



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
Instituto de Ciencias Biomédicas  
Programa de Fisiología y Biofísica

---



# **FISIOLOGÍA INTEGRADA**

*Enfermería*  
*Nutrición y dietética*  
*Obstetricia y puericultura*

**GUÍAS DE SEMINARIOS**  
Parte I: Biofísica

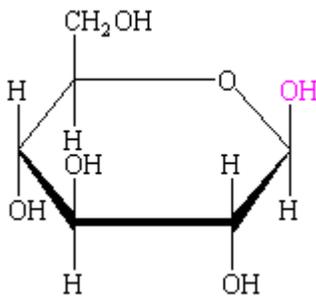
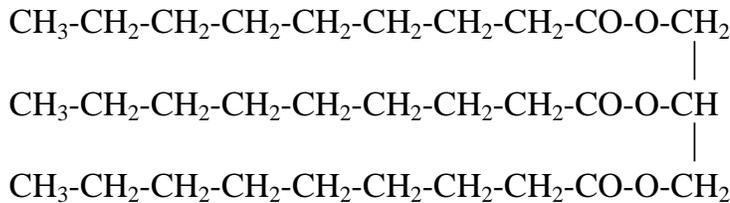
**2007**

## BIOFÍSICA I

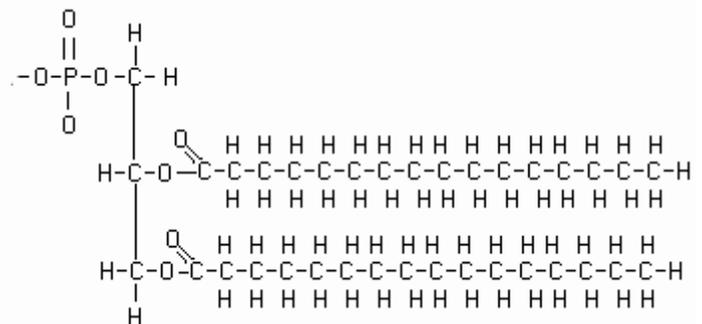
### Estructura de membranas biológicas

Objetivos: Conocer y comprender la estructura, formación y estabilización de bicapas y membranas a partir de las propiedades de sus componentes.

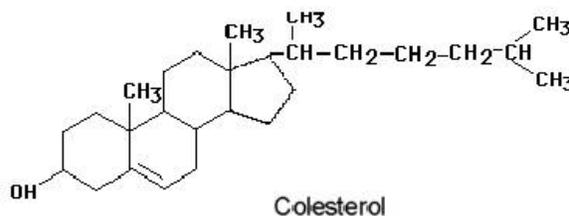
- 1.- Las moléculas apolares son aquellas que no contienen centros de carga eléctrica de gran magnitud porque los átomos que forman sus enlaces son de similar electronegatividad (por ej., C e H, ver tabla periódica ). Las moléculas polares, por otro lado, contienen enlaces muy polarizados porque poseen átomos de muy distinta electroafinidad (p. ej. C y O o N) y esto a su vez causa interacciones fuertes con otras moléculas polares o ionizadas.
- a) Compare la estructura de los aminoácidos Leucina, Acido glutámico e Histidina y prediga su miscibilidad en H<sub>2</sub>O. Insertos en una proteína hacia donde estarán expuestas sus cadenas laterales en:
- H<sub>2</sub>O
  - Un medio hidrofóbico
- b) Compare la estructura del etanol y el octanol y prediga su miscibilidad en H<sub>2</sub>O.
- c) Señale cuáles de la moléculas siguientes son polares o apolares y porque



**Glucosa**

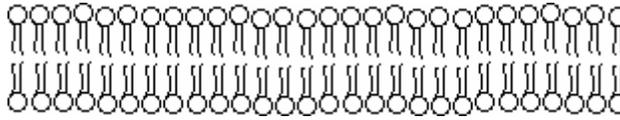


**Ácido fosfatídico (fosfolípido)**



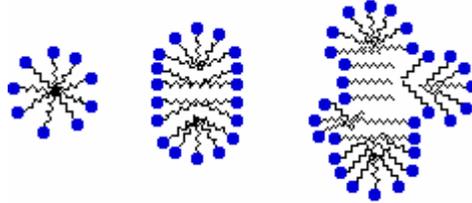
**Colesterol**

- 2.- Las moléculas lipídicas son moléculas anfifílicas (o sea, con afinidad con fases acuosas y apolares). Los fosfolípidos tienen un gran centro polar por el que interactúan fuertemente con el agua (compare por ejemplo la estructura del ácido fosfatídico con la del ácido octanoico y la del colesterol en el problema anterior). Así, cuando un fosfolípido puro (sólido) se pone en contacto con agua, se hidrata (a pesar de ser insoluble en el agua) y esta hidratación genera espontáneamente bicapas:



donde cada  representa una molécula de fosfolípido  
Señale por qué esta estructura se llama bicapa y dónde (y por qué) se ubicaría el agua.

- 3.- Existen otras moléculas anfifílicas que tienen una sola “cola” hidrofóbica. Entre estos se encuentran los detergentes y los lisofosfolípidos. Estas moléculas pueden ilustrarse así y se dice de ellas que tienen forma “cónica”. Cuando los detergentes se ponen en contacto con agua no forman bicapas, sino micelas:



¿Por qué?:

A diferencia de la forma “cónica” de los detergentes, la mayoría de los fosfolípidos tienen una forma aproximadamente “cilíndrica”. ¿Por qué?:

De acuerdo a lo que hemos visto, la formación de las bicapas se debe a dos causas, una fisicoquímica y otra geométrica. Escríbalas:

-

-

- 4.- Las bicapas de fosfolípidos se cierran sobre sí mismas para evitar contacto del agua con los extremos apolares de la bicapa. Esto significa que los fosfolípidos forman espontáneamente vesículas selladas en las que el contenido acuoso interno no está en contacto con el medio acuoso externo. ¿De dónde proviene la energía para que los fosfolípidos formen estas membranas?.

- 5.- Ya que los fosfolípidos de las membranas son poco polares, las interacciones (eléctricas) entre ellos son débiles, y por lo tanto a temperatura ambiente los lípidos en la bicapa se mueven rápidamente. Por lo tanto el estado físico de las bicapas a temperatura ambiente ¿se parece a un sólido, a un líquido o a un gas?.

¿Qué ocurriría eventualmente con la estructura de la bicapa si la temperatura de la misma se reduce muy por debajo de la temperatura ambiente normal (4°C)?

¿Qué clase de movimientos podría Ud. distinguir en cada molécula de fosfolípido?.

a) \_\_\_\_\_

b) \_\_\_\_\_

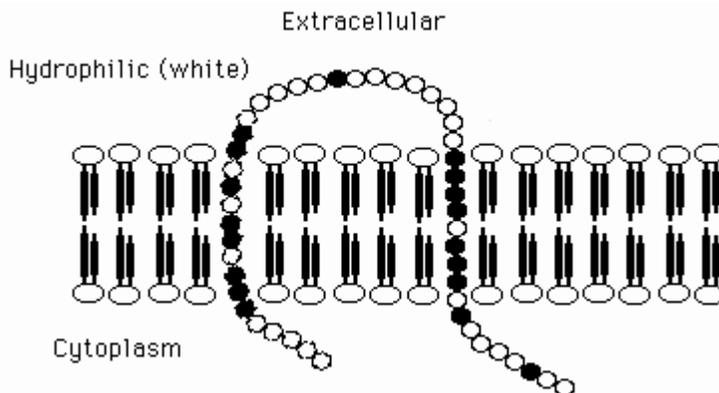
c) \_\_\_\_\_

d) \_\_\_\_\_

¿Cuál es muy improbable y porqué?

- 6.- Ciertas proteínas asociadas a la bicapa se pueden extraer por medio de cambio en la fuerza iónica del medio; en tanto otras proteínas sólo pueden ser extraídas por medio de detergentes. De acuerdo a esto Ud. puede predecir que tipos de interacciones establecen con la bicapa ambos tipos de proteínas. Explique.  
Discuta además cuales movimientos pueden realizar las proteínas de las membranas biológicas

- 7.- Las proteínas son largas cadenas de aminoácidos ordenados en una secuencia específica. El dibujo muestra un modelo de cierta proteína intrínseca en una membrana que atraviesa dos veces la membrana. ¿Qué rasgo fisicoquímico espera Ud. encontrar en los aminoácidos que atraviesan la membrana?  
¿A qué se refiere lo de hidrofílico (blanco) en el dibujo?



- 8.- Al purificar por primera vez tres proteínas de membrana desconocidas se encuentra que todas ellas tienen aproximadamente la misma proporción de aminoácidos apolares y polares. En una de ellas la secuencia de aminoácidos presenta 4 segmentos constituidos principalmente por aminoácidos apolares, lo que no se encuentra en las otras dos proteínas. Una de estas dos posee una cadena de hidratos de carbono. ¿Qué hipótesis podría Ud. proponer respecto a la localización de estas proteínas en la membrana?

