



03081 8
2ej-

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL
Y DE POSGRADO DEL CCH
INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA
U.N.A.M.

CAMBIOS EN LA LONGITUD ELECTROTÓNICA
DEL ÁRBOL DENDRÍTICO DE LAS NEURONAS
DEL NEOESTRIADO DE LA RATA POR BLOQUEO
DE CONDUCTANCIAS A K^+ .

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN INVESTIGACION BIOMÉDICA BÁSICA
(NEUROCIENCIAS)
PRESENTA:
ARTURO REYES LAZALDE

MEXICO, D. F.

1998.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

2585'9



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACION

DISCONTINUA

Esta tesis fue realizada en el Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México con la dirección del Dr. José Bargas. El proyecto fue apoyado por donativos de la DGAPA y del CONACyT (al Dr. José Bargas) y con becas del CONACyT y SUPERA a Arturo Reyes Lazalde.

**En memoria de mi padre: Nabor
y a mi madre Rosa
por todo el cariño que me han dado
y por el orgullo que siento de ser su hijo.**

**A mi hija Marleni
por enseñarme la parte humana
de la vida.**

**A Maru
en resonancia
e^(∞)l = idem**

Voy y vengo
por mi biblioteca,
donde mis libros son ya luz, como los otros,
igual que por mi sueño adolescente,
y quien viene es quien quise -- quien soñé --
entonces que viniera -- la mujer --.
El mediodía pone solitario
el alrededor, donde
hablo, sonriente, con los que me ignoran, por que tengo,
en círculo distante, lo infinito.

Juan Ramón Jiménez

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	7
ESTRUCTURA ELECTROTONICA Y CIRCUITO ELECTRICO EQUIVALENTE	8
----- Circuito eléctrico equivalente de la membrana y del soma	8
----- Circuito eléctrico equivalente de un axón	8
----- Circuito eléctrico equivalente de una neurona con dendritas	9
----- Nomenclatura	9
CELULA ISOPOTENCIAL Y CONSTANTE DE TIEMPO (τ)	11
ESTRUCTURA ELECTROTONICA DE UN AXON	13
----- Ecuación de Cable	13
----- Electrotono y constante de espacio (λ)	14
----- Constante de tiempo en un axón	16
NEURONAS CON DENDRITAS	16
----- Cilindro equivalente	17
----- Longitud electrotónica	20
----- Condiciones de frontera	21
----- Electrotono en el cilindro eléctricamente equivalente	28
----- Constante de tiempo en una neurona con dendritas	30
----- Parámetros eléctricos en una neurona con dendritas	30
MODELO DE SOMA UNIDO A UN CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE CON RESISTENCIA DE MEMBRANA (R_m) HETEROGENEA	30
----- Condiciones de frontera en $X=0$ en el modelo con R_m heterogénea	31
----- Implicaciones de R_m heterogénea	32
----- Factor de "shunt" (β)	32
RELACION DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CON LOS MODELOS	33
----- Estimación de L en los modelos con cilindro eléctricamente equivalente	34
----- Naturaleza física de los coeficientes y constantes de tiempo y su influencia en la determinación de L	35
----- Significado de τ_0 en una neurona con R_m heterogénea	38
----- Constantes de tiempo en neuronas asimétricas	40

— Acople eléctrico	42
CLASIFICACION DE LOS MODELOS	44
HIPOTESIS	66
MATERIAL, METODOS Y RESULTADOS	67
DISCUSION	114
CONCLUSIONES	122
APENDICES	
— (A) Lista de símbolos	123
— (B) Circuito RC en paralelo	127
— (C) Derivación de la ecuación de cable	128
— (D) Solución de la ecuación de cable	129
— (E) Derivación del cilindro equivalente	132
— (F) Derivación del modelo del cilindro finito y su solución	134
— (G) Derivación de la condición en la frontera en $X=0$ del modelo de soma más cilindro equivalente (R_m homogénea)	138
— (H) Solución del modelo de soma más cilindro equivalente (R_m homogénea)	140
— (I) Derivación de la condición en la frontera en $X=0$ en el modelo de soma más cilindro equivalente (R_m heterogénea)	144
— (J) Solución del modelo de soma má cilindro equivalente (R_m heterogénea)	146
— (K) El parámetro ρ	150
— (L) Programa HR1	154
BIBLIOGRAFIA	180

RESUMEN

1. Se caracterizaron electrotónicamente las neuronas neoestriales de proyección usando técnicas de registro intracelular en rebanadas del caudoputamen de la rata. Las respuestas pasivas en el potencial de membrana en el reposo fueron comparadas antes y durante la aplicación de diferentes bloqueadores de potasio: Tetraetilamonio (TEA) (5 a 20 mM), cesio (Cs^+) (2.5 a 5 mM), y bario (Ba^{2+}) (1 a 5 mM).
2. La respuesta electrotónica fue analizada usando un modelo de cilindro equivalente con corto circuito somático. Los parámetros anatómicos y el factor de corrección generalizada (F_{dga}) fueron usados para corregir el modelo. Muchas de las neuronas registradas fueron marcadas con biocitina e identificadas como neuronas espinosas medianas. Varias neuronas fueron reconstruidas y se les determinó el área dendrítica (A_D) y área neuronal (A_N) coinciden con los datos anatómicos reportados previamente por otros autores. Como son: $A_D \approx 1.9 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$; $A_N = 2 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$.
3. La capacitancia (C_S) y el área somáticas (A_S) fueron obtenidas por dos métodos diferentes, primero, integrando la parte inicial del transitorio de la corriente obtenida con la técnica de registro en célula completa (whole-cell clamp) en somas aislados. Segundo, A_S fue obtenida de mediciones hechas en las neuronas reconstruidas. Ambos métodos dan una media aproximada de: $A_S = 6.5 \pm 0.3 \times 10^{-6} \text{ cm}^2$ o $C_S = 6.5 \pm 0.3 \text{ pF}$. La resistencia de entrada en los somas aislados (R_S) fue de $2.62 \pm 0.32 \text{ G}\Omega$ sin bloquear ninguna conductancia.
4. Los bloqueadores de conductancias de potasio aumentaron la resistencia de entrada de la neurona (R_N). Estos difieren en su potencia y eficiencia en el incremento de R_N . Se hizo una substracción de las curvas corriente contra voltaje antes y después del bloqueo de las conductancias de potasio. Los

trazos resultantes sugieren que las conductancias sensibles a Cs^+ son dependientes de voltaje, mientras que las sensibles a Ba^{2+} y TEA actúan preferentemente sobre conductancias de potasio tipo fuga o "leak". Para concentraciones equivalentes, el incremento en R_N fue más grande con Ba^{2+} y más pequeño con TEA. En un 56 % de los casos todos los bloqueadores de K^+ , a altas concentraciones, fueron capaces de inducir una aparente isopotencialidad (se puede ajustar una única función exponencial a la curva de carga).

5. Combinando datos anatómicos y electrofisiológicos se determinó la resistencia de entrada dendrítica (R_D) y la resistencia de entrada somática (R_S): $R_D=182\pm 7 \text{ M}\Omega$ ($n=32$); R_S (con corto circuito somático o "soma shunt")= $74.4\pm 4 \text{ M}\Omega$ ($n=32$). El factor de corrección generalizado (F_{dga}) fue de 0.91 ± 0.007 ($n=10$); lo que implica que la longitud electrotonica es corta: $L_D=0.46\pm 0.014$ ($n=32$). Todos los bloqueadores de K^+ disminuyeron el corto circuito somático y la longitud electrotonica: Ba^{2+} ($n=5$): $L_D=0.26\pm 0.05$, $R_N=216\pm 21 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=46\pm 2 \text{ ms}$, $R_D=239\pm 25 \text{ M}\Omega$, y $R_S=3.2\pm 0.5 \text{ G}\Omega$; estos valores son similares a los obtenidos por otros autores con la técnica de célula completa, por ejemplo, $R_N=198 \text{ M}\Omega$, y en somas aislados $R_S=2.62 \text{ G}\Omega$ ($n=52$). El Cs^+ ($n=5$) tuvo un menor efecto sobre el corto circuito somático: $L_D=0.27\pm 0.01$, $R_N=115\pm 19 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=49\pm 13 \text{ ms}$, $R_S=161\pm 8 \text{ M}\Omega$, pero la R_D fue igualmente bloqueada $R_D=261\pm 16 \text{ M}\Omega$. TEA ($n=5$): $L_D=0.36\pm 0.04$, $R_N=78\pm 10 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=15\pm 1.2 \text{ ms}$, $R_D=170\pm 13 \text{ M}\Omega$, $R_S=197\pm 64 \text{ M}\Omega$. Esto muestra que los bloqueadores de K^+ tienen acciones diferenciales sobre la membrana somato-dendrítica.
6. Algunas neuronas (44 %) presentaron más de una exponencial en su función de carga durante la aplicación de concentraciones saturantes de bloqueadores de K^+ . En todos estos casos fueron encontradas dos o más neuronas simultáneamente marcadas con biocitina; contrariamente a las neuronas que

presentaron una sola exponencial. En condiciones control se marca más de una neurona solo en el 2.5 % de los casos ($\chi^2=3.5$, $p=0.001$). Esto sugiere que altas concentraciones de bloqueadores de K^+ pueden inducir acople eléctrico en las neuronas espinosas medianas de proyección.

SUMMARY

1. Projection neurons from rat neostriatal slices were electrotonically characterized using intracellular techniques. Passive electrical responses at the resting membrane potential were compared before and during extracellular application of different potassium conductance blockers: tetraethylammonium (5 to 20 mM) (TEA), cesium (2.5 to 5 mM) (Cs^+), and barium (1 to 5 mM) (Ba^{2+}).
2. Electrotonic transients were matched to a somatic shunt equivalent cylinder model adjusted with the generalized correction factor (F_{dga}) that constrains the parameters for neuronal anatomy. All recorded neurons were intracellularly stained using the biocytin technique and identified as medium spiny projection neurons. Selected neurons were reconstructed. Dendritic measurements were performed. Average determinations of dendritic (A_{D}) and neuronal (A_{N}) surface areas coincided with previously reported anatomical data. Thus: $A_{\text{D}} \approx 1.9 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$; $A_{\text{N}} \approx 2 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$.
3. Mean somatic membrane's capacity (C_{S}) and surface area (A_{S}) were obtained by two independent methods. First, by integrating initial current transients obtained by recording acutely dissociated somata of neostriatal medium sized neurons in whole-cell voltage clamp conditions. These somata were dissociated from the same slices that were used to record intracellularly, v. g., adult rat neostriata. Secondly, by using A_{S} measurements obtained from reconstructed biocytin filled neurons. Both methods produced a mean $A_{\text{S}} \approx 6.5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2$ or $C_{\text{S}} \approx 6.5 \text{ pF}$. Input resistance of the same sample of acutely dissociated somata (R_{S}) was: $2.62 \pm 0.32 \text{ G}\Omega$ ($n=52$), without conductance blockers in either the intra- or extra-cellular solutions.
4. Potassium conductance blockers appeared to differ in their potency and efficiency in increasing the input resistance (R_{N}). If current-voltage relationships before and during potassium blockers were subtracted, the current

traces suggest that Cs^+ -sensitive conductance exhibits voltage-dependent inward-rectifying properties, whereas both Ba^{2+} and TEA appear to preferentially block linear potassium conductances or leak conductances. The increment in R_N was larger during Ba^{2+} and smaller during TEA at similar concentrations. Nevertheless, all blockers, at high concentrations, were capable of inducing apparent isopotential electrotonic responses in 56% of neostriatal neurons.

5. Combining anatomical and electrophysiological data, somatic and dendritic input resistances were determined: $R_D=182 \pm 7 \text{ M}\Omega$; $R_S(\text{with shunt})=74.4 \pm 4 \text{ M}\Omega$ ($n=32$). The generalized correction factor, $F_{dga}=0.91 \pm 0.007$ ($n=10$), implied a short effective electrotonic length for dendrites: $L_D=0.46 \pm 0.014$ ($n=32$). All potassium blockers decreased the somatic shunt and electrotonic length: Ba^{2+} ($n=5$): $L_D=0.26 \pm 0.05$, $R_N=216 \pm 21 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=46 \pm 2 \text{ ms}$, $R_D=239 \pm 25 \text{ M}\Omega$, and $R_S=3.2 \pm 0.5 \text{ G}\Omega$; rendering values similar to those obtained with whole-cell recording, e. g., $R_N=198 \text{ M}\Omega$, $R_S=2.62 \text{ G}\Omega$ ($n=52$). Cs^+ ($n=5$) had less effect on the somatic shunt: $L_D=0.27 \pm 0.01$, $R_N=115 \pm 19 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=49 \pm 13 \text{ ms}$, $R_S=161 \pm 8 \text{ M}\Omega$ although dendritic conductance was equally blocked: $R_D=261 \pm 16 \text{ M}\Omega$. TEA ($n=5$): $L_D=0.36 \pm 0.04$, $R_N=78 \pm 10 \text{ M}\Omega$, $\tau_0=15 \pm 1.2 \text{ ms}$, $R_D=170 \pm 13 \text{ M}\Omega$, $R_S=197 \pm 64 \text{ M}\Omega$. This suggests a differential action of different K^+ -blockers on the somato-dendritic membrane.
6. Some medium spiny projection neurons (44%) did not exhibit single exponential charge functions on their electrotonic responses during application of saturating concentrations of potassium conductance blockers. In each one of these cases more than one neuron appeared stained with biocytin after recording. Conversely, there were no cases of multiple staining that presented single exponential charging curves. In control conditions multiple staining was present in 2.5 % of the cases ($\chi^2=3.5$, $p<0.001$). Thus, the experiments suggest that

high concentrations of K^+ -blockers induce dye-coupling and probably electrical-coupling in neostriatal spiny projection neurons.

INTRODUCCION

El árbol dendrítico neuronal tiene una importancia particular en los procesos de integración de las entradas sinápticas. A él llegan más del 90 % de las entradas sinápticas. Por ejemplo, una neurona de la corteza visual de gato presenta alrededor de 6000 sinapsis (Shepherd, 1990). Se tienen evidencias de que la actividad eléctrica del árbol dendrítico presenta propiedades de membrana tanto pasivas como activas (Rall, 1959, 1960, 1977, Llinás y cols., 1980a, b; Woody y cols., 1984). Estas propiedades interaccionan de manera dinámica en la integración y probablemente en la discriminación de las señales que se reciben de otras neuronas. La integración sináptica es afectada por las propiedades activas y pasivas del árbol dendrítico (Llinás y cols., 1980a, b; Woody y cols., 1984; Wilson, 1995), por la naturaleza de las sinapsis (excitatoria, inhibitoria, eléctrica) (Furukawa, 1966; Burke, 1979), la geometría de la célula postsináptica (Rall, 1964; Rall y Rinzel, 1973; Horwitz, 1983; Holmes, 1989; Nitzan y cols., 1990; Mascagni, 1991), la organización espacial de las entradas sinápticas (Rinzel y Rall, 1974; Jack y cols., 1975; Wilson, 1995), la relación temporal entre las diferentes entradas (Segev y Parnas, 1983; Segev y cols., 1992; Agmon-Snir y Segev, 1993; Wilson, 1995), y la modulación de la excitabilidad neuronal debida a acciones lentas de neurotransmisores mediadas por segundos mensajeros (Brown y Birnbaumer, 1990).

ESTRUCTURA ELECTROTONICA Y CIRCUITO ELECTRICO EQUIVALENTE.

Los procesos pasivos dependen de la estructura electrotonica de la neurona. Se puede representar mediante un circuito eléctrico equivalente. Las propiedades pasivas son determinadas por los componentes eléctricos pasivos, resistencias y capacitores que no cambian con el tiempo, ni el voltaje. Las propiedades activas son determinadas por los componentes eléctricos que cambian con el tiempo y/o con el voltaje, por ejemplo canales dependientes de voltaje que hacen las veces de resistencias variables.

Circuito eléctrico equivalente de la membrana y del soma .

La membrana celular y el soma de una neurona se comportan eléctricamente como un circuito eléctrico formado por un capacitor y una resistencia en paralelo (Fig.1A). Cuando se inyecta corriente a este circuito se carga el capacitor. Al voltaje que se registra como respuesta a este estímulo se le llama curva o función de carga. La rapidez con que se carga el capacitor depende de los valores de la resistencia y de la capacitancia.

Circuito eléctrico equivalente de un axón

Un axón puede verse como un cilindro. La parte interna del cilindro (el citoplasma) se representa por resistencias en serie (r_i) que unen varios circuitos RC en paralelo que representan la membrana celular (pared del cilindro), El axón esta embebido en un medio externo representado por resistencias en serie (r_e) (Hodgkin y Rushton, 1946) (fig 1B).

Circuito eléctrico equivalente de una neurona con dendritas

Esta formado por un circuito RC que representa al soma que se une a un circuito eléctrico que representa las dendritas (Rall, 1977). El circuito eléctrico de las dendritas es semejante al del axón (fig 1C).

Nomenclatura

La figura 1 tiene nomenclatura de resistencias y capacitancias por unidad de longitud: r_i es la resistencia axial (Ω/cm), r_m es la resistencia de membrana (Ωcm), y c_m es la capacitancia de la membrana (F/cm). Esta nomenclatura tiene implícita una estructura geométrica (la del cilindro). Estos parámetros se pueden expresar también en unidades de área (por cm^2): R_i es la resistencia específica intracelular o citoplasmática o resistividad (Ωcm), R_m es la resistencia específica de membrana (Ωcm^2) y C_m es la capacitancia específica de la membrana (F/cm^2). Se relacionan con los parámetros correspondientes en unidades de longitud de la manera siguiente:

$$R_i = \pi a^2 r_i \quad (1.1)$$

$$R_m = 2\pi a r_m \quad (1.2)$$

$$C_m = c_m / 2\pi a \quad (1.3)$$

Donde a = radio del cilindro (cm)

Los parámetros R_i , R_m y C_m no dependen de la geometría.

Determinar la estructura electrotónica significa, en parte, determinar los valores de estos parámetros (R_i , R_m y C_m). Se acepta que C_m es constante, $C_m \approx 1\mu\text{F}/\text{cm}^2$, para las membranas biológicas (Cole y Curtis, 1939). Los valores de R_i reportados en la literatura van de 75 a 400 Ωcm (Barret y Crill, 1974; Shelton, 1985; Fleshman y cols., 1988;

Clements y Redman, 1989; Stratfors y cols., 1989; Fromherz y Vetter, 1992). El valor de R_m se determina a partir de modelos matemáticos que consideran datos electrofisiológicos y anatómicos para su solución (Hodgkin y Rushton, 1946; Rall, 1977). Se puede determinar experimentalmente en "parches" de membrana. El caso más simple es el de una célula redonda o pequeña (célula isopotencial).

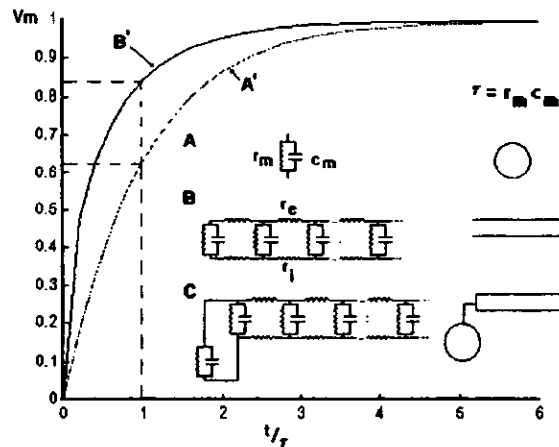


Fig. 1 Simulación de las curvas de carga celular mediante circuitos eléctricos equivalentes. (A) curva de carga de un soma neuronal o una célula pequeña o redonda (circuito RC en paralelo), (B) curva de carga de un axón (r_i son las resistencias en serie que representan al citoplasma que une varios circuitos RC que representan a la membrana y r_e son las resistencias en serie que representan el medio extracelular), (C) circuito eléctrico de una neurona con dendritas, las dendritas están representadas con un circuito semejante al del axón y el soma está representado por un circuito RC en paralelo. La gráfica presenta las curvas de carga. El trazo A' corresponde al soma, el trazo B' corresponde al axón. En medio de estos dos trazos se encontraría el correspondiente a una neurona con dendritas. Las líneas discontinuas indican la intersección de una constante de tiempo con la curva de carga. Como puede verse, en el caso de un soma, una constante de tiempo se alcanza el 63% de la amplitud máxima de la curva de carga. En el caso de un axón se alcanza el 84% de la amplitud de la curva de carga. Por lo tanto en el caso de una neurona con dendritas el voltaje alcanzado para una constante de tiempo será entre el 63% y el 84% de la amplitud máxima.

CELULA ISOPOTENCIAL Y CONSTANTE DE TIEMPO (τ)

Se dice que una célula es isopotencial, si al inyectarle corriente intracelularmente ésta sale instantáneamente por toda la membrana de forma que el cambio en el potencial de membrana sea igual y simultáneo en toda su superficie, v.g., $\Delta V/\Delta x=0$ (Fig. 2). Para que esto suceda se debe cumplir: (a) que R_m sea homogénea, y (b) que R_i sea prácticamente cero. Una célula isopotencial puede ser una neurona sin procesos dendríticos, o algunas células pequeñas o redondas (neuronas ganglionares, ovocitos) (Eckert y Naitoh, 1970). El soma por sí solo suele considerarse isopotencial (ver por ejemplo, Rall, 1969; Hellerstein, 1968). Un circuito RC en paralelo reproduce el comportamiento pasivo de las células isopotenciales. Su solución cuando se inyecta un pulso de corriente despolarizante es:

$$V_m = 1 - \exp(-t/(r_m \cdot C_m)) \quad (2)$$

La derivación de la ecuación diferencial de este modelo y su solución se muestran en el apéndice B.

El comportamiento eléctrico pasivo de una célula isopotencial se puede describirse de la siguiente manera: Cuando a la neurona se le inyecta un pulso de corriente de intensidad subumbral se produce un cambio en el potencial de membrana (ΔV_m) proporcional a la R_m . Este cambio no es instantáneo ya que exhibe un curso temporal característico. Este curso temporal se produce como respuesta a la carga de C_m (curva o función de carga) (Figs. 1 y 3). El estado estable de ΔV_m se alcanza después de que se carga por completo C_m (fig. 1). La parte transitoria de la función de carga de una neurona isopotencial se ajusta con una exponencial simple que tiene una constante de tiempo

definida como: $\tau_m = r_m c_m = R_m \cdot C_m$ (Rall, 1957). La descarga del capacitor o la respuesta a una corriente hiperpolarizante subumbral sigue una función exponencial:

$$V_m = A_o \cdot \exp(-t/\tau) \quad (3)$$

Cuando $t = \tau$, en la ecuación (3), entonces $e^{-1} = 0.37$. Es decir, V_m es el 63 % del cambio final de ΔV_m . Por lo tanto, en una célula isopotencial el tiempo en el que se alcanza el 63% del voltaje final es igual a una constante de tiempo (Fig. 1A). La figura 2 es un esquema de una célula isopotencial a la que se inyectó con un pulso hiperpolarizante y su curva de carga (voltaje -vs- tiempo) en escalas lineal y semilogarítmica ($\ln V_m$ -vs- tiempo). Esta última escala muestra una recta. La inversa de su pendiente es τ .

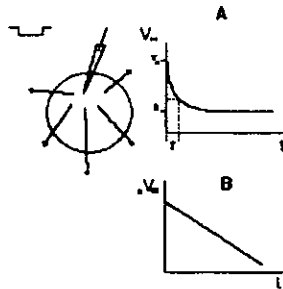


Fig.2. Esquema de una célula isopotencial. La corriente inyectada sale instantáneamente por toda la membrana. En el panel A se muestra que la gráfica V_m -vs- t (curva de carga) es una sola exponencial. Cuando $V_m=63\%$ de su valor final, $t=\tau$. En el panel B se muestra que la curva de carga graficada en forma semilogarítmica es una línea recta. La inversa de su pendiente es τ .

ESTRUCTURA ELECTROTÓNICA DE UN AXÓN

La estructura electrotónica de un axón es más compleja que la de una célula isopotencial. Sin embargo, su solución se puede obtener a partir del modelo propuesto para un cable submarino mediante la teoría denominada Teoría de Cable. Del circuito eléctrico que representa a un axón (fig. 1B), y según las leyes de Kirchoff, se deriva una ecuación diferencial parcial en el tiempo (t) y en la distancia (x) denominada "ecuación de cable" (Hodgkin y Rushton, 1946; Rall, 1977).

Ecuación de Cable

La ecuación de cable (con variables adimensionales) es:

$$d^2V/dX^2 = V+dV/dT \quad (4)$$

Donde V = potencial electrotónico.

$V = V_m - E_r$, con V_m = potencial de membrana (V) y E_r = potencial de reposo (V).

$X = x/\lambda$ (adimensional) con: x = longitud del cilindro (cm) y λ = constante de espacio (cm).

y $T = t/\tau$ (adimensional) con: t = tiempo (s) y τ = constante de tiempo (s).

Para la derivación de esta ecuación ver el apéndice C y para una solución general usada en modelos celulares ver el apéndice D. Esta ecuación tiene solución en el tiempo (curva de carga) y tiene solución en la distancia (lo que nos predice el decaimiento del voltaje a lo largo de la distancia, o "electrotono"). La solución en la distancia también se llama "solución en estado estable", puesto que no interesan las variaciones en el tiempo.

Electrotono y constante de espacio (λ)

Cuando R_i no se puede despreciar, como en el caso de un axón o de un árbol dendrítico el cambio de potencial en un extremo se disipa con la distancia. A este decremento de voltaje se le llama electrotono (fig.3). El electrotono se estudió primero en el axón gigante debido a que se puede registrar a lo largo de él (Hodgkin y Rushton, 1946; Davis y Lorente de Nó, 1947). Estudios matemáticos de este proceso pueden encontrarse en Hodgkin y Rushton, 1946; Davis y Lorente de Nó, 1947; Clark y Plonsey, 1966; Kootsey, 1977; y Arthurs y Arthurs, 1983.

La disipación del voltaje con respecto a la distancia (electrotono) en un axón o en un cilindro infinito se puede ajustar a una función exponencial simple (Fig. 3, ver gráfica V_m -vs- x). La gráfica semilogarítmica, $\ln V_m$ -vs- x , es una línea recta, y la inversa de su pendiente es la constante de espacio (λ). La constante de espacio (λ) es entonces la distancia donde el voltaje ha decrecido un 63% de su valor inicial. Este comportamiento eléctrico pasivo del axón se puede describir matemáticamente con la solución de la ecuación de cable cuando $dV/dt=0$ (estado estable). Las soluciones en estado estable pueden simularse. Al final de la tesis proporcionamos el programa HR1, diseñado en este laboratorio para simular el comportamiento eléctrico pasivo del axón. Este programa usa el arreglo experimental original de Hodgkin y Rushton (1946) (ver apéndice L).

En un árbol dendrítico la función que describe el decaimiento electrotonico es más compleja. El electrotono ya no sigue una exponencial simple debido a la presencia de las dendritas y la constante de espacio (λ) no se puede obtener directamente de la pendiente

de la gráfica V_m -vs- x (ver Fig. 5). Sin embargo, una definición general de la constante de espacio (λ) es (Rall y cols., 1992):

$$\lambda = [(d/4) (R_m/R_i)]^{1/2} = [r_m/r_i]^{1/2} \quad (5)$$

Donde d = diámetro de la dendrita (cm).

La constante de espacio (λ) es un parámetro que depende de la geometría (diámetro) y de las propiedades eléctricas.

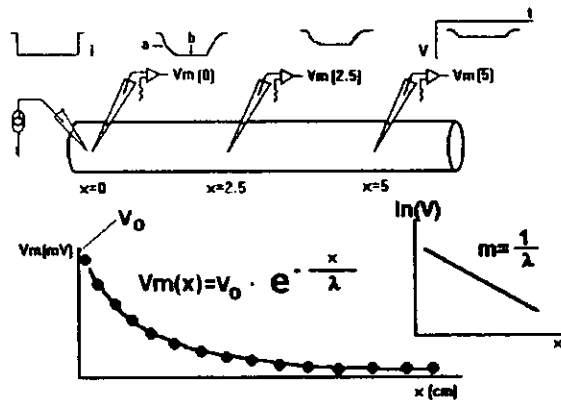


Fig. 3. En la parte superior de la figura se muestra el decremento del voltaje con la distancia en un axón infinito. El trazo registrado es la curva o función de carga: En el trazo, "a" indica la parte transitoria, y "b" indica la parte estacionaria. Abajo, se muestra la gráfica del V_m estacionario -vs- la distancia (electrotono). La función que ajusta estos datos es una exponencial simple. La gráfica semilogarítmica de estos datos es una recta, la inversa de su pendiente es λ .

Qoble

Constante de tiempo en un axón

En un axón la constante de tiempo se alcanza cuando se ha llegado al 84% del voltaje máximo (fig. 1B). Esto es debido a que en un axón la corriente fluye por R_i y el voltaje (V_m) con respecto al tiempo es (Hodgkin y Rushton, 1946; Davis y Lotente de Nó, 1947):

$$V_m = \text{erf}(\sqrt{T}) \quad (6)$$

Donde: $T=t/\tau$ (adimensional)

y erf= función error:

$$\text{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-y^2} dy \quad (7)$$

que viene de integrar entre dos límites definidos una función gaussiana.

NEURONAS CON DENDRITAS

Caracterizar la estructura electrotónica de las neuronas se complica por la presencia de las dendritas. La corriente inyectada en el soma primero se distribuye por todo el árbol dendrítico para después salir por toda la membrana (Rall, 1957). Las dendritas hacen que la parte transitoria de la función de carga no pueda ajustarse con una sola exponencial (Rall, 1969, 1977, Jack y cols. 1975). Pero puede ajustarse a una suma de exponenciales (Rall, 1969; 1977):

$$V_m = C_0 \exp(-t/\tau_0) + C_1 \exp(-t/\tau_1) + \dots + C_n \exp(-t/\tau_n) \quad (8)$$

Donde C_0, C_1, \dots, C_n son los coeficientes de las exponenciales y $\tau_0, \tau_1, \dots, \tau_n$ son las constantes de tiempo. Las constantes de tiempo τ_1 a τ_n representan en gran medida, la

Constante de tiempo en un axón

En un axón la constante de tiempo se alcanza cuando se ha llegado al 84% del voltaje máximo (fig. 1B). Esto es debido a que en un axón la corriente fluye por R_i y el voltaje (V_m) con respecto al tiempo es (Hodgkin y Rushton, 1946; Davis y Lotente de Nó, 1947):

$$V_m = \text{erf}(\sqrt{T}) \quad (6)$$

Donde: $T=t/\tau$ (adimensional)

y erf= función error:

$$\text{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-y^2} dy \quad (7)$$

que viene de integrar entre dos límites definidos una función gaussiana.

NEURONAS CON DENDRITAS

Caracterizar la estructura electrotónica de las neuronas se complica por la presencia de las dendritas. La corriente inyectada en el soma primero se distribuye por todo el árbol dendrítico para después salir por toda la membrana (Rall, 1957). Las dendritas hacen que la parte transitoria de la función de carga no pueda ajustarse con una sola exponencial (Rall, 1969, 1977, Jack y cols. 1975). Pero puede ajustarse a una suma de exponenciales (Rall, 1969; 1977):

$$V_m = C_0 \exp(-t/\tau_0) + C_1 \exp(-t/\tau_1) + \dots + C_n \exp(-t/\tau_n) \quad (8)$$

Donde C_0, C_1, \dots, C_n son los coeficientes de las exponenciales y $\tau_0, \tau_1, \dots, \tau_n$ son las constantes de tiempo. Las constantes de tiempo τ_1 a τ_n representan en gran medida, la

distribución de la carga por todo el árbol dendrítico. En una neurona con R_m homogénea τ_0 es la constante de tiempo de la membrana ($\tau_0 = \tau_m$). En la práctica se pueden obtener de los trazos experimentales solo las primeras dos exponenciales por que las demás exponenciales son muy rápidas y sus coeficientes muy pequeños.

En la mayoría de las dendritas no se puede medir directamente el electrotono a causa de su diámetro pequeño. Para obtener los parámetros electrotónicos se recurre a modelos que incorporan el árbol dendrítico (e. g. Rall, 1964, 1977; Durand, 1984; Kawato, 1984; Shelton, 1985). El árbol dendrítico se puede incorporar mediante uno de dos procedimientos: (a) reduciendolo a un cilindro eléctricamente equivalente (Rall, 1959, 1962a, b, 1977) y (b) conservando su geometría pero adicionando tantos circuitos RC como sea necesario (Rall, 1964; Shelton, 1985). Los modelos correspondientes se pueden clasificar básicamente en tres grupos: (1) modelos de "cilindro eléctricamente equivalente", (2) modelos "compartamentales" y, (3) modelos mixtos (ver clasificación de modelos).

Cilindro Equivalente

Como el modelo de cable para un cilindro describe bien el flujo de la carga en una fibra, es lógico que una de las primeras simplificaciones fue la de reducir el árbol

dendrítico a un cilindro eléctricamente equivalente (Fig. 4).

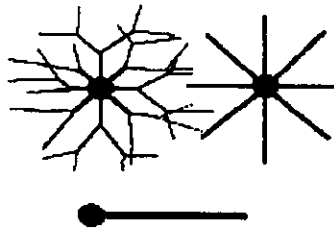


Fig. 4. Esquema que muestra como un árbol dendrítico se puede reducir a un cilindro eléctricamente equivalente. Para que esto se pueda realizar se tienen que cumplir las condiciones descritas en el texto, de forma que la suma de las resistencias de entrada de dos ramas de orden mayor ("hijas") sea igual a la resistencia de entrada de la rama que les dio origen ("rama madre").

La idea de reducir el árbol dendrítico a un cilindro eléctricamente equivalente fue propuesta por Rall (1959, 1962a, b). Significó un importantísimo avance en el estudio y análisis matemático de las propiedades pasivas de las neuronas con dendritas. Este modelo tiene los siguientes supuestos (Rall, 1962a, b; 1969, 1977):

- 1).- Hay uniformidad en R_i , R_m y C_m en todas las ramas
- 2).- El soma es isopotencial.
- 3).- Todas las dendritas terminan a una longitud electrotonica similar.
- 4).- Se debe cumplir la "Ley de la potencia de los 3/2". Esto es: la suma de los diámetros de las dendritas de orden mayor elevados a 3/2 debe ser igual al diámetro de la dendrita que les dio origen elevado a 3/2.

$$d_0^{3/2} = d_{01}^{3/2} + d_{02}^{3/2} \quad (9)$$

Donde d_0 = diámetro de la dendrita "madre", d_{01} = diámetro de la dendrita "hija" 1, d_{02} = diámetro de la dendrita "hija" 2.

En general, para que un árbol dendrítico se reduzca a un cilindro eléctricamente equivalente se tienen que cumplir tanto propiedades eléctricas (R_m homogénea, distancias electrotonicas iguales) como propiedades geométricas (regla de la potencia de los 3/2 para los diámetros).

Las condiciones para reducir el árbol dendrítico a un cilindro eléctricamente equivalente se pueden observar del desarrollo matemático cuando se igualan las conductancias de entrada de cada segmento dendrítico (ver apéndice E).

Algunas observaciones (Lux y cols., 1970, Ulfhake y Kellerth, 1981) parecieron confirmar la validez de esta relación de diámetros para motoneuronas y para células X y células Y del tálamo (Bloomfield y cols., 1987). Sin embargo, Barret y Crill (1974) reportaron desviaciones substanciales en las motoneuronas. No obstante, esto no invalida el concepto de cilindro equivalente como una idealización útil (Rall, 1977). Si la relación de diámetros se cumple en los troncos principales, y/o en promedio (diferencias en las longitudes electrotonicas de tronco dendrítico menores al 10%; Rall y cols, 1992), se puede tener un cilindro eléctricamente equivalente (Rall, 1977) que nos de un valor aproximado de la longitud electrotonica y a partir de ahí se puede obtener la constante de espacio (λ) de la neurona. Cuando se aplica el modelo del cilindro eléctricamente equivalente de Rall (Rall, 1977) a neuronas que se alejan de las condiciones que impone el modelo, la longitud electrotonica es sobrestimada (Holmes y Rall, 1992).

Longitud electrotonica

La longitud de un axón o de un árbol dendrítico adquiere gran importancia cuando se le relaciona con la constante de espacio (λ) debido a que nos da una idea de cuánta de la corriente sináptica llega al soma. Se le llama longitud electrotonica (L):

$$L = l / \lambda \quad (10)$$

Donde l = la longitud física del cilindro (cm), λ = la constante de espacio del cilindro (cm), donde L cuantifica cuantas constantes de espacio (λ) están contenidas en la longitud física del cilindro. L es adimensional.

Valores grandes de L (mayores a 2) indican que las entradas sinápticas que se generan en ramas dendríticas lejanas ($> 1.5 \lambda$) están a distancias electrotonicas tales que hay una gran disipación de la carga antes de que la señal llegue al soma (sinapsis remotas). Valores pequeños de L (menores a 1) indican que las entradas sinápticas generadas en cualquier región dendrítica están a menos de 1λ , por lo que las sinapsis tienen mayor oportunidad de influir en el sitio de integración y disparo. El valor de L es inversamente proporcional a R_m (de las ecuaciones 5 y 10). A mayor R_m menor L. Los valores de R_m en el reposo están determinados por los canales abiertos en el potencial de membrana en reposo. Una pregunta importante sería: ¿Puede ser modulada la longitud electrotonica (L) como consecuencia de la modulación de los canales abiertos en el potencial de membrana en el reposo? Esto implicaría que las entradas sinápticas pueden influir al mecanismo generador de espigas de manera diferente dependiendo del "estado modulado" de la neurona. Un valor de $L=0$ significa que tratamos con una neurona isopotencial (su curva de carga en una gráfica semilogarítmica será una línea recta).

Conforme L se hace más grande, más se aleja la neurona de la isopotencialidad (fig. 5).

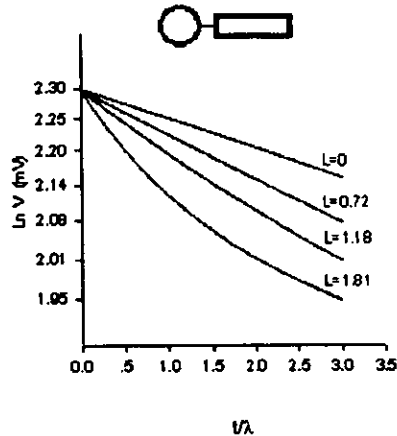


Fig. 5. Simulación de curvas de carga utilizando la ecuación 22 donde se muestra cómo a mayor L la curva de carga se aleja más de una línea recta en escala semilogarítmica.

Condiciones de frontera

Una vez reducido el árbol dendrítico a un cilindro equivalente se pueden formular varios modelos relacionados (Rall, 1977). Estos dependen de las condiciones de frontera específicas (Norman, 1972; Jack y Redman, 1971a, b; Rall, 1977). Es decir, cuales son las condiciones en los extremos del cilindro equivalente. Por ejemplo, para un extremo hay tres condiciones diferentes que consisten en: (a) que el extremo del cilindro esté abierto, (b) que un extremo se encuentre sellado con membrana y (c) que el extremo este unido a un soma isopotencial. Con estas condiciones podemos tener: un cilindro infinito con

ambos extremos abiertos, un cilindro con ambos extremos sellados, un cilindro con un extremo sellado y el otro abierto, un cilindro con un extremo unido a un soma y el otro extremo abierto, o bien un cilindro con un extremo unido a un soma y el otro extremo sellado.

Cuando el extremo está abierto, el interior del cilindro esta en contacto con el exterior (que está a tierra). En términos eléctricos, esta en corto circuito. Por lo tanto la condición de frontera es:

$$V = 0 \quad (11)$$

Cuando el extremo está sellado, la corriente no puede pasar porque la membrana en el extremo presenta una resistencia alta (Rall, 1959; evidencia experimental es provista por Durand y cols. 1983; Jack y Redman, 1971; Jansek y Redman, 1973). En términos eléctricos el circuito esta abierto. Por lo tanto, la condición de frontera es:

$$dV/dt = 0 \quad \text{en } X=0 \text{ o en } X=L \quad (12)$$

Para el modelo de neurona, en el que ya se muestra un soma, es necesario un parámetro que determine la proporción entre el soma y el cilindro equivalente. Este parámetro es ρ . Se define como una relación entre la conductancia dendrítica (G_D) y la conductancia somática (G_S) (para mayor detalle ver apéndice K) (Rall, 1969: 1977).

$$\rho = G_D / G_S \quad (13)$$

Para una neurona con R_m homogénea este parámetro nos indica qué tan grande es el árbol dendrítico con respecto al soma. Por ejemplo, en una neurona con una área dendrítica 30 veces mayor al soma, $\rho \approx 30$. En una neurona con un soma de una área mayor que la del árbol dendrítico (por ejemplo, neuronas ganglionares), $\rho < 1$ (fig. 6). Sin embargo, este parámetro nunca se ha podido ajustar según lo esperado (Rall, 1977).

Siempre es menor. En un mismo tipo de neurona ρ tiene gran variabilidad (ver por ejemplo, Brown y cols., 1981).

La condición de frontera en el extremo del cilindro equivalente que se une al soma ($X=0$), se obtiene de resolver la ecuación que representa al soma (ecuación. 14a) junto con la ecuación que describe el decremento del voltaje a lo largo del cilindro (ecuación 14b) (Rall, 1959; 1977):

$$I_s = I_{Rs} + I_{Cs} \quad (14a)$$

$$dV/dx = -r_i i_i \quad (14b)$$

Donde: I_s = corriente somática; I_{rs} = corriente en la resistencia somática; I_{cs} = corriente en la capacitancia somática; i_i = a la corriente a lo largo de r_i

La condición de frontera depende de si R_{ms} es igual o no a R_{md} . Cuando $R_{ms} = R_{md}$ la condición de frontera es :

$$(dV/dX)_{X=0} = (\tanh(L)/\rho) \cdot (V + dV/dT)_{X=0} \quad (15)$$

[Para su derivación ver el apéndice G]. La solución, de cada modelo, en el tiempo y en la distancia se obtiene al resolver conjuntamente la solución general de la ecuación de cable y las condiciones de frontera específicas (ecuaciones 12, 13 y 15) (Rall, 1977; Durand, 1984; Kawato, 1984). Una representación esquemática de estos modelos y su solución (Rall, 1977; Durand, 1984; Kawato, 1984) es presentada en la fig. 7 y 8. Para cada uno de estos modelos existen soluciones analíticas alternativas a las que aquí se presentan. Por ejemplo en términos de funciones de Green (ver por ejemplo: Jack y Redman, 1971a, b; Bluman y Tuckwell, 1987; Major y cols, 1993a).

El modelo de soma con cilindro equivalente se ha usado ampliamente para determinar la estructura electrotónica de las neuronas. (Rall, 1969; Isek y Redman, 1973; Richter y cols, 1974; Tsukahara, 1975; Carlen y cols, 1980; Brown y cols, 1981a, b; Durand y cols., 1983; Turner y cols., 1983; Stafstrom y cols., 1984; Bargas y cols., 1988; Clements y Redman, 1989; Turner y cols., 1991; Burke y cols., 1994; Thurbon, 1994).

