Células Excitables
Clase 1

Ernesto Cristina

Año 2021 (SARS-CoV-2)

CLASES DE CÉLULAS EXCITABLES – "HOJA DE RUTA"

- **1° Clase**:

  Deduciremos dos ecuaciones que describen el curso temporal del potencial de membrana (**PM**) [V_m *(potencial de membrana)* ≡ V_i *(potencial eléctrico en el medio intracelular)* – V_o *(potencial eléctrico en el medio extracelular)*] ante estímulos de corriente, y definiremos τ (**Constante de Tiempo**).

- **2° Clase**:

  <u>Presentaremos</u> la **Ecuación del Cable**, a partir de la cual es posible obtener una ecuación que describe el curso espacial de V_m (relación entre el PM y la distancia "*x*") ante estímulos de corriente. Definiremos λ (**Constante de Espacio**).

  Veremos como se relaciona la Velocidad de Propagación del cambio en V_m con τ y con λ.

  Deduciremos una ecuación que permite calcular el valor de V_m en **estado estacionario** [ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (***GHK***) "*versión eléctrica*"].

- **3° Clase**:

  Estudiaremos algunas características del Potencial de Acción (**PA**) en el Axón Gigante de Calamar (**AGC**).

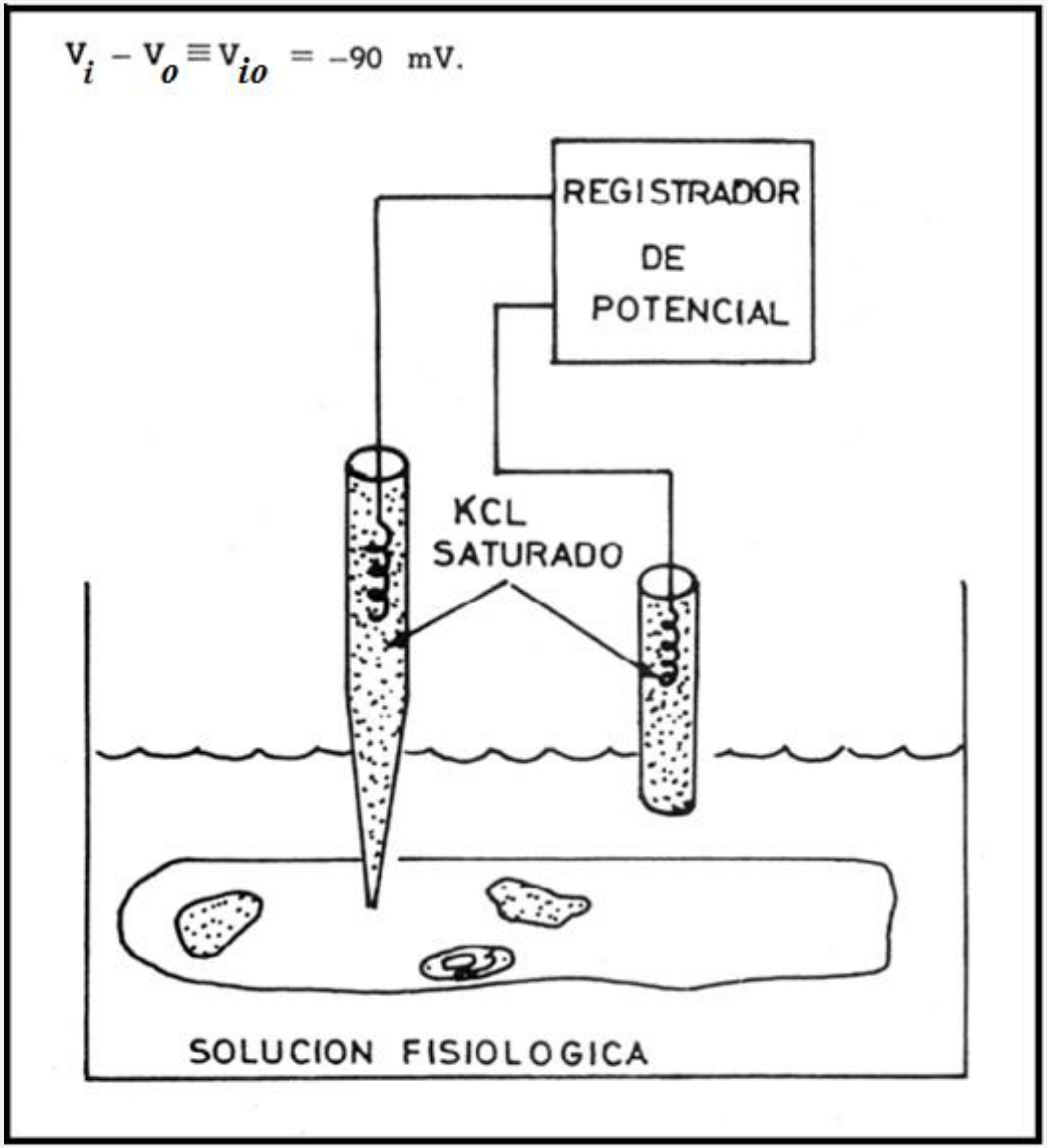
- **Electrodo**: de una manera general, podemos decir que un electrodo es el extremo de un “conductor” en contacto con un medio, al que lleva o del que recibe una corriente eléctrica.

- **Micro electrodo**: por ejemplo, un pequeño tubo capilar que se estira bajo la acción del calor (mechero) para producir un extremo muy fino, con un diámetro menor a 1 μm (10^{-4} cm). El micro electrodo es llenado con una solución electrolítica, por ejemplo KCl, para conducir corriente.

Potencial de “Reposo”

- Lo que se observa al introducir un micro electrodo en el interior de una célula, colocando otro en el medio que la rodea y conectándolos a un dispositivo capaz de registrar diferencias de voltaje, es la existencia de una **diferencia de potencial eléctrico (DPE) a través de su membrana plasmática**. En condiciones de “**reposo**” las células suelen presentar una **DPE negativa**, la cual denominaremos $\boldsymbol{V_{rest} \equiv V_{i_{rest}} - V_{o_{rest}}}$ (potencial de reposo).

- En este contexto “**reposo**” implicará un estado celular particular: **estado estacionario** en el que el valor de $\boldsymbol{V_m}$ permanece constante.



Adaptado de “Transporte y Excitabilidad”. 1983. Pág. 18. Eduardo Ríos.

- Mantener este estado de "reposo" implica un elevado gasto de energía en el sistema nervioso de un mamífero. Se estima que aproximadamente **la mitad de la energía metabólica** consumida por el **cerebro de un mamífero**, se **destina al funcionamiento de las "bombas"** (proteínas enzimáticas unidas a las membranas celulares) que son las responsables de <u>mantener los gradientes de concentración de ciertos iones</u> (por ejemplo: Na^+ y K^+), a través de las membranas de estas células, mediante el consumo de energía.

- El origen de $\boldsymbol{V_{rest}}$ se debe a una distribución específica de iones a través de la membrana plasmática de las células, y en la gran mayoría de las células animales se trata de un ***Potencial de Difusión***.