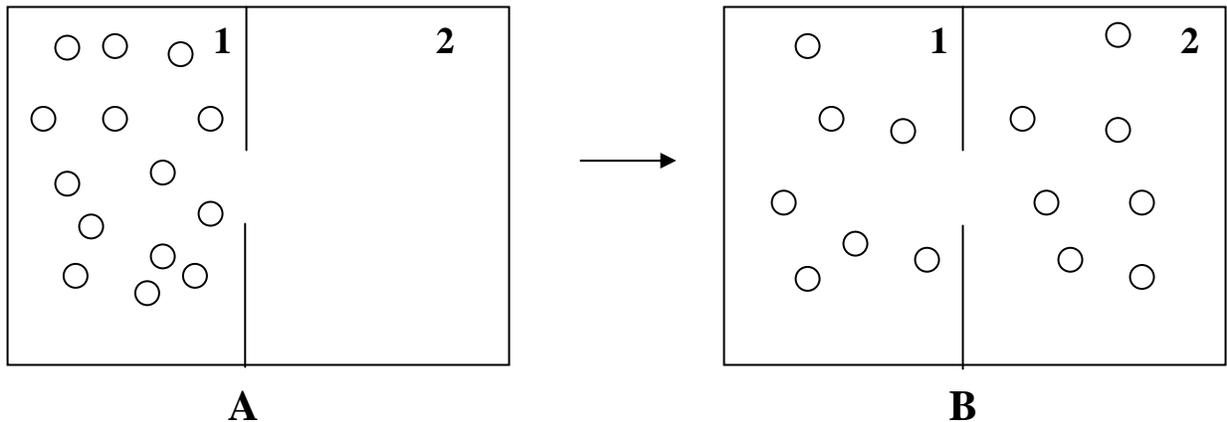
## BIOFÍSICA II

### Transporte y Potencial Electroquímico

- 1.- Explique que se entiende por difusión, y cuál es en **último** término la fuerza que lo impulsa. Diga que factores influyen en general en la velocidad de difusión de las moléculas que se encuentran en solución.  
¿Cuáles de los siguientes procesos de transporte se debe a difusión y porqué?:
  - i.- percepción del olor a pan tostado que proviene de la cocina (¿qué es lo que “mueve” la fragancia desde la cocina hasta donde uno se encuentra?).
  - ii.- ¿Qué es más parecido a difusión: el movimiento de personas que viajan en buses, o el movimiento de personas que salen de un cine?
- 2.- Explique cuáles son los dos factores que participan en el caso particular de la difusión en membranas biológicas. ¿Qué moléculas atraviesan más rápido una bicapa? ¿Cuáles lo hacen mas lentamente?
- 3.- Supongamos un sistema de dos compartimentos que contiene una cantidad de moléculas de un gas en el lado 1 pero ninguna en el lado 2. Las moléculas se mueven al azar, por lo que pasarán a través del área de paso. Eventualmente habrá el mismo número de moléculas en ambos lados y en ese momento no habrá transporte neto ni ningún cambio macroscópico en el sistema: se alcanzó el equilibrio (macroscópico).

La ecuación que describe el fenómeno es la ecuación de Fick.

$$\frac{ds}{dt} = -DA \cdot \frac{dc}{dx}$$



La velocidad (moles/seg) de transporte neto en la dirección 1 → 2 es proporcional a:

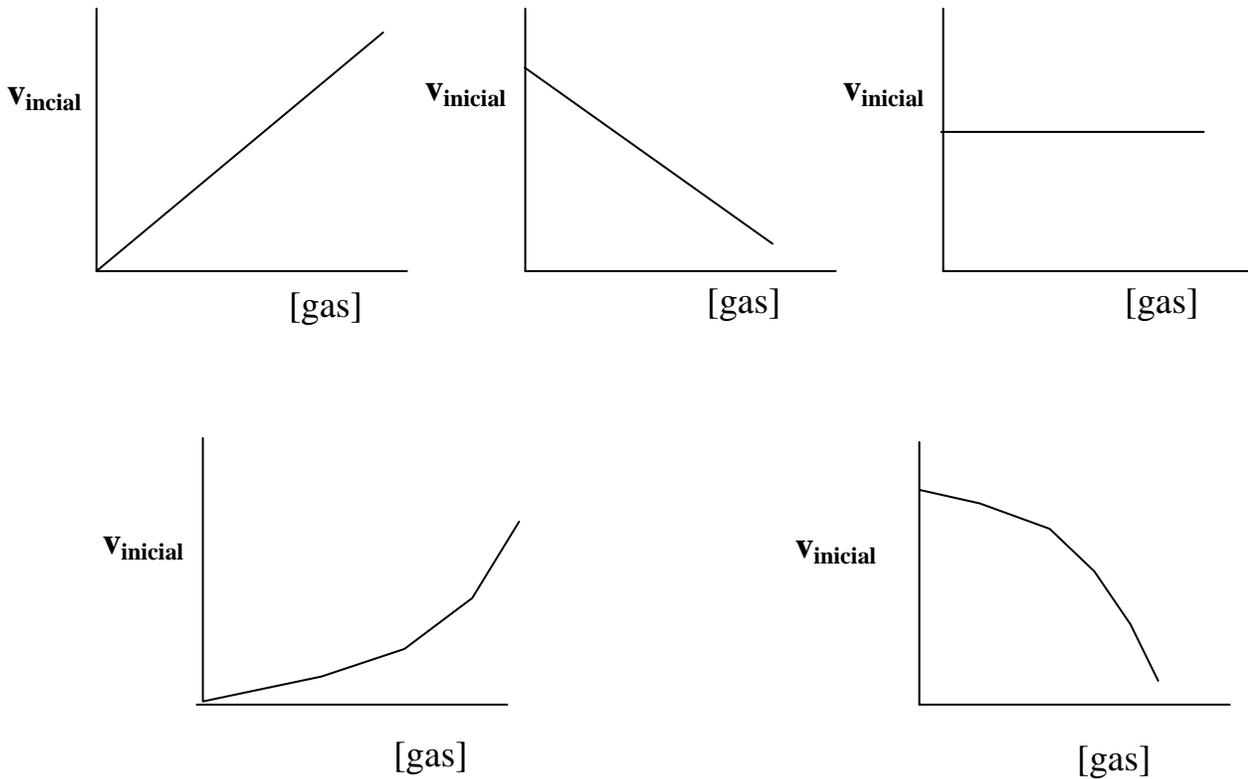
- La cantidad de moléculas en 1 (sí/no)
- La cantidad de moléculas en 2 (sí/no)
- El gradiente (cambio por unidad de distancia) en cantidad en 1 respecto a 2 (sí/no)
- El área del agujero (sí/no)
- La temperatura del sistema (sí/no)

- a) ¿Cuánto vale  $\Delta\mu$  para la situación en A para moverse de 1 a 2?
- b) ¿Cuánto vale  $\Delta\mu$  para la situación en A para moverse de 2 a 1?
- c) ¿Cuánto vale  $\Delta\mu$  para la situación en B?

El transporte neto 1  $\rightarrow$  2 cesaría cuando: (nombre dos causas posibles)

- a) \_\_\_\_\_
- b) \_\_\_\_\_

4.- Identifique el gráfico que expresa cómo cambia la velocidad (moles/seg) de transporte a través del agujero del sistema anterior cuando se utilizan distintas concentraciones iniciales de gas en 1; [gas] (número de moles por unidad de volumen).

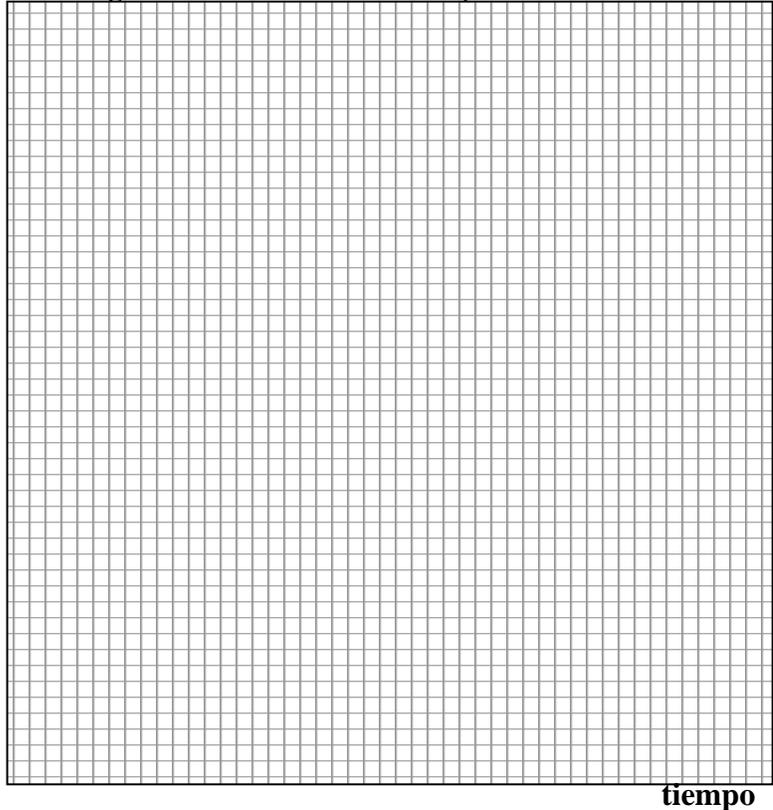


De acuerdo a su respuesta, en cualquier proceso de transporte causado por difusión la dependencia entre velocidad de transporte y concentración de sustancia, es.....

- 5.- Al agregar vesículas de membrana (de eritrocitos) a un medio infinitamente grande que contenía una concentración igual a 10 mM de un sustrato X, se encontró que la concentración de X variaba de la siguiente manera con el tiempo en el interior de las vesículas:

tiempo (min)	[X], mM
0	0
1	0.9
2	1.82
4	3.3
8	5.5
15	7.8
25	9.2
40	9.8

[C<sub>i</sub>]



Grafique esta relación. Explique la forma de la curva ¿porqué se llega a un valor límite? ¿Cómo cambia el flujo neto durante el curso del experimento?. Porque?

