



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“MODELACIÓN DE LA DINÁMICA NO LINEAL DE LA
ACTIVIDAD ELÉCTRICA DE LAS NEURONAS ESPINOSAS
MEDIANAS EN EL NEOESTRIADO DE LA RATA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICA

P R E S E N T A :

JANET BARROSO FLORES

TUTOR:

DR. JOSÉ BARGAS DÍAZ

2009



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO
ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Modelación de la dinámica no lineal de la actividad eléctrica de las neuronas espinosas medianas en el neocórtex de la rata

realizado por **Barroso Flores Janet** con número de cuenta **4-0104729-5** quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en **Física**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Gertrudis Hortensia González Gómez

Propietario Fís. René Ortega Alvarado

Propietario Dr. José Bargas Díaz
Tutor

Suplente Dr. Miguel Ángel Morales Mendoza

Suplente Dra. Elvira Galarraga Palacio

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, D. F., a 04 de junio de 2009.

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN FÍSICA

M. EN C. MIRNA VILLAVICENCIO TORRES

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Bargas por el apoyo y la orientación no sólo en el curso de esta tesis.

A la Dra. Elvira Galarraga por recibirme en su laboratorio y tener siempre disposición para aconejarme sobre el mejormiento de mis trabajos.

A los integrantes del Jurado: la Dra. Hortencia González, el Dr. Miguel Ángel Morales, la Dra. Elvira Galarraga y el Dr. José Bargas por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y por los valiosos comentarios realizados. En especial al Fis. René Ortega por aceptar ser miembro del jurado a última hora y por dejarme disponer de su tiempo libre para revisar esta tesis.

Al Candidato a Doctor Antonio Laville por la orientación y comentarios durante el desarrollo de esta tesis

A todos aquellos que me brindaron su apoyo para que esta tesis se llevara a cabo.

DEDICATORIA

En primer lugar quisiera agradecer a mis padres Ma. del Carmen Flores y Eduardo Barroso por ser la guía de mi vida. A ustedes les dedico este primer trabajo y los siguientes logros de mi vida. Gracias por brindarme el amor más incondicional y tener siempre un consejo, una broma, un chiste, un beso, un abrazo, una caricia que hace que la vida sea más dulce. Los amo.

A mi hermano Joaquín por siempre impulsarme a realizar mis sueños y darme el ejemplo de lo que una persona tan inteligente puede llegar a ser. Te adoro manito.

A mis abuelos paternos Ma. del Carmen Hernández (QED) y Eduardo Barroso por darme lo más atesorado que uno pueda tener en la vida: una infancia feliz. Gracias por tantos cariños que hasta la fecha me siguen dando. Los quiero abucho.

A mis abuelos maternos Ma. del Carmen Ibarra (QED) y Alfredo Flores (QED) por los cariños y cuidados que me brindaron mientras estuvieron presentes.

A mi familia los Mangas Flores: Javy, Lety, Tato y Michi por ser primos, tíos, padrinos, compadres, ahijada y sobre todo amigos incondicionales.

A mi comadre Norma por no dejarme caer en los momentos más difíciles. Gracias por dejarme compartirte mis secretos y hacerme la vida divertida.

A mis amigos de la facultad: Martha, Paula y Toño por trascender una amistad de escuela en una amistad de por vida.

A mis amigos del laboratorio: Giselle, Edén, Aleph, Mario, Belén, Bianca, Beto, Azucena, Itze, Neto, Pepe Chuy, Jorge Ivam, Toño, Nicolás, Luís, Manzanita, Ricardo, Tere, Omar, Victor, Lalo y Pavel por hacer la vida en el laboratorio muy divertida. A todos ustedes les deseo lo mejor en los laboratorios que vendrán.

A tí amor de mi vida por llegar a cambiar y mejorarlo todo. Gracias por formar una nueva familia conmigo e impulsarme a ser una mejor persona día con día. Gracias por llenar mi vida de besos tiernos. A tí te dedico no sólo esta primer tesis sino los días de mi vida.

Te estaré eternamente agradecida por hacerme tan feliz. Te amo mi Fabián.

Capítulo 1: Preliminares.....	2
1.1 Antecedentes Biológicos.....	2
1.1.1 localización del neocórtex en los ganglios basales e importancia de éste en el sistema motor.....	2
1.1.2 Elementos neuronales del microcircuito estriatal.....	4
1.1.3 Breve descripción anatómica de las neuronas espinosas medianas o de proyección.....	4
1.1.3.1 Dimensiones.....	5
1.1.3.2 Aferencias y eferencias.....	6
1.1.4 Electrofisiología de las neuronas espinosas medianas.....	6
1.1.4.1 Propiedades pasivas.....	7
1.1.4.2 Propiedades activas.....	7
1.1.4.3 Relación corriente voltaje (Curva I-V).....	8
1.1.4.4 Diferentes corrientes iónicas transmembranales presentes en las neuronas espinosas medianas.....	9
1.1.5 ¿Por qué hacer un modelo físico-matemático de las neuronas espinosas medianas?.....	15
1.2 Antecedentes computacionales.....	15
Simplificaciones.....	15
Anatómicas.....	16
Justificación de la reducción a un solo compartimento.....	16
Funcionales.....	16
Ausencia de la bomba de Na-K.....	16
La ausencia de cinética de las concentraciones de Na y K.....	16
Ausencia de algunas corrientes.....	17
1.2.1 NEURON como simulador (http://www.neuron.yale.edu/neuron/).....	17
DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE NEURON.....	17
INTERFAZ GRÁFICA GUI.....	17
LENGUAJE HOC.....	18
MÉTODO NUMÉRICO PARA RESOLVER LA ECUACIÓN PRINCIPAL...18	
MECANISMOS DISTRIBUIDOS: LENGUAJE NMOD.....	19
PROCESOS PUNTUALES.....	20
INTERFAZ DE SIMULACIÓN.....	20
Capítulo 2: Modelo básico que simula el disparo de potenciales de acción en una neurona.....	21
2.1 Ecuación de Nernst: El gradiente electroquímico como fuerza electromotriz.....	21
2.2 Densidad de corriente iónica en un campo constante.....	25
2.3 Descripción de la membrana celular como un circuito RC en paralelo.....	27
2.4 Modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley.....	31
2.4.1 El canal iónico como base molecular de la corriente iónica transmembranal: La corriente iónica unitaria.....	33
2.4.2 La barrera de potencial como interruptor de corriente en cada canal iónico...35	
2.4.3 El proceso aleatorio de muchos canales genera la corriente transmembranal macroscópica dependiente de voltaje y de tiempo.....	36
2.5 Cuando al circuito RC-equivalente se le adicionan conductancias con compuertas dependientes de voltaje y tiempo, para sodio y para potasio, obtenemos el “mecanismo básico de disparo” (MBD).....	41
2.5.1 ¿Por qué Na y K?.....	41
2.5.2 El circuito equivalente del “mecanismo básico de disparo” (MBD).....	42

2.5.3 Cada conductancia iónica dependiente de voltaje y tiempo da lugar a un sistema de ecuaciones diferenciales.....	45
Capítulo 3: Corrientes moduladoras del potencial de Acción de las neuronas espinosas medianas.....	46
3.1 Corrientes dependientes de voltaje y tiempo.....	46
3.1.1 IKir Corriente rectificadora de potasio.....	46
Sistema de ecuaciones MBD+Ikir.....	47
3.1.2 IM sensible a muscarina: adaptadora.....	48
Sistema de ecuaciones MBD + IM.....	49
3.1.3 IA transitoria de potasio: retardadora.....	50
Sistema de ecuaciones MBD + IA.....	50
3.1.4 ID de potasio de inactivación lenta: ayuda en la creación de rampas de voltaje.....	51
Sistema de ecuaciones MBD + ID.....	52
3.1.5 INap persistente de sodio.....	53
Sistema de ecuaciones MBD + INap.....	53
3.2 Corrientes dependientes de voltaje, tiempo y concentración interna de Ca^{2+} ($[Ca]_i$).....	54
3.2.1 Dinámica de la concentración interna de calcio $[Ca]_i$	54
Bomba intercambiadora Na-Ca (BmNaCa).....	54
Cinética de primer orden para el amortiguamiento de Ca^{2+} (AMCa).....	55
Sistema de ecuaciones I _{Ca} + BmNaCa + AMCa (DMCa).....	56
3.2.2 La corriente de calcio I _{Ca} es persistente: activa las corrientes de potasio activadas por calcio y ayuda en la generación de potenciales despolarizantes.....	57
Sistema de ecuaciones MBD+I _{Ca}	58
3.2.3 IBK: corriente de potasio activada por voltaje y calcio de conductancia grande: ayuda a la repolarización del potencial de acción y a la parte rápida del pospotencial hiperpolarizante (PPH).....	59
Sistema de ecuaciones MBD+DMCa+I _{Ca} +IBK.....	59
3.2.4 ISK: corriente de potasio activada por calcio de pequeña conductancia: contribuye a generar el PPH.....	61
Sistema de ecuaciones MBD+DMCa+I _{Ca} +ISK.....	61
3.3 Integración de las diferentes dinámicas.....	62
Capítulo 4: Resultados.....	64
4.1 Canal de Na del MBD.....	64
4.1.1 Fijación de corriente.....	64
4.1.2 Fijación de voltaje.....	66
4.2 Canal de K del MBD.....	67
4.2.1 Fijación de corriente.....	67
4.2.2 Fijación de voltaje.....	68
4.3 Mecanismo básico de disparo (MBD).....	69
4.3.1 Fijación de corriente.....	69
4.4 MBD + IM.....	70
4.4.1 Fijación de corriente.....	71
4.4.2 Fijación de voltaje.....	72
4.4.3 Modulación sobre el mecanismo básico de disparo.....	72
4.5 MBD + IA.....	74
4.5.1 Fijación de corriente.....	74
4.5.2 Fijación de voltaje.....	75
4.5.3 Modulación del Disparo Básico.....	76

4.6 MBD + ID.....	77
4.6.1 Fijación de corriente.....	77
4.6.2 Fijación de voltaje.....	78
4.6.3 Modulación sobre el mecanismo básico de disparo.....	79
4.7 MBD + INap.....	80
4.7.1 Fijación de corriente.....	80
4.7.2 Fijación de voltaje.....	81
4.7.3 Modulación del disparo básico.....	82
4.8 MBD + ICa.....	83
4.8.1 Fijación de corriente.....	83
4.8.2 Fijación de voltaje.....	84
4.8.3 Modulación del disparo básico.....	85
4.9 MBD + IBK.....	86
4.9.1 Fijación de corriente.....	86
4.9.2 Fijación de voltaje.....	88
4.9.3 Modulación del disparo básico.....	89
4.10 MBD + ISK.....	90
4.10.1 Fijación de corriente.....	90
4.10.2 Fijación de voltaje.....	92
4.10.3 Modulación del disparo básico.....	92
4.11 Integración de todas las dinámicas: convergencia de todas las ecuaciones diferenciales en un solo sistema.....	94
Capítulo 5. Comparación con los resultados experimentales.....	95
5.1 Comparación con el disparo experimental.....	95
5.2 Reproducción de la curva I-F característica de las NEMs.....	97
5.3 Efectos de nicardipina sobre el canal de calcio. Comparación entre el experimento y el modelo.....	98
5.4 Efectos de un pre-pulso hiperpolarizante sobre la latencia al primer disparo: Comparación entre el experimento y el modelo.....	100
Capítulo 6. Conclusiones.....	102
Apéndice:Código fuente del programa.....	103
Referencias.....	109

Capítulo 1: Preliminares

1.1 Antecedentes Biológicos

1.1.1 localización del neostriado en los ganglios basales e importancia de éste en el sistema motor

Los mecanismos causantes de las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la alteración de movimientos voluntarios tales como la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Tourett, y la enfermedad de Huntington son todavía inciertos. Sin embargo, los pacientes con estos trastornos presentan daños cerebrales en la zona del telencéfalo conocida como “los ganglios basales”. Los ganglios basales son una región implicada con el movimiento y el control de éste. En estos núcleos se “guardan” circuitos que están presentes desde el nacimiento (“generadores centrales de patrones” o “*central pattern generators*”- CPGs) que producen conductas estereotipadas tales como la expresión facial de las emociones, las conductas oculomotoras para preservar el equilibrio, etc. También su red neuronal constituye una matriz para el aprendizaje de procedimientos, esto es, circuitos probablemente del tipo de los ensambles Hebbianos (“*Hebbian-like Cell Assemblies*” o HCA), y creados mediante el aprendizaje, que guardan nuestras conductas aprendidas y nuestros hábitos mediante la formación de circuitos neuronales reforzados por sinapsis.

Los ganglios basales (“basal ganglia” o BG) están compuestos por los núcleos; neostriado (formado por los núcleos Caudado, Putamen y Acumbens), la sustancia nigra *pars reticulata* (SNr), la sustancia nigra *pars compacta* (SNc), los globos pálido externo e interno (GPe y GPi), y el núcleo subtalámico (STN). Éstos núcleos desempeñan un papel importante en la regulación de las funciones motoras, el mantenimiento de la postura, y en particular, la planificación, iniciación y ejecución de los movimientos con un fin u objetivo (Ref. 1, 12).

El daño en alguno de estos núcleos genera trastornos en los cuales el control del movimiento se ve afectado (las enfermedades mencionadas anteriormente).

En la figura I.1 se muestra un esquema de las interconexiones entre los ganglios basales así como de los principales neurotransmisores que participan en sus vías. Entre estas conexiones existe un circuito cerrado formado por: **corteza (Ctx) - estriado (Nst) - sustancia nigra pars reticulata (SNr) - tálamo - corteza** llamado “la vía directa” la cual tiene un efecto desinhibidor o facilitador sobre las vías tálamo-corticales encargadas de ejecutar los movimientos. De manera paralela existe otro circuito cerrado: **corteza - estriado - globo pálido externo (GPe) - núcleo subtalámico (STN) - sustancia nigra pars reticulata (SNr)- tálamo - corteza**, que inhibe las vías tálamo-corticales encargadas de ejecutar los movimientos. Ambas vías se complementan: una activa la secuencia de músculos encargada de un movimiento (músculos agonistas) mientras la otra inhibe a los músculos que estorban dicho movimiento (músculos antagonistas).

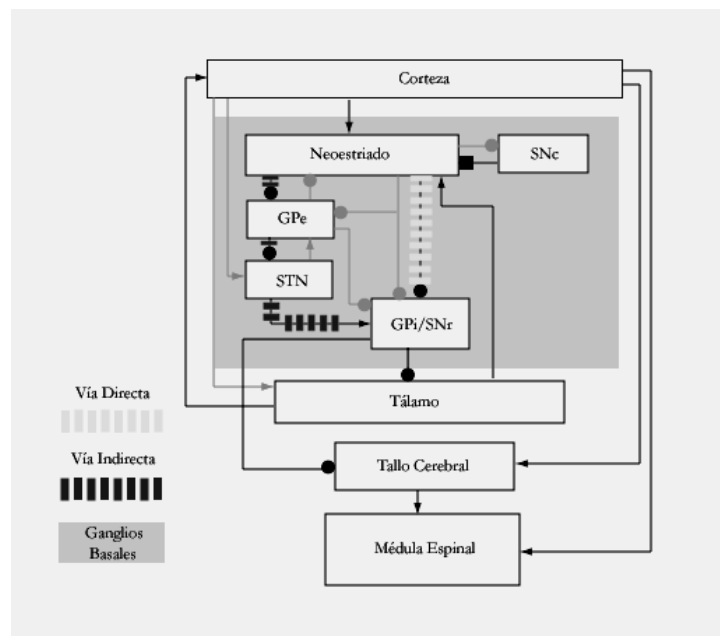


Figura 1.1 Esquema que describe las vías directa e indirecta de los ganglios basales. GPe (globo pálido externo), STN (núcleo subtalámico), GPi (Globo pálido interno), SNr (sustancia nigra pars reticulata), SNc (sustancia nigra pars compacta).

1.1.2 Elementos neuronales del microcircuito estriatal

El neostriado (NST) es el núcleo más grande de los ganglios basales y la principal vía de entrada a esos núcleos. Es el centro de refinamiento motor, almacén de información y registro de movimiento. Está compuesto tanto de neuronas de proyección (neuronas cuyos axones se conectan o proyectan hacia neuronas de otros núcleos), como de interneuronas (neuronas que no proyectan hacia afuera del núcleo).

En roedores, el 90-95% de la población neuronal del neostriado se compone de las neuronas espinosas medianas (NEM's) de proyección. El otro 10-5% está compuesto por tres grandes grupos de interneuronas que pueden a su vez sub-dividirse: 1) las gigantes colinérgicas, 2) las interneuronas GABAérgicas positivas a parvalbúmina y que electrofisiológicamente se conocen como de disparo rápido o *fast spiking* (FS) con profusa inervación al soma y dendritas cercanas de las neuronas espinosas, y 3) las interneuronas somatostatinérgicas, que también son GABAérgicas, producen óxido nítrico, y que electrofisiológicamente se conocen como de bajo umbral de disparo o *low threshold spiking* (LTS) con profunda inervación a las dendritas.

1.1.3 Breve descripción anatómica de las neuronas espinosas medianas o de proyección

El presente trabajo de tesis presenta un modelo matemático de la actividad bioeléctrica (biofísica) de las neuronas de proyección del estriado, por lo que nos detendremos brevemente en su descripción. A partir de técnicas específicas, es posible conocer la morfología de las neuronas, además de su característica química. La figura siguiente muestra la morfología característica de las NEM's de una rata adulta.

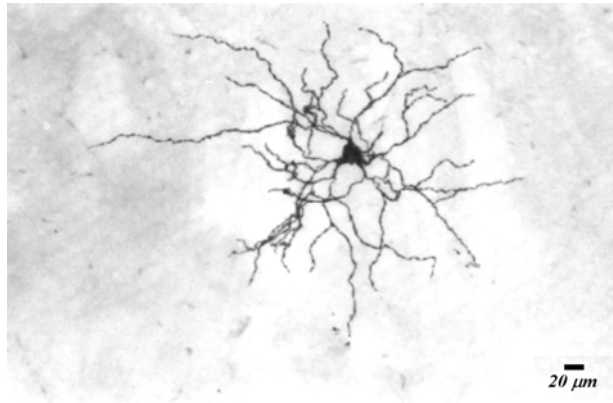


Figura I.2 Neurona espinosa mediana.

1.1.3.1 Dimensiones

El soma de las NEM's tiene un diámetro de 12 a 20 μm , del cual surgen de 3 a 6 troncos dendríticos principales, cada uno de los cuales se ramifica en dos procesos, que a su vez se pueden ramificar una o dos veces más, abarcando un volumen esférico de 300-500 μm de diámetro. Las dendritas están densamente cubiertas de espinas, mismas que contribuyen con casi la mitad de la superficie total de la célula. Antes de salir a sus núcleos blanco el axón de las NEM's deja una arborización extensa dentro del estriado que deja contactos sinápticos con otras NEM's e interneuronas. El NSt es pues una red de neuronas inhibitoras conectadas entre sí.

1.1.3.2 Aferencias y eferencias

Se denominan vías aferentes a los axones que llegan desde un núcleo cerebral al núcleo que se está considerando, en este caso el neostriado. Las principales vías aferentes del estriado vienen de la corteza, aunque también existen vías aferentes del tálamo y de la sustancia nigra *pars compacta*. (Veáse figura 1.1). Inversamente, las vías eferentes se denominan a los axones que van desde el núcleo estudiado a otro núcleo cerebral. Las principales vías eferentes del estriado van hacia el globo pálido (interno y externo) y la sustancia nigra *pars reticulata y compacta*.

El transmisor sináptico de las neuronas espinosas medianas es el ácido gamma-aminobutírico (GABA), que tiene un efecto inhibitor sobre las neuronas de los núcleos a los que proyecta y sobre otras neuronas NEM. Por otro lado, la sinápsis de las aferentes cortico-talámicas del neostriado es glutamatérgica, lo cual tiene un efecto excitador sobre las espinosas medianas integrándose así la llegada de la corteza y el tálamo (**Ref. 6**). Además, reciben de la sustancia nigra compacta la inervación dopaminérgica.

1.1.4 Electrofisiología de las neuronas espinosas medianas

Además de caracterizar a las neuronas por su anatomía, es posible clasificarlas por sus propiedades bioeléctricas. En general, podemos separar estas propiedades en dos grandes grupos: a) propiedades pasivas y b) propiedades activas, las cuales serán descritas con detalle pues son las que describimos matemáticamente utilizando la teoría biofísica de la excitabilidad neuronal.

1.1.4.1 Propiedades pasivas

Se denominan propiedades pasivas a todas aquellas propiedades que no dependen del tiempo, como el potencial de reposo, que se define como la diferencia de potencial que existe entre el interior y el exterior de la célula en estado basal. Otra propiedad pasiva importante para caracterizar diferentes tipos de neuronas es la resistencia de entrada (R_N) de la célula en el potencial de reposo.

Estas propiedades quedan determinadas por unos canales iónicos independientes de voltaje y de tiempo llamados "canales de fuga", abiertos todo el tiempo y con conductancia óhmica. Además, colabora en estas propiedades un canal de potasio dependiente de voltaje y de tiempo que se encuentra activo en el potencial de reposo (llamado canal de rectificación entrante o canal rectificador, que se sabe pertenece a la familia Kir2 de canales iónicos). El intercambio de iones a través de estos canales, junto con la bomba sodio-potasio, mantiene en un estado estacionario el potencial de la membrana cuando la neurona se encuentra en reposo. Experimentalmente, se ha medido que el potencial de reposo de las neuronas espinosas medianas es de -80 ± 5 mV con respecto al exterior, y su resistencia de entrada promedio es cercana a los 100 ± 20 M Ω en ratas adultas.

1.1.4.2 Propiedades activas

Las propiedades activas de las neuronas describen su capacidad de generar espigas de voltaje, llamadas potenciales de acción (PA) (o disparo neuronal), después de integrar sus entradas sinápticas. Los PA son las señales eléctricas que comunican a las neuronas entre sí. Además, hay ciertas propiedades electrofisiológicas intrínsecas de la membrana; dadas por los canales iónicos dependientes de voltaje y de tiempo presentes en la membrana, que hacen que el disparo neuronal sea particular de cada tipo neuronal. En general, las neuronas espinosas medianas permanecen silentes mientras no

exista un impulso eléctrico despolarizante (es decir, un estímulo que lleve el potencial de membrana a voltaje más positivos que el potencial de reposo) que lleve al potencial de membrana al umbral de disparo (-45 mV aproximadamente). La cinética y la dependencia de voltaje de cada canal iónico dependiente de voltaje y tiempo se puede describir por una o varias ecuaciones diferenciales. El sistema de ecuaciones diferenciales que describe la conducta eléctrica de estos canales describe las propiedades excitables o biofísicas de la neurona.

1.1.4.3 Relación corriente voltaje (Curva I-V)

Una forma de medir el comportamiento eléctrico global de los canales en una célula, consiste en dar escalones de corriente de diferentes intensidades a la neurona (estímulos) y registrar las respuestas del potencial de membrana de ésta a cada escalón. Las respuestas alcanzarán diferentes valores de potencial de membrana hasta llegar a producir el disparo neuronal. Se puede entonces hacer una gráfica del potencial registrado en función de la corriente inyectada. La curva generada en este espacio se le conoce como *curva I-V* y con ella se obtiene el comportamiento global de la membrana a diferentes potenciales (técnica de fijación de corriente o *current-clamp*). La curva I-V puede hacerse para diferentes momentos durante el curso temporal del cambio de potencial, normalmente se realiza en el estado estacionario.

De igual manera, se pueden realizar curvas V-I donde se fijan voltajes comando como estímulos, y se observa la corriente eléctrica transmembranal como respuesta. En este caso, se dan diferentes comandos de voltaje, a varios potenciales de membrana, y se registra el curso temporal de la corriente total de la célula (técnica de fijación de voltaje o *voltaje-clamp*). Con cualquiera de estas curvas se obtiene la resistencia (o conductancia) de entrada de la neurona, dada por el conjunto de los canales iónicos que se activan en la célula a los diferentes valores del potencial de membrana. Esto es, nos dan la dependencia de la excitabilidad celular con respecto al voltaje. Su análisis dinámico, mediante

espacios de fase, permite estudiar la estabilidad de la neurona y/o todas sus propiedades dinámicas.

En general, se han identificado docenas de diferentes canales iónicos sensibles a voltaje y tiempo, los cuales, en conjunto, dan lugar al disparo característico de cada tipo de neuronas. Experimentalmente es posible aislar la corriente debida a cada canal iónico mediante fármacos específicos que bloquean los otros canales y utilizando la técnica de fijación de voltaje descrita arriba.

1.1.4.4 Diferentes corrientes iónicas transmembranales presentes en las neuronas espinosas medianas

Las corrientes iónicas se pueden clasificar a partir de la dirección del flujo de los iones, de la cinética de activación del canal, de la sensibilidad a ciertos fármacos, etc. En este trabajo se hará una clasificación funcional de las corrientes siguiendo la de Bargas et al. (2003). [Ref. 2]

CLASIFICACIÓN FUNCIONAL DE LAS CORRIENTES IÓNICAS

Las NEM presentan distintos canales sensibles a voltaje y selectivos a distintos iones, principalmente a sodio, potasio y calcio. Estos canales son activados cuando existe una despolarización o una hiperpolarización de la membrana. Es decir, cuando el potencial de membrana cambia. Una vez activos, los iones pueden fluir a través de la membrana por los canales, ya sea del exterior al interior de la célula o viceversa, dependiendo de las concentraciones intra- y extracelulares de cada especie iónica.

Las corrientes iónicas se clasificarán de acuerdo a la dirección del flujo de los iones en entrantes y salientes. Y de acuerdo a su cinética en transitorias y persistentes. Experimentalmente se han caracterizado varios tipos de canales

iónicos que contribuyen de manera importante al disparo característico de las NEM's.

