

Transporte de moléculas pequeñas a través de la membrana y base iónica de la excitabilidad de la membrana

11

Principios de transporte a través de membrana

Proteínas transportadoras y transporte activo a través de membrana

Canales iónicos y propiedades eléctricas de las membranas

Debido a su interior hidrofóbico, la bicapa lipídica de una célula constituye una barrera altamente impermeable a la mayoría de las moléculas polares. Esta función de barrera es de una importancia crucial ya que permite a la célula mantener en su citosol ciertos solutos a concentraciones diferentes a las que están en el fluido extracelular y en cada uno de los compartimientos intracelulares envueltos por una membrana. Sin embargo, para poder utilizar esta barrera las células han tenido que desarrollar sistemas para transportar específicamente moléculas hidrosolubles a través de sus membranas y así poder ingerir los nutrientes esenciales, excretar los productos residuales del metabolismo y regular las concentraciones intracelulares de iones. El transporte de iones inorgánicos y de pequeñas moléculas orgánicas hidrosolubles a través de la bicapa lipídica se consigue mediante proteínas transmembrana especializadas, cada una de las cuales es responsable de la transferencia de una molécula o un ion específicos o de un grupo de moléculas o iones afines. Las células también pueden transportar a través de sus membranas macromoléculas e incluso grandes partículas, pero los mecanismos que intervienen en estos casos son muy diferentes de los utilizados para transferir pequeñas moléculas, por lo que se estudian en los Capítulos 12 y 13. La importancia del transporte a través de las membranas queda puesta de manifiesto por el hecho de que casi el 20% de los genes identificados hasta ahora en *E. coli* están asociados a estos procesos de transporte.

Iniciamos esta capítulo considerando algunos principios generales que guiarán nuestra discusión sobre la manera en que las pequeñas moléculas cruzan las membranas celulares. Por lo tanto consideraremos las dos clases principales de proteínas de membrana que median el transporte: las *proteínas transportadoras*, las cuales tienen partes móviles que les permiten transportar moléculas específicas a través de la membrana, y las *proteínas de canal*, que forman un estrecho poro hidrofóbico que permite el desplazamiento pasivo de pequeños iones inorgánicos. Las proteínas transportadoras pueden acoplarse a una fuente de energía y catalizan un transporte activo; la combinación de una permeabilidad selectiva pasiva y un transporte activo genera grandes diferencias de composición del citosol respecto al fluido extracelular (Tabla 11-1) o al fluido del interior de los orgánulos envueltos en membrana. Concretamente, generando diferencias de concentración iónica a través de la bicapa lipídica, las membranas celulares son capaces de almacenar energía potencial en forma de gradientes electroquímicos, los cuales se utilizan para impulsar varios procesos de transporte, para transportar señales eléctricas en células excitables eléctricamente y (en mitocondrias, cloroplastos y bacterias) para fabricar la mayor parte

Tabla 11-1 Comparación de las concentraciones iónicas en el interior y el exterior de una célula de mamífero

Componente	Concentración intracelular (mM)	Concentración extracelular (mM)
Cationes		
Na ⁺	5-15	145
K ⁺	140	5
Mg ²⁺	0,5	1-2
Ca ²⁺	10 ⁻⁴	1-2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,2} M o pH 7,2)	4 × 10 ⁻⁵ (10 ^{-7,4} M o pH 7,4)
Aniones*		
Cl ⁻	5-15	110

* Puesto que la célula debe tener la misma cantidad de cargas + que - (es decir, ha de ser eléctricamente neutra), además de Cl⁻ la célula contiene muchos otros aniones que no se presentan en esta tabla; de hecho, la mayoría de los constituyentes celulares están cargados negativamente (HCO₃⁻, PO₄³⁻, proteínas, ácidos nucleicos, metabolitos que contienen grupos fosfato y carboxilo, etc.). Las concentraciones dadas para Ca²⁺ y Mg²⁺ corresponden a las de los iones libres. En las células, hay un total de aproximadamente 20 mM Mg²⁺ y 1-2 mM Ca²⁺ pero en su mayor parte ambos cationes están unidos a proteínas y a otras sustancias; en el caso del Ca²⁺, una elevada cantidad se encuentra almacenada en varios orgánulos.

del ATP celular. Centramos la discusión principalmente en el transporte a través de la membrana plasmática pero, como discutiremos en capítulos posteriores, en las otras membranas de la célula eucariota existen mecanismos similares a los que describiremos. En la última parte de este capítulo centramos la atención principalmente en las funciones de los canales iónicos de las células nerviosas, ya que es en estas células donde las proteínas de canal adquieren el máximo nivel de sofisticación, permitiendo que redes de células nerviosas desarrollen las extraordinarias características de las que es capaz el cerebro humano.

Principios de transporte a través de membrana¹

Iniciamos esta sección describiendo las propiedades de permeabilidad de bicapas lipídicas sintéticas, libres de proteína. A continuación, introducimos algunos términos utilizados para describir los diversos tipos de transporte a través de membrana y algunas estrategias para caracterizar las proteínas y los procesos que participan en ellos.

Las bicapas lipídicas libres de proteína son altamente impermeables a los iones²

Con tiempo suficiente, prácticamente cualquier molécula acabará difundiendo a través de una bicapa lipídica libre de proteína a favor de su gradiente de concentración. Sin embargo, la velocidad a la que se produce esta difusión varía enormemente, dependiendo en parte del tamaño de la molécula y, principalmente, de su solubilidad relativa en aceite. En general, cuanto menor es la molécula y cuanto más soluble en aceite (es decir, cuanto más hidrofóbica o no polar es) más rápidamente difunde a través de una bicapa. Las moléculas *pequeñas no polares* tales como el O₂ (32 daltons) y el CO₂ (44 daltons), se disuelven fácilmente en las bicapas lipídicas y por lo tanto difunden con rapidez a través de ellas. Las moléculas *polares no cargadas* también difunden rápidamente a través de una bicapa si su tamaño es suficientemente reducido. Por ejemplo, el agua (18 daltons), el etanol (46 daltons) y la urea (60 daltons) atraviesan rápidamente una bicapa; el glicerol (92 daltons) lo hace con menor rapidez, y la glucosa (180 daltons) prácticamente no la atraviesa (Figura 11-1).

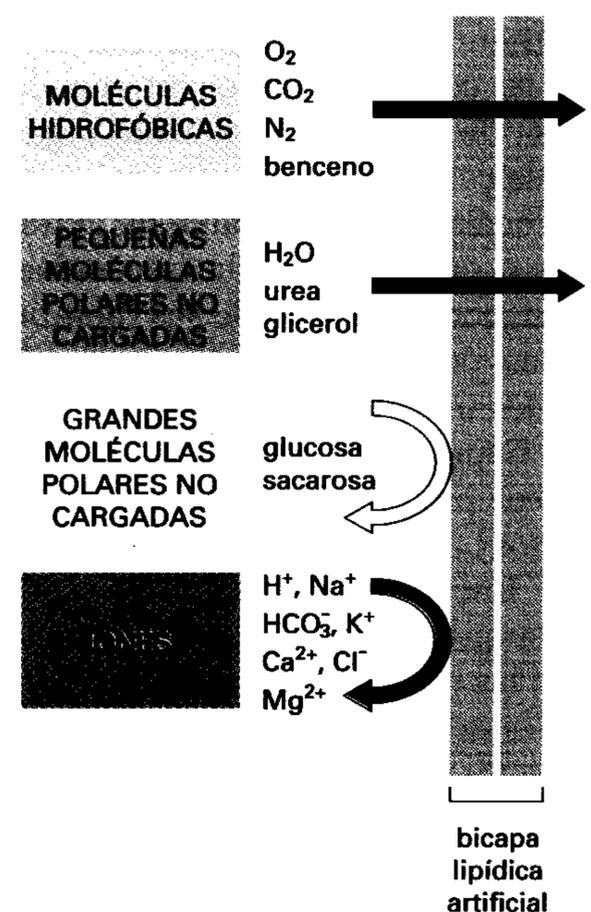


Figura 11-1 Permeabilidad relativa de una bicapa lipídica sintética a diferentes tipos de moléculas. Cuanto menor sea la molécula y, lo que es más importante, cuanto menor sea el número de enlaces de hidrógeno que establezca con el agua, más rápidamente difundirá a través de la membrana.

**MOLÉCULAS
HIDROFÓBICAS**

O₂
CO₂
N₂
benceno



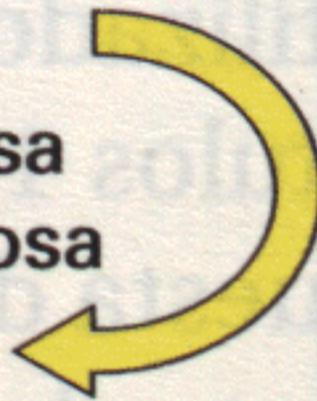
**PEQUEÑAS
MOLÉCULAS
POLARES NO
CARGADAS**

H₂O
urea
glicerol



**GRANDES
MOLÉCULAS
POLARES NO
CARGADAS**

glucosa
sacarosa



IONES

H⁺, Na⁺
HCO₃⁻, K⁺
Ca²⁺, Cl⁻
Mg²⁺



bicapa
lipídica
artificial

Por el contrario, las bicapas lipídicas son altamente impermeables a todas las moléculas *cargadas* (iones), por muy pequeñas que sean: la carga y el elevado grado de hidratación de tales moléculas les impiden penetrar en la fase hidrocarbonada de la bicapa. Así, las bicapas sintéticas son 10^9 veces más permeables al agua que a los iones, incluso a los de reducido tamaño como el Na^+ o el K^+ (Figura 11-2).

Existen dos clases principales de proteínas de transporte a través de membrana: proteínas transportadoras y proteínas de canal¹

Como las bicapas lipídicas sintéticas, las membranas celulares permiten el paso por simple difusión del agua y de las moléculas no polares. Sin embargo, las membranas celulares también son permeables a diversas moléculas polares que atraviesan con gran lentitud las bicapas lipídicas sintéticas, tales como iones, azúcares, aminoácidos, nucleótidos y muchos metabolitos celulares. Unas proteínas de membrana especiales son las responsables de la transferencia de estos solutos a través de las membranas celulares. Estas proteínas, que reciben el nombre de **proteínas de transporte a través de membrana**, se presentan en muchas formas y en todos los tipos de membranas biológicas. Cada proteína está destinada al transporte de un tipo particular de moléculas (tales como iones, azúcares o aminoácidos) y con frecuencia únicamente de una cierta especie molecular de la clase. La especificidad de las proteínas de transporte fue sugerida por primera vez a mediados de los años 1950 gracias a unos estudios en los que se encontró que unas mutaciones en un solo gen suprimían la capacidad de las bacterias para transportar unos azúcares determinados a través de su membrana plasmática. Actualmente se han descubierto mutaciones similares en personas que sufren diversas enfermedades hereditarias, las cuales afectan al transporte de un soluto determinado en el riñón, en el intestino o en ambos tejidos. Por ejemplo, los individuos que presentan la enfermedad genética *cistinuria* son incapaces de transportar ciertos aminoácidos (incluyendo la cistina, el dímero formado por la unión, a través de un enlace disulfuro, de dos cisteínas) tanto desde la orina como desde el intestino hacia la sangre; de la acumulación de cistina en la orina resulta la formación de "piedras" de cistina en los riñones.

Todas las proteínas de transporte a través de membrana que han sido estudiadas con detalle suficiente para poder establecer su orientación en la membrana, son proteínas transmembrana multipaso –es decir, su cadena polipeptídica atraviesa la membrana varias veces. Se cree que estas proteínas establecen una vía continua de proteína a través de la membrana, permitiendo así el transporte de solutos específicos sin que lleguen a entrar en contacto directo con el interior hidrofóbico de la bicapa lipídica.

Existen dos clases mayoritarias de proteínas de transporte de membranas: las *proteínas transportadoras* y las *proteínas de canal*. Las **proteínas transportadoras** (también denominadas *transportadores*, *carriers* o *permeasas*) se unen al soluto específico que va a ser transportado y sufren una serie de cambios conformacionales que permiten la transferencia del soluto a través de la membrana. Por otro lado, las **proteínas de canal** no se unen al soluto sino que forman poros hidrofílicos que atraviesan la bicapa lipídica; cuando estos poros están abiertos permiten que determinados solutos (habitualmente iones inorgánicos de tamaño y carga apropiados) puedan pasar a su través, y por lo tanto atravesar la membrana (Figura 11-3). No sorprende que el transporte a través de las proteínas de canal se produzca a velocidad mucho mayor que a través de proteínas de transporte.

El transporte activo está mediado por proteínas transportadoras acopladas a una fuente energética^{1,3}

Todas las proteínas de canal y muchas proteínas de transporte tan sólo permiten que los solutos atraviesen la membrana de forma pasiva ("cuesta abajo") –un proceso llamado **transporte pasivo** (o **difusión facilitada**). Si la molécula

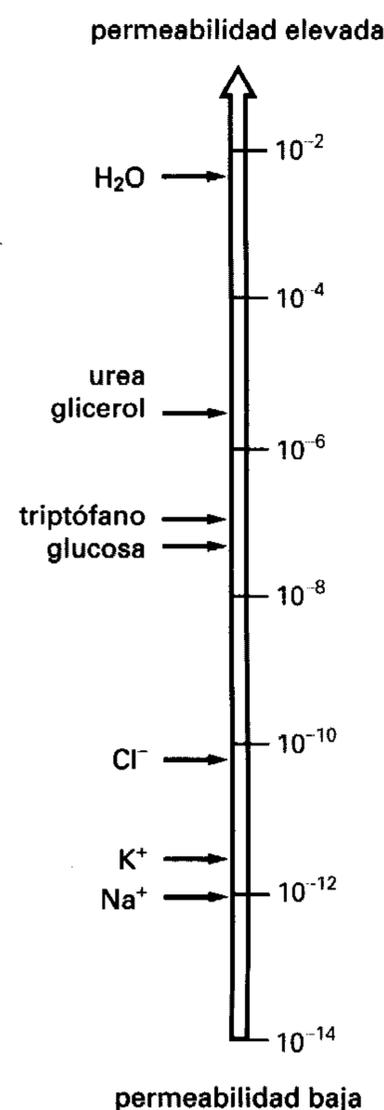
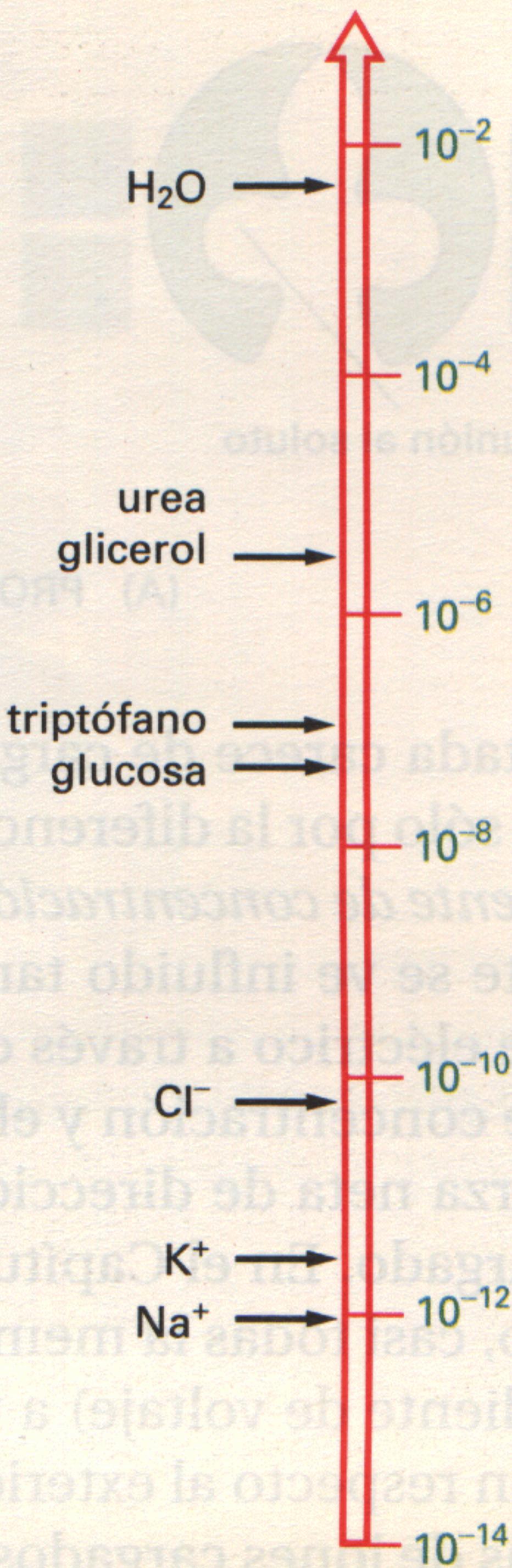
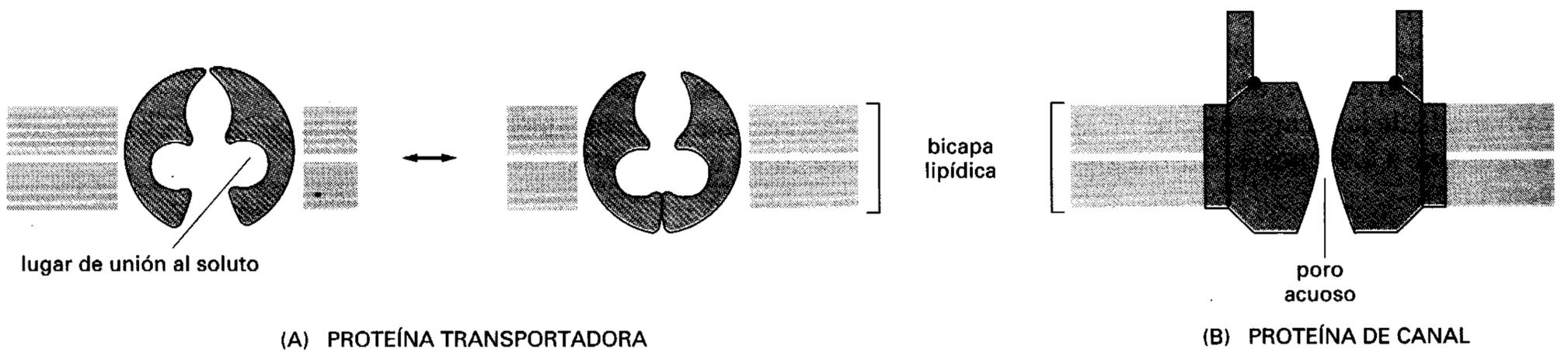


Figura 11-2 Coeficientes de permeabilidad (cm/seg) para el paso de diversas moléculas a través de bicapas lipídicas sintéticas. El flujo de un soluto a través de la bicapa es directamente proporcional a la diferencia de sus concentraciones a los dos lados de la membrana. Multiplicando esta diferencia de concentración (en moles/cm³) por el coeficiente de permeabilidad (cm/seg) se obtiene el flujo del soluto en moles por segundo por centímetro cuadrado de membrana. Por ejemplo, una diferencia de concentración de triptófano de 10^{-4} moles/cm³ ($10^{-4}/10^{-3}$ L = 0,1 M) produciría un flujo de 10^{-4} mol/cm³ \times 10^{-7} cm/seg = 10^{-11} moles/seg a través de 1 cm² de membrana, es decir, de 6×10^4 moléculas/seg a través de 1 μm^2 de membrana.

permeabilidad elevada



permeabilidad baja



transportada carece de carga, la dirección del transporte pasivo viene determinada tan sólo por la diferencia de concentración a los dos lados de la membrana (su *gradiente de concentración*). Sin embargo, si el soluto tiene una carga neta, su transporte se ve influido tanto por su gradiente de concentración como por el gradiente eléctrico a través de la membrana (el *potencial de membrana*). El gradiente de concentración y el gradiente eléctrico pueden combinarse para calcular la fuerza neta de dirección del flujo, o **gradiente electroquímico**, para cada soluto cargado. En el Capítulo 14 discutimos este aspecto más detalladamente. De hecho, casi todas las membranas plasmáticas tienen una diferencia de potencial (gradiente de voltaje) a través de ellas, siendo habitualmente el interior negativo con respecto al exterior. Esta diferencia de potencial favorece la entrada a las células de iones cargados positivamente y se opone a la entrada de iones cargados negativamente.

Las células también necesitan proteínas de transporte que bombeen activamente ciertos solutos a través de la membrana en contra de su gradiente electroquímico ("cuesta arriba"); este proceso, conocido como **transporte activo**, está siempre mediado por proteínas transportadoras. En el transporte activo la actividad bombeadora de la proteína de transporte es direccional ya que, tal como explicaremos más adelante, está acoplada a una fuente de energía metabólica como la hidrólisis del ATP o a un gradiente iónico. Así pues, el transporte mediado por proteínas de transporte puede ser activo o pasivo, mientras que el transporte mediado por proteínas de canal siempre es pasivo (Figura 11-4).

La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado el estudio de las proteínas de transporte a través de membrana⁴

Debido a la dificultad de obtener cristales tridimensionales de las proteínas que atraviesan la membrana varias veces para estudios de cristalografía de rayos X, no conocemos la estructura tridimensional detallada de las proteínas de transporte a través de membrana a las que nos referiremos. Por ello, no entendemos los mecanismos moleculares que estas proteínas utilizan para transportar deter-

Figura 11-3 Visión esquemática de dos clases de proteínas de transporte a través de membrana. Se cree que las *proteínas transportadoras* alternan dos conformaciones de forma que el lugar de unión al soluto es accesible secuencialmente desde un lado de la bicapa, y luego desde el otro lado. Por el contrario, una *proteína de canal* forma un poro lleno de agua que atraviesa la bicapa, a través del cual pueden difundir determinados iones.

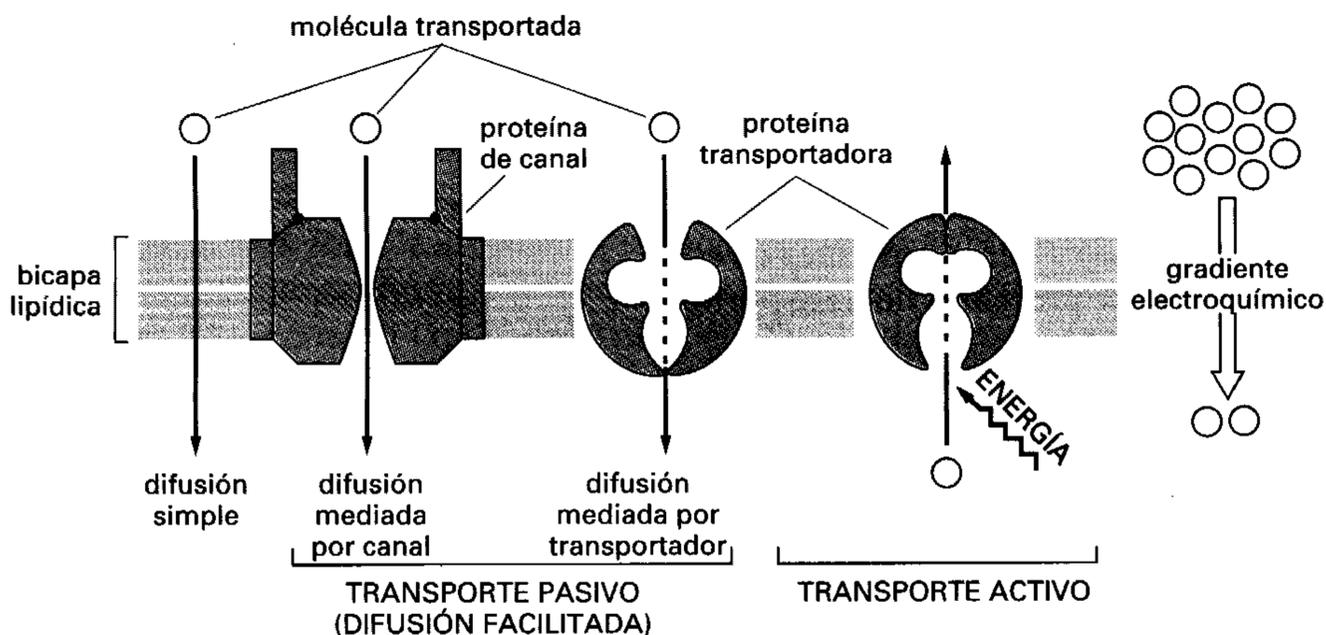
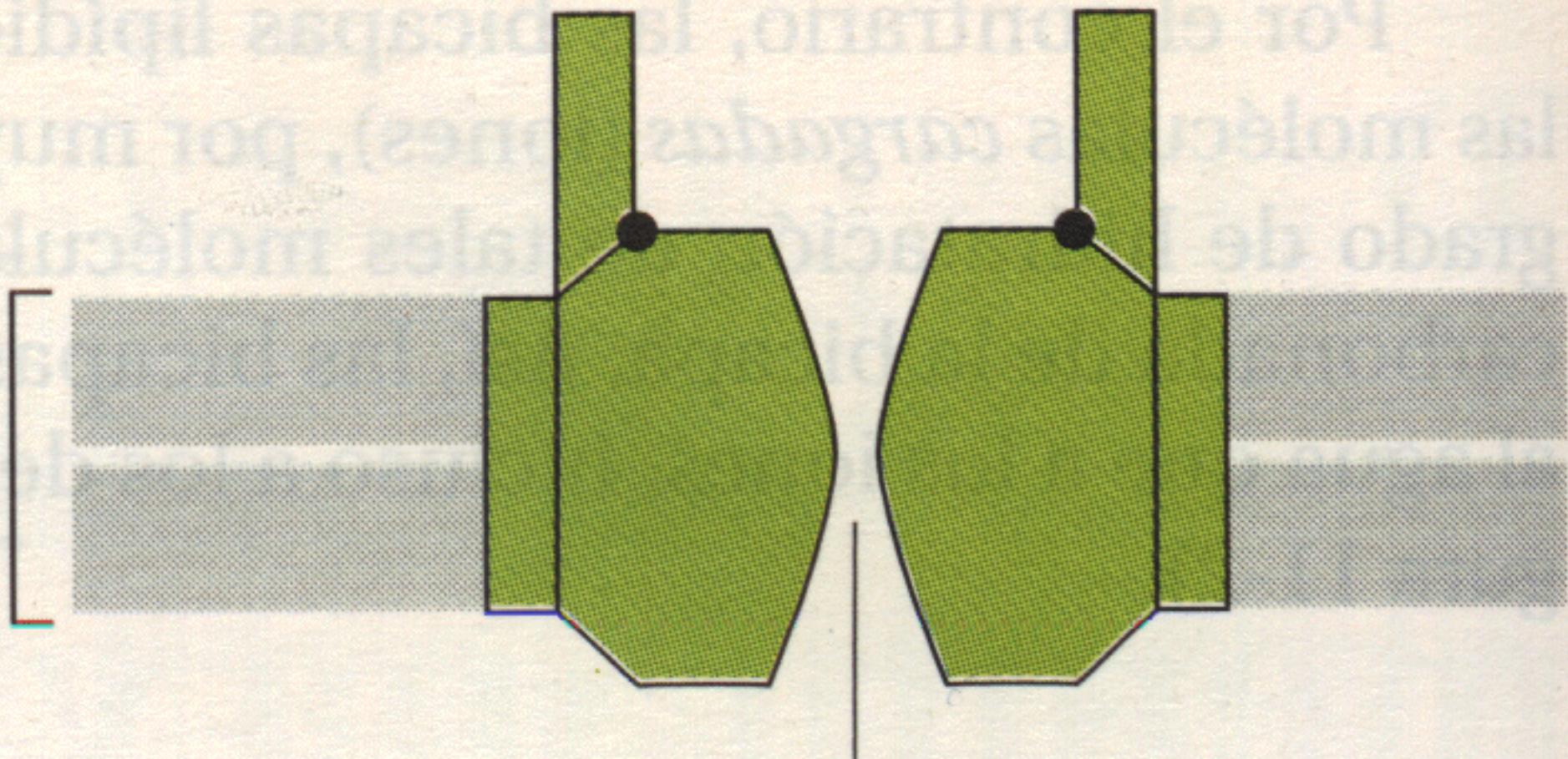
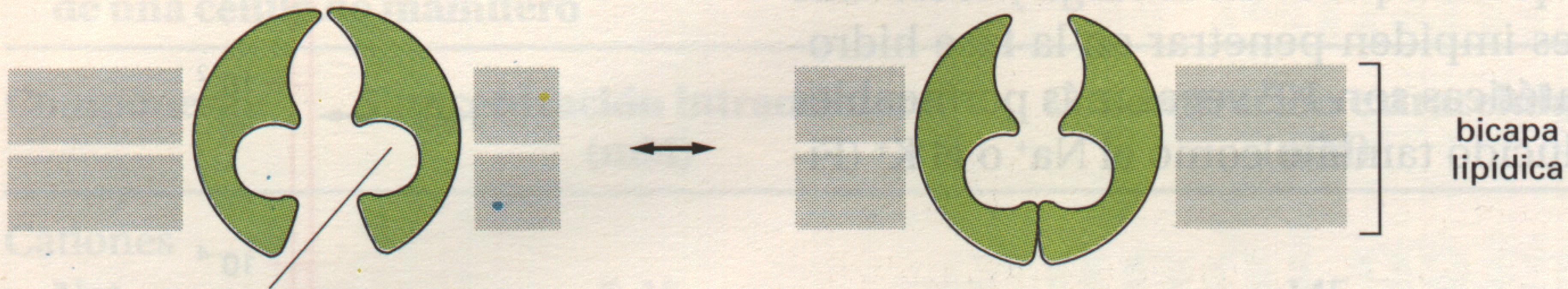


Figura 11-4 Comparación entre un transporte pasivo a favor de un gradiente electroquímico y un transporte activo en contra de un gradiente electroquímico. Mientras que la difusión simple y el transporte pasivo mediados por proteínas de transporte (difusión facilitada) ocurren espontáneamente, el transporte activo requiere de una entrada de energía metabólica. Únicamente las proteínas transportadoras pueden realizar transporte activo, mientras que tanto las proteínas transportadoras como las proteínas de canal pueden mediar difusión facilitada.



poro
acuoso

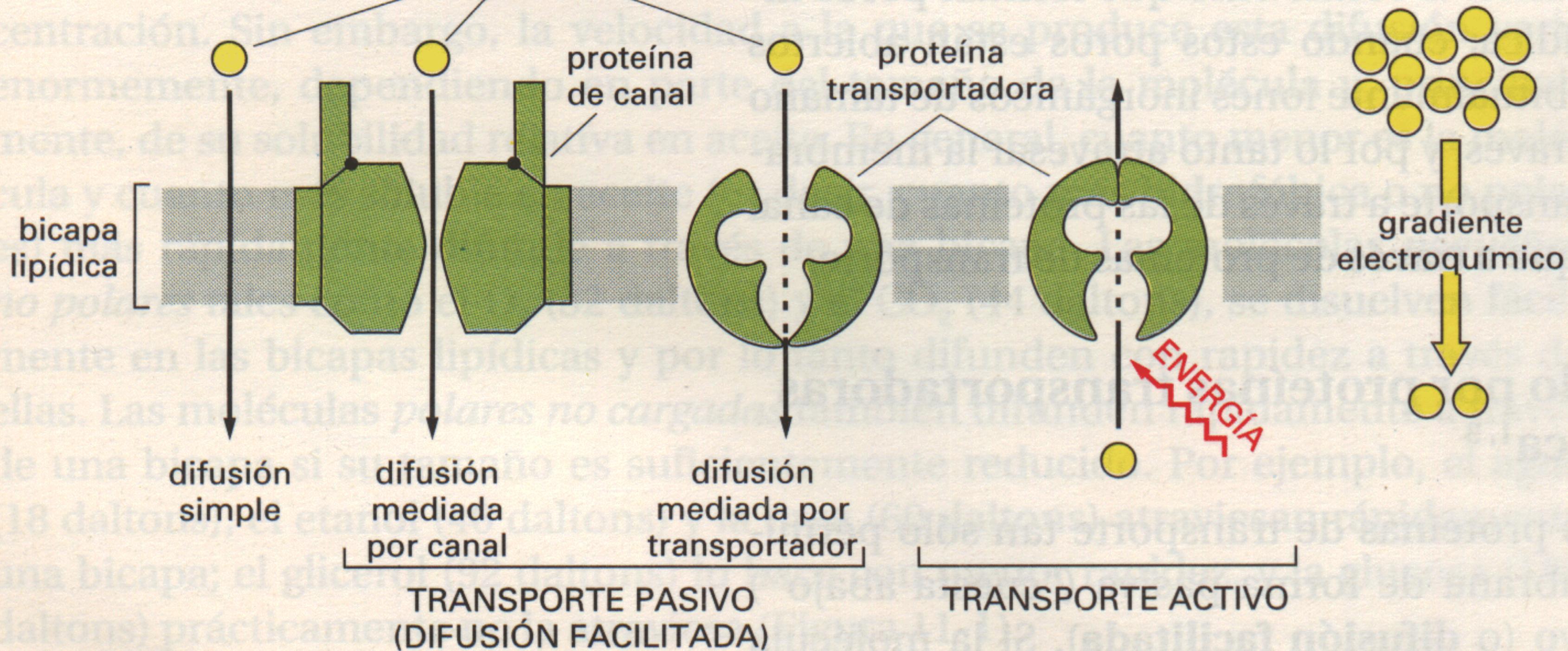
(B) PROTEÍNA DE CANAL



lugar de unión al soluto

(A) PROTEÍNA TRANSPORTADORA

molécula transportada



minados solutos a través de la bicapa lipídica. Sin embargo mediante otros métodos se han obtenido importantes datos, especialmente mediante la tecnología del DNA recombinante.

Una vez se ha clonado y secuenciado el DNA que codifica una proteína transportadora, se puede deducir la secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica y se puede estimar el número de hélices α transmembrana mediante el análisis de gráficos de hidropatía (se discute en el Capítulo 10). Se pueden utilizar anticuerpos desarrollados contra péptidos sintéticos que corresponden a determinados segmentos de la cadena polipeptídica para determinar qué segmentos se hallan expuestos a uno y otro lado de la membrana. Además, se puede alterar la secuencia de DNA que codifica zonas específicas de la proteína mediante mutagénesis específica de lugar, y el mRNA mutante correspondiente se puede inyectar a células de mamífero mantenidas en cultivo o a oocitos de *Xenopus*, donde dirigirá la síntesis de proteínas mutantes cuya actividad transportadora puede entonces estudiarse fácilmente. De esta forma, se pueden identificar los residuos de aminoácido y los segmentos de proteína que son funcionalmente importantes. Sin embargo, los resultados de estos estudios deben interpretarse con precaución ya que a veces una pequeña carga en una zona de la proteína puede tener grandes efectos en la conformación de toda la proteína y, por lo tanto, en su función, incluso aunque la zona alterada no participe directamente en la función estudiada. Sin embargo, como veremos, esta estrategia ha resultado ser de una gran utilidad.

La tecnología del DNA recombinante también ha contribuido de otra manera al conocimiento de las proteínas de transporte a través de membrana. Cuando se ha aislado el DNA que codifica una proteína, generalmente resulta relativamente sencillo utilizar este DNA como sonda para aislar secuencias de DNA relacionadas que codifican proteínas homólogas. Estos estudios han revelado que el transporte a través de membrana está mediado por un número sorprendentemente pequeño de familias de proteínas, cuyos miembros tienen estructuras relacionadas entre sí y, probablemente, mecanismos de acción relacionados y un origen evolutivo común. Sin embargo una familia determinada puede contener un gran número de proteínas diferentes, e incluso a menudo los miembros de una familia pueden presentar muchas variantes (denominadas *isoformas*) producidas tanto por genes diferentes a través de transcritos de RNA procesados de forma diferente a partir de un mismo gen. En algunos casos las isoformas difieren en su actividad transportadora, en su momento de expresión durante el desarrollo, en su distribución tisular, en su localización en la célula o en cualquier combinación de estas propiedades. En otros casos, el sentido de esta heterogeneidad resulta poco claro.

Antes de discutir con detalle las diferentes clases de proteínas transportadoras a través de membrana y los conocimientos conseguidos mediante estas técnicas, consideraremos brevemente otra clase de moléculas que pueden incrementar selectivamente la permeabilidad de las bicapas lipídicas. Estas moléculas proporcionan un ejemplo sencillo de alguno de los principios discutidos anteriormente.

Se pueden utilizar ionóforos como herramientas para incrementar la permeabilidad de las membranas a determinados iones⁵

Los **ionóforos** son pequeñas moléculas hidrofóbicas que se disuelven en las bicapas lipídicas e incrementan su permeabilidad a determinados iones inorgánicos. La mayoría de ellos están sintetizados por microorganismos (probablemente como armas contra competidores o contra presas). Son ampliamente utilizados por los biólogos celulares en estudios sobre membranas sintéticas, células o orgánulos celulares, como herramientas para incrementar la permeabilidad iónica de la membrana. Existen dos clases de ionóforos –**transportadores móviles** y **formadores de canal** (Figura 11-5). Ambos tipos actúan rodeando la carga del ion transportado de forma que pueda atravesar el interior hidrofóbico

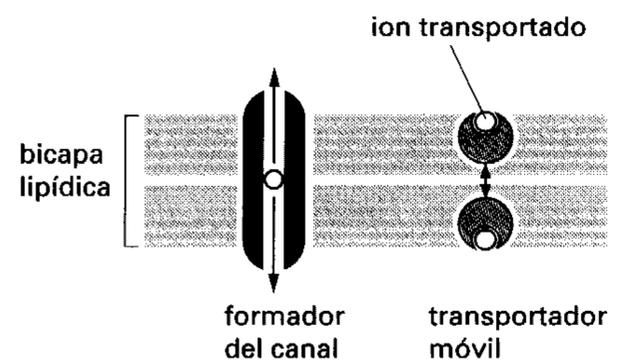
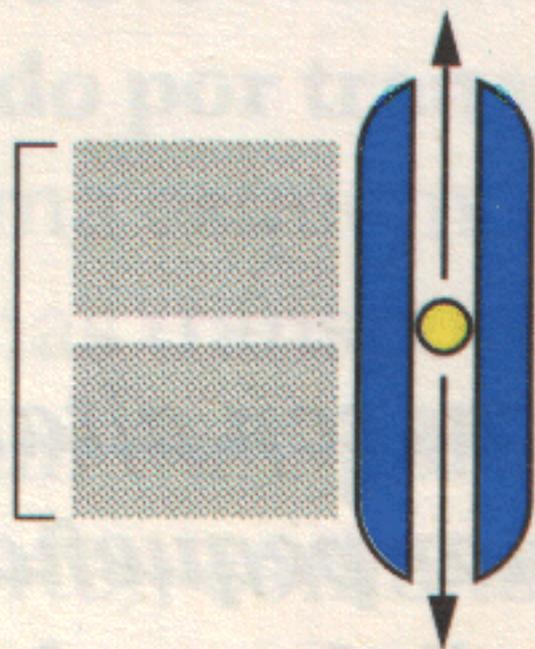


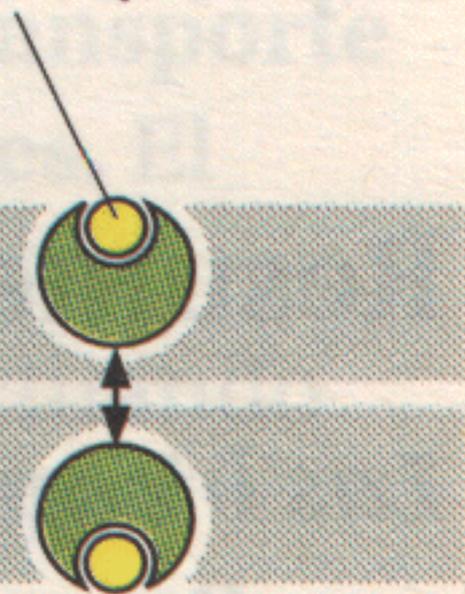
Figura 11-5 Un transportador iónico móvil y un ionóforo formador de canal. En ambos casos el flujo neto de iones se produce únicamente a favor de gradiente electroquímico.

bicapa
lipídica



formador
del canal

ion transportado



transportador
móvil

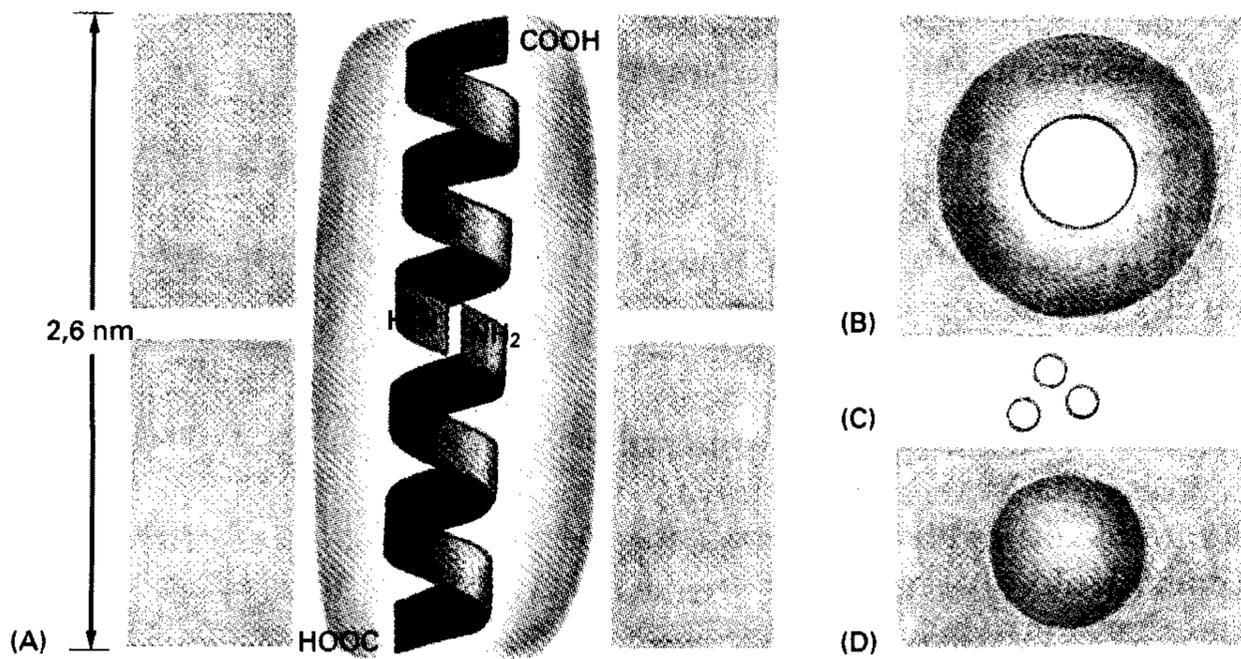


Figura 11-6 Estructura de un canal de gramicidina. El canal está formado por la asociación de dos péptidos idénticos por sus extremos amino terminales. Cada cadena está plegada formando una hélice β como una lámina β enrollada. (A) Vista lateral y (B) vista superior. Los esqueletos peptídicos que rodean el canal se muestran en *azul* y en *verde oscuro* mientras que en *verde claro* se representa el espacio ocupado por las cadenas laterales hidrofóbicas que sobresalen. La bicapa lipídica se muestra en *gris*. (C) muestra el tamaño de los iones K^+ no hidratados mientras que (D) muestra una vista superior de una hélice α que atraviesa la membrana, para compararla con la hélice β . Nótese que la hélice α no forma poro, de manera que por sí sola no puede formar canal. (De S. Weinstein, B.A. Wallace, E.R. Blout, J.S. Morrow y W. Veatch, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76:4230, 1979.)

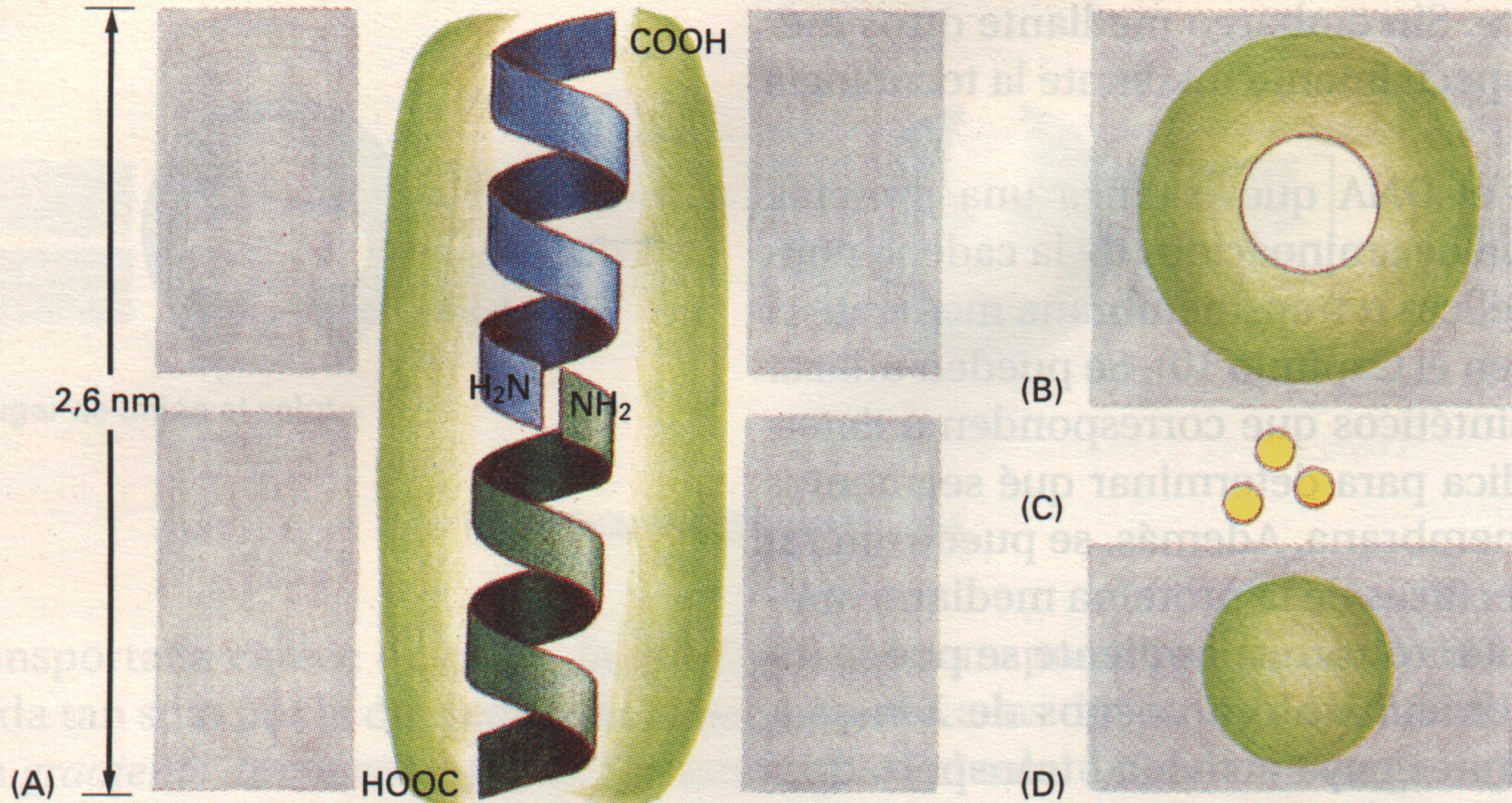
de la bicapa lipídica. Dado que los ionóforos no están acoplados a fuentes de energía, sólo permiten el movimiento neto de iones a favor de su gradiente electroquímico.

La *valinomicina* es un ejemplo de un transportador móvil. Se trata de un polímero en forma de anillo que transporta K^+ a favor de su gradiente electroquímico, tomando K^+ de un lado de la membrana, difundiendo a través de la bicapa, y liberando el K^+ al otro. El ionóforo *A23187* constituye otro ejemplo de transportador iónico móvil, pero transporta cationes divalentes como Ca^{2+} y Mg^{2+} . Normalmente actúa como una lanzadera intercambiadora de iones, transportando dos H^+ hacia el exterior de la célula por cada catión divalente que transporta hacia el interior celular. Cuando una célula se expone a *A23187*, el Ca^{2+} entra al citosol desde el líquido extracelular a favor de su enorme gradiente electroquímico. Por ello, este ionóforo se utiliza ampliamente en biología celular para incrementar las concentraciones de Ca^{2+} libre en el citosol, mimetizando así algunos mecanismos de señalización celular (discutidos en el Capítulo 15).

La *gramicidina A* es un ejemplo de ionóforo formador de canal. Se trata de un péptido lineal de únicamente 15 residuos de aminoácido, todos ellos con una cadena lateral hidrofóbica, por lo que constituye el canal iónico más sencillo y mejor caracterizado de los conocidos. Se cree que dos moléculas de gramicidina se unen, cola con cola, a través de la bicapa lipídica formando un canal transmembrana (Figura 11-6), que permite selectivamente que los iones monovalentes fluyan a favor de sus gradientes electroquímicos. Estos dímeros son inestables y se están formando y disociando constantemente, de forma que el tiempo medio de apertura de estos canales es alrededor de 1 segundo. Con un elevado gradiente electroquímico la gramicidina A puede transportar unos 20 000 cationes por canal abierto cada milisegundo, lo cual es 1000 veces más de lo que puede transportar una molécula de transportador móvil en el mismo tiempo. La gramicidina es sintetizada por ciertas bacterias, quizás para matar otros microorganismos colapsando los gradientes de H^+ , Na^+ y K^+ , que son esenciales para la supervivencia de la célula; ha sido utilizada con éxito como antibiótico.

Resumen

Las bicapas lipídicas son altamente impermeables a la mayoría de moléculas polares. Para transportar pequeñas moléculas solubles en agua hacia el interior o hacia el exterior de las células o de los compartimientos intracelulares delimitados por membrana, las membranas celulares contienen varias proteínas de transporte, cada una de las cuales es responsable de transferir un determinado soluto o clase de solutos a través de la membrana. Existen dos clases de proteínas de transporte a través de membrana –transportadoras y de canal; ambas forman vías continuas de transporte a través de la bicapa lipídica. Mientras que el transporte mediado por proteínas transportadoras puede ser activo o pasivo, el mediado por proteínas de



canal es siempre pasivo. Los ionóforos, pequeñas moléculas hidrofóbicas sintetizadas por microorganismos, pueden utilizarse en estudios de células u orgánulos como herramientas para incrementar la permeabilidad de las membranas celulares a determinados iones inorgánicos.

Proteínas transportadoras y transporte activo a través de membrana^{1, 6}

El proceso por el cual una proteína transportadora transfiere una molécula de soluto a través de la bicapa lipídica se parece a una reacción enzima-substrato, y los transportadores implicados en este proceso se comportan como enzimas especializadas ligadas a la membrana. Cada tipo de proteína transportadora tiene uno o más lugares de unión específicos para su soluto (substrato). Cuando el transportador está saturado (es decir, cuando todos estos lugares de unión están ocupados), la velocidad de transporte es máxima. Esta velocidad, indicada como V_{max} , es característica del transportador. Cada proteína transportadora tiene además una constante característica de unión para su soluto, K_M , igual a la concentración del soluto cuando la velocidad de transporte es la mitad del valor máximo (Figura 11-7). Como con las enzimas, la unión del soluto puede ser bloqueada específicamente por inhibidores competitivos (que compiten por el mismo lugar de unión y que pueden ser transportados o no por el transportador) o por inhibidores no competitivos (que se unen a algún otro lugar y que alteran específicamente la estructura del transportador). Sin embargo, a diferencia de las reacciones enzima-substrato normales, el soluto transportado no suele ser modificado covalentemente por la proteína transportadora.

Algunas proteínas de transporte simplemente transportan un soluto de un lado a otro de la membrana a una velocidad determinada por la V_{max} y la K_M ; reciben el nombre de **transportadores sencillos** o **uniportes** (uniporters). Otras, de cinética más compleja, actúan como **transportadores acoplados** (coupled transporters), en los que la transferencia de un soluto depende de la transferencia simultánea o secuencial de un segundo soluto, ya sea en la misma dirección [**transporte unidireccional** o **simporte** (symport)] o en dirección opuesta [**transporte de intercambio** o **antiporte** (antiport)] (Figura 11-8). La mayoría de las células animales, por ejemplo, toman glucosa del fluido extracelular, donde la concentración del azúcar es alta en relación a la del citosol, mediante un transporte *pasivo* a través de transportadores de glucosa que actúan como transportadores sencillos. Existen varios de estos transportadores de glucosa, todos ellos pertenecientes a la misma familia de proteínas homólogas con 12 posibles hélices α transmembrana. En cambio, las células intestinales y las renales captan glucosa de la luz del intestino y de los túbulos del riñón respectivamente, donde la concentración del azúcar es baja. Estas células transportan la glucosa a través de su membrana plasmática mediante un transporte unidireccional con Na^+ . Como se

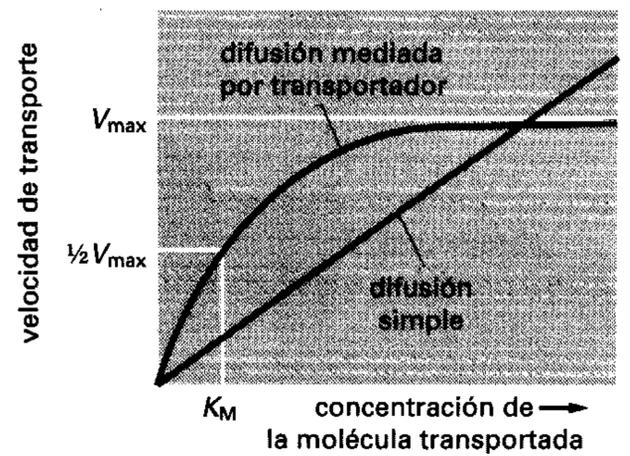


Figura 11-7 Comparación entre la cinética de la difusión simple y la de difusión mediada por transportador. Mientras que la velocidad de la primera siempre es proporcional a la concentración de soluto, la de la segunda alcanza un máximo (V_{max}) cuando la proteína de transporte está saturada. Cuando el transporte se produce a mitad de la velocidad máxima, la concentración de soluto se aproxima a la constante de unión (K_M) del transportador para el soluto y es análoga a la K_M de una enzima para su substrato. La gráfica se refiere a un transportador que transporta un soluto; las cinéticas del transporte acoplado de dos o más solutos (véase el texto) son más complejas, aunque muestran básicamente el mismo fenómeno.

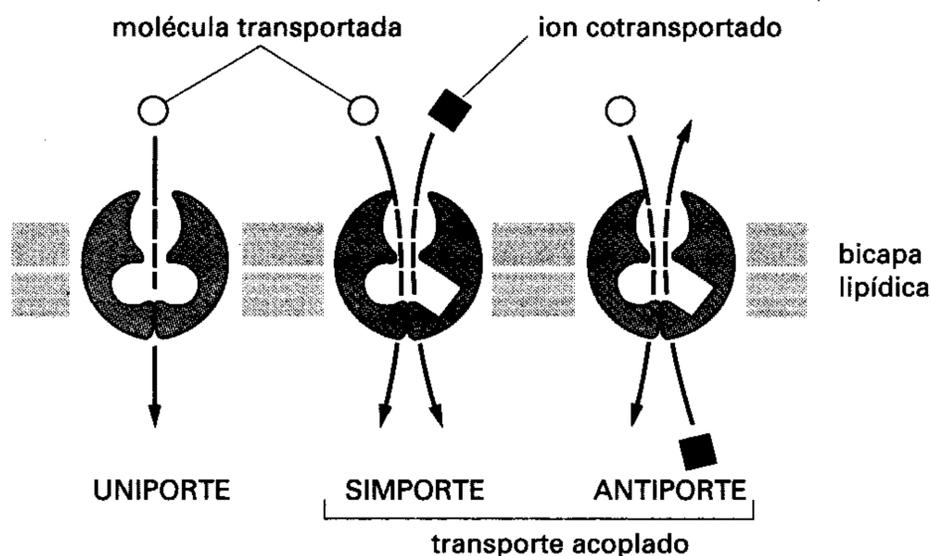
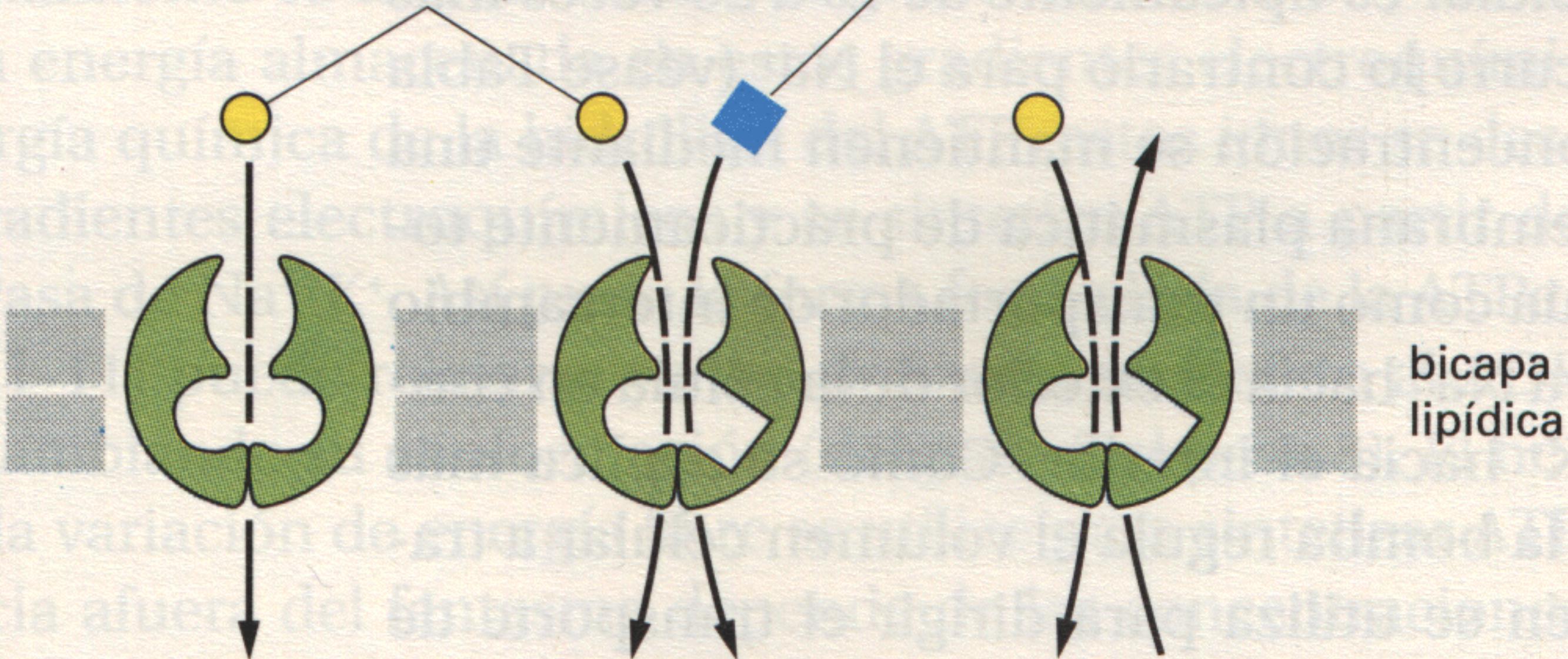


Figura 11-8 Tres tipos de transporte mediado por transportadores. El diagrama esquemático muestra proteínas transportadoras actuando como un transportador sencillo (uniporte), como un transportador acoplado unidireccional (simporte) y como un transportador acoplado de intercambio (antiporte).

molécula transportada

ion cotransportado



UNIPORTE

SIMPORTE

ANTIPORTE

transporte acoplado

velocidad de transporte

V_{\max}

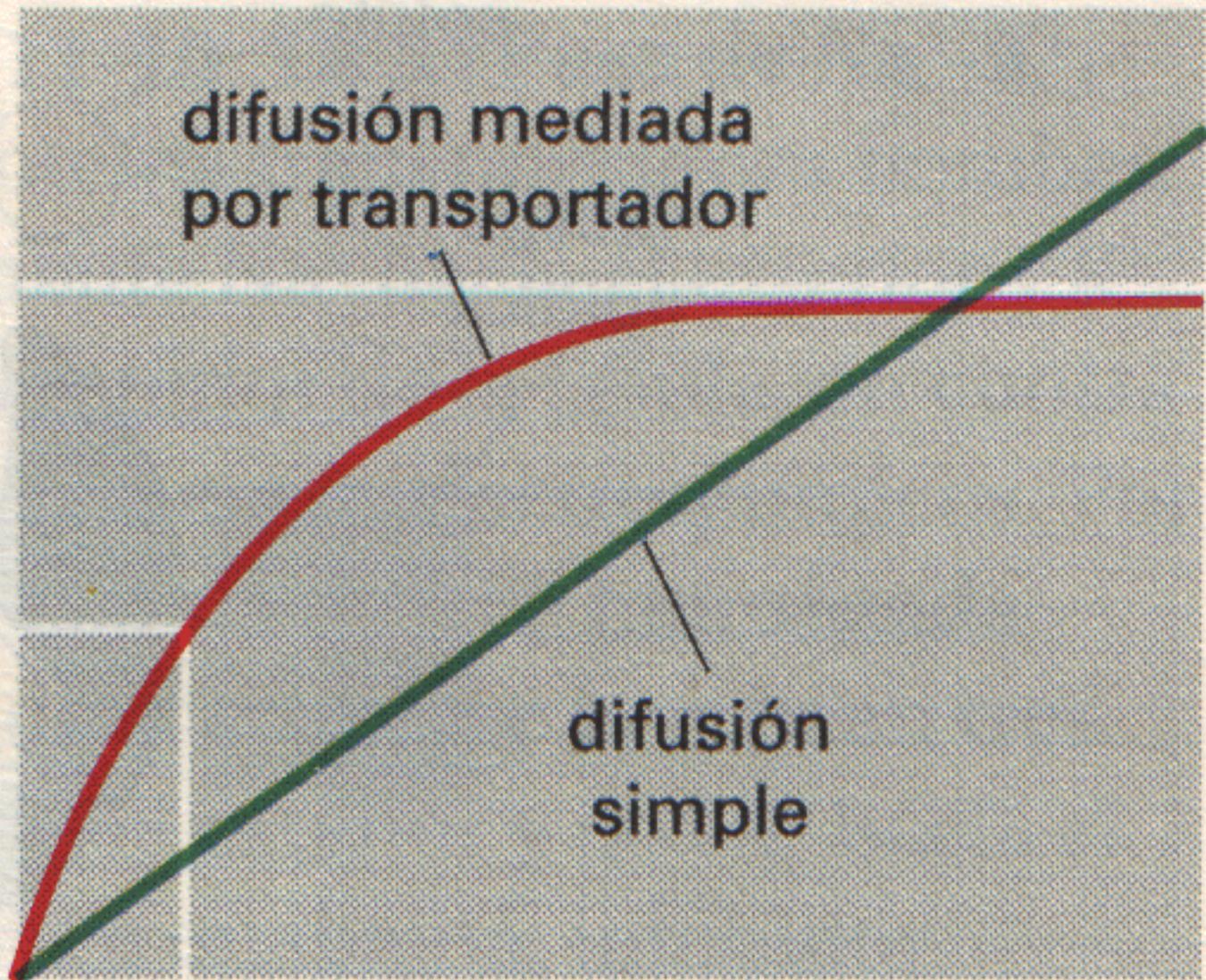
$\frac{1}{2} V_{\max}$

difusión mediada
por transportador

difusión
simple

K_M

concentración de \rightarrow
la molécula transportada



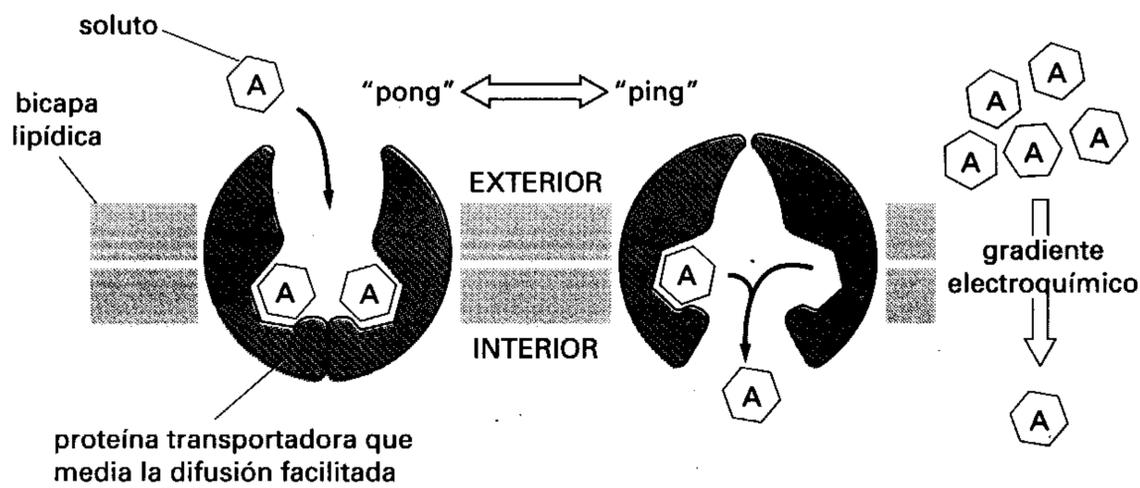


Figura 11-9 Modelo hipotético que muestra de qué forma un cambio de conformación de una proteína transportadora podría mediar la difusión facilitada de un soluto. La proteína transportadora puede existir en dos estados de conformación diferentes: en el estado “pong” los lugares de unión para el soluto A son accesibles desde el exterior de la bicapa; en el estado “ping” estos mismos lugares de unión son accesibles desde el otro lado de la bicapa. Se propone que las transiciones entre ambos estados se producen al azar, de forma completamente reversible. Por lo tanto, si la concentración de A es mayor en el exterior de la bicapa, se unirá una mayor cantidad de A a la proteína transportadora de conformación “pong”, produciéndose un transporte neto de A a favor de su gradiente electroquímico.

discute en el Capítulo 10, la proteína banda 3, del eritrocito humano es un transportador aniónico que intercambia Cl^- por HCO_3^- .

