



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES PASIVAS DE LAS NEURONAS ESPINOSAS MEDIANAS EN EL NEOESTRIADO DE RATA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
F I S I C O
P R E S E N T A :
JUAN ANTONIO LAVILLE CONDE



FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE BARGAS DIAZ



TESIS CON FALLA DE ORIGEN 1998

FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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
AVENIDA DE
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES PASIVAS DE LAS NEURONAS ESPINOSAS MEDIANTE EL NEGESTRIADO DE RATA.

realizado por JUAN ANTONIO LAVILLE CONDE

con número de cuenta 7351343-3 , pasante de la carrera de FISICA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	DR. JOSE BARGAS DIAZ	<i>José Bargas</i>
Propietario	DR. HUMBERTO CARRILLO CALVET	<i>Humberto Carrillo</i>
Propietario	DR. RAFAEL PEREZ PASQUAL	<i>Rafael Pérez</i>
Suplente	DR. EMILIO SALINAS FERNANDEZ	<i>Emilio Salinas</i>
Suplente	DR. JOSE ISMAEL ESPINOSA ESPINOSA	<i>Jose Ismael</i>

Consejo Departamental de Física
DR. ROBERTO ALEJANDRO RUELAS MAYORGA



FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE FISICA

A mi madre *Marialuz* quien me enseñó que la curiosidad, con precaución, observación y método, lejos de matar al gato lo hacen más sabio, y por su incondicional apoyo a lo largo de mi vida pese a las metidas de pata.

A mis abuelos maternos *Matías* y *Mercedes*, QEPD, quienes hicieron lo que *creyeron correcto para sacar adelante a la familia a través de dos guerras* aunque no todos hayamos estado de acuerdo en la forma de hacerlo.

A mi tía *María Victoria*, QEPD, quien me enseñó a no tener miedo a desarmar aparatos, enchufes, y en general a entender aquello que ha sido creado por el hombre, aunque a veces no pudimos armar de nuevo aquello que habíamos desarmado.

A mi tía *Cristina*, QEPD, quien me enseñó a leer, escribir y el valor de la tradición escrita aunque ella la haya sustituido por la tradición oral en lugar de complementarla.

A mi tío *Armando*, QEPD, quien me enseñó el valor del orden, me confrontó con la realidad múltiples veces y me enseñó que las decisiones hay que tomarlas con la cabeza fresca.

A mi tía Paloma quien me enseñó que pase lo que pase hay que mantener el espíritu optimista y tratar de conservar el buen humor. Al fin solo hay una vida y hay que sacarle el mayor jugo posible.

A mi tía Ana quien con sus cuentos, a veces de libros que leía y a veces de su propia imaginación, me enseñó el poder de la imaginación.

A mi tío Carlos quien me enseñó el valor de la planeación, el uso de las herramientas y que sin atención a los detalles las grandes visiones no podrían llevarse a cabo.

A mi tío Gerardo quien me enseñó el valor de la decisión, con sus errores, como elemento indispensable del rumbo que cada quien desea seguir en la vida.

A mis primos Gerardo, Cristina, Manolo, Daniel y Marina con quien he compartido muchos momentos y quienes han sido como los hermanos que yo no tuve.

A Paola quien me ha aguantado, ya por más de un año, mis cambiantes humores, así como yo los de ella. Espero nos aguantemos mucho tiempo más.

A todos los anteriores por el cariño, amor y soporte que nos hemos tenido pese a nuestras diferencias.

Prólogo.

Desde de la preparatoria tenía interés por el funcionamiento del cerebro humano. Mi maestro de química había dado una introducción al tema en segundo año y yo había decidido ir al área químico-biológica para posteriormente estudiar bioquímica. Durante el tercer año mi maestro de física me convenció que si quería entender la bioquímica debía entender primero la biofísica y para ello debía estudiar física primero. Así es como llegue a la carrera de física, con el objetivo que la biofísica explicaría la bioquímica y entonces entendería el cerebro humano.

Tras diversas decepciones tanto de la carrera como de mi ambicioso objetivo, la vida me ha hecho aterrizar y ser más humilde en mis objetivos. Fue así como después de estar ausente de la facultad por 13 años decidí regresar a terminar mi carrera y seguir con el objetivo de entender algo del cerebro humano.

A mi regreso tenía la idea que las redes neuronales podrían ser el camino para entender el cerebro. Después de buscar en ese área, mi maestro de mecánica cuántica me sugirió visitar el Instituto de Fisiología Celular en donde se hacía una labor más concreta en la búsqueda del funcionamiento del cerebro humano. Llegue entonces al laboratorio de mi actual asesor, el Dr. José Bargas, quien me convenció que las redes neuronales apenas están haciendo uso de los descubrimientos pasados sobre el cerebro humano y, aunque de utilidad, no son el camino para entender el funcionamiento de este. Todavía hay muchas cosas que aprender de las neuronas y sus interconexiones como para poder modelar completamente al cerebro humano. Ahora sé que yo moriré, quizás mis hijos y mis nietos también, antes que esto suceda.

Ahora mis objetivos son más modestos y terrenales: espero contribuir con uno o dos granitos de arena al conocimiento y entendimiento del cerebro humano. Esta tesis es un primer intento que pretendo continuar en mi doctorado en ciencias biomédicas.

Durante su desarrollo me tope con cosas como: ¿que es más valioso la teoría o la práctica? ¿cual disciplina es más importante: las matemáticas, la física, la química, la biología? Hace 15 años le hubiera dado prioridad a la física y a la teoría. La primera por que estaba convencido de que la física era la disciplina científica que englobaba a las demás. La segunda porque la carrera de física en la facultad de ciencias estaba, y creo que todavía está, enfocada al desarrollo teórico y no al práctico.

Hoy, después de los envates de la vida, la autoreflexión y mucha lectura no científica, no puedo darle prioridad a ninguna. La ciencia es la búsqueda de la verdad que pueda ser demostrada independientemente del lugar y el momento en que se quiera demostrar. Para ello es necesaria la observación, el método y la experimentación pues sin la primera no hay hipótesis, sin la segunda no hay control y sin la última no hay demostración. También es necesaria la teoría como fundamento de lo ya conocido y de lo que se puede demostrar tan solo mediante la lógica. Sin embargo, una demostración lógica solo se afianzará con una demostración práctica, es decir, que funcione. Por lo tanto es necesario que la teoría y la práctica vayan juntas, nunca peleadas.

En cuanto a las diferentes disciplinas académicas ninguna es más importante que las otras. De hecho son complementarias. La búsqueda de la verdad demostrable requiere de todas ellas y, cuando los científicos se escudan detrás de la disciplina que aprendieron sin considerar a las otras, se convierten en cientócratas que no buscan la verdad sino la gloria.

En particular, considero muy difícil que en la búsqueda del funcionamiento del cerebro humano una sola disciplina pueda resolverlo y que se necesitará del esfuerzo conjunto de muchos científicos con diferentes especialidades. Espero que el objetivo sea lo suficientemente atractivo como para vencer las pequeñeces de la envidia que todos los seres humanos, incluidos los científicos y un servidor, tenemos.

Como todas las cosas en la vida esta tesis es el producto de muchos esfuerzos canalizados a través de mi persona por lo que debo agradecer a muchas personas. Empezando por mi madre María Luz y mi familia materna, mis abuelos Matías y Mercedes, mis tías María Victoria, Ana María, Cristina, Paloma, y mis tíos Armando, Carlos y Gerardo, quienes hicieron grandes esfuerzos para que yo tuviera la educación, alimentación, vestido y vivienda que desgraciadamente muchos seres humanos no tienen. Al maestro Vicente Carrión quién me enseñó el gusto por las matemáticas y el fútbol siendo casi un padre para mí. A mis maestros de química y física en la preparatoria, Horacio García y Tomás Bilbao respectivamente, pues delinearon en lo que posteriormente me convertiría. A mi maestro de mecánica cuántica, Dr. Luis de la Peña, y al Dr. Ricardo Tapia, por entender mis intereses en la biofísica y canalizarme al laboratorio donde podría desarrollarme con mayor éxito. A la Dra. Elvira Galarraga por sus fabulosos tips experimentales y teóricos. Al Dr. Humberto Carrillo, cotutor de esta tesis, por su revisión y los valiosos comentarios de los desarrollos matemáticos. A los Drs. Rafael Pérez Pascual, Emilio Salinas, e Ismael Espinosa, sinodales de la tesis, por la revisión de la misma y los comentarios a la misma. Al Dr. Marco Atzori por enseñarme los básicos del patch clamp y compartir algunos gratos momentos durante el registro experimental. A la Mtra. Carmen Vilchis por enseñarme las diversas técnicas en el

laboratorio sobre todo método y limpieza. A Juan López encargado de que todo el material del laboratorio este siempre listo. A mis compañeros de laboratorio Xochitl, Elizabeth, Silvia, Jaime, Alejandra, Enrique, Emilio, Eduardo y César por su apoyo y comprensión. Pero sobre todo al Dr. José Bargas, tutor de esta tesis, por guiarme paso a paso a través de la laboriosa fase experimental, recibirme en su laboratorio pese a mi edad y tenerme la paciencia suficiente en la elaboración de la tesis. A todos ellos, muchas gracias para que esta tesis se convirtiera en una realidad.

Dedicatoria	i
Prólogo	iii
Índice	vii
Introducción	1
I. Breve introducción a la neurofisiología celular.	5
Anatomía neuronal.	5
Anatomía de las neuronas espinosas medianas del neocórtex.	7
Sinapsis. Potenciales sinápticos excitatorios e inhibitorios.	9
Anatomía funcional del Neocórtex.	13
II. Las bases físicas de la excitación nerviosa.	17 - A
Composición de la membrana plasmática y balance osmótico.	17
La ecuación de Nernst-Planck.	19
La ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz.	24
Curvas I-V.	25
Propiedades pasivas de la membrana.	26
Excitabilidad.	28
III. Teoría lineal de cable.	31
Suposiciones y derivación de la ecuación de cable.	32
Soluciones en el estado estacionario.	34
<i>Cable semi-infinito.</i>	35
<i>Cable infinito.</i>	36
<i>Fijación de voltaje.</i>	37
<i>Cable finito.</i>	38
a1) <i>Cable finito sellado en $X=X_1$.</i>	39
a2) <i>Cable finito con fijación de voltaje $V_1=0$ en $X=X_1$.</i>	39
b1) <i>Continuación del cable en otro de menor diámetro.</i>	40
<i>Conductancia de entrada para un cable finito.</i>	40
b2) <i>Ramificación en $X=X_1$ y "cilindro equivalente".</i>	40
Solución dependiente del tiempo y transitorios.	43
<i>Cable finito.</i>	44
Respuesta a un escalón de corriente.	46
IV. Modelo de cilindro equivalente acoplado a un soma como modelo de neurona.	48
Acoplamiento de un soma a un cilindro equivalente ($r_m=r_s$).	49

Resistencia de membrana somática diferente de la dendrítica.	52
V. Procedimiento experimental y de análisis.	55
Superfusión extracelular y solución intracelular.	55
Obtención de la preparación de tejido cerebral.	55
Arreglo experimental.	56
Fabricación de los electrodos.	57
Registro electrofisiológico en célula entera (whole-cell patch clamp).	58
Adquisición de datos.	62
VI. Resultados y Conclusiones.	64
Curvas I-V.	64
Análisis de la curva de carga.	65
Solución numérica del sistema de ecuaciones del modelo E-C.	68
Corrección Geométrica.	70
Discusión y Conclusiones.	70
VII. Apéndices.	73
Apéndice 1: Obtención de los coeficientes de la serie de Fourier.	73
Apéndice 2: Obtención de e en función de a_0 y a_1 .	74
Apéndice 3: Programa de adquisición de datos.	75
Apéndice 4: Solución numérica del sistema de ecuaciones y restricciones de los parámetros del modelo de cable.	78
VIII. Bibliografía.	81

INTRODUCCIÓN

El neostriado pertenece a una serie de núcleos del cerebro denominados ganglios basales los cuales se encuentran en la parte baja del cerebro. El interés de su estudio surgió al analizar autopsias de pacientes de enfermedades en secuencias motoras como el Parkinson, la corea de Huntington, Balismo, etc., y observar daños en estos núcleos.

Existen evidencias de que el neostriado está involucrado en la programación de secuencias de acciones motoras pues con inyecciones de haloperidol en el caudado a gatos caminando en una viga se ha observado un déficit en la capacidad de secuenciar movimientos dirigidos. En primates, registros unitarios de neuronas del putamen han revelado que algunas de ellas son activadas antes que una secuencia de acciones de la que forman parte, pero no cuando no son parte de la misma secuencia de acciones.

La probabilidad de que el neostriado este envuelto en generar una secuencia ordenada de acciones o pensamientos y el déficit para realizar dichas secuencias en ausencia de ciertos neurotransmisores sugiere varias preguntas: ¿ Tiene el neostriado un mecanismo para generar secuencias de actividades?, ¿ Como especifican la secuencia a seguir las aferentes al neostriado?, ¿Cuales son los límites naturales en frecuencia y tamaño de estas secuencias?, ¿Cual es el papel de los diversos neurotransmisores sobre los límites, en condiciones normales, o cuando están por debajo de sus concentraciones fisiológicas?. Responder a estas preguntas requiere de un modelo de interconexiones entre las diferentes neuronas del neostriado así como del comportamiento de cada una de ellas bajo diferentes circunstancias. Un modelo de interconexiones y de neurona usando Génesis y datos experimentales se refiere en la bibliografía. Sin embargo el propósito de esta tesis es simplemente encontrar algunos de los parámetros de las

neuronas neocorticales de proyección que pueden ser usados para modelar una neurona. No se pretende ni modelar la neurona, ni la posible red que estas pueden generar mediante interconexiones. Simplemente se pretende encontrar las propiedades pasivas de estas neuronas en su estado de reposo para tener estos parámetros como situación control. En trabajos posteriores se intentará ver como cambian estos parámetros bajo la influencia de diversos neurotransmisores.

El otro objetivo de la tesis es ver si estas neuronas en el reposo son electrofisiológicamente compactas o no. Es decir, si los eventos sinápticos son observables en el soma o son filtrados por la dispersión de corriente en las dendritas que aquí se modelarán como cables. Esto es de crucial importancia pues hasta el momento el estudio de las sinapsis en el sistema nervioso central es indirecto en la mayoría de las neuronas y en particular en las del neocórtex ya que aplicar la técnica de medición a las dendritas en el lugar donde suceden las sinapsis es imposible. Estudiar la sinapsis posteriormente ayudara a modelar con mayor realidad estas neuronas.

Para medir entonces las propiedades pasivas de las neuronas neocorticales de proyección es necesario conocer algo de su anatomía y de su funcionamiento hasta donde se conoce. Esto se resume en el capítulo I. También es necesario el conocimiento de las bases físicas de la excitabilidad y esto se presenta en el capítulo II. Básicamente consiste en una descripción de la membrana lipídica y como sus diversas partes contribuyen a la generación de una diferencia de potencial entre el interior y el exterior de una célula y como se mantiene está en un estado de reposo. Se menciona someramente como ciertas proteínas denominadas canales iónicos son responsables de la excitabilidad

de acuerdo a su capacidad espaciotemporal de permear diferentes iones a través de la membrana lipídica.

La teoría de cable, con la que se modelará al árbol dendrítico y modificaciones para llevarla a un contexto real se presentan en los capítulos III y IV. El capítulo III presenta las suposiciones para la construcción de la teoría de cable, el planteamiento matemático del problema, las soluciones en estado estacionario (i.e. independientes del tiempo o filtraje espacial), definición de los conceptos de electrotono y cilindro equivalente en donde se muestran las condiciones bajo las cuales un árbol dendrítico puede ser colapsado a un cilindro que equivalga a todo el árbol. Se encuentra la solución dependiente del tiempo para el caso de la aplicación al cilindro equivalente de un escalón de corriente, que es el protocolo que se usa experimentalmente. El capítulo IV acopla el cilindro equivalente a un soma isopotencial haciendo uso de los dos capítulos anteriores. Además agrega la inhomogeneidad en la resistencia de membrana entre soma y árbol dendrítico. El modelo así obtenido está descrito por un sistema de ecuaciones parametrizadas cuyas parámetros representan cantidades fisiológicas que después pueden ser usadas para modelar a estas neuronas y reproducir su comportamiento individual. El modelo predice que el curso temporal en $X=0$ está descrito por una suma de exponenciales. Es este curso temporal el que se puede igualar con las mediciones experimentales en el soma ($X=0$) para a partir de ahí encontrar los valores de los parámetros del modelo.

El proceso experimental mostrado en el capítulo V describe las soluciones externa e interna usadas durante el experimento, el arreglo experimental, la forma de obtener el tejido cerebral a registrar, la fabricación de los electrodos de registro, la técnica de registro en célula entera y la forma de adquirir los datos digitalizados.

En el capítulo VI se analizan los datos mostrando primero las relaciones corriente voltaje de donde se obtiene uno de los parámetros experimentales: la resistencia de entrada R_N . Posteriormente se muestran las curvas de carga en donde mediante un ajuste numérico de exponenciales se encuentran los otros parámetros experimentales: los coeficientes de las exponenciales C_n y sus constantes de tiempo τ_n . Con los parámetros experimentales obtenidos se procede a la solución numérica del sistema de ecuaciones parametrizadas y la obtención de los valores de los parámetros que mejor reproducen en $X=0$ el curso temporal experimental. La discusión indica que las neuronas neocorticales de proyección son compactas en el reposo y que por lo tanto es posible estudiar las propiedades de las sinapsis en estas neuronas. Aun si el filtraje aumentara este podría ser predicho por el modelo y se pueden estudiar los sinápticos eliminando matemáticamente el filtraje. Adicionalmente los parámetros obtenidos pueden ser usados para modelar una neurona y eventualmente una red más realista que contemple los parámetros obtenidos. Un paso posterior es ver la dinámica de estos parámetros para poder modelar la dinámica de la neurona. Esto último es a donde realmente se quiere llegar pero faltan aún años de esfuerzo.

I. Breve introducción a la neurofisiología celular.

Sería imposible hablar de las propiedades pasivas de las neuronas sin entender algo de la anatomía y la fisiología de estas. Además, como toda rama de la ciencia, la neurofisiología tiene un lenguaje propio para describir los fenómenos que estudia. El propósito de este capítulo es describir la anatomía general común a todas las neuronas, la particular de las neuronas espinosas medianas neocorticales objeto de esta tesis, e introducir los diversos términos neurofisiológicos que describen los fenómenos a los que se hará referencia.

Anatomía neuronal.

El sistema nervioso central (SNC) se compone de células altamente especializadas, llamadas neuronas, a las que se les considera la unidad discreta fundamental. Adicionalmente, existen las células gliales que tienen un importante papel regulador. La principal diferencia entre estos dos tipos de células, y en general entre las neuronas y otras células, es la excitabilidad. Las neuronas son células excitables, la glia no. En el siguiente capítulo se verá lo que significa la excitabilidad y en qué está basada físicamente. Aunque las neuronas tienen formas diferentes según la parte del cerebro o del cuerpo en donde se encuentren, todas tienen en común cuatro componentes básicos. La figura 1.1 muestra un esquema de estos componentes:

-SOMA: Es el cuerpo propiamente dicho de la célula y contiene la mayoría de los organelos comunes a todas las células incluyendo el núcleo. Es en donde nacen las diversas ramificaciones tales como dendritas y axón.

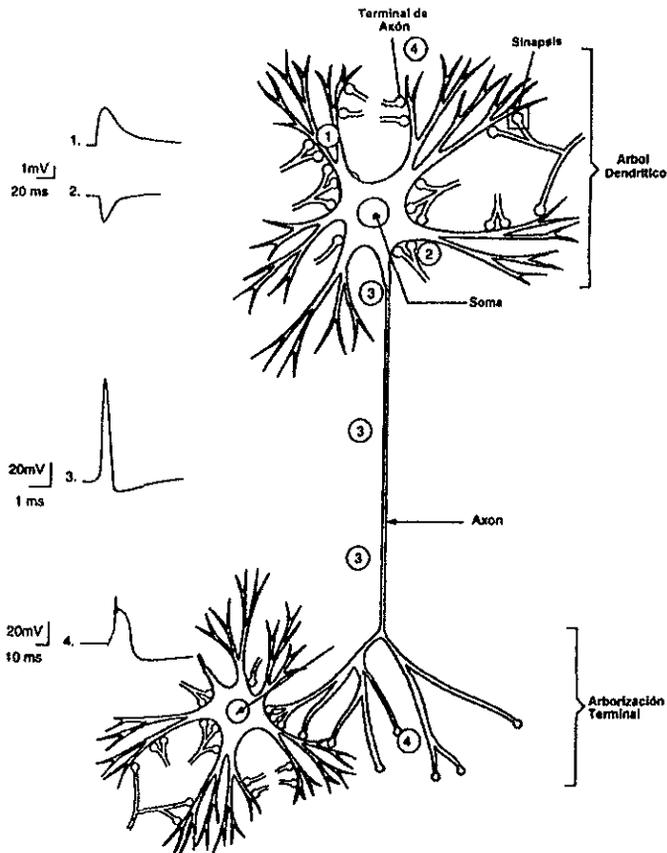


Figura 1.1: Diagrama esquemático de una neurona. (Hammond 1996).