CORRIENTES DEPENDIENTES DE VOLTAJE Y TIEMPO

A diferencia de los canales de fuga que permanecen constantes en el tiempo, la dinámica de apertura y/o cierre de los canales que dan lugar a las propiedades activas como el potencial de acción, depende tanto del potencial en la membrana como del tiempo.

CORRIENTES ENTRANTES

Se define una corriente entrante si la dirección del flujo de iones positivos se da desde el exterior de la célula hacia el interior de misma. Esto ocurre por difusión cuando se abre (se activa) el respectivo canal y cuando la concentración extracelular de una especie iónica de valencia positiva es mayor a la concentración intracelular de la misma especie. En general, la concentración de sodio y de calcio es mayor en el exterior de la célula que en el interior, por lo que el flujo de las corrientes de estas especies iónicas es del exterior al interior de la célula, dando lugar a corrientes entrantes, siempre y cuando el potencial de membrana sea menor al potencial de equilibrio de estos iones (Ecuación de Nernst, descrita en el capítulo 2).

Dado que las corrientes entrantes introducen iones positivos a la célula, el efecto eléctrico que producen sobre la misma es la despolarización, elevando el potencial de membrana a valores más positivos que el potencial de reposo.

TRANSITORIAS

En general, una corriente transitoria es aquella donde el flujo de iones dura breves instantes (milisegundos) para luego cesar debido a la inactivación del canal.

- I_{Na} : Corriente transitoria de sodio (**canal Nav 1.2**)¹

Uno de los canales básicos para la generación del potencial de acción es el canal de sodio descrito y modelado en 1952 por los biofísicos [Alan Lloyd Hodgkin](#) y Andrew Fielding Huxley (coloquialmente: Hodkin & Huxley o HH) [Ref. 15]. La dinámica de este tipo de canales presenta una activación muy rápida, la cual lleva al potencial de membrana al umbral de disparo. Así mismo, este tipo de canales muestra una inactivación rápida que produce una repolarización del potencial de membrana, es decir, regresa el potencial de membrana a valores cercanos al potencial de reposo. La acción de estos canales se bloquea con tetrodotoxina (TTX), aunque existe una clase que necesitan una mayor concentración de TTX para bloquear la corriente de sodio.

PERSISTENTES O DE INACTIVACIÓN LENTA

Las corrientes persistentes no varían en el tiempo, fluyendo así durante todo el impulso eléctrico.

- I_{Ca} : corriente de calcio de bajo umbral (**canal Cav 1.3**) [Ref. 9]

Otra especie iónica que fluye del exterior al interior de la célula es el calcio, el cual fluye por canales selectivos a éste ion cuya cinética de apertura depende del voltaje en la membrana y del tiempo. Uno de los canales que da lugar a una corriente persistente es el canal de calcio de tipo L, debido a que la conductancia que presentan en un registro de célula única es muy grande (*large conductance*), además de generar corrientes duraderas (*long-lasting currents*). Los bloqueadores selectivos de este tipo de canales de calcio son las dihidropiridinas tales como la nicardipina y la nitrendipina.

- I_{Nap} : corriente de sodio persistente

^{1 1} La nomenclatura de los canales iónicos está en base a la IUPHAR (Internacional Union of Pharmacology). El subíndice “v” describe que el canal es dependiente de voltaje, mientras que el primer número representa a la familia a la que pertenece el canal y en segundo número a la isoforma del mismo. [Ref. 8]

Biológicamente no existen los canales que den lugar a una corriente de sodio persistente, ésta se obtiene a partir de que algunos de los canales tradicionales de sodio descritos anteriormente no se inactivan totalmente dando lugar a un remanente de corriente aproximadamente menor al 10% de la corriente original.

CORRIENTES SALIENTES

En contraste con las corrientes entrantes, cuando la concentración intracelular es mayor que la concentración extracelular, y el potencial de membrana no se encuentra en el potencial de equilibrio del catión que fluye a través de la membrana, el flujo de estos cationes ocurre del interior hacia el exterior de la célula dando lugar a una corriente saliente. En particular, la concentración intracelular de potasio es mayor a la concentración extracelular, por lo que el flujo de iones de potasio se da del interior al exterior de la célula generando las corrientes salientes.

TRANSITORIAS

- I_A : Corrientes de potasio tipo A (**canal Kv 1.4**) [Ref. 5]

El canal de potasio tipo A es activado rápidamente por la despolarización de la membrana, e igualmente se inactiva rápidamente si se mantiene la despolarización. Funcionalmente, tiene un efecto retardador del disparo neuronal.

PERSISTENTES O DE INACTIVACIÓN LENTA

- I_K : corriente de potasio (HH) (**canal Kv 1.2**) [Ref. 14]

A la corriente de potasio identificada por Hodgkin y Huxley (**Ref. 15**) se le conoce también como *rectificador retardado* porque cambia el potencial de membrana con cierto retardo ante un comando de voltaje despolarizante.

- I_{kir} : Corriente rectificadora de potasio (**canal Kir**)² [Ref. 17]

Una corriente característica en las neuronas espinosas medianas es esta corriente rectificadora de potasio, que a diferencia de los canales que se activan por despolarización este se activa por hiperpolarización. El canal que da lugar a esta corriente se encuentra activo en el reposo ayudando a las corrientes de fuga a mantener constante el potencial de reposo de la membrana. Cuando un estímulo despolariza el potencial de membrana, la corriente rectificadora compensa el potencial de membrana hacia el potencial de reposo, sin embargo, si el estímulo hiperpolariza el potencial de membrana, la corriente rectificadora invierte el sentido del flujo de los iones de potasio impidiendo así que el potencial se hiperpolarice.

- I_M : Corriente de potasio sensible a muscarina (**canal Kv 7**)

Estos canales permeables a potasio tienen una cinética de activación muy lenta, requieren varios cientos de milisegundos para su apertura. Funcionalmente, tiene un efecto importante en el disparo, ya que cuando se activa, el disparo muestra un efecto adaptador, es decir, el intervalo entre espigas aumenta.

- I_D : corriente de potasio de inactivación lenta (**canal Kv 4.1**) [Ref. 5]

También conocida como corriente I_A lenta. Se activa a potenciales subumbrales, alrededor de los -65 mV, compitiendo contra la despolarización de la membrana y el disparo. En su activación ayuda en la generación de rampas de voltaje.

² Este canal rectificador es dependiente de voltaje aunque en la nomenclatura por la IUPHAR no se haga evidente.

Existen canales de potasio que además de ser dependientes de voltaje y tiempo, son dependientes de la concentración de calcio interno. Los cuales fueron descritos por primera vez por G. Gardos en 1958 en los eritrocitos (**Ref. 12**).

- I_{BK} : Corriente de potasio dependiente de voltaje y de calcio (**canal K_{Ca} 1.1**)

También llamada corriente grande (*BK = big K channel*) de potasio debido a que la conductancia que presenta en registros de canal unitario es muy grande (100-250 pS). La acción de los canales BK suplementan la acción de los canales de potasio del tipo HH, activándose rápidamente a voltajes despolarizados, ayudando a repolarizar el potencial de membrana en el punto más alto del potencial de acción. Así mismo, contribuyen de manera importante en la primera parte del postpotencial hiperpolarizante que sigue a un potencial de acción (*afterhyperpolarizing potencial o AHP*). Los efectos de esta corriente pueden ser bloqueados con la iberiotoxina obtenida del veneno de cierta clase de escorpiones.

- I_{SK} : Corriente de potasio dependiente de calcio (**canal K_{Ca} 2.1**)

Se le conoce como la corriente chica de potasio (*SK = small K channel*) dado que el valor de la conductancia registrada de manera unitaria es de aproximadamente de 4-20 pS. La corriente SK afecta de manera sustancial al patrón de disparo. Cuando un estímulo de corriente induce un tren de potenciales de acción, la acumulación de la concentración de calcio interno aumenta la corriente SK y ésta disminuye gradualmente la frecuencia de disparo, a este proceso se le conoce como "adaptación de la frecuencia de disparo". El bloqueador específico de los canales SK es la apamina que se deriva del veneno de abeja.

1.1.5 ¿Por qué hacer un modelo físico-matemático de las neuronas espinosas medianas?

Un modelo que explique y describa a plenitud la generación del disparo neuronal, no sólo será de utilidad para simular los experimentos previamente realizados en el laboratorio, si no también para efectuar experimentos computacionales, de difícil realización, pero que sugieren hipótesis para nuevos experimentos biofísicos. El ir y venir entre el experimento y el modelo permite avanzar en el conocimiento de los mecanismos de la excitabilidad. El modelo que esta tesis presenta pretende ser de utilidad para la planeación de nuevos experimentos *in vitro*, así como para la generación de nuevas hipótesis acerca del funcionamiento de estas neuronas tanto en condiciones fisiológicas, en aquellas condiciones donde la neurona está sujeta a modulación por neurotransmisores y en condiciones patológicas.

1.2 Antecedentes computacionales

La integración numérica del modelo matemático se realizó mediante el ambiente de modelación NEURON el cual será descrito más adelante.

Simplificaciones

Para reducir las complejidades que presenta una neurona, es necesario disminuir tanto las variables anatómicas como funcionales para así generar un modelo lo más sencillo posible que pueda representar las respuestas electrofisiológicas características de las NEM.

Anatómicas

Justificación de la reducción a un solo compartimiento

La anatomía de la neurona modelada se redujo a un cilindro unicompartmental de área equivalente al área total promedio que representa una neurona de una rata adulta. Experimentalmente se conoce que el área total de una neurona espinosa mediana de una rata adulta es de 19 000 μm^2 en promedio. Las dimensiones del cilindro modelado son de 76 μm de diámetro y 80 μm de largo.

Funcionales

Ausencia de la bomba de Na-K

En la mayoría de las células, la concentración de sodio extracelular es mayor a la concentración intracelular, mientras que para los iones de potasio la relación es inversa. Para mantener esta diferencia, existen mecanismos tales como la bomba de sodio-potasio (Na-K). Ésta se encarga de sacar 3 iones de sodio para meter dos iones de potasio y así ayuda a mantener el interior de la célula a un potencial más negativo que el exterior. Si la célula no tuviera mecanismos como éstos, las concentraciones iónicas tenderían al equilibrio en tiempos largos. En este trabajo, las concentraciones intra y extracelulares de los iones de sodio y potasio se suponen constantes como si la bomba estuviera trabajando sin cambios.

La ausencia de cinética de las concentraciones de Na y K

Como se dijo anteriormente, la concentración extracelular de los iones de sodio es mayor que la concentración intracelular, ésta diferencia es de aproximadamente un orden de magnitud y mantiene su proporción tanto en reposo como durante el potencial de acción. De igual manera, para los iones de potasio la diferencia de concentración intracelular con respecto a la concentración extracelular también varía un orden de magnitud. Dado que

estas diferencias de concentraciones no cambian considerablemente, no es necesario incluir al modelo una dinámica especial para estos iones.

Ausencia de algunas corrientes

No toda la diversidad de canales que presentan las neuronas espinosas medianas está incluida en el presente modelo, sino sólo la necesaria para reproducir el disparo característico.

1.2.1 NEURON como simulador

(<http://www.neuron.yale.edu/neuron/>)

DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE NEURON

El programa NEURON es un ambiente de programación diseñado para modelar matemáticamente neuronas o redes de neuronas. Éste programa provee al usuario diferentes herramientas numéricas para construir, manipular o usar modelos existentes, por lo que no es necesario ser un experto en programación para manipular las herramientas que ofrece el programa NEURON.

INTERFAZ GRÁFICA GUI

La interfaz gráfica de usuario (GUI) puede ser utilizada tanto para crear como manipular modelos de alta complejidad sin tener que re-escribir todo el código desde cero. Las aplicaciones que tiene la interfaz gráfica están diseñadas para ser análogas a la biología y a los instrumentos de un laboratorio de biofísica. Además, son muy convenientes para fijar parámetros, controlar los estímulos de voltaje o corriente y para representar gráficamente las variables en función del tiempo y el voltaje.

El soma de la neurona se creó con la aplicación *create soma* y los canales se insertaron de modelos existentes en la base de datos de NEURON. (<http://senselab.med.yale.edu/modeldb/>).

LENGUAJE HOC

La programación en NEURON se hace en lenguaje HOC, lenguaje con sintaxis parecida al lenguaje de programación C [Ref. 7]. Éste lenguaje utiliza la programación orientada a objetos, lo cual nos da una gran libertad para establecer las propiedades anatómicas y biofísicas de las neuronas a modelar. Además, podemos definir la apariencia de la interfaz gráfica y los controladores de parámetros.

MÉTODO NUMÉRICO PARA RESOLVER LA ECUACIÓN PRINCIPAL

El simulador NEURON ofrece diferentes métodos numéricos de integración. Se define una variable global llamada *secondorder* que toma valores enteros en el intervalo [0, 2], estos valores determinan el método de integración que se utiliza.

Si la variable toma el valor numérico de cero (*secondorder* = 0), el simulador NEURON utiliza el método regresivo de Euler. Éste método se utiliza por omisión si es que no se especifica otro método de integración. Una de las ventajas de éste método es que numéricamente resulta muy estable, aunque los errores numéricos obtenidos son relativamente grandes debido a que son proporcionales al intervalo de tiempo empleado (Δt).

El simulador NEURON integra las ecuaciones utilizando la función *fadvance()*. Durante el llamado de dicha función, la variable t aumenta un diferencial de tiempo Δt y el voltaje, las corrientes y las concentraciones toman el nuevo valor correspondiente al nuevo tiempo $t + \Delta t$.

La función `fadvance()` primero ajusta la matriz de conservación de corrientes para calcular el potencial de membrana. Para hacer esto, las funciones de cada mecanismo calculan la conductancia utilizando el valor anterior de la corriente en el potencial de membrana anterior. El valor del tiempo cuando se resuelven las ecuaciones es $t + dt/2$ por lo que los modelos que dependen explícitamente del tiempo serán corregidas en segundo orden si usan el valor de t . Luego, la función `fadvance()` resuelve la matriz de ecuaciones para el nuevo potencial de membrana.

MECANISMOS DISTRIBUIDOS: LENGUAJE NMODL

El lenguaje NMODL (neuron model description language) permite escribir un modelo físico en términos de sistemas de ecuaciones diferenciales, ecuaciones no lineales, etc. EL lenguaje NMODL traduce la especificación en lenguaje C y luego la compila y la liga al programa. El tipo de mecanismos que se pueden integrar mediante NMODL son:

- Canales iónicos cuyas dinámicas dependen de las relaciones corriente-voltaje.
- Cambios en las concentraciones intra- y extracelular de cierta especie iónica que se deban a las corrientes de éstos iones.

La manera más sencilla de insertar los distintos mecanismos es mediante archivos escritos en lenguaje NMODL donde se describe la dinámica del mecanismo insertado. Es posible incorporar diferentes mecanismos en la neurona, mientras el simulador NEURON no pierda de vista la corriente iónica total de cada especie, así como la influencia de la corriente sobre el potencial de membrana. Se trata de hacer converger todo el sistema de ecuaciones diferenciales y las no-linealidades para arrojar la dinámica de las variables de estado voltaje, corriente y tiempo.

PROCESOS PUNTUALES

Los procesos puntuales utilizados en este trabajo fueron la fijación de voltaje y la fijación de corriente.

INTERFAZ DE SIMULACIÓN

En la interfaz de simulación se tiene, por un lado, un panel de parámetros donde se pueden controlar las concentraciones intra- y extracelulares de los iones de sodio, potasio, calcio y cloro. Además, se controlan las conductancias máximas de los diferentes tipos de canales insertados en la neurona y el tipo de impulso eléctrico aplicado. Así mismo, se controla la temperatura, y el potencial de reposo.

Por otro lado, se tiene una interfaz de gráficas donde se grafica la respuesta en voltaje o corriente respecto del tiempo en respuesta al estímulo empleado, además de las diferentes variables de activación e inactivación correspondientes a los diferentes canales iónicos.

Capítulo 2: Modelo básico que simula el disparo de potenciales de acción en una neurona

2.1 Ecuación de Nernst: El gradiente electroquímico como fuerza electromotriz

En 1889 el físico-químico alemán Walter Hermann Nernst describió la generación de diferencias de potencial eléctrico o voltaje, entre dos soluciones iónicas con diferentes concentraciones de electrolitos y separadas por una membrana semipermeable. En particular, la descripción dada por Nernst es aplicable a la membrana celular puesto que esta está constituida de lípidos con poros proteicos que la hacen semipermeable a la mayoría de las especies iónicas que se pueden diluir en agua. La diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana funciona como energía potencial, utilizable para un sinnúmero de procesos celulares. A diferencia de las membranas artificiales que utilizaba Nernst, en las cuales las concentraciones de electrolitos en ambos lados de la membrana eventualmente se equilibraban, en las células reales se cuenta con diversos mecanismos que mantienen la diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula, tales como la bomba de Na-K. Estos mecanismos requieren energía tomada del metabolismo, energía que contrarresta la disipación espontánea de los gradientes electroquímicos. Son por tanto, los mecanismos que mantienen un estado estacionario que posibilita la vida.

La diferencia de potencial a través de la membrana, junto con la selectividad a la permeabilidad de los distintos solutos, hace que esta energía potencial pueda verse como una batería electroquímica, o fuerza electromotriz intrínseca de las células. La ecuación de Nernst describe los flujos de electrolitos en función de las diferencias de concentración que estos guardan a través de la membrana. En particular, es posible determinar el potencial eléctrico al cual el flujo para cierto ión es cero. A este potencial se le denomina potencial de equilibrio para ese ión.

El flujo de iones a través de una membrana semipermeable se debe a la suma del flujo debido al potencial eléctrico ($\bar{J}_{potencial}$) más el flujo debido al gradiente de concentración ($\bar{J}_{difusión}$):

$$\bar{J} = \bar{J}_{difusion} + \bar{J}_{potencial} \quad (2.1)$$

donde $\bar{J}_{difusión}$ es flujo de iones por unidad de área (iones/seg m²) y se define a partir de la Ley de Fick para la difusión, la cual expresa que los iones han de fluir de la zona donde están más concentrados a la zona donde están menos concentrados:

$$\bar{J}_{difusión} = -D \frac{\partial[C]}{\partial x} \quad (2.2)$$

donde D es el coeficiente de difusión (m²/seg), $[C]$ es la concentración del ion (iones/m³) y x es la distancia transmembranal o grosor de la membrana (m).

El flujo de los iones debido a la diferencia de potencial eléctrico está descrito por la ley de Ohm:

$$\bar{J}_{potencial} = -\mu z [C] \frac{\partial V}{\partial x} \quad (2.3)$$

donde μ es la movilidad iónica (m²/V · seg), z es la valencia del ión y V (V) la diferencia de potencial eléctrico entre ambos lados de la membrana.

Sustituyendo (2.2) y (2.3) en la ecuación (2.1) nos queda que el flujo total está descrito por:

$$\bar{J} = -\mu z [C] \frac{\partial V}{\partial x} - D \frac{\partial [C]}{\partial x} \quad (2.4)$$

Expresando el coeficiente de difusión en términos de la movilidad de los iones μ , mediante la relación de Stokes-Einstein: $D = \frac{kT}{q} \mu$ donde k es la constante de Boltzmann (1.38 X 10⁻²³ Joule/°K), T la temperatura (°K) y q la carga de la molécula (C), el flujo de iones está dado por:

$$\bar{J} = -\left(\mu z [C] \frac{\partial V}{\partial x} + \frac{\mu k T}{q} \frac{\partial [C]}{\partial x} \right) \quad (2.5)$$

La ecuación (2.5) se le conoce como la ecuación de "Flujo Nernst-Plank para iones" y sus unidades son: $\text{seg} \cdot \text{m}^2$. Dividiendo J entre el número de Avogadro (N_A : 6.02×10^{23} moléculas/mol) se obtiene la ecuación de Nernst-Plank en forma molar,

$$\bar{J} = -\left(u z [C] \frac{\partial V}{\partial x} + u \frac{RT}{F} \frac{\partial [C]}{\partial x} \right) \quad (2.6)$$

donde: $u = \frac{\mu}{N_A}$ se define como la movilidad molar (moléculas $\text{m}^2/\text{V} \cdot \text{seg} \cdot \text{mol}$),

$R = \mu k$ es la constante de los gases (8.315 Joules/ $^\circ\text{K} \cdot \text{mol}$) y F es la constante de Faraday que representa la carga de un mol de partículas ($F = q / N_A$: 96480 C/mol).

Dado que la densidad de corriente eléctrica se define como el flujo carga, puede entonces obtenerse multiplicando flujo por carga con lo que la ecuación de Nernst-Plank puede también ser expresada como densidad de corriente eléctrica:

$$\bar{I} = \bar{J} \cdot z F = -\left(u z^2 F [C] \frac{\partial V}{\partial x} + u z RT \frac{\partial [C]}{\partial x} \right) \quad (2.7)$$

donde I es la densidad de corriente y se expresa en A/m^2 . Esto es, el flujo de soluto cargado es equivalente a corriente eléctrica.

A partir de la ecuación (2.7) es posible encontrar el potencial al cual la densidad de corriente (I) es cero para alguna especie iónica. Al potencial que cumple con esta condición se le denomina potencial de equilibrio para esa especie iónica (E_{ion}). Igualando (2.7) a cero:

$$\bar{I} = -\left(u z^2 F [C] \frac{\partial V}{\partial x} + u z RT \frac{\partial [C]}{\partial x} \right) = 0 \quad (2.8)$$

Tanto la variación del potencial, como el gradiente de concentración varían únicamente en dirección transmembranal, por lo que las derivadas parciales se pueden tomar como totales y (2.8) se convierte en:

$$\frac{dV}{dx} = -\frac{RT}{zF} \frac{1}{[C]} \frac{d[C]}{dx} \quad (2.9)$$

Integrando (2.9) del interior al exterior de la membrana la diferencia de potencial entre el exterior y el interior de la neurona está dado por:

$$V_{int} - V_{ext} = \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{[C]_{int}}{[C]_{ext}}\right) \quad (2.10)$$

En el caso de una neurona, si consideramos que el volumen exterior es mucho mayor que el volumen interior, entonces los cambios de concentración en el exterior son despreciables. Lo que hace al potencial externo constante. Por lo que lo igualamos a cero (i.e. $V_{ext}=0$).

Por lo tanto, dadas las concentraciones de un ión entre ambos lados de la membrana celular, el potencial de equilibrio para ese ión estará dado por:

$$E_{ion} = \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{[C]_{int}}{[C]_{ext}}\right) \quad (2.11)$$

Si definimos a V_m como el potencial en el interior de la célula en cualquier momento como “el potencial de membrana”, la diferencia entre el potencial de membrana y el potencial de equilibrio para alguna especie iónica ($V_m - E_{ion}$) genera una fuerza electromotriz para ese ión, que es equivalente a una pila en un circuito eléctrico.

2.2 Densidad de corriente iónica en un campo constante

La densidad de corriente eléctrica descrita por la ecuación (2.7) puede simplificarse si conocemos como cambia el potencial a través de la membrana. En particular, se puede considerar el caso en que el campo eléctrico a través de la membrana es constante, por lo que el potencial eléctrico decaerá linealmente con la distancia transmembranal. Este supuesto, que da origen al nombre del “Modelo de campo constante”, se describe con “la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz” (GHK) para la densidad de corriente transmembranal.

El modelo de campo constante se basa en tres supuestos:

1. El movimiento de los iones a través de la membrana sigue la ecuación de Nernst-Planck (ecuación 2.7).
2. Los iones que cruzan la membrana son independientes entre sí, es decir, no interaccionan entre ellos.
3. El campo eléctrico a través de la membrana es constante, por lo tanto, el potencial eléctrico decae linealmente con la distancia, es decir:

$$\bar{E} = -\frac{dV_m}{dx} = -\frac{V_m}{l} \quad (2.12)$$

donde l es la distancia transmembranal (m).

Sustituyendo la ecuación (2.12) en la ecuación (2.7) se sigue que:

$$\bar{I} = -\left(-uz^2F[C]\frac{V_m}{l} + uzRT\frac{d[C]}{dx}\right) = uz^2F[C]\frac{V_m}{l} - uzRT\frac{d[C]}{dx} \quad (2.13)$$

Haciendo un cambio de variable, $y = I - uz^2F[C]\frac{V_m}{l}$, y sustituyéndola en (2.13)

se obtiene: $y = -uzRT\frac{d[C]}{dx} = \frac{RTl}{zFV_m}\frac{dy}{dx}$, e integrando de 0 a l queda que:

$$l = \frac{RTl}{zFV_m} \ln \left[\frac{y([C]_{ext})}{y([C]_{int})} \right] \quad (2.14)$$

Evaluando $y([C]_{ext})$ y $y([C]_{int})$ y sustituyendo en la ecuación (2.14) se obtiene

$$e^{\frac{zFV}{RT}} = \frac{I - \frac{uz^2FV\beta[C]_{ext}}{l}}{I - \frac{uz^2FV\beta[C]_{int}}{l}} \quad \text{donde } \beta \text{ es el coeficiente de partición agua-lípido,}$$

que mide la solubilidad del ion en el agua.

Despejando la densidad de corriente I se obtiene:

$$I = \frac{uz^2FV\beta}{l} \left(\frac{e^{\frac{-zFV}{RT}} \cdot [C]_{ext} - [C]_{int}}{e^{\frac{-zFV}{RT}} - 1} \right) \quad (2.15)$$

Sea la permeabilidad de la membrana a un cierto ion definida como $P = \frac{\beta uRT}{lF}$,

donde P está dado en m/seg, sea $\xi = \frac{zFV}{RT}$ = el coeficiente de Boltzmann, se

pueden sustituir P y ξ en (2.15), por lo que la densidad de corriente para una especie iónica está dada por:

$$I = PzF\xi \left[\frac{[C]_{int} - e^{-\xi}[C]_{ext}}{1 - e^{-\xi}} \right] \quad (2.16)$$

A la ecuación (2.16) se le conoce como “la ecuación de densidad de corriente GHK” para una especie iónica y nos permite calcular la densidad de corriente eléctrica a través de la membrana generada en función de las concentraciones intra- y extracelulares del ión. Esta es la corriente eléctrica generada electroquímicamente a través de la membrana que constituye el origen de la excitabilidad neuronal.