La derivación del modelo de cilindro equivalente finito puede verse en el apéndice F; la derivación del modelo de soma unido a un cilindro eléctricamente equivalente con R_m homogénea puede verse en los apéndices G y H.

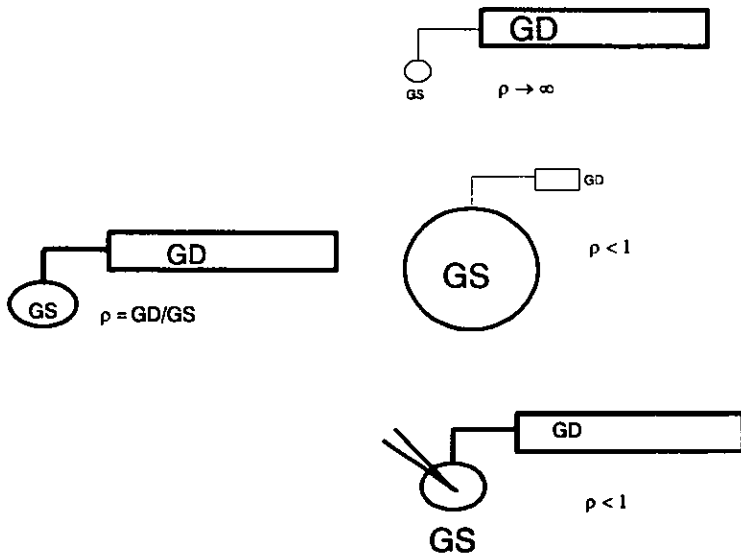


Fig. 6 Esquema para representar la relación de conductancia dendrítica y conductancia somática (ρ). A la izquierda se muestra un modelo donde R_m es homogénea; en este caso ρ nos da un estimado de la relación entre A_D y A_S (qué tanta superficie poseen las dendritas respecto de la del soma). En la parte superior derecha se muestra un esquema de una neurona donde las dendritas poseen mucho más superficie que el soma: ρ tiende a infinito. El esquema siguiente es el de una neurona donde el soma posee más superficie que las dendritas: ρ es menor a uno. El esquema inferior de la derecha muestra el caso de un modelo donde R_m es heterogénea ($R_{m_d} < R_{m_s}$): ρ es menor a uno, no obstante que el soma posee menor superficie que las dendritas.

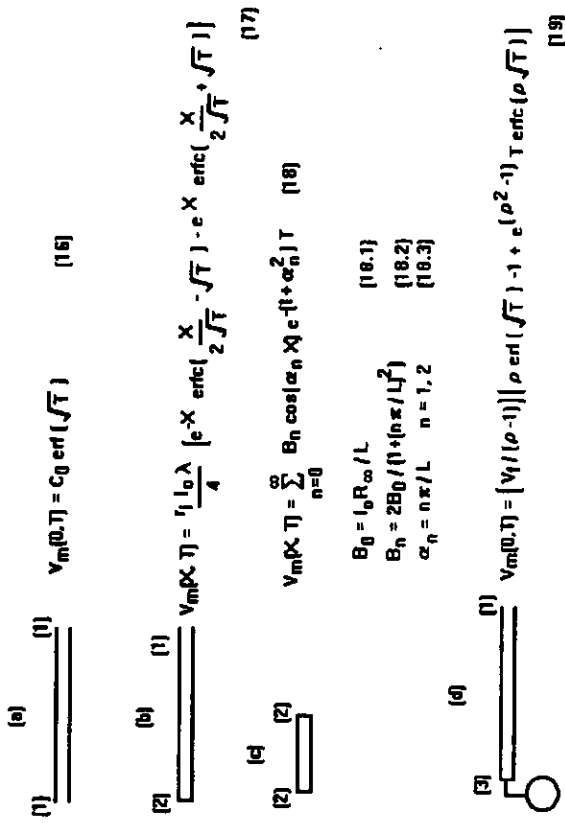
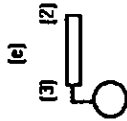


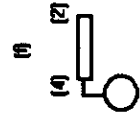
Fig. 7. Lista de soluciones de la ecuación de cable para los modelos de cilindro eléctricamente equivalente (R_m homogénea): axón, cilindro semi-infinito, cilindro finito, soma con cilindro semi-infinito. Donde: cilindro infinito (a), cilindro semi-infinito (b), cilindro finito (c), soma unido a un cilindro semi-infinito (d). (1), (2) y (3) esquematizan las condiciones de frontera. $\operatorname{erfc}(x) = 1 - \operatorname{erf}(x)$, es la función error complementaria; V_f = voltaje alcanzado en el estado estable y α_n = raíces de la ecuación 20.3.



$$V_m(\rho, \tau) = V_f \cdot \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos(\alpha_n L - \lambda) e^{-(1 + \alpha_n^2) \tau} \quad (20)$$

$$B_n \cos(\alpha_n L) = (2B_0 \tau_0 / \tau_0) / (1 + (\alpha_n L)^2 / (k^2 + \alpha_n^2)) \quad (20.1)$$

$$k = -\alpha_n L \cot(\alpha_n L) = \rho L \coth(L) \quad (20.2)$$



$$V_m(\rho, \tau) = V_f \cdot \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos(\alpha_n L) e^{-(1 + \alpha_n^2) \tau} \quad (21)$$

$$B_n = \frac{1}{\cos(\alpha_n L)} \frac{I_0 \rho_N}{1 + \alpha_n^2} \frac{2(\rho + 1)}{\beta_n + 2\rho + k + \frac{(\alpha_n L \beta_n)^2}{k}} \quad (21.1)$$

$$\beta_n = \frac{1 - \rho(1 + \alpha_n^2)}{2} \quad \rho = \frac{\tau_{ms}}{\tau_{md}} \quad (21.2)$$

Fig. 8. Lista de las soluciones para los modelos de soma con cilindro eléctricamente equivalente. El modelo de arriba asume una R_{ms} homogénea. El modelo de abajo asume una $R_{ms} < R_{md}$. Donde: $\rho =$ soma unido a un cilindro finito con R_m homogénea, $f =$ soma unido a un cilindro finito y R_m heterogénea. (2), (3) y (4) esquematizan las condiciones de frontera.

Electrotono en el cilindro eléctricamente equivalente

Las neuronas con un soma pequeño (fig. 6) se pueden modelar de una manera sencilla con un cilindro eléctricamente equivalente que tome al soma como uno de sus extremos. El electrotono es calculado por la ecuación de cable (ecuación 4) con $dV/dt = 0$, es decir en estado estable. Su solución general expresada en términos de senos y cosenos hiperbólicos es (Rall, 1977):

$$V = V_0 \frac{\cosh(L-x) + B_L \sinh(L-x)}{\cosh(L) + B_L \sinh(L)} \quad (22)$$

Donde:

$$x = l/\lambda$$

y B_L es la condición de frontera. B_L esta definida como:

$$B_L = G_L/G_\infty \quad (23)$$

Donde G_L es la conductancia en el extremo del cilindro y G_∞ es la conductancia de un cable semi-infinito (Rall, 1977, Jack y cols, 1975).

Las siguientes ecuaciones determinan la magnitud del decaimiento del voltaje en la distancia (electrotono) para diferentes casos. Como puede verse en la figura 9, la magnitud del electrotono sólo depende de la distancia y no del tiempo debido a que se analizan en el estado estable.

Cuando $B_L = 1$, se tiene un cilindro equivalente semi-infinito o largo. Su solución es:

$$V = V_0 e^{-x} \quad (24)$$

Cuando $B_L = 0$ se tiene un cilindro finito (sellado por ambos extremos) con solución:

$$V = V_0 \frac{\cosh(L-X)}{\cosh(L)} \quad (25)$$

Cuando $B_L = \infty$ se tiene un cilindro finito pero no sellado en los extremos si no con cortos circuitos por donde se fuga la carga. Su solución es:

$$V = V_0 \frac{\sinh(L-X)}{\sinh(L)} \quad (26)$$

El electrotono en estos modelos es presentado en la figura 9. Nótese que en estos casos la constante de espacio (λ) no puede obtenerse de las gráficas ya que no son exponenciales simples. De ahí la importancia de definir λ en términos de R_m , R_i y d (ecuación 5).

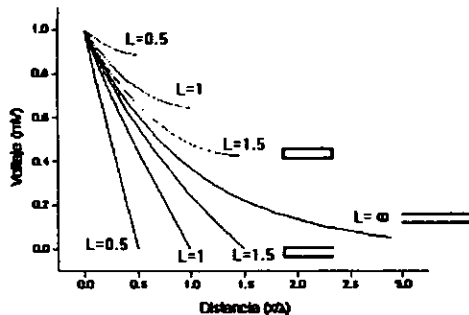


Fig. 9. Trazos de las soluciones del electrotono para el modelo de cilindro equivalente según las condiciones de frontera. Los tres trazos superiores corresponden a un cilindro equivalente finito y sellado en sus extremos con una L de 0.5, 1 y 1.5 respectivamente. El cuarto trazo corresponde a un cilindro infinito (modelo de un axón). Los tres trazos inferiores corresponden a un cilindro finito con un extremo abierto y con una L de 0.5, 1 y 1.5. Solo del cable infinito ($L = \infty$) se puede obtener gráficamente λ debido a que el voltaje V_m con respecto de la distancia se describe con una función exponencial simple. En los demás casos λ se obtiene de la ecuación 5.

Constante de tiempo de una neurona con dendritas

En las neuronas con dendritas, una constante de tiempo se alcanza entre el 63% y el 84% del voltaje final de la curva de carga (fig. 1). El porcentaje alcanzado depende de la dominancia dendrítica. Cuanto mayor área dendrítica hay con respecto al área somática, τ se acerca más al 84% (Rall, 1977).

Parámetros eléctricos en una neurona con dendritas

Los parámetros electrofisiológicos que definen a una neurona son: resistencia de entrada de la neurona (R_{in}), longitud electrofisiológica (L), relación de las conductancias del soma y las dendríticas (ρ), y la constante de tiempo de la membrana (τ_m). La resistencia de entrada se obtiene experimentalmente de la curva corriente contra voltaje. La constante de tiempo de la membrana, los valores de L y ρ son determinados por los modelos.

MODELO DE SOMA UNIDO A UN CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE CON

$R_{ms} < R_{md}$.

Los primeros modelos utilizados consideraban una R_m homogénea (modelo original del cilindro equivalente; Rall, 1969; 1977). Sin embargo, se mostró que este modelo no ajustaba a los datos experimentales en un buen número de neuronas (Ivansek y Redman, 1973; Tsukahara y cols., 1975; Brown y cols., 1981 a, b; Durand y cols., 1983; Shelton, 1985 y Bargas y cols., 1988). La parte inicial del transitorio de la función de carga era más rápida de lo esperado por el modelo, pues la resistencia específica de la membrana somática (R_{ms}) era menor a la resistencia específica de la membrana dendrítica (R_{md})

Constante de tiempo de una neurona con dendritas

En las neuronas con dendritas, una constante de tiempo se alcanza entre el 63% y el 84% del voltaje final de la curva de carga (fig. 1). El porcentaje alcanzado depende de la dominancia dendrítica. Cuanto mayor área dendrítica hay con respecto al área somática, τ se acerca más al 84% (Rall, 1977).

Parámetros eléctricos en una neurona con dendritas

Los parámetros electrofisiológicos que definen a una neurona son: resistencia de entrada de la neurona (R_n), longitud electrofisiológica (L), relación de las conductancias del soma y las dendríticas (ρ), y la constante de tiempo de la membrana (τ_m). La resistencia de entrada se obtiene experimentalmente de la curva corriente contra voltaje. La constante de tiempo de la membrana, los valores de L y ρ son determinados por los modelos.

MODELO DE SOMA UNIDO A UN CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE CON

$R_{ms} < R_{md}$.

Los primeros modelos utilizados consideraban una R_m homogénea (modelo original del cilindro equivalente; Rall, 1969; 1977). Sin embargo, se mostró que este modelo no ajustaba a los datos experimentales en un buen número de neuronas (Ianssek y Redman, 1973; Tsukahara y cols., 1975; Brown y cols., 1981 a, b; Durand y cols., 1983; Shelton, 1985 y Bargas y cols., 1988). La parte inicial del transitorio de la función de carga era más rápida de lo esperado por el modelo, pues la resistencia específica de la membrana somática (R_{ms}) era menor a la resistencia específica de la membrana dendrítica (R_{md})

(Ianssek y Redman, 1973; Durand, 1984; Kawato, 1984; Poznanski, 1987; Major y cols., 1993). Se ha propuesto que la R_{ms} es menor a la R_{md} a causa de: (a) daño producido por el microelectrodo, (b) apertura de canales abiertos en el potencial de reposo con mayor densidad en el soma, (c) activación de sinapsis en el soma, o (d) la combinación de estos factores (Fatt, 1957; Katz y Miledi, 1953; Durand y cols., 1983; Clements y Redman, 1989; Redman y cols., 1987; Rose y Vanner, 1988). Esta disminución en R_{ms} puede verse como una fuga de corriente en el soma ("soma shunt" o corto circuito somático). Estos resultados experimentales dieron origen al desarrollo de modelos con R_m heterogénea; es decir, con $R_{ms} < R_{md}$ (Durand, 1984; Kawato, 1984; Poznanski, 1987; Evans y cols., 1992; Holmes y Rall, 1992a; Major y cols., 1993a).

La derivación y solución del modelo de soma con $R_{ms} < R_{md}$ unido a un cilindro eléctricamente equivalente puede verse en los apéndices I y J.

Condiciones de frontera en $X=0$ en el modelo con R_m heterogénea.

Cuando $R_{ms} \neq R_{md}$ (R_m heterogénea), la condición de frontera en el extremo donde el soma se une al cilindro eléctricamente equivalente ($X=0$) es [derivada en el apéndice I]:

$$(dV/dX)_{X=0} = (\tanh(L)/\rho) \cdot (V + \epsilon dV/dT)_{X=0} \quad (27)$$

Pues el soma se considera isotopotencial.

Aquí $\epsilon = \tau_{md}/\tau_{ms}$ (adimensional); τ_{md} es la constante de tiempo de la membrana dendrítica (s) y τ_{ms} es la constante de tiempo de la membrana somática (s). El parámetro ϵ nos indica que tan diferente es R_m en el soma y las dendritas. Cuando $\epsilon=1$ R_m es homogénea. Valores menores indican que R_m es heterogénea ($R_{ms} < R_{md}$).

Se ha mostrado experimentalmente que la curva de carga de muchas neuronas cerebrales es paralela a la curva de carga de una célula isopotencial (Brown y cols. 1981a, b), por lo que se considera un modelo adecuado de la neurona es cilindro equivalente con un extremo unido a un soma y el otro extremo sellado. Por lo tanto, la condición de frontera en el extremo sellado ($X=L$) es: $dV/dt = 0$ (no hay fuga sino que V se mantiene).

Implicaciones de una R_m heterogénea

Cuando la resistencia de membrana es heterogénea ($R_{ms} < R_{md}$) la longitud electrotónica (L) está sobrestimada por los modelos que no consideran este factor. Los valores de ρ pueden ser menores a uno debido a que G_s ahora es más grande que G_D (debido al corto circuito somático o "soma shunt") y este parámetro pierde su significado original (fig. 6). Cuando R_m es homogénea ρ nos indica que tan grande es el área del árbol dendrítico con respecto del área del soma. En estas condiciones (R_m homogénea) un valor de $\rho < 1$ indicaría un soma grande y un árbol dendrítico pequeño. En el caso de R_m heterogénea, $\rho < 1$ puede deberse al "soma shunt" y no a un soma grande.

Factor de corto circuito somático ó "shunt" (β)

β es un parámetro que indica que tan grande es el "soma shunt" (Holmes y Rall, 1992a):

$$\beta = G_{ms} / G_{mD} = 1/\epsilon \quad (28)$$

o también:

$$\beta = R_{md} / R_{ms} \quad (29)$$

Por lo tanto cuando $R_{ms} < R_{md}$, $\beta > 1$. Así mismo cuando $R_{ms} = R_{md}$, $\beta = 1$.

En una neurona con R_m heterogénea se espera que $\beta > 1$. Entre más grande β , mayor será el corto circuito somático.

Cuando ρ disminuye β aumenta. Pero el producto $\rho\beta$ es constante con un valor que se aproxima al valor de ρ cuando R_m es homogénea. Es decir, $\rho\beta$ es equivalente a ρ cuando $\beta=1$; y se denota como: $\rho_{\beta=1}$.

RELACION DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CON LOS MODELOS

Los datos experimentales obtenidos de los registros de voltaje a través de registro intracelular son los coeficientes y las constantes de tiempo de los transitorios de voltaje y la resistencia de entrada de la célula: C_0 , C_1 , τ_0 , τ_{total} y R_N . Junto con la corriente aplicada (I_0), estos datos son utilizados en los modelos del tipo de "cilindro equivalente". De los modelos se tiene una curva de carga teórica que debe pasar por la curva de carga experimental ("fitting"). Logrado esto se obtienen valores de L y ρ (Rall, 1977). En los modelos con $R_{ms} < R_{md}$ se tienen además valores para ϵ y τ_{md} (Durand, 1984; Kawato, 1984). Los valores anatómicos del área somática son usados para disminuir la variancia de τ_{md} (White y cols. 1992).

$$\beta = R_{md} / R_{ms} \quad (29)$$

Por lo tanto cuando $R_{ms} < R_{md}$, $\beta > 1$. Así mismo cuando $R_{ms} = R_{md}$, $\beta = 1$.

En una neurona con R_m heterogénea se espera que $\beta > 1$. Entre más grande β , mayor será el corto circuito somático.

Cuando ρ disminuye β aumenta. Pero el producto $\rho\beta$ es constante con un valor que se aproxima al valor de ρ cuando R_m es homogénea. Es decir, $\rho\beta$ es equivalente a ρ cuando $\beta=1$; y se denota como: $\rho_{\beta=1}$.

RELACION DE LOS DATOS EXPERIMENTALES CON LOS MODELOS

Los datos experimentales obtenidos de los registros de voltaje a través de registro intracelular son los coeficientes y las constantes de tiempo de los transitorios de voltaje y la resistencia de entrada de la célula: C_0 , C_1 , τ_0 , τ_{1peak} y R_N . Junto con la corriente aplicada (I_0), estos datos son utilizados en los modelos del tipo de "cilindro equivalente". De los modelos se tiene una curva de carga teórica que debe pasar por la curva de carga experimental ("fitting"). Logrado esto se obtienen valores de L y ρ (Rall, 1977). En los modelos con $R_{ms} < R_{md}$ se tienen además valores para ϵ y τ_{md} (Durand, 1984; Kawato, 1984). Los valores anatómicos del área somática son usados para disminuir la variancia de τ_{md} (White y cols. 1992).

Estimación de la longitud electrofónica (L) a partir de los modelos del tipo de "cilindro eléctricamente equivalente"

Las soluciones propuestas por Rall (1977) tienen una importancia particular para el fisiólogo. Estas soluciones permiten estimar los valores de L directamente de los datos experimentales. El método consiste en sustraer ("pelar") las exponenciales de la curva de carga experimental (ecuación 8) (ver por ejemplo: Rall, 1977; Iänsek y Redman, 1973; Brown y cols., 1981b; Burke y cols., 1994). Se obtienen bien las primeras dos exponenciales (ver métodos). La ecuación para calcular L a partir de τ_0 , τ_1 , C_0 y C_1 depende del modelo (Rall, 1977; Durand, 1984; Kawato, 1984).

Para el cilindro finito (Rall, 1977):

$$L = \pi(\tau_0/\tau_1 - 1)^{-1/2} \quad (30)$$

Como L es determinada de las constantes de tiempo sustraídas de la función de carga se le ha denominado L_{peel} . Su desventaja es que en neuronas que no cumplen las condiciones del cilindro eléctricamente equivalente la longitud electrofónica obtenida es sobrestimada. Esta sobrestimación se explica por que en estos casos $\tau_{1, \text{peel}}$ es grande (Holmes y Rall, 1992).

Para el modelo de soma con cilindro equivalente finito y R_m homogénea, la longitud electrofónica (L) se obtiene de resolver la ecuación trascendental (Rall, 1977):

$$\alpha L \cot(\alpha L) = -\rho L \coth(L) = -k \quad (31)$$

Donde α es la raíz de la ecuación trascendental (ecuación 29) y k es una constante que puede ser aproximada a partir de los coeficientes y las constantes de tiempo (C_0 , C_1 , τ_0 y τ_1) obtenidas directamente de la función de carga (Bargas y cols, 1988).

$$k \approx (C_1 / C_0) / (\tau_1 / \tau_0) \quad (32)$$

$k > 2$ significa que el modelo con R_m homogénea no puede ajustarse a los datos experimentales pues la neurona tiene R_m heterogénea ($R_{ms} < R_{md}$) (Kawato, 1984; Bargas y cols 1988). O sea, hay "soma shunt" o corto circuito somático.

La derivación de la ecuación trascendental 29 puede verse en el apéndice H.

Para el modelo de soma isotopotencial unido a un cilindro equivalente finito con R_m heterogénea (Durand, 1984, Kawato, 1984), la longitud electrotónica (L) se obtiene de la siguiente ecuación trascendental:

$$L \cdot \cot(\alpha L) \cdot \frac{1 - \varepsilon(1 + \alpha^2)}{\alpha} = \rho L \coth(L) = k \quad (33)$$

La derivación de esta ecuación puede verse en el apéndice J.

En los modelos de soma unidos a un cilindro eléctricamente equivalente L , ε , ρ , y los coeficientes y constantes de tiempo teóricos se obtienen de resolver simultáneamente las ecuaciones que son solución del modelo (ver apéndices F - J). Como puede verse en los apéndices, estos modelos incluyen ecuaciones no lineales. Para su solución es necesario el uso de métodos numéricos (ver métodos).

Naturaleza física de los coeficientes y constantes de tiempo y su influencia en la determinación de L .

La curva de carga puede ser representada por una suma de exponenciales (ecuación 8). Esta ecuación se puede ajustar a los datos experimentales (ver métodos). De estos ajustes se obtienen C_0 , C_1 , τ_0 , $\tau_{1\text{peel}}$. La sumatoria de exponenciales se puede igualar a la solución de los modelos con cilindro eléctricamente equivalente. Esta igualdad se puede

hacer debido a que las soluciones de los modelos son expresadas en series de Fourier. Los coeficientes y las constantes de tiempo de la sumatoria de exponenciales tienen un equivalente en las constantes de tiempo y los coeficientes de la serie de Fourier (Durand, 1984). Para cada coeficiente C_n de la sumatoria de exponenciales existe un coeficiente de Fourier determinado por los parámetros del modelo. Estos parámetros están dados por las condiciones de frontera, las condiciones iniciales, la homogeneidad o no de la resistencia de la membrana, el lugar donde se registra y el tipo del estímulo (instantáneo ó pulso cuadrado) (Rall, 1977). La sumatoria de los coeficientes significa físicamente la amplitud (en mV) de la respuesta a un estímulo. Los coeficientes de Fourier están relacionados con la solución del modelo en estado estable (Rall, 1969; 1977). Es obvio que la amplitud y por lo tanto los coeficientes dependen del lugar de registro. Para cada modelo en particular, la solución en estado estable depende de las condiciones en la frontera, por ejemplo: si las puntas de las dendritas están abiertas, ó están selladas, ó qué tan ramificado es el árbol dendrítico. La estructura de la neurona y sus condiciones en la frontera se expresan implícitamente en los coeficientes de Fourier. Por ejemplo en el cilindro equivalente finito los coeficientes de Fourier se obtienen de la siguiente ecuación (Rall, 1969):

$$C_n = 2/L \int_0^L F(X) \cos(n\pi X/L) dX \quad (34)$$

Donde $F(X)$ es la condición inicial que depende de las condiciones de frontera, del lugar de registro y del estímulo. Por ejemplo, para un pulso de corriente $F(X) = V(X, 0)$. Para el caso de un estímulo breve (delta de Dirac) $F(X) = \delta(X) = Q/(t \cdot c_m)$, donde: Q es la carga que

se distribuye uniformemente por la capacitancia de la membrana (c_m , capacitancia por unidad de longitud y l es la longitud del cilindro equivalente) (Rall, 1977).

Los coeficientes de Fourier se complican de acuerdo a la complejidad de la neurona (ver apéndices H - J).

Las constantes de tiempo tienen que ver con el flujo de la carga a través de la neurona (Rall, 1969). Para una neurona isotérmica (célula redonda) la corriente carga simultáneamente toda la membrana. Su transitorio se describe como una función exponencial simple. Cuando la neurona tiene un árbol dendrítico la corriente fluye por las ramas hasta alcanzar los extremos distales de las dendritas. Después sale homogéneamente por la membrana si la corriente aplicada (I_A) se mantiene constante (Rall, 1959, 1960, 1977). El flujo de la corriente por el árbol dendrítico sigue un comportamiento electrotonico, algo de la corriente escapa por la membrana de forma que el voltaje decae con la distancia. La corriente fluye hacia los extremos distales del árbol dendrítico con unas constantes de tiempo rápidas debido a que $R_i < R_m$. A las constantes de tiempo rápidas se les denomina "constantes de tiempo de igualación" de la carga a lo largo del árbol dendrítico (Rall, 1969). En el caso de R_m homogénea la constante de tiempo más lenta es la constante de tiempo de la membrana ($\tau_0 = \tau_m$). En las neuronas con dendritas el transitorio es más rápido que el obtenido de una célula isotérmica (fig. 1). La relación de las constantes de tiempo es $\tau_0 > \tau_1 > \tau_2 \dots > \tau_n$ (Rall, 1977).

Las constantes de tiempo son independientes del tipo de estímulo y del punto de registro (Rall, 1969). Las constantes de tiempo de cada modelo están relacionadas con las raíces de la ecuación solución del modelo (α_n). Por ejemplo, para el modelo del

cilindro eléctricamente equivalente y finito, las constantes de tiempo están relacionadas con α_n de la siguiente manera (ver derivación en apéndice F) (Rall, 1969):

$$\tau_n = \tau_0 / (1 + \alpha^2) \quad (35)$$

Donde

$$\alpha^2 = n\pi L$$

Para los modelo que incluyen un soma, o un soma con cortocircuito, las raíces son solución de una ecuación trascendental (Apéndices G - J).

Significado de τ_0 en una neurona con R_m heterogénea

Si la constante de tiempo de la membrana somática (τ_m) es menor que la constante de tiempo de la membrana dendrítica (τ_{md}), entonces la constante de tiempo (τ_0) obtenida al final de la curva de carga no corresponde a la constante de tiempo de la membrana (τ_m). En estas condiciones τ_0 se relaciona con τ_{md} de la siguiente manera (Iansky y Redman, 1973):

$$\tau_0 = \tau_{md} / (1 + \alpha^2) \quad (36)$$

Donde α es la primera raíz de la ecuación:

$$\tan \alpha L = (\beta - (1 + \alpha^2)) / (\beta - \alpha \rho_w) \quad (37)$$

Por ejemplo: tomando $L = 1.5$, $\rho_w = 10$ y $\beta = 2$, la solución aproximada de α es 2 (Iansky y Redman, 1973) y τ_0 es aproximadamente 4% menor que τ_{md} . Un aumento de L ó de ρ hacen que el valor de τ_0 se acerque al valor de τ_m .

De aquí se deduce que un estreñimiento para el modelo con $R_{ms} < R_{md}$ sea (Durand, 1984; Kawato, 1984):

$$\tau_{ms} < \tau_0 < \tau_{md}$$

Cuando se quiere determinar el lugar de una entrada sináptica y se usa un modelo que no considera una R_m heterogénea, si ésta existe el modelo sobre-estimaré la distancia electrofónica de la entrada sináptica. Esto se debe a que se normaliza con respecto de τ_0 , siendo que $\tau_0 < \tau_{md}$. Por ejemplo, se pueden obtener lugares de entrada sináptica a $L=1.5$, siendo que la neurona tiene una $L < 1$! (Redman y Walmsley, 1983).

En el caso del modelo de "cilindro eléctricamente equivalente unido a un soma con cortocircuito", además del flujo de corriente hacia la resistencia R_i del árbol dendrítico, existe una fuga de corriente por la membrana del soma. En este caso el transitorio es más rápido que cuando la resistencia de membrana es homogénea (Ianssek y Redman, 1973; Rall y cols, 1992). Es obvio que la fuga de corriente por el soma influye en las constantes de tiempo de igualación. Esto se refleja en un aumento de τ_{1peel} . En consecuencia hay sobrestimación de la longitud electrofónica si τ_{1peel} es usado como si se tratara del modelo de "cilindro eléctricamente equivalente y finito" (Holmes y Rall, 1992) donde L es:

$$L_{\tau_0/\tau_{1peel}} = \pi / ((\tau_0/\tau_{1peel}) - 1)^{1/2} \quad (38)$$

Como puede observarse en la ecuación 36, un aumento en τ_{1peel} disminuye el valor del denominador y aumenta el valor de L . Esta es la razón por la que una neurona con cortocircuito en el soma no debe analizarse con un modelo que no considere dicho cortocircuito (Holmes y Rall, 1992).

Constantes de tiempo en neuronas asimétricas

La constante de tiempo $\tau_{1\text{peel}}$ se ve afectada cuando la neurona es asimétrica. Es decir, cuando las dendritas terminan a diferentes longitudes electrotonicas (con diferencias mayores a 20%), $\tau_{1\text{peel}}$ es más grande que la τ_1 "verdadera" (Rall y cols, 1992; Holmes y Rall, 1992). La razón es que en las neuronas asimétricas los coeficiente "pares" (C_2, C_4, \dots) no son cero y por lo tanto las constantes de tiempo asociadas a estos coeficientes influyen en $\tau_{1\text{peel}}$ aumentandola (Holmes y Rall, 1992). Esto trae consigo la sobrestimación de L cuando se aplica el modelo de "cilindro equivalente finito". Como en la mayoría de las neuronas no todas las dendritas terminan a la misma distancia electrotonica L es generalmente sobrestimada (Holmes y Rall, 1992; Rall y cols, 1992).

Mientras más simétrico es el árbol dendrítico de una neurona, sus constantes de igualación más importantes son las impares pues los coeficientes impares de Fourier asociados son los más importantes. Mientras más difieran en longitud las arborizaciones dendríticas, más importancia adquieren los coeficientes y la constantes de tiempo pares y menos las impares (Holmes y Rall, 1992). La mayoría de las neuronas poseen coeficientes y constantes de tiempo de igualación con valores entre uno y otro caso.

En particular, la neurona espinosa mediana del neocórtex se aparta de las restricciones que impone el modelo del cilindro eléctricamente equivalente. Las terminaciones dendríticas difieren en más del 20 % y suponiendo que la resistencia de membrana dendrítica es homogénea, la longitud electrotonica difiere en más del 20%. Se ha mostrado que el transitorio de la curva de carga es más rápido de lo esperado si R_m

fuese homogénea (Bargas y cols, 1988; Wilson, 1992). Si se usa el modelo de soma con cilindro equivalente con R_m heterogénea (Durand 1984; Kawato, 1984) es compensada la sobrestimación de L causada por el corto circuito somático. Para compensar la sobrestimación de L causada por la geometría de la neurona (no cumplen la regla de los 3/2 y las dendritas terminan a diferentes longitudes electrotonicas), se usa el factor de corrección generalizado (F_{dga}) definido por Rall y cols (1992) (ver métodos):

$$F_{dga} = \rho_{\beta=1}(A_D/A_S) \quad (39)$$

Para obtener este factor es necesario conocer el área somática (A_S) y el área dendrítica (A_D). Para esto las neuronas son marcadas con biocitina de manera que puedan ser reconstruidas (Galarraga y Bargas, 1995). El área somática se obtiene de medir el soma, en tanto que el área dendrítica se puede calcular de un dendrograma que se obtiene de las mediciones de longitud y diámetro de las dendritas (Fig. 10). Al área dendrítica obtenida del dendrograma se le suma el área de las espinas dendríticas (Wilson, 1992) (ver métodos).

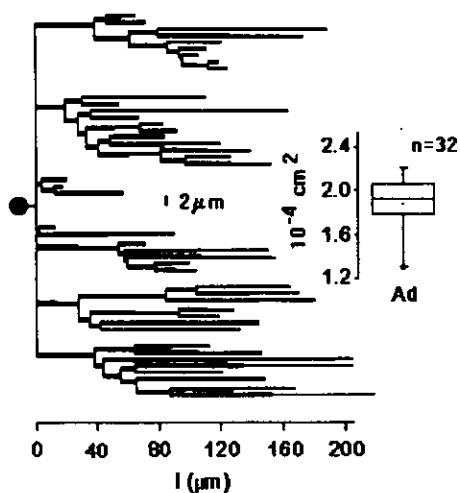


Fig. 10. Dendrograma de una neurona espinosa mediana del neocórtex. Puede verse que las longitudes de las dendritas difieren en más del 20%. A la derecha se muestra que el área dendrítica es de aproximadamente $1.8 \times 10^4 \text{ cm}^2$.

Acople eléctrico

El acople eléctrico, o sinapsis eléctrica, entre dos neuronas se realiza por medio de las sinapsis eléctricas. Las uniones estrechas están formadas por subunidades protéicas llamadas "conexinas". Las conexinas forman poros o canales que van de la membrana celular de una neurona a la otra. Los canales permiten el flujo de corriente iónica entre las neuronas y el paso de moléculas tales como segundos mensajeros, e. g., inositol-1, 4, 5-trifosfato y la adenosina 3', 5'-monofosfato cíclico (Saez y cols., 1989). También permiten el paso de colorantes de bajo peso molecular como la biocitina y el amarillo

Lucifer (Cepeda y cols., 1989) marcándose más de una neurona. Esto dio origen al nombre de "dye coupling".

Las sinapsis eléctricas están ampliamente distribuidas en el sistema nervioso central de vertebrados. Se encuentran en la corteza en desarrollo, en el hipocampo, en el estriado, en el locus coeruleus y en la retina (Cepeda y cols., 1989; Christie y cols., 1989; Connors y cols., 1983). El acople eléctrico parece ser importante durante el desarrollo del cerebro (Bannett y cols., 1981; Caveney, 1985; Walsh y cols., 1989). En invertebrados como en varios mamíferos el acople eléctrico disminuye con el desarrollo (Caveney, 1985; Ramoa y cols., 1988; Walsh y cols., 1989).

Se ha propuesto que una de las funciones del acople eléctrico es sincronizar el disparo entre las neuronas acopladas (MacVicar y Dudek, 1981, 1982; Baimbridge y cols., 1989). Las neuronas acopladas interactúan electrotónicamente y aparentemente se sincroniza el comportamiento eléctrico de una red neuronal (Dermietzel y Spray, 1993).

Los neuromoduladores tales como la dopamina modifican de manera todavía no establecida, el número de canales que forman las uniones estrechas (O'Donnell y Grace 1991; Walsh y cols., 1989; Cepeda y cols., 1989; Lasater, 1987; Teranishi y cols., 1983). Una disminución en la dopamina induce un mayor acople eléctrico (Cepeda y cols., 1989). La dopamina parece tener acción en la probabilidad y en el tiempo de apertura de los canales de las uniones estrechas (McMahon y Brown, 1994). La modulación rápida de las sinápsis eléctricas (del orden de milisegundos) en las células horizontales de la retina sugiere una interacción altamente dinámica (McMahon, 1994; McMahon y Brown, 1994).

"Clasificación de los modelos pasivos de neuronas con dendritas"

En prensa en:

REVISTA MEXICANA DE INGENIERIA BIOMEDICA



México, D.F. a 6 de Noviembre de 1997.

M. en C. Arturo Reyes
Departamento de Biofísica, Instituto de Fisiología Celular
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Mediante la presente, me es muy grato comunicarle que habiendo recibido su artículo titulado:

CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS PASIVOS DE NEURONAS CON DENDRITAS.

Le fué asignado el Número de Control: 97/18-4 002 con el cual podrá solicitar cualquier información al respecto.

Así mismo le comunico que su artículo ha pasado a la fase de arbitraje.

Le recuerdo que a partir del mes de Abril de 1997, la cuota regular por publicación de artículos en la Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica es de \$1,200.00. (a Miembros de la SOMIB se les aplica un 50% de descuento)

Quedando a entera disposición suya para cualquier información adicional que estimase necesaria, me complazco en hacerle llegar un cordial saludo.

ATENTAMENTE.

Ing. Ana María Fernández Rodríguez
Coordinador Editorial.

CLASIFICACION DE LOS MODELOS PASIVOS DE NEURONAS CON DENDRITAS

Arturo Reyes*, Elvira Galarraga[^], José Bargas[^]

*Area de Bioelectrónica Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

[^]Depto. de Biofísica del Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

Para el diseño de redes neuronales artificiales que posean una unidad funcional cercana a una neurona real se requiere de: a) que la unidad funcional posea la estructura electrofisiológica de la neurona, b) que la unidad funcional sea capaz de desarrollar el intervalo dinámico de los patrones de disparo de las neuronas, y c) que estos patrones de disparo puedan ser modulados [1]. Este artículo está dirigido a la clasificación de los modelos pasivos con los cuales se obtiene la estructura electrofisiológica de las neuronas con dendritas y hace una recopilación bibliográfica de lo más importante sobre el tema. Los modelos pasivos de neuronas tienen dos usos fundamentales: a) obtener la estructura electrofisiológica de las neuronas a partir de datos experimentales (ajustando modelos matemáticos a datos electrofisiológicos y anatómicos) y b) modelar la estructura electrofisiológica para simular el comportamiento pasivo de las neuronas durante las entradas sinápticas (modelos computacionales).

PALABRAS CLAVE:

Propiedades de cable, Cilindro equivalente, Estructura electrofisiológica, Modelos compartamentales, Modelos de neuronas.

Correspondencia: Arturo Reyes. Dept. Biofísica. Instituto de Fisiología Celular. UNAM. Apartado postal 70-253. México DF 04510. México. Tel.: 622-5670. Fax: 622-5607.

INTRODUCCION

Los modelos pasivos se derivan de circuitos eléctricos y su desarrollo se ha llevado a cabo en gran parte por ingenieros biomédicos [2, 3, 4, 5, 6]. Estos modelos ayudan a entender el funcionamiento de las dendritas. Las dendritas son las estructuras neuronales a las que llegan más del 90% de las entradas sinápticas [7]. El flujo de corriente sináptica de las dendritas al soma es tanto activo como pasivo [8]. Es decir, el flujo de la corriente sináptica se comporta como si se desplazara por un circuito eléctrico formado por resistencias y capacitores que no cambian con el voltaje o con el tiempo. De manera que la neurona puede representarse eléctricamente por medio de resistencias y capacitores. En particular, el circuito eléctrico de la membrana está formado por una resistencia y un capacitor en paralelo. El citoplasma es representado por resistencias en serie lo mismo que el medio externo. Cuando a la neurona se le inyecta corriente, esta fluye por el citoplasma y carga la membrana. El registro eléctrico que se obtiene es llamado curva o función de carga (fig. 2). La función de carga y la resistencia de entrada de la neurona (R_N) es lo que se tiene experimentalmente de cada neurona. Mediante el ajuste de los modelos de cable a la función de carga se obtiene un estimado de las resistencias y capacitancias del modelo eléctrico. Este modelo eléctrico constituye lo que se llama estructura electrotonica. La integración de las señales que le llegan a la neurona está determinada en buena medida por su estructura electrotonica [9, 10]. El conocimiento de los mecanismos de integración sináptica en la neurona es fundamental para entender el funcionamiento de redes neuronales y en general el funcionamiento del sistema nervioso [11]. Esto evidencia la importancia de conocer la estructura electrotonica de cada población neuronal. Las diferentes entradas sinápticas se suman de manera espacio temporal y una vez que llegan al soma, si se alcanza el umbral, la neurona dispara potenciales de acción. Existen varios modelos para obtener la estructura electrotonica de una neurona. Cada modelo tiene restricciones que debe cumplir la neurona en estudio [12]. Si estas restricciones no se cumplen el modelo proporciona una estructura electrotonica inadecuada [13]. De los parámetros que proporciona el modelo, la longitud electrotonica (L) tiene un sentido funcional importante para

el fisiólogo. Representa la distancia en términos eléctricos a la cual se encuentra una entrada sináptica. La longitud electrotónica esta definida como la distancia física en razón de la constante de espacio:

$$L = l / \lambda, \quad (1)$$

Donde: l es la longitud física de la dendrita (cm) y λ es la constante de espacio (cm) que se define como:

$$\lambda = (d/4)^{1/2} \cdot (R_m/R_i)^{1/2} \quad (2)$$

Donde: d = diámetro de la dendrita, R_m es la resistencia específica de la membrana ($\Omega \text{ cm}^2$), y R_i es la resistividad citoplasmática ($\Omega \text{ cm}$).

Intuitivamente la constante de espacio (λ) es la distancia a la cual llega (en una neurona con dendritas) entre el 64% y el 83% de la corriente sináptica. El porcentaje de corriente que llega al soma depende de la relación soma-dendrita.

Intuitivamente podemos decir que L es un factor que nos indica qué tan cerca o lejos (eléctricamente) del soma se encuentra una entrada sináptica. Es decir, una entrada sináptica localizada a una distancia física X del soma, esta cerca eléctricamente si L es pequeña. En estas condiciones la corriente sináptica llega al soma. Cuando L aumenta la entrada sináptica se aleja (eléctricamente) del soma y la corriente sináptica puede no llegar al soma; no obstante, que la distancia física de la entrada sináptica no cambia. La longitud electrotónica (L) esta determinada por la resistencia específica de la membrana R_m (resistencia que esta en paralelo al capacitor). R_m esta determinada por la presencia de canales que se encuentran abiertos en el reposo. Cuando estos canales se cierran (por acción de neuromoduladores)[14] L disminuye y en consecuencia se tiene un mayor peso sináptico (ver por ejemplo, fig. 4). En otras palabras, la estructura electrotónica puede estar cambiando por la acción de neuromoduladores [14]. Estos cambios hacen que la integración sináptica sea dinámica. Por lo tanto, es necesario agregar estas características a las redes neuronales artificiales para simular el funcionamiento de redes neuronales reales [11]. Para este propósito, se necesita determinar la estructura electrotónica de las neuronas que forman parte de la red neuronal que se quiere modelar. Aquí proponemos una

clasificación de los modelos para determinar la estructura electrotónica, mencionamos sus restricciones y en qué neuronas se pueden emplear.

Los modelos pasivos de neuronas con dendritas se clasifican principalmente en modelos de cilindro eléctricamente equivalente, modelos compartamentales y modelos mixtos. Proponemos la siguiente clasificación:

CLASIFICACION DE LOS MODELOS DE LA ESTRUCTURA ELECTROTONICA DE LAS NEURONAS

CILINDRO EQUIVALENTE

I).- CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE CON RESISTENCIA ESPECIFICA DE MEMBRANA (R_m) HOMOGENEA.

a).- Cilindro equivalente semi-infinito [9, 10].

b).- Cilindro equivalente semi-infinito unido a un soma [8].

c).- Cilindro equivalente finito [12].

d).- Cilindro equivalente finito unido a un soma [12, 15].

e).- Multicilindros equivalentes finitos con longitudes electrotónicas diferentes y R_m homogénea unidos a un soma [15, 16, 17, 18].