-DENDRITAS: Son prolongaciones que se ramifican desde el soma generando el árbol dendrítico. En las dendritas se reciben la mayoría de los contactos de otras células, a los que se les denomina sinapsis, aunque también los hay en el soma. La función principal de las sinapsis dendríticas es la de recopilar la información proveniente de otras neuronas, sin embargo, las dendritas también hacen funciones de integración y procesamiento de información más complejas.

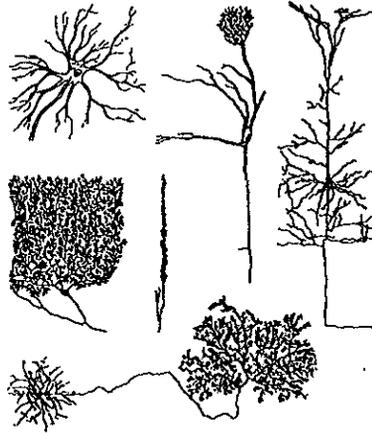


Figura 1.2: Diversas morfologías de neuronas. Empezando por la parte superior izquierda en el sentido de las manecillas del reloj; motoneurona de la espina dorsal, célula mitral del bulbo olfatorio, célula piramidal de corteza cerebral, célula horizontal de retina, y célula de Purkinje del cerebelo. (Johnston y Wu 1994).

-AXÓN: El axón es la prolongación a través de la cual la señal eléctrica de salida se propaga. A la señal de salida se le conoce como potencial de acción y viaja a lo largo del axón. El axón hace contacto con las dendritas de otras neuronas mediante sinapsis.

La figura 1.2 muestra varios tipos de neuronas en donde se nota la enorme diferencia que existe entre ellas según la zona del cuerpo o del cerebro a la que pertenezcan.

Anatomía de las neuronas espinosas medianas del neocórtex.

La figura 1.3 muestra una neurona espinosa mediana, en donde se puede observar el gran número de espinas que cubren las dendritas, las cuales dan origen a su nombre. Los somas tienen un diámetro entre 12 - 20 μm con troncos dendríticos de 2-3 μm de

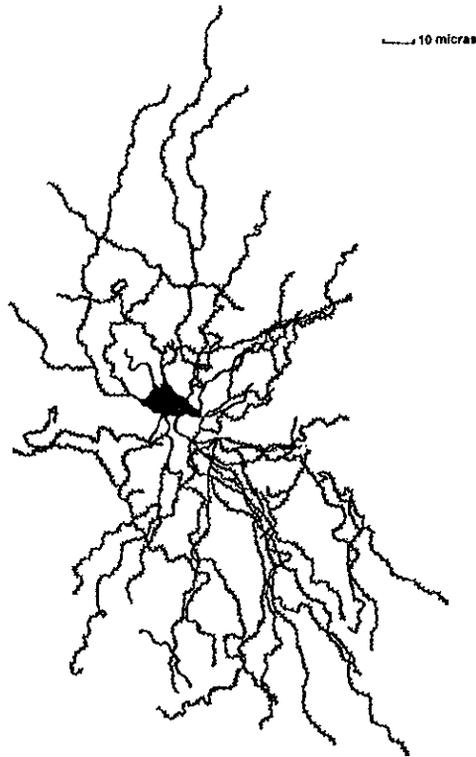


Figura 1.3: Reconstrucción en cámara lúcida de una neurona espinosa mediana. (Cortesía Dra. E. Galaraga).

diámetro. Los troncos dendríticos se ramifican en dendritas espinosas secundarias las cuales se ramifican de una a dos veces más. La neurona espinosa mediana llega a tener de 25 a 30 terminales dendríticas que radían del soma en todas direcciones, generando un árbol dendrítico que ocupa un volumen cuasi esférico de 200-250 μm de radio. El axón nace del soma o de un tronco dendrítico próximo al soma. Se ramifica en varias colaterales en la vecindad de la neurona (300-500 μm), dando arborizaciones locales.

Proyecta hacia afuera del neocórtex además de contribuir al conjunto axonal en la vecindad de la neurona. Las neuronas espinosas son las neuronas de proyección del núcleo.

La mayoría de los contactos, sinápticos que reciben estas neuronas, se realizan en las cabezas de las espinas dendríticas, como lo muestra la figura 1.4. Por ejemplo, así hacen contacto las aferentes de la corteza cerebral.

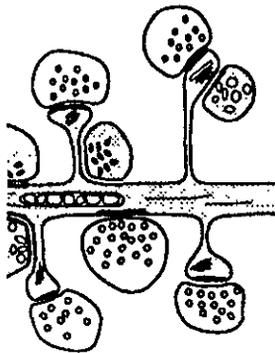


Figura 1.4: Esquema de dendrita con espinas mostrando los contactos de las aferentes de corteza cerebral. (Shepherd 1998).

Sinapsis. Potenciales sinápticos excitatorios e inhibitorios.

Se ha mencionado que las neuronas reciben señales de entrada y emiten señales de salida. También se ha mencionado que estas señales se transmiten de neurona a neurona a través de contactos sinápticos o sinapsis. Sin embargo, no se ha dicho cómo son las sinapsis. Como se verá en el próximo capítulo, la membrana de las células está formada

por fosfolípidos cuya función principal es aislar el interior del exterior de la célula, y por proteínas que tienen diversas funciones, entre ellas, la comunicación entre el interior y el exterior de la célula.

Las sinapsis en el SNC son básicamente de dos tipos:

- **SINAPSIS ELÉCTRICA:** En este caso, dos neuronas, cuyas membranas están muy cercanas, se unen físicamente formando un poro acuoso que conecta el interior de ambas neuronas entre sí. La figura 1.5 muestra un diagrama de una sinapsis eléctrica.

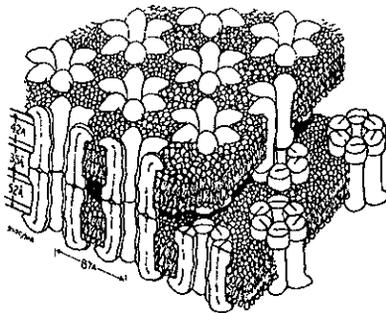


Figura 1.5: Diagrama del contacto o sinapsis eléctrica entre dos células. (Matthews 1989).

- SINAPSIS QUÍMICA:** Son las sinapsis en donde las neuronas están separadas por un resquicio sináptico. La señal eléctrica en una neurona provoca la liberación de sustancias químicas, llamadas neurotransmisores, que viajan a través del resquicio sináptico hasta la otra neurona para inducir en ella una señal. La figura 1.6 muestra un diagrama de sinapsis química. En ella se observan la membrana

de la neurona que recibe los neurotransmisores, a la que se le denomina membrana postsináptica, y la terminal de la neurona que libera los neurotransmisores, y que se denomina terminal presináptica o botón sináptico. A este último, cuando se le separa de los procesos celulares, se le denomina sinaptosoma.

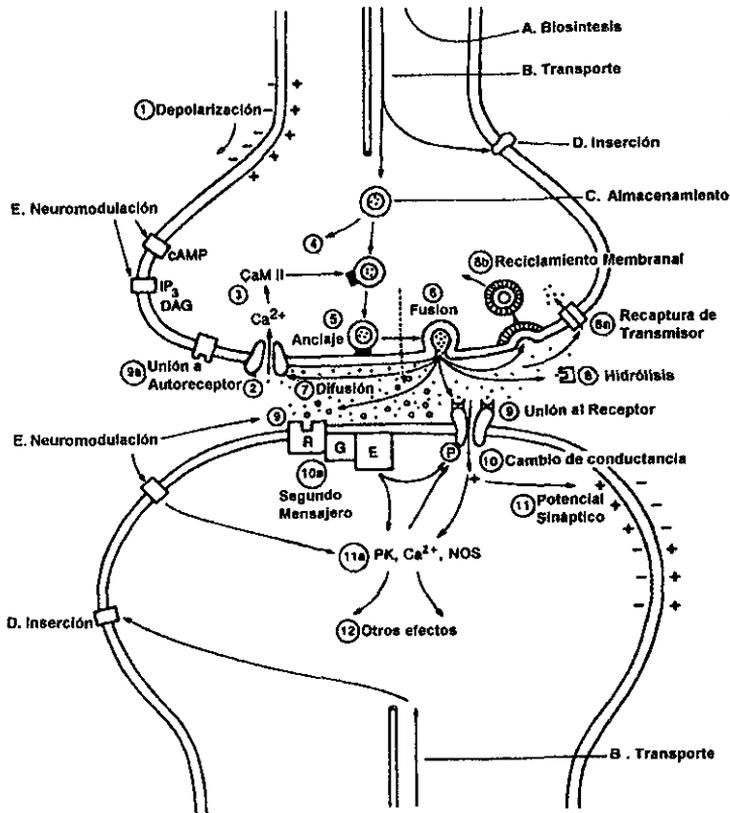


Figura 1.6: Esquema de una sinápsis química y algunos de los principales mecanismos involucrados en la transferencia de información de la presinápsis a la postsinápsis. (Shepherd 1998).

Las sinapsis químicas representan la gran mayoría de las sinapsis en el SNC y, de acuerdo a la parte del SNC que pertenezcan, pueden liberar una variada gama de neurotransmisores que permite una enorme riqueza de formas de comunicación entre las neuronas.

En el capítulo siguiente se verá que la membrana de las neuronas, y en general de las células, está normalmente polarizada manteniendo una diferencia de potencial entre el interior y el exterior celular. Si se toma el exterior de la neurona como referencia, entonces la diferencia de potencial transmembranal es de alrededor de -80 mV. dependiendo del tipo de neurona. Por lo tanto, se dice que el interior de la neurona está polarizado negativamente, y al potencial existente cuando la neurona no está activa, se le denomina potencial de reposo.

Cuando las sinapsis son activadas, pueden provocar dos tipos de respuesta en la membrana postsináptica:

- **EXCITATORIA:** Los neurotransmisores recibidos por la membrana postsináptica provocan que esta se despolarize (i.e. la diferencia de potencial entre el interior y el exterior pasa a valores menos negativos). Esto acerca el potencial de membrana al umbral de disparo del potencial de acción. Al potencial que se propaga por la membrana postsináptica despolarizándola se le denomina potencial postsináptico excitatorio EPSP (por sus siglas en inglés: 'Excitatory Post Synaptic Potential').
- **INHIBITORIA:** Los neurotransmisores recibidos por la membrana postsináptica provocan que esta se hiperpolarize (i.e. la diferencia de potencial entre el interior y el exterior pasa a valores más negativos) Esto aleja el potencial membrana del

umbral de disparo del potencial de acción. Al potencial que se propaga por la membrana postsináptica hiperpolarizándola se le denomina potencial postsináptico inhibitorio IPSP (por sus siglas en inglés: 'Inhibitory Post Synaptic Potential').

Los EPSP e IPSP en la neurona postsináptica se suman espacial y temporalmente. La suma puede llegar a un grado de despolarización de cierta parte de la membrana, que si se sobrepasa, genera una despolarización muy grande y muy rápida denominada potencial de acción (disparo). Normalmente este potencial de acción se propaga por el axón de la neurona. Al grado de despolarización necesario para generar un potencial de acción se le denomina umbral de disparo.

Anatomía funcional del Neocórtex.

La figura 1.7 muestra un corte sagital de cerebro en donde se muestra la localización anatómica de las diferentes partes del neocórtex. Este núcleo del cerebro pertenece a un conjunto denominado "ganglios basales". Este conjunto aparece mostrado en la figura 1.7. Los ganglios basales están altamente interconectados. Su tamaño y la similitud existente en una gama muy grande de especies de vertebrados, sugiere que contribuyen a una función esencial en la organización básica del cerebro. La visión de su función está basada en observaciones sobre enfermedades degenerativas que atacan a estas estructuras en los seres humanos. En todos los casos la enfermedad produce deficiencia en el movimiento muscular voluntario. Estas observaciones han llevado a pensar que los ganglios basales forman parte de un sistema distribuido de control y generación de movimiento muscular voluntario.

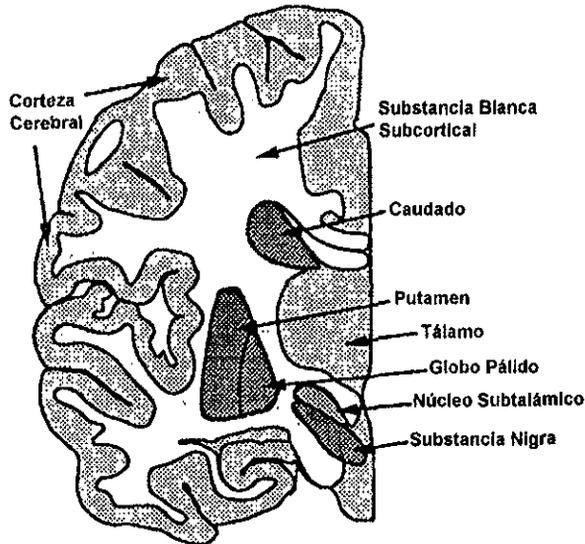


Figura 1.7: Representación esquemática de la sección transversal de un hemisferio de cerebro que muestra los elementos más importantes de los ganglios basales (Shepherd 1998).

Como se aprecia en la figura 1.7, las estructuras más grandes que componen a los ganglios basales son: caudado, putamen, globo pálido, sustancia nigra, y núcleo subtalámico. También se observan las dos fuentes de entrada de información a los ganglios basales: la corteza cerebral y el tálamo.

Para entender la complejidad de las interconexiones es importante distinguir entre las entradas y las salidas de información. Al caudado y al putamen convergen entradas provenientes de la corteza sensorio-motora, y asociativa; entradas de los núcleos talámicos intralaminares; entradas dopaminérgicas de la sustancia nigra; y entradas serotoninérgicas del núcleo rafé dorsal. Al acumbens convergen entradas de la corteza

límbica y del hipocampo. Estas tres partes de los ganglios basales, caudado, putamen, y acumbens, son similares en su estructura interna y se les denomina neostriado. Reciben la mayor parte de las fibras provenientes de otras partes del cerebro.

Las salidas del neostriado se proyectan exclusivamente a otras estructuras de los ganglios basales. Los principales blancos de los axones de salida son tres núcleos: la parte externa del globo pálido, la parte interna del globo pálido, y la pars reticulata de la sustancia nigra. La parte interna del globo pálido y la pars reticulata de la sustancia nigra proyectan sus axones de salida hacia fuera de los ganglios basales y proveen la mayor salida de los procesos neuronales realizados en estos núcleos. Sus blancos son básicamente el tálamo, la habénula lateral, y las capas profundas del colículo superior. El

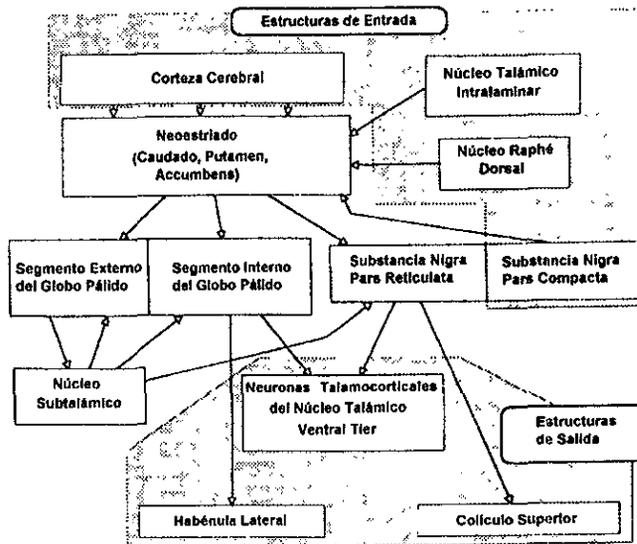


Figura 1.8: Diagrama que muestra las conexiones más importantes entre los diferentes núcleos de los ganglios basales. (Shepherd 1998).

segmento externo del globo pálido se proyecta principalmente al núcleo subtalámico. La figura 1.8 muestra las interconexiones entre los diferentes ganglios basales, así como sus entradas y salidas.

Dado que la mayor parte de la información de entrada a los ganglios basales es a través del neostriado, gran parte de los mecanismos de la organización y función de los

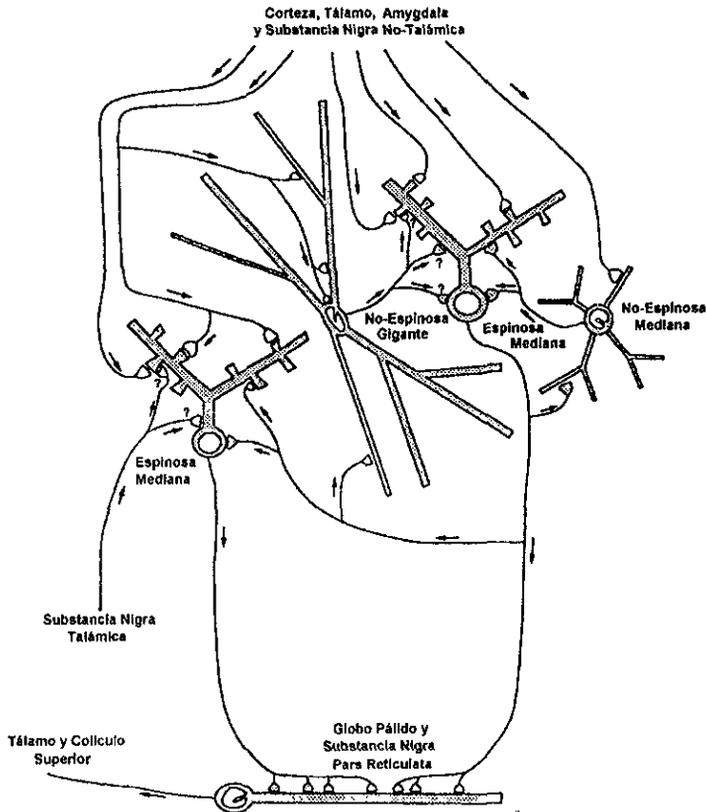


Figura 1.9: Circuito básico simplificado del neostriado con sus entradas y salidas. (Shepherd 1998).

ganglios basales está en este núcleo. La figura 1.9 muestra el circuito básico del neocóstriado hasta donde se conoce. Se muestran los otros tipos de neuronas del neocóstriado: las medianas y la gigante sin espinas. El diagrama muestra las conexiones de las espinosas medianas a las que se considera neuronas principales o de proyección (i.e. que llevan la salida) del neocóstriado. Se observan dos espinosas medianas con sus axones colaterales locales haciendo sinapsis inhibitorias entre ellas; dos interneuronas sin espinas, una mediana y una gigante, también haciendo sinapsis inhibitorias. La mayoría de las aferentes de entrada hace contactos sinápticos excitatorios con las espinosas medianas. La salida principal del neocóstriado es a las neuronas del globo pálido y la sustancia nigra pars reticulata. Es básicamente inhibitoria.

Para apreciar el funcionamiento de este circuito, básicamente inhibitorio, requerimos del conocimiento del patrón de disparo de las neuronas involucradas. Las espinosas medianas disparan muy raras veces y en episodios que duran de 0.1 a 3 segundos. La actividad inhibitoria entre las neuronas espinosas medianas y las interneuronas, es importante para regular los episodios de disparo provocados por la actividad excitatoria proveniente de las entradas. En contraposición, las neuronas del globo pálido y la sustancia nigra, disparan todo el tiempo (tónicamente) y con gran frecuencia provocando una constante inhibición en las neuronas del tálamo y el colículo superior. Entonces, el disparo fásico de las espinosas medianas puede provocar una pausa en el control inhibitorio que las neuronas del globo pálido y la sustancia nigra tienen sobre el tálamo y el colículo superior, permitiéndoles a las neuronas de estos últimos núcleos aumentar su excitabilidad y llegar al umbral de disparo, que de otra forma hubiera sido inhibido. Así, las espinosas medianas del neocóstriado desinhiben al tálamo y al colículo superior en

respuesta a la excitación en sus fibras aferentes. Las interneuronas ayudan a regular la fuerza, duración, y patrón espacial de la pausa en el control inhibitorio.