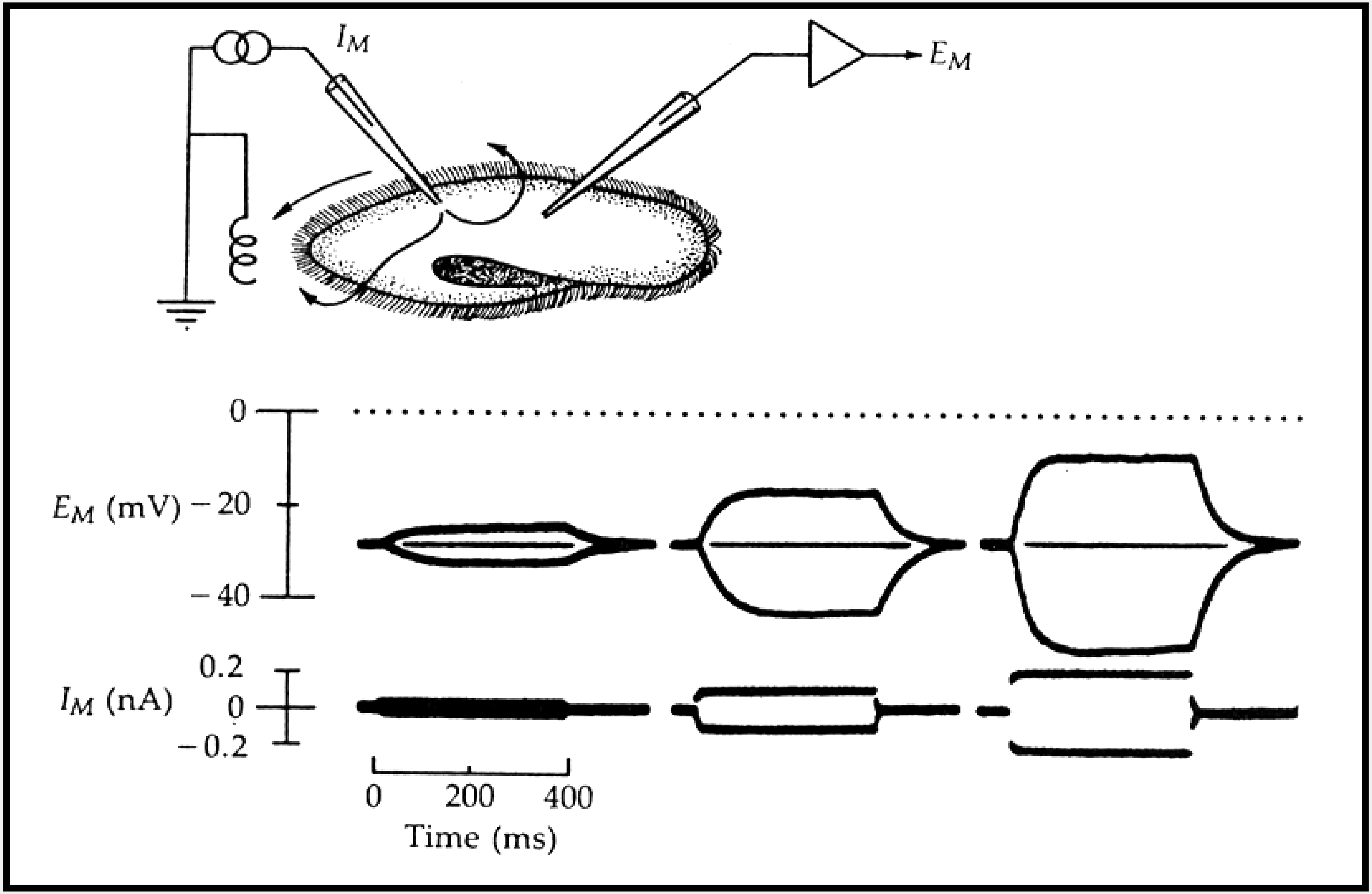
Experimento

- Tenemos una célula a la cual le insertamos un micro electrodo sin llegar a destruirla. A la vez, colocamos otro micro electrodo en el medio en el que se halla esta célula (para "cerrar" el circuito).

- Nos preguntamos: ¿Qué ocurrirá con el **PM** si generamos una cierta cantidad de corriente que atraviese la membrana, $\boldsymbol{I_M}$ (pulso de corriente), utilizando los micro electrodos? Nota: los electrodos estarán conectados a una fuente de corriente.

- En la siguiente diapositiva se muestran los resultados experimentales en un paramecio. Se observan dos gráficos: 1.- E_M (PM en *mili voltios*) vs. *tiempo* (en *mili seg.*), y 2.- I_M (Intensidad de Corriente *en nano amperios*) vs. *tiempo* (en *mili seg.*). En el 1er gráfico se observan los cambios en el PM ante diferentes estímulos de corriente [diferentes tanto en la intensidad del estímulo, como en el sentido de la corriente que atraviesa la membrana (desde el interior hacia el exterior; curvas hacia "arriba" del eje de referencia en el 1er y 2do gráficos, y desde el exterior hacia el interior de la célula; curvas hacia "abajo" del eje de referencia en el 1er y 2do gráficos)]. En el 2do gráfico se observan los "pulsos rectangulares de corriente" (producidos por el generador de corriente); rectangulares pues al encender el generador de corriente, ésta alcanza una determinada magnitud que se mantiene durante un cierto tiempo hasta que se apaga el generador, ejemplo  .

Resultados Experimentales



Extraído de “Ionic Channels of Excitable Membranes”. 2nd Edition. 1992. Pág. 11. Bertil Hille.

- Por **<u>CONVENCIÓN</u>** una **corriente saliente** se define como una corriente con **signo positivo**. Una corriente de este tipo hará al **interior celular menos electronegativo**. Para entender esto debemos "visualizar" a la membrana como un condensador de placas paralelas. Una corriente saliente producirá la acumulación de cargas positivas en el lado interno de la membrana, y la pérdida de cargas positivas en el lado externo de la misma (si V_{rest} tuviera un valor, por ejemplo, de -30 *mV*, ante un estímulo de corriente saliente pasaría a valores superiores, -20 *mV*, -10 *mV*, etc., dependiendo de la magnitud del estímulo de corriente).

  En este caso la célula se **despolarizará**. <u>Notar que esto es lo que se observa en los cambios del PM (E_M) en las curvas hacia "arriba" del eje de referencia del 1^er^ gráfico (ver diapositiva anterior)</u>.

- Por **<u>CONVENCIÓN</u>** una **corriente entrante** se define como una corriente con **signo negativo**. Una corriente de este tipo hará al **interior celular más electronegativo**. Para entender esto nuevamente debemos "visualizar" a la membrana como un condensador de placas paralelas. Una corriente entrante producirá la acumulación de cargas positivas en el lado externo de la membrana, y la pérdida de cargas positivas en el lado interno de la misma (si V_{rest} tuviera un valor, por ejemplo, de -30 *mV*, ante un estímulo de corriente entrante pasaría a valores inferiores, -40 *mV*, -50 *mV*, etc., dependiendo de la magnitud del estímulo de corriente).

  En este caso la célula se **repolarizará** o **hiperpolarizará**, dependiendo de las condiciones en que se halle la célula. <u>Notar que esto es lo que se observa en los cambios del PM (E_M) en las curvas hacia "abajo" del eje de referencia del 1^er^ gráfico (ver diapositiva anterior)</u>.

NOTA: tener en cuenta que estas definiciones se aplican, o tienen validez, a **nivel macroscópico**. Describen lo que ocurre en un sector macroscópico de la membrana.

Electrotono - Definición

En una respuesta electrotónica (respuesta que presentan tanto las células excitables como las no excitables):

1. El cambio en el PM es graduado; si el pulso de corriente es de menor intensidad, el cambio será de menor amplitud, y viceversa. Notar que esto es precisamente lo que muestran los registros experimentales referidos a los cambios en el PM en el 1er Gráfico de la diapositiva Nro. 8.

2. El cambio en el PM decae con la distancia (lo analizaremos en la Clase 2). Tener en cuenta que en esta clase estaremos considerando los cambios en el PM exclusivamente con respecto al ***tiempo***.

***Pregunta*:** ¿Será posible hallar una ecuación que reproduzca los cambios que se observan en el **PM** en un experimento como el anteriormente descripto?

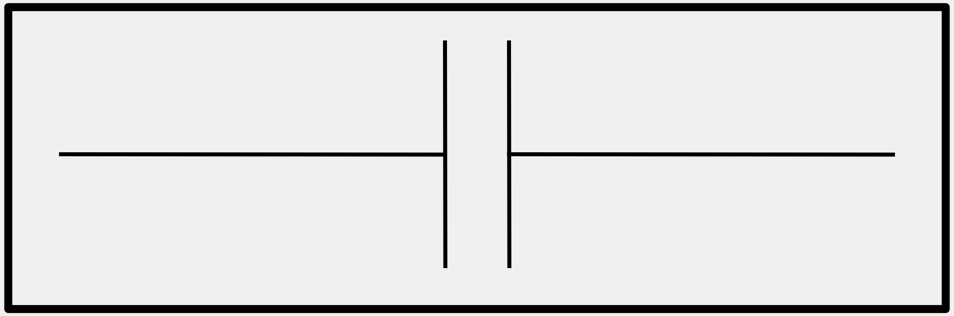
***Respuesta*:** Sí. Para ello debemos adentrarnos en las características de las membranas biológicas y tratar de construir un análogo eléctrico de las mismas.

La Membrana como un Condensador

- La **bicapa lipídica de las membranas celulares** separa soluciones conductoras que se hallan en los medios interno y externo de las células, mediante una capa aislante de entre 20-50 *ångstroms* de espesor, aproximadamente.

- Es capaz de mantener cargas eléctricas separadas entre sí, por lo tanto se comportará como un **Condensador** o **Capacitor**.

- La representación circuital de un condensador es la siguiente:



- La **Capacitancia** (o **Capacidad**) (*C*) nos indica la cantidad de carga ***Q*** que se debe distribuir a ambos lados de la membrana (o de las placas de un condensador) para que se establezca una DPE igual a $\boldsymbol{V_m}$. Es decir:

$$*\boldsymbol{Q = C \,.\, V_m} \quad \textbf{o} \quad \boldsymbol{C = Q / V_m}$$

- Usualmente, ***C*** se expresa como la **Capacitancia** (o **Capacidad**) **Específica de Membrana** ($\boldsymbol{c_m}$), en unidades de $\boldsymbol{F/cm^2}$.

- El valor efectivo de ***C*** se obtiene multiplicando $\boldsymbol{c_m}$ por el área total de la membrana (por ejemplo: en una célula esférica, $área = 4.\Pi.a^2$, siendo "*a*" el radio).

- $\boldsymbol{c_m}$ suele tener un valor aproximado de $\boldsymbol{1\,\mu F/cm^2}$ para la mayoría de las membranas biológicas.

Pregunta de Examen

Para una célula esférica de **5 $\boldsymbol{\mu m}$ de radio**, con $\boldsymbol{V_{rest}}$ **= -70 $\boldsymbol{mV}$**, y $\boldsymbol{c_m}$ **= 1 $\boldsymbol{\mu F/cm^2}$** calcular:

a) La carga "almacenada" por unidad de superficie.

b) La carga total.

c) La separación (diferencia) de cargas (en $\boldsymbol{moles/cm^2}$) que debe existir en ambos lados de la membrana para generar ese $\boldsymbol{V_{rest}}$.

