular. La unión de los solutos a sus sitios de afinidad específicos provoca cambios de conformación de la proteína, que exponen los sitios de unión hacia el otro lado de la membrana y sufren cambios de afinidad que favorecen la disociación de los solutos del sitio de unión en la proteína, de manera similar al modelo explicado para el transporte activo primario (Figura 2.11).

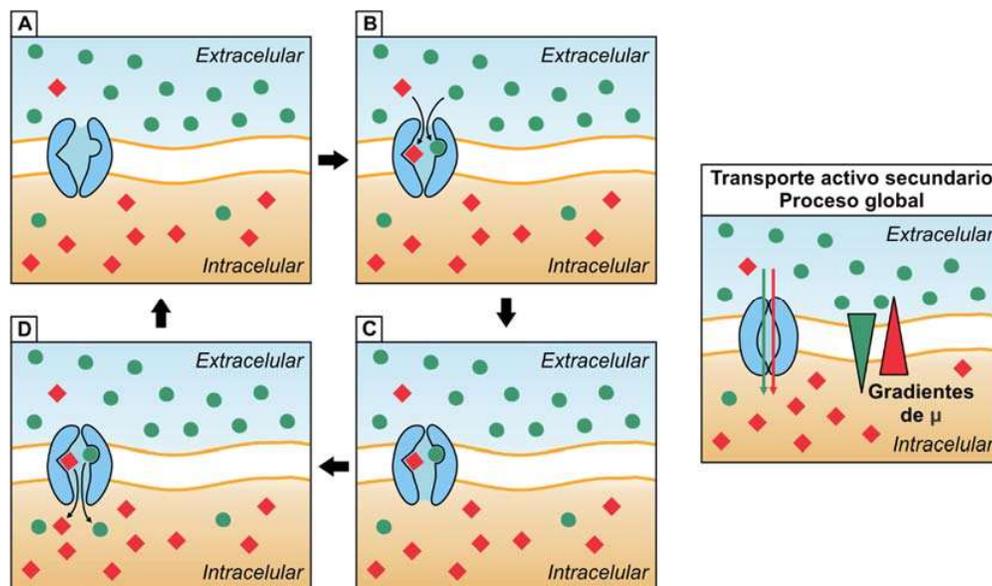


Figura 2.11: Representación esquemática del modelo que explica el funcionamiento de un transportador activo secundario (transporte de un soluto a favor del gradiente y otro en contra del gradiente de potencial electroquímico). El movimiento de soluto es realizado por una proteína transportadora, que posee sitios de afinidad para ambos solutos que están expuestos tanto al lado intracelular como al lado extracelular. La unión de los solutos a sus sitios de afinidad específicos provoca cambios de conformación de la proteína, que exponen los sitios de unión hacia el otro lado de la membrana y sufren cambios de afinidad que favorecen la disociación de los solutos del sitio de unión en la proteína.

Los transportadores activos secundarios pueden generar flujos de solutos diferentes en **el mismo sentido**, por ejemplo, desde afuera hacia adentro de la célula y se denominan

cotransportadores o simportadores (Ej.: $\text{Cl}^-/\text{Na}^+/\text{K}^+$ y $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$) o en sentidos opuestos, y se denominan *contratransportadores o antiportadores o intercambiadores* (Ej.: Na^+/H^+ , $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ y $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$).

Para los dos tipos de transportadores activos (primarios y secundarios), si en el transporte no hay flujo neto de cargas el mecanismo es **electroneutro**. En cambio, si existe flujo neto de cargas el mecanismo es **electrogénico** (en este caso el funcionamiento del transportador dependerá del potencial de membrana celular).

Ejemplos de Transportes activos primarios

Bomba de Na^+/K^+ : intercambia Na^+ y K^+ , ambos en contra de su gradiente electroquímico. Genera los gradientes de Na^+ y K^+ que existen a ambos lados de la membrana en todas las células. Estequiometría 3:2.