2.3 Descripción de la membrana celular como un circuito RC en paralelo

Dado que la membrana celular exhibe propiedades eléctricas similares a las de los circuitos eléctricos, se pueden describir estas propiedades mediante un circuito equivalente formado por una resistencia y un capacitor (RC) en paralelo, donde el capacitor representa las propiedades dieléctricas de la membrana dadas por los lípidos ordenados en forma de una bicapa molecular y las resistencias fijas u ohmicas representan poros o canales iónicos proteicos que atraviesan la membrana de lado a lado, conectando así el exterior con el interior (transmembranales). Los canales, llamados “de fuga” (ver arriba), son selectivos a una especie iónica, que en particular puede ser el sodio o el potasio. Son la causa de que la membrana sea semipermeable o selectivamente permeable a ciertos iones. La batería está representada por la fuerza electromotriz (FEM) dada por la diferencia del potencial de membrana V_m y el potencial de equilibrio calculado con la ecuación de Nernst para cada especie iónica E_{ion} ($FEM = V_m - E_{ion}$). En la figura 2.1 se muestra el diagrama eléctrico del circuito RC-equivalente para la membrana celular.

El circuito RC representa las llamadas “propiedades pasivas” de la membrana, llamadas así por la ausencia de dinámica temporal en las resistencias que se comportan conforme a la ley de Ohm (son lineales). Cualquier flujo de carga transmembranal en este circuito sólo podrá llevarse a cabo a través de “los canales de fuga” (“*leak*” en inglés).

Por convención, se define el signo de la corriente iónica como positivo al flujo de iones positivos del interior al exterior, llamadas corrientes salientes, y negativo en sentido inverso, llamadas corrientes entrantes. Nótese que una corriente de iones negativos que salga de la célula es equivalente a una corriente entrante y viceversa.

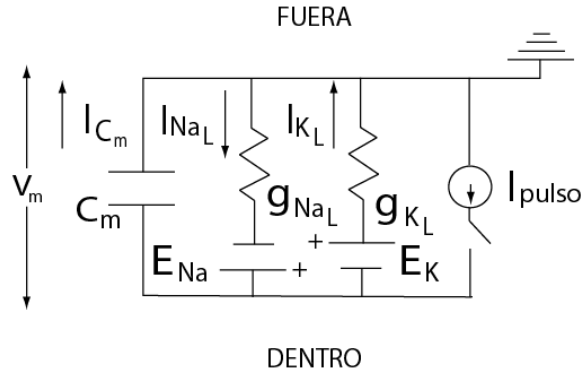


Figura 2.1. Circuito RC-equivalente de la membrana celular ilustrando a la capacitancia de membrana (C_m), las conductancias de fuga de g_{Na} y g_K , con sus respectivas corrientes de fuga que se mantienen todo el tiempo, las baterías dadas por los potenciales de equilibrio de los iones E_{Na} y E_K (FEM) y una fuente de corriente con un interruptor para producir un pulso de estimulación externa.

La ley de la conservación de la carga hace que la ecuación que describe al circuito de la figura 2.1 sea:

$$I_m(V_m, t) = C_m \frac{dV_m(t)}{dt} + I_{NaL}(V_m) + I_{KL}(V_m) + I_{pulso}(t) \quad (2.17)$$

donde I_{NaL} e I_{KL} están descritas por la ley de Ohm

$$I_{NaL}(V_m) = g_{NaL}(V_m - E_{Na}) \quad (2.18)$$

$$I_{KL}(V_m) = g_K(V_m - E_K) \quad (2.19)$$

y donde g_{NaL} (S) y g_K (S) son las conductancias, inversos de las resistencias, que representan a los canales de fuga.

La corriente aplicada al circuito (I_{pulso}) generalmente será un pulso rectangular de corriente aplicado intracelularmente definido con una función escalón.

$$I_{pulso}(t) = \begin{cases} C & \text{si } t \in [t_1, t_2] \\ 0 & \text{si } t \notin [t_1, t_2] \end{cases} \quad (2.20)$$

Los valores numéricos de las conductancias de fuga (g_{NaL} y g_{KL}) y el de la capacidad (C_m), dan lugar a las propiedades pasivas de la membrana. Es decir, su potencial de reposo V_r , su resistencia de entrada R_N y el tiempo de carga y descarga del capacitor que define el transitorio de voltaje al aplicar *Ipulso*. Los valores de g_{NaL} y g_{KL} son particulares de cada juego de parámetros V_r y R_N característicos de cada clase neuronal (hay alrededor de 10^5 clases de neuronas en el cerebro dando un total de alrededor de 10^{11} neuronas totales en el cerebro humano adulto).

Estas características sólo pueden obtenerse experimentalmente. Sólo se conocen bien estos datos para alrededor de 50 clases neuronales de todo el cerebro. Los valores de la neurona modelada en esta tesis han sido obtenidos en el laboratorio y forman la parte experimental de la presente tesis. Experimentalmente hemos medido en las neuronas espinosas medianas el potencial de reposo (V_r) cuyo promedio es de $-80 \times 10^{-3} V$, y su resistencia de entrada (R_N) es de $100 \times 10^6 \Omega$. Con estos valores experimentales promedio resolvemos la ecuación (2.17) usándolos como condiciones de frontera ($V_r = -80 \times 10^{-3} V$ y $R_N = 100 \times 10^6 \Omega$).

Así, resolviendo la ecuación 2.17 en estado estacionario y utilizando las ecuaciones (2.18) y (2.19) se obtiene

$$I_m(V_m) = g_{NaL}(V_m - E_{Na}) + g_{KL}(V_m - E_K) + I_{pulso} \quad (2.21)$$

en particular, en el reposo $I_{pulso} = 0$ e $I_m(V_r) = 0$ entonces (2.21) se convierte en:

$$g_{NaL}(V_r - E_{Na}) + g_{KL}(V_r - E_K) = 0 \quad (2.22)$$

Aplicando al circuito un pequeño pulso cuadrado de corriente, la corriente transmembranal ($I_m(V_m)$) estará dada por la ecuación (2.21).

Experimentalmente se sabe que: $R_N = \frac{\Delta V}{\Delta I}$ de donde despejando ΔI ,

$$I_m(V_{est}) - I_{reposito} = \frac{\Delta V(t)}{R_N} = \frac{V_{est} - V_r}{R_N} \text{ y usando nuevamente (2.18) y (2.19), se}$$

obtiene:

$$I_m(V) = g_{NaL}(V_{est} - E_{Na}) + g_{KL}(V_{est} - E_K) + I_{pulso} = \frac{V_{est} - V_r}{R_N} \quad (2.23)$$

donde V_{est} es el potencial estacionario al que el circuito llega tras la aplicación del pulso cuadrado intracelular (I_{pulso}).

Resolviendo las ecuaciones (2.22) y (2.23) simultáneamente, se obtienen los valores de las conductancias de los canales de fuga (g_{NaL} y g_{KL}) que dan lugar a las propiedades pasivas de la membrana. La respuesta en voltaje transmembranal calculada instantáneamente con la ley de Ohm a partir de los valores obtenidos de resolver la ecuación (2.17) se muestra en la figura 2.2, donde se observa la carga (ascenso de V_m) y descarga (descenso de V_m) del capacitor característicos de esta neurona.

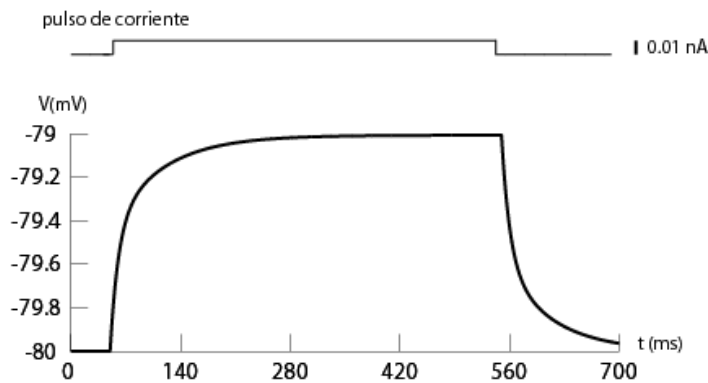


Figura 2.2.- Simulación de la respuesta del circuito pasivo (RC) de una neurona espinosa mediana ante la inyección intracelular de carga ($I_{pulso} = \text{pulso de corriente} = 0.01 \text{ nA}$). Note que después de un periodo breve de carga del capacitor se alcanza un nuevo voltaje estacionario (-79 mV) desde el V_r (promedio) de -80 mV , por lo que $R_N = \Delta V / \Delta I = 1 \text{ mV} / 0.01 \text{ nA} = 100 \text{ M}\Omega$, que es la R_N promedio en estas células. Esto quiere decir que los valores calculados de g_{NaL} y g_{KL} (ecs. 2.22-3) son los adecuados.

2.4 Modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley

Para los años 40 del siglo pasado, el modelo del circuito RC-equivalente de la membrana celular ya había sido aceptado por la comunidad científica para describir la respuesta subumbral de una neurona. Donde el potencial o voltaje umbral se definió como aquel potencial de membrana en el que empieza a generarse, o a hacerse evidente, la excitabilidad neuronal, también conocida como “propiedades activas” de las neuronas, para diferenciarlas de las pasivas (RC). Como se resumirá a continuación, las propiedades activas generadas en respuesta a un estímulo resultaron propiedades con dinámicas no lineales.

Trabajando en colaboración, un ingeniero y un biólogo: Hodgkin y Huxley (en lo sucesivo señalados por las iniciales HH), obtuvieron el Premio Nóbel de Medicina y Fisiología (1952) [Ref. 15] por describir las corrientes iónicas que generan la “bio-electricidad” o “excitabilidad”, consistente en la generación de espigas de voltaje que se transmiten de una neurona a otra y llamadas “potenciales de acción”. Estos impulsos eléctricos permiten que las células excitables, como las neuronas, se comuniquen, lo que constituye la base del funcionamiento cerebral.

Además de proporcionar una descripción experimental de los flujos iónicos que generan estos impulsos, HH propusieron un modelo matemático de la dinámica no lineal de estos flujos. Las corrientes iónicas en este caso se denominan “activas”, pues son distintas a las de fuga y no contribuyen al potencial de reposo ni a las propiedades pasivas. Esto implica que a potenciales subumbrales las corrientes iónicas llamadas “activas” son prácticamente nulas y sólo se hacen presentes cuando el estímulo sobrepasa el potencial umbral.

Desde el principio se pensó en vías de permeabilidad iónica a través de la membrana que pudieran dar lugar a los flujos o corrientes iónicas transmembranales que dan lugar al “potencial de acción”. Pero a diferencia de las conductancias de fuga, siempre abiertas, HH postularon la existencia, hipotética en ese entonces, de otros poros que en reposo se encontrarían

“cerrados” y que sólo se activarían (abrirían) haciéndose permeables al paso de iones cuando el potencial de membrana sobrepasara un valor de voltaje umbral.

HH describieron la dinámica de estos flujos de corriente transmembranal a partir de sus experimentos realizados con la técnica de “fijación de voltaje” en el axón gigante del calamar. A partir de las corrientes medidas para cada potencial fijo pudieron calcular la conductancia instantánea, tiempo a tiempo, usando la ley de Ohm. Observaron que la conductancia era variable en el tiempo (no óhmica), tal como debería ser para generar una espiga de voltaje súbita (impulso) y transitoria que es en lo que consiste un potencial de acción. Sin embargo, a tiempos relativamente largos, las conductancias alcanzan valores estacionarios (cuando $t \rightarrow \infty$).

Así, cuando se graficó la conductancia en función del voltaje a tiempos prolongados ($V_{[t \rightarrow \infty]}$), la relación obtenida para la amplitud (activación) de la conductancia de potasio con respecto del voltaje (V_m) resultó ser una función sigmoide, que pudo ser directamente interpretada en base a la *Ley de distribución de Maxwell-Boltzmann*. Esto se concibió como que a nivel molecular, cientos de moléculas proteicas darían la conductancia para un ión, y la gráfica de la conductancia en función del voltaje ($g(V)$) pasó a verse como la distribución de probabilidades de que estas moléculas estén en uno de dos estados: abiertas (activas o conductoras) o cerradas (inactivas o no conductoras). Basta entonces graficar normalizada la función sigmoide de la conductancia en estado estacionario ($g_{[t \rightarrow \infty]}$), también llamada función de activación o “ y_∞ ”, que toma valores entre 0 y 1, para observar de manera directa las probabilidades (P) de que las moléculas estén activas o inactivas a un voltaje dado.

En vista de que se trata entonces de cambios moleculares, se tiene la ventaja de verlos como si fuesen reacciones químicas. Esto es, como gobernadas

por una ecuación diferencial que sigue una cinética de primer orden reversible, que describe el cambio entre un estado y otro: abierto o cerrado.

Cuando HH recibieron el Premio Nóbel, estas vías moleculares conductoras de iones, ahora conocidas como “canales iónicos transmembranales” no dejaban de ser una hipótesis entre otras. Sin embargo, la capacidad del modelo matemático, que se describe a continuación, para explicar mecánicamente el evento excitable, i.e.: “el potencial de acción”, así como la de describir la cinética de las conductancias iónicas que lo generan en base a leyes fisico-químicas y de mecánica estadística bien conocidas, bastó para que la hipótesis fuera dominante por muchos años. Hoy en día, la existencia molecular y física de estos “canales iónicos” está perfectamente demostrada (muchos han sido clonados o transformados con técnicas de DNA-recombinante), y aun la estructura de algunos a sido detallada a nivel atómico con el uso de la cristalografía de rayos X y la resonancia magnética. Actualmente también se hacen estudios de mecánica cuántica de los canales iónicos ([Ref. 19]).

2.4.1 El canal iónico como base molecular de la corriente iónica transmembranal: La corriente iónica unitaria

El estudio de la corriente iónica transmembranal producida por un solo canal, contribuyó a la obtención del premio Nóbel de Medicina y Fisiología para el físico E. Neher y el médico B. Sakmann en 1992 [Ref. 11]. Estos investigadores desarrollaron una ingeniosa técnica conocida como *patch clamp*. A partir de este estudio se ha podido descubrir que la apertura de cada canal no es gradual sino que es brusca. O bien el canal está abierto y deja pasar iones, o bien está cerrado y no los deja pasar. Mediciones de corrientes por canales únicos (corrientes unitarias) a diferentes voltajes, mostraban que los canales oscilan entre los dos estados aleatoriamente, pero que la probabilidad de permanecer por más tiempo en alguno de los estados era una función del voltaje transmembranal. Esto es, es imposible predecir con exactitud si la molécula se abrirá o cerrará en

un instante determinado pero si se pueden calcular las probabilidades o tiempos de residencia en un estado u otro dependiendo del valor del potencial de membrana.

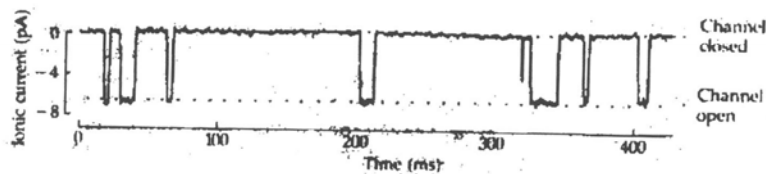


Figura 2.3.- Respuesta aleatoria de un canal iónico aislado al neurotransmisor acetilcolina.

Como veremos más adelante, es la población de muchos canales lo que describe la cinética macroscópica de primer orden y lo que genera una curva gradual de apertura y cierre de tipo determinista. Esto es, esta técnica permite pasar del mundo micro (molecular) al mundo macro (celular) observando si los registros de múltiples corrientes unitarias pueden reconstruir, cuando se suman, la corriente macroscópica que se registra a nivel de una célula.

La apertura y cierre de un canal en función del voltaje puede ser modelada si pensamos en una barrera de potencial, formada por la propia estructura molecular del canal, que impide el flujo de iones a través del poro pero que es capaz de ser disminuida o eliminada mediante un cambio en la conformación de la estructura molecular del canal, al cambiar el potencial transmembranal. Una especie de interruptor de apertura y cierre molecular intrínseco al canal.

2.4.2 La barrera de potencial como interruptor de corriente en cada canal iónico

La apertura y cierre de un canal puede deberse a que una o varias partículas de la molécula proteica (radicales, aminoácidos) tengan carga eléctrica. Las cargas intrínsecas al canal formarían una barrera de potencial que impediría el flujo de iones. Un cambio en el campo eléctrico transmembranal podrá mover estas cargas, que entonces se desplazarían como una compuerta disminuyendo o aumentando la barrera energética para el flujo de iones.

Así, conforme el potencial de membrana varía, las partículas asociadas a la compuerta se moverían generando la aparición o desaparición de la barrera de potencial y consecuentemente la apertura o cierre de la compuerta.

A la constante de velocidad con que la compuerta pasa de un estado cerrado a uno abierto la denominamos $\alpha(V)$. A la constante de velocidad de cambio con la que pasa de un estado abierto a uno cerrado le llamamos $\beta(V)$. Ambas son descritas por cinéticas de primer orden (funciones exponenciales simples):

$$\alpha(V_m) = \alpha_0 e^{\frac{zFV_m}{RT}} \quad (2.24)$$

$$\beta(V_m) = \beta_0 e^{-\frac{zFV_m}{RT}} \quad (2.25)$$

donde $\frac{zFV}{RT}$ se relacionan con el trabajo (carga X voltaje) hecho por las partículas ante la aparición o desaparición de la barrera de potencial.

Estas constantes de velocidad describen la dependencia del voltaje de las compuertas moleculares (residuos proteicos con carga).

2.4.3 El proceso aleatorio de muchos canales genera la corriente transmembranal macroscópica dependiente de voltaje y de tiempo

Sea " y " la probabilidad de que una partícula cargada asociada a una compuerta esté en un estado permisivo o abierto de un canal. Por lo tanto, " $1 - y$ " es la probabilidad de que esa misma partícula se encuentre en estado no permisivo o cerrado del mismo canal. Entonces, la transición entre el estado abierto y el estado cerrado se puede describir mediante una ecuación diferencial para la cinética de primer orden reversible:

$$\frac{dy}{dt} = \alpha(V_m)(1 - y) - \beta(V_m)y \quad (2.26)$$

donde $\alpha(V_m)$ es la constante de velocidad (o de reacción) con la que la compuerta pasa del estado cerrado al estado abierto y $\beta(V_m)$ es la constante de velocidad para pasar del estado abierto al estado cerrado. El primer término de la ecuación (2.26) describe entonces la activación (apertura) del canal mientras que el segundo término describe la desactivación (cierre) del canal.

Conforme $t \rightarrow \infty$ la probabilidad de que la compuerta esté en un estado abierto alcanza un estado estacionario $y_\infty(V_m)$, en el cual se cumple $\frac{dy}{dt} = 0$, por lo que:

$$y_\infty(V_m) = \frac{\alpha(V_m)}{\alpha(V_m) + \beta(V_m)} \quad (2.27)$$

Hodgkin y Huxley obtuvieron el lado derecho de la ecuación (2.27) de los datos experimentales al normalizar la gráfica de conductancia en estado estacionario ($t \rightarrow \infty$) en función del voltaje.

Sustituyendo (2.27) en (2.26) $\frac{dy}{dt} = (\alpha + \beta)y_\infty - (\alpha + \beta)y = (y_\infty - y)(\alpha + \beta)$ e integrando sobre y

$$\int \frac{dy}{y_\infty - y} = \int (\alpha + \beta) dt \Rightarrow \ln(y_\infty - y) = (\alpha + \beta) \cdot t + C = y_\infty - Ae^{-(\alpha + \beta)t}$$

Aplicando la condición inicial $y(t = 0) = y_0$ a la ecuación anterior $A = y_\infty - y_0$ por lo que:

$$y(V_m, t) = y_\infty(V_m) - (y_\infty(V_m) - y_0) e^{-\frac{t}{\tau(V_m)}} \quad (2.28)$$

que describe el comportamiento de la probabilidad de apertura en función de V_m y t , donde $\tau(V_m)$ está dada por:

$$\tau(V_m) = \frac{1}{\alpha(V_m) + \beta(V_m)} \quad (2.29)$$

$\tau(V_m)$ representa la constante de tiempo para la apertura de los canales iónicos. El valor de $\tau(V_m)$ se mide experimentalmente de las curvas de conductancia en función del tiempo para cada valor del voltaje.

Una compuerta podría depender de una sola partícula que genere la barrera de potencial, pero si tenemos p partículas idénticas e independientes asociadas a la compuerta del canal, entonces la probabilidad de que todas se encuentren simultáneamente en estado abierto es el producto de sus probabilidades individuales de apertura, es decir, $y(V_m)^p$. Por lo tanto, extendiendo la ecuación 2.28 a un conjunto de p partículas asociadas a una misma compuerta se obtiene

$$y(V_m, t)^p = \left(y_\infty(V_m) - (y_\infty(V_m) - y_0(V_m)) e^{-\frac{t}{\tau(V)}} \right)^p \quad (2.30)$$

la cual está dada en términos de los valores experimentales $y_\infty(V_m)$ y $\tau(V_m)$.

Ahora bien, podría ser que un canal esté compuesto por más de una compuerta e incluso podría tener compuertas que en lugar de activarlo lo inactivaran (i.e. lo cerraran mediante una compuerta distinta una vez abierto de la primera compuerta). Si ese fuera el caso, el tratamiento matemático y los conceptos anteriores siguen siendo válidos con la excepción de que ahora las condiciones iniciales cambian y se invierten y_0 y y_∞ . En el caso de más compuertas de activación o inactivación sólo tenemos que aumentar el número

de partículas y aplicar la ecuación (2.30). De acuerdo a esto, un canal puede pasar por diferentes estados:

- **Activación:** Es el estado en el que todas las partículas asociadas a la compuerta de activación aumentan su probabilidad de que la barrera de potencial esté en un estado permisivo que abra el canal. Generalmente se asocia a una despolarización del potencial de membrana, aunque hay canales que se activan con la hiperpolarización del potencial de membrana.
- **Desactivación:** Es el estado en el que todas las partículas asociadas a la compuerta de activación disminuyen su probabilidad de que la barrera de potencial este en un estado permisivo que abra el canal. Generalmente se asocia a una hiperpolarización del potencial de membrana, aunque hay canales que se desactivan con la despolarización del potencial de membrana.
- **Inactivación:** Es el estado en el que todas las partículas asociadas a la compuerta de inactivación (distinta de la compuerta de activación) tienen mayor probabilidad de que la barrera de potencial este en un estado no permisivo que cierra el canal. Generalmente está asociada a una despolarización del potencial de membrana.
- **Desinactivación o remoción de la inactivación:** E Es el estado en el que todas las partículas asociadas a la compuerta de inactivación tienen la mayor probabilidad de que la barrera de potencial esté en un estado permisivo que abre el canal. Generalmente se asocia a una hiperpolarización del potencial de membrana.

Nótese que un canal que posee tanto compuertas de activación como de inactivación, requerirá que ambas compuertas estén en estado permisivo para generar una corriente iónica, y sólo necesita que una sola de estas compuertas este en estado no permisivo para que no haya flujo de iones.

Si en vez de pensar en un sólo canal unitario pensamos en un conjunto de canales idénticos e independientes en un área de la membrana, podemos pensar que la probabilidad de apertura de cada canal, en paralelo con las de los otros canales, da lugar a una distribución de probabilidades de apertura de los canales en cada instante de tiempo y para cada voltaje. Pero estos canales no están necesariamente sincronizados, pues a nivel molecular (uno por uno), sus aperturas son aleatorias. Esto explica que el cambio en el voltaje, al modificar la probabilidad de apertura de cada canal, cause un comportamiento de la función de activación (y_{∞}) de tipo sigmoide (Maxwell-Boltzmann); idéntico al de la medición de la conductancia (macroscópica) a tiempos prolongados.

En el caso de la conductancia de potasio ($g_K(V, t)$), HH la ajustaron a los datos suponiendo la existencia de cuatro partículas asociadas a la compuerta de activación, a la que llamaron “ n ”. Esto bastó para ajustar la cinética de $g_K(V, t)$.

Sin embargo, la conductancia de sodio (g_{Na}) mostraba un comportamiento más complejo: se abría (activaba) sólo de manera transitoria, y luego se cerraba por sí sola aunque se mantuviera el voltaje de estimulación a niveles supraumbrales. Por lo que HH propusieron que el canal de sodio se encontraba regulado por dos compuertas: una para abrirlo (activarlo) denominada “ m ” y otra distinta para cerrarlo (inactivarlo), denominada “ h ”. Ambas activadas por despolarización. La compuerta h se supuso más lenta que la compuerta m , lo que explicaba la apertura inicial seguida de un rápido cierre. El ajuste numérico se obtuvo suponiendo 3 partículas asociadas a la compuerta de activación y una partícula asociada a la compuerta de inactivación (*ver Figura 2. 4*).

