

El volumen celular

Dr. Francisco C Herrera

Centro de Biofísica y Bioquímica, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas.

RESUMEN

Las células mantienen un volumen constante por la isosmoticidad de las soluciones a ambos lados de la membrana celular, a pesar de que el interior celular es rico en potasio y pobre en sodio, contrariamente al medio extracelular.

Esta diferencia de composición depende de la inmovilización de iones a uno o ambos lados de la membrana. La impermeabilidad absoluta de la membrana a un ion conduce a una distribución particular de los difusibles, caracterizada por la igualdad de los productos de aniones por cationes a ambos lados de la membrana, el equilibrio de Donnan o el doble Donnan, equilibrios, que consecuentemente, son incapaces de realizar trabajo químico. Otro modelo donde se asocian flujos activos de potasio hacia el interior celular y de sodio hacia el exterior, flujos pasivos de los mismos en sentido contrario, la bomba-fuga, sugiere la existencia de fracciones de potasio intracelular y sodio extracelular, operativamente inmovilizadas que generan una distribución iónica análoga al Donnan, el doble Donnan parcial, un estado estacionario capaz de realizar trabajo electroquímico. La invariabilidad de las concentraciones intracelulares depende de la energía metabólica consumida por la bomba iónica y del sodio y cloruro extracelulares. La constancia del medio intracelular explica también el comportamiento osmótico de las células: las variaciones de volumen de éstas son inversamente proporcionales a las de las concentraciones del medio extracelular.

Este modelo permite interpretar los trastornos asociados a la isquemia y acidosis celulares. El bloqueo metabólico paraliza la bomba y las fracciones inmóviles de los iones dejan de serlo, su distribución se aproxima a la del Donnan clásico con el consecuente influjo de sodio, cloruro y agua al interior celular, resultando en el hinchamiento y destrucción de las células.

Palabras clave: Volumen celular. Donnan. Doble Donnan parcial. Regulación iónica. Regulación osmótica.

SUMMARY

Cells maintain a constant volume and isosmoticity with the extracellular medium despite the high potassium and low sodium concentrations of the intracellular medium in contrast with the high sodium and low potassium concentration of the external medium.

These concentration differences depend on the immobilization of ions at one or both sides of the cell membrane. Absolute impermeability of the membrane to an ion leads to an ionic distribution characterized by the equality of the ionic products on both sides of the membrane, the Donnan equilibrium. Equilibria are, by definition, incapable of performing electrochemical work, therefore, the classical Donnan is an insufficient model for cell/medium ion distribution. A model which proposes active cellward potassium flux and active sodium extrusion by the cells associated with reverse passive fluxes of both ions, the pump-leak model, model suggests the existence of operationally immobilized fractions of intracellular potassium and extracellular sodium which would generate a Donnan-type ionic distribution, the partial double Donnan. This steady-state model is capable of performing chemical and electrical work. The constancy of cell composition, which depends on metabolic energy required by the pump, explains the osmotic behavior of the cells: cell volume varies inversely with extracellular medium concentration.

This model explains cell damage associated with ischaemia and acidosis. Cessation of metabolism paralyzes the ionic pump allowing the immobilized ionic fractions to distribute according to the Donnan relation imposed by the impermeant intracellular ions. Sodium, chloride and water consequently enter the cells leading to their swelling or disruption.

Key words: Cellular Volume. Donnan. Partial Double Donnan. Ionic Regulation. Osmotic Regulation.

Presentado en la Academia Nacional de Medicina el 28 de noviembre de 1996.

INTRODUCCIÓN

El mantenimiento del volumen celular es un proceso extremadamente complejo y de importancia fundamental en la economía animal. En general, las células del organismo mantienen un volumen constante y, sólo en ciertas especies y determinadas condiciones fisiológicas, se observan variaciones de volumen que deben ser corregidas so pena de trastornos patológicos irreversibles. En patología, el trastorno del volumen celular puede jugar un papel muy importante y conducir a consecuencias funestas.

Así pues, lejos de ser un proceso trivial como podría pensarse, en base a la suposición de una igualdad de presión osmótica entre el interior celular y el medio extracelular, la precisa regulación del volumen celular es un proceso muy complejo que dista mucho de estar completamente dilucidado.

Esto no quiere decir que en algunos invertebrados no exista tolerancia, dentro de ciertos límites, a los cambios de volumen celular (con posterior retorno al volumen normal) que les sirve de estrategia de supervivencia. El estudio de estos animales inferiores ha permitido arrojar luz sobre algunos de los fenómenos osmóticos involucrados en la regulación iónica e hídrica del medio intracelular.

Antes de entrar a estudiar los fenómenos relacionados con la homeostasis del volumen celular, hay que considerar dos situaciones:

- mantenimiento del volumen celular en ausencia de variaciones osmóticas o de concentración del medio extracelular y
- regulación del volumen celular ante variaciones osmóticas.

En esta revisión sólo se considerará el primer caso, el mantenimiento del volumen celular en condiciones isosmóticas y algunas consecuencias patológicas del fracaso del proceso.

Cuatro principios fundamentales determinan el volumen celular:

- El equilibrio osmótico o termodinámico del agua a ambos lados de la membrana celular. En otras palabras, ausencia de tendencia del agua a migrar a través de la membrana celular.
- Los productos de las concentraciones de los iones positivos, cationes, y negativos, aniones, son iguales a ambos lados de la membrana celular: el

llamado equilibrio de Donnan. Este concepto, como se verá, requiere de ciertas modificaciones para ajustarlo a lo que se ha observado experimentalmente, pues la célula no se encuentra en equilibrio. El estado termodinámico que mejor describe el de las células es el estacionario. Este se define como el mantenimiento de la invariabilidad de las propiedades y características de un sistema u organismo mediante el expendio de energía.

- Mantenimiento obligatorio de la electro-neutralidad a ambos lados de la membrana, idéntico número de aniones y cationes a cada lado de la membrana.
- La diferencia de presión hidrostática, entre el interior y el exterior celular, es despreciable en las células animales debido a que sus membranas son fácilmente distensibles y no son capaces de mantener diferencia de presión (1).

Las cuatro circunstancias antes mencionadas resultan en una tendencia permanente al hinchamiento celular, por acumulación en éstas de líquido extracelular, a pesar de la isosmoticidad (o igualdad de concentración) de los medios intra y extracelulares. En otras palabras, el mantenimiento del volumen celular, aun en soluciones isosmóticas con el medio intracelular, requiere un gasto continuo de energía. Por otra parte, muchos tipos de células estarían provistos de complejos mecanismos de regulación de su volumen, al variarse la osmolaridad del medio externo.

La necesidad de mantener el equilibrio termodinámico del agua a ambos lados de la membrana conduce a variaciones del volumen celular. Cualquier cambio de concentración de soluto a uno de los lados de la membrana, modificará la concentración de agua que migrará hasta restablecer la igualdad de concentración a ambos lados de la membrana. Hay situaciones en que ésto es imposible y la migración de agua es indetenible con la consecuente destrucción de la célula.