Bomba de H^+/K^+ : intercambia H^+ y K^+ , ambos en contra de su gradiente electroquímico. Importante en la secreción de ácido por las células parietales del estómago.

Bomba de Ca^{2+} : proteína que utiliza ATP para mover Ca^{2+} en contra del gradiente electroquímico al interior de las organelas o hacia el exterior celular. Importante en la relajación del músculo.

Bomba V: transporta H^+ desde el citosol a las organelas intracelulares.

Transportadores ABC: extruyen cationes o drogas desde el interior celular.

Ejemplos de Transportes activos secundarios

a- Cotransportadores dependientes del gradiente electroquímico de Na^+ :

$\text{Na}^+/\text{glucosa}$: estequiometrías conocidas 1:1 y 2:1. Utilizado en absorción de glucosa en el intestino y en el túbulo renal.

$\text{Na}^+/\text{aminoácido}$: estequiometría conocida 1:1. Utilizado en absorción de aminoácidos en el intestino y en el túbulo renal.

$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$: participa en la regulación del pH intracelular. Estequiometrías conocidas 1:1 (electroneutro) y también 1:2 y 1:3 (electrogénicos).

$\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$: estequiometría conocida 1:1:2 (electroneutro), acumula K^+ y Cl^- intracelular, hay 3 variantes, son sensibles a los diuréticos furosemida y bumetanide.

Na^+/Cl^- : estequiometría 1:1 (electroneutro); sensible al diurético tiazida.

b- Cotransportadores independientes del gradiente de Na^+ : K^+/Cl^- , $\text{H}^+/\text{Oligopéptidos}$, entre otros

c- Cotransportadores de neurotransmisores:

1. Dependientes de Na^+ y de Cl^- :

- (GAT) transportador de ácido gama-amino butírico (GABA), neurotransmisor inhibitorio
- (PROT) transportador de prolina, (GLYT) transportador de glicina, (SERT) transportador de serotonina (5-HT), (NET) transportador de noradrenalina (NE), (DAT) transportador de dopamina

2. Transportador de glutamato: acoplado al ingreso de 3 iones Na^+ y un H^+ y la salida de un ion K^+

3. Transportadores de péptidos, en algunos tipos celulares, acoplados al transporte de H⁺

d- Contrantransportadores dependientes del gradiente electroquímico de Na⁺:

Na⁺/Ca²⁺: estequiometrías: 3:1, electrogénico (la más común) y 3:2. Existen 3 isoformas para este intercambiador: NCX1 (en músculo cardíaco, músculo liso y riñón); NCX2 y NCX3 (en cerebro y músculo esquelético). Muy importante en células contráctiles, involucrado en la contracción (modo reverso, entra calcio) y la relajación (modo directo, extruye calcio).

Na⁺/H⁺: estequiometría 1:1, su activación aumenta el pH intracelular.

Na⁺/Cl⁻/HCO₃⁻ : estequiometría 1:1:2 (electroneuro), aumenta el pH intracelular.

e- Contrantransportadores independientes del gradiente de Na⁺:

Cl⁻/HCO₃⁻ : estequiometría 1:1. Produce un eflujo de HCO₃⁻ importante en la regulación del pH intracelular y un influjo de Cl⁻ que participa en la regulación del volumen celular.

No mediado	Mediado				
Difusión simple	Acuaporina	Canal iónico	Difusión facilitada	Transporte activo 2dario	Transporte activo 1ario
Pasivo				Activo	