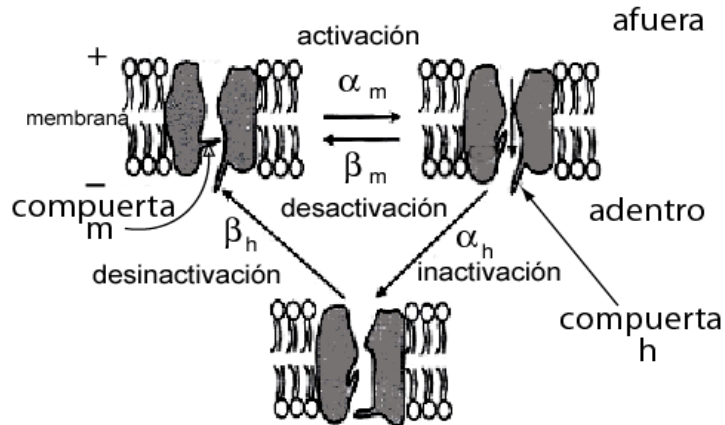


Figura 2.4.- Esquema que muestra la actividad de las compuertas durante los diversos estados de un canal de sodio. Abrir o cerrar la compuerta “*m*” significa activarse o desactivarse, las constantes de velocidad α_m y β_m (ecs. 2.24 y 2.25) muestran la reversibilidad de este cambio de estado. Este es el único estado que tienen los canales de potasio y cuya compuerta se le denomina “*n*”. Cerrar o abrir la compuerta “*h*” del canal de sodio significa inactivarse o desinactivarse. Las constantes de velocidad α_h y β_h (esc. 2.24 y 2.25) son propias de esta compuerta. En el modelo HH la compuerta “*h*” sólo la tiene el canal de sodio y no la tiene el canal de potasio.

2.5 Cuando al circuito RC-equivalente se le adicionan conductancias con compuertas dependientes de voltaje y tiempo, para sodio y para potasio, obtenemos el “mecanismo básico de disparo” (MBD)

El disparo repetitivo de potenciales de acción, esto es, la excitabilidad de una neurona del cerebro, puede representarse por los siguientes elementos: 1) el circuito RC-equivalente, con las conductancias óhmicas de fuga, que nos da las propiedades pasivas, más 2) las conductancias variables con compuertas dependientes del voltaje y del tiempo. A estas conductancias variables, no lineales, se deben las propiedades activas de la neurona.

2.5.1 ¿Por qué Na y K?

Utilizando el método de fijación de voltaje (voltaje clamp) que permite mantener constante la diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula mediante un amplificador con retroalimentación negativa, HH pudieron controlar y medir cuánta corriente iónica y cuánta conductancia iónica está disponible para cada potencial de membrana. Al cambiar los electrolitos de las soluciones experimentales se dieron cuenta que la corriente transmembranal se debía al flujo de los iones sodio y potasio.

Las concentraciones de estas especies iónicas están distribuidas desigualmente entre el interior y el exterior de las células: afuera hay más sodio y menos potasio que adentro. Adentro hay más potasio que afuera. En otras palabras, una célula viva no está en equilibrio termodinámico, si no que mantiene desequilibrios, entre ellos los de sodio y potasio, que requieren del gasto permanente de energía para mantenerse. Esto es de vital importancia puesto que estos desequilibrios generan los potenciales de Nernst (las baterías) que son la energía potencial que la célula utilizará para producir sus señales. Como las corrientes de sodio y potasio son de signo opuesto, la corriente iónica total puede ir primero hacia un lado y luego hacia el otro de la célula dependiendo de la cinética de cada conductancia variable. Esto es, tenemos los componentes para generar un mecanismo oscilatorio. Este oscilador es

justamente el que genera el disparo repetitivo de potenciales de acción (señales eléctricas) en las neuronas. Es por eso que se necesitaron cuando menos dos especies iónicas distintas, cada una con su batería, y sus vías exclusivas de conducción, para generar la oscilación. Un solo ión disiparía su gradiente electroquímico siguiendo su potencial de equilibrio, pero al llegar a él, nada regresaría el potencial al llamado potencial de reposo, que ya vimos, no es un estado de equilibrio.

Si los valores de los potenciales de equilibrio de las especies iónicas estuvieran cercanos entre sí, la oscilación todavía podría existir pero su rango dinámico estaría dado por la separación entre estos potenciales; haciendo que la relación señal-ruido fuese pobre.

2.5.2 El circuito equivalente del “mecanismo básico de disparo” (MBD)

Agregando la idea de conductancias no lineales, dependientes de voltaje y de tiempo y selectivas a sodio y potasio, al circuito pasivo, es posible obtener la respuesta excitable completa en voltaje (subumbral y supraumbral) de la membrana ante un pulso despolarizante de corriente.

El circuito eléctrico equivalente que representa a la membrana con sus propiedades eléctricas pasivas y activas se muestra en la figura 2.5.

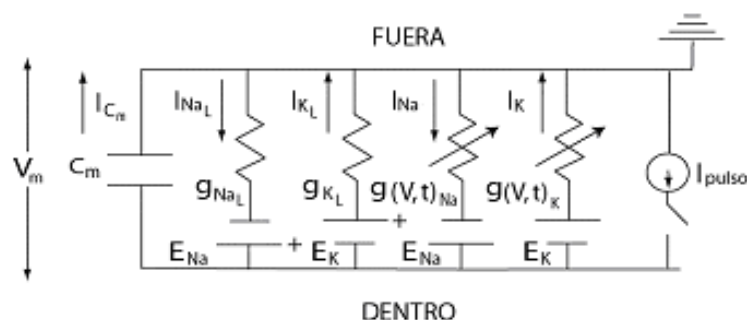


Figura 2.5.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y las propiedades activas con las conductancias dependientes de voltaje y de tiempo.

La ecuación que describe al circuito anterior de acuerdo a la conservación de la carga es:

$$I_m(V_m, t) = C_m \frac{dV_m(t)}{dt} + I_{Na_L}(V_m) + I_{K_L}(V_m) + I_{Na}(V_m, t) + I_K(V_m, t) + I_{pulso}(t) \quad (2.31)$$

donde las corrientes iónicas de sodio y potasio dependientes de voltaje se simulan utilizando la ley de Ohm pero agregando la dinámica del modelo de compuertas de HH:

$$I_{Na}(V_m, t) = \bar{g}_{Na} m(V_m, t)^3 h(V_m, t) \cdot (V_m - E_{Na}) \quad (2.32)$$

$$I_k(V_m, t) = \bar{g}_K n(V_m, t)^4 \cdot (V_m - E_K) \quad (2.33)$$

donde \bar{g}_{Na} , es la conductancia máxima de sodio por unidad de área (S/m²), y $m(V_m, t)$ y $h(V_m, t)$ representan la probabilidad de apertura de las compuertas de activación e inactivación respectivamente (ecuación (2.30)), \bar{g}_K es la conductancia máxima de potasio por unidad de área (S/m²) y $n(V_m, t)$ la probabilidad de activación de los canales de potasio (ecuación (2.30)).

El modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley propone que las variables $m(V_m, t)$, $h(V_m, t)$ y $n(V_m, t)$ siguen una dinámica de primer orden descrita por la ecuación diferencial (2.26), y que escritas en términos del estado estacionario a un tiempo que tiende a infinito (suficientemente largo o $t \rightarrow \infty$) están dadas por:

$$\frac{dm(V_m, t)}{dt} = \frac{m_\infty(V_m) - m}{\tau_m(V_m)} \quad (2.34)$$

$$\frac{dh(V_m, t)}{dt} = \frac{h_\infty(V_m) - h}{\tau_h(V_m)} \quad (2.35)$$

$$\frac{dn(V_m, t)}{dt} = \frac{n_\infty(V_m) - n}{\tau_n(V_m)} \quad (2.36)$$

2.5.3 Cada conductancia iónica dependiente de voltaje y tiempo da lugar a un sistema de ecuaciones diferenciales

Para el circuito pasivo bastaba con resolver la ecuación (2.21). Pero el circuito del MBD está representado por el sistema de ecuaciones diferenciales compuesto por las ecuaciones: (2.31), (2.32), (2.33), (2.34), (2.35) y (2.36) que deben resolverse simultáneamente.

La solución del sistema genera el MDB se ilustra en la figura 2.6.

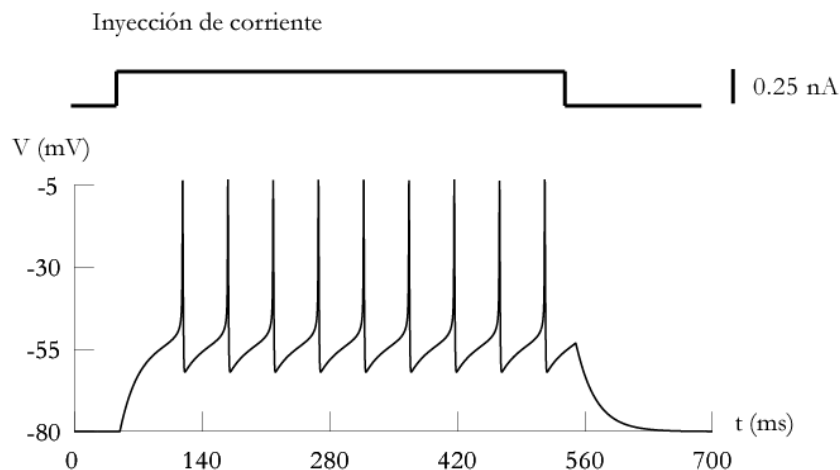


Figura 2.6.- Mecanismo Básico de Disparo de la neurona modelada (MBD): Respuesta en voltaje, ante un pulso rectangular de corriente despolarizante. Nótese que a la respuesta pasiva se le sobrepone un tren de espigas de voltaje (potenciales de acción). Este disparo repetitivo de las espigas (impulsos) se debe a la oscilación que se genera por la cinética de las conductancias no lineales de sodio y potasio.

Capítulo 3: Corrientes moduladoras del potencial de Acción de las neuronas espinosas medianas

El patrón de disparo es característico para cada tipo de neuronas, esto es debido a la diversidad de canales y la densidad de cada uno de ellos sobre la membrana. Las NEM's contienen una gran diversidad de canales como los mencionados anteriormente.

A continuación se presentan las ecuaciones que modelan las diferentes corrientes moduladoras del mecanismo básico de disparo en función de la clasificación funcional de las corrientes mencionadas en el capítulo 1.

3.1 Corrientes dependientes de voltaje y tiempo

La acción de los diferentes canales que poseen las NEM's tiene un efecto en el disparo repetitivo de potenciales de acción característico de este tipo de neuronas.

3.1.1 I_{Kir} Corriente rectificadora de potasio

Una de los canales característicos en las NEMs es el canal de potasio rectificador de corriente entrante, éste canal, además de modificar el patrón de disparo ayuda a las corrientes de fuga a mantener constante el potencial de reposo de la membrana. Su activación depende del potencial de membrana y del tiempo, pero a diferencia de los demás canales, éste se encuentra activo en el reposo.

La modelación de esta corriente se describe a partir de la ley de Ohm y del modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley de la siguiente manera (obtenido de datos no publicados de Laville et. al):

$$I_{Kir} = \bar{g}_{Kir} n(V, t) \cdot (V - E_K) \quad (3.1)$$

donde \bar{g}_{Kir} es la conductancia máxima por unidad de área y $n(V, t)$ es la probabilidad de apertura de la compuerta de activación.

Sistema de ecuaciones MBD+I_{Kir}

Integrando el canal rectificador al circuito del mecanismo básico se obtiene el siguiente circuito equivalente

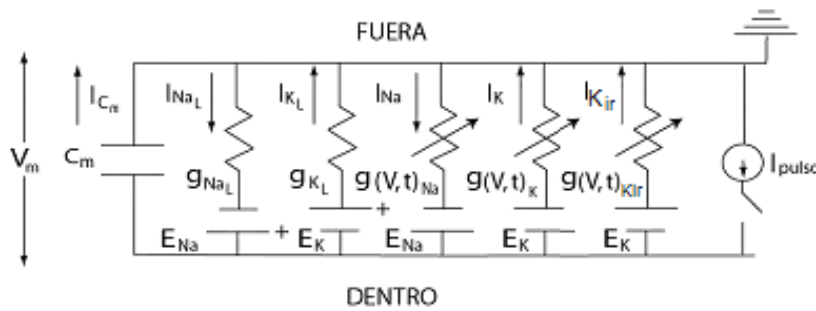


Figura 3.1.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y Kir representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

De acuerdo a la conservación de la carga, la corriente que describe el circuito es

$$I_m(V, t) = I_c + I_{iónica} = C_m \frac{dV}{dt} + I_{NaL}(V, t) + I_{KL}(V, t) + I_{Na}(V, t) + I_K(V, t) + I_{Kir}(V, t) + I_{pulso}(t) \quad (3.2)$$

Para resolver la ecuación (3.2) deberá resolverse simultáneamente las ecuaciones : (3.1) que describe la corriente rectificadora de potasio, (2.32) que describe la corriente activa de sodio, (2.33) que describe la corriente activa de

potasio, además de las ecuaciones (2.34), (2.35) y (2.36) que describen la cinética de primer orden que siguen las compuertas de activación y de inactivación.

3.1.2 I_M sensible a muscarina: adaptadora

La corriente I_M produce un efecto adaptador en el disparo neuronal, esto es, aumenta el intervalo entre espigas. Ésta corriente presenta una activación muy lenta por lo que su efecto se presenta varios milisegundos después de la activación de las corrientes generadoras del disparo de potenciales de acción.

La corriente I_M está descrita por la ley de Ohm utilizando el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley con la siguiente ecuación [Ref. 23]:

$$I_M(V, t) = \bar{g}_{K_M} m(V, t) \cdot (V - E_K) \quad (3.3)$$

donde \bar{g}_{K_M} es la conductancia máxima por unidad de área, y $m(V, t)$ es la probabilidad de apertura de la compuerta de activación. Ésta variable se encuentra descrita por una dinámica de primer orden como la ecuación (2.34). A diferencia de la corriente de potasio modelada por Hodgkin y Huxley, la corriente de potasio sensible a muscarina se modela con una sola compuerta de activación.

Sistema de ecuaciones MBD + I_M

Integrando esta corriente al circuito del mecanismo básico de disparo se obtiene:

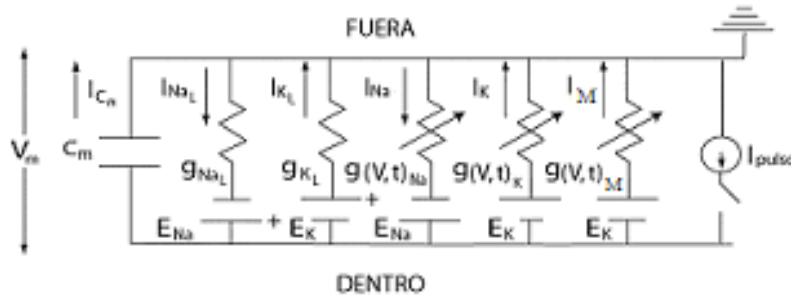


Figura 3.2.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y M representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación equivalente que describe el circuito equivalente es:

$$I_m(V,t) = I_c + I_{iónica} = C_m \frac{dV}{dt} + I_{Na_L}(V,t) + I_{K_L}(V,t) + I_{Kir}(V,t) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_M(V,t) + I_{pulso}(t) \quad (3.4)$$

donde la corriente I_M se modela con la dinámica anteriormente descrita. Para resolver la ecuación (3.4) debe resolverse el sistema compuesto por las ecuaciones (3.4) y las siguientes ecuaciones

$$I_{Na}(V,t) = \bar{g}_{Na} m(V,t)^3 h(V,t) \cdot (V - E_{Na}) \quad (2.33)$$

$$I_K(V,t) = \bar{g}_K n(V,t)^4 \cdot (V - E_K) \quad (2.36)$$

$$I_M(V,t) = \bar{g}_{K_M} m(V,t) \cdot (V - E_K) \quad (3.3)$$

además deben resolverse simultáneamente las ecuaciones que describen la probabilidad de apertura y cierre de las compuertas de activación e inactivación $m(V,t)$, $h(V,t)$ y $n(V,t)$ está descrita en la sección anterior (2.34) (2.35) (2.36).

3.1.3 I_A transitoria de potasio: retardadora

La corriente generada por el canal de potasio I_A se describe con la ley de Ohm utilizando el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley como sigue [Ref. 16]

$$I_A(V,t) = \bar{g}_A m(V,t)^4 h(V,t) \cdot (V - E_K) \quad (3.5)$$

donde \bar{g}_A es la conductancia máxima de canales por unidad de área, $m(V,t)$ la probabilidad de apertura de la compuerta de activación y $h(V,t)$ la probabilidad de apertura de la compuerta de inactivación. De la ecuación (3.5) se observa que este tipo de canales presenta una activación muy rápida así como una inactivación del canal dando así la característica de ser una corriente transitoria

Sistema de ecuaciones MBD + I_A

Integrando la corriente de potasio I_A en el circuito del mecanismo básico se obtiene el siguiente circuito equivalente

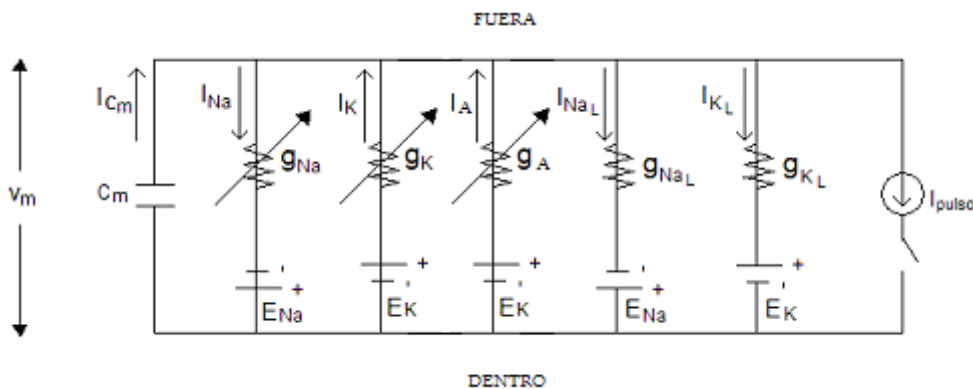


Figura 3.3.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y A representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

El sistema de ecuaciones para resolver es el siguiente:

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_A(V,t) + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.6}$$

donde $I_{Na}(V,t)$, $I_K(V,t)$ e $I_A(V,t)$ están descritas con las ecuaciones (2.32) (2.33) y (3.5) respectivamente. Así mismo, las funciones de probabilidad de apertura de las compuertas tanto de activación como de inactivación se encuentran descritas por las ecuaciones (2.34) (2.35) y (2.36).

3.1.4 I_D de potasio de inactivación lenta: ayuda en la creación de rampas de voltaje

El canal de potasio de inactivación lenta presenta una corriente que funcionalmente en el disparo tiene la característica de generar rampas, esto es debido a la inactivación lenta del canal que permite la salida más lenta del potasio que contrarresta lentamente la despolarización del potencial de membrana. La descripción de la corriente se hace con la ley de Ohm y el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley de la siguiente forma [Ref. 20]:

$$I_D(V,t) = \bar{g}_D m(V,t) h(V,t) \cdot (V - E_K)
 \tag{3.7}$$

Donde \bar{g}_D representa la conductancia máxima por unidad de área y $m(V,t)$ y $h(V,t)$ la probabilidad de apertura de las compuertas de activación e inactivación modeladas con las ecuaciones (2.34) y (2.35) respectivamente.

Sistema de ecuaciones MBD + I_D .

Integrando al circuito de disparo básico la corriente I_D se obtiene el siguiente circuito equivalente

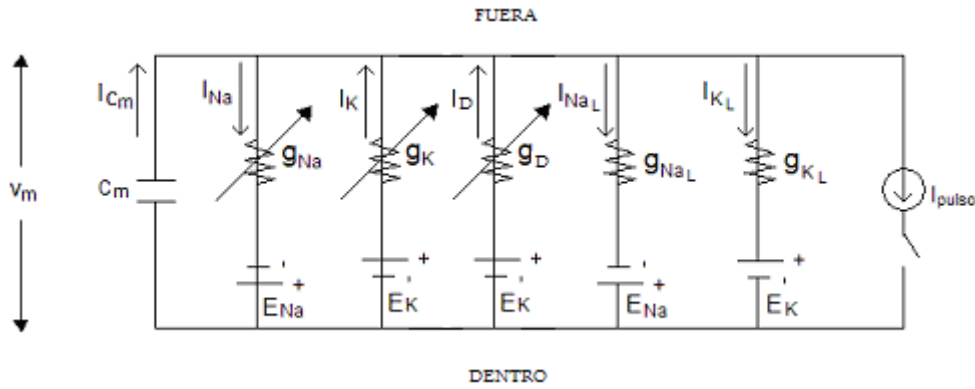


Figura 3.4.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y D representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que describe ahora el circuito equivalente es

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_D(V,t) + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.8}$$

donde $I_{Na}(V,t)$, $I_K(V,t)$ e $I_D(V,t)$ se describen con las ecuaciones (2.32) (2.33) (3.7) respectivamente y las probabilidades de apertura de sus compuertas de activación e inactivación con las ecuaciones (2.34) (2.35) (2.36).

3.1.5 I_{NaP} persistente de sodio

Al igual que las corriente transitoria de sodio modelada por Hodgkin y Huxley, la corriente persistente de sodio también presenta una compuerta de inactivación, sin embargo, las constantes $h_{\infty}(V)$ y $\tau_i(V)$ toman valores diferentes para cada tipo de canal, dando así dinámicas diferentes para su inactivación. La corriente persistente de sodio se modela con la ley de Ohm a partir del modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley de la siguiente forma [Ref. 22]

$$I_{nap}(V, t) = \bar{g}_{nap} m(V, t) h(V, t) \cdot (V - E_{Na}) \quad (3.9)$$

donde \bar{g}_{nap} es la conductancia máxima por unidad de área y $m(V, t)$ y $h(V, t)$ son las probabilidades de apertura de las compuertas de activación e inactivación respectivamente.

Sistema de ecuaciones MBD + I_{NaP}

Integrando este canal al circuito que representa al modelo básico de disparo se obtiene el siguiente circuito equivalente

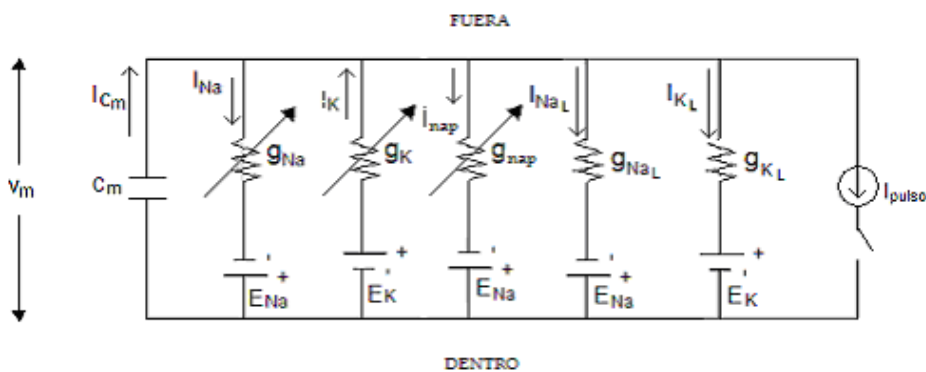


Figura 3.5.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na (HH y sodio persistente) y K representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que representa el circuito equivalente es la siguiente

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_{nap}(V,t) + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.10}$$

donde las corrientes iónicas activas se encuentran descritas por las ecuaciones (2.32), (2.33), (3.9) y las probabilidades de apertura de las compuertas de activación e inactivación de éstos canales con las ecuaciones (2.34) (2.35) y (2.36).

3.2 Corrientes dependientes de voltaje, tiempo y concentración interna de Ca^{2+} ($[Ca]_i$)

3.2.1 Dinámica de la concentración interna de calcio $[Ca]_i$

La concentración del calcio interno resulta muy importante debido a la diferencia de concentraciones de este ión entre el interior y el exterior de la célula. Es por eso que las neuronas la tienen altamente controlada. Para regular la concentración interna de calcio se introduce una dinámica para el calcio interno que incluye tres mecanismos: 1) canales de calcio dependientes de voltaje, por los cuales el calcio puede fluir al interior de la célula. 2) Bomba ATP-asa de calcio, la cual saca el exceso de calcio interno, y 3) Amortiguamiento del calcio en el interior de la célula. Todos los procesos son cinéticas de primer orden.

Bomba intercambiadora Na-Ca (BmNaCa)

Si la concentración de calcio interna dura mucho tiempo se inician procesos de muerte celular. Al mismo tiempo, el calcio se requiere para iniciar múltiples procesos, entre los cuales se cuenta la de activar canales dependientes

de calcio. Así, el calcio que entra a la célula sólo puede durar poco tiempo elevado. Para controlar los aumentos de calcio hay mecanismos que lo expulsan del citoplasma. Uno de estos mecanismos es la bomba (ATP-asa) de calcio, la cual usa la energía de la hidrólisis del ATP (transporte activo) para sacar el calcio de la célula.

El calcio también se expulsa por otros mecanismos: el intercambiador Na-Ca que saca un ión de Ca mientras mete dos de Na, etc. Sin embargo, en el presente trabajo no lo utilizaremos.

En esta tesis la ATP-asa de calcio se modela con tres constantes cinéticas



A partir de las tres constantes cinéticas se definen dos constantes:

$$KT = \langle \text{concentración total la bomba} \rangle * k_3.$$

(3.11)

$$KD = k_2/k_1$$

A la constante KT se le denomina “constante de tiempo de la bomba” y a la constante KD se le denomina la “constante de disociación”, es decir, la afinidad que tiene el calcio para unirse con la enzima para salir por la membrana.

La ecuación que describe el funcionamiento de la bomba es:

$$bomba = \frac{-kT * C_{ai}}{C_{ai} + kD}$$

(3.12)

donde las constantes KT y KD están definidas por (3.11)

Cinética de primer orden para el amortiguamiento de Ca²⁺ (AMCa)

Además de la bomba de calcio para la regulación de la concentración de calcio en el interior de la célula, existen organelos intracelulares como el retículo endoplásmico que se encargan de secuestrar el calcio libre del citoplasma hacia

depósitos intracelulares. Matemáticamente, modelamos un amortiguador que sigue una dinámica de primer orden.

$$\frac{dC_{ai}}{dt} = \frac{Ca_{\infty} - C_{ai}}{\tau} \quad (3.13)$$

donde Ca_{∞} es el valor del calcio interno en reposo, alrededor de los 200-300 nM. Y τ es la constante de tiempo para remover el calcio, C_{ai} es la concentración intracelular (citoplásmica) de calcio.

