



Universidad Nacional Autónoma de México

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias
Matemáticas y de la Especialización en
Estadística Aplicada

La transversalidad de la homeostasis y la neuromodulación

T E S I S

que para optar por el grado de
Maestra en Ciencias

PRESENTA:

Andrea Isabel Ramírez Hincapié

Tutor:

Dr. Alessio Franci, Facultad de Ciencias

Ciudad Universitaria, CD. MX. Junio 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Mamá y a Papá

Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. Alessio Franci, por todo lo que ha compartido conmigo durante los últimos cuatro años desde que nos conocimos.

A mis sinodales: El Dr. Timothy O'Leary, el Dr. Fernando Castaños, el Dr. Roberto Romero y la Dra. Natalia Mantilla. Les agradezco sus excelentes comentarios a esta tesis y su amable acompañamiento en la etapa final del trabajo.

Glosario

- *spike*: potencial de acción o disparo.
- *tonic spiking*: patrón de disparo regularmente espaciado.
- *burst*: ráfaga. Activación rápida en trenes de potenciales de acción seguida por periodos de quietud.
- *burstiness*: Medida con la cual se describe la intensidad de la actividad eléctrica neuronal relativa a los *bursts*.
- *doblete*: *burst* compuesto de dos *spikes*.
- *set-point*: punto de referencia.
- *withdrawal*: abstinencia.
- *desensitization*: desensibilización.
- excitabilidad tipo I/II: Relación frecuencia-corriente (curva F-I) continua/discontinua. Disparos repetitivos a frecuencia arbitrariamente baja/frecuencia mínima finita.
- conductancia: grado de conductividad eléctrica, es el recíproco de la resistencia. Las conductancias, denotadas por g , que usaremos son:
 - g_{Na} sodio
 - g_{Kd} potasio rectificado, g_A potasio rápido transitorio y g_{KCa} potasio dependiente de calcio
 - g_{CaS} calcio lento y g_{CaT} calcio transitorio
 - g_H mezcla de cationes activada por hiperpolarización
- depolarización: aumento en el potencial de membrana, es decir el voltaje se encuentra en un rango elevado. Lo contrario a la depolarización es la hiperpolarización.

Índice general

Introducción	v
1. Homeostasis, neuromodulación y patologías homeostáticas	1
1.1. Homeostasis neuronal	1
1.1.1. Un modelo a base de calcio	1
1.2. Redundancia	5
1.3. Neuromodulación	7
1.4. Patologías	9
1.4.1. Abstinencia	9
1.4.2. Desensibilización	11
2. Compatibilidad entre homeostasis y neuromodulación	12
2.1. Variedad homeostática	12
2.1.1. Aproximando a H	16
2.2. Conjuntos de nivel de propiedades electrofisiológicas	18
2.3. Mecanismos de compatibilidad	22
2.3.1. Transversalidad	23
2.3.2. $H \nabla B_c$	26
2.4. Modulación co-calibrada o <i>cotuning</i>	27
3. Simulaciones numéricas	30
3.1. Mapas de parámetros <i>closed-loop</i>	31
3.1.1. Niveles de <i>burstiness</i>	31
3.1.2. Niveles de calcio	33
3.1.3. Transversalidad y caminos en el espacio de conductancias	36
3.2. Modulación sobre modulación	40
3.2.1. Aviso de incompatibilidad	42
4. Conclusiones	43
A. Análisis en espacios de funciones	45
Bibliografía	46

Introducción

La capacidad de una neurona para regular su excitabilidad es uno de los principios fundamentales para el desarrollo y buen funcionamiento de las redes neuronales. Esta plasticidad homeostática es realmente asombrosa ya que permite la estructuración de sistemas complejos a partir de una cierta coordinación espontánea de las subunidades que los componen [1]. Por ejemplo, en el contexto de los generadores centrales de patrones (CPGs), donde se busca mantener un determinado tipo de actividad neuronal, es importante que se pueda regular cada neurona de la red hacia un estado estable que produzca las señales adecuadas [2]. Regular implica compensar los eventuales cambios en el entorno y perturbaciones externas para no desviarse de un punto de referencia (*set-point*), es decir, un estado fisiológico óptimo para la supervivencia de la célula y la conservación de la función en el organismo [3].

Evidentemente, es necesario contar con mecanismos homeostáticos dependientes de la actividad celular para estabilizar los niveles de actividad dinámicamente. Dicha autorregulación atañe a las propiedades eléctricas intrínsecas de las neuronas así como a sus conexiones sinápticas [4] y, al igual que ocurre a mayor escala, requiere una organización de las sub-estructuras celulares. Lo que resulta del reajuste interior es un cambio, de un patrón a otro, o bien una transición de un estado activo a uno silencioso, que va de acuerdo con la función de la red como entidad pero sobre todo con el *set-point* celular específico [1].

La plasticidad homeostática tiene como filosofía de ser “mantenerse igual a través del cambio”. Pero ¿qué sucede cuando aquello que se debe mantener igual es algo que por naturaleza está cambiando constantemente? En los CPGs es natural que el patrón objetivo vaya cambiando con las exigencias de situaciones nuevas y que ciertos modos de actividad persistan por un largo tiempo. También es normal que la actividad en diversas partes del sistema nervioso siga programas variables inducidos por la neuromodulación. El ciclo circadiano, el sueño, y la atención son sólo algunos de los procesos neurofisiológicos que los seres vivos experimentan continuamente y que se caracterizan por cambios prolongados en la actividad neuronal. Muchas veces tales variaciones a largo plazo se deben al efecto de neuromoduladores ubicuos en el sistema nervioso.

En ese sentido, la neuromodulación es también una forma de plasticidad. Los neuromoduladores modifican la respuesta a un neurotransmisor, actúan de forma más lenta

y duradera que los neurotransmisores, y son ambos agentes de cambio. En principio podrían obstaculizar e incluso oponerse al trabajo de la homeostasis, que regula el regreso al *set-point* cuando la actividad celular se desvíe de éste. Más aún, la homeostasis parece constreñir los niveles de actividad dentro de límites estrictos [5]. Entonces, ¿cómo es compatible la neuromodulación, que induce cambios a mediano y largo plazo en la actividad neuronal, con la homeostasis, que regula e intenta mantener un equilibrio en la actividad promedio?

Una idea es que la homeostasis haga recurso de ajustes tan finamente dirigidos (los mecanismos homeostáticos utilizados podrían depender de la perturbación [3]) que termine subordinada a los efectos de la modulación. Sin embargo, esto contradice el propósito mismo de la homeostasis ya que no se previenen las perturbaciones que pueden dejar a la célula disfuncional. Otra posibilidad es que ciertos cambios en la actividad coincidan con la inactivación de las vías homeostáticas. Pero, de nuevo, esto representa un riesgo frente a la pérdida de función mientras continúe la modulación y requeriría de señalamiento adicional para poder apagar y volver a encender la maquinaria homeostática, lo cual es improbable.

En este trabajo presentamos un marco conceptual que comprende la relación entre homeostasis y neuromodulación por medio de la redundancia y que, además, propone mecanismos para explorar la neuromodulación compatible con la homeostasis. La redundancia se refiere a cuando una neurona expresa una gran variedad de canales iónicos con propiedades biofísicas compartidas. La clave del mecanismo propuesto está en aprovechar que mientras más redundancia haya, más fácil es reproducir una actividad o patrón deseado con distintas configuraciones en los canales iónicos. La regla homeostática que implementamos actúa a nivel de expresión de canales monitoreando una sola variable fisiológica, a saber, el calcio en el soma.

Si la homeostasis y la neuromodulación han de coexistir, en el modelo presentado se imponen restricciones sobre ambas. La idea de la modulación restringida a un espacio homeostático, que al mismo tiempo es un espacio relativo al estado de la neurona (modulado o no), es particularmente reveladora de la comunicación entre ambos procesos. En este trabajo demostraremos con simulaciones numéricas que, si se violan estas restricciones, entonces se encuentran patologías conocidas como la abstinencia y la tolerancia a moduladores. En términos matemáticos, la existencia de acciones modulatorias dentro del espacio homeostático está garantizada por la transversalidad de ciertas variedades que introduciremos más adelante.

La simpleza del controlador homeostático que usamos tiene la ventaja de ser conceptualmente interpretable tanto en redes biológicas que muestren expresiones variables de canales iónicos, como en modelos neuronales artificiales basados en conductancias. Sin embargo, cualquier modelo sencillo carece de todos los detalles bioquímicos que hacen parte esencial del fenómeno estudiado. Ciertamente, la intención de lo que aquí se expone no es explicar las minuciosas interacciones moleculares que dan lugar a los

procesos celulares en cuestión, sino sentar las bases para un marco de trabajo donde se pueden conciliar los dos procesos vitales.

La tesis se divide en tres capítulos. En el primer capítulo revisamos el modelo de O’Leary et. al (2014) para un control homeostático de la expresión genética de los canales iónicos y enfatizamos su carácter lento a comparación de la actividad eléctrica rápida del potencial de membrana. Exponemos cómo este controlador regula el calcio intracelular por medio de un ciclo de retroalimentación. En la sección 1.2 ahondamos en la redundancia y la gran flexibilidad que esto le confiere a las neuronas. Después presentamos la acción y los efectos de los neuromoduladores, así como las interacciones aberrantes entre la neuromodulación y la homeostasis. La última sección de este capítulo se enfoca en las patologías y motiva la búsqueda de cómo evitarlas.

En el segundo capítulo, el más formal matemáticamente, definimos a la variedad homeostática como el subespacio en el espacio de conductancias donde se mantiene el *set-point*. Esto permite hablar de un espacio seguro donde la modulación puede actuar de manera compatible con el controlador. Exploramos las propiedades de este espacio y después lo confrontamos con los efectos de la modulación. Es decir, nos preguntamos si la variedad homeostática es invariante bajo la acción de ciertos moduladores, y si es así, qué hace que sean compatibles dichos moduladores. En la sección 2.3 presentamos la herramienta más importante para responder a estas preguntas: el Teorema de Transversalidad de Thom. Este teorema asegura que la variedad homeostática es transversa a distintos estados de actividad neuronal producto de la modulación y nos dice, por lo tanto, que puede haber modulación dentro de la variedad homeostática.

El capítulo tres contiene las simulaciones numéricas que corroboran la teoría. Se presentan los resultados que se obtuvieron al modular de distintas maneras una neurona del modelo basado en conductancias de [6] que, además, está sujeta al controlador homeostático. Los varios mapas de parámetros que presentamos revelan la transversalidad de la variedad homeostática con las curvas de nivel de la *burstiness*, una propiedad que mide el efecto de la modulación en la actividad eléctrica neuronal. Mostramos que estos resultados son ciertos para distintos *set-points* y distintos moduladores. Finalmente, en la última sección del capítulo 3, destacamos la importancia de reconocer la modulación compatible con la homeostasis al modular fuera de la variedad homeostática y encontrar patologías.



Capítulo 1

Homeostasis, neuromodulación y patologías homeostáticas

En este capítulo presentamos los conceptos clave del trabajo: el de controlador homeostático y de neuromodulación, así como las ecuaciones que los modelan y las interacciones entre estos dos mecanismos. Revisamos las bases biológicas necesarias con el propósito de motivar la pregunta que se plantea hacia el final del capítulo: ¿cómo reconciliar la homeostasis con la neuromodulación?

1.1. Homeostasis neuronal

La homeostasis es la capacidad de autorregulación que tiene cualquier sistema biológico para mantener su función aún frente a perturbaciones. Así, la homeostasis neuronal consiste en la autorregulación de las células nerviosas a fin de mantener una función neuronal robusta pese a perturbaciones externas. En efecto, las neuronas presentan un gran repertorio de comportamientos variables en respuesta a las exigencias biológicas que surgen a lo largo de toda la vida. La homeostasis les permite tener esta flexibilidad para adaptarse a dichas alteraciones y al mismo tiempo mantener un balance en los niveles globales de actividad, preservando continuamente la función.

Para lograr una compensación dinámica es crucial contar con una señal del estado interno de la neurona, un sensor bioquímico que ella misma pueda leer para saber cuándo es necesario compensar un “error” o desviación del equilibrio y encender la maquinaria homeostática. En el modelo biológico de homeostasis de O’Leary et. al. (2014), [1], que presentamos a continuación la concentración de calcio intracelular, $[Ca^{2+}]$, juega el papel del sensor de actividad.

1.1.1. Un modelo a base de calcio

Una señal relevante para la actividad eléctrica neuronal es la concentración de calcio citosólico pues está asociada a los canales transmembranales dependientes de calcio, los cuales, al igual que los canales dependientes de voltaje, influyen notablemente en la dinámica eléctrica de una neurona [7]. Se ha encontrado que este sensor juega un papel importante en la regulación de varios canales iónicos [8], [9]. Además, el calcio actúa como mensajero secundario en

la señalización intracelular para rutas metabólicas y una cantidad de reacciones en cascada relacionadas con crecimiento, diferenciación y plasticidad de las células [10], [11]. Es por esto que en O'Leary et. al. (2014) se modela la regulación a nivel de expresión genética de canales iónicos vía la retroalimentación del calcio intracelular.

La expresión de las proteínas que conforman a los canales iónicos depende de la cantidad de ARN mensajero (mRNA) para dichos canales que se encuentre disponible en la célula. Por otro lado, asumimos que la producción y/o degradación de mRNA depende de la activación de factores de transcripción. Un factor de transcripción es una proteína que se liga al ADN y regula la expresión genética por medio de la represión o promoción de la transcripción de ADN a mRNA. Un factor de transcripción, que denotamos como T , puede ser un complejo enzimático o alguna enzima sensible a Ca^{2+} [12]; de este modo entra al modelo una dependencia en el sensor de la actividad neuronal.

El factor de transcripción T se produce a tasa α_T y su degradación es saturada a una tasa $\beta_T([Ca^{2+}])$, función dependiente del calcio. El mRNA, denotado como R simplemente, se sintetiza a una tasa α_R promovida por T y se degrada a una tasa β_R proporcionalmente con la cantidad de mRNA existente. A su vez la proteína de canal, g , se sintetiza con una tasa α_g a partir de R y se degrada de manera similar que R , con tasa β_g proporcionalmente a la cantidad existente de proteína. Por la ley de acción de masas [13], las tres ecuaciones correspondientes son

$$\begin{aligned}\dot{T} &= \alpha_T - \beta_T([Ca^{2+}]) \\ \dot{R} &= \alpha_R T - \beta_R R \\ \dot{g} &= \alpha_g R - \beta_g g.\end{aligned}\tag{1.1}$$

En general no sabemos qué forma tiene la función $\beta_T([Ca^{2+}])$ pero si el dominio de unión de T al ADN depende sólo de una reacción que involucra al calcio entonces es razonable pensar que esta es una función de Hill [14] (o cualquier función monótona positiva). Supongamos que F es un factor que se liga a Ca^{2+} en el dominio de unión de T al ADN por medio de la siguiente reacción



Entonces la tasa de degradación de T , $\beta_T([Ca^{2+}])$, es proporcional a la fracción de equilibrio del factor ligado al calcio $FCa^{2+} =: C$, que llamamos el complejo. En la aproximación de estado cuasi-estable, es decir, cuando las tasas de las reacciones (1.2) (hacia adelante, k_f , y hacia atrás, k_b) son mucho menores que las tasas en las reacciones que ocupan a T , podemos despejar a la concentración $[C]$ de la ecuación $[\dot{C}] = 0$ y tenemos que la fracción para el complejo al equilibrio es

$$\beta_T([Ca^{2+}]) \approx [C] \propto \frac{[Ca^{2+}]}{[Ca^{2+}] + K}\tag{1.3}$$

donde $K = k_b/k_f$.

Por simplicidad tomamos una aproximación lineal de la función de Hill (1.3) y haremos esta dependencia $\beta_T([Ca^{2+}]) = \beta_T \cdot [Ca^{2+}]$, donde β_T es una tasa fija. Es decir, a mayor concentración de calcio, más se liga el factor de transcripción al ADN y más se reprime la expresión de mRNA. Resolviendo para el estado estable de la ecuación

$$\dot{T} = \alpha_T - \beta_T \cdot [Ca^{2+}] = \beta_T(Ca_{tgt} - [Ca^{2+}]). \quad (1.4)$$

tenemos que $\dot{T} = 0$ se cumple para un único valor de $[Ca^{2+}]$, el **calcio objetivo** o *target* $Ca_{tgt} = \alpha_T/\beta_T$.

Ahora mostramos que el sistema está en el equilibrio cuando el calcio intracelular es en promedio Ca_{tgt} . Reescribiendo la ecuación de la evolución para T con este nuevo término podemos ver que T integra explícitamente la diferencia del calcio en cada instante del tiempo con respecto al calcio objetivo. Esta diferencia representa el error que el controlador homeostático debe compensar.

$$T = \beta_T \int (Ca_{tgt} - [Ca^{2+}]) dt. \quad (1.5)$$

El estado de equilibrio ($\dot{T} = 0$) al que se busca siempre regresar determina, por ejemplo, el tipo celular o la actividad basal de las neuronas. Esta clase de propiedades características de una neurona se consideran como *set-points* durante el desarrollo. También en la madurez el sistema está controlado por un ciclo de retroalimentación donde R aumenta siguiendo el error integrado que T monitorea y g se ajusta de acuerdo con R . Puesto que g controla la expresión de canales iónicos y, consecuentemente, las conductancias y el potencial de membrana de la neurona, la actividad eléctrica promedio se puede recuperar a partir de un mapeo estático de las conductancias. El calcio intracelular reporta la actividad eléctrica y así, la dinámica de Ca^{2+} está engranada con g a la salida del sistema (1.1) y con T a la entrada. El lazo que cierra el ciclo de retroalimentación es, por lo tanto, susceptible al efecto de los neuromoduladores actuando sobre la dinámica eléctrica neuronal.

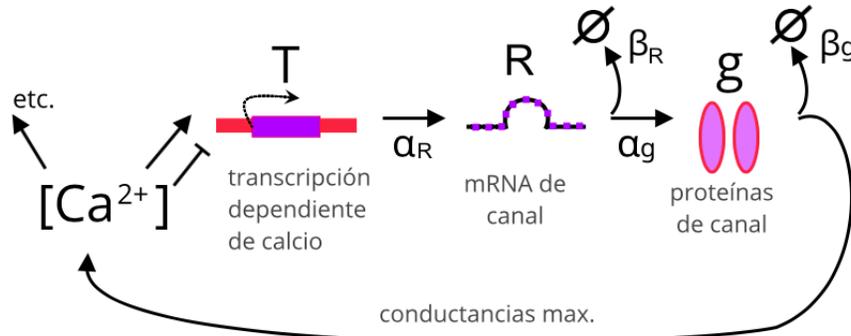


Figura 1.1: Esquema de retroalimentación en el controlador homeostático.

Puesto que la solución para R aproximada a primer orden es $\frac{\alpha_R}{\beta_R}T + O(t)$, podemos llegar a una forma simplificada y equivalente del sistema (1.1) si juntamos las ecuaciones para T y R

en una sola y reemplazamos tasas de reacción por constantes de tiempo: $\dot{R} = \frac{1}{\tau}(Ca_{tgt} - [Ca^{2+}])$ con $\tau = \frac{\beta_R}{\alpha_R \beta_T}$.

Si nuestro modelo neuronal comprende varias conductancias, digamos n , entonces para cada canal iónico $i = 1 \dots n$ pasamos de una terna de ecuaciones a un sistema reducido,

$$\begin{aligned}\tau_i \dot{R}_i &= Ca_{tgt} - [Ca^{2+}] \\ \tau_g \dot{g}_i &= R_i - g_i.\end{aligned}\tag{1.6}$$

Los valores fisiológicos para τ_g , que representa una constante temporal para la expresión de canales, son del orden de decenas de horas a días, o sea aproximadamente 10^5 segundos. Se ha visto experimentalmente que cambios compensatorios en conductancias ocurren durante horas o días [15], [16]. Para optimizar el tiempo de cómputo, aquí las tomamos del orden de 10^3 segundos. Análogamente, las $\tau_i = \frac{\beta_{Ri}}{\alpha_{Ri} \beta_T}$ también las tomamos entre el orden de $10^3 s$ y $10^4 s$ en las simulaciones numéricas, de modo que la evolución de las dos ecuaciones de arriba resulta muy lenta a comparación de la dinámica eléctrica de una neurona.

La ventaja de esta diferencia de escalas temporales es que pequeñas irregularidades en la concentración de calcio en el soma son amortiguadas por la diferencia de escalas. Al ser promediadas en una larga ventana temporal, no afectan al control homeostático. Una primera explicación para la flexibilidad neuronal queda manifiesta con este resultado, inspirado en observaciones biológicas.

Como la solución para $R_i(t)$ es $\frac{1}{\tau_i}t(Ca_{tgt} - [Ca^{2+}]) + k_1$ y la solución para $g_i(t)$ es $\frac{1}{\tau_i}(t - \tau_g)(Ca_{tgt} - [Ca^{2+}]) + (k_2 - k_1)e^{-t/\tau_g} + k_1$ entonces la única manera de obtener soluciones acotadas es si $Ca_{tgt} - [Ca^{2+}] \rightarrow 0$. Es decir, la convergencia del sistema (1.6) está condicionada por la convergencia de $[Ca^{2+}] \rightarrow Ca_{tgt}$.