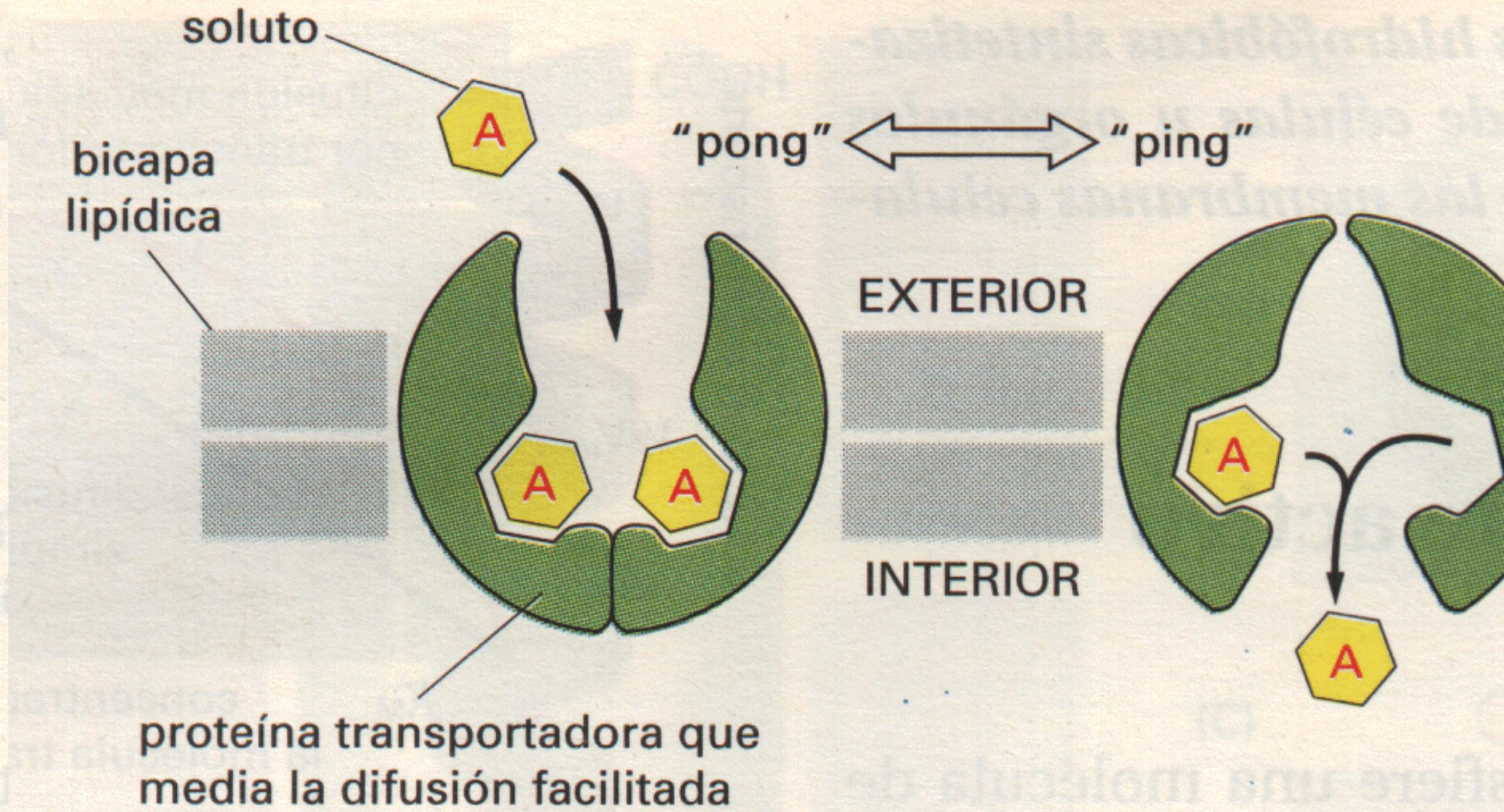
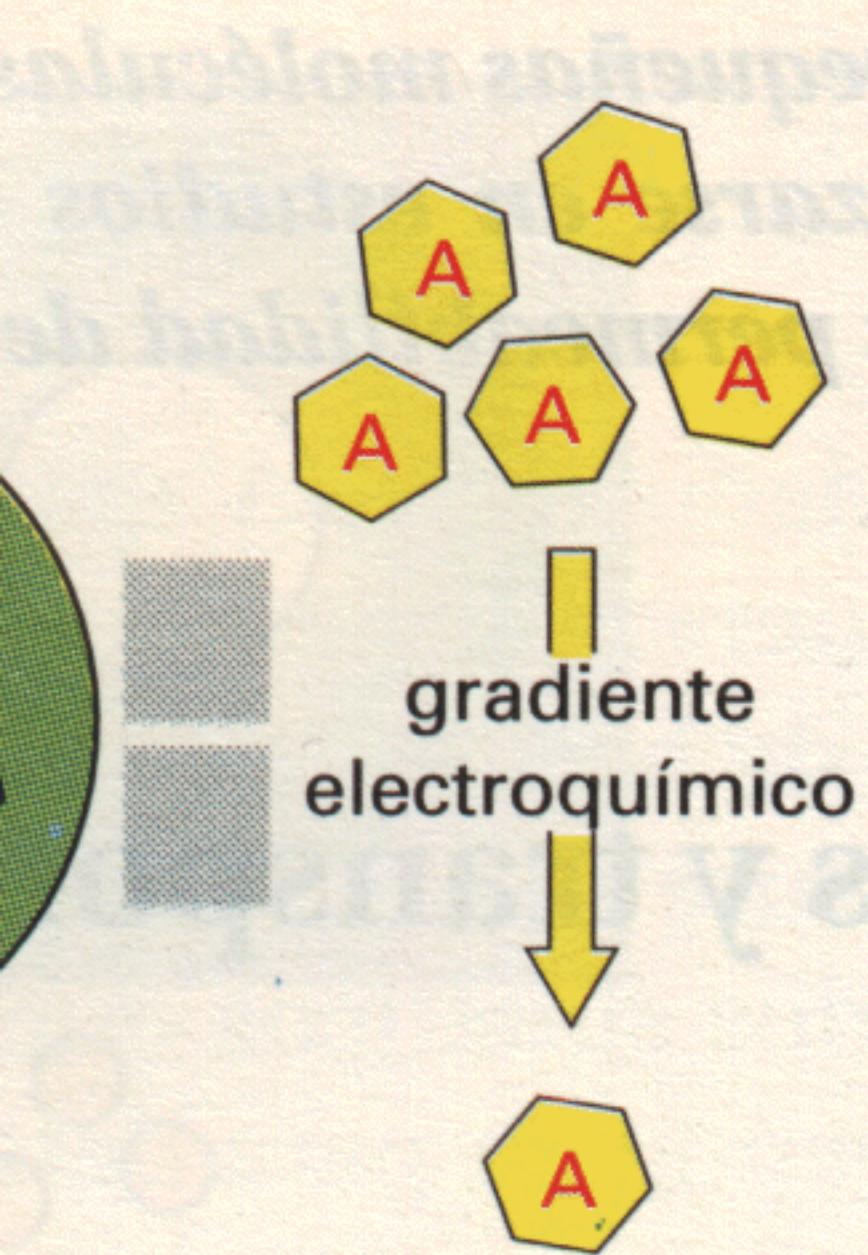
Aunque se desconocen los detalles moleculares, se cree que las proteínas transportadoras transfieren los solutos a través de la bicapa mediante un cambio conformacional reversible que alternativamente expone primero el lugar de unión al soluto a una cara de la membrana y luego a la otra. En la Figura 11-9 se muestra un modelo esquemático de cómo puede actuar una proteína transportadora de este tipo. Actualmente se sabe que los transportadores son proteínas transmembrana de multipaso, por lo que es altamente improbable que actúen girando en el interior de la membrana o como una lanzadera de una cara a otra a través de la membrana, como se creía antes.

Tal como se explica más adelante, una modificación relativamente pequeña del modelo mostrado en la Figura 11-9 es suficiente para unir la proteína transportadora a una fuente de energía (como la hidrólisis del ATP [véase Figura 11-11] o un gradiente iónico), y poder bombear un soluto cuesta arriba, en contra de su gradiente electroquímico. De hecho, el estudio comparado de algunas proteínas transportadoras de bacteria y de células de mamífero coincide con la idea de que las diferencias necesarias en el diseño molecular entre una proteína transportadora que media un transporte activo y otra que trabaja de forma pasiva, son mínimas. Algunos transportadores, que en las bacterias utilizan energía almacenada en un gradiente de H^+ a través de la membrana plasmática bacteriana para dirigir la captación activa de diferentes azúcares, son estructuralmente similares a los transportadores pasivos de glucosa de las células animales; dada la importancia de los azúcares como fuente energética no resulta sorprendente que esta superfamilia de transportadores de azúcares sea muy antigua.

Empezamos nuestra discusión sobre el transporte activo considerando una proteína transportadora que desempeña un papel crucial en la generación y el mantenimiento de los gradientes de Na^+ y de K^+ a través de la membrana plasmática de las células animales.

La bomba de Na^+ - K^+ de la membrana plasmática es una ATPasa⁷

La concentración de K^+ en el interior celular es típicamente de 10 a 20 veces más alta que en el exterior, mientras que ocurre lo contrario para el Na^+ (véase Tabla 11-1, pág. 542). Estas diferencias de concentración se mantienen mediante una **bomba de Na^+ - K^+** que se halla en la membrana plasmática de prácticamente todas las células animales. La bomba actúa como un transportador de intercambio (antiporte), bombeando de forma activa Na^+ hacia el exterior de la célula en contra de su gradiente electroquímico y K^+ hacia el interior. Como se explica más adelante, el gradiente de Na^+ debido a la bomba regula el volumen celular a través de sus efectos osmóticos y también se utiliza para dirigir el transporte de azúcares y de aminoácidos hacia el interior de la célula. Casi una tercera parte de toda la energía que consume una célula animal típica se utiliza para impulsar esta bomba. En las células nerviosas eléctricamente activas que, como veremos



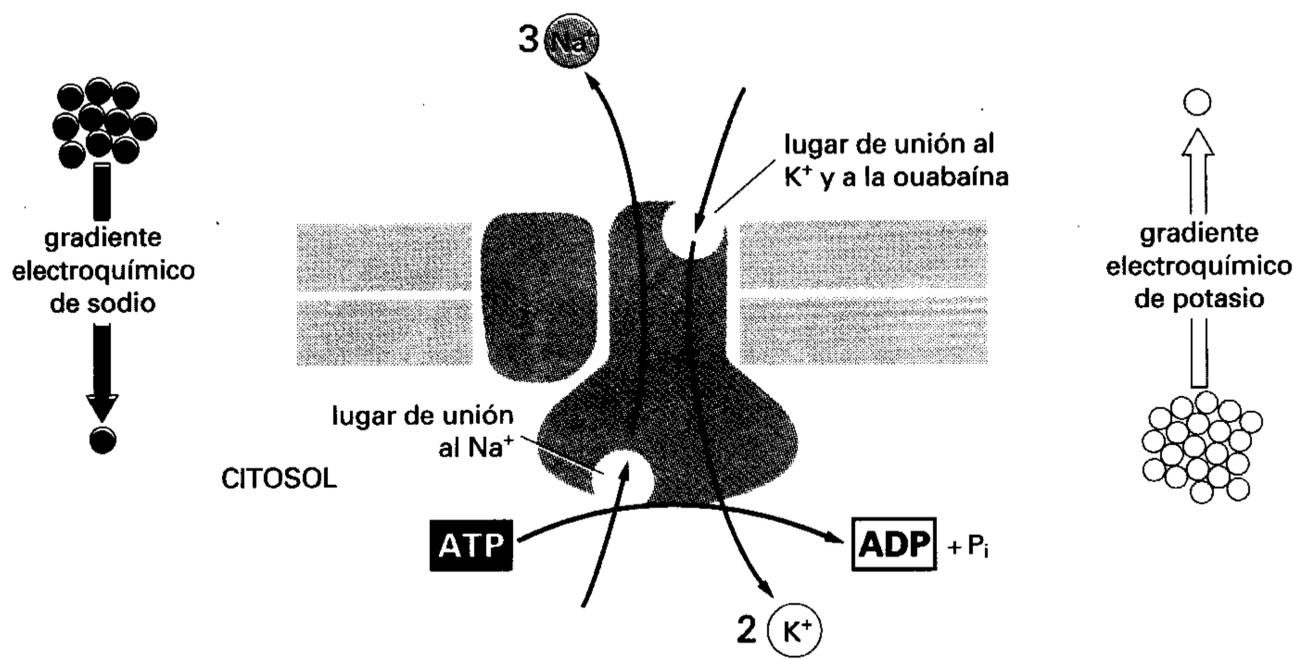


Figura 11-10 La ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Esta proteína transportadora bombea activamente Na^+ hacia el exterior y K^+ hacia el interior de la célula, en contra de sus gradientes electroquímicos. Por cada molécula de ATP hidrolizada dentro de la célula, se bombean tres Na^+ hacia el exterior y dos K^+ hacia el interior. La ouabaína, inhibidor específico de la bomba, y el K^+ compiten por el mismo lugar del lado externo de la ATPasa.

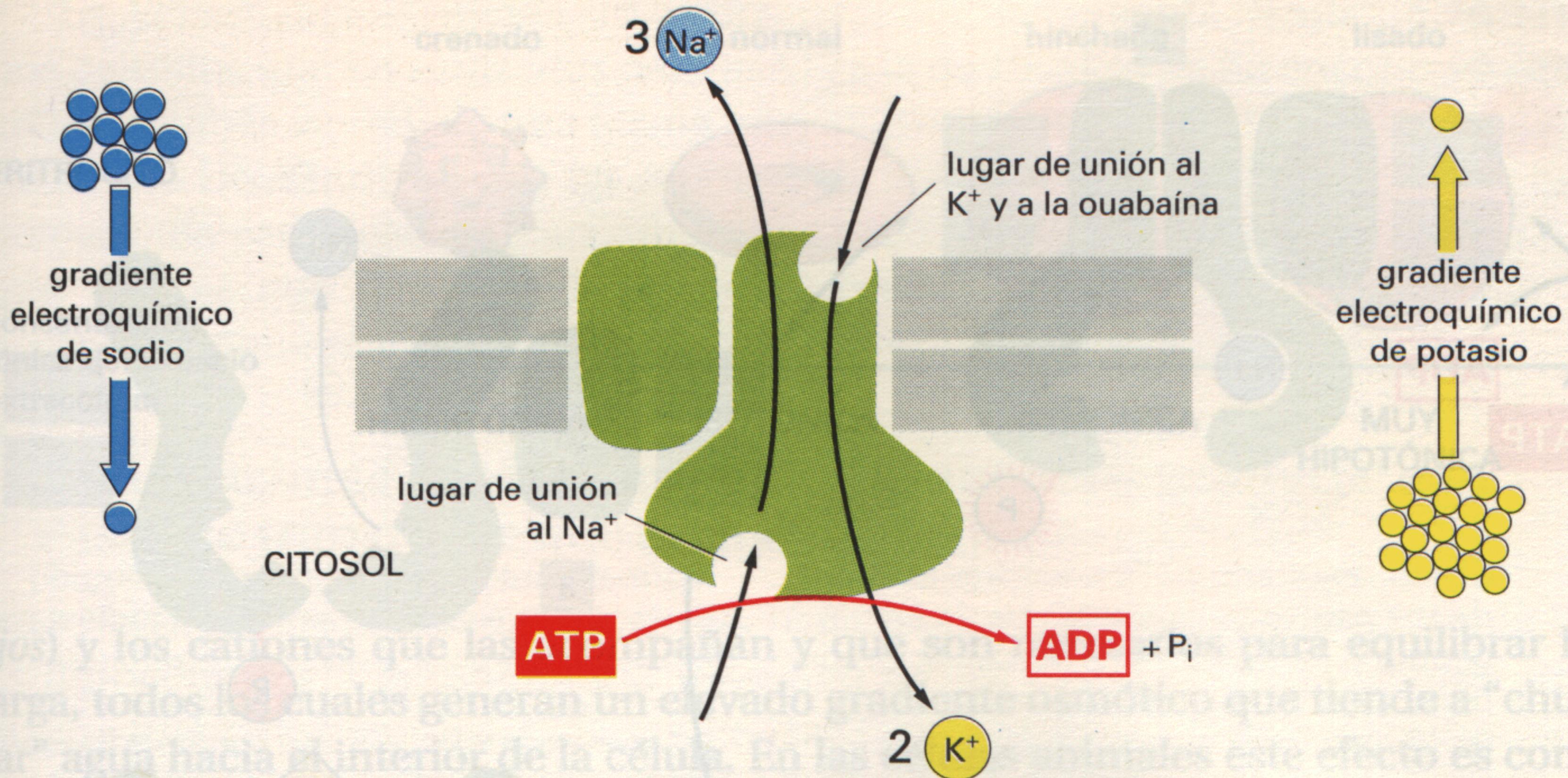
más adelante, durante la propagación del impulso nervioso ganan continuamente pequeñas cantidades de Na^+ y pierden pequeñas cantidades de K^+ , la cantidad de energía utilizada en la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ se acerca a los dos tercios de los requerimientos totales energéticos de la célula.

Un progreso importante en el conocimiento de la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ se realizó en 1957 gracias al descubrimiento de una enzima que hidroliza el ATP a ADP y fosfato y que necesita Na^+ y K^+ para su actividad óptima. Un dato importante que relacionó esta **ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$** con la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ fue la observación de que un inhibidor conocido de la bomba, la *ouabaína*, también inhibe la ATPasa. Pero la prueba crucial de que la hidrólisis del ATP proporciona de alguna manera la energía para impulsar la bomba se obtuvo en unos estudios efectuados con fantasmas de eritrocito en los que podían variarse las concentraciones de iones, ATP y fármacos a ambos lados de la membrana, observándose luego los efectos sobre el transporte iónico y sobre la hidrólisis del ATP. Se encontró que (1) el transporte de Na^+ y de K^+ está estrechamente acoplado a la hidrólisis del ATP, de tal modo que un proceso no puede producirse sin el otro; (2) el transporte iónico y la hidrólisis del ATP sólo pueden ocurrir cuando existe Na^+ y ATP dentro de los fantasmas, y K^+ en el exterior; (3) la ouabaína únicamente tiene efectos inhibidores cuando se encuentra fuera de los fantasmas, donde compite por el centro de unión del K^+ ; y (4) por cada molécula de ATP hidrolizada (cada molécula de ATPasa puede hidrolizar 100 moléculas de ATP por segundo), se bombean tres Na^+ hacia el exterior y dos K^+ hacia el interior (Figura 11-10).

Aunque estos experimentos suministraron evidencias concluyentes de que el ATP proporciona la energía necesaria para el bombeo de iones Na^+ y K^+ a través de la membrana plasmática, no explicaban cómo se halla acoplada la hidrólisis del ATP al transporte iónico. Una explicación parcial se obtuvo con el hallazgo de que durante el ciclo de bombeo el grupo fosfato terminal del ATP se transfiere a un residuo de ácido aspártico de la ATPasa y luego este grupo fosfato se hidroliza, como se explica en la Figura 11-11.

En fantasmas de eritrocito la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ puede revertirse, produciendo ATP: cuando experimentalmente se incrementan los gradientes de Na^+ y de K^+ hasta el punto en que la energía almacenada en estos gradientes electroquímicos es mayor que la energía química de la hidrólisis del ATP, estos iones se desplazan a favor de sus gradientes electroquímicos y se sintetiza ATP a partir de ADP y fosfato por la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. Así pues, la forma fosforilada de la ATPasa (paso 2 en la Figura 11-11) puede relajarse ya sea donando su fosfato al ADP (del paso 2 al paso 1) o cambiando su conformación (del paso 2 al paso 3). El hecho de que el exceso de la variación de energía libre se utilice para sintetizar ATP o para bombear Na^+ hacia afuera del fantasma depende de las concentraciones relativas de ATP, ADP y fosfato y de los gradientes electroquímicos de Na^+ y de K^+ .

La ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ se ha purificado y se ha visto que consiste en una gran subunidad catalítica transmembrana de multipaso (aproximadamente de 1000



gradiente electroquímico de sodio

CITOSOL

ATP

ADP + P_i

lugar de unión al K⁺ y a la ouabaína

lugar de unión al Na⁺

gradiente electroquímico de potasio

3 Na⁺

2 K⁺

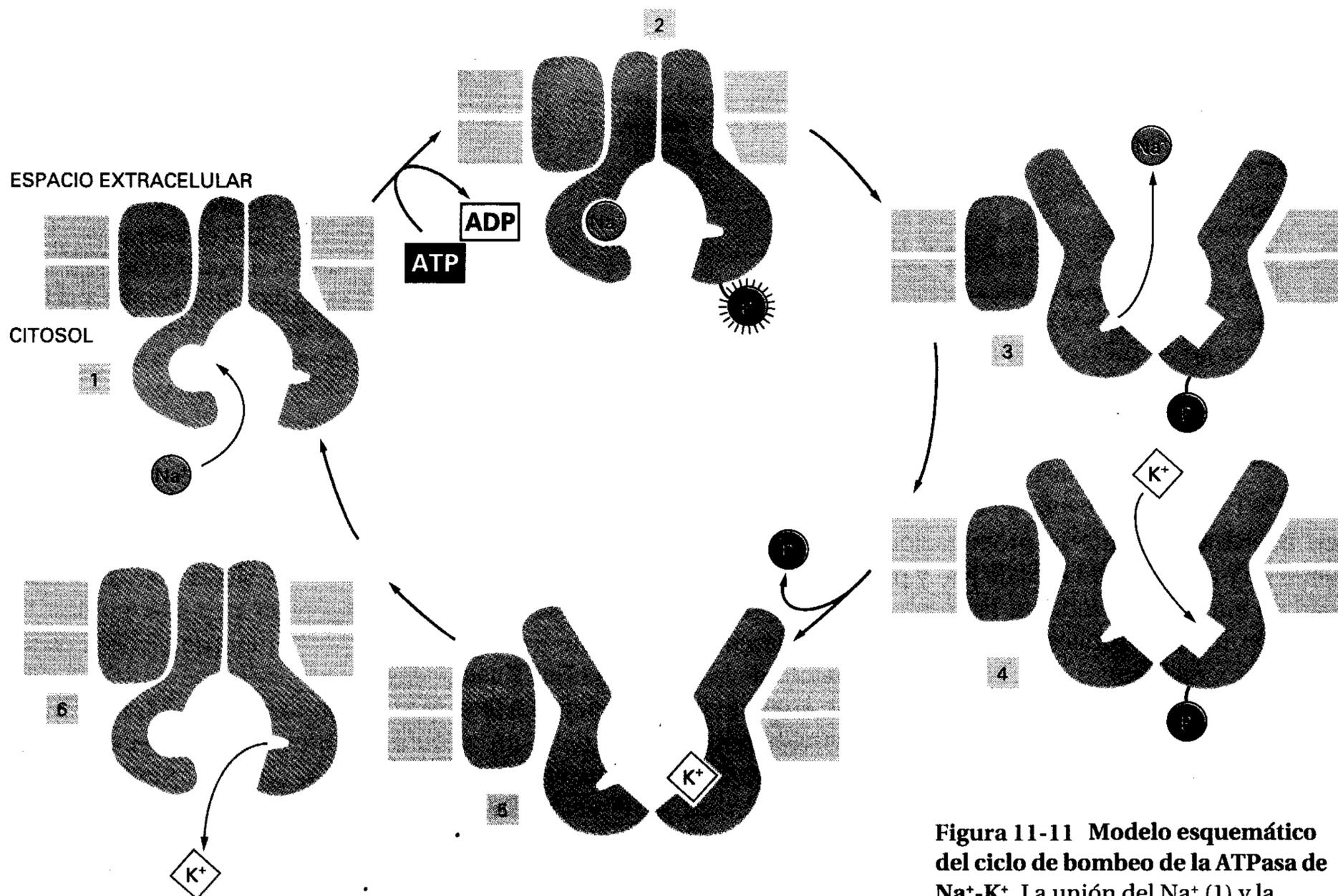


Figura 11-11 Modelo esquemático del ciclo de bombeo de la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$. La unión del Na^+ (1) y la posterior fosforilación por ATP (2) en la cara citoplasmática de la ATPasa inducen a la proteína a un cambio de conformación que transfiere el Na^+ a través de la membrana y lo libera al exterior (3). A continuación, la unión de K^+ sobre la superficie exterior (4) y la consiguiente desfosforilación (5) devuelven a la proteína a su conformación original, transfiriendo el K^+ a través de la membrana y liberándolo en el citosol (6). Estos cambios de conformación son análogos a las transiciones ping \rightleftharpoons pong que se muestran en la Figura 11-9, a excepción de que en este caso la fosforilación dependiente de Na^+ y la desfosforilación dependiente de K^+ de la proteína, que ocurren de una manera ordenada, permiten a la proteína realizar un trabajo útil. A pesar de que, para simplificar, se ha dibujado un solo lugar de unión al Na^+ y un solo lugar de unión al K^+ , en realidad la bomba presenta tres lugares de unión al Na^+ y dos al K^+ . Además, aunque se ha demostrado que la ATPasa salta entre dos estados conformacionales, existen evidencias de que ello ocurre a través de series de cambios conformacionales más complejos durante el ciclo real de bombeo.

residuos de aminoácido de longitud) y en una glucoproteína más pequeña, de paso único, asociada a ella. La subunidad catalítica tiene centros de unión para Na^+ y para ATP en su superficie citoplasmática, y para K^+ en su superficie externa y durante el ciclo de bombeo se fosforila y desfosforila de forma reversible. La función de la glucoproteína es incierta, aunque se sabe que es necesaria para el transporte intracelular de la subunidad catalítica hasta la membrana plasmática. Se puede reconstituir una bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ funcional a partir del complejo purificado: la ATPasa se solubiliza en detergente, se purifica y se mezcla con los fosfolípidos adecuados; cuando se elimina el detergente, se han formado vesículas de membrana que en presencia de ATP bombean Na^+ y K^+ en direcciones opuestas (véase Figura 10-22).

La ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ es necesaria para mantener el equilibrio osmótico y estabilizar el volumen celular⁸

Debido a que la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ bombea tres iones cargados positivamente hacia el exterior de la célula por cada dos que bombea hacia el interior, es *electrogénica*; es decir, dirige una corriente neta a través de la membrana tendiendo a crear un potencial eléctrico, con el interior negativo en relación al exterior. Sin embargo, este efecto de la bomba en sí mismo no contribuye más de un 10% al potencial de membrana. Como veremos, el 90 % restante depende tan sólo indirectamente de la bomba.

Por otra parte, la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ desempeña un papel más directo en la regulación del volumen celular: controla las concentraciones de solutos dentro de la célula, y por consiguiente regula las fuerzas osmóticas que pueden hacer que la célula se hinche o se retraiga (Figura 11-12). Como se explica en el Panel 11-1, las células contienen una gran concentración de solutos incluyendo numerosas moléculas orgánicas cargadas negativamente (los denominados *aniones*

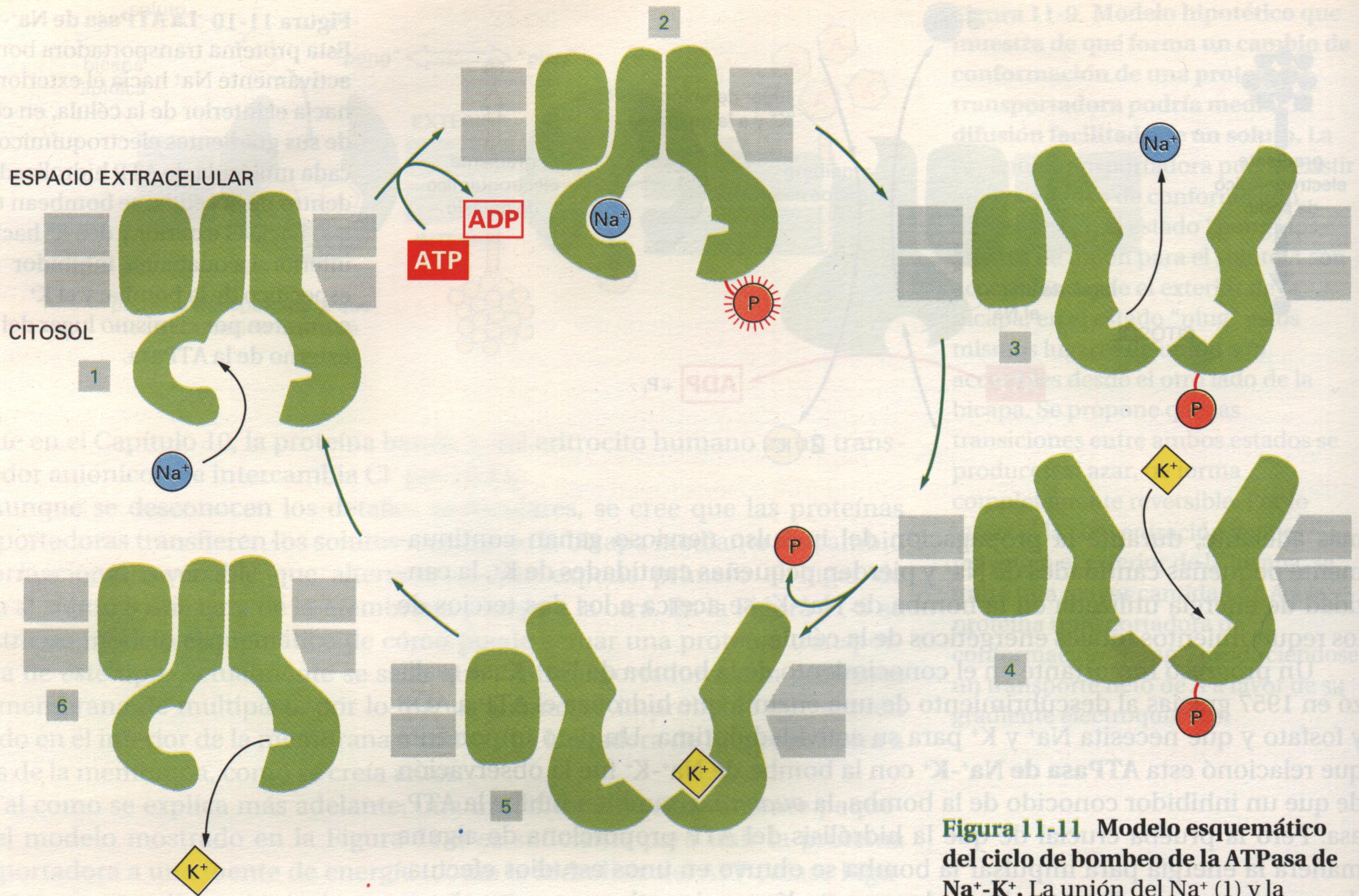


Figura 11-11 Modelo esquemático del ciclo de bombeo de la ATPasa de Na⁺-K⁺. La unión del Na⁺ (1) y la posterior fosforilación por ATP (2) en

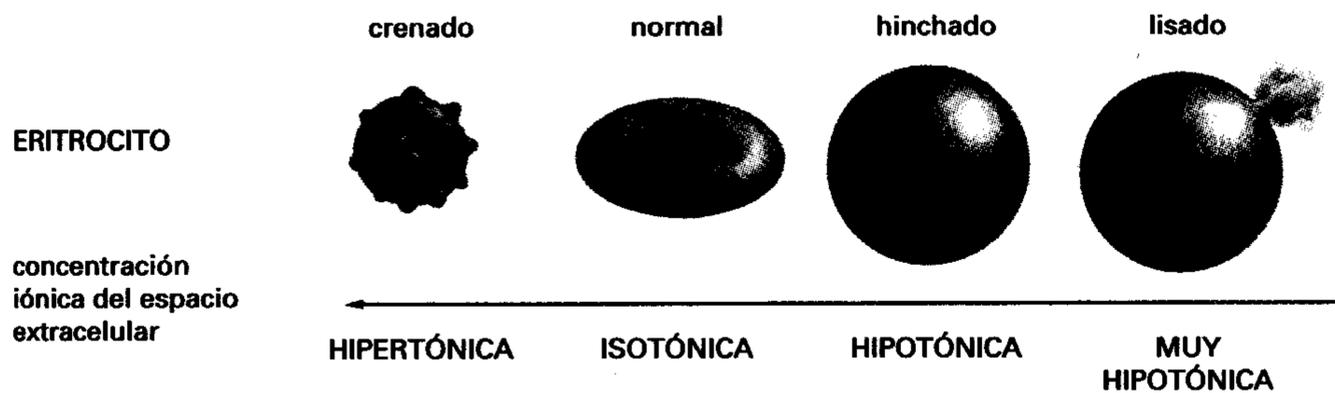


Figura 11-12 Respuesta de un eritrocito humano a cambios de la osmolaridad (también denominada *tonicidad*) del fluido extracelular. Debido a que la membrana plasmática es libremente permeable al agua, el agua se desplazará hacia el interior o hacia el exterior de las células a favor de su gradiente de concentración, un proceso denominado *ósmosis*. Si las células se colocan en una *solución hipotónica* (por ejemplo, una solución que contenga una baja concentración de soluto, y por lo tanto una elevada concentración de agua), se producirá un movimiento neto de agua hacia el interior de las células, originando su hinchamiento y explosión (lisado). Contrariamente, si las células se colocan en una *solución hipertónica*, se encogerán.

figos) y los cationes que las acompañan y que son necesarios para equilibrar la carga, todos los cuales generan un elevado gradiente osmótico que tiende a “chupar” agua hacia el interior de la célula. En las células animales este efecto es contrarrestado por un gradiente osmótico opuesto generado a causa de las elevadas concentraciones de iones inorgánicos –sobre todo de Na^+ y de Cl^- – del medio extracelular. La ATPasa de Na^+ - K^+ mantiene el equilibrio osmótico bombeando Na^+ hacia el exterior, que vuelve a entrar a favor de su gradiente electroquímico; el Cl^- se mantiene en el exterior debido al potencial de membrana.

La importancia de la ATPasa de Na^+ - K^+ en el control del volumen celular se pone de manifiesto por el hecho de que las células animales se hinchan y pueden llegar a reventar si se tratan con ouabaína, que inhibe la ATPasa de Na^+ - K^+ . Evidentemente, las células disponen de otros sistemas de solucionar sus problemas osmóticos. Las células vegetales y muchas bacterias están protegidas contra el hinchamiento excesivo y la rotura mediante paredes celulares semirrígidas que rodean sus membranas plasmáticas; en las amebas el exceso de agua que penetra por ósmosis se recoge en unas vacuolas contráctiles que vierten periódicamente su contenido al exterior (véase Panel 11-1). Pero para la mayoría de las células de los animales, la ATPasa de Na^+ - K^+ resulta crucial.

Algunas bombas de Ca^{2+} también son ATPasas unidas a membrana⁹

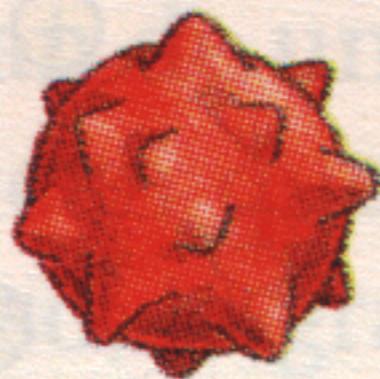
Las células eucariotas mantienen unas concentraciones de Ca^{2+} muy bajas en el citosol ($\sim 10^{-7}$ M), en comparación con las concentraciones extracelulares de Ca^{2+} , mucho más elevadas ($\sim 10^{-3}$ M). Así, una entrada de Ca^{2+} , aunque sea pequeña, a la célula, incrementa significativamente la concentración de Ca^{2+} libre en el citosol. El flujo de Ca^{2+} a favor de gradiente de concentración en respuesta a señales extracelulares constituye una forma rápida de transmisión de estas señales a través de la membrana plasmática. Por lo tanto el mantenimiento de un elevado gradiente de Ca^{2+} es importante para la célula. El gradiente de Ca^{2+} se mantiene en parte por la acción de bombas de Ca^{2+} que existen en la membrana plasmática, las cuales transportan Ca^{2+} de forma activa hacia el exterior de la célula. Se sabe que una de estas bombas es una ATPasa, mientras que la otra es un transportador de intercambio (antiporte) impulsada por el gradiente electroquímico de Na^+ .

La bomba de Ca^{2+} mejor conocida es una ATPasa unida a la membrana del *retículo sarcoplasmático* de las fibras musculares. El retículo sarcoplasmático –una tipo especializado de retículo endoplasmático– forma una red de sacos tubulares en el citoplasma de las células musculares que actúa como reservorio intracelular de Ca^{2+} . (Cuando un potencial de acción despolariza la membrana de la célula muscular, se libera Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático hacia el citosol, estimulando la contracción muscular, como se discute en el Capítulo 16.) La bomba de Ca^{2+} , que constituye alrededor del 90% de la proteína de membrana del orgánulo, es la responsable del bombeo del Ca^{2+} desde el citosol hacia el interior del retículo sarcoplasmático. (El retículo endoplasmático de las células no musculares contiene una ATPasa dependiente de Ca^{2+} similar a ésta, aunque en menor cantidad, por lo que es más difícil de purificar.)

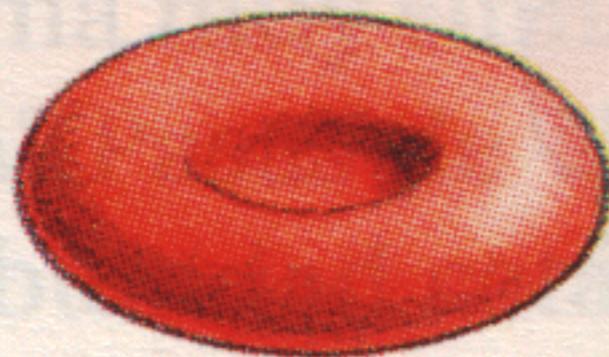
ERITROCITO

concentración
iónica del espacio
extracelular

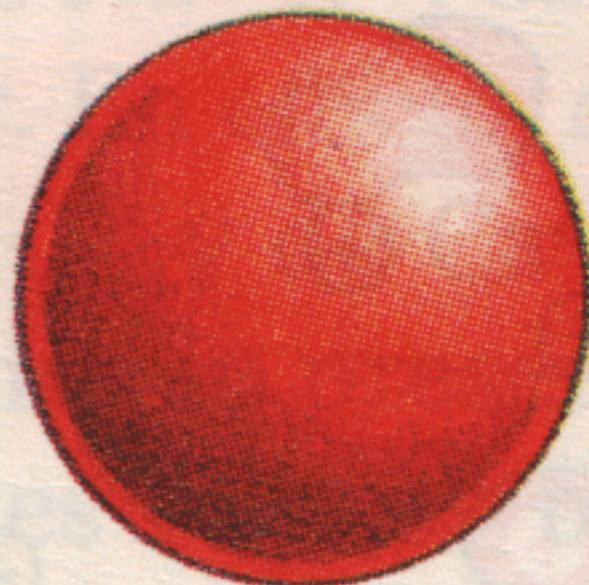
crenado



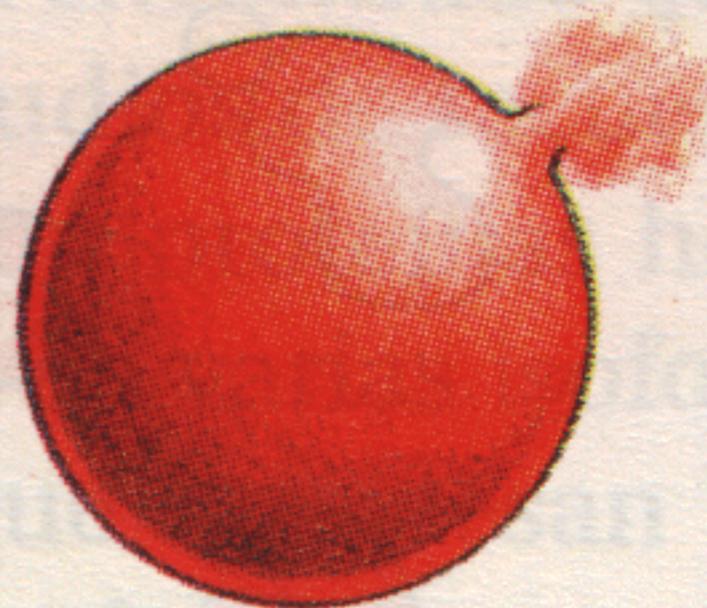
normal



hinchado



lisado



HIPERTÓNICA

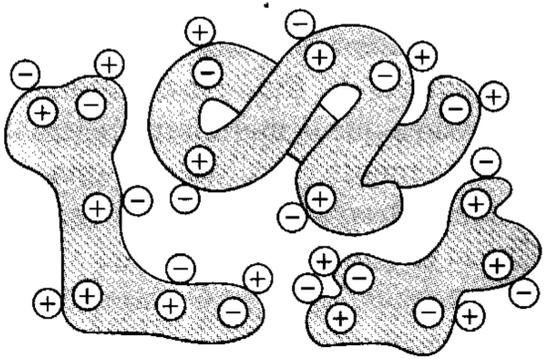
ISOTÓNICA

HIPOTÓNICA

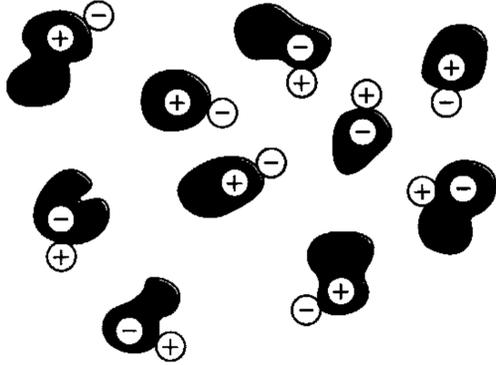
**MUY
HIPOTÓNICA**



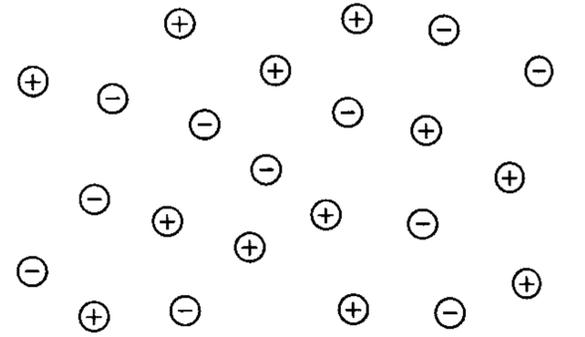
ORIGEN DE LA OSMOLARIDAD INTRACELULAR



Las macromoléculas por sí mismas contribuyen muy poco a la osmolaridad del interior celular ya que, a pesar de su gran tamaño, cada una de ellas cuenta como una sola molécula y hay relativamente pocas de ellas en comparación con el número de pequeñas moléculas que hay en la célula. Sin embargo, la mayoría de macromoléculas biológicas están muy cargadas y atraen muchos iones inorgánicos de carga opuesta. Debido a su elevado número, estos contraiones contribuyen de forma importante a la osmolaridad intracelular.



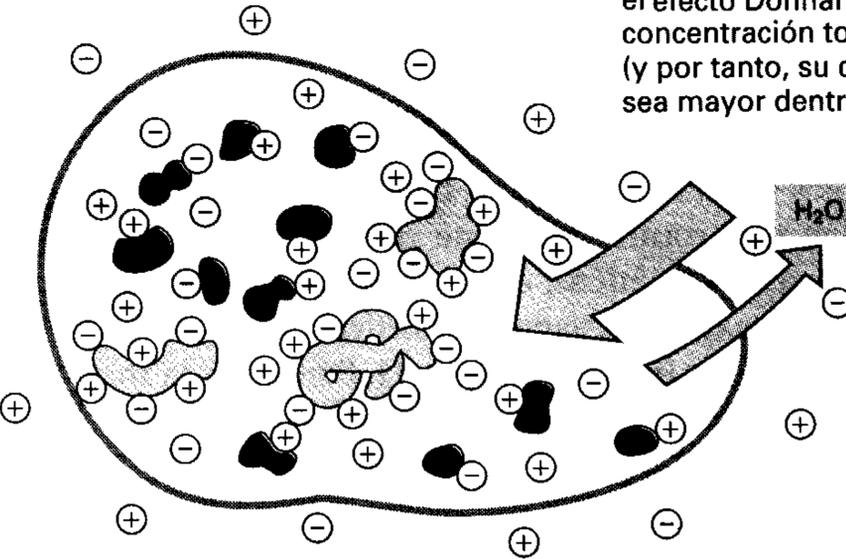
Como resultado del transporte activo y de los procesos metabólicos, la célula contiene una elevada concentración de pequeñas moléculas orgánicas, tales como azúcares, aminoácidos y nucleótidos, para las cuales la membrana plasmática es impermeable. Como la mayoría de estos metabolitos están cargados, también atraen contraiones. Tanto los pequeños metabolitos como sus contraiones tienen una repercusión importante en la osmolaridad intracelular.



Normalmente la osmolaridad del líquido extracelular es debida principalmente a pequeños iones inorgánicos. Estos iones se filtran lentamente a través de la membrana plasmática hacia el interior de la célula. Si no son bombeados hacia el exterior y si no existen otras moléculas en el interior de la célula que interactúen con ellos influyendo en su distribución, pueden llegar a equilibrarse manteniendo la misma concentración dentro y fuera de la célula. Pero la presencia en la célula de macromoléculas cargadas y de metabolitos que atraen a estos iones genera el efecto Donnan: hace que en el equilibrio, la concentración total de iones inorgánicos (y por tanto, su contribución a la osmolaridad) sea mayor dentro que fuera de la célula.

EL PROBLEMA

Debido a los factores enunciados más arriba, una célula que no controle su osmolaridad tendrá en su interior una concentración total de solutos mayor que en el exterior. Como resultado de ello, la concentración de agua será mayor en el exterior que en el interior de la célula. Esta diferencia en la concentración de agua a través de la membrana plasmática hará que el agua se desplace continuamente hacia el interior de la célula debido al proceso de ósmosis, causando su rotura.

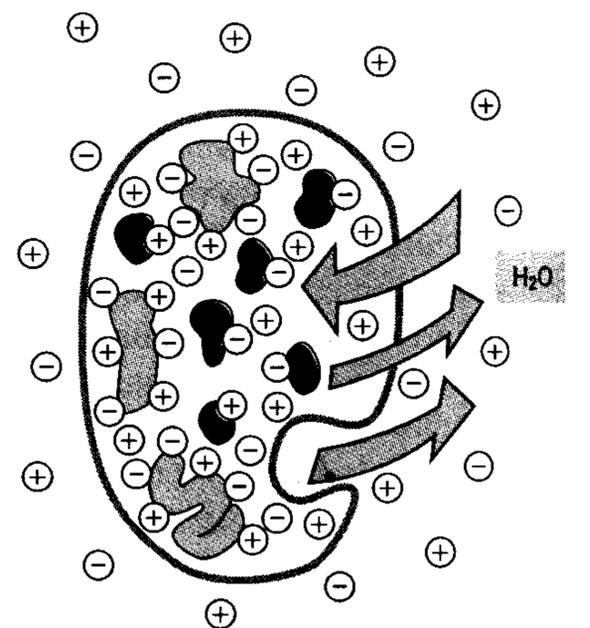
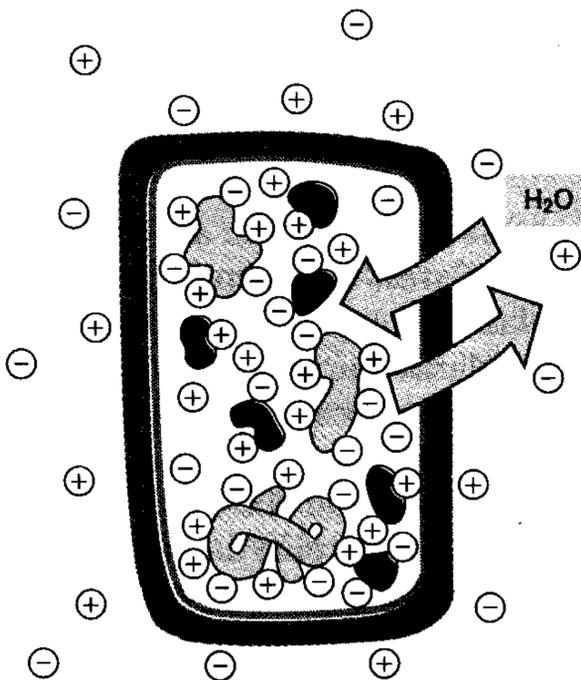
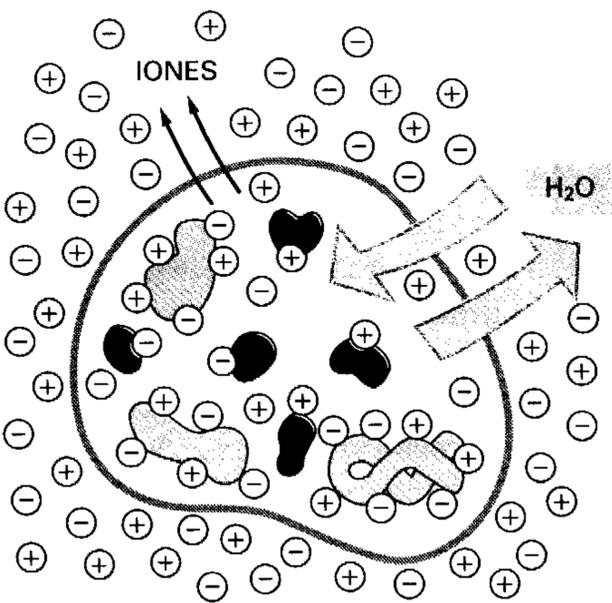


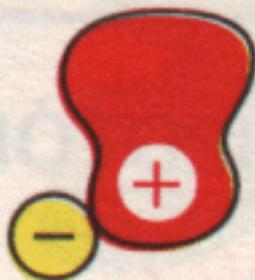
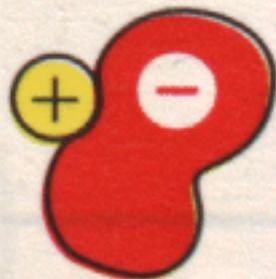
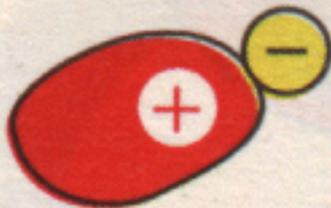
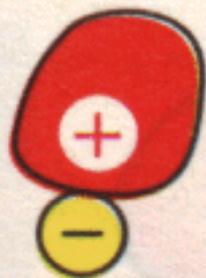
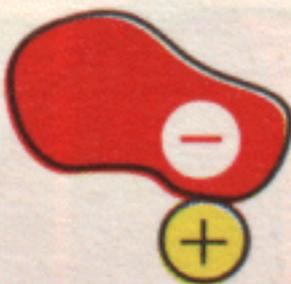
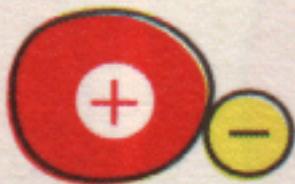
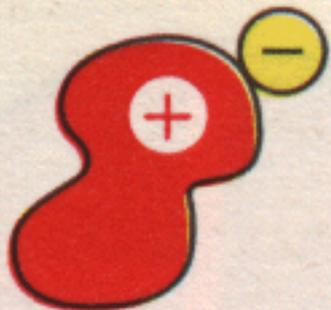
LA SOLUCIÓN

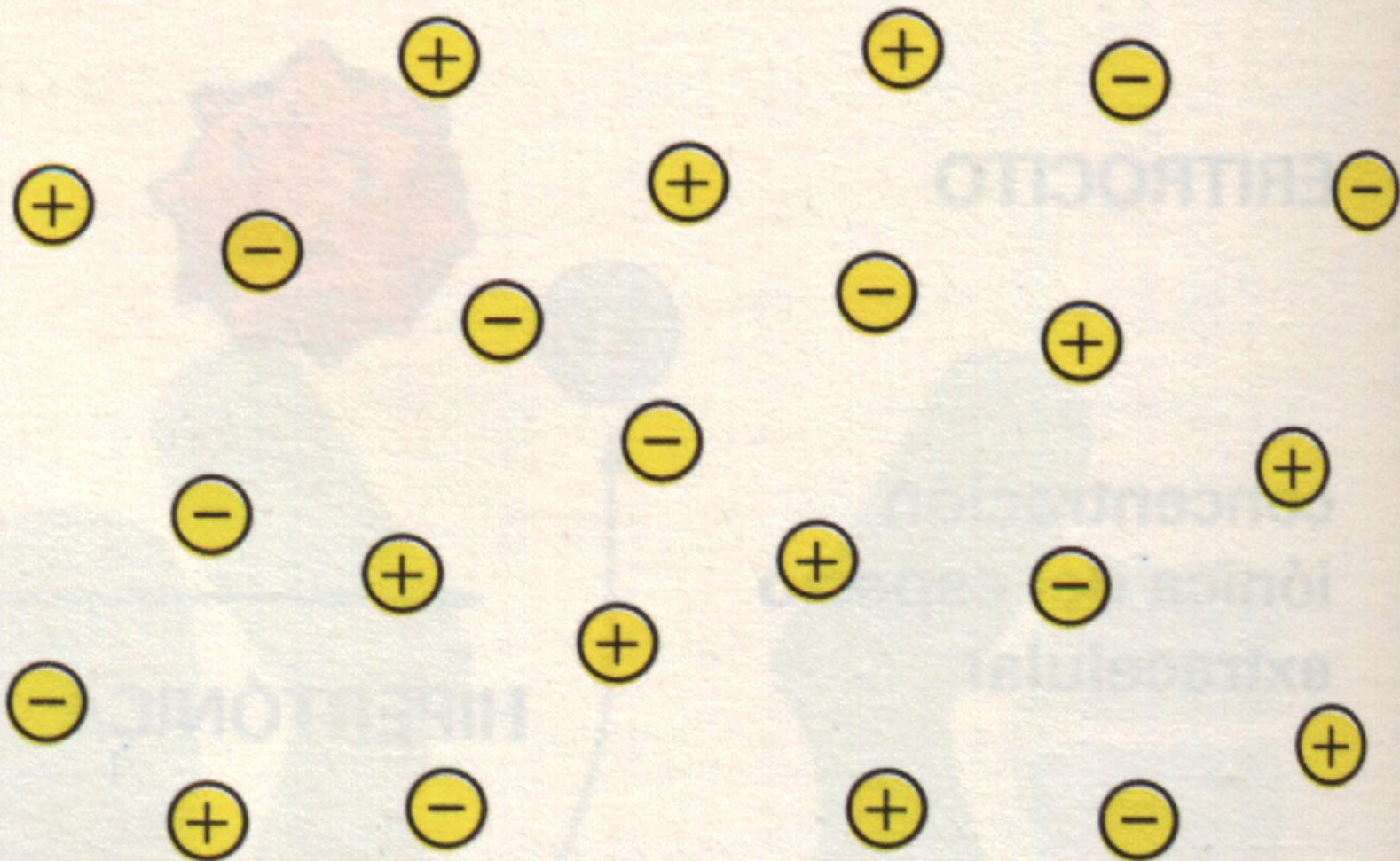
Las células animales y las bacterias controlan su osmolaridad intracelular bombeando activamente hacia el exterior iones inorgánicos, como el Na^+ , de forma que su citosol contiene una concentración total de iones inorgánicos menor que la del fluido extracelular, compensando así su exceso de solutos orgánicos.

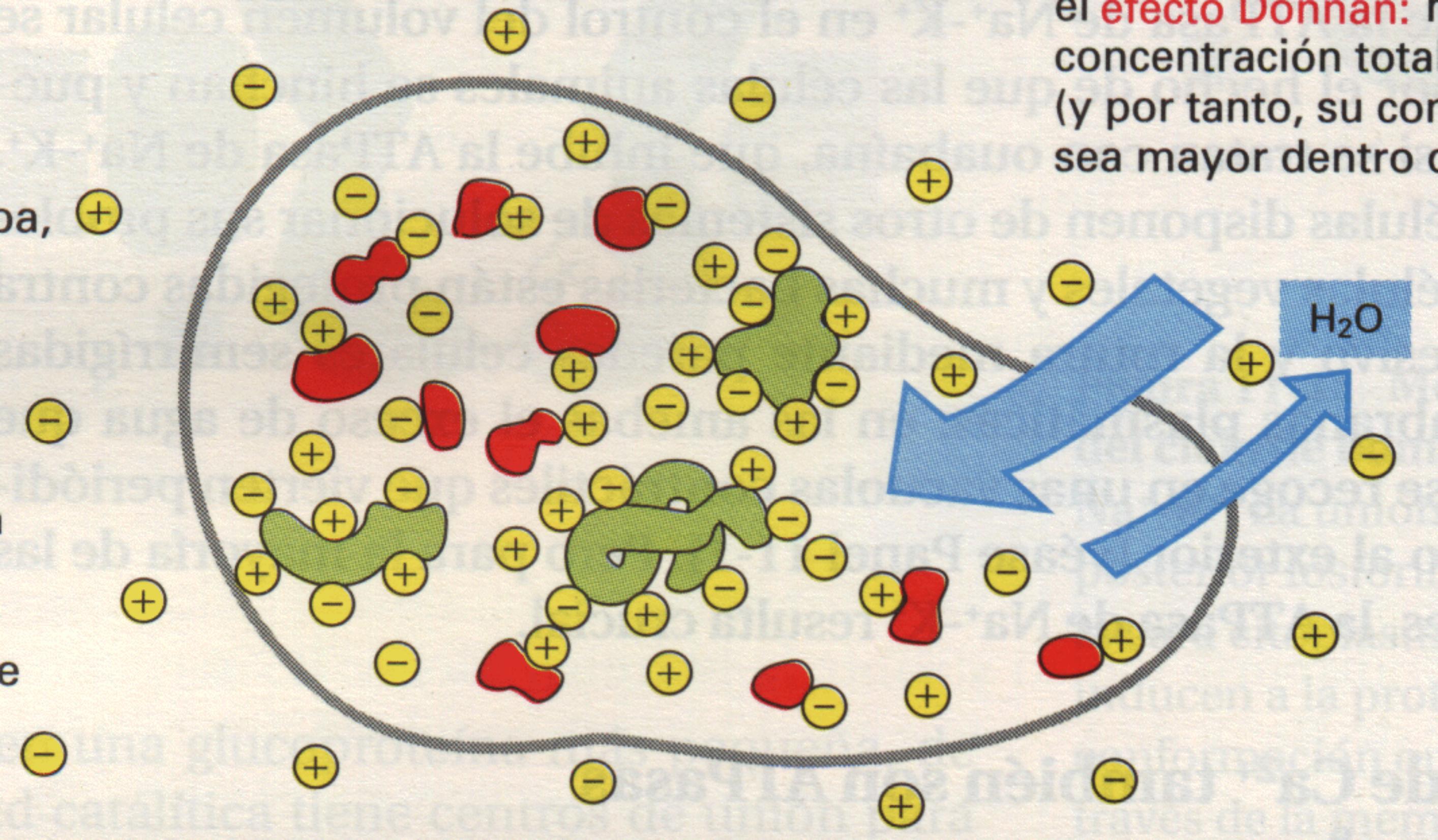
Las células vegetales evitan su hinchamiento mediante su pared rígida, de forma que pueden tolerar diferencias osmóticas a través de sus membranas plasmáticas: aparece una presión interior que, en el equilibrio, impide que entre más agua.

Muchos protozoos consiguen no hincharse de agua a pesar de que mantienen una diferencia osmótica a través de la membrana plasmática, expulsando agua periódicamente mediante vacuolas contráctiles especiales.