Sistema de ecuaciones $I_{Ca} + BmNaCa + AMCa$ (DMCa)

Dado que la dinámica del calcio interno se compone de los mecanismos anteriormente descritos, se utiliza una ecuación con todos los mecanismos involucrados que describe la dinámica del calcio interno en el tiempo.

$$\frac{dC_{ai}}{dt} = \left(\frac{-10000}{2F \cdot depth} \right) i_{Ca} + \frac{-kT + C_{ai}}{C_{ai} + kD} + \frac{Ca_{\infty} - C_{ai}}{\tau} \quad (3.14)$$

El primer término de la ecuación (3.14) representa la contribución de calcio interno debido a la corriente entrante por los canales de calcio. Donde F representa la constante de Faraday y el término $depth$ representa la profundidad intracelular donde se lleva a cabo toda la dinámica del calcio. El segundo término representa la bomba de calcio y el tercer término constituye el amortiguamiento del calcio intracelular.

3.2.2 La corriente de calcio I_{Ca} es persistente: activa las corrientes de potasio activadas por calcio y ayuda en la generación de potenciales despolarizantes

Dado que la concentración intracelular de calcio debe mantenerse baja, las corrientes de calcio se modelan como dependientes de la concentración intra y extracelular de calcio a partir de la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (descrita en la sección 2.2) utilizando el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley.

Incorporando el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley a la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (2.16) se obtiene:

$$I_{cal}(V, t) = \bar{P}zF\xi m(V, t) \left[\frac{[Ca]_{int} - e^{-\xi}[Ca]_{ext}}{1 - e^{-\xi}} \right] \quad (3.15)$$

$$\text{donde } \xi = \frac{zFV}{RT}$$

La ecuación (3.15) describe la corriente dada por este tipo de canales de calcio. [Ref. 4]. Donde \bar{P} representa la permeabilidad máxima de los canales de calcio y $m(v, t)$ describe la cinética de apertura de la compuerta de activación descrita por la ecuación (2.34)

Sistema de ecuaciones MBD+I_{Ca}

Integrando esta corriente al circuito eléctrico equivalente del disparo básico se obtiene el nuevo circuito equivalente

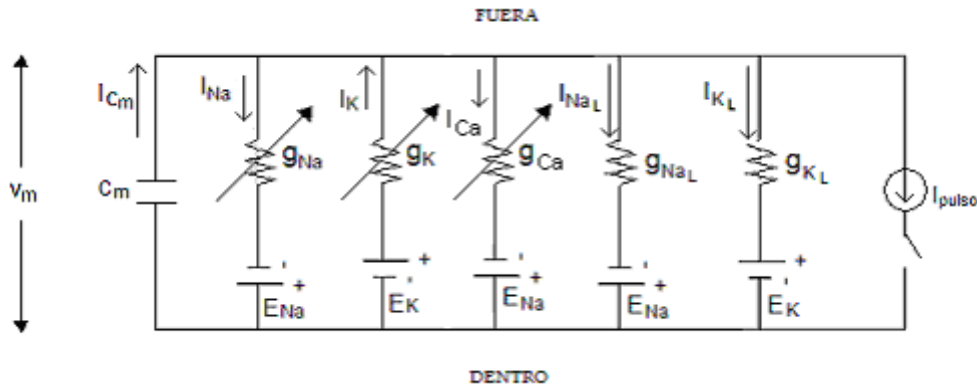


Figura 3.6.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC, los canales activos de Na, K y Ca representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que representa este circuito es ahora

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_{Ca}(V,t) + DMC(V,t) \\
 &\quad + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.16}$$

donde $I_K(V, t)$, $I_{Na}(V, t)$ y $I_{Ca}(V, t)$ están definidas con las ecuaciones (2.32) (2.33) y (3.15) respectivamente. Las probabilidades de apertura de las compuertas de activación e inactivación están definidas con las ecuaciones (2.34) (2.35) (2.36). Así mismo, se debe resolver simultáneamente la ecuación diferencial (3.14) que describe la dinámica del calcio.

3.2.3 I_{BK} : corriente de potasio activada por voltaje y calcio de conductancia grande: ayuda a la repolarización del potencial de acción y a la parte rápida del pospotencial hiperpolarizante (PPH)

Sistema de ecuaciones MBD+DMCa+ I_{Ca} + I_{BK}

El primer canal de potasio dependiente de calcio, descrito en la literatura, es el canal de potasio dependiente de calcio sensible a iberotoxina. La electrofisiología de estos canales presentan dos compuertas de activación: una sensible a voltaje y la otra a calcio, por lo que el exceso de calcio intracelular activa las compuertas de del canal de potasio dejando pasar el potasio intracelular hacia el exterior, causando un efecto hiperpolarizador.

Los efectos de la de la corriente de potasio se modelan con la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz descrita en la sección 2.2 y con el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley para la descripción de la probabilidad de apertura y cierre de las compuertas de activación de los canales. [Ref. 18]

$$I_{BK}(V, t, [Ca]_{int}) = \bar{P}zF\xi m(V, t)^2 \left[\frac{[Ca]_{int} - e^{-\xi}[Ca]_{ext}}{1 - e^{-\xi}} \right] \quad (3.17)$$

donde $\xi = \frac{zFV}{RT}$

Integrando esta corriente al circuito equivalente del disparo básico

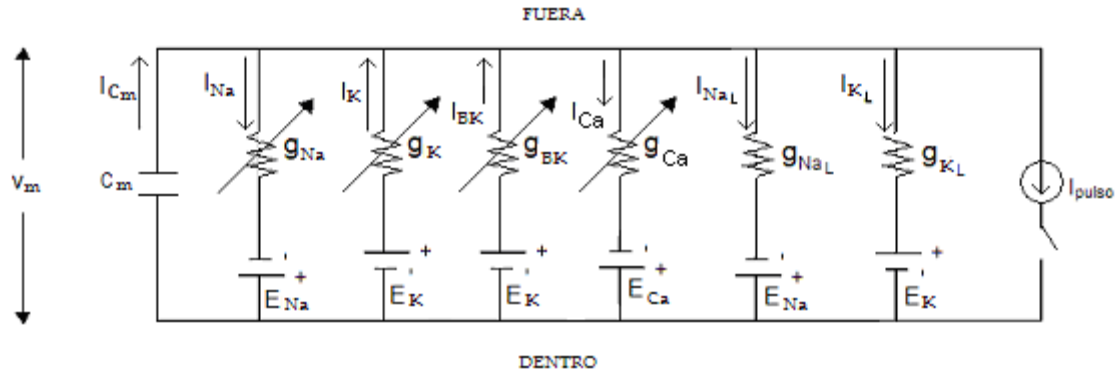


Figura 3.7.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y Ca representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que describe ahora al circuito equivalente anterior es:

$$\begin{aligned}
 I_m(V, t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{NaL}(V) + I_{KL}(V) + I_{Na}(V, t) + I_K(V, t) + I_{Ca}(V, t) + DMCa(V, t) \\
 &\quad + I_{BK}(V, t, [Ca]_{int}) + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.18}$$

donde la cinética de las corrientes $I_K(V, t)$, $I_{Na}(V, t)$, $I_{Ca}(V, t)$ e $I_{BK}(V, t)$ está descrita con las ecuaciones (2.32), (2.33), (3.15) y (3.17) respectivamente. La probabilidad de apertura y cierre de las compuertas δ está descrita con las ecuaciones (2.34) (2.35) y (2.36).

3.2.4 I_{SK} : corriente de potasio activada por calcio de pequeña conductancia: contribuye a generar el PPH

Sistema de ecuaciones MBD+DMCa+ I_{Ca} + I_{SK}

Dado que la corriente pequeña de potasio es dependiente de tiempo y calcio, su activación se da una vez que la espiga va alcanzar su punto máximo.

La modelación de la corriente SK se realiza a partir de la ley de Ohm incluyendo el modelo de compuertas de Hodgkin y Huxley. [Ref. 10]

$$I_{SK}(V, t, [Ca]_{int}) = \bar{g}_{SK} m(V, t, [Ca]_{int}) \cdot (V - E_K) \quad (3.19)$$

Agregando la corriente de potasio dependiente de calcio SK al circuito equivalente del disparo básico en conjunto con el canal de calcio que abre este canal y la dinámica del calcio interno, obtenemos el siguiente circuito equivalente

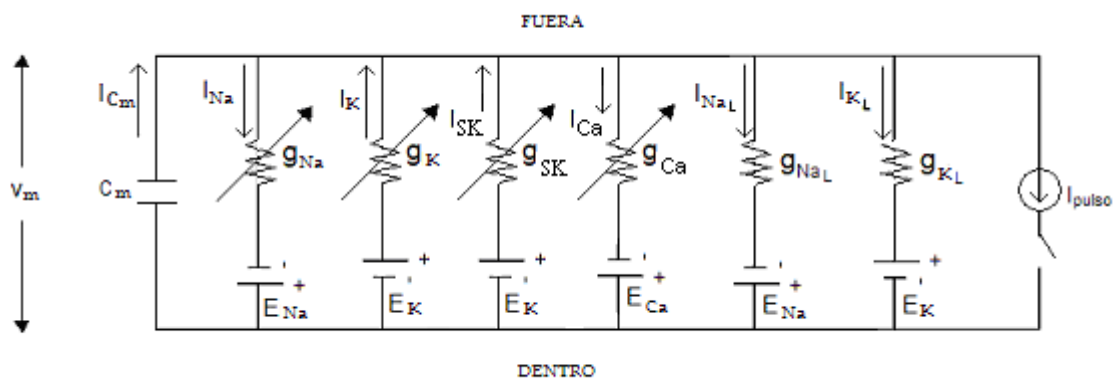


Figura 3.8.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y los canales activos de Na, K y Ca representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que describe al circuito anterior para obtener la corriente transmembranal $I_m(V,t)$ es:

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) &= I_C + I_{ionica} \\
 &= C_m \frac{dV(t)}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_{Ca}(V,t) + DMCa(V,t) \\
 &\quad + I_{SK}(V,t,[Ca]_{int}) + I_{pulso}(t)
 \end{aligned}
 \tag{3.20}$$

donde la cinética de las corrientes $I_K(V,t)$, $I_{Na}(V,t)$, $I_L(V,t)$ e $I_{SK}(V,t)$ está descrita con las ecuaciones (2.32), (2.33), (3.15) y (3.19) respectivamente. La probabilidad de apertura y cierre de las compuertas de activación e inactivación está descrita con las ecuaciones (2.34) (2.35) y (2.36).

3.3 Integración de las diferentes dinámicas

Integrando todos los canales descritos anteriormente a la membrana de la neurona, obtenemos el siguiente circuito equivalente que representa la mayor parte de las propiedades eléctricas de la membrana de una neurona espinosa mediana.

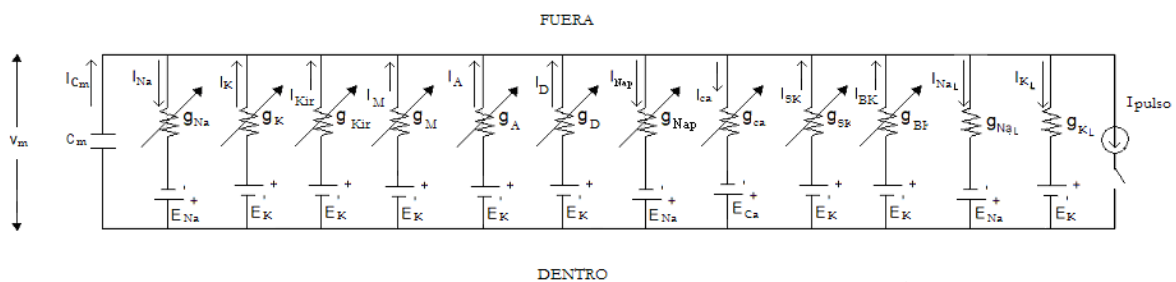


Figura 3.9.- Circuito equivalente que representa a la membrana con las propiedades pasivas del circuito RC y la variedad de canales activos de Na, K y Ca descritos anteriormente representados por conductancias variables dependientes de voltaje y tiempo.

La ecuación que describe el circuito equivalente anterior

$$\begin{aligned}
 I_m(V,t) = I_C + I_{iónica} &= C_m \frac{dV}{dt} + I_{Na_L}(V) + I_{K_L}(V) + I_{Kir}(V,t) + I_{Na}(V,t) + I_K(V,t) + I_{nap}(V,t) + I_M(V,t) + \\
 &= I_A(V,t) + I_D(V,t) + I_{Ca}(V,t) + DMCa(V,t) + I_{BK}(V,t,[Ca]_{int}) + I_{SK}(V,t,[Ca]_{int})
 \end{aligned}$$

(3.21)

Donde $I_{NaL}(V)$, $I_{KL}(V)$ están dados por el sistema de ecuaciones que describen al circuito pasivo (ecs. (2.18) y (2.19) respectivamente) y las corrientes activas $I_{Na}(V,t)$, $I_K(V,t)$, $I_M(V,t)$, $I_A(V,t)$, $I_D(V,t)$, $I_{Nap}(V,t)$, $DMCa(V,t)$, $I_{Ca}(V,t)$, $I_{BK}(V,t)$ e $I_{SK}(V,t)$ están dadas por las ecuaciones (2.32), (2.33), (3.3), (3.5), (3.7), (3.9), (3.14), (3.15), (3.17) y (3.19). Las ecuaciones que describen la dinámica de la probabilidad de apertura y cierre de las compuertas de activación e inactivación están descritas por las ecuaciones (2.34), (2.35) y (2.36).

Capítulo 4: Resultados

4.1 Canal de Na del MBD

Insertando una distribución de canales de sodio al modelo pasivo (ecs: 2.18, 2.19 y 3.1) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 2.32, 2.34 y 2.35), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de sodio como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos. Se insertó una conductancia máxima de 0.0036 S/cm^2 , el cual se determinó sirve para generar espigas de potenciales de acción del tamaño que se han reportado los potenciales de las neuronas espinosas medianas.

4.1.1 Fijación de corriente

Aplicando un comando cuadrado de corriente a la neurona y graficando la respuesta en voltaje del circuito, se obtiene lo siguiente

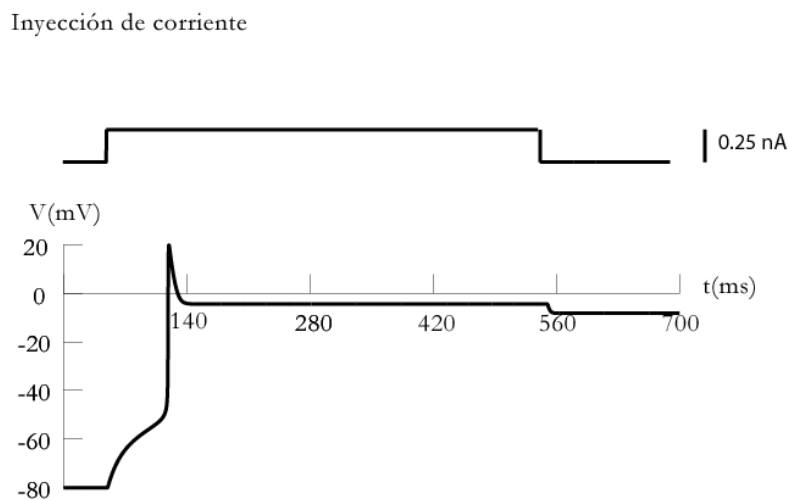


Figura 4.1 .- Respuesta en voltaje de los canales de sodio ante un pulso cuadrado de corriente.

De la figura anterior podemos observar claramente la presencia de las propiedades pasivas de la neurona modeladas con el circuito RC, esto se observa en el lenta despolarización del potencial de membrana en respuesta al pulso de corriente dado. La diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula aumenta hasta llegar al umbral de apertura de los canales de sodio insertados en la neurona produciendo una rápida despolarización de la membrana. Conforme el potencial de la membrana se va despolarizando y se acerca al potencial de equilibrio del sodio (50 mV) la corriente debida a la apertura de éste canal disminuye. Las corrientes entrantes (corriente activa de sodio y corriente de fuga de sodio) compiten con las corrientes salientes (corriente de fuga de potasio y corriente rectificadora de potasio) equilibrándose en el pico del potencial de acción.

En ese momento, la suma de corrientes de potasio es mayor que la suma de las corrientes de sodio, lo que resulta en una repolarización de la neurona, llevándola a un potencial de membrana más negativo de -5 mV aproximadamente. Es en este momento cuando la suma de las corrientes entrantes, incluida la del pulso cuadrado (despolarizante), iguala a la suma de corrientes de potasio originando un nuevo estado estacionario. Así, cuando el pulso de corriente se termina, las corrientes de sodio despolarizantes y las de potasio hiperpolarizantes generan otro nuevo estado estacionario que requiere de algún impulso para cambiar, que deberá ser hiperpolarizante si queremos regresar al potencial de membrana de -80 mV.

4.1.2 Fijación de voltaje

Para analizar la dinámica de las corrientes que atraviesan la membrana, se utiliza la técnica de fijación de voltaje, en la cual se aplica un comando de voltaje de tal manera que el potencial de membrana se mantenga constante y así podemos medir la corriente a través de la membrana y analizar su dinámica. En este caso se agregó el canal activo de sodio al circuito pasivo.

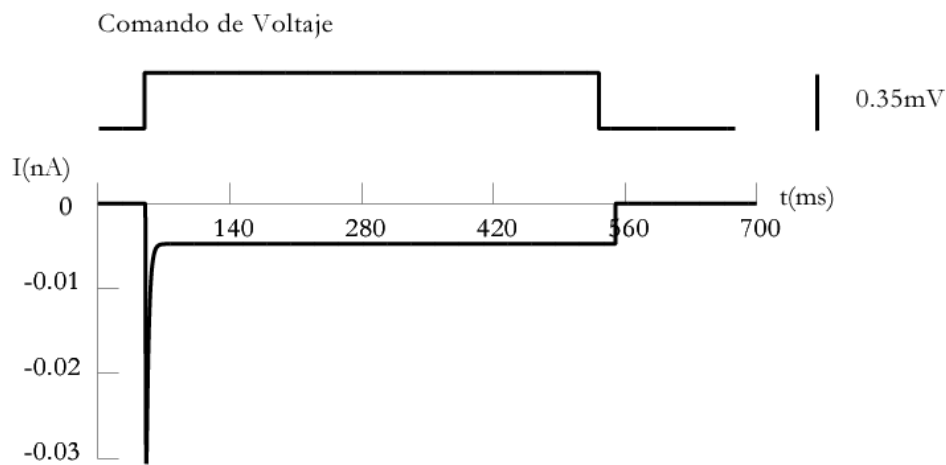


Figura 4.2 .- Corriente debida a los canales activos de sodio ante un comando de voltaje en la técnica de fijación de voltaje.

La dinámica de los canales activos de sodio tal y como se modelaron por Hodgkin y Huxley presenta una activación muy rápida ante un cambio de potencial en la membrana, así mismo, presenta una rápida inactivación de los canales dejando un remanente de corriente el cual se elimina al terminar el comando de voltaje.

4.2 Canal de K del MBD

Insertando al modelo pasivo canales de potasio y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 2.33 y 2.36), se obtiene la respuesta eléctrica de los canales de potasio como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos. La conductancia máxima utilizada para generar los efectos de la corriente de potasio sobre el circuito pasivo fue de 0.009 S/cm^2 .

4.2.1 Fijación de corriente

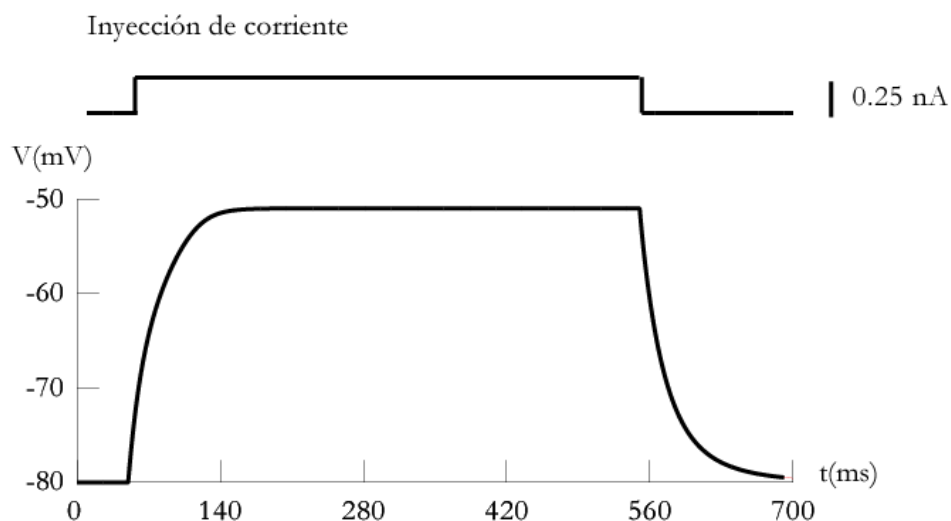


Figura 4.3.- Respuesta del potencial de membrana V_m debida a la activación de los canales de potasio.

La respuesta en voltaje ante un pulso de corriente de 0.25 nA se observa similar a la respuesta pasiva del circuito RC. Dado que la resistencia de entrada de la célula es de $100 \text{ m}\Omega$, la respuesta eléctrica del potencial de membrana ante un pulso de corriente de 0.25 nA sería de -55 mV en el caso del circuito RC.

En este caso, al insertar al circuito canales activos de potasio observamos que la respuesta en voltaje ante el mismo estímulo de corriente es de -50 mV . Esta disminución en la respuesta eléctrica del potencial de membrana se debe a que la activación de los canales de potasio permite la salida de éste ion dejando el

interior de la célula a un potencial menor que el que habría resultado con el estímulo.

4.2.2 Fijación de voltaje

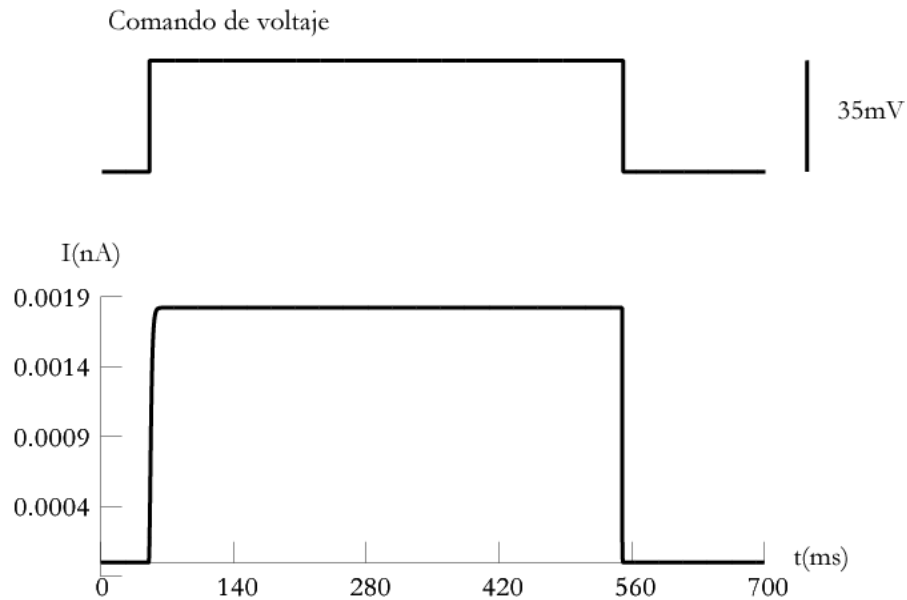


Figura 4.4.- Corriente debida a la activación de los canales de potasio activados por un comando de voltaje de $-35mV$.

Al aplicar el comando de voltaje despolarizante, se observa una rápida activación de los canales de potasio originando una corriente saliente que se mantiene constante durante la fijación de voltaje y desactivándose casi inmediatamente cuando el potencial regresa al estado de reposo.

4.3 Mecanismo básico de disparo (MBD)

Denominamos “mecanismo básico de disparo” (MBD), a la respuesta repetitiva de potenciales de acción, generada por los canales de sodio y potasio ante un estímulo de corriente supraumbral. Como se describió en el capítulo 2, el mecanismo básico de disparo se obtiene al incorporar conductancias de sodio y de potasio al circuito pasivo que describe las propiedades intrínsecas de la membrana. Ahora, el sistema a resolver es el que conforman las ecuaciones: (2.18), (2.19), (3.1), (2.32), (2.33), (2.34), (2.35) y (2.36).

4.3.1 Fijación de corriente

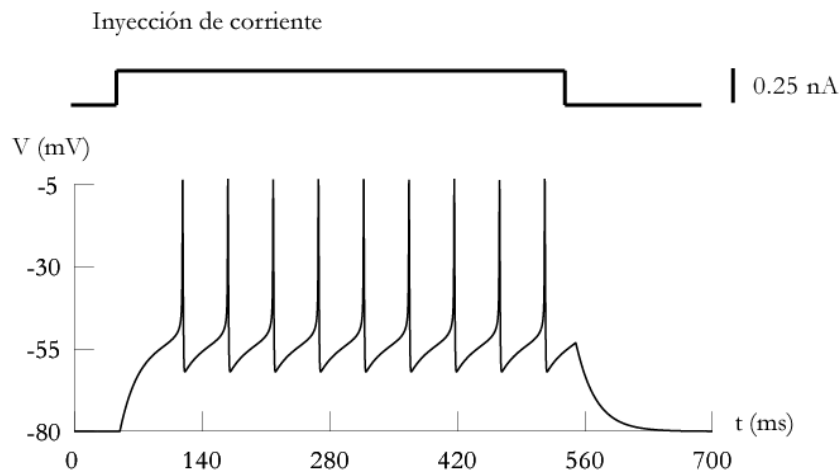


Figura 4.5.- Muestra el disparo repetitivo de potenciales de acción ante un pulso de corriente de 0.25 nA.