II).- CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE CON RESISTENCIA ESPECIFICA DE MEMBRANA (R_m) HETEROGENEA.

a).- Cilindro equivalente finito unido a un soma con R_m menor [19, 20, 21, 22, 23].

b).- Multicilindros finitos con longitudes electrotónicas diferentes y R_m heterogénea unidos a un soma [22, 23, 24].

COMPARTAMENTALES

I).- MODELOS CON RESISTENCIA ESPECIFICA DE MEMBRANA HOMOGENEA O HETEROGENEA.

a).- Modelo compartamental de Rall [25].

b).- Modelo compartamental de Perkel y Mulloney [26, 27].

c).- Modelos compartamentales con información anatómica exhaustiva. [28, 29, 30, 31, 32].

d).- Modelos compartamentales con información anatómica reducida [33, 34].

MODELO MIXTO

a).- Modelo mixto de Holmes y Rall [35].

I MODELOS CON CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE

CILINDRO EQUIVALENTE

Este modelo consiste en reducir todas las dendritas de una neurona a un cilindro eléctricamente equivalente. La finalidad es poder hacer un estudio y análisis matemático de las propiedades pasivas de las dendritas vistas globalmente. De esta manera, se obtiene un modelo sencillo que nos permite un primer ajuste de datos experimentales obtenidos de neuronas con árboles dendríticos complejos. La idea de simplificar el árbol dendrítico a un cilindro eléctricamente equivalente fue propuesta por RALL [7, 9, 10]. Este modelo tiene los siguientes supuestos [9, 10, 12, 15]: a) existe uniformidad en la resistencia específica interna (R_i) (Ω cm), en la resistencia específica de la membrana (R_m) (Ω cm²) y en la capacitancia específica de la membrana (C_m) (F/cm²) en todo el árbol dendrítico, b) que el soma es isopotencial, c) que todas las dendritas terminan a una longitud electrotónica (L) similar, y d) que se cumple la "Ley de la potencia a los 3/2". Esto es: la suma de los diámetros de las dendritas de orden mayor elevados a la 3/2 debe ser igual al diámetro de la dendrita primaria elevado a 3/2.

$$d_0^{3/2} = d_{01}^{3/2} + d_{02}^{3/2} \quad (5)$$

Donde d_0 = diámetro de la dendrita primaria, d_{01} = diámetro de la dendrita secundaria 1, d_{02} = diámetro de la dendrita secundaria 2.

Este modelo es una primera aproximación a una neurona con dendritas, los supuestos son prácticamente ideales. Debido a que su tratamiento matemático es más sencillo que el resto de los modelos, se utiliza como una primera aproximación y puede ser parte de modelos más complejos [8, 12, 15]. El modelo de un cable infinito representa bien las características pasivas de un axón.

El modelo semi-infinito fue la primera aproximación de modelo pasivo para una neurona con dendritas. Posteriormente se mostró que un cilindro equivalente finito era un mejor modelo para las neuronas [12].

Barret y Crill [35] reportaron desviaciones substanciales con respecto de las restricciones de este modelo en las motoneuronas. Es probable que estos supuestos no se cumplan estrictamente, no obstante, esto no invalida el concepto de cilindro equivalente como una idealización útil [12]. La consecuencia de usar el modelo del cilindro equivalente en neuronas que no cumplen sus restricciones es una sobrestimación de la longitud electrotónica (L) [13].

Una mejor aproximación es agregar un soma al cilindro eléctricamente equivalente [12]. El soma es una nueva condición (de frontera) en uno de los extremos del cilindro. Este modelo se ha usado ampliamente para determinar la estructura electrotónica de las neuronas con dendritas. [12, 15, 29, 31, 36, 37]. El modelo original considera una resistencia específica de membrana (R_m) homogénea a todo lo largo de la membrana somato-dendrítica [12, 15]. Sin embargo, datos experimentales obtenidos de un porcentaje de motoneuronas no pudieron ser ajustados con este modelo [36]. Este mismo resultado se encontró en neuronas del núcleo rojo [38], en neuronas del hipocampo [39], en neuronas de Purkinje [29] y del neocórtex [37]. Esto se debe a que la parte inicial del transitorio de la función de carga es más rápida de lo esperado por el modelo original de Rall (fig. 2 y 3) debido a que la resistencia específica de membrana en el soma (R_{ms}) es menor a la resistencia específica de membrana dendrítica (R_{md}) [19, 20, 21, 36]. Se ha propuesto que R_{ms} es menor que R_{md} debido a: 1) daño producido por el microelectrodo, 2) la presencia de canales normalmente abiertos en el potencial de reposo (por ejemplo, el rectificador anómalo instantáneo), 3) la activación tónica de sinapsis en el soma, o 4) la combinación de estos factores [39]. Esta disminución en R_{ms} produce un incremento en la conductancia somática (G_s) ocasionando una fuga de corriente en el soma ("shunt" o corto circuito somático). Para ajustar los datos experimentales de las neuronas que no pudieron ser ajustadas al modelo de soma con cilindro equivalente y R_m homogénea, se propuso el modelo con R_m heterogénea; es decir, con $R_{ms} < R_{md}$ [19, 20, 21, 22, 23, 24]. El modelo con R_m heterogénea es una mejor alternativa para la

mayoría de las neuronas con dendritas estudiadas con registro intracelular. Para neuronas con dendritas los modelos de cilindro eléctricamente equivalente en orden de un mejor ajuste (y más complejidad) a los datos experimentales son: soma con un cilindro eléctricamente equivalente y R_m heterogénea > soma con un cilindro eléctricamente equivalente y R_m homogénea > cilindro eléctricamente equivalente finito > cilindro eléctricamente equivalente semi-infinito > cilindro eléctricamente equivalente infinito [12, 13, 14, 19, 20]. Cada uno de estos modelos nos permiten determinar la estructura electrotónica a partir de datos experimentales [12]. Evidentemente, entre más compleja la neurona, el modelo adecuado es también más complejo [12, 19, 20]. Todos estos modelos tienen las restricciones geométricas impuestas por el modelo de cilindro eléctricamente equivalente [12, 18]. Si las neuronas se apartan de estas restricciones la longitud electrotónica (L) es sobrestimada [13].

Los modelos anteriores nos permiten tener un estimado de la estructura electrotónica [12]. Sin embargo, otro interés para el fisiólogo es determinar la distancia eléctrica de las entradas sinápticas. Comparar entradas sinápticas experimentales con entradas sinápticas dispuestas en un modelo en el cual se sabe la distancia eléctrica de antemano. Para este propósito, el modelo del cilindro eléctricamente equivalente para un árbol dendrítico solo se puede emplear si se cumplen estrictamente las restricciones del modelo [3, 9, 12]. Si esto no sucede, una alternativa son los modelos compartamentales y en algunos casos los modelos con multicilindros [5, 16]. En seguida mencionamos modelos con multicilindros:

SOMA UNIDO A MULTICILINDROS EQUIVALENTES FINITOS CON LONGITUDES ELECTROTONICAS DIFERENTES Y R_m HOMOGENEA

Para localizar las entradas sinápticas con cierta precisión el árbol dendrítico debe cumplir estrictamente que todas las ramas tengan la misma longitud electrotónica (L). En neuronas en donde no se cumple esta condición (árboles dendríticos asimétricos con longitudes muy distintas, por ejemplo, neuronas de CA3 del hipocampo), las entradas sinápticas no son bien localizadas con el modelo del cilindro eléctricamente equivalente. En estos casos se han propuesto modelos con multicilindros equivalentes cada uno con una longitud electrotónica diferente (fig. 4). Este tipo de modelos ha sido considerado sin mucho detalle por Segev y Rall [16] y Holmes y Rall [40]. En

1969, RALL considera el modelo de varios cilindros equivalentes con diferentes longitudes electrotonicas [15]. La solución de estos modelos no es muy práctica para determinar la estructura electrotonica de las neuronas. Su solución no tiene una relación directa con los datos experimentales que se obtienen de la curva de carga (fig. 2). Una vez que se tiene la estructura electrotonica de la neurona se puede hacer un modelo computacional con varios cilindros y simular entradas sinápticas.

SOMA UNIDO A MULTICILINDROS FINITOS CON LONGITUDES ELECTROTONICAS DIFERENTES Y R_m HETEROGENEA

Este modelo es más cercano a la mayoría de las neuronas ($R_{ms} < R_{md}$). Se ha propuesto una solución analítica descrita por una función de Green [24]. Este modelo sin embargo es complejo y difícil de usar para ajustar datos experimentales. Como el modelo anterior puede ser útil para simular entradas sinápticas.

ESTIMACION DE L EN LOS MODELOS CON CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE

Como hemos visto, la longitud electrotonica es un parámetro fundamental para determinar si una neurona es eléctricamente compacta (L pequeña) o no. Para estimar L es necesario ajustar el modelo a la función de carga. La función de carga es un dato experimental que se obtiene cuando se estimula una neurona con un pulso de corriente lo suficientemente pequeño (fig. 2). La parte transitoria del voltaje transmembranal en respuesta al pulso de corriente (fig. 2A) se puede representar por una sumatoria de funciones exponenciales [12]:

$$V(f)-V(t) = C_0 \exp(-t/\tau_0) + C_1 \exp(-t/\tau_1) + \dots + C_n \exp(-t/\tau_n) \quad (6)$$

Donde $V(f) = I_0 R_N$, I_0 es la corriente aplicada en el soma; R_N es la resistencia de entrada de la neurona; $C_0, C_1 \dots C_n$ son los coeficientes de las funciones exponenciales, y $\tau_0, \tau_1 \dots \tau_n$ son las constantes de tiempo. A estos coeficientes y constantes de tiempo se les llama experimentales.

Para ajustar el modelo a los datos experimentales lo primero que se hace es ajustar una sumatoria de exponenciales a la curva de carga (ver por ejemplo: 12, 36) (fig. 2). Generalmente se obtienen bien las primeras dos exponenciales. La ventaja que tienen los modelos con cilindro eléctricamente equivalente es que su solución es una serie de Fourier que se puede igualar a la sumatoria de exponenciales. El modelo debe dar las mismas constantes de tiempo que las experimentales y los coeficientes teóricos del modelo deben tener la mínima diferencia con los coeficientes experimentales. Cuando se reduce al mínimo la diferencia entre los coeficientes teóricos y experimentales se dice que el modelo está ajustado.

La ecuación para calcular L a partir de τ_0 , τ_1 , C_0 y C_1 obtenidas del ajuste de la ecuación 6 a los datos experimentales (fig. 2), depende del modelo [12, 19, 20].

Para el cilindro finito [12] es:

$$L = \pi(\tau_0/\tau_1 - 1)^{-1/2} \quad (7)$$

Para el modelo de soma más cilindro equivalente finito con R_m homogénea [12] es:

$$\alpha L \cot(\alpha L) = -\rho L \coth(L) = -k \quad (8)$$

Donde α es la raíz de la ecuación trascendental (ecuación 8), $k = a$ una constante que puede ser aproximada con los coeficientes y las constantes de tiempo (C_0 , C_1 , τ_0 y τ_1) [37].

$$k \approx (C_1/C_0)/(\tau_1/\tau_0) \quad (9)$$

Cuando $k > 2$ el modelo con R_m homogénea no puede ajustarse a los datos experimentales.

Para el modelo de soma con cilindro equivalente finito y R_m heterogénea ($R_{ms} < R_{md}$) [19, 20] es:

$$\alpha_i L \gamma_i \cot(\alpha_i L) - \rho L \coth(L) = 0 \quad (10)$$

Donde: $\gamma_i = (1 - \varepsilon(1 + \alpha_i^2)) / \alpha_i \quad (11)$

$$\varepsilon = \tau_{ms} / \tau_{md} \quad (12)$$

τ_{ms} es la constante de tiempo de la membrana somática (s) y τ_{md} es la constante de tiempo de la membrana dendrítica (s). α_i son las raíces de la ecuación trascendental 10 y ε es el parámetro del corto circuito somático ("shunt"). $\varepsilon < 1$ cuando hay corto circuito somático y $\varepsilon = 1$ cuando no lo hay.

Como puede verse la ecuación 7 puede dar un estimado de L directamente de la curva de carga. L es sobrestimada si no se cumple con todas las restricciones que impone el modelo. Las ecuaciones para estimar L en los modelos que incluyen a un soma son ecuaciones trascendentales que se tienen que resolver simultáneamente con el resto de las ecuaciones del modelo (no mostradas aquí) [para las demás ecuaciones ver 12 y 19]. Cuando los árboles dendríticos se alejan de las restricciones geométricas que impone el modelo del cilindro eléctricamente equivalente, una alternativa es usar un factor de corrección (F_{dga}) [13]:

$$F_{dga} = \rho\beta/(A_D/A_S) = \tanh(L_D) / L_D \quad (13)$$

Donde: A_D = área dendrítica; A_S = área somática; L_D = longitud electrotónica dendrítica efectiva $\rho\beta = \rho$ cuando no hay corto circuito somático. ρ es un parámetro que nos indica la dominancia dendrítica en términos de la conductancia:

$$\rho = G_D/G_S \quad (14)$$

Donde G_D es la conductancia dendrítica y G_S es la conductancia somática.

Note que cuando R_m es igual en las dendritas que en el soma, ρ nos dice qué tan grande es el árbol dendrítico con respecto al soma. En estas circunstancias a mayor ρ mayor árbol dendrítico.

El factor de corrección (F_{dga}) es robusto, característico de cada población neuronal, no depende de la ley de los diámetros a la 3/2, y es independiente de la longitud eléctrica de las ramas dendríticas.

En la figura 3 se muestran simulaciones del transitorio de algunos modelos con cilindro equivalente. Las gráficas son semilogarítmicas. Puede verse que en el caso de un soma se obtiene una línea recta consecuencia de que el modelo eléctrico del soma es un circuito RC en paralelo. Cuando se agrega un árbol dendrítico al soma con la misma resistencia específica de

membrana (R_m), la corriente fluye más rápido por las dendritas y el transitorio es más rápido en estos modelos (Fig. 3A). Esto se debe a que $R_i \ll R_m$. En el caso de que la resistencia específica de membrana somática (R_{ms}) sea menor a la resistencia específica de membrana dendrítica (R_{md}) el transitorio es aún más rápido (Fig. B).

II MODELOS COMPARTAMENTALES

EL MODELO COMPARTAMENTAL DE RALL

Otra de las grandes contribuciones de Rall fue el modelo compartamental desarrollado en 1964 [25]. En este modelo, pequeños segmentos del árbol dendrítico son considerados isopotenciales y son representados por un circuito RC en paralelo (compartimientos). Están unidos por una resistencia en serie que representa al citoplasma (fig. 4). Este modelo brinda muchos grados de libertad [22, 32] que hacen flexibles las restricciones del modelo del cilindro equivalente, de manera que es útil en neuronas que no cumplen con las restricciones del cilindro equivalente. Este modelo permite investigar como influyen variaciones en la uniformidad de R_m entre el soma y el árbol dendrítico, así como variaciones de R_m en el árbol dendrítico mismo [29]. Con este modelo se integraron métodos físicos y de ingeniería para el estudio teórico de neuronas con árboles dendríticos complejos. El impacto del modelo compartamental [25] en la computación aplicada a la neurociencia puede verse en las referencias [2, 3 y 41].

MODELO COMPARTAMENTAL DE PERKEL Y MULLONEY

Para modelos con muchos compartimientos la solución propuesta por Rall requiere de gran cantidad de tiempo de cómputo. Esta limitación motivó otras soluciones. Otro modelo que fue descrito en detalle por Perkel y Mulloney [26, 27] utiliza una matriz de coeficientes para las ecuaciones diferenciales de cada compartimiento. Cuando se agregan propiedades activas que

dependen del voltaje y del tiempo, la solución necesariamente se logra por métodos numéricos (28).

LOS MODELOS COMPARTAMENTALES CON INFORMACION ANATOMICA EXHAUSTIVA.

En estos modelos se requieren datos morfológicos detallados. Cada segmento del árbol dendrítico es un compartimiento isopotencial (circuitos RC en paralelo). Dentro de estos modelos destaca el modelo de la célula de Purkinje con 1089 compartimientos realizado por Shelton en 1985 [29], y el de la motoneurona (M43/5) reconstruida por Cullheim y Cols. en 1987 [42] que ha sido modelada también por Segev y Cols. [30], Fleshman y Cols. [31] y por Holmes y Cols. [43] con 732 compartimientos. No es fácil determinar el número de compartimientos que debe tener un modelo de este tipo. Sin embargo, se parte de que a mayor cantidad de compartimientos mejor resolución. Se calculan los valores de R_m , R_i , y C_m en el arreglo paralelo de manera que τ_0 y R_N , que son datos experimentales, no cambien. Cuando la neurona a modelar tiene muchas espinas dendríticas, estas se deben tomar en cuenta [13].

LOS MODELOS COMPARTAMENTALES CON INFORMACION ANATOMICA REDUCIDA

Para disminuir el tiempo de cómputo, se ha reducido el número de compartimientos en base a mantener la misma resistencia de entrada (R_N) y la constante de tiempo de la membrana (τ_m) (33). La reducción de los compartimientos se logra "colapsando" segmentos de árboles dendríticos que cumplan con las restricciones del cilindro equivalente o aumentando la capacitancia por unidad de longitud C_m y disminuyendo la resistencia específica de la membrana (R_m). La solución de estos modelos se logra por métodos numéricos y programas de análisis de circuitos de propósitos generales como SPICE y SABER [30].

EL MODELO "MIXTO"

Este modelo consiste en hacer una representación compartamental del árbol dendrítico [26, 27] y obtener R_N , R_m , R_i y τ_0 a partir de valores iniciales obtenidos del modelo del cilindro

equivalente. Esto hace posible la representación de árboles dendríticos tan complejos como se quiera [29]. El método consiste en lo que se llama "computación hacia adelante seguido de computación inversa" para obtener valores desconocidos a partir de valores conocidos. La computación inversa requiere de datos obtenidos por tres caminos diferentes: a) transitorio del voltaje, b) transitorio de la corriente, y c) datos del estado estable después de un pulso de corriente [32]. Por ejemplo, se puede iniciar con valores de R_m , R_i y C_m para construir un modelo compartamental [28] y obtener las constantes de tiempo, los coeficientes del transitorio (τ_0 , τ_1 , C_0 , C_1) y R_N . En la computación "inversa", de los valores experimentales se obtiene una primera aproximación de R_m , R_i y C_m . El paso siguiente es comparar los valores obtenidos del transitorio con los datos experimentales siguiendo un procedimiento iterativo (NEWTON-RAPHSON) hasta que estos convergen. Holmes y Rall [32] proponen un modelo utilizando esta técnica. Se inicia con los parámetros experimentales τ_0 , C_0 , R_N , τ_{vc1} para obtener R_{md} , R_{ms} , R_i y C_m .

CONCLUSION

El presente trabajo muestra la diversidad de modelos pasivos para neuronas con dendritas. Para la pregunta: ¿Cuál usar? se debe partir de la neurona en estudio. Por ejemplo, si se trata de una neurona con árboles dendríticos totalmente asimétricos donde se distinguen claramente dendritas basales y apicales, entonces un modelo con dos o más cilindros es adecuado. Cuando la asimetría de las dendritas no es muy grande (<10%) el modelo de cilindro equivalente es adecuado. Cuando se tiene un transitorio más rápido que lo esperado por el modelo de Rall con R_m homogénea, entonces el modelo de Durand y Kawato con R_m heterogénea es el adecuado. Cuando las ramas dendríticas no terminan en igual longitud electrotónica o no siguen la regla de los 3/2 para los diámetros, se ha propuesto el empleo de modelos compartamentales. Actualmente se empieza a investigar qué tan bien ajustan los modelos de cilindro eléctricamente equivalente con R_m heterogénea para compensar la sobrestimación de L a causa del corto circuito somático ("shunt" somático) y agregar el factor de corrección (F_{cor}) para compensar la sobrestimación de L producto de la geometría dendrítica [44]. En los modelos compartamentales se requiere de datos

de inicio a priori. Estos datos pueden obtenerse con un modelo de cilindro equivalente y con el modelo mixto tener un estimado de la estructura electrofónica. Los modelos compartamentales exhaustivos solo dan la estructura electrofónica de esa neurona en particular. Para generalizar los resultados a una población neuronal en particular se manejan valores promedios. Se prefiere iniciar con el modelo más simple posible que ajuste los datos experimentales y que responda a la pregunta que nos estamos haciendo. Por ejemplo, si lo que queremos es tener una localización precisa de alguna entrada sináptica en particular, los modelos compartamentales o multicilindro son los adecuados. Si lo que queremos es tener la estructura electrofónica, de una población neuronal en particular, para tener un estimado de los pesos sinápticos y poderlos emplear en una red neuronal artificial el modelo de cilindro equivalente es el adecuado.

Reconocimiento: Este trabajo fue financiado por CONACyT - 0115P-N a J.B.

BIBLIOGRAFIA

1. Holmes WR, Rall W. "Electronic models of neuronal dendrites and single neuron computation". En: McKenna T, Davis J, Zometzer JF. editor. Single neuron computation. Academic Press (San Diego), 1992: 7-25.
2. Hines M. "Efficient computation of branched nerve equations". Int. J. Bio-Med. Comp. 1984; 15: 69-76.
3. Hines M. "A program for simulation of nerve equations with branching geometries". Int. J. Biomed. Comput. 1989; 24: 55-68.
4. Lewis ER. "A note on transfer and driving point functions of iterated ladder networks". IEEE Trans. Circuit. System 1974; 211: 334-338.
5. De Schutter E. "Computer software for development and simulation of compartamental models of neurons". Comput. Biol. Med. 1989; 19: 71-81.
6. Reyes A, Bargas J, Galarraga E. Programa para la simulación y el cálculo de la resistencia de entrada de un tronco dendrítico con parámetros seleccionables. Rev. Mex. Ing. Biomed. 1993; 14: 175-180.
7. Shepherd GM. The synaptic organization of the brain. Oxford University Press. 1990.
8. Rall W. "Branching dendritic trees and motoneuron membrane resistivity". Exp. Neurol. 1959; 1: 491-527.
9. Rall W. "Theory and physiological properties of dendrites". Ann. N. Y. Acad. Sci. 1962; 96: 1071-1092.
10. Rall W. "Electrophysiology of a dendritic neuron model". Biophysic. J. 1962 2:145-167.
11. Bower JM. "Reverse engineering the nervous system: An anatomical, physiological, and computer-based approach". En: Zometzer SF, Davis JL, Lau C. editores. An introduction to neural and electronic networks. Academic Press (San Diego), 1990.
12. Rall W. "Core conductor theory and cable properties of neurons". En: Brookhart JM, Mountcastle VB, Kandel ER, Geiger SR editores. Handbook of Physiology. The Nervous System. Cellular Biology of Neurons, Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc. 1: 39-97, 1977.
13. Rall W, Burke RE, Holmes WR, Jack JJB, Redman SJ, Segev I. "Matching dendritic neuron models to experimental data". Physiol. Rev. 1992; 72: 159-186.
14. Brown AM, Bimbauner L. "Ionic channels and their regulation by G protein subunits". Annu. Rev. Physiol. 1990; 52: 197-213.

15. Rall W. "Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons". *Biophys. J.* 1969; 9:1483-1508.
16. Segev Y, Rall W. "Theoretical analysis of neuron models with dendrites of unequal electrical lengths". *Soc. Neurosci. Abstr.* 1983; 9: 341.
17. Tuckwell HC. "Introduction to mathematical neurophysiology Vol. 1". University Press (Cambridge), 1987.
18. Holmes WR, Segev I, Rall W. "Interpretation of time constant and electrotonic length estimates in multicylinder or branched neuronal structures". *J. Neurophysiol.* 1992; 68: 1401-1420.
19. Durand D. "The somatic shunt cable model for neurons". *Biophys. J.* 1984; 46: 645-653.
20. Kawato M. "Cable properties of a neuron model with non-uniform membrane resistivity". *J. Theor. Biol.* 1984; 111: 149-169.
21. Poznanski RR. "Transient response in a somatic shunt cable model for synaptic input activated at the terminal". *J. Theor. Biol.* 1987; 127: 31-50.
22. Holmes WR, Rall W. "Electrotonic length estimates in neurons with dendritic tapering or somatic shunt". *J. Neurophysiol.* 1992a; 68: 1421-1437.
23. Major G., Evans D. J. y Jack J. B. Solutions for transients in arbitrarily branching cables: I. Voltage recording with a somatic shunt. *Biophysic. J.* 65: 423-449, 1993a.
24. Evans JD, Kember GC, Major G. "Techniques for obtaining analytical solutions to the multicylinder somatic shunt cable model for passive neurones". *Biophys. J.* 1992; 63: 350-365.
25. Rall W. "Theoretical significance of dendritic trees for neuronal input-output relations". En: De. Reiss RF. editor. *Neural Theory and Modeling*. Stanford University Press (California), 1964: 73-97.
26. Perkel HD, Mulloney B. "Calibrating compartmental models of neurons". *Am. J. Physiol.* 1978a; 235: R93-R98.
27. Perkel HD, Mulloney B. "Electrotonic properties of neurons: Steady-state compartmental model". *J. Neurophysiol.* 1978b; 41: 621-639.
28. Perkel HD, Mulloney B, Budelli WR. "Quantitative methods for predicting neuronal behavior". *Neuroscience.* 1981; 6: 823-837.
29. Shelton DP. "Membrane resistivity estimated for the Purkinje neuron by means of a passive computer model". *Neuroscience.* 1985; 14: 111-131.
30. Segev I, Flesman JW, Miller JP, Bunow B. "Modeling the electrical behavior of anatomically complex neurons using a network analysis program: passive membrane". *Biol. Cybern.* 1985; 53: 27-40.
31. Flesman WJ, Segev I, Berke ER. "Electrotonic architecture of type-identified motoneurons in the cat spinal cord". *J. Neurophysiol.* 1988; 60: 60-85.
32. Holmes WR, Rall W. "Estimating the electrotonic structure of neurons with compartmental models". *J. Neurophysiol.* 1992b; 68: 1438-1452.
33. Stratford K, Mason A, Larkman A, Major J. y Jack JJB. "The modelling of pyramidal neurones in the visual cortex". En: Durbin De R, Miall C, Mitchison G, Reading MA. editores. *The Computing Neurons*. Addison-Wesley. 1989; 296-321.
34. Bush PC, Sejnowski TJ. "Reduced compartmental models of neocortical pyramidal cells". *J. Neurosci. Methods.* 1993; 46:169-166.
35. Barrett JN, Crill WE. "specific membrane properties of cat motoneurons". *J. Physiol.* 1974; 239: 301-324.
36. Ianssek R, Redman SJ. "An analysis of the cable properties of spinal motoneurons using a brief intracellular current pulse". *J. Physiol.* 1973; 234: 613-636.
37. Bargas J, Galarraga E, Aceves J. "Electrotonic properties of neostriatal neurons are modulated by extracellular potassium". *Exp. Brain. Res.* 1988; 72: 390-398.
38. Tsukahara N., Murakami F. y Hultborn H. "Electrical Constants of neurons of the red nucleus". *Exp. Brain. Res.* 1975; 23: 49-64.
39. Durand D, Carlen PL, Gurevich N, HO A, Kunov H. "Electrotonic parameters of rat dentate granule cells measured using short current pulses and HRP staining". *J. Neurophysiol.* 1983; 50: 1080-1097.
40. Holmes WR, Rall W. "Estimating the electrotonic structure of neurons of neurons with cannot be approximated as equivalent cylinders". *Soc. Neurosci. Abstr.* 1987; 13: 1517.
41. Sejnowski T, Koch C, Churchland P. "Computational neuroscience". *Science.* 241: 1299-1306.

42. Cullheim S, Fleshman JW, Glenn LL, Burke RE. "Membrane area and dendritic structure of type identified triceps surae alpha motoneurons". *J. Comp. Neurol.* 1987; 255:68-81.
43. Holmes WR, Segev I, Rall W. "Interpretation of time constant and electrotonic length estimates in multicylinder or branched neuronal structures". *J. Neurophysiol.* 1992; 68: 1401-1420.
44. Reyes A, Galarraga E, Flores-Hernández J, Tapia D, Bargas J. "Passive properties of neostriatal neurons during potassium conductance blockade". *Exp. Brain Reseach* (en prensa) 1997.

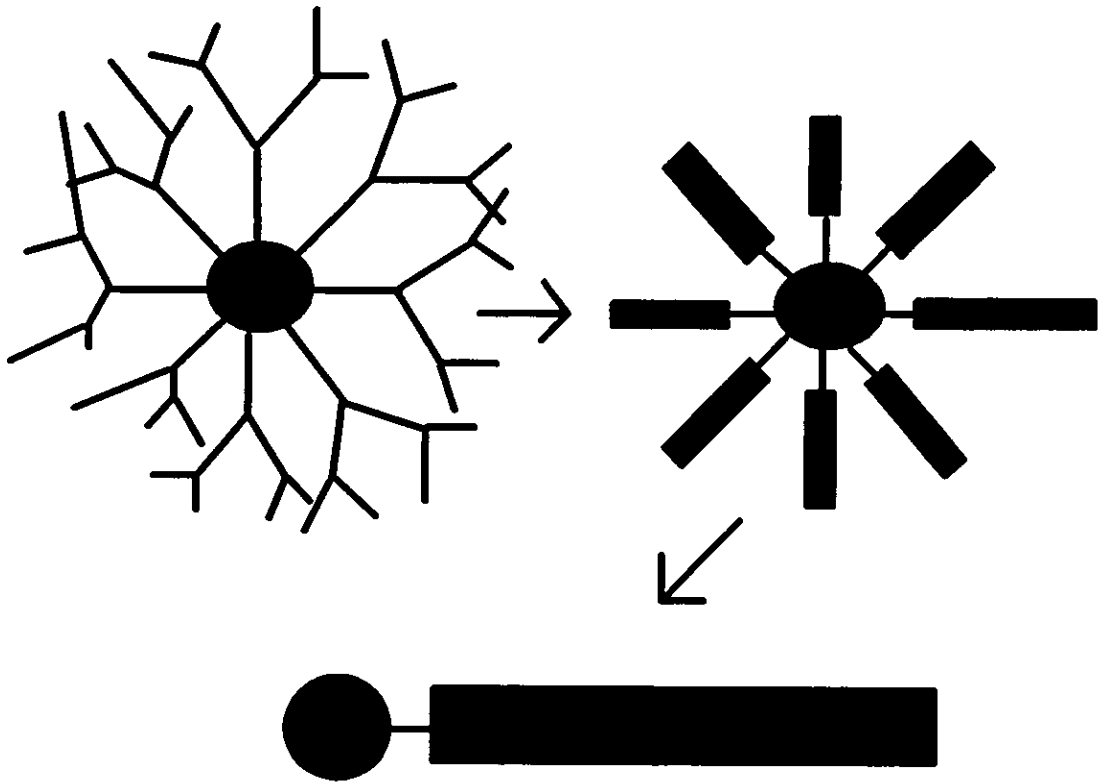


Fig. 1. Esquema que muestra como un árbol dendrítico se puede reducir a un cilindro eléctricamente equivalente. Para esto, se tienen que cumplir las condiciones del modelo del cilindro equivalente. El objetivo es que la suma de las resistencias de entrada de dos dendritas secundarias sea igual a la resistencia de entrada de la rama que les dio origen.

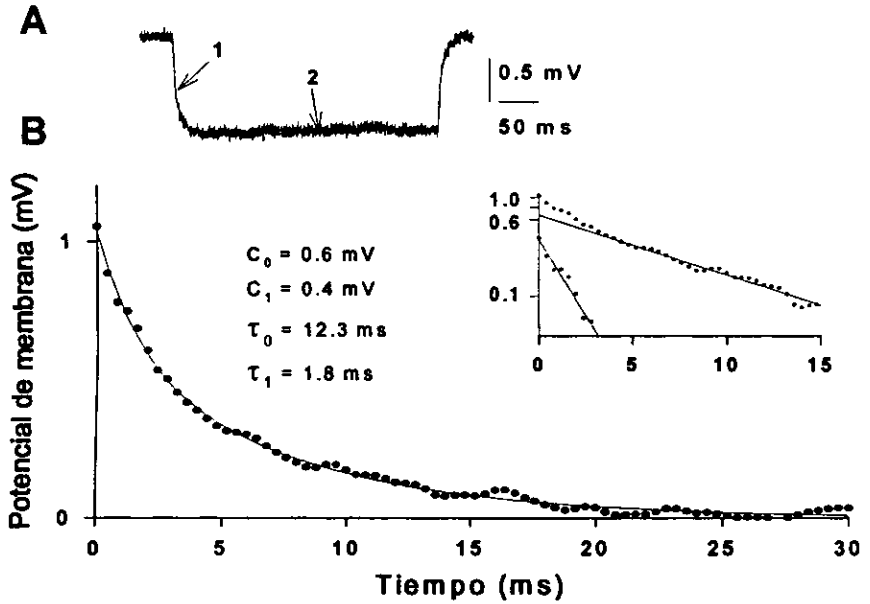


Fig. 2. A) Cambio de voltaje transmembranal obtenido de una neurona espinosa del neocórtex como respuesta a un pulso de corriente (no se muestra). El número 1 señala la parte transitoria de la curva de carga, el número 2 señala la parte estacionaria que se alcanza una vez que se ha cargado la capacitancia de la membrana. B) La parte transitoria de la curva de carga puede ser ajustada con un modelo de soma más cilindro equivalente finito con R_m heterogénea. Los puntos son los datos experimentales y la línea continua es el ajuste del modelo. En el recuadro, la misma curva graficada en escala semilogarítmica muestra la suma de exponenciales que la componen.

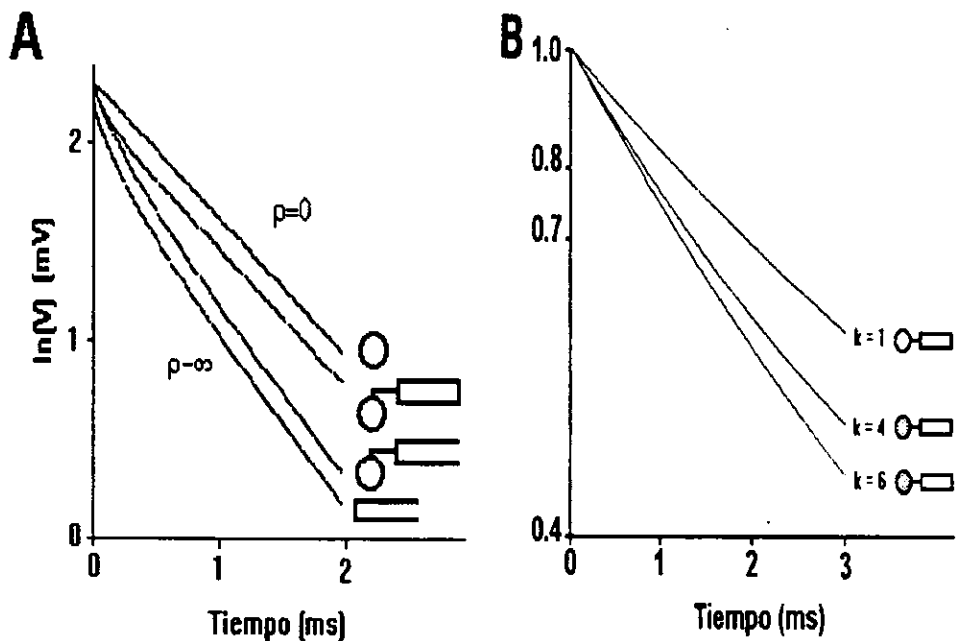


Fig. 3 Simulación de la parte transitoria de la curva de carga de los principales modelos pasivos de una neurona. A) En orden descendente y todos con R_m homogénea: célula isotérmica, soma más cilindro equivalente finito, soma más cilindro equivalente semi-infinito, y cilindro equivalente semi-infinito. Puede notarse que el trazo de soma más cilindro equivalente finito es paralelo a la célula isotérmica, lo mismo ocurre entre los trazos inferiores. B) En orden descendente: soma más cilindro equivalente finito con R_m homogénea, soma más cilindro equivalente finito con $R_{ms} < R_{md}$, y soma más cilindro equivalente finito con $R_{ms} \ll R_{md}$. Puede observarse que a mayor corto circuito somático el transitorio es más rápido que lo esperado en un modelo con R_m homogénea.

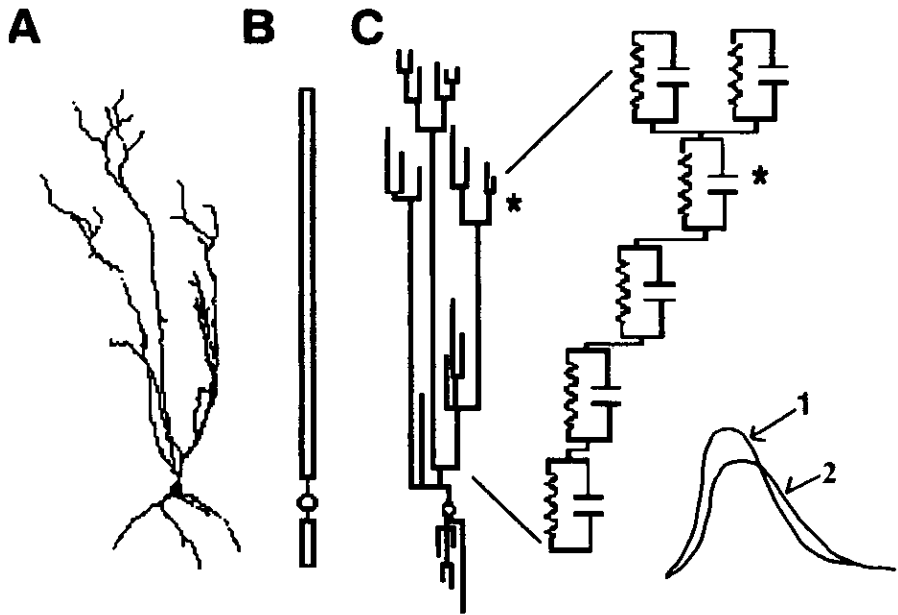


Fig. 4. A) Neurona del hipocampo región CA3. B) Esquema del modelo con dos cilindros. Es evidente la diferencia en la longitud de los árboles dendríticos. En el modelo, las dendritas basales son colapsadas en un cilindro equivalente, lo mismo se hace para las dendritas apicales. C) Aquí la neurona es detallada mediante un dendrograma, para esto se consideran las longitudes y los diámetros correspondientes. El modelo puede ser representado por medio de cilindros equivalentes para regiones o troncos dendríticos parciales cada uno de los cuales es unido con una resistencia (esquemática por la línea que los unen). El asterisco indica una entrada sináptica y los trazos de abajo son los registros en el soma. El trazo 1 es obtenido con una R_m más grande que en el trazo 2. El peso sináptico es más grande cuando R_m es mayor.

HIPOTESIS

- A) Es posible ajustar los parámetros electrofisiológicos y anatómicos de las neuronas neoestriales de proyección a alguno de los modelos de "cilindro equivalente". Posiblemente es mejor ajustar el modelo que toma en cuenta una R_m heterogénea ($R_{ms} < R_{md}$).
- B) hay conductancias activas en el reposo que influyen en las propiedades electrotónicas de las neuronas de proyección del neostriado, e. g. , el rectificador instantáneo de corriente entrante. El bloqueo de estos canales deberá modificar la estructura electrotónica de las neuronas.
- C) Diferentes bloqueadores de canales de K^+ afectarán de manera diferente al soma y las dendritas; pues es probable que haya diferentes tipos de conductancias o distribuciones de conductancias en estas estructuras.
- D) El modelo escogido para ajustar e interpretar los datos electrofisiológicos y anatómicos de las neuronas neoestriales deberá ser sensible al bloqueo diferencial de los antagonistas de conductancias a K^+ .

Material y Métodos:

Artículo aceptado para su publicación en:

EXPERIMENTAL BRAIN RESEARCH

Resultados:

Artículo aceptado para su publicación en:

EXPERIMENTAL BRAIN RESEARCH

From gabriep@rockvax.rockefeller.edu Tue Oct 14 14:43:30 1997
Date: Tue, 14 Oct 1997 13:46:33 -0500
From: Peggy Gabriel <gabriep@rockvax.rockefeller.edu>
To: jargas@ifsc.unl.br, ifsiol.unam.mx
Subject: EBR

Dear Dr. Bargas:

We have received the revision of your paper, "Passive properties of neostriatal neurons during potassium conductance blockade". Dr. Wilson has now accepted the paper and I am sending it off to the publisher today.

Sincerely,
Peggy Gabriel
Secretary to V.J. Wilson

Peggy Gabriel
The Rockefeller University
1230 York Ave., Box 79
New York, NY 10021-6399

Phone: 212-327-8598
FAX: 212-327-8530

PASSIVE PROPERTIES OF NEOSTRIATAL NEURONS DURING POTASSIUM CONDUCTANCE BLOCKADE

A. Reyes, E. Galarraaga, J. Flores-Hernández, D. Tapia and J. Bargas

Dept. de Biofísica, Instituto de Fisiología Celular UNAM. POBox: 70-253. México DF 04510,

and

Instituto de Ciencias BUAP. Puebla. México.

Running title: cable properties during K⁺-blockade

Correspondence: José Bargas. Dept. Biofísica. Instituto de Fisiología Celular. UNAM. PO Box: 70-253. México DF 04510. México. Tel.: (525) 622-5670. FAX: (525) 622-5607.

e-mail: jbargas@ifcsun1.ifisiol.unam.mx

Abstract. Voltage recordings from neostriatal projection neurons were obtained using *in vitro* intracellular techniques before and during K⁺-conductance blockade. Neurons were stained with the biocytin technique. Somatic surface area (A_S) was determined by both whole-cell recordings in isolated somata and by measuring stained somata recorded in slices. Dendritic measurements were done in reconstructed neurons. Average determinations of dendritic (A_D) and neuronal (A_N) surface areas coincided with previously reported anatomical data. Thus: $A_S \approx 6.5 \times 10^{-6} \text{cm}^2$; $A_D \approx 1.9 \times 10^{-4} \text{cm}^2$; $A_N \approx A_D + A_S \approx 2 \times 10^{-4} \text{cm}^2$; $A_D/A_S \approx 30$. Measurements were done before and after superfusion with K⁺-conductance blockers (K⁺-blockers). Cells whose neuronal morphology was not obviously distorted by K⁺-blockade were chosen for the present study. Electrotonic transients were matched to a somatic shunt equivalent cylinder model adjusted with the generalized correction factor (F_{cor}) that constrains the parameters for neuronal anatomy. Neuronal input resistance (R_N ; mean \pm s.e.m.) increased when it was corrected for somatic shunt, from $49 \pm 2 \text{ M}\Omega$ ($n=80$) to $179 \pm 7 \text{ M}\Omega$ ($n=32$). A difference was also obtained between the slowest time constant, $\tau_0 = 16 \pm 0.9 \text{ ms}$ ($n=49$), and the dendritic membrane time constant, ($\tau_{\text{mD}} = 33 \pm 1.6 \text{ ms}$ ($n=36$)). When these electrophysiological measurements were used to calculate A_N , the value obtained was similar to the anatomical measurements. Combining anatomical and electrophysiological data, somatic and dendritic input resistances were determined: $R_D = 182 \pm 7 \text{ M}\Omega$; R_S (with shunt) = $74 \pm 4 \text{ M}\Omega$ ($n=32$). The generalized correction factor, $F_{\text{cor}} = 0.91 \pm 0.007$ ($n=10$); implied a short effective electrotonic length for dendrites: $L_D = 0.46 \pm 0.014$ ($n=32$). Saturating concentrations of the K⁺-blockers TEA, Cs⁺, and Ba²⁺ increased R_N and induced charging curves well fitted by single exponential functions in 56% of neostriatal neurons. Ba²⁺ greatly decreased the somatic shunt ($n=5$): $R_N = 216 \pm 21 \text{ M}\Omega$, $\tau_0 = 46 \pm 2 \text{ ms}$, $R_D = 239 \pm 25 \text{ M}\Omega$, and $R_S = 3.2 \pm 0.5 \text{ G}\Omega$; rendering values similar to those obtained with whole-cell recordings, e.g., $R_N \approx 198 \text{ M}\Omega$, $R_S \approx 2.62 \text{ G}\Omega$ ($n=52$). Cs⁺ ($n=5$)

had less effect on the somatic shunt: $R_N=115\pm 19$, $\tau_0=49\pm 13$, $R_S=161\pm 8$ M Ω , although dendritic conductance was equally blocked: $R_D=261\pm 16$ M Ω . The Cs⁺-sensitive conductance exhibited inward rectifying properties not displayed by the Ba²⁺-sensitive conductance; suggesting that Cs⁺ preferentially acted upon inward rectifier conductances. In contrast, Ba²⁺ significantly acted upon linear conductances making up the somatic shunt. This suggests a differential action of different K⁺-blockers on the somato-dendritic membrane; implying a differential distribution of membrane conductances. Another action of K⁺-blockers, in about 40% of the cells, was to induce dye and probably electrical coupling between neighboring neurons.