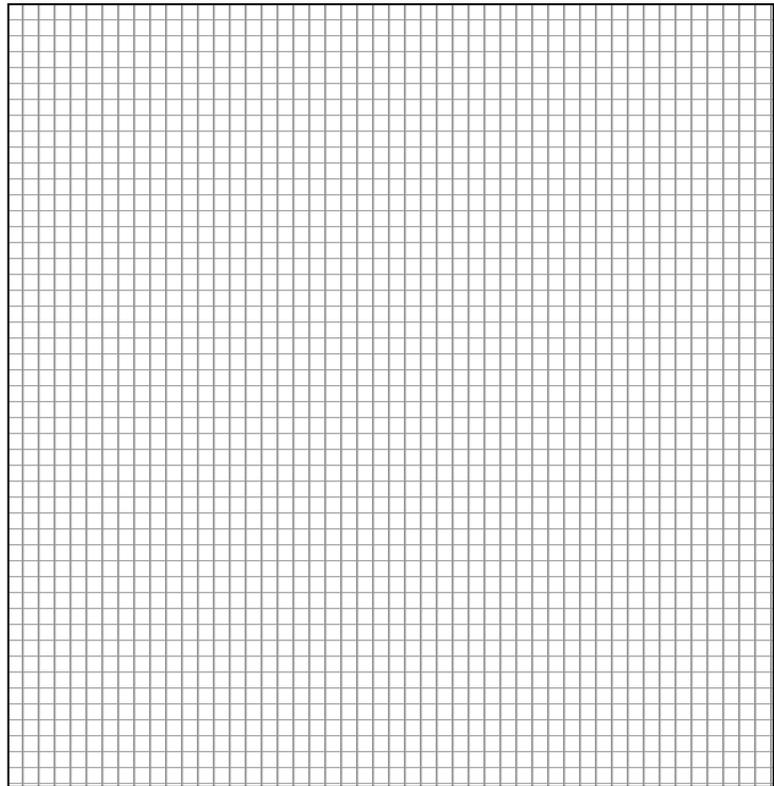
- 6.- En la tabla se resume los resultados de experimentos en que se midió el flujo (en moles/cm<sup>2</sup> min) de un sustrato X al interior de hepatocitos a distintas concentraciones externas de X ([X], en mM):

a) Grafique los datos y proponga una explicación sobre el mecanismo por el que X ingresa a la célula.

b) Calcule el valor de P recordando que  $mM = \frac{\text{moles} \cdot 10^{-3}}{\text{cm}^3 \cdot 10^3}$

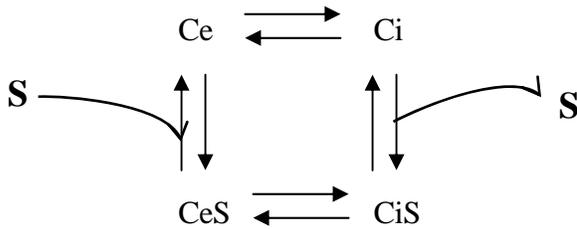
**J**

[X]	Flujo
2	0,19
4	0,37
8	0,77
12	1,15



[X] (mM)

- 7.- Desde hace unos 50 años se ha convenido que el siguiente mecanismo es un buen modelo cinético para el transporte mediado (C representa al transportador, S al soluto transportado libre y CS al complejo transportador.sustrato):



**Esquema cinético**

Describe cada etapa de este mecanismo.

- Explique el origen de la saturación en el transporte mediado de acuerdo a este mecanismo.
- El transportador posee un sitio especial para unir el soluto (en ese sitio se forma el complejo transportador.soluto). Por afinidad se entiende la “fuerza” con que el sitio une al sustrato, y por especificidad se entiende la capacidad del sitio de unir al soluto y no otras moléculas. ¿Qué ocurriría con el transporte del soluto si el transportador tuviera infinita afinidad por el soluto?. ¿si la afinidad fuera cero?
- Escriba la ecuación del  $\Delta\mu$  para este proceso. Explique.

- 8.- a) ¿Cómo es posible que en un proceso que transporta soluto, contragradiente, éste se verifique a través de un sistema de transporte activo? ¿Qué rol cumple la proteína transportadora?
- b) Escriba un esquema cinético que describa un ciclo de la  $(\text{Na}^+-\text{K}^+)\text{ATPasa}$ . Explique cada una de las etapas.
- 9.- En ciertos epitelios, la glucosa es transportada activamente por un sistema secundario.
- a) Escriba un mecanismo detallado para el cotransporte  $\text{Na}^+$ -glucosa y explique sus diversas etapas. Incluya un esquema cinético
- b) Escriba la ecuación del  $\Delta\mu$  para este proceso. Explique.
- c) Cómo es la ecuación del  $\Delta\mu$  en el equilibrio.

## BIOFÍSICA III

### Electricidad I

#### OBJETIVOS:

- Hacer ejercicios de fuerza eléctrica, ley de Coulomb, campo eléctrico, potencial eléctrico, capacidad, ley de OHM y circuitos RC.
- Discutir y reafirmar los conceptos teóricos entregados en clases

#### **A: Ley de Coulomb .**

Cuando se consideran dos cuerpos cargados (supuestos puntuales), la intensidad de las fuerzas atractivas o repulsivas que se ejercen entre sí es directamente proporcional al producto de sus cargas e inversamente proporcional al cuadrado de las distancias que las separa, dependiendo además dicha fuerza de la naturaleza del medio que les rodea. Como fuerzas de interacción, las fuerzas eléctricas se aplican en los respectivos centros de las cargas y están dirigidas a lo largo de la línea que las une.

La expresión matemática de la ley de Coulomb es:

$$F_e = K \frac{q \cdot q'}{r^2}$$

$$K = 8,9874 \cdot 10^9 \text{ N} \cdot \text{m}^2/\text{C}^2$$

en donde  $q$  y  $q'$  corresponden a los valores de las cargas que interaccionan tomadas con su signo positivo o negativo,  $r$  representa la distancia que las separa supuestas concentradas cada una de ellas en un punto y  $K$  es la constante de proporcionalidad correspondiente que depende del medio en que se hallen dichas cargas.

- 1.- Un átomo de hidrógeno está formado por un protón y un electrón que se mueve en torno a él; sabiendo que sus cargas, iguales y de signo contrario, equivalen a  $1,6 \cdot 10^{-19} \text{ C}$  y que la intensidad de la fuerza atractiva que experimentan es de  $8,2 \cdot 10^{-8} \text{ N}$ , determinar el valor de la distancia media que los separa (radio de Bohr).

## B. Campo Eléctrico

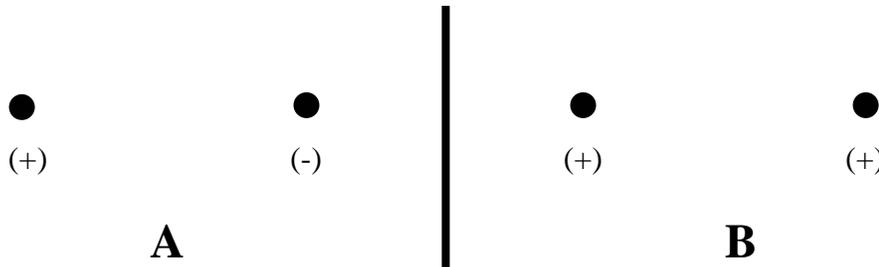
El campo eléctrico asociado a una carga aislada o a un conjunto de cargas es aquella región del espacio en donde se dejan sentir sus efectos. Así, si en un punto cualquiera del espacio en donde está definido un campo eléctrico se coloca una carga de prueba o carga testigo, se observará la aparición de fuerzas eléctricas, es decir, de atracciones o de repulsiones sobre ella. La fuerza eléctrica que en un punto cualquiera del campo se ejerce sobre la carga unidad positiva, tomada como elemento de comparación, recibe el nombre de **intensidad del campo eléctrico** y se representa por la letra **E**. Por tratarse de una fuerza la intensidad del campo eléctrico es una magnitud vectorial que viene definida por su módulo *E* y por su dirección y sentido.

$$E = \frac{F}{q}$$

Michael Faraday, quién no tenía una formación matemática describió el campo eléctrico por medios de líneas de campo que son imaginarias y que tienen las siguientes propiedades:

- La tangente a una línea de fuerza en un punto cualquiera tiene la dirección del vector intensidad del campo eléctrico **E**.
- Las líneas de fuerzas salen de cargas positivas (+) y llegan a cargas negativas (-).
- Las líneas de fuerza muestran la trayectoria que seguiría una carga de prueba si se le dejara libre.
- Las líneas de fuerza se dibujan de modo que el N° de líneas por unidad de área transversal sea proporcional a la magnitud del campo eléctrico (**E**), en otras palabras significa que cuando *E* es grande, éste se ilustra con líneas de fuerzas muy cercanas unas de otras.

- 2.- Dadas las siguientes configuraciones de cargas eléctricas (figura 2A y 2B) dibuje las líneas de campo respectivas y el vector intensidad de campo eléctrico:



- 3.- Dos cargas puntuales se encuentran en el eje de las X. Una de ellas de magnitud  $q_1 = 15 \times 10^{-6} \text{ C}$  está a 2 m y la otra  $q_2 = 6 \times 10^{-6} \text{ C}$ , está en el origen.
- ¿Dónde debe situarse una carga  $q_0$  positiva, de manera que la fuerza resultante sobre ella sea cero?
  - ¿Cuánto vale el campo eléctrico en un punto equidistante a ambas cargas?
- 4.- Dos cargas puntuales de magnitud  $2 \times 10^{-7} \text{ C}$  y  $8 \times 10^{-8} \text{ C}$  están separadas 12 cm.
- ¿Qué campo eléctrico produce cada una en el sitio en donde está la otra ?
  - ¿Qué fuerza actúa sobre cada una ?
  - ¿En qué punto situado en la misma línea en que están las cargas, el campo eléctrico es nulo?

### C. Potencial Eléctrico.

Del mismo modo que se introduce la noción de intensidad de campo eléctrico  $E$  para referir las fuerzas electrostáticas a la unidad de carga positiva, es posible hacer la misma operación con la energía potencial. Si se desea comparar, en términos de energías potenciales, un punto de un campo eléctrico con otro, será preciso utilizar en todos los casos como elemento de comparación una misma carga. La más sencilla de manejar es la carga unidad positiva y su energía potencial se denomina **potencial electrostático**. Surge así el concepto de potencial electrostático  $V$  en un punto  $P$  como la energía potencial eléctrica que poseería la unidad de carga positiva situada en dicho punto del campo.

Por analogía con la intensidad de campo, la expresión del potencial será:

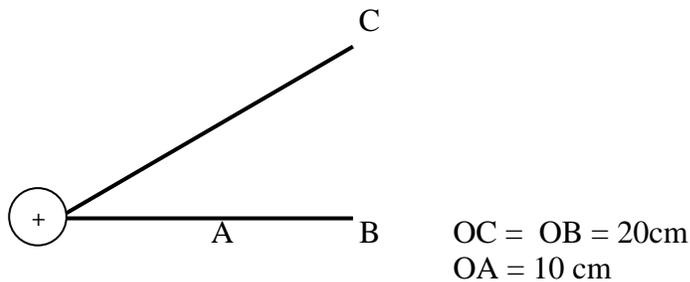
$$V = \frac{E_p}{q}$$

Por tratarse de una energía por unidad de carga, el potencial será una magnitud escalar cuya unidad vendrá dada por el cociente entre el joule (J) y el coulomb (C). Dicho cociente recibe el nombre de volt (V).