El equilibrio de Donnan clásico

Consideremos el siguiente sistema (Figura 1) constituido por dos compartimientos, una célula y el medio circundante. La célula se denominará lado II y el medio extracelular constituirá el lado I. Los dos compartimientos están separados por la membrana celular. Esta célula esquemática contiene una

macromolécula incapaz de atravesar la membrana celular y cada una de sus moléculas tiene n cargas negativas; representaremos su concentración por P^{-n} ; como cada molécula tiene n cargas negativas, el total de cargas negativas contribuidas por las macromoléculas será nP^{-n} . Además, dentro de la célula hay una concentración A_2 de aniones difusibles monovalentes. Tanto las cargas de los aniones difusibles como las cargas de las macromoléculas impermeables, están neutralizadas eléctricamente por una concentración exactamente igual de cationes difusibles monovalentes (y así preservan la electro-neutralidad). En términos de carga eléctrica tenemos del lado II:

$$K_2 = A_2 + nP^{-n}.$$

Del lado I no hay macromoléculas, sólo aniones y cationes difusibles monovalentes de modo que

$$K_1 = A_1$$

donde K_1 es la concentración de cationes y A_1 la concentración de aniones en el lado I, o extracelular.

Los volúmenes de ambos compartimientos se mantienen constantes durante el análisis.

Consideremos el anión A del compartimiento I. Estos aniones bombardean continuamente la membrana y podrían atravesarla, así que por puro azar esperaríamos que se incrementaran los aniones del lado II. No obstante, el anión, por razones de electroneutralidad, no puede atravesar la membrana si no va acompañado por un catión. De modo que no habrá difusión de aniones de I a II si no se presentan simultáneamente un anión y un catión ante la membrana.

Ahora, la probabilidad de que dos eventos ocurran simultáneamente es el producto de las probabilidades de que ocurran por separado, así:

Probabilidad de que A y K se presenten juntos = Probabilidad de que se presente K x Probabilidad de que se presente A

Cada uno de los términos a la derecha del signo de igualdad es proporcional, respectivamente, a las concentraciones de K y A en cada compartimiento. Por lo tanto el flujo de la sal KA de I hacia II será:

$$\text{Flujo de KA de I a II} = K_1 \times A_1 \times \text{Const.}$$

Igualmente el flujo de KA de II hacia I será:

$$\text{Flujo de KA de II a I} = K_2 \times A_2 \times \text{Const.}$$

Donde Const es la constante de proporcionalidad entre el flujo y las concentraciones que determinan la probabilidad de encontrarse un anión y un catión ante la membrana.

En el equilibrio, ambos flujos son iguales y tendremos, por lo tanto:

$$K_1 \times A_1 = K_2 \times A_2.$$

Este razonamiento probabilístico establece la igualdad de los productos de las concentraciones de los iones difusibles a ambos lados de la membrana (2).

$$K_1 + A_1$$

en el compartimiento I, por no haber otros iones.

$$K_2 = A_2 + nP^{-n}.$$

en el compartimiento II porque K_2 neutraliza tanto A_2 como las cargas nP^{-n} .

De la igualdad de los productos

$$K_1 \times A_1 = K_2 \times A_2,$$

y de

$$K_2 = A_2 + nP^{-n}$$

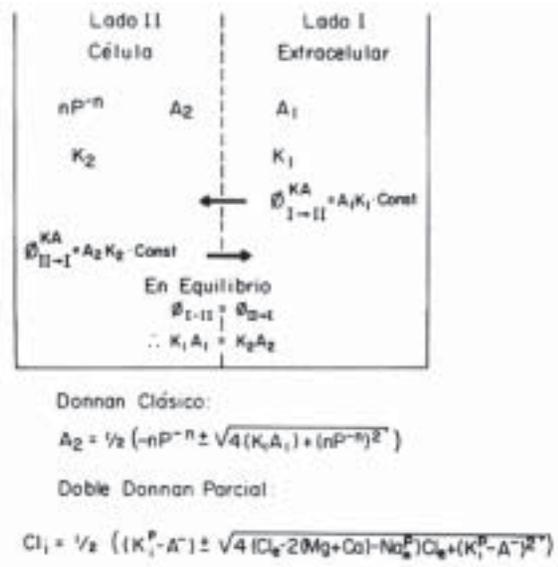


Figura 1. Esquema representativo de la distribución de Donnan en un sistema constituido por dos compartimientos separados por una membrana permeable a cationes, K, y aniones, A, e impermeable a una macromolécula P^{-n} ; nP^{-n} representa las cargas eléctricas contribuidas por P^{-n} . ϕ_{I-II} es el flujo de la sal KA del compartimiento I al II; ϕ_{II-I} es el flujo de KA en sentido contrario. Las ecuaciones del Donnan clásico y del doble Donnan parcial han sido deducidas en el texto.

se deduce que $K_1 A_1 = (A_2 + nP^{-n}) A_2$
o sea que $K_1 A_1 + (A_2)^2 + A_2 (nP^{-n})$.

Completando el cuadro en la expresión anterior podemos despejar a A_2 :

$$A_2 = -1/2nP^{-n} + 1/2 \sqrt{4(K_1 A_1) + (nP^{-n})^2}$$

y K_2 que es igual a $nP^{-n} + A_2$ será

$$K_2 = 1/2nP^{-n} + 1/2 \sqrt{4(K_1 A_1) + (nP^{-n})^2}.$$

Consideremos ahora las concentraciones a ambos lados de la membrana. Del lado I tenemos:

$$K_1 + A_1 = 2K_1 \text{ porque } K_1 + A_1$$

y además

$$K_1 A_1 = (K_1)^2$$

del lado II tenemos en términos de concentración molecular:

$$P^{-n} + A_2 + K_2$$

que sumada dan:

$$A_2 = 1/2(-nP^{-n} + \sqrt{4(K_1)^2 + (nP^{-n})^2})$$

$$K_2 = 1/2(nP^{-n} + \sqrt{4(K_1)^2 + (nP^{-n})^2})$$

$$P^{-n} = P^{-n}.$$

$$A_2 + K_2 + P^{-n} = P^{-n} + \sqrt{4(K_1)^2 + (nP^{-n})^2}$$

Consideremos las condiciones osmóticas a ambos lados de la membrana:

$$\text{Concentración de lado I} = 2K_1$$

$$\text{Concentración de lado II} = P^{-n} + \sqrt{4(K_1)^2 + (nP^{-n})^2}$$

Obviamente, al tender al equilibrio iónico, las concentraciones son más altas de lado II que del lado I porque el término bajo la raíz es mayor que $2K_1$ y además existe la macromolécula P^{-n} .

Si la macromolécula no estuviera cargada $n=0$ y $(nP^{-n})^2 = 0$ y la concentración del lado II sería

$$P^{-n} + \sqrt{4(K_1)^2} = P^{-n} + 2K_1$$

o sea que habría, en el equilibrio, igual concentración de KA a ambos lados de la membrana y del lado II, un exceso de presión osmótica debido sólo a la macromolécula, como sería de suponer de haber una molécula indifusible. Si $P^{-n} = 0$, las concentraciones a ambos lados de la membrana serán iguales a $2K_1$ porque en la expresión de la concentración para el lado II, tanto P^{-n} como nP^{-n} serán iguales a cero (3).

Así que la macromolécula cargada ejerce una

presión osmótica mayor de lo que se esperaría de su sola presencia como molécula, debido a que hay que tomar en cuenta la contribución del término $(nP^{-n})^2$.