II. Las bases físicas de la excitación nerviosa.

Composición de la membrana plasmática y balance osmótico.

Se ha mencionado que entre el interior y el exterior de las células existe una diferencia de potencial eléctrico. Pero, ¿cómo es que se forma esta diferencia de potencial? Para responder a esto tenemos que entender la composición de la membrana celular y las fuerzas a las que está sometida.

La membrana externa de la célula, o membrana plasmática, está formada por una bicapa de fosfolípidos. Estos tienen la particularidad de ser hidrofílicos por un lado de la molécula e hidrofóbicos por el otro. Si se echan fosfolípidos en agua, estos se acomodan de tal forma que las partes hidrofóbicas quedan mirándose unas a otras y las hidrofílicas

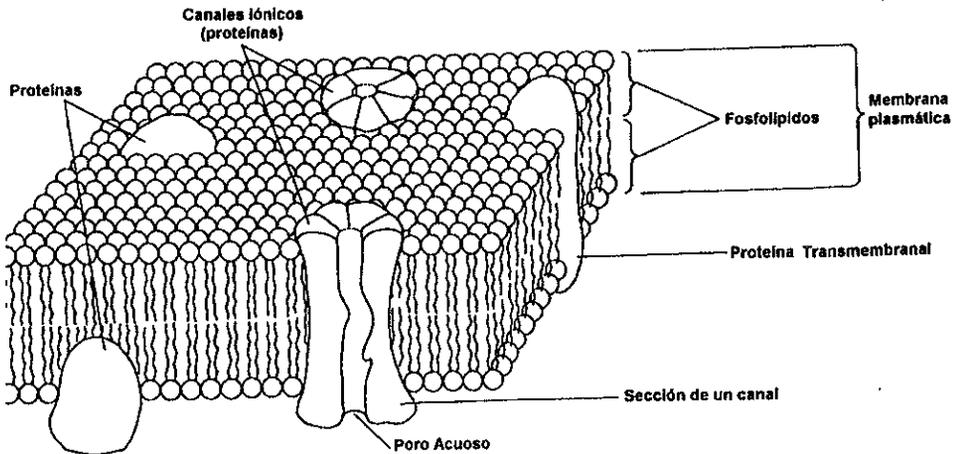


Figura 2.1: Diagrama esquemático de una sección de la membrana plasmática. Se observan varias proteínas insertadas, entre ellas, canales iónicos. (Matthews 1989).

miran al agua, formando naturalmente una bicapa. La figura 2.1 muestra un esquema de un trozo de membrana plasmática.

La membrana es selectiva a solutos extracelulares. El balance osmótico se obtiene igualando la concentración de moléculas no permeables en el interior de la célula con la concentración del soluto impermeable en el exterior. Como se ve en la tabla 2.1 en donde se muestran las concentraciones de iones más importantes en el interior y el exterior de una célula típica de mamífero, después de miles de años de selección natural, el Na^+ quedó como el ion casi impermeable en el exterior y lograr así el balance osmótico. Para ello, la evolución seleccionó un tipo muy importante de proteínas que se alojaron en la membrana plasmática formando poros que permiten el paso selectivo de iones a través de la membrana. A estos poros se les ha denominado canales iónicos.

Tabla 2.1 Concentración interna y externa de los principales iones en una célula de mamífero.

	Concentración interna (mM).	Concentración externa (mM).
K^+	125	5
Na^+	12	120
Cl^-	5	125
Aniones ⁻	108	0
H_2O	55,000	55,000

Como consecuencia de que la mayoría de los solutos poseen carga eléctrica, se crea una diferencia de potencial entre el interior y el exterior de la célula. Si se toma como referencia al exterior y se iguala a cero, entonces al potencial interior se le denomina

potencial de membrana, V_m , o potencial de reposo. Este potencial se debe a la distribución de los iones (distribución de carga) a ambos lados de la membrana y, por lo tanto, los cambios en el potencial transmembranal estarán dados por cambios en la distribución de los iones. De ahí que los canales iónicos jueguen un papel muy importante en la generación de potenciales eléctricos en las células.

Dado que la parte medular de esta tesis trata de la disipación de los cambios de potencial de membrana en función de la distancia, es necesario describir cómo es que la membrana puede generar y almacenar un potencial. Para ello es necesario hacer uso de la ecuación de Nernst-Planck.

La ecuación de Nernst-Planck.

Para calcular el potencial de membrana con base en las concentraciones de los diferentes solutos en ambos lados de la membrana, se desarrolló la teoría clásica del potencial de membrana. Las principales ideas se deben a Nernst y Planck.

$$\text{Sea} \quad \mathbf{J}(x, t) = \mathbf{J}_D(x, t) + \mathbf{J}_E(x, t) \quad (2.1)$$

el flujo total de iones a través de la membrana y en donde

$$\mathbf{J}_D(x, t) = -D \frac{\partial C(x, t)}{\partial x} \mathbf{i} \quad (2.2)$$

es el flujo debido a la difusión, mejor conocido como principio de Fick y en donde D es el coeficiente de difusión, $C(x, t)$ es la concentración de iones en función de la posición y el tiempo, e \mathbf{i} es el vector unitario en la dirección x (las negritas en las ecuaciones indican vectores).

Si se define la movilidad μ de un ion como la velocidad terminal del ion bajo la acción de un campo eléctrico unitario, entonces $v = \mu|E|$. La cantidad de iones con velocidad v que pasan por unidad de área y por unidad de tiempo es $vC(x, t)$. Si cada ion posee z

cargas elementales e (el signo de z es positivo para cationes y negativo para aniones) entonces el flujo debido al campo eléctrico es:

$$J_E(x, t) = \mu E(x, t) \frac{z}{|z|} C(x, t) i \quad (2.3)$$

El campo eléctrico no es más que el cambio en el potencial $E(x, t) = -\frac{\partial \Phi(x, t)}{\partial x}$.

Substituyendo en (2.3), y el resultado, junto con (2.2), en (2.1), se obtiene:

$$J(x, t) = -\left[D \frac{\partial C}{\partial x} + \mu \frac{\partial \Phi}{\partial x} \frac{z}{|z|} C \right] i \quad (2.4)$$

Einstein demostró en 1905 que el coeficiente de difusión, para esferas moleculares en un medio viscoso bajo la influencia de un campo de fuerza, estaba relacionado con la velocidad por unidad de fuerza u , como: $D = \frac{RTu}{N}$ donde R es la constante general de los gases, T la temperatura del sistema, y N el número de Avogadro. Si el campo es eléctrico, entonces una carga q sufre una fuerza qE . Por lo tanto la velocidad terminal con fuerza qE es $v = |qE|u$. Para moléculas con carga $q = ze$ cada una, aprovechando la definición de movilidad, $D = \frac{RT\mu}{|z|Ne}$ y como $Ne = F$, la constante de Faraday, entonces $D = \frac{RT\mu}{|z|F}$. Substituyendo en (2.4):

$$J(x, t) = -\frac{\mu}{|z|} \left[\frac{RT}{F} \frac{\partial C}{\partial x} + zC \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right] i \quad (2.5)$$

Pero más que el flujo de corriente, lo interesante es la densidad de corriente eléctrica, definida como la cantidad de carga positiva que cruza por unidad de área y por unidad de tiempo. Así, cada mol de iones de una especie con carga ze tiene una carga total zF . Entonces la densidad de corriente, conviniendo que la corriente es positiva en la dirección en que se incrementa x , se relaciona con el flujo como $j(x, t) = zFJ(x, t)$. Análogamente, la densidad de carga está dada por $\rho(x, t) = zFC(x, t)$. Por conservación de carga, suponiendo que los cambios sólo son en la dirección x , el cambio en la carga entre t , y, $t + \delta t$ será $\delta Q = [\rho(x, t + \delta t) - \rho(x, t)] \delta x$. Por otro lado el cambio entre $t + \delta t$ es la cantidad de carga que entra en x y sale en $x + \delta x$ por lo que $\delta Q = [j(x, t) - j(x + \delta x, t)] \delta t$. Igualando,

rearrreglando y tomando el límite cuando δx y δt tienden a cero, se obtiene que $\frac{\partial p}{\partial t} = -\frac{\partial j}{\partial x}$. Utilizando la relación entre la densidad de corriente y el flujo total, así como la relación entre densidad de carga y concentración, queda:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} = -\frac{\mu}{|z|} \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{RT}{F} \frac{\partial C}{\partial x} + zC \frac{\partial \Phi}{\partial x} \right] \quad (2.6)$$

La ecuación (2.6) es la ecuación de Nernst-Planck dependiente del tiempo. Es bastante difícil de resolver. Sin embargo, se puede resolver para el estado estacionario en donde $\frac{\partial C}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x} = 0$ lo que implica que $J(x)=J$, J constante y por lo tanto $j=zFJ$ también constante. Entonces la ecuación (2.6) se convierte en:

$$j = -\frac{\mu z F}{|z|} \left[\frac{RT}{F} \frac{dC}{dx} + zC \frac{d\Phi}{dx} \right] \quad (2.7)$$

Como el $\nabla \cdot E = \frac{\rho}{\epsilon \epsilon_0}$ si se toman cambios en una sola dimensión, entonces $E = -\nabla \Phi$, por lo tanto se deduce que $\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} = -\frac{\rho}{\epsilon \epsilon_0}$ donde ϵ_0 es la permitividad del vacío y ϵ es la permitividad del medio. A la ecuación anterior se le conoce como la ecuación de Poisson. Para el caso estacionario $\rho(x,t)=\rho(x)$ por lo que las diferenciales parciales se vuelven totales.

Tomando a $\gamma = \frac{F}{RT}$ y rearrreglando, (2.7) se convierte en:

$$\frac{dC}{dx} + \gamma z \frac{d\Phi}{dx} C = -\frac{zj}{|z|RT} \quad (2.8)$$

Si $\alpha(x) = \gamma z \frac{d\Phi}{dx}$ y $\beta = \frac{zj}{|z|RT\mu}$ entonces (2.8) adquiere la forma:

$$\frac{dC}{dx} + \alpha(x)C = \beta \quad (2.9)$$

La ecuación diferencial (2.9) puede ser resuelta utilizando la fórmula

$$C(x) = \frac{1}{\zeta(x)} \left[C(x_0)\zeta(x_0) + \beta \int_{x_0}^x \zeta(y) dy \right] \text{ en donde } C(x_0) \text{ y } \Phi(x_0) \text{ son las condiciones iniciales y}$$

$$\zeta(x) = \exp \left\{ \int_{x_0}^x \alpha(y) dy \right\} = \exp \left\{ \gamma z \int_{x_0}^x \frac{d\Phi}{dy} dy \right\} = \exp \{ \gamma z \Phi(x) \}. \text{ Despejando } j \text{ de la solución :}$$

$$j = \frac{zRT\mu}{|z|} \frac{C(x_0)\zeta(x_0) - C(x)\zeta(x)}{\int_{x_0}^x \zeta(y) dy} \quad (2.10)$$

Como $\zeta(x)$ depende de $\phi(x)$ y esta a su vez de $\rho(x)$, es necesario conocer esta última para obtener una solución particular. Posteriormente se hará una suposición sobre $\rho(x)$ que dará una solución particular muy útil. Por el momento se verá que es lo que se puede extraer de la ecuación (2.10) sin conocer $\rho(x)$.

Supóngase que se tiene una membrana de ancho $a > 0$, en donde tomando como positivas a las corrientes entrantes, $x=0$ será la frontera externa y $x=a$ será la frontera interna de la membrana. Si tenemos n tipos de especies iónicas con valencia z , entonces la densidad de corriente de la k ésima especie, $k=1,2,3,\dots,n$, estará dada por:

$$j_k = \frac{|z|RT\mu_k [C_k(x_0)\zeta(x_0) - C_k(x)\zeta(x)]}{z \int_0^a \zeta(y)dy} \quad (2.11)$$

En $x=0$, $\phi(0)=0$, y en $x=a$, $\phi(a)=V_m$, por lo que $\zeta(0)=1$ y $\zeta(a)=\exp\{\gamma z V_m\}$. Entonces (2.11) es:

$$j_k = \frac{|z|RT\mu_k [C_k(0) - C_k(a)e^{\gamma z V_m}]}{z \int_0^a \zeta(y)dy} \quad (2.12)$$

Ahora considérese que las concentraciones externa, C_k^o , e interna, C_k^i , son constantes y que solo existen cambios en la interfase con la membrana, entonces el cambio en concentración de la especie k en la interfase está dado por el coeficiente de partición p_k en donde $C_k(0) = p_k C_k^o$ y $C_k(a) = p_k C_k^i$ con $0 \leq p_k \leq 1$.

A la facilidad que tiene un ion para atravesar la membrana se le conoce como el coeficiente de permeabilidad P_k . Este se define como la magnitud absoluta de flujo cuando hay una diferencia unitaria de concentración entre el interior y el exterior, y la concentración es una función lineal de la distancia a lo ancho de la membrana. Con estas suposiciones y la definición del coeficiente de partición:

$$P_k = \left| \frac{dC_k}{dx} \right| D_k = \frac{p_k}{a} D_k = \frac{RT\mu_k p_k}{Fa |z_k|} \quad (2.13)$$

Usando (2.13) y la definición del coeficiente de partición en (2.12) se obtiene:

$$j_k = zaFP_k \frac{C_k^o - C_k^i(a)e^{yzV_m}}{\int_0^1 \zeta(y) dy} \quad (2.14)$$

Cuando la diferencia de potencial es estable a través de la membrana la densidad de corriente neta a través de ella es cero, por lo que se requiere que la sumatoria sobre k del numerador en (2.14) sea cero. En el numerador, z,a,F, son constantes diferentes de cero por lo que el requisito para que (2.14) sea cero es que:

$$\sum_k P_k [C_k^o - C_k^i e^{yzV_m}] = 0 \quad (2.15)$$

Despejando V_m de (2.15) y utilizando la definición que se había hecho de γ :

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \left[\frac{\sum_k P_k C_k^o}{\sum_k P_k C_k^i} \right] \quad (2.16)$$

que en el caso de tener solo una especie iónica (k=1):

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \left[\frac{C^o}{C^i} \right] \quad (2.17)$$

A la ecuación (2.17) se le conoce como ecuación de Nernst para una especie iónica.

Cuando la densidad de corriente de cationes es igual a la de aniones, $j^+ = j^- = 0$ se dice que existe equilibrio de Gibbs-Donnan. En estas condiciones, suponiendo una sola especie de cationes y una de aniones, entonces:

$$V_m = V^+ = \frac{RT}{zF} \ln \left[\frac{C^{o+}}{C^{i+}} \right] = V^- = \frac{RT}{zF} \ln \left[\frac{C^{o-}}{C^{i-}} \right] \Rightarrow \left[\frac{C^{o+}}{C^{i+}} \right]^{\frac{1}{z^+}} = \left[\frac{C^{o-}}{C^{i-}} \right]^{\frac{1}{z^-}} \quad (2.18)$$

en donde si $z=1$ entonces $C^{i+}C^{i-} = C^{o+}C^{o-}$.

Un caso particular de la ecuación de Nernst-Planck es cuando una estructura porosa de ancho a separa dos soluciones que contienen una sal cuyo catión y anión, ambos, pueden permear a través de esta estructura. Entonces la electroneutralidad se mantiene cuando $C^+(x) = C^-(x) = C(x)$ para toda x. Si las movilidades del catión y del anión son μ^+ y μ^- respectivamente, entonces de la ecuación de Nernst se obtiene:

$$\frac{RT}{F} [\mu^+ - \mu^-] \frac{dC}{dx} + [\mu^+ + \mu^-] \frac{d\Phi}{dx} C = 0 \quad (2.19)$$

La ecuación (2.19) con $\phi(0)=0$ y $\phi(a)=V_m$ se resuelve análogamente a la ecuación (2.9) y su solución es:

$$V_m = \frac{RT}{F} \left(\frac{\mu^+ - \mu^-}{\mu^+ + \mu^-} \right) \ln \left[\frac{C^o}{C^i} \right] \quad (2.20)$$

La ecuación (2.20) se reduce a la del potencial de Nernst si μ^+ o μ^- son cero y al potencial V_m dado por (2.20) se le conoce como potencial de difusión. Este potencial es de vital importancia en el registro electrofisiológico pues en la interfase entre el líquido interior en el electrodo y la solución intracelular se crea un potencial de unión entre las superficies de ambos líquidos que requiere ser compensado para medir el verdadero potencial interior de la célula.

La ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz.

Cuando la densidad de corriente neta a través de la membrana es diferente de cero es difícil obtener una expresión para V_m a menos que se haga alguna suposición sobre $\rho(x)$. La suposición más fácil es que $\rho(x)=0$ en la región de interés. Si esto sucede la segunda derivada del potencial es cero e integrando directamente se obtiene que la primera derivada, que es igual a $-E$, es una constante. Integrando nuevamente se obtiene que el potencial está dado por $\phi(x)=mx+k$. Utilizando las condiciones a la frontera $\phi(0)=0$ y $\phi(a)=V_m$ se obtiene:

$$\Phi(x) = \frac{V_m}{a} x \quad (2.21)$$

Utilizando (2.21) podemos resolver la integral en (2.14) entonces esta se convierte en:

$$j_k = \gamma V_m z_k^2 \alpha F P_k \frac{[C_k^o - C_k^i(a) e^{\gamma z V_m}]}{e^{\gamma z V_m} - 1} \quad (2.22)$$

En estado estacionario la densidad de corriente neta es igual a cero y, si $|z_k|=1$, despejando V_m , de (2.22), esta se transforma en:

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \left[\frac{\sum_+ P_k C_k^o + \sum_- P_k C_k^i}{\sum_+ P_k C_k^i + \sum_- P_k C_k^o} \right] \quad (2.23)$$

La ecuación (2.23) es la fórmula de Goldman-Hodgkin-Katz y se utiliza para calcular potenciales de membrana, conocidas las concentraciones externa e interna, y la permeabilidades de las diferentes especies iónicas.

Curvas I-V.

Una forma de medir el comportamiento global de los canales en una célula consiste en dar escalones de corriente de diferentes intensidades y registrar la respuesta del potencial de membrana a cada escalón. Se puede entonces hacer una gráfica del potencial registrado versus la corriente inyectada. La curva generada en esta gráfica se le conoce como curva I-V y da el comportamiento global de la membrana a diferentes valores de potencial. En general, la respuesta del potencial no es constante. La curva I-V puede ser hecha para diferentes momentos durante el curso temporal del cambio de potencial. Normalmente se realiza usando el estado estacionario.

Se podría hacer lo mismo si en lugar de fijar la corriente se fija el voltaje. Se usan escalones de voltaje fijos, y se registra el curso temporal de la corriente. Las curvas obtenidas son V-I en analogía a las anteriores. Usando cualquiera de los dos tipos de curvas, o ambas, se puede obtener la cinética temporal del conjunto de canales. La ventaja de usar fijación de voltaje es que la capacitancia de la membrana se elimina como variable y se queda solamente la corriente resistiva.

Propiedades pasivas de la membrana.

La bicapa de fosfolípidos aislantes funciona como un capacitor. Los canales en su conjunto, que dejan pasar iones, son una resistencia o conductancia del paso de la corriente. Entonces la membrana de la neurona podría ser representada por un circuito RC conectado a una fuente de voltaje DC. Esta última está dada por la diferencia de potencial entre el exterior y el interior, definida para cada ion en particular por la ecuación de Nernst, y para el conjunto de los iones por la ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz.

Si se conecta un electrodo al interior de la neurona y otro al exterior, entonces es posible medir la diferencia de potencial entre ambos lados. Si, adicionalmente, a través del electrodo conectado al interior se inyecta un pulso fijo de corriente DC, entonces se puede medir el curso temporal $V(t)$ en respuesta al pulso $I(t)$. A esta técnica se le denomina fijación de corriente, o registro de voltaje transmembranal.