Solución

Radio (a) = 5 μm = $5x10^{-6}$ m = $5x10^{-4}$ cm

V_{rest} = -70 mV = $-70x10^{-3}$ V, y c_m = 1 $\mu F/cm^2$ = 10^{-6} F/cm^2

a) La carga "almacenada" por unidad de superficie:

$q = c_m \cdot V_{rest} = 10^{-6}\ F/cm^2 \cdot |70x10^{-3}|\ V = |7x10^{-8}|\ (F/cm^2).V = |7x10^{-8}|\ coul/cm^2$

Nota: | | representa valor absoluto. Empleo el valor absoluto ya que la carga calculada es la misma tanto en el lado interno inmediatamente adyacente a la membrana, como en el lado externo inmediatamente adyacente a la membrana, con distinto signo.

b) La carga total:

$Q = C \cdot V_{rest} = c_m \cdot 4.\Pi.a^2 \cdot V_{rest} \approx |2,2x10^{-13}|\ coul$

c) 1 mol de iones monovalentes transporta 96.500 *Coulombs (coul)*, por lo tanto $|7x10^{-8}|$ $coul/cm^2$ transportarán:

1 mol iones monovalentes $\longrightarrow$ 96.500 *coul*

X $\longrightarrow$ $|7x10^{-8}|\ coul/cm^2$

X $\approx 7,3x10^{-13}$ $moles/cm^2$

Corriente Capacitiva

- Cuando ocurra un cambio de voltaje en la membrana, se modificará la distribución de cargas a ambos lados de la misma. Se generará una corriente. Esta **Corriente Capacitiva** se obtiene derivando la ecuación con asterisco (*) de la diapositiva Nro. 13 con respecto al tiempo.

$$\frac{dQ}{dt} = I_C = C \cdot \frac{dVm^{(t)}}{dt}$$

- Recordar que la corriente (***I***) es la cantidad de carga (***Q***) que fluye o circula por unidad de tiempo (***t***).

- ***Pregunta*****:** ¿Puede una corriente fluir a través de la bicapa lipídica?

- ***Respuesta*****:** En general, la doble capa de fosfolípidos presente en las membranas biológicas previene el pasaje de cualquier cantidad **significativa** de carga a través de las mismas.

- La Resistividad (ρ) de la membrana es aproximadamente **10^9** (mil millones) veces superior a la del medio que baña la cara interna de la membrana (lado citoplasmático).

La Membrana como una Resistencia

Las membranas biológicas poseen diversos tipos de **proteínas**. Éstas constituyen entre un 20% a un 80% (peso seco) de las membranas, según el tipo celular, y cumplen diversas funciones, por ejemplo:

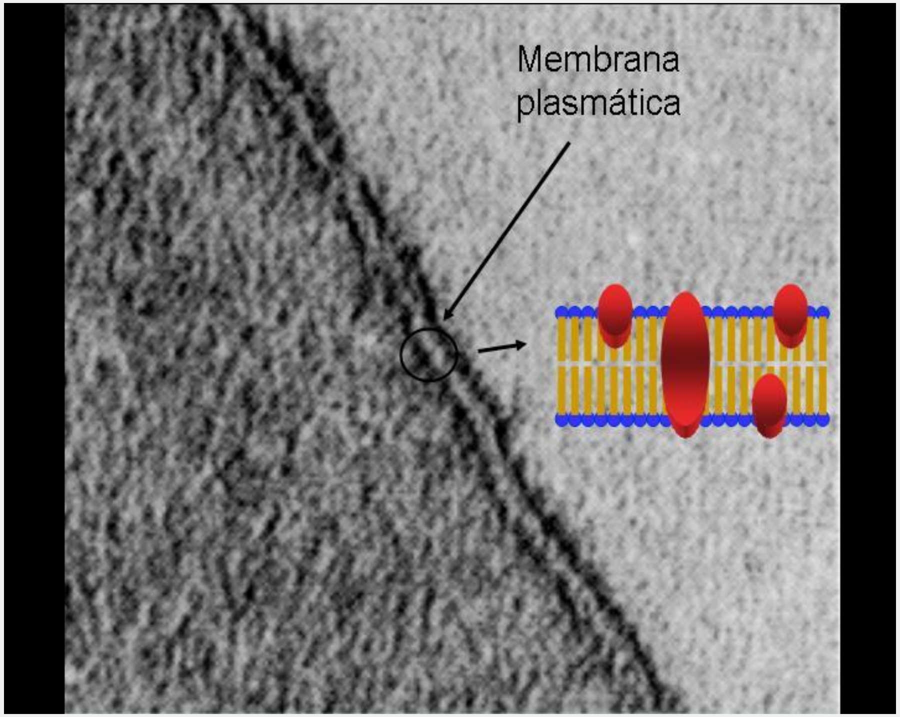
a) Función Estructural al ser parte integral de las mismas.

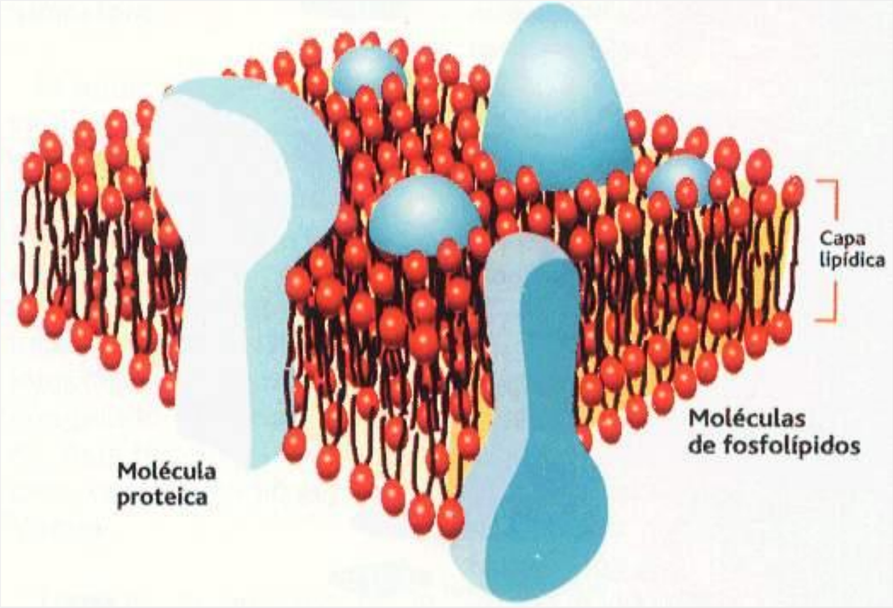
b) Transporte de Sustancias (por ejemplo, Canales Iónicos, “Carriers”, “Bombas Iónicas”, “Intercambiadores”, etc.).

c) Función Receptorial (por ejemplo, Receptores de Membrana).

Composición de las Membranas Biológicas

Modelo de Mosaico Fluido de Singer-Nicolson (1972)



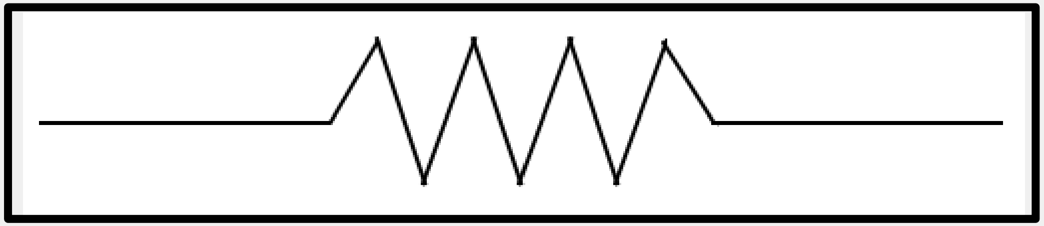


Imágenes extraídas de Internet.

- Nosotros nos concentraremos en aquellos componentes de la membrana que actúan como **vías difusionales de pasaje de iones (transporte pasivo)** a través de la “barrera lipídica”, logrando que las diferentes especies iónicas puedan “viajar” desde un medio al otro cruzando la membrana (por ejemplo, canales, poros, etc.).

- En consecuencia, describiremos la corriente que fluye a través de estos transportadores por medio de simples **Resistencias** [o **Conductancias** (recordar que la conductancia es la inversa de la resistencia)].

- La representación circuital de una resistencia es la siguiente:



- La Resistencia de Membrana (***R***) usualmente se expresa como "**Resistencia Específica de Membrana**" (r_m), en términos de resistencia por unidad de área (***ohm . cm²***).

  R se obtiene dividiendo r_m por el área total de la membrana considerada.

