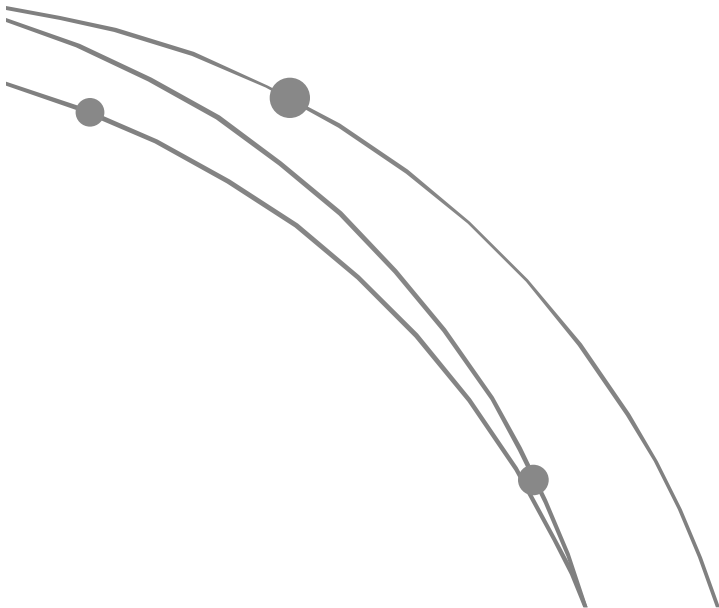


Difusion y Ley de Fick

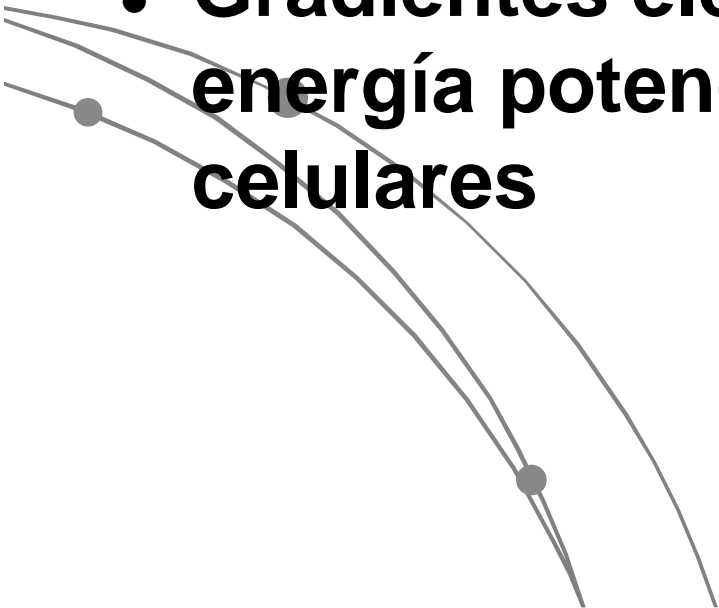
BT3102

Ziomara P. Gerdtzen



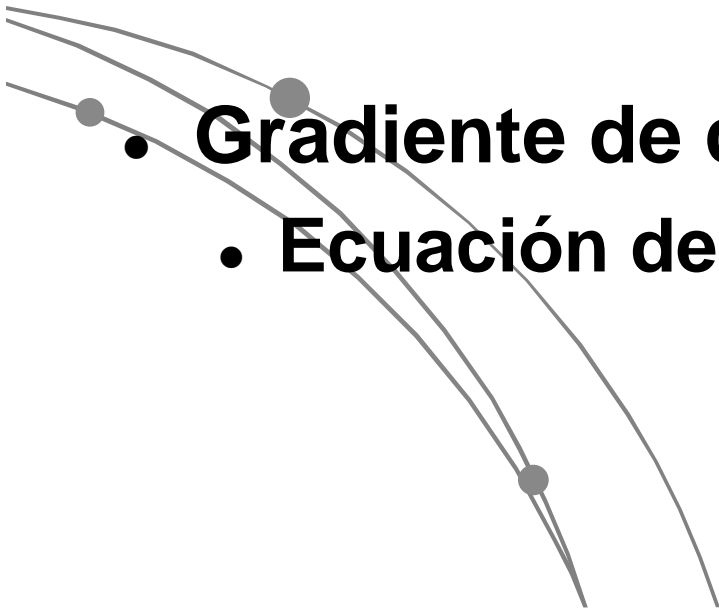
Compartimentalización

- **Membranas permiten la separación de especies cargadas produciendo gradientes de concentración y carga.**
- **Gradientes electroquímicos fuente de energía potencial para dirigir procesos celulares**