La figura 2.2 muestra un esquema del circuito RC que representa a la membrana de la neurona, en donde: r_m es la resistencia de la membrana dada por los canales, c_m es la capacitancia de la membrana dada por los lípidos, i_r es la corriente a través de la resistencia, i_c es la corriente necesaria para cargar el capacitor, $i(t)$ es la corriente total

inyectada, y V_m es el potencial de la neurona en reposo y representa la fuerza electromotriz (FEM).

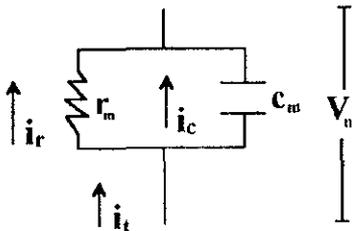


Figura 2.2: Representación de un circuito RC simple.

La ecuación que describe este circuito es: $i(t) = i_R + i_C = \frac{V(t)}{r_m} + C_m \frac{dV(t)}{dt}$ la cual podemos escribir como:

$$\frac{dV(t)}{dt} + \frac{1}{r_m C_m} V(t) - \frac{i(t)}{C_m} = 0 \quad (2.24)$$

cuya solución, usando la fórmula $V(t) = \frac{1}{\zeta(t)} \left[V(0)\zeta(0) - \frac{1}{C_m} \int_0^t i(y)\zeta(y) dy \right]$ en donde $V(0) = V_m$ y

$\zeta(t) = \exp \int \frac{1}{r_m C_m} dy$, es:

$$V(t) = \left[\exp\left(-\frac{t}{r_m C_m}\right) \int_0^t \frac{i(y)}{C_m} \exp\left(\frac{y}{r_m C_m}\right) dy \right] + C \quad (2.25)$$

Si $i(t) = \begin{cases} 0 & t < 0 \\ I_0 & t > 0 \end{cases}$ entonces 2.25 se convierte en:

$$V(t) = I_0 r_m \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_m}\right) \right) + V_m \quad (2.26)$$

en donde $\tau_m = r_m C_m$ se define como la constante de tiempo del circuito y, por lo tanto, $V(t)$ se incrementará o decaerá, según el signo de I_0 . Cuando $t = \tau_m$, $V(t) = 0.63 I_0 R_m$ del potencial inicial de membrana V_m . La figura 2.3 muestra la respuesta $V(t)$ para cuando I_0 hiperpolariza o despolariza la membrana.

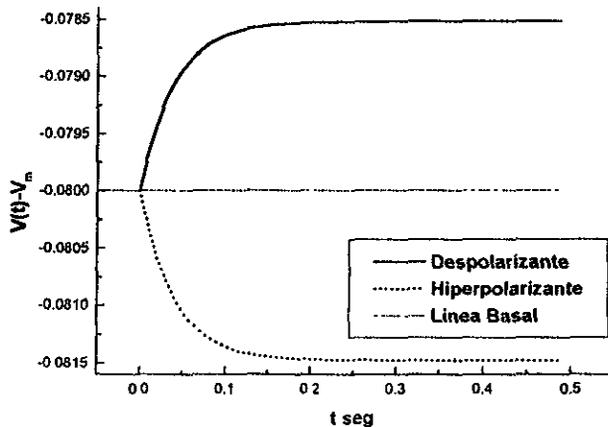


Figura 2.3: Respuesta $V(t)$ para un pulso despolarizante y uno hiperpolarizante.

Si el pulso de corriente no provoca que $V(t)$ sea mayor que el umbral de disparo, especialmente si el pulso es de baja intensidad o muy corto, entonces se pueden medir las propiedades eléctricas de la neurona en reposo, o pasivas.

Usando la técnica de fijación de corriente se observa que células esféricas sin ramificaciones se comportan como un circuito RC simple. Es decir, la célula deja pasar corriente por toda la membrana simultáneamente, por lo que el potencial es el mismo en todas partes para un tiempo dado y la cinética $V(t)$ es de primer orden. A las células que siguen este comportamiento se les denomina "isopotenciales". Para una neurona isopotencial, las propiedades pasivas son τ_m y R_N , la constante de tiempo y la resistencia de entrada de la neurona. Pero las neuronas con dendritas y axón no son isopotenciales pues la carga eléctrica tiene que distribuirse por las ramificaciones y V_m variará espacialmente.

Excitabilidad.

Se puede entonces hablar de corrientes iónicas a través de los canales de la membrana y se entiende que se formen pulsos de carga y corriente capaces de propagarse por la membrana dentro de la célula. Sin embargo, si la mayoría de las células poseen canales en su membrana ¿Cómo es que unas son excitables y otras no?

Para explicar esto se tiene que hablar de tipos de canales, de su cinética temporal, y de su distribución en la membrana. Además, se tendría a pensar que los canales en el estado de reposo no tienen ninguna actividad. La realidad es que aún en el estado de reposo hay interacción con el medio y hay una variedad de corrientes iónicas, cuya suma neta es cero pero que están activas para mantener el estado de reposo.

Se han encontrado muchos canales con diferentes funciones. Por ejemplo, existen canales de sodio muy rápidos que contribuyen a la fase de despolarización del potencial de acción y canales de potasio que contribuyen a la fase de repolarización del mismo. Los canales no sólo se distinguen por el ion específico que conducen, sino también por su cinética y su sensibilidad al potencial de membrana y a los diversos neurotransmisores o sustancias químicas.

Si se bloquean canales con bloqueadores selectivos, entonces se pueden hacer curvas I-V para subgrupos de canales o incluso para un sólo tipo de canal. De esta manera se obtiene la dependencia al voltaje de canales específicos, lo que permite delucidar la contribución de estos al efecto global.

Conforme se fueron descubriendo las conductancias iónicas se clasificaron en dos grandes tipos: las que son sensibles al potencial de membrana y las sensibles a neurotransmisores. Sin embargo, se ha visto que ambos tipos se entrecruzan pues hay muchos canales sensibles a voltaje que son modulados por neurotransmisores y viceversa.

La mayoría de las conductancias sensibles a voltaje se activan por despolarización. La velocidad con la que se activan y el umbral en el que son activadas son características propias de cada canal. La mayoría de las corrientes activadas por voltaje no se mantienen activadas por todo el tiempo que dure el cambio en el potencial de membrana. Así, además del proceso de activación, existe un proceso de inactivación mediante el cual deja de haber corriente a través del canal. Esto no necesariamente implica que el canal quede listo para ser activado nuevamente, sino que el canal deja de pasar corriente. Se necesita de otro proceso de remoción de la inactivación para dejar preparado al canal para que

pueda ser activado nuevamente. Como todos estos procesos son dependientes del tiempo y del potencial de membrana, entonces, una correcta distribución de los canales sobre la superficie de la célula, permitirá que un cambio en el potencial de membrana se propague. La capacidad de generar potenciales que se propagan define si las células son excitables o no. Por ejemplo, las neuronas usan esta capacidad de propagar potenciales para transmitir información. Las células de los músculos la usan para abrir temporalmente canales de Ca^{++} necesarios para la contracción muscular.

De lo anterior, la excitabilidad de una célula depende del tipo y distribución de canales que posee su membrana, y de la cinética de las corrientes generadas por cada uno de ellos y en conjunto.

III. Teoría lineal de cable.

Con la técnica de fijación de corriente se observa que el desplazamiento de V , $V(t)$, obtenido experimentalmente de neuronas con dendritas no puede ser ajustado con una sola función exponencial. Entonces, el modelo del circuito RC simple no es suficiente para modelar a las neuronas cerebrales. El modelo RC simple sólo es válido para neuronas isopotenciales, es decir, para aquellas en donde toda la membrana se carga simultáneamente.

En las neuronas con dendritas la membrana no se carga simultáneamente sino que la carga tiene que viajar un cierto tiempo a zonas lejanas de las dendritas y el axón, y luego ahí cargar la membrana de esas zonas. Además, la resistencia o la capacitancia podrían no ser homogéneas en toda la membrana.

Que la capacitancia no sea homogénea es difícil. La composición de los fosfolípidos parece ser muy similar en todas las membranas. Incluso se han hecho mediciones de la capacitancia membranal específica en trozos de membrana de diversas células y se ha encontrado que esta oscila entre $0.75\text{-}1.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Por lo anterior se piensa que la capacitancia es, en promedio, homogénea.

La resistencia de membrana parece no ser homogénea. Diferentes conductancias iónicas parecen encontrarse distribuidas de manera diferente en soma y dendritas.

Cuando la carga eléctrica viaja por las dendritas, parte de la corriente se fuga por la membrana y otra parte viaja por el interior de las mismas, asemejando cables. A la teoría que describe este fenómeno se le conoce como la "teoría de cable" y se utiliza con ciertas

suposiciones para determinar las propiedades pasivas de neuronas con dendritas y axones.

Como parte de la corriente se fuga mientras viaja, hay disipación de corriente y voltaje. Conocer, con la mayor exactitud posible, la disipación de la corriente y/o el voltaje en el árbol dendrítico es de vital importancia para entender la señalización sináptica, pues si existe gran disipación, puede querer decir que las sinapsis más lejanas son menos significativas que las sinapsis más cercanas.

Suposiciones y derivación de la ecuación de cable.

Los axones y las dendritas son tubos finos de membrana idealizados como cilindros donde el largo es mucho mayor que el diámetro. Como el centro axoplasmático interno y el fluido externo son ambas soluciones conductoras iónicas, se ha usado el modelo de conductor central donde el concepto relevante es que la resistencia al paso de la corriente es mucho mayor a través de la membrana que separa las soluciones conductoras que a lo largo de la solución interna o de la externa. Este hecho físico da como resultado el que la corriente fluya una distancia considerable antes que una fracción significativa de la misma se fugue a través de la membrana.

Supongase un conductor central cilíndrico muy largo y homogéneo de tal forma que la resistencia de la membrana, la capacitancia de la misma, la resistencia interna axoplasmática y la FEM entre el interior y el exterior, sean constantes a lo largo de todo el conductor. La figura 3.1 muestra el circuito con el que se modela este conductor central. Aquí, r_m (Ω cm) es el inverso de la conductancia de membrana en una unidad de longitud, r_i (Ω /cm) es la resistencia del conductor por unidad de longitud, c_m (F/cm) es la

capacitancia de la membrana por unidad de longitud, i_m (Amp/cm) es la corriente por unidad de longitud a través de la membrana (positiva de adentro hacia afuera), i_i (Amp) es la corriente a lo largo del eje (positiva en la dirección que se incrementa x), V_i (Volt) es el potencial eléctrico en el interior, V_e (Volt) es el potencial eléctrico en el exterior, V_m (Volt) es el potencial de membrana ($V_e - V_i$), y E_r (Volt) es la FEM cuando la neurona está en el potencial de reposo. Adicionalmente se supone que V_i es sólo función del tiempo y de la distancia a lo largo del eje del cilindro. De lo anterior se obtiene que $\frac{\partial V_i}{\partial x} = -i_i r_i$ (ley de Ohm). Si se diferencia esta ecuación con respecto de x , se obtiene el cambio de la corriente a lo largo del cilindro que no es más que la corriente que se fuga (leyes de Kirchoff). Así:

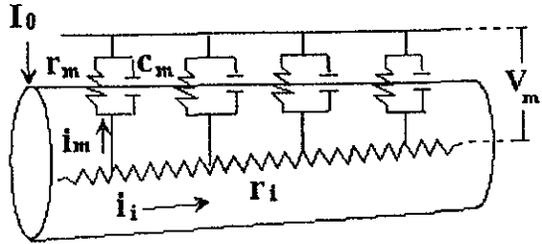


Figura 3.1: Representación eléctrica de un cable cilíndrico

Como el líquido externo es mucho mayor en volumen que el líquido interno, cualquier flujo a través de la membrana hacia o desde el líquido externo prácticamente no variará su potencial V_e , por lo que se le supone isopotencial, constante, y para simplificar, igual a cero. Además, como E_r es constante, el potencial $V = V_i - V_e - E_r$ al ser diferenciado resulta que $\frac{\partial V}{\partial x} = \frac{\partial V_i}{\partial x}$. Substituyendo en (3.1) y multiplicando ambos lados de la ecuación por r_m se obtiene:

$$\frac{\partial^2 V_i}{\partial x^2} = -r_i \frac{\partial i_i}{\partial x} = -r_i i_m \tag{3.1}$$

Como el líquido externo es mucho mayor en volumen que el líquido interno, cualquier flujo a través de la membrana hacia o desde el líquido externo prácticamente no variará su potencial V_e , por lo que se le supone isopotencial, constante, y para simplificar, igual a cero. Además, como E_r es constante, el potencial $V = V_i - V_e - E_r$ al ser diferenciado resulta que $\frac{\partial V}{\partial x} = \frac{\partial V_i}{\partial x}$. Substituyendo en (3.1) y multiplicando ambos lados de la ecuación por r_m se obtiene:

$$\frac{r_m}{r_i} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = i_m r_m \tag{3.2}$$

Ahora bien, como la membrana es homogénea, puede utilizarse el modelo del circuito RC para la corriente que se fuga por unidad de longitud. i_m será la corriente capacitiva más la corriente resistiva. Multiplicando ambos lados de la ecuación por r_m se obtiene:

$$\tau_m \frac{\partial V}{\partial t} + V = i_m r_m \quad (3.3)$$

donde $\tau_m = r_m c_m$. Igualando (3.2) con (3.3), definiendo $\lambda^2 = \frac{r_m}{f_i}$, y reorganizando se obtiene la ecuación de cable:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - \tau_m \frac{\partial V}{\partial t} - V = 0 \quad (3.4)$$

Como es más fácil resolver ecuaciones diferenciales adimensionales, se definen las variables adimensionales $X=x/\lambda$ y $T=t/\tau_m$ por lo que la ecuación (3.4) se convierte en:

$$\frac{\partial^2 V}{\partial X^2} - \frac{\partial V}{\partial T} - V = 0 \quad (3.5)$$

en donde τ_m es la constante de tiempo y λ es la constante de espacio. Siempre es más fácil resolver ecuaciones diferenciales de una sola variable así que se pueden buscar las soluciones en un momento del tiempo en que la disipación de corriente no dependa de este, comúnmente llamado estado estacionario, y solo se observe el cambio en el espacio.

Soluciones en el estado estacionario.

En el caso estacionario V solo es función de X y por lo tanto (3.5) se convierte en:

$\frac{d^2 V}{dX^2} - V = 0$ cuya solución general es

$$V(X) = A_1 e^X + A_2 e^{-X} \quad (3.6)$$

o utilizando las definiciones de \sinh y \cosh puede expresarse como:

$$V(X) = B_1 \cosh X + B_2 \sinh X \quad (3.7)$$

$$\text{o} \quad V(X) = C_1 \cosh(L - X) + C_2 \sinh(L - X) \quad (3.8)$$

donde los coeficientes están relacionados por:

$$2A_1 = B_1 + B_2 = (C_1 - C_2)e^{-L} \quad (3.9a)$$

$$2A_2 = B_1 - B_2 = (C_1 + C_2)e^L \quad (3.9b)$$

y en donde $L=l/\lambda$ es la longitud electrotónica y l es la longitud física del cable. Las diferentes condiciones a la frontera determinan la solución particular. En particular buscaremos soluciones diferentes de la trivial (i.e. $V_0=0$) pero donde hay una fuente de corriente que es infinita en la vecindad pero la corriente se disipa conforme X aumenta. En particular se verá, cable seminfinito, cable infinito, cable con fijación de voltaje en dos puntos, y cable finito.

Cable semi-infinito.

Condiciones a la frontera:

1) Conforme $X \rightarrow \infty$, V no puede ser una función acotada pues no hay fuente infinita y no puede ser monótonamente creciente pues al fugarse la corriente a través de las paredes del cable lo que se espera es una disipación del potencial y por lo tanto V tiende a estar acotado. Esto obliga a que $A_1=0$.

2) En $X=0$, el cable está sellado y para que haya flujo de corriente se requiere de un potencial inicial de tal forma que $V=V_0$. Por lo tanto $A_2=V_0$.

Substituyendo las condiciones en la frontera en la solución general se obtiene :

$$V(x) = V_0 \exp(-X) = V_0 \exp\left(-\frac{x}{\lambda}\right) \quad (3.10)$$

en donde λ se denomina constante de espacio y define la distancia en la cual la resistencia del conductor central, $r_l \lambda$, es igual a la resistencia a través de la membrana en esa misma distancia, r_m/λ , es decir, es la distancia que la corriente puede recorrer en el cilindro antes de ser disipada a través de la membrana.

Conductancia de entrada:

La corriente inyectada capaz de mantener el estado estacionario, I_0 , está dada por la ley de Ohm:

$$I_0 = \frac{1}{r_i \lambda} \left[-\frac{dV}{dX} \right]_{X=0} \quad (3.11)$$

Diferenciando (3.10), substituyendo en (3.11) y reorganizando se obtiene:

$$G_\infty = \frac{1}{R_\infty} = \frac{1}{r_i \lambda} = \frac{I_0}{V_0} \quad (3.12)$$

en donde R_∞ es la resistencia a la corriente que mantiene a $V(X)$ en el estado estacionario y G_∞ es la conductancia que mantiene el mismo estado estacionario.

Cable infinito.

Condiciones a la frontera en ausencia de inyección de corriente:

En este caso V debe permanecer acotada cuando $X \rightarrow \pm\infty$. Esto implica que tanto A_1 como A_2 deben ser cero y, por lo tanto, $V=0$ y la membrana es pasiva para toda X .

Condiciones a la frontera con inyección de corriente:

Si se inyecta corriente en cualquier punto, el cual se puede tomar como el origen, entonces aparecen dos regiones semi-infinitas, cuya solución necesita de dos condiciones a la frontera para cada región, haciendo así un total de cuatro condiciones.

1) Para $X \geq 0$ X está acotado conforme $X \rightarrow \infty$ tiende a infinito.

2) Para $X \geq 0$, $V=V_0$ cuando $X=0$, por continuidad y como se definió el origen.

Por lo tanto, para $X \geq 0$ la solución está dada por (3.10).

1) Para $X \leq 0$ X está acotado conforme $X \rightarrow -\infty$ tiende a infinito.

2) Para $X \leq 0$, $V=V_0$ cuando $X=0$ por continuidad y como se definió el origen

Para $X \leq 0$ $A_2=0$ para acotar cuando $X \rightarrow -\infty$ y $A_1=V_0$ para que $V(X)=V_0$ cuando $X=0$ y por lo tanto la solución es:

$$V(X) = V_0 \exp(X/\lambda) = V_0 \exp\left(\frac{X}{\lambda}\right) \quad X \leq 0 \quad (3.13)$$

Conductancia de entrada:

La corriente inyectada en $X=0$ salta de $+V_0/\lambda$ a $-V_0/\lambda$ debido a la discontinuidad de $\frac{dV}{dX}$ en ese punto. La simetría nos indica que la mitad de la corriente debe ir a cada uno de los lados. Por lo tanto, si I_0 es la corriente inyectada en el caso semi-infinito, se requerirá $2I_0$ para alcanzar el mismo potencial en el caso infinito y $R_{\pm\infty} = 1/2R_\infty$ y $G_{\pm\infty} = 2G_\infty$.

Fijación de voltaje.

Podemos fijar el voltaje en algún punto, en dos, o en todos los puntos del cable. Cuando se logra que el voltaje esté fijo en todas las partes entre dos puntos predeterminados del cable se dice que tenemos "fijación espacial de voltaje". Nos permite mantener fijo el voltaje en una región del cable mientras medimos el cambio en la corriente de esa región.

Condiciones a la frontera fijando el voltaje en dos puntos de un cable semi-infinito.

En caso que fijemos el voltaje en sólo dos puntos del cable semi-infinito, entonces tendremos tres regiones separadas por los puntos que fijan el voltaje.

Región I:

1) Para $0 \leq X \leq X_1$, $V=V_0$ en $X=0$, y por lo tanto $\frac{dV}{dX}_{X=0} = 0$. Utilizando la solución general en la forma de la ecuación (3.7), la condición en $X=0$ obliga a que $B_2=0$

2) Para $0 \leq X \leq X_1$, en $X=X_1$, por definición, el potencial se fija a un cierto valor y $V=V_1$. Entonces la condición en $X=X_1$ conlleva a que $B_1 = \frac{V_1}{\cosh X_1}$.