Key words: neostriatum, cable properties, dye coupling, brain slices, potassium blockers, dendritic function.

Introduction

Voltage-dependent and independent ionic conductances may be tonically active around the resting membrane potential (RMP). Specific membrane resistance (R_m) may depend on these conductances, which in this way, would participate in the shaping of the electrotonic structure (Nisenbaum and Wilson, 1995; Karschin et al., 1996; Campbell and Rose, 1997). In fact, K^+ -conductance blockade affects neuronal passive properties (e.g., Bargas et al., 1988; Rapp et al. 1994; Campbell and Rose, 1997). Moreover, in many cells R_m is not uniform over the somato-dendritic membrane: R_m on the soma (R_{ms}) may be much lower than R_m on the dendrites (R_{md}); this generates a "somatic shunt" of variable magnitude (e.g., Ianssek and Redman 1973; Brown et al. 1981a,b; Durand et al. 1983; Rose and Vanner 1988; Clements and Redman 1989; Holmes and Rall 1992; Major et al. 1993; Rapp et al. 1994). Besides a differential density of tonically active ionic conductances on soma and dendrites, the somatic shunt may be explained by electrode injury, by ionic conductances activated in response to impalement, by a higher inhibitory activity at the soma, or by a mixture of causes (Durand et al. 1983; Clements and Redman 1989; Rall et al. 1992; Spruston and Johnston 1992; Major et al. 1993). The relative contributions of these factors may change according to techniques employed and neuronal class recorded (Spruston and Johnston 1992; Staley et al., 1992; Major et al., 1994; Campbell and Rose, 1997); the somatic shunt being reduced by gigaseal (whole-cell) recordings. The purpose of the present work was to investigate the contribution of tonically active ionic conductances, particularly K^+ -conductances, on the somatic shunt exhibited by medium spiny neostriatal projection neurons during sharp electrode recordings.

To accomplish this goal, the overall electrotonic structure of medium spiny neurons was estimated with the use of the somatic shunt equivalent cylinder model (Durand, 1984; Kawato,

1984) that takes into account and corrects for the somatic shunt. Then, the somatic shunt was evaluated in the presence or absence of K⁺ conductance blockers.

The somatic shunt E-C model assumes that dendritic architecture obeys certain "rules", e.g., the three halves power law (Rall, 1977). Thus, application of this model to experimental data obtained from cells which do not have the architectural features of the somatic shunt E-C model may invalidate estimates of cable properties based on this model. However, a "generalized correction factor" (F_{oga}) has recently been proposed from which an effective dendritic electrotonic length (L_{D}), valid for any dendritic architecture, can be obtained (Rall et al, 1992). This factor is constrained by anatomical data, and therefore, the values of electrotonic structure obtained after application of F_{oga} are not limited by dendritic geometry (Rall et al., 1992). Under these circumstances, the somatic-shunt E-C model can be used to obtain meaningful interpretation of the actions of potassium blockers on electrotonic structure (Holmes and Rall, 1992; Rall et al., 1992). Therefore, the somatic shunt E-C model adjusted by F_{oga} was used to interpret the present experimental data. The results indicate that tonically active ionic conductances contribute to the somatic shunt in medium spiny neurons. Moreover, different K⁺-blockers have differential blocking actions upon the somato-dendritic membrane. In addition, it was found that one action of K⁺-blockers was to increase the probability of dye and probably electrical coupling between neighboring neurons. A preliminary report of these data has been presented previously (Reyes et al. 1995).

Materials and methods

Intracellular recordings

Intracellular recordings were done *in vitro* on adult rat brain slices containing the neostriatum. Our protocol has been described previously (e.g., Bargas et al. 1988). It follows the *Principles of laboratory animal care* (NIH publication no. 86-23, revised 1985): adult (> 3 mo) Wistar rats of either sex were

anesthetized and decapitated. Parasagittal neostriatal slices (400 μm) were placed in a bathing solution with (in mM): 125 NaCl, 3.0 KCl, 1.0 MgCl_2 , 2.0 CaCl_2 , 25 NaHCO_3 and 11 glucose (saturated with 95% O_2 and 5% CO_2 for pH= 7.4; 290 mOsm/L; 32-34 $^\circ\text{C}$). 5 - 20 mM of tetraethylammonium chloride (TEA), 2.5 - 5 mM of cesium chloride (Cs^+) or 1 - 5 mM of barium chloride (Ba^{2+}) (all from Sigma) equimolarly substituted a part of the NaCl in some experiments.

Intracellular recordings were carried out with micro-pipettes filled with either biocytin (Sigma, 1-2 %) in 3 M K-acetate or just 3 M K-acetate. Electrode d.c. resistances ranged from 80 to 120 $\text{M}\Omega$. Records were obtained with a high input impedance electrometer with an active bridge circuit (Neurodata) using standard techniques. After recording the RMP and R_w , approximately: < -75 mV and 30-50 $\text{M}\Omega$ respectively; Galarraga et al. 1994), 10 or more min of continuous recording without any manipulation were done as a control. Afterwards, I-V plots and electrotonic transients 1 to 5 mV hyperpolarized with respect to the resting potential were recorded before and during the superfusion with potassium conductance blockers: Cs^+ , TEA, or Ba^{2+} (see above). Exchange within the recording chamber was complete in about 2 min. R_w was monitored continuously. Potassium blockers produced a depolarization (2 - 7 mV) which was corrected with d.c. current, so that original RMP was maintained during the duration of the experiment.

Whole-cell recordings

Whole-cell clamp recordings were done on acutely dissociated adult neostriatal somata (see Methods in Bargas et al. 1994). This was done in order to have an independent method to estimate somatic capacitance and somatic surface area (C_s , A_s , respectively). Briefly, two or three slices at a time were incubated in bathing saline (see above) for 30 min in the presence of pronase (1 - 3 mg / ml). Thereafter slices were rinsed several times with a low- Ca^{2+} (200 μM) HEPES-buffered saline (see below). Cells were mechanically dissociated with fire-polished Pasteur pipettes. The cell suspension was then plated on a plastic Petri dish and mounted on the stage of an inverted microscope. Recordings used whole-cell standard techniques (Hamill et al. 1981). External solution was (in mM): 140 NaCl, 3 KCl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 HEPES, 10 glucose and 0.001 tetrodotoxin (TTX), and flowed over the plated cells at a rate of 1 ml / min. Electrodes were done with borosilicate glass and after fire-polishing achieved a dc

resistance of 3 - 6 M Ω . Internal solution was (in mM): 115 KH₂PO₄, 2 MgCl₂, 10 HEPES, 1.1 EGTA, 2 Na₂ATP, and 0.2 Na₃GTP.

Recordings were obtained with an Axopatch 1-D amplifier and controlled and monitored with a PC-clone computer running pClamp (v. 5.0) with a 125 KHz DMA interface (Axon Ins). Cells chosen for recordings were medium sized somata (major diameter: 6 - 14 μ m) that possessed only a few or none dendritic stumps. Series resistance (7 - 15 M Ω) was compensated 80%. Current responses to small voltage commands from -115 to -70 mV in 10 mV steps, from a holding potential of -90 mV, were done to obtain somatic input resistance (R_s). In the present experimental conditions no active currents were detected in this voltage range and only small leak currents were present (Fig. 1). Subthreshold current traces were time-averaged with the aid of Clampfit software (pClamp) and these average responses were used to determine current voltage relationships. Figure 1A shows that these values are well fitted by a straight line. No signs of inward rectification was seen in these conditions (≤ 15 pA). Thus no error compensation for series resistance was applied. Since inward rectification is a common finding in slices (e.g., Galarraga et al. 1994; Nisenbaum and Wilson 1995), and was not seen in the present experiments, it was concluded that these whole-cell clamp conditions did not favor the appearance of some subthreshold conductances present during intracellular recordings. By integrating the capacitive transients of the smallest current records (by using Clampfit; Fig. 1B), whole somatic capacitance (C_s) was obtained (Yan and Surmeier 1996). C_s can be used to obtain somatic surface area (A_s) (equation B2; Appendix B). In most cases, the resistive component was very small and it was not subtracted. This may explain the tail in the distribution of Figure 1D. However, the integration method (n=144) roughly coincided with capacitance compensated during recording and with capacitance calculated with the use of somatic surface area (A_s) (equation B2; Appendix B; see below and Fig. 1C).

Data processing

Several voltage records of electrotonic transients after step current stimuli were digitized and averaged. Records with spontaneous synaptic potentials or obvious distortions were discarded. Obtained average records were also filtered and differentiated. Digitization was done at 40 KHz and the records stored on tape. Tapes were played off-line and records were displayed one by one at high magnification on a 486

PC-clone using software designed in the laboratory in the LabView environment (National Insts.).

Neuronal input resistance (R_N) was obtained with the slope of the I-V relationship at the voltage where the transient was obtained (Fig. 2A; see Galarraga et al., 1994). As previously reported (Burke et al. 1994; Rapp et al. 1994), it was seen that main parameters obtained with fitting did not differ significantly after the average included 15 to 25 chosen records. Given the sharp electrodes impedance (up to 120 M Ω) we chose to analyze charge transients after long current pulses. Therefore, formulations for long step responses were used to fit the transients and their derivatives (e.g., Holmes and Rall 1992; Rall et al. 1992). Experimental and averaged electrotonic transients were fitted to equation A1 and their derivatives to equation A2 (see: Appendix A and Fig. 2A) to obtain the exponential coefficients and time constants (C_0 , C_1 , τ_0 , τ_{1peel} ; see Appendix A). Fitting used non-linear regression, i.e., the Marquardt-Levenberg algorithm (Marquardt, 1963; SigmaPlot, Jandel). This non-linear regression software provides estimation errors and 95% confidence limits; it has been used before, with success, on electrotonic transients (Campbell and Rose, 1997). It finds the parameter values that minimize the sum of the squared differences between the observed and predicted values. A fit was considered acceptable when the norm of the residuals (square root of the sum of squares of the residuals), from one iteration to the next, was less than the tolerance value (0.0001). A fit was rejected when the fits between sub-samples of the same data yielded significant differences ($p > 0.05$), or when a change in the fit interval changed the output. The fit interval was normally chosen between 550 μ s and 20 ms. After K⁺-blockers this interval varies and could be longer (normally set up to 15% before steady-state). Exponential peeling was sometimes used to provide initial values to begin the iteration. The coefficients and time constants obtained could be used to get a rough approximation of L_{peel} (equation A3; Appendix A). This overestimated value of the electrotonic length sets an upper limit (Rall et al., 1992) and can be compared with those obtained before in several types of neurons.

Filtering used the "adjacent averaging method", protecting the extremes of the records with a variant of the "cosine window" technique (Press et al. 1986; Dempster 1993). Therefore, filtering did not distort the records (Fig. 3). This was checked by doing the analysis in both just averaged and averaged, filtered and differentiated records. Also, the results obtained with sub-samples of records were compared

between them and with the results from the complete sample. Normally these manipulations gave the same results; if significant differences were found, data were discarded.

Differentiation was done in order to better emphasize the exponential components in case they were present (Jack et al. 1975; Rall 1977; Johnston 1981; Brown et al. 1981a,b). Since the objective of this work is to make evident the changes on charge transients induced by K^+ -blockers, and since the changes detected were so large (see Results), it was decided that this data management was enough for the purposes of the present experiments.

Anatomical measurements

Neurons were injected with biocytin using the method described by Horikawa and Armstrong (1988). Slices containing injected neurons were fixed overnight in 4% paraformaldehyde, 1% picric acid in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). The slices were then infiltrated with 30% sucrose and cut on a vibratome into 60 μm sections. The sections were incubated for 2 to 4 hours in a phosphate buffer solution containing 0.2 Triton-X-100, avidin, and biotinylated horseradish peroxidase (ABC-HRP, Vector's ABC kit) for two hours and then reacted with diaminobenzidine and hydrogen peroxide (H_2O_2) to visualize the bound HRP. This enabled resolution of the intracellularly labeled processes through trans-illumination microscopy. Some recorded neurons were reconstructed using a camera lucida. In this work main dendritic trunks, and minor and major somata diameters, were measured in order to check for anatomical distortions after K^+ -blockade. Thereafter, equation B1 (Appendix B) was used to calculate A_s (Fig. 1C) and equation B2 (Appendix B) was used to calculate C_s from the A_s value. Therefore, with anatomical measurements of A_s , C_s could be calculated, and viceversa, with whole-cell records (see above) C_s could be obtained and thereafter A_s could be calculated. By comparing Figures 1C and 1D it can be seen that both methods coincide (there is not statistical difference). Neurons showing any type of abnormal morphology or biocytin leakage were discarded.

In addition, Equation B3 (Appendix B) allows the determination of the whole neuronal surface area (A_N) by mixing electrophysiological and anatomical data. Therefore, if we had an independent anatomical measurement of A_N , equation B3 becomes a constraint for electrophysiological or model derived values, i.e., only correct values of τ_m , R_N (corrected for shunt), F_{opt} , and L would yield a good A_N

approximation. Fortunately, average A_N for projection neostriatal neurons has been reported by Wilson (1992) using high-voltage electron microscopy. The definite integral of his Figure 4 (Wilson, 1992) yields average $A_D \approx 1.98 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$ and thus, the sum of mean A_S (Figs. 1C, D) and A_D (Wilson, 1992) values yields an average $A_N \approx 2 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$ (about $20,000 \mu\text{m}^2$). Since this average value cannot be easily improved with other microscopical techniques, it was used as a reference in the present work. However, this is an average value representative of the medium spiny population. Therefore, it can only be used with average values of τ_m , L , and F_{opa} (eq. B3; Appendix B) taken from a sample of neurons (see below). Nonetheless, average electrophysiological and anatomical data may define an average profile of medium spiny's electrotonic structure (since the match includes mean τ_m and L) when equation B3 is fulfilled. Needless to say, R_N directly obtained from the experiments (non corrected for the somatic shunt), τ_o obtained from a direct fitting of equations A1 and A2 to the experimental records, and L_{pass} obtained from equation A3 could not match the average A_N value obtained with anatomical methods. This shows that the original E-C model (Rall, 1977) cannot be matched without correcting for somatic shunt and dendritic morphology. Therefore, in order to obtain more accurate values for R_N , L and τ_m , the corrections for the somatic shunt introduced by Durand (1984) and Kawato (1984) had to be used. Furthermore, the adjustments and the generalized correction factor (F_{opa}) provided by Rall et al (1992), which are independent of dendritic architecture, were also applied (see next section).

On the other hand, Wilson (1992) has also shown that dendritic spine surface represents about half A_D . Therefore, a rough approximation of A_D could be acquired from dendrograms. These were built from calibrated neuronal reconstructions magnified and projected on to a screen. Dendritic lengths were measured from these projections and dendritic diameters were measured with an oil immersion 100X objective every 20 to 30 μm ($n=3$). The spine surface was added according to Wilson's measurements. The neurons selected had been superfused with high concentrations of K^+ -blockers. Nevertheless, this independent measurement coincided well with Wilson's average A_D ($1.8 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$). This shows that the anatomical measurements of cells in high concentrations of potassium blockers were not substantially different from those recorded in more physiological solutions.

Finally, R_m and membrane time constant comparable to those reported by others using whole-cell recordings in slices (e.g., Kawaguchi 1993) could be obtained in the presence of 5 mM Ba^{2+} (see Results). Therefore, several independent tests suggested that the morphology of the chosen medium spiny neurons was not appreciably modified by the present Methods. Additionally, average A_m values could be obtained that matched values previously reported by independent investigators (Chang et al., 1982; Wilson, 1990; 1992). This reinforced the view that equation B3 could be used to test average electrophysiological values obtained after matching the somatic shunt E-C model to the experimental transients of a sample of neurons.

Correcting passive parameters for somatic shunt

Block diagram shown in Figure 2 summarizes the method of analysis. The formulations used at each block are listed in the Appendices. As stated in the above sections, exponential parameters from the experimental charge transients (C_0 , C_1 , τ_0 , τ_1) were obtained by fitting the recordings to equations described in Appendix A (Fig. 2A). Also, average anatomical measurements were obtained from reconstructed biocytin stained neurons, from whole-cell recordings of dissociated somata, and from previously reported anatomical data (Fig. 2B).

Thereafter, parameters obtained with the fitting of charging curves (equations A1, 2) were used as initial values to match the somatic shunt E-C model to the experimental records (equation C1 of Appendix C; Fig. 2C) (Durand, 1984). The match was done by minimizing the difference between experimental exponential coefficients (C) and the theoretical exponential coefficients (C_T) given by the model and defined by equations C2 and C3 (Appendix C) (Rose and Dagum 1988 and White et al. 1992). This difference (equation C10; Appendix C) had to be less than 1×10^{-5} to consider that the match was accomplished (Appendix C). In practice, to do this match equations C3 to C9 (Appendix C) had to be solved iteratively and simultaneously after initial values had been given. This was done by using the equation solving software Eureka (Borland). This software provides variable number of iterations and modules to verify the solutions and estimation errors. In many cases (Fig. 3), the output of the model (continuous line in Fig. 3; equation C1) fitted the data points and remained well inside the 95% confidence interval of the exponential fitting (equation A1). Some constraints were helpful in order

ESTA TESIS NO PUEDE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

to match the model, v.g. : $\alpha_0 < \alpha_1$; $L > 0$; $\rho > 0$; $\tau_{ms} < \tau_0 < \tau_{m0}$ (Durand, 1984; White et al. 1992). The matching of the model to the experimental transients yielded approximations of τ_{m0} , L , ϵ and ρ (equations C1-9; Appendix C). ϵ is an estimation of the somatic shunt. τ_{m0} variations outside a small range impeded the matching of the model to the experimental records. As expected, equations for the original E-C model with uniform R_m (without a shunt) (Rall, 1977) could never fit the experimental data. According to Kawato (1984) this model can only be fitted if $k < 2$ and $\epsilon = 1$ (equations C3-9 in Appendix C; e.g., Tsukahara et al. 1975; Brown et al. 1981b; Durand 1984; Kawato 1984; Vargas et al. 1988; Rose and Vanner 1988; Holmes and Rall 1992; Holmes et al., 1992; White et al. 1992). However, average $k > 2$ in the present sample of neostriatal neurons (see Table 1).

It appeared that τ_{m0} approximation (and not L) was the most valuable piece of data yielded by the fitting of the somatic shunt E-C model, since according to Holmes and Rall (1992), dendritic branches ending at different lengths and a dendritic architecture that does not obey the $d^{3/2}$ constraint (Rall, 1977; Rall et al., 1992; Holmes and Rall, 1992) may greatly overestimate L value. Moreover, τ_{m0} approximations generated reasonable initial approximations for R_{m0} and R_D ; specific membrane resistance and input resistance of the dendritic arbor, respectively (equations D1-3 in Appendix D; $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$; Fig. 2). These values yielded estimations of A_D in the range of that obtained by several independent methods (see above and Results).

Correcting passive parameters for dendritic architecture

The approximations obtained with the matching of the somatic shunt E-C model were then corrected for dendritic architecture. This implied to find a generalized correction factor (F_{dpa}) valid for any dendritic architecture (even those dendritic trees not obeying the $d^{3/2}$ constraint or with branches of different lengths) and, thereafter, an effective electrotonic length for the dendritic tree (L_D); whatever its morphology (Rall et al., 1992). To do this, equations D1-6 (Appendix D; Fig. 2E) were solved simultaneously using Eureka (Borland). An error larger than 1×10^{-5} for any of the estimated parameters (as seen with the error estimation module of Eureka) in any of the parameters discarded the data. Thus, a solution was accepted when all parameters were less than this error. However, if a parameter's error kept being 1×10^{-5} without a change when some of the other parameters were fixed, it

was also discarded. The initial values to begin the iterative procedure are, on the one hand, the values obtained from the matching of somatic shunt E-C model (τ_{mD} , L , c and ρ) (Appendix C), and, on the other hand, the anatomical values obtained by different techniques (Appendix B) (see above). These procedure provided and adjusted (constrained with anatomy) several parameters, either for a given neuron, or, when using average values, for a sample of neurons. These values are (see Appendix D): β (somatic shunt magnitude; equation D1 in Appendix D), R_s (somatic input resistance; eqs. D1, 2), R_o (dendritic input resistance; eqs. D2, 3, 5), ρ_{ps} , (a somatic shunt independent constant that approximates ρ value in the case without shunt; eq. D3), the generalized correction factor, F_{oga} , (equation D4), which allows the determination of an effective dendritic electrotonic length (L_o) which is independent of dendritic geometry (Rall et al, 1992), and finally, an approximation of the whole input resistance of the neuron after correcting for the somatic shunt (R_N no-shunt; eq. D6).

Statistical analysis

Since control and test conditions were compared in the same cells, the observations mainly have a *comparative* value, i.e., what a K⁺-blocker does to the electrotonic transient, R_N , R_s , etc. Thus, direct measurements and model derived parameters were compared in the same cell samples with Wilcoxon's T tests. Mann-Whitney's U test was used when comparing the sample in control saline with smaller samples during K⁺-blockers. Probability obtained from non-parametric statistics as well as mean, range and standard error of the mean are reported (see Tables 1-2).

Results

Determination of R_s and A_s

Whole-cell recordings from medium-sized cell bodies dissociated from neostriatal slices are shown in Figure 1. A linear current-voltage relationship (I-V plot) is obtained at a voltage-range normally seen as "subthreshold" (Fig. 1A; see Materials and methods). Thus, inward rectification is lost with commonly used intracellular solutions (Fakler et al. 1995). Since the present work on somata did not try to recover all subthreshold conductances present in these

neurons (Galarraga et al. 1994; Nisenbaum and Wilson 1995), mean input resistance (R_S) of acutely dissociated somata was (mean \pm s.e.m.): 2.62 ± 0.32 G Ω (range = 0.76 - 10 G Ω ; median = 1.77 G Ω ; n=52); which can be taken as an upper limit after cell dialysis. Records in Figure 1 were taken without K^+ -conductance blockers in either the intra- or extra-cellular solutions. TTX does not change subthreshold R_N (Galarraga et al. 1994). Figure 1B illustrates a whole-cell current transient used to calculate C_S . Definite integral included the trace limited by the arrows. Mean C_S was: 6.7 ± 0.3 pF (n = 144), which yields a mean A_S of approximately 6.7×10^{-6} cm 2 (Fig. 1D). It has been shown that this mean somatic size corresponds to the size of medium spiny projection neurons (Yan and Summeier 1996). This was further corroborated by somatic measurements of biocytin filled neostriatal neurons recorded in slices (see Fig. 1C). Since somata diameters of both control and K^+ -blockers treated neurons did not show any significant difference, the A_S measurements from both samples were pooled together. Note that these model-independent Results yield a striking agreement between whole-cell and sharp-electrode recording methods (cf., Figs. 1C and 1D). Therefore, each method validates the other.

Electrotonic transients and R_N corrected for the somatic shunt

An averaged passive response is illustrated in Figure 3. The inset shows an actual record. Straight lines in semilogarithmic scale at the right upper corner are the result of exponential peeling (Rall 1977). Peeling demonstrates that transients are not monoexponential. The longest straight line was obtained after linearly fitting a late part of the transient (between 15 and 20 ms). The exponential parameters obtained from each neuron involved non-linear fitting between 550 μ s and 20 ms (see Materials and methods; and: Durand, 1984; Kawato, 1984; Rose and Dagum, 1988; Holmes and Rall, 1992; White et al., 1992; Campbell and Rose,

1997). Data points are the filled circles (after averaging and filtering). The fitting of the somatic shunt E-C model is the continuous line displayed in linear scale (see Materials and methods and equation C1 of Appendix C). Dashed lines show the 95% confidence interval of the exponential fitting (equation A1 in Appendix A). Thus, the model function is inside the confidence interval for the exponential fit.

Table 1 shows average results of these fittings in a set of neurons in control saline, i.e., exponential coefficients (C_0 , C_1) and time constants (τ_0 , τ_{1peel}), and in addition, the dendritic membrane time constant τ_{mD} obtained from the matching of the somatic shunt E-C model (Durand, 1984). R_N was obtained from I-V plots (Fig. 4; Galarraga et al., 1994). R_N and L_{peel} (Rall et al., 1992) are measures that distribute normally (Fig. 3B and C). The present values are similar to those reported previously for these neurons (Bargas et al., 1988).

τ_{mD} can be used to approximate R_{mD} ($C_m = 1 \mu\text{F} / \text{cm}^2$). Other outputs from the somatic shunt E-C model (Durand, 1984) are L , ρ and ϵ . Anatomical measurements (A_D and A_S) were used to adjust these initial input values by simultaneously solving the equations of Appendix D (see Fig. 2 and Materials and methods). The solution of these equations yields values for R_D , R_S , the shunt magnitude β , the somatic-shunt independent constant, $\rho\beta$ (Holmes and Rall, 1992; Rall et al., 1992), the generalized correction factor F_{dgs} , the effective electrotonic length of the dendrites (L_D), and the mean input resistance after correcting for the somatic shunt (R_N -no shunt) (Table 1). Since equations in Appendix D are solved simultaneously and include anatomical values, F_{dgs} and L_D values are independent from the geometrical restrictions of the original E-C model (Rall et al., 1992). In these conditions, L_D turned to be rather short, about 0.5. Note that this value underestimates L_{avg} a little (Rall et al., 1992) and does not take the soma into account.

In most neurons, A_S was known but A_D was not; thus, mean A_D determined anatomically was used to begin the iterations. In three neurons a complete dendrogram was possible (see Methods), and in other eight neurons a less precise anatomical approximation of A_D was available with the aid of mean dendritic lengths and diameters. In any case, A_D value was used as an initial value, which, together with A_S measurements and complete electrophysiological data adjusted with the somatic shunt E-C model was used to calculate F_{opa} and $\rho\beta$. Range of these values illustrated in Table 1 were calculated with the sub-sample of neurons ($n=10$) with best A_D approximations. The range for F_{opa} obtained from this sub-sample encompass the average value obtained with a larger neuronal sample from which only the A_S value was known (i.e., 0.93 ± 0.004 ; $n=32$).

The values obtained with equations in Appendix D are enough to approximate average A_N by using equation B3 in Appendix B. A_D might be an output of the equations in Appendix D (if it is not fixed and its value is initiated with mean A_D obtained anatomically). Also, equation B3 can be used to obtain A_D if τ_{mD} and R_D are used. In any case, A_D was set to accomplish: $A_N - A_S$. The value of A_N calculated with data in Table 1 (τ_{mD} , R_N no-shunt, L_D) and equation B3 was similar to that obtained with previous anatomical measurements, e.g., high voltage electron microscopy (Wilson, 1992). Furthermore, this value remained in the same range after experimental procedures that reduced the somatic shunt (K^+ -blockers; see below and Table 2). Taken together, these Results greatly validated the present procedure. Moreover, R_N corrected for the somatic shunt (R_N no-shunt; Table 1) approached R_N measured by whole-cell recordings (Kawaguchi 1993; $R_N \approx 198 \text{ M}\Omega$) and was significantly different ($p < 0.001$) than R_N obtained directly from the I-V plot (Table 1). This fact provides another independent validation.

The R_S estimate, with the shunt, is much lower than the R_S obtained by whole-cell recordings in isolated somata (Table 1). Hence, $\beta \approx 77$, $\rho < 1$ and $k > 2$ are justified (e.g.,

Brown et al., 1981a,b; Johnston, 1981; Durand, 1984; Kawato, 1984; Bargas et al., 1988; Rose and Dagum, 1988).

The action of K⁺-blockers on R_N

As shown in Figure 4, all K⁺-blockers significantly increased R_N with respect to R_N found in control saline (see Table 2; p < 0.003, p < 0.001 and p < 0.001 for TEA, Ba²⁺ and Cs⁺, respectively). The order of potency was: Ba²⁺ > Cs⁺ > TEA (Fig. 4, Table 2; R_N). In fact, R_N in Ba²⁺ was similar to R_N reported with whole-cell recordings (Kawaguchi, 1993) and R_N corrected for the shunt (R_N, no-shunt; Table 1) in control saline. Column 3 of Figure 4 illustrates I-V plots taken from medium spiny neurons before and during K⁺-blockers. While TEA and Ba²⁺ affected the whole subthreshold voltage range, Cs⁺ only affected responses in the most hyperpolarized range. I-V plots during TEA or Ba²⁺ cross their respective I-V plots in control saline (i.e., near the K⁺ equilibrium potential; see: Pacheco-Cano et al., 1996). I-V plots before and during Cs⁺ do not cross, but proceed together during part of the trajectory (Fig. 4C3): R_N obtained from Cs⁺-I-V plots between -80 and -65 mV was: 51 ± 5 MΩ (n = 5); which is not significantly different than R_N measured in control saline (Table 1) (Galarraga et al. 1994). Subtraction of I-V plots (Fig. 4 col. 4) suggests that the Cs⁺-sensitive conductance exhibits inward rectification (Galarraga et al., 1994; Nisenbaum and Wilson, 1995), while TEA and Ba²⁺ mainly affect linear conductances. This suggests that, at the present concentrations, Ba²⁺ effects on linear conductances overwhelm Ba²⁺ actions on inward rectification and non-linear conductances; normally attained at lower concentrations. Thus, these experiments show that different K⁺-blockers had different actions upon the subthreshold passive membrane; suggesting that different K⁺-conductances may contribute to R_m at the resting membrane potential. Other K⁺-blockers (4-AP, dendrotoxin, charybdotoxin, and apamin) did not affect

subthreshold voltage-responses and subthreshold R_N (not shown but see Pineda et al., 1992; Galarraga et al., 1994; Nisenbaum and Wilson, 1995). Note that these actions of K^+ -blockers on subthreshold R_N are experimental Results independent from the assumptions of the model.

The action of K^+ -blockers on time constants

First column of Figure 5 illustrates neurons reconstructed after several minutes of superfusion with K^+ -blockers. Roughly, their morphology does not obviously differ from that reported previously in both *in vivo* and *in vitro* studies (e.g., Wilson, 1990; 1992). In all reconstructed neurons, at least one dendrite differed more than 20% in length from the others. Column 2 in Figure 5 illustrates averaged and normalized charge transients of the same neurons before and during K^+ -blockers. The charge transients during K^+ -blockers (in isolated, not coupled neurons; see below) could be well fitted by single exponential functions (Fig. 5 col. 3); even when the fitting was done on differentiated records (Fig. 5 col. 4). Thus, equalizing time constants could not reliably be discerned in the presence of K^+ -blockers; suggesting that they are small as compared with τ_0 . Changes in τ_0 for Ba^{2+} and Cs^+ were significant as compared to τ_0 in control saline ($p < 0.001$ and $p < 0.01$, respectively). Thus, τ_0 values in Ba^{2+} and Cs^+ become similar to τ_{mD} (corrected for somatic shunt; Table 1). In fact, τ_0 in Ba^{2+} is significantly larger than τ_{mD} ($p < 0.001$). Since the morphological features of the neurons were not obviously altered, these experimental Results suggest that the electrotonic length (L), as seen from the soma recording site, has become more compact during K^+ -blockers. In fact, L_D was significantly different than that obtained in control saline: 0.26 ± 0.05 (in Ba^{2+}); 0.27 ± 0.01 (in Cs^+) and 0.36 ± 0.04 (in TEA) (cf. $L_D = 0.46$ in control saline; which means: $p < 0.001$, $p < 0.001$, and $p < 0.04$ for Ba^{2+} , Cs^+ and TEA, respectively). This shows that K^+ -blockade reduces the effective electrotonic length of the dendrites.

The blocking action was concentration-dependent (e.g., Fig. 5A2). Lower concentrations of blockers (e.g., in 5 mM TEA; Fig. 5A, C) result in charging curves that could not be fitted by single exponential functions but have reduced somatic shunt parameters: $k = 1.7 \pm 0.2$, and $\beta = 62 \pm 2.2$; for 6 cells in 2.5 or 5 mM TEA. Similar Results were obtained with < 1 mM Ba^{2+} and < 2 mM Cs^+ (not shown). That is, the presence of second order exponentials depends on the concentration of blockers. Larger TEA concentrations (> 20 mM) were needed to attain τ_0 and R_N values obtained with 5 mM Ba^{2+} or Cs^+ . This reinforces the view of channel heterogeneity at the subthreshold, resting level.

The action of K^+ -blockers on the somatic shunt.

Since τ_0 (in Ba^{2+}) $> \tau_{mD}$ in control saline, it can be assumed that in K^+ -blockers the shunt was greatly reduced so that $\tau_0 \approx \tau_{mD}$. Similarly, R_N values attained values found in gigaseal conditions. If these τ_0 and R_N values are adjusted with anatomical measurements, F_{dca} values in the presence of blockers can be approximated (equation D4 in Appendix D). Although this factor is very robust and remained in the same range, differences with the value found in control saline were significant, indicating that the cells became more isopotential (Rall et al., 1992). Thus, F_{dca} was: 0.97 ± 0.007 (in Ba^{2+}); 0.97 ± 0.002 (in Cs^+) and 0.96 ± 0.008 (in TEA) (largest $p = 0.041$; cf. Table 1).

Once F_{dca} was determined, A_N could be approximated using equation B3 for the cases in which K^+ -blockers were used. For all cases, A_N values are similar to those determined anatomically (Table 2).

As expected, Table 2 shows that R_S was increased by all K^+ -blockers, the order of potency being: $\text{Ba}^{2+} \gg \text{TEA} \geq \text{Cs}^+$. Strikingly, only in Ba^{2+} , R_S became similar to that obtained with whole-cell recordings in a sample of dissociated somata (whole-cell ≈ 2.6 G Ω vs. sharp

electrodes in 5 mM $Ba^{2+} \approx 3.2 \text{ G}\Omega$; Table 2). Cs^+ did not reduce the somatic shunt as much as Ba^{2+} . In contrast, R_o was increased by Ba^{2+} and Cs^+ in a similar way. The order of potency being: $Cs^+ \geq Ba^{2+} \gg TEA$. Thus, the order of potency was reversed for Cs^+ . This makes β in Cs^+ larger than in Ba^{2+} . Since the Cs^+ -sensitive conductance was the only one exhibiting inward rectification, it is clear that the action of these blockers was not the same.

On the contrary, TEA did not significantly enhance R_D ; as manifested by a lack of change in τ_o . Almost all the action of 10mM TEA upon R_N was due to its action on R_S . This dissociation of R_N and τ_o has been observed before (Redman et al., 1987; Spruston and Johnston, 1992). However, the decrease in somatic shunt caused by TEA was enough to eliminate the second order exponentials from the charging curve.

Table 2 shows that correcting for the somatic shunt and dendritic geometry, in any condition, yields a similar A_N ; in the range of that previously reported with anatomical methods (if the C_m used for these calculations were lower than $1 \mu\text{F} / \text{cm}^2$, the approximations may improve a little).

Dye coupling

From a data base of 200 neostriatal cells recorded in control saline, only five cases exhibited dye coupling with the biocytin technique (2.5%); confirming previous reports in adult neostriatal neurons (Cepeda et al. 1989). In contrast, after K^+ -blockers the incidence of multiple staining increased to 44% (13 out of 29; $p < 0.001$). These coupled cells were discarded from the analysis described above. The difference in coupling ratio with respect to cells recorded in control saline was too large to be imputed to chance or to artifactual multiple staining. 2 to 5 neurons were recovered from slices in which only one neuron was recorded (Figure 6). Only in these dye-coupled cases, and in each of these cases, multiexponential charge functions were

recovered after high concentrations K^+ -blockers (Fig. 6B). In contrast, single exponential charge functions were always obtained in non-coupled neurons after high concentrations of K^+ -blockers. Therefore, to record a multiexponential charge function after K^+ -blockade was predictive of dye coupling; which could occur after TEA, Ba^{2+} or Cs^+ . This suggests that multiexponential charge functions in high concentrations of K^+ -blockers are a manifestation of electrical coupling. In support of this hypothesis, the recordings from dye-coupled cells usually exhibited evidences of electrical coupling. For example, they fired pairs of action potentials, so that the second spike was inside the relative refractory period or the afterhyperpolarization of the first spike (Fig. 6B4). Also, failures of the second spike could generate all-or-nothing spikelets (Fig. 6B4, arrow). This is unusual in control conditions (e.g., Pineda et al., 1992; Galarraga et al. 1994; Nisenbaum et al. 1994), but usual during electrical coupling of neurons (e.g., MacVicar and Dudek 1982). This suggests that electrical coupling between neurons may be determined by R_m .

Discussion

Ba^{2+} , Cs^+ and TEA changed the passive properties of neostriatal neurons. All blockers increased subthreshold R_N . However, only 5 mM Ba^{2+} increased R_N to values similar to those obtained in whole-cell conditions (from about 49 to about 216 M Ω ; cf., Tables 1 and 2; Kawaguchi 1993). In making these comparisons, it should be recognized that animal age is another variable (Tepper and Trent, 1993), since cells used for whole-cell recordings in slices are usually younger than those used for sharp electrode recordings.

All K^+ -blockers induced electrotonic transients that could be well fitted to single exponential functions; indicating a reduction of both L and the somatic shunt. Second order exponentials become very small to be detected. This suggests that the amplitude of second

order exponentials seen in control conditions is largely generated by the somatic shunt (Wilson, 1990).

K⁺-blockers significantly increased the probability of detecting dye- and probably electrical-coupling between neighboring neurons. These changes were not accompanied with obvious anatomical changes of the neuronal anatomy. These main findings are experimental and model-independent. They represent the most dramatic effects of K⁺-blockers on passive properties, so far reported, in any central neuron (cf. Redman et al. 1987; Spruston and Johnston 1992; Rapp et al. 1994).

Average anatomical values

Average A_S was determined in two ways. First, somata of biocytin filled neurons was measured, and second, C_S was determined electrophysiologically in acutely dissociated somata. Both methods agreed to give a mean $A_S \approx 6.5 \times 10^{-6} \text{cm}^2$ ($650 \mu\text{m}^2$). This average is similar to that determined previously (e.g., Wilson, 1990; 1992). Mean A_S was not significantly different when determined in somata superfused with either control saline or K⁺-blockers. Therefore, K⁺-blockers did not significantly distort neuronal morphology. Note however that cells with obvious morphological distortions were discarded from the present study.

Average A_D had been obtained using high voltage electron microscopy ($1.9 \times 10^{-4} \text{cm}^2$ or $19000 \mu\text{m}^2$) (Wilson, 1992). Our dendritic measurements in reconstructed neurons yield a similar measurement. This is also valid for neurons that were superfused with K⁺-blockers; supporting again that K⁺-blockers do not necessarily distort neuronal morphology. Moreover, electrophysiological approximations of A_N using τ_{mD} , R_N (no-shunt) and L_D corrected for shunt and geometry, coincide well with reported anatomical measurements (Tables 1 and 2). This shows that A_N approximation is kept constant in spite of dramatic changes in passive

parameters values and electrotonic structure. Previous anatomical measurements validate the electrophysiological results.

L_D

The somatic shunt E-C model (Durand, 1984; Kawato, 1984), adjusted with the generalized correction factor, F_{oga} (Holmes and Rall, 1992; Rall et al., 1992) was the most simple model that could match the electrophysiological data. It was surprising that mean τ_{mD} and β obtained with this model, from cells recorded in control saline, could be used to calculate an R_N without shunt very similar to that obtained with whole-cell recordings. Furthermore, average A_N obtained with this data was very similar to the one obtained with anatomical methods. The average L_D value (about 0.46; range: 0.35 - 0.61; see Table 1) obtained by this method is independent from the geometrical constraints of the original E-C model (Rall et al., 1992) and it is supported by the experimental fact that K^+ -blockers induced charging curves that could only be fitted by single exponential functions. That is, with equalizing time constants too small to be detected. In fact, if an equalizing time constant of 550 μs (of similar magnitude as the initial part of the charge transient excluded from the non-linear fitting procedure; see Materials and methods) is used to calculate L , together with the average τ_{mD} obtained (about 33 ms; Table 1), an L about 0.4 is obtained. This value is reduced if a larger τ_{mD} , as that obtained with Ba^{2+} and Cs^+ is used. In support of this, L_D decreases to a value between 0.26 and 0.36 when calculated after K^+ -blockade. Furthermore, it has been pointed out (Holmes and Rall, 1992) that a four-fold increase in R_N and τ_0 after blocking the somatic shunt means an L around 0.5; which coincides well with the present calculations.

To conclude, the values for R_{ms} (without shunt) $\approx 15,000 \Omega\text{cm}^2$ (equation D1 in Appendix D) and $R_{\text{mD}} \approx 30,000 - 50,000 \Omega\text{cm}^2$ (see equations D3 and D5 in Appendix D) can

be obtained by simultaneously solving the set of equation of Appendix D. Upper R_{mD} value was only found in potassium blockers. Thus, R_{mD} would greatly depend on the amount of inward rectification on the dendrites (see below). These values are in the range reported for brain neurons if C_m values remain between 0.75 and 1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$.

K⁺-blockers act differentially on the somatodendritic membrane

Ba^{2+} reduced the somatic shunt so that mean R_s was similar to that found in isolated somata in whole-cell recording conditions. Therefore, this great reduction in somatic shunt induced R_N values similar to those obtained in whole cell conditions in slices (Kawaguchi, 1993). This suggests that the somatic shunt is the main cause for the differences in R_N found between sharp electrode and whole-cell recordings.

When the shunt is reduced R_N becomes a dendritic property. It remains to be seen if an unespecific effect of Ba^{2+} as that proposed for TEA (Stanfield, 1983), plays a role in this great reduction in somatic shunt (e.g., on injury conductance). Note however that mean β does not become one after Ba^{2+} ; suggesting that even in these conditions a uniform R_m should not be expected (Spruston and Johnston 1992).