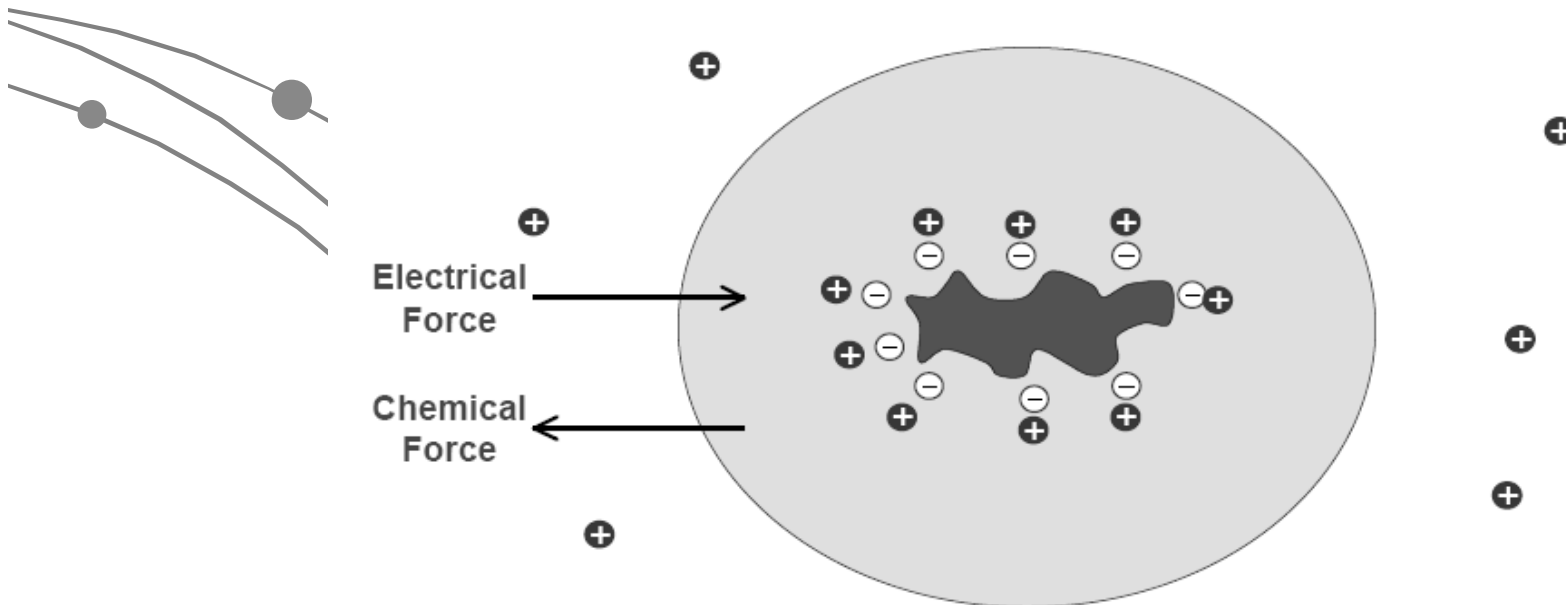
Transporte a través de la membrana

- Transporte activo (energía)
- Gradiente de concentración (difusión)
 - Ley de Fick
- Gradiente de carga
 - Ecuación de Nernst



Formación de Gradientes Iónicos

- **Proteínas cargadas (-) a pH fisiológico. Acumulan cargas negativas**
- **La célula es permeable a potasio (K^+). Balance de carga genera gradiente de concentración**



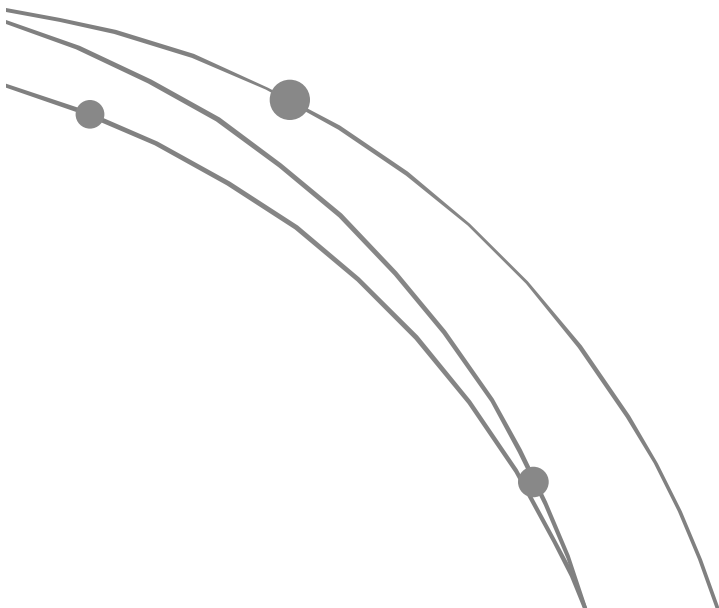
Ley de Fick

- **1ª ley - Flujo en estado estacionario**

$$J_i = -D \frac{\partial c_i}{\partial x}$$

- **2ª ley - Flujo en estado no estacionario**

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}$$

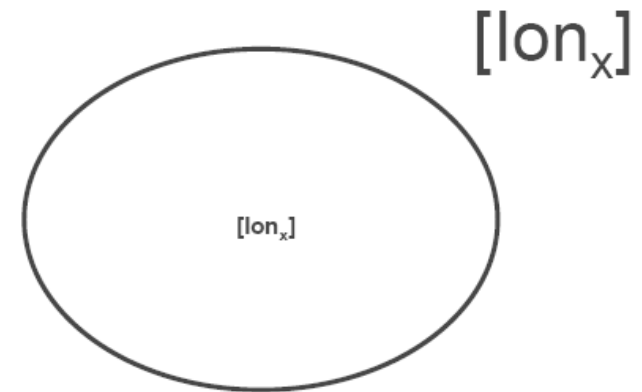


Ecuacion de Nernst

$$\frac{\partial \psi_i}{\partial x} = -\frac{RT}{zF} \frac{1}{c_i} \frac{\partial c_i}{\partial x}$$

$$\psi_i^{\text{In}} - \psi_i^{\text{Out}} = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{c_i^{\text{In}}}{c_i^{\text{Out}}}$$

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{X^{\text{Out}}}{X^{\text{In}}}$$



V: Voltaje en Volts

R: constante universal de los gases, $8.314510 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T: temperatura en kelvin. (Kelvin = $273.15 + ^\circ\text{C}$.)