Es indudable que las células tienen en su interior macromoléculas cargadas que causarían un desequilibrio de presión osmótica, que induciría un flujo continuo de agua e iones difusibles hacia el interior celular. Este flujo podría ser detenido si la célula ejerciera una presión mecánica que contrarrestara la presión osmótica, situación imposible en células animales cuyas delicadas membranas celulares son incapaces de soportar las tensiones mecánicas requeridas. Alternativamente, se podría añadir un no electrólito indifusible a la solución del lado I (libre de macromoléculas) en cantidad suficiente para contrarrestar el trastorno osmótico.

La membrana celular separa, pues, dos medios: el intracelular, que contiene macromoléculas indifusibles cargadas eléctricamente y el extracelular que es, fundamentalmente, una solución de electrólitos pequeños con tendencia a penetrar al interior celular. Las macromoléculas indifusibles eléctricamente cargadas que residen en el interior celular generan una distribución iónica particular, la distribución de Donnan, que tiene importantes repercusiones fisiológicas. De no compensarse estos desequilibrios por otros mecanismos, se producirían profundos daños osmóticos y químicos en las células. Dichos trastornos se manifestarían por hinchamiento coloidosmótico y acumulación de iones del medio extracelular, fundamentalmente sodio y cloruro, muy tóxicos para los sistemas enzimáticos, en el interior celular.

Mecanismos propuestos para contrarrestar el hinchamiento coloidosmótico inducido por la distribución de Donnan

Para compensar el trastorno iónico y osmótico, generado por la presencia de la macromolécula indifusible cargada, se han propuesto diversos mecanismos:

- pasivos, basados en la presión hidrostática generada de diversas maneras, como es el caso de las bacterias y de las células vegetales que están rodeadas por una resistente membrana o celda inextensible;
- contráctiles o mecanoquímicos, basados en la contractilidad de moléculas proteicas similares a la miosina que se han aislado de la membrana de ciertas células (4);

c. transporte activo de agua: hasta los años sesenta se consideró plausible este mecanismo, la inhibición del metabolismo acarrea hinchamiento que luego se revertía al restablecerse el metabolismo; en realidad, se acumula una solución de cloruro de sodio que luego es reexpulsada al activarse el transporte de sodio hacia el exterior celular.

Estas tres hipótesis tienen sólo valor histórico pues conducen a callejones sin salida y sin posibilidad de generar nuevas hipótesis más cercanas a una explicación valedera.

Estas hipótesis fueron reemplazadas por una explicación con mayor visos de verosimilitud: el doble Donnan.

El doble Donnan

Si la membrana celular es impermeable a cationes pequeños, pero mayores que el potasio tales como el sodio (el catión predominante en el medio extracelular), la célula se encontraría en una situación de doble Donnan: un Donnan generado por las macromoléculas impermeables negativas intracelulares y otro por los iones sodio extracelulares. Esta situación equivale a la adición de moléculas impermeables al medio extracelular para contrarrestar el Donnan debido a las macromoléculas intracelulares. Osmóticamente, el sodio sólo se diferencia de otras especies no cargadas en el hecho de ser un ion y que está obligatoriamente acompañado por un anión.

Esta distribución fue ampliamente estudiada por Boyle y Conway (5) en 1941.

Hoy día se sabe que la membrana celular es permeable al sodio (6,7). No obstante, como se verá a continuación, las membranas son funcionalmente al menos, parcialmente impermeables al ion.

En vista de que han encontrado concentraciones bajas, pero apreciables, de sodio en el interior celular, se ha desechado la hipótesis del doble Donnan basada en la impermeabilidad absoluta al sodio de la membrana celular y se ha reenfocado el estudio del mantenimiento del volumen celular. Se considera que el mantenimiento del volumen celular involucra un proceso complejo, que tiene como resultado final el establecimiento de un doble Donnan de naturaleza activa, que requiere un consumo continuo de energía metabólica. Lo que es más, las especies químicas funcionalmente inmobilizadas (el potasio intra-

celular y el sodio extracelular) lo son sólo en parte, resultando que juegan un doble papel, como iones funcionalmente inmobilizados y móviles a la vez, lo que se ha dado en llamar el doble Donnan parcial (8). Este modelo postula la inmovilidad de una fracción tanto del potasio intracelular como del sodio extracelular, para explicar gran número de fenómenos bioeléctricos y de secreción y absorción. Este modelo se basa en el concepto bomba-fuga.

La hipótesis bomba-fuga

Esta hipótesis considera que la membrana celular está provista de un sistema que transporta sodio activamente, en el sentido de requerir energía metabólica, desde el medio intracelular hacia el medio extracelular, y potasio en el sentido contrario, haciendo la membrana funcionalmente impermeable a estos iones, puesto que los flujos pasivos son exactamente compensados por los movimientos activos resultantes de la actividad de la llamada bomba sodio-potasio. Esta bomba (o bombas) ha sido extensamente estudiada y aquí solo se considerará desde el punto de vista operacional como bomba de achique en el sistema bomba-fuga.

Esta idea comparte con el doble Donnan la suposición de que tanto el sodio como el potasio mantienen sus posiciones extra e intracelulares pero, mientras el doble Donnan postula la impermeabilidad absoluta de la membrana celular al sodio y que el potasio y el cloruro se rigen por distribución impuesta por los macroaniones intracelulares, el concepto bomba-fuga admite la permeabilidad de la membrana al sodio y, como lo hace el Donnan clásico (5), al potasio y al cloruro. El potasio tiende a salir de las células y el sodio a entrar a través de las fugas en la membrana. La bomba iónica compensa exactamente estos flujos pasivos, reintroduciendo el potasio a las células y expeliendo el sodio al medio extracelular. La bomba consume energía metabólica para impedir la degradación termodinámica del sistema. Esta es la diferencia fundamental con el doble Donnan. En éste, se postula la impermeabilidad de la membrana a los macroaniones y al sodio, impidiendo su migración, por ende el sistema no se degrada y se mantiene en equilibrio, $AG = 0$. Un sistema en equilibrio no puede realizar trabajo electroquímico, generar potencial eléctrico transmembrana, ni los potenciales de acción de nervio y músculo y tampoco es capaz de mantener la absorción y secreción de metabolitos a nivel celular. En cambio la bomba-fuga establece un estado estacionario, o sea que las

características y propiedades celulares (incluyendo las concentraciones de las especies químicas intracelulares), se mantienen invariables a pesar de la tendencia a la disipación de las diferencias de concentración y a la tendencia general a la degradación del sistema, mediante el gasto de energía metabólica a nivel de la bomba.

Uno de los análisis más elegantes de la situación planteada por el sistema bomba-fuga fue propuesto por Mullins y Noda (9) en 1963.

Si la célula se halla en estado estacionario, no habrá flujos netos de ningún ion a través de su membrana, los flujos pasivos serán exactamente compensados por aquellos debidos a la actividad de la bomba iónica.

Mullins y Noda (9) demostraron que el flujo pasivo, m , de un ion puede expresarse en términos de la permeabilidad de la membrana, P , al ion, las concentraciones intracelulares y extracelulares, C_i y C_e , del mismo y el potencial eléctrico transmembrana, E , por la expresión

$$m = P(C_e - C_i \exp(EF/RT)) \times f(E)$$

donde F es la constante de Faraday, R es la constante de los gases y T la temperatura absoluta; $f(E)$ es el término que describe la influencia del voltaje sobre el flujo. La expresión $f(E)$ depende del modelo propuesto para la distribución del campo eléctrico en la membrana celular; no es necesario definirla porque se cancela en el transcurso de la derivación y es la misma para todos los iones de igual valencia y carga eléctrica.