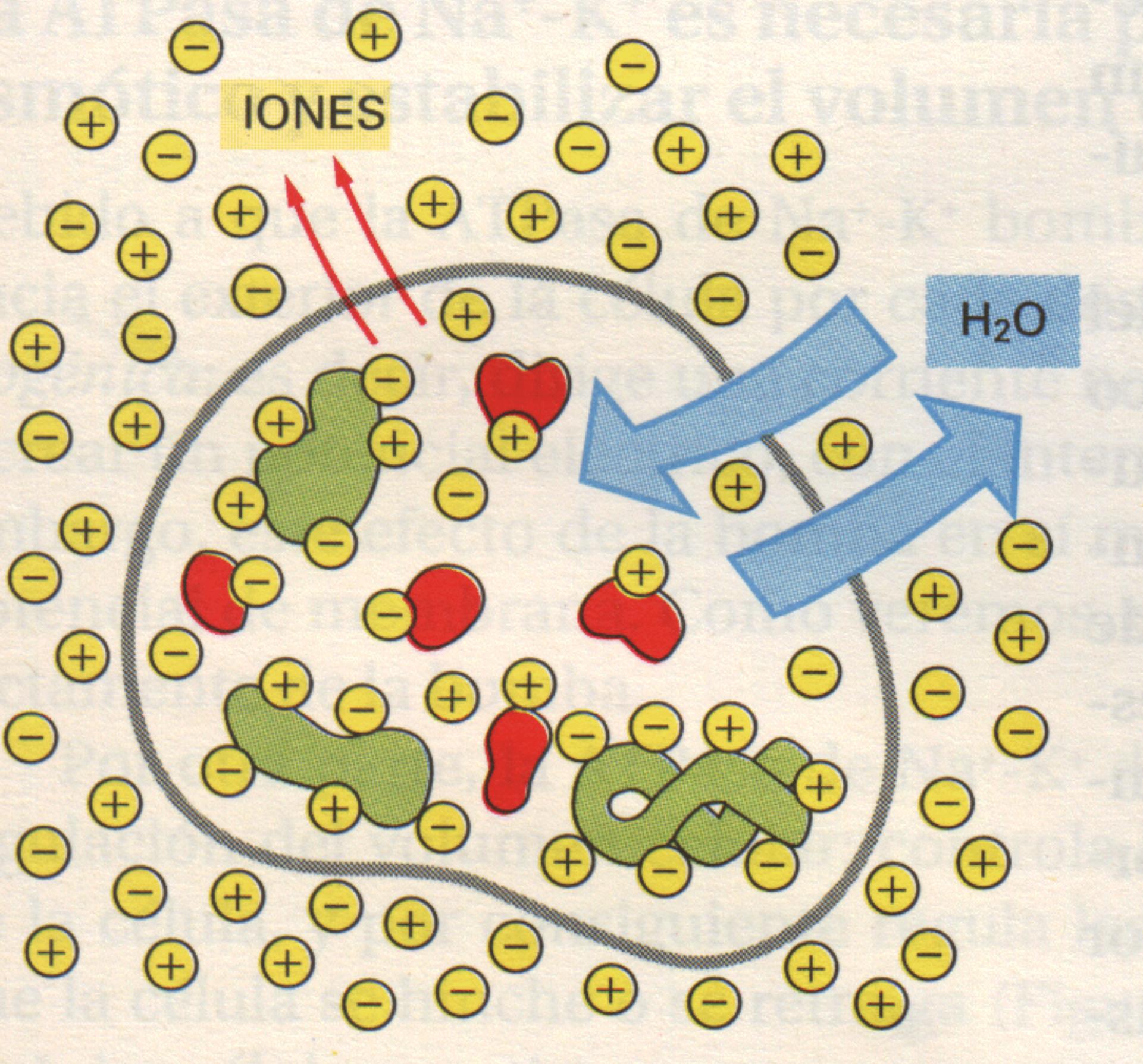
el **efecto Donnan**: la
concentración total
(y por tanto, su con
sea mayor dentro c

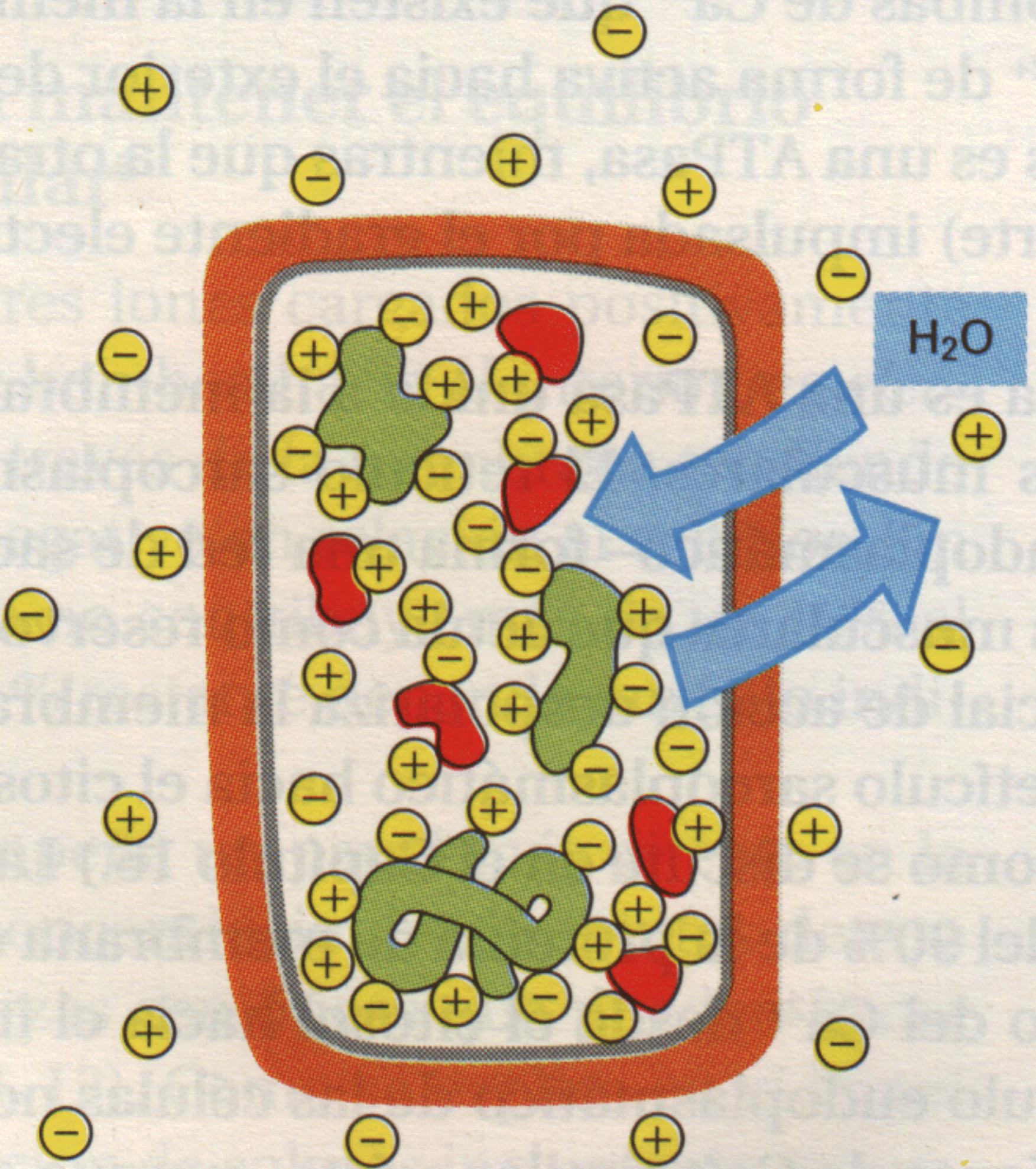
da, +

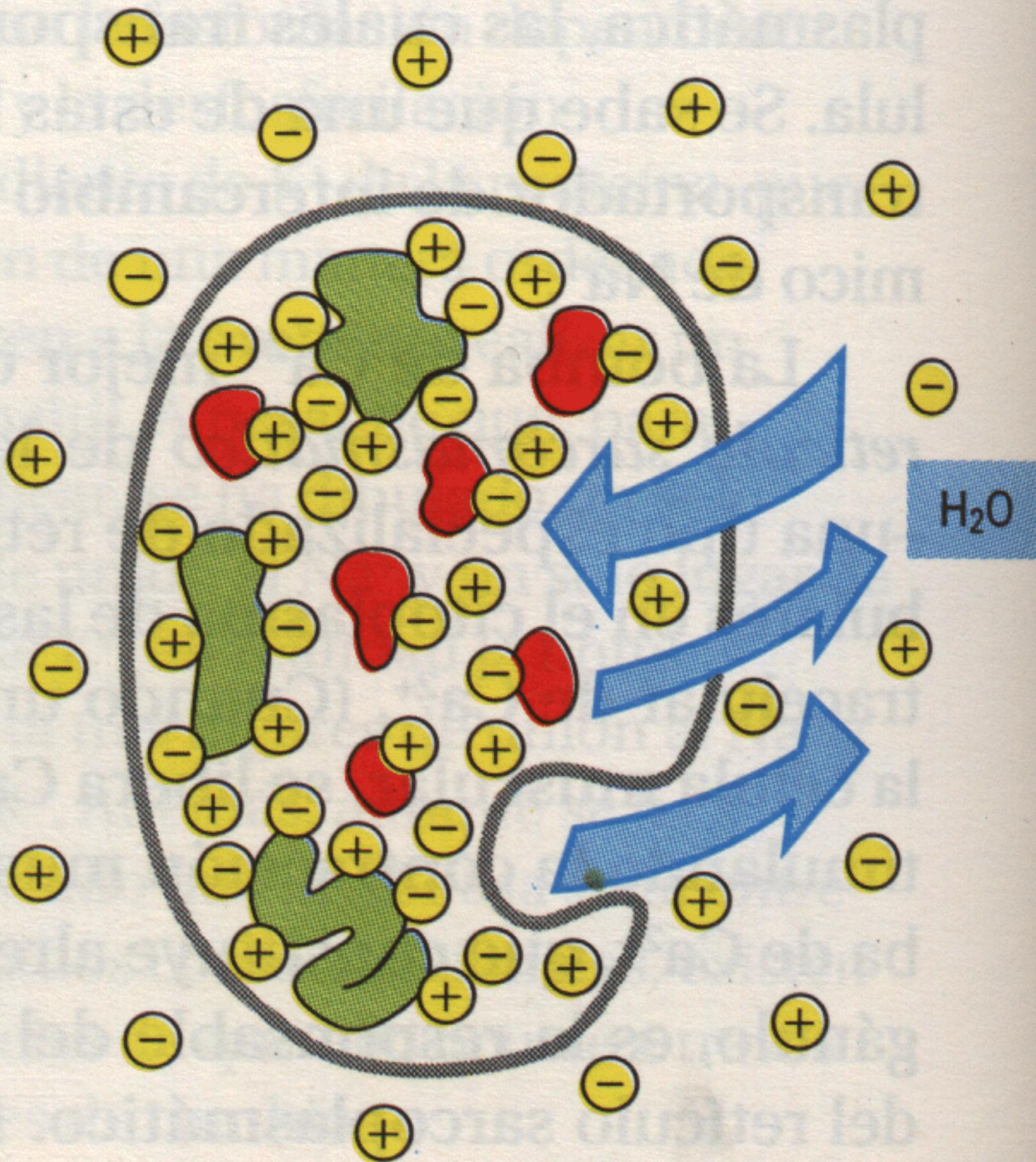
e

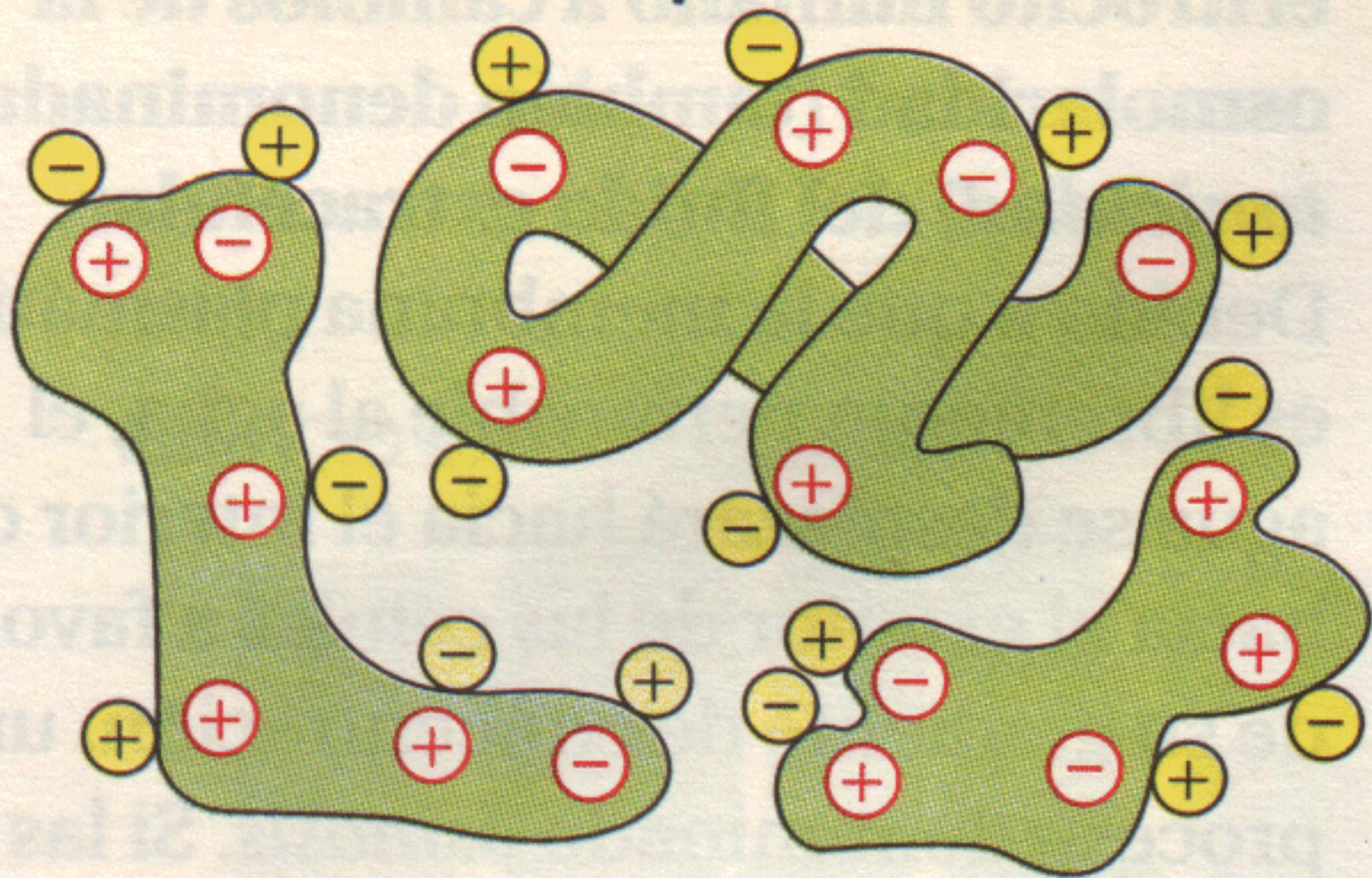
IONES

H₂O









La ATPasa de Ca^{2+} puede ser analizada bioquímicamente mediante los mismos métodos que los utilizados para la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ y se ha encontrado que ambas bombas actúan de una forma muy similar. En efecto, estudios de secuenciación de DNA indican que las ATPasas de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ y de Ca^{2+} son proteínas homólogas. En cada caso, la gran subunidad catalítica se presenta en varias isoformas, se cree que tiene alrededor de 10 posibles hélices α que atraviesan la membrana y que se fosforila y desfosforila durante el ciclo de bombeo.

Algunas enzimas ligadas a membrana que sintetizan ATP son ATPasas de transporte que actúan en sentido opuesto¹⁰

Tanto la membrana plasmática de las bacterias como la membrana interna de las mitocondrias y la membrana tilacoidal de los cloroplastos presentan una enzima análoga a las dos ATPasas de transporte mencionadas anteriormente, pero que normalmente actúa en sentido opuesto. En lugar de ser la hidrólisis del ATP la que impulsa el transporte iónico, en este caso es un gradiente de H^+ a través de estas membranas el que dirige la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato. Este gradiente de H^+ se genera durante el proceso de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa (en bacterias aeróbicas y en mitocondrias) o mediante la bomba de H^+ activada por la luz (bacteriorrodopsina) en *Halobacterium*. Como ocurre con las ATPasas de transporte, la enzima que normalmente sintetiza ATP, llamada *ATP sintasa*, puede trabajar en ambas direcciones dependiendo de las condiciones: puede hidrolizar ATP y bombear H^+ a través de la membrana o puede sintetizar ATP cuando fluyen H^+ a través de la enzima en la dirección opuesta. En la mayoría de las células, la ATP sintasa es responsable de la generación de la mayoría del ATP celular, como se discute en detalle en el Capítulo 14.

El transporte activo puede ser impulsado por gradientes iónicos¹¹

Muchos sistemas de transporte activo no son impulsados directamente por la hidrólisis del ATP sino por la energía almacenada en gradientes iónicos. La energía libre liberada durante el desplazamiento de un ion inorgánico a favor de su gradiente electroquímico se utiliza como fuerza impulsora para bombear otros solutos en contra de sus gradientes electroquímicos. Así pues, todas estas proteínas actúan como transportadores acoplados –algunos como transportadores unidireccionales, otros como transportadores de intercambio. En la membrana plasmática de las células animales el ion cotransportado cuyo gradiente electroquímico proporciona la fuerza impulsora para el transporte activo de una segunda molécula normalmente es el Na^+ . El Na^+ que entra en la célula durante este transporte es bombeado hacia el exterior mediante la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$, la cual, al mantener el gradiente de Na^+ , impulsa indirectamente el transporte de las otras moléculas que se cotransportan con el Na^+ . (Por esta razón se dice que los transportadores impulsados por iones median *transportes activos secundarios*, mientras que se dice que las ATPasas median *transportes activos primarios*.) Las células epiteliales del intestino y del riñón, por ejemplo, contienen varios sistemas de transporte unidireccional a través de la membrana plasmática que son impulsados por el gradiente de Na^+ . Cada sistema importa específicamente a la célula un pequeño grupo de azúcares o de aminoácidos relacionados. En estos sistemas el soluto y el Na^+ se unen a diferentes lugares de la proteína transportadora; el Na^+ tiende a entrar a la célula a favor de su gradiente electroquímico, por lo que, en cierto sentido, “arrastra” al azúcar o al aminoácido hacia el interior de la célula. Cuanto mayor sea el gradiente electroquímico de Na^+ , mayor será la velocidad de entrada del soluto a la célula; por el contrario, si la concentración de Na^+ en el fluido extracelular se reduce fuertemente, el transporte de soluto se detiene.

En bacterias y en levaduras, así como en muchos orgánulos envueltos por membrana de las células animales, la mayoría de los sistemas de transporte acti-

vo impulsados por gradientes iónicos dependen del gradiente de H^+ y no del de Na^+ , lo cual refleja la predominancia en estas membranas de las ATPasas de H^+ respecto a la práctica ausencia de ATPasas de Na^+ . El transporte activo de muchos azúcares y aminoácidos en bacterias, por ejemplo, está impulsado por el gradiente de H^+ a través de la membrana plasmática.

Las proteínas de transporte impulsado por Na^+ de la membrana plasmática regulan el pH citosólico¹²

La estructura y la función de la mayoría de las macromoléculas están notablemente influenciadas por el pH, y la mayoría de ellas actúan de forma óptima a un pH determinado. Por ejemplo, las enzimas lisosomales actúan mejor al bajo pH (~5) de los lisosomas mientras que las enzimas citosólicas actúan mejor a pH casi neutro (~7,2) del citosol. Por lo tanto, resulta crucial que las células controlen el pH de sus compartimientos intracelulares.

La mayoría de la células tienen en su membrana plasmática uno a varios tipos de sistemas de transporte de intercambio impulsados por Na^+ , que regulan el pH intracelular (citosólico) (pH_i) manteniéndolo alrededor de 7,2. Estas proteínas usan la energía almacenada en el gradiente de Na^+ para reducir la acidez eliminando el exceso de iones H^+ consumidos o producidos en la célula a consecuencia de las reacciones que producen H^+ . Se utilizan dos mecanismos: los H^+ son transportados directamente al exterior de la célula o se importa HCO_3^- al interior de la célula para neutralizar los H^+ del citosol. Uno de estos transportadores de intercambio que utiliza el primer mecanismo es un *intercambiador de Na^+ - H^+* que acopla la entrada de Na^+ a la salida de H^+ . Otro transportador, que utiliza una combinación de ambos mecanismos, es un *intercambiador de Cl^- - HCO_3^- impulsado por Na^+* que acopla la entrada de Na^+ y de HCO_3^- a la salida de Cl^- y H^+ (de forma que entra $NaHCO_3$ y sale HCl). El transportador Cl^- - HCO_3^- impulsado por Na^+ es dos veces más efectivo que el transportador de Na^+ - K^+ , en el sentido de que por cada Na^+ que entra en la célula bombea hacia el exterior un H^+ y neutraliza otro H^+ . Si existe HCO_3^- asequible, como ocurre habitualmente, este transportador es el más importante en la regulación del pH_i . Ambos transportadores de intercambio están regulados por el pH_i , incrementando su actividad cuando el pH_i desciende.

En algunas células existe un tercer transportador dependiente de Na^+ que desempeña un papel importante en la regulación del pH_i . Este *transportador unidireccional de Na^+ - HCO_3^-* transporta un Na^+ al interior de la célula con uno o varios iones HCO_3^- . En contraste con los otros dos transportadores que acabamos de describir, este simporte es *electrogénico* ya que su efecto neto es transportar cargas negativas al interior de la célula. Cuanto menor es el voltaje en el interior de la célula, mayor es su transporte. En consecuencia, en las células que presentan este transportador –principalmente las células de la glia del sistema nervioso– el pH_i es sensible a cambios en el potencial de membrana. Parece que esta sensibilidad permite a estas células colaborar en la regulación del pH extracelular local del cerebro en respuesta a cambios de su actividad eléctrica.

Un *intercambiador de Cl^- - HCO_3^-* independiente de Na^+ , similar a la proteína banda 3 de la membrana de los eritrocitos discutida en el Capítulo 10, también juega un papel importante en la regulación del pH_i de algunas células nucleadas. Como los transportadores dependientes de Na^+ , el intercambiador de Cl^- - HCO_3^- está regulado por el pH_i , pero en este caso el desplazamiento de HCO_3^- se produce normalmente hacia el *exterior* de la célula, a favor de su gradiente de concentración. La velocidad de eflujo de HCO_3^- y de influjo de Cl^- incrementa cuando el pH_i aumenta, disminuyendo así el pH_i cuando el citosol empieza a ser demasiado alcalino.

Como se discute en el Capítulo 13, el bajo pH de los lisosomas, así como el de los endosomas y de las vesículas de secreción, se mantiene por *ATPasas dependientes de H^+* que utilizan energía de hidrólisis de ATP para bombear H^+ desde el citosol hacia el interior de estos orgánulos.

En las células epiteliales, la distribución asimétrica de proteínas transportadoras permite el transporte transcelular de solutos¹³

En las células epiteliales, como las que participan en la absorción de los nutrientes del intestino, las proteínas transportadoras se hallan distribuidas de manera asimétrica en la membrana plasmática y gracias a ello contribuyen al **transporte transcelular** de los solutos absorbidos. Tal como muestra la Figura 11-13, los transportadores unidireccionales acoplados a Na^+ localizados en el dominio apical (absortivo) de la membrana plasmática transportan nutrientes de forma activa hacia el interior de la célula, generando marcados gradientes de concentración, mientras que en el dominio basal y lateral (basolateral) existen otras proteínas de transporte, independientes de Na^+ , que permiten que los nutrientes abandonen la célula a favor de su gradiente de concentración. La ATPasa de Na^+-K^+ que mantiene el gradiente de Na^+ a través de la membrana plasmática de estas células está localizada en el dominio basolateral. Se cree que tanto las células renales como las intestinales utilizan unos mecanismos parecidos a éste para bombear el agua desde un espacio extracelular a otro.

En muchas de estas células epiteliales, la superficie de la membrana plasmática se halla notablemente incrementada mediante la formación de miles de **microvilli**, que se proyectan en forma de finas evaginaciones digitiformes de la superficie apical de cada célula (Figura 11-13). Estos microvilli pueden aumentar el área total de absorción de una célula más de 25 veces, incrementando así en gran medida su capacidad de transporte.

Algunas ATPasas transportadoras de membrana son homólogas a las ATPasas transportadoras de eucariotas, que participan en la resistencia a drogas y en la fibrosis quística: la superfamilia de transportadores ABC¹⁴

El último tipo de proteínas transportadoras que presentaremos es una familia de ATPasas transportadoras de una gran importancia clínica, a pesar de que sus

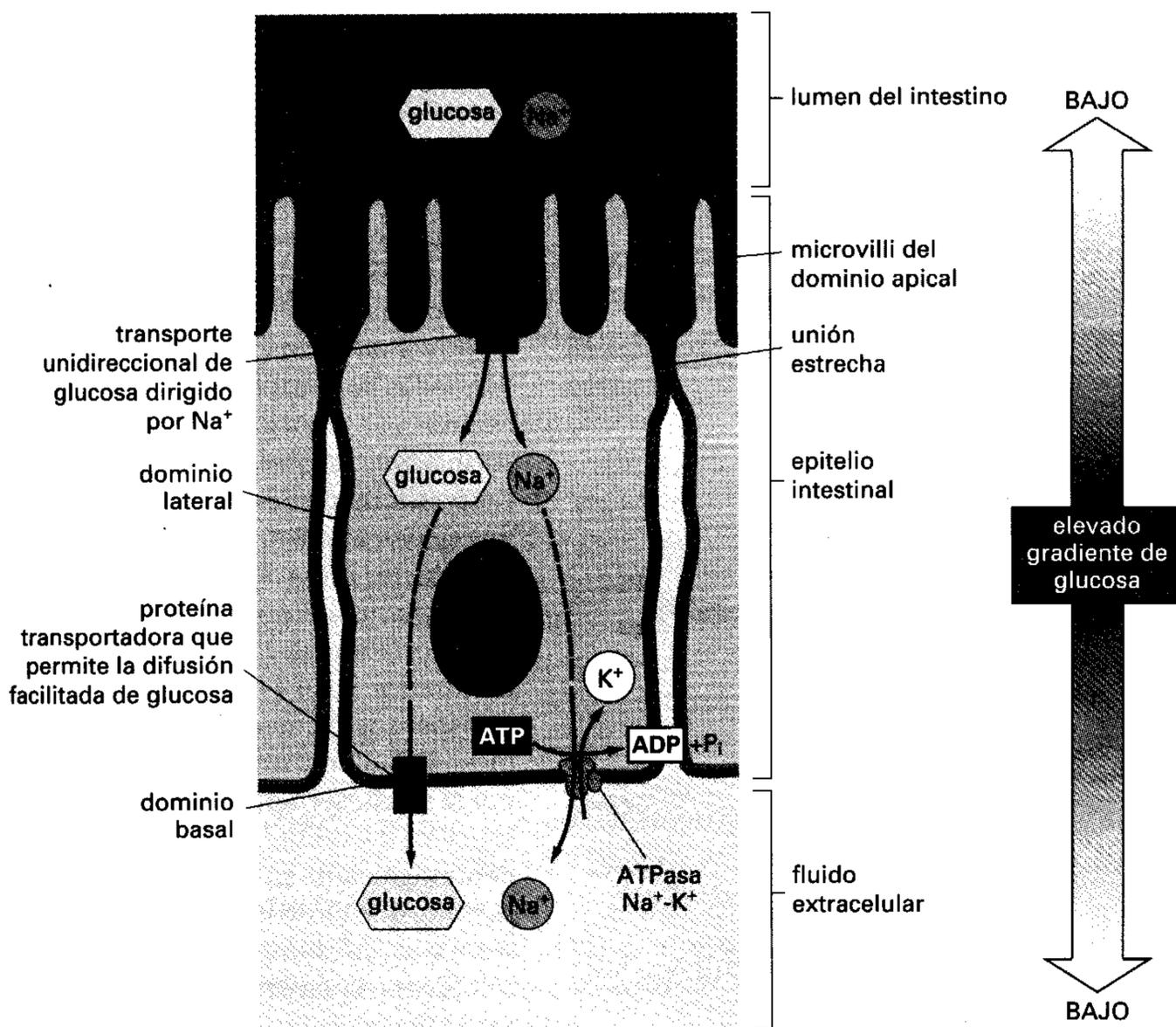
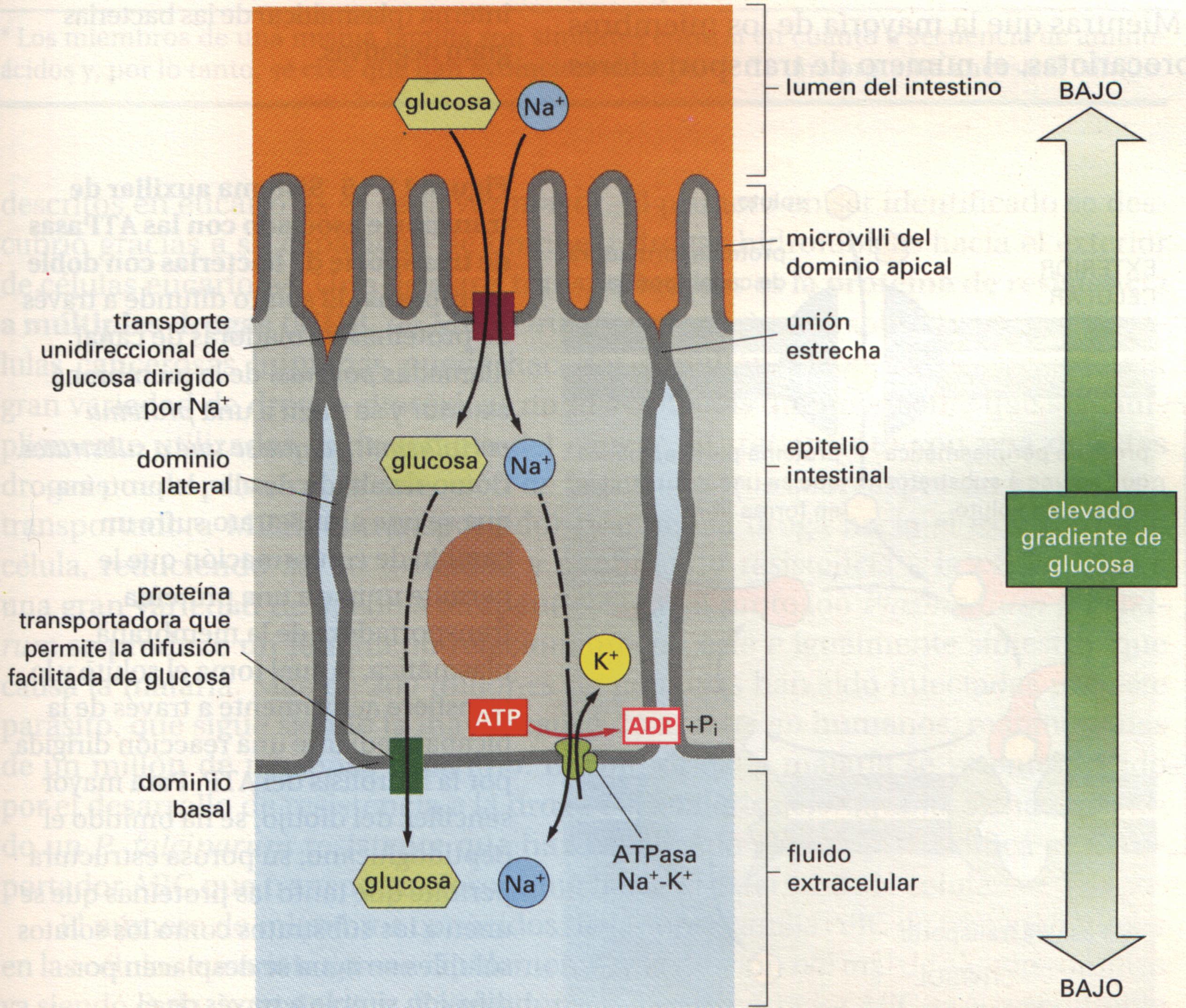


Figura 11-13 La distribución asimétrica de las proteínas transportadoras en la membrana plasmática de una célula epitelial intestinal da lugar al transporte transcelular de glucosa a través del epitelio intestinal. El proceso que se muestra genera el transporte de glucosa desde la luz del intestino hasta el fluido extracelular (desde donde pasa a la sangre). La glucosa se bombea hacia el interior de la célula a través del dominio apical de la membrana por un cotransporte unidireccional de glucosa impulsado por el Na^+ , y la glucosa pasa al exterior de la célula (a favor de su gradiente de concentración) mediante difusión facilitada, por una proteína transportadora de glucosa diferente, existente en los dominios basal y lateral. El gradiente de Na^+ que impulsa el transporte acoplado unidireccional (simporte) de glucosa se mantiene mediante la ATPasa de Na^+-K^+ del dominio basolateral de la membrana plasmática, que mantiene baja la concentración intracelular de Na^+ .

Las células adyacentes están conectadas entre sí mediante uniones impermeables (llamadas *uniones estrechas* o *estancas*), las cuales desempeñan una función dual en el proceso de transporte ilustrado aquí: impiden que los solutos atraviesen los epitelios entre las células, permitiendo así que el gradiente de concentración de glucosa se mantenga a través de la lámina de células, y también actúan como barreras de difusión en la membrana plasmática, confinando las diversas proteínas transportadoras a sus respectivos dominios de membrana (véase Figura 10-37).



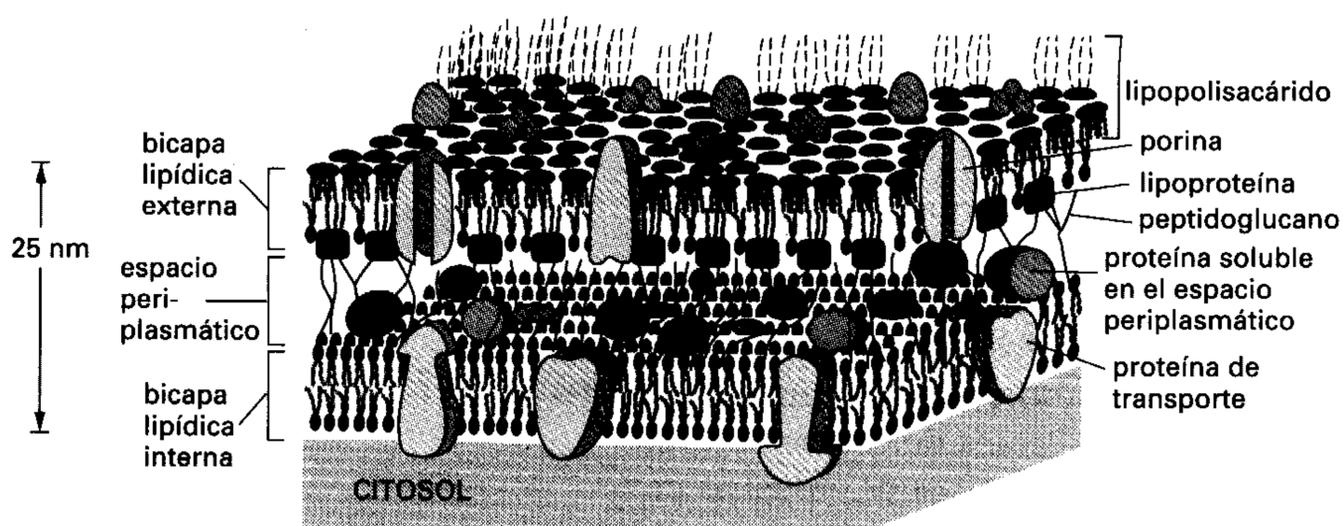


Figura 11-14 Visión esquemática de una pequeña sección de la doble membrana de una bacteria *E. coli*. La membrana interna es la membrana plasmática de la célula. Entre las bicapas lipídicas interna y externa existe un peptidoglucano rígido y muy poroso, compuesto de proteínas y polisacáridos, que constituye la pared celular bacteriana; está unido a moléculas lipoproteicas de la membrana externa y llena el *espacio periplásmico* (sólo se muestra una pequeña parte del peptidoglucano). Este espacio también contiene diversas moléculas proteicas solubles. Los filamentos dibujados a trazos *verdes* de la parte superior de la figura representan las cadenas de polisacárido de unas moléculas especiales de polisacárido que forman una monocapa externa en la membrana externa; para mayor claridad únicamente se han dibujado algunas de estas cadenas.

funciones normales en las células eucariotas se han descrito muy recientemente. La primera de estas proteínas en ser caracterizada se encontró en bacterias. Ya hemos mencionado que la membrana plasmática de todas las bacterias contiene proteínas transportadoras que utilizan el gradiente de H^+ a través de la membrana para bombear varios nutrientes hacia el interior de la célula. Muchas de ellas también tienen ATPasas de transporte que utilizan la energía de hidrólisis del ATP para importar varios tipos de azúcares, aminoácidos y pequeños péptidos. En bacterias como *E. coli*, que tienen doble membrana (Figura 11-14), las ATPasas de transporte se hallan localizadas en la membrana interna; existen mecanismos auxiliares que permiten captar los nutrientes y cederlos a los transportadores (Figura 11-15).

Las ATPasas de transporte de la membrana plasmática de las bacterias pertenecen a la familia de proteínas de transporte más amplia y diversa de las conocidas. Se denomina **superfamilia de transportadores ABC** porque cada uno de sus miembros contiene un "cassette" de unión al ATP (*ATP-binding cassette*) altamente conservado (Figura 11-16). Se han descrito más de 50 transportadores ABC y, aunque habitualmente cada uno de ellos es específico de un sustrato o de una clase de sustratos determinados, la variedad de sustratos transportados por esta superfamilia es enorme, incluyendo aminoácidos, azúcares, polisacáridos, péptidos e incluso proteínas. Mientras que la mayoría de los miembros de esta familia han sido descritos en procariontes, el número de transportadores

Las bacterias que presentan doble membrana se denominan *gram negativas* porque no retienen el colorante azul oscuro utilizado en este procedimiento de tinción. Las bacterias que presentan una sola membrana (y finas paredes celulares), como los estafilococos y los estreptococos, retienen el colorante azul, por lo que son denominadas *gram positivas*; su única membrana es análoga a la membrana interna (plasmática) de las bacterias gram negativas.

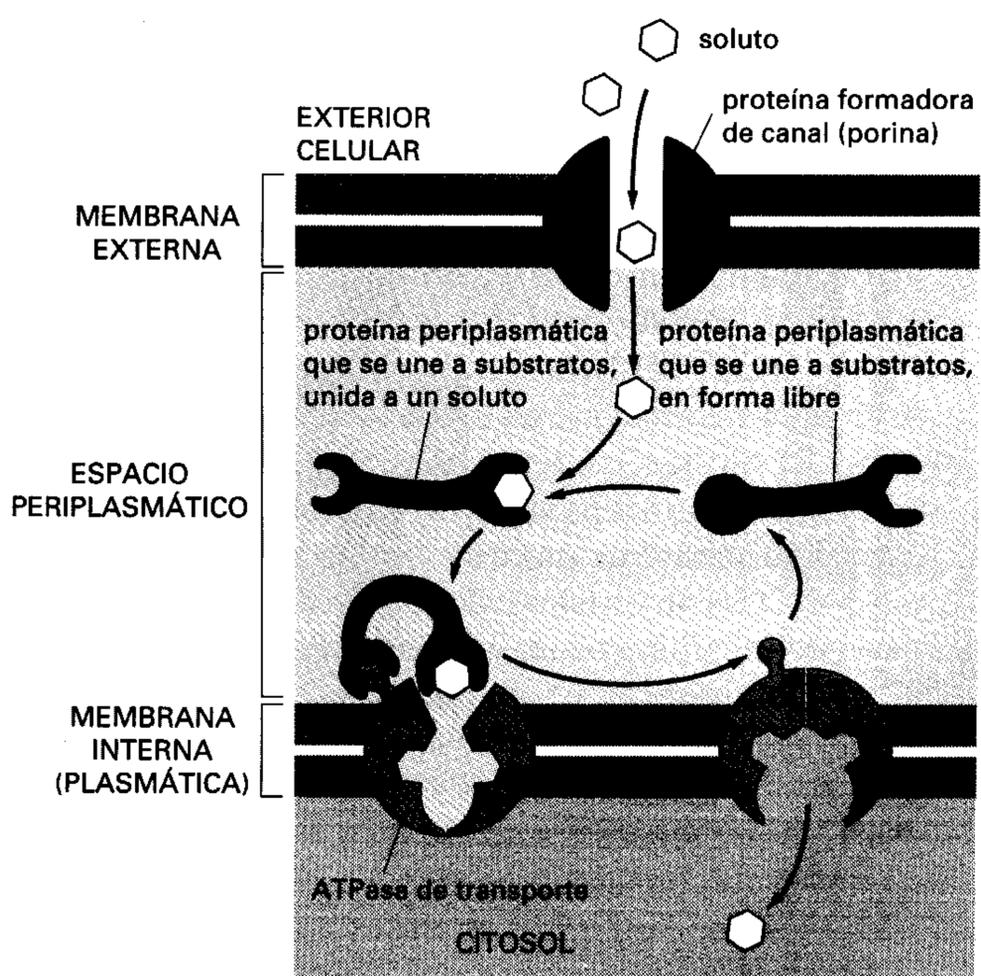
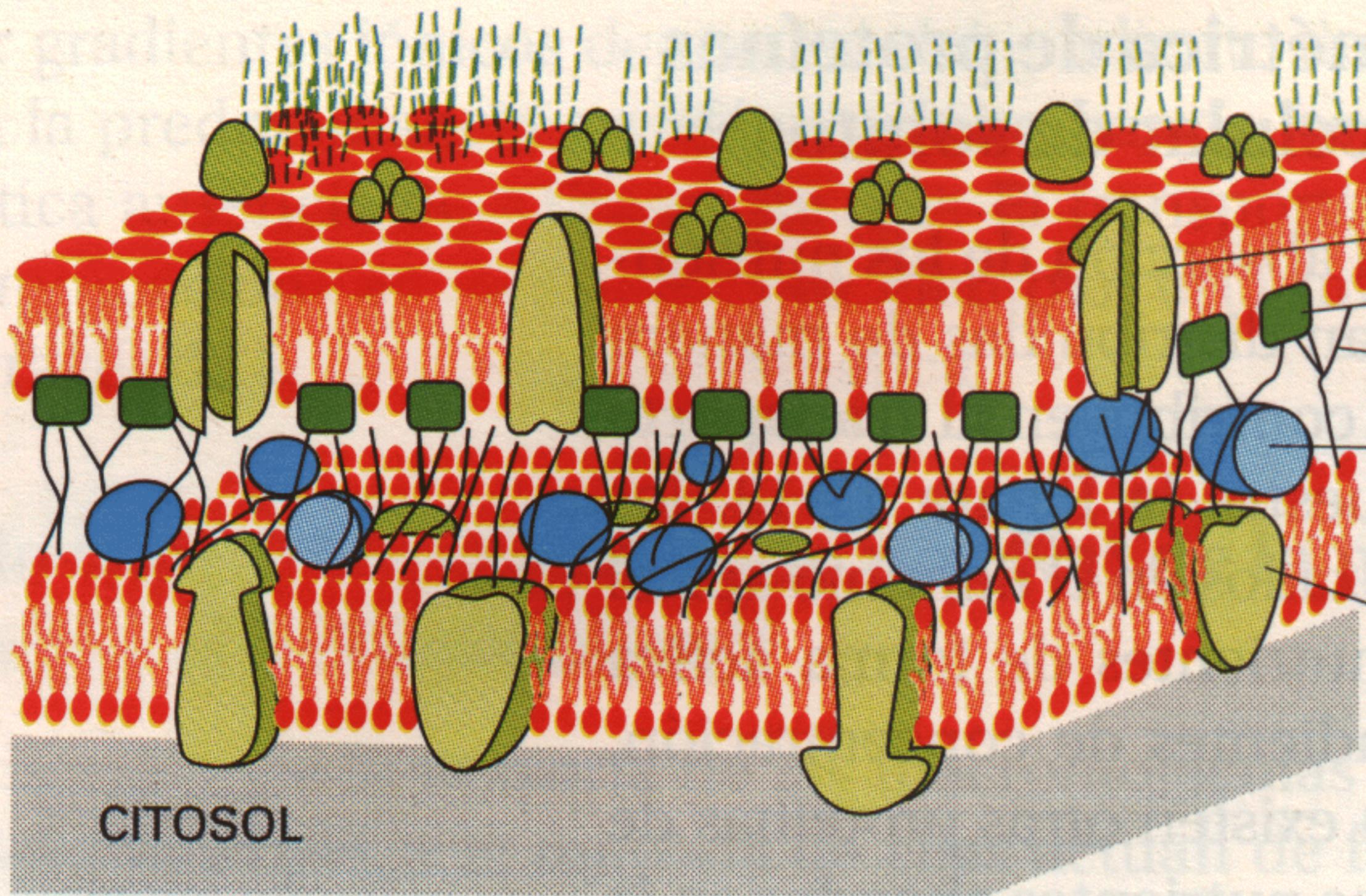


Figura 11-15 Sistema auxiliar de transporte asociado con las ATPasas de bacterias con doble membrana. El soluto difunde a través de proteínas formadoras de canal (llamadas *porinas*) de la membrana exterior y se unen a una *proteína periplásmica que se une a sustratos*. Como resultado de ello, la proteína que se une al sustrato sufre un cambio de conformación que le permite unirse a una proteína transportadora de la membrana plasmática, la cual toma el soluto y lo transfiere activamente a través de la bicapa mediante una reacción dirigida por la hidrólisis del ATP. Para mayor sencillez del dibujo, se ha omitido el peptidoglucano; su porosa estructura permite que tanto las proteínas que se unen a los sustratos como los solutos solubles en agua se desplacen por difusión simple a través de él.

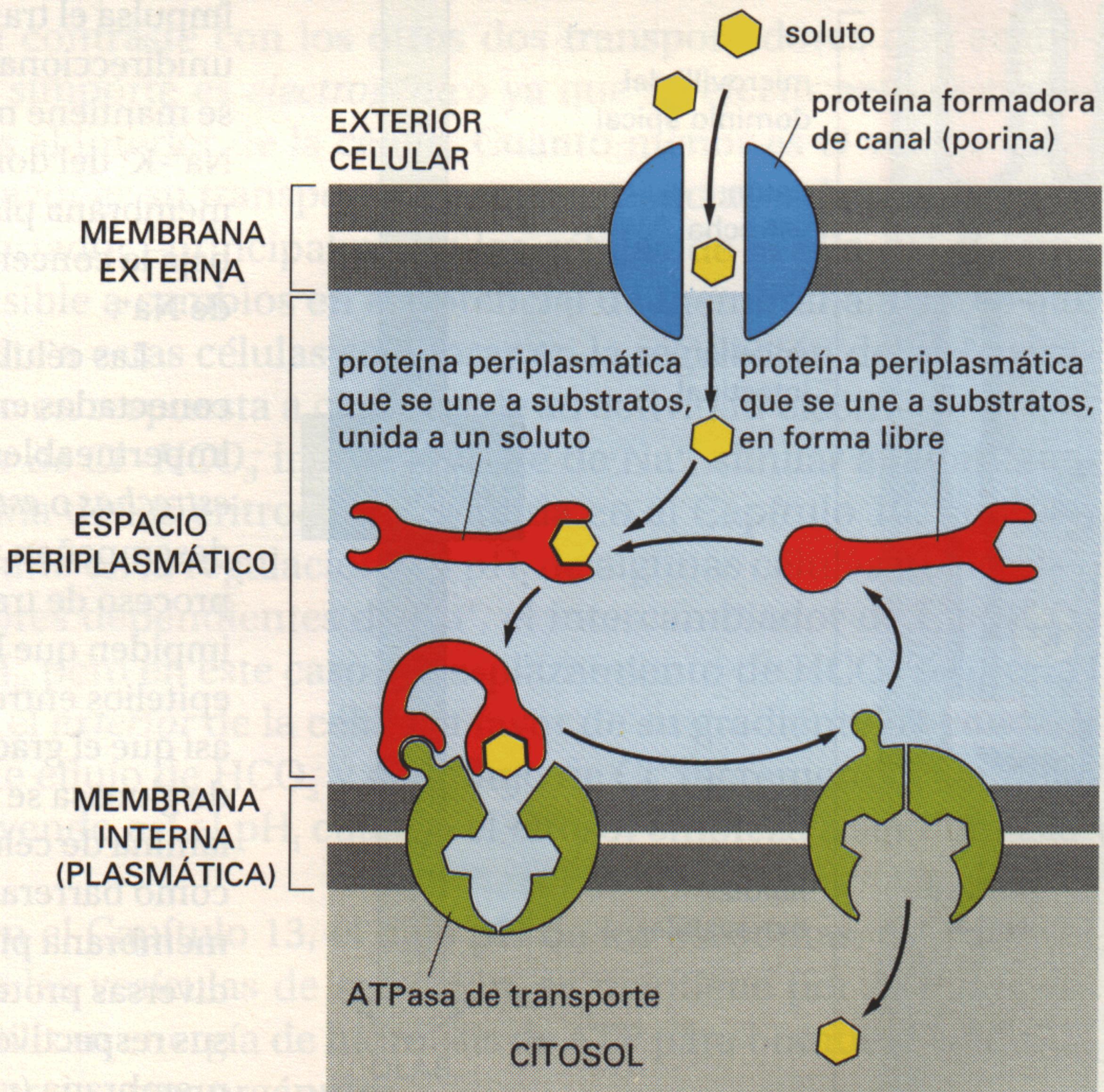
25 nm

bicapa lipídica externa
espacio peri-plasmático
bicapa lipídica interna



lipopolisacárido
porina
lipoproteína
peptidoglucano
proteína soluble en el espacio periplasmático
proteína de transporte

CITOSOL



soluto

EXTERIOR CELULAR

proteína formadora de canal (porina)

MEMBRANA EXTERNA

proteína periplasmática que se une a substratos, unida a un soluto

proteína periplasmática que se une a substratos, en forma libre

ESPACIO PERIPLASMÁTICO

MEMBRANA INTERNA (PLASMÁTICA)

ATPasa de transporte

CITOSOL

Tabla 11-2 Algunas familias de proteínas transportadoras

Familia*	Miembros representativos
Transportadores de azúcares	transportadores pasivos de glucosa en células de mamífero algunos transportadores de azúcares impulsados por H ⁺ , en bacterias
ATPasas de transporte de cationes	ATPasas de Na ⁺ -K ⁺ ATPasas de Ca ²⁺
Transportadores ABC	ATPasa de resistencia a múltiples drogas (MDR) en células de mamífero ATPasas dependientes de proteínas de unión a substratos periplasmáticos, en bacteria ATPasa de resistencia a la cloroquina, en <i>P. falciparum</i> exportadores de feromonas de acoplamiento sexual, en levadura bomba de péptidos, en la membrana del ER de vertebrados proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística (CFTR)
Transportadores de intercambio (antiporters) de aniones (Cl ⁻ -HCO ₃ ⁻)	proteína banda 3 en eritrocitos intercambiador de aniones, en otras células
Transportadores de intercambio de cationes	intercambiador de Na ⁺ -H ⁺
Transportadores de intercambio de cationes/aniones	intercambiador de Cl ⁻ -HCO ₃ ⁻ dependiente de Na
Transportadores unidireccionales impulsados por Na ⁺	Transportador unidireccional de glucosa y Na ⁺ , en células intestinales Transportador unidireccional de prolina y Na ⁺ , en bacterias Transportador unidireccional de Na ⁺ -HCO ₃ ⁻ , en células gliales

* Los miembros de una misma familia son similares entre sí en cuanto a secuencia de aminoácidos y, por lo tanto, se cree que han evolucionado a partir de una proteína ancestral común.

descritos en eucariotas es cada vez mayor. El primero en ser identificado se descubrió gracias a su capacidad de bombear drogas hidrofóbicas hacia el exterior de células eucariotas. Uno de estos transportadores es la **proteína de resistencia a múltiples drogas (MDR, de MultiDrug Resistance)** cuya sobreexpresión en células cancerosas humanas puede hacerlas simultáneamente resistentes a una gran variedad de drogas citotóxicas no relacionadas químicamente que son ampliamente utilizadas en la terapia del cáncer. El tratamiento con una de estas drogas puede provocar la selección de las células que sobreexpresan la proteína transportadora MDR; el transportador bombea la droga hacia el exterior de la célula, reduciendo así su toxicidad y confiriendo resistencia a la célula contra una gran variedad de agentes terapéuticos. En el protozoo *Plasmodium falciparum* se produce un fenómeno relacionado con éste e igualmente siniestro, que causa la malaria. Más de 200 millones de personas han sido infectadas por este parásito, que sigue siendo la mayor causa de muerte en humanos, matando más de un millón de personas cada año. El control de la malaria se ve entorpecido por el desarrollo de resistencia a la droga antimalárica *cloroquina*; se ha detectado un *P. falciparum* resistente que ha amplificado el gen que codifica el transportador ABC que transporta cloroquina hacia el exterior de la célula.

El número de miembros conocidos de la superfamilia ABC de transportadores en las células eucariotas crece rápidamente, y la función normal de algunos de ellos va siendo cada vez más clara. En levaduras, un transportador ABC es el responsable

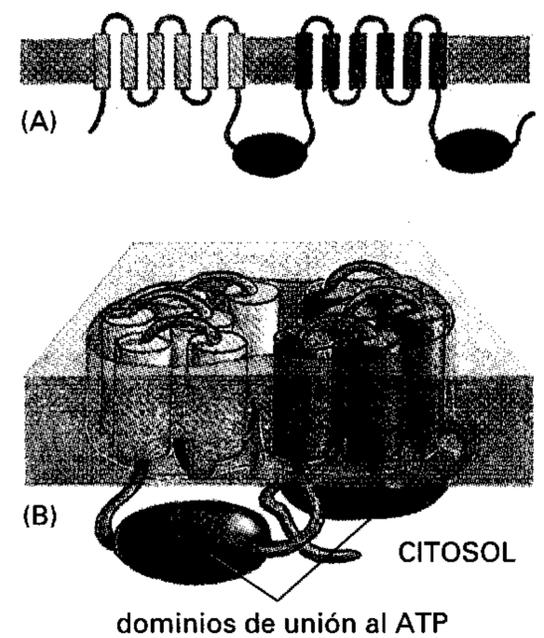
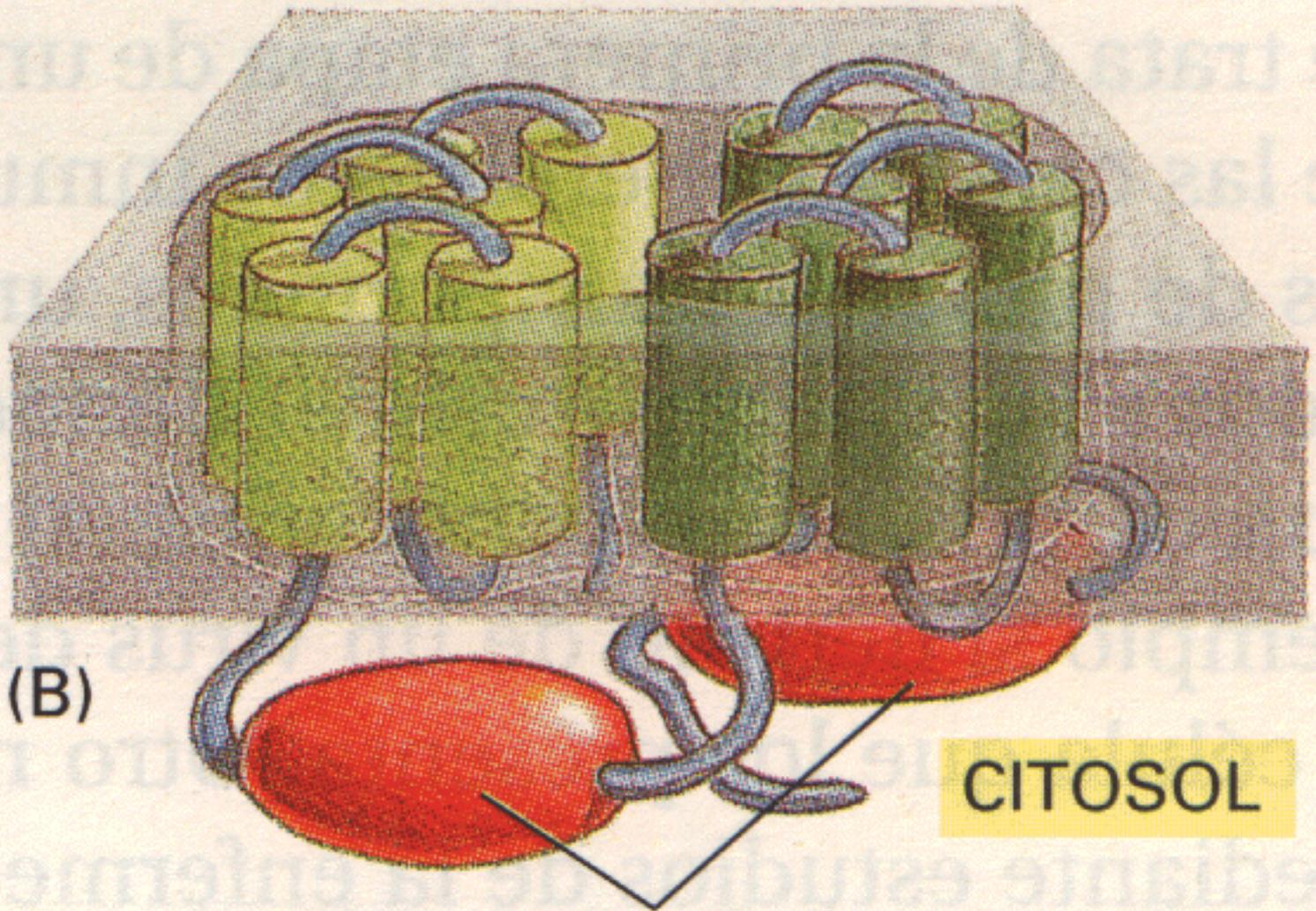
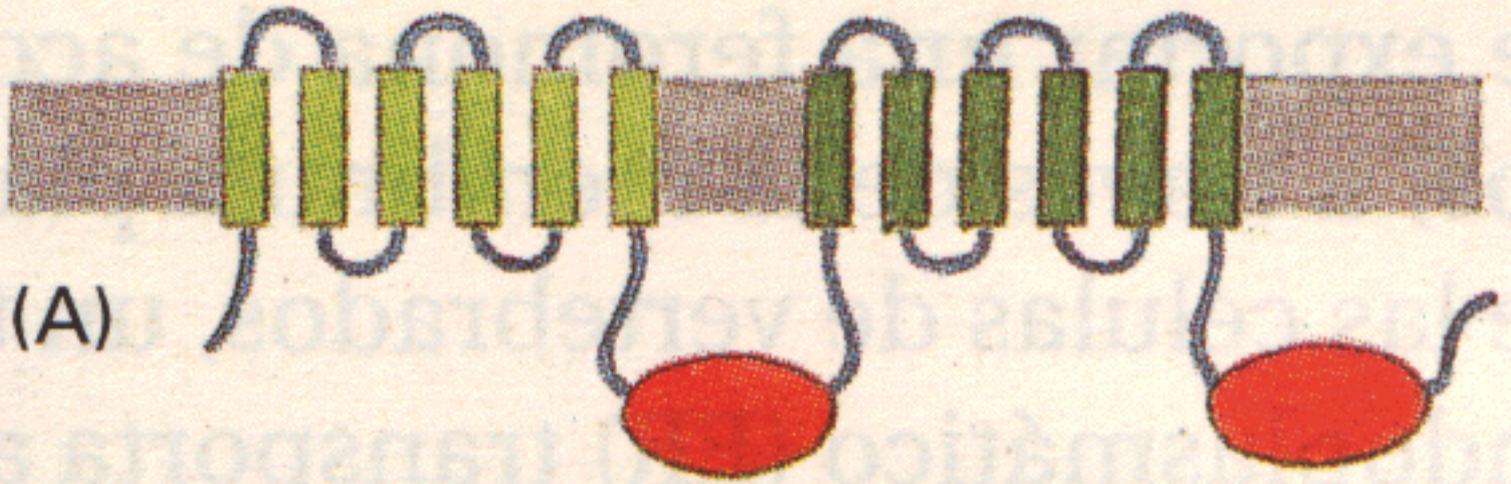


Figura 11-16 Dibujo esquemático de un transportador ABC típico.

(A) Diagrama topológico. (B) Disposición hipotética de la cadena polipeptídica en la membrana. El transportador está compuesto por cuatro dominios: dos dominios muy hidrofóbicos, cada uno de ellos con seis posibles segmentos intramembrana que de alguna forma deben participar en el proceso de translocación, y dos dominios catalíticos que unen ATP (o "cassettes"). En algunos casos las dos mitades del transportador están formadas por un mismo polipéptido (como en la figura) mientras que en otros están formadas por dos polipéptidos diferentes.



dominios de unión al ATP

de exportar una feromona de acoplamiento sexual (un péptido de 13 aminoácidos) a través de la membrana plasmática de la célula de levadura. En la mayoría de las células de vertebrados, un transportador ABC de la membrana del retículo endoplasmático (ER) transporta activamente desde el citosol hasta el interior del ER una gran variedad de péptidos producidos por la degradación de proteínas. Se trata de la primera etapa de un proceso de gran importancia en la supervisión de las células por el sistema inmune (se discute en el Capítulo 23). Los fragmentos de proteína transportados, una vez han entrado al ER, pueden ser transportados a la superficie celular donde son presentados para que los linfocitos T citotóxicos puedan reconocerlos; si resultan ser extraños al individuo (como por ejemplo si derivan de un virus del interior de la célula), los linfocitos T matan a la célula que los presenta. Otro miembro de la familia ABC ha sido descubierto mediante estudios de la enfermedad genética común denominada *fibrosis quística*. Esta enfermedad está causada por una mutación en un gen que codifica un transportador ABC que actúa como un canal de Cl^- en la membrana plasmática de las células epiteliales. El canal es poco habitual en cuanto a que para abrirse requiere la hidrólisis de ATP y la fosforilación dependiente de AMP cíclico. Debido a que existen evidencias de que la proteína MDR también puede actuar como canal de Cl^- en algunas células (en este caso, no regulado por AMP cíclico sino por el volumen celular), parece claro que al menos algunos transportadores ABC pueden actuar como transportadores y como canales iónicos. Sin embargo, todavía resulta un misterio de qué forma los transportadores ABC pueden actuar de estas dos maneras tan diferentes y transferir a través de la membrana estos tipos de moléculas tan distintos.

En la Tabla 11-2 se resumen algunas de las familias de las proteínas transportadoras de las que hemos tratado.

Resumen

Las proteínas transportadoras se unen a determinados solutos y los transportan a través de la bicapa lipídica, mediante cambios conformacionales que exponen el lugar de unión al soluto secuencialmente a uno y luego al otro lado de la membrana. Algunas proteínas transportadoras simplemente transportan un soluto “cuesta abajo”, mientras que otras pueden actuar como bombas transportando un soluto “cuesta arriba” en contra de su gradiente electroquímico, utilizando para ello energía de hidrólisis del ATP o un flujo “cuesta abajo” de otro soluto (como el Na^+) para impulsar las series de cambios de conformación necesarios. Estudios de clonaje y secuenciación de DNA muestran que las proteínas transportadoras pertenecen a un pequeño número de familias, cada una de las cuales contiene proteínas de secuencias de aminoácidos similares que probablemente han evolucionado a partir de una proteína ancestral común, y que actúan a través de un mecanismo similar. La familia de ATPasas transportadoras de cationes, que incluye la ubicua bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, constituye un ejemplo importante de ello; cada una de estas ATPasas contiene una gran subunidad catalítica que secuencialmente es fosforilada y desfosforilada durante el ciclo de bombeo. La superfamilia de transportadores ABC es especialmente importante desde el punto de vista clínico: incluye proteínas que son responsables de la fibrosis quística, y también proteínas que confieren resistencia a drogas en células cancerosas y en parásitos causantes de la malaria.