En lo que sigue nos referimos al sistema (1.6) como el **controlador homeostático**. Como ya notamos, la información acerca de las tasas de las reacciones está codificada en las constantes de tiempo τ_i para cada especie iónica. Una neurona con una cierta traza electrofisiológica característica tendrá tasas de expresión de canales que mantengan esta traza, y por ende, las constantes de tiempo τ 's se agrupan en clases específicas para tipos neuronales. Esto significa que las τ 's determinan correlaciones en la expresión de las conductancias en el estado estable. Considerando conductancias y concentraciones de mRNA iniciales pequeñas podemos ver que, tras el periodo de desarrollo, es decir en el estado estable (a un tiempo t_{ss}) de la célula madura

$$g_i \approx R_i = \frac{1}{\tau_i} \int_0^{t_{ss}} (Ca_{tgt} - [Ca^{2+}]) dt.\tag{1.7}$$

Por lo tanto la relación que cumplen los cocientes de las proteínas de canal (o bien las conductancias) en el estado estable es $g_i/g_j \approx \tau_j/\tau_i$. Dependiendo de estas correlaciones para las conductancias se encuentran características electrofisiológicas particulares ya que la dinámica eléctrica neuronal se rige por la ecuación

$$C\dot{V} = \sum_{i=1}^n \bar{g}_i m_i^{p_i} h_i^{q_i} (V - E_i) \quad (1.8)$$

donde $m_i^{p_i}$ y $h_i^{q_i}$ son las funciones (dependientes de voltaje) de activación e inactivación del canal iónico i en p_i y q_i compuertas respectivamente, E_i es el potencial de equilibrio y C es la capacitancia de membrana. Esta ecuación se deduce de las Leyes de Kirchoff para circuitos. Se sigue que los cocientes para las distintas conductancias máximas $\bar{g}_i = g_i(t_{ss})$ determinan en gran medida el tipo de actividad basal de una neurona. Sin embargo, como veremos a continuación, es posible tener varias combinaciones de conductancias máximas que lleven todas a la misma actividad neuronal.

1.2. Redundancia

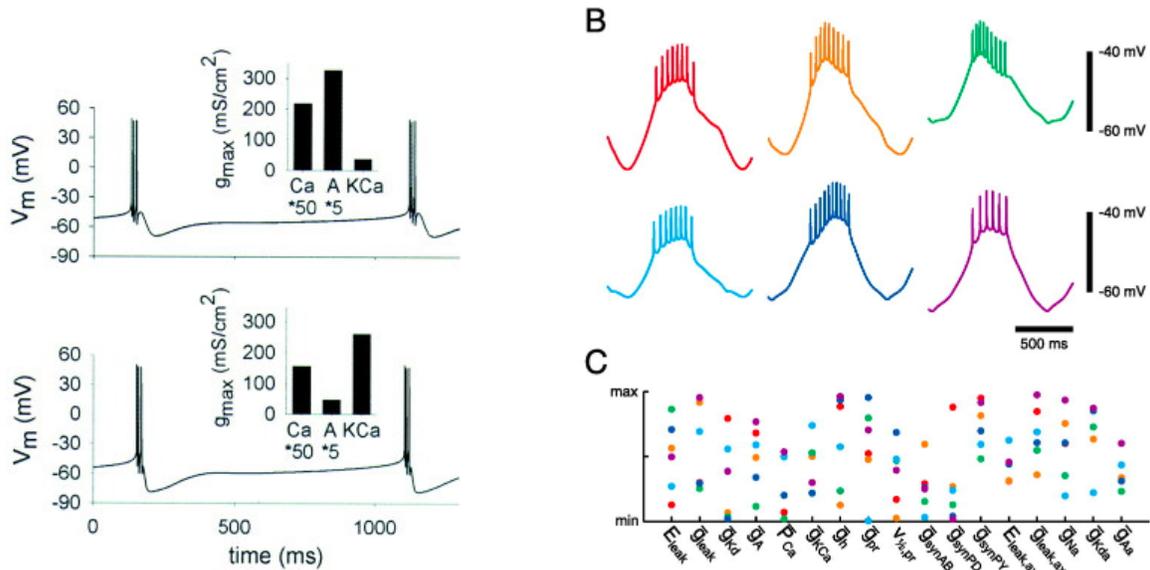
Se conoce como redundancia al traslape en las propiedades electrofisiológicas de distintos canales iónicos. Es decir, hay redundancia cuando varias corrientes moduladas independientemente tienen efectos compartidos en la actividad neuronal. Un ejemplo sencillo se puede encontrar en [17], donde muestran que en un modelo tipo Connor-Stevens (modelo basado en conductancias) aumentar una corriente de calcio tipo L puede producir transiciones en la frecuencia mínima de disparo (excitabilidad tipo-I a tipo-II y de nuevo a tipo-I) de manera análoga a como aumentar una corriente de potasio tipo A lo hace.

Hay un par de observaciones sobre el ejemplo mencionado. Primero, las trazas del potencial de membrana no se ven afectadas por el aumento a ninguna de las dos corrientes. Segundo, el umbral de corriente aplicada necesario para que la neurona dispare se comporta de manera opuesta para las dos corrientes: si I_A aumenta entonces el umbral aumenta pero si I_L aumenta entonces el umbral disminuye. La doble cara de estas dos corrientes en diferentes propiedades indica que hay que tener cuidado al usar el término *redundancia*. En resumen, para hablar de redundancia es preciso especificar —redundancia *en una propiedad particular*.

Más aún, se encontró que si las densidades de ambos canales, tanto de calcio como de potasio, se regulan al mismo tiempo entonces se pueden modular ambas propiedades independientemente. Esta última observación sugiere que una neurona que exprese más corrientes puede tener mayor flexibilidad y mayor control para modular selectivamente alguna(s) propiedad(es) [18]. Así, un beneficio de la redundancia es que enriquece el juego que trata de moldear cada una de las características neuronales deseadas teniendo un cierto número de conductancias. La idea es que distintos movimientos de nuestras piezas de juego llevan al mismo resultado.

En este trabajo la propiedad sobre la cual nos enfocamos es el régimen de disparo, ya sea en ráfagas o en modo tónico, que se lee en la traza del voltaje. La diversidad en combinaciones de conductancias subyacentes a una actividad eléctrica ha sido ampliamente estudiada, en [19], [20], [17] entre otros. Por ejemplo, en neuronas motoras del ganglio estomatogástrico del cangrejo (STG por sus siglas en inglés) se conoce la expresión de múltiples canales de potasio con dinámicas similares [21]. Además, se sabe que modular las propiedades de disparo de una neurona puede presentar dependencias redundantes en un gran número de corrientes y

no sólo de una especie. En la figura 1.2 se puede ver redundancia de las conductancias en ráfagas (a) y ráfagas sobre mesetas (b).



(a) Modelo tipo STG de 5 conductancias, tomado de [22].

(b) Modelo compartamental de neurona pilórica lateral en STG, tomado de [23].

Figura 1.2: Dos ejemplos de neuronas del STG, (a) y (b), muestran que a pesar de reclutar conductancias maximales muy variadas la actividad promedio es muy similar en cada caso.

Esto implica que en la práctica la redundancia complica el estudio de las relaciones causales entre las conductancias y la excitabilidad neuronal. Sin embargo, se ha demostrado que una clasificación de los canales iónicos de acuerdo a las escalas temporales de su activación/inactivación puede ayudarnos a entender su rol en la excitabilidad [24], [25]. Adicionalmente, se han encontrado experimentalmente indicios de las correlaciones por parejas en el STG [26], en el ganglio cardíaco del cangrejo [27] y en mamíferos también [28].

Si se derivan condiciones sobre las conductancias a partir de las ecuaciones del controlador al estado estable se pueden encontrar ciertas direcciones en el espacio de conductancias a lo largo de las cuales la actividad neuronal se mantiene en un nivel constante. Incluso diversas distribuciones de correlaciones en las conductancias pueden convivir dentro de una hipersuperficie que contenga dichas direcciones gracias a la redundancia. Por esto nuestro enfoque es aprovechar que mientras más canales iónicos tenga nuestro modelo, entonces habrá más posibilidades para las conductancias que pueden ser la solución a una actividad promedio dada.

Una consecuencia importante de la redundancia es, por lo tanto, que la regulación de conductancias individuales puede no ocurrir en la dirección homeostáticamente correcta, siempre y cuando un número suficiente de conductancias restantes compense para este cambio [29].

Cuando hay redundancia, las conductancias tienen margen para cumplir con la regla homeostática porque existen diversas opciones esparcidas en el espacio de conductancias, todas ellas compatibles con la condición homeostática *i.e.* deben ser parte de la hipersuperficie.

Hemos revisado brevemente porqué la homeostasis es robusta a la regulación de conductancias redundantes. Ya mencionamos la insensibilidad a movimientos de conductancias a lo largo de las direcciones redundantes pero, con tanta heterogeneidad, ¿cómo puede un neuromodulador actuar de manera confiable en distintas células? Añadiendo a las complicaciones, es de notar que los efectos de ciertos neuromoduladores pueden ser dependientes de estado. Así que aún si un modulador no altera la actividad neuronal directamente, puede cambiar el efecto de moduladores que sí la alteren directamente por medio de esta dependencia de estado.

Por otro lado, existen también direcciones sensibles donde pequeños cambios en algunas conductancias alteran drásticamente la actividad resultante [22]. ¿Qué ocurre cuando nos movemos en dichas direcciones sensibles? Por ejemplo, adelantamos que en las figuras 2.4 y 3.1 se pueden ver algunas direcciones tanto sensibles como insensibles, y las explicaremos más adelante. Antes de hablar de las direcciones homeostáticas, necesitamos comprender los movimientos en el espacio de conductancias y su interpretación en cuanto a la neuromodulación. Para estudiar qué tanto el controlador homeostático se ve afectado por la modulación, primero definamos lo que entendemos por neuromodulación.

1.3. Neuromodulación

Regular el flujo de las corrientes dependientes de voltaje, alterar las propiedades eléctricas y así cambiar la actividad neuronal de un patrón a otro, aumentar la eficacia sináptica o reconfigurar la conectividad sináptica son todos efectos de neuromoduladores [30] [31] [32]. Los neuromoduladores son sustancias producto del metabolismo que influyen en todas las regiones de las células nerviosas y se difunden por el fluido extracelular. Algunos neuromoduladores de los más conocidos son la serotonina, dopamina, oxitocina, acetilcolina, adrenalina y el ácido gamma aminobutírico (GABA).

Por una serie de reacciones en cascada que a menudo involucran varias enzimas, los neuromoduladores indirectamente potencian la respuesta excitatoria o inhibitoria de los receptores metabotrópicos (acoplados a proteínas G, movilizan a segundos mensajeros) en la membrana; ver figura 1.3. La señalización con receptores metabotrópicos por lo general toma más tiempo que con los receptores ionotrópicos (canales iónicos activados por neurotransmisores o ligados). Dado que la neuromodulación forma un universo extremadamente complejo, haremos dos supuestos que simplifican nuestro tratamiento de la misma.

Los neuromoduladores típicamente tardan centenas de milisegundos a minutos en actuar, lo cual representa una escala temporal mucho más rápida que aquella en la cual situamos al controlador homeostático. Es por esto que modelamos la neuromodulación como un proceso instantáneo y, en principio, sin interacciones cualitativamente relevantes con la homeostasis pero sí directamente con la dinámica eléctrica neuronal. Luego, debemos aglomerar la serie de reacciones bioquímicas que pasan por la maquinaria celular durante la neuromodulación para poder ponerla en conversación con el controlador homeostático. Suponemos entonces que

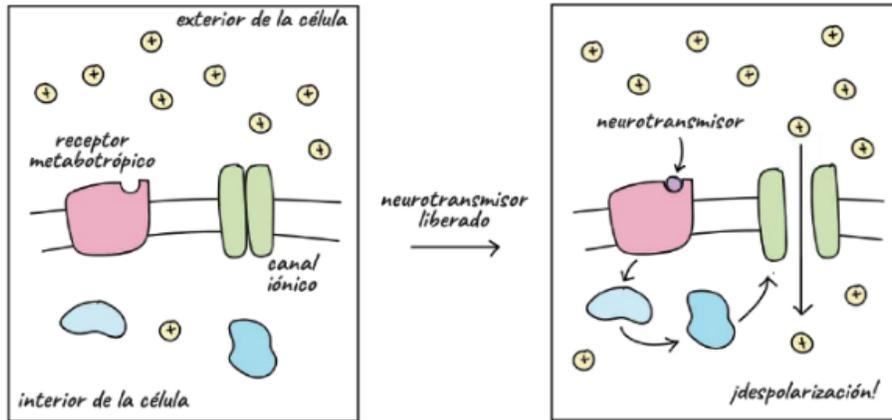


Figura 1.3: La neuromodulación activa un receptor metabotrópico. Tomada de [33]

un neuromodulador sencillamente modifica las conductancias máximas \bar{g}_i para cada especie de canal y únicamente mientras sea aplicado. Tales modificaciones pueden ser escalamientos desde 1/20 y hasta 9 veces el valor original de una conductancia [27].

Intuitivamente, la separación de escalas temporales implica que modular por un periodo corto relativo al controlador no tendrá consecuencias desbalanceantes en la actividad neuronal y, al ser removido el neuromodulador, se restablecerá el estado previo a la modulación porque no se habrá modificado la expresión genética de los canales iónicos. La figura 1.4 captura uno de los efectos moduladores más comunes que se encuentra por igual en distintas áreas del cerebro. Con una duración de 2 segundos, la neuromodulación aquí reduce las conductancias de potasio tipo A y calcio tipo T en un décimo cada una y resulta en un cambio de disparo: ráfagas por *spikes* tónicos.

Debido al aumento en el calcio intracelular que produce la depolarización por los *spikes* de alta frecuencia, el sensor homeostático registra un error y entonces un promedio inmediato del calcio, digamos por cada segundo, indicado en la figura 1.4 encima de la traza inferior, se desvía del valor objetivo que es $50 \mu M$. Pero dicho error momentáneo influye muy poco en el calcio promedio si se integra por un periodo que abarque más que el periodo de modulación, en este caso 2 segundos. Como el controlador homeostático integra la desviación del calcio en una escala temporal mucho más lenta, entonces el efecto de la modulación aguda quedará diluido en un valor del calcio casi constante.

Esto muestra que la modulación arbitraria de corta duración es aceptada por el controlador homeostático. Sin embargo, comúnmente no estarán desacoplados los mecanismos de neuromodulación y de homeostasis. En la generación de patrones motores [34], así como en el desempeño de tareas de atención o incluso durante el sueño [35] los cambios en el comportamiento neuronal son prolongados o recurrentes. En muchas instancias podríamos asociar a estos cambios un *switch* neuronal —silencioso/activo o *bursts/spikes* por ejemplo —inmediato y reversible. Pero, ¿qué ocurre si el efecto no es reversible, si no es duradero?

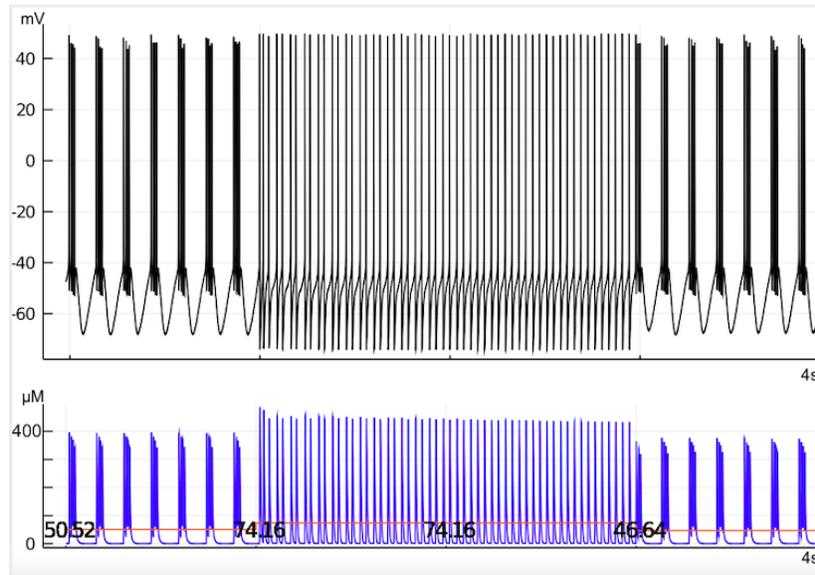


Figura 1.4: Modulación aguda que produce un *switch* en el modo de disparo, de ráfagas a tónico, con un aumento del 48 % en calcio intracelular (instantáneo, marcado con barra naranja) durante la modulación. Traza de voltaje arriba y concentración de calcio abajo.

1.4. Patologías

Cuando neuromodulación y homeostasis interfieren una con la otra en detrimento de la función neuronal óptima encontramos patologías. Esto es de esperarse en escenarios de modulación prolongada, pues un cambio sostenido en la actividad neuronal ya no da como promedio el valor esperado (C_{atgt}) para el sensor. En estos casos el controlador homeostático ajusta las densidades de las conductancias para corregir la desviación del sensor, potencialmente produciendo compensaciones aberrantes. Aquí presentamos dos situaciones patológicas suscitadas por una interacción desbalanceante sostenida del controlador homeostático con el neuromodulador.

1.4.1. Abstinencia

La incapacidad de hacer que el *switch* inducido por neuromoduladores sea reversible es un problema que se puede encontrar en sistemas nerviosos biológicos a gran y pequeña escala. Diremos que hay abstinencia si al dejar de aplicar el modulador la neurona no regresa a su actividad basal previa. Una razón importante para estudiar la robustez de la homeostasis neuronal frente a disfunciones es que incluso si se recupera la actividad promedio después de aplicar un neuromodulador que requirió de la regulación de conductancias, la neurona puede quedar más vulnerable a alteraciones subsecuentes; si un tipo de canal se elimina, por ejemplo, entonces la neurona no podrá mantener el patrón de disparo original [36].

En el ejemplo de la figura 1.5 modulamos las conductancias g_{Na} de sodio, y g_{CaS} g_{CaT} de dos tipos de calcio, todas cruciales para generar los potenciales de acción, la primera por un factor de 0.01 y las otras dos por un factor de 0.05 durante 30 segundos (tiempo simulado). En todas nuestras simulaciones implementamos el modelo de [1]. Al término de la modulación

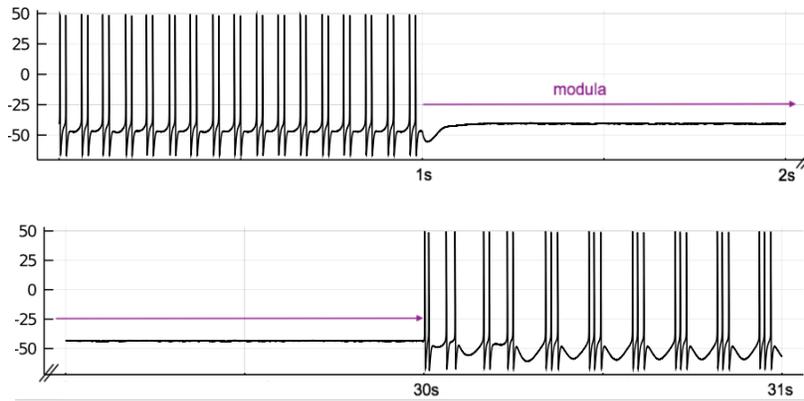


Figura 1.5: Traza del voltaje (en mV) pre-, durante y post- modulación. Hay abstinencia al dejar de aplicarse el modulador que silenció a la neurona.

la neurona no regresa al modo de disparo inicial. Se pierden los dobletes (ver Glosario) para ser remplazados por ráfagas de tres picos. Pese a la regulación subyacente del controlador homeostático, el error que se registra en el calcio intracelular al silenciarse la neurona es tan significativo al momento de ajustar de las conductancias, que la neurona no se puede recuperar adecuadamente.

Si medimos las conductancias notamos que todas aumentan hasta casi el doble de su valor inicial mientras la modulación se aplica, figura 1.6, ya que el controlador busca compensar la falta de corrientes depolarizantes. Como se ve en la figura 1.5 las propiedades de disparo intrínsecas de la neurona quedan perturbadas después de quitar el neuromodulador, indicando que no se logró la recuperación en las densidades de los canales hacia los valores iniciales.

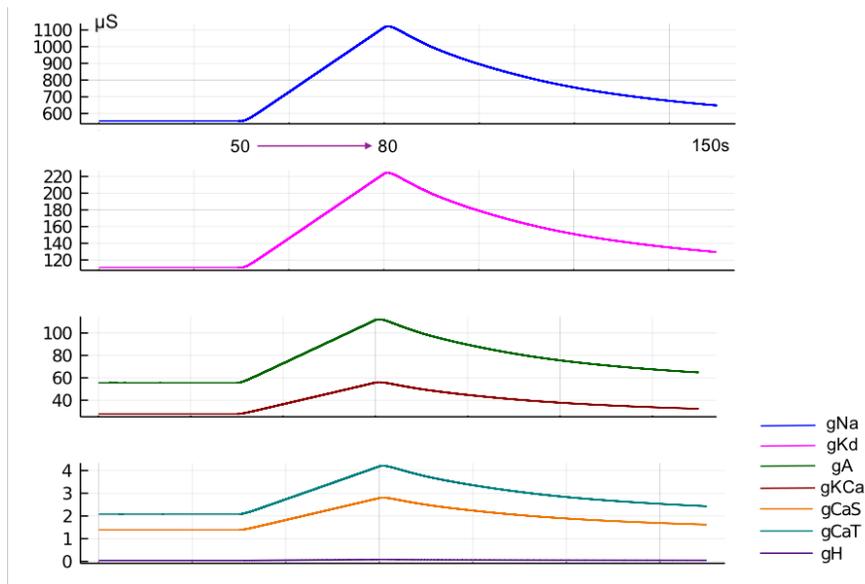


Figura 1.6: Evolución de las conductancias (en micro Siemens) reguladas por el controlador homeostático. La modulación en el lapso que indica la flecha morada.