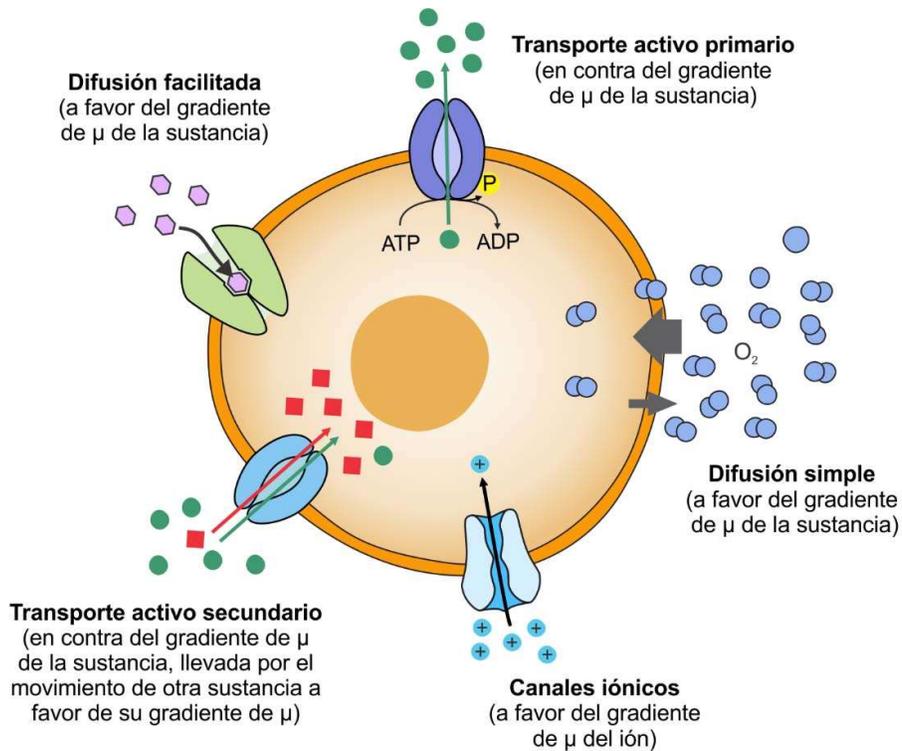


Figura 2.12: Esquema de los distintos tipos de transporte de solutos (mediados y no mediados) a nivel celular

2.6 Regulación de los mecanismos de transporte

Los organismos tienen diferentes maneras de regular el transporte de sustancias a través de la membrana citoplasmática:

- a través de **cambios en la actividad de los transportadores**: las proteínas transportadoras podrían sufrir modificaciones covalentes (fosforilación, acilación, glucosilación) y/o unirse transitoriamente a distintos ligandos intracelulares (AMPc, GMPc, Ca^{2+}) o extracelulares (hormonas, neurotransmisores, etc) que induzcan un cambio en su conformación, de manera tal que se modifique su actividad.
- a través de **cambios en el número de transportadores** presentes en la membrana celular: para las sustancias de naturaleza hidrofílica, la presencia de transportadores en la membrana es fundamental para lograr un flujo de materia compatible con los requerimientos celulares. El número de transportadores puede variar en respuesta a la presencia de ciertas hormonas, por ej: en el túbulo renal el número de aquaporinas aumenta en presencia de la hormona antidiurética (ADH) y el número de Na^+/K^+ ATPasas aumenta en presencia de aldosterona; en el músculo esquelético el número de transportadores GLUT4 aumenta en presencia de insulina, etc.
- a través de **cambios en la estructura química del soluto** de interés: la molécula sufre un cambio que hace que disminuya su permeabilidad a través de la membrana (por ej: la glucosa que ingresa a la célula por transportadores GLUT es fosforilada intracelularmente, lo que impide que vuelva a salir por dichos transportadores; en el hígado las sustancias de desecho de naturaleza lipofílica son unidas covalentemente a grupos polares, lo que las vuelve más hidrofílicas e impide que puedan atravesar libremente la membrana de las células, facilitando su eliminación mediante transportadores específicos que las vuelcan a la bilis).

2.7 Transporte mediante vesículas

Las células pueden transportar sustancias entre el medio intracelular y el medio extracelular mediante la utilización de vesículas. Para esto, una porción de la membrana rodea completamente el material a transportar y se cierra alrededor de él formando una vesícula. Cuando esta vesícula se fusiona con otro sistema de membranas, se liberan los materiales atrapados en ella. El transporte de material en vesículas hacia el interior celular se denomina **endocitosis**, y el transporte de material en vesículas hacia el exterior celular se denomina **exocitosis**.