Canales iónicos y propiedades eléctricas de las membranas¹⁵

A diferencia de las proteínas transportadoras, las **proteínas de canal** forman poros hidrofílicos que atraviesan la membrana. Una clase de proteínas de canal que se encuentra en prácticamente todos los grupos de animales forma las *uniones comunicantes* (*gap junctions*) entre dos células adyacentes; cada membrana

plasmática contribuye de la misma forma a la formación del canal, que conecta los citoplasmas de ambas células. Estos canales se discuten en el Capítulo 19, por lo que aquí no trataremos de ellos. Tanto las uniones comunicantes como las *porinas*, las proteínas formadoras de canal de las membranas externas de las bacterias, mitocondrias y cloroplastos (discutidas en el Capítulo 10), tienen poros relativamente grandes y permisivos, que resultarían desastrosos si conectaran directamente el interior de una célula con el espacio extracelular. Por el contrario, la mayoría de proteínas de canal de la membrana plasmática de las células animales y vegetales conectan el citosol con el exterior celular, por lo que necesariamente han de tener poros estrechos altamente selectivos. Estas proteínas están relacionadas específicamente con el transporte de iones inorgánicos, por lo que se denominan **canales iónicos**. Respecto a la eficiencia de transporte, los canales tienen ventaja sobre los transportadores ya que a través de cada canal pueden pasar más de 1 millón de iones cada segundo, lo cual es una velocidad más de 1000 veces superior que el transporte mediado por cualquier transportador conocido. Por otro lado, los canales iónicos no pueden estar acoplados a una fuente energética, de forma que el transporte que median siempre es pasivo (“cuesta abajo”). Así, la función de los canales iónicos es permitir que iones inorgánicos específicos, mayoritariamente Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , o Cl^- , puedan difundir a favor de su gradiente electroquímico a través de la bicapa lipídica. Esto no quiere decir, sin embargo, que el transporte a través de canales iónicos no esté regulado. Por el contrario, veremos que la capacidad de regular el flujo de iones es esencial para la función de muchos tipos celulares. Concretamente, las células nerviosas se han especializado en la utilización de canales iónicos, y consideraremos de qué forma utilizan una gran variedad de tales canales para recibir, conducir y transmitir señales.

Los canales iónicos son selectivos para el ion y fluctúan entre estados abiertos y cerrados¹⁵

Dos propiedades importantes diferencian los canales iónicos de los simples poros acuosos. En primer lugar, presentan *selectividad iónica*, es decir, permiten que algunos iones puedan pasar y otros no. Esto sugiere que sus poros deben ser suficientemente estrechos en algunos lugares como para permitir que los iones entren en contacto íntimo con las paredes del canal, de tal manera que sólo los iones de tamaño y carga adecuados puedan atravesarlos. Se cree que para poder pasar a través de la parte más estrecha del canal, los iones que atraviesan los canales (en fila) tienen que deshacerse de la mayor parte o de todas las moléculas de agua que llevan asociadas; este hecho limita la velocidad máxima de paso. Así, cuando aumenta la concentración de un ion, el flujo de tal ion a través del canal aumenta proporcionalmente hasta que se alcanzan los niveles de saturación, momento en que se llega a la velocidad máxima de transporte.

La segunda diferencia importante entre los canales iónicos y los simples poros acuosos consiste en que los canales iónicos no están abiertos continuamente. En lugar de ello, tienen “puertas” que se abren brevemente y luego se cierran de nuevo, tal como se muestra esquemáticamente en la Figura 11-17. En la ma-

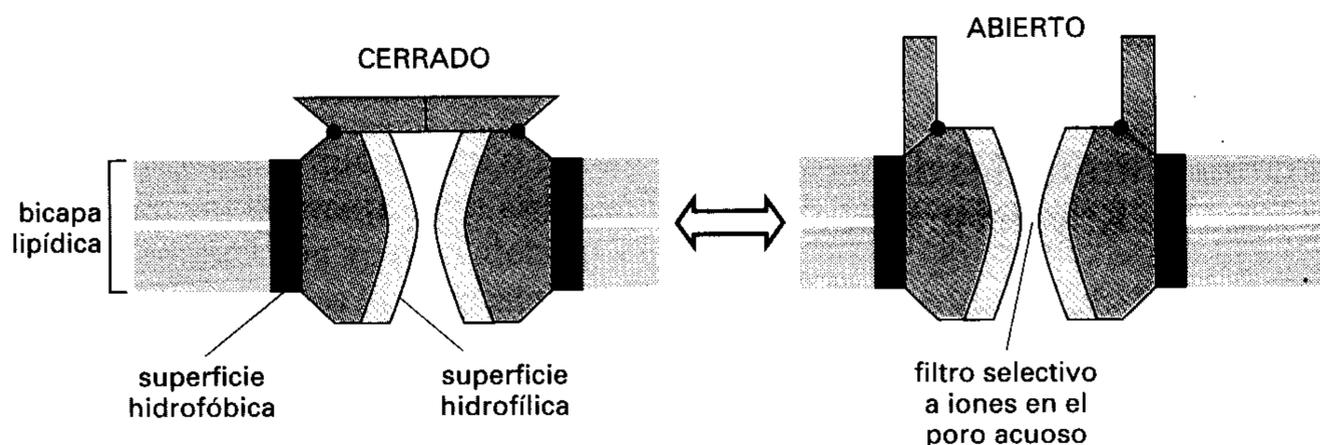
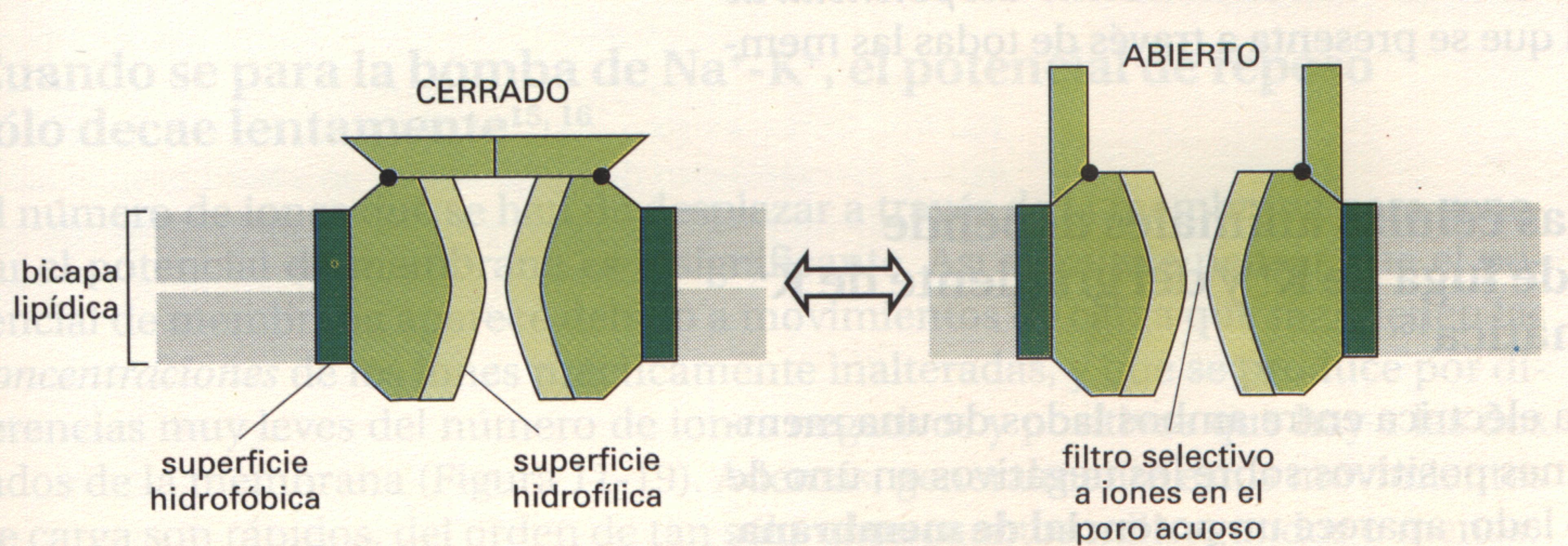


Figura 11-17 Dibujo esquemático de un canal iónico típico, que fluctúa entre las conformaciones cerrada y abierta. Una proteína transmembrana, vista en sección transversal, forma un poro acuoso a través de la bicapa lipídica, únicamente cuando la compuerta está abierta. Se cree que las paredes internas del poro se hallan recubiertas de cadenas laterales de aminoácidos polares, mientras que las cadenas laterales hidrofóbicas interactúan con la bicapa lipídica. El poro se estrecha hasta alcanzar, en una región determinada, dimensiones atómicas (el “filtro selectivo de iones”); esta región determina principalmente la selectividad iónica del canal.



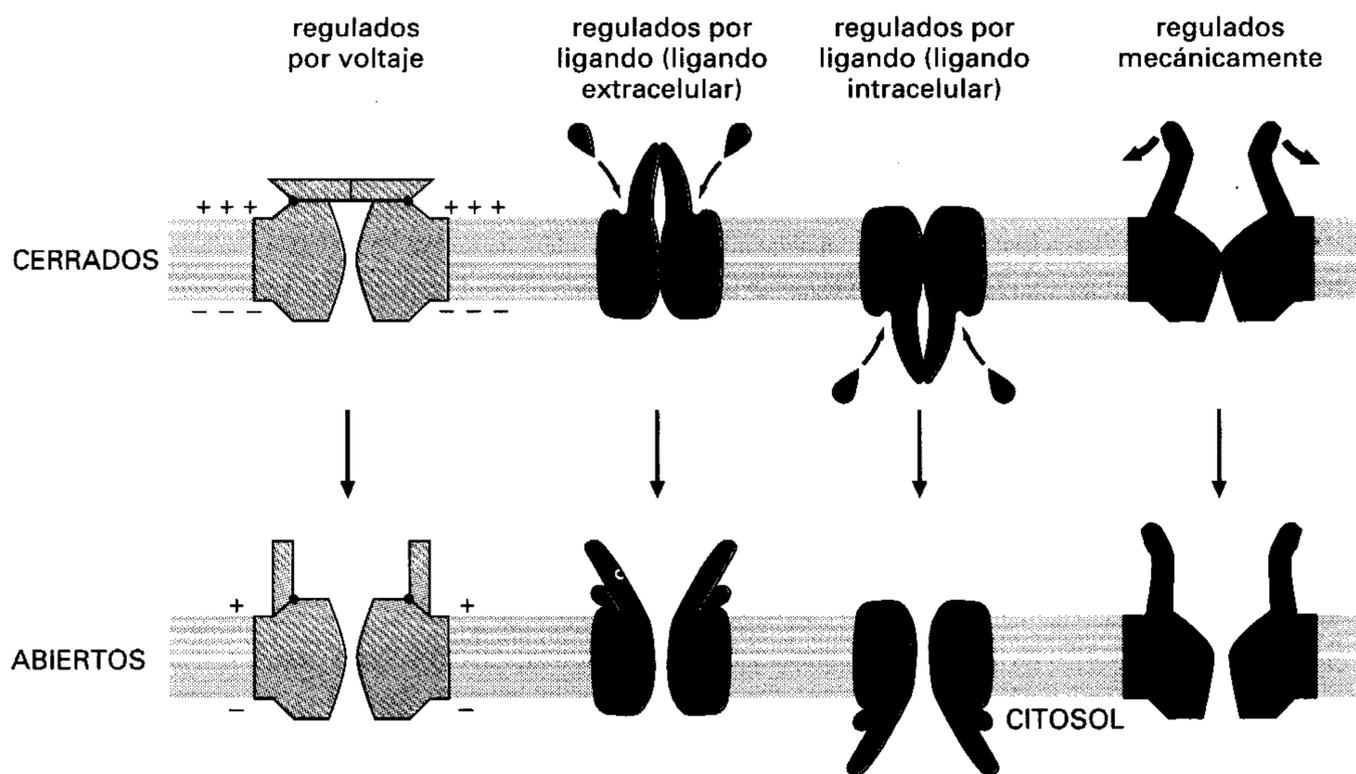


Figura 11-18 Canales iónicos regulados. Dibujo esquemático de los diferentes sistemas a través de los cuales se pueden regular los canales iónicos.

yoría de los casos las puertas se abren en respuesta a estímulos específicos. Los principales tipos de estímulos que se sabe que causan la abertura de los canales iónicos son cambios en el voltaje a través de la membrana (*canales regulados por voltaje*), estimulaciones mecánicas (*canales regulados mecánicamente*) y la unión de un ligando (*canales regulados por ligando*). El ligando puede ser un mediador extracelular –específicamente un neurotransmisor (*canales regulados por transmisor*) o un mediador intracelular, como un ion (*canales regulados por ion*), o un nucleótido (*canales regulados por nucleótido*) (Figura 11-18). La actividad de muchos canales iónicos está regulada, además, por fosforilación y desfosforilación de proteínas; este tipo de regulación se discute en el caso de los canales regulados por nucleótido, en el Capítulo 15.

Hasta ahora se han descrito más de 100 tipos de canales iónicos, y todavía se están descubriendo más. Son responsables de la excitabilidad eléctrica del músculo y median la mayoría de formas de señales eléctricas en el sistema nervioso. Una célula nerviosa típica contiene 10 tipos diferentes o más de canales iónicos, localizados en diferentes dominios de su membrana plasmática. Sin embargo, estos canales no sólo se presentan en células excitables eléctricamente, sino que también se hallan en todas las células animales y vegetales y también en microorganismos: por ejemplo, los canales iónicos son los responsables de propagar la respuesta de cerrar las hojas de la mimosa, y permiten que los paramecios unicelulares cambien de dirección después de colisionar.

Quizás los canales iónicos más comunes son los permeables principalmente al K^+ , que se encuentran en la membrana plasmática de casi todas las células animales. Un importante subconjunto de estos canales se abre incluso en células no estimuladas (“en reposo”) por lo que habitualmente se les denomina *canales de fuga de K^+* . Aunque este término se refiere a una gran variedad de canales de K^+ diferentes, dependiendo del tipo celular de que se trate, tienen una función común: haciendo que la membrana plasmática sea mucho más permeable al K^+ que a cualquier otro ion, juegan un papel crítico en el mantenimiento del *potencial de membrana* –la diferencia de potencial que se presenta a través de todas las membranas plasmáticas.

El potencial de membrana de las células animales depende principalmente de los canales de fuga de K^+ y del gradiente de K^+ a través de la membrana plasmática^{15, 16}

Cuando existe una diferencia de carga eléctrica entre ambos lados de una membrana, debido a un ligero exceso de iones positivos sobre los negativos en uno de los lados y un ligero defecto en el otro lado, aparece un **potencial de membrana**.

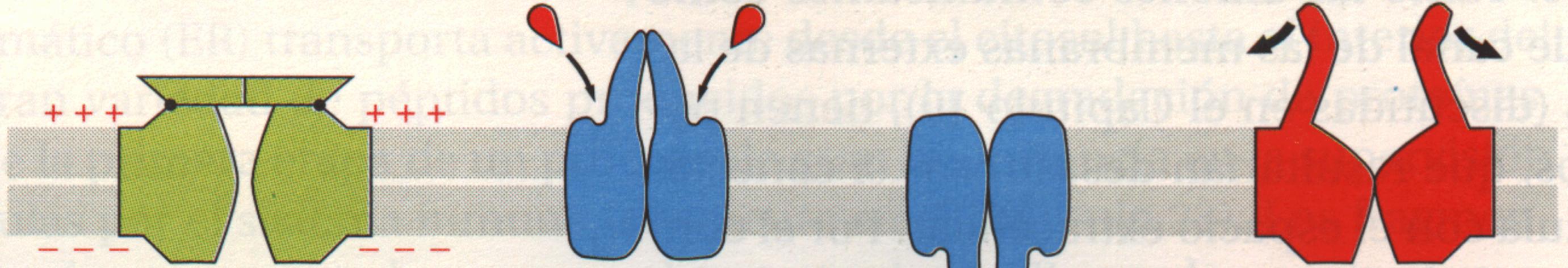
regulados por voltaje

regulados por ligando (ligando extracelular)

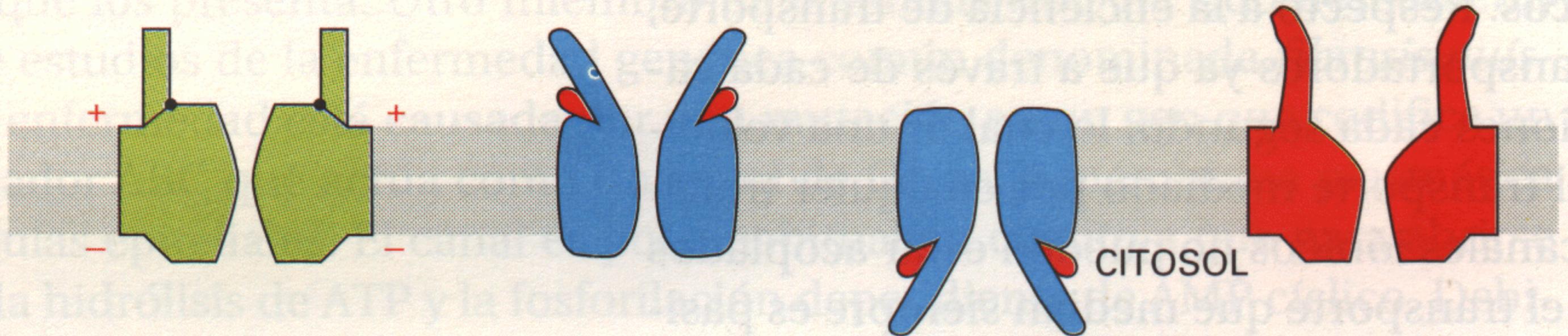
regulados por ligando (ligando intracelular)

regulados mecánicamente

CERRADOS



ABIERTOS



Estas diferencias de carga pueden producirse tanto por un transporte activo electrogénico (véase pág. 550) como por difusión iónica pasiva. Veremos en el Capítulo 14 que la mayor parte del potencial de membrana de la mitocondria está generado por la bomba electrogénica de H^+ de la membrana interna de la mitocondria. Las bombas electrogénicas también generan la mayor parte del potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de las células vegetales y de hongos. Sin embargo en las células animales típicas son los movimientos pasivos de los iones los principales responsables del potencial eléctrico a través de la membrana plasmática.

Como se ha explicado anteriormente, la ATPasa de Na^+-K^+ ayuda a mantener el equilibrio osmótico a través de la membrana plasmática, manteniendo baja la concentración intracelular de Na^+ . Como en el interior celular hay poco Na^+ , tienen que existir otros cationes en cantidades abundantes que equilibren la carga de los aniones fijos celulares –las moléculas cargadas negativamente que están confinadas en el interior celular. Este papel de equilibrador de cargas está desempeñado principalmente por el K^+ , que es bombeado activamente al interior celular por la ATPasa de Na^+-K^+ y que también puede desplazarse libremente hacia el interior o el exterior de la célula a través de los **canales de fuga de K^+** . Debido a la presencia de estos canales, el K^+ se mantiene prácticamente en un equilibrio en el que la fuerza eléctrica, ejercida por un exceso de cargas negativas del interior de la célula, atrayendo el K^+ hacia el interior de la célula, equilibra la tendencia del K^+ a salir a favor de su gradiente de concentración. El potencial de membrana es la manifestación de esta fuerza eléctrica y se puede calcular su valor de equilibrio a partir del valor del gradiente de concentración del K^+ . Los argumentos siguientes pueden ayudar a aclarar este concepto.

Supongamos que inicialmente no existe gradiente de voltaje a través de la membrana plasmática (el potencial de membrana es cero) pero que la concentración de K^+ es elevada en el interior de la célula y baja en el exterior. El K^+ tenderá a salir de la célula a través de los canales de fuga del K^+ , impulsado por su gradiente de concentración. A medida que el K^+ vaya fluyendo hacia el exterior de la célula, dejará detrás suyo una carga neta negativa, creando así un campo eléctrico o potencial de membrana que tenderá a impulsar de nuevo el K^+ hacia el interior de la célula. El reflujo neto de K^+ cesará cuando el potencial de membrana alcance un valor tal que la fuerza eléctrica que genere sobre el K^+ equilibre exactamente el efecto del gradiente de concentración de este ion –es decir, cuando su gradiente electroquímico de K^+ sea cero. Al mismo tiempo, los iones Cl^- se equilibran de manera similar a como ocurre con el K^+ , pero dado que su carga es negativa, el potencial de membrana mantiene la mayoría de estos iones fuera de la célula. Esta condición de equilibrio en la que no hay flujo neto de corriente eléctrica a través de la membrana, define el **potencial de reposo de la membrana** para esta célula ideal. Una fórmula sencilla pero muy importante, la **ecuación de Nernst**, expresa la condición de equilibrio de manera cuantitativa y, tal como se explica en el Panel 11-2, permite calcular el potencial de reposo teórico de la membrana si se conoce la relación de concentraciones iónicas interna y externa. Sin embargo, como la membrana plasmática de una célula real no es exclusivamente permeable a K^+ y a Cl^- , el potencial de reposo real generalmente no es exactamente igual al que predice la ecuación de Nernst para el K^+ y el Cl^- .

Cuando se para la bomba de Na^+-K^+ , el potencial de reposo sólo decae lentamente^{15, 16}

El número de iones que se han de desplazar a través de la membrana para generar el potencial de membrana es insignificante. Así se puede pensar que el potencial de membrana aparece debido a movimientos de carga que mantienen las *concentraciones* de los iones prácticamente inalteradas, y que se produce por diferencias muy leves del número de iones negativos y positivos que hay a los dos lados de la membrana (Figura 11-19). Además, generalmente estos movimientos de carga son rápidos, del orden de tan sólo unos cuantos milisegundos o menos.

LA ECUACIÓN DE NERNST Y EL FLUJO DE IONES

El flujo de cualquier ion a través de una proteína canal de membrana está dirigido por el gradiente electroquímico de este ion. Este gradiente representa la combinación de dos factores: el gradiente de voltaje y el gradiente de concentración del ion a través de la membrana. Cuando estas dos influencias se equilibran una con otra, el gradiente electroquímico del ion

es cero y no se produce flujo *neto* del ion a través del canal. El gradiente de voltaje (potencial de membrana) en el que se alcanza este equilibrio, se denomina potencial de equilibrio del ion. Puede calcularse mediante una ecuación que será deducida a continuación, llamada ecuación de Nernst.

La ecuación de Nernst es:

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_o}{C_i}$$

donde

V = potencial de equilibrio en voltios
(potencial interno menos el
potencial externo)

C_o y C_i = concentraciones externa (de "outside")
e interna del ion, respectivamente

R = constante de los gases ($2 \text{ cal mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$)

T = temperatura absoluta ($^\circ\text{K}$)

F = constante de Faraday ($2,3 \times 10^4 \text{ cal V}^{-1}$
 mol^{-1})

z = valencia (carga) del ion

\ln = logaritmo de base e

La ecuación de Nernst puede deducirse de la siguiente forma:

Una molécula en solución (un soluto) siempre se mueve desde una región de elevada concentración hacia una región de baja concentración, simplemente debido a la presión de los números. Consecuentemente, el movimiento a favor de gradiente de concentración viene acompañado de una variación favorable de energía libre ($\Delta G < 0$), mientras que el movimiento en contra de gradiente de concentración viene acompañado de una variación desfavorable de energía libre ($\Delta G > 0$). (El concepto de energía libre se introduce y discute en el Panel 14-1, págs. 714-715.) La variación de energía libre por mol de soluto que se ha desplazado a través de la membrana plasmática (ΔG_{conc}) es igual a $-RT \ln C_o / C_i$. Si el soluto es un ion, al moverse hacia el interior de una célula a través de una membrana en la que se mantiene un voltaje V en el interior respecto al exterior, generará una variación adicional de energía libre (por mol de soluto que se haya desplazado) de $\Delta G_{\text{volt}} = zFV$. En el punto en el que el gradiente de concentración y el de voltaje se hallen compensados exactamente, $\Delta G_{\text{conc}} + \Delta G_{\text{volt}} = 0$ y la distribución del ion se hallará en equilibrio a través de la membrana. Así

$$zFV - RT \ln \frac{C_o}{C_i} = 0$$

y por tanto

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_o}{C_i} = 2,3 \frac{RT}{zF} \log_{10} \frac{C_o}{C_i}$$

Para un ion monovalente,

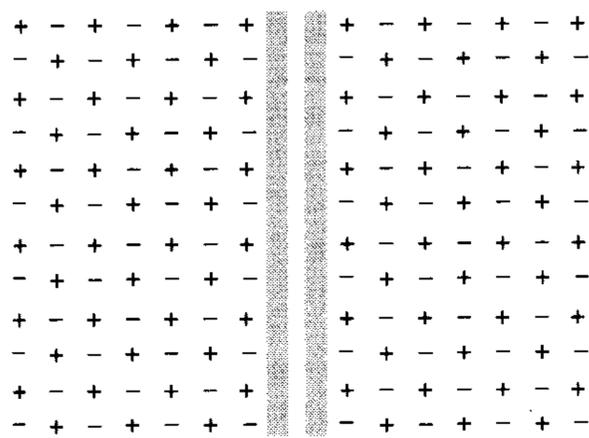
$$2,3 \frac{RT}{F} = 58 \text{ mV a } 20^\circ\text{C} \text{ y } 61,5 \text{ mV a } 37^\circ\text{C}$$

Así pues, para un ion dado a 37°C , $V = +61,5 \text{ mV}$ para $C_o / C_i = 10$, mientras que $V = 0$ para $C_o / C_i = 1$.

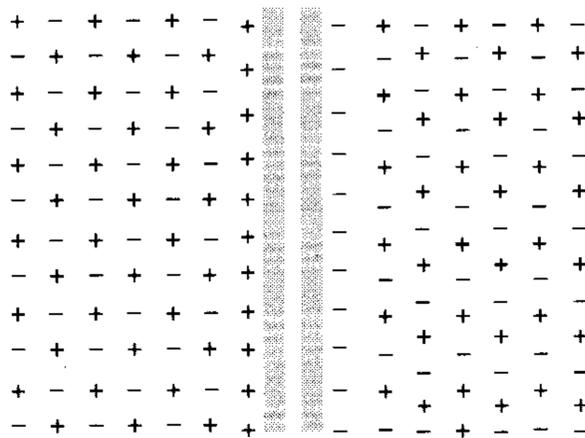
Por ejemplo, el potencial de equilibrio del K^+ (V_K) es de $61,5 \log_{10}([K^+]_o / [K^+]_i)$ milivoltios (-89 mV para una célula típica cuando $[K^+]_o = 5 \text{ mM}$ y $[K^+]_i = 140 \text{ mM}$). A V_K , no existe flujo neto de K^+ a través de la membrana. De forma similar, cuando el potencial de membrana alcanza un valor de $61,5 \log_{10}([Na^+]_o / [Na^+]_i)$, el potencial de equilibrio del Na^+ (V_{Na}), no existirá flujo neto de Na^+ .

Para cualquier potencial de membrana particular, V_M , la fuerza neta que tiende a empujar hacia el exterior de la célula a un determinado tipo de ion es proporcional a la diferencia entre V_M y el potencial de equilibrio del ion: así, para el K^+ es $V_M - V_K$ y para el Na^+ es $V_M - V_{Na}$.

El número de iones que forman la lámina de carga adyacente a la membrana es despreciable comparado con el número total de iones del interior de la célula. Por ejemplo, el desplazamiento de 6000 iones Na^+ a través de $1 \mu\text{m}^2$ de membrana transportará suficiente carga para cambiar el potencial de membrana unos 100 mV . Como existen unos 3×10^7 iones Na^+ en $1 \mu\text{m}^3$ de citosol, este desplazamiento de carga tendrá un efecto despreciable sobre los gradientes de concentración a través de la membrana.



equilibrio exacto de cargas a cada lado de la membrana; potencial de membrana = 0



una pequeña cantidad de iones positivos (rojo) atraviesan la membrana de izquierda a derecha, dejando tras de sí sus contraiones negativos (rojo); este hecho provoca la aparición de un potencial de membrana diferente de cero

Figura 11-19 Un pequeño flujo de iones transporta suficiente cantidad de carga para generar una gran variación del potencial de membrana.

Los iones que incrementan el potencial de membrana se hallan situados en una fina capa superficial (< 1 nm) muy cerca de la membrana, que se mantiene unida a ella debido a su atracción eléctrica con los iones de carga opuesta (contraiones) del otro lado de la membrana. Para una célula típica, 1 microculombio de carga (6×10^{12} iones monovalentes) por centímetro cuadrado de membrana transferidos de un lado a otro de la membrana genera una carga de aproximadamente 1 V. Esto significa, por ejemplo, que en una célula esférica de 10 μm de diámetro, el número de iones K^+ que han de fluir hacia el exterior de la célula para generar una variación del potencial de membrana de 100 mV, únicamente es de 1/100 000 parte del total de iones K^+ del citosol.

Resulta clarificador considerar qué le ocurre al potencial de membrana si la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ se inactiva de repente. Primero, se produce un bajada suave e inmediata del potencial de membrana. Esto se debe a que la bomba es electrogénica y cuando se mantiene activa contribuye ligeramente a mantener el potencial de membrana ya que extrae tres Na^+ por cada dos K^+ que introduce en la célula. Sin embargo, al cerrar la bomba no se eliminan los componentes principales del potencial de reposo, que como se ha esbozado anteriormente está generado por un mecanismo de equilibrio del K^+ . Este desequilibrio persiste mientras se mantenga baja la concentración de Na^+ en el interior de la célula y alta la de K^+ en el exterior –normalmente varios minutos. No obstante, la membrana plasmática es algo permeable a todos los iones pequeños, incluido el Na^+ . Así pues, si no funciona la ATPasa de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ los gradientes iónicos mantenidos por la bomba irán disminuyendo y el potencial de membrana establecido por la difusión a través de los canales de fuga de K^+ también irá disminuyendo. Cuando entra Na^+ el equilibrio osmótico aumenta y entra agua a la célula (véase Panel 11-1, pág. 552). Pero si la célula no explota, se alcanzará un nuevo estado de reposo en el que el Na^+ , el K^+ y el Cl^- se encontrarán en equilibrio a través de la membrana. En este estado el potencial de membrana es mucho menor que en la célula normal, con una bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ activa.

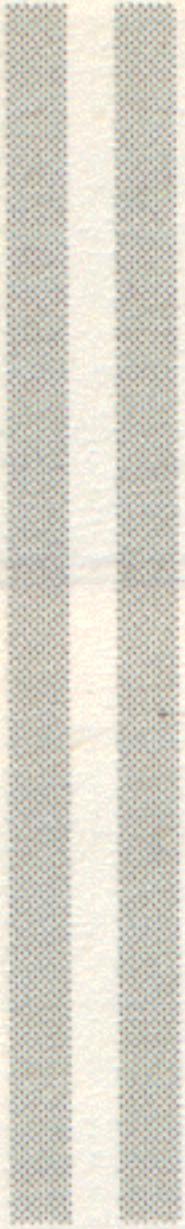
La diferencia de potencial a través de la membrana plasmática de una célula animal en reposo varía entre -20mV y -200mV , dependiendo del organismo y del tipo celular. A pesar de que el gradiente de K^+ siempre tiene una influencia principal en este potencial, el gradiente de otros iones (y el efecto desequilibrante de las bombas de iones) también tiene un efecto significativo: cuanto más permeable sea la membrana para un ion, mayor será la tendencia del potencial de membrana a alcanzar el valor de equilibrio de este ion. En consecuencia, casi cualquier cambio de la permeabilidad de la membrana provocará un cambio en el potencial de la membrana. Ésta es la clave principal que relaciona la excitabilidad eléctrica de las células con las actividades de los canales iónicos.

Las células nerviosas o neuronas son especialistas de la excitabilidad eléctrica; la mayor parte de nuestros conocimientos sobre este tema proviene de estudios sobre estas células extraordinarias. Por lo tanto, para poder situar la excitabilidad eléctrica en su contexto, hemos de hacer una breve digresión para revisar brevemente cómo está organizada una neurona típica.

La función de una célula nerviosa depende de su estructura alargada¹⁵

La tarea fundamental de la neurona es recibir, conducir y transmitir señales. Para realizar estas funciones, normalmente las neuronas son extremadamente alargadas: una célula nerviosa de un ser humano, que se extienda desde la médula espinal hasta un músculo del pie, puede tener un metro de largo. Cada

+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+
+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+
+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+
+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+
+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+
+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	+



-	+	-	+	+	-
-	-	+	-	+	+
-	+	-	+	-	+
-	-	+	-	+	+
-	+	-	+	-	-
-	-	+	-	+	+
-	-	+	-	+	+
-	+	-	+	-	-
-	-	+	-	+	+
-	-	+	-	+	+
-	-	+	-	+	+
-	-	+	-	+	+

+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-
+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-
+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-
+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-
+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-
+	-	+	-	+	-	+			+	-	+	-	+	-	+
-	+	-	+	-	+	-			-	+	-	+	-	+	-

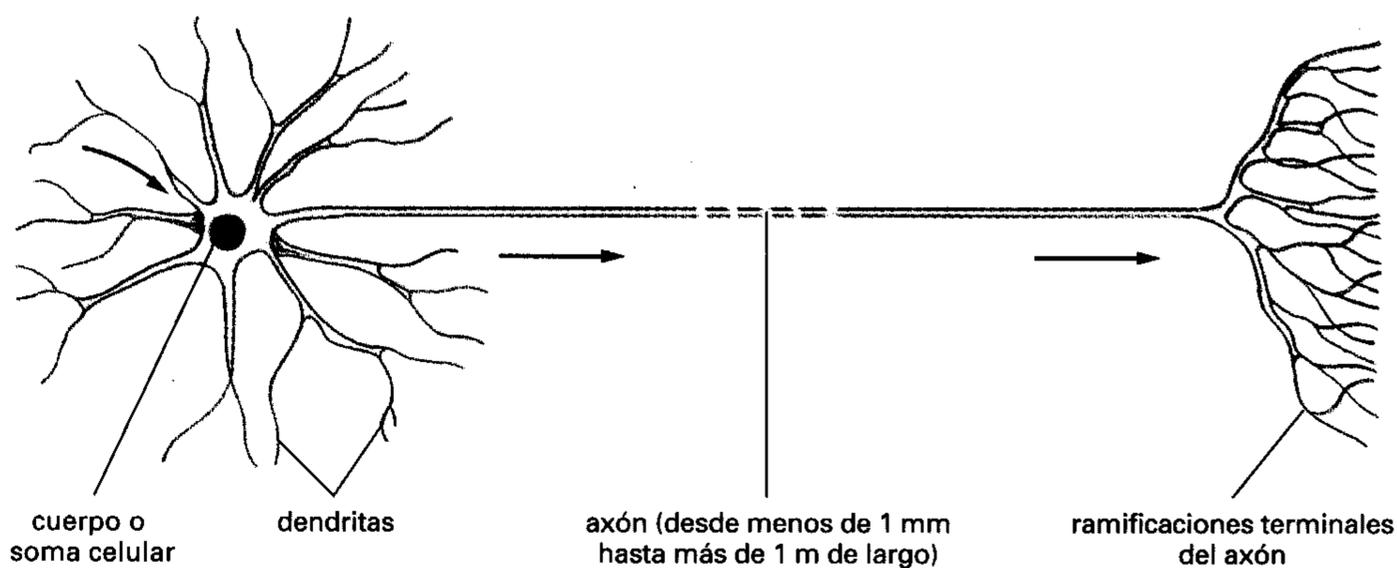


Figura 11-20 Diagrama esquemático de una neurona típica de vertebrado. Las flechas indican la dirección en la que se transportan las señales. El axón conduce las señales en sentido de alejarse del soma celular mientras que las múltiples dendritas reciben señales de los axones de otras neuronas. Las terminales nerviosas acaban sobre las dendritas o el soma celular de otras neuronas o sobre otros tipos celulares, como fibras musculares o células glandulares.

neurona consta de un *cuerpo o soma celular* (que contiene el núcleo) y un cierto número de largas y delgadas proyecciones que irradian desde este soma hacia el exterior. Generalmente tienen un largo **axón**, que conduce las señales desde el soma celular hacia dianas distantes y varias **dendritas**, más cortas y ramificadas, que se extienden desde el soma celular como antenas, proporcionando una extensa superficie que le permite a la neurona recibir señales procedentes de los axones de otras células nerviosas (Figura 11-20). Las señales también se reciben en el propio soma celular. Habitualmente el axón se divide en su extremo distal en numerosas ramas de forma que puede transmitir su mensaje a muchas células diana simultáneamente. Además, la extensión de las ramificaciones de las dendritas puede ser muy grande –en algunos casos lo suficiente como para que una sola neurona reciba hasta 100 000 contactos.

A pesar del variado significado de las señales transportadas por las diferentes clases de neuronas, la *forma* de estas señales es siempre la misma: cambios del potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de la neurona. La comunicación tiene lugar debido a que una alteración eléctrica producida en una zona de la célula se propaga hacia otras zonas. Esta alteración se iría debilitando al aumentar la distancia a la que se propaga a partir del origen, a no ser que se gaste energía para amplificarla a medida que se propaga. En distancias cortas esta atenuación carece de importancia; de hecho muchas neuronas pequeñas conducen sus señales de manera pasiva, sin amplificación. Para comunicaciones a largas distancias, sin embargo, esta propagación pasiva es inadecuada. Así, las neuronas mayores utilizan un mecanismo de señalización activo que constituye uno de sus rasgos más sorprendentes: un estímulo eléctrico que sobrepasa una cierta intensidad umbral desencadena una explosión de actividad eléctrica que se propaga rápidamente a lo largo de la membrana plasmática de la neurona y que se mantiene por una amplificación automática a lo largo de todo el recorrido. Esta onda viajera de excitación eléctrica, conocida como **potencial de acción** o *impulso nervioso*, puede transportar un mensaje sin atenuación desde un extremo de una neurona hasta el otro, a velocidades tan rápidas como 100 m/seg o más. Los potenciales de acción son consecuencia directa de la acción de los canales regulados por voltaje, como veremos a continuación

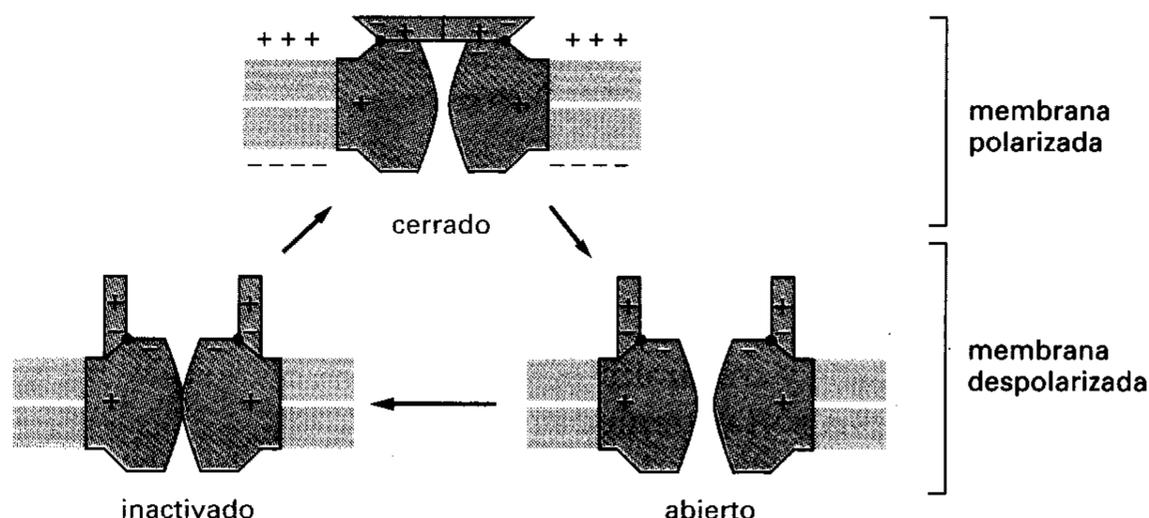
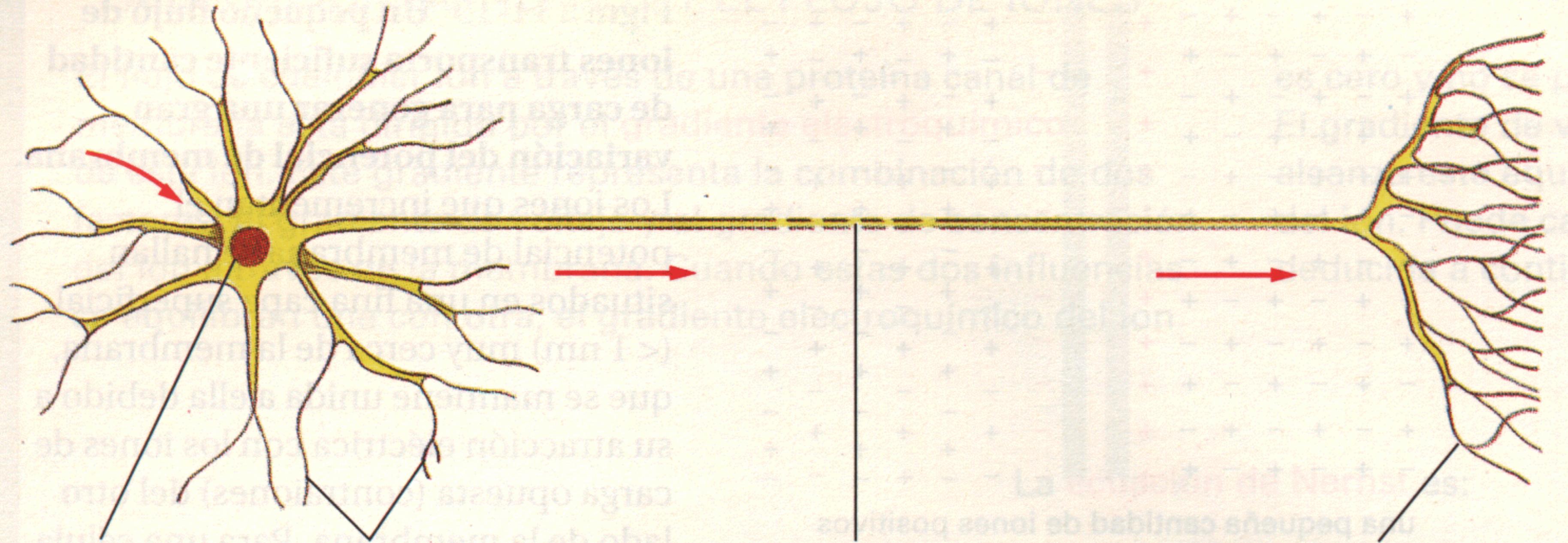


Figura 11-21 El canal de Na⁺ regulado por voltaje puede adoptar como mínimo tres conformaciones (estados). Fuerzas internas, representadas aquí como atracciones entre cargas de diferentes zonas del canal, estabilizan cada uno de los estados contra pequeñas desestabilizaciones, pero una colisión suficientemente violenta con otras moléculas puede ocasionar que el canal “salte” de uno a otro de estos estados. El estado de menor energía depende del potencial de membrana ya que las diferentes conformaciones tienen diferentes distribuciones de cargas. Cuando la membrana está en reposo (muy polarizada) la conformación de menor energía libre, y por tanto la más estable, es la cerrada. Cuando la membrana se encuentra despolarizada, la conformación *abierto* tiene una energía menor, por lo que el canal tiene una alta probabilidad de abrirse. Sin embargo, la energía libre de la conformación *inactivada* es todavía menor, por lo que, después de un período de tiempo aleatorio dedicado a este estado abierto, el canal se inactiva. Así pues, la conformación abierta corresponde a un estado metaestable que únicamente puede existir de forma transitoria. Las *flechas en rojo* indican la secuencia de alteraciones que se producen como consecuencia de una despolarización súbita mientras que la *flecha en negro* indica el retorno a la conformación original ya que es el estado de menor energía después de que la membrana se ha repolarizado.

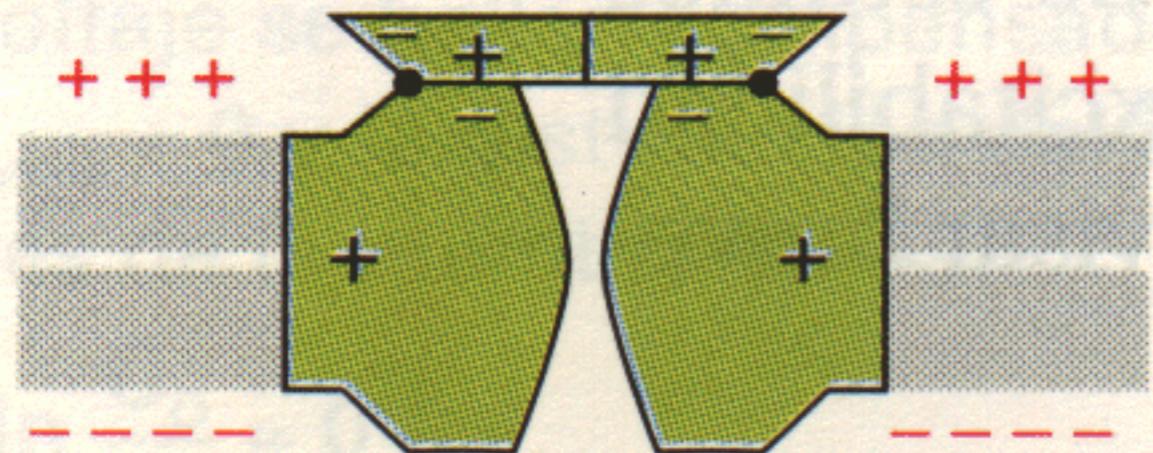


cuerpo o
soma celular

dendritas

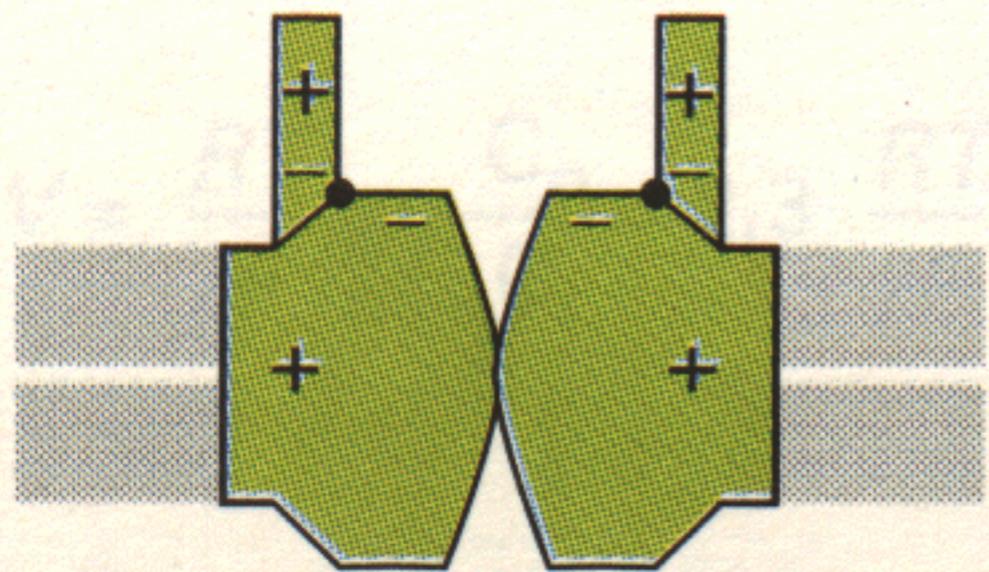
axón (desde menos de 1 mm
hasta más de 1 m de largo)

ramificaciones terminales
del axón

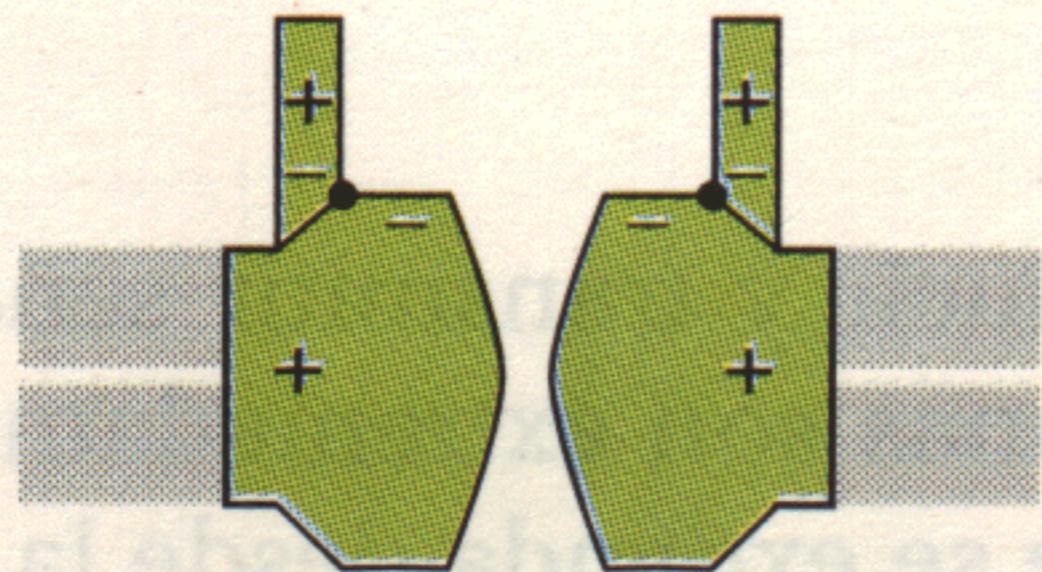


membrana polarizada

cerrado



inactivado



membrana despolarizada

abierto



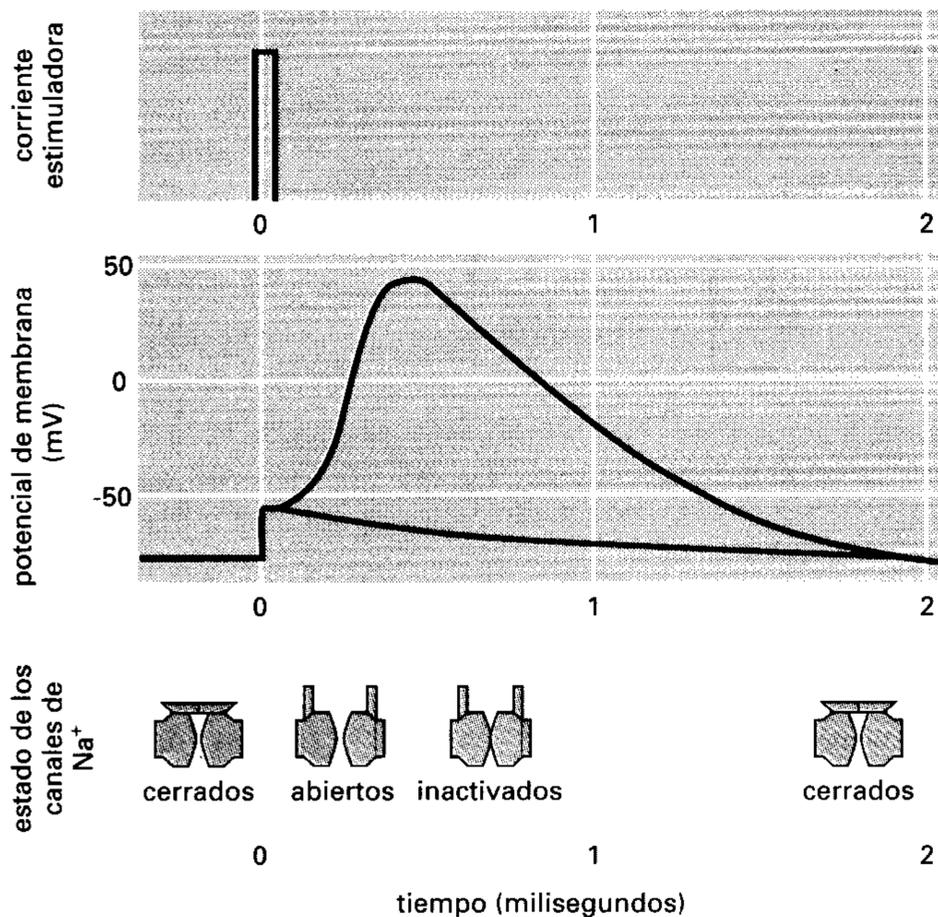
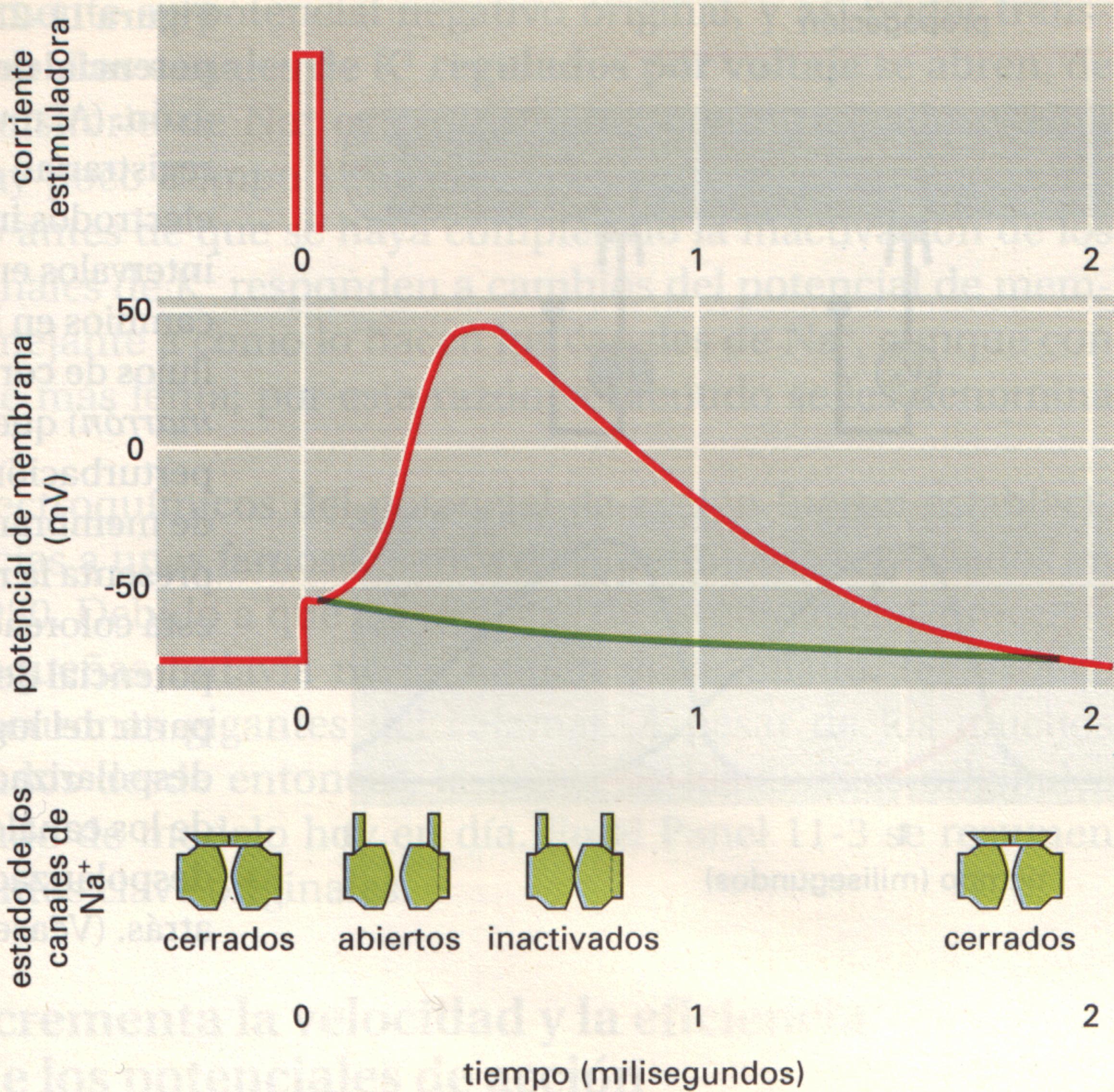


Figura 11-22 Un potencial de acción. Un potencial de acción se dispara por un breve pulso de corriente (mostrado en el *gráfico superior*) que despolariza parcialmente la membrana, como se muestra en el gráfico de potencial de membrana respecto al tiempo (*gráfico intermedio*). La *curva en verde* muestra que el potencial de membrana puede simplemente relajarse de nuevo hacia el potencial de reposo tras el estímulo despolarizador si la membrana no tuviera canales iónicos regulados por voltaje; este retorno relativamente suave del potencial de membrana a su valor inicial de -70 mV en ausencia de canales de Na^+ es automático debido al eflujo de K^+ a través de los canales de K^+ , el cual lleva a la membrana de nuevo al potencial de equilibrio de K^+ . La *curva en rojo* muestra el curso del potencial de acción causado por la apertura y posterior inactivación de los canales de Na^+ regulados por voltaje, cuyo estado se muestra en la parte inferior de la figura. La membrana no puede disparar un segundo potencial de acción hasta que los canales de Na^+ hayan vuelto a la conformación cerrada (véase Figura 11-21); hasta este momento, la membrana se encuentra en un estado refractario a la estimulación.

Los canales iónicos regulados por voltaje son los responsables de la generación de potenciales de acción en células excitables eléctricamente^{15, 17}

La membrana plasmática de todas las células excitables eléctricamente (no sólo de las neuronas sino también de las fibras musculares, células endocrinas y oocitos) presentan **canales iónicos regulados por voltaje**, que son los responsables de la generación de los potenciales de acción. Un potencial de acción se dispara por una *despolarización* de la membrana –es decir, por una variación del potencial de membrana hasta un valor menos negativo. (Veremos más adelante de qué forma esta variación puede estar causada por la acción de un neurotransmisor). En las células nerviosas y en las fibras musculares esqueléticas, un estímulo que provoca una despolarización parcial de la membrana genera inmediatamente la apertura de los **canales de Na^+ regulados por voltaje**, lo cual permite que entre en la célula una pequeña cantidad de Na^+ a favor de su gradiente electroquímico. El influjo de cargas positivas despolariza aún más la membrana, por lo que se abren más canales de Na^+ , que admiten más iones Na^+ , cuya entrada genera una mayor despolarización de la membrana. Este proceso continúa de una manera auto-amplificante hasta que el potencial de la región determinada de la membrana haya variado desde su valor de reposo –de aproximadamente -70 mV– hasta el potencial de equilibrio del Na^+ –de aproximadamente $+50$ mV– (véase Panel 11-2, pág. 562). En este punto, cuando la fuerza electroquímica neta impulsora del flujo de Na^+ es casi cero, la célula podría alcanzar un nuevo estado de reposo con todos sus canales de Na^+ abiertos permanentemente si la conformación abierta de los canales de Na^+ fuese estable.

La célula se salva de este tipo de espasmo eléctrico permanente porque los canales de Na^+ tienen un mecanismo de inactivación automática que hace que los canales se cierren rápidamente incluso cuando la membrana todavía está despolarizada. Los canales de Na^+ permanecen en este estado *inactivado*, en el que no pueden volverse a abrir, hasta pasados algunos milisegundos después que el potencial de membrana recupere su valor negativo inicial. En la Figura 11-21 se ilustran esquemáticamente estos tres estados distintos del canal de Na^+ regulado por voltaje –cerrado, abierto, e inactivado. En la Figura 11-22 se indica la contribución de estas variaciones al aumento y la disminución del potencial de acción.



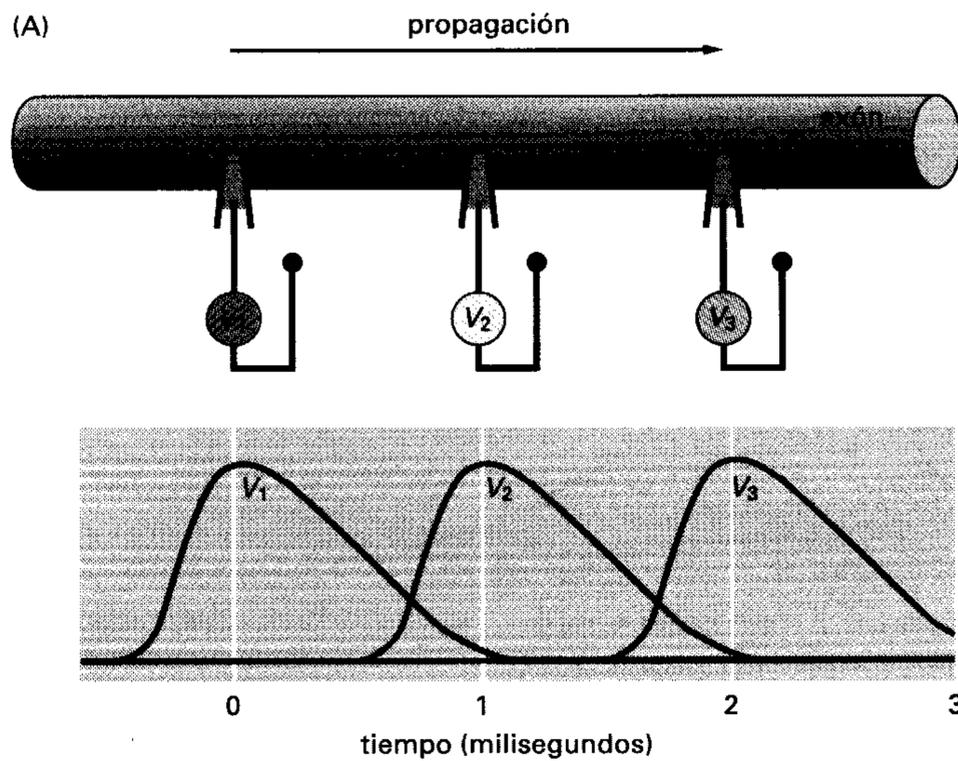
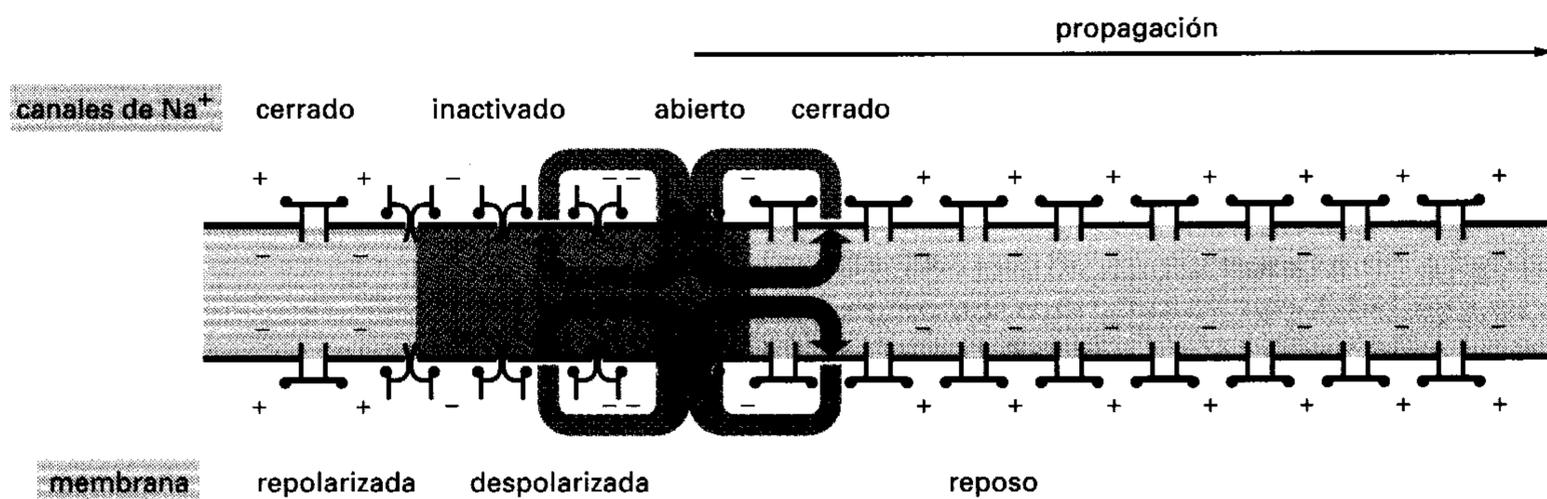


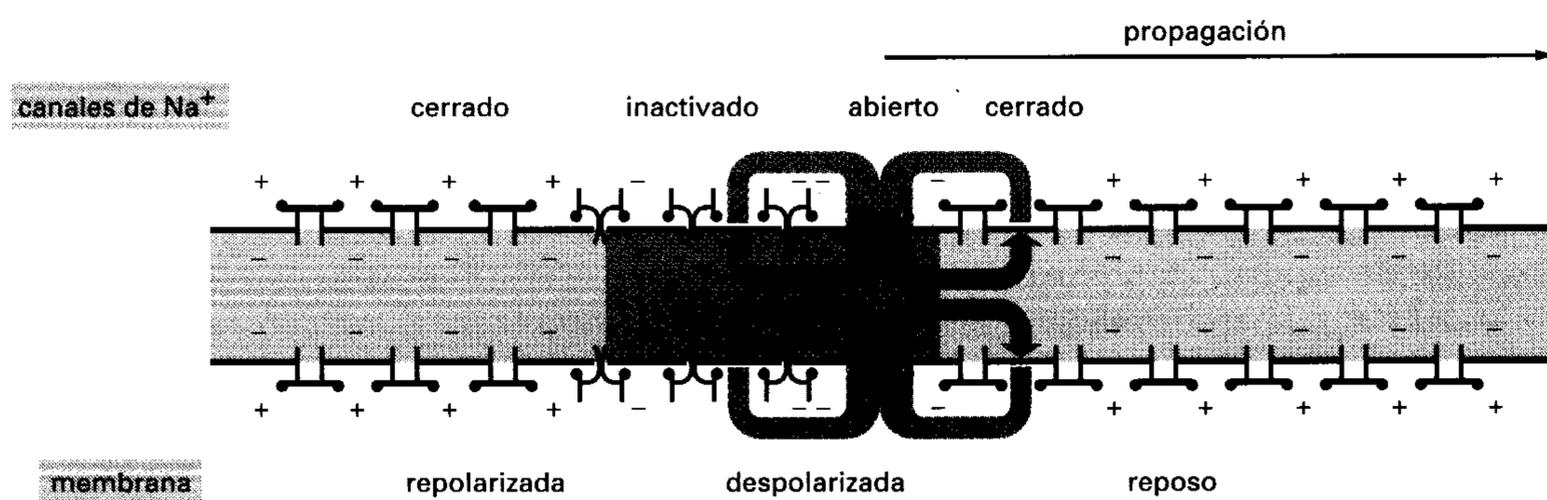
Figura 11-23 Propagación de un potencial de acción a lo largo de un axón. (A) muestra los voltajes que se registrarían en un conjunto de electrodos intracelulares colocados a intervalos en el axón. (B) muestra los cambios en los canales de Na^+ y los flujos de corriente (líneas de color marrón) que dan lugar a la perturbación migratoria del potencial de membrana. La región del axón que presenta la membrana despolarizada, está coloreada en rojo. Nótese que un potencial de acción sólo puede viajar a partir del lugar donde se produce la despolarización porque la inactivación de los canales de Na^+ impide que la despolarización se extienda hacia atrás. (Véase también Figura 11-22.)