Combinando las dos condiciones a la frontera la solución es.

$$V(X) = V_1 \frac{\cosh X}{\cosh X_1} \quad 0 \leq X \leq X_1 \quad (3.14)$$

Región II:

1) Para $X_1 \leq X \leq X_2$, en $X=X_1$, por definición, el potencial se fija a un cierto valor y $V=V_1$

2) Para $X_1 \leq X \leq X_2$, en $X=X_2$, por definición, el potencial se fija a un cierto valor y $V=V_2$

Al sustituir estos valores en (3.7) se obtienen dos ecuaciones con dos incógnitas, B_1 y B_2 , que al resolverlas dan los valores para B_1 y B_2 . Sustituyendo nuevamente estos valores en (3.7) se obtiene la solución:

$$V(X) = \frac{V_1 \sinh(X_2 - X) + V_2 \sinh(X - X_1)}{\sinh(X_2 - X_1)} \quad X_1 \leq X \leq X_2 \quad (3.15).$$

Región III:

La tercera región no es más que un cable semi-infinito cuya solución es :

$$V(X) = V_2 \exp(X_2 - X) \quad X \geq X_2 \quad (3.16).$$

Cable finito.

Condiciones a la frontera:

1) En $X=0$, $V=V_0$ como en el cable semi-infinito. Para esto es de mayor utilidad la solución general dada por la ecuación (3.8), en donde si se sustituye L por X_1 , C_1 por V_1 , y C_2 por $F_1 V_1$, (3.8) se convierte en:

$$\frac{V(X)}{V_1} = \cosh(X_1 - X) + F_1 \sinh(X_1 - X) \quad (3.17)$$

Usando la primera condición a la frontera (3.17) se convierte en:

$$\frac{V_0}{V_1} = \cosh(X_1) + F_1 \sinh(X_1) \quad (3.18)$$

Despejando V_1 de (3.18) y substituyendo en (3.17) queda:

$$V(X) = V_0 \left(\frac{\cosh(X_1 - X) + F_1 \sinh(X_1 - X)}{\cosh X_1 + F_1 \sinh X_1} \right) \quad (3.19)$$

Así, la solución dada por (3.19) deja a F_1 como parámetro libre para las segundas condiciones a la frontera.

2) La condición en $X=X_1$ tiene varias posibilidades:

a1) Que el cable termine sellado (en $X=X_1$).

a2) Que el cable termine con el voltaje fijado ($V=V_1$ en $X=X_1$).

b1) Que el cable continúe ramificandose en una rama hija

b2) Que el cable continúe en un cable de diferente diámetro.

a1) Cable finito sellado en $X=X_1$.

A esta condición se le llama también condición de circuito abierto o aislado. La conductancia en $X=X_1$ es cero y por lo tanto no hay cambios en el potencial por lo que $\frac{dV}{dX} = 0$. Diferenciando (3.19), evaluándolo en $X=X_1$, e igualando a cero, da como resultado que $F_1=0$ y por lo tanto (3.19) se convierte en:

$$V = V_0 \frac{\cosh(X_1 - X)}{\cosh X_1} \quad (3.20).$$

Conductancia de entrada para cable finito sellado en $X=X_1$:

De acuerdo con (3.11) para este caso $I_0 = \frac{1}{\lambda r_1} V_0 \tanh X_1$ y como $G_\infty = \frac{1}{\lambda r_1}$, entonces la conductancia de entrada para el cable finito sellado, G_{fs} , es:

$$G_{fs} = \frac{I_0}{V_0} = G_\infty \tanh X \quad (3.21).$$

a2) Cable finito con fijación de voltaje $V_1=0$ en $X=X_1$.

También conocido como corto circuito e implica que el potencial se fija en su valor de reposo $V=V_m-E_r=0$ que es muy diferente de $V_m=0$ realmente un corto circuito que implicaría $V=-E_r$. En este caso (3.19) es cero, lo cual solo puede suceder si el numerador es cero, por lo que igualando el numerador con cero y despejando F_1 se obtiene:

$$F_1 = \frac{-\cosh(X_1 - X)}{\sinh(X_1 - X)} = \coth(X_1 - X) \quad (3.22)$$

El valor de (3.22) en $X=X_1$ no está definido, sin embargo, se puede obtener el límite cuando $X \rightarrow X_1$ y se observa que F_1 tiende a ser muy grande cuando $X \rightarrow X_1$, por lo que los términos que contienen a F_1 en (3.19) dominan y los términos que contienen al cosh se desprecian dando como resultado que

$$V(X) = V_0 \frac{F_1 \sinh(X_1 - X)}{F_1 \sinh X_1} = V_0 \frac{\sinh(X_1 - X)}{\sinh X_1} \quad (3.23).$$

Conductancia de entrada para cable finito con fijación de voltaje $V_1=0$ en $X=X_1$.

Nuevamente, de acuerdo con (3.11), $I_0 = \frac{1}{\lambda f_i} V_0 \coth X_1$, y como $G_\infty = \frac{1}{\lambda f_i}$ entonces la conductancia de entrada para terminación con fijación de voltaje, G_{fv} , es.

$$G_{fv} = \frac{I_0}{V_0} = G_\infty \coth X \quad (3.24).$$

b1) Continuación del cable en otro de menor diámetro.

La continuidad de la corriente implica que la conductancia de salida en X_1 , G_1 , sea igual a la conductancia de entrada del cable de menor diámetro. Si este último se considera semi-infinito, entonces su conductancia de entrada será una G_∞ con una constante de espacio λ de acuerdo al nuevo diámetro del cable pero siguiendo la solución (3.10).

Conductancia de entrada para un cable finito.

Diferenciando (3.19) y substituyendo en (3.11), se obtiene que la conductancia de entrada en $X=0$, G_0 , es:

$$G_0 = \frac{I_0}{V_0} = G_\infty \left(\frac{\sinh X_1 + F_1 \cosh X_1}{\cosh X_1 + F_1 \sinh X_1} \right) = G_\infty F_0 \quad (3.25)$$

en donde $F_0 = \frac{G_0}{G_\infty}$. F_0 junto con G_0 , dependen de la condición en la frontera en $X=X_1$ que determina a F_1

b2) Ramificación en $X=X_1$ y "cilindro equivalente".

El concepto básico de la ramificación radica en que el punto de ramificación se puede ver como un nodo eléctrico cuya corriente entrante debe ser igual a la corriente saliente, de acuerdo con las leyes de Kirchoff.

Haciendo uso de la nomenclatura de la figura 3.2, si G_1 es la conductancia de entrada al nodo en $X=X_1$, G_{11} es la conductancia de salida del nodo a la rama hija 1, y G_{12} es la conductancia de salida del nodo a la rama hija 2, entonces:

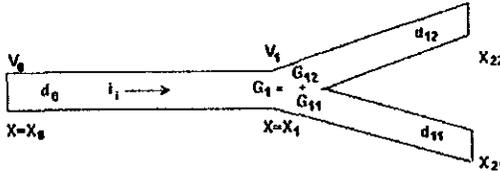


Figura 3.2: Esquema de nomenclatura para la ramificación de un cable tronco madre en dos ramas hijas.

$$G_1 = G_{11} + G_{12} \quad (3.26)$$

Definiendo el inverso de la conductancia de membrana por unidad de área $R_m = r_m \pi d$ (Ωcm^2) y la resistividad específica o volumétrica del axoplasma cilíndrico $R_i = r_i \pi d^2 / 4$ (Ωcm), donde d es el diámetro del cilindro, entonces $G_\infty = \frac{1}{\lambda r_i} = \frac{1}{(r_m r_i)^{\frac{1}{2}}} = \frac{\pi}{2} \left(\frac{1}{R_m R_i} \right)^{\frac{1}{2}} d_0^{\frac{3}{2}}$ donde d_0 es el diámetro del cable en $X=0$.

De la misma forma podemos expresar G_1 , G_{11} , y G_{12} , en donde cada uno depende del diámetro del segmento cilíndrico que representa. Si se dividen ambos lados de (3.26) por G_∞ se obtiene una relación entre los coeficientes adimensionales:

$$F_1 = F_{11} \left(\frac{d_{11}}{d_0} \right)^{\frac{3}{2}} + F_{12} \left(\frac{d_{12}}{d_0} \right)^{\frac{3}{2}} \quad (3.27)$$

donde F_{11} y F_{12} dependen a su vez de las condiciones a la frontera, F_{21} y F_{22} , en su propio segmento cilíndrico.

Suponiendo que las dos ramas hijas son las últimas, y si las condiciones de terminación son las mismas en ambas ramas, entonces $F_{21} = F_{22} = F_2$. Si adicionalmente se

supone que tengan la misma longitud electrotónica, entonces $(X_{21}-X_1)=(X_{22}-X_1)=(X_2-X_1)$. Por lo tanto la solución en ambas ramas para $V=V_1$ en $X=X_1$ es idéntica lo que implica, de acuerdo con (3.25), que $F_{11}=F_{12}$. Supóngase además que $d_0^3 = d_{11}^3 + d_{12}^3$ se cumple entonces:

$$F_1 = F_{11} = F_{12} = \frac{F_2 + \tanh(X_2 - X_1)}{1 + F_2 \tanh(X_2 - X_1)} \quad (3.28)$$

La ecuación (3.27) muestra, que con las suposiciones anteriores, la solución es una extensión del cilindro hasta X_2 , con sus condiciones a la frontera, de la solución hasta X_1 . Cuando estas condiciones se cumplen, se dice que la ramificación se convierte o colapsa en un cilindro equivalente.

Este proceso, que aquí se elaboró para dos ramas, puede ser extendido a todo el árbol dendrítico y, si se cumplen las condiciones anteriores en todas las ramificaciones, se puede colapsar todo el árbol dendrítico a un cilindro equivalente con condiciones a la frontera en $x=l$, o lo que es lo mismo en $X=L$.

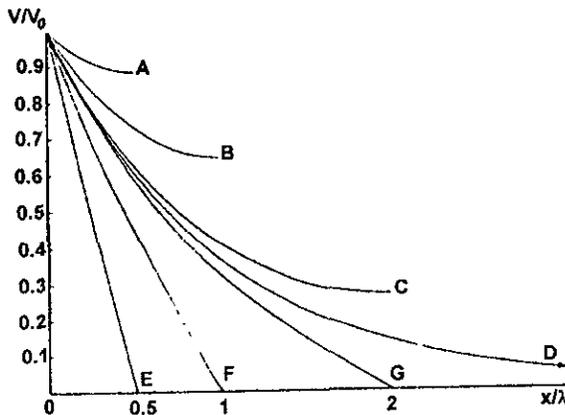


Figura 3.3: Comparación de los decaimientos de voltaje para un cable finito con diferentes condiciones a la frontera y diferentes longitudes electrotónicas. A, B y C son cables sellados en $X=0.5, 1, 2$, E, F y G son cables con fijación de voltaje en $X=0.5, 1, 2$, y D es un cable semi-infinito. (Rall 1977).

Es importante recalcar las condiciones para obtener el cilindro equivalente:

- El producto $R_m R_i$ es constante en todos los cilindros que representan el árbol dendrítico y la conductancia de entrada en cada uno de ellos sólo está limitada por el diámetro de cada cilindro.
- Las condiciones de terminación tienen que ser las mismas en todas las ramas que terminan y ya no se ramifican.
- La longitud electrotónica, medida desde $X=0$ hasta la terminación de cada rama, tiene que ser la misma.
- La suma de los diámetros, elevados a la $3/2$ cada uno, de las ramas hijas debe ser igual al diámetro, elevado a la $3/2$, de la rama madre.

La figura 3.3 muestra la solución para diferentes condiciones a la frontera.

Solución dependiente del tiempo y transitorios.

La solución de la ecuación parcial dependiente del tiempo (3.5) se encuentra usando el método de separación de variables si se supone que el cambio en el potencial como función de la distancia es independiente del cambio del potencial en función del tiempo. Entonces, si $V(X,T)=V(X)V(T)$, al substituir en (3.5) se obtiene una ecuación con diferenciales totales:

$$\frac{d^2 V(X)}{dX^2} V(T) - \frac{dV(T)}{dT} V(X) - V(X)V(T) = 0 \quad (3.29)$$

Dividiendo por $V(X,T)$ ambos lados y reorganizando se obtiene:

$$\frac{d^2 V(X)}{dX^2 V(X)} = 1 + \frac{dV(T)}{TV(T)} = c \quad (3.30)$$

que puede ser separada en dos ecuaciones diferenciales de una sola variable cada una.

Si $c = -\alpha^2$ entonces la parte izquierda de (3.30) es: $\frac{d^2 V(X)}{dX^2} + \alpha^2 V(X) = 0$ cuya solución general es:

$$V(X) = A \operatorname{sen} \alpha X + B \cos \alpha X \quad (3.31)$$

La parte derecha de (3.30) es: $\frac{dV(T)}{dT} = -(1 + \alpha^2)V(T)$ cuya solución general es:

$$V(T) = \exp(-(1 + \alpha^2)T) \quad (3.32)$$

de donde la multiplicación de (3.31) y (3.32) es la solución general de (3.5):

$$V(X, T) = [A \operatorname{sen} \alpha X + B \cos \alpha X] \exp(-(1 + \alpha^2)T) \quad (3.33)$$

Como la solución de interés es aquella del cable finito, pues así se modelan las dendritas, es la única que se considerará para la solución temporal.

Cable finito.

Considérese un cable finito de longitud electrofónica L con terminación sellada en ambos extremos, entonces las condiciones a la frontera son $\frac{\partial V}{\partial X} = 0$ en $X=0, L$ para $T > 0$, con condición inicial $V(X, 0)$. Aplicando la primera condición a la frontera se obtiene:

$$\alpha(A \cos \alpha X - B \operatorname{sen} \alpha X) \exp(-(1 + \alpha^2)T) = 0 \quad (3.34)$$

Como esta condición es cierta para toda T entonces la exponencial no puede ser cero.

Además en $X=0$ el $\operatorname{sen} \alpha X = 0$ por lo que $\alpha A = 0$. Entonces $A=0$ o $\alpha=0$. $\alpha=0$ implicaría $V=0$ la solución trivial y se cumple la condición de isopotencialidad, por lo tanto, $A=0$. La segunda condición a la frontera reduce (3.34) a:

$$\alpha B \cos \alpha L = 0 \quad (3.35)$$

que tiene un número infinito de soluciones dadas por:

$$\alpha_n = n\pi/L \quad (3.36)$$

Tomando sólo la parte temporal de (3.33) y usando (3.36) se obtiene:

$$\tau_n = \frac{\tau_m}{1 + \alpha_n^2} = \frac{\tau_m}{1 + (n\pi/L)^2} \quad (3.37)$$

Si $n=0$ $\tau_0 = \tau_m$ porque $\alpha_n = 0$.

De (3.35) se deduce que la solución para el cable finito está dada por:

$$V(X, T) = B \cos \alpha_n X \cdot \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (3.38)$$

en donde el coeficiente B depende de cada α_n en particular.

Para cada α_n existe una solución $V(X, T)$ por lo que la solución general se puede expresar como una combinación lineal de (3.38) y está dada por:

$$V(X, T) = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos(\alpha_n X) \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (3.39).$$

La solución (3.39) es una expansión en series de Fourier en donde los coeficientes B_n están en función de la condición inicial $V(X, 0)$ como:

$$B_0 = \frac{1}{L} \int_0^L V(X, 0) dX \quad n = 0 \quad (3.40)$$

$$B_n = \frac{2}{L} \int_0^L V(X, 0) \cos \alpha_n X dX \quad n > 0$$

Si $C_n(X) = B_n \cos \alpha_n X$ y haciendo uso de (3.37) la solución (3.39) se puede expresar como:

$$V(X, t) = \sum_{n=0}^{\infty} C_n(X) \exp\left(-\frac{t}{\tau_n}\right) \quad (3.41)$$

lo que indica que la solución es una suma de exponenciales con diferentes constantes de tiempo en donde τ_0 representa a τ_m . A las constantes τ_n con $n > 0$ se les conoce como "constantes de igualación de carga".

Si durante un cambio en el potencial de membrana la carga se distribuye uniformemente en toda la superficie del cilindro, y se le deja regresar pasivamente a su condición de reposo, entonces el regreso será igual en cada punto y estará dado por una sola exponencial con constante de tiempo τ_m . Por lo tanto los C_n para $n > 0$ serían todos idénticos a cero. Por el contrario, si la carga no se distribuye uniformemente, entonces el regreso al reposo no será el mismo en todos los puntos. Aquellas regiones en donde el cambio sea mayor, inicialmente regresarán más rápidamente que aquellas regiones donde

la carga se distribuyó uniformemente. Es decir, hay una tendencia a igualar la distribución de carga desplazándola de regiones de mayor densidad de carga a regiones de menor densidad de carga.

Una no uniformidad que se distribuya simétricamente respecto del punto medio del cable, causará que todos los coeficientes C_n con n impar sean idénticos con cero y las constantes de igualación pares son las que quedan en la solución (3.41) siendo la más importante una de las constantes pares e.g. τ_2 . Pero, generalmente la no uniformidad es asimétrica y los coeficientes C_n con n par son idénticos con cero. La solución, entonces, conserva las constantes de igualación impares, siendo la más importante alguna de las constantes impares e.g. τ_1 . Cuando la resolución de la medición es limitada, solo se pueden obtener constantes globales: τ_{par}, τ_{impar} .

Respuesta a un escalón de corriente.

Traducando el origen del voltaje de manera que el cambio en el voltaje dé valores de voltaje positivos: $V_T(X,T) = V(X,\infty) - V(X,T)$. Aprovechando la solución (3.39) y el estado estacionario para un cable finito con terminaciones selladas dado por la ecuación (3.20), se puede tener una expresión para la respuesta con el origen trasladado:

$$V_T(X, T) = \frac{I_0 R_\infty \cosh(L - X)}{\sinh L} - \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos(\alpha_n X) \exp(-(1 + \alpha_n^2) T) \quad (3.42)$$

donde los B_n se obtienen usando la ecuación (3.40) con la condición a la frontera dada por $V(X,\infty)$ e integrando directamente:

$$B_0 = \frac{I_0 R_\infty}{L} \quad (3.43)$$

$$B_n = \frac{2B_0}{1 + \alpha_n^2} = \frac{2I_0 R_\infty}{(1 + \alpha_n^2)L}$$

En adelante se usará $V(X,T)$ para indicar el cambio en voltaje con origen trasladado $V_T(X,T)$.

IV. Modelo de cilindro equivalente acoplado a un soma como modelo de neurona.

Hasta ahora se ha visto que el árbol dendrítico, en ciertas condiciones, puede ser representado por un cilindro equivalente. Sin embargo, ¿qué pasa con el soma? Al acoplar un soma isopotencial descrito por un circuito RC al cilindro equivalente que representa a las dendritas, se obtiene el modelo más sencillo de una neurona que fue originalmente diseñado por Rall para describir a la motoneurona espinal.

La figura 4.1 muestra el circuito equivalente para este modelo de neurona. Este modelo puede ser descrito por la ecuación de cable teniendo cuidado con las condiciones en la frontera.

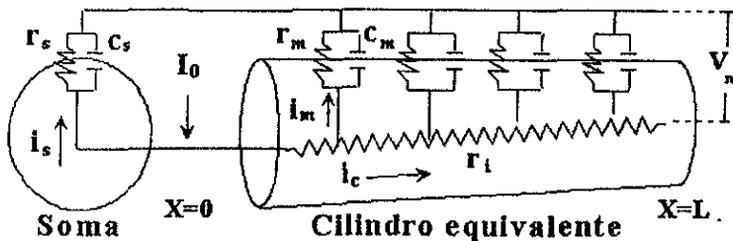


Figura 4.1: Representación eléctrica de un soma acoplado a un cilindro equivalente.

Acoplamiento de un soma a un cilindro equivalente ($r_m = r_s$).

Las condiciones a la frontera, tomando el origen en la interfase soma-cilindro, son.

$$1) \frac{\partial V}{\partial X} = 0 \text{ en } X=L \text{ suponiendo que el cilindro está sellado.}$$

2) $i_s = -i_c$ debido a la continuidad de la corriente en la interfase, en donde i_s es la corriente de salida del soma e i_c es la corriente de entrada al cilindro. El signo negativo indica la dirección de la corriente.

La corriente i_s no es más que la corriente capacitiva más la corriente resistiva del circuito RC somático y se puede expresar como:

$$i_s = \frac{V}{r_m} + c_m \frac{\partial V}{\partial t} \Big|_{x=0} = \frac{1}{r_m} \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} = G_s \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.1)$$

donde G_s es la conductancia de salida del soma.

