

## PERMEABILIDAD DE MEMBRANAS

### Presentación:

Las membranas celulares están constituidas por una bicapa lipídica, dentro de la cual se insertan proteínas, en una proporción variable (Figura 1). Estas proteínas pueden ser periféricas o integrales, según atraviesen o no la bicapa lipídica). También es común la presencia de hidratos de carbono, asociados a lípidos y proteínas, siempre orientadas hacia la fase externa .

Las membranas confieren a las células su individualidad, al separarlas del medio que las rodea y regular la entrada y salida de solutos (permeabilidad selectiva). Las células eucariotas contienen además membranas internas que delimitan organoides, tales como mitocondrias, cloroplastos, lisosomas, etc.

Para que las membranas cumplan sus funciones biológicas, deben encontrarse en estado fluido, lo que implica un constante movimiento de las moléculas que las constituyen. Dicha fluidez no sólo depende de factores ambientales como la temperatura, sino también de su composición química. De este modo, hasta los seres vivos más simples han desarrollado mecanismos que les permiten modificar la composición lipídica de sus membranas para obtener una fluidez adecuada. Para ello, a bajas temperaturas, las células son capaces de incrementar la proporción de ácidos grasos insaturados, lo que determina un menor empaquetamiento de las moléculas, y así una mayor fluidez.

El transporte de solutos a través de las membranas, depende de varios factores, entre los que se destacan su polaridad y tamaño. Las sustancias apolares difunden libremente a través de la bicapa lipídica, mientras que las polares encuentran una importante barrera en la porción hidrofóbica constituida por las colas de los ácidos grasos.

En lo que respecta al tamaño, en el caso de sustancias orgánicas, a mayor masa molecular, menor velocidad de transporte. Sin embargo, para iones hay que considerar el radio solvatado, y su relación inversa con la masa atómica (por ejemplo, el  $\text{Li}^+$  presenta una masa atómica menor que el  $\text{K}^+$ , y por ende un mayor radio solvatado, lo que hace que su velocidad de transporte sea menor).

El agua, pese a que es una molécula polar, es una de las sustancias que más fácilmente atraviesa las membranas celulares, a través de poros denominados "acuoporinas".

Este trabajo práctico tiene como objetivos:

- Estudiar los factores que afectan la estructura y fluidez de las membranas biológicas.
- Observar en preparados microscópicos las consecuencias del movimientos del agua a través de las membranas.

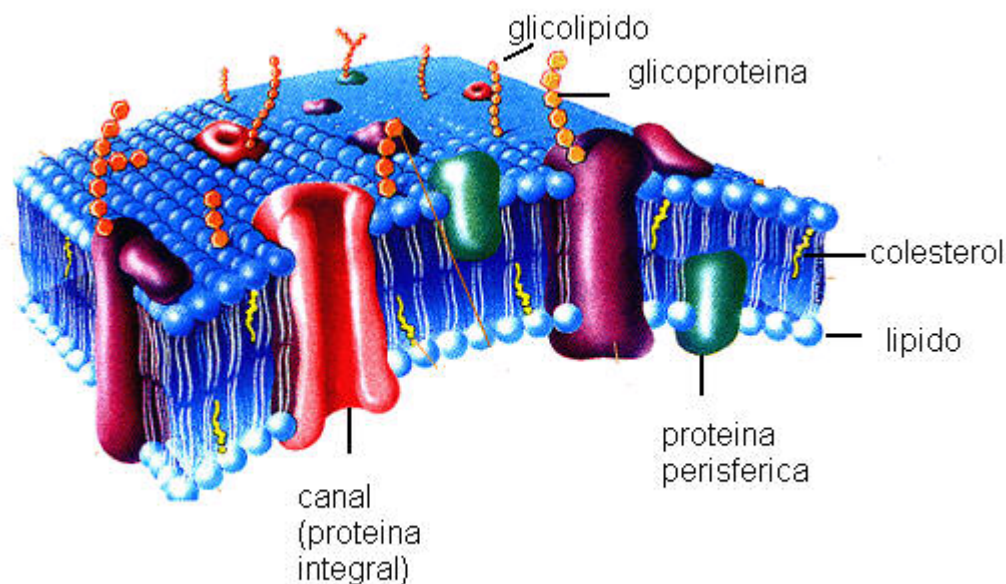


Figura 1: Estructura de una membrana celular. Advértase la ubicación de los hidratos de carbono asociados a lípidos y proteínas. Adaptada de: [http://.puc.cl/sw\\_educ/neurociencias/html/047.html](http://.puc.cl/sw_educ/neurociencias/html/047.html)

