

T.P. 2**La Célula****Objetivos:**

1. Reconocer la naturaleza lipídica de la membrana celular
2. Reconocer las diferencias entre las células vegetales y animales
3. Comprender la importancia de los fenómenos osmóticos en el contexto de la biología celular.
4. Aprender técnicas básicas para el preparado de muestras biológicas.
5. Familiarizarse con el uso del microscopio

Composición de la membrana celular

Las membranas biológicas son finas bicapas lipídicas que permiten la compartimentalización de las células. La membrana celular representa el límite, delimitando un medio interno (citoplasma) de uno externo (entorno) con composiciones químicas diferentes. La membrana regula el intercambio entre los compartimentos que delimita, ya que es selectivamente permeable. La membrana está formada básicamente por fosfolípidos que forman una bicapa. Esto se debe al carácter "anfipático" (polar-apolar) de los fosfolípidos: sus "cabezas" polares se disuelven bien en el agua, mientras que sus "colas" grasas no polares no se disuelven en el agua sino que se mezclan entre ellas, formando una

estructura en "sandwich" (cabezas hidrofílicas - colas hidrofóbicas - cabezas hidrofílicas). Insertos en esta bicapa lipídica hay otros lípidos (ej. esteroides) y proteínas (Fig. 1). Además hay carbohidratos y proteínas asociados superficialmente a ambas caras de la membrana. La proporción de sus componentes varía en las diferentes células otorgando propiedades especiales a las diferentes membranas en relación a las funciones que cumplen cada una de ellas. El paradigma actual de la estructura de membrana es el modelo del mosaico fluido.

La formación de vesículas de membrana lipídica fue un elemento clave en el origen de la vida, que culminó con la aparición de las primeras bacterias.

Los eritrocitos son las células más abundantes de la sangre, encargadas de transportar el oxígeno por el cuerpo gracias al pigmento respiratorio que contienen en su interior (hemoglobina). Son intensamente usados para la investigación en el campo de la biología celular, gracias a que pueden tenerse en suspensión y a su fácil obtención, abundancia, homogeneidad y sensibilidad. Una suspensión de eritrocitos tiene un color rojo mate. Cuando las membranas de los eritrocitos son rotas, por ejemplo por la acción de un detergente que la disuelve, la solución se torna rojo brillante y translúcida debido al color de la hemoglobina disuelta.

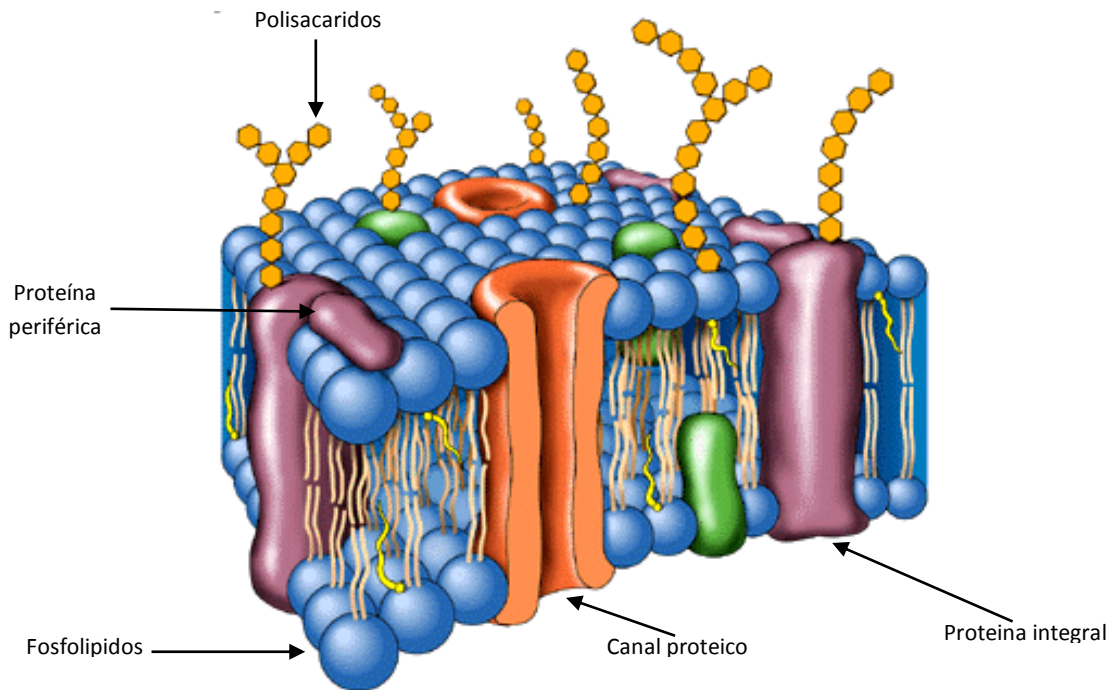


Figura 1. Representación esquemática de una sección de membrana celular.