La corriente de entrada al cilindro está dada por (3.11):

$$i_c = -\frac{1}{\lambda r_l} \left[\frac{\partial V}{\partial X} \right] \Big|_{x=0} \quad (4.2)$$

igualando (4.1) y (4.2) la condición a la frontera queda como:

$$\left[\frac{\partial V}{\partial X} \right] \Big|_{x=0} = \lambda r_l G_s \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.3)$$

La conductancia del árbol dendrítico es la del cilindro equivalente por lo que $G_d = G_{fs} = G_\infty \tanh L = \frac{\tanh L}{\lambda r_l}$. Despejando λr_l de la ecuación anterior y substituyendo en (4.3) se obtiene:

$$\left[\frac{\partial V}{\partial X} \right] \Big|_{x=0} = \tanh L \frac{G_s}{G_d} \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.4)$$

Definiendo $\rho = \frac{G_d}{G_s}$ entonces (4.4) se transforma en:

$$\left[\frac{\partial V}{\partial X} \right] \Big|_{x=0} = \frac{\tanh L}{\rho} \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.5)$$

Usando la solución :

$$V(X, T) = [A \operatorname{sen} \alpha(L - X) + B \cos \alpha(L - X)] \exp(-(1 + \alpha^2)T) \quad (4.6)$$

y aplicando la condición a la frontera en $X=L$ se encuentra que $A=0$. Derivando (4.6) con respecto a X y evaluando en $X=0$ se tiene:

$$\frac{\partial V}{\partial X}_{X=0} = [B \cos \alpha L] \exp(-(1 + \alpha^2)T) \quad (4.7)$$

y derivando con respecto a T y evaluando en X=0 se tiene:

$$V + \frac{\partial V}{\partial T}_{X=0} = [-\alpha^2 B \cos \alpha L] \exp(-(1 + \alpha^2)T) \quad (4.8)$$

Substituyendo (4.7) y (4.8) en (4.5) se obtiene la siguiente ecuación trascendental:

$$-\rho \tan \alpha L = \alpha \tanh L = -k \quad (4.9)$$

en donde k es una constante positiva.

El parámetro ρ es importante pues es indicativo de cuál de las conductancias es dominante. Si $\rho = \infty$ la ecuación (4.5) se reduce al caso del cilindro equivalente sin soma pues $G_d \gg G_s$ lo que implica una dominancia dendrítica con una conductancia del soma pequeña. Si $\rho = 0$, (4.5) se reduce al caso del soma isopotencial sin dendritas pues $G_s \gg G_d$ lo que implica una dominancia somática con una conductancia en el cilindro equivalente muy pequeña.

Al igual que en el caso del cilindro equivalente, la solución general está dada por una combinación lineal:

$$V(X, T) = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos \alpha_n (L - X) \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (4.10)$$

con la diferencia que ahora las α_n son las raíces de la ecuación trascendental (4.9).

La respuesta a un escalón de corriente inyectado en X=0 con el origen trasladado se puede expresar como:

$$V(X, T) = V(X, \infty) - \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos \alpha_n (L - X) \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (4.11)$$

en donde ahora $V(X, \infty)$ está dado por la ecuación (3.20) pero donde $V_0 = IR_N$ y R_N es la resistencia de entrada de la neurona que incluye la resistencia de entrada tanto del cilindro equivalente como del soma. Como R_N es cuantificable a partir de las curvas I-V en el estado estacionario, es deseable dejar la solución en términos de ella:

$$V(X, T) = \frac{I_0 R_N \cosh(L - X)}{\cos hL} - \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos \alpha_n (L - X) \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (4.12)$$

En $T=0$, $V(X,T)=0$ considerando al potencial de reposo como cero, de donde se deduce que (4.12) se convierte en:

$$V(X, \infty) = \frac{I_0 R_N \cosh(L-X)}{\cosh hL} = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos \alpha_n (L-X) \quad (4.13)$$

Nótese que V en el estado estacionario es la parte espacial de la expansión en series de Fourier y se podrían calcular los coeficientes B_n usando las fórmulas (3.40). Sin embargo, en este caso las eigenfunciones no son ortogonales por lo que es necesario ortogonalizar la base. Para ello se usa la relación modificada de ortogonalidad:

$$B_n = \frac{B[V(X, \infty), X_n]}{B(X_n, X_m)} \quad (4.14)$$

donde $B(f, g) = \int_0^L f \cdot g dx + b_0 f(0)g(0) + b_1 f(L)g(L)$ y en donde b_0 y b_1 son constantes definidas por las siguientes condiciones a la frontera:

$$\begin{aligned} a_0(X_n)_{X=0} + \left(\frac{\partial X_n}{\partial X}\right)_{X=0} + b_0 \left(\frac{\partial^2 X_n}{\partial X^2}\right)_{X=0} &= 0 \\ a_1(X_n)_{X=0} + \left(\frac{\partial X_n}{\partial X}\right)_{X=0} + b_1 \left(\frac{\partial^2 X_n}{\partial X^2}\right)_{X=0} &= 0 \end{aligned} \quad (4.15)$$

El método de ortogonalización se desarrolla en el apéndice 1 para un caso más general, del cual, este es un caso particular. Usándolo, la trayectoria del potencial en el tiempo, $V(T)$, que sigue a la inyección de un escalón de corriente en $X=0$ es (ver apéndice 1):

$$V(t) = I_0 R_N - \sum_{n=0}^{\infty} C_n \exp\left(-\frac{t}{\tau_n}\right) \quad (4.16)$$

en donde $\tau_n = (1 + \alpha_n^2) \tau_m$ (4.17)

y α_n son las raíces de la ecuación trascendental derivada de (4.9):

$$\alpha_n L \cot(\alpha_n L) = -\rho L \coth(L) = -k \quad (4.18)$$

y los coeficientes están dados por:

$$C_n = I_0 R_N \frac{2(\rho + 1) \tau_n / \tau_m}{1 + k + [(\alpha_n L)^2 / k]} \quad (4.19)$$

Los coeficientes C_0 , C_1 , y las constantes de tiempo τ_0 , τ_1 , se extraen del experimento así como R_N . Las ecuaciones (4.17) a (4.19) generan un sistema que puede ser resuelto

numéricamente para obtener los valores de los parámetros, L , α_n , ρ que caracterizan al modelo. Sin embargo, para que el modelo sea más realista hay que introducir una complicación extra que consiste en suponer que el soma tiene una resistencia de membrana diferente de la del árbol dendrítico. Esto se debe a que en las neuronas reales se ha observado que la resistencia de membrana del soma, R_{ms} , es menor que la resistencia de membrana del árbol dendrítico, R_{ms} . Esta diferencia se puede deber a varias causas: daño producido por el microelectrodo, canales abiertos en el potencial de reposo con mayor densidad en el soma, activación de sinapsis en el soma, o la combinación de alguno de estos factores.

Resistencia de membrana somática diferente de la dendrítica.

El modelo es prácticamente idéntico al descrito en la sección anterior con la salvedad que la resistencia de membrana del soma se considera diferente a la del árbol dendrítico. Así, la ecuación (4.1) se transforma en:

$$i_s = \frac{V}{r_s} + c_s \frac{\partial V}{\partial t} \Big|_{x=0} = \frac{1}{r_s} \left(V + \frac{\tau_s}{\tau_m} \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} = G_s \left(V + \varepsilon \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.20)$$

donde $\varepsilon = \frac{\tau_s}{\tau_m}$. Siguiendo un proceso análogo al de la sección anterior, la ecuación (4.5) se transforma en:

$$\left[\frac{\partial V}{\partial X} \right]_{x=0} = \frac{\tanh L}{\rho} \left(V + \varepsilon \frac{\partial V}{\partial T} \right) \Big|_{x=0} \quad (4.21)$$

en donde substituyendo (4.7) y (4.8) se obtiene:

$$L \cot(\alpha_n L) \frac{1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2)}{\alpha_n} = -\rho L \coth(L) = -k \quad (4.22)$$

Las ecuaciones (4.12) y (4.13) son las mismas para este caso con la excepción que al usar el método de ortogonalización las ecuaciones simultáneas a resolver son:

$$\tau_n = (1 + \alpha_n^2) \tau_m \quad (4.23)$$

$$\alpha_n L \beta_n \cot(\alpha_n L) = -\rho L \coth(L) \quad (4.24)$$

$$\beta_n = \frac{1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2)}{\alpha_n^2} \quad (4.25)$$

$$C_n = I_0 R_N \frac{2(\rho + 1)\tau_n/\tau_m}{\beta_n + 2\varepsilon + k + [(\alpha_n \beta_n L)^2 / k]} \quad (4.26)$$

con $k = \rho L \coth(L) \quad (4.27).$

Existen múltiples soluciones a este sistema de ecuaciones, sin embargo, es posible restringir el número de soluciones a la de la primera α_n diferente de cero con base en los siguientes límites físicos:

$\alpha_n > 0$ $\alpha_n = 0$ es la solución isotopotencial y $\alpha_n < 0$ implicaría respuestas a estímulos provenientes del árbol dendrítico y no al estímulo en el soma.

$\tau_m > \tau_n > 0$ Las constantes de igualación deben ser más rápidas que la constante de membrana. Tiempos negativos no tienen sentido.

$\rho > 0$ $\rho = 0$ es la solución isotopotencial y $\rho < 0$ no tiene ningún sentido.

$2 > L > 0$ L está relacionado con la longitud del cilindro equivalente y este se mide en la dirección positiva de X. $L > 2$ implica una neurona con dendritas poco funcionales pues el estímulo no llegaría hasta el soma.

$1 > \varepsilon > 0$ $\varepsilon < 0$ implicaría constantes de tiempo negativas, $\varepsilon = 1$ es la solución isotopotencial $r_d = r_s$, y $\varepsilon > 1$ implicaría $r_d < r_s$ contrario a lo observado experimentalmente donde $r_d > r_s$.

Adicionalmente, se puede a partir de (4.24), por substitución directa de α_0 y α_1 , tener dos ecuaciones simultáneas con ρ y ε como incógnitas. De estas se puede obtener una

expresión para ε en términos de α_0 y α_1 . La forma de hacerlo se desarrolla en el apéndice 2 y el resultado es:

$$\varepsilon = \frac{\alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)}{(1 + \alpha_0^2) \alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - (1 + \alpha_1^2) \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)} \quad (4.28)$$

Ajustando los datos experimentales con una suma de exponenciales, tal como se describe en el siguiente capítulo, se obtienen C_0 , C_1 , τ_0 , τ_1 , y R_N , que al substituirse en las ecuaciones (4.23) a (4.28) crean un sistema de ecuaciones, que junto con los límites físicos, puede ser resuelto numéricamente para dar un resultado único, con sentido físico, del conjunto de parámetros para la neurona registrada.

V. Procedimiento experimental y de análisis.

Superfusión extracelular y solución intracelular.

La solución extracelular está compuesta de: 125 mM NaCl; 3.0 mM de KCl; 1.0 mM de MgCl₂; 2.0 mM de CaCl₂; 25.0 mM de NaHCO₃; y 10 mM de glucosa, es oxigenada constantemente con una mezcla de 95% O₂ y 5% CO₂, ajustada a una osmolaridad de 300 miliosmoles por litro y a un pH de 7.4.

La solución interna consiste de: 115 mM de KH₂PO₄; 2 mM de MgCl₂; 10 mM de HEPES (N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-ácido etanosulfónico]); 0.5 mM de EGTA (etilen-bis[oxietilen-nitrilo]ácido tetra-acético); 100 μM de leupeptina; 400 μM de GTP (Guanosin trifosfato); y 2 mM de ATP (Adenosin trifosfato).

Obtención de la preparación de tejido cerebral.

Para este estudio se utilizaron ratas Wistar de 12-13 días de nacidas con el fin de que el tejido tuviera poca matriz extracelular y se facilitará la aproximación del electrodo a la neurona. No hubo distinción de sexo y las ratas eran mantenidas en condiciones de laboratorio con libre acceso a alimento y agua.

La solución extracelular es enfriada y mantenida a 4°C manteniendo la oxigenación con la mezcla de O₂-CO₂. La rata es anestesiada con éter, decapitada y su cerebro extraído. Al cerebro se le corta el cerebelo y se seccionan los hemisferios sagitalmente (ver la figura 1.7 para ver un corte sagital). Los hemisferios seccionados se sumergen en un vaso con solución salina a 4°C durante un minuto, para disminuir el metabolismo celular y darle mayor consistencia al tejido. Luego se pegan en una caja de Petri montada en un vibratomo y la caja de Petri se llena con solución salina a 4°C manteniendo la

oxigenación. Los hemisferios cerebrales son cortados sagitalmente obteniendo rebanadas de 300 μm de espesor. Las rebanadas obtenidas se colocan en solución salina a temperatura ambiente donde se incuban para que las células recuperen algunas de sus condiciones fisiológicas. En estas condiciones es posible obtener registros electrofisiológicos confiables de hasta dos horas de duración sin un deterioro significativo de la preparación.

Arreglo experimental.

El equipo necesario para el registro electrofisiológico comprende:

- 1.- Estimulador *Grass S88*.
- 2.- Amplificador y preamplificador de corriente y voltaje *Axoclamp 2B*
- 3.- Digitalizador de señales *Instrutech VR-10B*.
- 4.- Videgrabadora *Sony SLV-X633*.
- 5.- Osciloscopio *Hitachi VC 6545*.
- 6.- Microscopio de Transmisión *Nikon* con manipulador micrométrico *Narishige*.
- 7.- Cámara de Video *MIT CCD-672* acoplada al microscopio, interfase y monitor.
- 8.- Tarjeta analógico/digital de adquisición de datos *National Instruments AT-MIO-16L*, acoplada a microcomputadora *PC-Clone 586*.
- 9 - Bomba de succión.
- 10.- Mesa de trabajo de granito con plancha de hierro amortiguada y jaula de Faraday.

La figura 5.1 muestra la disposición de los diferentes equipos en el arreglo experimental, así como el diagrama de conexiones incluyendo las de aterrizaje. Es

importante hacer notar que los equipos se tienen que ir interconectando uno por uno, monitoreando sus salidas con el osciloscopio al agregar cada uno de ellos al arreglo experimental, y observando, en cada ocasión, que el ruido producido por la conexión se vea minimizado con el correcto aterrizaje del equipo.

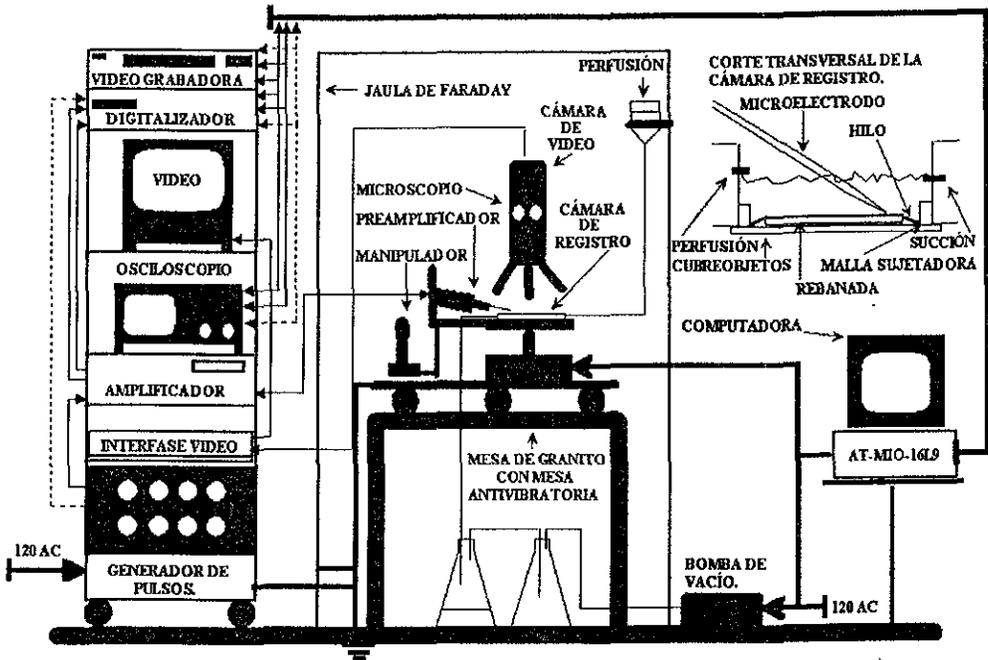


Figura 5.1: Esquema del arreglo experimental para registro electrofisiológico. Se muestran los diferentes equipos utilizados y sus interconexiones.

Fabricación de los electrodos.

Los electrodos son hechos a partir de capilares de vidrio con un diámetro interno de 1mm. y un diámetro externo de 1.5 mm. Los capilares son montados en un estirador, donde, mediante programación, se puede controlar la cantidad de calor suministrada, la

fuerza con que se estira, la velocidad a la que estira, y el tiempo de enfriamiento. Controlando estos parámetros se puede diseñar la forma de la punta del electrodo que se utilizará en el registro. La figura 5.2 muestra un esquema con la forma que los electrodos deben tener para obtener un buen registro. El ancho de la punta determina la resistencia(DC) del electrodo que está entre los 3-6 M Ω . El electrodo estirado y formado puede ser forjado en su punta para darle un acabado pulido y evitar que dañe a la membrana.

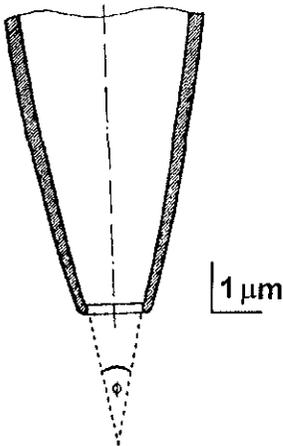


Figura 5.2: Esquema de la forma de la punta que un electrodo debe tener para registro electrofisiológico de célula entera.

Registro electrofisiológico en célula entera (whole-cell patch clamp).

Para entender el registro en célula entera hay que entender el circuito formado para ello. La figura 5.3 muestra un esquema con la disposición física del electrodo y el tejido cerebral, así como el circuito eléctrico que se forma.

La corriente inyectada sale por un electrodo de plata clorurado que se inserta en el electrodo de vidrio conteniendo la solución salina intracelular. La corriente electrónica del

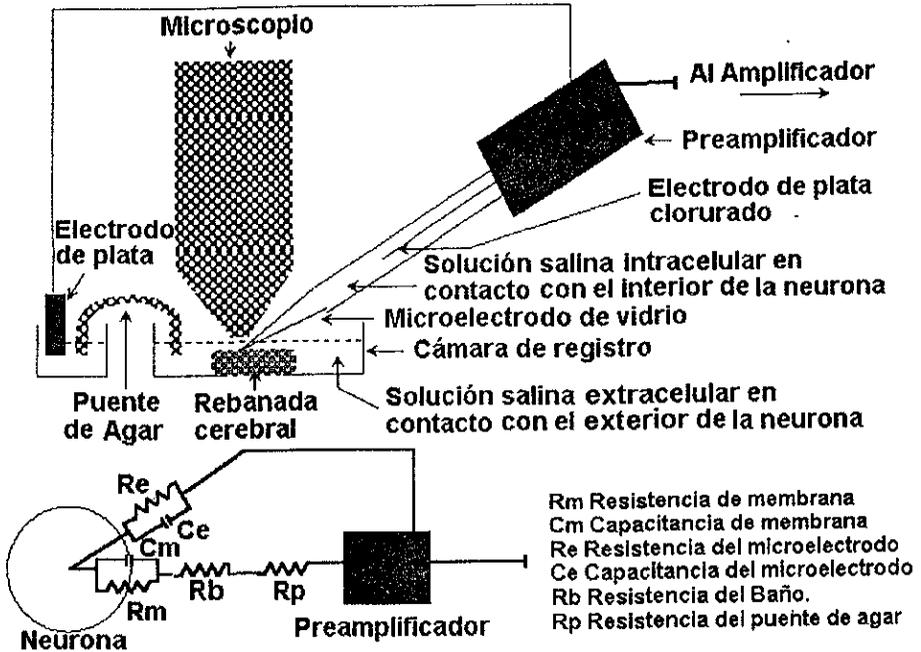


Figura 5.3: Esquema físico del registro en célula entera y circuito eléctrico que se forma. Nótese que R_e , R_b , y R_p son resistencias en serie con R_m .

electrodo de plata se convierte en corriente iónica en la solución salina intracelular. El circuito se cierra a través de la solución salina extracelular, en la que está inmerso el tejido cerebral, conectada mediante un puente de agar a una solución salina normal, que a su vez está en contacto con otro electrodo de plata clorurado conectado a la tierra del sistema. Nótese que el circuito puede ser cerrado a través del baño poniendo en contacto directo la solución intracelular en el microelectrodo con la solución extracelular en el baño, o a través de la célula poniendo en contacto la solución intracelular con el interior de la célula la cual, usando sus canales iónicos, está en contacto con la solución extracelular.