(B)

vista instantánea a $t = 0$



vista instantánea a $t = 1$ milisegundo

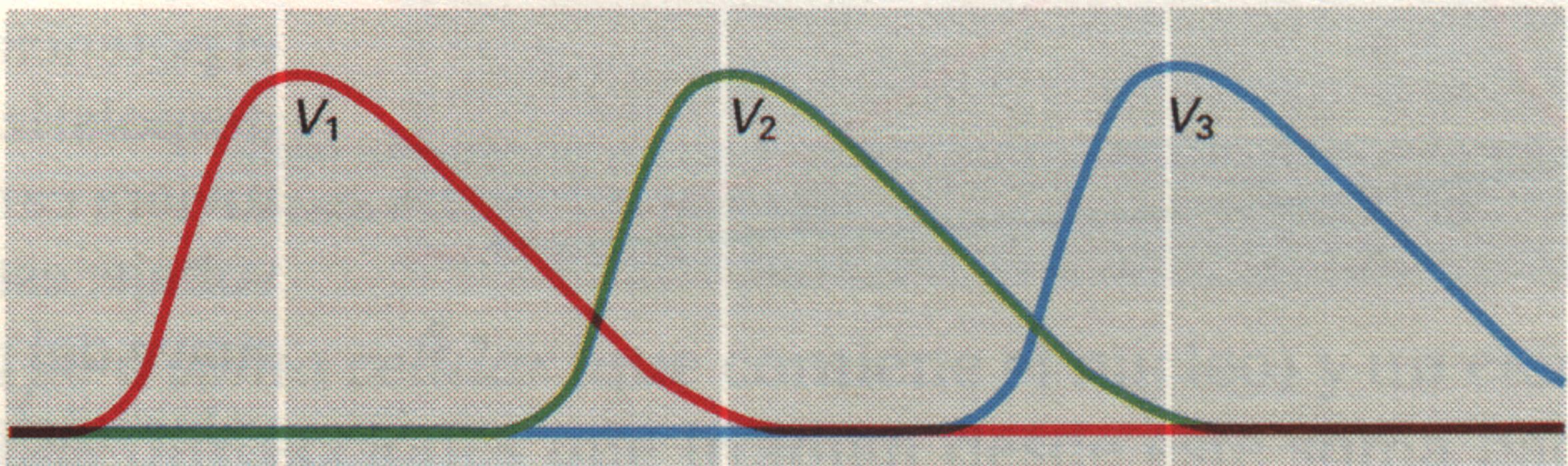
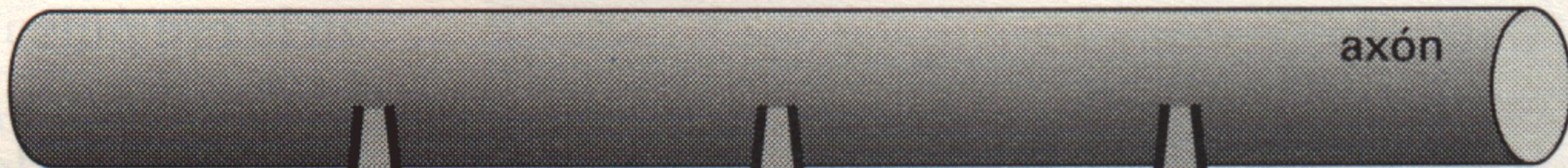


La descripción que hemos hecho hasta aquí del potencial de acción únicamente afecta a una pequeña porción de la membrana plasmática. Sin embargo, la despolarización auto-amplificante de esta porción es suficiente para despolarizar regiones vecinas, en las cuales se produce este mismo ciclo. De esta manera el potencial de acción se propaga desde un punto inicial de despolarización por toda la membrana plasmática, como se muestra en la Figura 11-23.

Además de la inactivación de los canales de Na^+ , en muchas células nerviosas actúa un segundo mecanismo que ayuda a la membrana plasmática activada

(A)

propagación



0

1

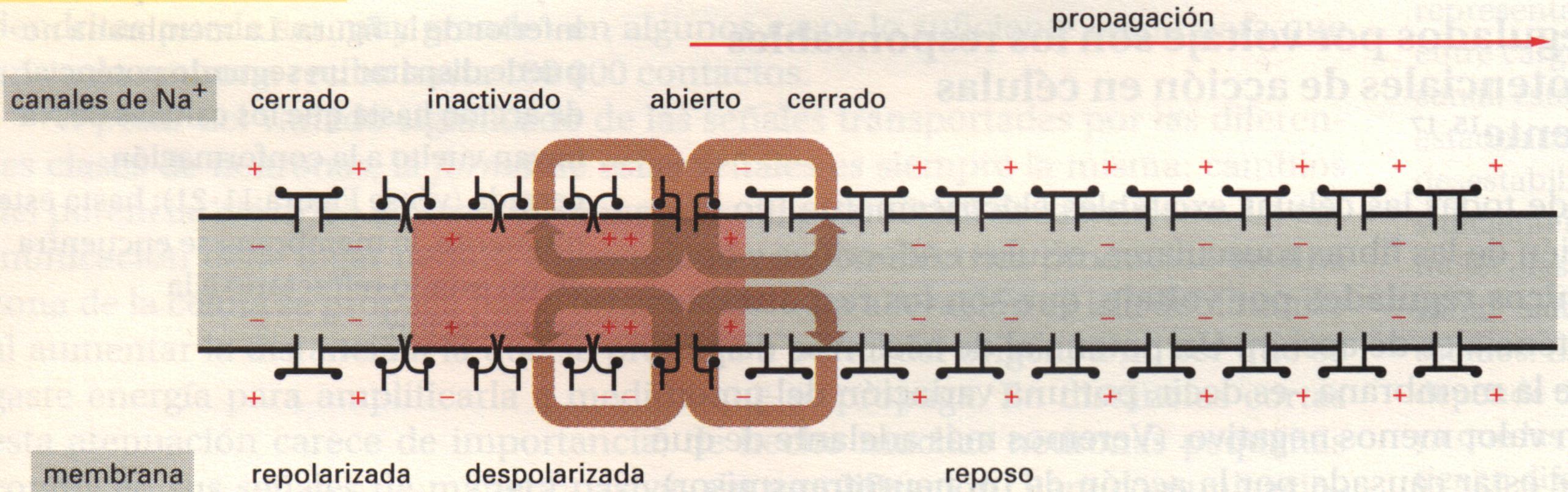
2

3

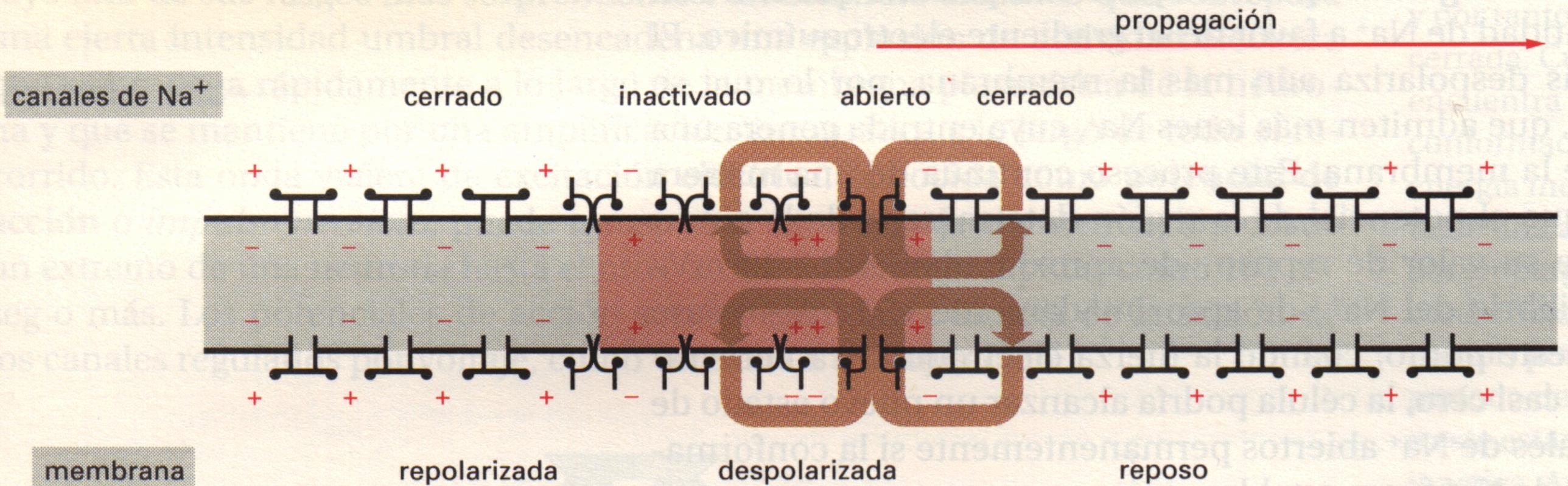
tiempo (milisegundos)

(B)

vista instantánea a $t = 0$



vista instantánea a $t = 1$ milisegundo



a recuperar más rápidamente su potencial negativo original, y así poder transmitir un segundo impulso. Los **canales de K⁺ regulados por voltaje** se abren, de forma que el influjo transitorio de Na⁺ es rápidamente contrarrestado por un flujo de K⁺, que en muy poco tiempo sitúa a la membrana en el potencial de equilibrio del K⁺ incluso antes de que se haya completado la inactivación de los canales de Na⁺. Estos canales de K⁺ responden a cambios del potencial de membrana de forma muy semejante a como lo hacen los canales de Na⁺, aunque con una cinética ligeramente más lenta; por esta razón, a menudo se les denomina *canales de K⁺ retardados*.

Los mecanismos electroquímicos del potencial de acción fueron establecidos por primera vez gracias a unas famosas series de experimentos realizados en las décadas de 1940 y 1950. Debido a que las técnicas de estudio de los procesos eléctricos en células pequeñas todavía no se habían desarrollado, los experimentos utilizaron las neuronas gigantes del calamar. A pesar de los muchos avances técnicos realizados desde entonces, la lógica de los análisis originales todavía continúa sirviendo de modelo hoy en día. En el Panel 11-3 se resumen algunos de los experimentos clave originales.

La mielinización incrementa la velocidad y la eficiencia de la propagación de los potenciales de acción en las células nerviosas^{15, 18}

Los axones de muchas neuronas de vertebrados se hallan aislados por una **vaina de mielina**, la cual incrementa notablemente la velocidad a la que el axón conduce un potencial de acción. La importancia de la mielinización se pone dramáticamente de manifiesto por la enfermedad desmielinizante de la *esclerosis múltiple*, en la que la vaina de mielina de algunas regiones del sistema nervioso central se halla destruida por un mecanismo todavía desconocido; cuando esto ocurre, la velocidad de propagación de los impulsos nerviosos se reduce notablemente, a menudo con consecuencias neurológicas devastadoras.

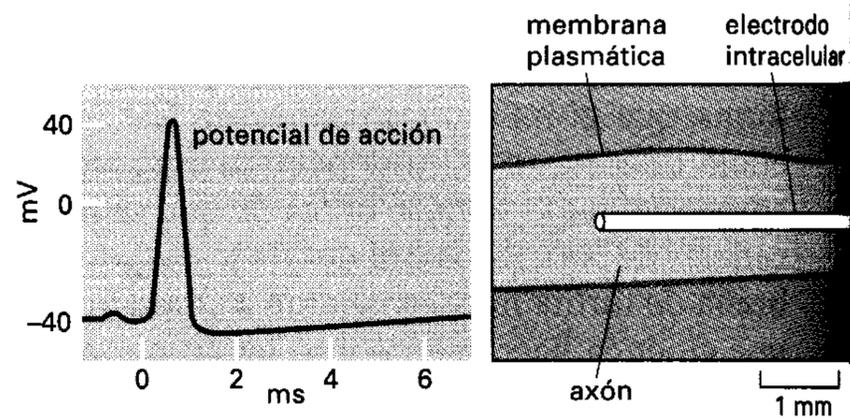
La mielina está formada por células accesorias especializadas, denominadas *células gliales* –*células de Schwann* en los nervios periféricos y *oligodendrocitos* en el sistema nervioso central. Estas células gliales depositan, una sobre otra, capas de su propia membrana plasmática formando una apretada espiral alrededor del axón (Figura 11-24), aislando así la membrana del axón de forma que a su través casi no se escapa corriente. La vaina está interrumpida a intervalos regulares por *nódulos de Ranvier*, donde se concentran casi todos los canales de Na⁺ del axón. Debido a que las porciones del axón que están recubiertas por la vaina tienen excelentes propiedades de cable (se comportan eléctricamente mucho mejor que los extraordinariamente bien diseñados cables submarinos telegráficos), la despolarización de la membrana en un nódulo se transmite de forma pasiva casi inmediatamente hasta el nódulo siguiente, un proceso denominado *conducción saltatoria*. Este tipo de conducción tiene dos ventajas principales: los potenciales de acción viajan más rápidamente y se ahorra energía metabólica ya que la excitación activa queda restringida a las reducidas regiones de la membrana plasmática del axón situadas en los nódulos de Ranvier.

El registro de zona indica que cada uno de los canales de Na⁺ se abre siguiendo la ley del todo o nada^{15, 19}

Las membranas plasmáticas de las neuronas y de las fibras musculares esqueléticas contienen muchos miles de canales de Na⁺ regulados por voltaje, y la corriente que atraviesa la membrana es la suma de las corrientes que fluyen a través de todos ellos. Esta corriente agregada puede ser registrada con un microelectrodo, tal como se describe en la Figura 11-23. Sin embargo, también es posible registrar las corrientes que fluyen a través de canales individuales. Ello se consigue mediante la técnica del **registro de zona** (patch-clamp recording), un método que revolucionó el estudio de los canales iónicos permitiendo estudiar el trans-

1. Los potenciales de acción se registran con un electrodo intracelular

El axón gigante de calamar tiene un diámetro aproximado de 0,5-1 mm y una longitud de varios centímetros. En el eje de la célula se puede introducir un electrodo en forma de tubo capilar de vidrio que contiene una solución conductora, de manera que su punta quede situada dentro del citoplasma. Con su ayuda, se puede medir la diferencia de voltaje entre el interior y el exterior de la célula —es decir, el potencial de membrana— cuando un potencial de acción pasa rápidamente por el electrodo. El potencial de acción se desencadena por una breve descarga eléctrica en un extremo del axón. No importa de qué extremo se trate, ya que la excitación puede viajar en cualquier dirección; tampoco importa la intensidad de la descarga mientras exceda un cierto umbral: el potencial de acción es "todo o nada".

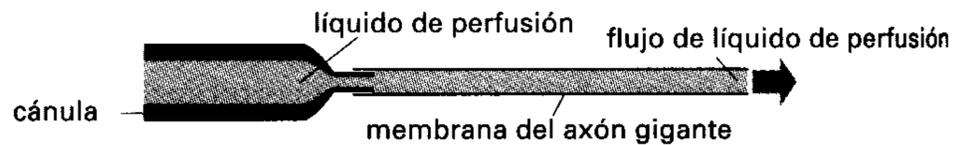
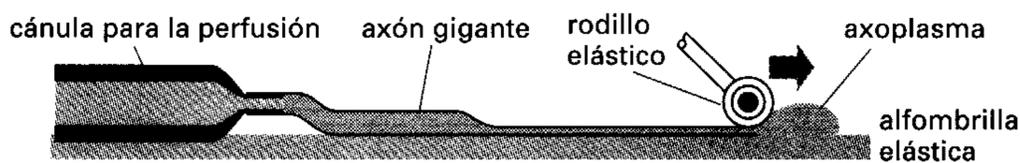


2. El potencial de acción sólo depende de la membrana plasmática de la neurona y de los gradientes de Na⁺ y K⁺ a través de ella

Los tres iones más abundantes, tanto en el interior como en el exterior del axón, son Na⁺, K⁺ y Cl⁻. Como en otras células, la bomba de Na⁺-K⁺ mantiene un gradiente de concentración: la concentración de Na⁺ es unas 9 veces menor en el interior del axón que en el exterior, mientras que la concentración de K⁺ es 20 veces mayor en el interior. ¿Qué iones son importantes para los potenciales de acción?

El axón gigante del calamar es tan grande y robusto que es posible extraer su citoplasma, como se hace con la pasta dentífrica de un tubo

y después rellenarlo con soluciones artificiales puras de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ o SO₄²⁻. De manera notable, si (y sólo si) las concentraciones de Na⁺ y K⁺ en el interior y el exterior del axón se aproximan a las encontradas de manera natural, el axón propaga potenciales de acción de forma normal. La parte importante de la célula en la señalización eléctrica, por lo tanto, ha de ser la membrana; los iones importantes son el Na⁺ y K⁺; sus gradientes de concentración a través de la membrana han de proporcionar una fuente de energía libre suficiente para impulsar el potencial de acción, ya que se supone que las demás fuentes de energía metabólica han sido eliminadas mediante la perfusión.

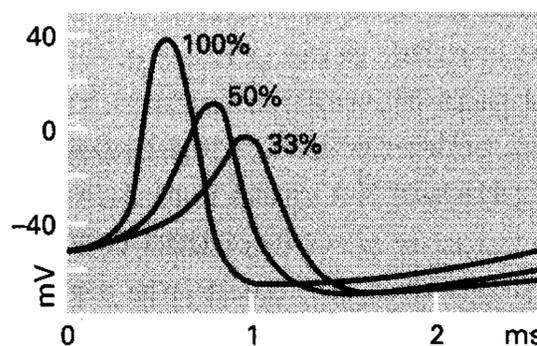


3. En reposo, la membrana es principalmente permeable al K⁺; se vuelve transitoriamente permeable al Na⁺ durante el potencial de acción

En reposo, el potencial de membrana es cercano al potencial de equilibrio para el K⁺. Cuando se cambia la concentración externa de K⁺, el potencial de reposo cambia bruscamente de acuerdo con la ecuación de Nernst para el K⁺ (véase Panel 11-2). En reposo, por tanto, la membrana es principalmente permeable al K⁺: los canales de fuga de K⁺ constituyen la principal ruta iónica a través de la membrana.

Si se varía la concentración externa de Na⁺, no se altera el potencial de reposo. Sin embargo, la altura del pico del potencial de acción varía marcadamente, de acuerdo con la ecuación de Nernst para el Na⁺. Durante el potencial de acción, por lo tanto, la membrana parece ser permeable principalmente al Na⁺: se abren los canales de Na⁺. En la segunda parte del potencial de acción, el potencial de membrana vuelve a un valor negativo que depende de la concentración externa

de K⁺, y se sitúa incluso más cerca del potencial de equilibrio para el K⁺ que el propio potencial de reposo: la membrana ha perdido su permeabilidad para el Na⁺ y todavía se ha vuelto más permeable al K⁺ que antes —es decir, los canales de Na⁺ se han cerrado, y se han abierto canales adicionales de K⁺.

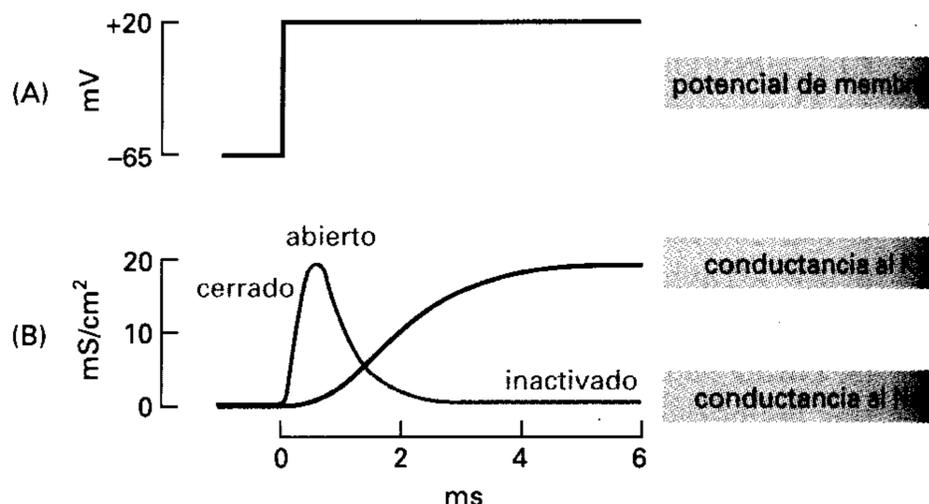


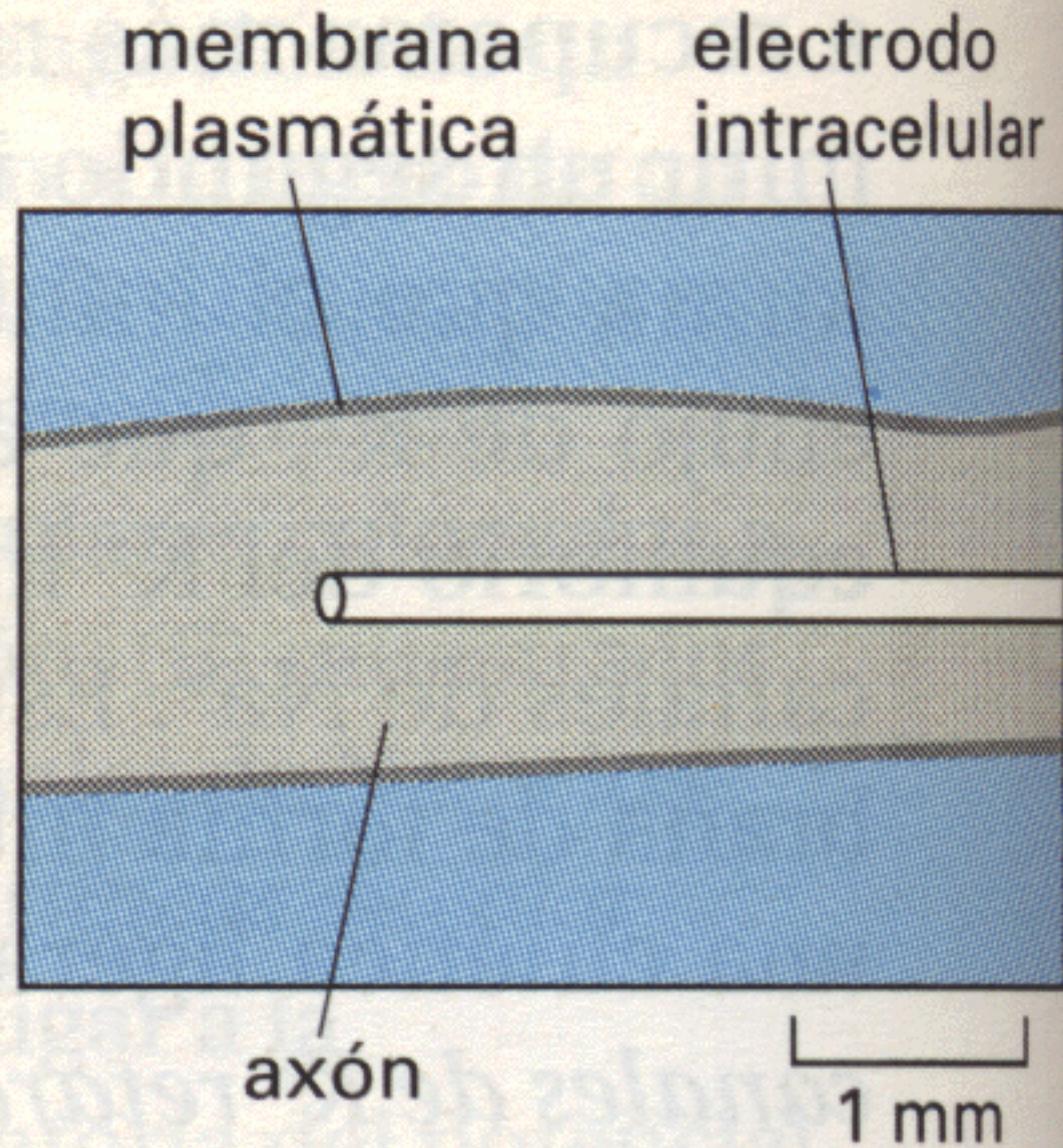
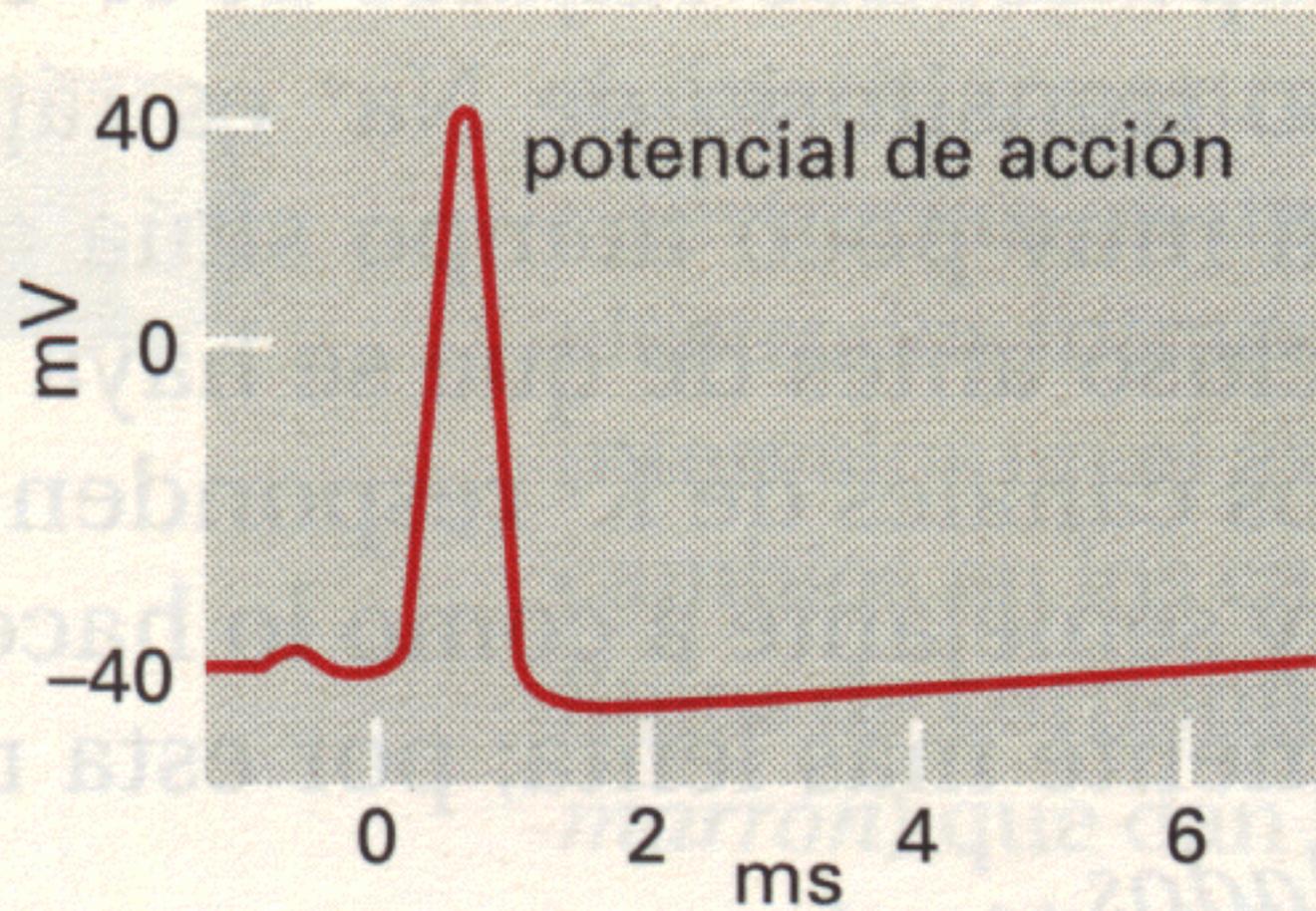
Forma del potencial de acción cuando el medio externo contiene el 100%, 50%, o el 33% de la concentración normal de Na⁺.

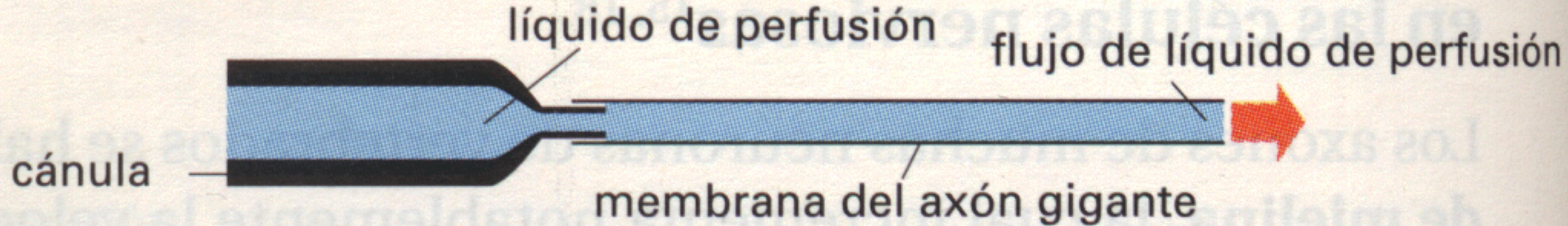
4. El voltaje constante revela cómo el potencial de membrana controla la apertura y el cierre de los canales iónicos

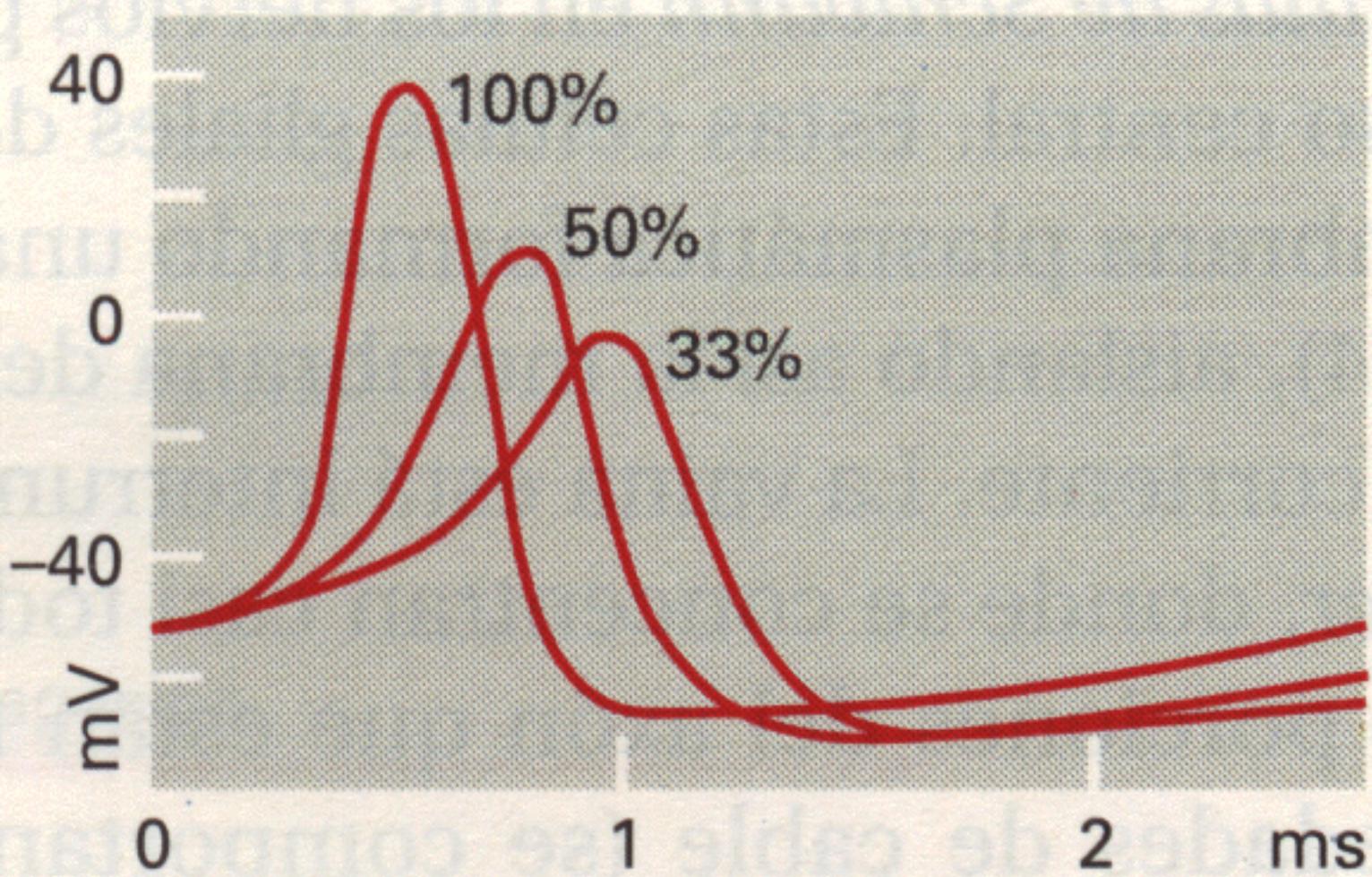
El potencial de membrana se mantiene constante en el axón, haciendo pasar una corriente eléctrica a través de un hilo metálico descubierto y colocado en el eje del axón; con otro electrodo intracelular se pueden seguir las variaciones del potencial de la membrana. Cuando la membrana se desplaza bruscamente de su potencial de reposo y se mantiene en un estado despolarizado (A), los canales de Na⁺ se abren rápidamente hasta que la permeabilidad de la membrana para el Na⁺ es mucho mayor que para el K⁺; entonces se cierran de nuevo de manera espontánea. Los canales de K⁺ también se abren pero con un cierto retraso, de manera que la permeabilidad para el K⁺ aumenta cuando cae la permeabilidad para el Na⁺ (B). Si ahora se repite muy rápidamente el experimento, haciendo volver brevemente la membrana al potencial de reposo y despolarizándola de nuevo, la respuesta es diferente: la despolarización prolongada ha hecho que los canales de Na⁺ entren en un estado inactivado y la segunda despolarización no produce una subida y una bajada del potencial de membrana similar a la primera. La recuperación de los canales de este estado supone un intervalo de tiempo relativamente largo —de

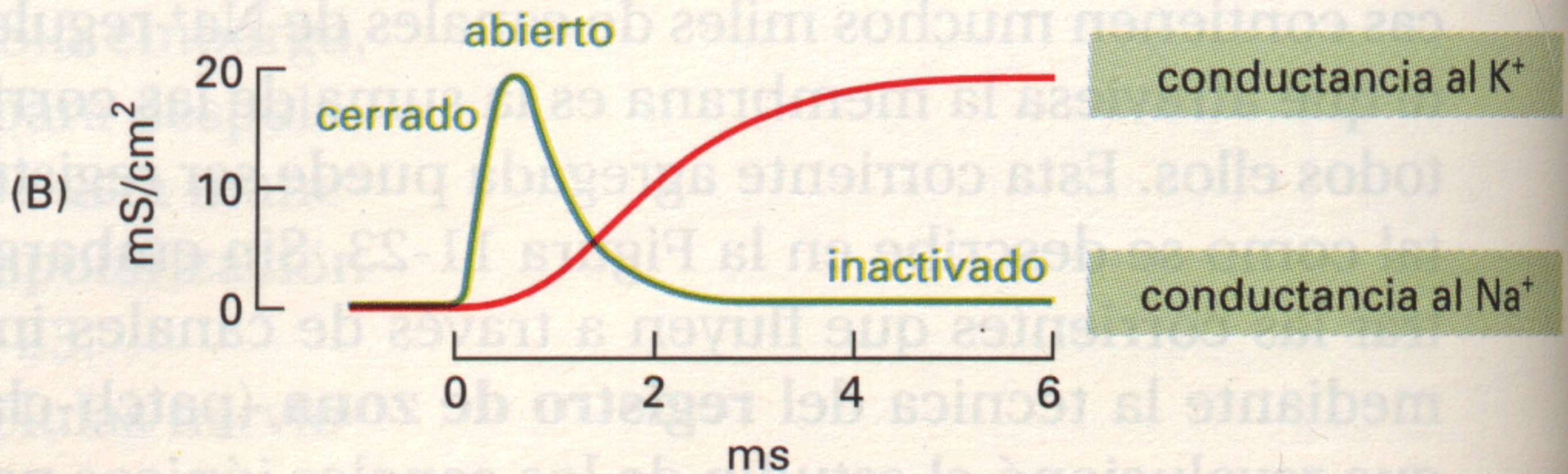
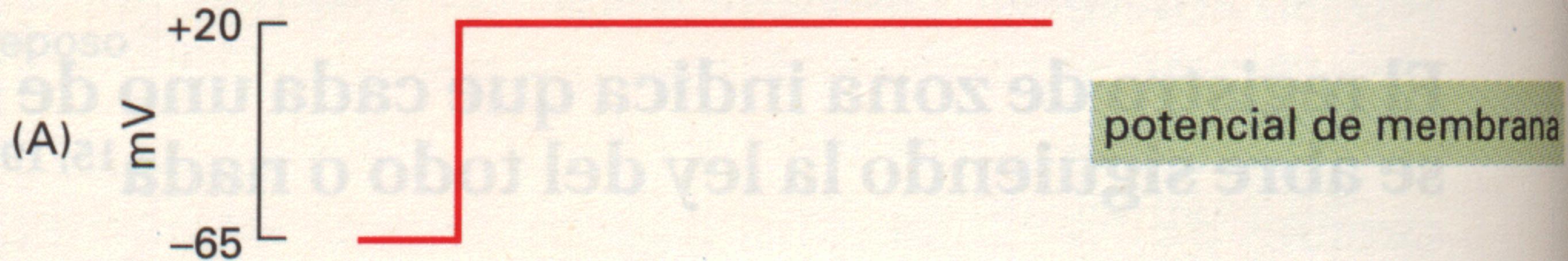
10 milisegundos— que transcurre mientras el potencial de membrana se mantiene repolarizado (en reposo). En un axón sin voltaje constante, la espiga del potencial de acción está producida por un avalancha de Na⁺ a través de los canales de Na⁺ abiertos; la inactivación de éstos y la apertura de los de K⁺ devuelve la membrana al potencial de reposo.











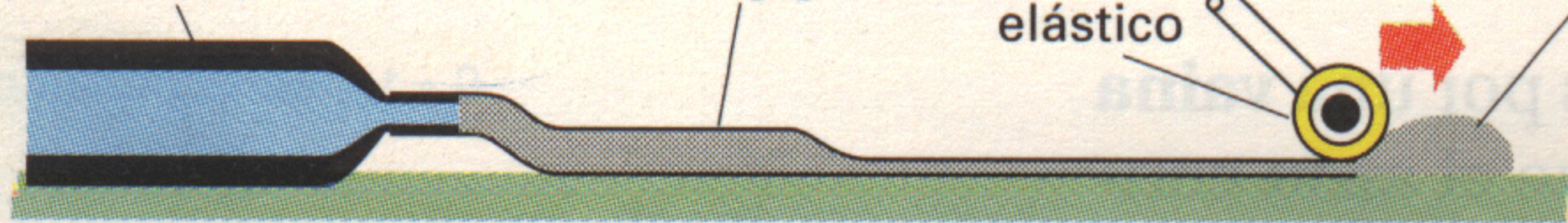
cánula para la perfusión

axón gigante

rodillo
elástico

axoplasma

alfombra
elástica



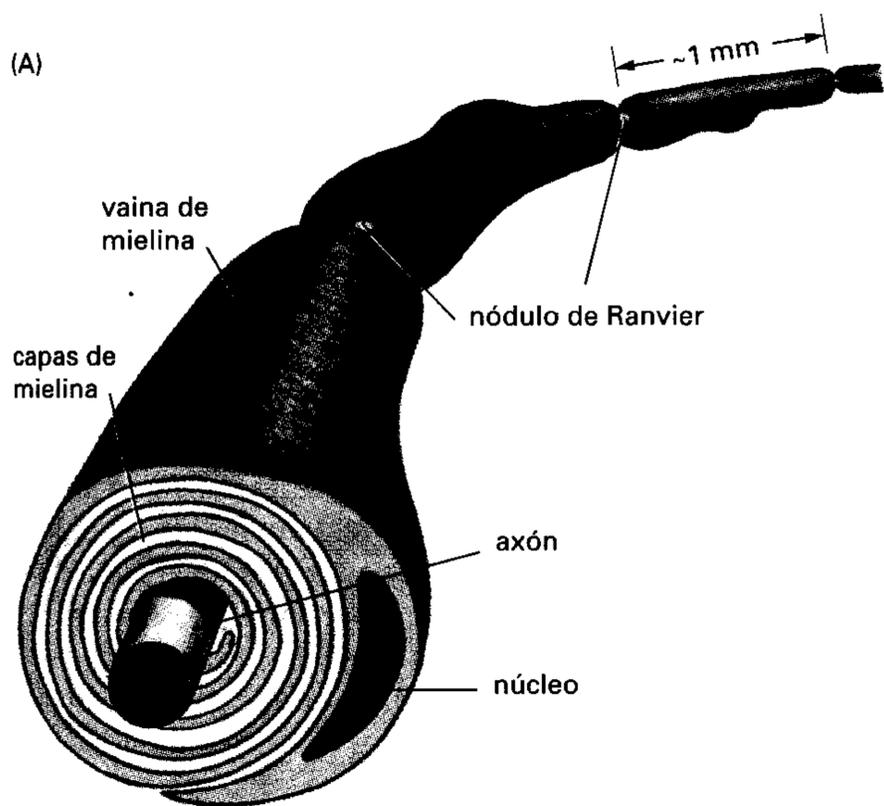
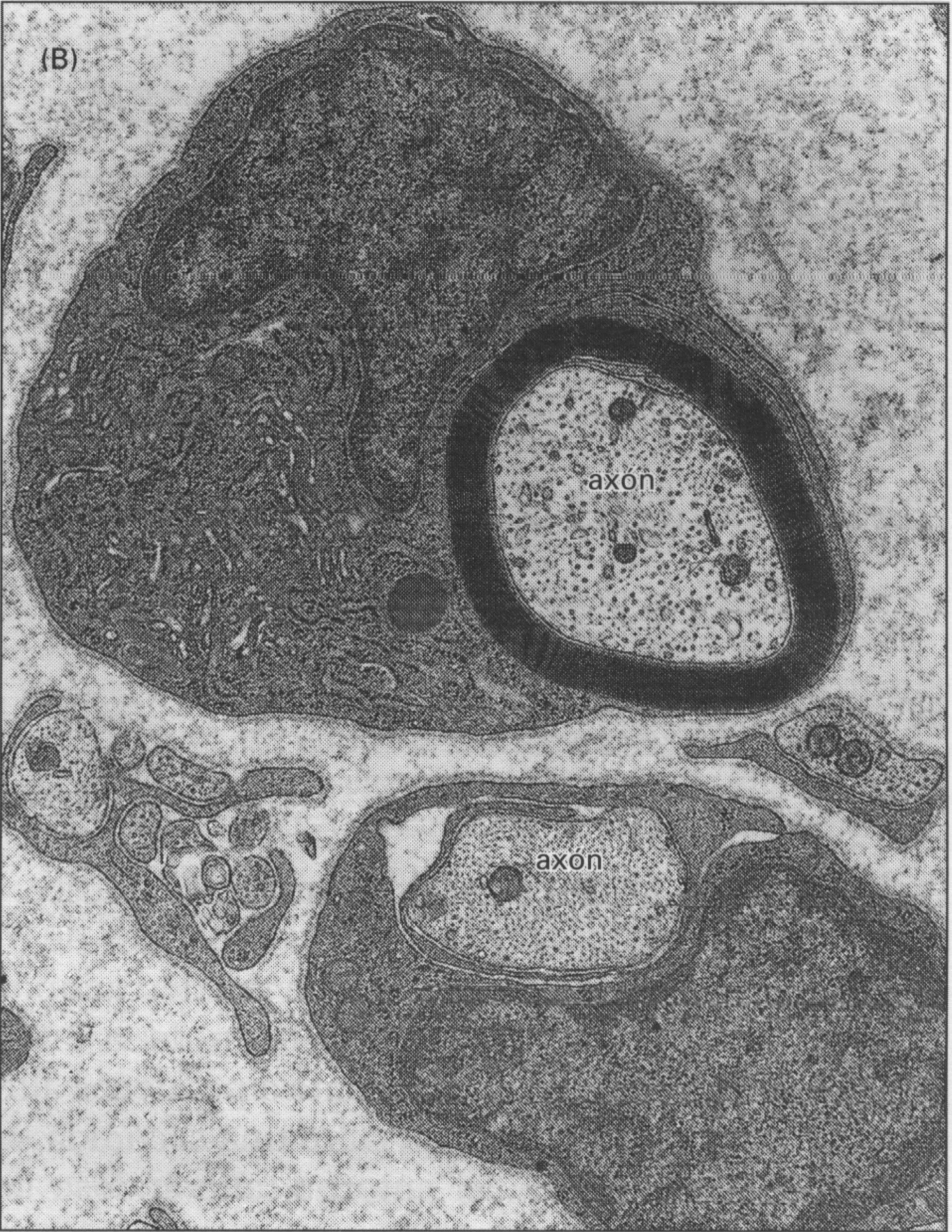


Figura 11-24 Mielinización. (A) Esquema de un axón mielinizado de un nervio periférico. Cada célula de Schwann deposita su membrana plasmática de forma concéntrica alrededor del axón, formando un segmento de vaina de mielina de aproximadamente 1 mm de longitud. Para mayor claridad las capas de mielina no se han dibujado tan densamente compactadas como lo están en realidad (véase B). (B) Electronmicrografía de un corte de un nervio de la pata de una rata joven. Se observan dos células de Schwann: una (*abajo*) está empezando a mielinizar su axón, mientras que la otra ya ha formado una vaina de mielina casi madura. (B. de C. Raine, en Myelin [P. Morell, ed.]. New York: Plenum, 1976.)

porte a través de una única molécula proteica de canal situada en una pequeña porción de membrana que se halle cubriendo la punta de una micropipeta (Figura 11-25). Esta simple pero poderosa técnica permite estudiar las propiedades detalladas de los canales iónicos de cualquier tipo celular, y ello ha llevado a descubrir que incluso las células que no son excitables eléctricamente tienen habitualmente en su membrana plasmática varios canales iónicos regulados. Muchas de estas células, como las levaduras, son demasiado pequeñas para poder ser estudiadas por el método electrofisiológico tradicional de implantar un microelectrodo en el interior de la célula.

El registro de zona indica que cada uno de los canales de Na^+ regulados por voltaje se abre siguiendo la ley de todo o nada: los tiempos de apertura y cierre son aleatorios pero cuando el canal está abierto, siempre tiene la misma conductancia, permitiendo que pasen unos 8000 iones por segundo a su través. Por lo tanto, la corriente agregada que atraviesa la membrana de una célula entera, a través de una gran población de canales de Na^+ , no indica el *grado* de apertura de un canal típico individual sino el *número total* de canales de su membrana que se hallan abiertos en un momento dado (Figura 11-26).

El fenómeno de regulación por voltaje puede ser entendido en términos de simples principios físicos elementales. El interior de una neurona o de una fibra muscular en reposo tiene un potencial eléctrico de unos 50-100 mV más negativo que el medio externo. Esta diferencia de potencial puede parecer pequeña, pero dado que se produce a través de una membrana plasmática de tan sólo 5 nm de grosor, el *gradiente* de voltaje resultante es de aproximadamente 100 000 V/cm. Por lo tanto, las proteínas de la membrana están sujetas a un campo eléctrico muy grande. Estas proteínas, como todas las demás, presentan en su superficie varios grupos cargados y diversas uniones polarizadas entre sus átomos. Por consiguiente, el campo eléctrico genera fuerzas sobre su estructura molecular.



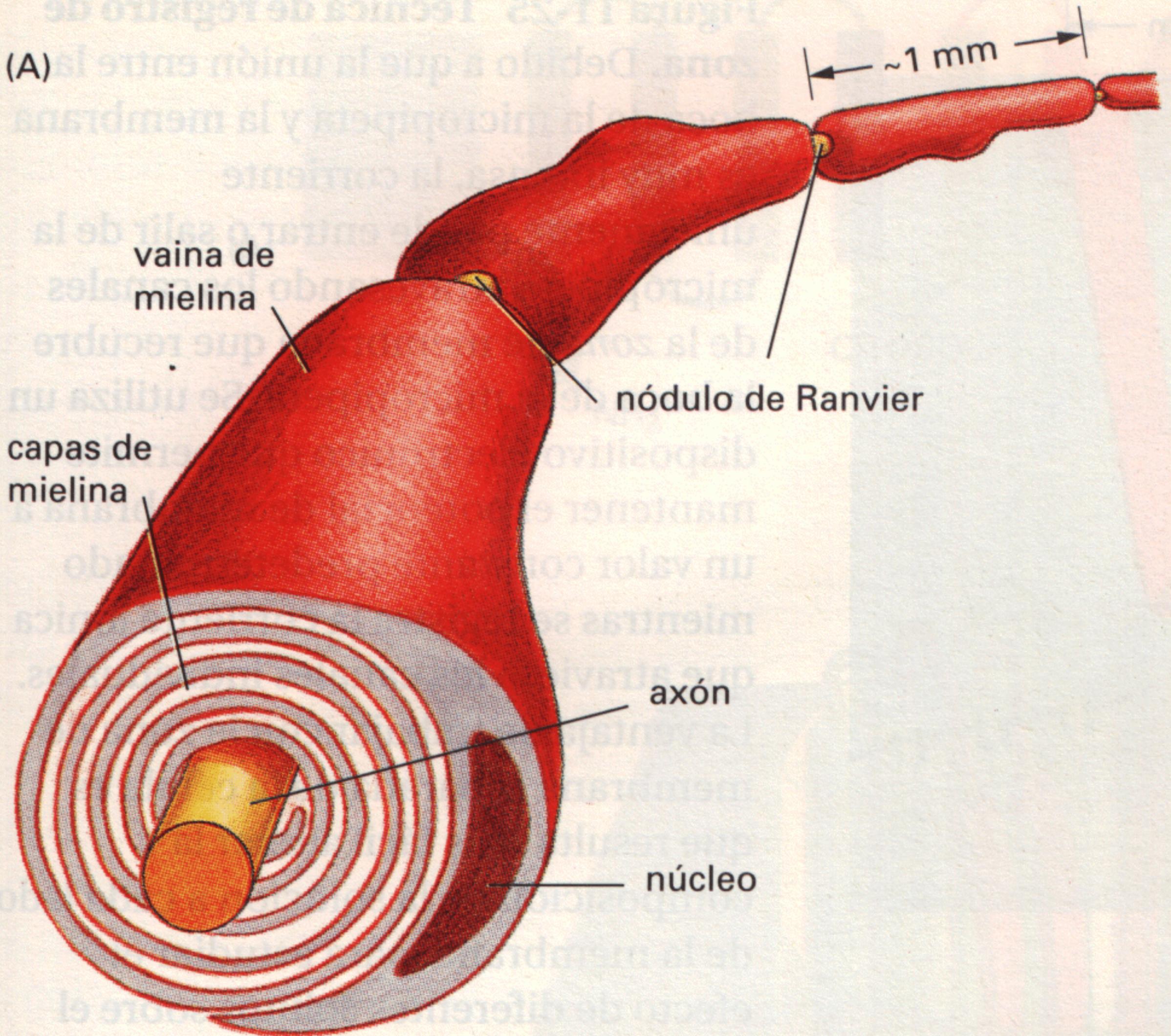
(B)

axón

axón

1 μ m

(A)



vaina de
mielina

capas de
mielina

nódulo de Ranvier

axón

núcleo

~1 mm

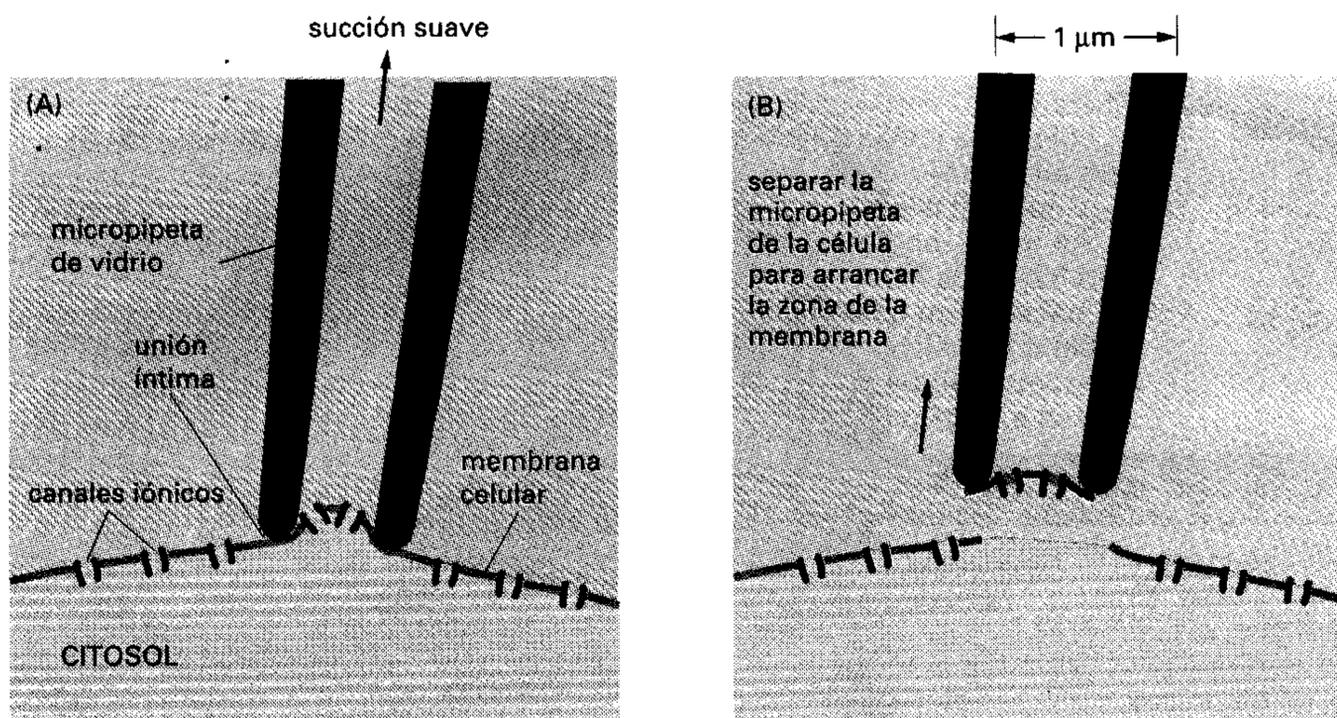


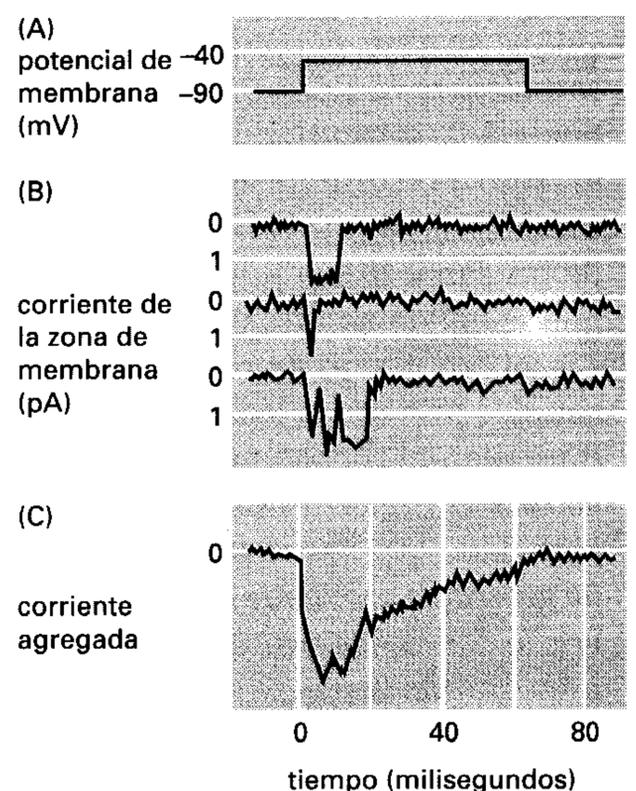
Figura 11-25 Técnica de registro de zona. Debido a que la unión entre la boca de la micropipeta y la membrana es muy intensa, la corriente únicamente puede entrar o salir de la micropipeta atravesando los canales de la zona de membrana que recubre la boca de la micropipeta. Se utiliza un dispositivo electrónico que permite mantener el potencial de membrana a un valor constante predeterminado mientras se registra la corriente iónica que atraviesa los canales individuales. La ventaja de trabajar con la zona de membrana separada de la célula es que resulta más fácil alterar la composición de la solución a cada lado de la membrana, para estudiar el efecto de diferentes solutos sobre el comportamiento del canal. La zona de membrana separada del resto de la célula también puede colocarse en la orientación opuesta, con la cara citoplasmática de la membrana hacia el lumen de la pipeta (véanse también Figuras 4-54 y 4-55).