In contrast, Cs^+ did not enhance R_s as much as Ba^{2+} . Moreover, the Cs^+ -sensitive conductance was inwardly rectifying whereas the Ba^{2+} -sensitive conductance was mainly linear. Nevertheless, both Cs^+ and Ba^{2+} increased R_D equally well, as indicated by a similar increase in τ_0 . This suggests that the blockage of inward rectification in the dendrites is enough to explain all the increase in R_D . Therefore, inward rectification may be the main regulator of R_{mD} (Wilson, 1992). However, Ba^{2+} had to block somatic conductances in addition to the inward rectifier in order to produce R_s values similar to those found in isolated somata in

whole-cell conditions. These conductances should overwhelm the rectifying ones to induce a linear I-V relationship.

On the other hand, K⁺-blockers such as charybdotoxin, dendrotoxin or apamin (selective blockers of Ca²⁺- or voltage-activated K⁺-conductances) had no effects on electrotonic transients (not shown but see: Pineda et al., 1992; Galarraga et al., 1994; Nisenbaum and Wilson, 1994; 1995).

It has been demonstrated previously that R_N and τ_0 do not necessarily change simultaneously. This has been used as additional evidence of R_m heterogeneity (Redman et al., 1987; Rose and Dagum, 1988; Spruston and Johnston, 1992). In particular, the present Results show that TEA did not affect dendritic conductances significantly at the concentrations used: It increased R_N , without significant effects on τ_0 (charging time, i.e., τ_0 , greatly depends on the amount of membrane to charge and most membrane belongs to the dendrites). As a consequence, TEA did not change R_D significantly. TEA is not a good blocker of inward rectification (Uchimura et al. 1989; Galarraga et al., 1994; Nisenbaum and Wilson 1995). In contrast, TEA did increase R_S , and the TEA-sensitive conductance was linear. Therefore, TEA acted as though it mainly blocked the somatic shunt without blocking so much of the dendritic conductance. This suggests that an incomplete reduction of somatic shunt is enough to decrease the amplitude of the second order exponentials in the charge transients; suggesting again that the amplitude of second order exponentials seen in control conditions is largely generated by the somatic shunt (Wilson, 1990).

Coupling

Another finding of this work was that about 40% of the cells exhibited dye-coupling after administration of K⁺-blockers. In these cases, and only in these cases, the charging curve could not be fitted to single exponential functions. Also, dye coupled cells had some

indications of electrical coupling, i.e., the firing of pairs of action potentials (or spikelets) in close proximity (MacVicar and Dudek 1982). This suggests that a multiexponential charging curve in these conditions may be indicative of electrical coupling. Therefore, the method of analysis used, designed for single neurons, cannot be applied in these cases.

To our knowledge, this effect of K^+ -blockers had not been reported in neurons. However, an increase in the number of gap junctions in endocrine and muscle cells has been reported after K^+ -blockade (Kannan and Daniel 1978; Sheppard and Meda 1981).

Functional consequences

Subthreshold conductances contributing to the resting membrane potential, as inward rectification, may be the target for G-protein linked receptors (Brown and Birnbaumer 1990). This fact raises the possibility of passive properties being neuromodulated in some neurons. In particular, channels of the IRK family have been reported to be present in neostriatal neurons (Karschin et al. 1996). These channels are blocked by Cs^+ (Uchimura et al. 1989; Galarraga et al., 1994; Doupnik et al. 1995; Nisenbaum and Wilson 1995), activated by the protein kinase A (PKA) signaling pathway and down-regulated by the protein kinase C (PKC) signaling pathway (Fakler et al. 1994).

In neostriatal neurons, muscarinic activation of the PKC pathway increase R_N and decrease inward rectification in neostriatal neurons (Dodt and Misgeld 1986; Pineda et al. 1995), whereas dopaminergic activation of the PKA signaling system leads to opposite effects (Pacheco-Cano et al. 1996). Hence, the neostriatal dopaminergic-cholinergic balance may control L_D and thus regulate synaptic integration (Wilson 1992; 1993; 1995).

In addition, 40% of dye coupled cells after K^+ -blockers is not only significantly different than that found in *in vitro* control conditions (about 2.5%), but it is also larger than the

percentage of dye coupling found *in vivo* (Onn and Grace 1995). But neuromodulation of electrical synapses between neostriatal neurons has also been demonstrated. A reduction of dopaminergic tone increases the probability of dye coupling and increases R_N (Cepeda et al. 1989; Onn and Grace 1995). Is this coincidence of Results only casual? If not, dendritic function may be more complex than previously thought. Electrical coupling between neurons may be modulated together with electrotonic length and both variables may be a function of R_m (e.g., Wilson 1992; 1993; Bargas and Galarraga 1995). The possible causal relationship between R_m and functional gap junctions needs further investigation.

Appendices

Appendix A. Obtainment of exponential parameters

Experimental charge transients were fitted to a sum of exponential functions (Rall 1977; Rall et al. 1992):

$$V_F - V(t) = \sum_{i=0}^{\infty} C_i e^{-t/\tau_i} \quad (\text{A1})$$

where V_F is the asymptotic final voltage (i.e., $V_F = I R_N$, where I is the magnitude of the applied current step and R_N is the input resistance of the whole neuron), $V(t)$ is the voltage at time t , C_i represents the exponential coefficients, and τ_i represents the time constants. The derivative of the transient was fitted to:

$$dV/dt = \sum_{i=0}^{\infty} (C_i/\tau_i) e^{-t/\tau_i} \quad (\text{A2})$$

By fitting equations A1 and A2 (see Materials and methods) to the averaged and filtered experimental records, initial values for exponential coefficients and time constants (C_0 , C_1 , τ_0 , $\tau_{1\text{peel}}$) were extracted.

Time constants could be used to obtain L_{peel} (Rall et al. 1992):

$$L_{\text{peel}} = \pi(\tau_0/\tau_{1\text{peel}} - 1)^{-1/2} \quad (\text{A3})$$

where $L_{\text{peel}} \approx$ apparent average electrotonic length (see Fig. 3 in Results).

Appendix B. Anatomical measurements

The somatic surface area (A_S) was approximated by:

$$A_S = 4\pi ab \quad (\text{B1})$$

where a and b are the minor and major somatic radii. Then, the somatic capacitance, C_S , would be:

$$C_S = C_m A_S \quad (\text{B2})$$

where $C_m = 1\mu\text{F}/\text{cm}^2$ (Fig. 2). Neuronal surface area (A_N) can be calculated by mixing

electrophysiological and anatomical measurements (Rall 1977 eq. 5.16; Rall et al., 1992):

$$A_N = \tau_m L / (C_m R_N \tanh L) = \tau_m / (C_m R_N F_{dga}) \quad (\text{B3})$$

where τ_m is the membrane time constant and F_{dga} , the generalized correction factor that will be defined in Appendix D. This equation yields accurate approximations of A_N as long as τ_m and R_N used are those corrected for the somatic shunt. Note that the first part of equation B3 can also be used to calculate A_D if τ_{mD} , L_D and R_D are used instead of τ_m , L and R_N (Rall, 1977; eq. 5.9).

Appendix C. The somatic-shunt E-C model

Coefficients, time constants and L_{pss} obtained by fitting the electrotonic transients to equations in Appendix A were used as initial values to match the somatic shunt E-C model to the records (Durand, 1984, and also: Kawato, 1984):

$$V(0, T) = V_F - \sum_{i=0}^{\infty} B_i \cos(\alpha_i L) e^{-(1+\alpha_i^2)t/\tau_m} = V_F - \sum_{i=0}^{\infty} C_i e^{-t/\tau_i} \quad (\text{C1})$$

Thus, the exponential coefficients (C_i) of equation A1 are equated to $B_i \cos(\alpha_i L)$, and $1+\alpha_i^2 = \tau_{mD} / \tau_i$. To do this, note that (Durand, 1984):

$$B_i = [1/\cos(\alpha_i L)] [V_F / (1 + \alpha_i^2)] \{2(\rho + 1) / [\gamma_i + 2\epsilon + k + (\alpha_i L \gamma_i)^2 / k]\} \quad (\text{C2})$$

which allows to obtain a theoretical exponential coefficient ($C_i T$): (as done by: Rose and Dagum 1988 and White et al. 1992):

$$C_i T = [2V_F(\rho + 1)\tau_i / \tau_{mD}] / [\gamma_i + 2\epsilon + k + (\alpha_i \gamma_i L)^2 / k] \quad (\text{C3})$$

where ρ is the dendrites to soma conductance ratio (G_D/G_S), τ_{mD} is the time constant of the dendritic membrane, τ_i are the equalizing time constants, α_i are the roots of the transcendental equation:

$$\alpha_j L \gamma_j \cot(\alpha_j L) = \rho L \coth(L) = K \quad (\text{C4})$$

defined as:

$$\alpha_j = (\tau_{mD}/\tau_i - 1)^{1/2} \quad (\text{C5})$$

and:

$$\gamma_i = [1 - \varepsilon(1 + \alpha_i^2)]/\alpha_i^2 \quad (\text{C6})$$

"k" can be approximated with the exponential parameters obtained from the fitting of the experimental transient as shown by Kawato et al (1984) (see also: Bargas et al., 1988):

$$k \approx (C_1/C_0)/(\tau_1/\tau_0) \quad (\text{C7})$$

the other terms are defined as follows (Durand, 1984):

$$\varepsilon = [\alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)] / [(1 + \alpha_0^2) \alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - (1 + \alpha_1^2) \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)] \quad (\text{C8})$$

where ε is a measure of the magnitude of the shunt that defines R_m heterogeneity as the ratio $R_{ms} / R_{mD} = \tau_{ms} / \tau_{mD}$. ρ is also defined by (Durand, 1984):

$$\rho = \cot(\alpha_0 L) [1 - (1 + \alpha_0^2) \varepsilon] / [\alpha_0 \coth(L)] \quad (\text{C9})$$

where an approximation of ρ as defined by Brown et al (1981a,b) can be introduced to begin the iteration.

When the difference (SE) between the exponential coefficients (C_i ; equation A1) and the theoretical exponential coefficients ($C_i T$; equation C3):

$$SE = (C_0 T - C_0)^2 + (C_1 T - C_1)^2 \quad (\text{C10})$$

is minimized to $SE < 1 \times 10^{-5}$ it is considered, for the purposes of this work, that the model has been matched.

Appendix D. Obtainment of the generalized correction factor, F_{opt}

Initial values of A_s , $R_{mD} = 1/G_{mD}$, ρ , and $\varepsilon = 1/\beta$ (output values from the somatic shunt E-C model and A_s from anatomical measurements; see Materials and methods) can be used to better estimate the somatic-shunt, i.e., with the "shunt factor" β dependent on anatomical and electrophysiological determinations (Holmes and Rall 1992a):

$$\beta = G_S / (G_{mD} A_S) = G_{mS} / G_{mD} \quad (\text{D1})$$

G_{mS} and G_{mD} are specific somatic and dendritic membrane conductances, and G_s is the somatic input conductance ($1/R_s$). G_s should accomplish:

$$G_N \approx G_S + G_D \quad (D2)$$

the product $\rho\beta$, or $\rho_{\beta=1}$, which defines a somatic-shunt independent constant for a given neuronal class ("dendritic conductance vs. dendritic area"), is obtained by (Holmes and Rall 1992a; Rall et al., 1992):

$$\rho\beta = \rho_{\beta=1} = G_D/(G_{mD}A_S) \quad (D3)$$

This equation may use the initial ρ value obtained from the fitting of the somatic shunt E-C model (Appendix C). Thus, given independent A_D and A_S measurements, the generalized correction factor is given by (Rall et al., 1992):

$$\rho_{\beta=1}/(A_D/A_S) = F_{dga} = \tanh L_D/L_D \quad (D4)$$

which allows an approximation of the effective electrotonic length of the dendrites (L_D) and an adjustment of the dendritic input conductance:

$$G_D = G_{mD}A_DF_{dga} \quad (D5)$$

A putative R_N , without somatic-shunt, can then be estimated (Holmes and Rall 1992):

$$R_N(\text{no - shunt}) = R_N/[(\rho_{\beta=1} + 1)/(\rho_{\beta=1} + \beta)] \quad (D6)$$

Acknowledgments: This research work was partially funded by grants from CONACyT (México)# 0115P-N and DGAPA-UNAM# IN201194 to J.B. We thank the technical assistance of C. Vilchis.

References

- Bargas J, Galarraga E, Aceves J (1988) Electrotonic properties of neostriatal neurons are modulated by extracellular potassium. *Exp Brain Res* 72: 390-398
- Bargas J, Galarraga E (1995) Ion channels: keys to neuronal specialization. In: Arbib M.A. (eds) *The Hand Book Of Brain Theory*. The MIT Press, Cambridge MA, pp: 496-501
- Bargas J, Howe A, Eberwine J, Cao Y, Sumeier J (1994) Cellular and molecular characterization of Ca²⁺ currents in acutely isolated, adult rat neostriatal neurons. *J Neurosci* 14: 6667-6686
- Brown AM, Birbaumer L (1990) Ionic channels and their regulation by G protein subunits. *Annu Rev Physiol* 52: 197-213
- Brown TH, Fricke RA, Perkel DH (1981a) Passive electrical constants in three classes of hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 46: 812-827
- Brown TH, Perkel DH, Norris JK, Peacock JH (1981b) Electrotonic structure and specific membrane properties of mouse dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 45: 1-15
- Burke RE, Fyffe REW, Moschovakis AK (1994) Electrotonic architecture of cat gamma motoneurons. *J Neurophysiol* 72: 2302-2316
- Campbell DM, Rose PK (1997) Contribution of voltage-dependent potassium channels to the somatic shunt in neck motoneurons of the cat. *J Neurophysiol* 77: 1470-1486
- Cepeda C, Walsh JP, Hull CD, Howard SG, Buchward NA, Levine MS (1989) Dye-coupling in the neostriatum of the rat: I. Modulation by dopamine-depleting lesions. *Synapse* 4: 229-237
- Chang HT, Wilson CJ, Kitai ST (1982) A Golgi study of rat neostriatal neurons: light microscopic analysis. *J Comp Neurol* 208: 107-126.
- Clements JD, Redman SJ (1989) Cable properties of cat spinal motoneurons measured by combining voltage clamp, current clamp and intracellular staining. *J Physiol Lond.* 409: 63-87

- Dempster J (1993) *Computer Analysis of Electrophysiological Signals*, San Diego, CA: Academic Press
- Dodt HU, Misgeld U (1986) Muscarinic excitation and muscarinic inhibition of synaptic transmission in the rat neostriatum. *J Physiol Lond* 380: 593-601
- Doupnik CA, Davidson N, Lester HA (1995) The inward rectifier potassium channel family. *Curr Op Neurobiol* 5: 268-277
- Durand D (1984) The somatic shunt cable model for neurons. *Biophys J* 46: 645-653
- Durand D, Carlen PL, Gurevich N, HO A, Kunov H (1983) Electrotonic parameters of rat dentate granule cells measured using short current pulses and HRP staining. *J Neurophysiol* 50: 1080-1097
- Fakler B, Brandle U, Glowatzki E, Zenner HP, Ruppersberg JP (1994) $K_{IR2.1}$ inwardly rectifier K^+ channels are regulated independently by protein kinases and ATP hydrolysis. *Neuron* 13: 1413-1420
- Fakler B, Brandle U, Glowatzki E, Weldemann S, Zenner HP, Ruppersberg JP (1995) Strong voltage-dependent inward rectification of inward rectifier K^+ channels is caused by intracellular spermine. *Cell* 80: 149-154
- Galarraga E, Pacheco-Cano MT, Flores-Hernández JV, Bargas J (1994) Subthreshold rectification in neostriatal spiny projection neurons. *Exp Brain Res* 100: 239-249
- Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ (1981) Improved patch-clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 391: 85-100
- Holmes WR, Rall W (1992) Electrotonic length estimates in neurons with dendritic tapering or somatic shunt. *J Neurophysiol* 68: 1421-1437
- Holmes WR, Segev I, Rall W (1992) Interpretation of time constant and electrotonic length estimates in multicylinder or branched neuronal structures. *J Neurophysiol* 68: 1401-1420

- Horikawa K, Armstrong WE (1988) A versatile means of intracellular labeling: injection of biocytin and detection with avidin conjugates. *J Neurosci Meth* 25: 1-11
- lanske R, Redman SJ (1973) An analysis of the cable properties of spinal motoneurons using a brief intracellular current pulse. *J Physiol Lond* 234: 613-636
- Jack JJB, Noble D, Tsien RW (1975) *Electric Current Flow in Excitable Cells*, Oxford, UK: Clarendon Press
- Johnston D (1981) Passive cable properties of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Cell Mol Neurobiol* 1: 41-55
- Kannan MS, Daniel EE (1978) Formation of gap junctions by treatment in vitro with potassium conductance blockers. *J Cell Biol* 8: 338-348
- Karschin C, Dibmann E, Stühmer W, Karschin A (1996) IRK(1-3) and GIRK(1-4) inwardly rectifying K⁺ channels mRNAs are differentially expressed in the adult rat brain. *J Neurosci* 16: 3559-3570
- Kawaguchi Y (1993) Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J Neurosci* 13: 4908-4923
- Kawato M (1984) Cable properties of a neuron model with non-uniform membrane resistivity. *J Theor Biol* 111: 149-169
- Macvicar BA, Dudek FE (1982) Electrotonic coupling between granule cells of rat dentate gyrus: physiological and anatomical evidence. *J Neurophysiol* 47: 579-592
- Major G, Evans JD, Jack JB (1993) Solutions for transients in arbitrarily branching cables: I. Voltage recording with somatic shunt. *Biophys J* 65: 423-449
- Major G, Larkman U, Jonas P, Sakmann B, Jack JB (1994) Detailed passive cable models of whole-cell recorded CA3 pyramidal neurons in rat hippocampal slices. *J Neurosci* 14: 4613-4638.
- Marquardt D (1963) An algorithm for least-squares estimation of non-linear parameters. *SIAM J Appl Math* 11: 431-441

- Nisenbaum ES, Xu ZC, Wilson CJ (1994) Contribution of a slowly inactivating potassium current to the transition to firing of neostriatal spiny projection neurons. *J Neurophysiol* 71: 1174-1189
- Nisenbaum ES, Wilson CJ (1995) Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J Neurosci* 15: 4449-4463
- Onn S-P, Grace AA (1995) Repeated treatment with haloperidol and clozapine exerts differential effects on dye coupling between neurons in subregions of striatum and nucleus accumbens. *J Neurosci* 15: 7024-7036
- Pacheco-Cano MT, Bargas J, Hernández-López S, Tapia D, Galarraga E (1996) Inhibitory action of dopamine involves a subthreshold Cs⁺-sensitive conductance in neostriatal neurons. *Exp Brain Res* 110: 205-211
- Pineda JC, Galarraga E, Bargas J, Cristancho M, Aceves J (1992) Charybdotoxin and apamin sensitivity of the calcium-dependent repolarization and the afterhyperpolarization in neostriatal neurons. *J Neurophysiol* 68: 287-294
- Pineda JC, Bargas J, Flores-Hernández J, Galarraga E (1995) Muscarinic receptors modulate the afterhyperpolarizing potential in neostriatal neurons. *Eur J Pharmacol* 281: 271-277
- Press KC, Flannery BP, Teukolsky SA, Vetterling WT (1986) *Numerical Recipes: The art of scientific computing*, Cambridge. Cambridge University Press
- Rall W (1977) Core conductor theory and cable properties of neurons. In: *Handbook of Physiology. The Nervous System. Cellular Biology of Neurons*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 1, vol. 1, p. 39-97
- Rall W, Burke RE, Holmes WR, Jack JJB, Redman SJ, Segev I (1992) Matching dendritic neuron models to experimental data. *Physiol Rev* 72: 159-186
- Rapp M, Segev I, Yaron Y (1994) Physiology, morphology and detailed passive models of guinea-pig cerebellar Purkinje cells. *J Physiol Lond* 474.1: 101-118

- Redman S J, McLachlan, EM, Hirst DS (1987) Nonuniform passive membrane properties of rat lumbar sympathetic ganglion cells. *J Neurophysiol* 57: 633-644
- Reyes A, Galarraga E, Tapia D, Bargas J (1995) Potassium channel block induced dye coupling in neostriatal neurons. *Soc. Neurosci. Abstr.* 21: 913
- Rose PK, Dagum A (1988) Nonequivalent cylinder models of neurons: Interpretation of voltage transients generated by somatic current injection. *J Neurophysiol* 60: 125-148
- Rose PK, Vanner SJ (1988) Differences in somatic and dendritic specific membrane resistivity of spinal motoneurons: An electrophysiological study of neck and shoulder motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 60: 149-166
- Sheppard MS, Meda P (1981) Tetraethylammonium modifies gap junctions between pancreatic β - cells. *Am J Physiol: Cell Physiol* 9: c116-c120
- Spruston N, Johnston D (1992) Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 67: 508-529
- Staley JK, Otis ST, Mody I (1992) Membrane properties of dentate gyrus granule cells: Comparison of sharp microelectrode and whole-cell recordings. *J Neurophysiol* 67: 1346-1358
- Stanfield PR (1983) Tetraethylammonium ions and the potassium permeability of excitable cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 97: 1-67
- Tepper JM, Trent F (1993) In vivo studies of the postnatal development of rat neostriatal neurons. *Prog Brain Res* 99: 35-50
- Tsukahara N, Murakami F, Hultborn H (1975) Electrical constants of neurons of the red nucleus. *Exp Brain Res* 23: 49-64
- Uchimura N, Cherubini E, North RA (1989) Inward rectification in rat nucleus accumbens neurons. *J Neurophysiol* 62: 1280-1286
- White JA, Manis PB, Young ED (1992) The parameter identification problem for the somatic shunt model. *Biol Cybern* 66: 307-318

- Wilson CJ (1990) Basal Ganglia. In: The Synaptic Organization of the Brain, GM Shepherd (ed), Oxford. Oxford University Press, 1990, p. 279-316
- Wilson CJ (1992) Dendritic Morphology, Inward Rectification, and the Functional Properties of Neostriatal Neurons. In Single Neuron Computation, San Diego CA. Academic Press. 1992. p. 141-171
- Wilson CJ (1993) The generation of natural firing patterns in neostriatal neurons. Prog Brain Res 99: 277-297
- Wilson C J (1995) Dynamic modification of dendritic cable properties and synaptic transmission by voltage-gated potassium channels. J Comp Neurosci 2: 91-115
- Yan Z, Surmeier D J (1996) Muscarinic (M_2 - M_4) receptors reduce N- and P-type Ca^{2+} currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a fast, membrane delimited, G-protein pathway. J Neurosci 16: 2592-2604

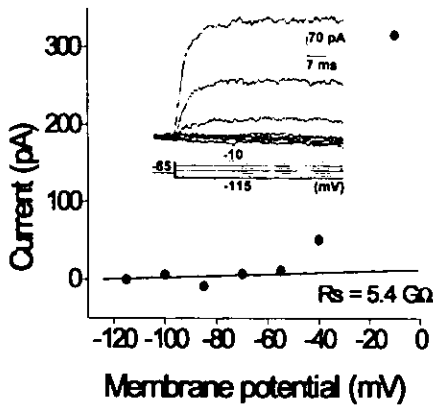
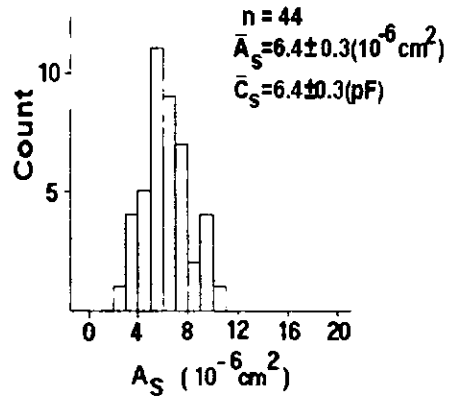
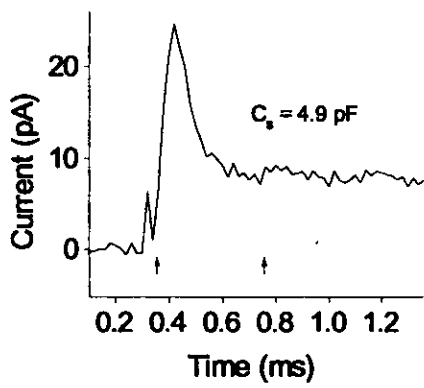
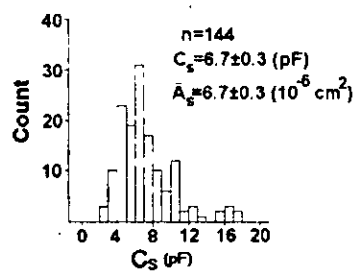
A**C****B****D**

Figure 1. Measurement of somatic input resistance (RS) and somatic surface area (AS). A. RS was calculated as the slope of the linear I-V plot at subthreshold membrane potentials (see straight line). Holding potential was -85 mV and membrane current was recorded after 15 mV command steps from -115 to -10 mV in 1mM TTX. Note voltage-dependent outward currents at membrane potentials more positive than -50 mV and absence of active currents at negative potentials where RS was obtained. B. Somatic capacitance (CS) was calculated by integrating capacitative transients generated by a 10 mV command pulse from a holding potential of -85 mV (current step not shown). The time integral of transient current is (arrows signal times 0 and t): C_S es aproximadamente igual a la integral de la corriente en el intervalo de 0 a t, where V is the amplitude of the voltage command. The transient generated by electrode capacitance was compensated during on-cell patch just before breaking the seal to get the whole-cell configuration. C. AS distribution from anatomical measurements of filled somata from neurons reconstructed with the biocytin technique. D. AS distribution from C_S values obtained by integration of capacitative transients during whole-cell voltage-clamp recordings in isolated somata.

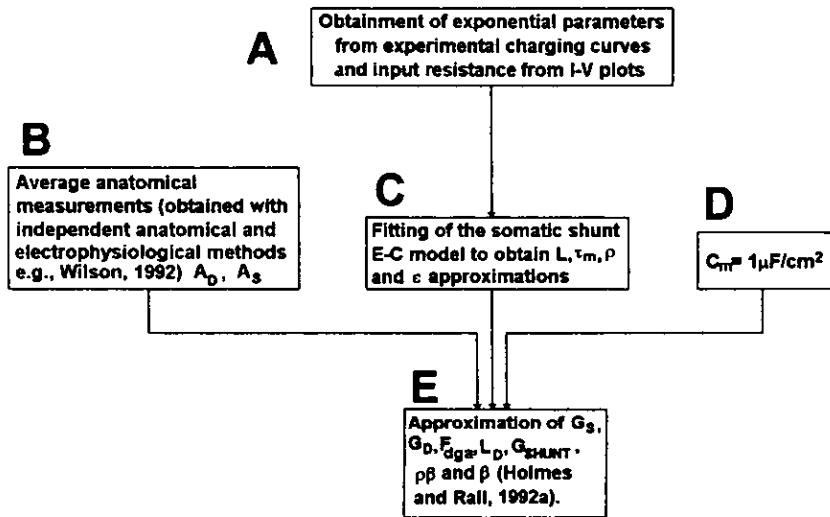


Figure 2. Analysis of voltage transients. Each block is fully explained in the Appendices.

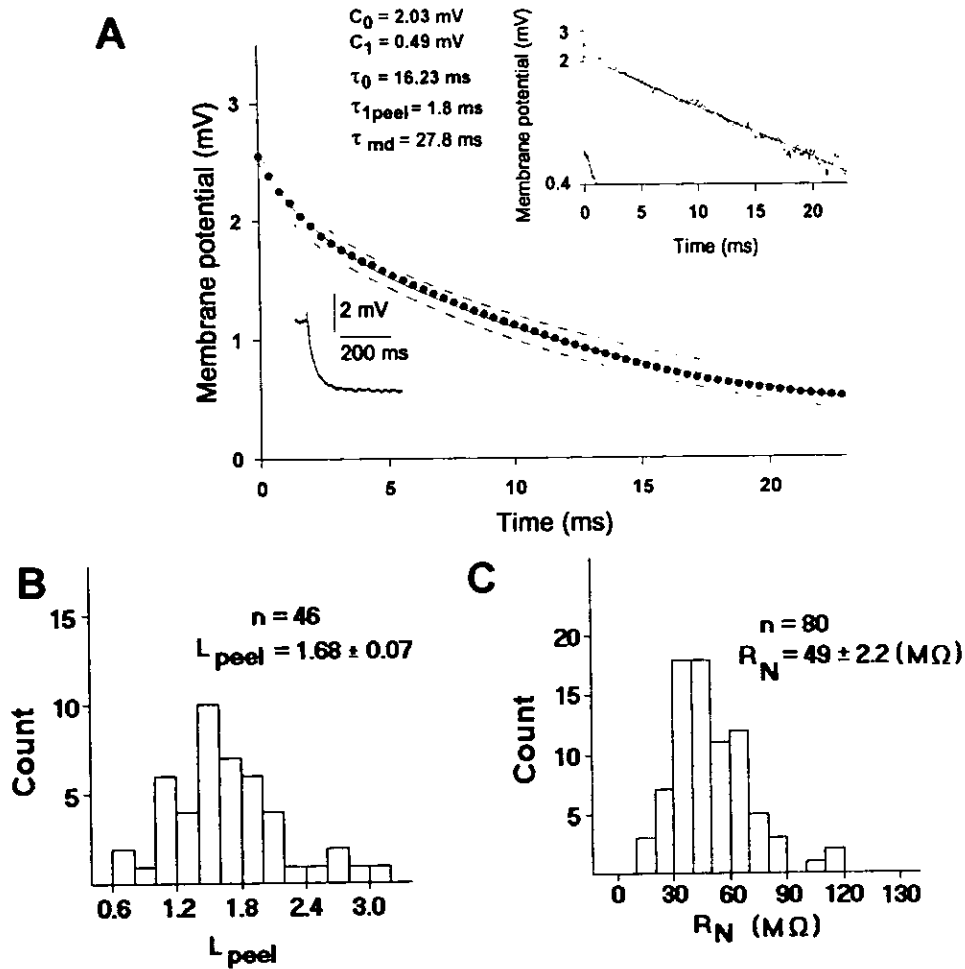


Figure 3. Matching electrotonic transients to the somatic shunt E-C model. A. Filled circles are the filtered average of 20 records as the one shown at the inset. Continuous line is the model fit. Dashed lines limit the 95% confidence interval. Semilogarithmic scales (top right) illustrate an exponential peeling on the averaged record to show that more than one exponential component is present in control saline. Parameters were extracted using a direct non-linear fitting of the model that uses initial values obtained by a non-linear fitting of a sum of exponentials to the experimental transient (see the Appendices). Transients averaged and filtered in this way are illustrated in Figure 5. Both B. L_{peel} and C. R_N had a tendency to aggregate normally.

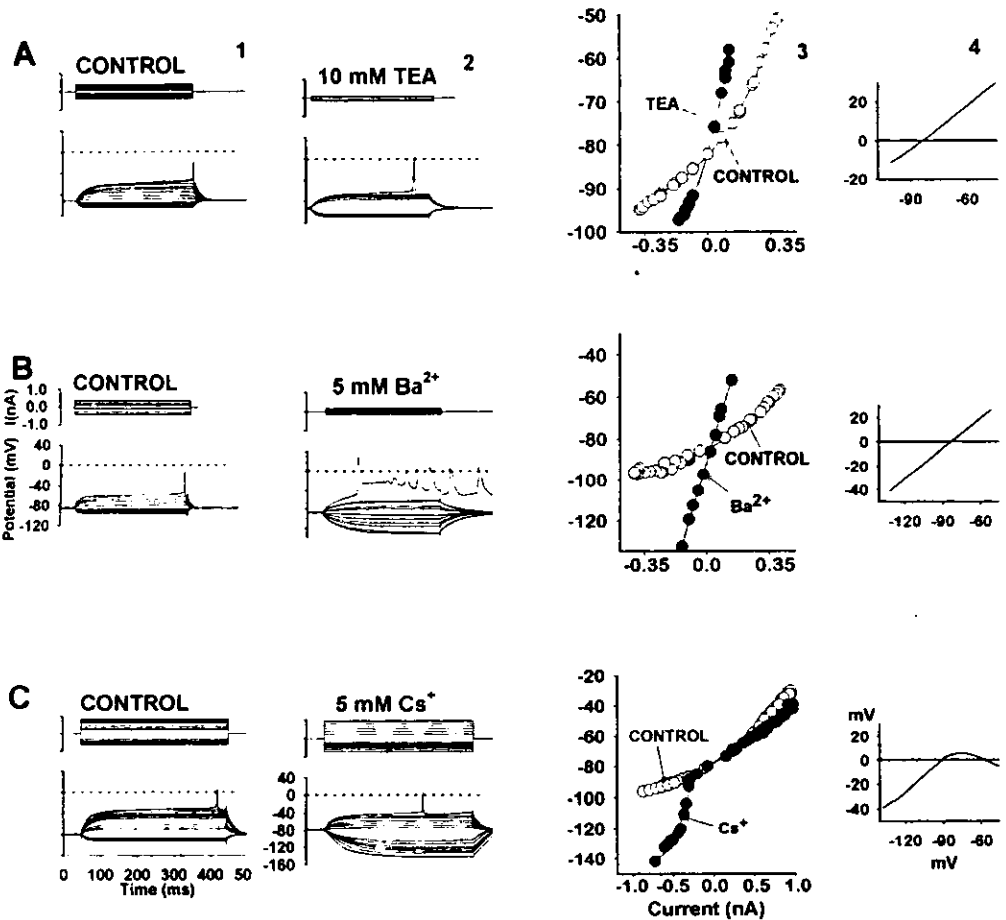


Figure 4. Actions of K^+ -blockers on R_N . A. Actions of TEA, B. Actions of Ba^{2+} and C. Actions of Cs^+ . Transmembrane potential records obtained from neostriatal projection neurons in response to depolarizing and hyperpolarizing intracellular current steps in control saline (column 1) and saline containing a K^+ -blocker (column 2) (current on top, voltage on bottom; the same cells are illustrated in both conditions). The I-V plots constructed with records in columns 1 and 2 are depicted in column 3. Note the increase in R_N during TEA and Ba^{2+} for the whole subthreshold voltage range (A3, B3). Cs^+ changed R_N only in the hyperpolarizing direction (C3). Continuous lines are polynomial fits. Column 4 shows the subtraction between I-V plot fits (K^+ -blocker - control): the result is an almost straight line between near -100 to near -50 mV for both TEA and Ba^{2+} . In the case of Cs^+ the subtraction revealed that the Cs^+ -sensitive conductance was inwardly rectifying. Voltage scale for all frames, except C2, is that of B1. Time scale is in C1.

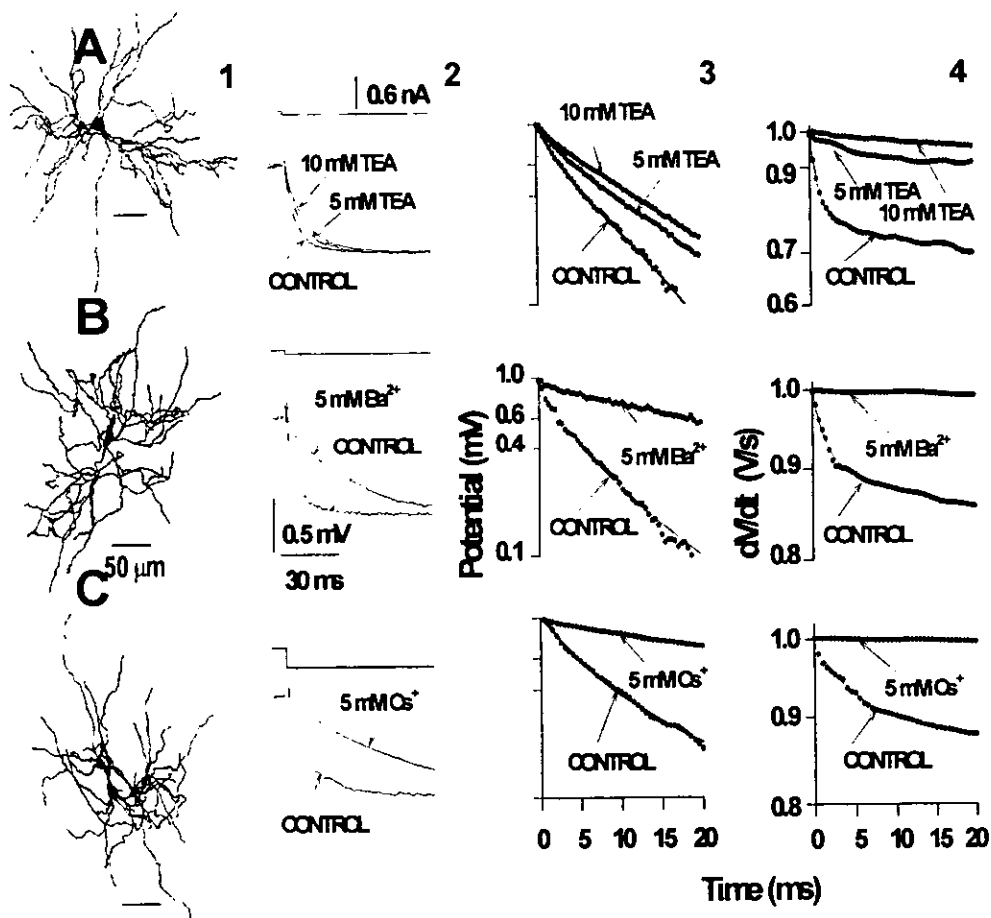


Figure 5. Actions of K^+ -blockers on electrotonic transients. A. Actions of TEA, B. Actions of Ba^{2+} and C. Actions of Cs^+ . The reconstructed somatodendritic structure of neurons superfused with K^+ -blockers is depicted on column 1. The axons are not shown. Averaged and normalized electrotonic transients (bottom) induced by a current step (top) are shown in column 2. Each frame compares records in control saline (control) with records in the presence of K^+ -blockers in the same cells. First 20 ms of normalized, averaged and filtered transients (filled circles) are shown plotted in semilogarithmic scale in column 3. Continuous lines are fits to the somatic shunt E-C model. Differentiated records plotted in a semilogarithmic scale are shown in column 4. In the presence of K^+ -blockers second order exponential components are lost.

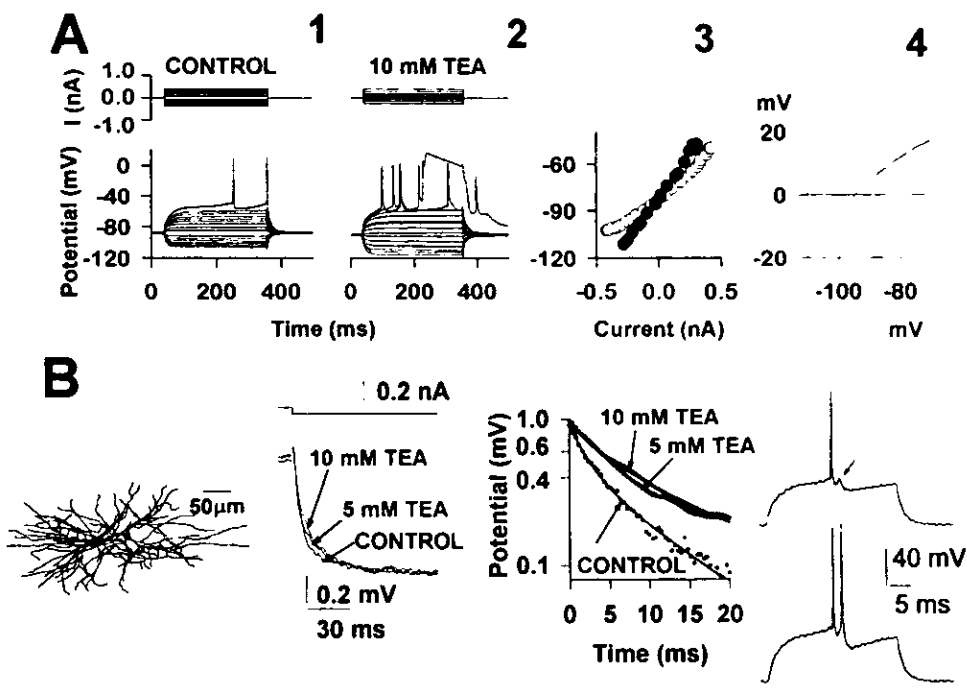


Figure 6. Dye coupling. A1. Control, and A2. test (10mM TEA) voltage responses to intracellular current steps from a cell that was coupled to a neighboring neuron. A3. I-V plots built before and during (TEA=filled circles) A4. Subtraction of the I-V plots. B1. Biocytin revealed two filled cells after recording. B2-3. Charging curves in the presence of the K⁺-blocker exhibit more than one exponential component in these conditions. B4. Coupled cells usually exhibit pairs of action potentials (or spikelets; arrow) firing in close proximity.

Table 1. Mean electrophysiological and anatomical data

R_N (M Ω)	C_0	τ_0 (ms)	τ_{mb} (ms)	C_1	τ_{1peak} (ms)	k	β	ρ	L_0
49 ± 2.2	0.59 ± 0.02	16 ± 0.9	33 ± 1.6	0.41 ± 0.02	3.6 ± 0.3	3.25 ± 0.23	77 ± 5	$.41 \pm .02$	0.46 ± 0.014
$n = 80$	$n = 50$	$n = 49$	$n = 36$	$n = 49$	$n = 49$	$n = 36$	$n = 32$	$n = 32$	$n = 32$
18-112	.25 - .93	6.6-33.8	28 - 43	.07 - .75	0.8 - 9.1	2.5-6.65	40 -157	.17 - .72	.35 - .61
$\rho\beta = \rho_{p=1}$	F_{dgs}		R_N (M Ω) (no sh)	R_s (M Ω)	R_o (M Ω)		A_N (cm 2)	A_o (cm 2)	A_s (cm 2)
28 ± 2	$.91 \pm .007$		179 ± 7	74 ± 4	182 ± 7		$1.85 \cdot 10^{-4} \pm 0.07$	$1.8 \cdot 10^{-4} \pm 0.06$	$6.5 \cdot 10^{-6} \pm 0.27$
$n=10$	$n=10$		$n=32$	$n=32$	$n=32$		$n=32$	$n=32$	$n=144;$ 44
27 - 29	.89 - .95		119 -276	34 - 122	123 - 287		1.3 - 2.6 (10^{-4} cm 2)	1.2 -2.5 (10^{-4} cm 2)	3 - 11 (10^{-6} cm 2)

Foot note of Table 1

2nd and 6th rows show mean \pm s.e.m. values for parameters indicated in first and 5th rows. R_N was taken at RMP (-84 ± 3 mV; $n = 74$) from I-V plots (see: Galarraga et al., 1994). First two exponential parameters (C_0 , C_1 , τ_0 and τ_{1peak}) were extracted from non-linear fitting of the experimental transients. C_0 and C_1 were normalized with $V_f = 1$ (see equation 1) in order to be compared. The experimental values (in mV) were used to directly fit the transients to the somatic shunt E-C model (see Appendices). Note $\tau_{mD} > \tau_0$, A_N similar to A_N obtained by anatomical methods (e.g., Wilson, 1992; $A_N = 2.1 \times 10^{-4} \text{cm}^2$), R_N -no sh (R_N "without shunt") similar to R_N obtained in whole-cell conditions (see: Kawaguchi, 1993), and R_S (with shunt) $\ll R_S$ obtained with whole-cell recordings in isolated somata. Mean A_S ($6.5 \times 10^{-6} \text{cm}^2$; is an intermediate value between that found with 144 somata recorded in whole-cell conditions and 44 cells filled with biocytin). Mean values were obtained from samples of neurons in which anatomical (e.g., A_S) and/or electrophysiological (e.g., τ_{mD} , R_N) data were obtained. Only in 10 neurons an A_D approximation was also available. These 10 neurons were used to approximate mean F_{opt} and $\rho\beta$. Also, ranges in bottom row are taken from these sub-sample of neurons.