Debido a las intensas fuerzas electroquímicas (diferencia de concentración y potencial eléctrico entre el interior y el exterior celular) que actúan sobre los iones sodio, habrá un flujo neto pasivo de estos iones al interior celular. Este flujo pasivo será compensado por un flujo hacia el exterior de igual magnitud motorizado por la bomba iónica, así tendremos

$$m_{Na} + P_{Na} = 0$$

donde m_{Na} y p_{Na} son los flujos pasivo y activo de sodio, respectivamente. Se considera como positivo el flujo pasivo hacia el interior celular, m_{Na} , y negativo el de la bomba de sodio, P_{Na} .

Existe también un flujo activo de potasio hacia el interior celular, P_k , que compensa la salida difusiva, m_k , de este ion:

$$m_k + P_k = 0$$

con la misma conversión para los signos.

Si la tasa de acoplamiento de la bomba, número de sodios extraídos de la célula por potasio introducido por r , tenemos:

$$rp_k + p_{Na} = 0$$

empleando la misma convención para el signo de los flujos: el flujo hacia el interior, p_k , es positivo y el flujo hacia el exterior, P_{Na} , es negativo.

De las tres ecuaciones precedentes podemos deducir que:

$$rm_k + m_{Na} = 0$$

o sea, que el flujo pasivo de potasio hacia afuera es r veces el flujo pasivo de sodio hacia el interior celular. En otras palabras, los flujos pasivos guardan entre sí la misma relación que los activos.

A partir de esta ecuación y la expresión para el flujo pasivo obtenemos:

$$rP_k(K_e - \exp(EF/RT))f(E) + P_{Na}(Na_e - Na_i \exp(EF/RT))f(E) = 0$$

donde P_k y P_{Na} son las permeabilidades de la membrana celular al potasio y al sodio, respectivamente; K_e y K_i , son las concentraciones extra e intracelulares de potasio así como Na_e y Na_i , lo son para el sodio.

Cancelando $f(E)$ y haciendo $b = P_{Na}/P_k$ obtenemos:

$$(rK_e + bNa_e)/(rK_i + bNa_i) = \exp(EF/RT)$$

o

$$E = (RT/F) \ln((rK_e + bNa_e)/(rK_i + bNa_i)).$$

Si $r = 1$ obtenemos la clásica ecuación de Goldman, Hodgkin y Katz para el potencial transmembrana:

$$E = (RT/F) \ln((K_e + bNa_e)/(rK_i + bNa_i)).$$

Si el cloruro se distribuye de acuerdo a este potencial, tendremos que el potencial transmembrana en términos de la concentración de cloruro vendrá dado por:

$$E = (RT/F) \ln(Cl_i/Cl_e)$$

y de las ecuaciones precedentes podemos obtener una expresión que recuerda la relación de los productos del Donnan:

$$(rK_e + bNa_e)Cl_e = (rK_i + bNa_i)Cl_i$$

En esta expresión se observa que el producto de la suma de los cationes (multiplicados por los factores de corrección r y b) por la del anión (cloruro) son iguales a ambos lados de la membrana.

Los factores de corrección indican que no son los productos de las concentraciones catiónicas en sí, sino funciones de ellas, las que están involucradas

en la igualdad de los productos iónicos.

Si hacemos suposiciones adecuadas con respecto a los cationes, como lo hizo Herrera (8) en 1992, quien consideró que tanto el potasio intracelular como el sodio extracelular están constituidos conceptualmente por dos fracciones, una, operacionalmente inmovilizada por la bomba y la otra, difusible, es posible asimilar la distribución iónica a un doble Donnan. No obstante, este doble Donnan es sólo parcial, pues sólo parte del sodio extracelular o del potasio intracelular es inmovilizada. Estas dos fracciones inmóviles determinan, como en el Donnan clásico, la distribución de todos los iones difusibles, inclusive las fracciones móviles del potasio intracelular y del sodio extracelular.

Esta revisión teórica establece las bases sobre las cuales se asientan las hipótesis que explican el comportamiento osmótico de las células y sobre las cuales se basan las exploraciones experimentales que hemos realizado en nuestro laboratorio.

De este análisis se desprende la conclusión que los mecanismos involucrados en la regulación de la composición iónica, tienden también al mantenimiento de la constancia del contenido iónico del medio intracelular. Consecuencia inmediata de esta invariabilidad del contenido iónico celular es la respuesta osmótica celular. Las células responden a las variaciones de osmolaridad tal como lo predice la ley de van'Hoff (1) para la presión osmótica. Según esta Ley, la presión osmótica de una solución, o sea la tendencia que tiene dicha solución a atraer agua a través de una membrana permeable sólo al agua, vendrá dada por la expresión:

$$\pi = RTC_{sol}$$

donde π es la presión osmótica, o sea la presión externa que debe aplicarse a la solución para detener el movimiento de agua a través de la membrana; R y T tienen sus acepciones convencionales; C_{sol} es la concentración total de los solutos indifusibles.

Para las células, podemos expresar la ley en términos de la cantidad de solutos indifusibles intracelulares, Q^c , y del volumen de agua intracelular en que están disueltos, H_2O^c :

$$\pi = RT Q^c / H_2O^c$$

o

$$H_2O^c \pi = RT Q^c$$

Normalmente, las células animales están en equilibrio osmótico con el medio extracelular como se desprende del análisis introductorio, de modo que siempre la presión osmótica de las células, π_c , será

igual a la del medio externo, π_e .

Si el contenido de solutos de las células, Q^c , se mantiene constante al exponerse a las células a distintas concentraciones del medio exterior, tenemos que

$$H_2O^c \pi = \text{constante y}$$

$$H_2O^c \pi = H_2O^o \pi_o \text{ y}$$

$$H_2O^c / H_2O^o = \pi_o / \pi = C_o / C$$

donde π_o y C_o , son la presión osmótica y concentración de la solución externa isosmótica original y H_2O^o es el volumen original, antes de cambiar la concentración del medio, del agua intracelular. H_2O^c y C con el volumen y la concentración anisosmóticos (después de variar la concentración del medio externo). En otras palabras, los volúmenes de agua celular están entre sí, en relación inversa a las presiones osmóticas del medio de suspensión de las células, si éstas no pierden ni ganan solutos.

Aplicando el principio de August Krogh (10) de que para cada problema fisiológico existen uno o más animales apropiados para estudio, investigamos en nuestro laboratorio las respuestas iónicas y osmóticas de células animales en invertebrados marinos, anatómicamente simples y desprovistos de mecanismos de regulación del medio extracelular.

Estos fueron la anémona de mar, *Condylactis gigantea* y las holoturias o pepinos de mar, *Isostichopus badionotus* y *Holothuria glaberrina*. Dichos animales, por vivir en un medio de composición constante como lo es el agua de mar, no requieren de mecanismos de regulación del medio extracelular. Por otra parte, son baratos y accesibles a laboratorios pobres económicamente y por ser sus concentraciones iónicas bastante altas, no se requiere complicado instrumental para su estudio.