Las cargas positivas se desplazan espontáneamente por un campo eléctrico de los puntos de mayor potencial a los de menor potencial, del mismo modo que los cuerpos con masa caen desde los puntos de mayor altura. Las cargas negativas lo hacen en sentido contrario. Esta propiedad de la magnitud diferencia de potencial como responsable del sentido del movimiento de las cargas en el seno de un campo eléctrico puede ser deducida combinando las ecuaciones. El resultado es la nueva expresión:

$$V = V(\text{final}) - V(\text{inicial}) = \frac{E_p(\text{final}) - E_p(\text{inicial})}{q} = \frac{W_e}{q}$$

- 5.- Se tiene una esfera conductora, cargada con 100  $\mu\text{C}$  de carga positiva (+). Los puntos A, B, C están a las distancias que se indican.



- a) ¿Cuál es el valor del potencial eléctrico para puntos A y B?
- b) ¿Cuál será el trabajo para mover una carga de 50  $\mu\text{C}$
- desde el punto B al A
  - desde B a C?

## BIOFÍSICA IV

### Electricidad II

#### D. Capacidad y Condensadores

Un condensador es un elemento que tiene la propiedad de almacenar energía, en este caso energía eléctrica. El dispositivo más simple consiste en dos placas conductoras paralelas separadas por una cierta distancia. La capacidad de un condensador se define como la razón entre la magnitud de la carga y la diferencia de potencial aplicada al cuerpo.

$$C = Q/V$$

En el caso de placas paralelas la capacidad será:

$$C = \epsilon_0 \times K \times A/d \quad K = \text{cte. dieléctrica}$$

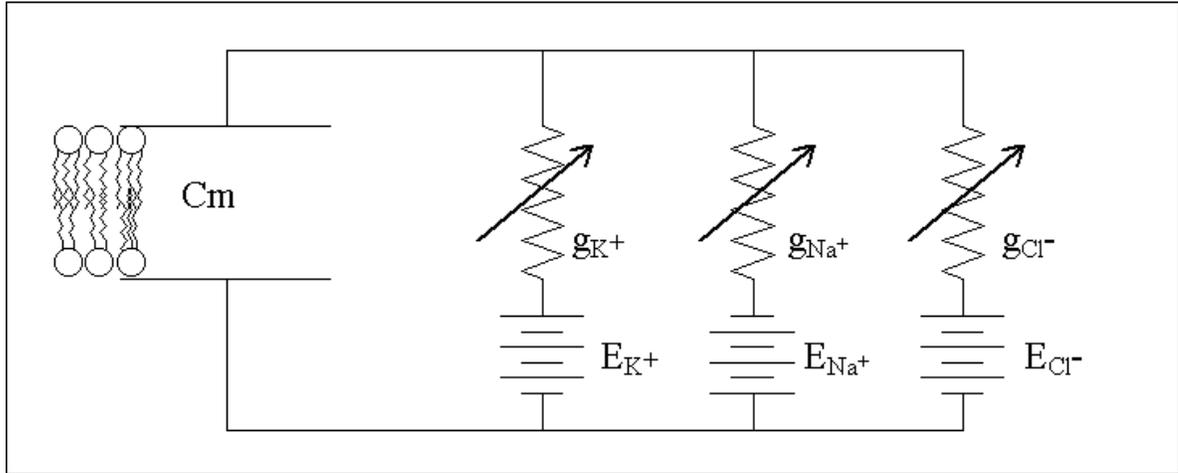
La energía eléctrica almacenada en el condensador equivale al trabajo eléctrico para cargarlo y queda disponible una vez que el condensador se descarga.

$$U_{\text{elec.}} = C \times V^2/2$$

- 1.- Se tiene dos placas planas paralelas de área  $10 \text{ cm}^2$  y separadas por  $1 \text{ cm}$ . Las placas están cargadas con  $5 \mu\text{C}$  cada una y polaridad opuesta.
  - a) ¿Cuál será la intensidad de campo eléctrico en un punto a  $3 \text{ mm}$  de la placa positiva?
  - b) ¿Cuál será la fuerza sobre una carga de  $-2 \mu\text{C}$  puesta en ese punto y en que dirección actuará?
  - c) Calcular el trabajo necesario para mover la carga de un ión desde una placa a la otra (carga del electrón:  $1,6 \times 10^{-19} \text{ C}$ ). Y en sentido opuesto.
  - d) Calcular la diferencia de potencial eléctrico entre las placas.
  
- 2.- Una célula tiene un diámetro aproximado de  $50 \mu\text{m}$ . Si se sabe que su membrana celular tiene una capacidad de aproximadamente  $1 [\mu\text{F}/\text{cm}^2]$  y que se encuentra depolarizada por un potencial de  $80 \text{ mV}$ .  $1 [\mu\text{F}/\text{cm}^2] = 0.01 [\text{F}/\text{m}^2]$ .
  - a) ¿Cuál es la capacidad de la célula?
  - b) ¿Cuál es la carga necesaria para que adquiera su potencial de membrana?
  - c) ¿A cuántos moles corresponde esa carga?
  - d) ¿Cuánto cambia la concentración interna sabiendo que en el axón hay  $15 \text{ mM Na}^+$  interno?

- 3.- Suponga Ud. que está estudiando las propiedades eléctricas de una membrana biológica, por ejemplo la membrana de un axón gigante de calamar. De la expresión general que define la capacidad de un condensador de placas paralelas, y en base a los siguientes datos experimentales:

$\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12} \text{ F/m}$ ,  $K = 2.3$  (bicapa de fosfolípidos),  $l = 5 \text{ cm}$  largo del axón,  
 $r = 320 \mu\text{m}$  (radio del axón),  $d = 20 \text{ \AA}$  (espesor de la membrana). Calcular teóricamente la capacidad de la membrana ( $C_m$ ) del circuito equivalente de una membrana biológica.



### E. Corriente eléctrica y Ley de OHM

La presencia de un campo eléctrico permanente en el seno de un conductor es la causa del movimiento continuado de las cargas libres. En un conductor metálico los portadores de carga son los electrones (-), por lo que su desplazamiento se producirá del extremo del conductor a menor potencial hacia el extremo a mayor potencias, o en términos de signos desde el polo negativo hacia el positivo. En una disolución salina los portadores de carga son iones tanto positivos como negativos. La importancia de dicho transporte en términos de cantidad se expresa mediante la magnitud **intensidad de corriente eléctrica** que se define como la carga total que circula por el conductor en la unidad de tiempo. En forma de ecuación se puede escribir como:

La unidad de intensidad de corriente en el SI recibe el nombre de ampere (A) y equivale a un transporte de carga que se produzca a razón de 1 coulomb (C) en cada segundo (s),  $1 \text{ A} = 1 \text{ C/s}$ .

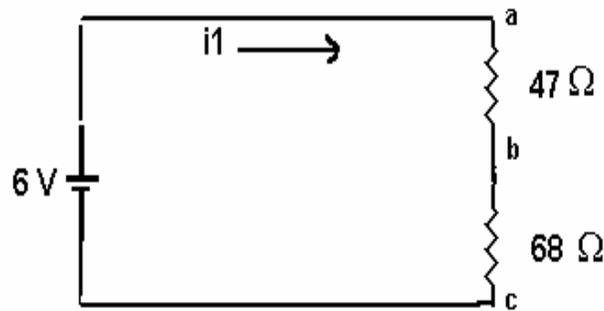
$$\text{Intensidad} = \frac{\text{carga}}{\text{tiempo}} \quad I = \frac{q}{t}$$

En 1826 Georg S. Ohm, llegó a establecer que en los conductores metálicos el cociente entre la diferencia de potencial entre sus extremos y la intensidad de corriente que lo atraviesa es una cantidad constante, o en otros términos, que ambas magnitudes son directamente proporcionales. Esta relación de proporcionalidad directa entre potencial e intensidad recibe el nombre de *ley de Ohm*.

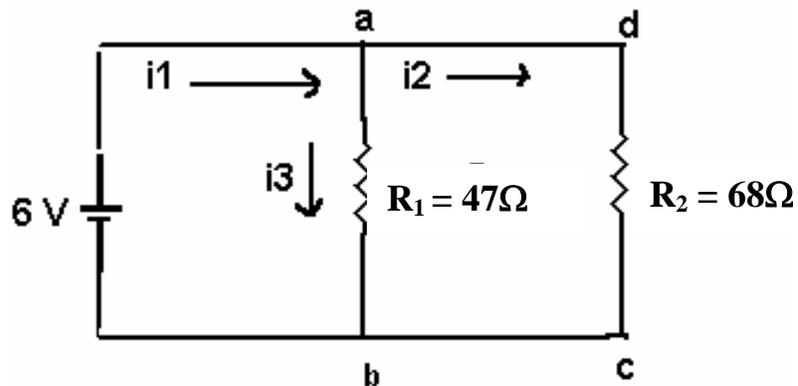
La expresión puede escribirse, haciendo intervenir a la resistencia, en la forma:

$$V = I \cdot R$$

- 4.- a) Para un circuito que posee dos resistencias en serie: Calcule  $i_1$ ,  $R_{eq}$ ,  $V_{ab}$ ,  $V_{bc}$ ,  $V_{ac}$

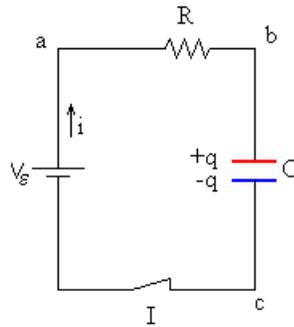


- b) Para un circuito que presenta dos resistencias en paralelo: Calcule  $i_1$ ,  $i_2$ ,  $i_3$ ,  $R_{eq}$ ,  $V_{ab}$ ,  $V_{cd}$ .



**F.- Circuito RC y constante de tiempo ( $\tau$ ).**

Los circuitos RC son la asociación entre una fuente de energía, resistencia y condensador, a diferencia de los circuitos clásicos antes estudiados, la corriente que circula por el circuito RC no es constante en el tiempo. Cuando se conecta un condensador descargado a dos puntos que se encuentran a potenciales diferentes, el condensador no se carga inmediatamente sino que adquiere cierta carga por unidad de tiempo que depende de la resistencia ( $R$ ) y la capacidad de los condensadores presentes ( $C$ ). El producto  $RC$  se llama **constante de tiempo ( $\tau$ )** y se define como el tiempo necesario para que el condensador adquiriera el 63 % de su carga final. Esta constante es una característica intrínseca del sistema.