1.4.2. Desensibilización

Si el efecto de un neuromodulador se pierde mientras aún continúa la aplicación del modulador decimos que hay desensibilización. Por ejemplo, al eliminar por completo las corrientes de calcio lenta I_{CaS} y de calcio transitorio I_{CaT} (haciendo $g_{CaS} = g_{CaT} = 0$) en una neurona que en principio dispara de manera tónica a alta frecuencia se obtiene la figura 1.7. Vemos que la neurona pasa a disparos de mayor amplitud, con mesetas hiperpolarizadas, y de menor frecuencia inmediatamente después de que se modula. Sin embargo, tras 50 segundos de modulación sostenida la neurona vuelve a aumentar su frecuencia de disparo, sin regresar al régimen pre-modulación, y ahora se intercalan dos formas de disparo que marcan la diferencia con respecto al estado inmediato post-modulación, es decir la desensibilización.

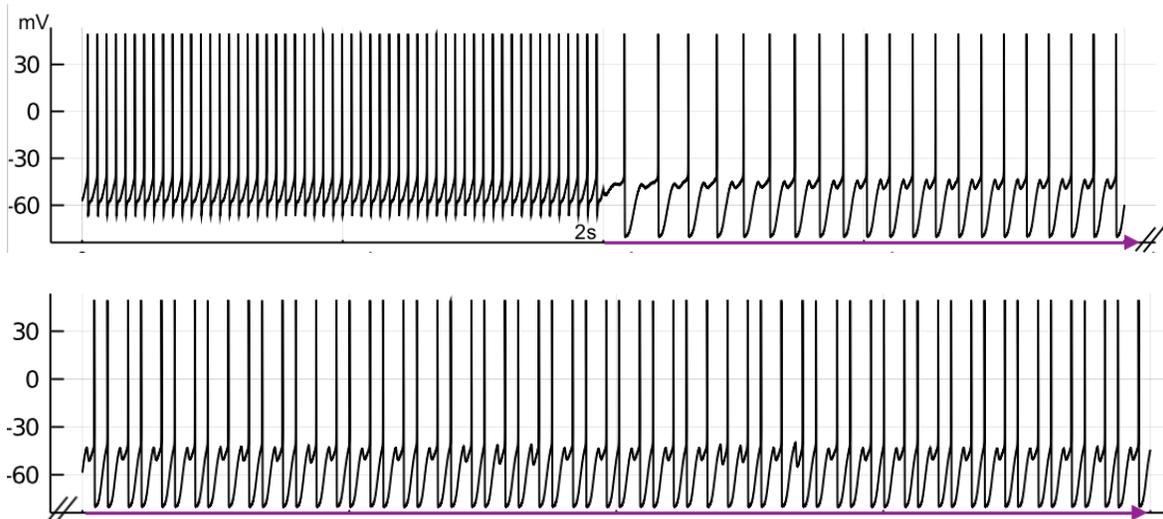


Figura 1.7: Desensibilización. Traza del voltaje antes y al inicio de la modulación (arriba); al estado estable aún modulado (abajo).

Finalmente, después de ver los riesgos de una modulación incompatible con el controlador, queda la pregunta ¿cuándo no interfiere la modulación con la homeostasis? Y de manera más amplia ¿cómo es compatible la neuromodulación con la homeostasis? En el próximo capítulo ahondamos en dos tipos de subespacios importantes para ayudarnos a entender cómo se organiza el espacio de conductancias donde ocurren los dos procesos. Veremos con más detalle lo que intuimos desde ahora, que la compatibilidad en general depende del controlador homeostático abarcando la mayor cantidad de comportamientos. Mostraremos además cómo se pueden evitar patologías si las señales moduladoras se escogen adecuadamente dentro de los dominios del controlador homeostático.

Capítulo 2

Compatibilidad entre homeostasis y neuromodulación

En este capítulo definimos dos clases de variedades de interés en el espacio de conductancias. Una es la hipersuperficie a la que ya aludíamos desde el primer capítulo, y que ahora definimos formalmente como la variedad homeostática. La otra clase de variedades son las curvas de nivel para una propiedad electrofisiológica vista como función continua de las conductancias en \mathbb{R} . Una vez que probemos que ambas estructuras viven en un espacio común entonces podremos relacionarlas con el Teorema de Transversalidad de Thom. Las intersecciones entre ellas serán el objeto de estudio para comprobar la existencia de espacios compatibles a modulación y homeostasis.

2.1. Variedad homeostática

Nótese que aquí pensamos en las variables $[Ca^{2+}]$ y V no como valores instantáneos sino como sus promedios en una ventana de tiempo que suaviza la dinámica rápida del calcio y del voltaje. Denotamos a los promedios $\tilde{C}a$ y \tilde{V} . Sabemos que el potencial de membrana se comporta de manera no lineal y cambia rápidamente pero, *grosso modo*, se puede pensar como una variable que fluctúa alrededor de un estado semi-estable (un promedio del potencial en su estado estable) dependiendo del flujo de corrientes iónicas que atraviesan la membrana.

Dado que los canales de calcio se activan por despolarización, la relación que hay entre voltaje y concentración de calcio es: a mayor voltaje, mayor concentración. Pero como los canales de calcio no permanecen abiertos indefinidamente la concentración de calcio debe estar acotada superiormente; además debe ser siempre positiva por la interpretación que le damos. Una clase de funciones que cumplen con todo lo anterior son las sigmoides, por ejemplo una sigmoide particular saturada en Ca_{max} es

$$S(\tilde{V}) = \frac{Ca_{max}}{1 + \exp[-\tilde{V}]}.$$

En el espacio de conductancias n -dimensional se puede definir el subespacio donde está permitido moverse sin alterar el sensor homeostático. Puesto que el controlador homeostático solo impone una condición, a saber $[Ca^{2+}] = Ca_{tgt}$, y la concentración intracelular del calcio

se puede ver como una función de las conductancias, mostraremos que para cada Ca_{tgt} hay un subespacio de codimensión 1 en el espacio de conductancias donde se cumple la condición homeostática. Más específicamente, se espera que $S(\tilde{V}) = \tilde{C}a$ donde S es una sigmoide en general, y a su vez $\tilde{V} = V(\mathbf{g})$ es función del vector de conductancias $\mathbf{g} = (g_1, \dots, g_n)$.

Las sigmoides siempre tienen derivada positiva y son invertibles (restringidas a su imagen) así que para todo $Ca_{tgt} \in \text{Range}(S)$ existe $S^{-1}(Ca_{tgt})$. Queremos resolver $S^{-1}(Ca_{tgt}) = \tilde{V} = V(\mathbf{g})$ en el espacio positivo $\mathbb{R}_+^n = \{(g_1, \dots, g_n) \mid g_i > 0 \forall i = 1, \dots, n\}$.

Llamamos al subespacio definido por esta ecuación la **variedad homeostática**,

$$H := \{(g_1, \dots, g_n) \in \mathbb{R}_+^n \mid S(V(\mathbf{g})) = Ca_{tgt}\}.$$

Equivalentemente, la variedad homeostática H es el conjunto de nivel 0 de la transformación $F(\mathbf{g}) = S(V(\mathbf{g})) - Ca_{tgt}$. Como esta no es una transformación lineal, la variedad homeostática no necesariamente tiene estructura de subespacio vectorial lineal (notése que no contiene al origen) pero sí hereda de \mathbb{R}_+^n una estructura de subespacio topológico. Más aún, si F es diferenciable y además cumple una condición de regularidad en el 0 entonces se puede probar con todo rigor que H es una subvariedad de codimensión 1 de \mathbb{R}_+^n .

Recordemos que un subconjunto M de una variedad n -dimensional N es una subvariedad m -dimensional si para cada punto $p \in M$ existe un abierto $U \subset N$ y un homeomorfismo $\phi : U \rightarrow \phi(U) \subset \mathbb{R}^n$ tal que $p \in U$ y $\phi(M \cap U) = \mathbb{R}^m \cap \phi(U)$. Reescribiendo de otro modo la misma definición, esto dice que para cada $p \in M$ existen coordenadas locales x_1, \dots, x_n definidas en $U \subset N$ vecindad abierta de p tal que $M \cap U$ está dado por $x_{m+1} = 0, \dots, x_n = 0$. Teniendo en cuenta que estas ecuaciones sólo son válidas dentro de U , es útil contar con la carta donde M está dado localmente por las ecuaciones $x_{m+1} = 0, \dots, x_n = 0$. El número de ecuaciones que igualamos a cero, en general $n - m$, es la codimensión $\text{codim}(M) = \text{dim}(N) - \text{dim}(M)$.

Dada la definición anterior nos interesa usar una variación del Teorema de la Función Implícita.

Proposición 2.1.1 *Sea X variedad suave, $f : X \rightarrow \mathbb{R}$ suave y sea $M = \{x \in X \mid f(x) = 0\}$ el conjunto de nivel de f en 0. Suponga también que el gradiente de f , i.e. el vector de sus derivadas parciales, no se anula en M . Entonces M es una subvariedad suave de X de codimensión 1.*

Demostración: Sea $p \in M$ un punto en el conjunto de nivel. Como el gradiente de f no se anula en p , entonces existe un $i \in \{1, \dots, n\}$ tal que $\frac{\partial f}{\partial x_i}(p) \neq 0$. Sin pérdida de generalidad suponemos que $i = n$; esto siempre se puede lograr renombrando las variables. Entonces el determinante del jacobiano del mapeo $(x_1, \dots, x_n) \mapsto (x_1, \dots, x_{n-1}, f)$ en el punto p es igual a $\frac{\partial f}{\partial x_n}(p) \neq 0$. Por el Teorema de la Función Implícita existe una vecindad de p , $U \subset X$, donde (x_1, \dots, x_{n-1}, f) es un sistema coordenado cerca de p . En la carta $(U; x_1, \dots, x_{n-1}, f)$ la última coordenada describe a $M \cap U$ como $f = 0$, así concluimos que M es una subvariedad de codimensión 1. \square

Como nuestro objetivo no es adentrarnos en la estructura diferencial de la variedad homeostática, no requerimos la condición *ser de clase* C^∞ así que nos conformamos con funciones f de clase C^k para alguna $k \geq 1$. En este caso la subvariedad M en la proposición anterior es de clase C^k también ya que el teorema de la función implícita preserva el orden de diferenciabilidad.

La proposición anterior es equivalente al Teorema del Valor Regular, también conocido como Teorema de la Preimagen o Teorema de la Submersión en topología diferencial [37]. Para enunciarlo en este contexto más general necesitamos las siguientes definiciones. Sean X, Y variedades y $f : X \rightarrow Y$ de clase C^k . Decimos que $x \in X$ es un *punto regular* de f si su derivada $df_x : T_x(X) \rightarrow T_y(Y)$ es no-singular, es decir, la matriz que define a df es invertible ¹. Para $y \in Y$, el codominio de f , diremos que y es un *valor regular* de f si $f^{-1}(y)$ contiene solo puntos regulares en X .

Teorema 2.1.2 (Valor Regular) *Si $y \in Y$ es un valor regular de $f : X \rightarrow Y$ de clase C^k entonces $f^{-1}(y)$ es una subvariedad de X de codimensión $\dim(Y)$ y de clase C^k .*

Buscamos aplicar estos resultados a nuestra función $F(\mathbf{g}) : \mathbb{R}_+^n \rightarrow \mathbb{R}$. Como tenemos una composición, analicemos quién es $\nabla F = S'(\tilde{V})\nabla V$.

La sigmoide $S(\tilde{V})$ que planteamos al inicio del capítulo es diferenciable con derivada continua y $S'(\tilde{V}) > 0$ para toda \tilde{V} . Ahora, para poder usar el teorema necesitamos que $V(\mathbf{g})$ cumpla la condición de regularidad. Proponemos entonces las siguientes *hipótesis*:

* $V(\mathbf{g})$ es una función continua, cuyas derivadas parciales con respecto a cada g_i existen y por lo menos alguna de ellas es distinta de 0 cuando evaluamos en los puntos que satisfacen la condición del controlador.

Esto equivale a pedir que el promedio \tilde{V} tenga una tasa de cambio no nula con respecto a alguna variable cuando las demás se mantienen fijas, o bien que no sea constante en una dirección. Entonces, mientras \tilde{V} varíe infinitesimalmente con una de las conductancias por lo menos (cuando éstas estén en el equilibrio homeostático), tenemos asegurado que $\nabla V \neq 0$.

Se puede argumentar que las hipótesis son razonables. El hecho que en todos los \mathbf{g} tales que \tilde{V} es justo el valor que se corresponde con el calcio objetivo, un cambio en alguna dirección del espacio de conductancias se refleje en un pequeño cambio en \tilde{V} implica que sobre H debe haber fluctuaciones provenientes de $V(\mathbf{g})$. De nuevo, esto significa que H acomoda distintos tipos de actividad eléctrica pero que, en promedio, son indistinguibles para el controlador.

Si se cumple lo anterior, tendremos que la composición $S \circ V$ y finalmente la traslación $F(\mathbf{g}) = S(V(\mathbf{g})) - Ca_{tgt}$ es función de clase C^1 . Podemos asegurar que $F^{-1}(0) = \{\mathbf{g} \mid F(\mathbf{g}) = 0\} = \{\mathbf{g} \mid S(V(\mathbf{g})) = Ca_{tgt}\}$ contiene puros puntos regulares, o sea que ∇F no se anula en estos puntos, siempre y cuando $V(\mathbf{g})$ cumpla específicamente $\nabla V \neq 0$ en $F^{-1}(0)$. Haciendo uso del Teorema 2.1.2 concluimos que $H = F^{-1}(0)$ es subvariedad de \mathbb{R}_+^n .

∇F se calcula evaluando en los puntos del espacio de conductancias que aseguren satisfacer el valor de calcio objetivo, pero nótese que no se utiliza explícitamente el valor que

¹Equivalentemente df_x es suryectiva

tome Ca_{tgt} . Es decir, para cada valor de calcio objetivo (medible experimentalmente) que corresponda a un estado estable de una neurona, existe la variedad homeostática asociada a dicho valor objetivo del controlador. Además el Teorema del Valor Regular asegura que $codim(H) = 1$ lo que quiere decir que el número de dimensiones en las cuales nos podemos mover sobre la variedad homeostática es $n - 1$. Esto significa que en el espacio de conductancias hay una gran libertad de movimiento dentro de la variedad homeostática.

Podemos imaginar que H tiene pedazos grandes, conexos, contenidos en el espacio \mathbb{R}_+^n . Veamos que localmente H es de hecho la gráfica de una función continua. Sabemos que para cada $p \in H$ existe $U \subset \mathbb{R}_+^n$ vecindad de p y existe $F \in C^1(U)$ tal que $H \cap U = \{\mathbf{g} \in U \mid F(\mathbf{g}) = 0\}$ y ∇F no se anula en $H \cap U$. Por el Teorema de la Función Implícita, localmente podemos resolver $F(\mathbf{g}) = 0$ para despejar alguna variable, digamos g_n , en función de las demás. Obtenemos $g_n = \phi_n(g_1, \dots, g_{n-1})$ con $\phi_n : W' \subset \mathbb{R}_+^{n-1} \rightarrow \mathbb{R}$ una función diferenciable definida en un abierto W' . Esto significa que la gráfica $Graph(\phi_n) = \{(\hat{g}, \phi_n(\hat{g})) : \hat{g} \in W'\}$ es parte del conjunto de conductancias que definen a H .

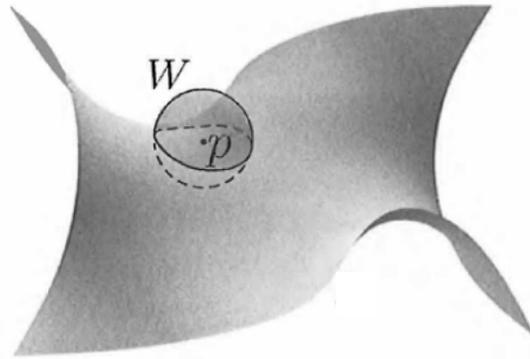


Figura 2.1: Ejemplo de separación local en \mathbb{R}^3 por gráfica de una superficie. Tomada de [38].

Con la gráfica de ϕ_n es posible identificar si un punto cerca de $Graph(\phi_n)$ se encuentra arriba o abajo de ella. Es decir, para cada punto en H existe una vecindad abierta del punto, W como se muestra en la figura 2.1, tal que $W \cap H$ es conexo y H separa el espacio ambiente restringido a W . En general $W' \subset W$.

Quisiéramos extender esta última idea de manera que H se pueda ver globalmente como la gráfica de una función continua de \mathbb{R}_+^{n-1} a \mathbb{R} . Para lograrlo, lo que nos hace falta es una expresión concreta de F , en particular una $V(\mathbf{g})$ definida explícitamente que permita despejar a una variable en todo \mathbb{R}_+^{n-1} . Como veremos a continuación, con un ejemplo sencillo ganamos mayor intuición de la pinta de H pero el costo a pagar es una aproximación burda para \tilde{V} que termina linealizando a H .

2.1.1. Aproximando a H

Como ya mencionamos, V depende del flujo de corrientes iónicas que atraviesan la membrana y \tilde{V} promedia a V . La mejor manera de comprender el flujo transmembranal total es con los potenciales de equilibrio E_i ya que nos permiten separar la aportación de cada corriente al potencial de membrana.

La ecuación de Nernst

$$E_i = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{[Ion_i]_{in}}{[Ion_i]_{out}} \right) \quad (2.1)$$

indica que el potencial de equilibrio, también llamado potencial de reversa, de una especie iónica queda determinado cuando el flujo neto de iones, que se mueven de acuerdo a los gradientes de concentraciones que hay entre el exterior y el interior de la célula, es nulo. Las unidades para el voltaje surgen de las constantes de gases R , de temperatura T y de Faraday F del lado derecho de la ecuación (2.1). La carga iónica z no tiene unidades.

Las corrientes iónicas son proporcionales a la diferencia de potenciales ($V - E_i$). Esto significa que cada corriente iónica tiende a desplazar el potencial de membrana hacia su potencial de equilibrio. Por ejemplo, en el caso del potasio, $I_K = g_K(V - E_K)$ es una corriente hiperpolarizante porque tiende a acercar el potencial de membrana a $E_K \approx -90 \text{ mV}$. La concentración intracelular del potasio es mayor que la concentración extracelular, consiguientemente I_K es una corriente saliente. En general se tiene $E_K < E_{Cl} < V_{rest} < E_{Na} < E_{Ca}$ de modo que I_{Na}, I_{Ca} son corrientes entrantes e I_K, I_{Cl} son corrientes salientes [39].

Para acabar de describir a las corrientes de forma más precisa falta hablar de las conductancias, las cuales representan la permeabilidad de la membrana a los iones. Las conductancias máximas \bar{g}_i junto con las funciones de activación e inactivación ($m_i^{p_i}$ y $h_i^{q_i}$ en la sección 1.1) producen conductancias dinámicas que denotamos simplemente por g_i . Retomamos entonces la ecuación (1.8) donde se encuentran explícitamente las conductancias g_i y manipulamos para despejar a V . Si $C\dot{V} = \sum_{i=1}^n g_i(V - E_i)$, entonces la “media” de V al equilibrio se encuentra siguiendo

$$\dot{V} = 0 \implies \tilde{V} = \frac{\sum_{i=1}^n g_i E_i}{\sum_{i=1}^n g_i}. \quad (2.2)$$

Teniendo esta expresión para el voltaje de membrana promedio, y optando por la asignación más sucinta $V(\mathbf{g})$ para referirnos a la ecuación anterior, regresemos a la función compuesta $S(\tilde{V})$ cuando toma el valor de interés C_{atgt} .

Ahora el análisis de regularidad para $V(\mathbf{g})$ es como sigue: la función en (2.2) es continua fuera del origen (no hay problemas en \mathbb{R}_+^n) y tiene derivadas parciales continuas con respecto

$$\text{a cada } g_i: \frac{\partial V}{\partial g_i} = \frac{\sum_{j \neq i} (E_i - E_j) g_j}{(\sum_{i=1}^n g_i)^2}.$$

Vemos que en la entrada i del vector ∇V la suma en el numerador $\sum_{j \neq i} (E_i - E_j) g_j \neq 0$ para al menos una $i \neq j$. Sabemos que $E_{Na} (> 0)$ difiere de $E_K (< 0)$ en 140 mV aproximadamente, y cualquier modelo a base de conductancias mínimo incluye al sodio y al potasio. Pero no basta con pedir que $E_i \neq E_j$ ya que si todos los E_i fueran distintos pero del mismo signo (sin pérdida de generalidad, positivos) entonces \tilde{V} siempre sería positiva, así que para valores

$Ca_{tgt} < Ca_{max}/2$ no habría solución a la ecuación $F(\mathbf{g}) = 0$. Es razonable pedir que dos potenciales de equilibrio cumplan $E_i < 0 < E_j$ pues, de no ser así, todas las corrientes iónicas transmembranales serían unidireccionales y no se podrían generar potenciales de acción.

Despejando explícitamente a g_n de $S^{-1}(Ca_{tgt}) = V(\mathbf{g})$ se pueden imponer condiciones sobre los E_i de modo que H sea la gráfica de ϕ_n globalmente. Esta observación motiva nuestra propia

Proposición 2.1.3 *Las condiciones*

- $Ca_{tgt} \in \text{Range}(S) = (0, Ca_{max})$
- $S^{-1}(Ca_{tgt}) \in \text{Conv}(\{E_i\}_{i=1}^n)$, la envoltura convexa en \mathbb{R} de los potenciales de equilibrio; y además existe $E_n \neq S^{-1}(Ca_{tgt})$.

son suficientes para la existencia de un subespacio conexo de soluciones $\mathbf{g} \in H$.