2.7.1 Endocitosis

Mediante la endocitosis, las células internalizan materiales desde el medio extracelular utilizando una vesícula formada a partir de la membrana plasmática. Este mecanismo es útil para internalizar materiales con un tamaño demasiado grande para ser transportados a través de la membrana mediante difusión simple o utilizando transportadores proteicos. Los procesos de endocitosis se clasifican en tres grandes grupos: endocitosis mediada por receptor, pinocitosis y fagocitosis. Estos procesos difieren en la naturaleza del material transportado, el grado de especificidad y los tipos celulares que las realizan.

a- Endocitosis mediada por receptor

Es un proceso altamente selectivo, en el cual la sustancia que se va a transportar debe primero unirse a un receptor proteico localizado en una región específica en la superficie de la célula, y luego de esta unión se forma la vesícula que internaliza la sustancia en la célula.

Los dos tipos principales de estructura involucrada en la formación de la vesícula endocítica son los huecos de membrana recubiertos con clatrina y las caveolas.

En el caso de las vesículas recubiertas con clatrina, hay regiones bien delimitadas de la membrana celular que están recubiertas en su lado citoplasmático por la proteína clatrina, y en el lado extracelular tienen anclados un gran número de receptores para las distintas sustancias a transportar. Cuando los ligandos presentes en el medio extracelular se unen a sus receptores específicos, la membrana se invagina y se forma un bolsillo que contiene los ligandos unidos a sus receptores; luego el bolsillo se cierra y se forma una vesícula recubierta con clatrina que se separa de la superficie celular (Figura 2.13) y se fusiona con otras vesículas intracelulares como los lisosomas. Este mecanismo está presente en todos los tipos celulares, y es utilizado para internalizar lipoproteínas de baja densidad (ricas en colesterol), transferrina, vitamina B12, hormonas y anticuerpos, entre otras sustancias.

Las caveolas son depresiones en forma de cueva que se observan en regiones de la membrana celular especialmente ricas en colesterol y glicolípidos, y que presentan la proteína caveolina. La formación de la vesícula también es desencadenada por la unión de diferentes ligandos a sus receptores específicos en la caveola. Son muy abundantes en células de músculo liso, células endoteliales, fibroblastos y adipocitos.

b- Fagocitosis

Este proceso es llevado a cabo por un número limitado de tipos celulares involucrados en la defensa del organismo y en la reparación de tejidos (macrófagos, neutrófilos, células dendríticas). Se utiliza para la internalización de material particulado de gran tamaño (bacterias, virus, restos celulares, fragmentos de células apoptóticas, partículas de polvo, etc). Cuando la célula fagocítica encuentra el material particulado, extiende prolongaciones (seudópodos) que rodean a la partícula y la atrapan formando una gran vesícula que luego es internalizada en la célula (Figura 2.13).

c- Pinocitosis

Es un proceso no selectivo en el cual la membrana sufre una invaginación que atrapa una porción del líquido extracelular y luego se cierra formando una vesícula pequeña que se separa de la superficie (Figura 2.13).

En todos los casos, luego de la endocitosis la vesícula endocítica o endosoma se fusiona con otra vesícula intracelular, que gracias a su bajo pH produce la separación de los ligandos de sus receptores. La membrana con los receptores puede ser reciclada hacia la superficie de la célula, y el endosoma con el material internalizado se fusiona con lisosomas. Los lisosomas en su interior tienen pH ácido (menor a pH 5) y poseen una gran variedad de enzimas líticas que degradan los diferentes componentes del material internalizado contenido en la vesícula, transformándolo en monosacáridos, aminoácidos y lípidos simples, que son transportados al citosol a través de la membrana del lisosoma.