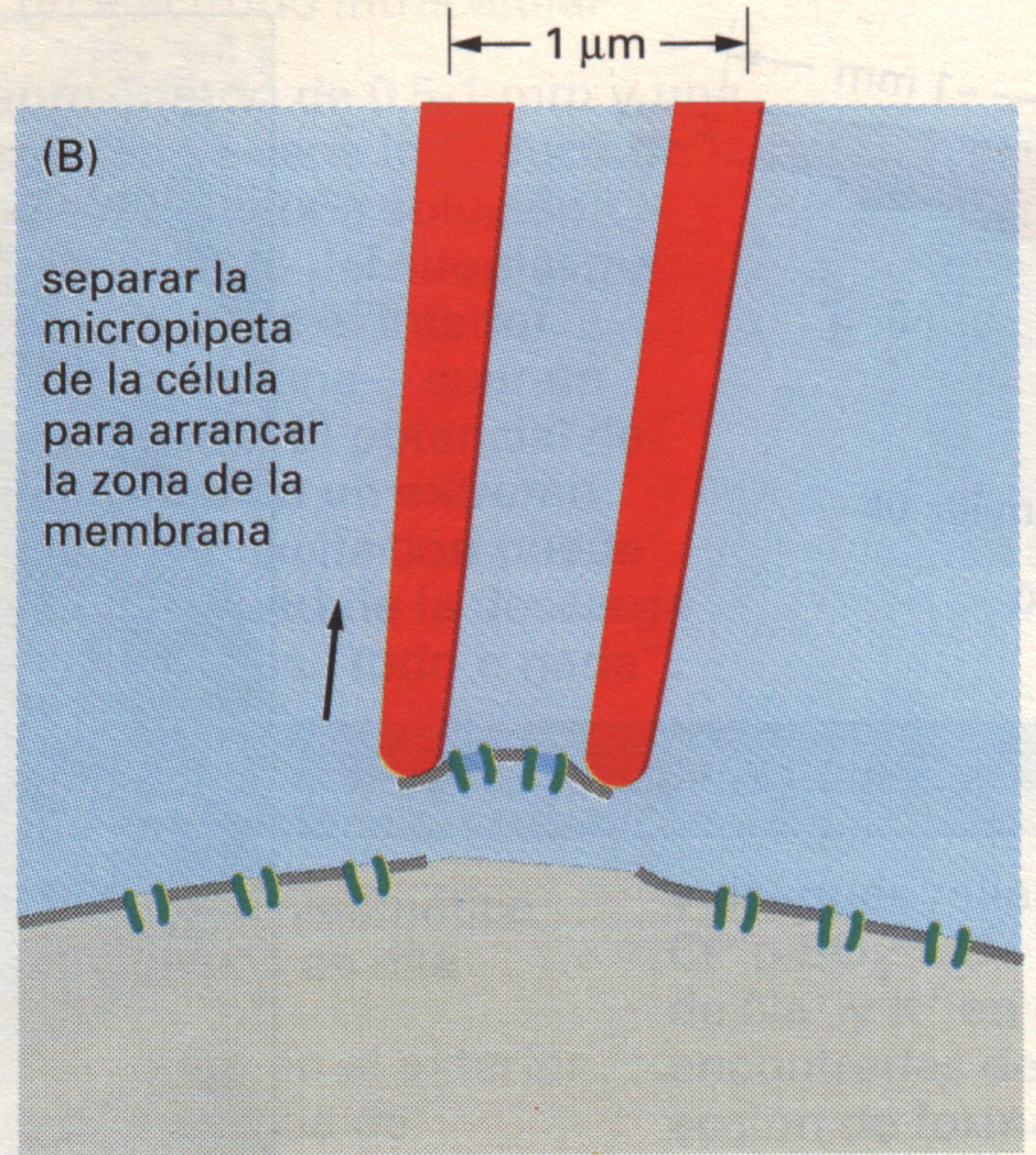
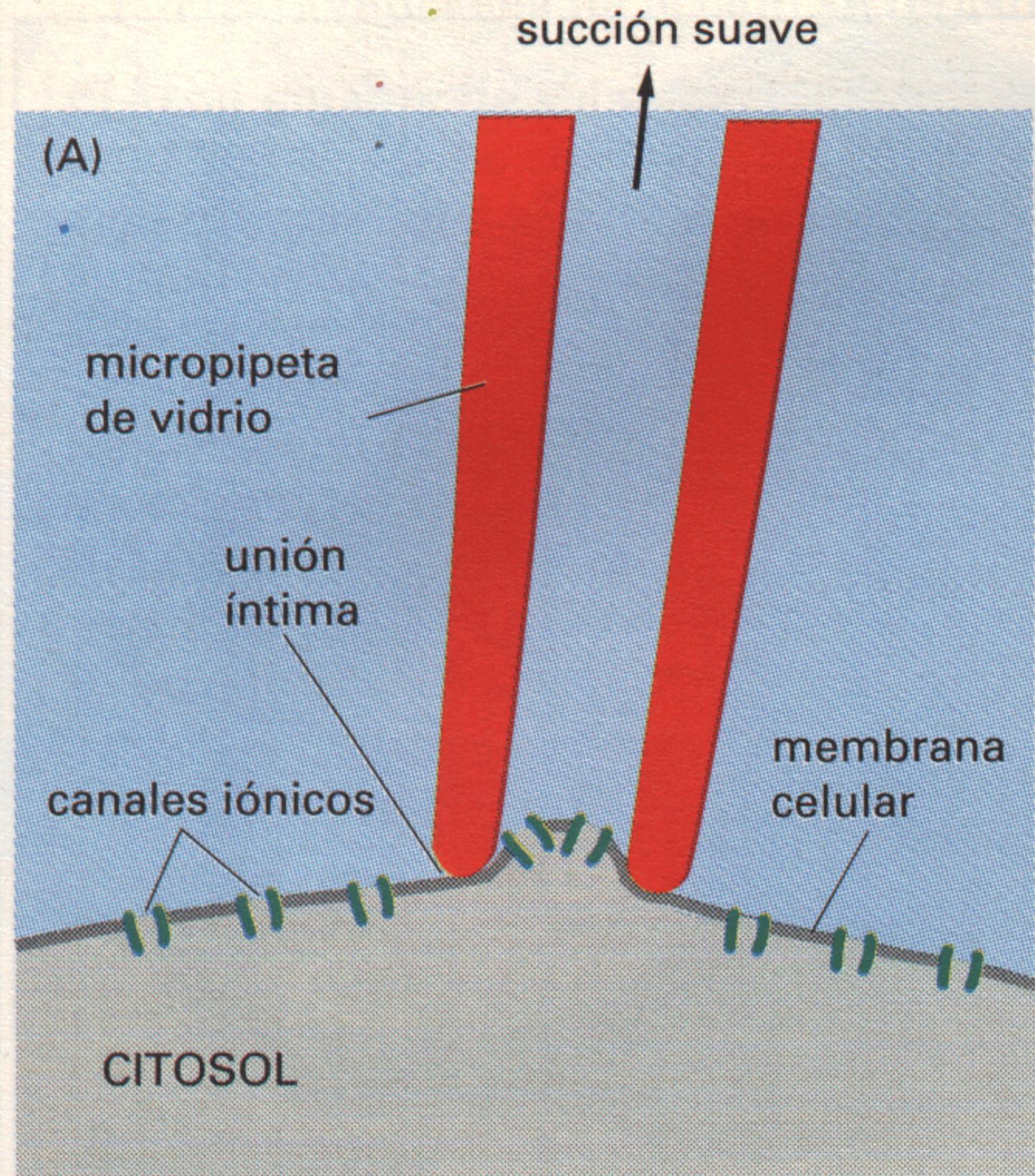
Probablemente las variaciones del campo eléctrico de la membrana afectan de forma insignificante a muchas de las proteínas de membrana. Sin embargo, los canales iónicos regulados por voltaje pueden adoptar varias conformaciones alternativas cuyas estabilidades dependen de la intensidad del campo eléctrico. Cada conformación es estable frente a pequeñas alteraciones, pero puede saltar ("flip") a otra conformación si sufre una sacudida suficiente por los movimientos térmicos aleatorios del entorno, alterándose la estabilidad relativa de las conformaciones abierta, cerrada e inactivada (véase Figura 11-21).

Los canales catiónicos regulados por voltaje están relacionados evolutiva y estructuralmente²⁰

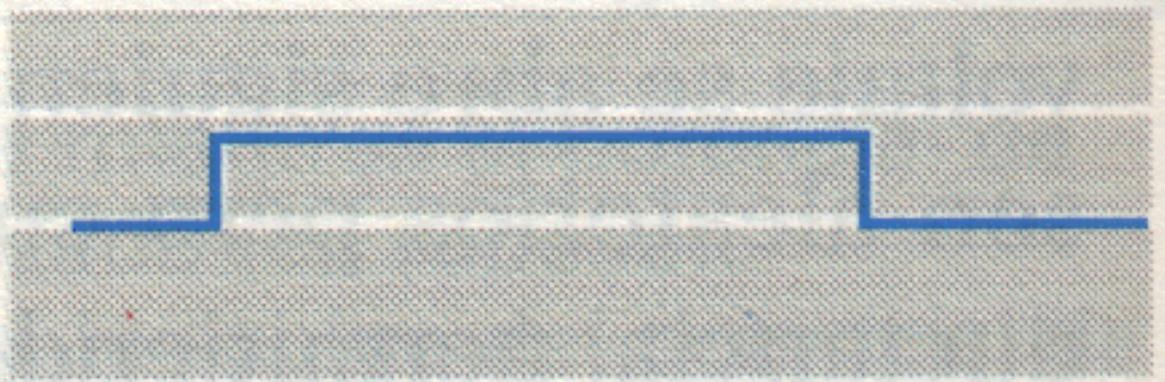
Los canales de Na^+ no constituyen el único tipo de canal catiónico regulado por voltaje que puede generar un potencial de acción: por ejemplo, los potenciales de acción de algunas fibras musculares, oocitos y células endocrinas no dependen de canales de Na^+ sino de *canales de Ca^{2+} regulados por voltaje*. Además, en algunos tipos de células que normalmente no son eléctricamente activas se hallan canales de Na^+ , de K^+ o de Ca^{2+} regulados por voltaje, cuya función es desconocida. En cada una de estas tres clases de canales catiónicos regulados por voltaje existe una sorprendente diversidad estructural y funcional, generada tanto

Figura 11-26 Registros de corriente a través de un único canal de Na^+ regulado por voltaje. Se utiliza una diminuta zona de membrana plasmática separada de una célula muscular de embrión de rata (véase Figura 11-25). La membrana fue despolarizada por un abrupto incremento de potencial, como se indica en (A). Los tres registros de corriente que se presentan en (B) provienen de tres experimentos realizados sobre la misma zona de membrana. Cada una de las variaciones mayores de corriente de (B) representan la apertura y el cierre de un solo canal. El estudio comparativo de los tres registros muestra que, a pesar de que los tiempos de apertura y cierre del canal varían considerablemente, la velocidad a la que la corriente fluye a través del canal abierto es prácticamente constante. Las fluctuaciones menores del registro de corriente provienen principalmente de ruido eléctrico de fondo del aparato de medida. En (C) se muestra la suma de corrientes medidas en 144 repeticiones del mismo experimento. Esta corriente agregada es equivalente a la corriente de Na^+ habitual que se podría observar a través de una zona de membrana que contuviera 144 canales. Comparando (B) y (C) se puede observar que la variación temporal de voltaje de la corriente agregada refleja la probabilidad de que cualquier canal individual se encuentre en el estado abierto; esta probabilidad disminuye con el tiempo a medida que los canales de la membrana despolarizada adoptan su conformación inactivada. (Datos de J. Patlak y R. Horn, *J. Gen. Physiol.* 79:333-351, 1982, con permiso de copyright de The Rockefeller University Press.)

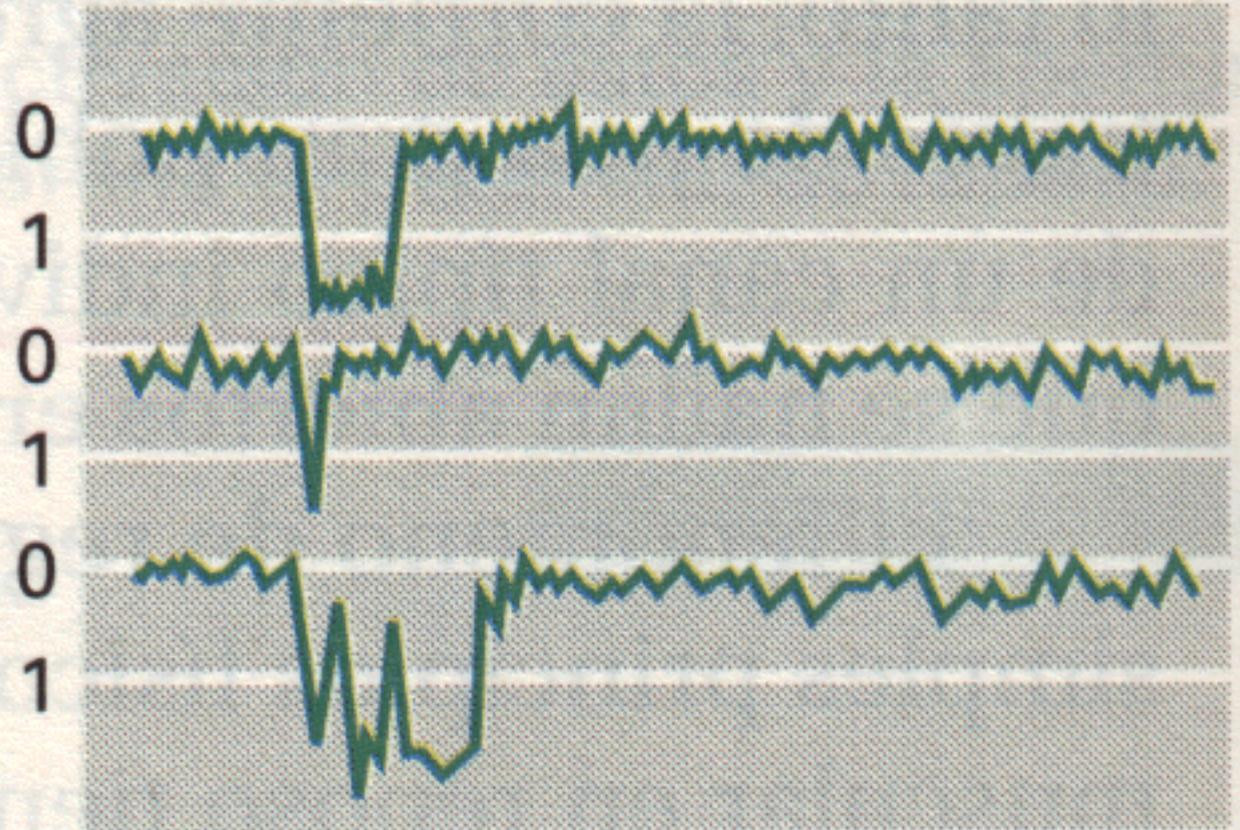




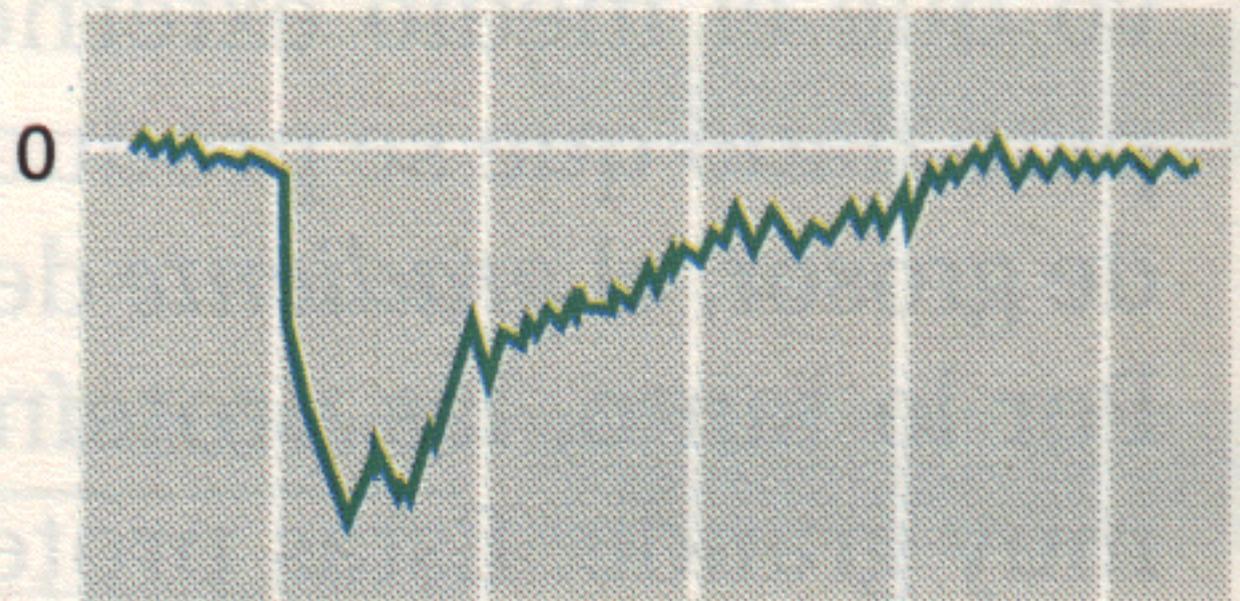
(A)
potencial de -40
membrana -90
(mV)



(B)
corriente de
la zona de
membrana
(pA)



(C)
corriente
agregada



0 40 80
tiempo (milisegundos)

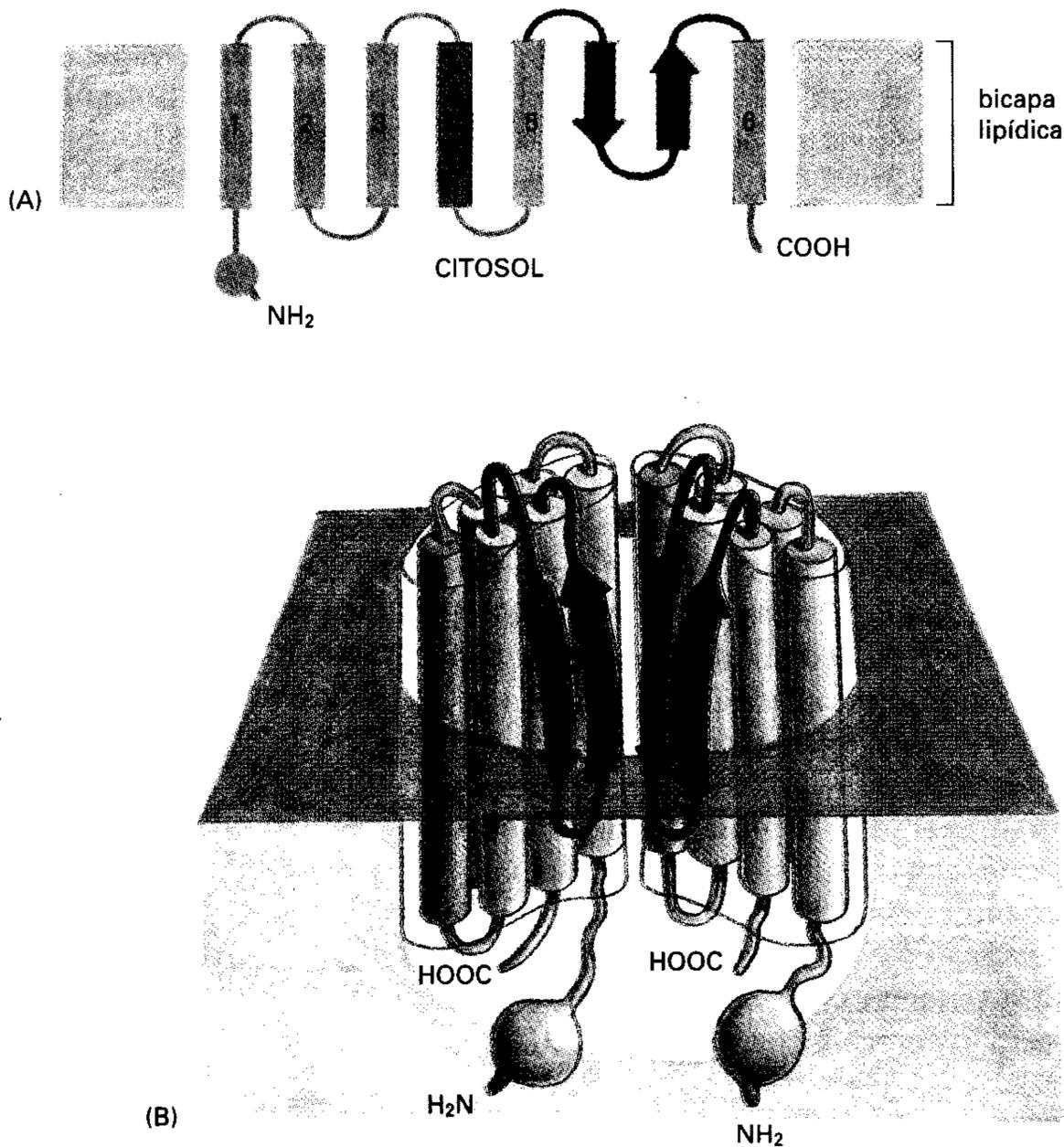
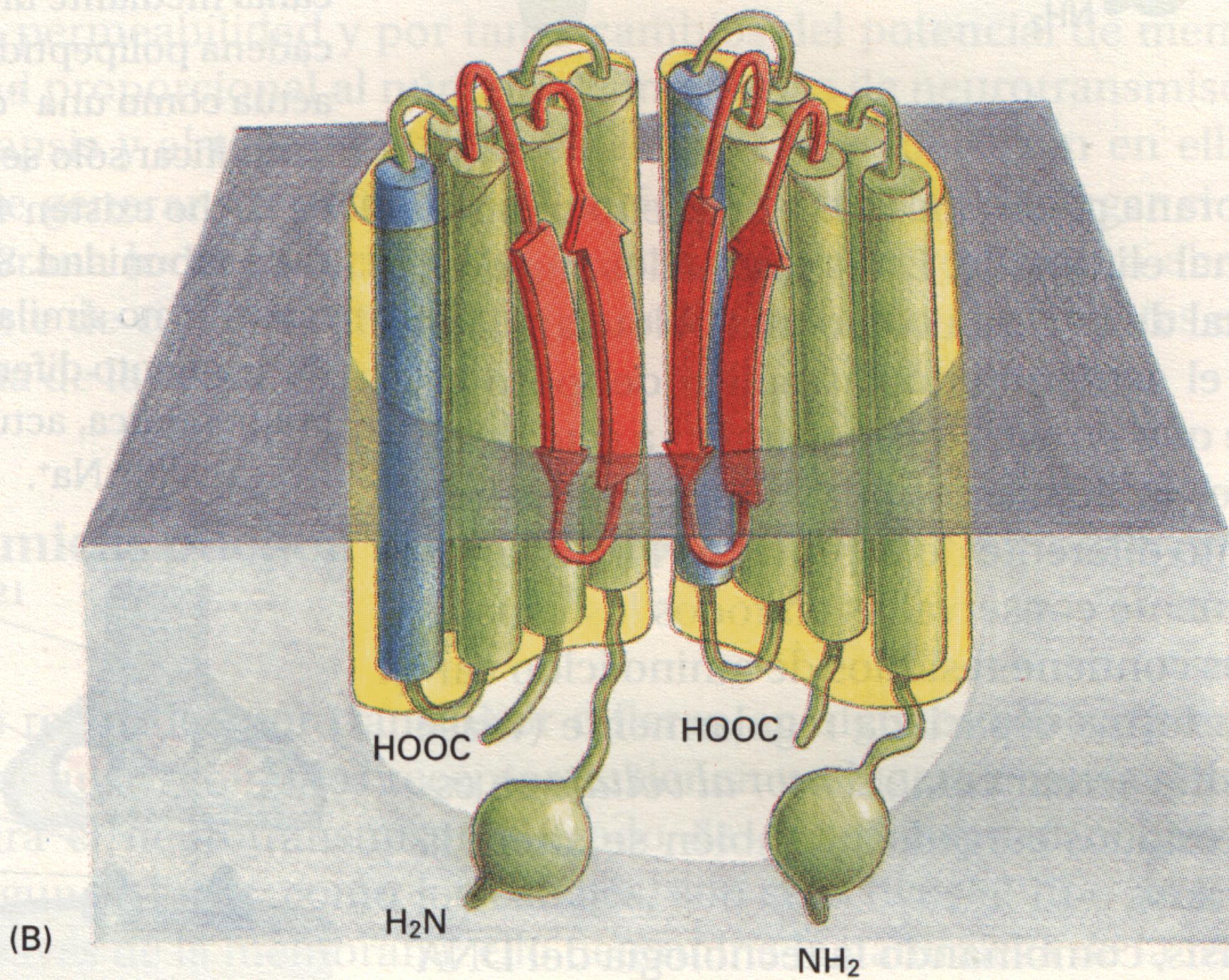
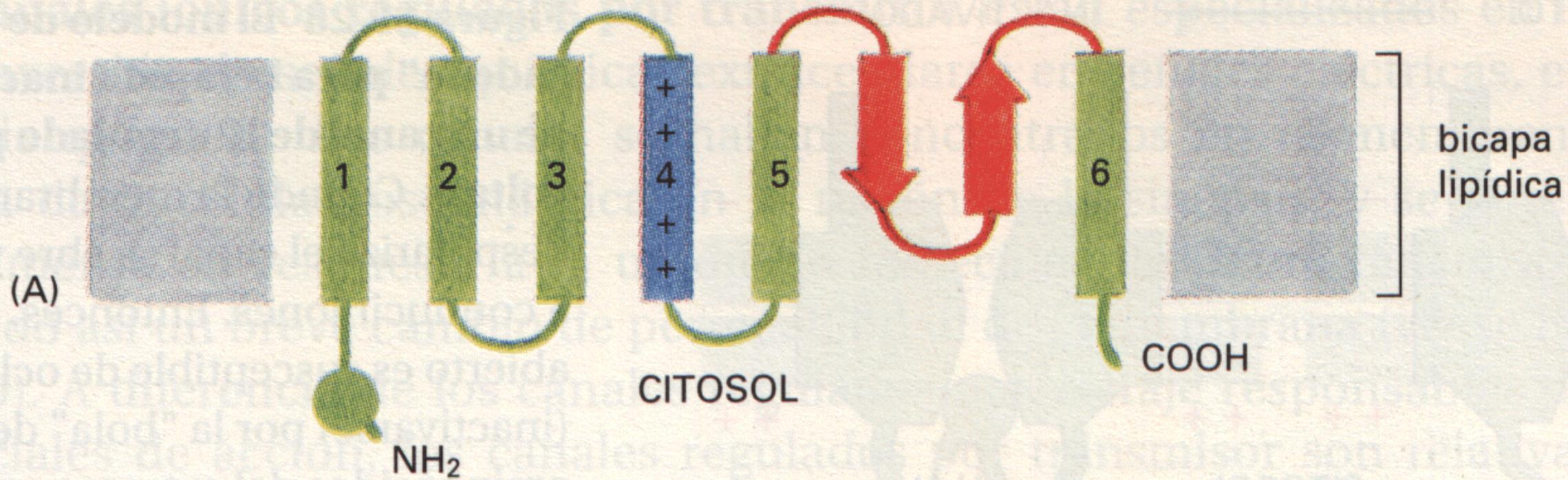


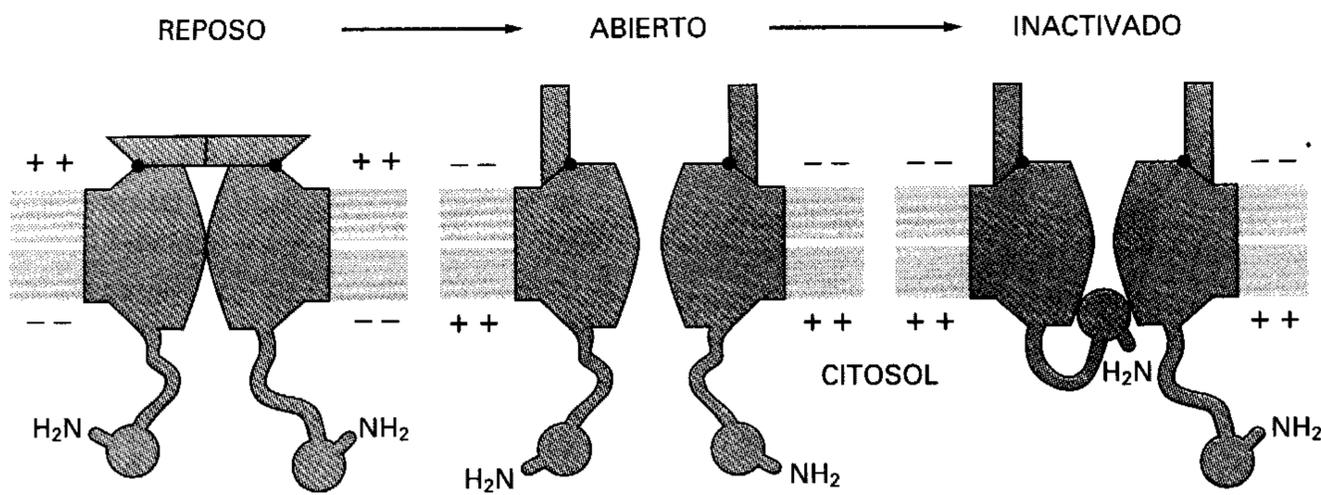
Figura 11-27 Modelo de la estructura del canal de K⁺ regulado por voltaje. (A) Diagrama topológico mostrando los principales dominios funcionales de la cadena polipeptídica de una subunidad, con las seis posibles hélices α transmembrana marcadas del 1 al 6. Se cree que las subunidades, cada una de unos 600 aminoácidos, se ensamblan formando un poro transmembrana; en (B) sólo se muestran dos de ellas. En los canales de Na⁺ y de Ca²⁺ regulados por voltaje las 4 subunidades son dominios de una única larga cadena polipeptídica, pero se cree que su estructura general es similar a ésta. Parece que el segmento de 20 aminoácidos (que se muestra en rojo) situado en la región de unión entre las hélices 5 y 6 se extiende a través de la membrana como dos láminas β antiparalelas formando el poro, como se muestra en la figura. La cuarta hélice α (azul) tiene residuos cargados positivamente en casi cada tercera posición, lo cual al parecer le permite actuar como un *sensor al voltaje*. Al menos en algunos canales de K⁺ el dominio amino terminal participa en la rápida inactivación del canal, como se ilustra en la Figura 11-28.

por múltiples genes como por maduración alternativa de los transcritos de RNA producidos a partir de un mismo gen. Sin embargo, las secuencias de aminoácidos conocidas de los canales de Na⁺, K⁺ y Ca²⁺ regulados por voltaje muestran elevados grados de similitud, lo cual sugiere que todos ellos pertenecen a una gran superfamilia de proteínas relacionadas evolutiva y estructuralmente.

Cada tipo de canal catiónico regulado por voltaje está compuesto de cuatro dominios proteicos homólogos (en el caso de los canales de Na⁺ y de Ca²⁺) o de cuatro subunidades idénticas (en el caso de los canales de K⁺). Se cree que estos cuatro dominios o subunidades se disponen a modo de costillas de un barril, rodeando un poro central, como se ilustra en la Figura 11-27. Los canales de K⁺ son especialmente adecuados para estudiar las relaciones entre la estructura y la función de los canales catiónicos regulados por voltaje, ya que no están formados por una gran cadena polipeptídica sino por subunidades idénticas relativamente pequeñas. La secuencia de aminoácidos sugiere que cada una de las subunidades de un canal de K⁺ contiene seis hélices α que atraviesan la membrana, aunque, de forma sorprendente, parece que ninguna de ellas forma el poro que conduce los iones. Diversos estudios utilizando técnicas de DNA recombinante sobre proteínas de canal de K⁺ modificadas sugieren que un segmento de una cadena polipeptídica de 20 aminoácidos se extiende a través de la membrana formando una lámina β antiparalela que bordea el poro: cuando se intercambia este elemento entre dos canales de K⁺ con diferentes propiedades de permeabilidad, se observa que las características de permeabilidad dependen únicamente de este segmento.

Se ha utilizado una aproximación similar para identificar otras dos importantes regiones funcionales de las proteínas de canal de K⁺. Los 19 residuos amino terminales de al menos una de estas proteínas participan en la rápida *inactivación del canal*. Si se altera esta región, la cinética de inactivación del canal cambia, y si la región se elimina completamente, se elimina la inactivación. Asombrosamente, en este último caso se puede recuperar la inactivación expo-





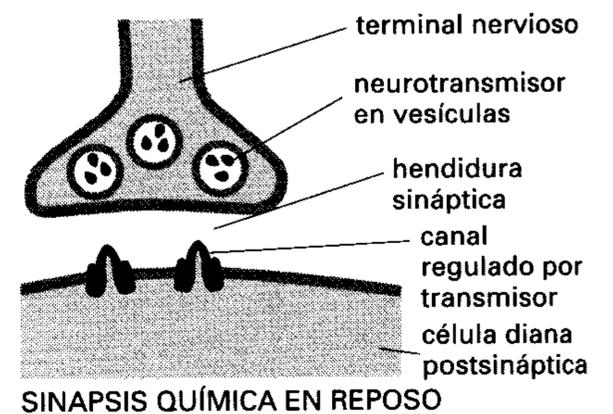
niendo la cara citoplasmática de la membrana plasmática a un pequeño péptido sintético correspondiente al amino terminal eliminado. Estos resultados sugieren que la región amino terminal de cada canal de K^+ actúa como una pelota anclada mediante una corta cadena, que ocluye el extremo citoplasmático del poro en cuanto éste se abre (Figura 11-28); se cree que un mecanismo similar a éste actúa en la rápida inactivación de los canales de Na^+ regulados por voltaje, aunque parece que en este caso participa un segmento diferente de la proteína. Finalmente, una de las hélices α transmembrana altamente conservadas en todos los canales catiónicos regulados por voltaje conocidos contiene residuos de aminoácido cargados positivamente, distribuidos de una forma espaciada regularmente (véase Figura 11-27A). Se cree que esta hélice podría actuar como *sensor al voltaje* en estos canales: si se altera alguno de estos residuos cargados, también se altera la respuesta del canal al potencial de membrana.

Se ha utilizado el mismo tipo de análisis, combinando la tecnología del DNA recombinante y las técnicas de electrofisiología, para caracterizar otras clase de canales iónicos. Estos canales no se abren en respuesta a cambios del potencial de membrana sino a la unión de un *neurotransmisor* específico.

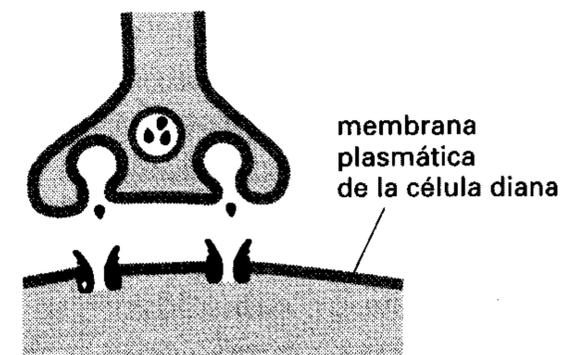
En las sinapsis químicas los canales iónicos regulados por transmisor transforman señales químicas en señales eléctricas¹⁵

Las señales neuronales se transmiten de una célula a otra a través de lugares especializados de contacto conocidos como **sinapsis**. El mecanismo habitual de transmisión es indirecto. Las células se hallan aisladas eléctricamente una de otra, estando la *célula presináptica* separada de la *célula postsináptica* por una estrecha *hendidura sináptica*. Un cambio del potencial eléctrico en la célula presináptica desencadena la liberación de una pequeña molécula señal conocida como **neurotransmisor**, el cual se almacena en *vesículas sinápticas* rodeadas de membrana y se libera por exocitosis. El neurotransmisor difunde rápidamente a través de la hendidura sináptica y provoca un cambio eléctrico en la célula postsináptica a través de un *canal iónico regulado por transmisor* (Figura 11-29). Una vez el neurotransmisor ha sido secretado, es rápidamente eliminado, bien por enzimas específicas de la hendidura sináptica bien por recaptación –tanto por la terminal nerviosa que lo ha liberado como por las células gliales vecinas. La recaptación está mediada por varios tipos de proteínas transportadoras de neurotransmisor dependientes de Na^+ . La rápida eliminación asegura la precisión espacial y temporal de la señalización en la sinapsis: evita que el neurotransmisor afecte a las células vecinas y limpia la hendidura sináptica antes de que se produzca el nuevo pulso de liberación de neurotransmisor, de forma que a la célula postsináptica se le puede comunicar el ritmo, repetido y rápido, de los procesos señalizadores. Como veremos, la señalización a través de *sinapsis químicas* de este tipo es mucho más versátil y adaptable que el acoplamiento eléctrico directo a través de uniones comunicantes en las *sinapsis eléctricas* (discutidas en el Capítulo 19), también utilizadas por las neuronas aunque mucho menos frecuentemente.

Figura 11-28 El modelo de “bola y cadena” para la rápida inactivación de un canal de K^+ regulado por voltaje. Cuando la membrana se despolariza el canal se abre y empieza a conducir iones. Entonces, el canal abierto es susceptible de ocluirse (inactivarse) por la “bola” de 19 aminoácidos del extremo amino terminal, que está unida al propio canal mediante un segmento de cadena polipeptídica desplegado que actúa como una “cadena”. Para simplificar sólo se muestran dos bolas; de hecho existen 4 de ellas, una de cada subunidad. Se cree que un mecanismo similar a éste, utilizando un segmento diferente de la cadena polipeptídica, actúa en la inactivación del canal de Na^+ .



SINAPSIS QUÍMICA EN REPOSO



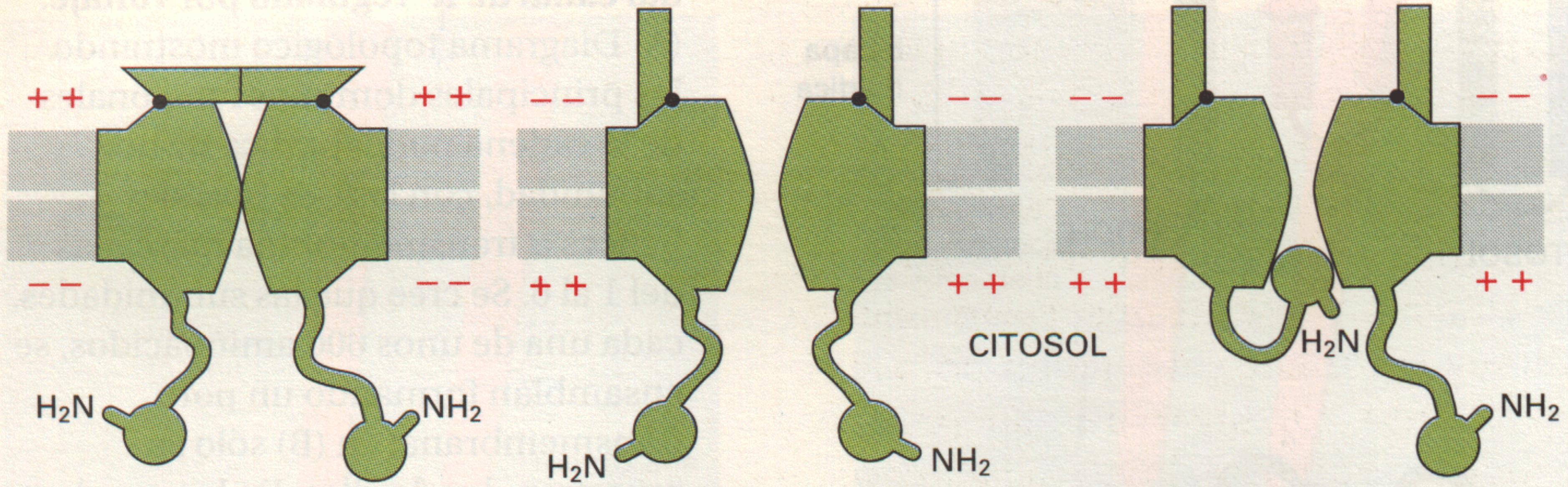
SINAPSIS QUÍMICA ACTIVA

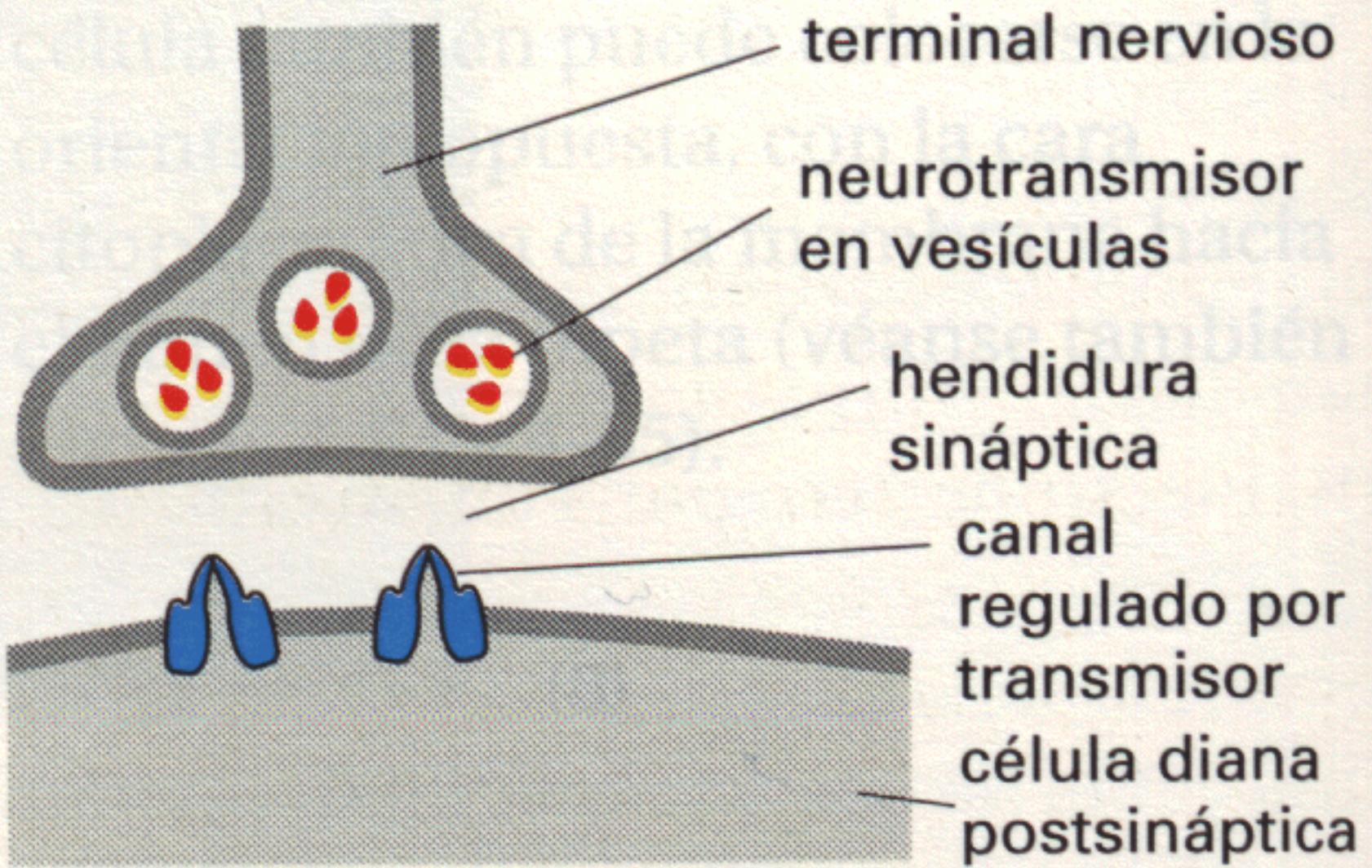
Figura 11-29 Una sinapsis química. Cuando un potencial de acción alcanza al terminal nervioso, estimula a dicho terminal a liberar su neurotransmisor; el neurotransmisor se halla contenido en vesículas sinápticas y se libera al exterior celular cuando las vesículas se fusionan con la membrana plasmática del terminal nervioso. El neurotransmisor liberado se une a los canales iónicos regulados por transmisor concentrados en la zona sináptica de la membrana plasmática de la célula diana, abriéndolos. El flujo de iones resultante altera el potencial de membrana de la célula diana, transmitiendo así una señal desde el nervio excitador.

REPOSO

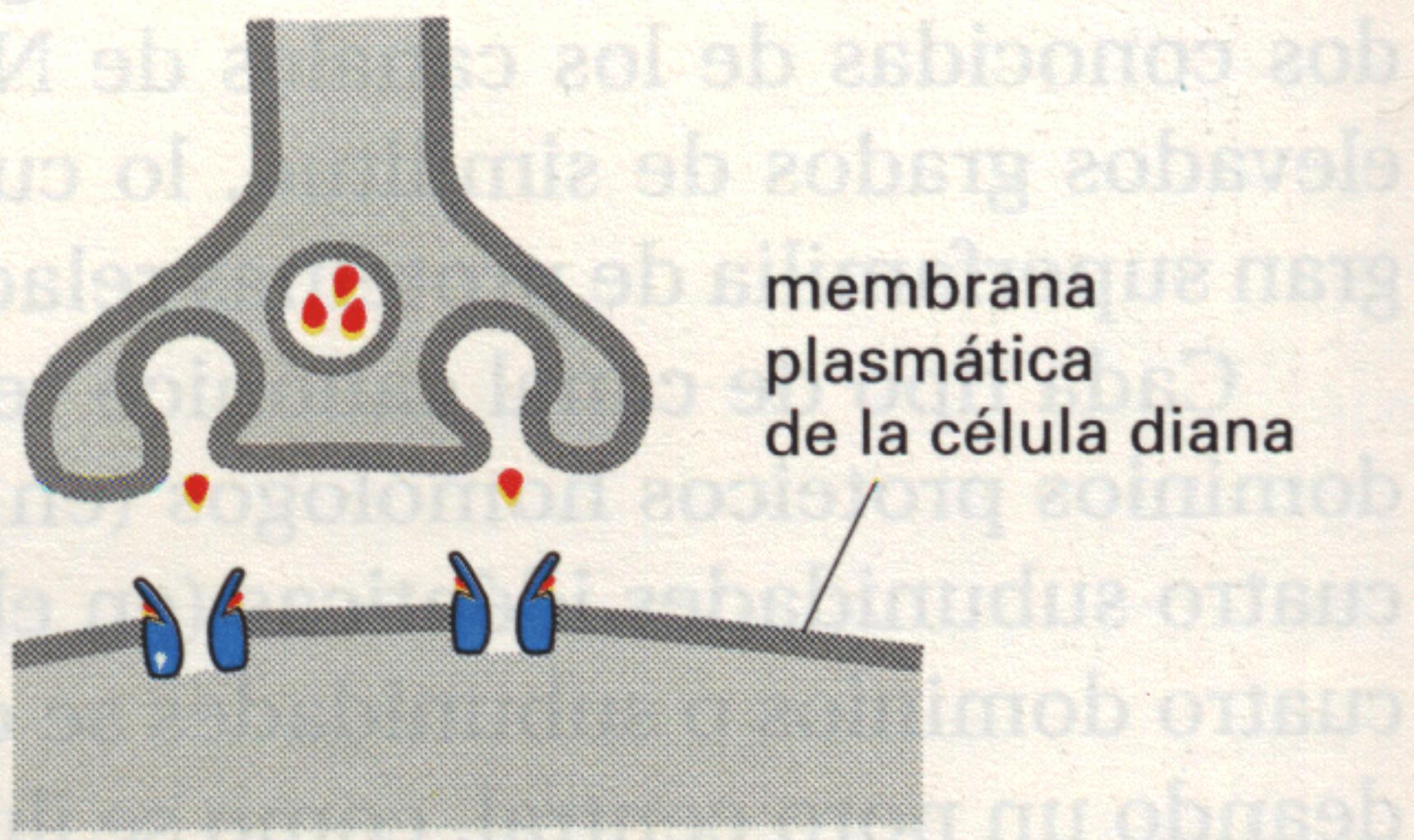
ABIERTO

INACTIVADO





SINAPSIS QUÍMICA EN REPOSO



SINAPSIS QUÍMICA ACTIVA

Los **canales iónicos regulados por transmisor** están especializados en la rápida conversión de señales químicas extracelulares en señales eléctricas, en las sinapsis químicas. Los canales se hallan concentrados en la membrana plasmática de la célula postsináptica en la región de la sinapsis, y se abren transitoriamente en respuesta a la unión de moléculas de neurotransmisor, produciendo así un breve cambio de permeabilidad de la membrana (véase Figura 11-29). A diferencia de los canales regulados por voltaje responsables de los potenciales de acción, los canales regulados por transmisor son relativamente insensibles al potencial de membrana y por ello no pueden por sí mismos producir una excitación auto-amplificante. En lugar de ello producen cambios locales de permeabilidad y por tanto cambios del potencial de membrana, de intensidad proporcional al número de moléculas de neurotransmisor liberadas en la sinapsis y al tiempo en que estas moléculas persistan en ella. Solamente se puede generar un potencial de acción a partir de este lugar si el potencial de membrana local se incrementa suficientemente como para abrir un número suficiente de canales catiónicos regulados por voltaje presentes en la misma membrana de la célula diana.

Las sinapsis químicas pueden ser excitadoras o inhibitoras^{15, 21}

Los canales iónicos regulados por transmisor difieren en algunos aspectos importantes. En primer lugar, como los receptores, tienen un lugar de unión altamente selectivo para el neurotransmisor liberado desde el terminal nervioso presináptico. En segundo lugar, como los canales, son selectivos al tipo de ion que dejan pasar a través de la membrana; ello determina la naturaleza de la respuesta postsináptica. Los **neurotransmisores excitadores**, como la *acetilcolina*, el *glutamato* y la *serotonina*, abren canales catiónicos que generan un influjo de Na^+ que despolariza la membrana postsináptica hacia el potencial umbral que dispara un potencial de acción. Los **neurotransmisores inhibidores** como el *ácido γ -aminobutírico (GABA)* y la *glicina*, por el contrario, abren canales de Cl^- , lo cual suprime el disparo, polarizando la membrana postsináptica.

Ya hemos discutido cómo la apertura de los canales iónicos despolariza una membrana. El efecto de la apertura de los canales de Cl^- puede entenderse de la siguiente manera. La concentración de Cl^- es mucho mayor fuera que dentro de la célula (véase Tabla 11-1, pág. 542). Por esta razón, la apertura de los canales de Cl^- tenderá a hiperpolarizar la membrana al entrar más iones cloro cargados negativamente al interior de la célula, a no ser que el potencial de membrana sea tan negativo que sea insuficiente para contrarrestar el elevado gradiente de Cl^- . (De hecho, en muchas neuronas el potencial de equilibrio para el Cl^- es cercano al potencial de reposo, o incluso es más negativo.) En aquel caso, la apertura de los canales de Cl^- hace más difícil despolarizar la membrana y, por lo tanto, excitar la célula. La importancia de los neurotransmisores inhibidores se demuestra por los efectos de las toxinas que bloquean su acción: la *estricnina*, por ejemplo, se une a los receptores de glicina bloqueando la acción de la glicina, lo cual causa espasmos, convulsiones y la muerte.

No todas las señales químicas del sistema nervioso, sin embargo, actúan a través de canales iónicos regulados por ligando. Muchas de las moléculas señal que son secretadas por los terminales nerviosos, incluidos una gran variedad de *neuropéptidos*, se unen a receptores que regulan, indirectamente, canales iónicos. Estos receptores, denominados *receptores relacionados con proteína G* y *receptores relacionados con enzimas* se discuten en detalle en el Capítulo 15. Mientras que la señalización mediada por neurotransmisores excitadores e inhibidores que se unen a canales iónicos regulados por transmisor generalmente es inmediata, simple y breve, la señalización mediada por receptores relacionados con proteínas G y por receptores relacionados con enzimas tiende a ser mucho más lenta y más compleja, así como de consecuencias más duraderas.

Los receptores de acetilcolina de las uniones neuromusculares son canales catiónicos regulados por transmisor²²

El ejemplo mejor estudiado de canales iónicos regulados por transmisor es el receptor de acetilcolina de las fibras musculares esqueléticas. Este canal se abre transitoriamente por la liberación de acetilcolina del terminal nervioso, en una **sinapsis neuromuscular** –una sinapsis especializada entre una neurona motora y una fibra muscular esquelética (Figura 11-30). Este tipo de sinapsis ha sido estudiada intensamente ya que es fácilmente accesible a los estudios electrofisiológicos, a diferencia de la mayoría de sinapsis del sistema nervioso central.

El receptor de acetilcolina ocupa un lugar especial en la historia de los canales iónicos. Fue el primer canal iónico que fue purificado, el primero del que se conoció la secuencia completa de aminoácidos, el primero en ser reconstituido funcionalmente en bicapas lipídicas sintéticas y el primero para el que se registró la señal eléctrica de un solo canal abierto. Su gen también fue el primer gen de una proteína de canal que fue clonado y secuenciado. Al menos existen dos razones que explican el rápido progreso en la purificación y caracterización de este receptor. En primer lugar, existe una fuente extraordinariamente rica de este receptor en los órganos eléctricos de los peces eléctricos y de las rayas (estos órganos son músculos modificados diseñados para descargar un gran shock eléctrico sobre su presa). En segundo lugar, existen neurotoxinas (como la α -bungarotoxina) en el veneno de ciertas serpientes, que se unen a dicho receptor con una elevada afinidad ($K_a = 10^9$ litros/mol) y especificidad, por lo que pueden ser utilizadas para purificarlo por cromatografía de afinidad. También se puede utilizar α -bungarotoxina fluorescente o marcada con radiactividad para localizar y cuantificar los receptores de acetilcolina. De esta forma, se ha visto que el receptor se halla densamente empaquetado en la zona de la sinapsis neuromuscular de la membrana plasmática de las fibras musculares (unos 20 000 receptores/ μm^2), mientras que existen relativamente pocos de tales receptores en otros lugares de esta membrana.

El receptor de acetilcolina de la fibra muscular esquelética está compuesto por cinco polipéptidos transmembrana, dos de un tipo y otros tres, codificados por cuatro genes diferentes. Los cuatro genes tienen una secuencia muy similar, lo cual implica que probablemente han evolucionado a partir de un gen ancestral común. Cada uno de los dos polipéptidos idénticos del pentámero tiene lugares de unión a la acetilcolina. Cuando dos moléculas de acetilcolina se unen al complejo pentamérico, inducen un cambio de conformación que abre el canal. El canal permanece abierto durante aproximadamente 1 milisegundo y entonces se cierra; como los canales de Na^+ regulados por voltaje, la forma abierta del canal receptor de acetilcolina tiene una vida media corta, y rápidamente salta a un estado cerrado, de menor energía libre (Figura 11-31). Posteriormente, las moléculas de acetilcolina se disocian del receptor y son hidrolizadas por una enzima específica (la acetilcolinesterasa) localizada en la sinapsis neuromuscular.

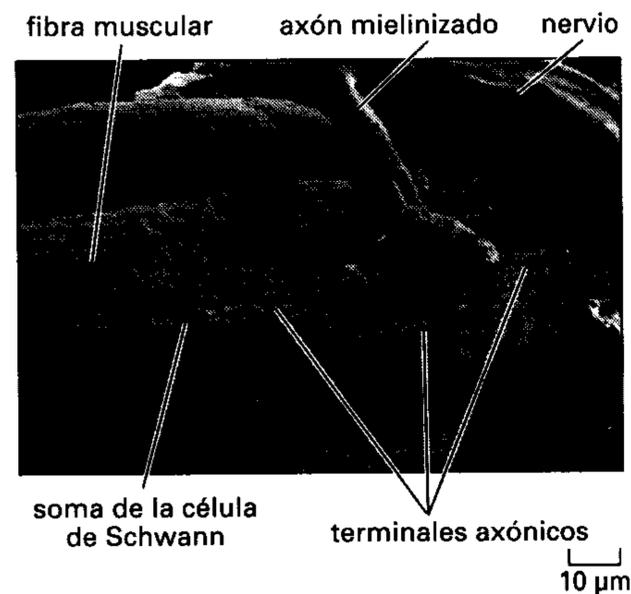


Figura 11-30 Electronmicrografía de barrido a bajo aumento de una sinapsis neuromuscular de rana. Se muestra la terminación de un único axón sobre una fibra muscular esquelética. (De J. Desaki y Y. Uehara, *J. Neurocytol* 10:101-110, 1981, con permiso de Chapman & Hall.)

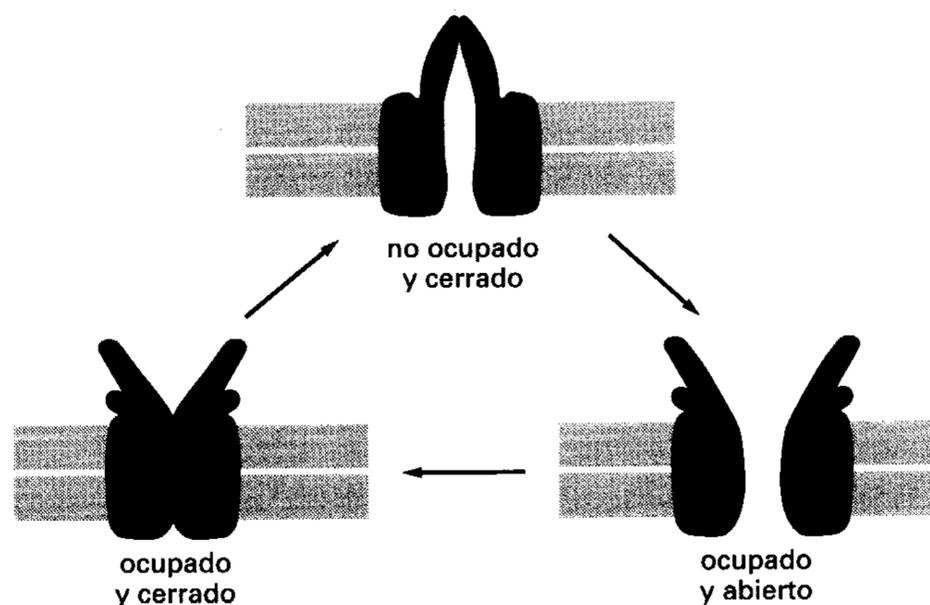
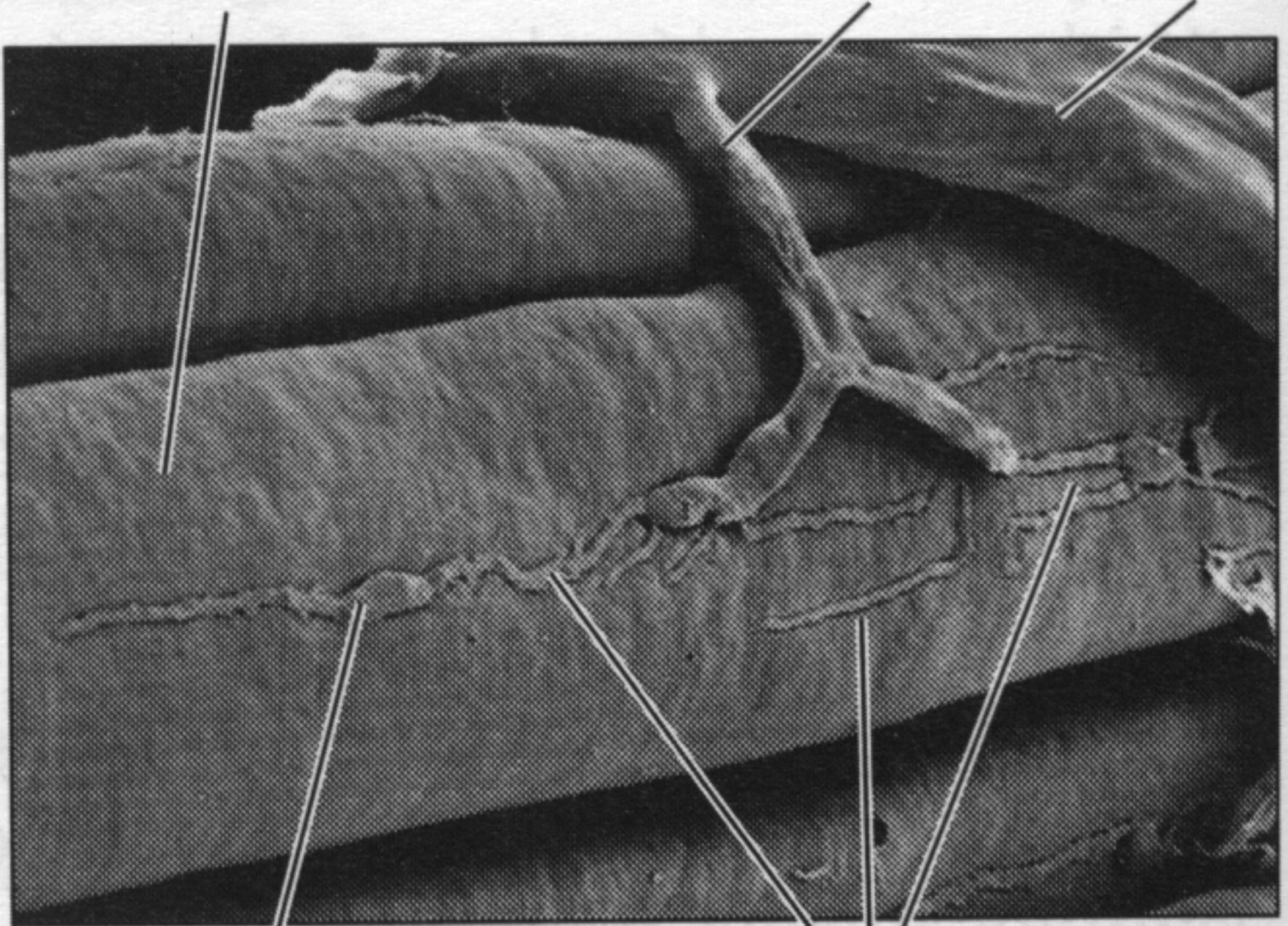


Figura 11-31 Tres conformaciones del receptor de acetilcolina. La unión de dos moléculas de acetilcolina abre este canal iónico regulado por transmisor. Sin embargo, incluso cuando se halla unido a acetilcolina, el receptor sólo se halla en la conformación abierta muy brevemente, antes de que el canal se vuelva a cerrar. Entonces la acetilcolina se disocia del receptor, lo cual permite al receptor volver a su conformación original.