La respuesta en voltaje es registrada por el mismo electrodo pero en sentido inverso, preamplificada por el preamplificador, y amplificada por el amplificador.

Entonces, el primer paso para el registro en célula entera es poner en contacto el electrodo con la solución extracelular y ajustar el potencial medido a cero para usarlo como referencia.

El segundo paso es medir la resistencia del electrodo dividiendo la respuesta en voltaje a un escalón de corriente inyectada cuando se cierra el circuito solamente a través del baño. La resistencia puede ser compensada mediante un circuito tipo Wheatstone hecho con componentes activos. El diseño del amplificador permite compensar la capacitancia del electrodo hasta en un 80%.

El tercer paso es acercar el electrodo a la célula. Con el videomicroscopio, haciendo uso primero del ocular 10X y luego del ocular 40X, se localiza la célula que se desea registrar. De la misma forma se localiza el electrodo por encima de la rebanada de tejido cerebral. Con el micromanipulador y observando en pantalla el electrodo, uno se aproxima a la célula escogida.

El siguiente paso es formar el gigasello entre el electrodo de vidrio y la membrana de la célula. Este se forma naturalmente entre el vidrio y los lípidos de la membrana por lo que es de crucial importancia que el electrodo no se ensucie antes de llegar a la membrana de la célula. A veces es necesario hacer una ligera succión en el electrodo al contactar la membrana para que los lípidos se adhieran al vidrio. La importancia del gigasello radica en que evita que haya fuga de corriente entre el electrodo y la membrana celular. Su nombre proviene de que al medir su resistencia esta es del orden de gigaohms.

El último paso antes del registro es ponerse en contacto con el interior de la célula. Esto se logra haciendo otra ligera succión para romper la membrana que queda en el

huevo del electrodo. Al hacerlo, el transitorio capacitivo se vuelve más lento, pues refleja la capacitancia de la membrana y el potencial medido pasa de 0 a alrededor de -80 mV, que es el potencial de reposo de la neurona. La figura 5.4 muestra un esquema de la

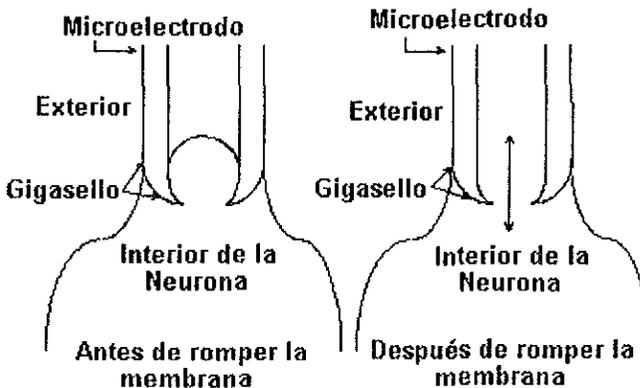


Figura 5.4: Esquema de la formación del gigasello y rompimiento de la membrana.

formación del gigasello y del rompimiento de la membrana.

En contacto con la célula se procede a dar un escalón despolarizante superior al umbral para ver si la neurona dispara. Posteriormente se procede a dar escalones de -0.02 nA para obtener un promedio de curva de carga de donde se determinarán posteriormente C_0 , C_1 , τ_0 , y τ_1 . Se repite lo mismo con escalones de -0.04 nA. Por último se estimula con escalones de corriente desde -0.1 nA hasta 0.15 nA en pasos de 0.01 nA registrando las respuestas. El estado estacionario de las respuestas se grafica contra el escalón dado para obtener una curva I-V cuya pendiente alrededor del potencial de reposo da la resistencia de entrada, R_N .

Desde el punto de vista electrónico, tanto el escalón de estimulación como la respuesta a este, llegan simultáneamente al amplificador mediante una señal de

sincronización (i.e. trigger). Las señales se monitorean en el osciloscopio, se digitalizan y se graban en videocinta. También se pueden almacenar en la computadora (e.g. el disco duro) en tiempo real, a través de la tarjeta de adquisición de datos.

Adquisición de datos.

Los registros grabados en videocinta pueden ser transferidos posteriormente a la computadora, para su análisis, cuantas veces se requiera, a través de la misma tarjeta de adquisición de datos. El autor desarrolló un programa que permite la adquisición de datos en el ambiente Labview (National Instruments).

El programa consta de un panel de control en donde el usuario puede escoger el camino (i.e. path) a donde va a enviar sus datos, de entre los diferentes dispositivos de almacenamiento de la computadora. También puede seleccionar entre diversos tipos de pulsos de estimulación, y decidir, con un interruptor de apagado y encendido, qué eventos grabar. El programa muestra en la pantalla de la computadora, tanto el pulso de estimulación como la respuesta celular, tal como se verían en el osciloscopio, con la ventaja de tener corrección automática, en tiempo real, de cualquier desplazamiento de la línea basal. El apéndice 3 contiene la documentación del programa que incluye: descripción general del programa; panel de control tal como aparece en la pantalla de la computadora; descripción de los diferentes controles e indicadores del programa, tanto los visibles como los ocultos; diagrama de bloques gráfico equivalente al programa fuente en otro lenguaje de programación; la posición jerárquica del programa comparado con las subrutinas que utiliza; y las subrutinas principales

Los datos, tanto de corriente como de voltaje, son guardados en archivos ASCII que son posteriormente leídos por el programa de graficación Microcal Origin donde se elaboran las distintas gráficas. La escala de tiempo está definida por los pulsos de sincronización.

VI. Resultados y Conclusiones.

Curvas I-V.

La figura 6.1 es un ejemplo de curva I-V en fijación de corriente en donde la gráfica superior muestra los escalones de corriente inyectada, la inferior la respuesta en el potencial de membrana, y la intermedia las medidas correspondientes junto con el ajuste polinomial a las mismas en el estado estacionario. La figura 6.2 es un ejemplo de curva I-V en fijación de voltaje y ahora la gráfica superior muestra los escalones de voltaje aplicados, la inferior la respuesta en la corriente de membrana, y la intermedia las medidas correspondientes junto con el ajuste polinomial a las mismas en el estado estacionario.

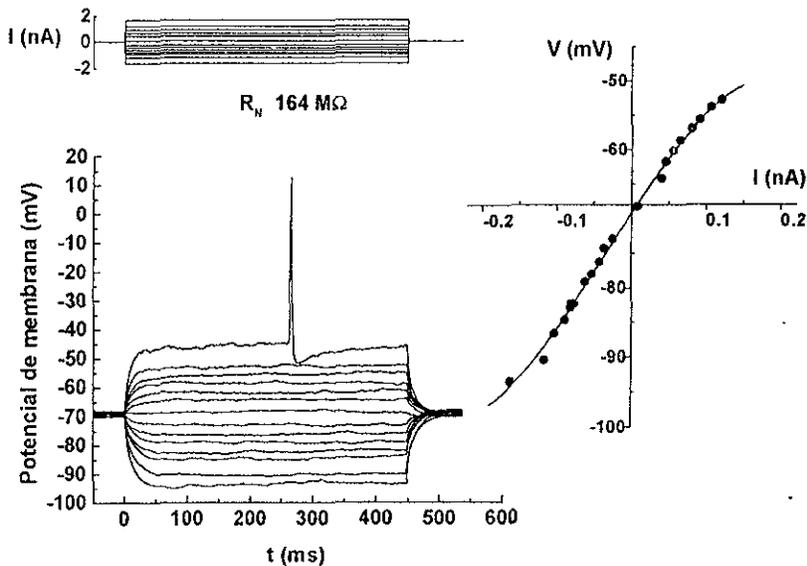


Figura 6.1: Ejemplo de una curva I-V en fijación de corriente. La Gráfica superior muestra los escalones de corriente, la inferior la respuesta en el potencial de membrana y la intermedia las medidas en el estado estacionario junto con el ajuste polinomial.

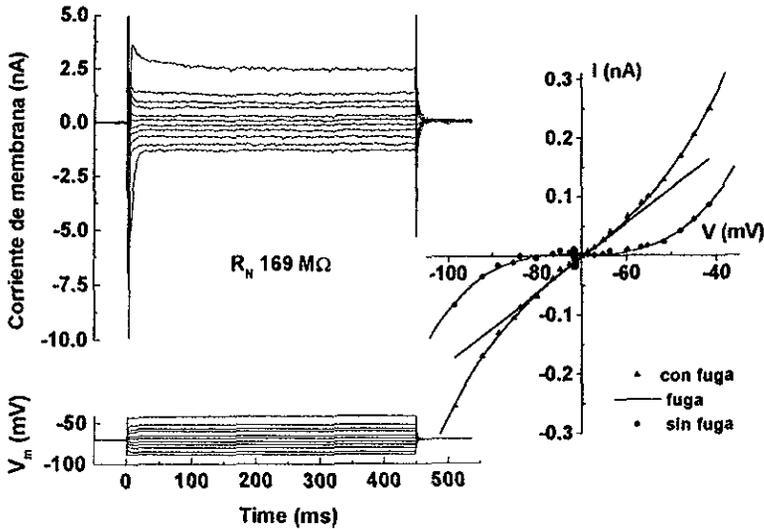


Figura 6.2: Ejemplo de una curva I-V en fijación de voltaje. La Gráfica superior muestra los escalones de voltaje, la inferior la respuesta en la corriente de membrana y la intermedia las medidas en el estado estacionario junto con el ajuste polinomial. Nótese que la resistencia de entrada es la misma que la medida con fijación de corriente.

estacionario. Se ajustó el polinomio con el menor error. La curva I-V muestra la rectificación característica de las neuronas espinosas medianas. Se registraron un total de 16 neuronas de las cuales 15 eran espinosas medianas. A la célula 10 no fue posible hacerle su curva I-V.

Análisis de la curva de carga.

Se definió $V(x,t) = V_i - E_r$. La figura 6.3 muestra de arriba hacia abajo, el escalón de corriente y la respuesta celular correspondiente, que se usa para ser ajustada a la suma de exponenciales. Hay que hacer notar que estas curvas son promedios de al menos 20 eventos individuales.

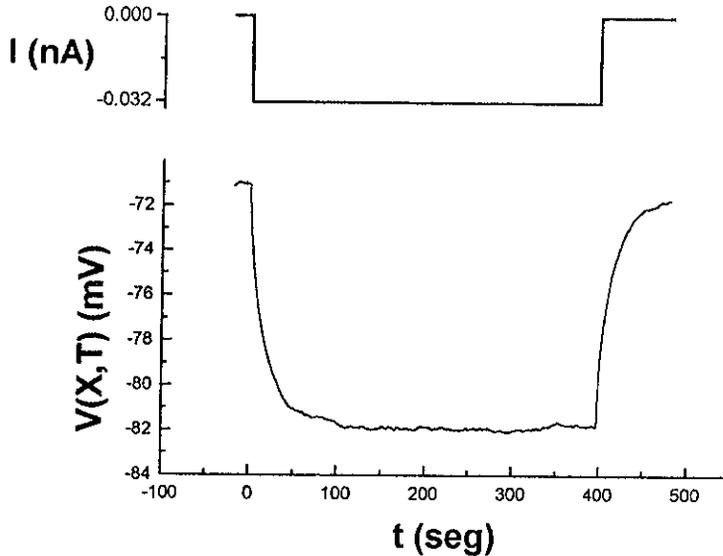


Figura 6.3: Ejemplo de una curva de carga. La Gráfica superior muestra el escalón de corriente, la inferior la respuesta en el potencial de membrana.

Para ajustar la suma de exponenciales de la función de carga se utilizó el algoritmo de regresión no lineal de Marquardt-Levenberg integrado en el programa de graficación Microcal Origin. Este algoritmo minimiza χ^2 y los valores esperados son la suma de exponenciales teóricas.

La figura 6.4 muestra una curva de carga ajustada con una suma de dos exponenciales, tanto para toda la curva como para los primeros 100 mseg., graficada en escala semilogarítmica, para una de las neuronas registradas. Con este procedimiento se obtiene C_0 , C_1 , τ_0 , y τ_1 para cada neurona registrada y para las dos intensidades de corriente utilizadas (0.02 y 0.04 nA).

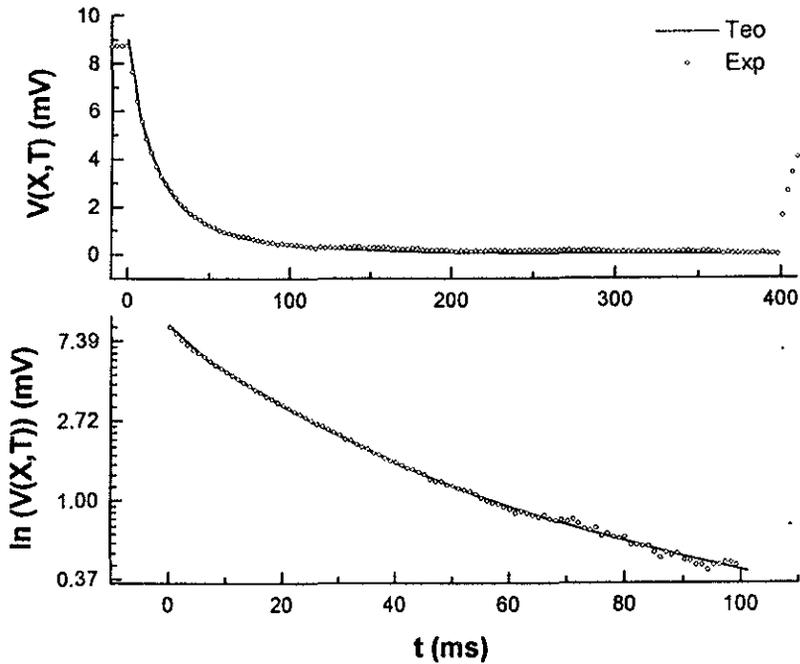


Figura 6.4: Ajuste de dos exponenciales a la curva de carga. La gráfica superior muestra el ajuste hasta el estado estacionario, y la inferior el ajuste en los primeros 100 mseg graficada en escala semilogarítmica. Los puntos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes teóricos.

La tabla 6.1 resume los promedios de R_N , C_0 , C_1 , τ_0 , τ_1 .

Tabla 6.1 Resultados experimentales. $n=15 \pm$ Error Estándar.	
R_N	253.8 ± 7.6
C_0	0.63 ± 0.01
C_1	0.37 ± 0.01
τ_0 (ms)	45.4 ± 5.03
τ_1 (ms)	6.51 ± 0.6

El valor de R_N es consistente con los valores reportados en la literatura (Reyes et al., 1998; Kawaguchi, 1993) aunque un poco mayor debido principalmente a que las neuronas son de animales jóvenes de 12 a 13 días de nacidos y los registros están hechos a temperatura ambiente.

El valor promedio de τ_m (τ_0) es consistente con los valores obtenidos en otros trabajos (Reyes et al. 1998), en las mismas neuronas mediante registro con electrodos intracelulares, a una temperatura de 34 °C en animales adultos.

Solución numérica del sistema de ecuaciones del modelo E-C.

Para resolver el sistema de ecuaciones (4.23) a (4.28) se utilizo el programa Eureka. En este se introduce el sistema de ecuaciones a resolver junto con los valores C_0 , C_1 , t_0 , t_1 , y R_N obtenidos experimentalmente. Se proponen valores aproximados, restringidos por limites físicos, para las variables buscadas. Se evalúa cada una de las expresiones y se observa el error existente entre los dos lados de la ecuación. Se cambian los valores propuestos en pasos determinados y se observa si el error ha disminuido. Estas iteraciones se realizan hasta que el error ha sido reducido a un mínimo aceptable o se convierte en cero dando una solución exacta. Cuando esto sucede se han encontrado los valores de los parámetros que satisfacen simultáneamente al sistema de ecuaciones y las restricciones sobre los parámetros. El apéndice 4 muestra un archivo con las ecuaciones y las restricciones, así como la verificación que enseña la reducción en el error, para una de las neuronas registradas.

Se resolvió el sistema de ecuaciones (4 23) a (4 28) usando el programa Eureka

como se muestra en el apéndice 4, para cada una de las neuronas registradas. La tabla 6.2 muestra el promedio encontrado de cada una de las variables del modelo. L_{peel} se obtuvo suponiendo que toda la neurona podía ser modelada solamente por un cilindro equivalente dada por la ecuación (3.37). L_{mod} es la encontrada en la solución del sistema de ecuaciones parametrizadas.

L_{peel}	1.46±0.05
L_{mod}	1.17±0.09
ε	0.22±0.03
ρ	1.35±0.15
k	0.93±0.04

Como se puede ver, el acoplamiento del soma y la consideración de no homogeneidad en R_m dan como resultado que L sea menor en un 20% a L_{peel} ; que no toma en cuenta la inhomogeneidad en R_m .

El resultado más importante es, sin embargo, el hecho de que la longitud electrotónica sea cercana a 1, 1.17 en promedio. Sin embargo, este es un límite superior pues hay que hacer una corrección geométrica, ya que el árbol dendrítico de las neuronas espinosas medianas no puede ser colapsado en un cilindro equivalente de acuerdo a su geometría.

Corrección Geométrica.

Se usa un factor de corrección (F_{dga}) que hace uso de la anatomía de las neuronas (Reyes et al. 1998, Rall et al. 1992) dado por:

$$F_{dga} = \frac{\tau_m}{C_m R_n A_n} = \frac{\tanh L}{L} \quad (6.1).$$

Suponiendo $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, de acuerdo a los reportado en la literatura, $A_n = 2 \times 10^{-4}$ (promedio), de acuerdo a las medidas anatómicas hechas por Wilson (Wilson, 1992) con el microscopio de alto voltaje, y usando los valores de τ_m y R_n encontrados experimentalmente, $F_{dga} = 0.89 \pm 0.13$. Con este valor queda una ecuación trascendental en L que, al resolverla numéricamente, da como resultado $L = 0.58 \pm 0.09$. Esta L promedio ya está corregida tanto geoméricamente como por inhomogeneidad en R_m .

El valor obtenido con la corrección geométrica otorga un límite inferior de L. Entonces se puede decir que L, para las neuronas espinosas medianas del neocórtex, está acotada entre 0.58 y 1.17.

Discusión y Conclusiones.

El hecho de que la longitud electrotonica encontrada con el modelo represente una cota superior cercana a 1 comparada con la cota anterior de alrededor de 1.5 es de crucial importancia pues significa que estas neuronas en el reposo están atentas a prácticamente todas sus sinapsis. Esto es lo que se conoce como compactación electrotonica, es decir las sinapsis eléctricamente hablando están cerca y son significativas. Si a esto se adiciona que la cota inferior es de alrededor de 0.6 las sinapsis están realmente atentas. Adicionalmente estos resultados están en correspondencia con los encontrados con registros intracelulares (Reyes 1998).

Otro aspecto importante es que la resistencia de entrada de las neuronas, con la técnica de célula entera en donde no hay deriva eléctrica, está en el mismo rango que la resistencia de entrada de las neuronas corregida para eliminar la deriva, con la técnica del microelectrodo intracelular en donde sí hay deriva eléctrica, y en correspondencia con medidas mostradas en la literatura (Reyes et al. 1998, Kawaguchi, 1989).

En resumen las propiedades pasivas encontradas indican que las neuronas espinosas medianas del neocórtex son básicamente compactas, es decir, que potenciales sinápticos originados lejos del soma tienen enormes posibilidades de contribuir a la generación o inhibición del potencial de acción en el soma de forma más que significativa, pues una gran parte del voltaje es capaz de llegar al soma sin disiparse en el trayecto.

Estos datos son también relevantes para el modelado de estas neuronas y del circuito neuronal que puedan formar. Por ejemplo en el modelo en el que se proponen al neocórtex como un generador de secuencias se usan datos que han sido tomados de registros intracelulares sin haber corregido la deriva (Wickens y Arbuthnott, 1993). ¿Que le pasaría al modelo si se introducen los valores obtenidos con el registro de célula entera? ¿Se mantendrán las secuencias? ¿Se harán más importantes las interneuronas? Lo que sí se sabe es que estos datos son consistentes con los corregidos de registro intracelular y son más cercanos a la realidad fisiológica.