Table 2. Action of K⁺-blockers on dendrosomatic input resistance and somatic shunt

Treatment	R _N (MΩ)	C ₀	τ ₀ (ms)	β	R _D (MΩ)	R _S (MΩ)	A _N X10 ⁻⁴ cm ²
TEA (10 mM)	78 ± 10.2	0.99±0.003	15 ± 1.2	37 ± 9	170 ± 13	197 ± 64	1.9 ± 0.1
n	9	9	9	5	5	5	5
range	54 - 147	0.99 - 1.0	13 - 18	19 - 69	147 - 219	101- 450	1.7 - 2.3
Ba ²⁺ (5 mM)	207 ± 27	0.96 ± 0.01	46 ± 2	9 ± 6	219 ± 30	3.2 ± 0.5 (GΩ)	1.8 ± 0.2
n	5	5	5	5	5	5	5
range	142 - 289	0.93 - 1.0	42 - 50	1.3 - 34	147 - 290	2.2 - 4.7 (GΩ)	1.4 - 2.2
Cs ⁺ (5 mM)	115 ± 19	0.96±0.014	49 ± 13	46 ± 3	261 ± 16	161 ± 8	1.9 ± 0.2
n	5	5	5	5	5	5	5
range	77 - 186	0.95 - 1.0	22 - 64	37 - 54	219 - 318	135 - 177	1.6 - 2.4

Footnote of Table 2.

Mean ± s.e.m. estimates of passive parameters indicated in first row extracted from experimental electrotonic transients recorded in saline containing the K⁺-blocker indicated in the first column. More than one exponential component cannot be obtained in the presence of K⁺-blockers. β, R_D, R_S and A_N were obtained as described in the Appendices. Values in Cs⁺ were obtained at hyperpolarized membrane potentials.

DISCUSION

Debido a que las neuronas espinosas medianas del neocórtex se alejan de las condiciones que impone el modelo del cilindro equivalente, esto es: R_m es heterogénea, no se cumple la "regla de los 3/2" para los diámetros dendríticos y las longitudes dendríticas pueden diferir en más de un 20%, en este trabajo proponemos el uso de un método de análisis que combina varios modelos para intentar compensar la sobrestimación de L causada por esos factores (Durand, 1984; Kawato, 1984; Poznanski, 1987; Rose y Dagum, 1988; Evans y cols, 1992; Holmes y Rall 1992a y Major y cols, 1993). El valor de L obtenido corrigiendo solamente para el corto circuito es de aproximadamente 1; que contrasta con el valor obtenido del modelo de soma unido a un cilindro equivalente finito con R_m homogénea ($L \approx 1.8$). El valor de τ_m se obtiene corrigiendo para el corto circuito somático ($\tau_0 \approx 16$ a $\tau_{m0} \approx 33$ ms). Sin embargo, sólo se ha corregido una de las causas de la sobre-estimación de L (Holmes y Rall, 1992a). Para corregir las otras causas usamos el factor de corrección propuesto por Rall y cols (1992): F_{dga} fue de 0.91. Este factor es independiente de las restricciones del modelo del cilindro eléctricamente equivalente pero para poder usarlo es necesario tener una estimación del área somática y del área dendrítica (ver métodos). Este factor de corrección podría ser característico de cada población neuronal (Rall y cols, 1992). Utilizando este factor, el valor de $L_D \approx 0.46$. Los valores de L y τ_m encontrados con esta mezcla de modelos sugieren que R_m es más grande de lo que anteriormente se suponía (Bargas y cols, 1988; Wilson 1992) y que estas neuronas son electrotonicamente compactas. El método nos permitió obtener valores corregidos de R_N y ρ (R_N sin cortocircuito somático, y $\rho_{\beta=1}$). Cuando estos valores corregidos son

usados para estimar A_N se obtienen valores semejantes a los reportados con los métodos anatómicos (ver tablas 1 y 2) (Wilson, 1992). Los valores de A_N correctos se obtuvieron con muy diversos datos electrofisiológicos (después de usar diferentes bloqueadores de K^+), lo cual sirve de evidencia para apoyar las estimaciones de L , R_N y ρ . Esto es importante porque varias combinaciones de L , R_m y ρ pueden ajustar el transitorio de una curva de carga (Holmes y Rall, 1992a, b). Lo que hace necesario algún otro parámetro que guíe la solución. Previamente se ha usado el área somática para disminuir la variabilidad en τ_{mD} , usando el modelo de "cortocircuito somático" (White, 1992) o un modelo mixto (cilindro eléctricamente equivalente y compartamental) (Holmes y Rall, 1992b). Nosotros proponemos el uso del factor de corrección (F_{da}) acompañado de las ecuaciones que corrigen R_N y ρ y las "restricciones" son los datos anatómicos de área somática y dendrítica. El método propuesto por White, o el modelo mixto, también usan restricciones anatómicas. Pero la combinación de métodos que proponemos nos da, además de los valores corregidos de R_N y ρ , un estimado de la resistencia de entrada somática (R_s) y de la resistencia de entrada dendrítica (R_D). Lo que nos permite diferenciar efectos sobre la membrana somática o sobre la membrana dendrítica. Esto nos permitió apreciar diferencias entre los bloqueadores de K^+ y probablemente también nos permita, en el futuro, estudiar los mecanismos de acción de moduladores endógenos tales como la dopamina y la acetilcolina. Es de notar que el modelo original de Rall (1977) (R_m homogénea) no ajusta los datos experimentales de muchos tipos neuronales por lo que su utilidad resulta bastante restringida. El modelo de corto-circuito somático es más general y

ajusta mejor. Unido a el uso de datos anatómicos como "constreñimientos" se vuelve más poderoso. Como los datos anatómicos usados para acotar las soluciones del modelo son A_D y A_S ya no importa si se cumple o no la regla de los 3/2 para los diámetros en ocasión de proponer un modelo de cilindro equivalente (Rall y cols, 1992).

En los modelos compartamentales se requiere de datos anatómicos más detallados (Perkel y Mulloney, 1978; Edwards y Mulloney, 1984; Ulrich y cols, 1994). No obstante, también para estos modelos compartamentales se intenta utilizar datos anatómicos más reducidos por dos razones: 1) las necesidades de cómputo y 2) para construir una "red realista" lo que se quiere es conocer los parámetros promedio de una población, no los parámetros exhaustivos de una sola neurona (ver clasificación de modelos).

Las soluciones analíticas alternativas de los modelos de cilindro equivalente de Rall no consideran correcciones cuando las neuronas se apartan de las restricciones del cilindro equivalente. El modelo de Major y cols (1993a) y el de Bluman y Tuckwell (1987) sólo consideran diferencias en la resistencia de membrana ($R_{ms} < R_{md}$) y su complejidad las hace difíciles de usar. Las soluciones propuestas por Jack y Redman (1971a, b) consideran que la resistencia de membrana es homogénea de la misma manera que las soluciones del cilindro equivalente original de Rall (1977). Los modelos que consideran una resistencia de membrana homogénea no ajustan los datos experimentales de las neuronas con dendritas que se alejan de las restricciones del modelo de cilindro equivalente por lo que actualmente se han abandonado.

Para obtener A_s utilizamos dos métodos diferentes. Un método electrofisiológico con los somas aislados y uno anatómico. El A_s obtenida con ambos métodos no fue estadísticamente diferente. El área dendrítica (A_D) se obtuvo de dendogramas, a los cuales se les agregó el área de las espinas dendríticas reportada por Wilson (1992). Para el análisis de las neuronas de las cuales no se tuvo dendograma se usó como valor inicial para las iteraciones, el A_D reportada por Wilson (1992). Es claro que los valores obtenidos con este procedimiento deben tomarse como valores promedio de la población.

Efecto de los bloqueadores de K^+ sobre R_N

Existe una gran diferencia en la R_N obtenida con el método de gigasello célula completa (whole-cell) con respecto a la R_N obtenida con el método de registro intracelular (Pongracz, 1991; Spruston y Johnston, 1992; Staley y cols, 1992; Mayor y cols, 1994; Campbell y Rose, 1997). Estas diferencias pueden deberse a: 1) lavado de algún factor del líquido intracelular en el caso del método de la célula completa, lo que hace que R_N aumente (Marty y Neher, 1983); 2) una lesión causada por el electrodo en el caso del registro intracelular; 3) la presencia de más canales abiertos en el reposo en las condiciones de registro intracelular (Ulrich y cols, 1994; Campbell y Rose, 1997), sobre todo porque el empale puede activar conductancias inducidas por el estiramiento.

Nuestros resultados muestran que los bloqueadores (TEA, Ba^{2+} y Cs^+) producen un incremento en R_N ; especialmente Ba^{2+} y Cs^+ (207 y 115 M Ω , respectivamente). La R_N

con Ba^{2+} es muy parecida a la R_N obtenida con la técnica de célula completa en rebanadas (199 $M\Omega$) (Kawaguchi, 1993). Esto sugiere que la R_N encontrada con registro intracelular ($R_N=49 M\Omega$) se debe en gran medida a la presencia de conductancias presentes en el reposo, localizadas con mayor densidad en el soma. Ba^{2+} incrementa R_D y R_S (3.2 $G\Omega$) a valores semejantes a los encontrados en somas aislados con la técnica de célula completa (ver resultados). La substracción de la curva corriente contra voltaje de las neuronas con Ba^{2+} de las neuronas control sugiere que la conductancia sobre la que preferentemente actúa el Ba^{2+} es de tipo lineal "leak" (Hille, 1992). Los incrementos en R_D y R_S en presencia de Ba^{2+} sugieren que este catión bloquea conductancias en toda la membrana somato-dendrítica.

En el caso de TEA hay un gran incremento en R_S pero prácticamente ningún incremento en R_D . Las conductancias sobre las que actúa el TEA son también de tipo fuga o "leak"; según la substracción de las curvas corriente contra voltaje (Hille, 1992).

Cs^+ tuvo mayor acción en la membrana dendrítica que en la somática ya que el incremento en R_D fue mayor que el incremento en R_S . La substracción de las curvas corriente contra voltaje en el caso de Cs^+ , muestra que este ión actúa sobre una conductancia dependiente de voltaje (rectificador de corriente entrante). Los valores de R_D y R_S sugieren que esta conductancia se encuentra principalmente en las dendritas. Se ha reportado que el Ba^{++} también actúa sobre el rectificador (a concentraciones micromolares, Nichols y Lopatin, 1997), lo que explica su acción sobre las dendritas, de igual magnitud que la acción del Cs^+ . Sin embargo, a las concentraciones milimolares utilizadas en este trabajo, el efecto sobre las conductancias lineales

somáticas, que producen el corto circuito somático, sobrepaso el efecto sobre la conductancia del rectificador (dependiente de voltaje), por lo que la función corriente contra voltaje para el Ba^{2+} es lineal.

Si bien los resultados muestran la participación de canales abiertos en el reposo en el corto-circuito somático, el elevado valor para el factor β (encontrado después de aplicar los bloqueadores de K^+) (Tabla 2), sugiere la presencia adicional de un corto circuito somático ocasionado por el microelectrodo (Jack, 1979). La proporción entre los canales abiertos y la lesión ocasionada por el microelectrodo no se puede determinar. Sin embargo, la lesión es de una magnitud tal que permite obtener potenciales de membrana (PM) en reposo cercanos a los -80 mV. Si la conductancia inespecífica de la lesión ($E_{rev} \approx 0$) fuera demasiado grande, el PM tendería a la despolarización (Pongracz, 1991). Esta evidencia sugiere que la mayor parte del corto-circuito somático es debido a canales abiertos en el reposo.

Efectos de los bloqueadores de K^+ sobre la constante de tiempo (τ_0)

El incremento en R_N y τ_0 después de los bloqueadores no es proporcional; como se esperaría en una neurona con R_m homogénea (Clements y Redman, 1983; Fleshman y cols, 1988; Rapp y cols, 1994; Shelton, 1985; Strantford y cols, 1990; Campbell y Rose, 1997). El incremento en τ_0 fue mucho mayor con Cs^+ que con TEA, el cual prácticamente no modificó τ_0 . Estos resultados indican una acción diferencial de estos bloqueadores en la membrana somato-dendrítica. TEA parece actuar principalmente en el soma. Cs^+ actúa principalmente en las dendritas, mientras que Ba^{2+} actúa sobre

ambos de acuerdo con el valor obtenido de R_s . Sin embargo, con todos los bloqueadores se obtuvo una sola exponencial en el transitorio de la curva de carga. Esto podría significar que gran parte de las constantes de igualación o de segundo orden se deben al corto circuito somático producido por la presencia de los canales abiertos en el reposo. Esto hace que τ_1 y L sean sobrestimadas (Holmes y Rall, 1992a).

Efecto de los bloqueadores de K^+ sobre L_D

El efecto de los bloqueadores de K^+ en la estructura electrotónica fue sustancial. Con cada bloqueador el transitorio de la curva de carga se convirtió en una sola exponencial. L cambió drásticamente. En estas condiciones las exponenciales de segundo orden no pueden ser detectadas por nuestro método debido a que se encuentran dentro del artefacto del electrodo (ver método). Sin embargo, los modelos nos indican que las neuronas se hacen más compactas ($L = 0.26, 0.27$ y 0.36 para Ba^{2+} , Cs^+ y TEA, respectivamente). Esto sugiere que L puede ser modulada por la apertura o cierre de los canales que se encuentran abiertos a potenciales de reposo (Campbell y Rose, 1997).

Acople eléctrico

Es posible que en aquellos trabajos anteriores en los que no se encontró una curva de carga monoexponencial a pesar de bloquear conductancias de reposo con Ba^{2+} o Cs^+ , esto se debió a la presencia de acople eléctrico. Sin embargo, estos autores no

se dieron cuenta de ello ya que no usaban marcadores intracelulares, o si los usaban, éste era el péptido HRP que no pasa por las uniones. En nuestro caso, cada vez que obteníamos más de una exponencial en la curva de carga, encontrábamos la presencia de dos o más células teñidas con biocitina en las preparaciones histológicas. El acople eléctrico ocasiona una fuga de corriente en las dendritas y esto hace que el transitorio presente más de una exponencial. La presencia de acople entre neuronas en presencia de bloqueadores de K^+ (40%) es estadísticamente diferente al encontrado en condiciones control (2 a 3%). Estos resultados indican que incrementos en R_m están asociados de alguna manera no conocida con la apertura de uniones estrechas entre las dendritas. La relación entre el efecto de bloqueadores de K^+ y el acople eléctrico no se había reportado en neuronas. Sin embargo, en células endócrinas y en células musculares se ha reportado un incremento en el número de "gap junctions" (Kannan y Daniel, 1978; Sheppard y Meda, 1981). Normalmente, cuando una despolarización es lo suficientemente fuerte y sostenida, los canales de K^+ rectificadores, abiertos en el reposo, se cierran, lo que provoca un aumento en R_N y por lo tanto en R_m . Si este aumento en R_m provoca uniones eléctricas entre neuronas aledañas, esto haría que un módulo o "ensamble" neuronal se sincronice mejor ante la activación por entradas sinápticas concurrentes. Neuromoduladores que aumentan la resistencia de entrada (R_N) y/o cierran canales como los rectificadores de K^+ podrían provocar la apertura de uniones eléctricas entre neuronas (Hernández-López, 1997), con lo que se tendría una situación fisiológica similar a la observada al aplicar los bloqueadores de K^+ .

CONCLUSIONES

- 1).- Nuestros resultados muestran que la combinación de un modelo de cilindro eléctricamente equivalente que corrige para el corto-circuito somático con otro que introduce el factor F_{dga} , valiéndose de medidas anatómicas (A_s , A_D) es útil para determinar la estructura electrotónica en neuronas que se apartan de las restricciones impuestas por el modelo original de "cilindro eléctricamente equivalente".
- 2).- Las neuronas espinosas medianas del neocórtex son más compactas de lo que anteriormente se había reportado ($L \approx 0.5$); suponiendo que la longitud electrotónica por medio (L_{AVG}) es aproximadamente igual a L .
- 3).- El corto circuito somático ("soma shunt") es reducido por los bloqueadores de canales de K^+ (Ba^{2+} , TEA, Cs^+). Por lo tanto, parte del corto circuito somático se debe a canales de K^+ abiertos en el potencial de reposo.
- 4).- La longitud electrotónica puede ser cambiada al cerrar parte de los canales abiertos en el reposo; por lo que L puede ser una variable modulada.
- 5).- La acción de los distintos bloqueadores de K^+ es diferente en la membrana del soma y de las dendritas. El Cs^+ actúa principalmente en la membrana dendrítica, el Ba^{2+} actúa igualmente en la dendrita y en el soma, el TEA actúa principalmente en el soma. Lo que habla de la heterogeneidad de los diversos tipos de canal de la membrana del soma y de las dendritas.
- 6).- Los bloqueadores de canales de K^+ inducen acople eléctrico entre las neuronas. Esto sugiere una relación entre R_m y el grado de acople entre neuronas mediante sinapsis eléctricas.

APENDICE A

LISTA DE SIMBOLOS

I = corriente (A)

I_A = corriente aplicada (A)

I_C = corriente en el capacitor (A)

I_R = corriente en la resistencia (A)

I_S = corriente en el soma (A)

I_{RS} = corriente en la resistencia somática (A)

I_{CS} = corriente en la capacitancia somática (A)

i_m = corriente de la membrana (longitud del cilindro) (A/cm)

i_i = corriente interna (intracelular) (longitud del cilindro) (A/cm)

i_c = corriente capacitiva (longitud del cilindro) (A/cm)

i_o = corriente externa (longitud del cilindro) (A/cm)

V = voltaje (V)

V_m = voltaje de la membrana (V)

R = resistencia (Ω)

R_N = resistencia de entrada de la neurona (Ω)

R_m = resistencia específica de membrana ($\Omega \text{ cm}^2$)

R_{ms} = resistencia específica de membrana somática ($\Omega \text{ cm}^2$)

R_{md} = resistencia específica de membrana dendrítica ($\Omega \text{ cm}^2$)

R_i = resistencia específica interna (axoplasmática) ($\Omega \text{ cm}$)

r_i = resistencia interna (longitud del cilindro) (Ω/cm)

r_e = resistencia externa (longitud del cilindro) (Ω/cm)

r_m = resistencia de membrana (longitud del cilindro) ($\Omega \text{ cm}$)

G = conductancia (S)

G_D = conductancia dendrítica (S)

G_{D_j} = conductancia del segmento dendrítico j (S)

G_{seg} = conductancia en un segmento (S)

$G_{(B)}$ = conductancia en el segmento B (S)

$G_{(B1)}$ = conductancia en el segmento B1 (S)

$G_{(B2)}$ = conductancia en el segmento B2 (S)

G_N = conductancia de la neurona (S)

C = capacitancia (F)

c_m = capacitancia de la membrana (F cm)

C_m = capacitancia específica de la membrana (F/cm²)

a = radio (cm)

d = diámetro (cm)

$d_{(B)}$ = diámetro del segmento B (cm)

$d_{(B1)}$ = diámetro del segmento B1 (cm)

$d_{(B2)}$ = diámetro del segmento B2 (cm)

A = coeficiente exponencial

B = coeficiente exponencial

B_n = coeficientes de Fourier

τ = constante de tiempo (s)

τ_m = constante de tiempo de la membrana (s)

τ_n = constantes de igualación de la carga. ($n=1..∞$) (s)

τ_{md} = constante de tiempo de la membrana dendrítica (s)

τ_{ms} = constante de tiempo de la membrana somática (s)

t = tiempo (s)

$T=t/\tau$ tiempo (adimensional)

λ = constante de espacio (adimensional)

$\rho=G_D/G_S$ dominancia dendrítica (adimensional)

l = longitud (cm)

$L=l/\lambda$ longitud electrotónica (adimensional)

L_{AVG} = longitud electrotónica promedio en un árbol dendrítico (adimensional)

t = tiempo (s)

x = distancia (cm)

$X=x/\lambda$ distancia (adimensional)

$F(X)$ = función de X

$F(T)$ = función de T

α_n = raíces de las ecuaciones trascendentales

A_S = área somática (cm²)

A_D = área dendrítica (cm²)

A_N = área neuronal total (cm²)

$\beta=\tau_{md}/\tau_{ms}$ factor shunt (adimensional)

$\varepsilon = \tau_{ms} / \tau_{md}$ inversa del factor shunt (adimensional)

En apéndice D: C= constante de separación

APENDICE B

CIRCUITO RC EN PARALELO

La corriente (I) en un circuito RC en paralelo esta determinada por:

$$I = I_R + I_C$$

Donde $I_R = V/R$ y $I_C = C \cdot dV/dt$

por lo tanto:

$$I = V/R + C \cdot dV/dt$$

si $I=0$, entonces:

$$C \cdot dV/dt = -V/R$$

separando variables:

$$1/V dV = -1/RC dt$$

integrando obtenemos V :

$$\ln V = -t/RC$$

$$V = \exp(-t/RC)$$

APENDICE C

DERIVACION DE LA ECUACION DE CABLE

El voltaje registrado en x a lo largo de un cable (axón) es:

$$dV_m(x, t)/dx = -r_i \cdot i_i$$

Derivando tenemos:

$$d^2 V_m/dx^2 = -r_i di_i/dx$$

De acuerdo con las leyes de Kirchoff (del circuito eléctrico de un axón):

$$-i_m = di_i/dx$$

Sustituyendo:

$$d^2 V_m/dx^2 = r_i \cdot i_m$$

como $i_m = i_{c_m} + i_{r_m}$

y
$$i_m = c_m dV_m/dt + V_m/r_m$$

queda:

$$1/r_i d^2 V_m/dx^2 = c_m dV_m/dt + V_m/r_m$$

multiplicando por r_m queda:

$$\lambda^2 d^2 V_m/dx^2 = \tau_m dV_m/dt + V_m$$

Donde λ es:

$$\lambda = \sqrt{(r_m/r_i)}$$

y
$$\tau_m = c_m \cdot r_m$$

en términos de $X=x/\lambda$ y $T=t/\tau$:

$$d^2 V_m/dX^2 = dV_m/dT + V_m$$

que es la "ecuación de cable" en términos de variables adimensionales.

APENDICE D
SOLUCION DE LA ECUACION DE CABLE

METODO DE SEPARACION DE VARIABLES

La ecuación de cable en términos de T ($T=t/\tau$) y X ($X=x/\lambda$) es:

$$d^2 V/dX^2 = V + dV/dT$$

1) En la solución por variables separables se propone que V sea expresado como un producto de funciones (esto se puede por que las variables son independientes).

$$V = F(X) \cdot G(T)$$

así la función F solo depende de X y la función G solo depende de T .

2) se sustituye la función en la ecuación de cable:

Donde ahora: $d^2 V/dX^2 = F''(X) G(T)$

$$V = F(X) \cdot G(T) \quad y$$

$$dV/dT = F(X) G'(T)$$

quedando: $F''(X) G(T) = F(X) G(T) + F(X) G'(T)$

Dividiendo por $F(X) G(T)$:

$$\frac{F''(X)G(T)}{F(X)G(T)} = \frac{F(X)G(T)}{F(X)G(T)} + \frac{F(X)G'(T)}{F(X)G(T)}$$

$$\frac{F''(X)}{F(X)} = 1 + \frac{G'(T)}{G(T)} = C$$

aquí las variables están separadas. La expresión de la izquierda solo comprende funciones que solo dependen de X , en tanto que la de la derecha contiene funciones

que solo dependen de T. Ambas expresiones deben ser iguales a una constante, C, pues si la expresión de la izquierda no fuera constante entonces un cambio en X provocaría un cambio en T, lo que violaría el supuesto de que X y T son independientes.

3) Esto inmediatamente hace que la ecuación de cable sea ahora expresada con las siguientes dos ecuaciones diferenciales que son más sencillas de resolver:

$$\frac{F''(X)}{F(X)} = C$$

y

$$1 + \frac{G'(T)}{G(T)} = C$$

reacomodando:

$$F''(X) = C \cdot F(X)$$

tenemos la siguiente ecuación diferencial de segundo orden:

$$F''(X) - C \cdot F(X) = 0$$

y reacomodando la ecuación con respecto de T queda:

$$G'(T) = (C - 1) \cdot G(T)$$

En conclusión la ecuación de cable que es una ecuación diferencial parcial en X y T, puede ser reducida a dos ecuaciones diferenciales: una de segundo orden y una de primer orden.

Por conveniencia para tener la solución más sencilla en estas ecuaciones, la constante $C = -\alpha^2$. Donde α también puede verse como una "constante de separación".

de esta manera $F''(X) - C \cdot F(X) = 0$ queda:

$$F''(X) + \alpha^2 \cdot F(X) = 0$$

cuya solución general es:

$$F(X) = A \operatorname{sen}(\alpha X) + B \operatorname{cos}(\alpha X)$$

y

$$G'(T) = (C - 1) \cdot G(T)$$

queda: $G'(T) = (-\alpha^2 - 1) \cdot G(T)$

$$G'(T) = -(1 + \alpha^2) \cdot G(T)$$

cuya solución general es:

$$G(T) = \exp(-(1 + \alpha^2)T)$$

Por lo tanto una solución general de la ecuación de cable es:

$$V(X, T) = [A \operatorname{sen}(\alpha X) + B \operatorname{cos}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1 + \alpha^2)T)$$

APENDICE E

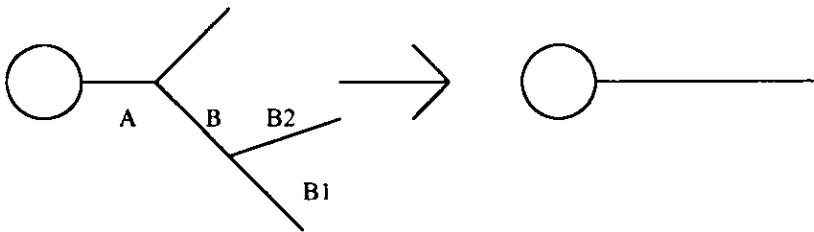
DERIVACION DEL CILINDRO EQUIVALENTE

Algunas geometrías de árboles dendríticos pueden ser reducidos a un cilindro eléctricamente equivalente. Estos árboles dendríticos deben cumplir: i) que R_m y R_i sean homogéneas en todas las ramas dendríticas, ii) que la longitud electrotonica sea semejante para cada tronco dendrítico, iii) que la suma de los diámetros a la potencia 3/2 de las dendritas de mayor orden sea igual al diámetro a la potencia 3/2 de la dendrita que les dio origen. Esto se puede entender a partir de la ecuación que define la conductancia de entrada de cada segmento dendrítico:

$$G_{seg} = (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d)^{3/2}$$

Donde G_{seg} es la conductancia de entrada para algún segmento dendrítico, R_m es la resistencia específica de la membrana, R_i es la resistencia específica citoplasmática, d es el diámetro del segmento.

Por ejemplo considere el siguiente esquema:



$$G(B) = G(B1) + G(B2)$$

Donde $G(B)$ es la conductancia de entrada del segmento dendrítico B, $G(B1)$ es la conductancia de entrada del segmento B1, $G(B2)$ es la conductancia de entrada del segmento dendrítico B2.

Sustituyendo:

$$(\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d_{(B)})^{3/2} = (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d_{(B1)})^{3/2} + (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d_{(B2)})^{3/2}$$

Para realizar los siguientes pasos R_m , R_i deben ser iguales en cada uno de los segmentos. Factorizando y reorganizando:

$$(\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d_{(B)})^{3/2} = (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} [(d_{(B1)})^{3/2} + (d_{(B2)})^{3/2}]$$

$$[(\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} / (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2}] (d_{(B)})^{3/2} = (d_{(B1)})^{3/2} + (d_{(B2)})^{3/2}$$

$$(d_{(B)})^{3/2} = (d_{(B1)})^{3/2} + (d_{(B2)})^{3/2}$$

Donde $d_{(B1)}$ es el diámetro del segmento B1, $d_{(B2)}$ es el diámetro del segmento B2 y $d_{(B)}$ es el diámetro del segmento que les dio origen. De este tratamiento matemático se puede ver la necesidad de la regla de los diámetros a la 3/2 y la homogeneidad de R_m y R_i .

APENDICE F

DERIVACION DEL MODELO DEL CILINDRO FINITO Y SU SOLUCION

El problema de valores en la frontera es:

- 1.- SOLUCION GENERAL DE LA ECUACION DE CABLE.
- 2.- CONDICIONES EN LA FRONTERA EN $X=0$ Y EN $X=L$
- 3.- CONDICION EN ESTADO ESTABLE $V(X,\infty)$

La solución del problema consiste en encontrar el valor de los coeficientes A y B y en encontrar el valor de las raíces α .

Las condiciones de frontera en $X = 0$ y $X = L$ son iguales debido a que este modelo supone que las terminales del cilindro eléctricamente equivalente están selladas. Esto implica una alta resistencia al paso de la corriente, lo que significa en términos eléctricos un circuito abierto. Esto es:

$$\left[\frac{dV}{dX} \right]_{X=0} = 0$$

y
$$\left[\frac{dV}{dX} \right]_{X=L} = 0$$

La solución general (ver apéndice B) de la ecuación de cable es:

$$V(X,T) = [A \operatorname{sen}(\alpha X) + B \operatorname{cos}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

1) Para resolver la ecuación considerando las condiciones de frontera la solución general de cable se tiene que derivar, puesto que las condiciones de frontera están expresadas en términos de la derivada del voltaje con respecto a X:

$$dV/dX = [\alpha A \operatorname{cos}(\alpha X) - \alpha B \operatorname{sen}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

2) Esta derivada tiene que cumplir la condición de frontera en $X=0$, es decir la derivada respecto a X debe ser igual a cero; o el soma o parte inicial del cilindro es isopotencial ($dV/dX_{X=0}=0$).

Para $X=0$, $\operatorname{sen}(\alpha X) = 0$ y $\operatorname{cos}(\alpha X) = 1$. Por lo tanto para cumplir la condición de frontera en $X = 0$ se requiere que $A=0$.

Puesto que (en $X=0$):

$$\begin{aligned} dV/dX_{X=0} &= [\alpha A - \alpha B] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) \\ &= [\alpha \cdot 0 - \alpha B] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) = 0 \end{aligned}$$

3) En la condición de frontera en $X=L$, la derivada del voltaje respecto a X también debe ser cero, pues el cilindro es finito y la carga no escapa por su terminación.

Por lo tanto de la derivada del voltaje:

$$dV/dX = [\alpha A \operatorname{cos}(\alpha X) - \alpha B \operatorname{sen}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

y considerando que ya se tiene el valor de $A=0$ tenemos ahora:

$$dV/dX = [-\alpha B \operatorname{sen}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) = 0$$

y para $X = L$

$$[dV/dX]_{X=L} = [-\alpha B \operatorname{sen}(\alpha L)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) = 0$$

$B \neq 0$ ya que de lo contrario tendríamos una solución trivial.

Por lo tanto, requerimos encontrar un valor de α de manera que se cumpla:

$$[dV/dX]_{X=L} = [-\alpha B \operatorname{sen}(\alpha L)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) = 0$$

Como la función seno es una función periódica, los valores donde se hace cero son múltiplos de π , es decir: $n \cdot \pi$.

Por lo tanto para que la función seno se haga cero en la ecuación anterior, α debe tomar el valor: $\alpha = n \cdot \pi/L$

$$[dV/dX]_{X=L} = [-n\pi B/L \operatorname{sen}(n\pi L/L)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T) = 0$$

4).- Regresando a la solución general de cable:

$$V(X, T) = [A \operatorname{sen}(\alpha X) + B \operatorname{cos}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

y de los resultados de las condiciones de frontera, ($A=0$, $\alpha=n\pi/L$) la solución particular del modelo es:

$$V(X, T) = \sum_0^L [B_n \operatorname{cos}(\alpha X)] \cdot \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

Donde $\alpha_n = n\pi/L$ y B_n es un coeficiente de Fourier:

$$B_n = (2/L) \cdot \int_0^L F(X) \cdot \operatorname{cos}(n\pi X/L) dX$$

Donde $F(X)$ es la condición inicial $V(X, 0)$:

$$V(X, \infty) = (IR_N \operatorname{coth} L) \cdot \frac{\operatorname{cosh}(L-X)}{\operatorname{cosh}(L)}$$

Por lo tanto la ecuación a integrar queda:

$$B_n = (2/L) \cdot \int_0^L (IR_N \coth(L)) \cdot \frac{\cosh(L-X)}{\cosh(L)} \cdot \cos(n\pi X/L) dX$$

La solución es:

$$B_n = 2B_0 / (1 + (n\pi/L)^2)$$

y

$$B_0 = IR_N / L$$

que son los coeficientes obtenidos por Rall (1977)

De la exponencial se tiene (para $T = t/\tau_0$) la siguiente equivalencia:

$$-[1 + (n\pi/L)^2] \cdot t/\tau_0 = -t/\tau_n$$

reareglando se tiene:

$$\tau_0 / \tau_n = 1 + (n\pi/L)^2$$

y por lo tanto:

$$\tau_n = \tau_0 / (1 + (n\pi/L)^2)$$

donde τ_n son las constantes de igualación de la carga a lo largo del árbol dendrítico.

También podemos despejar L:

$$(n\pi/L)^2 = (\tau_0 / \tau_n) - 1$$

$$(n\pi/L) = \sqrt{((\tau_0 / \tau_n) - 1)}$$

$$L = (n\pi) / \sqrt{((\tau_0 / \tau_n) - 1)}$$

Donde L es la longitud electrotónica descrita por Rall (1969;1977).

APENDICE G

DERIVACION DE LA CONDICION EN LA FRONTERA EN $X=0$ DEL MODELO DE SOMA MAS CILINDRO EQUIVALENTE (R_m HOMOGENEA).

En este caso para obtener la condición de frontera se tienen que resolver primero la ecuación del circuito RC que representa al soma y segundo la ecuación que representa el flujo de corriente dentro del cilindro:

$$I_s = I_{RS} + I_{CS} \quad \text{o} \quad I_s = V/R_s + C_s \, dV/dt \quad \text{para el soma}$$

$$I_c = (1/r_i)[-dV/dx]_{x=0} \quad \text{para el cilindro}$$

Estas ecuaciones pueden expresarse en términos de $T=t/\tau$ y $X=x/\lambda$, quedando de la siguiente manera:

1) Para la corriente somática:

$$I_s = V/R_s + C_s/\tau \, dV/dT = V/R_s + C_s/(C_s R_s) \, dV/dT = V/R_s + 1/R_s \, dV/dT$$

como $1/R_s = G_s$, entonces factorizando:

$$I_s = G_s(V + dV/dT)$$

2) Para la corriente dentro del cilindro:

$$I_c = (1/r_i)[-dV/dx]_{x=0}$$

Dividiendo por λ para pasar la variable de la distancia, x , a una variable adimensional X :

$$I_c = (1/r_i \lambda) [dV/dX]_{X=0}$$

3) Uniendo soma + cilindro equivalente:

Si aplicamos una corriente (I_A) a través de la membrana en $X=0$, se tiene

$$I_A = I_S + I_C$$

y de las expresiones deducidas arriba se tiene:

$$I_A = G_S [V + dV/dt] + (1/r_i \lambda) [-dV/dX]_{x=0}$$

Haciendo maniobras algebraicas:

$$I_A - [(1/r_i \lambda) [-dV/dX]_{x=0}] = G_S [V + dV/dT]$$

$$[dV/dX]_{x=0} = r_i \lambda [-I_A + G_S [V + dV/dT]]$$

Para $I_A = 0$ tenemos:

$$[dV/dX]_{x=0} / (r_i \lambda G_S) = V + dV/dT$$

De la definición de ρ :

$$\rho = \tanh(L)/\lambda r_i G_S$$

queda:

$$\rho [dV/dX]_{x=0} = (V + dV/dT) \tanh(L)$$

la cual es la condición de frontera en la unión cilindro-soma con R_m homogénea.

APENDICE H

SOLUCION DEL MODELO DE SOMA UNIDO A UN CILINDRO ELECTRICAMENTE EQUIVALENTE (Rm homogénea)

La solución del problema consiste en obtener los coeficientes y las raíces de la solución general que determinen una solución particular especificada por las condiciones de frontera.

- 1) SOLUCION GENERAL DE LA ECUACION DE CABLE
- 2) CONDICION DE FRONTERA EN EL EXTREMO DONDE EL CILINDRO EQUIVALENTE ESTA UNIDO AL SOMA (V en X = 0)
- 3) CONDICION DE FRONTERA EN EL EXTREMO SELLADO (V en X = L)
- 4) CONDICION INICIAL (V en T = 0)

La solución general es (ver derivación de la solución general, apéndice C):

$$V(X,T) = [A \cdot \text{sen}(\alpha(L-X)) + B \cdot \text{cos}(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2) T)$$

Por lo tanto, para obtener una solución particular determinada por las condiciones de frontera tenemos que obtener los valores de A, B y de α .

La solución general de la ecuación de cable para un cilindro finito es:

$$V(X,T) = [B \cdot \text{cos}(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2) T)$$

Ahora usamos la ecuación de frontera en X=0

$$\rho [dV/dX]_{x=0} = (V + dV/dT) \tanh(L)$$

Por lo tanto, tenemos que derivar el voltaje con respecto de X (lado izquierdo) y el voltaje con respecto de T (en el lado derecho).

Derivando el voltaje con respecto de X (en X=0) parte izquierda de la ecuación:

La derivada de:

$$V(X,T) = [B \cdot \cos(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

es:

$$dV/dX = \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) \quad \text{en } (X=0)$$

Sustituyendo este resultado en la ecuación de la condición de frontera en X=0 queda:

$$\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) = (V + dV/dT) \tanh(L)$$

Para resolver el lado derecho de la ecuación se deriva el voltaje respecto a T y se suma a la función que representa el voltaje (X=0).

Derivando

$$V(X,T) = [B \cdot \cos(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

tenemos:

$$dV/dT = [-(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L)] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

Por lo tanto para X=0 y T=0 tenemos:

$$V = B \cos(\alpha L)$$

y

$$dV/dT = -(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L)$$

así que:

$$V + dV/dT = B \cos(\alpha L) + (-(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L)) \quad \text{en } X=0, T=0$$

factorizando B cos(αL) tenemos:

$$V + dV/dT = [1 + -(1 + \alpha^2)] \cdot B \cos(\alpha L)$$

reacomodando signos:

$$V + dV/dT = [1 - 1 - \alpha^2] \cdot B \cos(\alpha L)$$

Por lo tanto:

$$V + dV/dT = -\alpha^2 \cdot B \cos(\alpha L)$$

sustituyendo este resultado en la parte derecha de la ecuación de frontera tenemos:

$$\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) = (-\alpha^2 \cdot B \cdot \cos(\alpha L)) \cdot \tanh(L)$$

despejando $\tanh(L)$:

$$(\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L)) / (-\alpha^2 \cdot B \cdot \cos(\alpha L)) = \tanh(L)$$

eliminando términos:

$$(\rho \cdot \text{sen}(\alpha L)) / (-\alpha \cdot \cos(\alpha L)) = \tanh(L)$$

queda:

$$(\rho / -\alpha) \cdot \tan(\alpha L) = \tanh(L)$$

pues

$$\text{sen}(\alpha L) / \cos(\alpha L) = \tan(\alpha L)$$

Multiplicando por αL :

$$(\alpha L \rho / -\alpha) \cdot \tan(\alpha L) = \tanh(L) \cdot \alpha L$$

y eliminando términos:

$$-L\rho \cdot \tan(\alpha L) = \tanh(L) \cdot \alpha L$$

arreglando algebraicamente:

$$-L\rho / \tanh(L) = \alpha L \cdot 1 / \tan(\alpha L)$$

$$-L\rho / \tanh(L) = \alpha L \cdot \cot(\alpha L)$$

Obtenemos una ecuación trascendental para cuyas raíces definen los valores posibles de α .

Si graficamos estas ecuaciones, el cruce entre las dos será una solución.

Por lo tanto, la ecuación de cable para este modelo queda resuelta con:

$$A = 0$$

B es un coeficiente de Fourier:

$$B = 2/L \int_0^L f(X, T = 0) \cos(\alpha L) dX$$

Aquí las funciones $\cos(\alpha L)$ no son ortogonales.

y α es la raíz de:

$$-L\rho / \tanh(L) = \alpha L \cdot \cot(\alpha L)$$

APENDICE I

DERIVACION DE LA CONDICION EN LA FRONTERA EN $X=0$ EN EL MODELO DE SOMA MAS CILINDRO EQUIVALENTE (R_m HETEROGENEA).

CONDICION DE FRONTERA EN EL EXTREMO DEL CILINDRO EQUIVALENTE UNIDO AL SOMA.

La condición de frontera resulta de resolver el circuito RC del soma y del cilindro equivalente:

$$I_A = I_S + I_C$$

1).- Para la corriente en el soma se tiene:

$$I_S = I_{RS} + I_{CS}$$

En términos de voltaje y resistencia queda:

$$I_S = V/R_S + C \, dV/dt$$

sustituyendo la variable t por T . Donde $T = t/\tau$ y de la igualdad $C_S = \tau_s/R_S$ tenemos ahora:

$$I_S = V/R_S + \tau_s/R_S \cdot 1/\tau_m \cdot dV/dT$$

Factorizando:

$$I_S = 1/R_S (V + \tau_s/\tau_m \, dV/dT) = G_S (V + \tau_s/\tau_m \, dV/dT)$$

Hay que observar que el valor $C/\tau \neq 1$ debido a que $R_{ms} \neq R_{md}$, es decir $\tau_s \neq \tau_m$.

Definiendo $\epsilon = \tau_s / \tau_m$ tenemos:

$$I_S = G_S (V + \epsilon \, dV/dT)$$

Donde ϵ es un parámetro que da cuenta de el corto circuito somático en términos de las constantes de tiempo somática y dendrítica. Valores menores de 1 indican corto circuito somático. Cuando $\epsilon = 1$, se tiene la misma solución que para el modelo con R_m homogénea (Apéndice H).