Demostración: Como ya discutimos la primera condición, sólo demostramos que la última condición surge al escribir la función ϕ_n a partir de $S^{-1}(Ca_{tgt}) = V(\mathbf{g})$. Primero, por inspección de

$$S^{-1}(Ca_{tgt}) = \frac{\sum_{i=1}^n g_i E_i}{\sum_{i=1}^n g_i} \quad (2.3)$$

se tiene que $S^{-1}(Ca_{tgt})$ es una media ponderada de todos los E_i . Es decir, $S^{-1}(Ca_{tgt})$ tiene que estar en la envoltura convexa del conjunto de puntos $\{E_i\}_{i=1}^n$ para que exista una solución.

Luego, para que g_n quede en función de las otras conductancias, despejamos:

$$S^{-1}(Ca_{tgt}) = \frac{\sum_{i=1}^n g_i E_i}{\sum_{i=1}^n g_i} \implies g_n = \frac{\sum_{i=1}^{n-1} g_i (E_i - S^{-1}(Ca_{tgt}))}{S^{-1}(Ca_{tgt}) - E_n}$$

La condición sobre E_n (el subíndice es irrelevante módulo reordenamientos) nos dice que lo único que se debe cuidar es que el denominador no se anule. \square

Al ser g_n una combinación lineal de g_1, \dots, g_{n-1} , ϕ_n determina la ecuación de un hiperplano. Notemos que H es cerrado (topológicamente) por ser imagen inversa de la función continua F en el cerrado $\{0\}$ y es conexo por ser la gráfica de un espacio conexo (\mathbb{R}_+^{n-1}) bajo la función continua ϕ_n . Por lo tanto tenemos una variedad (sin frontera) de dimensión $n - 1$ cerrada y conexas.

Puesto que las conductancias son variables fisiológicas acotadas, sería lógico que la función ϕ_n tuviera soporte compacto. Sin embargo, no restringimos el dominio ya que un ajuste en magnitud a la norma de $\mathbf{g} \in H$ resulta en un factor común en todas las g_i 's que se cancela en (2.3) y se absorbe por la capacitancia C en la ecuación para \dot{V} .

El que la variedad homeostática se pueda ver como la gráfica de una función lineal es consecuencia de usar el potencial de membrana V aproximado por una ecuación (2.2) que ignora las no-linealidades rápidas. Recordemos que esta perspectiva está validada por la escala temporal en la cual evoluciona el mecanismo homeostático, y el comentario inicial sobre las variables promedio; pero también recordemos que normalmente esperamos que H esté dado de manera implícita y resulte ser una variedad más complicada.

Para terminar con esta sección, enunciamos una propiedad de separación que da una cierta intuición sobre cómo alcanzar la variedad homeostática si estamos fuera de ella. Es natural separar el espacio ambiente notando que la última coordenada en H es la frontera de dos componentes conexas tales que $g_n > \phi_n(g_1, \dots, g_{n-1})$ y $g_n < \phi_n(g_1, \dots, g_{n-1})$ en cada una de ellas.

Teorema 2.1.4 H separa el espacio de conductancias en dos componentes conexas.

Esto implica que un rayo basado en el origen y determinado por el conjunto de las correlaciones g_i/g_j que mencionamos en la sección 1.1 debe cruzarse con H en algún momento. Esto sugiere que los escalamientos de conjuntos de conductancias lejanos a H pueden ser la solución para encontrar un punto sobre la variedad que mantenga el mismo patrón de actividad preservado a lo largo del rayo. Entendemos por *escalamientos* de las conductancias a múltiplos del conjunto original, o sea $\kappa \cdot \{g_1, \dots, g_n\}$ con $\kappa > 0$.

La acción del controlador homeostático es precisamente esta: módulo factores de escala lineales, las correlaciones por parejas se pueden regular hacia arriba o hacia abajo de sus valores iniciales. Cuando esto sucede, en general $\tilde{C}a$ cambia. Así el controlador regula el calcio y los niveles de expresión relativos de las conductancias son conservados pese a posible variabilidad en las densidades absolutas.

2.2. Conjuntos de nivel de propiedades electrofisiológicas

Consideremos ahora otros conjuntos de nivel en el espacio de conductancias. Definimos los conjuntos de nivel de una propiedad P , por ejemplo la *burstiness* de una neurona, como $P_c = \{(g_1, \dots, g_n) \in \mathbb{R}_+^n \mid P(g_1, \dots, g_n) = c\}$. Se sobreentiende que P es una función de las conductancias que mide la propiedad (P también) y toma valores $c \in \mathbb{R}$. Pedimos que la función sea por lo menos continua para poder hablar de conjuntos de nivel como antes; en este caso sabemos que cada P_c es cerrado en \mathbb{R}_+^n .

Aquí escogimos medir la *burstiness* porque esta propiedad distingue entre un régimen de disparo en ráfagas, o tónico/silencioso. Para que haya *bursting* en una neurona es necesario que el potencial de membrana siga una transición rítmica entre dos modos, uno de disparo y uno de reposo. Si B es la *burstiness*, la forma clásica de medir a B es con la fórmula $(spb \times ibf)/periodo$ donde spb son los *spikes per burst* e ibf es la frecuencia intra-*burst*. Llamamos a esta una medida discreta ya que funciona como un contador de picos (potenciales de acción) y para calcular cada término es necesario tener explícitamente la serie de tiempo

de los disparos.

Supongamos que en lugar de los tiempos de disparo conocemos la concentración intracelular de calcio en cada tiempo t , digamos $Ca(t, \mathbf{g})$ vista como trayectoria que depende de los parámetros g_1, \dots, g_n . Proponemos una función continua que mide a B en un intervalo (t_0, t_f) dada por $B = (U * D)/L^2$ donde $L = t_f - t_0$,

$$U = \frac{1}{L} \int_{t_0}^{t_f} B_{up}(Ca(t, \mathbf{g})) dt,$$

$$D = \frac{1}{L} \int_{t_0}^{t_f} B_{down}(Ca(t, \mathbf{g})) dt$$

y

$$B_{up}(Ca) = \frac{1}{1 + \exp(-r(Ca - Umbral_{Up}))}$$

$$B_{down}(Ca) = \frac{1}{1 + \exp(r(Ca - Umbral_{Down}))}.$$

Los parámetros de ajuste, r y los umbrales, modifican la pendiente de la sigmoides y el valor medio de activación.

Como el calcio sigue la traza del voltaje pero en un rango positivo $[0, Ca_{max}]$, las dos integrales U y D dan el área bajo la gráfica de las sigmoides B_{up} y B_{down} , las cuales discriminan a los potenciales de acción. Es decir retienen los picos y las bases de los *spikes*. La primera sigmoide es creciente y se activa en $Umbral_{Up}$ mientras que la segunda es decreciente y se inactiva en $Umbral_{Down}$. Lo que miden U y D respectivamente es cuántos *spikes* con influjo de calcio mayor a $Umbral_{Up}$ ($=\frac{1}{2}Ca_{max}$ por ejemplo) ocurrieron en un intervalo de tiempo (t_0, t_f) y cuánto tiempo el calcio se mantuvo por debajo de $Umbral_{Down}$.

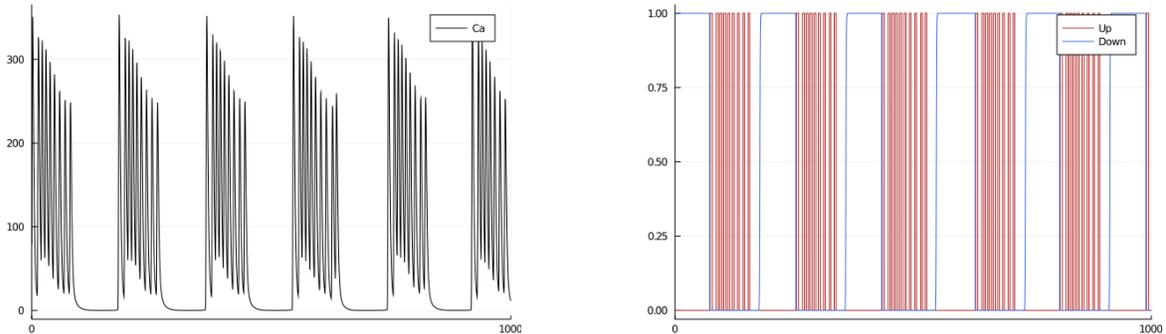


Figura 2.2: Separación en partes altas y bajas del calcio.

La figura 2.2 muestra del lado derecho el resultado de separar con estas sigmoides una traza de calcio como la del lado izquierdo. Puesto que U y D toman a dos funciones cuyos

valores están entre 0 y 1, queremos que la parte de abajo, D , sea tan significativa como el contador de picos de la parte de arriba al momento de multiplicarse en B . Si B_{down} se mantiene en 1 por suficiente tiempo entonces actúa como indicador del periodo *inter-burst*.

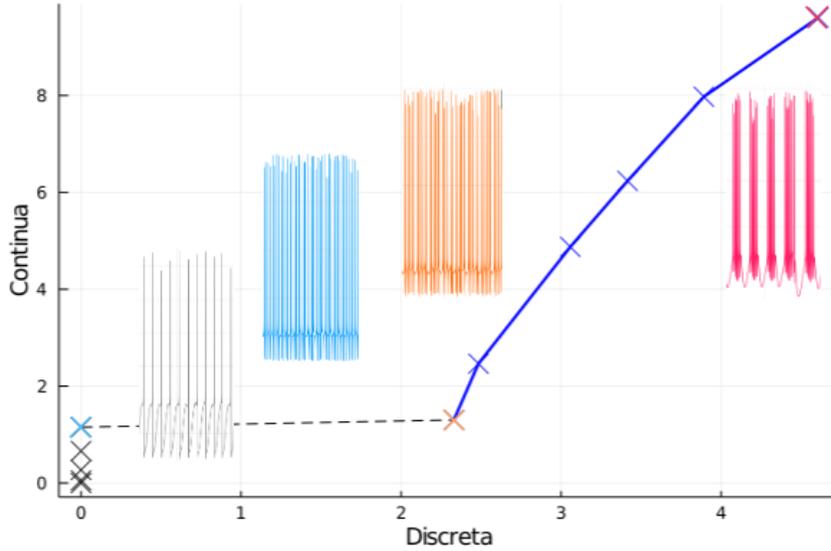


Figura 2.3: Comparación entre medida de *burstiness* continua y discreta.

Esta medida $B = (U * D) / L^2$ tiene la ventaja de que para disparos tónicos de alta frecuencia la *burstiness* es muy pequeña pero no igual a cero, como ocurre con la medida discreta, y sólo los disparos tónicos de baja frecuencia se miden como cero. En la figura 2.3 se comparan ambas medidas de *burstiness* correspondientes a disparos tónicos de baja frecuencia (la traza color gris) y a disparos tónicos de alta frecuencia (en cian). También se muestra la traza de voltaje del primer punto (naranja) donde la medida discreta es mayor a 2. La transición discontinua en el eje discreto es de esperarse ya que la *burstiness* discreta está acotada inferiormente (al considerar únicamente los *bursts* en un sentido más estricto) y entonces es normal que de un brinco al pasar de cero a su cota inferior.

La figura 2.3 muestra que la B continua que definimos aquí, junto con la medida clásica, permite diferenciar los tres tipos de disparos que comentamos antes. Además se puede ver que a partir del 2 en el eje discreto, o sea ráfagas con estrictamente más de un *spike*, la relación entre ambas medidas es casi lineal. Esto justifica el uso de la medida continua para definir los conjuntos de nivel de *burstiness* en la teoría. Para las simulaciones, los resultados tanto de ésta como de la medida discreta son muy similares a nivel cualitativo.

Aprovechando lo que se estableció en la sección pasada, ahora veamos qué estructura tienen los conjuntos de nivel $B_c = \{\mathbf{g} \in \mathbb{R}_+^n \mid B(Ca(\cdot, \mathbf{g})) = c\}$. Podemos aplicar todos los resultados que tenemos ya sobre la construcción e identificación de las variedades de codimensión 1 a estos conjuntos de nivel. Como B es función continua y derivable de las trayectorias $Ca(\cdot, \mathbf{g})$ entonces los conjuntos B_c son variedades de codimensión 1 también.

Si queremos entender cómo mantener una *burstiness* constante para así describir los conjuntos de nivel en la práctica, debemos preguntarnos cómo cambia la *burstiness* con las conductancias. En [25] se muestra que un análisis de sensibilidad de la actividad neuronal a cambios en las densidades de canales en la membrana permite cuantificar sistemáticamente la influencia de cada conductancia sobre distintas características, y en general propiedades intrínsecas de excitabilidad, que le dan forma a los potenciales de acción. Primero se agrupa a las corrientes iónicas en tres categorías - rápidas (I_f), lentas (I_s) y ultralentas (I_u) - de las cuales las últimas dos representan las escalas temporales en las cuales se desarrollan las ráfagas. Las interacciones entre las conductancias de cada grupo determinan la dinámica neuronal, por lo tanto allí proponen una visión englobante de estas interacciones en las llamadas conductancias input-dinámicas.

Las conductancias input-dinámicas son curvas dependientes de voltaje que se construyen a partir de la relación dinámica corriente-voltaje en cada escala temporal. Para la escala rápida, por ejemplo, $\Delta I_f = G_f(V)\Delta V$, es decir que la conductancia dependiente de voltaje $G_f(V)$ expresa la sensibilidad a variaciones rápidas de corriente. Pero $\Delta I_f = \left(\frac{\partial I_f}{\partial V}\right)^{-1}\Delta V$, de donde se obtiene la conductancia input-dinámica rápida $G_f(V) = -\frac{\partial I_f}{\partial V}$. $G_s(V)$ y $G_u(V)$ se deducen análogamente. Estas conductancias input-dinámicas cuantifican la ganancia (dependiente de voltaje) que se obtiene de un ciclo de retroalimentación en una escala temporal particular.

Lo que nos interesa en el análisis de sensibilidad de G_f, G_s y G_u es la existencia de un mecanismo de compensación frente a perturbaciones en una conductancia, donde se utilizan las curvas de sensibilidad. Tomando $\frac{\partial G_{\{f,s,u\}}}{\partial g_i}$ para cada conductancia g_i se calculan dichas curvas de sensibilidad, de nuevo dependientes de voltaje ². Ahora, conociendo el efecto de la variación de cada una de las conductancias de un modelo sobre las conductancias input-dinámicas, es decir las curvas de sensibilidad, el mecanismo de compensación busca minimizar el cambio total en las conductancias input-dinámicas cuando una conductancia (un parámetro) se mueve. El resto de las conductancias pueden compensar la desviación de la actividad con respecto al estado previo.

La idea es aprovechar la predicción de las sensibilidades en las G_f, G_s y G_u , y luego utilizar la información que estas conductancias input-dinámicas proporcionan sobre la actividad neuronal de modo que las curvas $G_{\{f,s,u\}}(V)$ (o valores característicos, relevantes, en cada una de ellas) mantengan la misma forma. Se deben fijar los valores a mantener constantes en las curvas —cuatro funcionan bien de acuerdo con [25]. Luego se resuelve un sistema de ecuaciones lineales de la forma $A\mathbf{x} = \mathbf{b}$, donde A es una matriz de sensibilidades, \mathbf{b} son las diferencias con respecto a esos valores que se buscan mantener y \mathbf{x} son las soluciones de las cuatro conductancias a ajustar.

La figura 2.4 ilustra el mecanismo de compensación en acción. En este ejemplo las conductancias que compensan una variación en la dirección sensible g_{CaS} son tres: g_A, g_{Kd} y g_{KCa} , aparte de la corriente aplicada. Aquí se ven afectadas las escalas lenta y ultralenta (cambio a ráfagas) cuando g_{CaS} aumenta. Es importante notar que no se lograría compensar si las

²No escribimos explícitamente la dependencia en el voltaje por claridad.

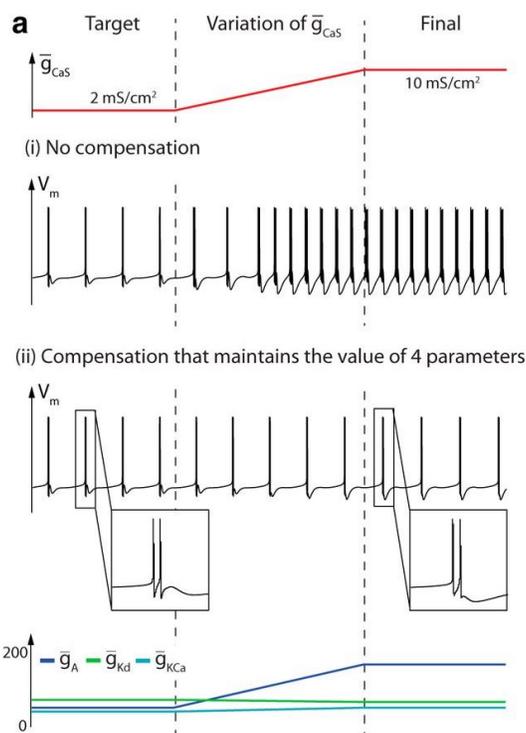


Figura 2.4: Tras un aumento en g_{CaS} que modifica el modo de disparo de la neurona cuando no hay mecanismo de compensación, se muestra cómo mantener la *burstiness* constante con el ajuste de tres conductancias. g_{KCa} aumenta ligeramente para compensar en la escala ultralenta; para compensar en la escala lenta g_A aumenta y g_{Kd} disminuye. Tomada de [25].

conductancias que se ajustan no abarcan todas las escalas temporales afectadas. También hay que notar que la falta de redundancia en un modelo a base de conductancias limitaría esta capacidad de compensación.

Esto implica que los conjuntos de nivel B_c contienen subespacios lineales de codimensión 4. Efectivamente, si podemos encontrar una combinación lineal de algunas conductancias compensatorias g_1, \dots, g_k que contrarresten el efecto de variaciones en el parámetro g_i , entonces a g_i le corresponde un elemento en $\text{span}(g_1, \dots, g_k)$. Por lo tanto $g_i \in \text{span}(g_1, \dots, g_k) \implies (g_1, \dots, g_k, \dots, g_i, \dots, g_n) \in B_c$.

2.3. Mecanismos de compatibilidad

En esta sección veremos cómo se intersectan en el espacio de conductancias las variedades que presentamos en las dos secciones previas. Reuniremos las herramientas matemáticas necesarias e investigaremos qué significa una intersección transversa en nuestro contexto. Haremos uso de la estabilidad de las intersecciones transversas y del Teorema de Transversalidad de Thom (T.T.T.), que implica que la transversalidad es genérica, para probar que la

homeostasis es compatible con la modulación de manera genérica y robusta.

2.3.1. Transversalidad

El espacio tangente a la variedad k -dimensional $X \subset \mathbb{R}^n$ en el punto x , denotado $T_x X$, es el espacio lineal que mejor aproxima a X en ese punto. Si ψ parametriza a X alrededor de x , es decir $\psi : U \subset \mathbb{R}^k \rightarrow X$ y $\psi(0) = x$, entonces se define $T_x X = \text{Im}(D_0\psi)$ donde $D_0\psi$ es la derivada de ψ en 0, o sea el mapeo lineal dado por la matriz jacobiana de ψ en 0 [40].

Las dos definiciones que necesitamos son la de transversalidad y genericidad.

Definición 1: Sean X, Y variedades y Z subvariedad de Y . Sea $f : X \rightarrow Y$ suave. La intersección de f con Z es **transversa**, escrito $f \bar{\cap} Z$, si $\forall x \in f^{-1}(Z)$ se cumple $\text{Im}(D_x f) + T_{f(x)} Z = T_{f(x)} Y$.

En el caso en que f sea la inclusión podemos hablar de transversalidad de subvariedades. Si X es subvariedad de Y entonces X y Z se **intersectan transversalmente**, escrito $X \bar{\cap} Z$, si $\forall x \in X \cap Z$ se cumple $T_x X + T_x Z = T_x Y$.

Cuando $i : X \hookrightarrow Y$ es tal que $i \bar{\cap} Z$, o sea $X \bar{\cap} Z$, se puede construir un mapeo suave $\Phi : Y \rightarrow \mathbb{R}$ de manera que $i^{-1}(Z) = X \cap Z = \Phi^{-1}(0)$. Viendo que el 0 es valor regular de Φ se prueba que

Teorema 2.3.1 Si $X \bar{\cap} Z$ entonces $X \cap Z \subset Y$ es subvariedad de Y y además $\text{codim}(X \cap Z) = \text{codim}(X) + \text{codim}(Z)$.

Intuitivamente la transversalidad es lo contrario a que los espacios tangentes sean paralelos y significa que el ángulo de intersección infinitesimal entre las dos subvariedades no es nulo. Si lo fuera entonces compartirían vectores tangentes y no se podría generar el espacio tangente completo de la variedad ambiente. Así que $X \bar{\cap} Z$ depende de las dimensiones de los espacios tangentes como subespacios vectoriales (y sabemos que $\text{dim}(X) = \text{dim}(T_x X)$), pues si suman menos que la dimensión de $T_x Y$ entonces no se cumple la condición.

Nótese que si la intersección $X \cap Z$ es vacía entonces $X \bar{\cap} Z$ por vacuidad. Si Z consiste de un solo punto z se recupera la noción de regularidad. En efecto, $f \bar{\cap} Z$ si y sólo si z es un valor regular de f . Un mapeo $f : X \rightarrow Y$ es una *submersión* si $D_x f : T_x X \rightarrow T_{f(x)} Y$ es suprayectiva para cada x . Se sigue que las submersiones son transversas a toda subvariedad.