- 5.- En el circuito de la figura anterior  $R= 1 \times 10^6 \Omega$  (1Mohm) y  $C= 10 \mu\text{F}$  ( $10 \times 10^{-6} \text{ F}$ ), calcular, la constante de tiempo del circuito.
- ¿Cómo podría Ud. Modificar la constante de tiempo en su circuito?
  - Escriba la expresión para la corriente  $I$  en función del tiempo
  - Escriba la expresión del voltaje del condensador ( $V_c$ ) en función del tiempo

**BIOFÍSICA V**  
**Excitabilidad I: propiedades eléctricas de la membrana.**

Objetivos: Entender cómo se genera el potencial de membrana en reposo y en actividad.

1.- Imagine dos soluciones de KCl en agua, 100 mM (interna) y 10 mM (externa), separadas por una barrera no selectiva. Se abre una compuerta lo que permite la difusión de los iones.

a) A 25 °C, ¿Cuánto es la diferencia de potencial químico para cada ión entre ambas soluciones?

.....  
.....  
.....

b) ¿Qué condición general se cumple en equilibrio en esta condición?

.....  
.....  
.....

2.- Ahora reemplace la separación del ejercicio anterior por una bicapa de fosfolípidos que contiene canales selectivamente permeables al K<sup>+</sup>.

a) ¿Qué efecto eléctrico ocurre?.

.....  
.....  
.....

b) ¿Qué sucede con la diferencia de potencial electroquímico en el equilibrio?

.....  
.....  
.....

c) ¿Qué sucede con el flujo neto de corriente de K<sup>+</sup> en el equilibrio?

.....  
.....  
.....

d) ¿Qué entiende por potencial de equilibrio del ión permeante?

.....  
 .....  
 .....

3.- Calcule el potencial de membrana ( $V_m = V_i - V_e$ ) si el gradiente de KCl (i/e) es 10 la t° 20°C, y la membrana es:

Condición	$V_m(V_i - V_e)$
permeable de igual manera a ambos iones	
impermeable a Cl	
impermeable a K <sup>+</sup>	
impermeable a ambos	

4.- ¿Cuánto trabajo eléctrico habría que hacer para llevar K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> o Ca<sup>++</sup> por mol del compartimento externo al interno para una diferencia de potencial ( $V_i - V_e$ ) dada en la tabla:

( $V_i - V_e$ )	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	Ca <sup>+2</sup>
0			
0,1			
-0,1			

5.- Las células nerviosas gigantes de *Aplysia* (un caracol de mar) tienen las siguientes concentraciones (en mM) correspondientes a los medios intra y extracelulares:

Iones	Extracelular	Intracelular
Sodio	337	50
Potasio	6	168
Cloruro	340	41

<b>Temperatura 6° C</b>
-------------------------

- a) Escriba el  $\Delta\bar{\mu}$  para el  $\text{Na}^+$  y luego calcúlelo para  $V_m = -60\text{mV}$
- b) ¿Cuál es el potencial de membrana suponiendo que la membrana celular (M) de la *Aplysia* tiene los siguientes comportamientos? Justifique su respuesta.
- i) Es sólo permeable a  $\text{Na}^+$  .....
- .....
- .....
- .....
- ii) M es sólo permeable a  $\text{K}^+$ : .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- iii) M es permeable de igual manera a  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , pero impermeable a  $\text{Cl}^-$ :  
 $P_{\text{K}}:P_{\text{Na}}:P_{\text{Cl}}=1:1:0$
- .....
- .....
- .....
- .....
- c) En la situación b(iii) ¿Cuál es la corriente neta en estado estacionario y cual(o cuáles) de los iones permeables está(n) en equilibrio?

6.- Las concentraciones iónicas para un axón de jibia son (en mM):

	interna	externa
Na	50	440
K+	400	20
Cl-	40	540

**Temperatura**  
 ~ ~ ~

La razón de permeabilidades en reposo es  $P_{\text{K}} : P_{\text{Na}} : P_{\text{Cl}} = 1 : 0.03 : 0.1$

- a) Calcule el potencial de reposo.

.....  
.....  
.....  
.....

- b) ¿Qué ocurriría con el potencial de membrana si en un instante dado, la permeabilidad al ión  $\text{Na}^+$  fuera mucho mayor que la del ión  $\text{K}^+$ . En el potencial de acción la razón de permeabilidades cambia a:

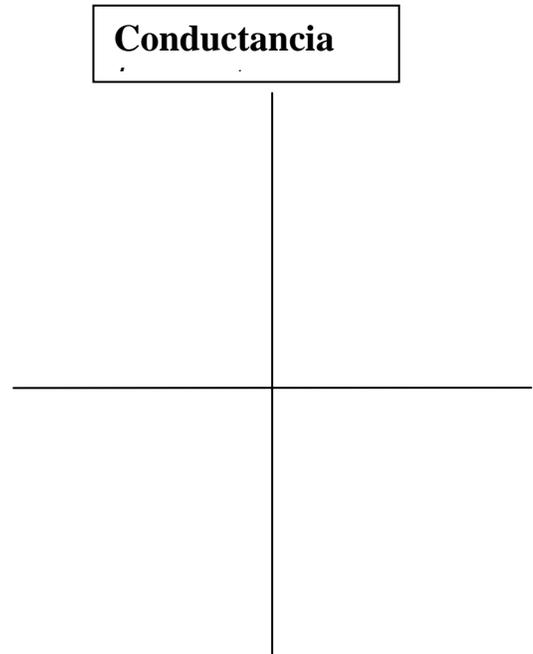
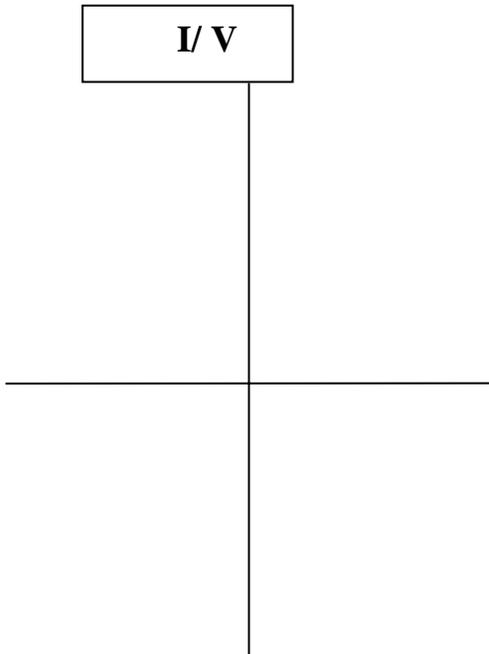
$$P_{\text{K}} : P_{\text{Na}} : P_{\text{Cl}} : 1 : 15 : 0.1$$

¿Cuánto es  $V_m$ ?

.....  
.....  
.....  
.....

7.- En experimentos de canales iónicos de sodio provenientes de cerebro de rata tiene un canal que cumple con la Ley de Ohm en un rango potencial 100 mV, en soluciones simétricas de sodio 100 mM.

- a) ¿Cuál sería su gráfica para  $i$  (intensidad de corriente) versus potencial?  
b) ¿Qué representa la pendiente en el gráfico?  
c) ¿Qué cree usted que sucederá con la pendiente si se aumentan las concentraciones?



- d) ¿Cómo construiría un gráfico de conductancias versus concentración del ión transportado?
- e) ¿Qué ecuación da cuenta de este comportamiento?
- 8.- En un experimento se registra a 25° C la actividad de un canal único en una bicapa artificial de lípidos que separa 2 compartimientos A y B con soluciones con la composición indicada:

A(M)	B(M)
0.1 NaCl 0.05 K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.01 NaCl 0.11 K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>

M: Molar

Se obtienen las siguientes mediciones de corriente a través del canal abierto:

V(B-A) (mV)	i (pA)
-120	-1,8
-80	-1,4
-40	-1,0
10	-0,5
40	-0,2
80	0,2
120	0,6

Dibuje una curva de corriente vs potencial y explique su forma e intercepto. Determine que ión es el portador de la corriente. Calcule la conductancia del canal.