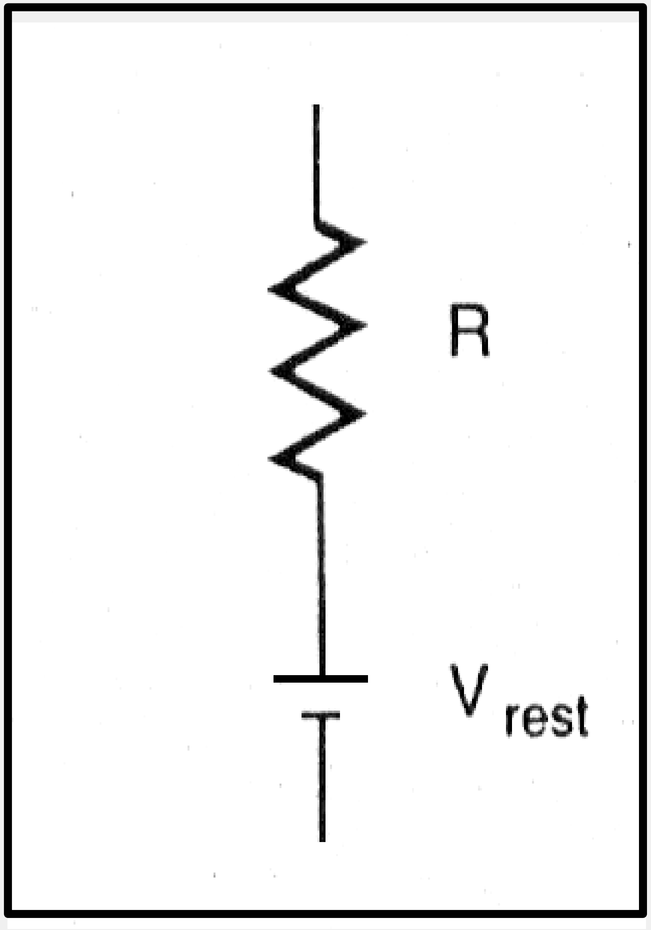
- A la inversa de r_m se la conoce como conductancia por unidad de área, o como la "**Conductancia Específica de Membrana**" ($g_m = 1/r_m$), y se mide usualmente en unidades de $\boldsymbol{siemens/cm^2}$ ($\boldsymbol{S/cm^2}$).

- Notar que **1/*R*** tiene unidades de **1/*ohm*** ≡ **1 *siemens***.

  Varios años atrás se empleaba una unidad conocida como ***mho*** (*ohm* al "revés"; unidad que se le atribuía a la conductancia y era equivalente a **1/*ohm***).

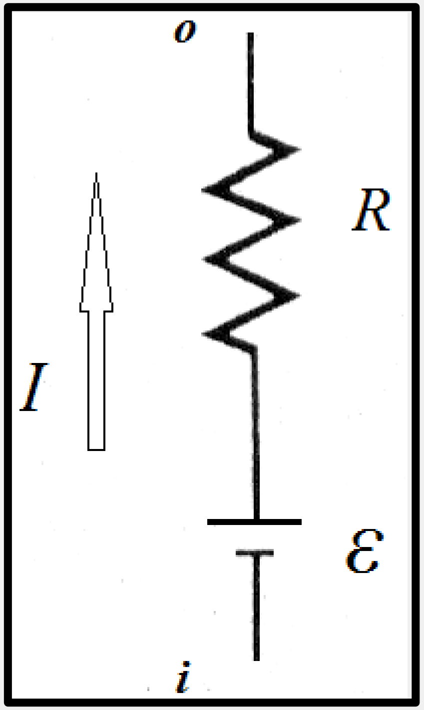
Corriente Resistiva

La corriente que pase por la rama resistiva del circuito equivalente que estamos construyendo estará dada por la ley de Ohm en su "*versión iónica*" [recordar que a nivel biológico las cargas que se movilizan son transportadas por iones, y la fuerza conductora para estos iones será el alejamiento del potencial de membrana con respecto al potencial de equilibrio (potencial de Nernst) del ión en cuestión: $V_m - V_{rest}$]. Se incluye una batería en esta rama del circuito representando el PM en el estado de reposo (V_{rest}).



$$I_R = \frac{V_m - V_{rest}}{R}$$

Como se obtiene I_R



Asumiendo la existencia de una corriente (*I*) que circula desde "*i*" hacia "*o*", el análisis de esta rama yendo desde "*o*" hacia "*i*" nos permite obtener lo siguiente:

$V_o + R.I - \varepsilon = V_i$, lo cual implica que

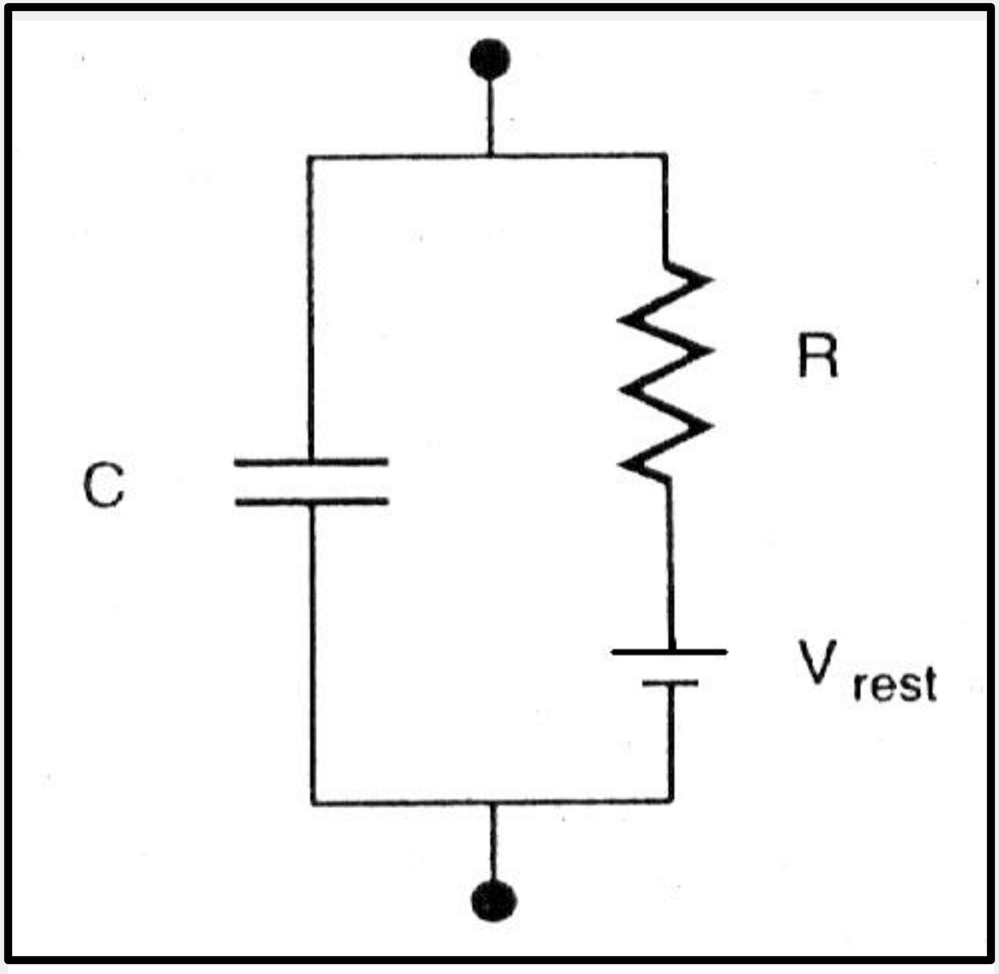
$V_i - V_o \equiv V_m = R.I - \varepsilon \Rightarrow {}^{(\bullet)}\ I = (V_m + \varepsilon)/R.$

En estado de reposo, $V_m = V_{rest}$, e $I = 0 \Rightarrow (V_{rest} + \varepsilon)/R = 0$ $\therefore \varepsilon = -V_{rest}$.