Estudio de la respuesta iono-osmótica en células de invertebrados marinos

Con el fin de estudiar la respuesta ionosmótica de las células a cambios de concentración del medio externo en un animal primitivo, desde el punto de vista evolutivo, se escogió la anémona de mar *Condylactis gigantea* (11). Las células de este animal se expusieron a agua de mar de 5 concentraciones diferentes: 50,67,83,100 y 125% del agua de mar natural.

Los volúmenes relativos de agua celular, $H_2O^c_a / H_2O^c_i$ (el volumen de agua celular en condiciones

anisomóticas, $H_2O_a^c$, dividido por el volumen de agua celular en condiciones isomóticas, $H_2O_a^c$, dividido por el volumen de agua celular en condiciones isomóticas, $H_2O_i^c$, v.g., el que corresponde al agua de mar de 100%) se presentaron gráficamente como función de la recíproca de las concentraciones de agua de mar, C_i/C_a , (concentración isomótica, agua de mar 100%, C_i dividida por concentración anisomótica, C_a). Como se ve en la Figura 2, los puntos caen sobre recta de pendiente uno y de intersección cero, como se espera de la expresión que relaciona los volúmenes de agua intracelular a las presiones osmóticas (o concentraciones) del medio extracelular. Por lo tanto, las células no regulan su volumen, no se observa tendencia del volumen a regresar a su valor isomótico cuando se exponen las células a medios anisomóticos. El volumen de agua celular se comporta como lo predice la ley de van't Hoff. En otras palabras, los mecanismos involucrados en el doble Donnan establecido por la bomba-fuga, son capaces de mantener invariables los contenidos de solutos intracelulares. No obstante, se observaron variaciones recíprocas en el contenido de taurina y potasio, aquélla cae y éste sube en una cantidad equivalente al disminuir la concentración del agua de mar extracelular. Esta respuesta de la taurina y el potasio parece representar un esbozo de la regulación del volumen celular que se observa en invertebrados estuarinos, expuestos a medios externos de salinidad fluctuante. El comportamiento osmótico de las células de *C. gigantea* se aproxima más al de células expuestas a un medio extracelular regulado, células de vertebrados en general, con algunas excepciones tales como las células de la médula renal.

Asimismo se estudió el comportamiento osmótico de células de un animal evolutivamente más avanzado que la anémona, y que, como ella, vive en un medio de composición constante, el equinodermo *Isostichopus badiotus* (12). Se exploró el efecto de la exposición a distintas concentraciones de agua de mar, sobre la respuesta ionosmótica de células de árbol respiratorio en animales aclimatados en agua de mar de tres concentraciones diferentes 57, 100, 137%. La osmolaridad del líquido corporal (celómico), que ocupa el espacio entre la pared corporal y las vísceras del animal, se equilibró rápidamente (en 8 horas) con el agua de mar de aclimatación. Las células del árbol respiratorio obedecieron la ley de van't Hoff en todos los casos, de modo que la aclimatación a las distintas

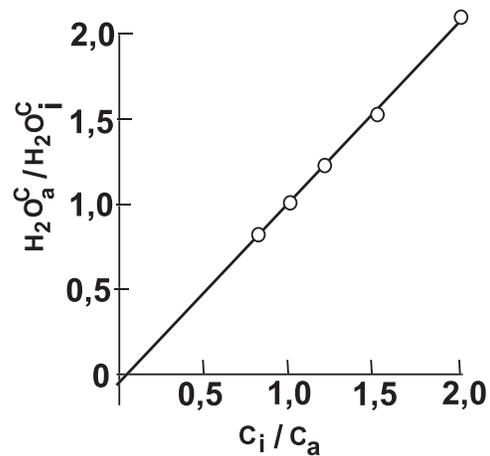


Figura 2. Agua intracelular relativa en células de tentáculos de *Condylactis gigantea*, $H_2O_a^c/H_2O_i^c$, representadas gráficamente como función de las recíprocas de las concentraciones de agua de mar, C_i/C_a . La pendiente es $1,06 \pm 0,02$ y la intersección $-0,05 \pm 0,03$; $n = 6$. Adaptado de (11).

concentraciones de agua de mar no influyó sobre la respuesta osmótica de las células, como sería de esperar si existiera algún mecanismo osmorregulador que respondiera a variaciones a largo plazo del agua de mar de aclimatación. En pocas palabras, la aclimatación previa a concentraciones diferentes de agua de mar no modifica la respuesta osmótica. Esto es consecuencia de la invariabilidad de los contenidos de solutos intracelulares. Aparentemente, los sistemas de transporte son capaces de mantener invariables el contenido celular de solutos, a pesar de la agresión osmótica representada por la aclimatación. Como se ve en la Figura 3, donde se han representado gráficamente los volúmenes relativos de agua celular en función de la recíproca de las concentraciones de incubación de los tejidos en animales aclimatados a 57, 100 y 137% agua de mar, todos los puntos caen sobre rectas de pendientes cercanas a uno e intersecciones cercanas a cero, como lo predice la ley de van't Hoff (12). Así pues, la respuesta osmótica depende más del medio en que se desenvuelve el animal que de su grado evolutivo. La ley de van't Hoff es una relación fisicoquímica elemental, las células de estos animales, desde el punto de vista osmótico, exhiben un comportamiento fisicoquímico simple, a pesar de los complejos mecanismos involucrados en el mantenimiento de la composición de solutos intracelulares. Se dice que el comportamiento de estas células equivale al del llamado osmómetro perfecto.

Estudio del papel de los electrolitos extracelulares

Se estudió el papel de los cationes extracelulares en el mantenimiento de la regulación iónica y osmótica intracelular. La sustitución del sodio extracelular por colina, tris o litio acarrea pérdida de agua, potasio, sodio y cloruro, mas no de osmolitos orgánicos por parte de las células de equinodermos. Esto podría deberse, en parte, a la inhibición de la bomba iónica (que explicaría la pérdida de potasio) y en parte, a una salida exagerada de cloruro de sodio debido al gradiente de concentración que favorece la salida de sodio al medio exterior (13). Los resultados están resumidos en el Cuadro 1.

Igualmente la sustitución del cloruro extracelular por el anión isetionato causa una pérdida de agua, cloruro y sodio, como solución isosmótica de cloruro de sodio, manteniéndose invariable el contenido de potasio. El volumen celular se redujo a la mitad (14), como puede verse en el Cuadro 2.

Claramente, los procesos que mantienen la homeostasis intracelular cumplen su función bajo diversas condiciones de concentración de sodio y cloruro, pero el volumen se reajusta a un nuevo nivel en cada situación.

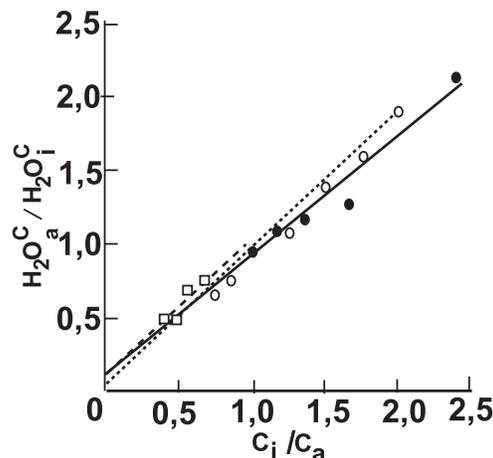


Figura 3. Variaciones en agua intracelular relativa, $H_2O_a^c / H_2O_a^e$, de células de árbol respiratorio de *Isostichopus badiionotus*, representadas gráficamente en función de la recíproca de las concentraciones de agua de mar, C_i / C_a . Los animales fueron preincubados durante 9 horas en agua de mar de 57%, 100% y 137% con respecto al agua de mar natural. C_i corresponde a la concentración del agua de mar de preincubación. (●) corresponde a animales preincubados en agua de mar de 137% (○) corresponde a animales preincubados en agua de mar de 100% y (□) corresponde a animales preincubados en agua de mar de 57%. Las pendientes e intersecciones son respectivamente $0,82n \pm 0,12$ y $0,097 \pm 0,19$; $0,93 \pm 0,036$ y $0,040 \pm 0,048$; $0,89 \pm 0,10$ y $0,12 \pm 0,068$ para animales preincubados en agua de mar de 137%, 100% y 57%; $n=4$ para todos los casos. Adaptado de (12).