2.7.2 Exocitosis

Es el transporte de material contenido en vesículas hacia el exterior celular. Se utiliza como mecanismo de secreción de proteínas, que se exportan en vesículas desde el aparato de Golgi y se almacenan en dichas vesículas en el interior de la célula secretora hasta que ésta recibe una señal para la secreción. Cuando llega dicha señal, la vesícula es transportada hacia las cercanías de la membrana plasmática, la membrana de la vesícula se fusiona con la membrana plasmática y se libera el contenido de la vesícula hacia el líquido extracelular. Este mecanismo es utilizado por células endócrinas para secretar hormonas de naturaleza proteica y por células de glándulas exócrinas para secretar enzimas. También las neuronas utilizan este mecanismo para liberar neurotransmisores (de naturaleza proteica y no proteica). (Figura 2.13)

La fusión de las membranas de las vesículas con la membrana celular requiere que ambas membranas se acerquen y que se produzca la interacción de ciertas proteínas que recubren la vesícula con otras proteínas presentes en la cara citoplasmática de la membrana celular. Esta interacción entre las proteínas, a su vez, requiere generalmente un incremento de los niveles de Ca^{2+} en el citoplasma en las inmediaciones de la vesícula. Numerosos estímulos que desencadenan la secreción de material almacenado en vesículas en distintos tipos celulares tienen como paso final común, previo a la secreción, el aumento de la concentración de Ca^{2+} en la célula.

En células que actúan como límite entre dos compartimentos corporales, como las células endoteliales, puede ocurrir el proceso de **transcitosis**, el cual involucra la endocitosis de material en un lado de la célula, el movimiento de las vesículas con material a través de la célula y la exocitosis del material del otro lado de la célula.

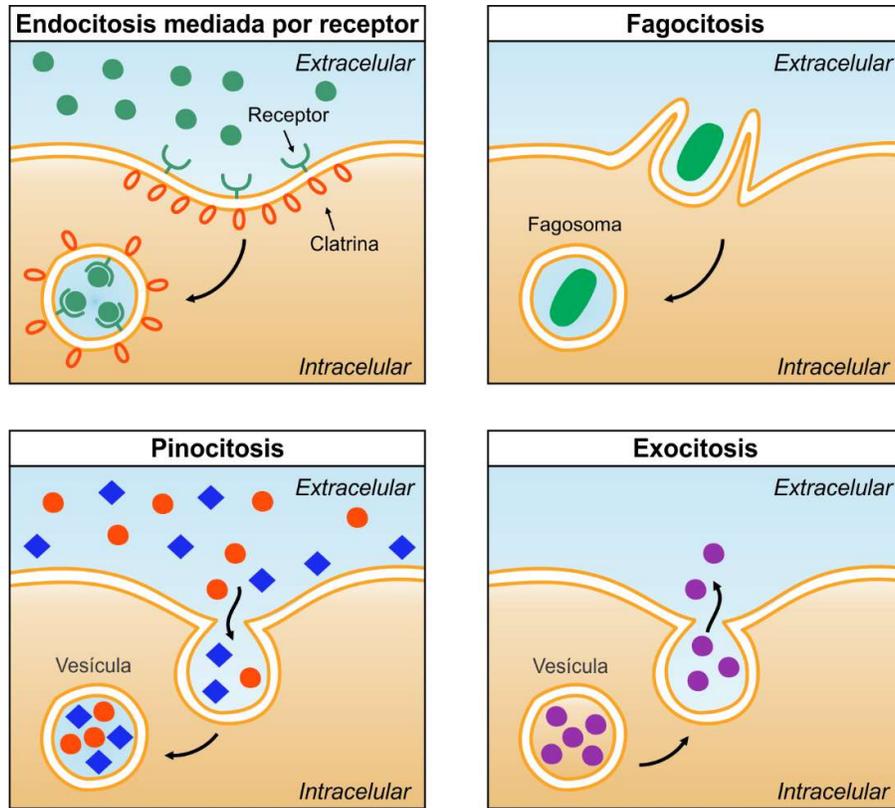


Figura 2.13: Esquema de los distintos tipos de transporte mediante vesículas a nivel celular