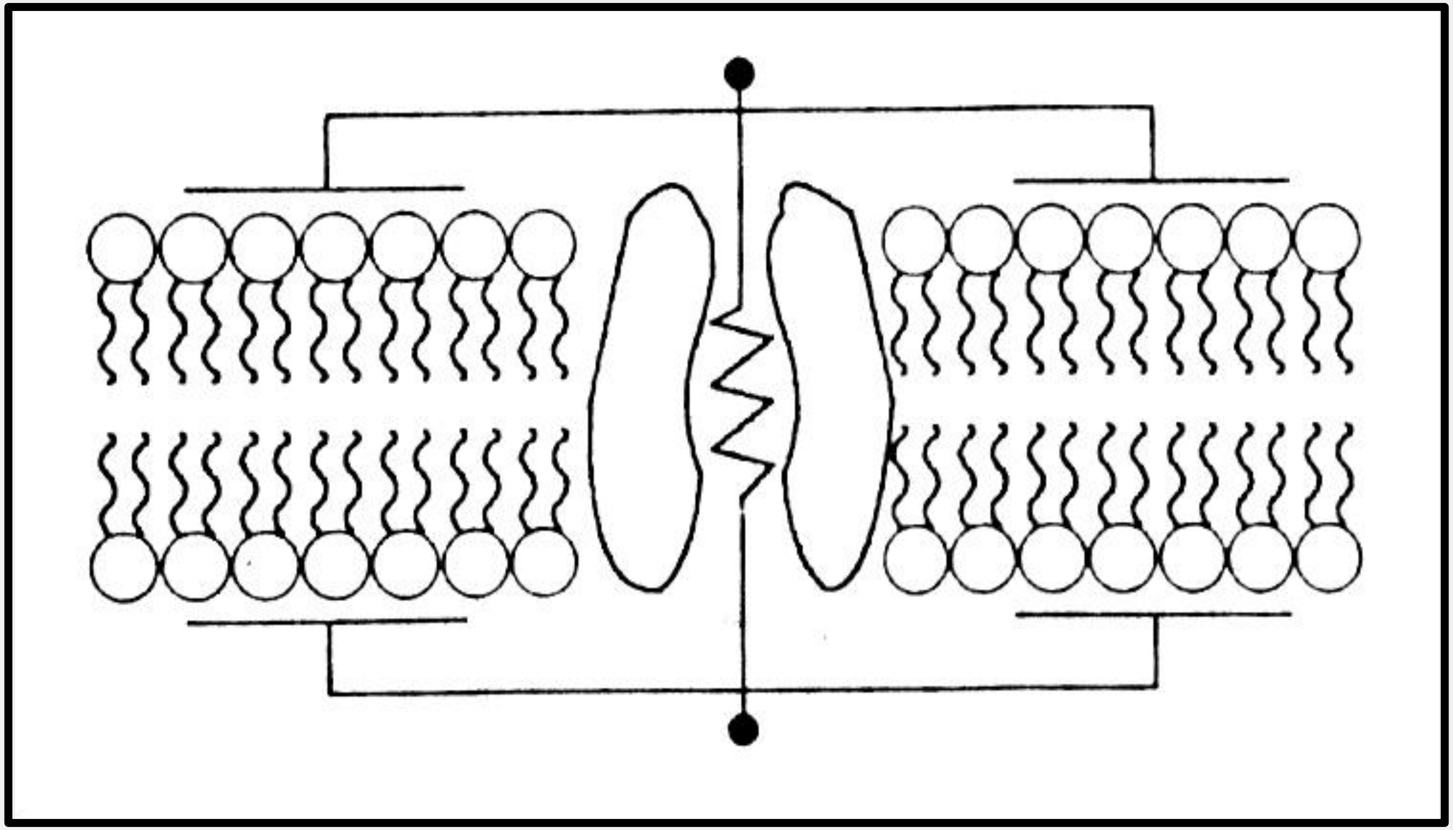
Sustituyendo esta última igualdad en la ecuación $^{(\bullet)}$ se logra el siguiente resultado:

$$\boldsymbol{I_R = (V_m - V_{rest}) / R.}$$

El circuito eléctrico más simple de un pequeño sector de membrana deberá incluir tres elementos: *condensador (C), resistencia (R) y batería (V_{rest}).* El análogo eléctrico de la figura es útil para explicar la respuesta electrotónica. El circuito consta de una rama capacitiva y una resistiva en paralelo, pues representan dos formas diferentes en que pueden ocurrir cambios en el PM.



Esquema del **Análogo Eléctrico** de la membrana "superpuesto" a la propia estructura de la membrana. Se observan las dos ramas en paralelo del circuito, según los componentes de la membrana.



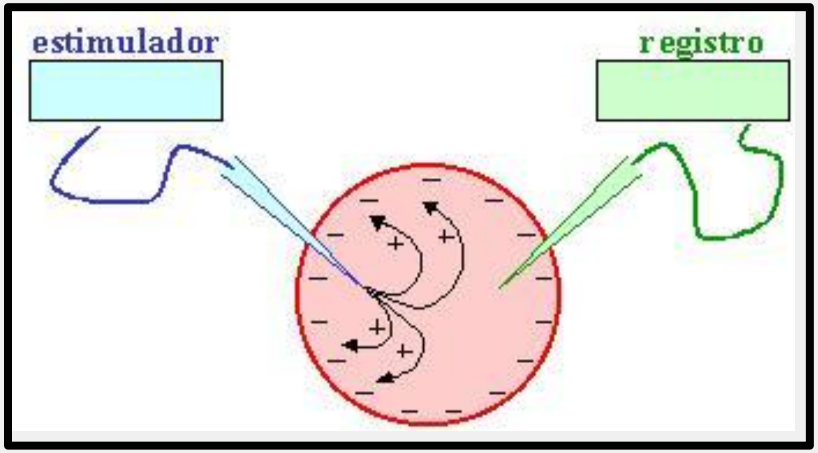
Extraído de "Foundations of Cellular Neurophysiology". 1992. Pág. 40. Daniel Johnston and Miao-Sin Wu. MIT.

Experimento Teórico

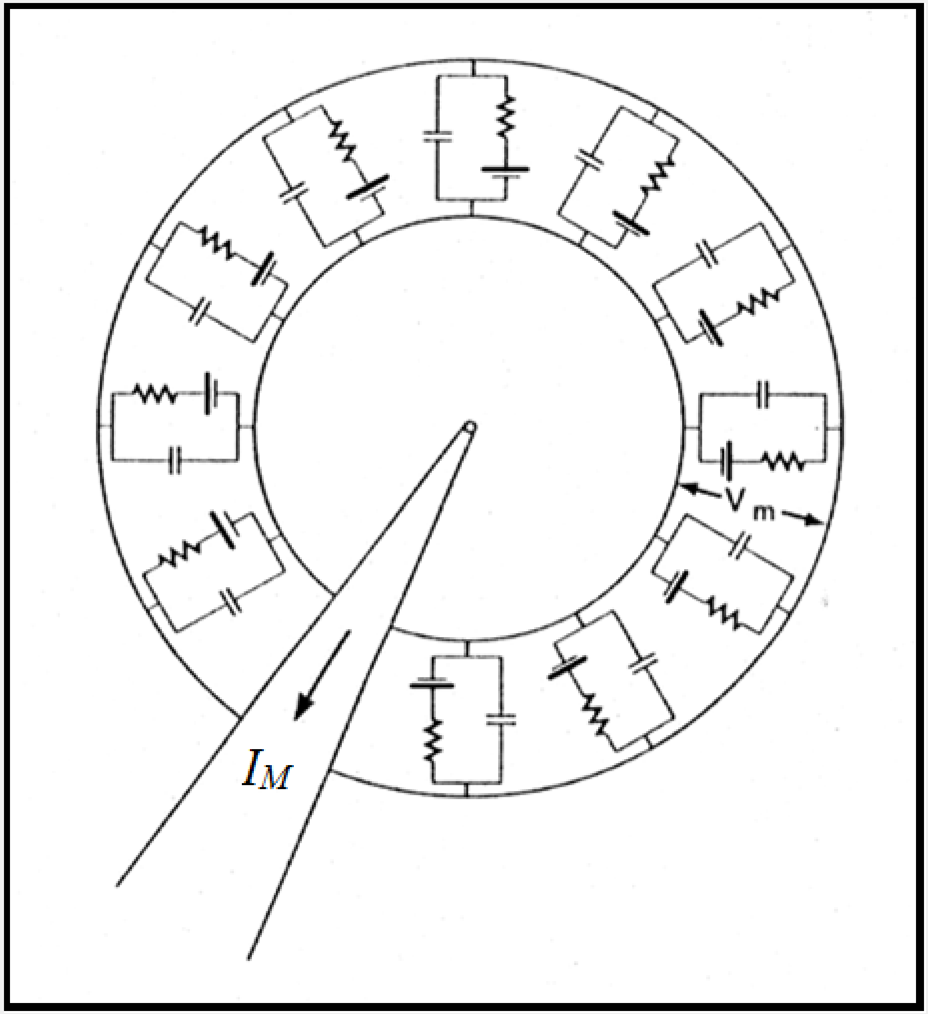
- Consideraremos una **célula esférica de pequeñas dimensiones** de diámetro "***d***". A esta célula le insertaremos un micro electrodo, sin llegar a destruirla.

- Por medio del micro electrodo haremos pasar una cierta cantidad de corriente saliente, $\boldsymbol{I_M(t)}$, a través de su membrana. El electrodo estará conectado a una fuente de corriente. Se contará además con otro micro electrodo que registrará los cambios en el PM (éste estará conectado a un dispositivo que indicará los cambios de voltaje a través de la membrana). Otros dos micro electrodos en el medio externo "cerrarán" ambos circuitos

- A partir de un sistema como este, y basándonos en el análogo eléctrico de la membrana obtenido anteriormente, trataremos de hallar una ecuación que nos permita reproducir los cambios en el PM con respecto al tiempo, en respuesta al pulso de corriente.



Podemos considerar a la membrana constituida por varios análogos eléctricos.