La transversalidad, al igual que la tangencia, describe la forma en que se intersectan dos variedades, pero a diferencia de la tangencia, que se rompe muy fácilmente, tiene la ventaja de ser estable. La estabilidad nos dice que se puede deformar a una f_0 un poquito en cualquier sentido (pensemos: con cualquier homotopía) sin perder la propiedad que tiene f_0 . Veamos que la intersección transversa de una variedad X con respecto a otra variedad fija Z , ambas subvariedades de una misma variedad Y , es una propiedad estable. Las deformaciones en X o Z (intercambiables) se pueden interpretar como deformaciones en la inclusión i , así que tomamos $f_0 = i$.

Siguiendo la idea de la demostración que se encuentra en [41], lo primero que hay que notar es que la transversalidad $f_0 \bar{\cap} Z$ impone condiciones sobre $\text{Im}(D_x f_0)$. Cuando f_0 es la

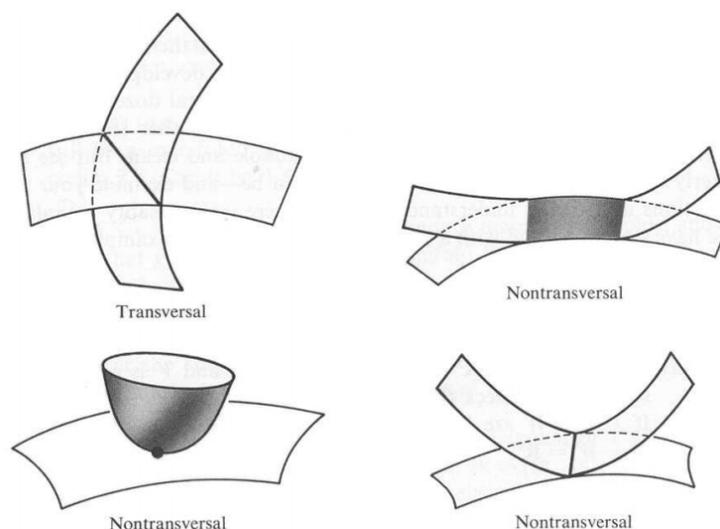


Figura 2.5: Ejemplos de superficies en \mathbb{R}^3 . Tomada de [40].

inclusión $D_x i$ es la inclusión de $T_x X$ en $T_{i(x)} Y$ e $Im(D_x i) = T_x X$, así que si pensamos en este espacio lineal como la imagen de la transformación dada por la matriz Jacobiana de $D_x i$, se adivina que la clave de la demostración es, naturalmente, la continuidad de las derivadas parciales en el Jacobiano.

Para probar que todos los mapeos en una vecindad homotópica de f_0 son transversales a Z , tomamos $x \in i^{-1}(Z) = X \cap Z$ y notamos que por hipótesis $D_x f_0$ debe contener una submatriz cuadrada de tamaño $codim_Y(Z) = codim_Y(T_x Z)$ con determinante no nulo (rango completo). Pero, si $F : X \times I \rightarrow Y$ es la homotopía, entonces $D_x f_0 = D_{(x,0)} F$ y la continuidad de las derivadas parciales implica que hay una vecindad de $(x, 0)$ donde este sub-determinante nunca se anula.

Tenemos entonces que $X \bar{\cap} Z$ es estable bajo pequeñas deformaciones en cualquiera de las subvariedades. Partimos de la transversalidad y vimos que se preserva. En cambio la *genericidad*, sorprendentemente, no parte de nada. Es algo más fuerte que responde a la pregunta ¿qué tan cerca estás de la propiedad? Una definición provisional es que una propiedad de mapas es *genérica* si dada cualquier $f_0 \in C^r(X, Y)$, cualquier vecindad de f_0 tiene intersección no vacía con el conjunto que caracteriza a la propiedad, en nuestro caso $A = \{g \in C^r(X, Y) \mid g \bar{\cap} Z\}$.

El que una propiedad sea genérica expresa la facilidad con la que se puede hallar la propiedad, o bien qué tanto hay que perturbar a una función dada aleatoriamente para encontrar la propiedad. Es decir, aparece una idea de densidad: casi siempre se está cerca de A . Por esto, una vez que veamos que la transversalidad es genérica, probar una afirmación sobre transversalidad se traduce en probar que la afirmación es típicamente cierta.

Definición 2: Una propiedad de mapas es *genérica* si se cumple en un conjunto residual (conjunto que contiene la intersección numerable de abiertos densos) del espacio de funciones $C^r(X, Y)$.

Esta densidad está relacionada con el Teorema de Sard, el cual enunciamos por completud. De ahora en adelante pensamos que $Y = \mathbb{R}^n$.

Teorema 2.3.2 (Sard) *Dada cualquier función suave $f : X \rightarrow \mathbb{R}^n$, el conjunto de valores regulares de f es denso en \mathbb{R}^n .*

Para enunciar el T.T.T. en su versión paramétrica, consideremos S otra variedad y $Z \subset Y$ como antes. Sea $\{f_s\}$ una familia de mapeos suaves que varían de manera suave con una función suave $F : X \times S \rightarrow Y$.

Teorema 2.3.3 (Transversalidad de Thom) *Sean X, S y Y variedades, y Z subvariedad de Y . Sea $F : X \times S \rightarrow Y$ suave. Si $F \bar{\cap} Z$ entonces $f_s \bar{\cap} Z$ para casi todo $s \in S$.*

Idea de demostración: Lo que se prueba es que $f_s \bar{\cap} Z$ siempre que s sea un valor regular de $\pi|_W$ donde $W = F^{-1}(Z)$ es subvariedad de $X \times S$ y $\pi : X \times S \rightarrow S$ es la proyección en la segunda entrada. Entonces tomando un tal s y $x \in f_s^{-1}(Z)$ tal que $f_s(x) = z$ se sabe por hipótesis que $D_{(x,s)}F(T_{(x,s)}(X \times S)) + T_z Z = T_z Y$. Es decir, para cualquier $a \in T_z Y$ dado, existe $b \in T_{(x,s)}(X \times S)$ tal que $D_{(x,s)}F(b) - a \in T_z Z$.

Para probar que $f_s \bar{\cap} Z$ queremos un $v \in T_x X$ tal que $D_x f_s(v) - a \in T_z Z$. Como $T_{(x,s)}(X \times S) = T_x X \times T_s S$ entonces $b = (r, e) \in T_x X \times T_s S$. Si $e = 0$ entonces $v = r$ es el vector buscado pues $D_{(x,s)}F(r, 0) = D_x f_s(r)$.

Si $e \neq 0$, recurrimos a π y hacemos la observación de que todas las proyecciones son submersiones. Así que consideramos a $D_{(x,s)}\pi : T_x X \times T_s S \rightarrow T_s S$ la cual es suprayectiva en todos los puntos de $\pi^{-1}(s) \cap W$ por hipótesis de regularidad. Esto significa que como $e \in T_s S$, entonces $\exists (u, e) \in T_{(x,s)}W$ tal que $D_{(x,s)}\pi(u, e) = e$.

Finalmente, se verifica que $v = r - u$ es la solución puesto que $D_{(x,s)}F(u, e) \in T_z Z$ (ya que $F : W \rightarrow Z$) y agrupando adecuadamente se tiene

$$D_x f_s(r - u) - a = [D_{(x,s)}F(r, e) - a] - D_{(x,s)}F(u, e) \in T_z Z$$

al ser la resta de dos vectores en $T_z Z$. \square

Una prueba del T.T.T. ligeramente distinta a la clásica de Guillemin & Pollack [40] y fácil de leer se encuentra en [42] y un esbozo aún más condensado se puede ver en [43].

Veamos cómo este teorema permite demostrar que la transversalidad con respecto a una subvariedad es una propiedad densa cuando $Y = \mathbb{R}^n$.

Corolario: *Para $f : X \rightarrow \mathbb{R}^n$ suave y $Z \subset \mathbb{R}^n$ subvariedad, el conjunto $\{s \in B_\epsilon(\bar{0}) \subset \mathbb{R}^n \mid (f + s) \bar{\cap} Z\}$ es denso en \mathbb{R}^n .*

Demostración: Sea $f : X \rightarrow \mathbb{R}^n$ cualquiera. Tomemos a $S = B_\epsilon(\bar{0})$ una bola abierta en \mathbb{R}^n y definamos $F(x, s) = f(x) + s$. Entonces para cada x fijo $F(x, s)$ es simplemente una traslación de la bola abierta S , por lo tanto $D_{(x,s)}F$ es suprayectiva sobre todo $T_{F(x,s)}\mathbb{R}^n$. Esto implica que, sin importar quién sea Z , se cumple trivialmente $T_{F(x,s)}\mathbb{R}^n + T_{F(x,s)}Z = T_{F(x,s)}\mathbb{R}^n$ así que $F \bar{\cap} Z$.

Por el T.T.T. para casi toda $s \in B_\epsilon(\bar{0})$ el mapeo $f_s(x) = f(x) + s$ se intersecta transversalmente con Z . Concluimos que deformar a f arbitrariamente poco, esto es sumarle una cantidad s de tamaño ϵ , vuelve a f transversal a Z . \square

Teniendo una $s \in B_\epsilon(\bar{0})$ fija tal que $f_s \bar{\cap} Z$ se puede ver que f_s está en una vecindad básica alrededor de f en $C^r(X, Y)$ equipado con la topología de Whitney (ver apéndice). Como $f_s(x) = f(x) + s$ entonces todas las derivadas de f coinciden con las de f_s y el supremo de las distancias entre todas ellas es $\|s\| = \epsilon$. Por lo tanto hemos probado que A es denso en el espacio de funciones $C^r(X, Y)$. Más aún, [44] prueba que A es residual (lo cual implica densidad por el Teorema de Baire).

El hecho que una propiedad sea genérica es crucial para describir lo que ocurre en la práctica pues la genericidad implica que los ejemplos realmente observables tienen la propiedad deseada. Si empezamos con un ejemplo que no tiene la propiedad, se puede suponer que este ejemplo es “imperfecto” debido a incertidumbre, errores de aproximación, etc. pero por genericidad sabemos que estas pequeñas perturbaciones que ya anticipábamos sólo nos colocan a una pequeña distancia del ejemplo típico.

2.3.2. $H \bar{\cap} B_c$

Comprobamos ya que la intersección transversa de dos subvariedades es genérica. Retomando nuestras subvariedades de interés, si $X = H$, $Z = B_c$, $Y = \mathbb{R}_+^n$, e i la inclusión de H en \mathbb{R}^n , tenemos que $H \bar{\cap} B_c$ genéricamente y la intersección es una subvariedad de \mathbb{R}_+^n tal que $\text{codim}(H) + \text{codim}(B_c) = 2$. Esto es, $H \bar{\cap} B_c$ para casi todo nivel c , incluso cuando c no sea un valor fisiológicamente posible, es decir $H \cap B_c = \emptyset$. Estos casos no son interesantes pero ¿cómo sabemos que la transversalidad genérica no es trivial, *i.e.* que $H \cap B_c$ es realmente no vacía?

En principio podría existir la posibilidad de que su intersección fuera vacía y de hecho, como acabamos de mencionar, esperamos que lo sea para ciertos valores de *burstiness*. Esto es natural puesto que las neuronas tienen sus repertorios de disparo particulares, específicos a su función, así que no exhiben todos los niveles de *burstiness* posibles. Sin embargo, dado $\mathbf{g} \in H$ podemos medir $B(\mathbf{g})$ y entonces sabemos que H se intersecta transversalmente con la curva de nivel para esa medida.

¿Qué significa que la intersección de la variedad homeostática y las curvas de nivel de la *burstiness* sea transversal en términos biológicos? Primero, que pequeñas deformaciones en la variedad homeostática no alteran esta transversalidad, o sea que toda H observable (medible experimentalmente) es realmente transversal a las curvas de nivel. Dichas deformaciones pueden originarse por alteraciones en la actividad eléctrica causadas por la neuromodulación.

Segundo, significa que la intersección de los espacios tangentes de H y de B_c es mínima en el sentido de que al moverse localmente sobre H (literalmente a lo largo de $T_p H$), B cambia y las conductancias a las que nos movimos dejan de caer en B_c . Por lo tanto es posible modular a B de manera gradual mientras las intersecciones para distintos niveles de *burstiness* sigan siendo transversales a H .

La figura 2.6 muestra el tipo de modulación que llamamos *continua* entre los conjuntos de nivel para c_1 y c_2 . La transición gradual por distintos niveles de *burstiness* es debida a la transversalidad y a la organización de B en el espacio de conductancias (monótona por pedazos).

Pero existen zonas del espacio de conductancias donde la intersección (no vacía) de H con los conjuntos de nivel de B no es transversal. Los conjuntos de conductancias donde esto pasa son *magros* (de complemento residual) pero no necesariamente de medida cero. En nuestro ejemplo hay un rango finito para c (que incluye a c_1 y c_2) donde B se puede modular de manera continua, y fuera del cual está c_3 . Así B_{c_3} y H ya no se intersectan transversalmente.

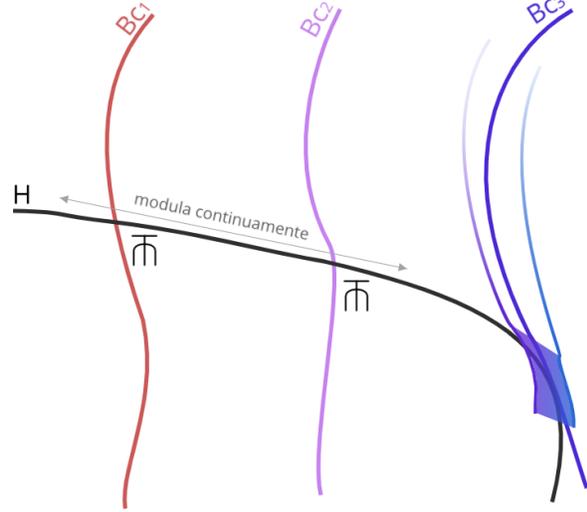


Figura 2.6: Transversalidad genérica

Como ilustra la figura, cuando la intersección no es transversal la variedad homeostática es compatible sólo con valores de *burstiness* muy parecidos entre ellos (banda azul-púrpura). Esto indica que en la zona de no-transversalidad la acción de un modulador que desplazara a la neurona a un régimen de *burstiness* distinto a c_3 tendría un impacto considerable sobre el controlador homeostático. Por lo tanto, el costo energético de modular B en esta zona aumenta a comparación de la zona entre los conjuntos de nivel para c_1 y c_2 .

2.4. Modulación co-calibrada o *cotuning*

Los moduladores pueden actuar sobre subconjuntos de múltiples conductancias a la vez. Consideremos un par de estos moduladores, A y B, que pueden compartir algunas de las varias conductancias que modifican. ¿Cómo asegurar que A y B actúen de manera compatible con el controlador homeostático cuando su acción involucra movimientos en varios ejes del espacio de conductancias?

Diremos que A y B están co-calibrados (o *cotuned*) si la variedad homeostática es invariante bajo su activación simultánea a distintos grados. Es decir, los movimientos que uno o ambos moduladores generen se quedan contenidos en la variedad homeostática. Suponiendo que A y B son matrices diagonales, la acción de A está dada por $\mathbf{g} \mapsto A\mathbf{g} = (\alpha_1 g_1, \dots, \alpha_n g_n)$ y la de B por $\mathbf{g} \mapsto B\mathbf{g} = (\beta_1 g_1, \dots, \beta_n g_n)$, con posiblemente algunos $\alpha_i, \beta_j = 1$. Identificamos al movimiento que induce el modulador A (análogamente B) con una flecha que va de \mathbf{g} a $A\mathbf{g}$ (resp. a $B\mathbf{g}$). Diremos que los distintos grados de activación de A o B son escalamientos de estos vectores v_A, v_B .

Es particularmente directo ver cómo lograr co-calibrar A y B cuando aproximamos la

variedad homeostática con un hiperplano como lo hicimos en la sección 2.1.1. Se puede considerar en general al espacio lineal que mejor aproxima a H en cada punto, $T_{\mathbf{g}}H$, y una base afín $\{u_1, \dots, u_n\}$. Entonces A y B estarán co-calibrados si los escalamientos de v_A y v_B caen dentro de $\text{span}(u_1, \dots, u_n) = T_{\mathbf{g}}H$. Esta es la idea que mencionábamos ya más arriba de moverse localmente sobre la variedad homeostática.

El *cotuning* es interesante porque asegura que aplicar A y B simultáneamente da lo mismo que hacer A y luego B , de hecho en cualquier orden. Si la condición para que A y B estén co-calibrados es que $A(T_{\mathbf{g}}H) \subset T_{\mathbf{g}}H$ y $B(T_{\mathbf{g}}H) \subset T_{\mathbf{g}}H$, la simetría de esta condición hará que la composición $(AB)\mathbf{g} = A(B\mathbf{g}) = B(A\mathbf{g}) = (BA)\mathbf{g}$ (que es conmutativa porque A, B son diagonales) también se queda en el espacio tangente.

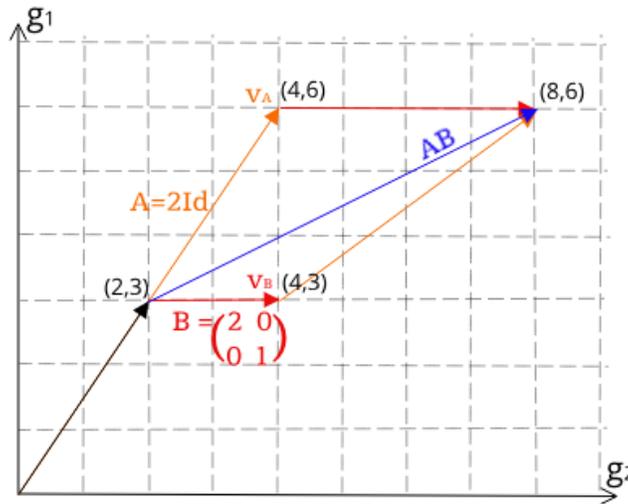


Figura 2.7: Conmutatividad de la acción de los moduladores A y B .

En la figura 2.7 se puede ver que la acción conjunta de A y B , dada por la matriz producto AB , es la misma independientemente del camino que se tome: siguiendo primero v_A o v_B . Esto implica que la acción de los 2 moduladores es reversible (en el sentido de ser compatible con H) para cada uno de ellos por separado. En efecto, si después de aplicar ambos moduladores A y B revertimos la acción de alguno de ellos, lo que queda es una sola de las flechas que estaba en $T_{\mathbf{g}}H$ desde el principio. Por lo tanto una ventaja de la manipulación de moduladores co-calibrados es que se puede descomponer su efecto en las conductancias, incluso en distintos grados, con la certeza de la compatibilidad de cada modulador con la variedad homeostática.

Si las matrices A o B no son diagonales podemos interpretar su acción como una dependencia en estados de modulación previa, o sea modulación de moduladores. En este caso, las combinaciones lineales de un conjunto de conductancias moduladas representan a los moduladores que no actúan inmediatamente sino que pasan por vías indirectas. Es decir, el efecto de un modulador sobre una conductancia específica solo estará habilitado si otras conductancias han sido modificadas.

Terminamos este capítulo repasando las virtudes de los ejemplos mostrados. Cuando H es un hiperplano, moverse tangencialmente sobre la variedad, la modulación co-calibrada, es la solución más simple que puede implementar la naturaleza. De hecho, mientras más grande sea n , la dimensión del espacio ambiente, más cierta se vuelve esta afirmación. La geometría de vectores aleatorios dice que mientras más grande sea n , más probable será que cualesquiera dos vectores aleatorios sean ortogonales [45]. En particular, si consideramos al vector normal a la variedad homeostática en un punto cualquiera, H^\perp , y un vector de modulación v_{mod} dado por la dirección de cambio de las conductancias bajo la acción del modulador, entonces cuando $n \rightarrow \infty$, para todo $\epsilon > 0$ $P(\langle v_{mod}, H^\perp \rangle > \epsilon) \rightarrow 0$. Dicho de otro modo, $v_{mod} \perp H^\perp$ casi seguramente.

En modelos neuronales basados en conductancias [46], por lo general se consideran 4 o más conductancias pero a menudo se agrupan varias conductancias, resultando en una subestimación del número real de dimensiones en juego. Con esta configuración, de las más sencillas posibles porque es válida únicamente si la variedad es lineal a grandes rasgos, se describe cómo modular subconjuntos de conductancias de manera compatible con el controlador homeostático.

Capítulo 3

Simulaciones numéricas

En este capítulo presentamos las simulaciones para la modulación de una neurona basada en el modelo de STG de [6] y sujeta al controlador homeostático. Las corrientes que se usan son 7: una corriente de sodio rápida, I_{Na} ; potasio rectificado, I_{Kd} ; calcio transitoria rápida y calcio lenta, I_{CaT} e I_{CaS} ; potasio dependiente de calcio, I_{KCa} ; potasio rápida transitoria, I_A ; corriente de cationes entrante activada por hiperpolarización, I_H ; y una corriente pasiva de fuga, I_L . Las simulaciones se hicieron en Julia y se utilizó el método de Euler con paso de integración de 1 milisegundo para resolver un sistema de ecuaciones diferenciales.