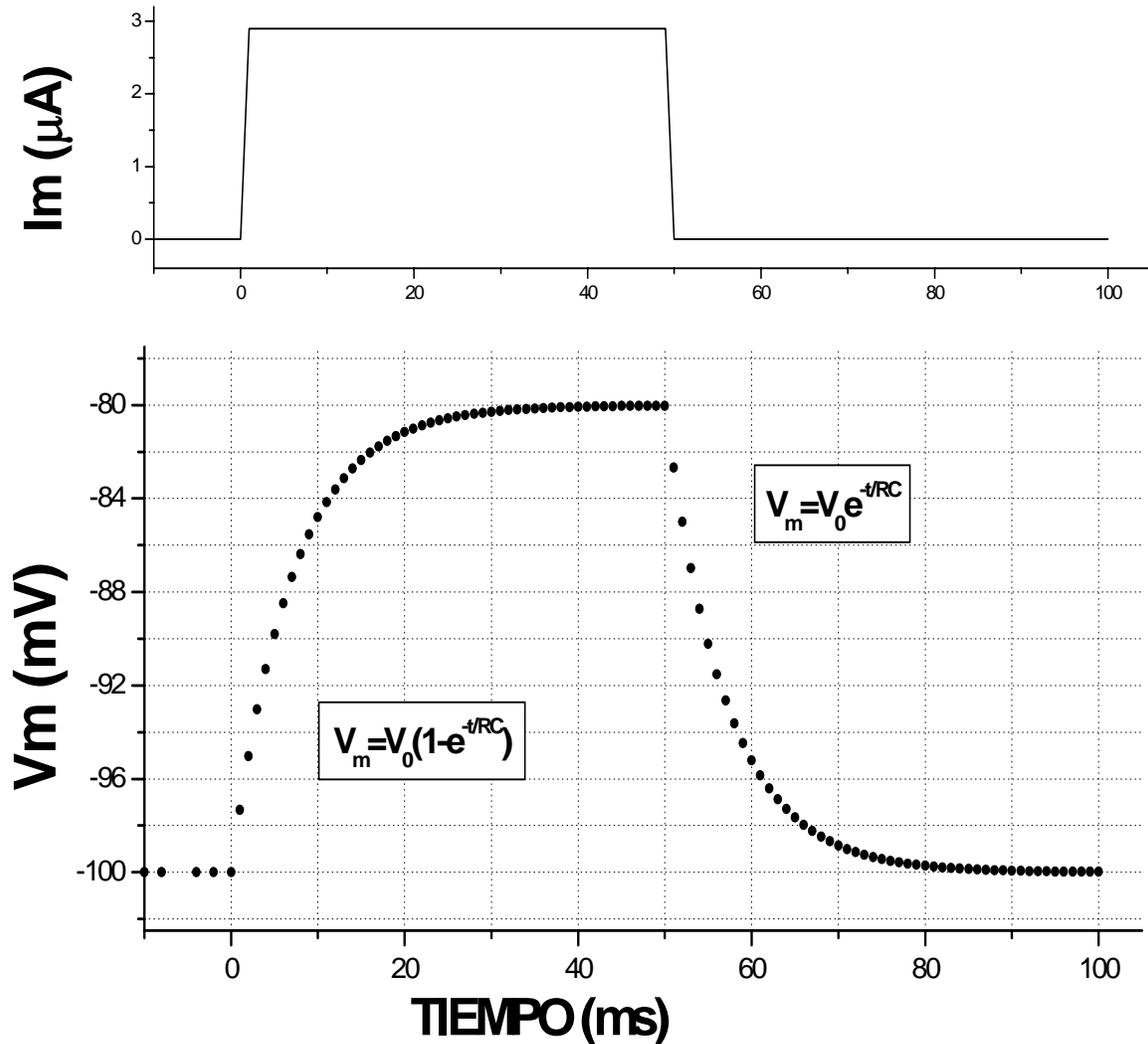
## BIOFÍSICA VI

### Excitabilidad II: potencial de acción

Objetivos: Visualizar las membranas biológicas como circuitos eléctricos y entender los mecanismos utilizados para transmitir información.

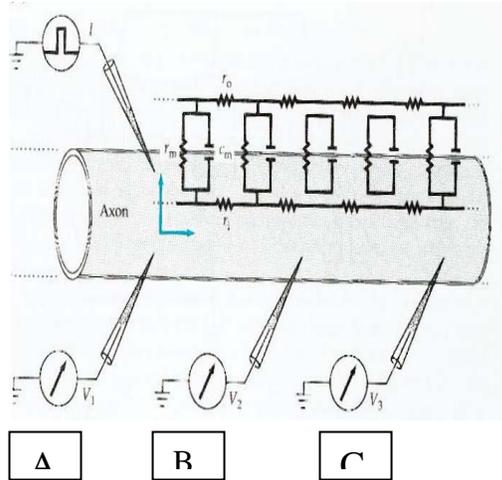
**El axón gigante del calamar ha sido un modelo fisiológico de origen marino de gran importancia para entender los potenciales de membrana de células y los potenciales de acción. Su gran tamaño (0,2-1,0 mm diámetro y 5-10 cm de largo) permite la inserción de electrodos para medir potenciales intracelulares.**

- 1.- Si en una sección del axón gigante Ud. lo estimula con un pulso cuadrado de corriente, la respuesta eléctrica de la membrana se muestra en la siguiente figura:

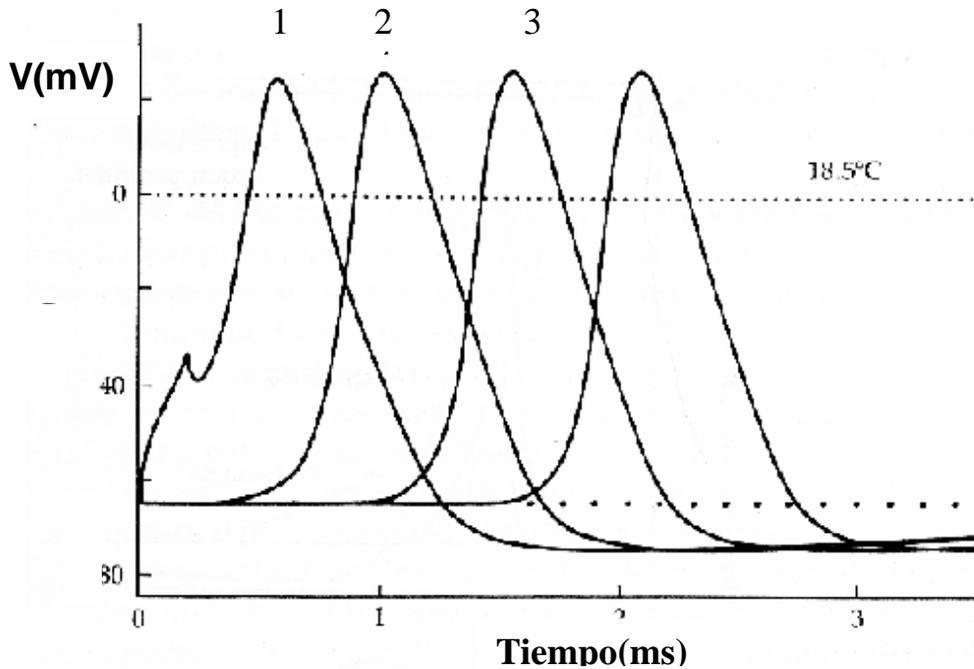


a) ¿Qué es la constante de tiempo? Determine en forma aproximada el valor de la constante de tiempo ( $\tau_m$ ) a partir de los datos suministrado en el gráfico Vm v/s tiempo.

b) ¿Qué pasa con la respuesta en B y C. Señale el significado de la constante de espacio.

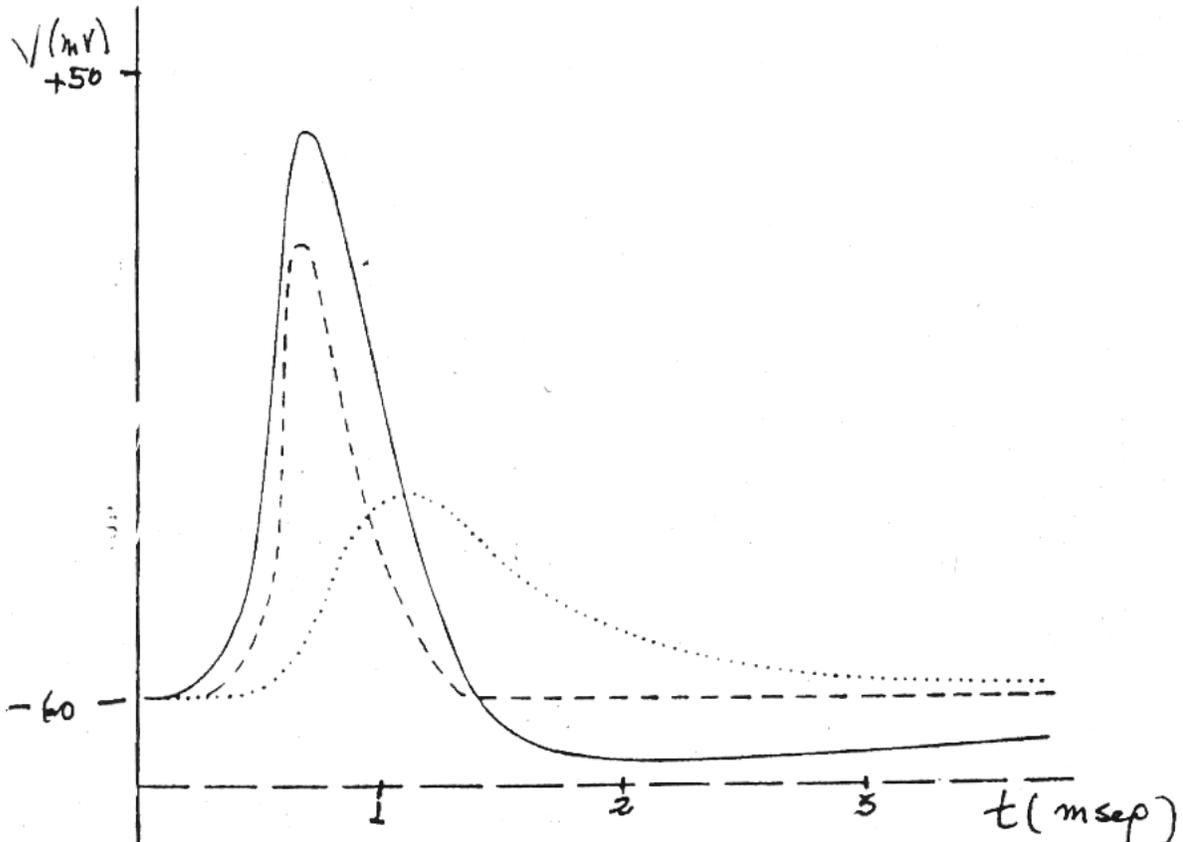


2.- En la figura adjunta se muestra la respuesta de un axón (400  $\mu\text{m}$  de diámetro a 18.5°C de temperatura) a un estímulo supraumbral registrado en electrodos colocados en diferentes posiciones (1, 2, 3, 4). La distancia entre los electrodos 1,2 y 3 es de 1,2 cms.



- a) Calcule la velocidad de propagación en estas condiciones
- b) ¿Aumenta o disminuye la velocidad propagación si el diámetro del axón fuera la mitad del mostrado? ¿Por qué?
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- .....
- c) En el electrodo en posición 1, identifique a que corresponde la parte inicial de la respuesta
- .....
- .....
- d) En el electrodo en posición 1, ¿Cuál sería la respuesta a un estímulo subumbral?.  
Dibuje la respuesta esperada y justifique su respuesta
- .....
- .....

- 3.- Relación de las conductancias de sodio y potasio con el potencial de acción.  
En la figura se muestra que en reposo el potencial de membrana medido es de -60 mV mientras que después de una breve estimulación sube de -60 a sobre +40 mV.