F: Constante de Faraday (carga por mol de electrones) $9.6485309 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$

z: numero de electrones

Properties

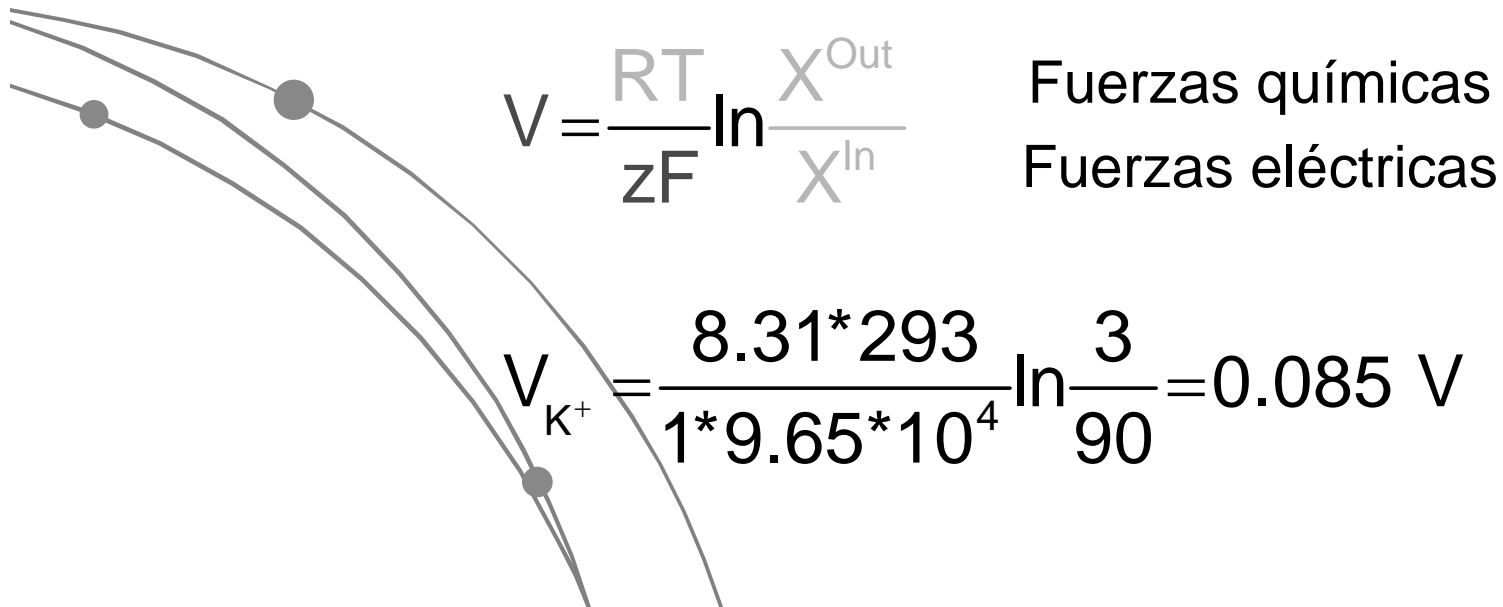
	Inside	Outside	E_{ION}
Potassium	90 mM	3 mM	?
Sodium	30 mM	120 mM	?
Chloride	3 mM	90 mM	?

- **Diferencia de potencial asociada a potasio (K+) a 20°C**

$$V_{\text{K}^+} = \frac{8.31 \cdot 293}{1 \cdot 9.65 \cdot 10^4} \ln \frac{3}{90} = 0.085 \text{ V}$$

Potencial de Nernst para K⁺

- El potencial de nernst para K⁺ es su potencial de equilibrio. El voltaje a través de la membrana (interior vs. exterior) donde fuerzas químicas y eléctricas actuando sobre el ion están en equilibrio y no hay flujo neto

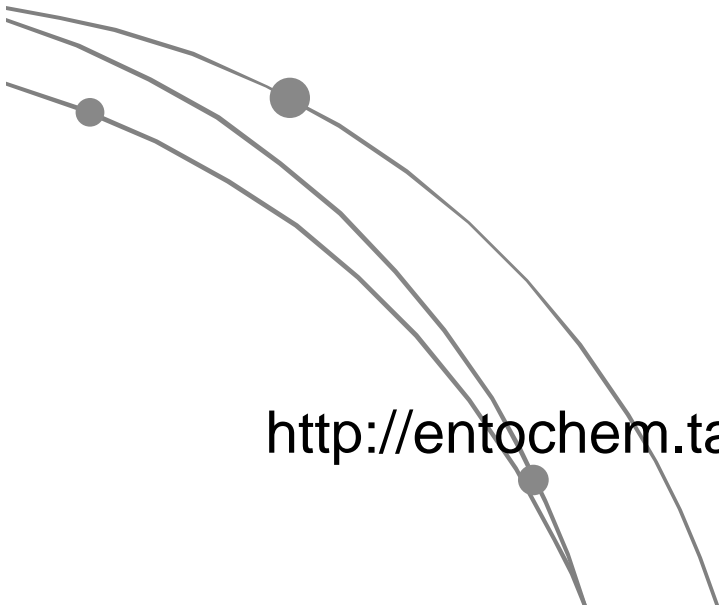


-
- **Membrana celular selectivamente permeable a K^+ . Potasio define el potencial basal de membrana e impulsa muchos procesos celulares**

- 
- **Imponer potenciales externos altera el equilibrio de potasio (células excitables)**

$$V_{\text{Cl}^-} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{\text{Cl}^{\text{Out}}}{\text{Cl}^{\text{In}}}$$

- **Distribucion de Cl- similar a K-.**
- **Similar potencial**

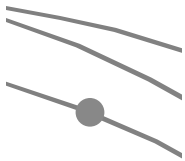


<http://entochem.tamu.edu/Gibbs-Donnan/index.html>

Tarea

P1. Dimensiones en Biología Celular:

- a) Indique el rango de tamaño de una célula eucarionte, y en particular, el tamaño aproximado de un Hepatocito. Suponiendo que éste tiene geometría esférica, calcule su área superficial, volumen, y la razón entre estos dos valores. (0,5p)
- b) Indique el tamaño aproximado de una Eritrocito. Suponiendo que éste tiene geometría esférica, calcule su área superficial, volumen, y la razón entre estos dos valores. (0,5p)
- c) Indique el rango de tamaño de una célula procarionte, y en particular, el tamaño aproximado de la bacteria *Escherichia coli*. Suponiendo que ésta tiene geometría esférica, calcule su área superficial, volumen, y la razón entre estos dos valores. (0,5p)
- d) Compare las razones determinadas en a), b) y c) y comente al respecto, ¿Qué relevancia tienen estos valores en cuanto al transporte a través de la membrana? ¿Cómo se relaciona esto con el tipo de célula y su función correspondiente? (1,5p)
- e) Indique la composición de la membrana de una célula eucarionte. Suponiendo que solo se constituyera de fosfolípidos, que la cabeza de cada una de estas moléculas cubriera un área de 1.5 nm^2 , y que el área superficial de la célula fuera la calculada en b), determine la cantidad de fosfolípidos necesarios para conformar la membrana plasmática. (1p)
- f) Determine el número de Eritrocitos presentes en la sangre de un hombre adulto (para ello debe averiguar datos al respecto). ¿Cuántas moléculas de fosfolípidos serían necesarias para formar la membrana de ese número de Eritrocitos? Comente acerca del orden de magnitud del resultado. (1p)
- g) ¿Cuántas moléculas de fosfolípidos serían necesarias para formar la membrana de los Hepatocitos que conforman el tejido hepático de un hígado de 1000 cm^3 ? Detalle los datos y supuestos utilizados y los cálculos correspondientes. Comente acerca del orden de magnitud del resultado. (1p)



P2. Transporte a través de la membrana, Ley de Fick y Ecuación de Nernst:

- a) Si el coeficiente de partición para el ión sodio (Na^+) en la membrana lipídica, versus agua, es $K_{\text{Na}^+} = 1.5 \cdot 10^{-9}$, ¿Qué se puede interpretar al respecto? ¿Dónde prefieren estar los iones y por qué? (1p)
- b) Si $D_{\text{Na}^+, \text{Lípido}} = 10^{-9} \text{ [m}^2 / \text{s]}$ y la concentración de iones sodio es de 150mM en el medio extracelular y 15mM en el intracelular (citoplasma), calcule el flujo neto de sodio hacia la célula en $[\text{moléculas} / \text{m}^2 \text{ s}]$. (1p)
- c) Considerando el área superficial calculada en la parte b) de la pregunta 1, calcule el flujo de iones por segundo que serán transportados hacia la célula por difusión a través de la membrana. (1p)
- d) Compare el número de iones sodio transportados con el número de dichas moléculas dentro de la célula. Comente. (1p)
- e) Determine la tasa a la que se deben bombear iones desde la célula hacia el medio extracelular para mantener una condición de equilibrio. (0,5p)
- f) En esta situación de equilibrio (estado estacionario), en que se mantienen las concentraciones de ión sodio extra e intracelular indicadas, calcule la diferencia de potencial a través de la membrana, a una temperatura de 37° C . ¿Cuál sería el potencial si las concentraciones fueran de 200 mM (extracelular) y 5 mM (intracelular)? Comente. (1,5p)

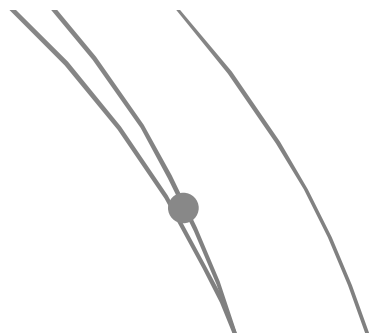
P3. Modelación computacional del proceso de fagocitosis de patógenos por parte de un macrófago:

La fagocitosis es un caso particular de endocitosis, que consiste en la ingestión por parte de una célula, de grandes partículas tales como microorganismos o restos celulares, mediante grandes vesículas, denominadas fagosomas. Un ejemplo de esto es la ingestión de bacterias que realizan los macrófagos, células eucariontes especializadas. A continuación se presenta información relevante respecto de este proceso:

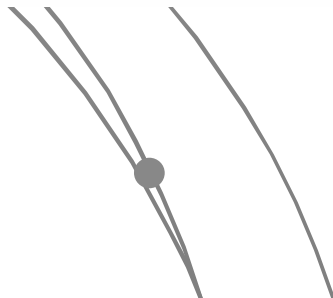
- Se inicia por el reconocimiento ligando-receptor, entre los receptores Fc de membrana del macrófago y los anticuerpos que cubren la región Fc de la bacteria.
- Dicho reconocimiento depende tanto de la concentración de bacterias en el medio, como de la concentración de receptores en la membrana del macrófago.
- Si hay más de una especie de bacterias en el medio, los receptores Fc tienen distinta afinidad para el reconocimiento. Considere que hay dos especies en este problema.
- El complejo ligando-receptor formado con cada especie no es del todo estable, puede disociarse. En caso que esto no ocurra, puede formarse el llamado fagosoma por invaginación de la membrana del macrófago. Considere que el fagosoma es el mismo independientemente de la especie de bacteria fagocitada.
- El fagosoma puede interactuar con el lisosoma e ingresar a él.
- Dentro del lisosoma, el fagosoma puede ser degradado, a partir de lo cual se obtienen moléculas de distinto tipo.
- Estas moléculas pueden ser reutilizadas, entre otras cosas, para formar nuevos receptores Fc.
- Los receptores Fc del medio intracelular pueden asociarse a la membrana, aunque ésta no es una interacción del todo estable, por lo que puede haber disociación.
- El crecimiento de cada especie de bacterias depende de la concentración de las mismas.