fibra muscular

axón mielinizado

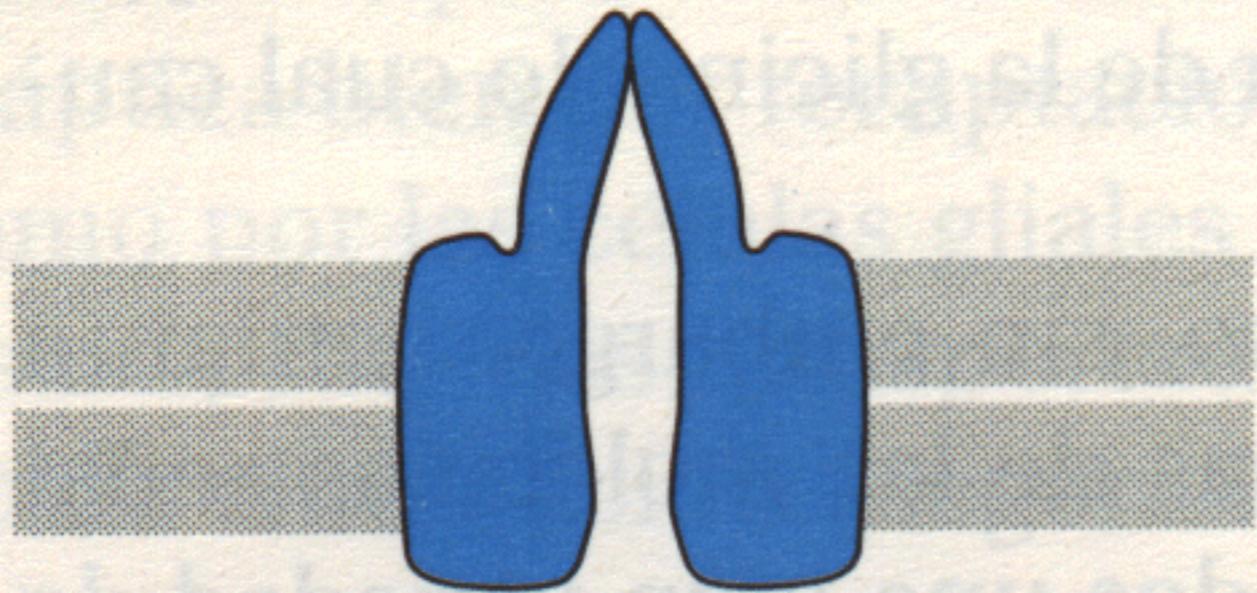
nervio



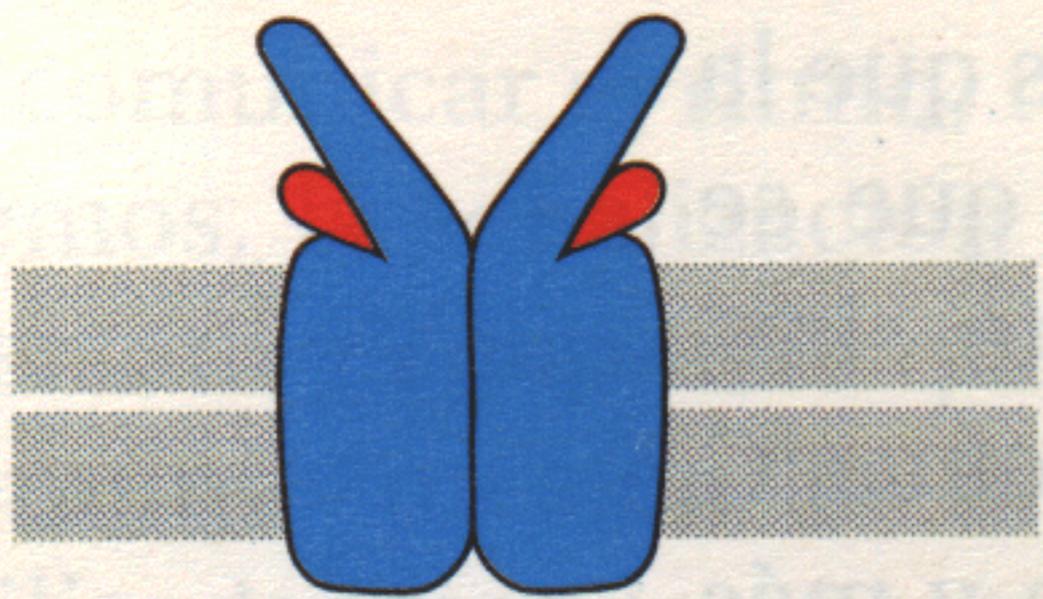
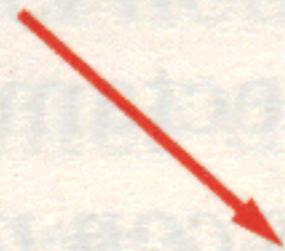
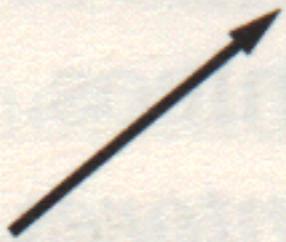
soma de la célula
de Schwann

terminales axónicos

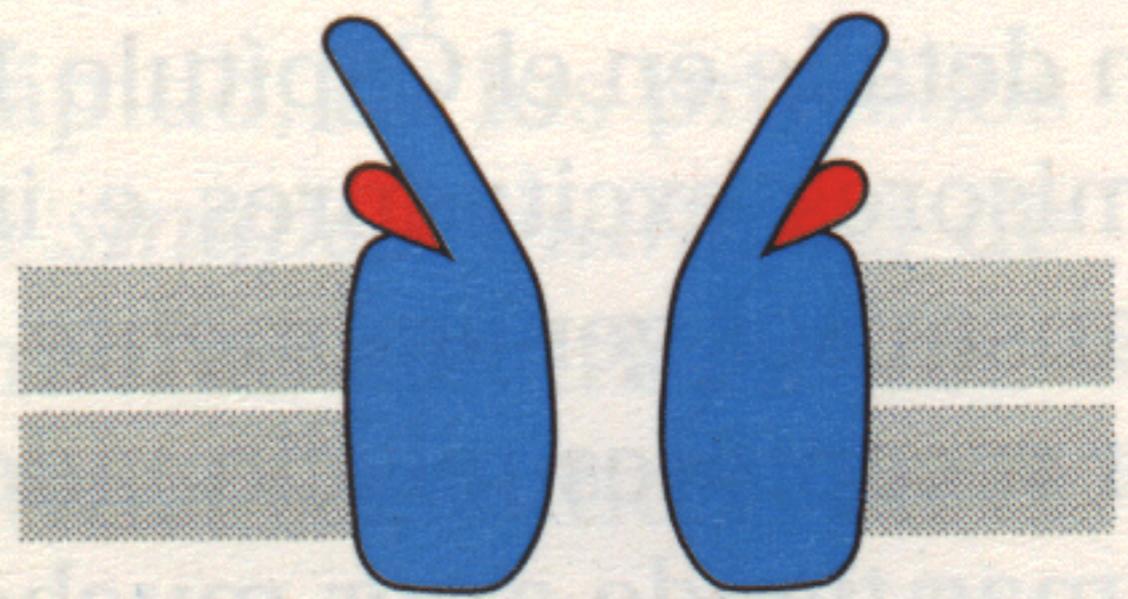
10 μ m



no ocupado
y cerrado



ocupado
y cerrado



ocupado
y abierto



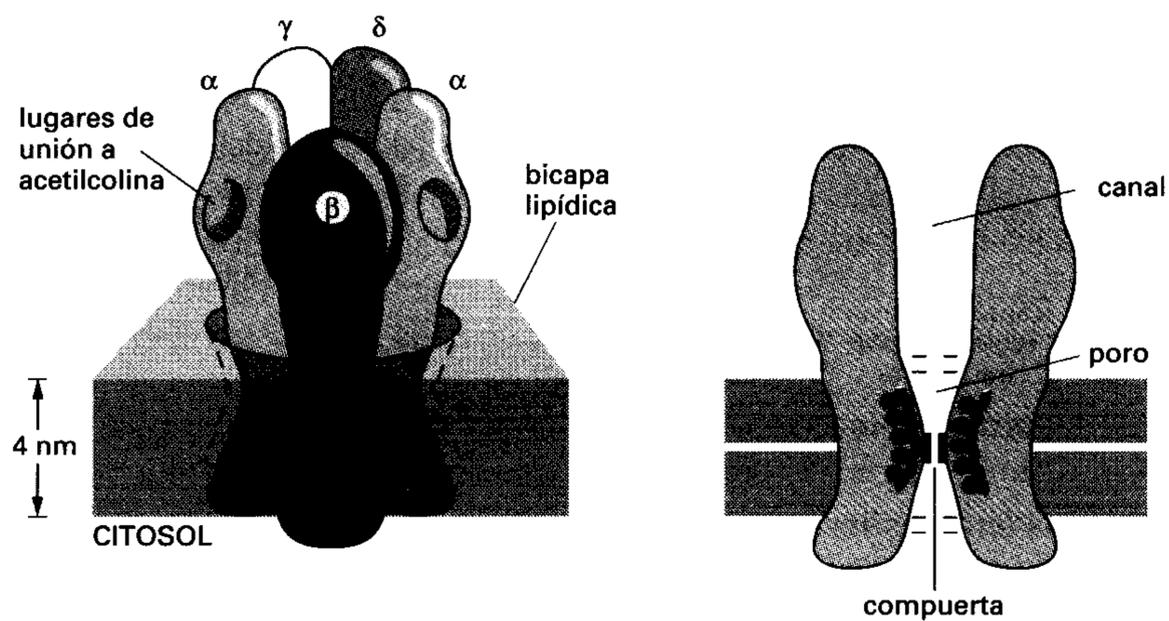


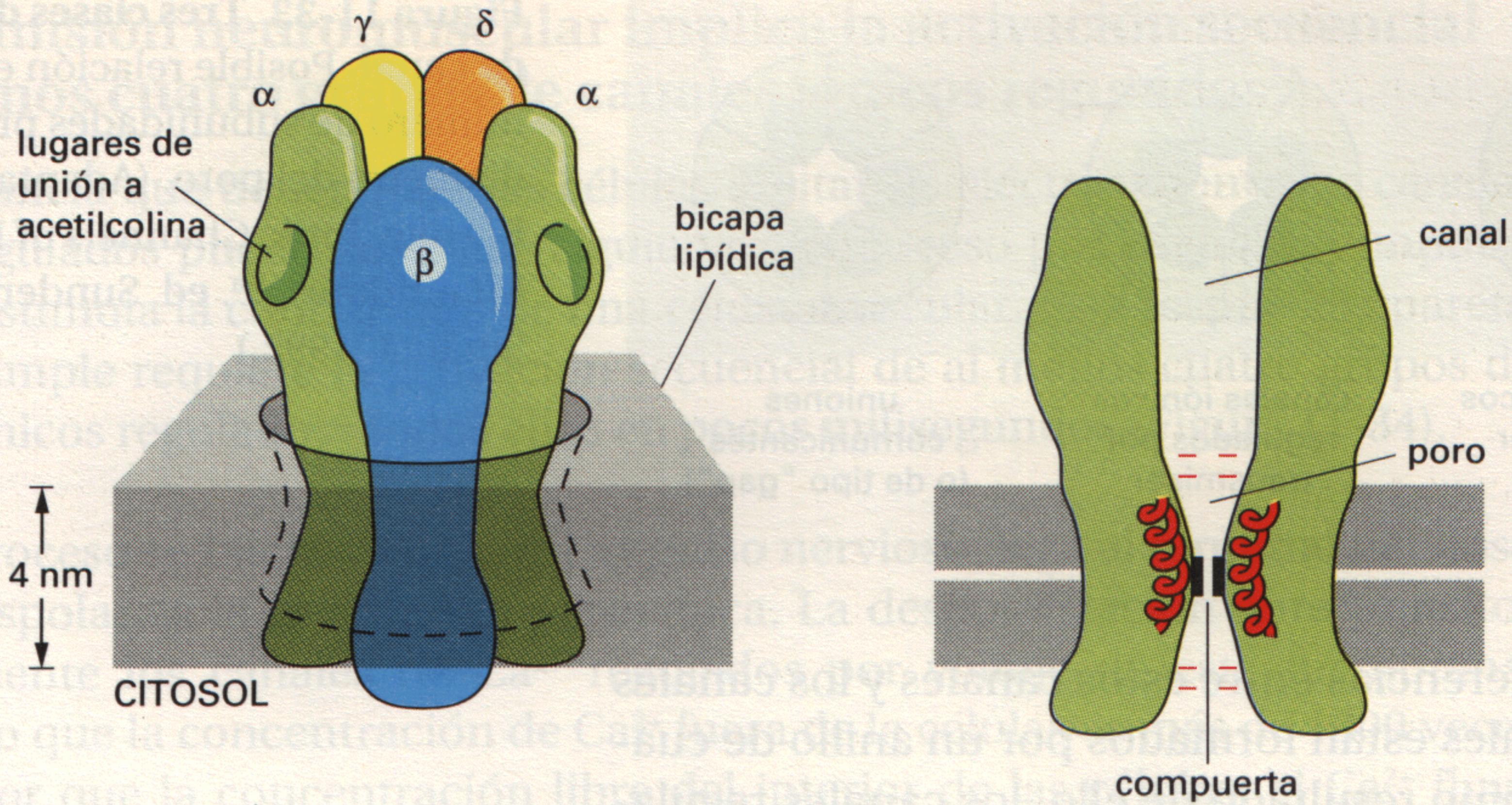
Figura 11-32 Modelo de la estructura del receptor de acetilcolina. Cinco subunidades homólogas (α , α , β , γ y δ) se combinan formando un poro acuoso transmembrana. El poro está constituido por un anillo de cinco hélices α transmembrana, una de cada subunidad. Probablemente el anillo de hélices α está rodeado por un aro de lámina β transmembrana formada por los otros segmentos transmembrana de las cinco subunidades. Parece que en su conformación cerrada el poro se halla ocluido por las cadenas laterales hidrofóbicas de cinco residuos de leucina, uno de cada hélice α , que forman una compuerta cerca del centro de la bicapa lipídica. Las cadenas laterales cargadas negativamente situadas a cada lado del poro aseguran que únicamente atravesarán el poro iones cargados positivamente. Las dos subunidades α contienen un lugar de unión a la acetilcolina; cuando la acetilcolina se une a los dos lugares de unión, el canal sufre un cambio de conformación que abre la compuerta, posiblemente gracias a un desplazamiento de los residuos de leucina. (Adaptado de N. Unwin, *Cell/Neuron* 72/10 [Supl.] 31-41, 1993 © Cell Press.)

Una vez se ha liberado del neurotransmisor al que se había unido, el receptor de acetilcolina revierte a su estado inicial de reposo.

Se ha determinado la forma general del receptor de acetilcolina y la disposición de sus subunidades, mediante una combinación de microscopía electrónica y difracción de rayos X de ángulo pequeño sobre cristales bidimensionales: las cinco subunidades están dispuestas en anillo formando un canal transmembrana lleno de agua, que consiste en un estrecho poro a través de la bicapa lipídica rodeado por zonas cilíndricas de la molécula (Figura 11-32). En cada uno de los extremos del poro, unos grupos de residuos de aminoácido cargados negativamente ayudan a excluir los iones negativos y facilitan que los iones positivos de diámetro menor de 0,65 nm atraviesen el poro. El tráfico normal consiste principalmente en iones Na^+ y K^+ , y algunos iones Ca^{2+} . Así, a diferencia de los canales catiónicos regulados por voltaje, este canal tiene una baja selectividad a los cationes y la contribución relativa de los diferentes cationes a la corriente a través de los canales depende fundamentalmente de sus concentraciones y de las fuerzas electroquímicas que los impulsan. Cuando la membrana de la fibra muscular se halla en su potencial de reposo, la fuerza neta de impulso del K^+ es cercana a cero ya que el gradiente de voltaje equilibra casi totalmente el gradiente de concentración de K^+ a través de la membrana (véase Panel 11-2, pág. 562). Para el Na^+ , por el contrario, el gradiente de voltaje y el gradiente de concentración actúan en la misma dirección, impulsando el ion al interior de la célula. (Lo mismo es válido para el Ca^{2+} , pero la concentración extracelular de Ca^{2+} es mucho menor que la de Na^+ , de forma que el Ca^{2+} contribuye muy ligeramente a la corriente de entrada total.) Así pues, la apertura de los canales receptores de acetilcolina provoca un gran influjo neto de iones Na^+ (unos 30 000 iones por canal cada milisegundo). Este influjo causa una despolarización de la membrana que señala al músculo a contraerse, como discutiremos más adelante.

Los canales iónicos regulados por transmisor son las dianas principales de la acción de drogas psicoactivas²³

Los canales iónicos que se abren directamente en respuesta a los neurotransmisores acetilcolina, serotonina, GABA y glicina, contienen subunidades que son estructuralmente similares entre sí, lo cual sugiere que están relacionadas evolutivamente y que probablemente forman poros transmembrana de la misma manera, aunque su especificidad para el neurotransmisor y su selectividad para el ion sean distintas. Los canales iónicos regulados por glutamato están formados por una familia distinta de subunidades, pero al parecer tienen una estructura general similar. En cada caso, el canal está formado por subunidades polipeptídicas homólogas, las cuales probablemente forman un pentámero que se asemeja al receptor de acetilcolina (véase Figura 11-32). La comparación de las Figuras



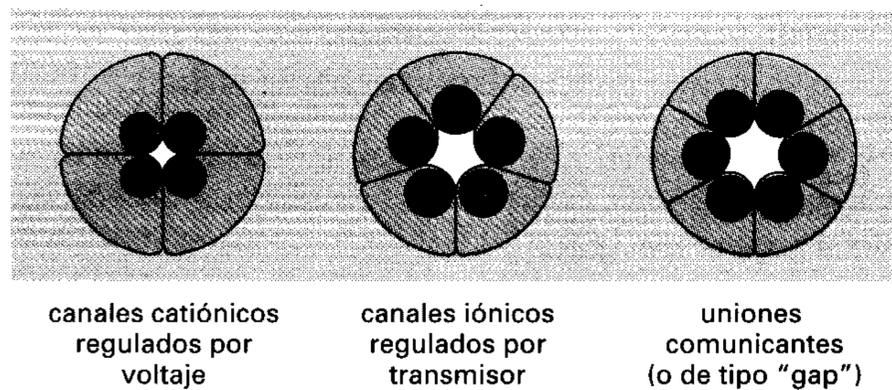
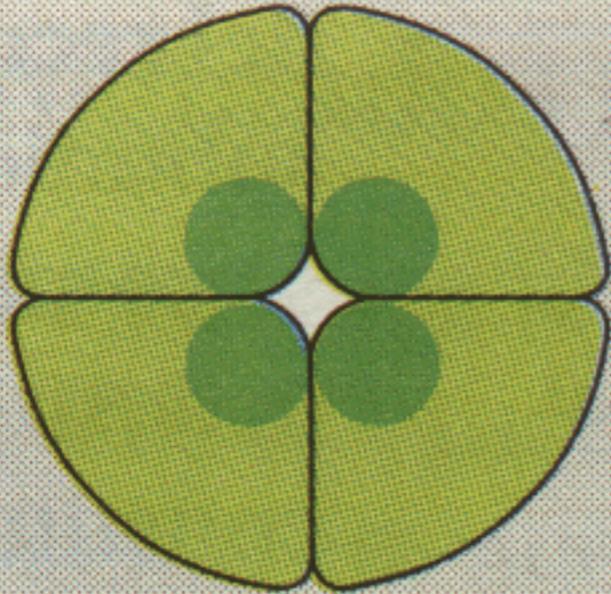


Figura 11-33 Tres clases de proteínas de canal. Posible relación entre el número de subunidades proteicas y el diámetro del poro. (Adaptado de B. Hille, *Ionic Channels of Excitable Membranes*, 2ª. ed. Sunderland, MA: Sinauer, 1992.)

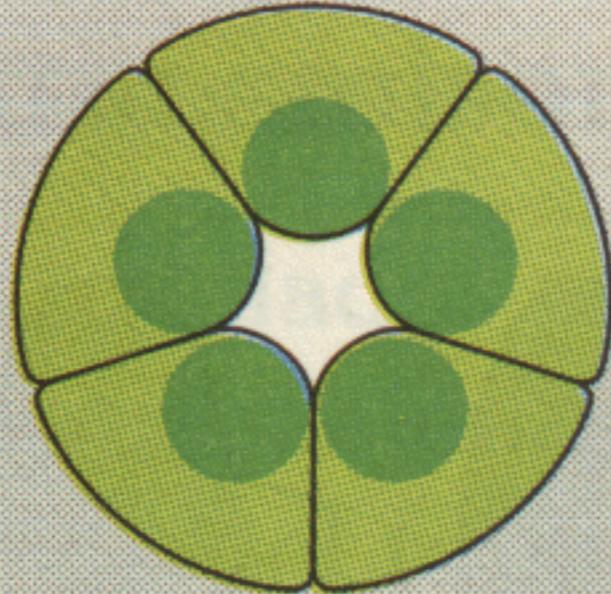
11-27 y 11-32 pone de manifiesto las diferencias entre estos canales y los canales catiónicos regulados por voltaje, los cuales están formados por un anillo de cuatro subunidades (o dominios). Quizá como resultado de ello, los canales regulados por transmisor tienen poros más anchos y, por tanto, son menos estrictos en su selectividad a iones. Las uniones comunicantes, formadas por un anillo de seis subunidades, tienen poros más anchos que permiten el paso de iones inorgánicos y de pequeñas moléculas orgánicas (se discute en el Capítulo 19). Esta posible relación entre número de subunidades y la amplitud del poro se ilustra en la Figura 11-33.

Cada uno de los tipos de canales iónicos regulados por transmisor tienen formas alternativas de cada subunidad, codificadas por genes diferentes o generadas por la maduración alternativa del RNA del mismo producto génico. Todo ello se combina de diferente forma generando un conjunto de subtipos de canales extraordinariamente diverso, con diferentes afinidades para el ligando, diferentes conductancias de canal, diferentes velocidades de apertura y cierre y diferentes sensibilidades a drogas y toxinas. Las neuronas de los vertebrados, por ejemplo, tienen canales iónicos regulados por acetilcolina que se diferencian de los de las fibras musculares en que habitualmente están formados por dos subunidades de un tipo y tres de otro; sin embargo existen al menos siete genes que codifican diferentes versiones del primer tipo de subunidades y al menos tres que codifican diferentes versiones del segundo, con una diversidad añadida debida a la maduración alternativa del RNA. Se pueden caracterizar diferentes subconjuntos de neuronas sensibles a acetilcolina, con diferentes funciones en el cerebro, debido a diferentes combinaciones de estas subunidades. Ello, en principio y con alguna utilización en la práctica, permite diseñar drogas que tengan como diana reducidos grupos de neuronas o de sinapsis, influyendo así específicamente determinadas funciones cerebrales. De hecho, los canales iónicos regulados por transmisor han sido durante mucho tiempo importantes dianas para las drogas. Un cirujano, por ejemplo, puede hacer que los músculos se relajen durante una operación bloqueando los receptores de acetilcolina de las fibras musculares esqueléticas con *curare*, una droga vegetal que se utilizó originariamente por los indios sudamericanos para envenenar sus flechas. La mayoría de drogas utilizadas en el tratamiento del insomnio, de la ansiedad, de la depresión y de la esquizofrenia, ejercen sus efectos sobre las sinapsis químicas y muchas de ellas actúan uniéndose a canales iónicos regulados por transmisor: tanto los barbituratos como los tranquilizantes, como el Valium y el Librium, por ejemplo, se unen a los receptores de GABA potenciando su acción inhibitoria al permitir que concentraciones más bajas de GABA abran los canales de Cl^- . La nueva biología molecular de los canales revela la diversidad y los detalles de su estructura, permitiendo así diseñar una nueva generación de drogas psicoactivas que actuarán más selectivamente aligerando el sufrimiento de las enfermedades mentales.

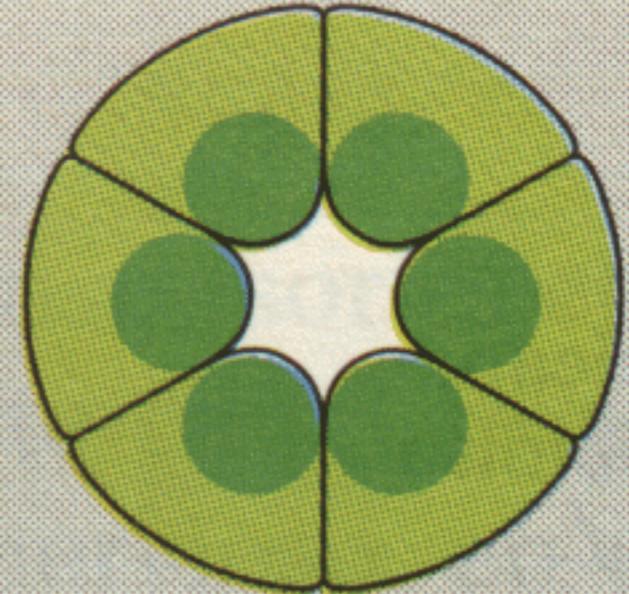
Los canales iónicos son los componentes moleculares básicos a partir de los cuales se construyen los elementos neuronales de la computación y la señalización biológica. Para poder entrever como pueden llegar a ser de sofisticadas las funciones de estos elementos, consideramos ahora varios ejemplos que demuestran cómo actúan conjuntamente varios grupos de canales en la comunicación sináptica entre células excitables eléctricamente.



canales catiónicos
regulados por
voltaje



canales iónicos
regulados por
transmisor



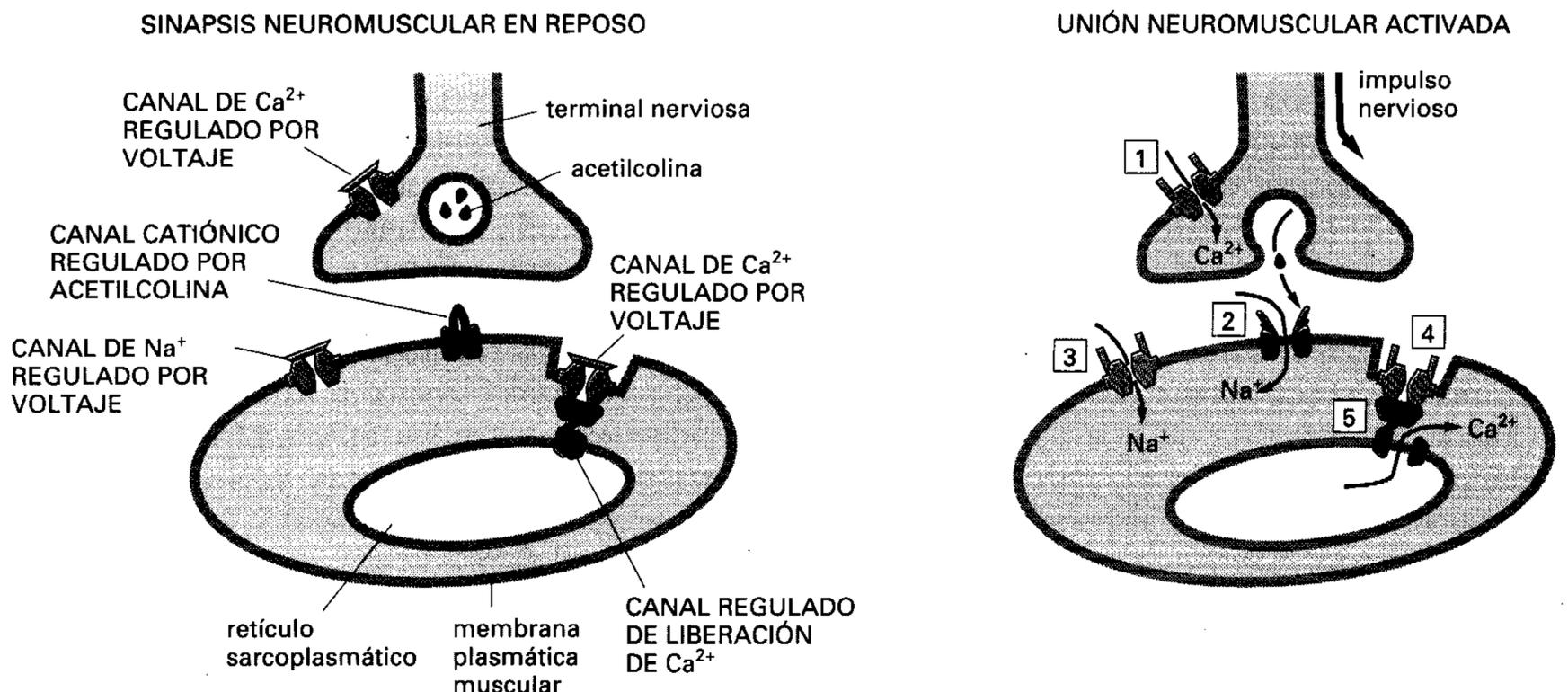
uniones
comunicantes
(o de tipo "gap")

La transmisión neuromuscular implica la activación secuencial de al menos cuatro grupos de canales iónicos regulados¹⁵

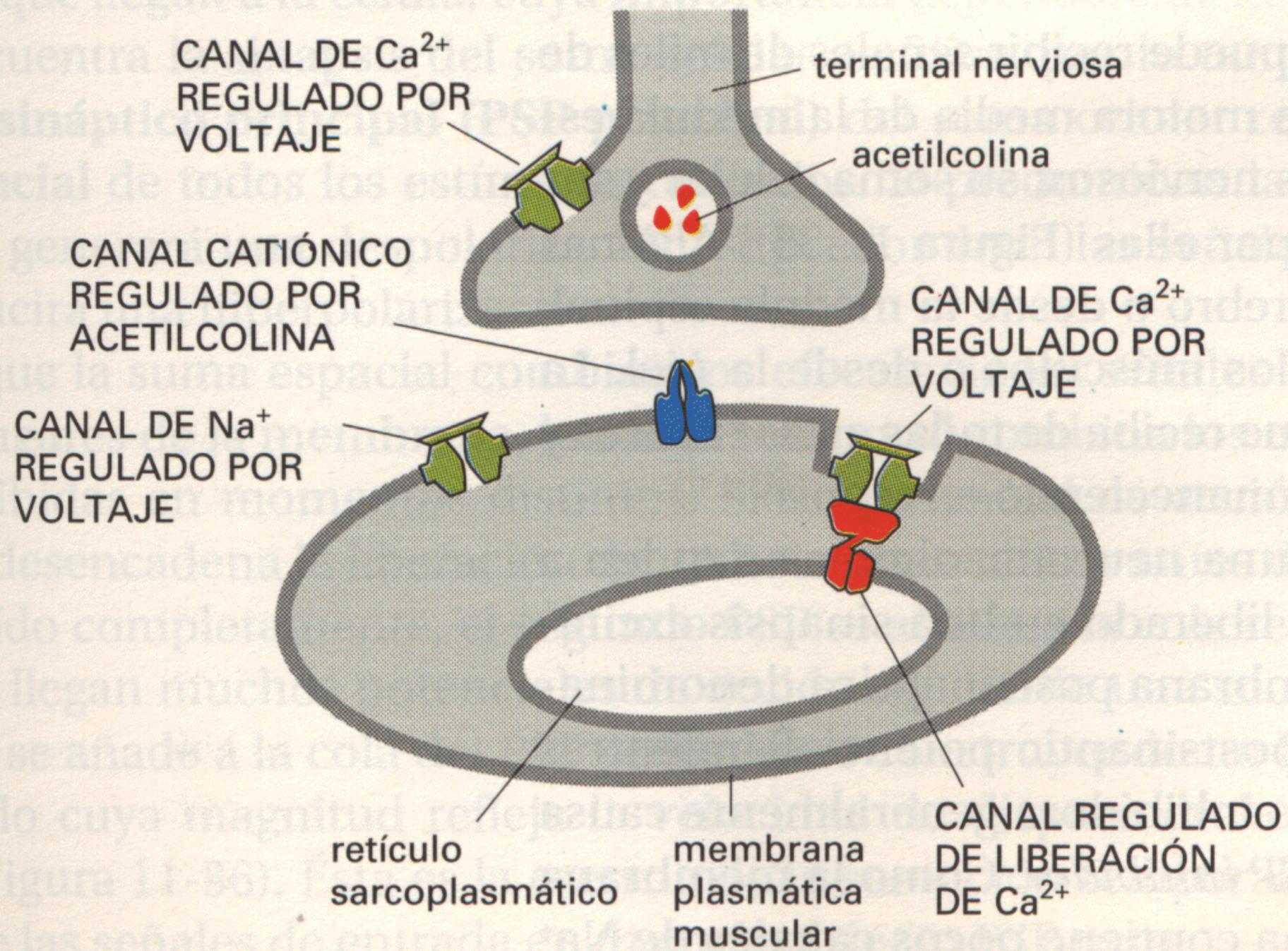
La importancia que tienen para las células excitables eléctricamente los canales iónicos regulados puede ilustrarse siguiendo el proceso por el cual un impulso nervioso estimula la contracción de una célula muscular. Esta respuesta aparentemente simple requiere la activación secuencial de al menos cuatro grupos de canales iónicos regulados –todos ellos en pocos milisegundos (Figura 11-34).

1. El proceso se inicia cuando un impulso nervioso llega al terminal nervioso y despolariza la membrana plasmática. La despolarización abre transitoriamente los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje de esta membrana. Dado que la concentración de Ca^{2+} fuera de la células es más de 1000 veces mayor que la concentración libre del interior de las células, el Ca^{2+} fluye hacia el interior del terminal nervioso. El incremento de la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma del terminal dispara la liberación localizada de acetilcolina en la hendidura sináptica.
2. La acetilcolina liberada se une a los receptores de acetilcolina de la membrana plasmática postsináptica de la fibra muscular, abriendo transitoriamente los canales catiónicos que se hallan asociados a estos receptores. El influjo de Na^+ que se genera provoca una despolarización localizada de la membrana.
3. La despolarización de la membrana plasmática de la fibra muscular abre los canales de Na^+ regulados por voltaje de esta membrana, permitiendo la entrada de más Na^+ , el cual despolariza la membrana. A su vez, esta despolarización abre más canales de Na^+ regulados por voltaje, de forma que se forma una despolarización auto-propagante (un potencial de acción) que se extiende por toda la membrana plasmática (véase Figura 11-23).
4. La despolarización generalizada de la membrana plasmática de la fibra muscular provoca la apertura transitoria de canales iónicos de regiones especializadas (los túbulos transversos [T] –discutidos en el Capítulo 16) de esta membrana. Esta apertura causa la apertura transitoria de *canales de liberación de Ca^{2+}* de regiones adyacentes de la membrana del retículo sarcoplasmático, la cual provoca la liberación al citosol de Ca^{2+} almacenado en el retículo sarcoplasmático. Este incremento repentino en la concentración citosólica de Ca^{2+} provoca la contracción de las miofibrillas de la fibra muscular. Todavía no conocemos cuál es el mecanismo mediante el cual la activación de los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje de la membrana del túbulo T conduce a la apertura de los canales de liberación de Ca^{2+} de

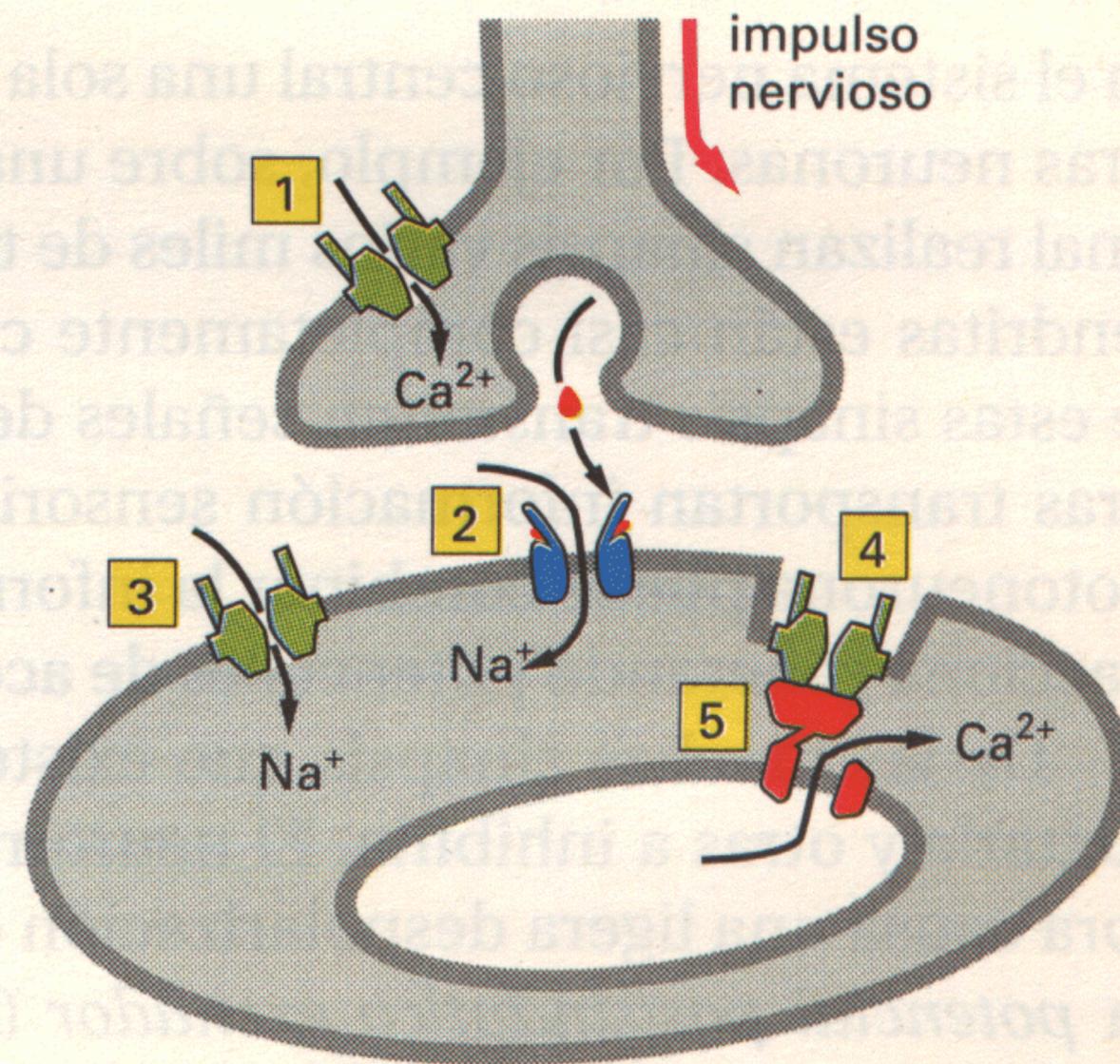
Figura 11-34 Sistema de canales iónicos de una sinapsis neuromuscular. Estos canales iónicos regulados son esenciales para la estimulación de la contracción muscular por un impulso nervioso. Los diferentes canales están numerados siguiendo la secuencia en la que se abren, tal como se describe en el texto.



SINAPSIS NEUROMUSCULAR EN REPOSO



UNIÓN NEUROMUSCULAR ACTIVADA



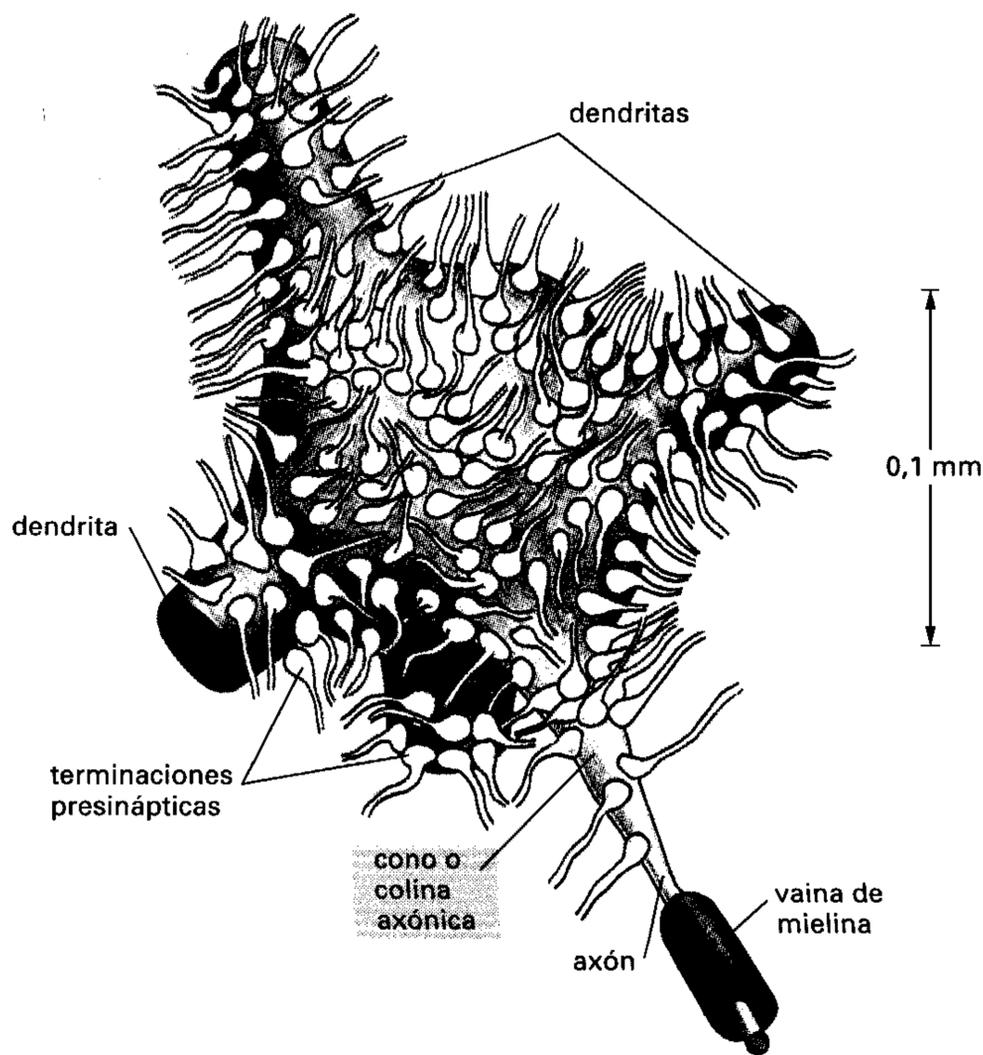


Figura 11-35 Soma celular de una motoneurona de la médula espinal. Sobre el soma celular y las dendritas existen muchos miles de sinapsis formadas por terminaciones nerviosas. Estas sinapsis suministran señales de otras zonas del organismo controlando el desencadenamiento de potenciales de acción a lo largo del axón de esta gran célula.

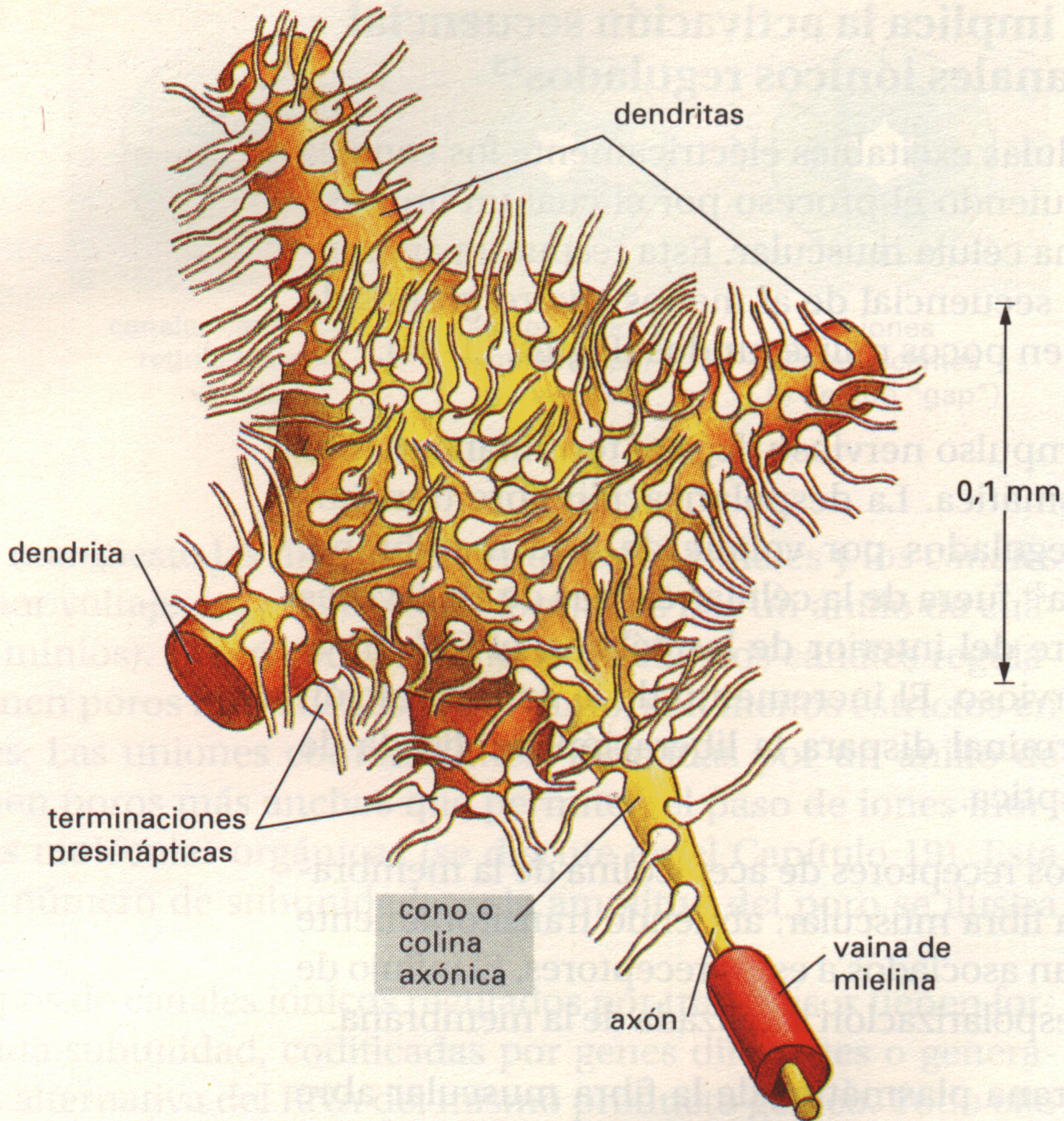
la membrana del retículo sarcoplasmático. Sin embargo, ambas membranas se hallan en íntimo contacto y ambos tipos de canales se hallan juntos formando una estructura especializada (véase Figura 16-92). Por lo tanto, es posible que un cambio de conformación inducido por voltaje del canal de Ca^{2+} de la membrana plasmática abra directamente el canal de liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático a través de un acoplamiento mecánico (se discute en el Capítulo 16).

La activación de la contracción muscular por una neurona motora es compleja, pero para que una neurona integre un elevado número de señales de entrada y las integre generando una señal de salida adecuada se requiere una interacción de canales iónicos incluso más sofisticada, como discutiremos a continuación.

El potencial postsináptico principal de una neurona representa la suma espacial y temporal de muchos pequeños potenciales postsinápticos^{15, 24}

En el sistema nervioso central una sola neurona puede recibir señales de miles de otras neuronas. Por ejemplo, sobre una neurona motora media de la médula espinal realizan sinapsis varios miles de terminales nerviosos; su soma celular y sus dendritas están casi completamente cubiertos por ellas (Figura 11-35). Algunas de estas sinapsis transmiten señales desde el cerebro o desde la médula espinal; otras transportan información sensorial desde los músculos o desde la piel. La motoneurona puede combinar la información que recibe de todas estas fuentes y reacciona generando potenciales de acción o permaneciendo en reposo.

De las muchas sinapsis que existen sobre una neurona, algunas tienden a excitarla y otras a inhibirla. El neurotransmisor liberado en una sinapsis excitadora causa una ligera despolarización de la membrana postsináptica denominada *potencial postsináptico excitador (PSP)*, de postsynaptic potencial) mientras que el neurotransmisor liberado en una sinapsis inhibitoria generalmente causa una pequeña hiperpolarización denominada *PSP inhibitoria*. Como la membrana de las dendritas y del soma celular de la neurona contiene pocos canales de Na^+



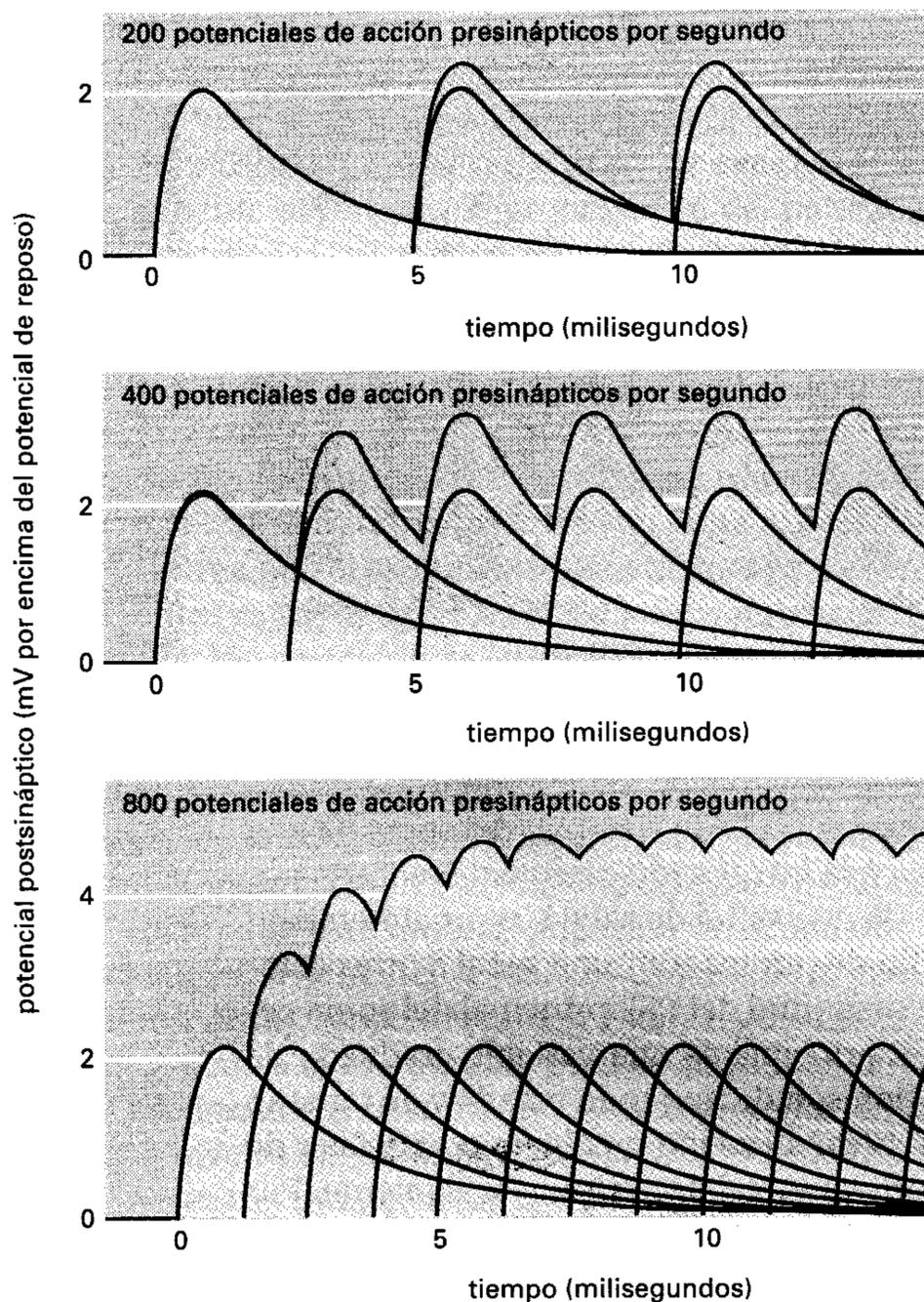


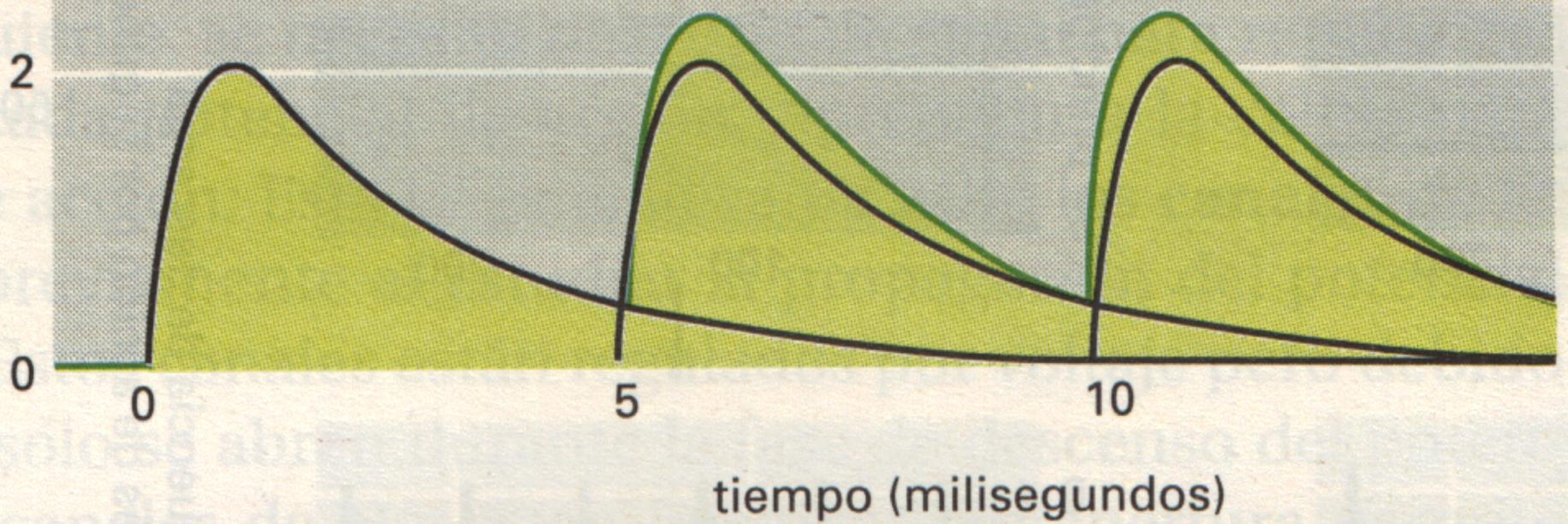
Figura 11-36 Principio de la suma temporal. Cada potencial de acción presináptico que llega a una sinapsis produce un pequeño potencial postsináptico (PSP) (*líneas negras*). Cuando llegan sucesivamente varios potenciales de acción a una misma sinapsis, cada PSP producido se añade a la cola del PSP precedente, generando un PSP combinado principal (*líneas verdes*). Cuanto mayor es la frecuencia de llegada de potenciales de acción, mayor es el tamaño del PSP combinado.

regulados por voltaje, generalmente un solo PSP no es suficiente para desencadenar un potencial de acción. Por el contrario, cada señal aferente queda reflejada fielmente en un PSP de una magnitud graduada, que decrece con la distancia a partir del lugar de la sinapsis. Si las señales llegan simultáneamente a varias sinapsis de la misma región del árbol dendrítico, el PSP total de esta zona será, a grandes rasgos, la suma de los PSP individuales, de forma que los PSP inhibidores contribuyen de manera negativa a esta suma total. Los PSP de las regiones vecinas se propagan pasivamente a otras regiones y convergen en el soma celular. Como el soma celular es relativamente pequeño comparado con el árbol dendrítico, el potencial de membrana del soma celular y de sus alrededores será más o menos uniforme y estará compuesto por los efectos de todas las señales que llegan a la célula, cuya importancia dependerá de la distancia a la que se encuentra la sinapsis del soma celular. Se dice, por lo tanto, que el **potencial postsináptico principal (PSP principal)** del soma celular representa una **suma espacial** de todos los estímulos recibidos. Si predominan las señales excitadoras, se generará una despolarización; si predominan las señales inhibidoras, se producirá una hiperpolarización.

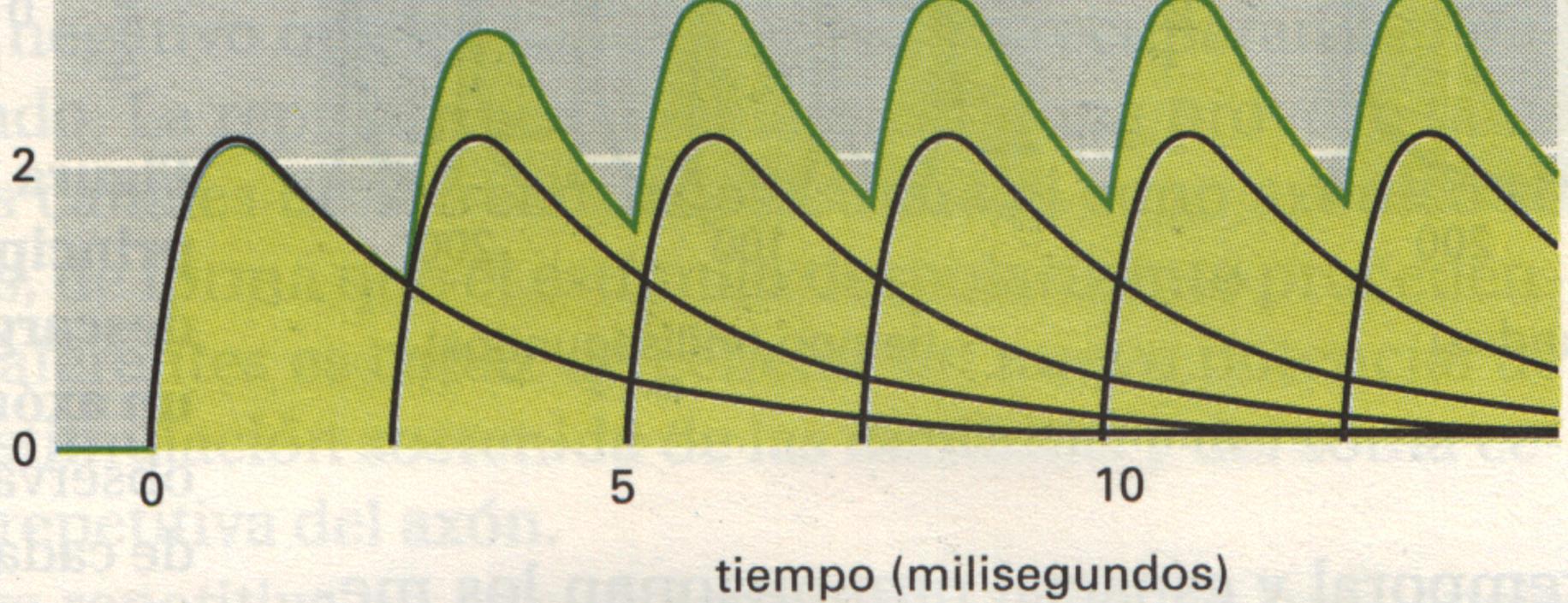
Mientras que la suma espacial combina los efectos de las señales recibidas en diferentes lugares de la membrana, la **suma temporal** combina los efectos de las señales recibidas en momentos distintos. Si un potencial de acción llega a una sinapsis y desencadena la liberación de un neurotransmisor antes de que un PSP haya decaído completamente, el segundo PSP se añade a la cola remanente del primero. Si llegan muchos potenciales de acción siguiendo una sucesión rápida, cada PSP se añade a la cola del PSP precedente construyendo un PSP principal mantenido cuya magnitud refleja la velocidad de disparo de la neurona presináptica (Figura 11-36). Ésta es la esencia de la sumación temporal: traduce la *frecuencia* de las señales de entrada en *magnitud* de un PSP neto.

potencial postsináptico (mV por encima del potencial de reposo)

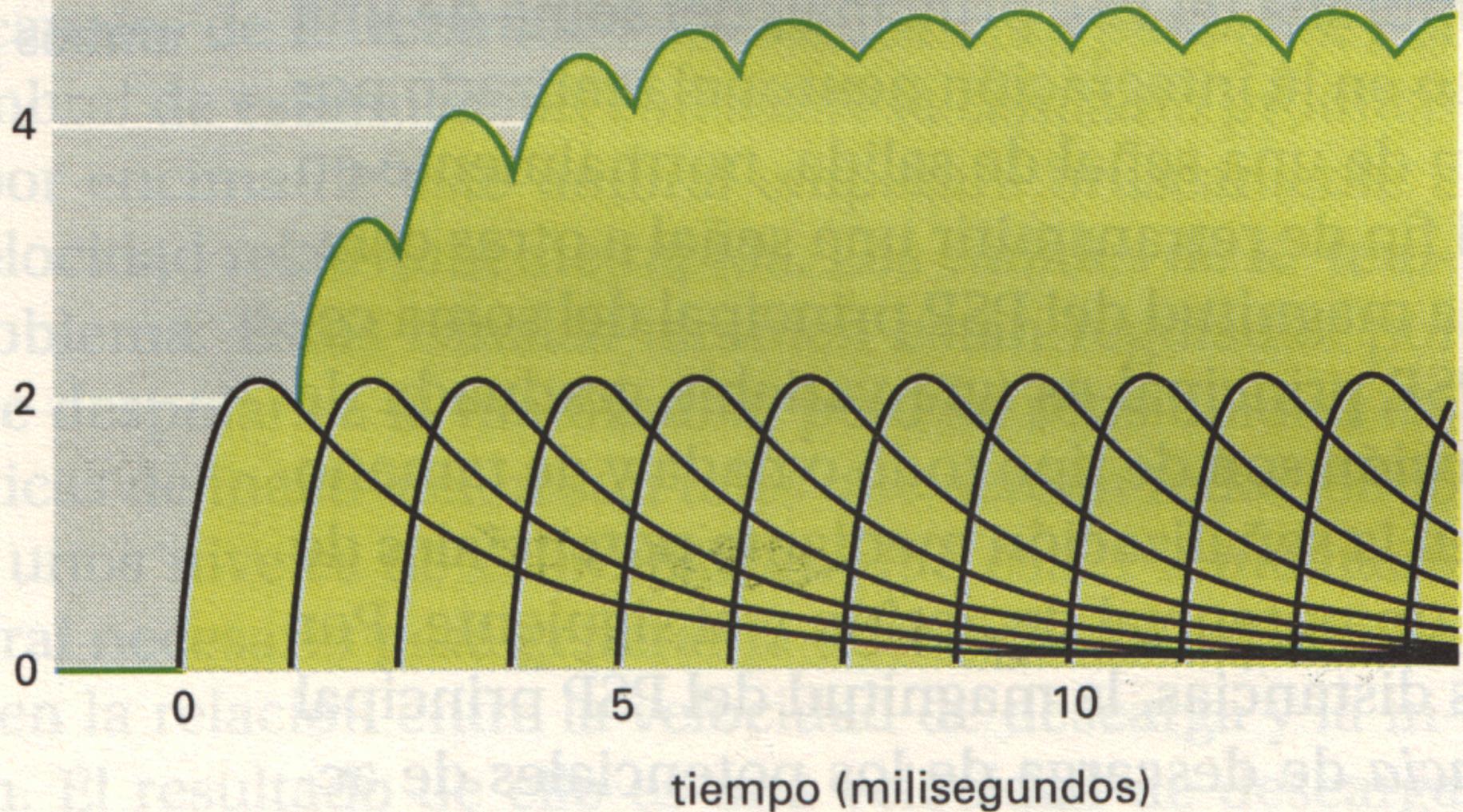
200 potenciales de acción presinápticos por segundo



400 potenciales de acción presinápticos por segundo



800 potenciales de acción presinápticos por segundo



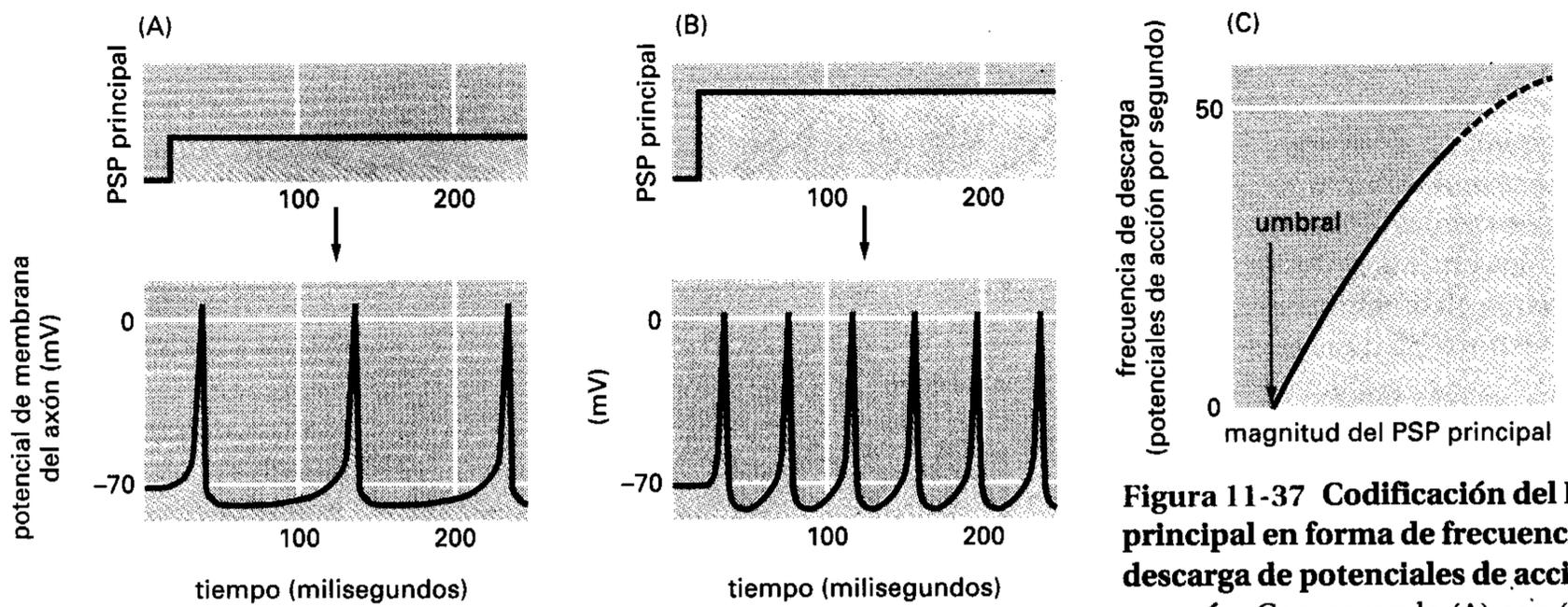


Figura 11-37 Codificación del PSP principal en forma de frecuencia de descarga de potenciales de acción en un axón. Comparando (A) con (B) se observa que la frecuencia de descarga de cada axón aumenta con el incremento del PSP principal; en (C) se resume la relación general entre ambos parámetros.

Conjuntamente, las sumaciones temporal y espacial proporcionan los medios mediante los cuales las velocidades de descarga de muchas neuronas presinápticas controlan el potencial de membrana (el PSP principal) del soma de una sola célula postsináptica. El último paso en la integración neuronal realizado por la célula postsináptica es la generación de una señal de salida, normalmente en forma de potenciales de acción, con el fin de retransmitir una señal a otras células. La señal de salida es un reflejo de la magnitud del PSP principal del soma celular. Sin embargo, mientras que el PSP principal es una variable graduada de manera continua, los potenciales de acción son de tipo todo o nada y de tamaño uniforme. La única variable existente en la señalización mediante potenciales de acción es el intervalo de tiempo entre un potencial de acción y el siguiente. Por lo tanto, para la transmisión a grandes distancias, la magnitud del PSP principal se traduce, o se *codifica*, en la *frecuencia* de descarga de los potenciales de acción (Figura 11-37). Esta codificación se consigue gracias a un grupo especial de canales iónicos regulados que se encuentran presentes a una densidad elevada en la base del axón, en un punto adyacente al soma celular, en una región conocida como el *cono* o *colina axónica* (véase Figura 11-35).

