

# Reporte preliminar de los potenciales de transmembrana de las células mononucleares fagocíticas con el cambio de concentraciones iónicas de $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ y $\text{Ca}^{++}$

M. NOA, B. DÍAZ Y J. KOURÍ

*Lab. Microscopia Electrónica y Fisiología Cardiovascular  
del Centro Nacional de Investigaciones Científicas,  
La Habana, Cuba*

Recibido: 11 de diciembre de 1975

**ABSTRACT.** The effects which variations in the external ionic concentrations of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ , produce on the potentials of the transmembrane of the mononuclear phagocyte cells are analyzed by qualitative means. The reduction in the concentration of  $\text{K}^+$  produced an increase in the rest potential; the reduction of the three ions provoked changes in the depolarizations after Latex had been added. It is suggested that the phagocytosis of these cells is accompanied by changes in the membrane potentials and that apparently the ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , and  $\text{Ca}^{++}$  play a role in their genesis.

**RESUMEN.** Se analiza en forma cualitativa los efectos que provocan sobre los potenciales de transmembrana de las células mononucleares fagocíticas las variaciones de concentraciones iónicas externas de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$ , antes y durante la fagocitosis inducida por látex. La reducción de la concentración del  $\text{K}^+$  produjo un incremento del potencial de reposo; la reducción de los tres iones provocó cambios de las despolarizaciones después de haber añadido látex. Se sugiere que la fagocitosis de estas células se acompaña de cambios en los potenciales de membrana y que al parecer los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  juegan un papel en su génesis.

## INTRODUCCION

El estudio de la fagocitosis y pinocitosis comenzó con los trabajos de Metchnikoff, (1905) y Lewis, (1931). Las experiencias más recientes han sido realizadas sobre diferentes sistemas celulares y en protozoarios como la Ameba Proteus y Chaos Chaos. Una revisión del tema ha sido presentada por Allison, (1973). Se ha propuesto que existen mecanismos

similares para la fagocitosis y la pinocitosis, habiéndose descrito las mismas fases para ambos procesos (*Chapman Andresen, 1962*).

Brandt y Freeman, (1967), trabajando sobre Chaos Chaos encontraron que los inductores de la pinocitosis provocaron un decremento de la resistencia eléctrica de la membrana de hasta 50 veces, antes de que se formaran los típicos túneles y vacuolas e hizo una correlación morfológica con los cambios eléctricos.

Reportes sobre el estudio de potenciales de transmembrana en células no excitables se han realizado en los últimos años.

El estudio de los cambios de potencial de membrana en células de la inflamación aséptica proveniente de la cavidad peritoneal durante la fagocitosis inducida por látex se realizó por primera vez en nuestro grupo (*Cabrera y cols., 1971*) a modo de reporte preliminar. Noa y cols., (1973), empleando la técnica de registro intracelular con microelectrodos de vidrio describen potenciales de 14 mv como promedio en células mononucleares fagocíticas, encontrando que la adición de látex al medio se acompañaba de despolarizaciones de la membrana en forma de espigas monofásicas relacionables presumiblemente con cambios de la permeabilidad iónica vinculados a la fagocitosis.

Nuestro objetivo en este trabajo es ampliar los estudios iniciados en células mononucleares fagocíticas, analizando en forma cualitativa los efectos que sobre sus potenciales de transmembrana tienen o provocan las variaciones de concentraciones iónicas externas de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  antes y durante la fagocitosis inducida por el látex.

## MATERIALES Y METODOS

Se emplearon ratas Wistar entre 150 y 200 g de peso corporal de distintos sexos, a las que se les implantó en la cavidad peritoneal un disco de teflón estéril, constituido por un anillo exterior y otros dos interiores, entre los cuales se coloca un cubreobjeto redondo sobre el que se pone una plaquita delgada de ionoagar, preparada con solución Tyrode al 2%. Transcurridos 3 días de su implantación, el disco es retirado y colocado en una cámara de perfusión con solución Tyrode modificada por Hoffman a 37°C, burbujeada con carbógeno (oxígeno 9.5%,  $\text{CO}_2$  5%).

Sobre la superficie del agar se adhirieron células mononucleares fagocíticas entre otras, a las cuales se les introdujo, para el registro electrofisi-

lógico de sus potenciales, un microelectrodo de vidrio llenado con ClK 3M, con punta menor de 0.5 micras de diámetro y una resistencia de 20 a 50 M $\Omega$ ms, realizándose esto sin control visual.

El estudio se efectuó añadiendo látex a la preparación con fines de inducir la fagocitosis.

Se registraron las características electrofisiológicas obtenidas con el empleo de las concentraciones normales de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> de la solución Tyrode, así como las variaciones producidas por la reducción de estas concentraciones a  $\frac{1}{3}$  de los valores normales.

La amplificación en la pantalla del osciloscopio fue de 20 mv = 1 cm.

## RESULTADOS

Características de los potenciales de reposo: las reducciones de las concentraciones iónicas de Na<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> no produjeron modificaciones del nivel de potencial de reposo medido previamente en solución Tyrode normal. (Fig. 1). En cambio, la reducción del ion K<sup>+</sup> produjo un incremento (mayor negatividad) de este potencial de reposo. (Fig. 2).