Cuadro 1.

Contenidos intracelulares de sodio, potasio, cloruro y litio en células de árbol respiratorio de *Holothuria glaberrima*, expuestas a líquido celómico (Lic. cel.), agua de mar normal (AM Na) y agua de mar artificial (AMA) en la cual se ha reemplazado el sodio por colina (Col.) TRIS (tris-(hidroximetil) amino metano) y litio. Valores tomados de (13)

Potasio	AMA Li	AMA TRIS pH 8,0	AMA TRIS pH 6,1	AMA Col	Am Na julio	Am Na enero	Liq. cel.	DS
Media	127	174	262	342	516	523	533	45
Sodio	AMA TRIS ph 8,0	AMA Li	AMA TRIS pH 6,1	AMA Col	Liq. cel.	Am Na julio	AM Na enero	
Media	48	84	88	94	749	911	1048	230
Cloruro	AMA Li	AMA Col.	AMA TRIS pH 8,0	AMA TRIS pH6,1	Liq. cel.	Am Na enero	AM Na julio	
Media	317	479	508	541	932	1180	1215	374
Litio AMA Li								
Media 595±172								

Electrolitos expresados en micromoles/g peso seco.

DS: desviación estándar

Grados de libertad = 49.

Las líneas debajo de las cifras agrupan valores que no difieren estadísticamente entre sí, al nivel $p \leq 0,05$.

Cuadro 2

Contenido intracelular de sodio, potasio y cloruro en células de arbol respiratorio de *Holothuria glaberrima*, expuestas a agua de mar artificial que contenía 100%, 60% y 24% del cloruro del agua de mar natural. El cloruro se reemplazó por isetonato.

Valores tomados de (14)

% Cloruro del agua de mar	100%	60%	24%
Sodio	681	456	190
Potasio	548	<u>514</u>	<u>498</u>
Cloruro	934	552	214

Cifras subrayadas no difieren entre sí estadísticamente, al nivel $p \leq 0,05$.

Valores expresados en micromoles/g peso seco.

En células de tentáculos de la anémona de mar, *Condylactis gigantea*, se demostró que el potasio extracelular era indispensable para el mantenimiento del balance iónico normal de las células y que la ouabaína, un inhibidor específico de la bomba sodio-potasio, inhibe marcadamente la acumulación de potasio y la expulsión de sodio de estas células, tal como ocurre en vertebrados (15). Es posible así hacer una analogía entre los fenómenos involucrados en el mantenimiento del volumen celular, tanto en vertebrados como en estos animales evolutivamente más primitivos.

Interpretación de la regulación iónica y osmótica en base a un doble Donnan parcial

Empleando como base la distribución de Donnan, el doble Donnan y el concepto bomba-fuga, es posible interpretar los hallazgos anteriores mediante un nuevo modelo que introduce un artificio conceptual un poco abstracto.

El artificio conceptual consiste en extender la idea propuesta por Burton (16) de que el potasio está inmovilizado operacionalmente dentro de las células por la bomba; igual situación ocurriría con el sodio extracelular. Si se modifican parcialmente estos conceptos y se considera que la bomba no es capaz de inmovilizar la totalidad de los iones potasio dentro de las células, ni de mantener el sodio completamente fuera de las células (y de hecho no lo hace porque existe sodio en el interior celular), se puede conceptualmente separar el potasio intracelular en dos fracciones, una inmovilizada por la bomba y la otra libre de distribuirse de acuerdo a

la relación de Donnan, generada por los potasio operacionalmente inmovilizados y los macroiones indifusibles negativos. Igualmente, el sodio extracelular consistiría conceptualmente de un fracción operacionalmente inmovilizada y mantenida fuera de las células y otra que se distribuiría de acuerdo al Donnan. Este concepto es el que hemos denominado el doble Donnan parcial y que analizaremos a continuación (8).

La inmovilización de cualquier especie química, cargada eléctricamente a uno o ambos lados de la membrana celular, conducirá a una distribución tipo Donnan de los iones capaces de migrar pasivamente a través de la membrana celular. El procedimiento mediante el cual se logra la inmovilización, ya sea por impermeabilidad de la membrana al ion (Donnan clásico), la incorporación del ion a un gel cargado eléctricamente o a la interacción bomba-fuga, es indiferente, pero el grado o magnitud de la cantidad de iones inmovilizados es determinante.

En el caso de la bomba-fuga, el hecho de que los iones activamente transportados pueden fugarse en parte, siguiendo el gradiente eléctrico y de concentración, indica que la inmovilización de estos iones es incompleta, resultando en un doble Donnan parcial. La fracción no inmovilizada por la bomba se distribuye de acuerdo a la relación de Donnan. Así pues, la hipótesis bomba-fuga sugiere que sólo parte de los iones potasio y sodio son efectivamente inmovilizados, actuando como iones fijos clásicos.

Así pues, se puede concebir al potasio total intracelular, K_i^t , como constituido por dos fracciones virtuales: una representa la concentración de los iones potasio operacionalmente inmovilizados por la bomba, K_i^p , y la otra, K_i^d representa la concentración de iones potasio dependientes de la relación de Donnan. En condiciones fisiológicas, ambas fracciones permanecen invariables. De manera similar, la concentración total de sodio extracelular, Na_e^t , está constituida por una fracción operacionalmente inmovilizada por la bomba, Na_e^p y otra, Na_e^d , que se distribuye de acuerdo al Donnan. Como presumiblemente no existen bombas que mantengan al sodio dentro y al potasio fuera de las células, el sodio intracelular se ha originado de la fracción extracelular móvil (Na_e^d) de este ion y el potasio extracelular está en equilibrio con el potasio móvil intracelular (K_i^d). Así pues, todo el sodio intracelular y el potasio móvil intracelular están regidos por el Donnan.

Se considera que el cloruro se distribuye

VOLUMEN CELULAR

pasivamente porque no se ha postulado una bomba de cloruro. Estas suposiciones conducen a la siguiente expresión:

$$(K_i^t - K_i^p)Cl_i = K_e Cl_e$$

donde Cl_i , Cl_e y K_e son las concentraciones intra y extracelulares de cloruro y la concentración extracelular de potasio, respectivamente.