### Aspectos teóricos necesarios:

La Cátedra aconseja realizar una profunda revisión de los siguientes temas:

- Composición química de las membranas celulares: estructura de los lípidos derivados del glicerol y de la esfingosina .
- Tipos de transporte a través de membrana

### Actividades:

#### **a) Factores que afectan la permeabilidad selectiva de las membranas:**

Preparación del material: retire con auxilio de un sacabocados de 1 cm de diámetro, cilindros de remolacha. Córtelos en discos de 0,5 cm de espesor, y lávelos con agua destilada, hasta que no se visualice la salida de pigmento. Seque los discos con papel de filtro, y colóquelos en tubos de ensayo (un disco por tubo). Para cada tratamiento se efectuarán tres repeticiones.

Efecto de la temperatura: someta a tres de los tubos a una temperatura de  $-15^{\circ}\text{C}$  (freezer) durante 30 minutos. Retírelos y adicione 5 ml de agua destilada y déjelos a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Adicione 5 ml de agua destilada a 18 tubos y sométalos a temperaturas de 2 (heladera), 10, 25 (temperatura ambiente), 40, 50 y  $60^{\circ}\text{C}$ , durante 15 minutos, con agitación ocasional. Retire los discos, y lea absorbancia de los extractos a 540 nm. Si los valores de absorbancia fueran muy elevados, diluya de igual manera todos los tubos.

Efecto de solventes orgánicos proceda como se indicó en el ítem anterior, colocando los discos en 5 ml de agua, benceno 50% y xileno 50%. Agite y lea absorbancia 540 nm.

Efecto del  $\text{Ca}^{2+}$ , EDTA y  $\text{H}_3\text{BO}_3$ : esta vez, adicione a los tubos 5 ml de: agua destilada (testigo), EDTA,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , EDTA +  $\text{CaCl}_2$ , EDTA +  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 3 mM. Deje los tubos a temperatura ambiente durante 40 minutos, y lea absorbancia a 540 nm. Si los valores de absorbancia fueran muy elevados, diluya de igual manera, todos los tubos.

Efecto del Tween 20: esta vez, adicione a los tubos 5 ml de: agua destilada (testigo), y soluciones de Tween 20, al 0,25; 0,50; 2,50; 5,00 y 10,00% v/v. Deje los tubos a temperatura ambiente durante 40 minutos, y lea absorbancia a 540 nm. Proceda como se describió en los ítems anteriores.

#### Preparación del informe:

Calcule el valor medio de absorbancia de cada tratamiento, y represente los resultados obtenidos en gráficos de barras. Discútalos y justifique las observaciones.

#### **b) Observaciones microscópicas:**

Con ayuda de una aguja histológica, extraiga porciones de epidermis de catáfilas de cebolla, y colóquelas en cajas de petri conteniendo agua destilada, y soluciones de sacarosa 0,25; 0,50 y 1,00 M durante 5 minutos. Colóquelas entre porta y cubreobjetos, con una gota de la solución de incubación, y observe a diferentes aumentos. Dibuje y discuta los resultados.

#### Cuestionario:

- 1- Discuta cual es el efecto de temperaturas extremas (ej: -15, 50, 60°C) sobre la permeabilidad selectiva de las membranas celulares.
- 2- Investigue cual es el efecto del EDTA sobre la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  celular, y sobre la permeabilidad de las membranas.
- 3- Considerando las propiedades químicas del ion  $\text{BQ}^{-3}$ , interprete los resultados obtenidos al incubar el material vegetal en presencia de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ .
- 4- Evalúe el efecto del Tween 20, teniendo en cuenta las propiedades de los detergentes.

#### Bibliografía recomendada

- Campbell, N., Reece, J.B., Mitchell, L.G.2000. **Biology**, 6ta. edición. The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Redwood City, California, USA.
- Lehninger, A.L., Nelson, D. y Cox, M. 1993. **Principles of Biochemistry**, 2da edición. Worth Publishers, New York, USA.

Recursos de INTERNET:

En la siguiente dirección encontrará una síntesis del tema, en castellano, con esquemas muy didácticos:

<http://www.arrakis.es/~lluengo/membrana.html>