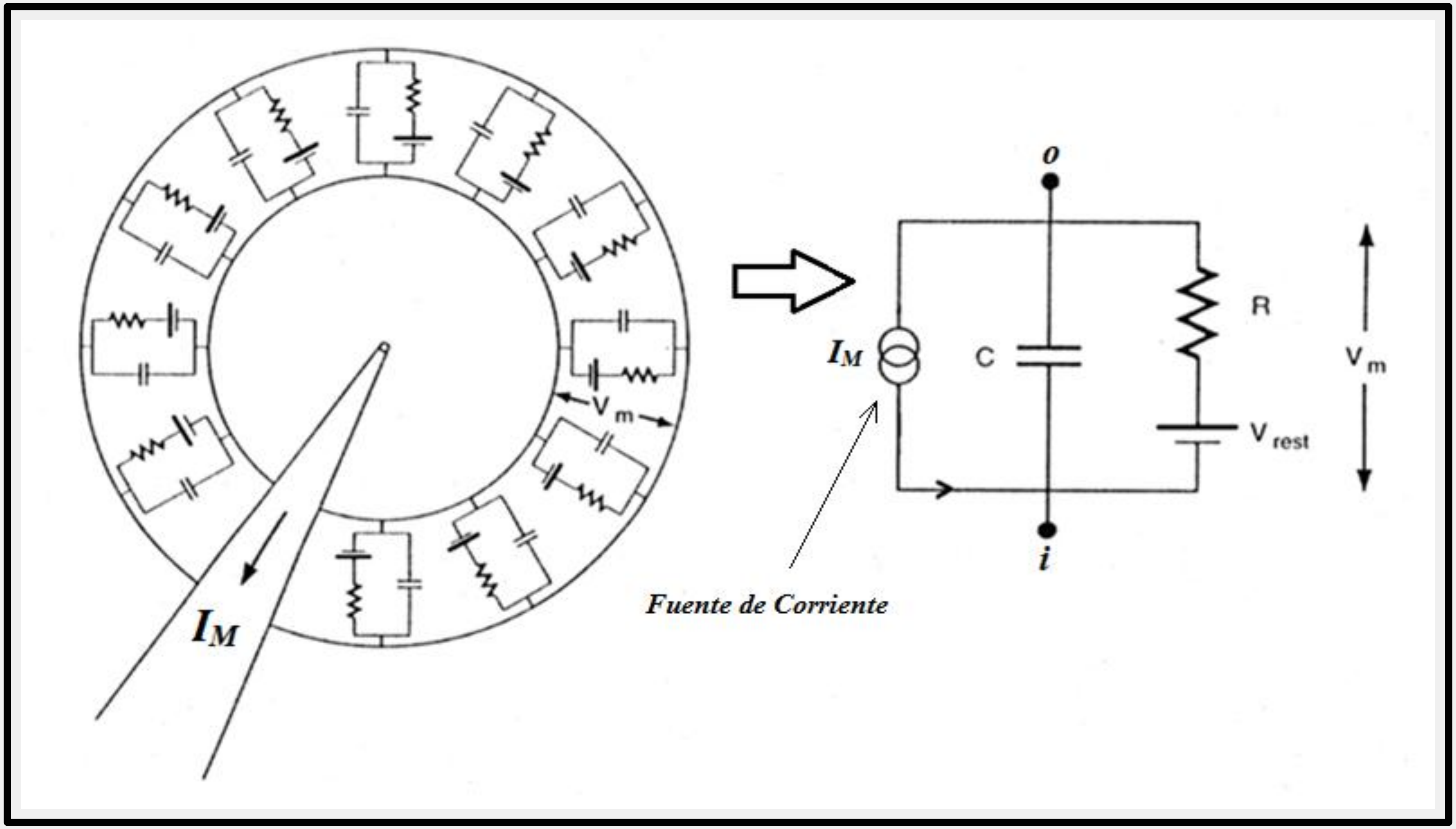
Adaptado de “Biophysics of Computation”. 1999. Pág. 9. Christof Koch.

- Asumiendo que las dimensiones de nuestra célula son muy pequeñas, **la diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana será la misma en todos sus puntos** una vez generado el estímulo de corriente, por lo tanto no existirá dependencia de la diferencia de potencial eléctrico con respecto a la distancia.

- Biofísicos y Electrofisiólogos dirían que la célula es "**Isopotencial**", o sea:

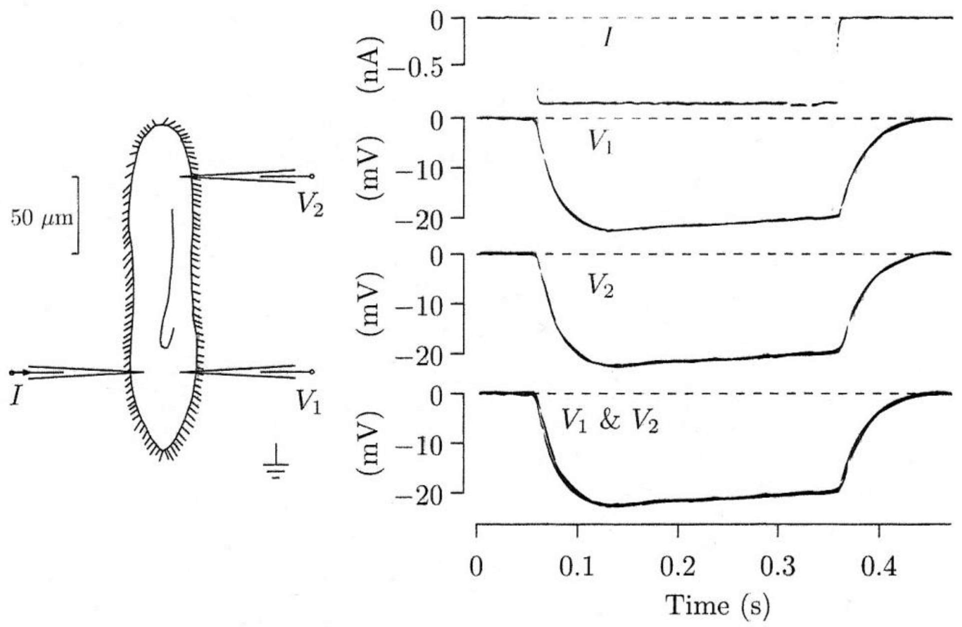
$$\frac{\partial V_m}{\partial x} = 0$$

- Esto implica que el comportamiento eléctrico de la célula puede ser adecuadamente descripto por una membrana compuesta por **uno solo de estos circuitos** conectado a una fuente de corriente.



Adaptado de “Biophysics of Computation”. 1999. Pág. 9. Christof Koch.

Ejemplo de un experimento de laboratorio: cambios en el PM ante estímulos de corriente entrante (hiperpolarizante) en un paramecio (**célula de pequeñas dimensiones**).
Los registros se efectúan en la posición “1” y en la posición “2” (gráficos 2 y 3 comenzando desde arriba).
El último gráfico muestra la superposición de las curvas de los gráficos anteriores. El cambio en el PM registrado en la posición “1” es el mismo que el registrado en la posición “2” (a 125 μm de la posición “1”). La célula es isopotencial.



Responses recorded with micropipettes from *Paramecium caudatum* at two intracellular locations in response to a current passed through the membrane with a third micropipette (adapted from Eckert and Naitoh, 1970, Figure 1). The left panel shows a schematic diagram of the stimulating and recording arrangement. The right panel shows the current stimulus I (above) and the changes in potential from the resting potential V_1 and V_2 both individually and superimposed (lowest trace). The two electrodes used to measure the intracellular potential were 125 μm apart. The potentials are referred to a common extracellular reference electrode.

Adaptado de “Cellular Biophysics - Electrical Properties”. 1996. Pág. 50. Thomas Fischer Weiss.

Continuamos con nuestra célula teórica

- La resistencia total ***R*** será $\boldsymbol{r_m}$ dividida por el **área total de la membrana** (**4.Π.*a*²** o **Π.*d*²**), ya que la corriente puede fluir hacia afuera a través de cualquier parte de la membrana.

- La capacitancia total (*C*) estará dada por $\boldsymbol{c_m}$ multiplicada por **el área total de la membrana**.

- La corriente por la **rama resistiva** estará dada por la ecuación:

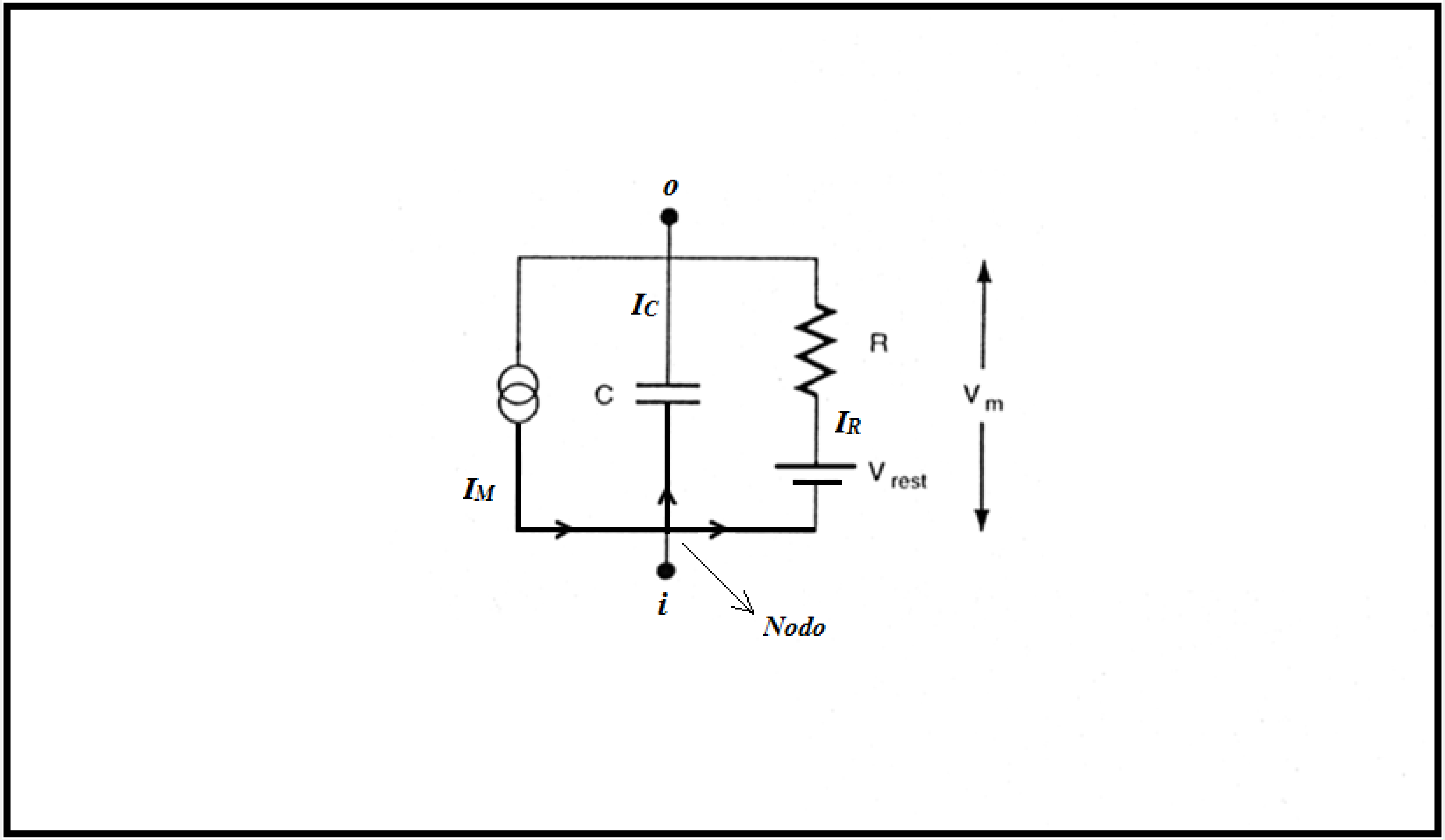
$$I_R = \frac{V_m(t) - V_{rest}}{R}$$

- La corriente por la **rama capacitiva** estará dada por la ecuación:

$$I_C = C \cdot \frac{dV_{m(t)}}{dt}$$

Ley de Kirchhoff

La suma de las intensidades de corriente que llegan a un nodo de un circuito es igual a la suma de las intensidades que salen de él. Por ejemplo, si se consideran positivas las intensidades que llegan al nodo y negativas las que salen de él, esta ley establece que la suma algebraica de todas las intensidades de corriente en cualquier punto de un circuito es nula.



Adaptado de “Biophysics of Computation”. 1999. Pág. 9. Christof Koch.

- Aplicando la **Ley de Kirchhoff** en el nodo indicado en el circuito de la diapositiva anterior, la suma de las corrientes capacitiva y resistiva deberá ser igual a la corriente aplicada (I_M), es decir,

$$C \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} + \frac{V_m(t) - V_{rest}}{R} = I_M(t)$$

- Definiendo $\boldsymbol{\tau \equiv R . C}$ (***ohm . F = seg.***), la ecuación anterior se puede escribir como:

$$\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest} + R \cdot I_M(t)$$

Ecuación Diferencial Lineal de 1º Orden

(Existe solución analítica)

- Asumiendo que $\boldsymbol{V_m}$ **(*t* = 0) =** $\boldsymbol{V_{rest}}$, sustituyendo esto en la ecuación anterior, y en ausencia de corriente aplicada ($\boldsymbol{I_M}$ **= 0**), esta condición conduce a $\boldsymbol{dV_m/dt = 0}$. Es decir, el PM permanece en su **valor de "reposo"** en **ausencia de pulso de corriente**.

- A continuación, generamos un **pulso de corriente a *t* = 0**, con **una intensidad constante** ($\boldsymbol{I_M = I_0}$).

$$\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest} + R \cdot I_M(t)$$

$$\Downarrow$$

$$\boxed{\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest} + R \cdot I_0}$$

La Teoría de las Ecuaciones Diferenciales Ordinarias nos dice que la ***<u>solución genérica</u>*** a una ecuación lineal de 1º orden similar a la anterior se puede expresar como:

$$\boxed{V_m(t) = v_0 \cdot \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right) + v_1}$$

$\boldsymbol{v_0}$ y $\boldsymbol{v_1}$ son coeficientes constantes.

La expresión "**exp**" es una forma de representar al número irracional "***e***".

- v_0 y v_1 dependen de las condiciones iniciales. Sustituyendo la solución genérica anterior en la ecuación diferencial (diapositiva Nro. 36) se obtiene:

$$v_1 = V_{rest} + R \cdot I_0$$

- El valor de v_0 se obtiene a partir de la condición inicial $\boldsymbol{V_m (t = 0) = V_{rest}}$,

$$v_0 = -R \cdot I_0$$

- Definiendo $\boldsymbol{V_\infty = R.I_0}$, y sustituyendo los valores de v_1 y de v_0 en la solución genérica, se obtiene la siguiente ecuación (solución explícita de la ecuación diferencial lineal de 1º orden, para $I_M = I_0$):

$$\boxed{V_m(t) = V_\infty \cdot \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}} \qquad \textbf{\textit{Ec. (1)}}$$

Procedimieto para llegar a la ecuación de V_m en función de t (solución explícita de la ecuación diferencial lineal de 1º Orden, para $I_M = I_0$)

$\boldsymbol{v_0}$ y $\boldsymbol{v_1}$ dependen de las condiciones iniciales. Sustituyendo la solución genérica en la ecuación diferencial (diapositiva Nro. 36) se obtiene:

$\tau \,.\, v_0 \,.\, e^{-(t/\tau)} . (-1/\tau) = - v_0 \,.\, e^{-(t/\tau)} - v_1 + V_{rest} + R \,.\, I_0$. Despejando v_1 obtenemos la siguiente ecuación

(*) $v_1 = V_{rest} + R \,.\, I_0$.

La expresión de $\boldsymbol{v_0}$ se obtiene a partir de la condición inicial $\boldsymbol{V_m (t = 0) = V_{rest}}$, trabajando con la solución genérica,

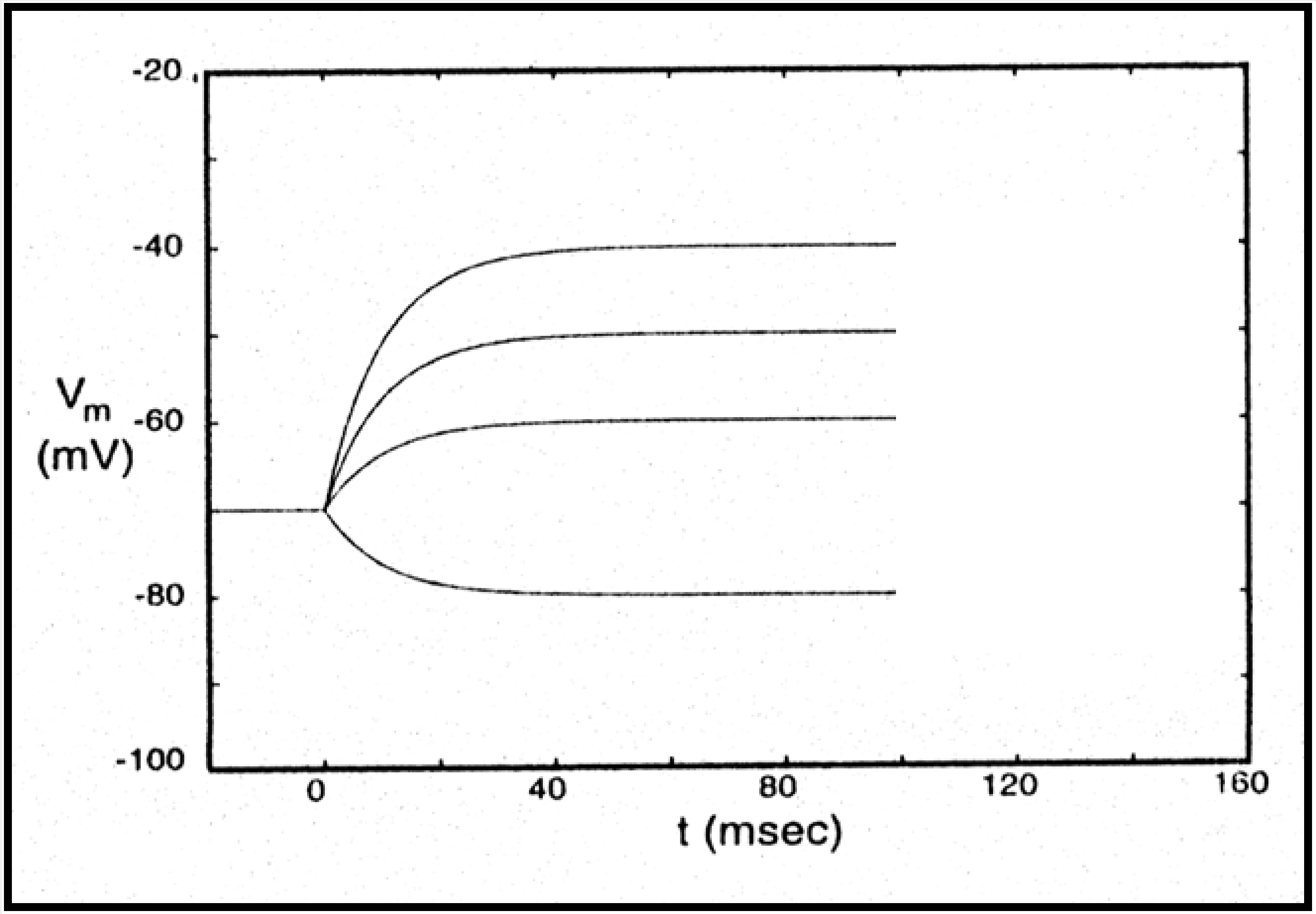
$V_m(t=0) = \boldsymbol{V_{rest}} = v_0 \,.\, e^{-(0/\tau)} + v_1 = \boldsymbol{v_0 + v_1} \Rightarrow v_0 = V_{rest} - v_1$. Sustituyendo v_1 por la ecuación (*) se obtiene