Al aplicar un estímulo de corriente, se observa en la figura anterior la respuesta capacitiva debido al cambio en voltaje que produce el pulso de corriente. Dado que la amplitud del pulso es lo suficientemente grande como para llevar al potencial de membrana hasta el umbral de activación de los canales de sodio, éstos se activan provocando una rápida despolarización generando la primera parte del potencial de acción. Conforme el voltaje aumenta y se acerca al potencial de equilibrio del sodio, la fuerza electromotriz de éste ion disminuye y por lo tanto la corriente también. Inversamente, la corriente de potasio aumenta al incrementar su fuerza electromotriz por lo que al sacar potasio el potencial de membrana se repolariza, generando la segunda parte del potencial de acción denominada repolarización.

4.4 MBD + I_M

Insertando los canales de potasio tipo M al modelo pasivo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.3 y 2.34), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de potasio como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.4.1 Fijación de corriente

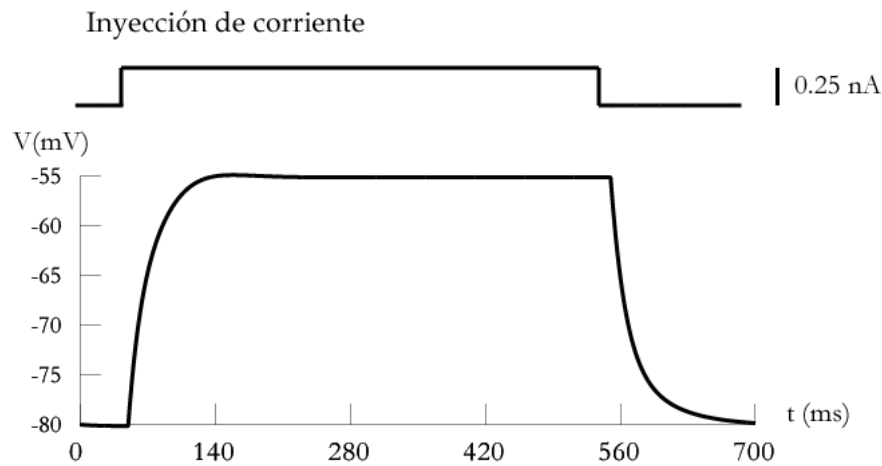


Figura 4.6 .- Respuesta en voltaje de la corriente de potasio tipo M y la corriente capacitiva.

La figura anterior muestra en primer lugar la respuesta capacitiva del circuito ante el pulso de corriente inyectado, esto se observa por el lento aumento del potencial de membrana en respuesta al pulso de corriente dado. Conforme se despolariza la membrana, se alcanza el umbral de los canales de potasio tipo M, los cuales una vez activos alcanzan la máxima apertura y enseguida disminuyen el potencial de membrana hasta alcanzar un equilibrio entre las corrientes entrantes y salientes presentes en este circuito.

4.4.2 Fijación de voltaje

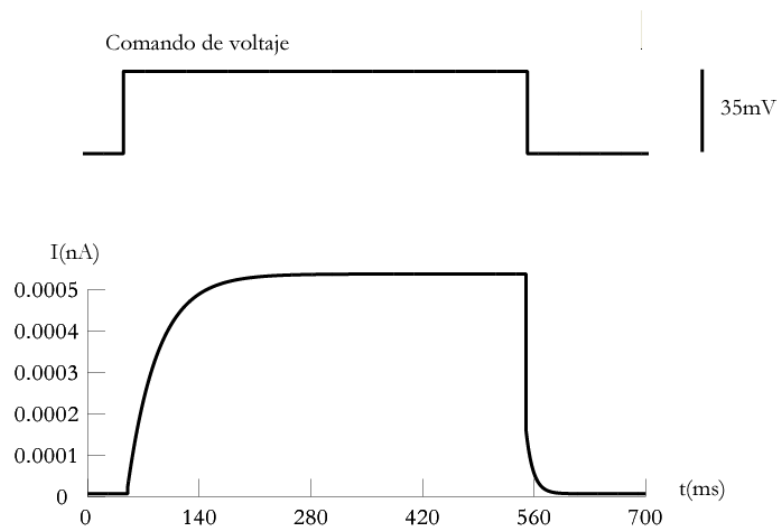


Figura 4.7.- Corriente debida a la activación de los canales de potasio tipo M.

Utilizando la técnica de fijación de voltaje podemos ver la corriente producida por los canales de potasio tipo M (I_M). Éste tipo de canales se caracterizan por tener una lenta activación además de ser sensibles a muscarina. De la figura anterior se observa que este tipo de canales requieren varios cientos de milisegundos (250 ms aproximadamente) para su máxima apertura.

4.4.3 Modulación sobre el mecanismo básico de disparo

Insertando una distribución de canales de potasio tipo M al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.2, 3.3, 3.3, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de potasio tipo M.

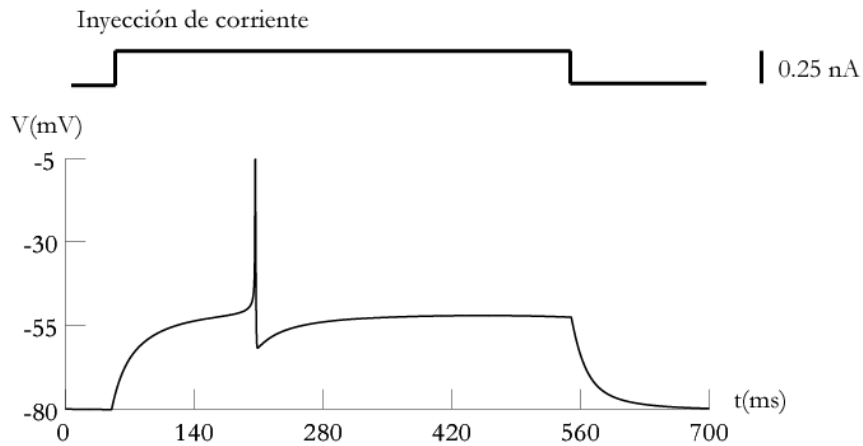


Figura 4.8.- Modulación del mecanismo básico de disparo debido a los canales de potasio iM.

La corriente de potasio tipo M disminuye la frecuencia de disparo además de aumentar el tiempo de latencia en el que se presenta el primer potencial de acción debido a que ahora la corriente entrante de sodio tiene que competir además con la nueva corriente saliente de potasio.

Los canales tipo M que se insertaron tienen una conductancia máxima de $4 \times 10^{-5} \text{ S/cm}^2$ para mostrar el efecto retardador que tiene esta corriente sobre el mecanismo básico de disparo. Cabe mencionar que la conductancia máxima de estos canales puede variar en un rango y seguir mostrando el efecto retardador de los potenciales de acción. Si la conductancia máxima de los canales M fuera muy baja entonces no podría apreciarse el efecto sobre el MBD, así mismo, si la conductancia fuese muy alta (10^{-4} S/cm^2) entonces la salda masiva de potasio por los canales HH y por los canales tipo M impedirían la despolarización de la membrana y no podría verse el efecto que tienen estos canales sobre los potenciales de acción.

4.5 MBD + I_A

Insertando canales de potasio de tipo A al modelo pasivo (ecs: 2.18, 2.19 y 3.1) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.5, 2.34 y 2.35), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de potasio tipo A como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.5.1 Fijación de corriente

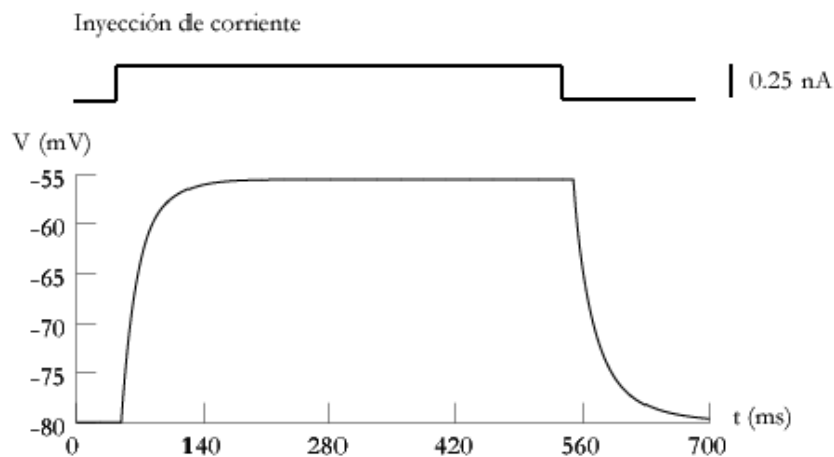


Figura 4.9.- Respuesta en voltaje de la corriente de potasio tipo A y la corriente capacitiva.

La respuesta en voltaje ante un pulso de corriente de 0.25 nA de amplitud resulta similar a la obtenida en el circuito pasivo, sin embargo, en este caso la neurona responde con una amplitud un poco menor que en el caso del circuito RC debido a la salida rápida de potasio. La salida de potasio de la célula deja a la neurona más hiperpolarizada, y por lo tanto la amplitud máxima alcanzada es menor que la obtenida con el circuito RC. La hiperpolarización que provoca la salida de potasio debida a la activación de los canales de potasio tipo A es

muy rápida, ya que esta corriente se inactiva rápidamente impidiendo la salida de iones de potasio.

4.5.2 Fijación de voltaje

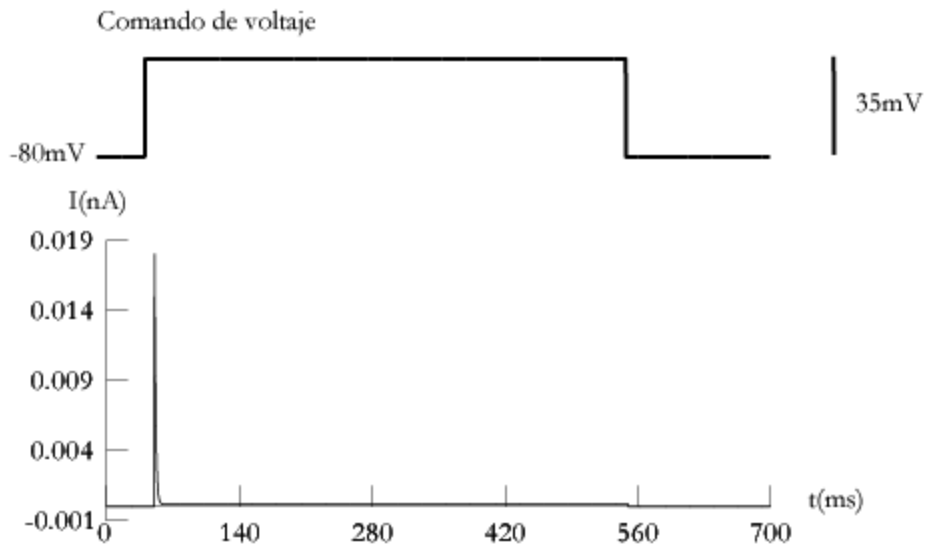


Figura 4.10.- Corriente de potasio debido a la activación de los canales dependientes de voltaje tipo A.

La figura anterior muestra la corriente de potasio tipo A provocada por un comando de voltaje despolarizante de 35 mV de amplitud y 500 ms de duración. Ante la diferencia de potencial de la membrana, se presenta una rápida activación de los canales de potasio tipo A dando lugar a una corriente saliente transitoria de potasio permitiendo el flujo de iones de potasio hacia el exterior de la célula.

Los canales de potasio del tipo A presentan tanto compuertas de activación como de inactivación. De la figura anterior se observa una dinámica de activación muy rápida debida al cambio de potencial del comando de voltaje. Así mismo, se observa una rápida inactivación de los canales impidiendo el flujo de iones, llevando la corriente nuevamente a cero. La corriente producida alcanza un máximo de 0.022nA aproximadamente para una conductancia máxima de $\bar{g}_A = 0.0011 \text{ ohm}^{-1}/\text{cm}^2$.

4.5.3 Modulación del Disparo Básico

Insertando una distribución de canales de potasio tipo A ($\bar{g}_{\max} = 0.0009 \text{ S/cm}^2$) al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.2, 3.3, 3.5, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de potasio tipo A.

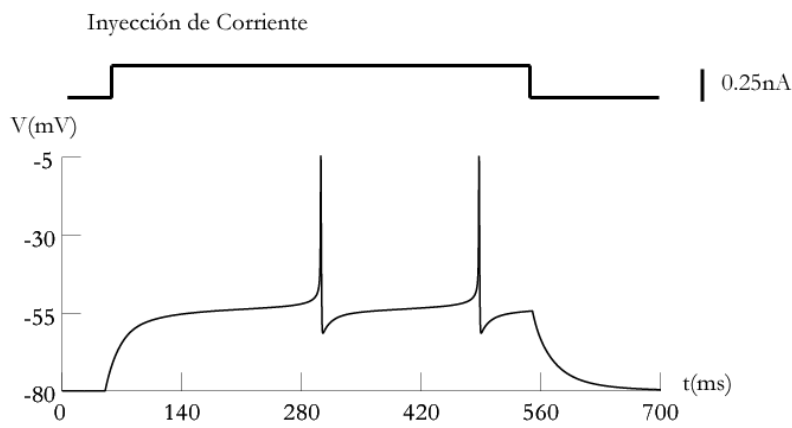


Figura 4.11.- Modulación del mecanismo básico de disparo debido a la integración de los canales de potasio tipo A.

Dado que la apertura de las compuertas de activación de los canales de potasio tipo A es muy rápida, la salida de potasio es mayor que en el mecanismo básico, por lo que el efecto que produce esta corriente sobre el potencial de membrana es la oposición ante la despolarización, esto hace que el potencial de membrana tarde más tiempo en alcanzar el umbral de disparo. Como se muestra en la figura 4.11 el primer potencial de membrana se alcanza con un retardo.

Comparando la figura 4.11 con la figura 4.8 notamos que la latencia con la que aparece el primer potencial de acción es más grande cuando los canales tipo A se encuentran presentes en la neurona. A partir de ello podemos observar que los canales tipo A tienen una función retardadora para los potenciales de

acción, mientras que los canales tipo M tiene un efecto adaptador actuando no sobre los primeros potenciales de acción sino sobre los últimos.

4.6 MBD + I_D

Insertando una distribución de canales de potasio tipo D al modelo pasivo (ecs: 2.18, 2.19 y 3.1) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.7, 2.34 y 2.35), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de potasio tipo D como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.6.1 Fijación de corriente

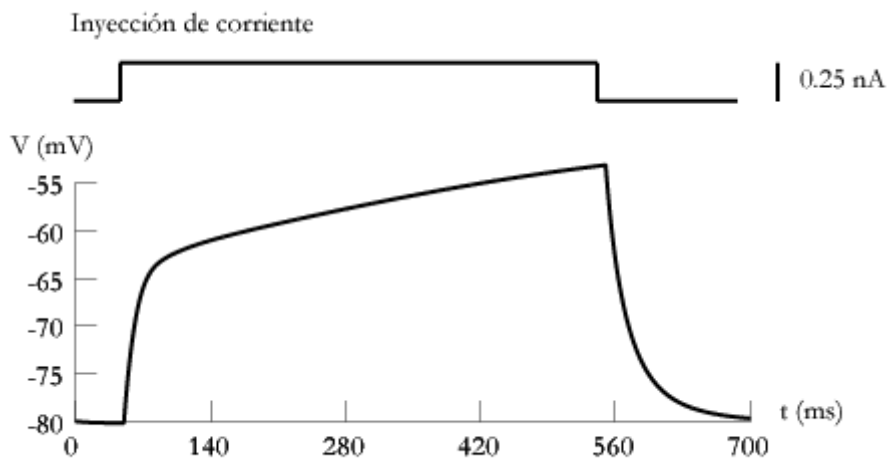


Figura 4.12.- Respuesta del potencial de membrana ante la apertura de los canales de potasio tipo D y los canales pasivos.

Insertando los canales de potasio tipo D en el circuito pasivo, observamos la respuesta del potencial de membrana ante un pulso de corriente de 0.25 nA de amplitud y 500 ms de duración. Al iniciar el comando de corriente se produce un cambio en el potencial de membrana que activa los canales de potasio tipo D. Estos canales producen corrientes salientes hiperpolarizantes que impiden la despolarización de la célula, sin embargo, poblacionalmente,

estos canales se inactivan lentamente en el tiempo provocando que la suma de las corrientes entrantes sea ahora mayor y se produzca una despolarización en la membrana. Esta lenta despolarización se observa como una rampa en el potencial de membrana.

4.6.2 Fijación de voltaje

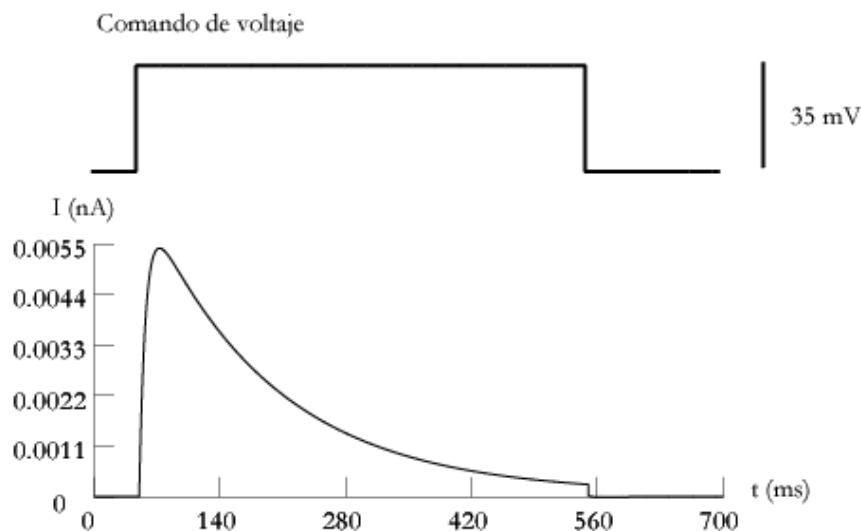


Figura 4.13 .- Corriente de potasio debida a la activación de los canales de potasio dependientes de voltaje tipo D.

La corriente de potasio tipo D producida por un comando de voltaje de 35 mV de amplitud y 500 ms de duración, presenta una rápida activación debida al cambio en el potencial de membrana. La amplitud de la corriente producida alcanza un máximo de 0.0055 nA para una conductancia máxima de 0.004 S/cm². La corriente de potasio tipo D se modela con una compuerta de activación y una de inactivación, sin embargo, a pesar de presentar una compuerta de inactivación, éste tipo de canales pertenece a la familia de corrientes salientes que se inactivan lentamente. A la corriente de potasio tipo D también se le llama corriente de potasio tipo A lenta. Estos canales se

caracterizan por presentar una activación rápida y una inactivación lenta que disminuye poco a poco la salida de potasio fuera de la célula.

4.6.3 Modulación sobre el mecanismo básico de disparo

Insertando una distribución de canales de potasio tipo D ($\bar{g}_{\max} = 0.007 \text{ S/cm}^2$) al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.2, 3.3, 3.7, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de potasio tipo D.

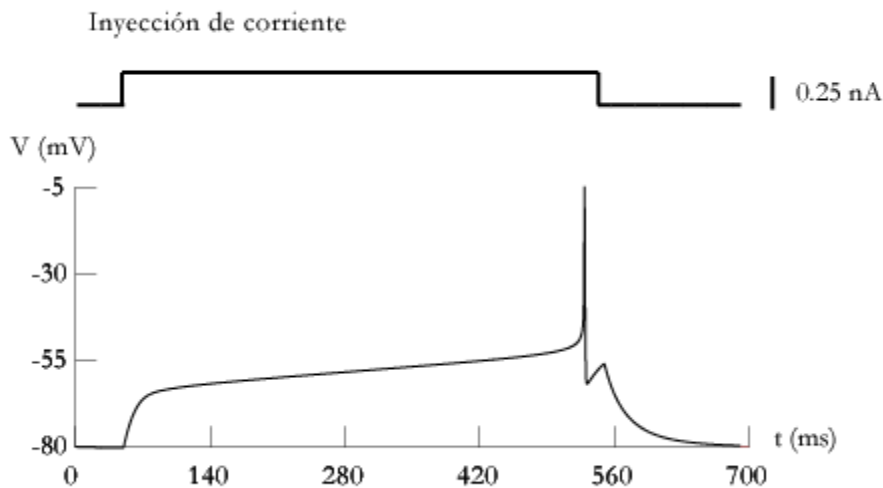


Figura 4.14.- Modulación del disparo básico a causa de la apertura de los canales de potasio tipo D.

La salida rápida de potasio de la célula disminuye el potencial de membrana impidiendo la apertura de los canales de sodio, los cuales producen la despolarización necesaria para generar los potenciales de acción. Sin embargo, dado que los canales de potasio tipo D se inactivan al llegar a cierto voltaje. El potasio que sale de la célula lo hace ahora lentamente, provocando en el potencial de membrana una lenta despolarización generándose así una rampa de voltaje característica de las neuronas espinosas medianas.

4.7 MBD + I_{Nap}

Insertando canales de sodio persistente al modelo pasivo (ecs: 2.18, 2.19 y 3.1) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.9, 2.34 y 2.35), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de sodio persistente como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.7.1 Fijación de corriente

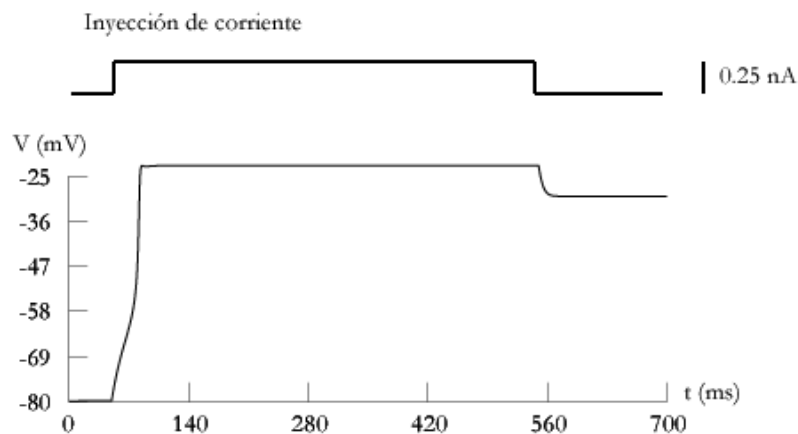


Figura 4.15 .- Respuesta en voltaje del circuito formado por las conductancias pasivas y los canales de sodio persistentes ante un pulso de corriente despolarizante.

La respuesta del circuito pasivo junto con los canales de sodio persistentes ante un pulso de corriente de 0.25 nA de amplitud y 500 ms de duración muestra un aumento en el potencial de membrana que activa los canales de sodio persistentes permitiendo la entrada de sodio a la célula. Mientras el sodio entra a la célula se produce una rápida despolarización en el potencial de membrana que se mantiene constante hasta que el pulso de corriente termina. Cuando el pulso de corriente termina se genera un nuevo estado estacionario que requiere de otro pulso de corriente ahora hiperpolarizante para regresar al potencial de reposo a -80 mV.

4.7.2 Fijación de voltaje

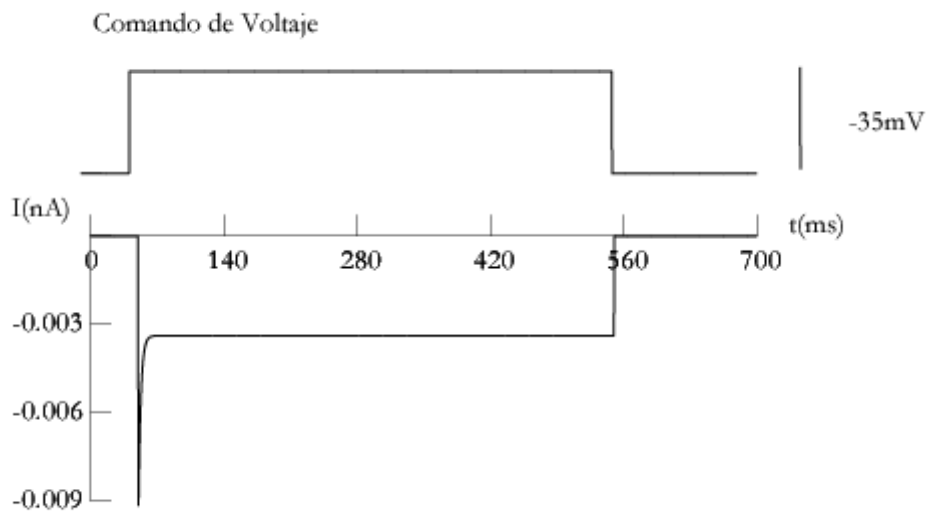


Figura 4.16.- Corriente entrante de sodio debida a la activación de los canales de sodio persistentes.

Al igual que los canales de sodio descritos por Hodgkin y Huxley, la inactivación de los canales de sodio persistentes se modelan con una sola compuerta de inactivación, sin embargo, la dinámica de inactivación en el caso de los canales de sodio persistentes es mucho más lenta para dar lugar a un remanente de corriente que se conoce como la corriente persistente de sodio. En la figura anterior se observa el remanente de corriente que da lugar a la despolarización del potencial de membrana. La amplitud máxima alcanzada por la activación de los canales de sodio persistentes es de 0.009 nA para una conductancia máxima de 0.001 S/cm².

4.7.3 Modulación del disparo básico

Insertando canales de sodio persistente al mecanismo básico de disparo ($g_{\max} = 0.001 \text{ S/cm}^2$) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.2, 3.3, 3.9, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de sodio persistente.