Tabla N° 1: Variables de modelación del proceso de Fagocitosis

Variable	Definición
Fc	Concentración de receptores Fc en la membrana
Fc, cit	Concentración de receptores Fc en el medio intracelular
Bact1	Concentración de bacterias especie 1 en el medio extracelular
Bact2	Concentración de bacterias especie 2 en el medio extracelular
Fc, bact1	Concentración del complejo Fc-bacteria especie 1 en la membrana
Fc, bact2	Concentración del complejo Fc-bacteria especie 2 en la membrana
Fag, cit	Concentración del fagosoma en el citosol
Fag, lis	Concentración del fagosoma en el lisosoma
Mol	Concentración de moléculas generadas por degradación del fagosoma



-
- a) Escriba los balances (ecuaciones diferenciales) para cada una de las variables listadas en la Tabla N° 1. (1,5p)
- b) Escriba un programa en Matlab o un software similar para resolver el sistema de ecuaciones planteado en la parte a). El archivo con el código del programa debe ser entregado adjunto con la tarea y debe contener frases explicativas. (1,5p)
- c) Utilizando el programa de la parte b) grafique cada una de las variables como función del tiempo, utilizando los datos de la Tabla N° 2, y considerando que las concentraciones iniciales son cero, excepto para Bact1 = 0,1[μ M], para Bact2 = 0,05[μ M], y para Fc = 1[μ M]. Realice un gráfico para cada variable por separado e interprete cada uno de ellos en términos del proceso biológico en cuestión (considere, entre otras cosas, el tiempo necesario para llegar a un estado estacionario). (1,5p)
- d) Considere ahora que la concentración inicial de Bact2 es 0,1[μ M] e interprete los gráficos resultantes (incluya los gráficos en su respuesta). ¿Qué implicancia biológica se deduce del gráfico de la concentración de bacterias especie 2 en el tiempo? (1,5p)

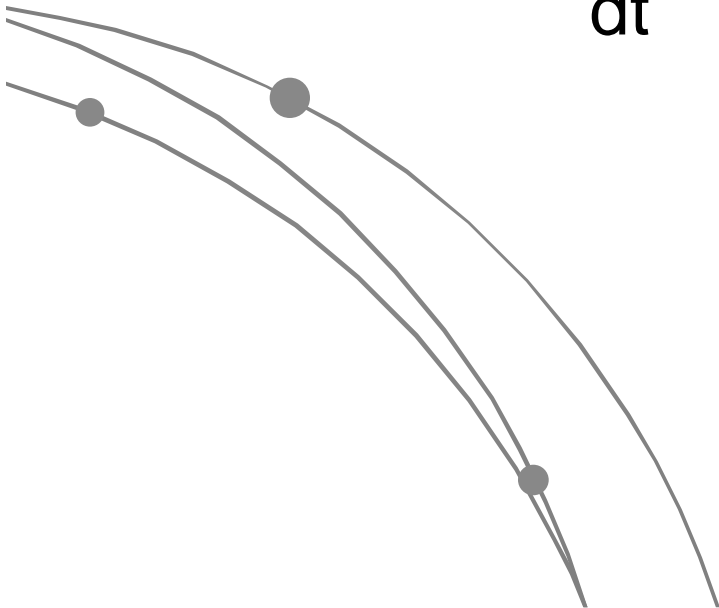


Ejemplo Matlab

- Oscilador de Van der Pol

$$\frac{dx}{dt} = y$$

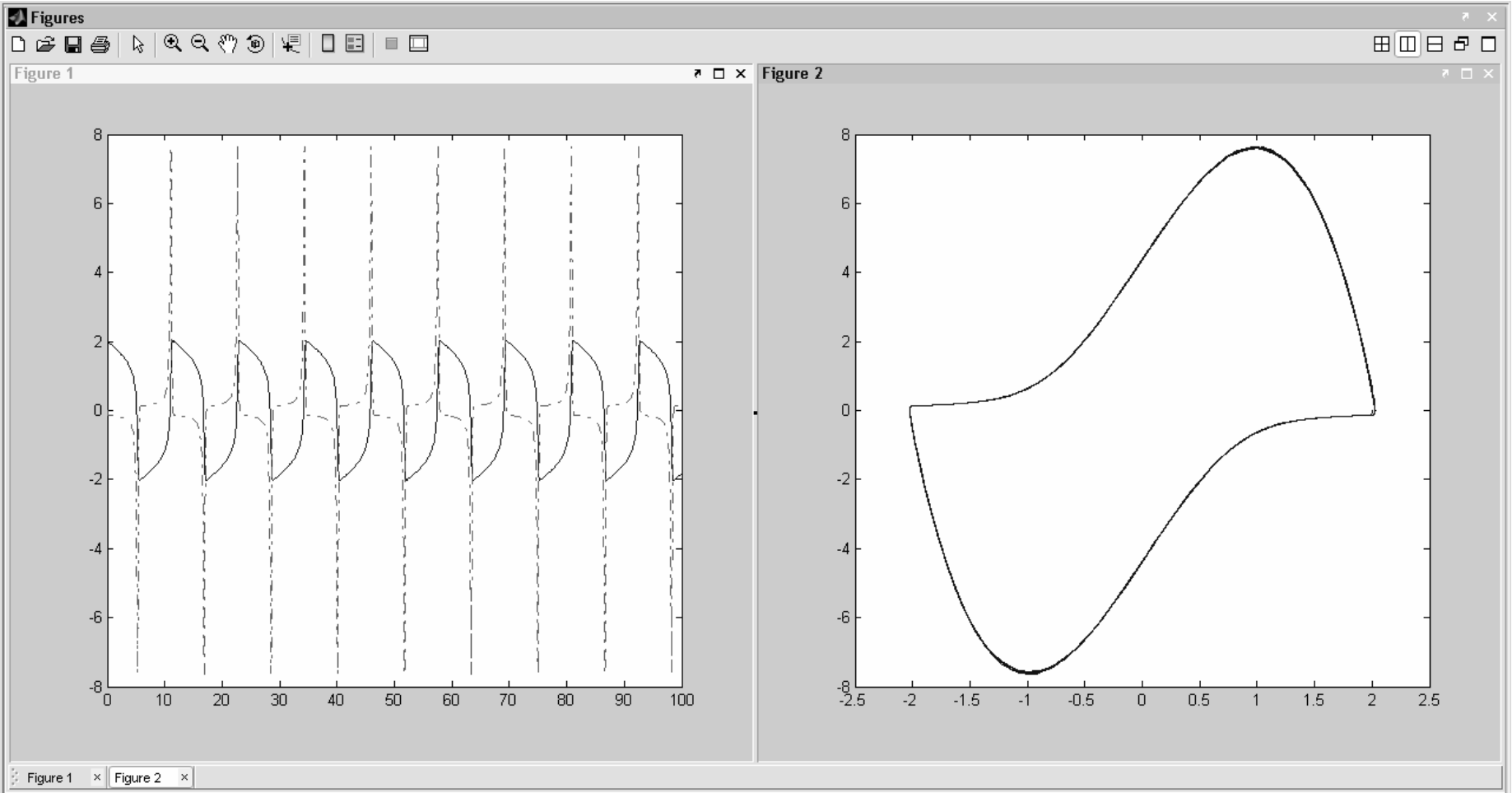
$$\frac{dy}{dt} = x - \mu^*(x^2 - 1)*y$$