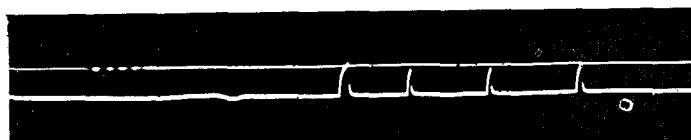


Fig. 1. Control. En las experiencias con solución Tyrode sin modificación se observaba una deflexión que corresponde al potencial de reposo y al añadir látex se registraban descargas eléctricas en forma de espigas monofásicas.



Fig. 2. Incremento del potencial de reposo al reducir la concentración externa de K<sup>+</sup>.

Características cualitativas de la despolarización durante el proceso de la fagocitosis:

- a. en solución con concentraciones de  $\text{Na}^+$  reducidas las despolarizaciones obtenidas tienen la forma de espigas y sus amplitudes son menores que las obtenidas con concentraciones normales de  $\text{Na}^+$ . (Fig. 3).
- b. en las soluciones con la concentración de  $\text{K}^+$  disminuida las despolarizaciones mantuvieron la forma de espigas, pero su amplitud y frecuencia fueron menores que las obtenidas a concentraciones normales de dicho ion.
- c. al emplearse las soluciones con las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$  disminuida, las despolarizaciones observadas adoptaron la forma de pequeñas ondas u oscilaciones, de aspecto sinusoidal, ininterrumpidas y con magnitudes todas por debajo de los valores obtenidos con concentraciones normales. (Fig. 4).

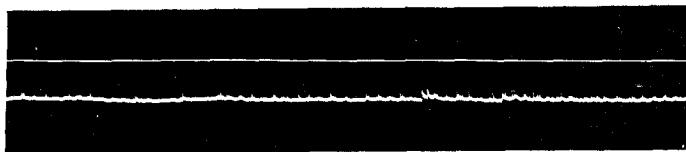


Fig. 3. Despolarizaciones en forma de espigas y amplitudes menores al reducir a  $\frac{1}{3}$  la concentración de  $\text{Na}^+$  externa.

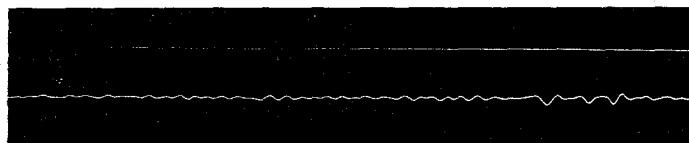


Fig. 4. Al reducir la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  externa se observan oscilaciones del potencial de membrana.

## DISCUSION

Las células mononucleares fagocíticas tienen altamente desarrollada la capacidad de fagocitar. Es demostrable que el látex es fagocitado con facilidad por estos macrófagos (Noa, 1974; Noa y Kouri, 1975a). El registro de los potenciales de membrana tomados de las placas de agar,

provistos de estos tipos celulares es estable, con valores promedio de 13.47 mv (*Noa y cols.*, 1973; *Noa y Kouri*, 1975b). Agregándose el látex, se observa a los pocos segundos despolarizaciones de frecuencia variable, lo que nos permite suponer que estas variaciones eléctricas puedan estar relacionadas con el proceso fagocítico llevando implícito probablemente variaciones en la permeabilidad de la membrana. Otros autores han demostrado en *Chaos Chaos* que agentes inductores de la pinocitosis provocan decremento de la resistencia eléctrica de la membrana celular. La membrana celular de los tejidos excitables determina por sus características de permeabilidad y por la actividad específica de la bomba de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , variaciones en la composición iónica en los compartimientos internos y externos con la diferencia de potencial entre ambos.

Los cambios de las concentraciones iónicas externas provocan en estas células modificaciones de los niveles del potencial de reposo y de la amplitud y forma de la despolarización.

Indudablemente, se ha de requerir para el estudio en este sentido experiencias con un muestreo mayor y el uso de otras técnicas electrofisiológicas que nos permitan dilucidar las características de la permeabilidad de la membrana celular fagocítica y la existencia o no de procesos activos del tipo ATPasa Na-K-dependiente.

Los resultados comunicados son sugerentes de que la fagocitosis de las células mononucleares fagocíticas se acompañan de cambios en los potenciales de membrana y que al parecer los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  son componentes que permiten y juegan un papel en su génesis.

## RECONOCIMIENTOS

Agradecemos al Dr. B. Holmgrem por la lectura y corrección del manuscrito, así como también a Héctor Leonard, Olga Arteaga y Rosa Izquierdo, por la ayuda prestada.

## REFERENCIAS

- ALLISON A. C. The role of microfilaments and microtubules in cell movement, endocytosis and exocytosis. Locomotion of tissue cells. Ciba Foundation Symposium 14, 1973.
- BRANDT P. AND FREEMAN A. R. Plasma membrane: substructural changes correlated with electrical resistance and pinocytosis. *Science*, 155, 582, 1967.