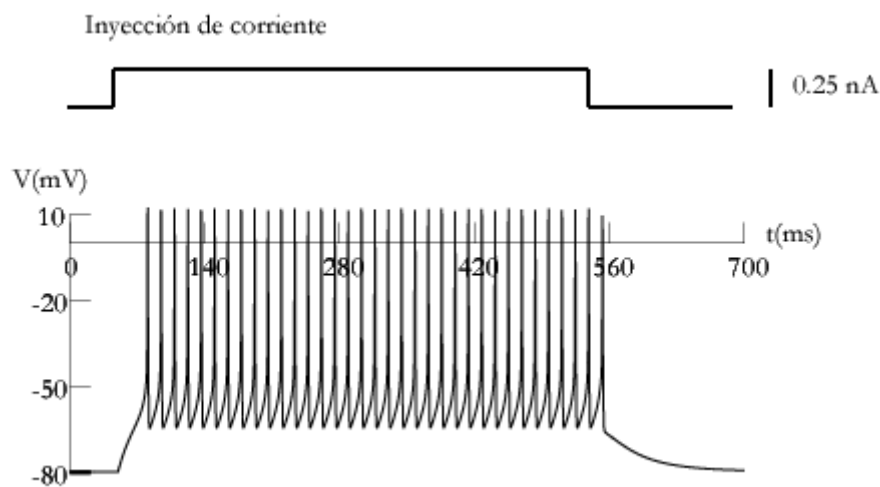


Figura 4.17.- Modulación de los canales de sodio persistentes sobre el mecanismo básico de disparo.

La rápida apertura de los canales de sodio persistentes junto con las demás corrientes entrantes (corriente de fuga de sodio, corriente activa de sodio dependiente de voltaje y el pulso despolarizante) aumentan el potencial de membrana más rápido produciendo un potencial de acción en menor tiempo que en el mecanismo básico de disparo. Además, la apertura de los canales de sodio persistente aumenta la frecuencia de disparos repetitivos de potenciales de acción debido a la entrada masiva de iones de sodio al interior de la célula así mismo, aumenta la amplitud del potencial de acción obteniendo una despolarización de la membrana que alcanza los 14 mV aproximadamente.

4.8 MBD + I_{Ca}

Insertando canales de calcio (para el presente modelo se usaron las ecuaciones para el canal de calcio de tipo L de bajo umbral Cav1.3, y no se consideró de utilidad para nuestros fines utilizar otros canales de calcio) al modelo pasivo (ecs: 2.18, 2.19 y 3.1), además de la ecuación que describe la dinámica de la concentración interna de calcio (ec: 3.14) y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.14, 3.15 y 2.34), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de calcio tipo L como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.8.1 Fijación de corriente

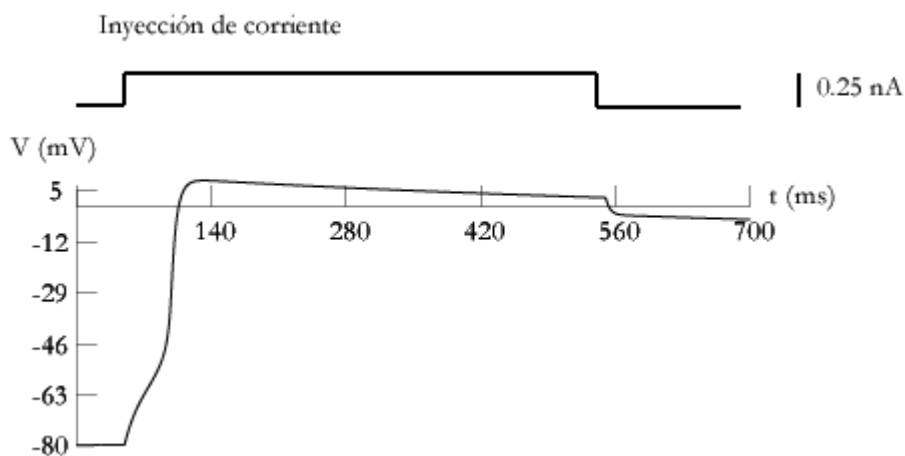


Figura 4.18.- Respuesta en voltaje del circuito formado por las conductancias pasivas y los canales de calcio tipo L ante un pulso de corriente despolarizante.

Insertando los canales de calcio tipo L en el circuito pasivo, observamos que la respuesta del potencial de membrana ante un pulso de corriente resulta en una despolarización de la membrana que activa los canales de calcio. La apertura de estos canales produce una rápida despolarización debido a la entrada masiva de calcio al interior de la célula. Sin embargo, existe un

mecanismo que regula la concentración interna de calcio (descrito en el capítulo 2) que impide que el potencial de membrana siga despolarizándose. Es por ello, que la figura anterior muestra una pendiente negativa durante la inyección del pulso de corriente. Al terminar el pulso, la dinámica del calcio sigue sacando iones de calcio para reestablecer la concentración interna de calcio y por tanto el potencial de reposo. El potencial de reposo original se alcanzará en un tiempo muy largo.

4.8.2 Fijación de voltaje

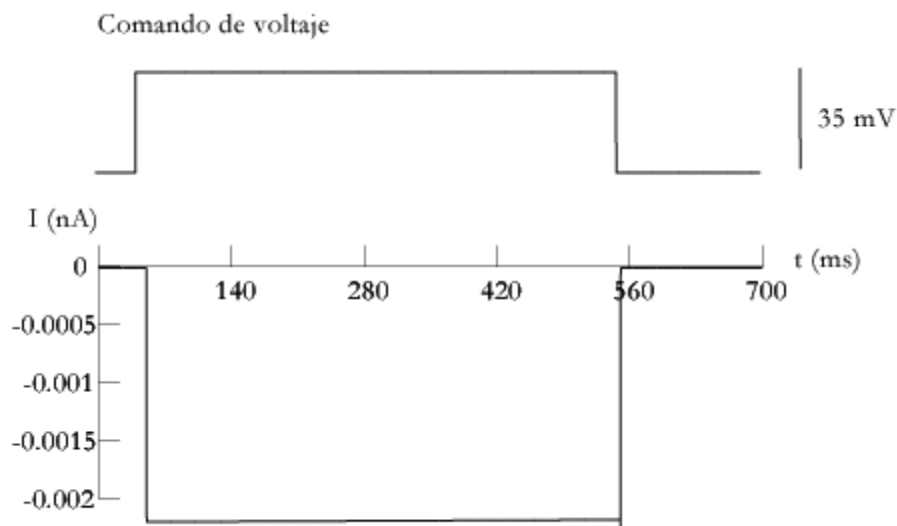


Figura 4.19.- Corriente entrante de calcio debida a la activación de los canales de calcio tipo L de bajo umbral.

La corriente de calcio tipo L pertenece a la familia de corrientes entrantes persistentes las cuales ayudan a despolarizar el potencial de membrana y alcanzar más rápido el umbral de activación de los canales de sodio que generan los potenciales de acción. La activación de los canales de calcio aumenta la concentración de calcio intracelular lo cual activa a su vez la bomba de calcio y el sistema amortiguador para mantener el gradiente de concentraciones entre el interior y el exterior de la célula.

4.8.3 Modulación del disparo básico

Insertando canales de calcio (100 cm/s) al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.2, 3.3, 3.14, 3.15, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de calcio de bajo umbral.

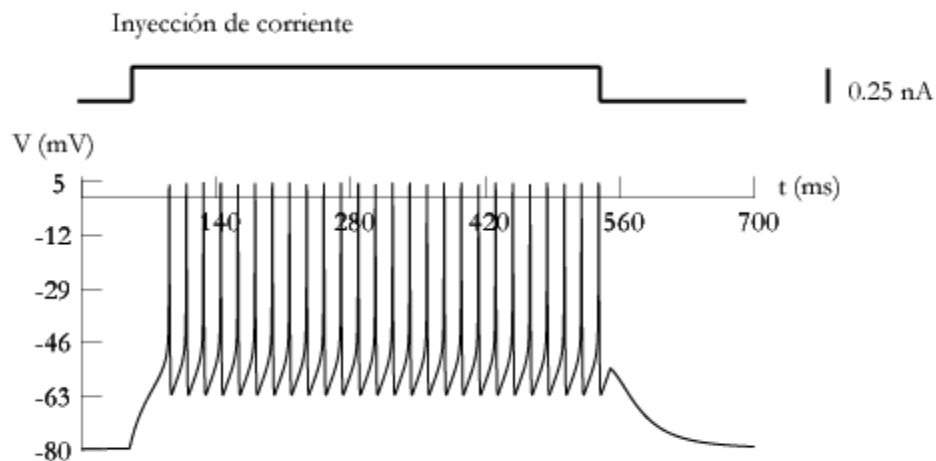


Figura 4.20 .- Modulación del mecanismo básico de disparo debida a la activación de los canales de calcio tipo L.

La integración de los canales de calcio al mecanismo básico de disparo produce un aumento en la excitabilidad de la célula. La entrada de iones de calcio junto con las demás corrientes entrantes produce una despolarización en la membrana que provoca que los canales activos de sodio generen más rápido el primer potencial de acción. Así mismo, la activación de los canales de calcio aumenta la frecuencia del disparo repetitivo de potenciales de acción debido a la entrada masiva de iones de calcio al interior de la célula.

4.9 MBD + I_{BK}

Se insertan los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK y los canales de calcio tipo L al modelo pasivo. Resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.17, 2.18, 2.19, 2.32, 2.34, 2.35, 3.14, 3.15 y 3.17), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

Debido a que los canales de potasio BK son dependientes de calcio, es necesario integrar primero a los canales de calcio para poder observar la respuesta eléctrica de los canales de potasio.

4.9.1 Fijación de corriente

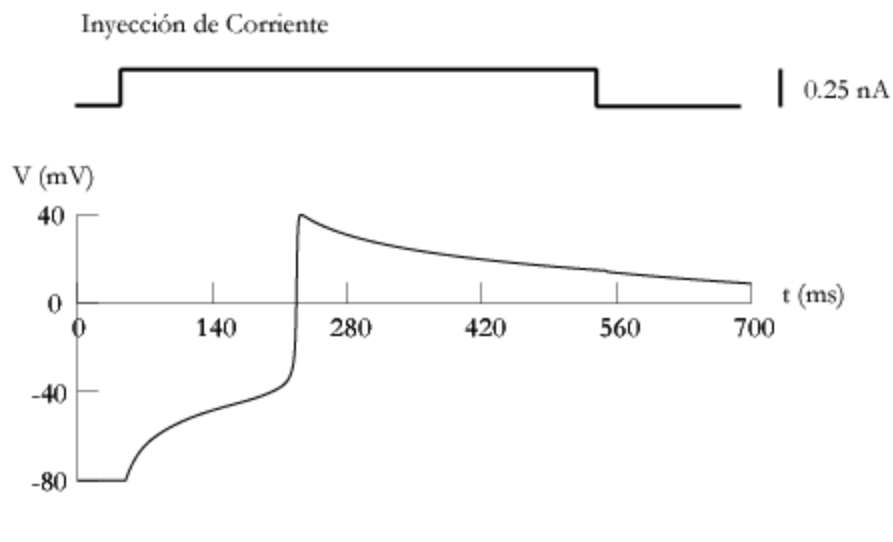


Figura 4.21 .- Respuesta en voltaje del circuito formado por las conductancias pasivas, el canal de calcio tipo L y el canal de potasio dependiente de calcio tipo BK, ante un pulso de corriente despolarizante.

Con la inyección de corriente en la neurona, se observa que la respuesta en voltaje aumenta lentamente mientras se carga el capacitor. La diferencia de potencial aumenta hasta llegar al umbral de los canales de calcio insertados en la neurona produciendo una rápida despolarización de la membrana y aumentando la concentración de calcio interna. Conforme la diferencia de potencial aumenta y se acerca al potencial de equilibrio del calcio, la corriente debida a la apertura de este canal disminuye. Así mismo, la corriente debida a la apertura de los canales de potasio dependientes de calcio aumenta debido al aumento de la concentración de calcio interna, lo que tiene como consecuencia una salida de potasio de la neurona y provoca que la diferencia de potencial no se despolarice tanto. La competencia entre las corrientes entrantes (corriente de fuga de sodio, corriente activa de sodio, corriente de calcio y la corriente del pulso) y corrientes salientes (corriente de fuga de potasio, corriente de potasio rectificadora, y corriente de potasio dependiente de calcio tipo BK) se equilibra en el pico del potencial. En ese momento, la suma de corrientes salientes es mayor que la suma de corrientes entrantes y la neurona se repolariza tratando de llegar al estado de equilibrio, por lo que cuando se termina el pulso, la neurona continúa repolarizándose.

4.9.2 Fijación de voltaje

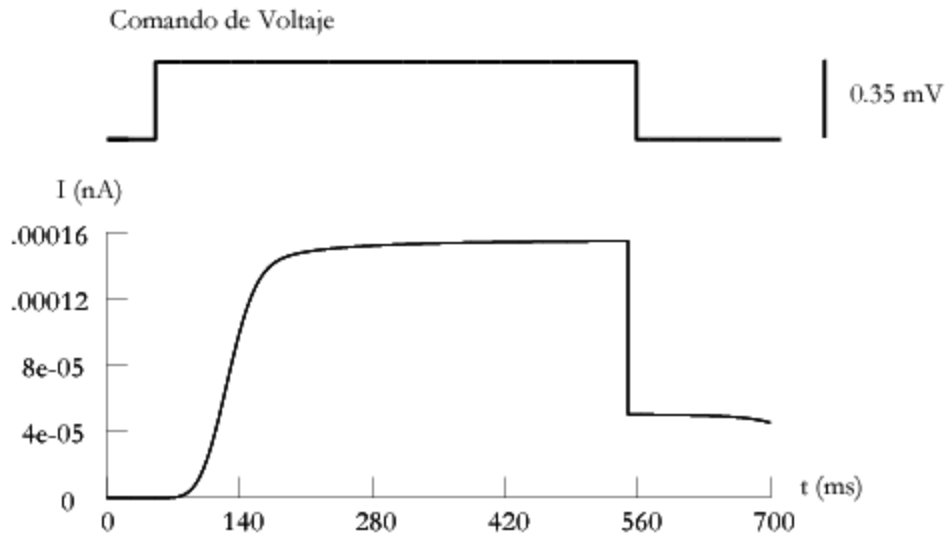


Figura 4.22.- Corriente saliente de potasio debida a la activación de los canales potasio tipo BK dependientes de voltaje, tiempo y calcio.

La activación de los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK no es tan rápida como la activación de otros canales ya descritos anteriormente. Pero una vez que se encuentran abiertos la mayoría de los canales insertados la corriente varía muy poco. Es por ello que podemos decir que es una corriente persistente.

Al activarse los canales de calcio, los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK empiezan a activarse produciendo que los iones de potasio salgan de la célula. Cuando el pulso de corriente termina y los canales de calcio se cierran, los canales de potasio tipo BK se cierran también. Sin embargo, como existe un remanente de calcio en el interior de la célula que ni la bomba de calcio ni el buffer pueden reestablecer rápidamente, los canales de potasio no se cierran del todo como se observa en la figura.

4.9.3 Modulación del disparo básico

Insertando una distribución de canales de calcio y canales de potasio dependientes de calcio tipo BK ($\bar{g}_{BK} = 3 \times 10^{-6} \text{ S/cm}^2$) al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.14, 3.15, 3.17, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK.

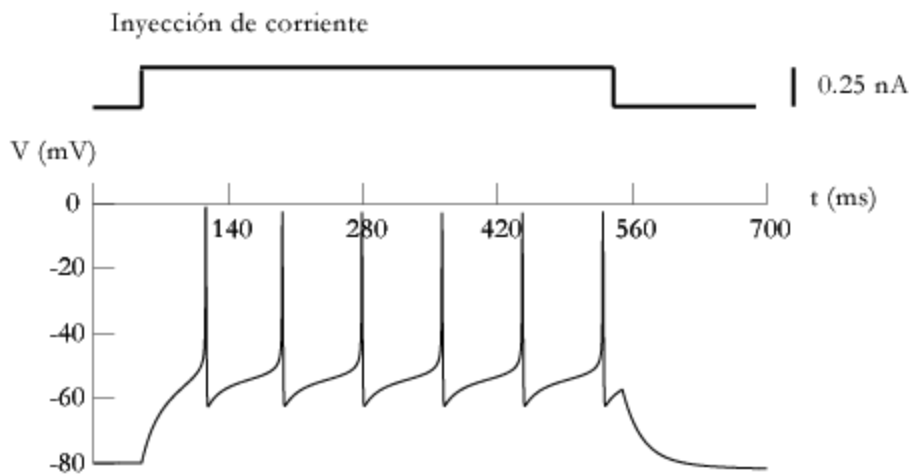


Figura 4.23.- Modulación del mecanismo básico de disparo debida a la activación de los canales de calcio tipo L y los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK.

A diferencia de la modulación del mecanismo básico de disparo producido por los canales de calcio, la integración de los canales de potasio dependientes de calcio de tipo BK disminuye la frecuencia de disparo. Esta disminución se debe al aumento en la concentración de calcio interno en la célula producido por los potenciales de acción. El calcio que entra a la célula debido a la activación de los canales de calcio tiende a aumentar la frecuencia de disparo, sin embargo, como la activación de los canales de potasio tipo BK depende de la concentración interna de calcio se observa que mientras mayor sea la entrada de calcio a la célula, mayor será la corriente debida a la activación de los canales de potasio BK produciendo así una salida masiva de potasio, que en conjunto con

los canales pasivos de potasio, el rectificador entrante y el canal de potasio descrito por Hodgkin y Huxley reducen la frecuencia de disparo y hacen más duradero el intervalo entre las espigas.

4.10 MBD + I_{SK}

Se inserta canales de potasio dependientes de calcio tipo SK y canales de calcio al modelo pasivo. Resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.17, 2.18, 2.19, 2.32, 2.34, 2.35, 3.14, 3.15 y 3.19), es posible obtener la respuesta eléctrica de los canales de potasio dependientes de calcio tipo SK como si estuvieran aislados mediante fármacos específicos.

4.10.1 Fijación de corriente

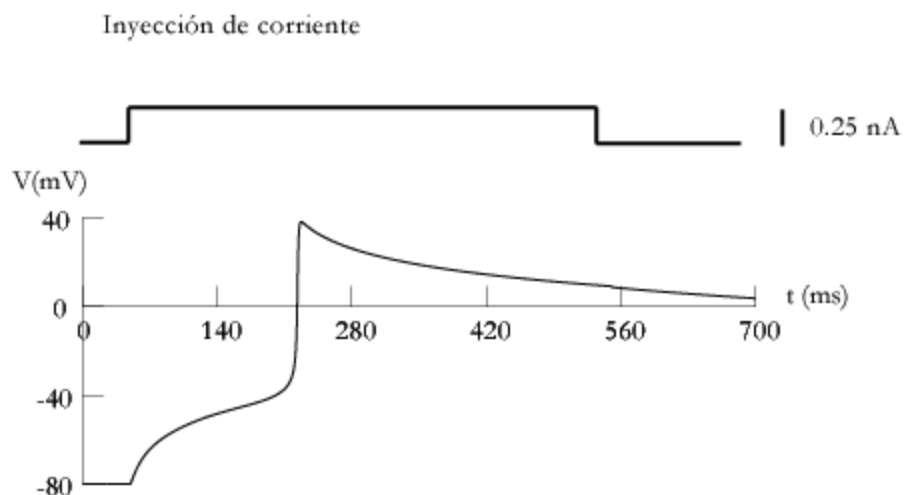


Figura 4.24.- Respuesta en voltaje del circuito formado por las conductancias pasivas, el canal de calcio tipo L y el canal de potasio dependiente de calcio tipo SK, ante un pulso de corriente despolarizante.

La diferencia de potencial aumenta hasta llegar al umbral de los canales de calcio produciendo una rápida despolarización de la membrana y aumentando la concentración de calcio interna. Conforme la diferencia de potencial aumenta y se acerca al potencial de equilibrio del calcio, la corriente debida a la apertura de este canal disminuye. Así mismo, la corriente debida a la apertura de los canales de potasio dependientes de calcio aumenta debido al aumento de la concentración de calcio interna, lo que tiene como consecuencia una salida de potasio de la neurona y provoca que la diferencia de potencial no se despolarice tanto.

La competencia entre las corrientes entrantes (corriente de fuga de sodio, corriente activa de sodio, corriente de calcio tipo L y la corriente del pulso) y corrientes salientes (corriente de fuga de potasio, corriente de potasio rectificadora, y corriente de potasio dependiente de calcio tipo SK) se equilibran el pico del potencial. En ese momento, la suma de corrientes salientes es mayor que la suma de corrientes entrantes y la neurona se repolariza tratando de llegar al estado de equilibrio, por lo que cuando se termina el pulso, la neurona continúa repolarizándose.

4.10.2 Fijación de voltaje

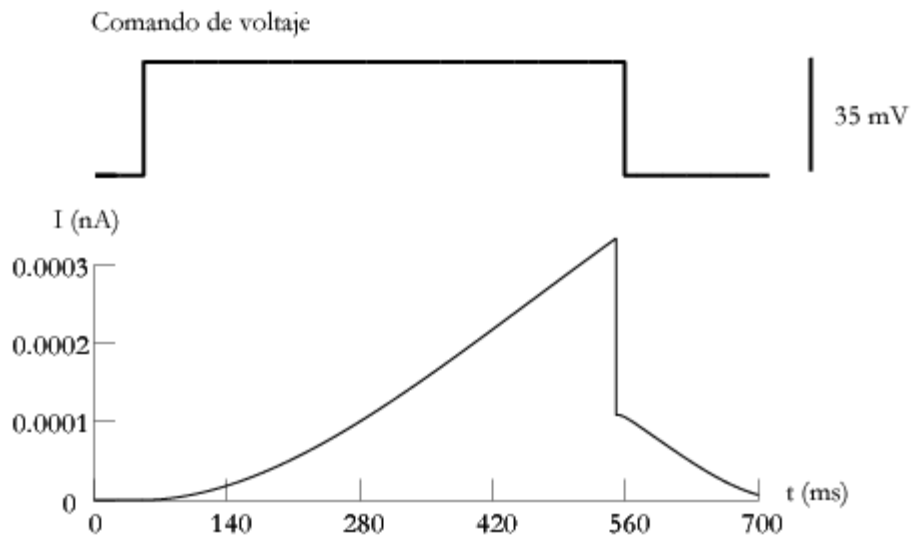


Figura 4.25.- Corriente debida a los canales de potasio dependientes de calcio tipo SK ante un comando de voltaje en la técnica de fijación de voltaje.

A diferencia de la apertura de los canales de potasio dependientes de calcio tipo BK, la apertura de los canales de potasio tipo SK es mucho más lenta. La corriente de potasio producida por la activación de los canales de potasio tipo SK se incrementa conforme aumenta la concentración interna de calcio en la célula. Al terminar el pulso externo, el remanente de calcio interno genera que los canales de potasio tipo SK no se cierren completamente.

4.10.3 Modulación del disparo básico

Insertando canales de calcio y canales de potasio dependientes de calcio de tipo SK ($\bar{g}_{SK} = 2 \times 10^{-5}$ S/cm²) al mecanismo básico de disparo y resolviendo numéricamente el sistema de ecuaciones diferenciales que se genera (ecs: 2.18, 2.19, 3.1, 3.14, 3.15, 3.19, 2.34, 2.35 y 2.36), es posible obtener la modulación del

mecanismo básico de disparo por la inserción de los canales de potasio dependientes de calcio tipo SK.

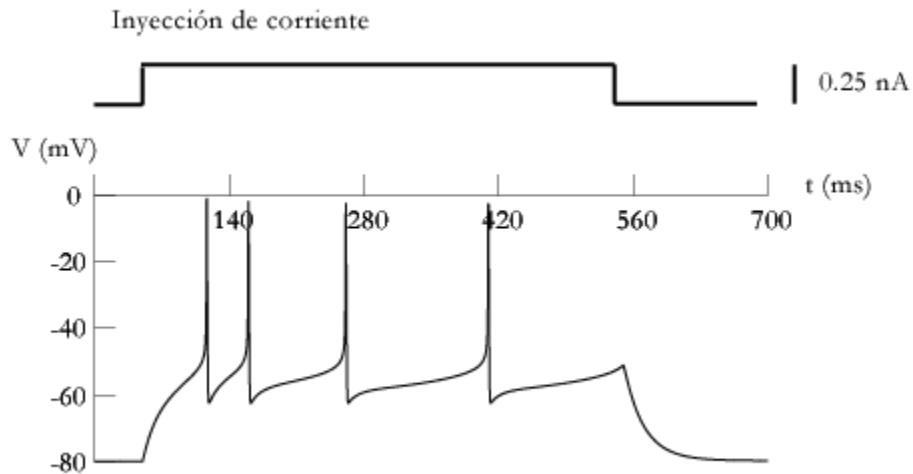


Figura 4.26 .- Modulación del mecanismo básico de disparo debida a la activación de los canales de calcio tipo L y los canales de potasio dependientes de calcio tipo SK.

Al integrar los canales de calcio en el mecanismo básico de disparo se produce un aumento en la frecuencia de disparo (figura 4.26), sin embargo, la integración simultánea de los canales de potasio de tipo SK disminuye la frecuencia de disparo. La corriente de potasio de los canales SK hace que los postpotenciales sean cada vez más lentos, esto es debido a que con cada potencial de acción la célula acumula más calcio en su interior, lo que activa más y más canales de potasio SK. El aumento en esta corriente de potasio tiene como consecuencia una disminución progresiva en la frecuencia de disparo denominada “adaptación de la frecuencia de disparo”, aumentando el intervalo entre potenciales de acción a través del tiempo.

4.11 Integración de todas las dinámicas: convergencia de todas las ecuaciones diferenciales en un solo sistema

Integrando numéricamente las ecuaciones de todas las corrientes anteriormente descritas: (2.32), (2.33), (3.1), (3.3), (3.5), (3.7), (3.9), (3.14), (3.15), (3.17), (3.19), (2.34), (2.35) y (2.36), se obtiene el siguiente disparo, que es característico de la neurona espinosa mediana.