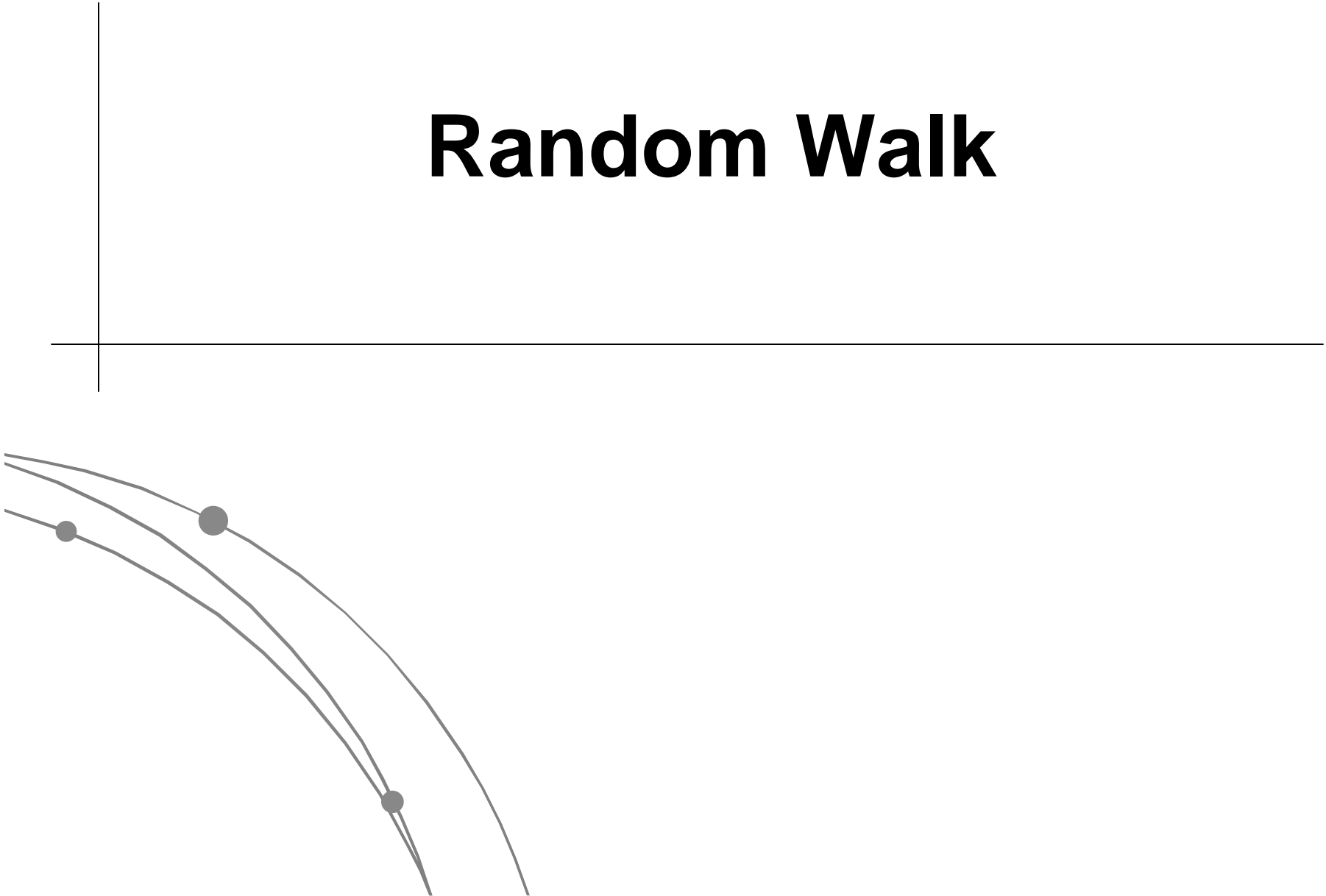
The image shows a MATLAB IDE window with two script files open. The left window, titled 'C:\Documents and Settings\Zio\Desktop\vdp.m', contains a function definition for 'vdp'. The right window, titled 'C:\Documents and Settings\Zio\Desktop\Solve_vdp.m', contains a script that calls the 'vdp' function and plots the results.

```
C:\Documents and Settings\Zio\Desktop\vdp.m
1 function dy = vdp(t,y)
2 - dy=zeros(2,1);
3
4 *****
5 % Ejemplo para uso de ode15
6 % Sistema de Van der Pol, que corresponde a un s
7 % de primer orden acopladas para un oscilador am
8 *****
9
10 % Parametros
11 *****
12
13 - mu = 5;
14
15 % Ecuación
16 *****
17
18 - dy(1) = y(2);
19 - dy(2) = mu*(1-y(1)^2)*y(2) - y(1);
20
21 % Esto define el sistema de ecuaciones a resolver
22
23

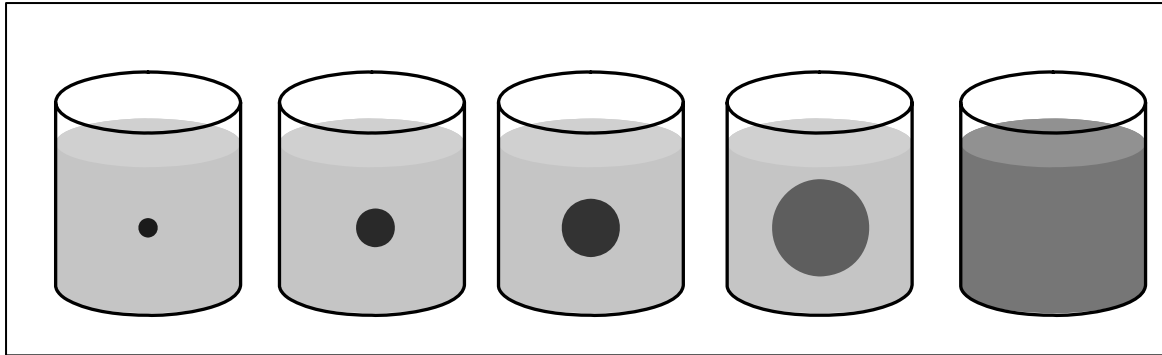
C:\Documents and Settings\Zio\Desktop\Solve_vdp.m
1 *****
2 % Este archivo se ejecuta, llama al archivo vdp
3 % de ecuaciones, lo resuelve y grafica.
4 *****
5
6
7 % Intervalo de tiempo
8 *****
9
10 - tspan=[0 100] % [h]
11
12 % Condiciones Iniciales
13 *****
14
15 - z0=[2; 0];
16
17 % Solver
18 *****
19
20 - [t,z] = ode45('vdp',tspan,z0);
21
22 % Grafico
23 *****
24
25 - figure;
26 - plot(t,z(:,1),'-',t,z(:,2),'-.');
27 - figure;
28 - plot(z(:,1),z(:,2))
29
```