- a) ¿A qué potenciales se aproximan los potenciales extremos medidos?.
- b) Identifique en su gráfico el
- Potencial de acción
  - Conductancia al sodio ( $g_{Na}$ )
  - Conductancia al potasio ( $g_K$ )

c) Si la solución externa se cambia a agua de mar artificial donde el NaCl se reemplaza por cloruro de colina, no se observan efectos sobre el potencial de reposo pero el nervio no genera potenciales de acción al ser estimulado. ¿Cuál es la razón de ambas observaciones?

d) Explique en que etapas del potencial de acción están involucradas las corrientes de sodio.

.....  
.....  
.....

e) Cuáles son las características de los canales de sodio que dan cuenta de su función en el potencial de acción?

.....  
.....  
.....

f) Nombre un bloqueador de las corrientes de sodio y explique como afectaría el potencial de acción. Superponga en el gráfico la respuesta en esta condición.

.....  
.....  
.....

g) Nombre un bloqueador de las corrientes de potasio y explique como afectaría el potencial de acción. Superponga en el gráfico la respuesta en esta condición.

.....  
.....  
.....

h) Explique el periodo refractario.

.....  
.....  
.....

## ANEXO. Trabajo práctico autovalente: potencial de acción (Profs. Jorge Hidalgo T. y José Luis Liberona)

### TRABAJO PERSONAL EN COMPUTADOR

#### Simulación del potencial de acción en axón de calamar.

En este trabajo práctico Ud. usará los programas de emulación de las propiedades de excitabilidad en un axón gigante de calamar diseñados por el Dr. Francisco Bezanilla (UCLA) y que están disponibles a través de una página web en nuestra facultad.

El montaje experimental simulado corresponde al usado por Hodgkin y Huxley en un axón de calamar instalado en una cámara donde se pueden insertar microelectrodos o bien macroelectrodos internos tanto para medir potencial como para pasar corriente, controlar la composición iónica del medio externo e interno y disminuir la resistencia axial. En vez de usar un axón real, haremos fisiología virtual. Mediante **Internet Explorer** inicie una sesión en la siguiente página web:

<http://docencia.med.uchile.cl/electrophysiology>  
<http://nerve.bsd.uchicago.edu>

La página de inicio desplegará el siguiente contenido:

Simulations of ion channels and excitable membranes - Netscape

File Edit View Go Communicator Help

Back Forward Reload Home Search Netscape Print Security Shop Stop

Noticias My Stuff Internet Lookup New&Cool RealPlayer

Bookmarks Location: file:/E:/Electrophysiology/wwwroot/default.htm What's Related



**ELECTROPHYSIOLOGY**  
*and The Molecular Basis of Excitability*

**THE NERVE IMPULSE**  
**The Nerve Impulse** This is a brief Textbook that covers the basics of the initiation and propagation of the nerve impulse using equivalent circuits with reference to ionic conductances. Voltage dependent conductances are explained on the basis of single channel properties. The text contains links to the simulation programs

**Nerve Impulse Laboratory Manual** Experiments using the NERVE program

Simulation Programs

	<b>Diffusion</b>		<b>Membrane</b>
	<b>NERVE</b>		<b>NERVE LIGHT (for old browser and/or low memory)</b>
	<b>Voltage dependent K Channel</b>		<b>Sodium Channel Simulation</b>
	<b>Equivalent Circuit of The Axon</b>		<b>Model of the <i>Shaker</i> K channel voltage sensor</b>

Contact me for comments or questions: [fbezanil@ucla.edu](mailto:fbezanil@ucla.edu).

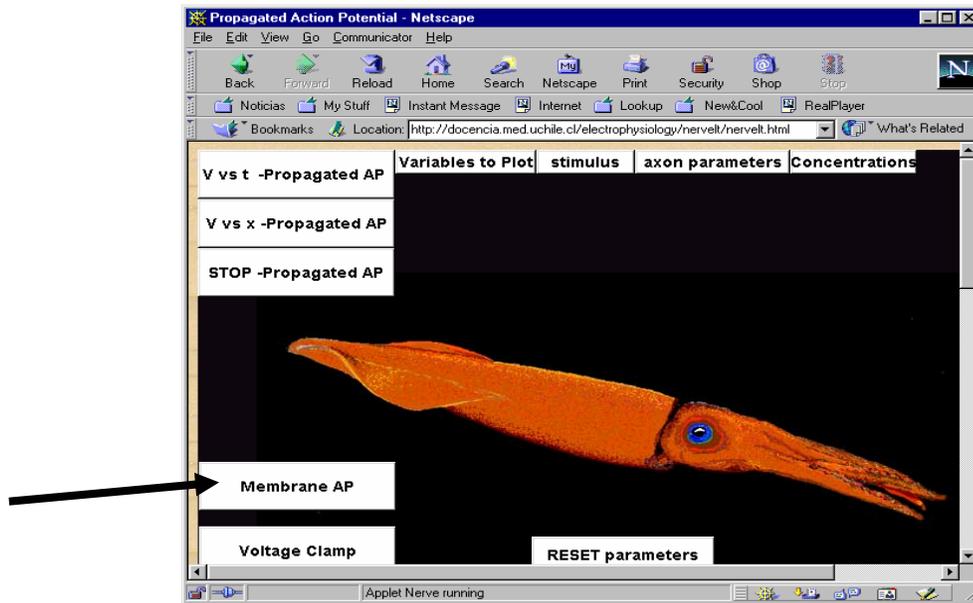
Thank you for using these programs.

F. Bezanilla

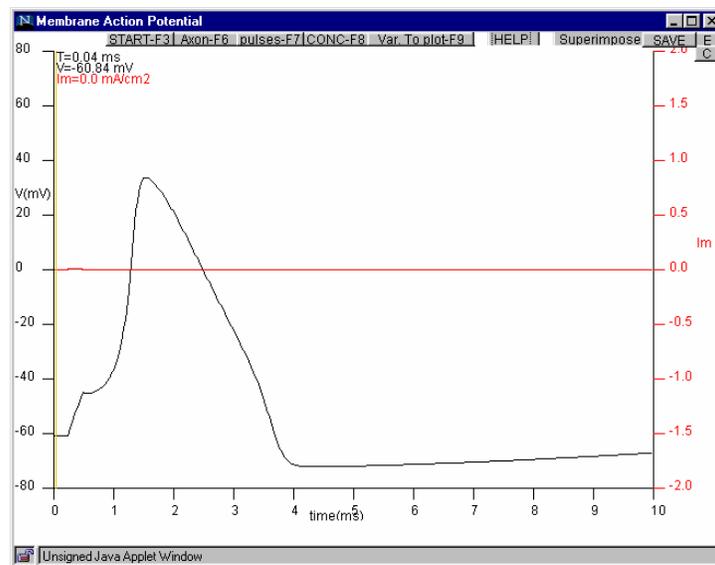
(C) F. Bezanilla, 1998,1999,2000

## EXCITABILIDAD EN EL AXÓN GIGANTE DE CALAMAR

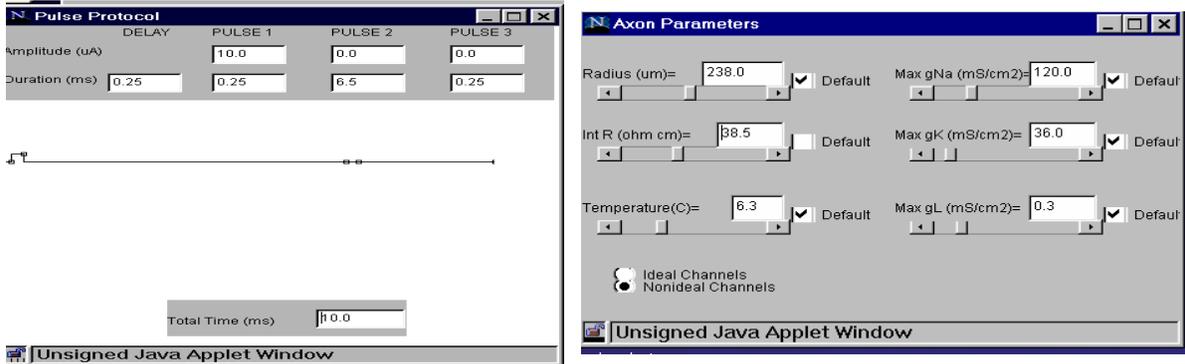
En la página de inicio seleccione el programa *NERVE*. Esto lo llevara a la siguiente pantalla:



En la nueva página haga click sobre el recuadro que dice "**MEMBRANE AP**". Se abrirá una nueva ventana con el curso temporal del potencial de membrana en el axón de un calamar sometido a un pulso de corriente despolarizante. Note y familiarícese con las dimensiones usadas para tiempo, voltaje y corriente en los respectivos ejes del gráfico.



Active las ventanas correspondientes a "AXON" y "PULSES" donde va a poder hacer cambios ya sea en las dimensiones y propiedades del axón y/o en el protocolo de estimulación.



Facilite su trabajo ajustando el tamaño de las ventanas con los parámetros para Membrane Action Potential y Pulse Protocol de tal modo que queden visibles las tres ventanas sin superponerse. **Note que los cambios en los parámetros se validan sólo después de apretar la tecla ENTER o Intro.**

### **I.- LATENCIA Y UMBRAL DE EXCITACION.**

Aunque la amplitud del potencial de acción es en general independiente de la intensidad del estímulo, muchas de sus otras propiedades no lo son. En particular la latencia, que es la demora temporal desde el comienzo del estímulo hasta el pick del potencial de acción, es función de la amplitud del estímulo. Mientras mayor es el estímulo, menor es la demora entre el estímulo y la señal del potencial de acción. En los siguientes experimentos propuestos Ud. podrá investigar la respuesta activa frente a distintas maneras de modificar la intensidad del estímulo.

#### **a) Experimento de variación en la intensidad de un estímulo.**

En la ventana de "PULSE PROTOCOL" seleccione el casillero de amplitud para "PULSE 1", cambie su valor preestablecido de 10 A por 1 A, al apretar la tecla ENTER se ejecutará su experimento. Repita el experimento aumentando el valor de PULSE 1 en pasos de 1 A hasta volver a 10 A (¿Qué pasa con valores mayores de 10 A?).

#### **b) Experimento de variación en la duración de un estímulo.**

Nuevamente en la ventana de "PULSE PROTOCOL", seleccione el casillero de amplitud para "PULSE 1", cambie su valor a 1 A y varíe el valor presente para su duración (en incrementos de 0.5 milisegundos) todas las veces que sea necesario para obtener nuevamente un potencial de acción.