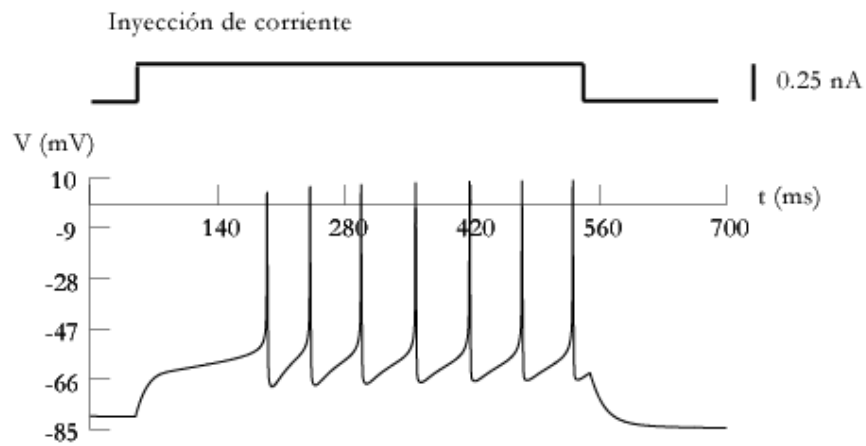


Figura 4.27.- Disparo característico de potenciales de acción debido a la integración de los canales descritos anteriormente.

La integración de todos los canales da lugar al disparo característico de potenciales de acción que presentan las neuronas espinosas medianas.

Capítulo 5. Comparación con los resultados experimentales

Además de obtener el disparo característico de la neurona espinosa mediana, ahora se hace la comparación del disparo de una neurona espinosa mediana real registrada experimentalmente con el disparo de la neurona modelada ante diferentes situaciones experimentales bien conocidas. Así, se realizaron experimentos virtuales que reproducen resultados publicados por los laboratorios del Dr. José Bargas y la Dra. Elvira Galarraga.

5.1 Comparación con el disparo experimental

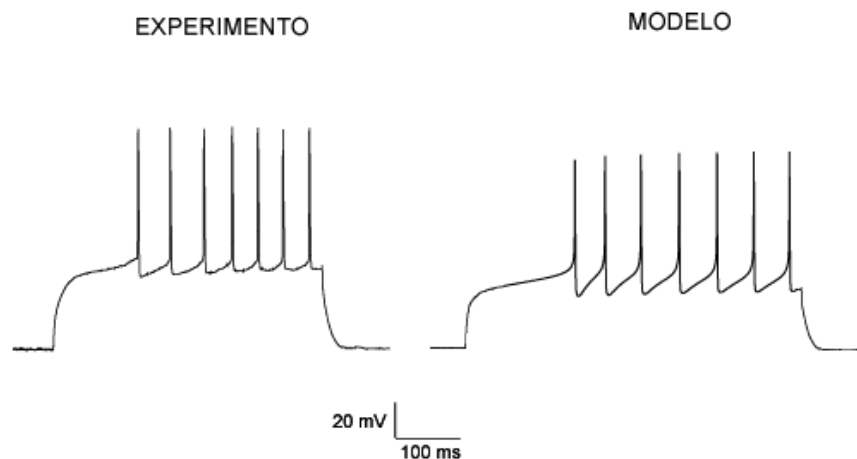


Figura 5.1 .- Comparación del disparo característico de potenciales de acción de una neurona espinosa mediana registrada en un experimento con el disparo característico de potenciales de acción de la neurona virtual creada en este trabajo.

El disparo característico de potenciales de acción obtenido con la resolución del sistema de ecuaciones diferenciales que integra todas las corrientes descritas es muy similar al que se obtiene experimentalmente. A pesar de las simplificaciones que se han supuesto en este trabajo el modelo realizado refleja las propiedades eléctricas de las neuronas espinosas medianas. La neurona registrada experimentalmente es una neurona espinosa mediana de una rata de 20-22 días de nacida con una resistencia de entrada de 150 M Ω . El registro electrofisiológico fue realizado por el Dr. Fatuel Tecuapetla en el laboratorio de la Dra. Elvira Galarraga.

5.2 Reproducción de la curva I-F característica de las NEMs

La curva I-F muestra la relación de la frecuencia de disparo de potenciales de acción en función de la amplitud de corriente aplicada con un pulso cuadrado. Esta curva es dependiente del tipo neuronal por lo que diferentes tipos de neuronas exhiben diferentes curvas I-F. Para realizar la curva I-F se aplican diferentes pulsos cuadrados con distintas amplitudes y se registra la frecuencia de disparo.

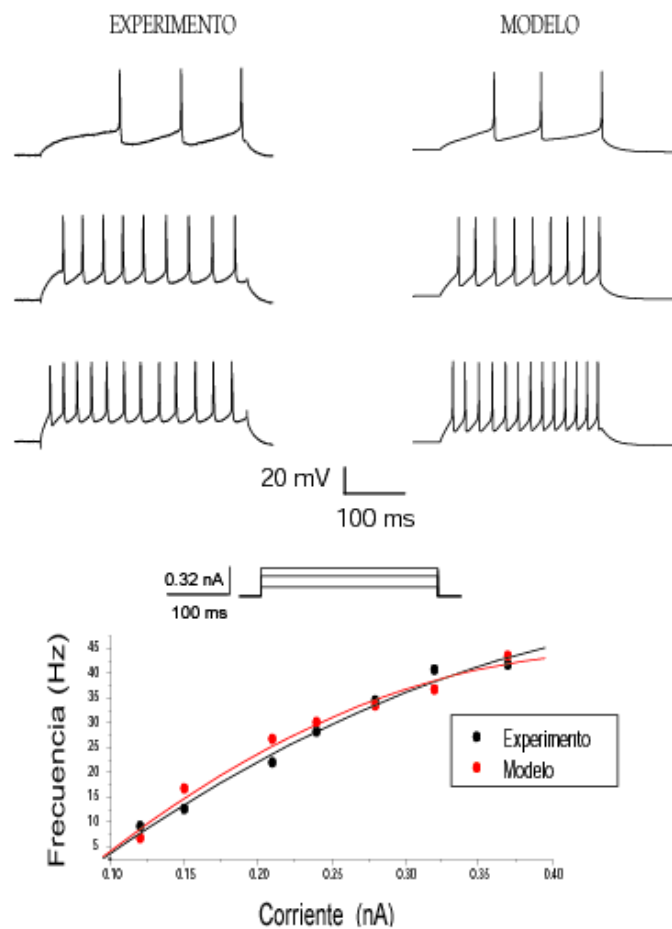


Figura 5.2.- comparación entre la curva I-F obtenida experimentalmente y la elaborada con el modelo.

De la figura anterior podemos observar que no sólo el patrón temporal de disparo obtenido con el modelo es idéntico al registrado experimentalmente, sino que además, la frecuencia de disparo en función de la intensidad de la estimulación (función I-F) es la misma en el modelo y en el experimento. Las curvas ajustadas en ambos casos no muestran diferencias significativas.

5.3 Efectos de nicardipina sobre el canal de calcio. Comparación entre el experimento y el modelo

La nicardipina es una droga que bloquea la entrada de calcio a través de los canales de calcio (de tipo L). El experimento se realiza despolarizando la célula y llevándola a un potencial de membrana de -60 mV. El efecto de la toxina sobre los disparos de potenciales de acción se observa dando pulsos rectangulares de corriente de distinta amplitud. El experimento virtual consistió en dar diferentes pulsos rectangulares de corriente tanto en control (izquierda) como sin los canales de calcio (L) (derecha) como si estuvieran bloqueados por la toxina.

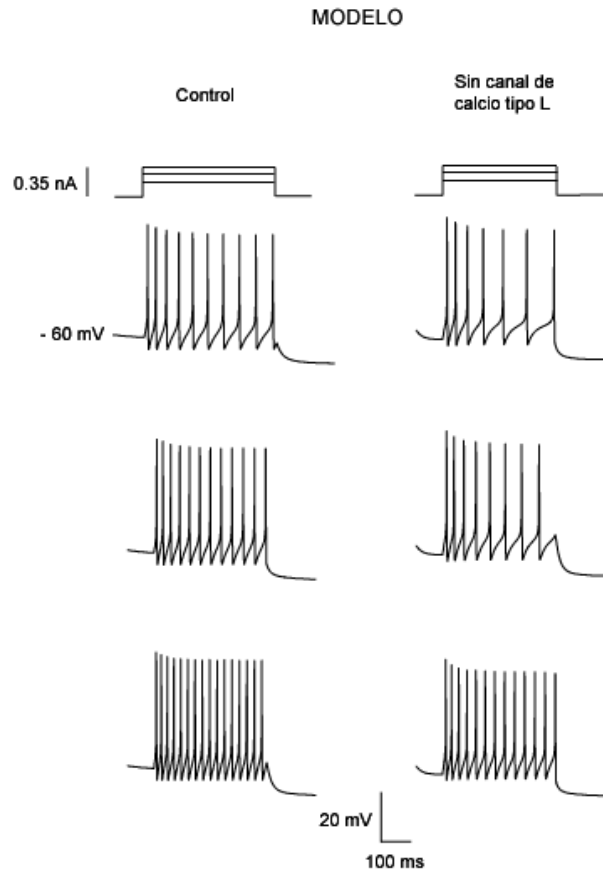
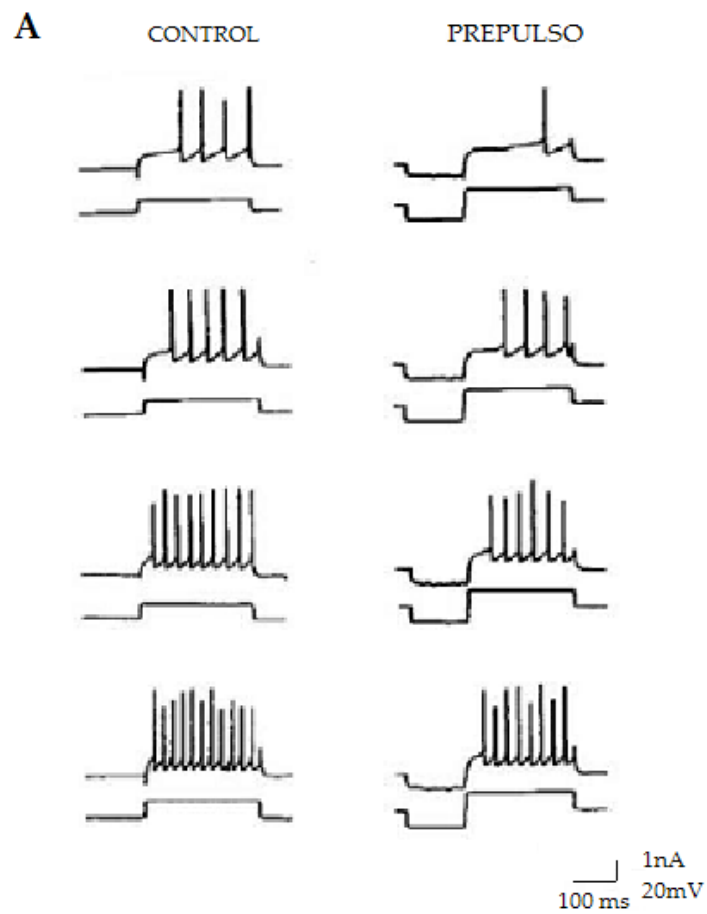


Figura 5.3 .- Efecto de la nicardipina sobre el canal de calcio tipo L. Comparación entre el modelo y el experimento Se observa una disminución de la frecuencia como la reportada experimentalmente (Pérez-Garci 2003)[Ref. 21].

Los efectos de la droga producen una reducción en la frecuencia de disparo y un aumento en la adaptación. Los resultados reproducen los efectos de la nicardipina sobre el canal de calcio tipo L.

5.4 Efectos de un pre-pulso hiperpolarizante sobre la latencia al primer disparo: Comparación entre el experimento y el modelo

El experimento consiste en aplicar un comando que consta de un prepulso hiperpolarizante seguido de un pulso despolarizante.



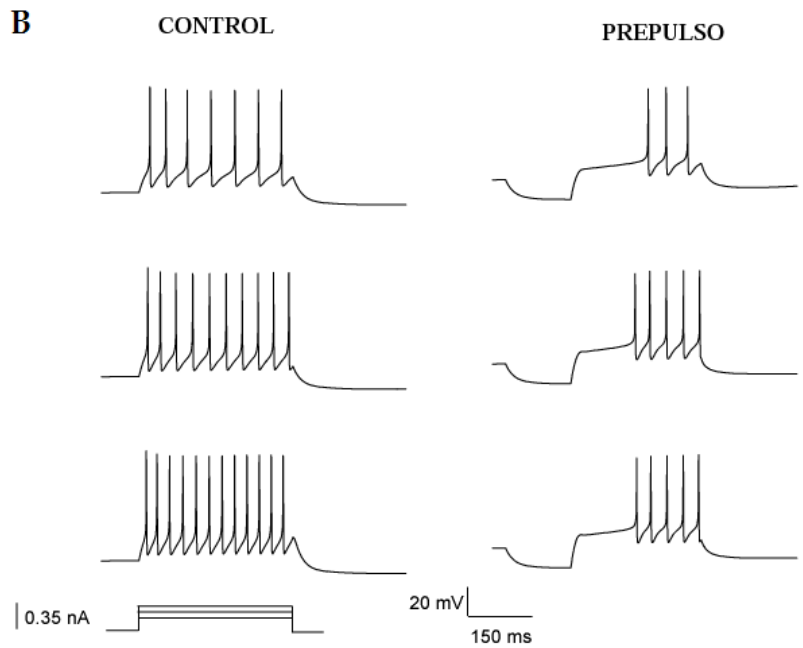


Figura 5.4 .- Efecto de un pre-pulso hiperpolarizante sobre el disparo de potenciales de acción. Comparación entre el experimento (A) (Bargas et al. 1989 [Ref. 3] y el modelo (B)

La aplicación de un prepulso hiperpolarizante tiene como efecto la disminución en la frecuencia de disparo y el alargamiento en la latencia al primer potencial de acción. Los resultados obtenidos con el modelo reproducen los obtenidos experimentalmente.

Capítulo 6. Conclusiones

El modelo reprodujo bien las propiedades eléctricas de las neuronas espinosas medianas. Además de reproducir el disparo característico de potenciales de acción, también reproduce experimentos que muestran características propias de estas neuronas.

El modelo además de corroborar experimentos que puedan realizarse en el laboratorio, tiene la ventaja de predecir experimentos para realizar en el laboratorio. Así mismo, con el modelo se puede estudiar el efecto que tiene cada corriente iónica sobre el disparo característico de potenciales de acción de las neuronas espinosas medianas.

Cabe mencionar que los valores de los parámetros utilizados en esta tesis no son únicos, es decir, es posible generar el disparo característico de las espinosas cuando los valores de las concentraciones iónicas (extra e intracelulares), temperatura y conductancias y permeabilidades máximas cambian dentro de un rango ya que las concentraciones iónicas y cantidad de canales varía de una neurona a otra y de un organismo a otro debido a la variabilidad biológica. Así mismo, las variaciones de temperatura pueden afectar el patrón de disparo de las neuronas, sin embargo, los organismos biológicos poseen una plasticidad que los hace capaces de adaptarse al medio en orden de mantener su buen funcionamiento.

Apéndice: Código fuente del programa

```
objref synstim, stim[3], stim2[3], g[5], h[3]
objref save_window_, ocbox_, mt, fmechs, NULL
strdef fname, mname
double xstatedum[17]

load_file("stdgui.hoc")
nrnmainmenu()

steps_per_ms= 10
dt= 0.01

create soma

kai0_ka_ion = 1e-06
kao0_ka_ion = 2

proc create_graphs(){
    h[2]= new VBox()
    h[2].intercept(1)

    g[4]= new Graph(0)
    g[4].view(0,0,0,0,0,0,300,60)
    g[4].xaxis(3) g[4].yaxis(3)
    graphList[1].append(g[4])
    g[4].save_name("graphList[1].")
    g[4].label( 1, 1, "")
    g[4].addexpr("stim[0].i+stim[1].i", 1, 2)
    g[4].label( .5, .8, "current injection")

    for i=0,2 { g[i]= new Graph(0) g[i].view(0,0,300,0,0,0,300,150)}
    graphList[0].append(g[0])
    graphList[1].append(g[1])
    graphList[1].append(g[2])
```



```

g[0].save_name("graphList[0].")
g[1].save_name("graphList[1].")
g[2].save_name("graphList[1].")
h[2].intercept(0)
h[2].map("Gráficas",0,90,400,530)

g[0].label( .5, 1, "")
g[1].label( .5, 1, "")
g[2].label( .5, 1, "")
}

proc create_panel(){
  xopen("panel.hoc")
}

proc initsoma(){
  access soma

  /* total membrane area of 19000 uM^2
L = 80
diam = 76

celsius = 35
tstop = 700
insert naleak
insert kleak
insert HH
insert iA
insert iSK
insert iBK
insert iL
insert iM
insert cadyn
insert kadyn
insert kaL
insert KD
insert nap
insert kir
insert constante

```

```

    cai = cao = nai= nao = ki = ko = kai= kao= 0

    stim[0]= new IClamp(0.5)
    stim[1]= new IClamp(0.5)
    stim[2]= new VClamp(0.5)
}

proc make_coords_visible(){ local ylen
    make_ycoords_visible()

    scale_axes_cclamp_plot()
    // the time values may not be fully visible if the y-axis starts at
y=0
    for i=0,2 {
        ylen= g[i].size(4)-g[i].size(3)
        g[i].size(-.05*tstop,tstop,g[i].size(3)-
.05*ylen,g[i].size(4)+.05*ylen)
    }

    // create some new dummy labels as the .size commands in the
parameter files
    // messes up the labeling system, user created graphs will have
labels printed
    // below the following dummies
    g[0].label( .5, 1, "")
    g[1].label( .5, 1, "")
    g[2].label( .5, 1, "")

}

proc make_ycoords_visible(){
    // if the user changes tstop the y-coordinates may not be visible
anymore
    if (object_id(g[4])) {
        for i=0,2 g[i].size(-.05*tstop, tstop, g[i].size(3),
g[i].size(4))
    }
}
}

```

```

proc myrun(){
    run()
}

eqinit()
depvar rk, lk, lna
proc equations() {local
Vo,R1,R2,Ip1,Ip2,V1,V2,Vok,Vona,V1k,V1na,V2k,V2na,Vh,Ve,Ek,Ena
    Vo=v*1e-3
    R1=100e6
    R2=99.755e6
    Ip1=-2e-12
    Ip2=2*Ip1
    V1=(R1*Ip1)+Vo
    V2=(R2*Ip2)+Vo
    Ek=ek*1e-3
    Ena=ena*1e-3
    Vok=Vo-Ek
    V1k=V1-Ek
    V2k=V2-Ek
    Vona=Vo-Ena
    V1na=V1-Ena
    V2na=V2-Ena
    Vh=vh_kir*1e-3
    Ve=ve_kir*1e-3
    no=1/(1+exp(-(Vo-Vh)/Ve))
    n1=1/(1+exp(-(V1-Vh)/Ve))
    n2=1/(1+exp(-(V2-Vh)/Ve))
    eqn rk:: rk*n1*V1k + lk*V1k = -lna*V1na + Ip1
    eqn lk:: rk*n2*V2k + lk*V2k = -lna*V2na + Ip2
    eqn lna:: rk*no*Vok + lk*Vok = -lna*Vona
    print rk lk lna
    print"ecuaciones"
}

proc init(){
    finitialize(v_init)
    kai=7e-5
    cai=7e-5
    ict_constante=-(ik_kir+ik_kleak+ina_naleak)
}

```

```

if(cvode.active()){
    cvode.re_init()
}else{
    fcurrent()
}
frecord_init()
print "init"
}

```

```

proc new_experiment() {
    initsoma()
    for i=0,3 graphList[i].remove_all
    graphItem = NULL
    create_graphs()
    xopen("ell.par")
    print "kai antes", kai
    create_parpanel()
    make_coords_visible()
    finitialize(v_init)
    print "kai despues", kai
    equations()
    print "ecuations"
    solve()
    print rk,lk,lna
    An=area(0.5)*1e-8
    print An,area(0.5)
    gkir_kir=rk/An
    gk_kleak=lk/An
    gna_naleak=lna/An
    print gkir_kir,gk_kleak,gna_naleak
    init()
}

```

```
proc scale_axes_cclamp_plot(){ local dum1,dum2
  // re-optimize y-axis scale of current injection plot due to a
change in
  // amplitude of the injected current by the user
  if (stim[0].amp<0) dum1= stim[0].amp else dum1= 0
  if (dum1>stim[0].amp+stim[1].amp) dum1= stim[0].amp+stim[1].amp
  if (stim[0].amp>0) dum2= stim[0].amp else dum2=0
  if (dum2<stim[0].amp+stim[1].amp) dum2= stim[0].amp+stim[1].amp
  if (dum1==dum2) dum2= dum2+1
  g[4].size(g[4].size(1), g[4].size(2), dum1, dum2+.5*(dum2-dum1))
new_experiment()
```

Referencias

- [1] **Bargas J, Ayala GX, Hernández E, Galarraga E.** Ca²⁺-channels involved in neostriatal glutamatergic transmission. *Brain Res Bull.* Mar 15; 45(5):521-4. (1998). 1
- [2] **Bargas J, Cervantes L, Galarraga E, Fraguera A.** The handbook of brain theory. *The Handbook of Brain Theory and Neural Networks 2nd Edition.* Michael A. Arbib (editor) pp. 585-590 The MIT Press. Cambridge MA. (2003).
- [3] **Bargas J, Galarraga E, Aceves J** An early outward conductance modulates the firing latency and frequency of neostriatal neurons of the rat brain. *Exp Brain Res.*; 75(1):146-56. (1989).
- [4] **Bargas J, Howe A, Eberwine J, Cao Y, Surmeier DJ.** Cellular and molecular characterization of Ca²⁺ currents in acutely isolated, adult rat neostriatal neurons. *J Neurosci.* Nov; 14(11 Pt 1):6667-86. (1994).
- [5] **Birnbaum S. G, Varga A. W, Lluan L, Anderson A. E, Sweatt D, Schrader L. A.** Structure and function of the Kv4-Family transient potassium channels. *Physiol. Rev.*; 84 : 803-833. (2003)
- [6] **Bouyer JJ, Park DH, Joh TH, Pickel VM.** Chemical and structural analysis of the relation between cortical inputs and tyrosine hydroxylase-containing terminals in rat neostriatum. *Brain Res.* Jun 8;302(2):267-75. (1984)
- [7] **B.W. Kernighan, R. Pike.** The UNIX Programming Environment, *Prentice-Hall*, pp 1-69. (1984)
- [8] **Catterall W, Goldin A, Waman S.** International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Sodium Channels. *Pharmacol Rev* 57: 397-409. (2005)
- [9] **Catterall W, Perez-Reyes E, Snutch T.P., Striessig J.** International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Calcium Channels. *Pharmacol Rev* 57: 411-425. (2005)
- [10] **Destexhe A, Contreras D, Sejnowski TJ, Steriade M** A model of spindle rhythmicity in the isolated thalamic reticular nucleus. *J Neurophysiol.* Aug; 72(2): 803-18.(1994).

- [11] **E. Neher, B. Sakmann.** The patch clamp technique. *Sci Am.* Mar; 266(3): 44-51, (1992).
- [12] **Gardos G.** The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta.* Dec; 30(3):653-4. (1958).
- [13] **Graybiel AM.** The basal ganglia and the initiation of movement. *Rev Neurol (Paris);* 146(10):570-4. Review. (1990).
- [14] **Gutman G. A., Chandy G., Grissmer S., Lazdunski M, McKinnon D, Pardo L. A., Robertson G. A., Rudy B., Sanguinetti M. C., Stühmer W, Wang X.** International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and Molecular Relationships of Voltage-Gated Potassium Channels. *Pharmacol Rev* 57:473–508. (2005).
- [15] **Hodgkin AL and Huxley AF.** A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 117: 500– 544, (1952).
- [16] **Huguenard JR, McCormick DA.** Simulation of the currents involved in rhythmic oscillations in thalamic relay neurons. *J Neurophysiol.* Oct;68(4):1373-83. (1992)
- [17] **Kubo Y, Adelman J, Claphan D, Jan L, Karschin A, Kurachi Y, Lazdunsky M, Nichols C, Seino S, Vanderberg C.** International Union of Pharmacology. LIV. Nomenclature and molecular relationships of inwardly rectifying potassium channels. *Pharmacol. Rev.* 57: 509-526 (2005)
- [18] **McCormick DA, Wang Z, Huguenard J.** Neurotransmitter control of neocortical neuronal activity and excitability. *Cereb Cortex.* Sep-Oct;3(5):387-98. (1993).
- [19] **Mitra, Indranil and Roy, Sisir.** Relevance of Quantum Mechanics in Circuit Implementation of Ion channels in Brain Dynamics. arXiv:q-bio/0606008v1 [q-bio.NC]. "Neuroquantology" (2006).
- [20] **Miyasho T, Takagi H, Suzuki H, Watanabe S, Inoue M, Kudo Y, Miyakawa H.** Low-threshold potassium channels and a low-threshold calcium channel regulate Ca²⁺ spike firing in the dendrites of cerebellar Purkinje neurons: a modeling study. *Brain Res.* Feb 9;891(1-2):106-15. (2001).
- [21] **Pérez-Garci E, Bargas J, Galarraga E.** The role of Ca²⁺ channels in the repetitive firing of striatal projection neurons. *Neuroreport.* Jul 1;14(9):1253-6. (2003).

[22] **Steven A. Prescott and Yves De Koninck.** Integration Time in a Subset of Spinal Lamina I Neurons Is Lengthened by Sodium and Calcium Currents Acting Synergistically to Prolong Subthreshold Depolarization *J. Neurosci.*, 25: 4743 – 4754 ; (2005).

[23] **Yamada, W. M., Koch, C., and Adams, P. R.** Multiple channels and calcium dynamics. In Koch, C. and Segev, I., editors, *Methods in neuronal modeling: From synapses to networks*, chapter 4. MIT Press, Cambridge, MA. (1989).