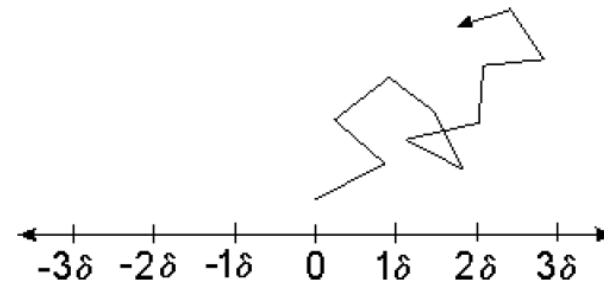
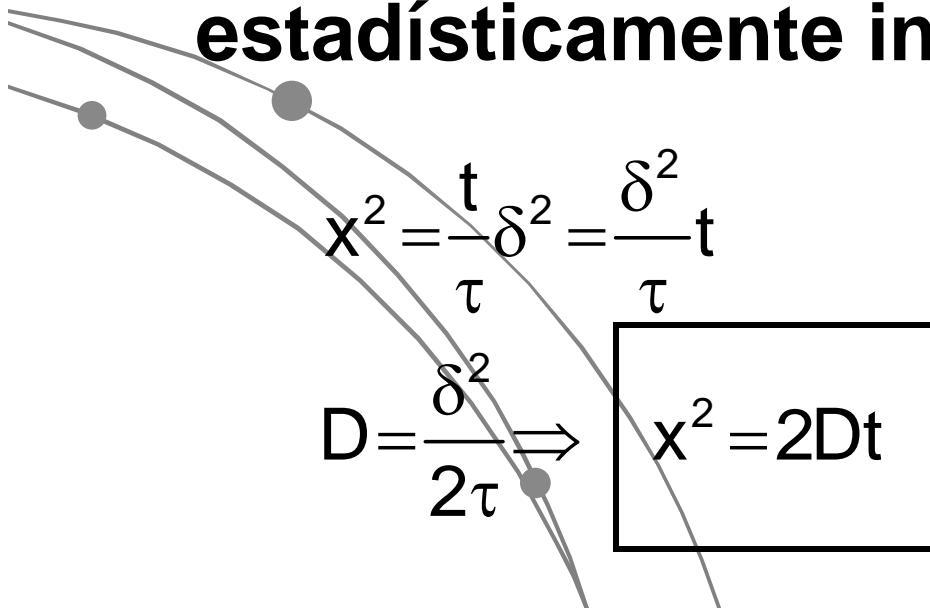
Random Walk