De modo que

$$K_i^p = K_i^t - K_e Cl_e / Cl_i$$

y

$$K_i^D = K_i^t - K_i^p = K_e Cl_e / Cl_i$$

Igualmente para el sodio:

$$Na_e^p = Na_e^t - Na_i Cl_i / Cl_e$$

y

$$Na_e^D = Na_e^t - Na_e^p = Na_i Cl_i / Cl_e$$

Este análisis permite compatibilizar los productos de cationes por aniones móviles a ambos lados de la membrana. Es un hecho bien conocido que el producto de las concentraciones aniónicas y catiónicas, determinadas por análisis químico de las células, rara vez coinciden con el producto de las concentraciones de los aniones extracelulares, como

se observa en el Cuadro 3, construido con datos de la literatura.

El Cuadro 4 presenta la concentración de potasio intracelular inmovilizado por la bomba, K_i^p , la concentración de potasio intracelular libre, K_i^D (potasio Donnan); la concentración extracelular de sodio operacionalmente inmovilizada, Na_e^p y la concentración de sodio extracelular libre (sodio Donnan), Na_e^D . Todos estos valores han sido calculados a partir del Cuadro 3. Estos resultados indican que la bomba inmoviliza más de la mitad del potasio intracelular, llegando hasta el 90%, y con excepción del intestino de *Isostichopus badionotus*, impide la entrada a las células de más del 90% del sodio extracelular.

En este análisis no se ha considerado la presencia de los aniones macromoleculares impermeantes, por no poderse medir fácilmente su concentración. No obstante, puede estimarse aproximadamente su contribución a las cargas intracelulares. Puede incluirse en las ecuaciones un término apropiado, así como también la contribución extracelular de magnesio y calcio para los animales marinos (dada la concentración apreciable de estos cationes divalentes en el agua de mar). Así se obtiene:

Cuadro 3

Concentraciones iónicas intracelulares totales así como los productos iónicos en algunas especies marinas. Tomado de (8)

	K_i^t	Na_i	Cl_i	K_e	Na_e^t	Cl_e	$(K_i^t + Na_i)Cl_i$ $\times 10^3$	$(K_e + Na_e)Cl_e$ $\times 10^3$
<i>Condylactis gigantea</i> , tentáculos (11)	206	87	190	13	438	570	56	257
<i>Isostichopus badionotus</i> , intestino (17)	104	376	378	11,3	514	570	189	299
<i>Isostichopus badionotus</i> , músculo(17)	195	197	218	11,3	514	570	85	299
<i>Parastichopus tremulus</i> músculo(18)	217	71	76	10	463	548	22	259
<i>Callinectes sapidus</i> músculo (19)	188	121	69	10	460	559	21	249

Valores expresados en milimoles/litro.

Cuadro 4

Concentraciones de las fracciones inmovilizadas operacionalmente y libres de potasio intracelular, K_i^p y K_i^d respectivamente, así como también las concentraciones de las fracciones inmovilizadas y libres del sodio extracelular, Na_e^p y Na_e^d , respectivamente. Las concentraciones se expresan en términos de milimoles/litro. Además, las concentraciones de los iones operacionalmente inmovilizados se expresan como porcentaje de la concentración total

	K_i^p mM	%K	K_i^d mM	Na_e^p mM	%Na	Na_e^d mM
<i>Condylactis gigantea</i> , tentáculos (11)	167	81	39	409	93	29
<i>Isostichopus badionotus</i> , intestino (17)	87	84	17	251	49	263
<i>Isostichopus badionotus</i> músculo (17)	165	85	30	439	85	75
<i>Parastichopus tremulus</i> , músculo (18)	145	67	72	453	98	10
<i>Callinectes sapidus</i> , músculo (19)	111	59	77	444	97	16

$$((A+Cl_i)-K_i^p)Cl_i = (Cl_e - 2(Mg+Ca) - Na_e^p)Cl_e$$

donde A^- es la contribución a las cargas negativas de los macroaniones intracelulares, considerados como monovalentes, Mg y Ca son las concentraciones de magnesio y calcio en el agua de mar. La solución a esta ecuación es;

$$Cl_i = 1/2(K_i^p - A^-) + 1/2\sqrt{((4(Cl_e - 2(Mg+Ca) - Na_e^p)Cl_e + (K_i^p - A^-)^2))}$$

formalmente similar a la ecuación para el equilibrio de Donnan:

$$A_2 = -1/2nP^{-n} + 1/2\sqrt{(4(K_1A_1) + nP^{-n})^2}$$

donde $(K_i^p - A^-)$ es análogo a nP^{-n} pues representa los iones inmovilizados intracelularmente y $(Cl_e - 2(Mg+Ca) - Na_e^p)Cl_e$ es análogo a K_1A_1 , el producto de los iones móviles extracelulares.

Epílogo médico

El mantenimiento del volumen celular juega un papel crucial en la economía animal. El hecho de que la distribución iónica requiere una continua actividad, como bomba de achique, por parte de la bomba de sodio-potasio que continuamente expelle el sodio intracelular que tiende a acumularse por acción de la distribución de Donnan, explica el permanente gasto de energía metabólica en el mantenimiento del volumen celular. La interrupción del aporte energético, por parte del metabolismo celular, conduce rápidamente a la acumulación de sodio, cloruro y agua en el interior celular, como una solución isosmótica, resultando en el hinchamiento de las células. Este trastorno del mantenimiento del volumen celular explica, al menos en parte, los fenómenos fisiopatológicos observados clásicamente en la isquemia tisular y en ciertos procesos acidóticos.

Ya en 1977, Macknight y Leaf (7) resumieron los aportes de una extensa literatura sobre los procesos isquémicos y su relación con los trastornos del mantenimiento del volumen celular. Así, en estudios sobre isquemia renal (20) se encontró que al cabo de 60 minutos de compresión de la arteria renal, todos los elementos celulares del riñón se hallaban hinchados. Esto es consistente con la falla de los mecanismos de mantenimiento del volumen celular por ausencia de oxígeno y substratos metabólicos. El trastorno pareció ser parcialmente reversible, porque el volumen celular regresaba a valores normales en la zona cortical, 30 minutos después de reperfusión. El manitol hipertónico reducía el hinchamiento celular.

El hinchamiento celular podría potenciar el efecto de la isquemia en el músculo cardíaco. Durante el período de isquemia, subsecuente a una obstrucción coronaria, el hinchamiento celular es poco importante, presumiblemente debido al escaso líquido intersticial que rodea las fibras musculares del miocardio (21). La restauración de la circulación después de una isquemia prolongada causaría, no obstante, un marcado hinchamiento de las fibras miocárdicas (22). Posiblemente, el hinchamiento del miocardio y de las células endoteliales de los vasos contribuyan a la extensión y severidad del daño celular al impedir el flujo sanguíneo colateral al tejido.

Se ha demostrado que trozos de miocardio preparados de corazones isquémicos, acumulan sodio y agua, pero pierden potasio *in vitro*, mientras que

trozos de miocardio normal regulan su volumen y mantienen su potasio intracelular (23).

Modernamente se considera que la pérdida de potasio por parte de las células no es un proceso difusivo simple, sino que involucra un transportador molecular y puede ir acompañado de cloruro (cotransporte K y Cl). La existencia de transportadores no influye sobre la distribución iónica final; las concentraciones iónicas alcanzan los valores impuestos por el doble Donnan parcial, pues los flujos siguen siendo pasivos. Por otra parte, se conoce que la acidosis causa hinchamiento de las células gliales y neuronas. Esta acidosis puede ser a consecuencia de trauma o isquemia cerebral y provoca edema cerebral. El hinchamiento celular acidótico podría ser atenuado, inhibiendo un contratransporte Na/H a nivel de la membrana o eliminando iones sodio del medio. La acidosis parece activar el intercambio Na/H y el intercambio Cl/HCO₃ de modo que penetra NaCl a las células y se excreta ácido carbónico, H₂CO₃. La célula realiza un esfuerzo por mantener su pH interno a niveles normales, pero este proceso exige el pago de un osmótico, la penetración de NaCl y agua a las células con su consecuente edema (24).