La integración neuronal requiere la combinación de al menos tres tipos de canales de K^+ diferentes^{15, 25}

Hemos visto que la intensidad de la estimulación recibida por una neurona se codifica, en las transmisiones a larga distancia, como frecuencia de potenciales de acción que dispara la neurona: cuanto mayor sea la estimulación mayor es la frecuencia de los potenciales de acción. Los potenciales de acción se inician en el **cono axónico**, única región de cada neurona en la que los canales de Na^+ regulados por voltaje son completos. Sin embargo, para realizar esta función especial de codificación, la membrana del cono axónico contiene como mínimo otros cuatro tipos de canales iónicos –tres de ellos selectivos para el K^+ y uno selectivo para el Ca^{2+} . Las tres variedades de canales de K^+ presentan propiedades diferentes; nos referiremos a ellos con los nombres de *canales de K^+ activados retardados*, *tempranos* y *activados por Ca^{2+}* . Para comprender por qué son necesarios varios tipos de canal, consideremos primero el comportamiento que se observaría si los únicos canales regulados por voltaje que existieran en la célula nerviosa fueran los canales de Na^+ . Por debajo de un cierto umbral de estimulación sináptica, la despolarización de la membrana del cono axónico sería insuficiente para desencadenar un potencial de acción. Al aumentar gradualmente la estimulación, se cruzaría el umbral; los canales de Na^+ se abrirían y se dispararía un potencial de acción. El potencial de acción terminaría de la manera habitual, por inactivación de los canales de Na^+ . Antes de que se pudiera disparar otro potencial de acción, estos canales deberían recuperarse de su inactivación. Pero esto requeriría que el voltaje de la membrana volviera a un valor muy negativo,

(A)

PSP principal

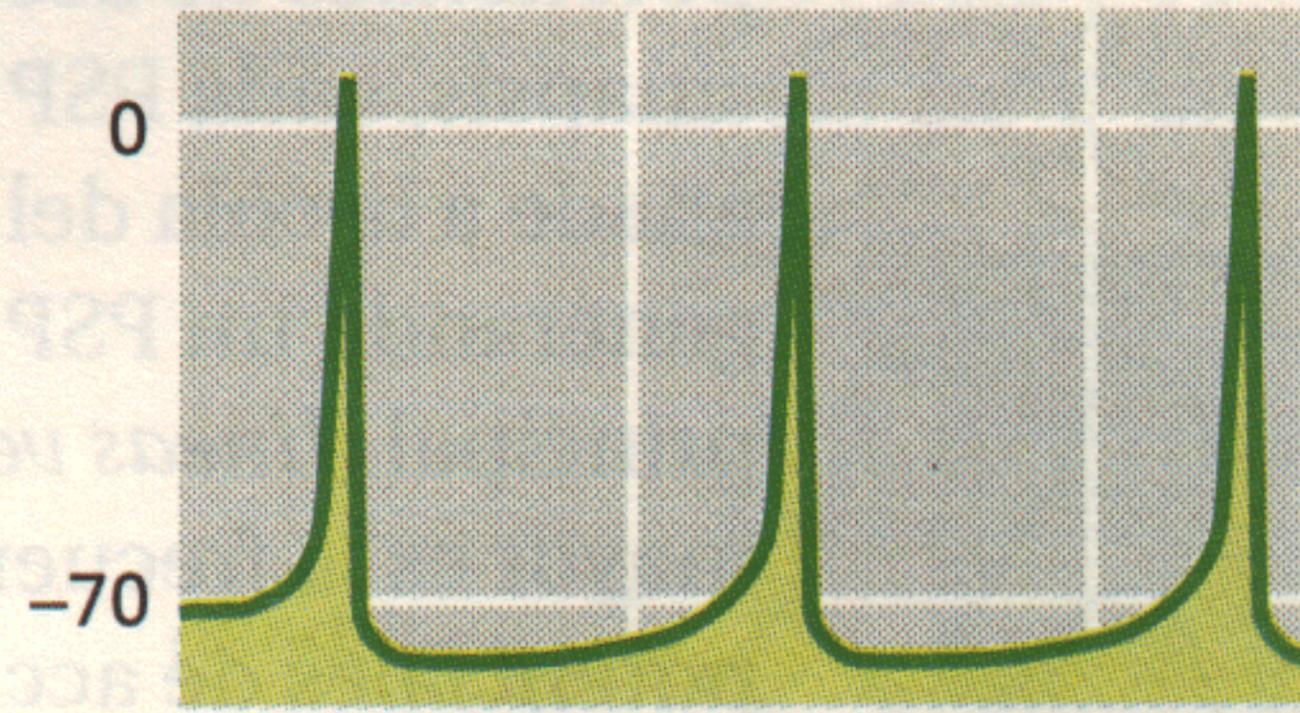


100

200



potencial de membrana del axón (mV)



0

-70

100

200

tiempo (milisegundos)

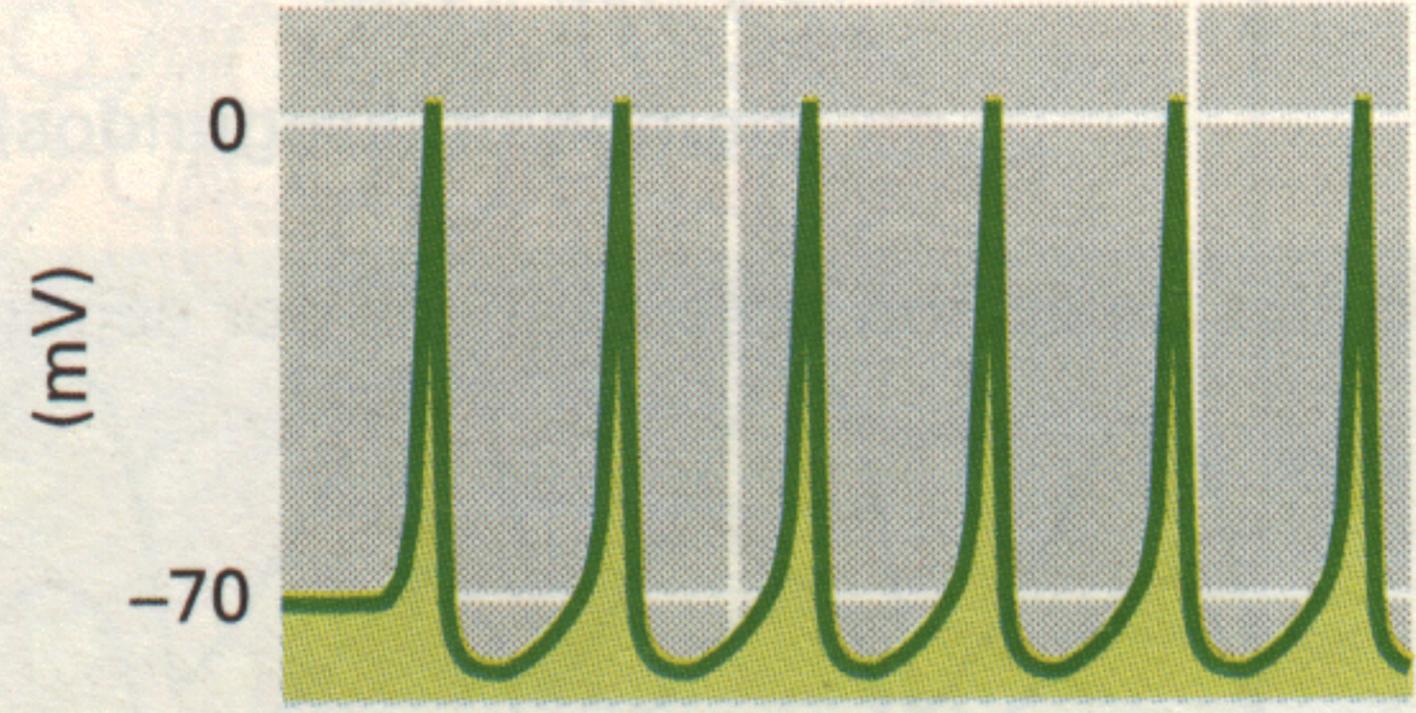
(B)

PSP principal



100

200



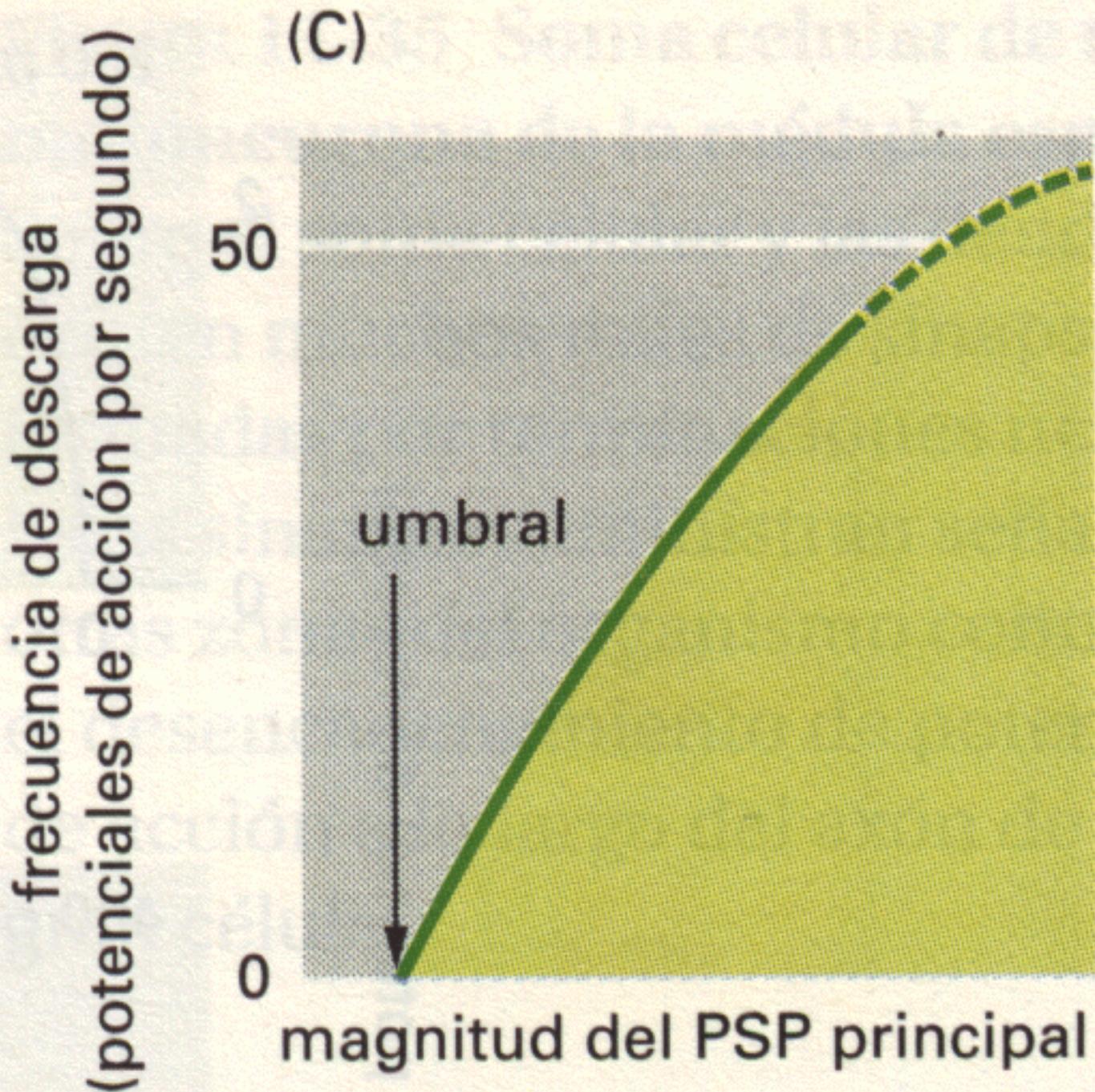
0

-70

100

200

tiempo (milisegundos)



cosa que no se produciría mientras se mantuviera el intenso estímulo despolarizante (del PSP). Por consiguiente, se necesita otro tipo de canal para repolarizar la membrana después de cada potencial de acción y preparar a la célula para que inicie otro potencial de acción. Esta tarea la llevan a cabo los **canales de K⁺ retardados**, que ya vimos previamente al estudiar la propagación del potencial de acción (véase pág. 565). Estos canales están regulados por voltaje pero debido a la lentitud de su cinética sólo se abren durante la fase de descenso del potencial de acción, cuando los canales de Na⁺ están inactivos. Su apertura permite una salida de K⁺ que conduce la membrana de nuevo al potencial de equilibrio del K⁺. Este potencial es tan negativo que los canales de Na⁺ se recuperan rápidamente de su estado inactivado. La repolarización de la membrana provoca también el cierre de los propios canales de K⁺ retardados. Ahora el cono axónico se halla en condiciones basales, de forma que el estímulo despolarizante procedente de las señales sinápticas aferentes es capaz de generar un nuevo potencial de acción. De esta manera la estimulación sostenida de las dendritas y del soma celular conduce a la descarga repetitiva del axón.

Sin embargo, la descarga repetitiva no es suficiente por sí sola. La frecuencia de descarga tiene que reflejar la intensidad de la estimulación y un simple sistema de canales de Na⁺ y de canales de K⁺ retardados es insuficiente para ello. Por debajo de un cierto nivel umbral de estimulación constante la célula no producirá descargas en absoluto; por encima de este umbral empezará bruscamente a producir descargas a una velocidad relativamente rápida. Los **canales de K⁺ tempranos** solucionan este problema. Estos canales también están regulados por voltaje y se abren cuando se despolariza la membrana, pero su sensibilidad específica al voltaje y las cinéticas de inactivación son tales que actúan reduciendo la velocidad de descarga a unos niveles de estimulación que están inmediatamente por encima del umbral necesario para generar la descarga. Así, ayudan a eliminar la discontinuidad en la relación entre la velocidad de descarga y la intensidad de la estimulación. El resultado de ello es una velocidad de descarga que es proporcional a la intensidad del estímulo despolarizante dentro de un margen muy amplio (véase Figura 11-37).

Normalmente, el proceso de codificación se modula posteriormente por los otros dos tipos de canales iónicos del cono axónico que se mencionaron al principio –los *canales de Ca²⁺ regulados por voltaje* y los *canales de K⁺ activados por Ca²⁺*. Estos canales actúan conjuntamente disminuyendo la respuesta de la célula a una estimulación constante invariable –un proceso denominado **adaptación**. Los canales de Ca²⁺ son similares a los canales de Ca²⁺ que intervienen en la liberación del neurotransmisor de los terminales axónicos presinápticos; se abren cuando se dispara un potencial de acción, permitiendo la entrada de Ca²⁺ al interior del axón. El **canal de K⁺ activado por Ca²⁺** es estructural y funcionalmente diferente de cualquier otro tipo de canal descrito anteriormente. Se abre en respuesta a una elevación de la concentración de Ca²⁺ en la cara citoplasmática de la membrana de la célula nerviosa. Supongamos que se aplica un intenso estímulo despolarizante durante un largo período de tiempo, que desencadena un largo tren de potenciales de acción. Cada potencial de acción permite una breve entrada de Ca²⁺ a través de los canales de Ca²⁺ regulados por voltaje, de modo que la concentración intracelular de Ca²⁺ aumenta gradualmente hasta un nivel elevado suficiente para abrir los canales de K⁺ activados por Ca²⁺. El aumento resultante de la permeabilidad de la membrana al K⁺ hace que la membrana sea más difícil de despolarizar, incrementando el retraso entre un potencial de acción y el siguiente. De esta manera, una neurona que es estimulada continuamente durante un período de tiempo prolongado, disminuye gradualmente su capacidad de respuesta al estímulo constante. Este fenómeno, que también puede aparecer por otros mecanismos, permite a una neurona, y de hecho al sistema nervioso en general, reaccionar de forma sensible a un *cambio*, incluso cuando el nivel basal de estimulación es muy elevado. Ésta es una de las estrategias que nos permite, por ejemplo, sentir un contacto sobre el hombro e ignorar, en cambio, la presión constante de nuestros vestidos. En el Capítulo 15 discutimos con más detalle los procesos de la adaptación.

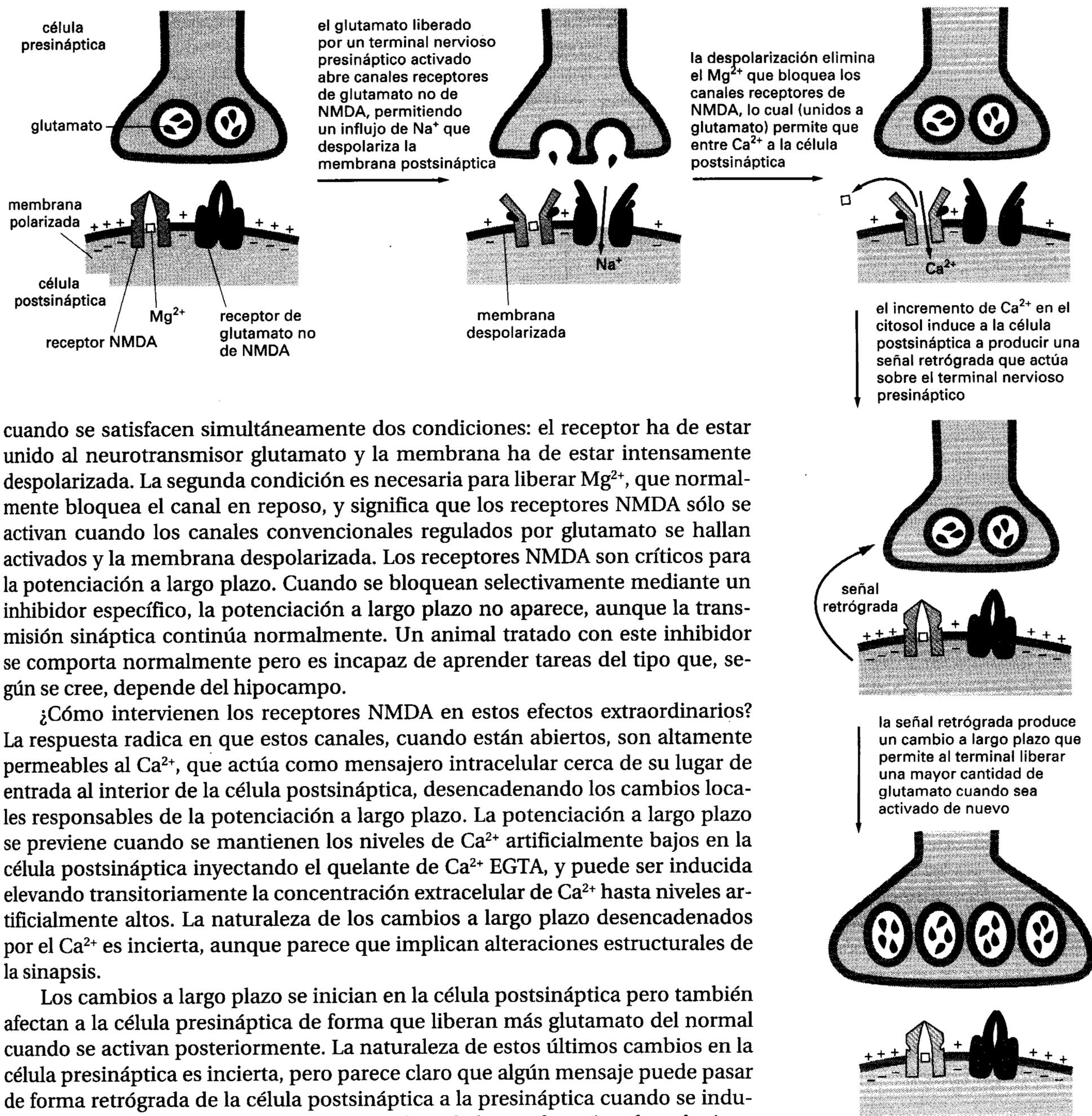
Otras neuronas realizan integraciones diferentes, reaccionando a sus señales de entrada de miles de maneras diferentes, lo cual refleja el diferente surtido de miembros de diferentes familias de canales iónicos que presentan en sus membranas. Por ejemplo, en el sistema nervioso de los vertebrados existen al menos cinco tipos conocidos de canales de Ca^{2+} regulados por voltaje. La multiplicidad de genes permite generar una multitud de diferentes tipos de neuronas cuyo comportamiento eléctrico corresponda perfectamente a la tarea particular que ejecutan.

Una de las propiedades cruciales de los sistemas nerviosos es la capacidad de aprender y de recordar, lo cual parece depender fundamentalmente de cambios a largo plazo de determinadas sinapsis. Concluimos este capítulo considerando un remarcable tipo de canal iónico que participa de forma especial en algunas formas de aprendizaje y memoria. Se halla localizado en muchas sinapsis del sistema nervioso central, donde está regulado tanto por voltaje como por el glutamato, neurotransmisor excitador. También es el lugar de acción de la droga psicoactiva fenciclidina, o polvo de ángel.

La potenciación a largo plazo en el hipocampo de los mamíferos depende de la entrada de Ca^{2+} a través de canales receptores de NMDA²⁶

Prácticamente todos los animales pueden aprender, pero parece que los mamíferos pueden hacerlo excepcionalmente bien (o eso es lo que a nosotros nos gusta creer). En el cerebro de los mamíferos, el *hipocampo*, una región del córtex cerebral, juega un papel especial en el aprendizaje: cuando es destruido en ambos lados del cerebro se pierde notablemente la capacidad de generar nuevos recuerdos, aunque los que se establecieron previamente hace tiempo, permanecen. De manera correspondiente, algunas sinapsis del hipocampo presentan dramáticas alteraciones funcionales cuando se estimulan repetidamente. Potenciales de acción ocasionales y aislados de las células presinápticas no dejan vestigios duraderos, pero un corto estallido de descargas repetitivas provoca la **potenciación a largo plazo (LTP, de Long-Term Potentiation)**, de manera que los siguientes potenciales de acción aislados de las células presinápticas provocan una respuesta enormemente aumentada en las células postsinápticas. El efecto dura horas, días o semanas, dependiendo del número e intensidad de los trenes de descargas repetitivas. Solamente presentan este efecto de potenciación las sinapsis que fueron activadas; las sinapsis de la misma célula postsináptica que permanecieron en reposo, no están afectadas. Sin embargo, si en el instante en el que la célula está recibiendo un tren de estimulación repetitiva a través de un conjunto de sinapsis, un potencial de acción alcanza *otra* sinapsis de su superficie, esta sinapsis también sufrirá una potenciación a largo plazo, incluso aunque un potencial de acción aislado que alcanzara esta misma sinapsis en otro momento no dejara tales huellas.

La regla fundamental en el hipocampo parece ser que *la potenciación a largo plazo ocurre siempre que una célula presináptica descarga (una o más veces) en el instante en que la membrana postsináptica se encuentra intensamente despolarizada* (tanto por descargas repetitivas recientes sobre la misma célula postsináptica como por otros motivos). Existen claras evidencias de que esta regla refleja el comportamiento de una clase particular de canales iónicos presentes en la membrana postsináptica. El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central y en el hipocampo, como en otros lugares, la mayoría de las corrientes despolarizantes responsables de los PSP excitadores son debidas a canales iónicos regulados por ligando que actúan de una forma estándar. Sin embargo, la corriente tiene, además, un segundo componente mucho más intrigante, mediado por una subclase distinta de canales iónicos regulados por glutamato conocidos como **receptores NMDA** debido a que se activan selectivamente por un análogo artificial del glutamato, el N-metil-D-aspartato. Los canales receptores NMDA están regulados de forma doble, abriéndose sólo



cuando se satisfacen simultáneamente dos condiciones: el receptor ha de estar unido al neurotransmisor glutamato y la membrana ha de estar intensamente despolarizada. La segunda condición es necesaria para liberar Mg²⁺, que normalmente bloquea el canal en reposo, y significa que los receptores NMDA sólo se activan cuando los canales convencionales regulados por glutamato se hallan activados y la membrana despolarizada. Los receptores NMDA son críticos para la potenciación a largo plazo. Cuando se bloquean selectivamente mediante un inhibidor específico, la potenciación a largo plazo no aparece, aunque la transmisión sináptica continúa normalmente. Un animal tratado con este inhibidor se comporta normalmente pero es incapaz de aprender tareas del tipo que, según se cree, depende del hipocampo.

¿Cómo intervienen los receptores NMDA en estos efectos extraordinarios? La respuesta radica en que estos canales, cuando están abiertos, son altamente permeables al Ca²⁺, que actúa como mensajero intracelular cerca de su lugar de entrada al interior de la célula postsináptica, desencadenando los cambios locales responsables de la potenciación a largo plazo. La potenciación a largo plazo se previene cuando se mantienen los niveles de Ca²⁺ artificialmente bajos en la célula postsináptica inyectando el quelante de Ca²⁺ EGTA, y puede ser inducida elevando transitoriamente la concentración extracelular de Ca²⁺ hasta niveles artificialmente altos. La naturaleza de los cambios a largo plazo desencadenados por el Ca²⁺ es incierta, aunque parece que implican alteraciones estructurales de la sinapsis.

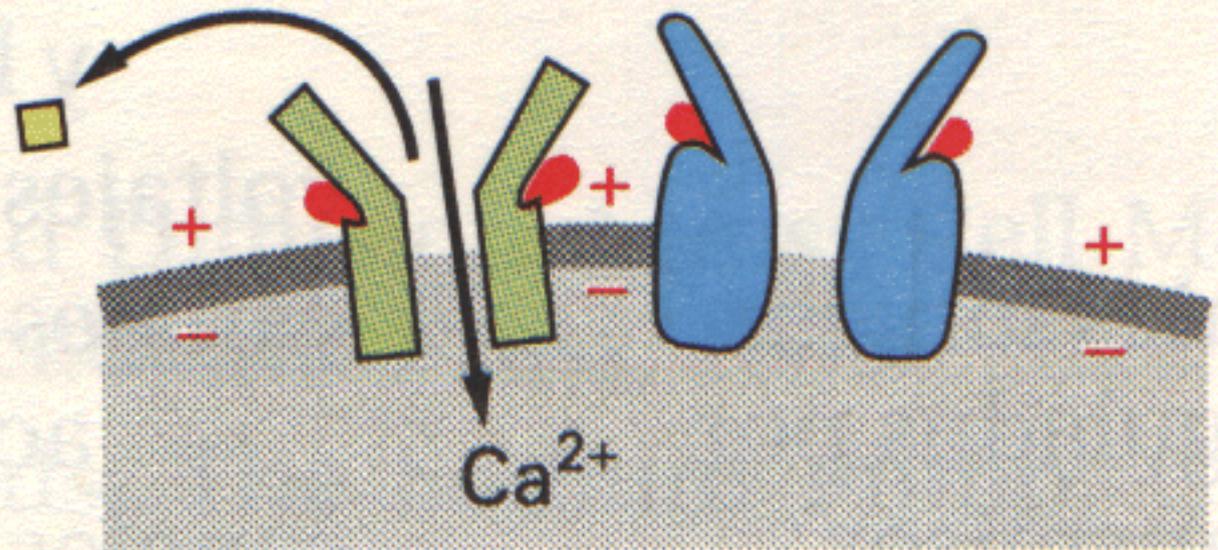
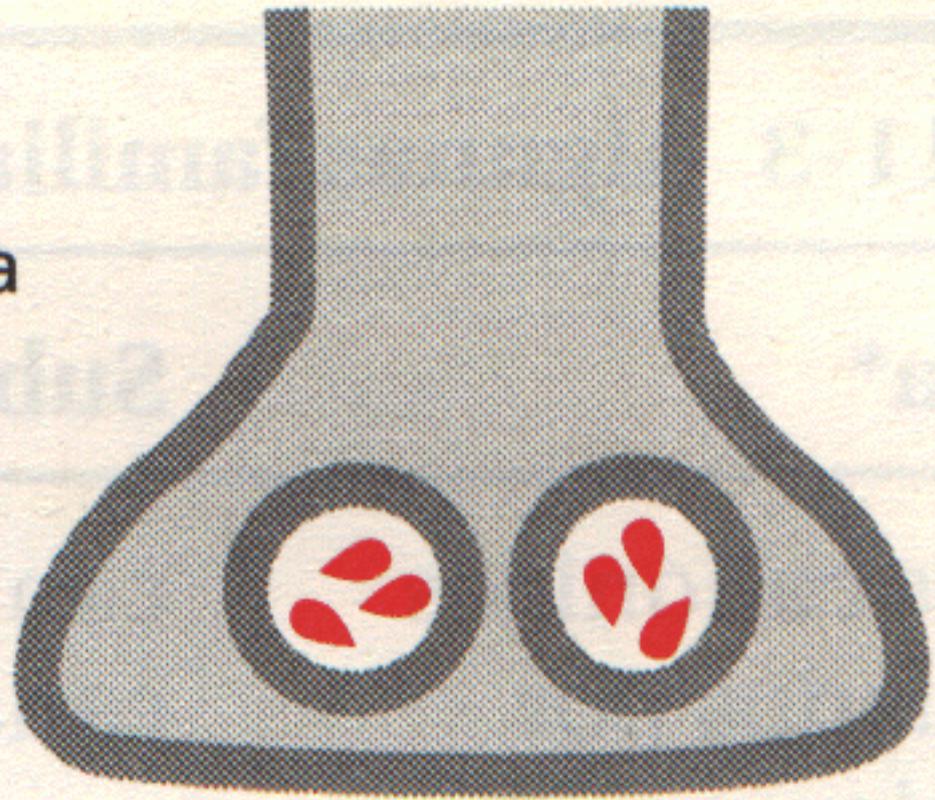
Los cambios a largo plazo se inician en la célula postsináptica pero también afectan a la célula presináptica de forma que liberan más glutamato del normal cuando se activan posteriormente. La naturaleza de estos últimos cambios en la célula presináptica es incierta, pero parece claro que algún mensaje puede pasar de forma retrógrada de la célula postsináptica a la presináptica cuando se induce la potenciación a largo plazo. La naturaleza de la señal retrógrada todavía es desconocida, aunque como candidatos se han sugerido el óxido nítrico y el monóxido de carbono. En la Figura 11-38 se presenta un modelo tentativo de algunas de las etapas de la inducción de la potenciación a largo plazo. Además de los cambios a largo plazo de las células presinápticas, ilustrados en la Figura 11-38, también se producen cambios a largo plazo en la célula postsináptica que contribuyen a la potenciación a largo plazo.

Existen evidencias de que los receptores NMDA juegan un papel importante en el fenómeno relacionado con el aprendizaje, no sólo en el hipocampo sino también en otras zonas del cerebro. En el Capítulo 21 veremos, además, que los receptores NMDA juegan un papel crucial en el ajuste del patrón anatómico de conexiones sinápticas en base a la experiencia durante el desarrollo del sistema nervioso.

Así, los neurotransmisores liberados en las sinapsis, además de provocar señales eléctricas transitorias, también pueden alterar las concentraciones de me-

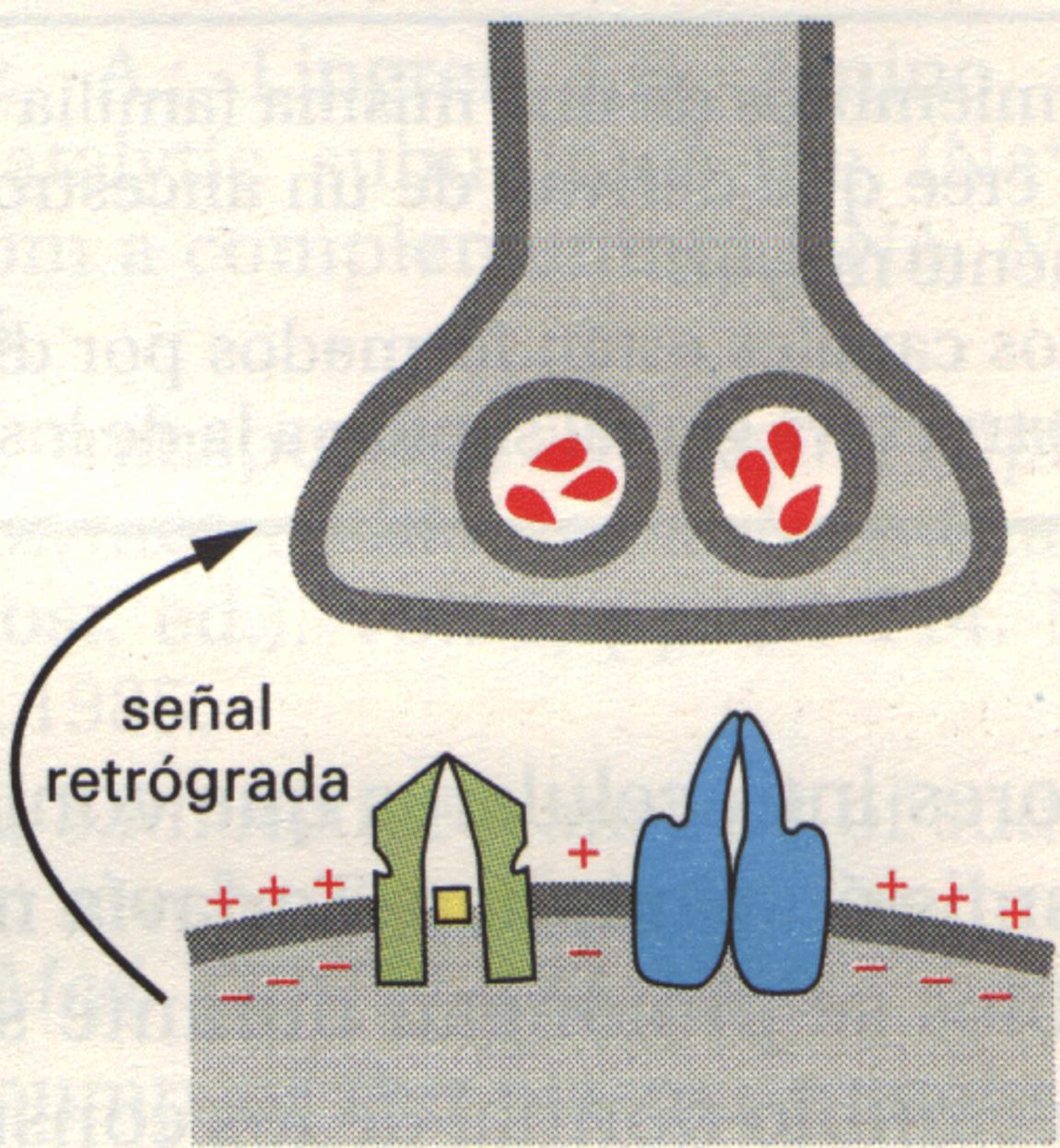
Figura 11-38 Eventos de señalización en la potenciación a largo plazo.

la despolarización elimina el Mg^{2+} que bloquea los canales receptores de NMDA, lo cual (unidos a glutamato) permite que entre Ca^{2+} a la célula postsináptica



el incremento de Ca^{2+} en el citosol induce a la célula postsináptica a producir una señal retrógrada que actúa sobre el terminal nervioso presináptico





señal retrógrada

la señal retrógrada produce un cambio a largo plazo que permite al terminal liberar una mayor cantidad de glutamato cuando sea activado de nuevo

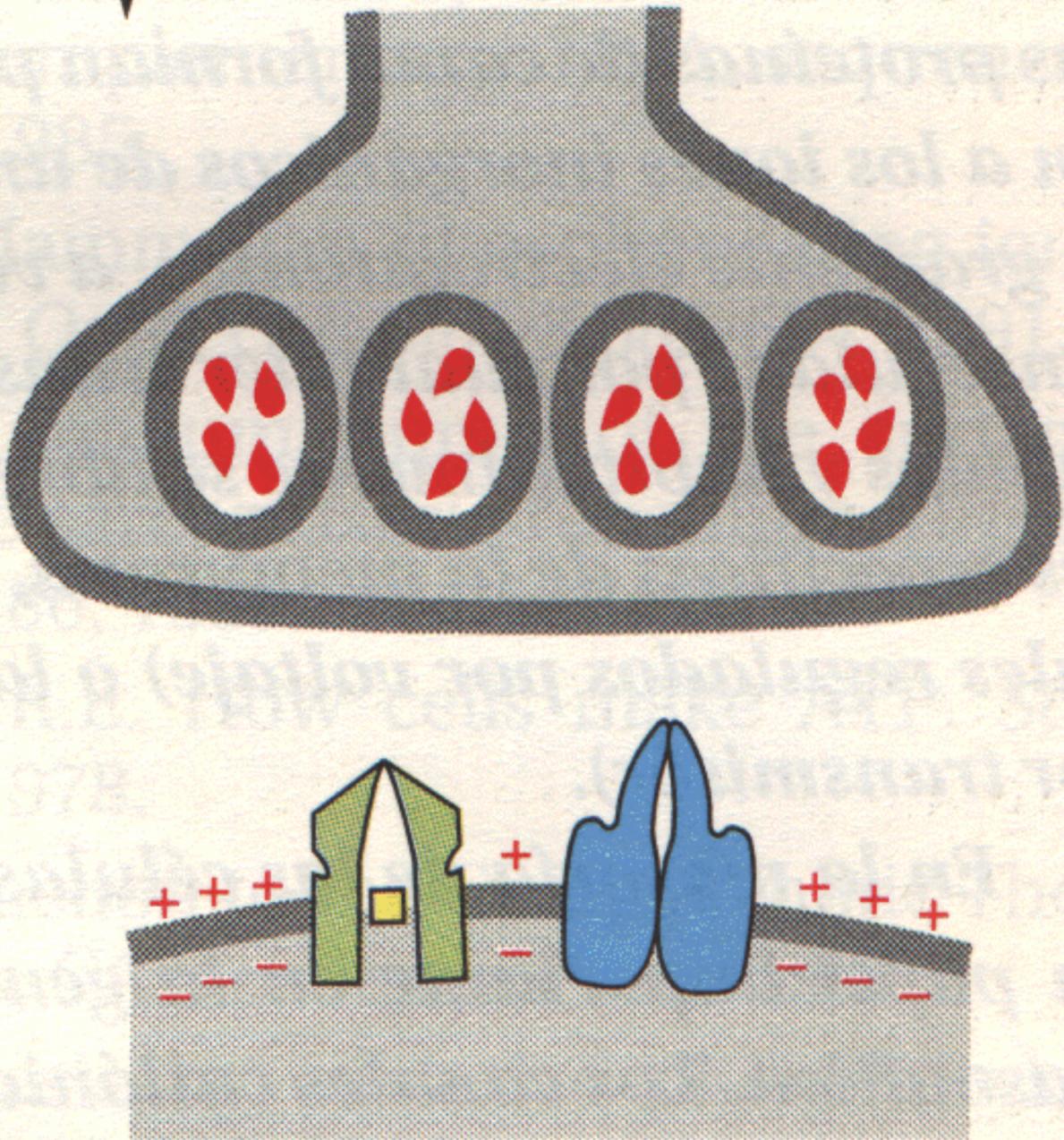
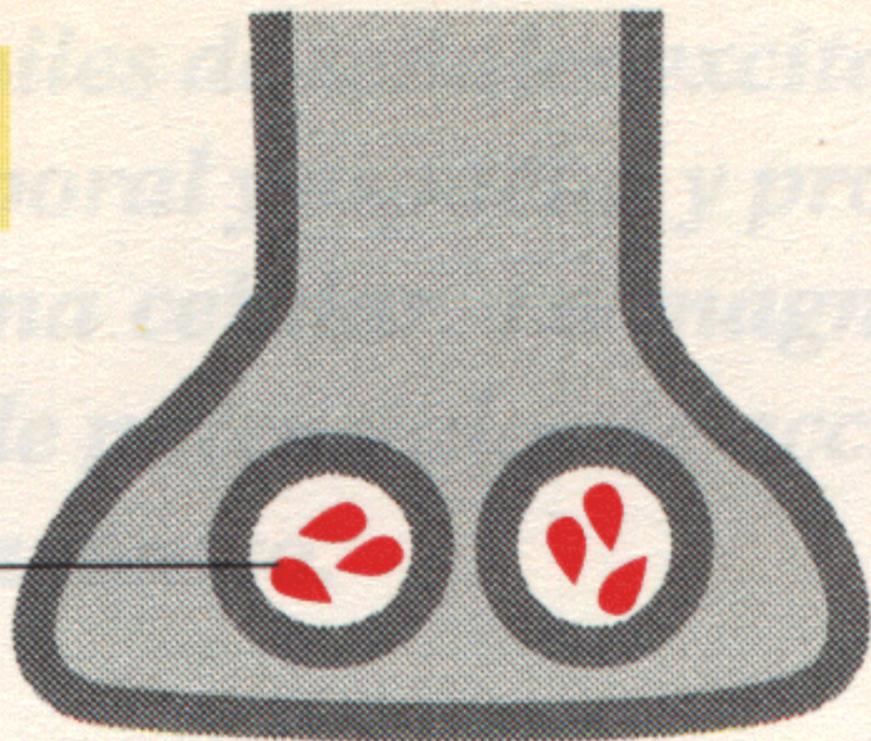


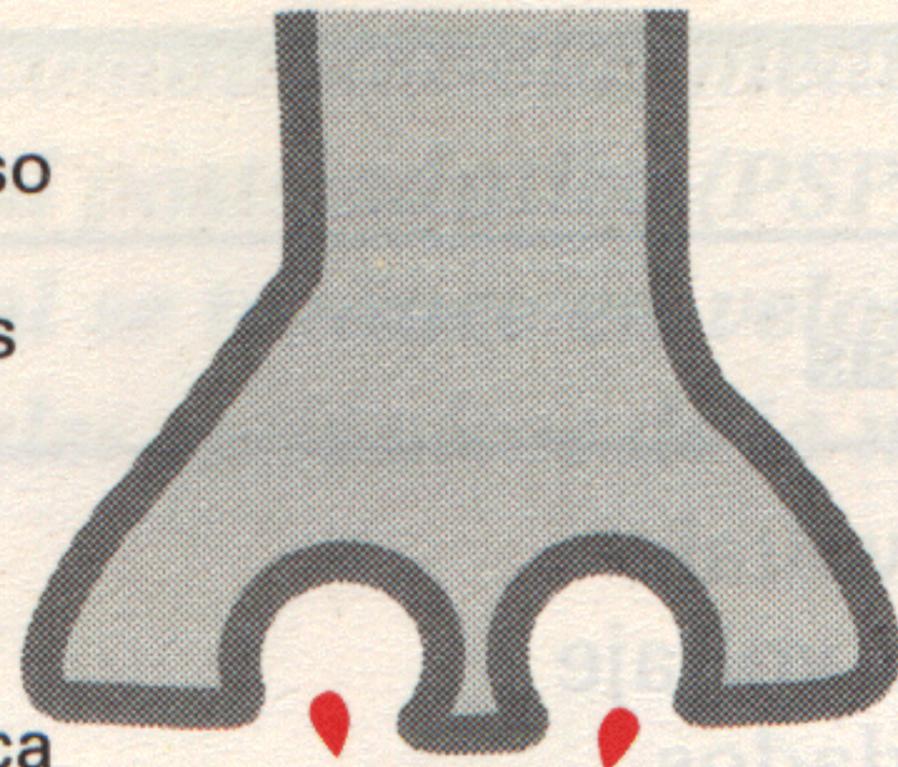
Figura 11-38 Eventos de señalización en la potenciación a largo plazo.

célula presináptica

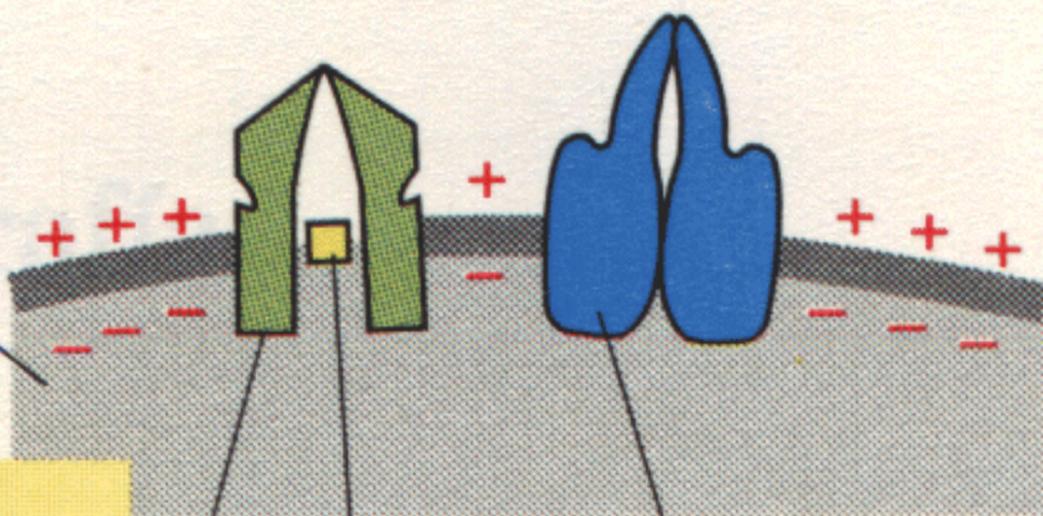
glutamato



el glutamato liberado por un terminal nervioso presináptico activado abre canales receptores de glutamato no de NMDA, permitiendo un influjo de Na^+ que despolariza la membrana postsináptica



membrana polarizada

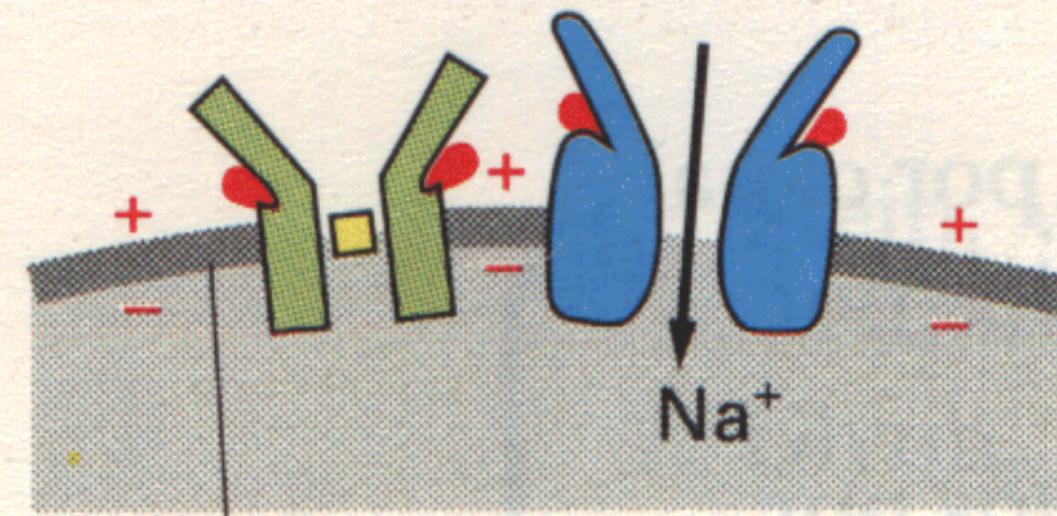


célula postsináptica

receptor NMDA

Mg^{2+}

receptor de glutamato no de NMDA



membrana despolarizada

Tabla 11-3 Algunas familias de canales iónicos

Familia*	Subfamilias representativas	
Canales catiónicos regulados por voltaje	canal de Na ⁺ regulado por voltaje canales de K ⁺ regulados por voltaje (incluyendo los retardados y los tempranos)	
Canales iónicos regulados por transmisor	voltajes de Ca ²⁺ regulados por canal	} excitadores
	canales catiónicos regulados por acetilcolina	
	canales catiónicos regulados por serotonina	
	canales catiónicos regulados por glutamato**	
	canales de Cl ⁻ regulados por GABA	} inhibidores
	canales de Cl ⁻ regulados por glicina	

* Los miembros de una misma familia son similares en secuencia de aminoácidos y, por lo tanto, se cree que derivan de un ancestro común; dentro de las subfamilias, el parecido es habitualmente mayor.

** Estos canales están formados por distintas familias de subunidades pero se cree que tienen una estructura global similar a la de los otros canales iónicos regulados por transmisor.

diadores intracelulares que conllevan cambios a largo plazo en la eficacia de la transmisión sináptica. Todavía no conocemos, sin embargo, de qué forma estos cambios se prolongan durante semanas, meses o durante toda la vida, a pesar del recambio normal de los constituyentes de la célula.

En la Tabla 11-3 se resumen algunas de las familias de canales de las que hemos tratado en este capítulo.

Resumen

Las proteínas de canal forman poros acuosos a través de la bicapa lipídica y permiten a los iones inorgánicos de un tamaño y carga adecuados atravesarla a favor de su gradiente electroquímico, a velocidades que son unas 1000 veces superiores a las conseguidas por cualquier transportador conocido. Estos canales iónicos están regulados y habitualmente se abren de forma transitoria en respuesta a perturbaciones específicas de la membrana, como un cambio en el potencial de membrana (canales regulados por voltaje) o la unión de un neurotransmisor (canales regulados por transmisor).

En la mayoría de las células de animales, el canal retardado de K⁺ desempeña un papel importante en la generación del potencial de reposo en la membrana plasmática. Los canales catiónicos regulados por voltaje son responsables de la generación de los potenciales de acción auto-amplificantes en las células excitables eléctricamente, como las neuronas y fibras musculares esqueléticas.

Los canales iónicos regulados por transmisor convierten señales químicas en eléctricas en las sinapsis químicas: los neurotransmisores excitadores, como la acetilcolina y el glutamato, abren de forma transitoria canales catiónicos regulados por transmisor, despolarizando así la membrana postsináptica hacia el potencial de disparo, para iniciar un potencial de acción; los neurotransmisores inhibidores, como el GABA y la glicina, abren canales de Cl⁻ regulados por transmisor, suprimen la generación del potencial de acción al hacer la membrana postsináptica más polarizada. Se cree que una subclase especial de canales iónicos regulados por glutamato, denominados canales receptores NMDA, son muy permeables al Ca²⁺, el cual puede desencadenar cambios a largo plazo en las sinapsis, los cuales al parecer participan en algunas formas de aprendizaje y de memoria.

Los canales iónicos actúan juntos de formas muy complejas, controlando el comportamiento de las células eléctricamente excitables. Una neurona típica, por ejem-

plo, recibe miles de señales excitadoras e inhibitoras, combinándolas mediante su-
mación temporal y espacial y produciendo un potencial postsináptico (PSP) princi-
pal en el soma celular. La magnitud del PSP principal se traduce en velocidad de
generación de potenciales de acción por medio de canales catiónicos de la membra-
na del cono axónico.

Bibliografía

Citas

- Hille, B. Ionic Channels of Excitable Membranes, 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer, 1992.
Martonosi, A.N., ed. The Enzymes of Biological Membranes, Vol. 3, Membrane Transport, 2nd ed. New York: Plenum Press, 1985.
Stein, W.D. Channels, Carriers and Pumps: An Introduction to Membrane Transport. San Diego, CA: Academic Press, 1990.
Tosteson, D.C., ed. Membrane Transport: People and Ideas. Bethesda, MD: American Physiology Society, 1989.
- Anderson, O.S. Permeability properties of unmodified lipid bilayer membranes. In Membrane Transport in Biology (G. Giebisch, D.C. Tosteson, H.H. Ussing, eds.), Vol. 1, pp. 369-446. New York: Springer-Verlag, 1978.
Finkelstein, A. Water movement through membrane channels. *Curr. Top. Membr. Transp.* 21:295-308, 1984.
Walter, A.; Gutknecht, J. Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes. *J. Membr. Biol.* 90:207-217, 1986.
- Stein, W.D., ed. Ion Pumps: Structure, Function and Regulation. New York: Liss, 1988.
Tanford, C. Mechanism of free energy coupling in active transport. *Annu. Rev. Biochem.* 52:379-409, 1983.
- Griffith, J.K., et al. Membrane transport proteins: implications of sequence comparisons. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4:684-695, 1992.
Kaback, H.R. Molecular biology of active transport: from membrane to molecule to mechanism. *Harvey Lect.* 83:77-105, 1989.
Lodish, H.F. Anion-exchange and glucose transport proteins: structure, function and distribution. *Harvey Lect.* 82:19-46, 1988.
Numa, S. A molecular view of neurotransmitter receptors and ionic channels. *Harvey Lect.* 83:121-165, 1989.
Seeburg, P.H. The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels. *Trends Neurosci.* 16:359-365, 1993.
- Dobler, M. Ionophores and Their Structures. New York: Wiley-Interscience, 1981.
Pressman, B.C. Biological applications of ionophores. *Annu. Rev. Biochem.* 45:501-530, 1976.
Wallace, B.A. Gramicidin channels and pores. *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 19:127-157, 1990.
- Henderson, P.J.F. The 12-transmembrane helix transporters. *Curr. Opin. Cell Biol.* 5:708-721, 1993.
Läuger, P. Electrogenic Ion Pumps. Sunderland, MA: Sinauer, 1991.
Stein, W.D. Transport and Diffusion Across Cell Membranes. Orlando, FL: Academic Press, 1986.
- Glynn, I.M.; Ellory, C., eds. The Sodium Pump. Cambridge, UK: Company of Biologists, 1985.
Horisberger, J.D.; Lemas, V.; Kraehenbühl, J.-P.; Rossier, B.C. Structure-function relationship of Na,K-ATPase. *Annu. Rev. Physiol.* 53:565-584, 1991.
Mercer, R.W. Structure of the Na,K-ATPase. *Int. Rev. Cytol.* 137C:139-168, 1993.
Shull, G.E.; Schwartz, A.; Lingrel, J.B. Amino acid sequence of the catalytic subunit of the (Na⁺-K⁺) ATPase deduced from a complementary DNA. *Nature* 316:619-695, 1985.
- Glynn, I.M. The Na⁺-K⁺ transporting adenosine triphosphatase. In The Enzymes of Biological Membranes, 2nd ed. (A. Martonosi, ed.), Vol. 3, pp. 34-114. New York: Plenum Press, 1985.
Sweadner, K.J.; Goldin, S.M. Active transport of sodium and potassium ions: mechanism, function and regulation. *New Engl. J. Med.* 320:777-783, 1980.
- Carafoli, E. Calcium pump of the plasma membrane. *Physiol. Rev.* 71:129-153, 1991.
Jencks, W.P. How does a calcium pump pump calcium? *J. Biol. Chem.* 264:18855-18858, 1989.
MacLennan, D.H.; Brandl, C.J.; Korczak, B.; Green, N.M. Amino acid sequence of a Ca²⁺, Mg²⁺-dependent ATPase from rabbit muscle sarcoplasmic reticulum, deduced from its complementary DNA sequence. *Nature* 316:696-700, 1985.
Sachs, G.; Munson, K. Mammalian phosphorylating ion-motive ATPases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3:685-694, 1991.
Schatzmann, H.J. The calcium pump of the surface membrane and of the sarcoplasmic reticulum. *Annu. Rev. Physiol.* 51:473-486, 1989.
- Hinkle, P.C.; McCarty, R.E. How cells make ATP. *Sci. Am.* 238(3):104-123, 1978.
Nicholls, D.G. An Introduction to the Chemiosmotic Theory, 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press, 1987.
Senior, A.E. ATP synthesis by oxidative phosphorylation. *Physiol. Rev.* 68:177-231, 1988.
- Kinne, R.; Hannafin, J.A.; König, B. Role of the NaCl-KCl cotransport system in active chloride absorption and secretion. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 456:198-206, 1985.
Scott, D.M. Sodium cotransport systems: cellular, molecular and regulatory aspects. *Bioessays* 7:71-78, 1987.
Semenza, G.; Kessler, M.; Schmidt, U.; Venter, J.C.; Fraser, C.M. The small-intestinal sodium glucose cotransporter(s). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 456:83-96, 1985.
Wright, E.M.; Hager, K.M.; Turk, E. Sodium cotransport proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4:696-702, 1992.
Wright, J.K.; Seckler, R.; Overath, P. Molecular aspects of sugar:ion transport. *Annu. Rev. Biochem.* 55:225-248, 1986.
- Boron, W.F. Intracellular pH regulation in epithelial cells. *Annu. Rev. Physiol.* 48:377-388, 1986.

- Boron, W.F. Intracellular pH Regulation. In Membrane Transport Processes in Organized Systems (T.E. Andreoli, J.F. Hoffman, D.D. Fanestil, S.G. Schultz, eds.), pp. 39-51. New York: Plenum Press, 1987.
- Chesler, M.; Kaila, K. Modulation of pH by neuronal activity. *Trends Neurosci.* 15:396-402, 1992.
- Rudnick, G. ATP-driven H⁺-pumping into intracellular organelles. *Annu. Rev. Physiol.* 48:403-413, 1986.
- Thomas, R.C. Cell growth factors bicarbonate and pH_i response. *Nature* 337:601, 1989.
13. Almers, W.; Stirling, C. Distribution of transport proteins over animal cell membranes. *J. Membr. Biol.* 77:169-186, 1984.
- Handler, J.S. Overview of epithelial polarity. *Annu. Rev. Physiol.* 51:729-740, 1989.
14. Ames, G.F.L. Bacterial periplasmic transport systems: structure, mechanism and evolution. *Annu. Rev. Biochem.* 55:397-425, 1986.
- Gottesman, M.M.; Pastan, I. Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Annu. Rev. Biochem.* 62:385-427, 1993.
- Higgins, C.F. ABC transporters: from microorganisms to man. *Annu. Rev. Cell Biol.* 8:67-113, 1992.
- Kartner, N.; Ling, V. Multidrug resistance in cancer. *Sci. Am.* 261(3):44-51, 1989.
- Welsh, M.J.; Anderson, M.P.; Rich, D.P.; et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: a chloride channel with novel regulation. *Neuron* 8:821-829, 1992.
15. Hall, Z.W. An Introduction to Molecular Neurobiology, pp. 33-178. Sunderland, MA: Sinauer, 1992.
- Hille, B. Ionic Channels of Excitable Membranes, 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer, 1992.
- Jessell, T.M.; Kandel, E.R. Synaptic transmission: a bidirectional and self-modifiable form of cell-cell communication. *Cell* 72 (Suppl. 1):1-30, 1993.
- Kandel, E.R.; Schwartz, J.H.; Jessell, T.M. Principle of Neural Science, 3rd ed., pp. 34-224. New York: Elsevier, 1991.
- Nicholls, J.G.; Martin, A.R.; Wallace, B.G. From Neuron to Brain, 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer, 1992.
- Unwin, N. The structure of ion channels in membranes of excitable cells. *Neuron* 3:665-676, 1989.
16. Baker, P.F.; Hodgkin, A.L.; Shaw, T.L. The effects of changes in internal ionic concentration on the electrical properties of perfused giant axons. *J. Physiol.* 164:355-374, 1962.
- Hodgkin, A.L.; Keynes, R.D. Active transport of cations in giant axons from *Sepia* and *Loligo*. *J. Physiol.* 128:26-60, 1955.
17. Hodgkin, A.L.; Huxley, A.F. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116:449-472, 1952.
- Hodgkin, A.L.; Huxley, A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117:500-544, 1952.
- Katz, B. Nerve, Muscle and Synapse. New York: McGraw-Hill, 1966.
18. Huxley, A.F.; Stämpfli, R. Evidence for saltatory conduction in peripheral myelinated nerve fibres. *J. Physiol.* 108:315-339, 1949.
- Morell, P., ed. Myelin, 2nd ed. New York: Plenum Press, 1984.
- Morell, P.; Norton, W.T. Myelin. *Sci. Am.* 242(5):88-118, 1980.
19. Neher, E.; Sakmann, B. The patch clamp technique. *Sci. Am.* 266(3):28-35, 1992.
- Sakmann, B. Elementary steps in synaptic transmission revealed by currents through single ion channels. *Science* 256:503-512, 1992.
20. Armstrong, C.M. Voltage-dependent ion channels and their gating. *Physiol. Rev.* (Suppl. on Forty Years of Membrane Current in Nerve) 72:S5-S13, 1992.
- Catterall, W.A. Cellular and molecular biology of voltage-gated sodium channels. *Physiol. Rev.* (Suppl. on Forty Years of Membrane Current in Nerve) 72:S15-S48, 1992.
- Hoshi, T.; Zagotta, W.N.; Aldrich, R.W. Biophysical and molecular mechanisms of *Shaker* potassium channel inactivation. *Science* 250:533-538, 1990.
- Jan, L.Y.; Jan, Y.N. Structural elements involved in specific K⁺ channel functions. *Annu. Rev. Physiol.* 54:537-555, 1992.
- Perney, T.M.; Kaczmarek, L.K. The molecular biology of K⁺ channels. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3:663-670, 1991.
21. Hökfelt, T. Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron* 7:867-879, 1991.
22. Changeux, J.-P.; Galzi, J.-L.; Devillers-Thiery, A.; Bertrand, D. The functional architecture of the acetylcholine nicotinic receptor explored by affinity labelling and site-directed mutagenesis. *Q. Rev. Biophys.* 25:395-432, 1992.
- Karlin, A. Explorations of the nicotinic acetylcholine receptor. *Harvey Lect.* 85:71-107, 1991.
- Lester, H.A. The permeation pathway of neurotransmitter-gated ion channels. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 21:267-292, 1992.
- Unwin, N. Neurotransmitter action: opening of ligand-gated ion channels. *Cell* 72 (Suppl.):31-41, 1993.
- Unwin, N. Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 229:1101-1124, 1993.
23. Betz, H. Ligand-gated ion channels in the brain: the amino acid receptor superfamily. *Neuron* 5:383-392, 1990.
- Sargent, P.B. The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 16:403-443, 1993.
- Snyder, S.H. Drugs and the Brain. New York: W.H. Freeman/Scientific American Books, 1987.
- Tallman, J.F.; Gallager, D.W. The GABAergic system: a locus of benzodiazepine action. *Annu. Rev. Neurosci.* 8:21-44, 1985.
24. Barrett, J.N. Motoneuron dendrites: roles in synaptic integration. *Fed. Proc.* 34:1398-1407, 1975.
- Fuortes, M.G.F.; Frank, K.; Becker, M.C. Steps in the production of motoneuron spikes. *J. Gen. Physiol.* 40:735-752, 1957.
25. Baxter, D.A.; Byrne, J.H. Ionic conductance mechanisms contributing to the electrophysiological properties of neurons. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1:105-112, 1991.
- Connor, J.A.; Stevens, C.F. Prediction of repetitive firing behavior from voltage clamp data on an isolated neurone soma. *J. Physiol.* 213:31-53, 1971.
- Meech, R.W. Calcium-dependent potassium activation in nervous tissues. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 7:1-18, 1978.
- Rogawski, M.A. The A-current: how ubiquitous a feature of excitable cells is it? *Trends Neurosci.* 8:214-219, 1985.
- Tsien, R.W., et al. Multiple types of neuronal calcium channels and their selective modulation. *Trends Neurosci.* 11:431-438, 1988.

26. Bekkers, J.M.; Stevens, C.F. Computational implications of NMDA receptor channels. *Cold Spring Harb. 5Symp. Quant. Biol.* 55:131-135, 1990.

Bliss, T.V.; Collingridge, G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361:31-39, 1993.

Daw, N.W.; Stein, P.S.; Fox, K. The role of NMDA receptors in information processing. *Annu. Rev. Neurosci.* 16:207-222, 1993.

Madison, D.V.; Malenka, R.C.; Nicoll, R.A. Mechanisms underlying long-term potentiation of synaptic transmission. *Annu. Rev. Neurosci.* 14:379-397, 1991.

Stevens, C.F. Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation. *Cell* 72 (Suppl.):55-63, 1993.