Random Walk y Coeficiente de Difusión

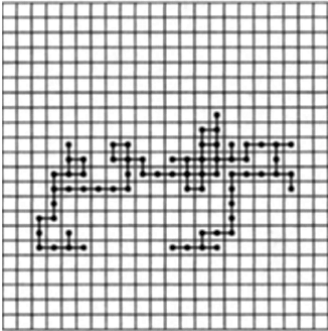


- **Random Walk: pasos sucesivos son estadísticamente independientes**



Random Walk

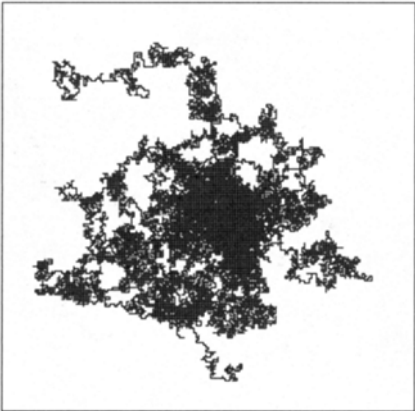
2-dimensional Random Walk



1 particle
100 steps



1 particle
2000 steps

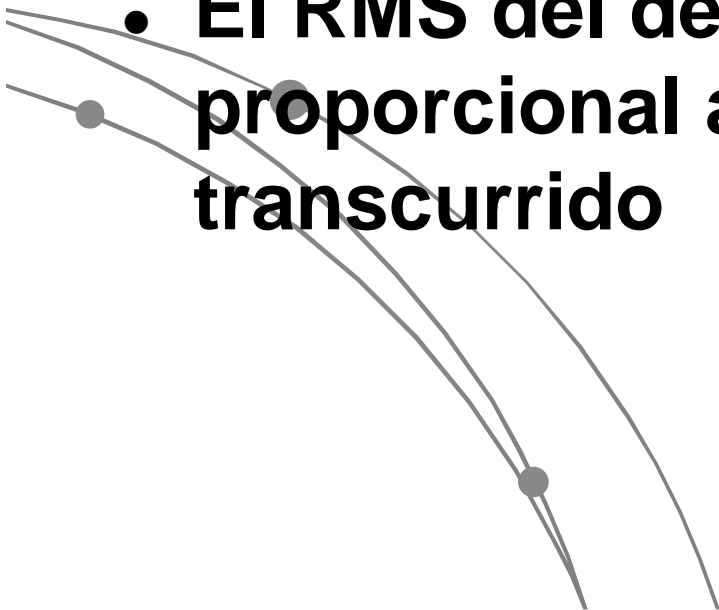


20 particles
2000 steps



1,000,000 particles
2000 steps

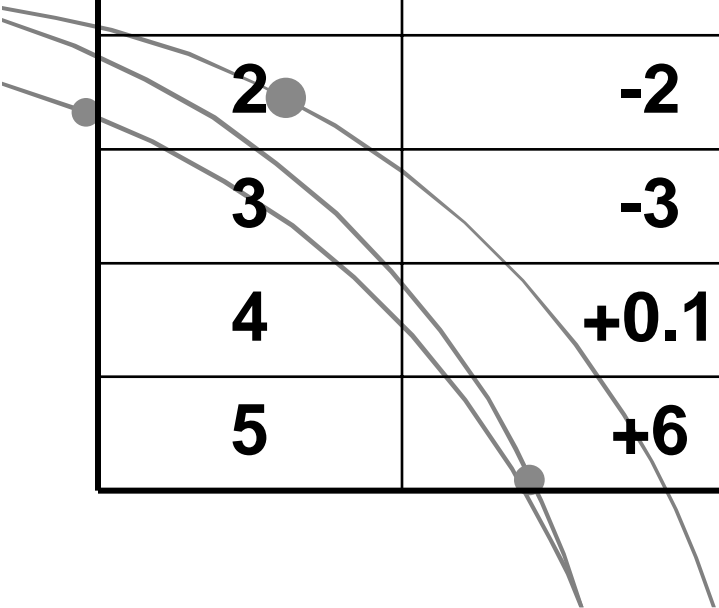
-
- **Difusion molecular impulsada por energía térmica**
 - **Una partícula se mueve por random walk**
 - **En promedio, no hay desplazamiento**
 - **El RMS del desplazamiento es proporcional a la raíz del tiempo transcurrido**



Desplazamiento de Partículas en el Citoplasma

- Cinco partículas monitoreadas por videomicroscopia, en 1 seg

Partícula	Desplazamiento X um
1	+4
2	-2
3	-3
4	+0.1
5	+6



$$x^2 = 2Dt$$

Stokes-Einstein Equation

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\mu r}$$

Partícula	X um	D m ² /s	r nm
1	+4	8e-12	28.4
2	-2	2e-12	113.5
3	-3	4.5e-12	50.5
4	+0.1	5e-15	45423.7
5	+6	1.8e-11	12.6
Mediana		3.25e-12	50.5

$$D = \frac{x^2}{2t}$$

$$r = \frac{k_B T}{6\pi\mu D}$$

-
- **Con $D=3.35 \text{ e-}12 \text{ m}^2/\text{s}$, para que la partícula se desplace 1m**

$$t = \frac{x^2}{2D} = \frac{1^2}{2 * 3.25 * 10^{12}} = 1.5 * 10^{11} \text{ seg}$$

muchos años!

- **Cómo un organismo grande puede entonces transportar nutrientes**

Desplazamiento de células

- En agua en 1 minuto, estimado de acuerdo a su diámetro

Partícula	r um	D m ² /s	x um
Virus	0.05	4.5e-12	0.23
Bacteria	0.5	4.5e-11	7.38
Célula Animal	5	4.5e-10	2.33

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\mu r}$$

$$x = \sqrt{2Dt}$$