2).- Para la corriente en el cilindro equivalente se tiene:

$$I_C = 1/r_i \cdot dV/dx$$

Cambiando variable $X = x / \lambda$
 queda:

$$I_C = -1/r_i \cdot \lambda \cdot [dV/dX]_{X=0}$$

3) Uniendo el soma + el cilindro equivalente:

$$I_A = I_S + I_C$$

$$I_A = 1/R_S \cdot (V + \varepsilon \cdot dV/dT) + (-1/r_i \cdot \lambda \cdot [dV/dX]_{X=0})$$

Si $I_A = 0$

$$1/r_i \cdot \lambda \cdot [dV/dX]_{X=0} = 1/R_S \cdot [V + \varepsilon \cdot dV/dT]$$

$$[dV/dX]_{X=0} = r_i \cdot \lambda / R_S \cdot [V + \varepsilon \cdot dV/dT]$$

Como $\rho = R_S / r_i \cdot \lambda \cdot \coth(L)$ se puede sustituir en la ecuación anterior quedando:

$$[dV/dX]_{X=0} = \tanh(L) / \rho \cdot [V + \varepsilon \cdot dV/dT]$$

la cual es la condición de frontera (isopotencialidad) en el extremo del cilindro equivalente que esta unido al soma en el modelo con R_m heterogénea.

APENDICE J

SOLUCION DEL MODELO DE SOMA MAS CILINDRO EQUIVALENTE (Rm HETEROGENEA)

La solución del problema consiste en obtener los coeficientes y las raíces de la solución general para una solución particular específica de las condiciones de frontera.

El problema para este modelo es:

- 1) SOLUCION GENERAL DE LA ECUACION DE CABLE
- 2) CONDICION DE FRONTERA EN EL EXTREMO DONDE EL CILINDRO EQUIVALENTE ESTA UNIDO AL SOMA (V en X = 0)
- 3) CONDICION DE FRONTERA EN EL EXTREMO SELLADO (V en X = L)
- 4) CONDICION INICIAL (V en T = 0)

La solución general de la ecuación de cable es (Apéndice C):

$$V(X,T) = [A \cdot \text{sen}(\alpha(L-X)) + B \cdot \text{cos}(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2) T)$$

Por lo tanto para obtener una solución particular determinada por las condiciones de frontera del modelo tenemos que obtener los valores de A, B y α .

La solución general de la ecuación de cable para un cilindro finito es:

$$V(X,T) = [B \cdot \text{cos}(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2) T)$$

La condición de frontera para el soma en un extremo (en X=0) para el modelo con R_m heterogénea es (Apéndice G):

$$\rho \left[\frac{dV}{dX} \right]_{x=0} = (V + \varepsilon \frac{dV}{dT}) \tanh(L)$$

Por lo tanto, tenemos que derivar el voltaje con respecto de X (lado izquierdo) y el voltaje con respecto de T (en el lado derecho).

Derivando

$$V(X,T) = [B \cdot \cos(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

respecto de X (en $X=0$)

tenemos:

$$dV/dX = \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) \text{ en } (X=0)$$

Sustituyendo este resultado en el lado izquierdo de la ecuación de la condición de frontera en $X=0$ queda:

$$\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) = (V + \varepsilon dV/dT) \tanh(L)$$

Para resolver el lado derecho de la ecuación se deriva:

$$V(X,T) = [B \cdot \cos(\alpha(L-X))] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

respecto a T:

$$dV/dT = [-(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L)] \exp(-(1+\alpha^2)T)$$

Por lo tanto, en $X=0$ y $T=0$ tenemos:

$$V = B \cos(\alpha L)$$

y

$$dV/dT = -(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L)$$

así que:

$$V + \varepsilon dV/dT = B \cos(\alpha L) + \varepsilon (-(1+\alpha^2) \cdot B \cos(\alpha L))$$

factorizando $B \cos(\alpha L)$ tenemos:

$$V + dV/dT = [1 + \varepsilon (-(1+\alpha^2))] \cdot B \cos(\alpha L)$$

o bien:

$$V + dV/dT = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot B \cos(\alpha L)$$

sustituyendo este resultado en la parte derecha de la ecuación de frontera tenemos:

$$\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot B \cos(\alpha L) \cdot \tanh(L)$$

reordenando:

$$(\rho \cdot \alpha \cdot B \cdot \text{sen}(\alpha L)) / (B \cdot \cos(\alpha L)) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot \tanh(L)$$

queda:

$$(\rho \cdot \alpha) \cdot \tan(\alpha L) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot \tanh(\alpha L)$$

pues:

$$\text{sen}(\alpha L) / \cos(\alpha L) = \tan(\alpha L)$$

Multiplicando por αL y arreglando:

$$(L \alpha^2 \rho) \cdot \tan(\alpha L) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot \tanh(\alpha L) \cdot (\alpha L)$$

arreglando algebraicamente:

$$(L \rho) \cdot \tan(\alpha L) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] / (\alpha^2) \cdot \tanh(\alpha L) \cdot (\alpha L)$$

$$L \rho / \tanh(L) = [1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] \cdot (\alpha L) / (\alpha^2) \cdot 1/\tan(\alpha L)$$

$$L \rho \coth(L) = \{[1 - \varepsilon (1 + \alpha^2)] / (\alpha)\} \cdot L \cdot \cot(\alpha L)$$

Obtenemos la ecuación trascendental para encontrar las raíces, e. g. α_n .

Si graficamos estas ecuaciones, el cruce entre las dos será una solución.

Por lo tanto, la ecuación particular de cable para este modelo queda resuelta con:

$$A = 0$$

y α se obtiene de la ecuación trascendental:

B es un coeficiente de Fourier. Sin embargo, aquí las funciones $\cos(\alpha(L-X))$ no son ortogonales y por lo tanto el método para obtener los coeficientes se complica.

APENDICE K
EL PARAMETRO ρ

RAZON DE CONDUCTANCIA SOMATO-DENDRITICA (ρ), O DOMINANCIA DENDRITICA.

Los modelos neuronales pueden incluir un parámetro que nos dé cuenta de la relación existente entre la conductancia del soma y la del árbol dendrítico (Rall, 1977). Se propuso un parámetro que dependiera de cualidades eléctricas y geométricas (Rall, 1959). Este parámetro es la proporción entre la conductancia dendrítica (G_D) con respecto a la conductancia somática (G_S):

$$\rho = G_D/G_S$$

Cada tronco dendrítico presenta una resistencia de entrada, cuya inversa es la conductancia de entrada. La conductancia dendrítica total es la suma de las conductancias de cada tronco dendrítico:

$$G_D = \sum G_{D_j} \quad \text{para } j = 1 \dots n. \text{ y } n \text{ es el número de troncos dendríticos.}$$

La conductancia de entrada de cada tronco dendrítico se puede simplificar si las ramificaciones obedecen la regla de la potencia a los 3/2 y que la R_{md} sea homogénea. Si esto se cumple el árbol dendrítico se puede reducir a un solo cilindro equivalente. Sin embargo, esto no quiere decir que no existan soluciones cuando se tienen variaciones de estas condiciones. En este caso cada rama de un tronco dendrítico, o bien algún segmento de éste que cumpla las restricciones, determinará las condiciones de frontera del segmento anterior (Rall y cols, 1992).

Un método iterativo que sume cada segmento uno a uno dará como resultado la conductancia de entrada total de cada tronco dendrítico.

La parte geométrica de ρ queda explícita en el diámetro dendrítico y en la condición de frontera para un cilindro equivalente (en estado estable, $dV/dt = 0$) (Rall, 1959):

$$B_0 = G_D/G_1$$

Donde B_0 es la condición de frontera, G_D es la conductancia de entrada de un cilindro equivalente con terminales selladas y G_1 es la conductancia de entrada en un cilindro semi-infinito.

y

$$G_1 = (\pi/2)(R_m R_i)^{-1/2} (d)^{3/2}$$

Donde: d es el diámetro (cm), R_m es la resistencia específica de la membrana ($\Omega \text{ cm}^2$) y R_i es la resistencia específica interna (o axoplásmica) ($\Omega \text{ cm}$).

La conductancia de entrada del cilindro semi-infinito tiene una parte geométrica en $d^{3/2}$ y una parte eléctrica en $(R_m R_i)$. La condición de frontera B_0 debe entenderse como la conductancia que existe en la punta de la dendrita; cuando $B_0 = 1$ la punta de la dendrita esta abierta, el cilindro equivalente se continua o tiene un corto-circuito. Cuando $B_0 > 1$ la punta de la dendrita esta ramificada. También se muestra que el efecto de varios árboles dendríticos no es igual a una suma o promedio de los diámetros de los troncos, antes bien, es una suma del diámetro a la $3/2$.

Para un tronco dendrítico ramificado:

$$\sum G_{D_j} = (\pi/2)(R_i)^{-1/2} \cdot \sum B_{0j} (d_{0j})^{3/2} \cdot R_m^{-1/2}$$

Para el soma isopotencial unido al árbol dendrítico:

$$C_S = A_s / R_{ms}$$

donde C_s = capacitancia somática, A_s = área somática y R_{ms} es la resistencia específica de la membrana somática ($\Omega \text{ cm}^2$).

por lo tanto para el caso donde $R_m \neq R_{ms}$:

$$\rho = (\pi/2)(R_i)^{-1/2} \cdot [(\sum B_{0j} (d_{0j})^{3/2})/A_s] \cdot R_m^{-1/2} \cdot R_{ms}$$

si $R_m = R_{ms}$

$$\rho = (\pi/2)(R_i)^{-1/2} \cdot [(\sum B_{0j} (d_{0j})^{3/2})/A_s] \cdot R_m^{1/2}$$

De esta ecuación se deduce que si R_i es constante y si $B_{0j} = 1$ (cilindro semi-infinito), el valor de ρ depende de la raíz cuadrada de R_m . A mayor R_m mayor ρ .

Es evidente que en la práctica el cálculo de G_D resulta complicado. Sin embargo, el valor de ρ puede ser estimado de una manera más sencilla cuando se conoce el área dendrítica de una neurona.

$$\rho = G_D/G_S \quad \text{y} \quad G_D = A_d/R_{md}, \quad G_S = A_s/R_{ms}$$

A partir de la curva corriente-voltaje se obtienen la resistencia y la conductancia de entrada neuronales:

$$G_N = 1/R_N$$

que guarda la siguiente relación con las conductancias dendrítica y somática:

$$G_N = G_S + G_D$$

es entonces:

$$\rho = A_D R_{ms} / A_S R_{md}$$

para el caso $R_{ms} = R_{md}$, ρ es una razón de áreas. Pero cuando $R_{ms} < R_{md}$, ρ es más pequeña que lo esperado cuando R_m es homogénea. Para el caso de $R_{ms} < R_{md}$, $\rho < A_D/A_S$.

Definimos β para tener un estimado de las diferencias en R_m entre soma y dendritas:

$$\beta = R_{md} / R_{ms}$$

si β la multiplicamos por ρ , tendremos nuevamente una razón de áreas:

$$\rho \beta = (A_D R_{ms} / A_S R_{md}) (R_{md} / R_{ms}) = A_D / A_S$$

El sentido de ρ es dar un estimado de la dominancia dendrítica; con dos casos extremos: $\rho = 0$, neurona con sólo soma; y $\rho = \infty$, neurona sólo con dendritas. Hasta aquí se han tratado los casos de resistencia de membrana homogénea y heterogénea; sin embargo, cuando el soma es mas grande que el árbol dendrítico se obtiene una ρ pequeña. Este último caso se tiene que tomar en cuenta en este tipo de neuronas para calcular su longitud electrotónica (L), ya que requerirá un factor de corrección.

APENDICE L

PROGRAMA HR1

HR 1

VER 1.0

REQUERIMIENTOS:

Se requiere una computadora PC compatible 386 o mayor, con disco duro, programa Windows^R Version 3.1 y monitor VGA.

El programa está escrito en lenguaje VisualBasic^R Version 1.0 y ocupa 1200 kbytes.

Se suministra en un disco blando de alta densidad (3 1/2 o 5 1/4) para ser instalado en disco duro.

AREA DE APLICACION:

Enseñanza

Este programa puede ser utilizado como apoyo académico en las siguientes asignaturas, a nivel de Licenciatura, Maestría y Doctorado.

MEDICINA: Area: Fisiología y Neurofisiología
BIOLOGIA: Area: Biomedica, Biofísica y Fisiología
INGENIERIA: Area: Biomedica y Bioelectrónica
Y AFINES

PROPOSITO:

Modernización de la enseñanza

PANTALLA DE PRESENTACION

Al entrar al programa aparece una pantalla de presentación (fig 1) luego de la cual aparece un templete donde se proporcionan los datos de entrada por el usuario.

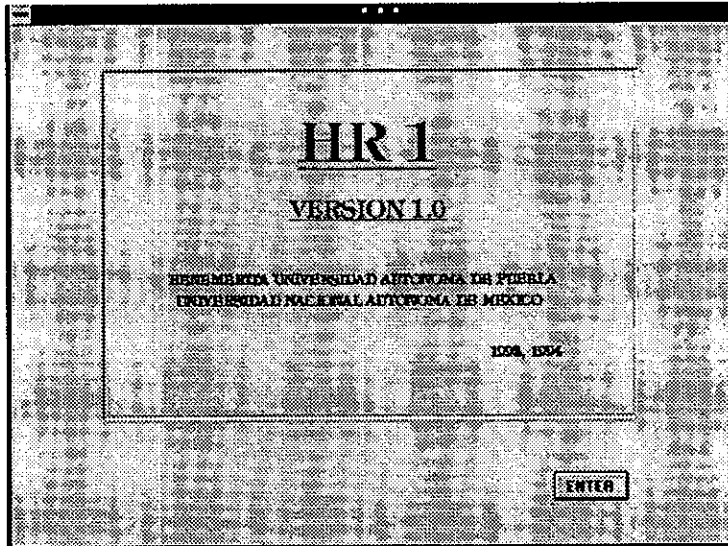


Fig. 1

PANTALLA DE ENTRADA DE DATOS

En esta pantalla (fig 2) se presentan cada uno de los datos que debe proporcionar el usuario para simular una fibra nerviosa. En un recuadro adjunto se proporciona para cada uno, una definición y sus unidades correspondientes. En la fila superior se despliega un menù (FILE, ABOUT, PREVIOUS INFORMATION).

FILE: permite salir del programa;

ABOUT: proporciona autores del programa (fig 3) y

PREVIOUS INFORMATION: despliega pantallas acerca de la "teoría del cable" y una tabla de equivalencias de la nomenclatura de Hodgkin y Roshton y la nomenclatura actual.(fig 4 y 5).

Los datos que se proporcionan son el diámetro de la fibra, la resistencia de la membrana (r_m), la resistencia externa (r_e), la resistencia interna (r_i), la capacitancia específica de la membrana (C_m) y la intensidad del estímulo. Cada uno de estos parámetros se seleccionan a partir de la barra moviendo con el ratón el indicador. Los valores son presentados en cada uno de los recuadros correspondientes. El programa esta protegido al no dejar pasar a la siguiente pantalla si es que alguno de los valores es cero.

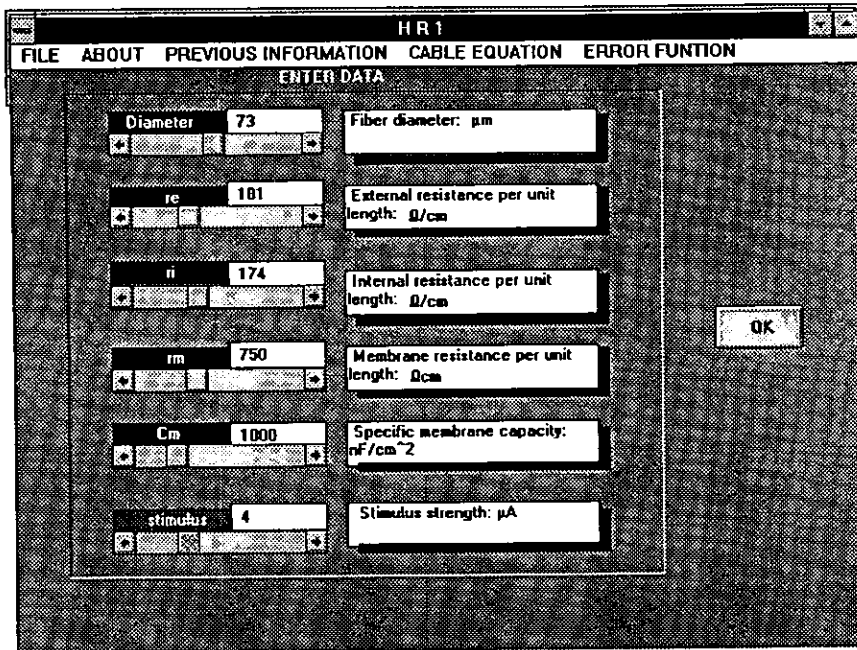


Fig. 2

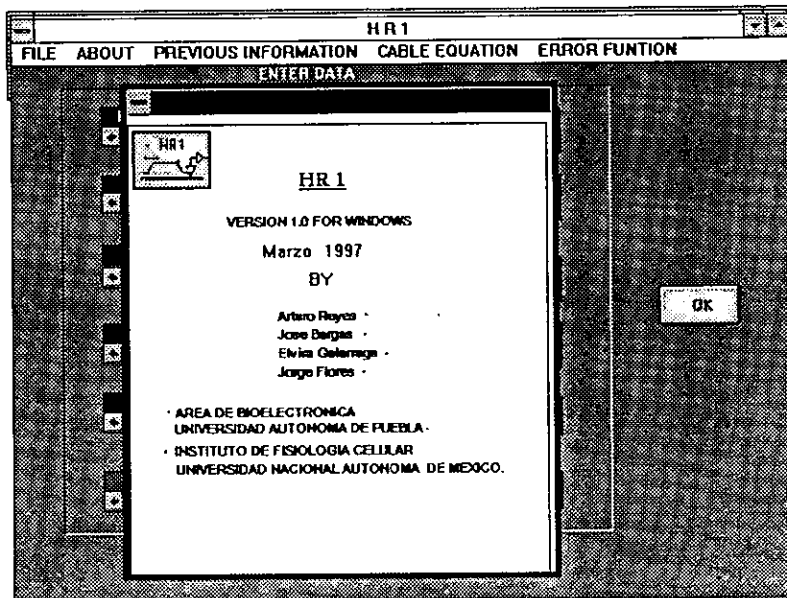


Fig. 3

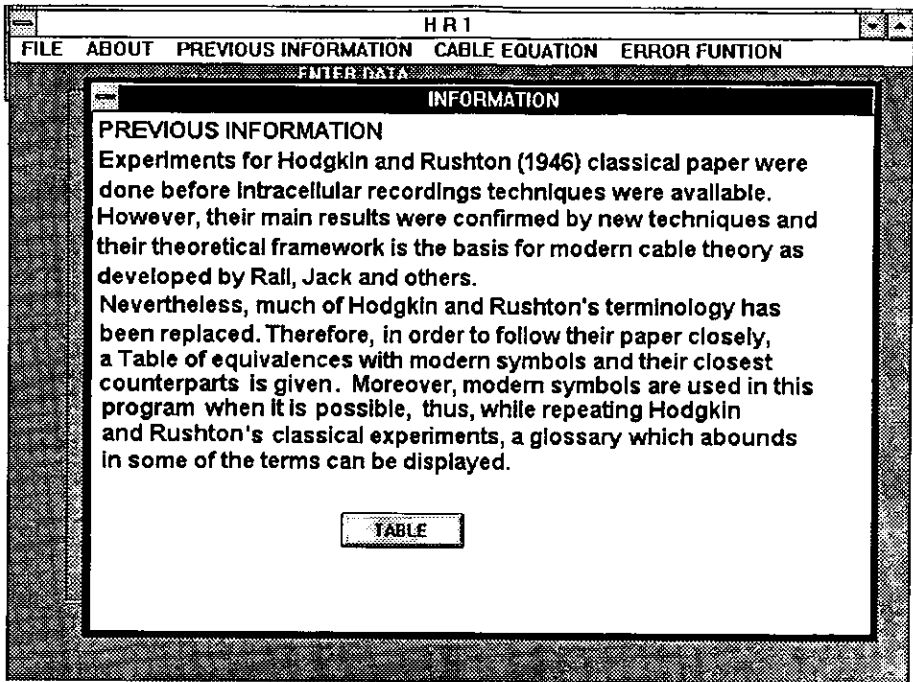


Fig. 4

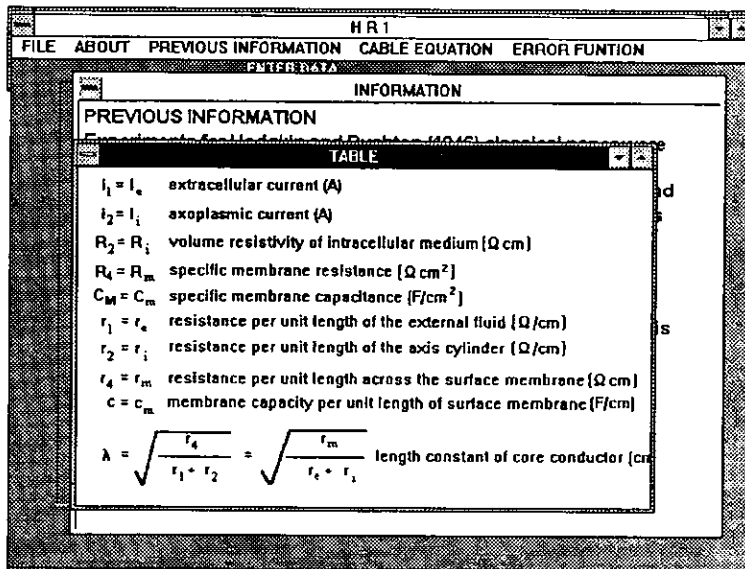


Fig. 5

Al hacer click en el botón OK se pasa a la siguiente pantalla donde se muestra la disposición experimental para obtener potenciales extrapolares.

PANTALLA DE REGISTRO EXTRAPOLAR

En esta pantalla (fig 6), se muestra un recuadro oscuro que hace las veces de pantalla de osciloscopio donde se presentan los potenciales extrapolares. Se encuentran los botones STIMULUS, RESET, TIME CONSTANT, LENGTH CONSTANT, R-input EQUIVALENT (γ) e INTERPOLAR REGION.

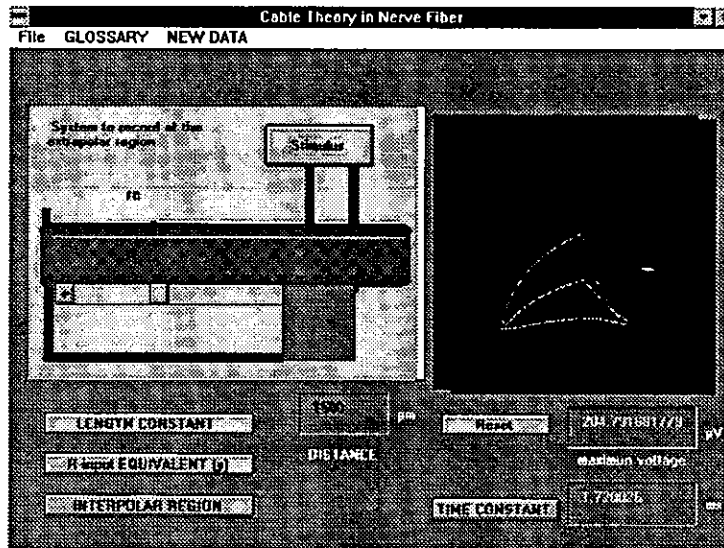


Fig. 6.

STIMULUS: Es el botón que al hacer click en el da un estímulo de corriente a la fibra con la intensidad previamente seleccionada en la pantalla de datos de entrada. El registro de los potenciales se visualiza entonces en el osciloscopio. La distancia a la cual se colocan los electrodos de registro puede ser seleccionada por medio de la barra "scroll" al correr el indicador con el ratón. dicha distancia es presentada en el recuadro DISTANCE. El voltaje máximo que alcanza cada uno de los registros es presentado en la ventana de máximo voltaje (V).

El botón RESET permite borrar los trazos presentados en el osciloscopio.

El botón TIME CONSTANT: al hacer click en el se presenta el valor de la constante de tiempo para esa fibra. Este valor solo se puede calcular cuando los electrodos de registro se encuentran colocados en la distancia cero. en caso de no estar en esta distancia aparece una ventana de aviso para que coloque los electrodos de registro en dicha distancia (fig 7).

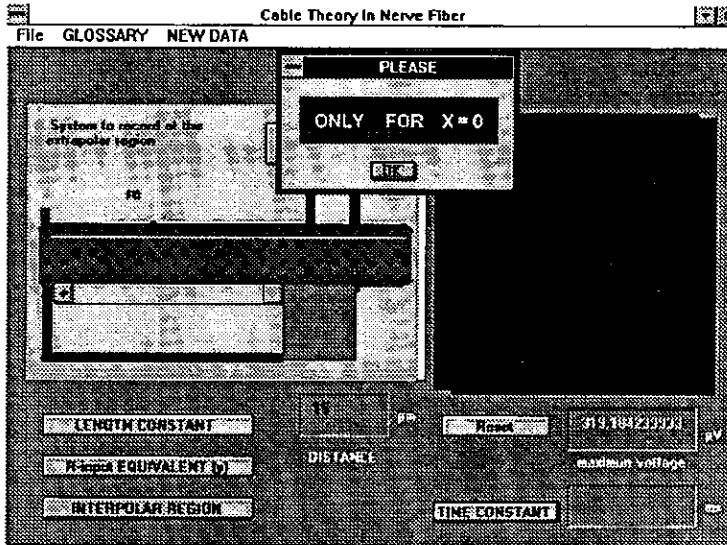


Fig. 7.

En la línea superior se encuentra un menú con FILE, GLOSSARY y NEW DATA. FILE: permite salir del programa. GLOSSARY despliega un submenú de ayuda que explica cada uno de los conceptos que se muestran en la pantalla como son constante de tiempo, región extrapolar, etc. (fig 8, 9, 10)

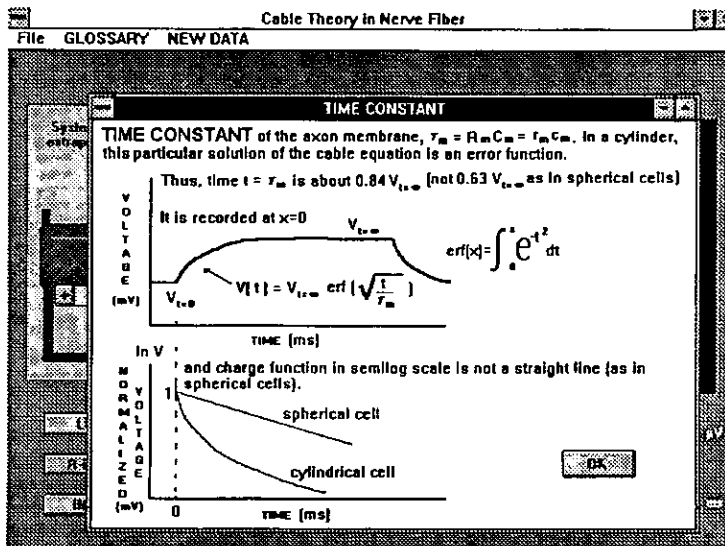


Fig. 8.

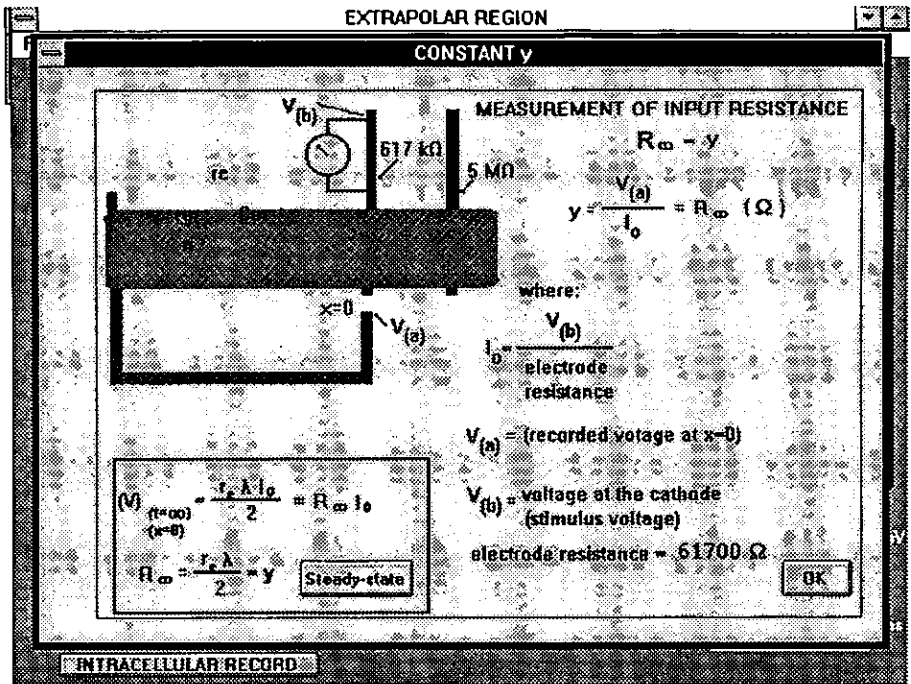


Fig. 9

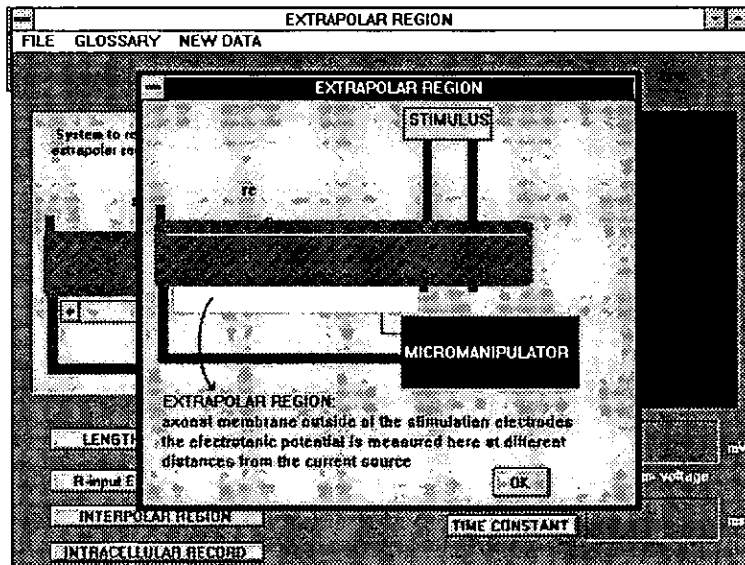


Fig. 10

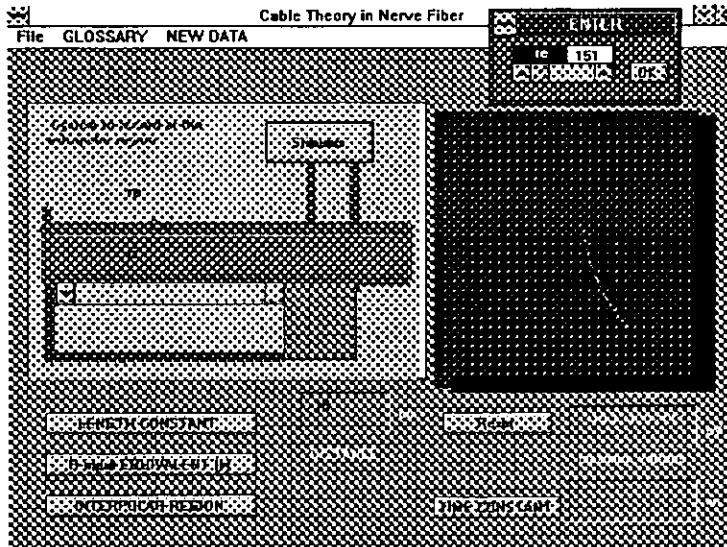


Fig. 11.

NEW DATA: permite modificar cada uno de los datos de entrada por separado (fig 11) y ver si se presentan modificaciones en la constante de tiempo. En este punto el usuario podrá determinar que variables están involucradas en su valor y de que manera lo hacen.

Los botones **LENGTH CONSTANT**, **R-input EQUIVALENT** (γ) e **INTERPOLAR REGION** pasa a nuevas pantallas donde se puede calcular la constante de espacio de la fibra, el parámetro (γ) y hacer registros en la región interpolar.

PANTALLA DE CONSTANTE DE ESPACIO

Si se hace click en el botón **LENGTH CONSTANT** se pasa a una nueva pantalla donde se presentan dos recuadros en los que se grafican el voltaje con respecto a la distancia y una gráfica semilogarítmica cuya inversa de su pendiente es la constante de espacio. Se encuentra un botón **GO** que al hacer click en el se realiza el graficado. y en un recuadro pequeño se muestra el valor de la constante de espacio. En la línea superior se encuentra un menú donde se puede encontrar ayuda acerca de que es y como se calcula la constante de espacio (fig 12). En **NEW DATA**: al hacer click en esta región se regresa a la pantalla de registro extrapolar donde se pueden dar nuevos datos, realizar los registros extrapolares correspondientes y luego pasar a **LENGTH CONSTANT** nuevamente, hacer el graficado correspondiente y ver si cambió la constante de espacio. De esta manera el usuario podrá determinar que parámetros esta involucrados en el cálculo de la constante de espacio. Se espera que se pueda proporcionar una ecuación empírica.

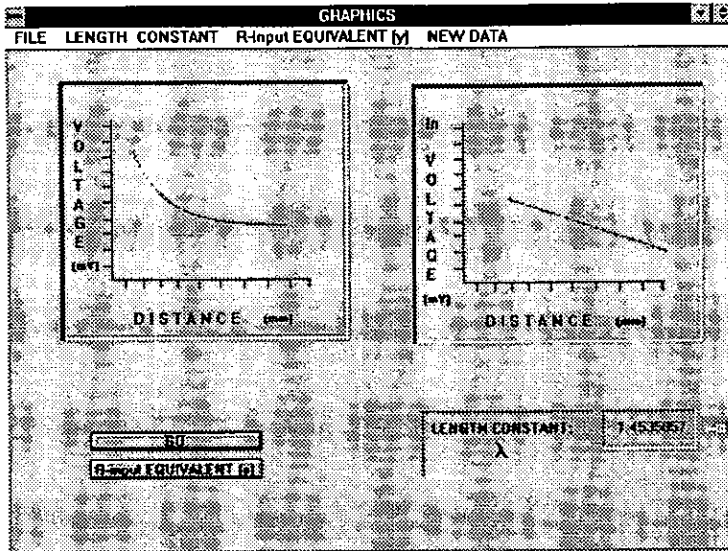


Fig. 12.

En el renglón superior se encuentra un menú de ayuda donde LENGTH CONSTANT proporciona una pantalla de ayuda que indica como se obtiene la constante de espacio (fig 13).

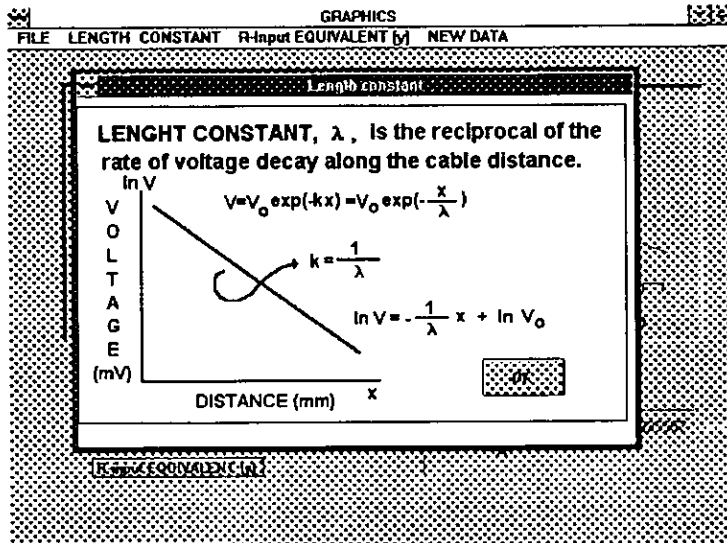


Fig. 13.

En R-input EQUIVALENT (y) se pasa a una nueva pantalla.

PANTALLA CONSTANTE (Y)

En esta pantalla (fig 14) se encuentra en un recuadro a la izquierda la disposición experimental para hacer un estímulo y registrar a la distancia cero y se proporciona el valor de la resistencia del electrodo de estímulo (61700 ohm). a la derecha se encuentran tres recuadros donde se proporciona, en el superior, el voltaje máximo alcanzado por el registro extrapolar en la distancia cero, en el del medio se muestra el voltaje de estímulo calculado por la ley de Ohm y en el de abajo se muestra el parámetro (y) calculado. En el menú de la línea superior GLOSSARY: proporciona la ayuda correspondiente a cada uno de los términos que se encuentran en esta pantalla y como es que se obtienen.

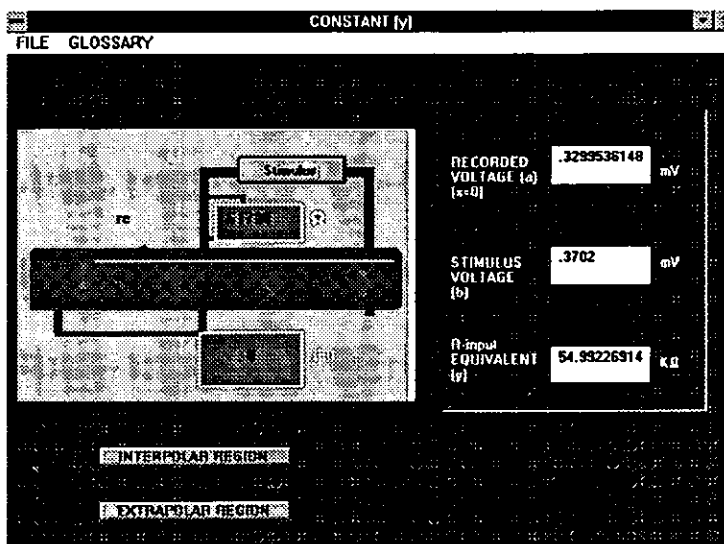


Fig. 14.

El botón EXTRAPOLAR REGION: regresa a la pantalla donde se hacen los registros extrapolares y poder modificar los valores de entrada y ver su relación con el parámetro (y).

El botón INTERPOLAR REGION: permite el paso a una nueva pantalla.

PANTALLA DE REGION INTERPOLAR

En esta pantalla (fig 15) se presenta en el lado izquierdo la disposición experimental para realizar registros medio-interpolares. Presenta un botón de STIMULUS y una barra para modificar el lugar de los electrodos de registro. Al lado derecho se presenta un recuadro que hace las veces de osciloscopio donde se muestran los trazos registrados. Se tiene un botón de RESET para borrarlos, un recuadro que marca el máximo voltaje, un recuadro que marca la distancia donde están colocados los electrodos de registro y un recuadro donde se presenta la resistencia calculada de acuerdo a la ley de Ohm. En la línea superior se encuentra un menú con GLOSSARY que proporciona la ayuda correspondiente a cada uno

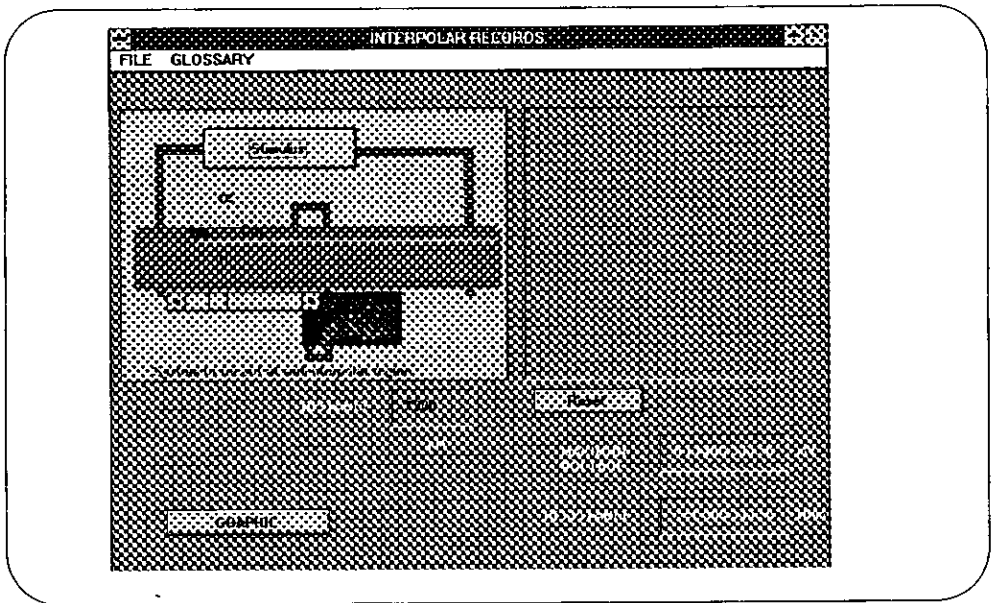


Fig. 15.

de los términos que aparecen en la pantalla y como es que se obtiene la resistencia, así como la explicación de la región media-interpolares (fig. 16).

El botón GRAPHIC: lleva a una nueva pantalla.

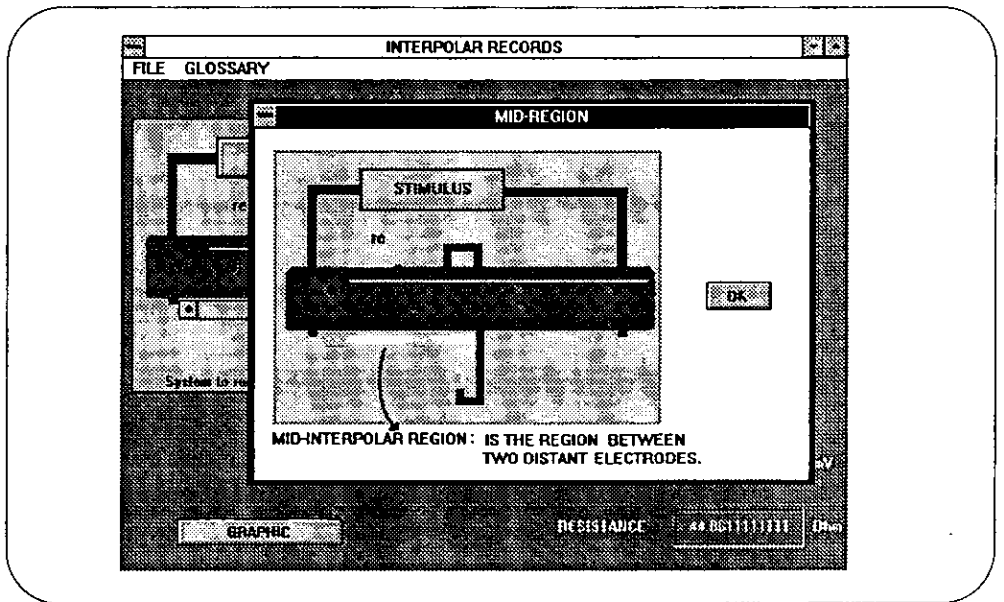


Fig. 16

PANTALLA GRAFICA

En esta pantalla se gráfica la resistencia con respecto a la distancia (fig 17). En el lado izquierdo se presenta la gráfica y en la mitad derecha se presentan tres recuadros donde se obtiene el parámetro (m), la resistencia específica interna de la fibra, la resistencia específica de la membrana al hacer click en los correspondientes botones.