Las ecuaciones para la evolución de V y Ca son

$$\begin{aligned} \dot{V} = & -g_{Na}m_{Na}^3h_{Na}(V - V_{Na}) - g_{CaT}m_{CaT}^3h_{CaT}(V - V_{Ca}) - g_{CaS}m_{CaS}^3h_{CaS}(V - V_{Ca}) \\ & - g_Am_A^3h_A(V - V_K) - g_{KCa}m_{KCa}^4(V - V_K) - g_{Kd}m_{Kd}^4(V - V_K) \\ & - g_Hm_H(V - V_{Cl}) - g_{leak}(V - V_{leak}) + I_{ap} + 2\xi(t)D^{1/2} \end{aligned} \quad (3.1)$$

donde $V_{Na} = 50, V_K = -80, V_{Ca} = 100, V_{Cl} = -20, V_{leak} = -5$ en mV y solo $g_{leak} = 0.01\mu S$ es constante; la corriente aplicada $I_{ap} = 0$; $\xi(t)$ es un valor aleatorio entre $[0,1]$ y el factor de ruido $D = 0.01 (mV/s)^2$;

y

$$\begin{aligned} \dot{Ca} = & -aI_{Ca} - Ca + b \\ = & -a(g_{CaT}m_{CaT}^3h_{CaT}(V - V_{Ca}) + g_{CaS}m_{CaS}^3h_{CaS}(V - V_{Ca})) - Ca + b \end{aligned} \quad (3.2)$$

donde $a = 0.94 \mu M/nA, b = 0.05 \mu M$ se obtienen como se indica en [6].

La modulación se hace en la ecuación para V , multiplicando a 4 de las 7 conductancias, $g_A, g_{KCa}, g_{CaT}, g_{CaS}$, por factores de modulación, es decir sustituyendo estas g_i por $\rho_i g_i$. Cada ρ_i varía dentro de un rango uniformemente dividido en 50 pasos. Si la neurona dispara naturalmente de modo tónico entonces $\rho_A, \rho_{CaS} \in [0.05, 2]$ y $\rho_{CaT} \in [0.05, 2.5], \rho_{KCa} \in [0.9, 6]$. Si la neurona es *burster* entonces todos los factores están entre 0.05 y 2.

Escogimos modular estas conductancias por su papel relevante en la forma de disparo de una neurona. En particular, la sensibilidad a las conductancias g_{CaT}, g_{KCa} en la escala ultralenta (~ 10 s) y g_A en la escala lenta (~ 10 ms) son clave para modular la *burstiness*.

Las ecuaciones que determinan la dinámica de la activación e inactivación de los canales iónicos son $\dot{m} = \frac{1}{\tau_m}(m_\infty - m)$ y $\dot{h} = \frac{1}{\tau_h}(h_\infty - h)$ donde $m_\infty(V), h_\infty(V)$ son funciones de la forma $\frac{1}{1+\exp((V+A)/B)}$. Además, acoplamos al sistema las dos ecuaciones para la evolución de las conductancias que surgen al imponer el controlador homeostático y son, como ya establecimos,

$$\begin{aligned}\dot{g}_i &= \frac{1}{\tau_g}(R_i - g_i) \\ \dot{R}_i &= \frac{1}{\tau_i}(Ca_{tgt} - Ca)\end{aligned}\tag{3.3}$$

con $\tau_{Na} = 10^3, \tau_{CaT} = 28 \times 10^4, \tau_{CaS} \approx 31 \times 10^4, \tau_A = 8 \times 10^3, \tau_{Kd} \approx 7 \times 10^3, \tau_{KCa} = 7 \times 10^4, \tau_H \approx 23 \times 10^6$, todas en segundos.

3.1. Mapas de parámetros *closed-loop*

A fin de explorar las acciones modulatorias que caen dentro de la variedad homeostática, modelamos la modulación prolongada (100 segundos) de parejas de conductancias multiplicando por factores independientes ρ_i, ρ_j . Se hicieron en total $2 * 3 * 6 * 50^2 = 90,000$ simulaciones con el servidor de cómputo de alto rendimiento de la Facultad de Ciencias que cuenta con 120 procesadores. Utilizando la función `pmap` de Julia para correr en paralelo se simuló la modulación por pares de las cuatro conductancias escogidas (6 combinaciones) tomando el producto de los ρ_i y ρ_j en una matriz de 50×50 , iniciando con disparos en modo tónico o ráfagas (2 regímenes) y fijando 3 valores de calcio objetivo, $Ca_{tgt} = 20, 50, 100 \mu M$.

Para inicializar las variables del sistema dejamos evolucionar por 500 segundos las conductancias de una neurona (que comienza con todas las $g_i = 0$) que al estabilizarse alcanza el régimen deseado. Guardamos el estado final de la neurona, incluyendo también su *burstiness* b_0 . De este modo verificamos que realmente se tiene una neurona tónica o *bursty* para cada valor de Ca_{tgt} . Tomaremos los seis valores de b_0 como referencia para cada modo tónico/ráfagas y cada Ca_{tgt} .

3.1.1. Niveles de *burstiness*

Los mapas de parámetros *closed-loop*, *i.e.* con las ecuaciones del controlador homeostático, calculan para cada pareja de parámetros (ρ_i, ρ_j) la *burstiness* post-modulación y se compara con la *burstiness* inicial b_0 . Utilizamos la medida usualmente implementada en simulaciones, la discreta. En la figura 3.1 se muestran los resultados para una neurona inicialmente *bursty*.

Es de particular interés el mapa $A - CaT$ porque se aprecian claramente las curvas de nivel de B debido a su estructura casi lineal. Aquí es claro que moverse sobre la diagonal no cambia la b_0 que se obtiene en el centro del mapa, que es cuando no modulamos ninguna de las conductancias.

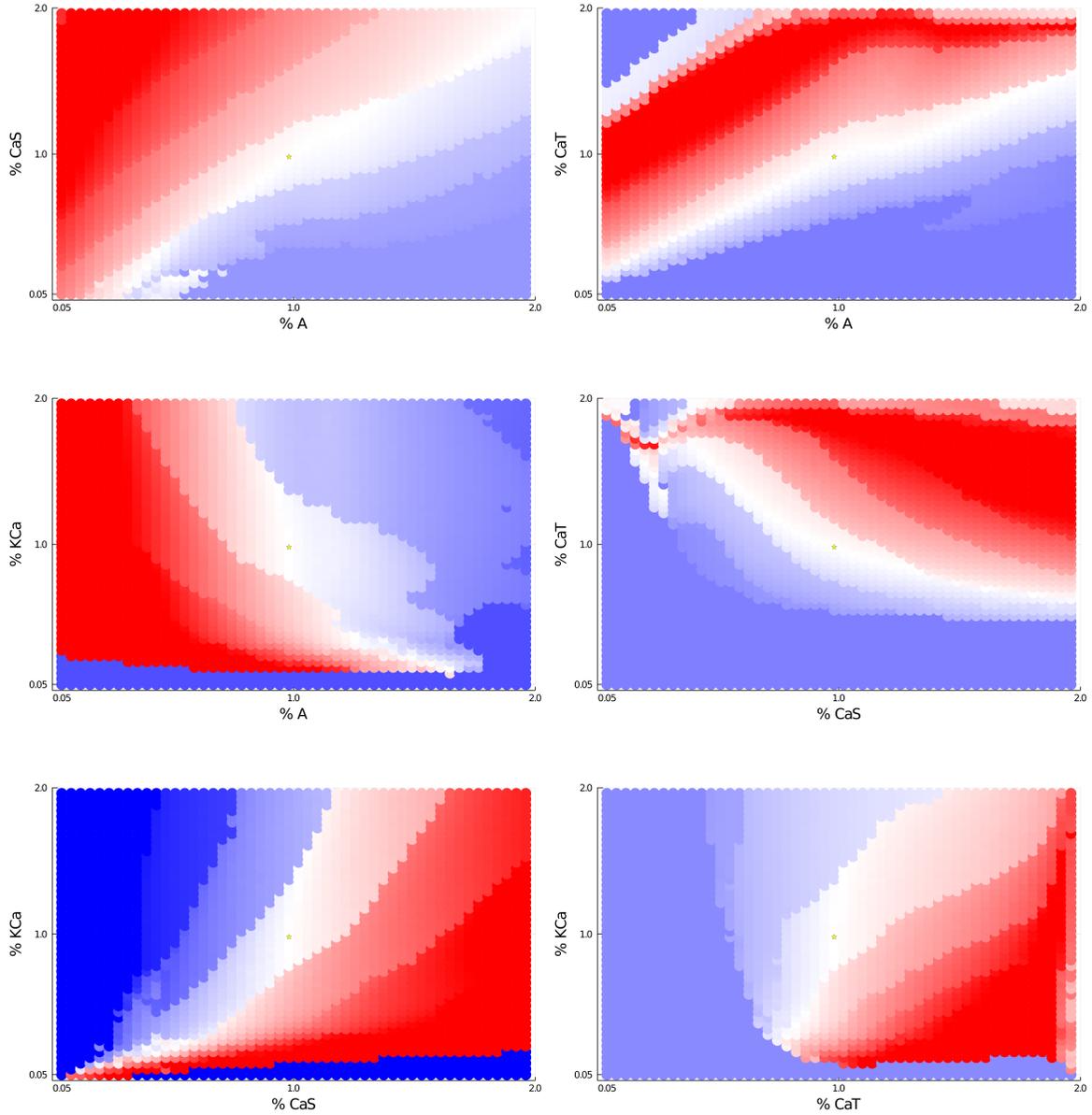


Figura 3.1: Mapas de parámetros de *burstiness* para $Ca_{tgt} = 50\mu M$ iniciando en modo de ráfagas. Graficamos la *burstiness* relativa con azul si B disminuyó post-modulación y con rojo si aumentó. Blanco corresponde al valor b_0 inicial. Los valores iniciales $g_{Na} = 700, g_{Kd} = 90, g_A = 85, g_{KCa} = 50, g_{CaT} = 6.25, g_{CaS} = 2.25, g_H = 0.03 \mu S$.

Por otro lado notamos que hay cambios abruptos en el comportamiento de B , por ejemplo en los mapas $A - KCa$ y $CaS - KCa$ un ligero movimiento en la zona inferior puede alterar el modo de disparo drásticamente. Estas separaciones muestran que existen direcciones altamente sensibles a cambios en una conductancia.

También podemos notar en estos dos mapas que el efecto de modular g_A es opuesto al de

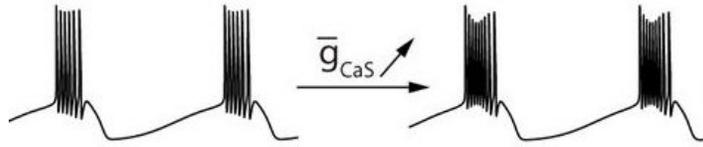


Figura 3.2: Ráfagas parabólicas. Tomada de [25].

modular g_{CaS} si g_{KCa} se mantiene constante. Si g_{CaS} aumenta, las ráfagas se vuelven parabólicas, es decir la parte superior del *burst* parece una parábola como en la figura 3.2. Si g_A aumenta, ocurre lo opuesto, pues la *burstiness* disminuye. Por último, si solo g_{KCa} aumenta (con movimiento hacia arriba en los mapas) entonces la frecuencia intraburst disminuye, en acuerdo con lo que predice [25], lo que significa una menor *burstiness*.

Estas observaciones corroboran que los mapas de parámetros obtenidos son fieles a la teoría que predice el aporte de cada conductancia a la actividad neuronal.

3.1.2. Niveles de calcio

Ahora buscamos graficar a H a partir de estas simulaciones. Si seguimos la evolución de las conductancias desde un momento pre-modulación, hasta que se logra el reajuste post-modulación (pasados 100 segundos) de todas las conductancias, como lo exige el controlador homeostático, al estado estable podemos analizar el efecto, digamos global, de la modulación sobre el controlador homeostático.

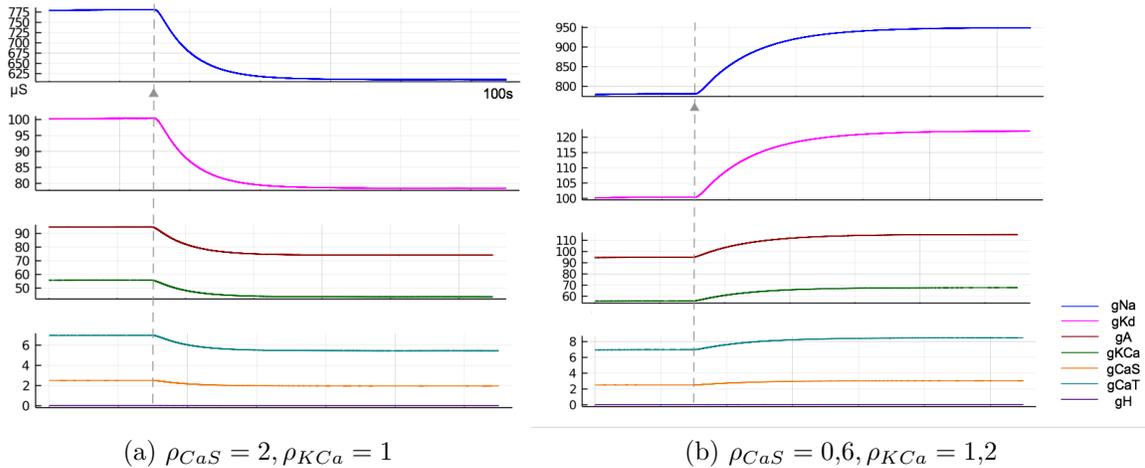


Figura 3.3: Evolución de la regulación de las 7 conductancias del modelo por el controlador durante 100 segundos para dos moduladores distintos.

Calculamos cuánto el controlador homeostático tuvo que compensar la modulación midiendo la diferencia en norma del vector de conductancias al inicio y al final de los 100 segundos, es decir $\Delta = \|\mathbf{g}_{\text{post}} - \mathbf{g}_0\|$. Luego, identificamos dónde este cambio fue pequeño

(<2% de la magnitud del vector pre-modulación) para así construir las regiones que se aproximan a una sección 2D de la variedad homeostática.

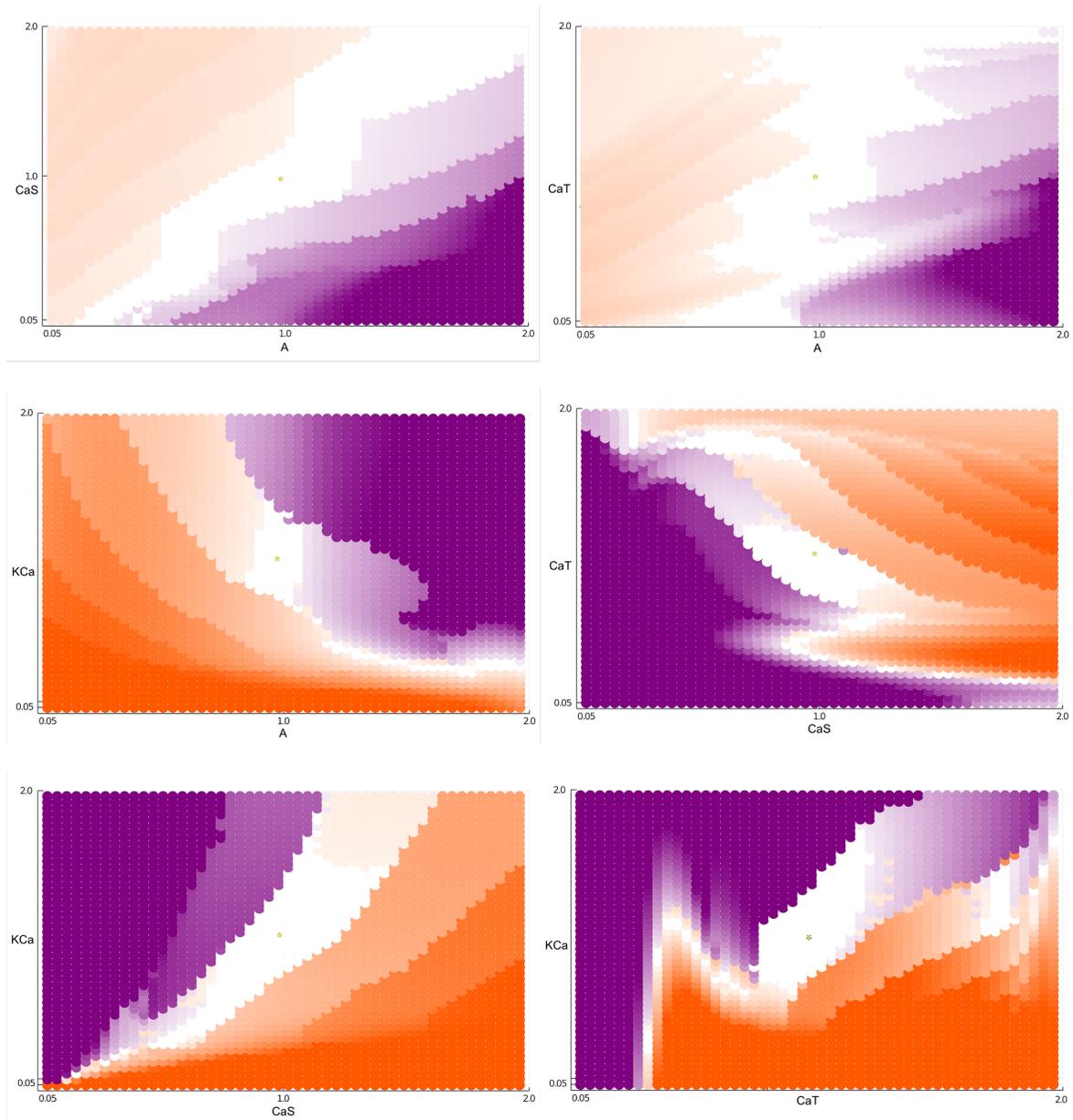


Figura 3.4: Regiones compatibles con la homeostasis para $Ca_{tgt} = 50\mu M$ iniciando en modo de ráfagas.

Llamamos a estas regiones “compatibles” y las visualizamos con blanco, mientras que el color naranja (respectivamente morado) indica que la desviación en norma del vector de conductancias inicial \mathbf{g}_0 indujo una regulación en aumento (resp. disminución) significativo de las conductancias. Ver figura 3.4 que se obtuvo para una neurona con los mismos parámetros

que la que se simuló en la figura 3.1.

Las regiones compatibles (o conjuntos de nivel de calcio) muestran una configuración global compleja que se adivina no lineal, sobre todo considerando que lo que podemos ver es sólo una sección de una estructura en más dimensiones. La interacción de un gran número de procesos no lineales que involucran al calcio intracelular explica esta estructura sinuosa.

Analizamos las secciones obtenidas para los dos modos de disparo iniciales y los distintos valores de calcio objetivo en la figura 3.5. Para valores de calcio objetivo menores, las regiones compatibles son delgadas, lineales solamente por pedazos, pero crecen y engordan en áreas más grandes conforme el calcio aumenta. Las regiones blancas se deforman mientras el valor Ca_{tgt} avanza, pero su evolución parece ser suave. Esto sugiere que la disposición general de la variedad homeostática que encontramos en un mapa como los de la figura 3.4 puede servir como guía para rastrear la modulación compatible de manera más general.

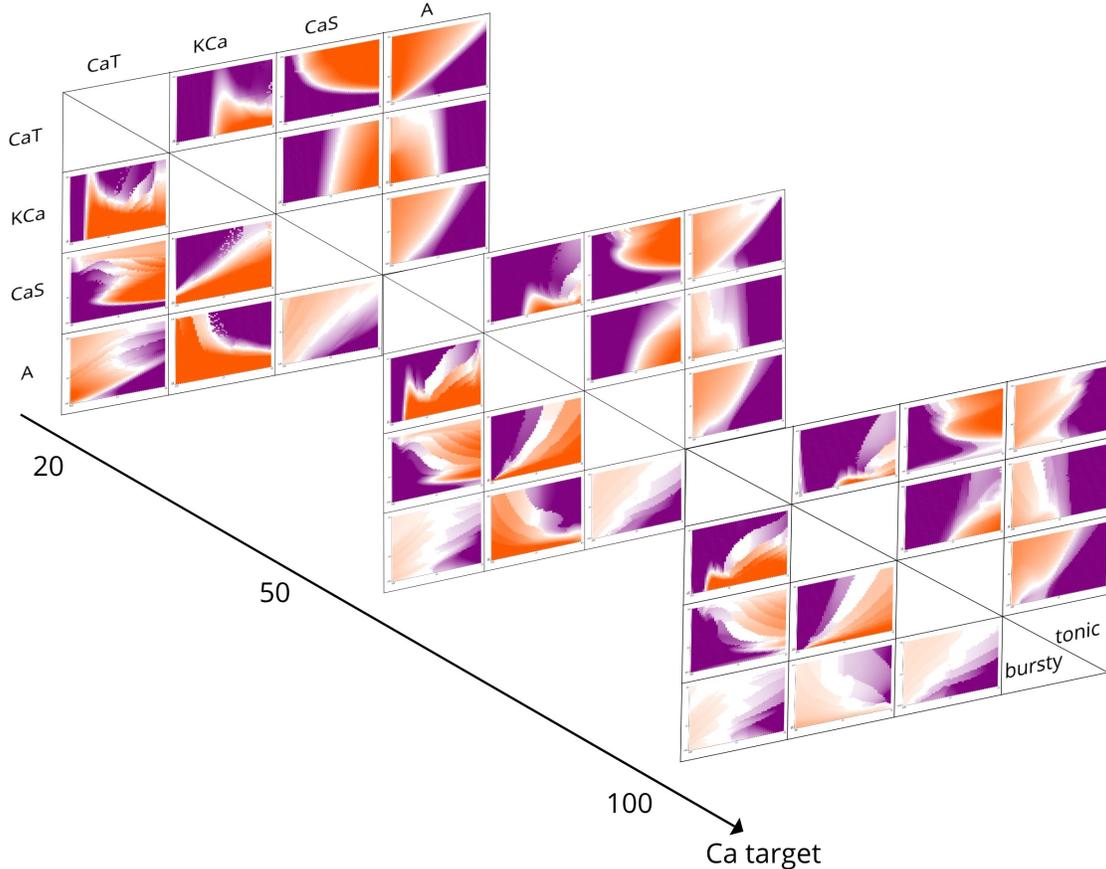


Figura 3.5: Contornos de la variedad homeostática en 2D.