Finalmente, la regulación del calcio intracelular depende del mantenimiento de una baja concentración de sodio dentro de las células, puesto que la penetración pasiva del sodio a las células está asociada a un contratransporte de calcio que expulsa calcio intracelular, intercambio Na/Ca y Na-Ca/K indispensable en la homeostasis del calcio intracelular (25-28).

Estos son apenas unos pocos ejemplos del papel que puede jugar la regulación del volumen celular en el mantenimiento de la homeostasis de la célula, tanto en condiciones normales como patológicas.

En resumen, el bloque del metabolismo celular conduce a la paralización de la bomba sodio-potasio. Las fracciones inmóviles de potasio y sodio dejan de serlo y tienden, junto con el cloruro, a la distribución de Donnan impuesta por las macromoléculas cargadas intracelulares (el Donnan clásico). Como hemos visto este Donnan acarrea un influjo continuo de cloruro de sodio y agua al interior de las células resultando en el hinchamiento de las mismas.

Es posible que el hinchamiento juegue un papel importante en la muerte celular. Muchas enzimas claves están incorporadas a membranas celulares. El funcionamiento de las cadenas metabólicas depende de la disposición espacial apropiada de

estas membranas. Al hincharse las células, los sitios reactivos de las enzimas pueden resultar tan alejados que se perturbe el flujo ordenado de las reacciones. Si se readmite oxígeno y sustratos metabólicos, es posible revertir el hinchamiento; si se administran un soluto poco difusible en solución hiperosmótica, será posible preservar la geometría crítica de los sitios reactivos de las membranas. Si el hinchamiento es exagerado, ya no será posible revertirlo y la célula morirá.

REFERENCIAS

1. Hoffman EK. Control of cell volume. En: Gupta BL, Moreton RB, Ochsman JL, Wall BJ, editores. *Transport of ions and water in animals*. Londres: Academic Press; 1977.p.285-352.
2. Grémy F, Pagés JC. *Éléments de biophysique et de physique médicale*. Paris: Éditions Médicales Flammarion; 1966.p.1:332-335.
3. Harris EJ. *Transport and accumulation in biological systems*. 2ª edición. Londres: Butterworths Scientific Publication; 1960.p.62-65.
4. Kleinzeller A. The volume regulation of some animal cells. *Arch Biol Liege* 1965;76:217-232.
5. Boyle PJ, Conway EJ. Potassium accumulation in muscle and associated changes. *J Physiol* 1941;100:1-63.
6. Leaf A. On the mechanisms of fluid exchange of tissues in vitro. *Biochem J* 1956;61:241-248.
7. Macknight ADC, Leaf A. Regulation of cellular volume. *Physiol Rev* 1977;57:510-573.
8. Herrera FC. The partial double Donnan-a simple alternative interpretation of the transmembrane ionic distribution. *Comp Biochem Physiol* 1992;103A:29-34.
9. Mullins LJ, Noda K. The influence of sodium-free solutions on the membrane potential of frog muscle fibers. *J Gen Physiol* 1963;47:117-132.
10. Krogh A. *Progress in physiology*. *Am J Physiol* 1929;90:243-260.
11. Herrera FC, López I, Egea R, Zanders IP. Short-term osmotic responses of cells and tissues of the sea anemone *Condylactis gigantea*. *Comp Biochem Physiol* 1989;92A:377-384.
12. Foglietta LM, Herrera FC. Ionosmotic response of the respiratory trees of the holothurian *Isostichopus badionotus* preincubated in hyper-iso-, and hypoosmotic sea water. *J Exp Mar Biol Ecol* (en prensa).

13. Herrera FC, Plaza M. The role of extracellular sodium in isosmotic intracellular regulation in the respiratory tree of *Holothuria glaberrima*. *Comp Biochem Physiol* 1981;68A:373-382.
14. Jurisic M, Roque S, López I, Herrera FC. Role of chloride in isosmotic intracellular regulation in *Holothuria glaberrima*. *Comp Biochem Physiol* 1983;76A:381-387.
15. Herrera FC, Rodríguez A, López I, Weitzmann H, Zanders IP. Characterization cell ion exchange in the sea anemone *Condylactis gigantea*. *J Comp Physiol* 1986; 56:591-597.
16. Burton RF. The significance of ionic concentrations in the internal media of animals *Biol Rev* 1973;48:195-231.
17. Madrid E, Zanders IP, Herrera FC. Changes in coelomic fluid and intracellular composition in holothurians exposed to diverse sea-water concentrations. *Comp Biochem Physiol* 1976;54A:167-174.
18. Robertson JD. Osmotic constituents of some echinoderm muscles. *Comp Biochem Physiol* 1980;67A:535-543.
19. Hays EA, Lang MA, Gainer H. A reexamination of the Donnan distribution as a mechanism for membrane potential and potassium and chloride distribution in crab muscle fibers. *Comp Biochem Physiol* 1968;26:761-792.
20. Frega NS, DiBona DR, Guertler B, Leaf A. Ischemic renal injury. *Kidney Intern* 1976;10:S17-S25
21. Jennings RB, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischaemia. *Circulation Res* 1974;34,35(Suppl III):156-168.
22. Whalen DA, Hamilton DG, Ganote CE, Jennings RF. Effect of a transient period of ischaemia on myocardial cells. I. Effect on cell volume regulation. *Am J Pathol* 1974;74:381-398.
23. Yan CG, Chen J, Yamada KA, Kleber AG, Corr PB. The contribution of shrinkage of extracellular space to extracellular K^+ accumulation in myocardial ischaemia of the rabbit. *J Physiol* 1996;490:215-228.
24. Staub F, Mackert B, Kempfski O, Haberstock, Peters J, Baethmann A. Schwellung und Schädigung von Nerven und Gliazellen durch Azidose. *Anaesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1994;29:203-209.
25. Sánchez-Amass S, Blautein MP. Role of calcium-sodium exchange in regulation of intracellular calcium in nerve terminals. *Am J Physiol* 1987;252:C595-C603.
26. Tatsumi H, Katayama Y. Regulation of the intracellular free calcium concentration in acutely dissociated neurons from rat nucleus basalis. *J Physiol* 1993;464:165-181.
27. Cervetto L, Lagnado L, Perry RJ, Robinson DW, McNaughton PA. Extrusion of calcium from rod outer segments is driven by both sodium and potassium gradients. *Nature* 1989;337:740-743.
28. Kennedy HJ, Thomas RC. Intracellular calcium and its sodium independent regulation in voltage clamped snail neurons. *J Physiol* 1995;484:533-548.

Agradecimientos:

El autor agradece a las Sras. Isabel Otaegui, Lilian Palacios y Dhuwya Otero por su colaboración en la preparación del manuscrito.

Dirección de autor:

Centro de Biofísica y Bioquímica

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC)

Apartado 21827

Caracas 1020A, Venezuela.