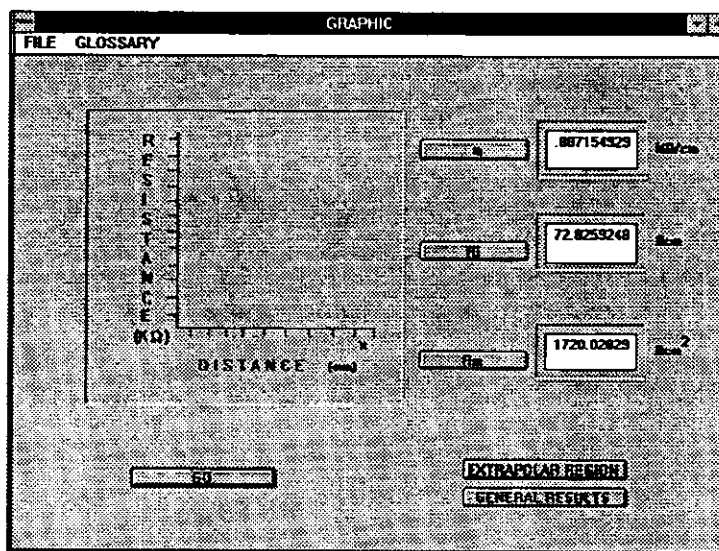


Fig. 17.

En el GLOSSARY se muestra la ayuda correspondiente explicando que es y como se obtienen cada uno de estos parámetros (fig 18, 19, 20).

En caso de que algún experimento faltara por hacer y por lo tanto alguno de estos parámetros tomara el valor de cero se presenta una ventana de información que indica que paso seguir y no permite avanzar a una nueva ventana.

El botón EXTRAPOLAR REGION: lleva a esa pantalla y se reanudan los pasos experimentales.

El botón GENERAL RESULTS: Lleva a una nueva pantalla.

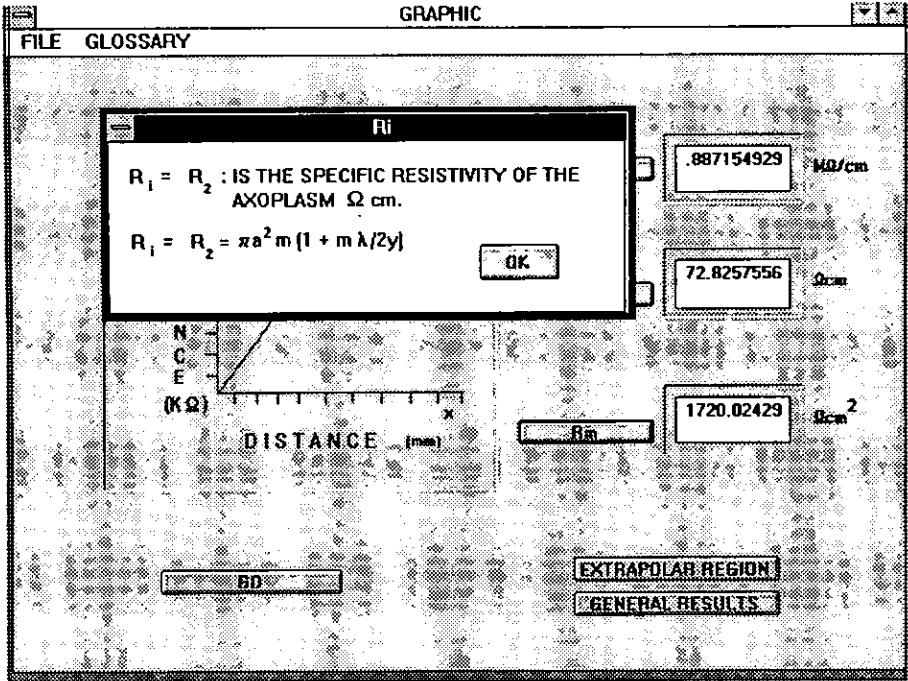


Fig. 18

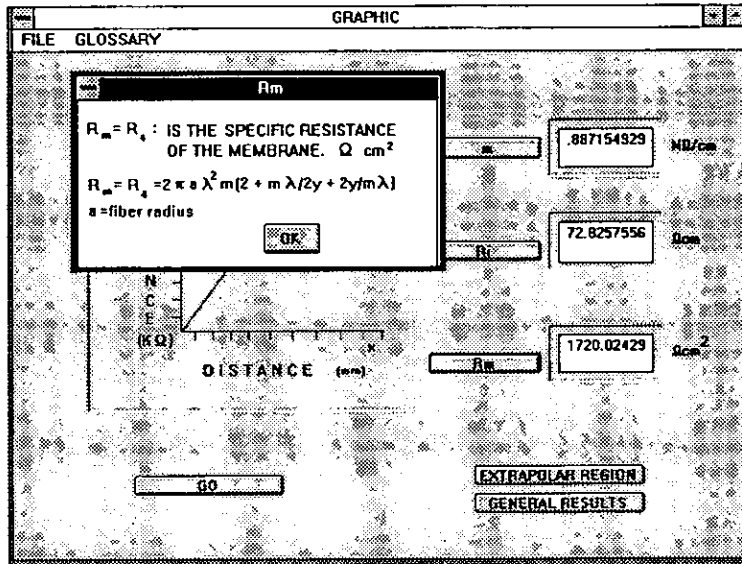


Fig. 19

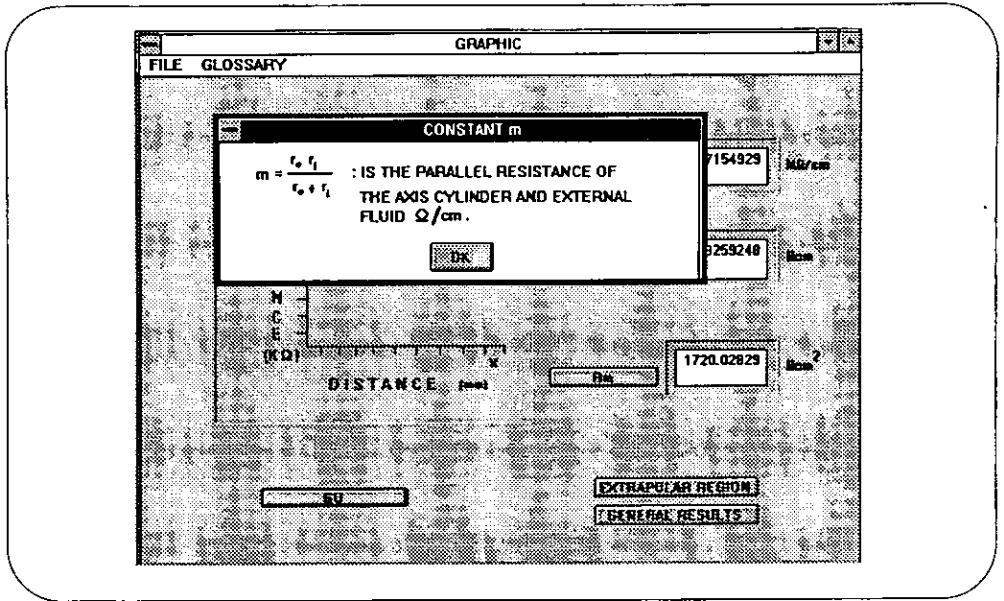


Fig. 20

PANTALLA DE RESULTADOS

En esta pantalla se listan los resultados (Fig. 21). Si por alguna razón no se calculó la constante de tiempo aparece un recuadro que lo indica y nos lleva a la región extrapolar para calcularla.

El botón RESULTS: al hacer click en él, se muestran los resultados

El botón NEW DATA: nos lleva a la pantalla donde se dan todos los parámetros iniciales.

El botón EXIT finaliza el programa

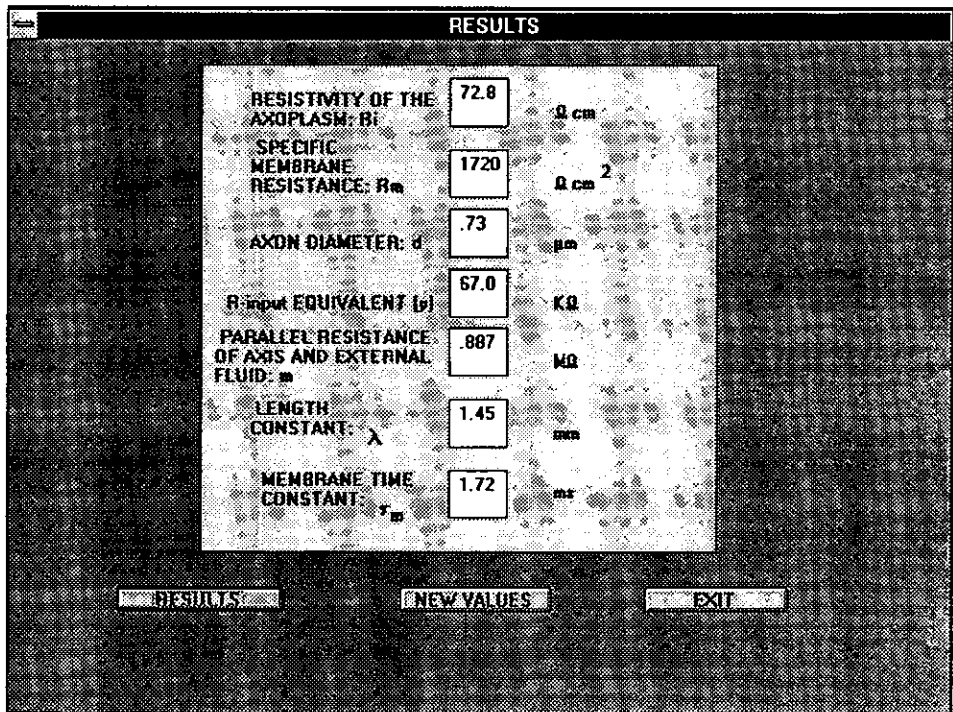


Fig. 21

**PROGRAMA PARA LA SIMULACION Y EL CALCULO DE
LA RESISTENCIA DE ENTRADA DE UN TRONCO
DENDRITICO CON PARAMETROS SELECCIONABLES**

REYES LAZALDE Arturo (1) BARGAS DIAZ José (2)

GALARRAGA PALACIO Elvira (2)

1. Area de Bioelectronica - Centr. Invest. Dispositivos Semiconductores
Universidad Autonoma de Puebla (UAP)
2. Instituto de Fisiologia Celular - Univ. Nac. Auton. México (UNAM)

MEXICO

RESUMEN Se propone un programa de cómputo para simular el comportamiento electrofisiológico de troncos dendríticos a partir de la selección de la resistencia específica de membrana, resistencia interna, diámetro y longitud. El programa está basado en la aproximación analítica del modelo de neurona de estado estático de RALL (1959 y 1977). Su objetivo principal es proporcionar una herramienta para estudiar la influencia que tienen las referidas variables sobre la resistencia de entrada de un tronco dendrítico y así efectuar simulaciones que correspondan a datos experimentales.

La habilidad de una neurona para sumar e integrar entradas sinápticas depende de las características lineales y no lineales de la membrana celular correspondiente a los troncos dendríticos. Las características morfológicas incluyen el detalle topológico del árbol dendrítico y las dimensiones (longitud y diámetro) de las ramas dendríticas y del cuerpo celular (9). Un modelo de neurona que represente fielmente a una neurona real implica el conocimiento detallado de estas características.

Sin embargo, en situaciones especiales el árbol dendrítico puede ser representado por un cilindro eléctricamente equivalente unido a un circuito RC en paralelo que representa al soma celular, como fue propuesto por RALL (10) (11). En estas circunstancias, la resistencia específica de membrana (R_m), la resistencia interna (R_i) y el diámetro (d) pueden ser constantes (10), o bien variar el diámetro hasta terminar en un cono truncado o en punta (12). Rall y Tsien (12) han propuesto que la contribución de las espinas estaría representada simplemente por un aumento en la superficie dendrítica.

Cuando el modelo estudiado supone variaciones en la resistencia R_m a lo largo del tronco dendrítico, entonces es útil un modelo compartamental. Sin embargo, un modelo que incluyese todas las características de la neurona resultaría complicado y sería específico sólo para esa neurona. Esta complejidad ha forzado a realizar aproximaciones razonables al estableciendo fórmulas que utilizan parámetros definidos de los datos experimentales.

Un primer paso es hacer representaciones simples de árboles dendríticos complicados por medio de un "dendrograma" donde cada rama es un segmento cilíndrico del mismo o diferentes diámetros y con R_m y R_i específicos (12). Si el problema a resolver permite una complejidad menor, entonces cada uno de los cilindros pueden sumarse hasta lograr un cilindro equivalente único que puede ser dividido en segmentos con diámetro, R_m y R_i variables.

Las ecuaciones propuestas por RALL (10) para calcular la conductancia de entrada para cada segmento de longitud "l" y diámetro "d" son:

$$G_{\text{entrada}} = G_{\text{in}} \cdot \frac{(G_{\text{entrada}} / G_{\text{in}}) + \tanh(l/\lambda)}{1 + (G_{\text{entrada}} / G_{\text{in}}) \cdot \tanh(l/\lambda)} \quad [1]$$

donde G_{entrada} es la conductancia de entrada del segmento, G_{in} es la conductancia en la parte distal del segmento y G_{∞} es la conductancia en un cilindro eléctricamente equivalente y de longitud semi-infinita:

$$G_{\infty} = (\pi/2) \cdot (d)^{3/2} \cdot (R_m \cdot R_i)^{-1/2} \quad [2]$$

donde d es el diámetro del segmento, R_m es la resistencia específica de la membrana y R_i es la resistencia interna del citoplasma.

La constante de espacio (λ) está dada por:

$$\lambda = (d/4)^{1/2} \cdot (R_m / R_i)^{1/2} \quad [3]$$

La conductancia de entrada de la neurona (G_{neur}) está representada por:

$$G_{\text{neur}} = G_{\text{soma}} + G_{\text{dend}} + G_{\text{axon}} \quad [4]$$

donde G_{soma} es la conductancia somática, G_{dend} es la conductancia de entrada del tronco dendrítico y G_{axon} es la conductancia del axón.

DESCRIPCION DEL ALGORITMO

El cálculo de la resistencia de entrada se efectúa resolviendo iterativamente las ecuaciones presentadas en la introducción, iniciando con $G_{\text{distal}} = 0$ para el segmento distal del árbol dendrítico, los cálculos de G_{entrada} de los siguientes segmentos toman el valor de G_{distal} del segmento anterior. Las variaciones en R_m , R_i y d pueden tomar valores de acuerdo a una función dentro de un intervalo especificado por el usuario. Las funciones propuestas en este programa están de acuerdo a los modelos de motoneuronas cuando un modelo con R_m homogénea no ajustó los datos experimentales (3).

EQUIPO FISICO Y HERRAMIENTAS DE PROGRAMACION

El programa fue escrito en lenguaje "Quick BASIC" versión 4.5 en una "PC-compatible" con 640 K de RAM y monitor CGA.

FUNCIONAMIENTO DEL PROGRAMA

Se presenta al usuario un menú principal con 5 opciones:

- 1).- R_m , R_i (fijos) y diámetro (variable).
- 2).- R_m diámetros (fijos) y R_i (variable).
- 3).- Diámetro, R_i (fijos) y R_m (variable).
- 4).- Multivariable (R_m , R_i y diámetro variables).
- 5).- Salir del programa.

Después de seleccionar, el programa pide la entrada de datos de las constantes, la longitud total del cilindro y el número de segmentos en que se ha de dividir. Los valores de R_m y R_i tienen como unidades $\Omega \cdot \text{cm}^2$ y $\Omega \cdot \text{cm}$ respectivamente, en tanto que la longitud total y de cada segmento está dada en cm. Los datos del parámetro variable son solicitados como un intervalo con valores máximo y mínimo. En seguida se presenta un menú con 8 opciones para seleccionar la manera en que varía longitudinalmente el diámetro del segmento:

- 1).- Disminución en un porcentaje (sistemático).
- 2).- Disminución en un porcentaje (no sistemático).
- 3).- Incremento en un porcentaje (sistemático).
- 4).- Incremento en un porcentaje (no sistemático).
- 5).- Función sigmoidea.
- 6).- Función seno.
- 7).- Función lineal.
- 8).- Decremento lineal.
- 9).- Azar.

Cada una de estas opciones es la manera en que cambiará el parámetro variable en función de la distancia, partiendo de la parte proximal conectada con el soma hasta la parte distal del cilindro.

La variación sistemática significa un cambio gradual constante. La variación no sistemática significa un cambio no lineal con una tendencia determinada a aumentar o a disminuir. La opción cuatro del menú principal (multivariable) permite hacer una representación dirigida por el usuario, valiéndose de datos experimentales para cada segmento. Esta opción, por lo tanto, no permite el paso al menú de funciones. Los valores de cada variable son proporcionados por el usuario.

De esta manera, el usuario, una vez que ha reproducido un tronco dendrítico real en un modelo de cilindro único puede dividirlo en segmentos donde hay variaciones ostensibles en el diámetro y proporcionar valores de R_m y R_i calculadas para el caso particular.

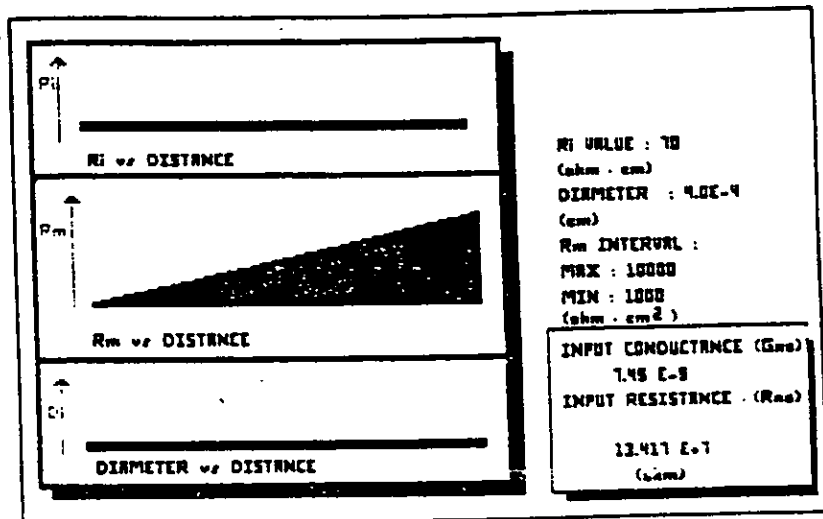


Fig. 1 Pantalla de presentación de resultados. Las tres graficas de la izquierda representan de arriba a abajo: R_i , R_m y d . El cambio de amplitud en R_m representa su variación a lo largo del cilindro equivalente. A la derecha se muestran los valores de R_i , d y el valor máximo y mínimo de R_m propuesto para la simulación.

Los resultados son presentados numérica y gráficamente en una pantalla con tres ventanas para los valores de R_m , R_a y diámetro que se despliegan en forma de barras, donde la amplitud es el valor que cambia con la distancia. A un lado de las ventanas se muestran los valores de las constantes, el valor máximo y mínimo del parámetro variable y los valores de conductancia y resistencia total de entrada del árbol dendrítico (Fig. 1).

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Seleccionamos la opción 3 del menú principal, donde R_m es el parámetro variable, y damos los valores de $70 \Omega \cdot \text{cm}$ para R_m , 0.0004 cm de diámetro, una longitud total de 0.025 cm , dividimos el cilindro en 30 segmentos y damos un máximo de 10000 y un mínimo de $1000 \Omega \cdot \text{cm}$ de R_m . En seguida, aparece el menú de funciones y seleccionamos la opción 8 (incremento lineal). El resultado de la simulación nos da una resistencia de entrada del árbol dendrítico de $134.17 M\Omega$ (Fig. 1).

Ejemplo 2: Seleccionamos la opción 1 del menú principal y proporcionamos los siguientes valores $R_m = 3000 \Omega \cdot \text{cm}^2$, $R_a = 70 \Omega \cdot \text{cm}$, una longitud total de 0.025 cm , dividido en 30 segmentos y un máximo de 0.0001 cm de diámetro. Seleccionamos la opción 7 del menú de funciones (decremento lineal), la resistencia de entrada del árbol dendrítico que resulta es de $72.21 M\Omega$ (Fig. 2).

CONCLUSION

El programa puede ser utilizado sin que se tenga un conocimiento especializado de computación. Permite al usuario ponderar la contribución de las diferentes variables (R_m , R_a , y d) a la resistencia de entrada de un tronco dendrítico (R_{entrada}) o hacer simulaciones con valores de R_m , R_a , y d que ajusten la resistencia de entrada de la célula (R_{entrada}), calculada de la curva corriente-voltaje de los datos experimentales. En la simulación R_a puede tomar el valor de 70 a $150 \Omega \cdot \text{cm}$, característico en células de mamíferos, y estimar d a partir de reconstruir la neurona. En caso de que los datos fisiológicos de la neurona apoyen el que todo el árbol dendrítico pueda ser reducido a un cilindro eléctricamente equivalente, entonces la simulación será válida no sólo para uno de los troncos sino para todo el árbol dendrítico de la neurona.

Nota: El programa está a disposición de los interesados. Enviar disco para su copia.
A.P. 1259 Puebla, Pue.

BIBLIOGRAFIA

1. BARGAS J., GALARRAGA E. y ACEVES J. Electrotonic properties of neostriatal neurons are modulated by extracellular potassium. *Exp. Brain Res.* 72: 390-398; 1988.
2. BROWN T. H., PERKEL D. H., NORRIS J. C. y PEACOCK J. H. Electrotonic structure and specific membrane properties of mouse dorsal-root-ganglion neurons. *J. Neurophysiol.* 45: 1-15; 1981.
3. FLESHMAN J. W., SEGEV I. y BURKE R. E. Electrotonic architecture of type-identified α - motoneurons in the cat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 60: 60-85; 1988.

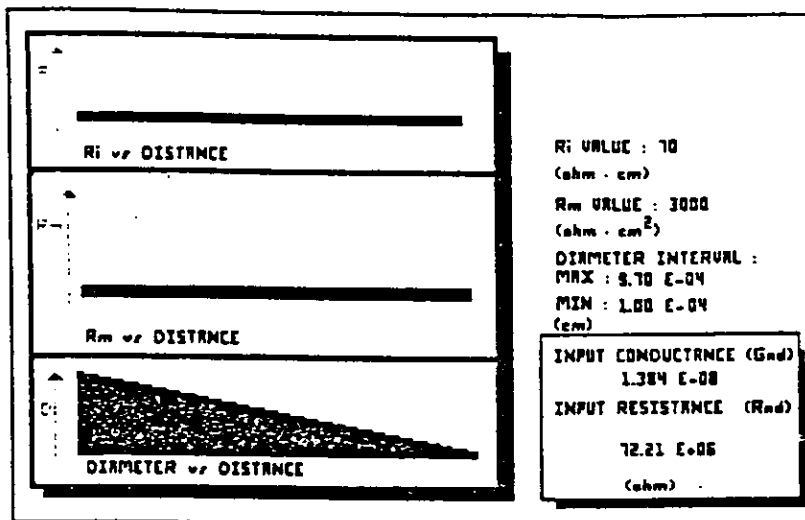


Fig. 2 Resultado de la simulación al escoger la opción 1 del menú principal. La variable es el diámetro, y los valores de Ri y Rm son fijos.

9. NITZAN R., SEGEV I. y YAROM Y. Voltage behavior along the irregular dendritic structure of morphologically and physiologically characterized vagal motoneurons in the guinea pig. *J. Neurophysiol.* 63: 333-346; 1990.

10. RALL W. Branching dendritic trees and motoneuron membrane resistivity. *Exp. Neurol.* 1: 491-527; 1959.

11. RALL W. Core conductor theory and cable properties of neurons. In: *Handbook of Physiology. The Nervous System.* Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 1, vol. 1, 39-97; 1977.

12. RALL W., BURKE R. E., HOLMES W. R., JACK J. J. B., REDMAN S. J. y SEGEV I. Matching dendritic neuron models to experimental data. *Physiol. Rev.* 72: 159-186; 1992.

13. SHELTON D. P. Membrane resistivity estimated for the Purkinje neuron by means of a passive computer model. *Neuroscience.* 14: 111-131; 1985.

- 14 STALEY K. J., OTIS T. S. y MODY I. Membrane properties of dentate gyrus granule cells: Comparison of sharp microelectrode and whole-cell recordings. *J. Neurophysiol.* 67: 1346-1358; 1992.
4. HOLMES W. R. y RALL W. Estimating the electrotonic structure of neurons with compartmental models. *J. Neurophysiol.* 68: 1438-1452; 1992.
5. HOLMES W.R., SEGEV I. y RALL W. Interpretation of time constant and electrotonic length estimates in multicylinder or branched neuronal structures. *J. Neurophysiol.* 68: 1401-1420; 1992.
6. JACK J. J. B., NOBLE D. y TSIEN R. W. Electric current flow in excitable cells. Oxford, U. K. Clarendon; 1975.
7. JOHNSTON D. Passive cable properties of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Cell. Mol. Neurobiol.* 1: 41-55; 1980.
8. MIROLI M. y TALBOTT S. R. The geometrical factors determining the electrotonic properties of a molluscan neurone. *J. Physiol.* 227: 19-34; 1972.

BIBLIOGRAFIA

Agmon-Snir H, Segev I. Signal delay and input synchronization in passive dendritic structures. *J. Neurophysiol.* 70(5): 2066-2085; 1993.

Arthurs AM, Arthurs WM. Pointwise bounds for the solution of a nonlinear problem in cell membrane theory. *Bull. Math. Biol.* 45: 155-168; 1983.

Baimbridge KG, McLennan PMJ, Church J. Bursting response to currents-evoked depolarization in rat CA1 pyramidal neurons is correlated with Lucifer Yellow dye coupling but not with the presence of calbindin-D28k. *Synapse* 7:269-277; 1991.

Bargas J, Galarraga E, Aceves J. Electrotonic properties of neostriatal neurons are modulated by extracellular potassium. *Exp. Brain Res.* 72:390-398; 1988.

Barrett JN, Crill WE. Specific membrane properties of cat motoneurons. *J. Physiol. (Lond.)* 239:301-324. 1974.

Bennett MVL, Spray DC, Harris AL. Electrical coupling in development. *Am. Zool.* 21:413-427; 1981.

Bloomfield SA, Hamos SE, Sherman SM. Passive cable properties and morphological correlates of neurons in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. Physiol. Lond.* 383:653-692; 1987.

Bluman GW, Tuckwell HC. Techniques for obtaining analytical solutions for Rall's model neuron. *J. Neurosci. Methods.* 20:151-166; 1987.

Brown AM, Birnbaumer L. Ionic channels and their regulation by G protein subunits. *Annu. Rev. Physiol.* 52:197-213, 1990.

Brown HT, Fricke AR, Perkel HD. Passive electrical constants in three classes of hippocampal neurons. *J. Neurophysiol.* 46:812-827; 1981a.

Brown HT, Perkel HD, Norris CJ, Peacock HJ. Electrotonic structure and specific membrane properties of mouse dorsal root ganglion neurons. *J. Neurophysiol.* 45:1-55; 1981b.

Burke RE, Walmsley B, Hodgson JA. Structural-functional relations in monosynaptic action on spinal motoneurons. En: *Integration in the Nervous System*. Ed. H. Asanuma, y V. J. Wilson. Igaku-Shoin, New York. p. 26-46; 1979.

Burke RE, Fyffe REW, Moschovakis AK. Electrotonic architecture of cat gamma motoneurons. *J. Neurophysiol.* 72:2302-2316, 1994.

Campbell DM, Rose PK. Contribution of voltage-dependent potassium channels to the somatic shunt in neck motoneurons of the cat. *J. Neurophysiol.* 77:1470-1486; 1997.

Carlen PL, Werman R, Yaari Y. Post-synaptic conductance increase associated with presynaptic inhibition in cat lumbar motoneurons. *J. Physiol.* 298:539-556; 1980.

Caveney S. The role of gap junctions in development. *Annu. Rev. Physiol.* 47:319-335; 1985.

Cepeda C, Walsh JP, Hull CD, Howard SG, Buchwald NA, Levine MS. Dye coupling in the neostriatum of the rat. I. Modulation by dopamine-depleting lesions. *Synapse* 4:229-237, 1989.

Christie MJ, Williams JT, North RA. Electrical coupling synchronizes subthreshold activity in locus coeruleus in vitro from neonatal rats. *J. Neurosci.* 9:3584-3589; 1989.

Clark J, Plonsey R. A mathematical evaluation of the core conductor model. *Biophys. J.* 6:95-112; 1966.

Clements JD, Redman SJ. Cable properties of cat spinal motoneurons measured by combining voltage clamp, current clamp and intracellular staining. *J. Physiol Lond.* 409:63-87; 1989.

Cole KS, Curtis HJ. Electric impedance of the squid giant axon during activity. *J. Gen. Physiol.* 22:649-670; 1939.

Connors BW, Bernardo LS, Prince DA. Coupling between neurons of the developing rat neocortex. *J. Neurosci.* 3:773-782; 1983.

Davis L Jr, Lorente De NÓ. Contribution to the mathematical theory of the electrotonus. *Stud. Rockefeller Inst. Med. Res.* 131:442-497; 1947.

Dermietzel R, Spray DC. Gap junctions in the brain: where, what type, how many and why?. *Trends Neurosci* 16:186-192; 1993.

Durand D. The somatic shunt cable model for neurons. *Biophys. J.* 46:645-653; 1984.

Durand D, Carlen PL, Gurevich N, Ho A, Kunov H. Electrotonic parameters of rat dentate granule cells measured using short current pulses and HRP staining. *J. Neurophysiol.* 50:1080-1097; 1983.

Eckert R, Naitoh Y. Passive electrical properties of paramecium and problems of ciliary coordination. *J. Gen. Physiol.* 55: 467-483; 1970.

Edward DH Jr., Mulloney B. Compartmental models of electrotonic structure and synaptic integration in an identified neurone. *J. Physiol.* 348:89-113; 1984.

- Evans JD, Kember GC, Major G. Techniques for obtaining analytical solutions to the multicylinder somatic shunt cable model for passive neurones. *Biophys. J.* 63:350-365; 1992.
- Fatt P. Sequence of events in the synaptic activation of a motoneurone. *J. Neurophysiol.* 20:61-80; 1957.
- Fleishman WJ, Segev I, BERKE ER. Electrotonic architecture of type-identified motoneurons in the cat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 60: 60-85; 1988.
- Fromhertz P, Vetter T. Cable properties of arborized restrius cell of the leech in culture as probed by voltage-sensitive dye. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. a.* 89: 2041-2045; 1992.
- Furukawa T. Synaptic interaction at the Mauthner call og goldfish. *Prog. Brain. Res.* 21A: 44-70; 1966.
- Galarraga E, Bargas J. Firing patterns in substantia nigra compacta identified neurons in vitro. *J. Arch. Med. Res.* 26:191-199; 1995.
- Galarraga E, Pacheco-Cano MT, Flores-Hernández JV, Bargas J. Subthreshold rectification in neocortical spiny projection neurons. *Exp. Brain. Res.* 100:239-249; 1994.
- Hellerstein D. Passive membrane potentials. *Biophysic. J.* 8:358-379; 1968.
- Hille B. *Ionic channels of excitable membranes.* Sunderland, Sinauer, Mass. 1992.
- Hernández-López S, Bargas J, Reyes A, Tapia D, Galarraga E. Indirect modulatory actions of substance P NK1 agonists on rat neocortical projection neurons. 27 Annual Meeting of Society for Neuroscience, Vol 23; 1977.
- Hodgkin AL, Rushton WAH. The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proc. Roy. Soc. B. Lond.* 133: 444-479; 1946.
- Holmes WR. The role of dendritic diameters in maximizing the effectiveness of synaptic inputs. *Brain Res.* 478:127-137; 1989.
- Holmes WR, Rall W. Electrotonic length estimates in neurons with dendritic tapering or somatic shunt. *J. Neurophysiol.* 68:1421-1437; 1992a.
- Holmes WR, Rall W. Estimating the electrotonic structure of neurons with compartmental models. *J. Neurophysiol.* 68:1438-1452; 1992b.
- Horwitz B. Unequal diameters and their effects on time-varying voltages in branched neurons. *Biophys. J.* 41:51-66; 1983.
- Iansek R, Redman SJ. An analysis of the cable properties of spinal motoneurons using a brief intracellular current pulse. *J. Physiol.* 234:613-636; 1973.

Jack JJB. An introduction to linear cable theory. In: *The Neurosciences: Fourth Study Program*. Ed. Schmitt FO, Wolden FG. Cambridge, MA; MIT Press. p. 423-437; 1979.

Jack JJB, Noble D, Tsien RW. *Electric Current Flow in Excitable Cells*. Oxford University Press. Oxford. 1975.

Jack JJB, Redman SJ. The propagation of transient potentials in some linear cable structures. *J. Physiol Lond.* 215:283-320; 1971a.

Jack JJB, Redman SJ. An electrical description of the motoneuron and its application to the analysis of synaptic potentials. *J. Physiol Lond.* 215:321-352; 1971b.

Kannan MS, Daniel EE. Formation of gap junctions by treatment in vitro with potassium conductance blockers. *J. Cell. Biology.* 78:338-348, 1978.

Karschin C, Dibmann E, Stühmer W, Karschin A. IRK(1-3) and GIRK(1-4) inwardly rectifying K⁺ channels mRNAs are differentially expressed in the adult rat brain. *J. Neurosci.* 16:3559-3570, 1996.

Katz B, Miledi RA. Study of spontaneous miniature potentials in spinal motoneurons. *J. Physiol.* 168:389-422; 1963.

Kawaguchi Y. Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J. Neurosci.* 13:4908-4923, 1993.

Kawato M. Cable properties of a neuron model with non-uniform membrane resistivity. *J. Theor. Biol.* 111:149-169; 1984.

Kootsey JM. The steady-state finite cable: numerical method for non-linear membrane. *J. Theor. Biol.* 64:413-420; 1977.

Lasater EM. Retinal horizontal cell gap junctional conductance is modulated by dopamine through a cyclic AMP-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. sci. USA*, 84:7319-7323; 1987.

Llinás R, Sugimori M. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell somata in mammalian cerebellar slices. *J. Physiol. (Lond.)* 305:171-195; 1980a.

Llinás R, Sugimori M. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell dendrites in mammalian cerebellar slices. *J. Physiol. (Lond.)* 305:197-213; 1980b.

Lux HD, Schubert P, Kreutzberg GW. Direct matching of morphological and electrophysiological data in cat spinal motoneurons. In: *Excitatory Synaptic Mechanisms*. Ed. P. Andersen y J. K. S. Jansen. Oslo. Universitetsforlaget. p. 189-198. 1970.

Mac Vicar BA, Dudek FE. Electrotonic coupling between pyramidal cells. A direct demonstration in rat hippocampal slices. *science* 213:782-785; 1981.

Mac Vicar BA, Dudek FE. Electrotonic coupling between granule cells of rat dentate gyrus: physiological and anatomical evidence. *J. Neurophysiol* 47:579-592; 1982.

Major G, Evans DJ, Jack JJB. Solutions for transients in arbitrarily branching cables: I. Voltage recording with a somatic shunt. *Biophysic. J.* 65:423-449; 1993.

Marty A, Naher E. Tight-seal whole-cell recording. In: *Single Channel Recording*, Edited by B. Sakmann and E. Naher. New York. Plenum Press, p. 107-132; 1983.

Mascagni M. A parallelizing algorithm for computing solutions to arbitrarily branched cable neuron models. *J. Neurosc. Meth.* 36: 105-114; 1991.

McMahon DG. Modulation of electrical synaptic transmission in zebrafish retinal horizontal cells. *J. Neurosci.* 14:1722-1734; 1994.

McMahon DG, Brown DR. Modulation of gap-junction channel gating at zebrafish retinal electrical synapses. *J. Neurophysiol.* 72:2257-2268; 1994.

Nichols CG, Lopatin AN. Inward rectifier potassium channels. *Annu. Rev. Physiol.* 59:171-191; 1997.

Nisenbaum ES, Wilson CJ. Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. *J. Neurosci.* 15:4449-4463; 1995.

Nitzan R, Segev I, Yaron Y. Voltage behavior along the irregular dendritic structure of morphologically and physiologically characterized vagal motoneurons in the guinea pig. *J. Neurophysiol.* 33: 333-346; 1990.

Norman RS. Cable theory for finite length dendritic cylinder with initial and boundary conditions. *Biophys. J.* 12:25-45; 1972.

O'Donnell P, Grace AA. Dopaminergic modulation of dye coupling between neurons in the core and shell regions of the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 13:3456-3471; 1993.

Perkel HD, Mulloney B. Electrotonic properties of neurons: Steady-state compartmental model. *J. Neurophysiol.* 41:621-639; 1978.

Pongracz F, Firestein S, Shepherd GM. Electrotonic structure of olfactory sensory neurons analyzed by intracellular and whole cell patch techniques. *J. Neurophysiol.* 65(3):747-758; 1991.

Poznanski RR. Transient response in a somatic shunt cable model for synaptic input activated at the terminal. *J. Theor. Biol.* 127:31-50; 1987.

- Ramoas AS, Campbell G, Shatz CJ. Dendritic growth and remodeling of cat retinal ganglion cells during fetal and postnatal development. *J. Neurosci.* 8:4239-4261; 1988.
- Rall W. Membrane time constant of motoneurons. *Science* 126: 454, 1957.
- Rall W. Branching dendritic trees and motoneuron membrane resistivity. *Exp. Neurol.* 1: 491-527; 1959.
- Rall W. Membrane potential transients and membrane time constant of motoneurons. *Exp. Neurol.* 2: 503-532; 1960.
- Rall W. Theory and physiological properties of dendrites. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 96:1071-1092; 1962a.
- Rall W. Electrophysiology of a dendritic neuron model. *Biophys. J.* 2:145-167; 1962b.
- Rall W. Theoretical significance of dendritic trees for neuronal input-output relations. In *Neural Theory and Modeling*. Ed. Reiss R. F. Stanford University Press, Stanford, California. p. 73-97. 1964.
- Rall W. Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons. *Biophys. J.* 9:1483-1508; 1969.
- Rall W, Rinzel J. Branch input resistance and steady attenuation for input to one branch of a dendritic neuron model. *Biophys. J.* 13: 648-688; 1973.
- Rall, W. Core conductor theory and cable properties of neurons. In: *Handbook of Physiology. The Nervous System. Cellular Biology of Neurons*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc. sect. 1, vol. 1, p. 39-97; 1977.
- Rall W, Burke RE, Holmes WR, JACK JJB, Redman SJ, Segev I. Matching dendritic neuron models to experimental data. *Physiol. Rev.* 72:159-186; 1992.
- Rapp M, Segev I, Yaron Y. Physiology, morphology and detailed passive models of guinea-pig cerebellar Purkinje cells. *J. Physiol.* 474(1):101-118, 1994.
- Redman SJ, McLachlan ME, Hirst GDS. Nonuniform passive membrane properties of rat lumbar sympathetic ganglion cells. *J. Neurophysiol.* 57:633-644; 1987.
- Redman SJ, Walmsley B. The time course of synaptic potentials evoked in cat spinal motoneurons at identified group Ia synapses. *J. Physiol.* 343:117-133; 1983.
- Rinzel J, Rall W. Transient response in a dendritic neuron model for current injected at one branch. *Biophys. J.* 14: 759-790. 1974.
- Rose PK, Dagum A. Nonequivalent cylinder models of neurons: Interpretation of voltage transients generated by somatic current injection. *J. Neurophysiol.*

60:125-148; 1988.

Rose PK, Vanner SJ. Differences in somatic and dendritic specific membrane resistivity of spinal motoneurons: An electrophysiological study of neck and shoulder motoneurons in the cat. *J. Neurophysiol.* 60:149-166; 1988.

Saez JC, Connor JA, Spray DC, Bennett MVL. Hepatocyte gap junctions are permeable to the second messenger, inositol 1, 4, 5-trisphosphate, and to calcium ions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:2708-2712; 1989.

Segev I. Single neurone models: oversimple, complex and reduced. *TINS* 15(11):414-421; 1992.

Segev I, Parnas I. Synaptic integration mechanisms. Theoretical and experimental investigation of temporal postsynaptic interactions between excitatory and inhibitory inputs. *Biophys. J.* 41: 41-50; 1983.

Shelton DP. Membrane resistivity estimated for the Purkinje neuron by means of a passive computer model. *Neuroscience.* 14:111-131; 1985.

Shepherd GM. The synaptic organization of the brain. Ed. G. M. Shepherd. Oxford University Press. 1990.

Sheppard MS, Meda P. Tetraethylammonium modifies gap junctions between pancreatic β -cells. *Am. J. Physiol.: Cell Physiol.* 9: c116-c120, 1981.

Spruston N, Johnston D. Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons. *J. Neurophysiol.* 67:508-529, 1992.

Stafstrom EC, Schwandt CP, Crille EW. Cable properties of layer V neurons from cat sensorimotor cortex in vitro. *J. Neurophysiol.* 52: 278-289; 1984.

Staley JK, Otis ST, Mody I. Membrane properties of dentate gyrus granule cells: Comparison of sharp microelectrode and whole-cell recordings. *J. Neurophysiol.* 67:1346-1358; 1992.

Stratford K, Mason A, Larkman A, Major J, Jack JJB. The modelling of pyramidal neurones in the visual cortex. En: *The Computing Neurons*. De. R. Durbin, C. Miall y G. Mitchison. Reading, M.A., Addison-Wesley. p. 296-321; 1989.

Tsukahara N, Murakami F, Hultborn H. Electrical constants of neurons of the red nucleus. *Exp. Brain. Res.* 23:49-64, 1975.

Teranishi T, Negishi K, Kato S. Dopamine modulates S-potential amplitude dye-coupling between external horizontal cells in carp retina. *Nature* 301:243-246; 1983

Thurbon D, Field A, Redman S. Electrotonic profiles of interneurons in stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampus. *J. Neurophysiol.* 71:1948-1958, 1994.

Turner RW, Meyers DER, Richardson TL, Barker JL. The site for initiation of action potential discharge over the somatodendritic axis of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons *J. Neurosci.* 11(7):2270-2280, 1991.

Ulfrake B, Keliherth JO. Electrophysiological and morphological measurements in cat gastrocnemius and soleus α -motoneurons. *Brain. Res.* 307: 167-179, 1984.

Ulrich D, Quadroni R, Luscher HR. Electrotonic structure of motoneurons in spinal cord slice cultures: a comparison of compartmental and equivalent cylinder models. *J. Neurophysiol.* 72:861-871; 1994.

Walsh JP, Cepeda C, Hull CD, Fisher RS, Levine MS, Buchwald NA. Dye-coupling in the neostriatum of the rat: II. Decreased coupling between neurons during development. *Synapse.* 4:238-247; 1989.

White JA, Manis PB, Young ED. The parameter identification problem for the somatic shunt model. *Biol. Cybern.* 66: 307-318, 1992.

Wilson CJ. Dendritic Morphology, Inward Rectification and the Functional Properties of Neostriatal Neurons. In *Single Neuron Computation*. San Diego CA. Academic Press. p. 141-171; 1992.

Wilson CJ. Dynamic modification of dendritic cable properties and synaptic transmission by voltage-gated potassium channels. *J. Comp. Neurosci.* 2:91-115; 1995.

Woody CD, Gruen E, McCarley K. Intradendritic recordings from neurons of the motor cortex of cats. *J. Neurophysiol.* 51: 925-938. 1984.