Es interesante notar que las regiones compatibles a veces son desconexas (como en la pareja $CaT-KCa$, *bursty*) y a veces son conexas (como en la pareja $CaS-CaT$, *tonic*) para todos los valores de calcio objetivo. En general, la conexidad de la región compatible no

cambia, salvo por el caso $CaT-KCa$ tónico donde se rompe la conectividad que existía para $Ca_{tgt} = 20$. Esto indica que aún para valores de calcio objetivo fluctuantes, no precisamente iguales al *set-point*, nos podemos basar en los mapas pues la configuración de las regiones compatibles parece ser continua. Por otra parte, las áreas compatibles son más marcadas en ciertas parejas de conductancias, independientemente de los ensayos. Esto se puede ver en la gráfica 3.6 pues el área compatible para la pareja $A-CaT$ supera a las demás combinaciones de conductancias en la mayoría de los ensayos.

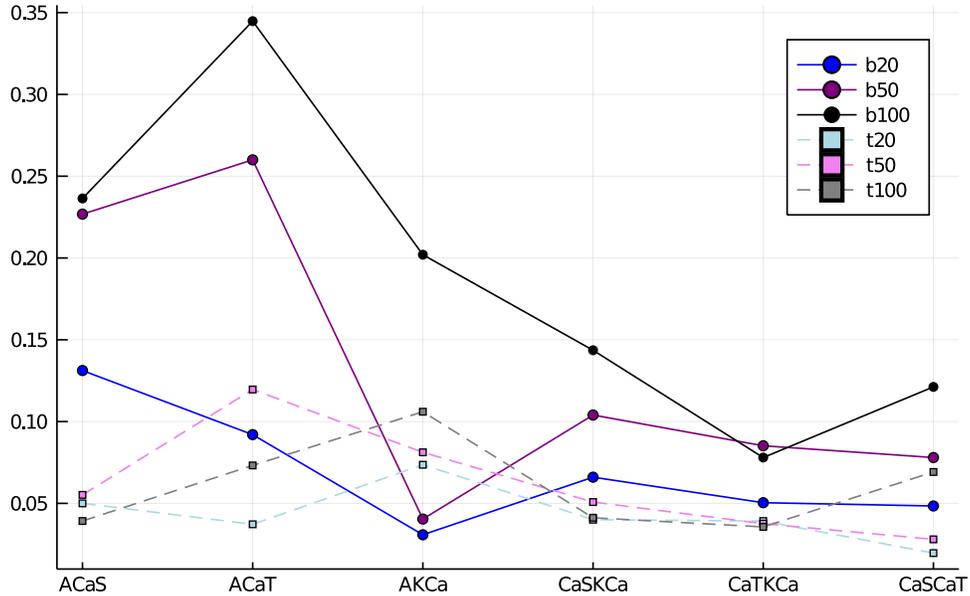


Figura 3.6: Fracción del área compatible en cada ensayo. Medimos el área como la fracción de puntos que caen dentro de la región compatible entre el total de puntos muestreados: 50^2 . Las simulaciones que iniciaron en la neurona *bursty* consiguieron mayor porcentaje de compatibilidad.

El que las regiones compatibles se extiendan por amplios rangos de conductancias y valores objetivo indica que modular propiedades intrínsecas es posible dentro del alcance de la modulación de conductancias sobre la variedad homeostática. A continuación veremos la propiedad de la *burstiness* restringida a las regiones compatibles.

3.1.3. Transversalidad y caminos en el espacio de conductancias

Si sobreponemos las regiones compatibles a los primeros mapas de parámetros, encontramos dónde se puede modular la *burstiness* manteniendo a las conductancias dentro del espacio homeostático compatible, o sea manteniendo en promedio el calcio objetivo. En las figuras siguientes se ven las intersecciones de las dos variedades que hemos estudiado. Las trazas del voltaje dentro de estos nuevos mapas corresponden a la actividad pre- y post-modulación. Esta última es la actividad post-modulación al estado estable y destacamos que

es igual al estado inmediatamente post-modulación, lo cual demuestra que no hay patologías.

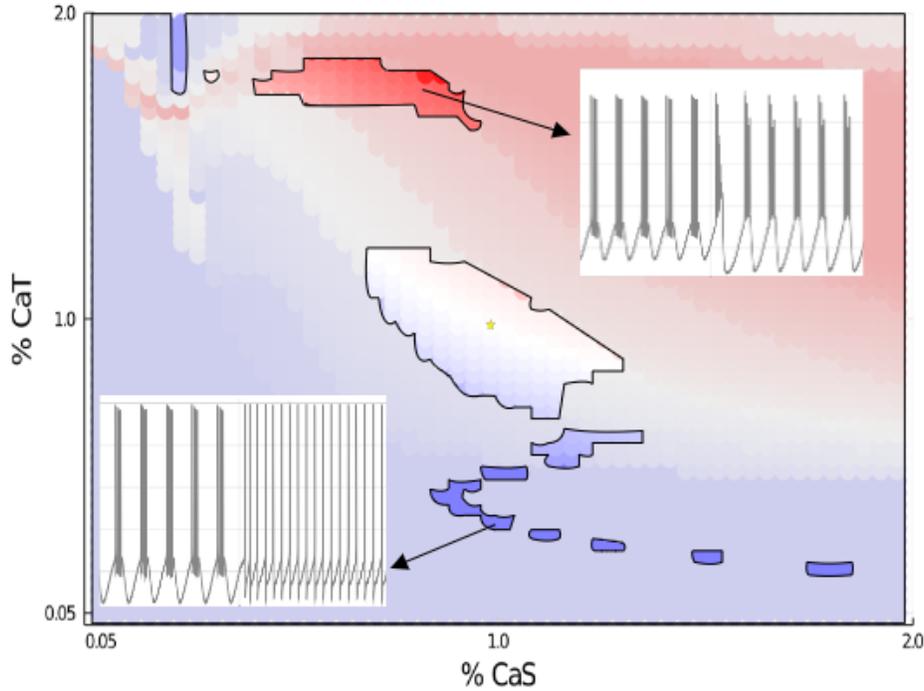


Figura 3.7: Sólo con “saltos” se puede modular el modo de disparo sobre la variedad homeostática para una neurona *bursty* con calcio objetivo $50 \mu M$. N:b50

La manera más sencilla de moverse es como en las figuras 3.7-3.9, puesto que un “salto” en el espacio de conductancias no requiere de caminos continuos sobre la variedad homeostática y será un salto permitido siempre y cuando esté restringido a las regiones compatibles. El principio teórico básico que permite saltos en el espacio de conductancias es que la relación geométrica entre dos conjuntos de conductancias que responden a una neurona con el mismo valor objetivo de calcio intracelular se describe con una transformación sencilla. Esta transformación se define coordenada a coordenada por los factores multiplicativos que se calculan a partir de las correlaciones g_i^{ss}/g_j^{ss} que identifican a cada conjunto.

Más aún, si aproximamos los niveles de B en H por rayos de conductancias con una dirección, por ejemplo como se muestra en la figura 3.8, entonces los rayos en los que se encuentran (aproximadamente) dos subconjuntos de puntos con distintas *burstiness* se pueden mandar uno en el otro con una transformación afín. Así, todos los puntos que están en las regiones compatibles se pueden modular por saltos aún teniendo densidades de conductancias relativas variables. Dicho de otro modo, la aplicación de la misma señal moduladora cambia la actividad neuronal de manera confiable a lo largo de los dos rayos.

Como las poblaciones de neuronas en ambos rayos tienen el mismo calcio objetivo, un *switch* modulador que utilice factores cercanos a los de la transformación del salto no desviará el sensor de calcio del valor objetivo. Por lo tanto, los moduladores que se ajusten de

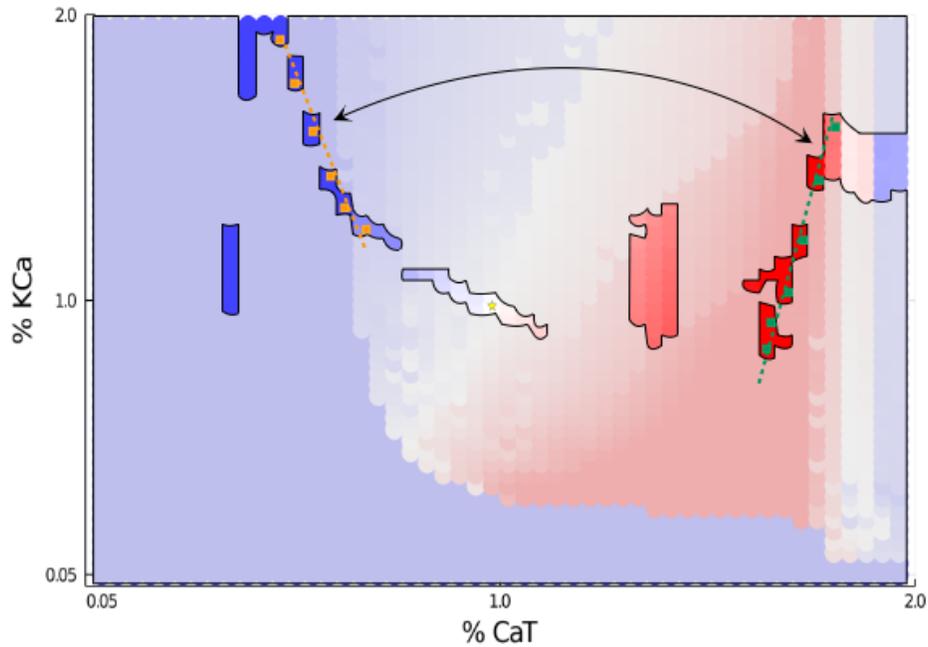


Figura 3.8: Una transformación de tipo “salto” lleva un rayo en el otro. N:b20

esta manera evitarán respuestas compensatorias por parte del controlador homeostático. En particular, la abstinencia no puede ocurrir en estos casos donde confeccionamos a la medida la modulación de dos poblaciones conociendo sus correlaciones y por ende su promedio de calcio. La clave es que aprovechamos la heterogeneidad de las densidades relativas de conductancias, de nuevo apelando a la redundancia, en cierta concentración intracelular de calcio.

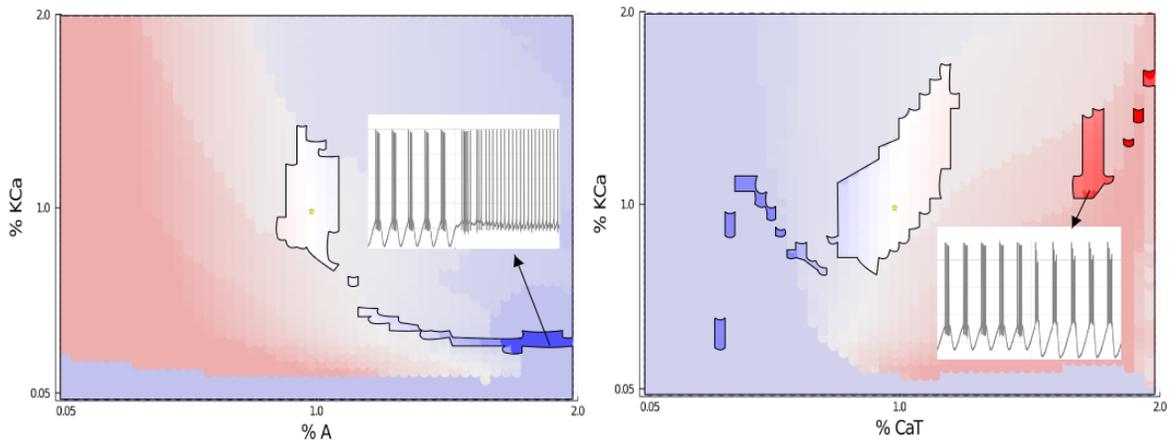


Figura 3.9: Las direcciones de los niveles de B son perpendiculares (a grandes rasgos) a las direcciones de máximo diámetro de las regiones compatibles. N:b50

Pero recordemos que esto es posible gracias a la existencia de varios (o por lo menos dos) niveles de B dentro de H , ver figura 3.9. Cuando las regiones compatibles no se intersectan

con más de un nivel de *burstiness*, como en la figura 3.10, no se puede cambiar la actividad neuronal pues no hay variabilidad sobre H . Entonces, aunque haya caminos continuos dentro de las regiones compatibles, no necesariamente existe una modulación de la *burstiness*.

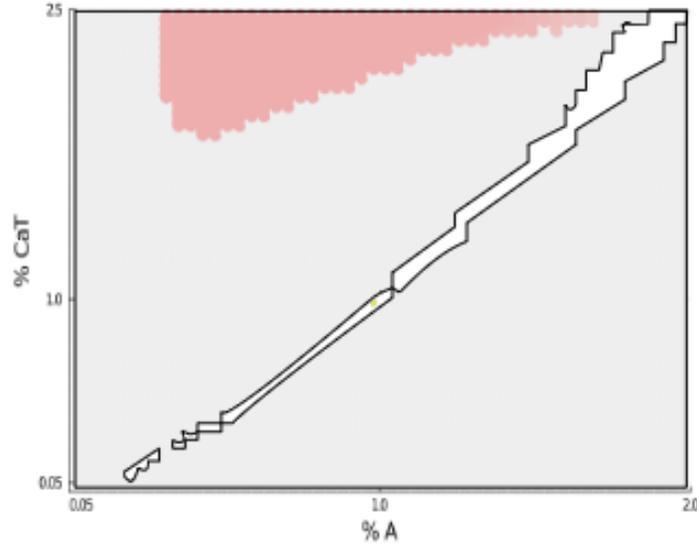


Figura 3.10: Es imposible modular la *burstiness* sobre la región compatible cuando no hay variabilidad en B . $N:t20$

En este punto es pertinente preguntarse ¿existirán caminos continuos donde convivan varios niveles de *burstiness*? Esta sería la situación más atractiva, cuando las regiones compatibles son franjas continuas, porque entonces se abre otra posibilidad de modulación gradual y es posible moverse en el espacio de conductancias de manera compatible con la homeostasis. Sabemos por la transversalidad genérica de H y B_c que no es raro encontrar esta situación pero las simulaciones apuntan hacia ciertas condiciones que la favorecen.

Comprobamos que los valores de calcio objetivo más grandes —50 y 100 μM — agrandan las regiones compatibles y presentan parejas de conductancias donde se ve la transversalidad deseada, particularmente desde un régimen *bursty*. Comparando mapas para estos dos valores de calcio y la misma neurona inicial (fig. 3.11), vemos que los caminos por franjas conexas de la regiones compatibles se preservan. Esto prueba que la modulación gradual es factible via escalamientos por parejas de conductancias, en este caso de $A-CaT$.

Ahora veamos qué pasa si modulamos más conductancias: ¿cómo se ven las intersecciones?

Continuamos explorando la pareja $A-CaT$ y agregamos un modulador adicional, ρ_{CaS} . Si apilamos las vistas parciales de planos por el eje CaS , tenemos cortes ascendentes de la estructura de H en 3D. Aquí solo graficamos los puntos que están dentro de las regiones compatibles. La observación reconfortante que viene de la figura 3.12 es que los niveles que se obtuvieron con una exploración plana no se reorganizan son radicalmente cuando se añade una conductancia para modular.

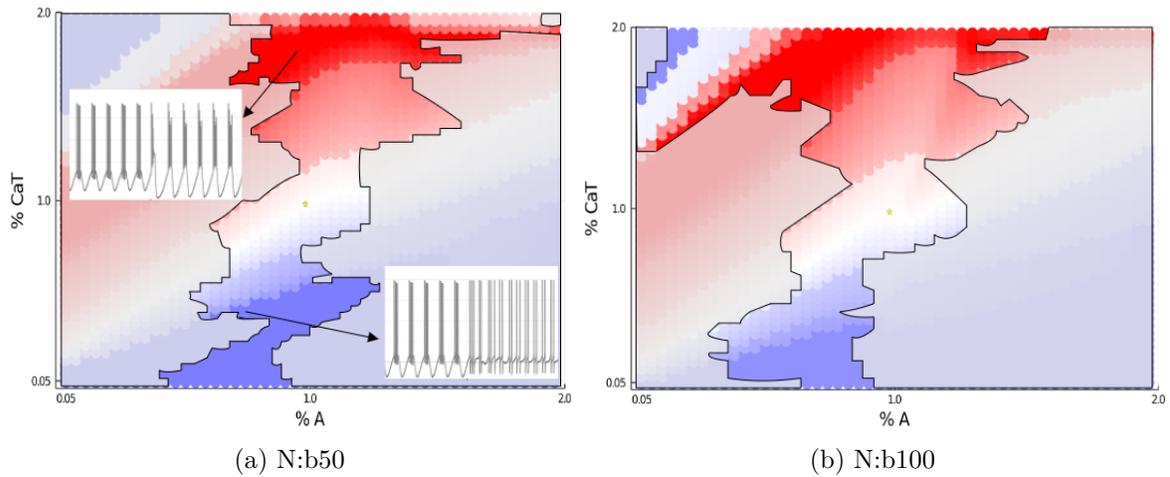


Figura 3.11: Transversalidad y caminos continuos. Los efectos de esta modulación van desde los muy sutiles hasta los muy marcados.

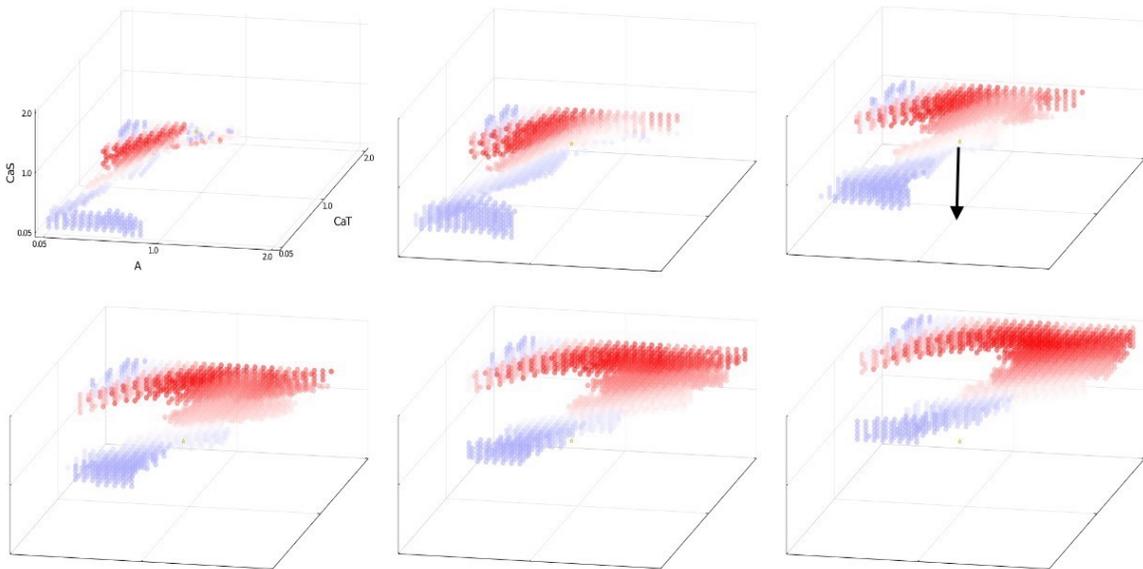


Figura 3.12: Estructura 3D de la *burstiness* sobre la variedad homeostática. N:b100.

Esto ejemplifica el hecho que la transversalidad sigue siendo cierta en más dimensiones. Además, sugiere que el comportamiento de los caminos moduladores bajo la acción adicional de otras conductancias refleja la imagen en 2D que hemos usado aquí.

3.2. Modulación sobre modulación

Comúnmente coinciden en el sistema nervioso todo un coctel de neuromoduladores. Por ejemplo, en algunos tratamientos para la fibromialgia se utilizan inhibidores duales de la recaptación de noradrenalina y serotonina [47]. Dado la presencia de un neurotransmisor que se

que a un receptor metabotrópico puede cambiar la forma en la que un segundo neurotransmisor actúa mediante un canal activado por ligando mientras algún neuromodulador así lo constriña, es crucial estudiar moduladores agregados.

Habiendo revisado ya la modulación compatible con la homeostasis, nos preguntamos ahora por lo que pasa cuando la acción de un modulador incompatible nos saca de la variedad homeostática. ¿Cómo se modifican las regiones compatibles después de que el controlador homeostático se puso en marcha? Debe haber una cierta reconfiguración de la variedad homeostática, puesto que el estado en el que acaba la neurona es un nuevo punto de partida para calcular las regiones compatibles una vez que se alcanza el estado estable de las conductancias reguladas.

Para responder a esta pregunta escogimos modular una neurona (b100) deliberadamente fuera de la región compatible, de modo que el régimen de ráfagas original cambie a disparos tónicos. Esto se hace disminuyendo la conductancia g_{CaS} como se ilustra en el panel de arriba a la derecha en la figura 3.12. Luego dejamos que el controlador converja al calcio objetivo y graficamos el mapa de *burstiness* sobre las regiones compatibles que calculamos para modulaciones en el plano A - CaT . Si comparamos este mapa, figura 3.13, con el mapa 3.11.b) vemos dos cosas. Uno, que la región compatible ha disminuído considerablemente, y dos, que dentro de esta región la modulación ya no tiene ningún efecto en las propiedades de disparo.