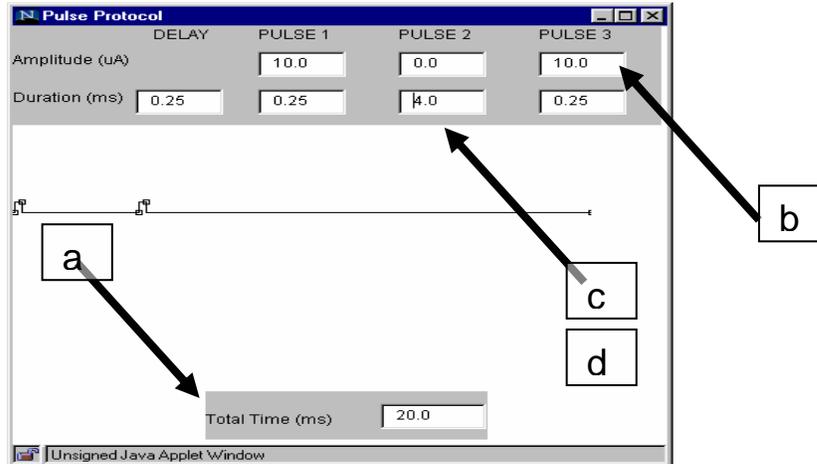
Anote sus observaciones:

.....  
.....  
.....  
.....

## II.- PERÍODO REFRACTARIO.

Durante varios milisegundos después del disparo de un potencial de acción, es imposible evocar otro potencial de acción no importa cuan grande sea el estímulo despolarizante; en otras palabras el axón es refractario a los estímulos durante ese tiempo.

Experimento con dos pulsos separados por un intervalo de tiempo variable. En la ventana de "PULSE PROTOCOL" haga los siguientes cambios:



- En el tiempo total de simulación (casillero **Total Time(ms)**) de cambie el valor 10 a 20 ms(¡no se olvide de ENTER para validar el cambio!).
- En los parámetros de amplitud y duración para "PULSE 3" inserte los valores 10 A y 0.25 ms respectivamente.
- Fije el valor de amplitud de "PULSE 2" en 0 A. Haga variaciones de la duración de PULSE 2 desde 4 ms hasta 12 ms en pasos de 2 ms.
- Repita el experimento de variar PULSE 2 en una serie donde se ha hecho el cambio de la amplitud en "PULSE 3" de 10 A después a 6 A y luego a 12 A.

Anote sus observaciones:

.....

.....

.....

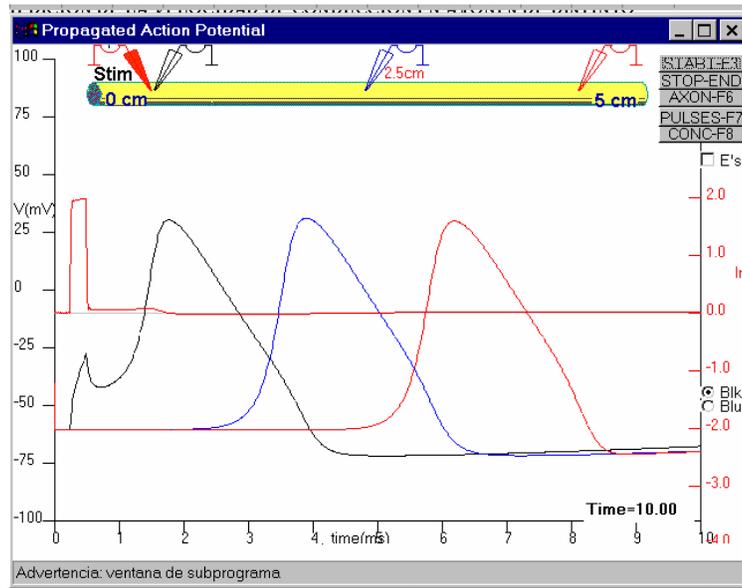
.....

.....

.....

**III: MEDICIÓN DE LA VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN EN AXONES DE DISTINTO DIÁMETRO.**

a )Desde el menú principal de **Nerve**, haga click sobre **"Reset parameters"** y active la ventana de **"V vs t propagated AP"**. Esta ventana muestra al axón con 3 microelectrodos (negro, azul y rojo) de registro además del electrodo de estimulación. En el gráfico de la parte inferior, los trazados de potencial versus tiempo en cada electrodo están con el color correspondiente. El microelectrodo central(azul) se puede desplazar arrastrándolo con el mouse (la distancia en cm con respecto al microelectrodo de la izquierda se muestra en forma interactiva). Usando el máximo (valor más positivo) del PA como punto de referencia, mida la velocidad de conducción del PA para un axón de las siguientes dimensiones.



Radio del axón (micrones)	Estímulo PULSE1 ( Amperes)	s(cm)	t (ms)	Velocidad de conducción (cm/s)
50	1			
238*	10*			
600	50			

(\*valores preestablecidos en el programa, empiece por estos)

Anote sus observaciones y conclusiones:

.....

.....

.....

.....

.....

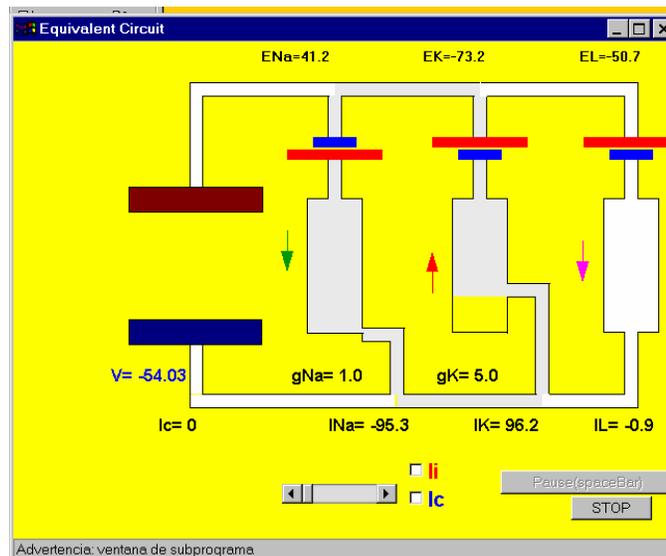
.....

#### IV.- CONDUCTANCIAS EN LA MEMBRANA. BASES IÓNICAS DEL POTENCIAL DE ACCIÓN

(MENU "EQUIVALENT CIRCUIT OF THE AXON" en pantalla inicial).

En esta pantalla se presenta el circuito eléctrico equivalente asociado a la membrana de una célula excitable, en ella se encontrará con elementos eléctricos familiares que constituyen lo que se llama un circuito RC. La idea es que Ud. pueda asociar los cambios en el  $V_m$ , con las rutas iónicas específicas que operan en el desarrollo de una respuesta activa.

a) Al activar la opción "INTERACTIVE CIRCUIT" se presenta en la pantalla un esquema con un condensador, una conductancia de fuga ("leak") además de dos conductancias  $G_{Na}$  y  $G_K$ , el valor de estas conductancias se puede modificar arrastrando el mouse (manteniendo oprimido el botón izquierdo sobre la barra de la conductancia). **Note** como cambia el valor de  $V_m$  a medida que se modifica  $G_{Na}$  y  $G_K$ .

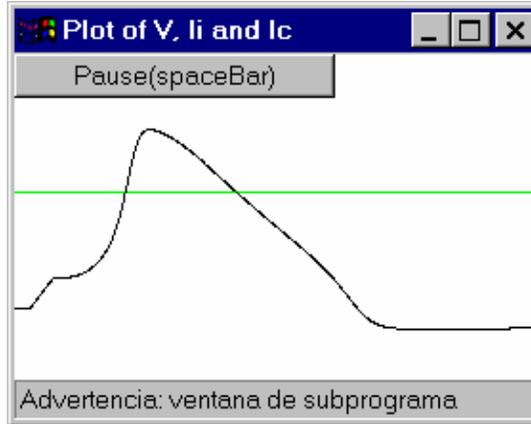


Anote sus observaciones:

.....

.....

b) Vuelva a la página previa y seleccione "**MEMBRANE AP**". Esta vez se desplegará el mismo circuito mostrando cómo cambia **V<sub>m</sub>** durante la aplicación de un pulso de corriente que despolariza la membrana y comienzan a variar las conductancias dependientes de potencial. **Note** la influencia de las conductancias en las diferentes etapas del Potencial de Acción.



Anote sus observaciones:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**V: ACCION DE AGENTES EXTERNOS SOBRE LA CONDUCTANCIA DE SODIO**

El canal de sodio dependiente de voltaje es el blanco de un arsenal de toxinas que se unen a él en sitios específicos y que producen efectos reconocibles y ampliamente estudiados. Una de estas toxinas es la Tetrodotoxina (TTX), que se une reversible y específicamente a la entrada del canal de sodio con una alta afinidad, provocando un bloqueo en la conductancia iónica del canal, finalmente impidiendo una respuesta activa.

Desde el menú principal de **NERVE** haga click sobre la opción de "**(V vs x), Propagated AP**" en la nueva ventana active el botón **CONC-F8**. En la ventana tendrá una serie de valores que corresponden a la composición iónica tanto al interior como al exterior de la célula.

Además hay un casillero para agregar diversas concentraciones de TTX, una toxina que es una de las sustancias más neurotóxicas que se conoce y que junto a otras toxinas forma parte del arsenal tóxico presente en algunas mareas rojas.

Marque en la siguiente tabla si hay o no Potencial de Acción y si existe propagación, bajo las condiciones señaladas:

	Amplitud del estímulo	Concentración de TTX	Hay PA y se propaga (Si/No)?
Control	10	0	
Ensayo 1	10	3	

La concentración de TTX está dada en nanomolar, es decir  $10^{-9}$  M, como patrón de comparación una taza de café (250 ml) endulzada con 3 sobrecitos de azúcar corresponde a 0.3 M, esto es **8 órdenes de magnitud** de diferencia.

Anote sus observaciones:

.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**NOTA: La evaluación de este trabajo práctico se hará mediante un control escrito en la semana siguiente de dicha actividad.**