Pensando ahora en el futuro, el hecho de que se tengan dos límites en la longitud electrotónica, hace pensar que está podría ser dinámica por sí sola y más aun bajo la influencia de neurotransmisores tan importantes en este núcleo como lo son la dopamina y la acetil-colina. Encontrar las propiedades pasivas de estas neuronas bajo la influencia

de los neurotransmisores antes mencionados es lo que nos depara el futuro y se pretende contestar preguntas como: ¿Se alejaran o se acercaran electroticamente las sinapsis? ¿La dinámica electrotica participará en la dinámica del circuito neuronal? Como estas todavía hay muchas preguntas que contestar. Por el momento se concluye, que en su estado de reposo, estas neuronas son electroticamente compactas y aunque no disparan a menudo están muy atentas a sus entradas sinápticas.

VII. Apéndices.

Apéndice 1: Obtención de los coeficientes de la serie de Fourier.

De las condiciones a la frontera, $\left(\frac{\partial V}{\partial X}\right)_{X=L} = 0$ y la ecuación (4.5), las ecuaciones (4.15) dan como resultado que $a_1=b_1=0$ y $b_0 = \varepsilon \frac{\tanh(L)}{\rho}$. Usando $V(X, \infty)$ y que

$X_n = \cos \alpha_n(X-L)$ entonces:

$$B_n = \frac{\frac{IR_N}{\cosh(L)} \int_0^L \cosh(L-X) \cdot \cos[\alpha_n(L-X)] dX + \frac{\varepsilon \tanh(L)}{\rho} \cdot \cosh(\alpha_n) \cdot IR_N}{\int_0^L \cos^2[\alpha_n(L-X)] dX + \frac{\varepsilon \tanh(L)}{\rho} \cdot \cos^2(\alpha_n L)} \quad (A1.1)$$

Integrando el numerador de (A1.1) se obtiene:

$$N = \frac{IR_N}{1 + \alpha_n^2} \cdot \cos(\alpha_n L) \left[\tanh(L) + \alpha_n \tan(\alpha_n L) + \frac{\varepsilon \tanh(L)}{\rho} (1 + \alpha_n^2) \right] \quad (A1.2)$$

Utilizando la ecuación trascendental (4.22), (A1.2) se reduce a:

$$N = \frac{IR_N}{1 + \alpha_n^2} \cdot \cos(\alpha_n L) \cdot \frac{L}{k} (\rho + 1) \quad (A1.3)$$

Integrando el denominador de (A1.1) se obtiene:

$$D = \frac{1}{2} \cos^2(\alpha_n L) \cdot \left(\frac{\tan(\alpha_n L)}{\alpha_n} + \frac{L}{\cos^2(\alpha_n L)} + \frac{2\varepsilon \tanh(L)}{\rho} \right) \quad (A1.4)$$

Utilizando nuevamente (4.22) y algunas identidades trigonométricas, (A1.4) se reduce a:

$$D = \frac{1}{2} \cos^2(\alpha_n L) \frac{L}{k} \left\{ \frac{1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2)}{\alpha_n^2} + 2\varepsilon + k + \frac{L^2}{\alpha_n^2 k} [1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2)]^2 \right\} \quad (A1.5)$$

Entonces dividiendo N/D se obtienen los coeficientes:

$$B_n = \frac{1}{\cos(\alpha_n L)} \cdot \frac{IR_N}{1 + \alpha_n^2} \cdot \frac{2(\rho + 1)}{\beta_n + 2\varepsilon + k + [(\alpha_n L \beta_n)^2 / k]} \quad (A1.6)$$

en donde $\beta_n = \frac{1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2)}{\alpha_n^2}$. De la ecuación (4.12) el voltaje en $X=0$ es:

$$V(0, T) = IR_N - \sum_n B_n \cos(\alpha_n L) \exp(-(1 + \alpha_n^2)T) \quad (A1.7)$$

Substituyendo (A1.6) en (A1.7), usando $T = t/\tau_m$, y $\frac{1}{1 + \alpha_n^2} = \frac{\tau_n}{\tau_m}$ se obtiene que la respuesta

$V(T)$ observada en $X=0$ de un escalón de corriente inyectado en $X=0$ es:

$$V(t) = IR_N - \sum_n C_n \exp\left(\frac{t}{\tau_n}\right) \quad (A1.8)$$

donde C_n es:

$$C_n = IR_N \frac{2(\rho + 1)\tau_n/\tau_m}{\beta_n + 2\varepsilon + k + [(\alpha_n L \beta_n)^2 / k]} \quad (A1.9)$$

Notese que si $\varepsilon=1$ entonces $\beta_n = -1$ y C_n se convierte en la ecuación (4.19)

Apéndice 2: Obtención de ε en función de α_0 y α_1 .

De la ecuación trascendental (4.22) es posible despejar ρ :

$$\rho = \frac{\cot(\alpha_n L)(1 - \varepsilon(1 + \alpha_n^2))}{\alpha_n \coth(L)} \quad (\text{A2.1})$$

Esta ecuación es válida tanto para α_0 y α_1 por lo que.

$$\rho = \frac{\cot(\alpha_0 L)(1 - \varepsilon(1 + \alpha_0^2))}{\alpha_0 \coth(L)} = \frac{\cot(\alpha_1 L)(1 - \varepsilon(1 + \alpha_1^2))}{\alpha_1 \coth(L)} \quad (\text{A2.2})$$

Despejando ε de (A2.2) se obtiene:

$$\varepsilon = \frac{\alpha_1 \cot(\alpha_0 L) - \alpha_0 \cot(\alpha_1 L)}{(1 + \alpha_0^2) \alpha_1 \cot(\alpha_0 L) - (1 + \alpha_1^2) \alpha_0 \cot(\alpha_1 L)} \quad (\text{A2.3})$$

Substituyendo las cotangentes por los inversos de las tangentes se obtiene:

$$\varepsilon = \frac{\alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)}{(1 + \alpha_0^2) \alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - (1 + \alpha_1^2) \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)} \quad (\text{A2.4})$$

Si sustituimos (A2.4) en la parte derecha de (A2.2) obtenemos una expresión para ρ :

$$\rho = \frac{\cot(\alpha_0 L)}{\alpha_0 \coth(L)} \cdot \left[-(1 + \alpha_1^2) \cdot \frac{\alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)}{(1 + \alpha_0^2) \alpha_1 \tan(\alpha_1 L) - (1 + \alpha_1^2) \alpha_0 \tan(\alpha_0 L)} \right] \quad (\text{A2.5})$$

Apéndice 3: Programa de adquisición de datos.

adquisición continua calibrada
03/16/98 04 26 PM

Page 1 Ent Anal

Conector Pana

Ent Anal

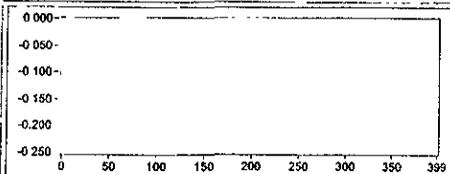
adquisición continua calibrada

El panel de control permite la adquisición continua de datos. La adquisición empieza cuando se presiona la flecha de correr el programa. Si hay datos llegando tarjeta, estos son desplegados en las graficas de voltaje y corriente. Mientras el programa corre y despliega datos, el usuario puede seleccionar dos tipos de pulso largo y otro corto. Tambien, dependiendo de la capacidad de almacenamiento de la computadora, cuando los datos desplegados son del gusto del usuario, pueden grabarse en linea siguiendo el camino que haya escogido. Con el mismo boton puede parar de grabar sin parar la adquisicon. Para parar la adquisicon basta presionar el boton de alto

adquisición continua calibrada
03/16/98 04 26 PM

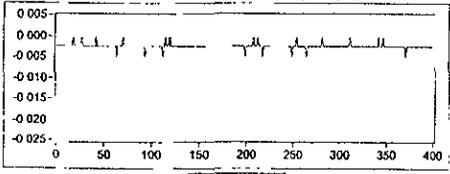
Page 2 Ent Anal

Front Panel



Voltaje

Path Voltaje
C:\datos\c12\car



Corriente

Path Corriente
C:\datos\c12\ca

Presione para escoger el tipo de pulso

**Pulso Largo
500 ms**

Presione para grabar y dejar de grabar

Sin Grabar

Presione para detener la adquisicion de datos

LT

adquisición continua calibrada
03/16/98 04:28 PM

Page 5 Ent.
Anal.

List of SubVis

-  General Error Handler.vi
C:\LABVIEW\vi\B\UTILITY\ERROR.LLB\General Error Handler.vi
-  AI Waveform Scan.vi
C:\LABVIEW\vi\B\DAQAI.LLB\AI Waveform Scan.vi
-  greba
A\CABLE.LIB\CABLE.LLB\greba
-  Mean.vi
C:\LABVIEW\vi\B\ANALYSIS\STAT.LLB\Mean.vi

Apéndice 4: Solución numérica del sistema de ecuaciones y restricciones de los parámetros del modelo de cable.

```

*****
Eureka: The Solver, Version 1.0
Thursday November 12, 1997, 2:39 pm.
Name of input file: E:\MODELO\c8ca1
*****

Durand                Noviembre-Diciembre 1997
celula c8ca1 control
*****

Ecuaciones:
t0=tmd/((1+alfa0^2)
t1=tmd/((1+alfa1^2)
beta0=(1-E*(1+alfa0^2))/alfa0^2
beta1=(1-E*(1+alfa1^2))/alfa1^2
C0=vf* ( ( (2*(ro+1)*t0) /tmd) / ((beta0+(2*E)+k+( alfa0*beta0*L)^2 ) ) /k )
C1=vf* ( ( (2*(ro+1)*t1) /tmd) / ((beta1+(2*E)+k+( alfa1*beta1*L)^2 ) ) /k )
E=(alfa1*tan(alfa1*L)-(alfa0*tan(alfa0*L)))/((1+alfa0^2)*alfa1*tan(alfa1*L)-(1+alfa1^2)*alfa0*tan(alfa0*L))
ro=((1/tan(alfa0*L))/(alfa0*(1/tanh(L))))*(1-(1+alfa0^2)*E)
ts=E*tmd
k= (C1/t1)/(C0/t0)
*****

Valores.
C0=1.93e-3
C1=6.84e-3
t0=62.02e-3
t1=17.49e-3
vf=8.77e-3
k=1.27
L:=0.89010382
ro:=1.5963614
beta0:=4.6464726
beta1:=0.15723099
alfa0:=0.43021347
alfa1:=1.7895077
tmd:=67.091763e-3
ts:=2.2271427e-3

```

E:=0.99864843

Restricciones:

beta0>beta1

alfa1>alfa0>0

L>0

L<1.97

1>E>0

ro>0

tmd>t0>ts>0

Solution:

Variables Values

alfa0=0.40484148

alfa1=1.7683914

beta0=4.2310328

beta1= -0.027829073

C0=0.0019300000

C1=0.0068400000

E=0.26338079

k=0.64897966

L=1.7624643

ro=1.8654799

t0=0.062020000

t1=0.017490000

tmd=0.072184869

ts=0.019012108

vf=0.0087700000

Maximum error is 4.2465359e-10

Evaluation of formulas:

Formulas Values

t0 = .062020000

tmd/(1+alfa0... = .062020000

difference = .00000000

t1 = .017490000
 tmd/(1+alfa1... = .017490000
 difference = .00000000

beta0 = 4.2310328
 (1-E*(1+alfa... = 4.2310328
 difference = .00000000

beta1 = -.027829073
 (1-E*(1+alfa... = -.027829073
 difference = .00000000

C0 = .0019300000
 vf*(((2*(ro+... = .0019300003
 difference (error) = -2.7199393e-10

C1 = .0068400000
 vf*(((2*(ro+... = .0068399996
 difference (error) = 4.2465359e-10

E = .26338079
 (alfa1*tan(a... = .26338079
 difference = .00000000

ro = 1.8654799
 (((1/tan(alf... = 1.8654799
 difference = .00000000

ts = .019012108
 E*tmd = .019012108
 difference = .00000000

VIII. Bibliografía.

Ecuaciones Diferenciales:

Boyce W.E., Di Prima R.C.; *Ecuaciones diferenciales y problemas con valores a la frontera.*; Limusa, 1967.

Braun M.; *Differential equations and their applications.*; Springer Verlag, 1978.

Modelo con el sistema de ecuaciones parametrizadas:

Durand D.; *The somatic shunt cable model for neurons.*; Biophysical Journal, 46, 645-653, 1984.

Durand D., Carlen P.L., Gurevich N., Ho A., Kunov H.; *Electrotonic parameters of rat dentate granule cells measured using short current pulses and HRP staining.*; Journal of Neurophysiology, 50, 5, 1080-1097, 1983.

Libro introductorio:

Hammond C.; *Celular and molecular neurobiology.*; Academic Press, capítulos 1 y 2, 1996.

Importancia de la teoría de cable en el estudio de sinapsis:

Iansek R., Redman S.J.; *An analysis of the cable properties of spinal motoneurons using a brief intracellular current pulse.*; Journal of Physiology London, 234, 613-636, 1973.

Iansek R., Redman S.J.; *The amplitude, time course and charge of unitary excitatory post-synaptic potentials evoked in spinal motoneurone dendrites.*; Journal of Physiology London, 234, 665-688, 1973.

Artículos originales interesantes que están resumidos en el libro del mismo autor. Importantes si se quiere profundizar:

Jack J.J.B., Redman S.J.; *The propagation of transient potentials in some linear cable structures.*; Journal of Physiology London, 215, 283-320, 1971.

Jack J.J.B., Redman S.J.; *An electrical description of the motoneurone, and its application to the analysis of synaptic potentials.*; Journal of Physiology London, 215, 321-352, 1971.

Jack J.J.B., Miller S., Porter R., Redman S.J.; *The time course of minimal excitatory post-synaptic potentials evoked in spinal motoneurons by group I_a afferent fibers.*; Journal of Physiology London, 215, 353-380, 1971.

Uno de los pocos libros de teoría de cable aplicada a células excitables:

Jack J.J.B., Noble D., Tsien R.W.; *Electric current flow in excitable cells.*; Oxford University Press, capítulos 1-4 y 8-10, 1975.

Un par de buenos libros introductorios a la neurofisiología:

Johnston D., Miao-Sin Wu S.; *Foundations of cellular neurophysiology.*; MIT Press, capítulos 1-4, 1994.

Junge D.; *Nerve and muscle excitation.*; Sinauer Associates, capítulos 1-3, 1992.

Artículo con buenos datos experimentales para usar de referencia en neuronas del neocórtex:

Kawaguchi Y.; *Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neocortex.*; *Journal of Neuroscience*, 13, 4908-4923.

Complemento al modelo del sistema de ecuaciones parametrizadas:

Kawato M.; *Cable properties of a neuron model with non-uniform membrane resistivity.*; *Journal of Theoretical Biology*, 111, 149-169, 1984.

Una buena introducción para entender que es una constante de tiempo:

Koch C., Rapp M., Segev I.; *A brief history of time constants.*; *Cerebral Cortex*, 6, 2, 93-101, 1996.

Teoría de cable aplicada a la fijación de voltaje:

Major G., Evans J.D., Jack J.J.B.; *Solutions for transients in arbitrary branching cables: I. Voltage recording with a somatic shunt.*; *Biophysical Journal*, 65, 423-449, 1993.

Major G., Evans J.D., Jack J.J.B.; *Solutions for transients in arbitrary branching cables: II. Voltage clamp theory.*; *Biophysical Journal*, 65, 450-468, 1993.

Major G., Evans J.D., Jack J.J.B.; *Solutions for transients in arbitrary branching cables: III. Voltage clamp problems.*; *Biophysical Journal*, 65, 469-491, 1993.

Una introducción al origen del potencial de reposo en la membrana celular:

McCormick D.A.; *Membrane properties and neurotransmitter actions; in The synaptic organization of the brain. Gordon M. Shepherd: editor.*; Oxford University Press, capítulo 2, 1998.

Libro muy sencillo para dar los primeros pasos en electrofisiología:

Matthews G.G.; *Fisiología celular del nervio y el músculo.*; McGraw-Hill Interamericana, capítulos 1-4, 1989.

Artículos originales de Rall donde explica la interpretación de las diferentes constantes de igualación y donde demuestra que solo necesita una sola coordenada para el filtraje pues la coordenada radial en coordenadas cilíndricas es realmente despreciable:

Rall W.; *Membrane potential transients and membrane time constant of motoneurons.*; *Experimental Neurology*, 2, 503-532, 1960.

Rall W.; *Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons.*; *Biophysical Journal*, 9, 1483-1508, 1969.

Rall W.; *Distributions of potentials in cylindrical coordinates for a membrane cylinder.*; *Biophysical Journal*, 9, 1509-1541, 1969

Rall W., Rinzel J.; *Branch input resistance and steady attenuation for input to one branch of a dendritic neuron model*; *Biophysical Journal*, 13, 648-688, 1973

Síntesis de la teoría de cable aplicada a dendritas:

Rall W.; *Core conductor theory and cable properties of neurons.* ;Handbook of physiology, 1, 39-97, 1977.

Acuerdo entre los mejores de teoría de cable en como debe de usarse e introducción del factor geométrico:

Rall W., Burke R.E., Homes W.R., Jack J.J.B., Redman S.J., Segev I.; *Matching dendritic neuron models to experimental data.*; Physiological Reviews, 72, 4,S159-S186, 1992.

La importancia en la atenuación de los potenciales sinápticos:

Redman S.J.; *The attenuation of passively propagating dendritic potentials in a motoneurone cable model.*; Journal of Physiology London, 234, 637-664, 1973.

Aplicación del modelo a registros intracelulares. Resultados previos a esta tesis en el laboratorio:

Reyes A.; *Cambios en la longitud electrotonica del arbol dendritico de las neuronas del neocórtico de la rata por bloqueo de conductancias a K⁺.*;Tesis de Doctorado en Investigación Biomédica Básica, UNAM, 1998.

Reyes A., Galarrága E., Flores-Hernández J., Tapia D., Bargas J.; *Passive properties of neocortical neurons during potassium conductance blockade.*;Aceptado en Experimental Brain Research, en prensa.

Introducción al modelaje neuronal y la teoría de cable por compartimentos:

Segev I.; *Single neuron models: oversimple, complex and reduced.*;TINS, 15, 11, 414-421, 1992.

Libro esencial y sencillo para quien quiera entender los diferentes circuitos del cerebro:

Shepherd G.M.; *The synaptic organization of the brain.* Gordon M. Shepherd: editor.; Oxford University Press, 1998.

Par de artículos que muestran que la fijación espacial con un solo electrodo es imposible y hay que hacer correcciones:

Spruston N., Jaffe D.B., Williams S.H., Johnston D.;*Voltage- and Space-Clamp errors associated with the measurement of electrotonically remote synaptic events.*; Journal of neurophysiology, 70, 2, 781-802, 1993.

Spruston N., Johnston D.;*Perforated patch-clamp analysis of the passive membrane properties of three classes of hippocampal neurons.*; Journal of neurophysiology, 67, 3,508-529, 1992.

Series de Fourier:

Tolstov G. P.; *Fourier series.*; Dover, 1976.

Excelente introducción a la biofísica y biomatemática de las neuronas. Se requieren conocimientos de matemáticas avanzados:

Tuckwell H.C.; *Introduction to theoretical neurobiology: volume 1 linear cable theory and dendritic structure.*; Cambridge University Press, 1988.

Artículo donde se modela una neurona neocortical de proyección así como una pequeña red de las mismas y se demuestra la forma en que la red puede generar secuencias de disparo y por lo tanto secuencias de acciones:

Wickens J.R., and Arbuthnott, G.W.; *The corticostriatal system on computer simulation: an intermediate mechanism for sequencing of actions.*; Prog. in Brain Res., 99, 325-339.

Descripción detallada del neocortical y su relación con los ganglios basales. Tiene muchos datos anatomicos necesarios para la corrección geométrica:

Wilson C.J.; *Dendritic morphology, inward rectification, and the functional properties of neocortical neurons.* In: *Single neuron computation.*; Academic Press, San Diego, Calif., 141-171.

Wilson C.J.; *Basal ganglia.*; in *The synaptic organization of the brain.* Gordon M. Shepherd: editor.; Oxford University Press, capítulo 9, 1998.