Ósmosis y difusión:

Ambos conceptos deben entenderse teniendo en cuenta que la membrana celular es selectivamente permeable. La difusión es el movimiento aleatorio de una sustancia a favor de su gradiente de concentración (desde una región de mayor concentración hacia una de menor concentración). En un contexto biológico, la difusión es el paso de una sustancia disuelta (solute) a través de una membrana desde el compartimiento de mayor concentración al de menor concentración. La ósmosis, en el sentido biológico, es la difusión del agua a través de la membrana celular hacia el compartimiento (citoplasma o líquido extracelular) de mayor concentración de partículas de solutos. No importa la naturaleza de estos solutos, solo el número de partículas. La fórmula de la ósmosis es:

$$\pi = iCRT$$

donde:

π : presión osmótica (presión del agua sobre la membrana)

C: concentración de soluto

R: constante universal de los gases

T: temperatura

i: número de partículas en las que se disocia el soluto (las sales se disocian en 2 o mas partículas en solución, por lo que ejercen el doble o mas presión osmótica que las sustancias que no se disocian).

La osmolaridad es la concentración de partículas osmóticas activas de una solución por unidad de volumen medida en osmoles (número total de partículas en un soluto). Cuando un eritrocito (o cualquier célula animal) está en un líquido con una concentración de partículas igual a la del citoplasma (isosmótico) mantiene su forma (fig. 2). Cuando está en un líquido con mayor concentración (hiperosmótico) pierde agua y se deforma colapsándose (crenación). Cuando está en un líquido con menor concentración (hiposmótico), gana agua hinchándose hasta estallar (hemólisis). La tonicidad es la respuesta de las células a la osmolaridad. Esta diferencia se debe a que las membranas biológicas no presentan solo permeabilidad al agua sino también a otras moléculas y responde activamente a los cambios de osmolaridad del medio externo. Una solución isotónica es aquella en la que la célula no sufre cambios de forma, una solución hipotónica es aquella en la que la célula aumentará su volumen (se hincha). Y una solución hipertónica es aquella en la que la célula reduce su volumen (se contrae).

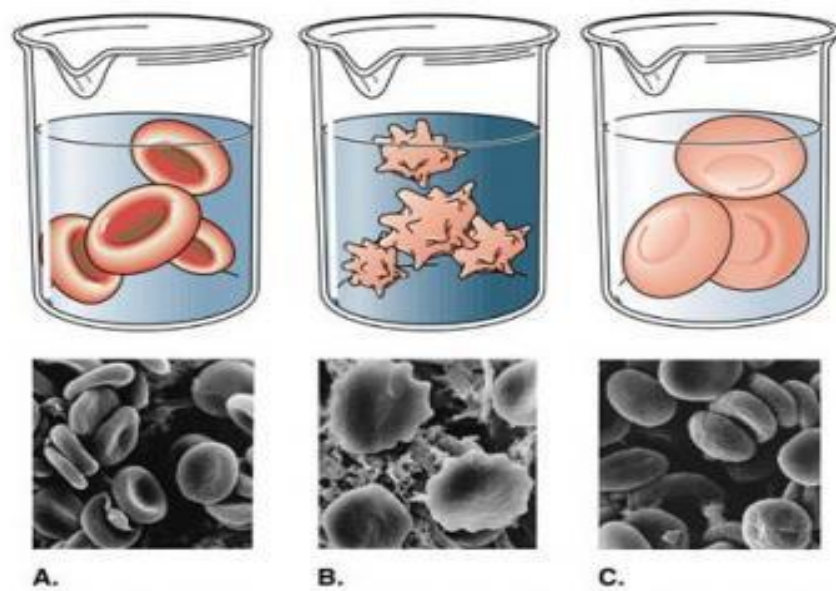


Figura 2. Alteraciones de la forma de los eritrocitos en soluciones isosmóticas (A), hiperosmóticas (B) e hiposmóticas (C).