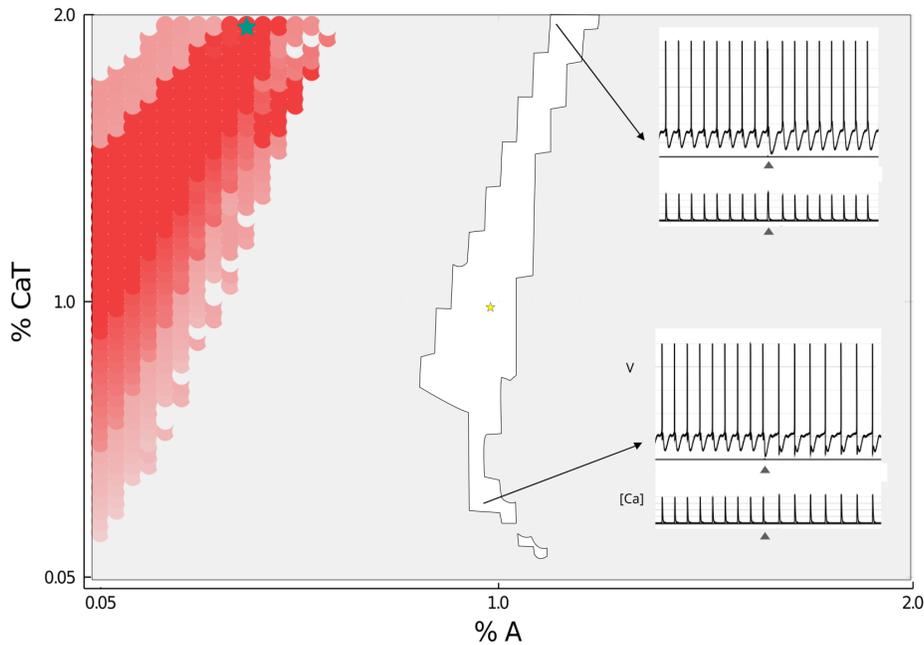


Figura 3.13: La primera modulación incompatible, $\rho_{CaS} = 0.05$, lleva a un mapa disfuncional. El punto marcado con la estrella aqua presenta las dos patologías que se pronosticaron, abstinencia y desensibilización.

3.2.1. Aviso de incompatibilidad

Interpretando la reducción del área compatible inicial desde un punto de vista biológico, significa que el costo por la compensación que se origina al modular fuera de los dominios homeostáticos es un impedimento en las modulaciones compatibles subsiguientes. En particular, los cambios en el tipo de *burstiness* que antes eran posibles dejan de serlo. Esto es evidenciado muestreando de dos puntos que estaban coloreados de rojo y azul en el mapa 3.11.b) pero que ahora están en el mismo nivel de *burstiness* (tónico).

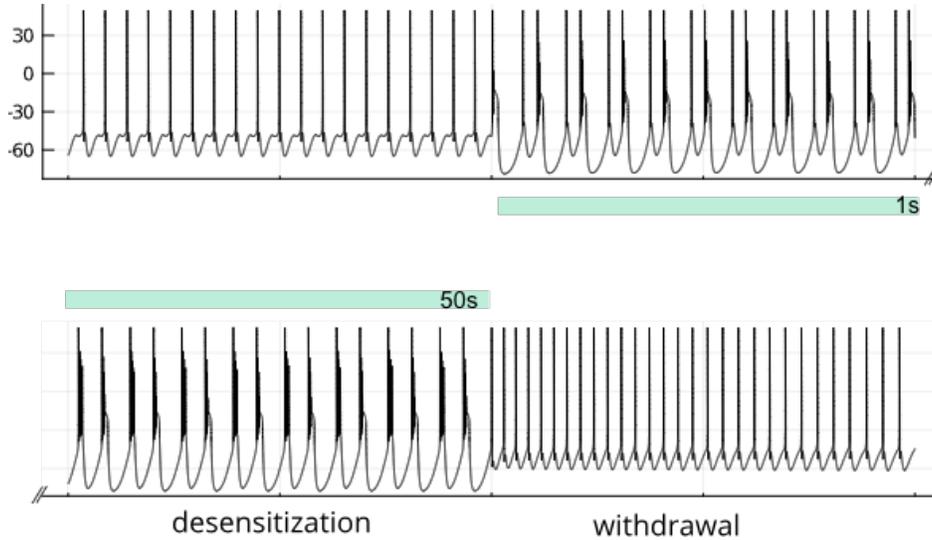


Figura 3.14: La barra de color indica cuando se aplica el modulador correspondiente a la estrella aqua en la figura 3.13. Arriba: Traza del voltaje (mV) pre-modulación, seguida de la actividad inmediatamente post-modulación. Abajo: Voltaje al estado estable post-modulación, seguido de la actividad al quitar el modulador.

Para obtener ráfagas a partir de una modulación en *A-CaT* es necesario incursionar fuera de la region compatible y, consecuentemente, tal modulación incompatible (marcada con la estrella color aqua, arriba a la izquierda en el mapa 3.13) conlleva desensibilización y abstinencia en la neurona. Afirmamos por lo tanto que un reconocimiento y sondeo, cuando sea posible, de la variedad homeostática es de vital importancia para lograr modular de manera confiable las conductancias de un modelo neuronal.

Capítulo 4

Conclusiones

En esta tesis hemos estudiado la relación entre la homeostasis y la modulación de la respuesta eléctrica neuronal apoyándonos en simulaciones de una neurona descrita en el modelo basado en conductancias de [6]. Las interacciones entre estos dos procesos son relevantes para cualquier sistema biológico porque ambos son procesos que permanentemente moldean la actividad celular. La regulación de una sola célula puede tener implicaciones en el conjunto conectivo del cual forma parte [1].

No se puede dejar de recalcar la importancia que tiene la flexibilidad y eficacia del mecanismo homeostático, y la robustez de la neuromodulación. Debido a la considerable variabilidad en las densidades de las conductancias en neuronas biológicas [5], surge la pregunta de cómo un modulador actúa confiablemente e induce cambios específicos en propiedades electrofisiológicas, independientemente de esta variabilidad entre distintas células. En primera instancia, esto sugiere una regulación exquisita, pero entonces ¿cómo coexisten dichas modulaciones con los procesos homeostáticos generalizados que tienden a oponerse a grandes cambios? Es decir, ¿cómo puede un controlador homeostático permitir tanta riqueza de comportamientos?

La compatibilidad de estos dos procesos de homeostasis y neuromodulación falla a menos que esté bien condicionada. Cuando se modula arbitrariamente, modificando las conductancias de una neurona, generalmente se crea un desbalance en el sensor homeostático y las consecuencias son compensaciones aberrantes en la actividad neuronal. Pensemos en fármacos que el sistema nervioso no está preparado para manejar, y que pueden ocasionar graves efectos secundarios. Inicialmente puede haber periodos de adaptación donde se experimenten resultados pasajeros, es decir aplicaciones breves pueden tener efectos inmediatos, pero no sostenidos. Por otro lado, nuestro modelo prevé que haya complicaciones después de un uso prolongado de la sustancia, como la abstinencia neuronal.

Los embates de la neuromodulación pueden alterar enormemente una gran cantidad de parámetros celulares y sin embargo mantenerse una función coherente de las neuronas. Se sigue que debe haber un compromiso entre una estabilidad (promedio) y las “perturbaciones endógenas” provenientes de la neuromodulación. Como hemos visto, la variedad homeostática en el espacio de conductancias se propone naturalmente como un escenario incluyente donde de desenvuelven adecuadamente las múltiples escenas dirigidas por la modulación.

Si se modula de manera compatible con la homeostasis se pueden evitar las patologías. Mostramos que hay una manera de ajustar los factores que componen a una acción moduladora de acuerdo con las reglas homeostáticas que regulan la función neuronal ininterrumpidamente. Así, los cambios moduladores calibrados permiten *switches* (aún los más radicales) en la actividad sin interferir con el mecanismo homeostático. Los elementos clave de la compatibilidad son dos: uno, la redundancia en el calcio intracelular y, dos, los grados de libertad de movimiento sobre la variedad homeostática.

Mostramos que en una configuración genérica de la variedad homeostática y de los niveles de alguna propiedad de disparo reveladora de la actividad neuronal, como la *burstiness*, se encuentra la transversalidad de los dos subespacios y que esto es lo que permite modular una propiedad dentro de los límites homeostáticos. Aquí juega un papel importante la redundancia, ya que las direcciones homeostáticas aumentan conforme más conductancias tengamos. Entonces, los grados de libertad que mencionábamos están directamente relacionados con el número de dimensiones en las que ocurren las intersecciones transversas.

El modelo presentado está basado en observaciones experimentales sobre la abundancia de especies de canales iónicos que pueden expresar las neuronas y sus correlaciones. El vínculo que hacemos con un mecanismo homeostático podría ser una explicación para esta heterogeneidad registrada. Este modelo sugiere maneras en las que se pueden estudiar vías regulatorias a través de modulaciones desbalanceantes para los sensores de calcio, y en particular invita a estudiar si los sistemas de transcripción que controlan la expresión genética de canales interactúan directamente con neuromoduladores [31] o con los genes para receptores de moduladores.

Experimentos recientes arrojan luz sobre los posibles lazos entre modulación sostenida y cambios en las concentraciones de segundos mensajeros [48]. Además, se han propuesto dos tipos de regulación: la homeostasis dependiente y la independiente de la actividad [49]. En el segundo caso, la regulación puede depender del input neuromodulatorio. Una hipótesis plausible, entonces, es que los neuromoduladores regulen la expresión correlacionada de canales iónicos en varios niveles y de forma dependiente de la identidad celular.

En los CPGs, por ejemplo, la descentralización (eliminación del input neuromodulatorio) se vio acompañada de la pérdida de co-regulación de los canales iónicos [50]. Por lo tanto, es factible que los mismos mecanismos regulatorios que controlan propiedades eléctricas puedan también co-regular las respuestas moduladoras.

A pesar de los esfuerzos por complementar los modelos existentes de manera consistente con la evidencia experimental [51], quedan muchas incógnitas aún por explorar empíricamente. No se sabe en detalle cómo moduladores y mecanismos reguladores de extenso alcance interactúan, pero éste ha sido un campo de investigación ampliamente explorado y sigue siéndolo. Herramientas moleculares de vanguardia, cada vez más utilizadas, permitirán analizar experimentalmente las interacciones que aquí hipotetizamos deben ser compatibles en todo sistema biológico.

Apéndice A

Análisis en espacios de funciones

En el espacio de funciones r -diferenciables $C^r(X, Y)$ se puede definir una topología más fuerte que la débil, o compacto-abierto, conocida como la topología de Whitney. Los abiertos básicos en la topología de Whitney se definen a partir de un conjunto de cartas localmente finitas sobre X , $\Phi = \{\phi_i, U_i\}_{i \in \Lambda}$, un conjunto de compactos $K = \{K_i\}_{i \in \Lambda}$ tal que $K_i \subset U_i$, una familia de cartas sobre Y , $\Psi = \{\psi_i, V_i\}_{i \in \Lambda}$, y $\epsilon = \{\epsilon_i\}_{i \in \Lambda}$ números positivos.

Los abiertos básicos son de la forma

$$\mathcal{N}^r(f; \Phi, \Psi, K, \epsilon) = \{h \in C^r(X, Y) \mid h(K_i) \in V_i \wedge \|D^j(\psi_i f \phi_i^{-1})(x) - D^j(\psi_i h \phi_i^{-1})(x)\| < \epsilon_i \\ \forall x \in \phi_i(K_i), \forall i \in \Lambda, j = 0, \dots, r\}.$$

Si X es compacto entonces esta topología coincide con la topología compacto-abierto sobre el espacio de funciones de clase C^r , donde los abiertos sub-básicos son aquellas vecindades tales que dos funciones f y g , así como sus primeras r derivadas, tienen representaciones locales a distancia menor que ϵ en cada punto de los compactos.

Bibliografía

- [1] Timothy O’Leary y col. “Cell types, network homeostasis, and pathological compensation from a biologically plausible ion channel expression model”. En: *Neuron* 82:4 (2014), págs. 809-21.
- [2] Harris-Warrick RM. “Neuromodulation and flexibility in Central Pattern Generator networks.” En: *Current opinion in neurobiology* 21.5 (2011), págs. 685-692.
- [3] Gina G. Turrigiano y Sacha B. Nelson. “Homeostatic plasticity in the developing nervous system”. En: *Nature Reviews Neuroscience* 5 (2004), págs. 97-107.
- [4] Graeme W. Davis. “Homeostatic Control of Neural Activity : From Phenomenology to Molecular Design”. En: *Annual Review of Neuroscience* 29.1 (2006), págs. 307-323.
- [5] Eve Marder y Jean-Marc Goaillard. “Variability, compensation and homeostasis in neuron and network function”. En: *Nature reviews. Neuroscience* 7 (2006), págs. 563-74.
- [6] Z. Liu y col. “A model neuron with activity-dependent conductances regulated by multiple calcium sensors”. En: *Journal of Neuroscience* 18.7 (1998).
- [7] E. R. Kandel y col., eds. *Principles of Neural Science*. 5th. McGraw-Hill New York, 2000.
- [8] Barish ME. “Intracellular calcium regulation of channel and receptor expression in the plasmalemma: potential sites of sensitivity along the pathways linking transcription, translation, and insertion”. En: *J Neurobiology* 37(1) (1998), págs. 146-157.
- [9] LeMasson G, Marder E y Abbott LF. “Activity-dependent regulation of conductances in model neurons”. En: *Science* 259.5103 (1993), págs. 1915-1917.
- [10] NS Desai. “Homeostatic plasticity in the CNS: synaptic and intrinsic forms”. En: *J Physiol Paris* 97 (2003), págs. 391-402.
- [11] H. Bading, D Gintyand y ME. Greenberg. “Regulation of gene expression in hippocampal neurons by distinct calcium signaling pathways”. En: *Science* 260 (5105 1993), págs. 181-186.
- [12] Finkbeiner S y Greenberg ME. “Ca²⁺ channel-regulated neuronal gene expression”. En: *J Neurobiology* 37(1) (1998), págs. 171-189.

- [13] Wikipedia contributors. *Law of mass action*. En línea; consulta: 12-04-2021. Actualizado por última vez el 14 Marzo 2021. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Law_of_mass_action.
- [14] N. F. Britton. *Essential Mathematical Biology*. Springer-Verlag, London, 2003. ISBN: 978-1-4471-0049-2.
- [15] O’Leary T., van Rossum MC. y Wyllie DJ. “Homeostasis of intrinsic excitability in hippocampal neurones: dynamics and mechanism of the response to chronic depolarization”. En: *J Physiol*. 588(1) (2010), págs. 157-170.
- [16] Thoby-Brisson M. y Simmers J. “Transition to endogenous bursting after long-term decentralization requires De novo transcription in a critical time window”. En: *J Neurophysiol* 84(1) (2000), págs. 596-599.
- [17] Guillaume Drion, Timothy O’Leary y Eve Marder. “Ion channel degeneracy enables robust and tunable neuronal firing rates”. En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.38 (2015), E5361-E5370.
- [18] T. O’Leary. “Homeostasis, failure of homeostasis and degenerate ion channel regulation”. En: *Current Opinion in Physiology* 2 (2018), págs. 129-138.
- [19] Astrid Prinz, Cyrus Billimoria y Eve Marder. “Alternative to Hand-Tuning Conductance-Based Models: Construction and Analysis of Databases of Model Neurons”. En: *Journal of neurophysiology* 90 (2004), págs. 3998-4015.
- [20] Astrid Prinz, Dirk Bucher y Eve Marder. “Similar network activity from disparate circuit parameters.” En: *Nature neuroscience* 7 (2005), págs. 1345-52.
- [21] Jorge Golowasch, L Abbott y Eve Marder. “Activity-dependent regulation of potassium currents in an identified neuron of the stomatogastric ganglion of the crab *Cancer borealis*”. En: *The Journal of neuroscience* 19 (1999), RC33.
- [22] Mark Goldman y col. “Global Structure, Robustness, and Modulation of Neuronal Models”. En: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 21 (2001), págs. 5229-38.
- [23] A. L. Taylor, J. Goaillard y E. Marder. “How Multiple Conductances Determine Electrophysiological Properties in a Multicompartment Model”. En: *The Journal of Neuroscience* 29 (2009), págs. 5573-5586.
- [24] Alessio Franci y col. “A balance equation determines a switch in neuronal excitability”. En: *PLoS Comput Biol* 9.5 (2013), e1003040.
- [25] Guillaume Drion y col. “Dynamic Input Conductances Shape Neuronal Spiking”. En: *eNeuro* 2.1 (2015). DOI: 10.1523/ENEURO.0031-14.2015.
- [26] Schulz DJ., Goaillard JM. y Marder E. “Quantitative expression profiling of identified neurons reveals cell-specific constraints on highly variable levels of gene expression”. En: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104.32 (2007), págs. 13187-13191.
- [27] Tobin AE. y col. “Correlations in ion channel mRNA in rhythmically active neurons”. En: *PLoS One* 4.8 (2009), e6742.

- [28] Amendola J. y col. “Ca²/cAMP-sensitive covariation of I(A) and I(H) voltage dependences tunes rebound firing in dopaminergic neurons”. En: *Journal of Neuroscience* 32.6 (2012), págs. 2166-2181.
- [29] Timothy O’Leary y col. “Correlations in ion channel expression emerge from homeostatic tuning rules”. En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (2013).
- [30] Marder. E. y col. “Memory from the dynamics of intrinsic membrane currents.” En: *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 93.24 (1996), págs. 13481-6.
- [31] S. Temporal y col. “Neuromodulation and flexibility in Central Pattern Generator networks.” En: *Journal of neurophysiology* 107.2 (2012), págs. 718-727.
- [32] Ronald M. Harris-Warrick y Eve Marder. “Modulation of neural networks for behavior”. En: *Annual review of neuroscience* 14.1 (1991), págs. 39-57.
- [33] Khan Academy. *Neurotransmisores y receptores*. <https://es.khanacademy.org/science/biology/human-biology/neuron-nervous-system/a/neurotransmitters-their-receptors>. Consulta: 03-2021.
- [34] Ari Berkowitz, Alan Roberts y Stephen Soffe. “Roles for multifunctional and specialized spinal interneurons during motor pattern generation in tadpoles, zebrafish larvae, and turtles.” En: *Frontiers in behavioral neuroscience* 4 (2010), pág. 36.
- [35] Colten HR. y Altevogt BM. editors. *Sleep Disorders and Sleep Deprivation: An Unmet Public Health Problem*. National Academies Press, 2006. ISBN: 0-309-10111-5.
- [36] Srinivas Gorur-Shandilya, Eve Marder y Timothy O’Leary. “Activity-dependent compensation of cell size is vulnerable to targeted deletion of ion channels”. En: *Scientific reports* 10.1 (2020), pág. 15989. ISSN: 2045-2322.
- [37] L.W. Tu. *An Introduction to Manifolds*. 2.^a ed. Universitext. Springer New York, 2010. ISBN: 9781441974006. DOI: 10.1007/978-1-4419-7400-6.
- [38] S. Montiel y col. *Curves and Surfaces*. Graduate studies in mathematics. American Mathematical Society, 2005. ISBN: 9780821838150.
- [39] D. Johnston y S.M.S. Wu. *Foundations of Cellular Neurophysiology*. A Bradford book. Mit Press, 1995. ISBN: 9780262100533.
- [40] V. Guillemin y A. Pollack. *Differential Topology*. AMS Chelsea Publishing. AMS Chelsea Pub., 2010. ISBN: 9780821851937.
- [41] Charlotte Greenblatt. *An Introduction to Transversality*. 2015. URL: https://schapos.people.uic.edu/MATH549_Fall2015_files/Survey%5C%20Charlotte.pdf.
- [42] Jonathan Michael Bloom. “The local structure of smooth maps of manifolds”. Harvard University, 2004. URL: <https://www.math.harvard.edu/media/ThesisXFinal.pdf>.

- [43] Arun Debray. *M382D Notes: Differential Topology*. University Lecture. Consulta: 03-2021. 2016. URL: https://web.ma.utexas.edu/users/a.debray/lecture_notes/m382d_notes.pdf.
- [44] Morris Hirsch. *Differential Topology*. Vol. 33. Springer-Verlag, 1976. ISBN: 978-1-4684-9451-8. DOI: 10.1007/978-1-4684-9449-5.
- [45] A. Blum, J. Hopcroft y R. Kannan. *Foundations of Data Science*. Cambridge University Press, 2020. ISBN: 9781108755528.
- [46] Peter Dayan y L. F. Abbott. *Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems*. The MIT Press, 2005. ISBN: 0262541858.
- [47] Antonio Colladoa y Arantxa Conesa. “Tratamiento farmacológico de la fibromialgia: hacia la neuromodulación química”. En: *Reumatología Clínica* 5 (2009), págs. 27-31. ISSN: 1699-258X.
- [48] Laura Celotto y col. “Long-term application of cannabinoids leads to dissociation between changes in cAMP and modulation of GABAA receptors of mouse trigeminal sensory neurons”. En: *Neurochemistry International* 126 (2019).
- [49] Jason N. MacLean y col. “Activity-Independent Homeostasis in Rhythmically Active Neurons”. En: *Neuron* 37.1 (2003), págs. 109-120. ISSN: 0896-6273.
- [50] O. Khorikova y J. Golowash. “Neuromodulators, not activity, control coordinated expression of ionic currents.” En: *The Journal of neuroscience* 27.32 (2007), págs. 8709-8718.
- [51] AE. Hudson y AA. Prinz. “Conductance ratios and cellular identity”. En: *PLoS computational biology* 6.7 (2010), e1000838.