Actividad 3.1: Hemolisis de eritrocitos

Materiales:

- Tubos de hemolisis
- Pipetas pasteur
- Parafilm

1. Agregar a los tubos A, B, C y D 1 ml de la solución correspondiente, de acuerdo a lo indicado en la tabla.
2. Agregar 2 gotas de sangre a cada tubo, tapar con parafilm e invertir suavemente 2 veces para mezclar.
3. Observar a trasluz cada uno de los tubos y determinar si hay una suspensión de eritrocitos enteros (color rojo mate, opaca) o sangre hemolizada (color rojo rubí brillante, translúcida).
4. Agregar 3 gotas de detergente Triton-X al tubo C, mezclar y observar.
5. Interpretar los resultados.

Tubo	A	B	C	D
<i>Agregar 1 ml de</i>	<i>Agua</i>	<i>Glucosa 0.1M</i>	<i>SO₄Na₂ 0.1M</i>	<i>SO₄Na₂ 0.1M</i>

Las respuestas osmóticas de las células vegetales a la osmosis son diferentes, ya que poseen una pared celular por fuera de la membrana que otorga rigidez a la célula y evita los cambios drásticos de tamaño y la entrada excesiva de agua. La célula no estalla en una solución hipotónica, ya que la pared lo impide y sólo llega al estado de turgencia (Fig. 3). Si la colocamos en una solución hipertónica la célula se deshidrata perdiendo agua del citoplasma sufriendo el proceso conocido como plasmólisis, donde la membrana se separa parcialmente de la pared. Las células vegetales suelen tener una gran vacuola que interviene activamente en la regulación osmótica.

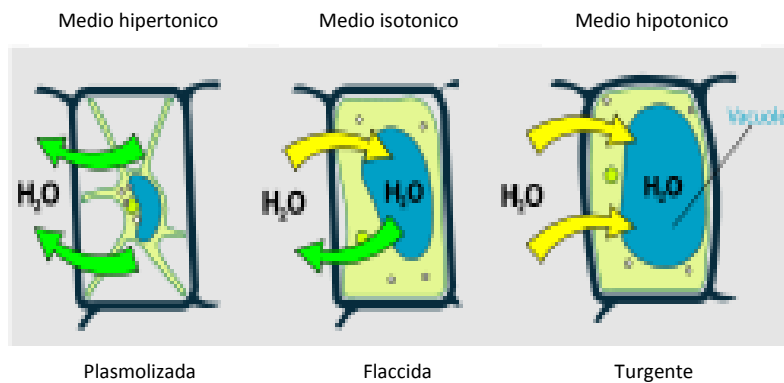


Figura 3. Respuesta osmótica de las células vegetales.

Observación de células al microscopio:

La mayoría de las células animales o vegetales miden entre 10 y 30 micrómetros (μm) de diámetro, entre 3 a 10 veces menos que la resolución del ojo humano, por lo cual debemos usar microscopios. El microscopio que usaremos es el óptico (fig. 4), que tiene un límite de resolución de aproximadamente 0,2 micrómetros. Cuando estudiamos muestras al microscopio se deben preparar para preservar sus cualidades y maximizar el contraste entre sus estructuras. Para esto se fijan con soluciones especiales para que las estructuras queden en su lugar y no sufra cambios posteriores, luego se deshidratan y se tiñen para manifestar las estructuras que nos interesan estudiar. Una tinción de uso muy común en células y tejidos animales es la de Giemsa (eosina y azul de metileno), utilizada para el examen de frotis sanguíneos y otras muestras. Permite determinar células sanguíneas, bacterias y parásitos. El citoplasma se ve rosa, los núcleos azules, los eritrocitos rosa anaranjado, las bacterias azules y los leucocitos púrpura.

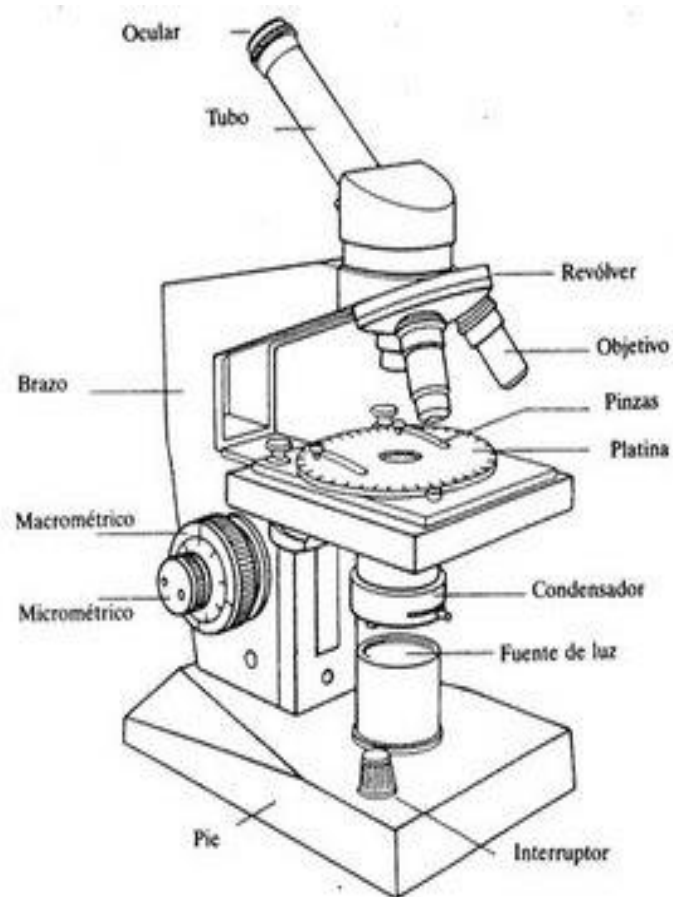


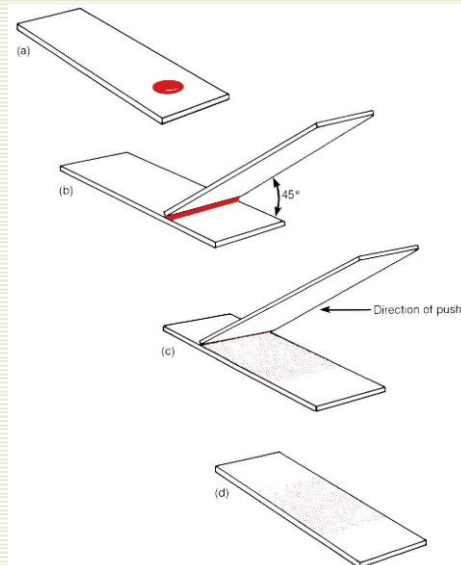
Figura 4. Diagrama general de un microscopio óptico.

Actividad 3.2: Observación de frotis o extendido de sangre

Materiales:

- Bisturí
- Pinza
- Porta y cubreobjetos
- Pipeta

1. Con una pipeta Pasteur, depositar una gota de sangre sobre un portaobjeto, a 1 cm. de su extremo.
2. Usando, a modo de extensor, otro portaobjeto con las aristas limadas, extender la sangre de acuerdo a la figura, desplazando el extensor a en forma pareja.
3. Dejar secar y sumergir 30 segundos en metanol.
4. Enjuagar con agua y sumergir 45 minutos en solución Giemsa (diluida con 9 volúmenes de agua o solución salina).
5. Enjuagar con agua y dejar secar inclinado.
6. Colocar un cubreobjeto y observar al microscopio.



Actividad 3.3: Observación de preparado de células de cebolla

Materiales:

- Bisturí
- Pinza
- Porta y cubreobjetos

1. Cortar una cebolla y retirar una fina lamina de tejido siguiendo las instrucciones de los docentes.
1. Estirar un trazo de esta lamina sobre un portaobjeto, agregar una gota de agua y tapar con un cubreobjetos.
2. Observar al microscopio.

Actividad 3.4: Observación de preparado de hojas de Elodea

Materiales:

- Bisturí
- Pinza
- Porta y cubreobjetos

1. Sumergir unas hojas de *Elodea* en una capsula de Petri con ClNa 1M durante 20 minutos.
2. Colocar una de estas hojas estirada sobre el lado derecho un portaobjeto y tapar con un cubreobjetos.
3. Colocar una hoja fresca estirada sobre el lado izquierdo del portaobjeto y tapar con un cubreobjetos.
4. Observar al microscopio.