$v_0 = V_{rest} - V_{rest} - R \,.\, I_0 \Rightarrow v_0 = - R \,.\, I_0$.

Definiendo $\boldsymbol{V_\infty = R.I_0}$ se llega a la siguiente ecuación:

$$\boxed{\boldsymbol{V_m(t) = V_\infty \,.\, [1 - e^{-(t/\tau)}] + V_{rest}}} \qquad \textbf{\textit{Ec. (1)}}$$

La ***Ec. (1)*** nos dice que el curso temporal del PM [$V_m(t)$], es una **función exponencial del tiempo** (t), con una **constante de tiempo igual a** $\boldsymbol{\tau}$. Aunque el pulso de corriente sea instantáneo (el estímulo generado por la fuente de corriente), por ejemplo de *0 nA* (*nano amperios*) a un valor de I_0 *nA*, **el PM no cambiará instantáneamente**, sino que seguirá una trayectoria exponencial hasta alcanzar un valor igual a $\boldsymbol{V_{rest}} \pm \boldsymbol{V_\infty}$ [el signo de $\boldsymbol{V_\infty}$ dependerá del sentido del pulso de corriente (saliente positivo, entrante negativo)]. La figura muestra curvas teóricas obtenidas a partir de la ***Ec. (1)***. **Notar que estas curvas son similares a las que se obtienen en experimentos como el descripto en la diapositiva Nro. 8**. Adaptado de "Biophysics of Computation". 1999. Pág. 11. Christof Koch.



- Cuán rápido o lento cambie V_m, en respuesta a un pulso de corriente, estará determinado por τ, el producto entre la resistencia y la capacitancia de la membrana.

- **Notar que τ es independiente del tamaño y de la geometría (forma) de la célula, y posee dimensiones de tiempo**:

$$\tau = R \,.\, C = r_m \,.\, c_m$$

- Esta constante de tiempo puede estar comprendida entre valores de **10 *μseg*. a 1 *seg*.** para diferentes tipos de membranas celulares en condiciones de reposo.

- Un rango típico de τ, para células en condiciones "in vivo", se halla aproximadamente entre los **10 *mseg*.** a **20 *mseg***.

Demostrar que tau (τ) efectivamente tiene dimensiones de tiempo

Ley de Ohm:

I = V/R, con I → intensidad de corriente (amperios), V → voltaje (voltios), R → resistencia (ohmios).

=> ***R = V/I*** → ***voltios/amperios = voltios/(coul/seg)***.

Q = C.V, con Q → carga (coulombs), C → capacitancia (faradios), V → voltaje (voltios).

=> ***C = Q/V → coul/voltios***.

Por lo tanto,

R.C = voltios/(coul/seg) . coul/voltios = seg.

- El valor del PM final ("meseta" de la curva) ante un pulso de corriente será:

$$\left[V_m(t) = R \cdot I_0 \cdot \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}\right]$$

$$\Downarrow$$

$$\boldsymbol{V_m\,(t \rightarrow \infty) = R\,.\,I_0 + V_{rest}}$$

Recordar que $V_\infty = R\,.\,I_0$

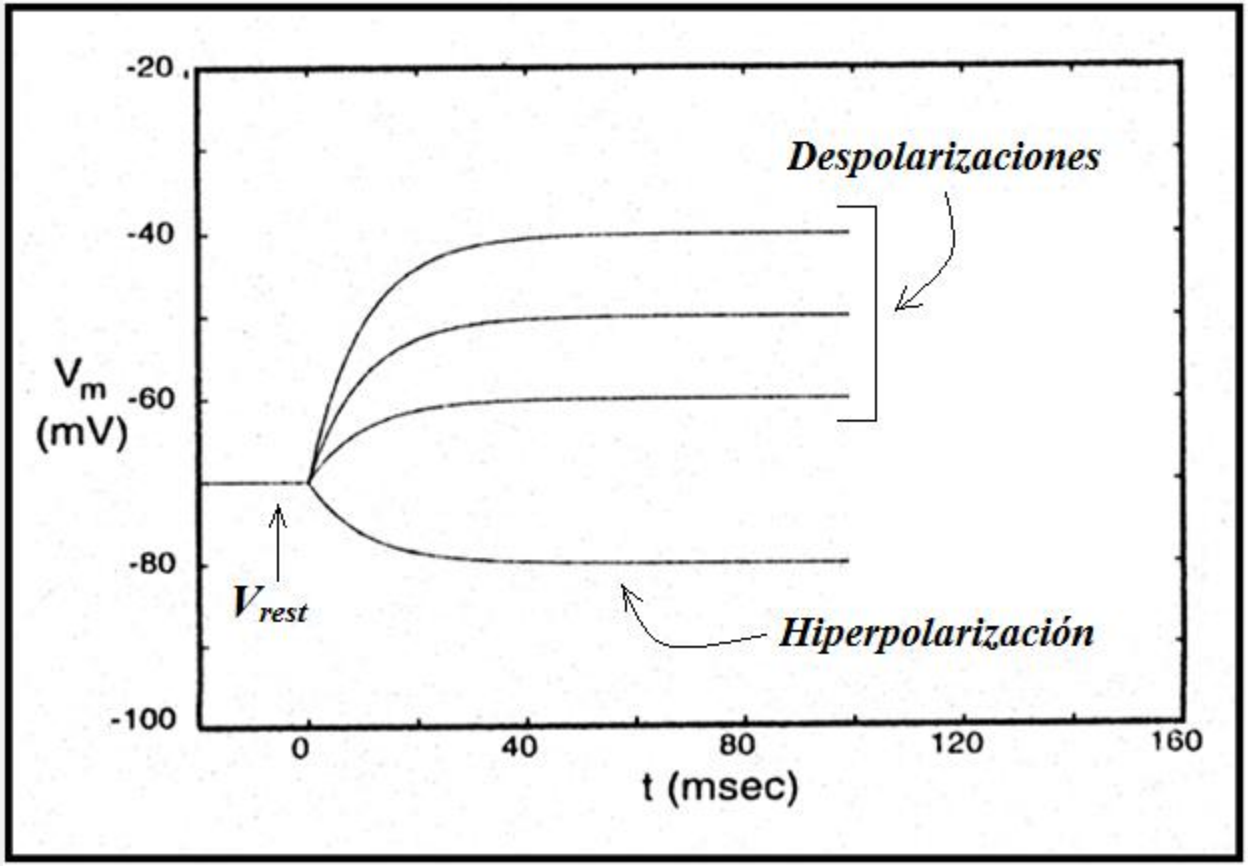
- Si $\boldsymbol{I_0 > 0}$, la célula se **despolarizará** (V_∞ positivo).
- Si $\boldsymbol{I_0 < 0}$, la célula se **repolarizará** o **hiperpolarizará** (V_∞ negativo), dependiendo de la circunstancia.

Si $I_0 > 0$, la célula se **despolarizará** ($V_\infty = R \,.\, I_0 > 0$).

Si $I_0 < 0$, la célula se **hiperpolarizará** ($V_\infty = R \,.\, I_0 < 0$).

Nota: en ambos casos la célula parte del estado de reposo.

$$V_m\,(t\rightarrow\infty) = \pm\, R \,.\, I_0 + V_{rest}$$



- ¿Qué ocurrirá si luego de que el PM haya alcanzado su nuevo valor estacionario (***V_{rest}*** ± ***V_{∞}***) se interrumpe el pulso de corriente? Se debe analizar la misma ecuación diferencial (ver diapositiva Nro. 35) con ***I_0 = 0***:

$$\boxed{\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest} + R \cdot I_0}$$

- Siguiendo un procedimiento similar al desarrollado anteriormente, se demuestra que el PM retorna a su valor de reposo (***V_{rest}***) siguiendo un curso temporal exponencial dado por la siguiente ecuación:

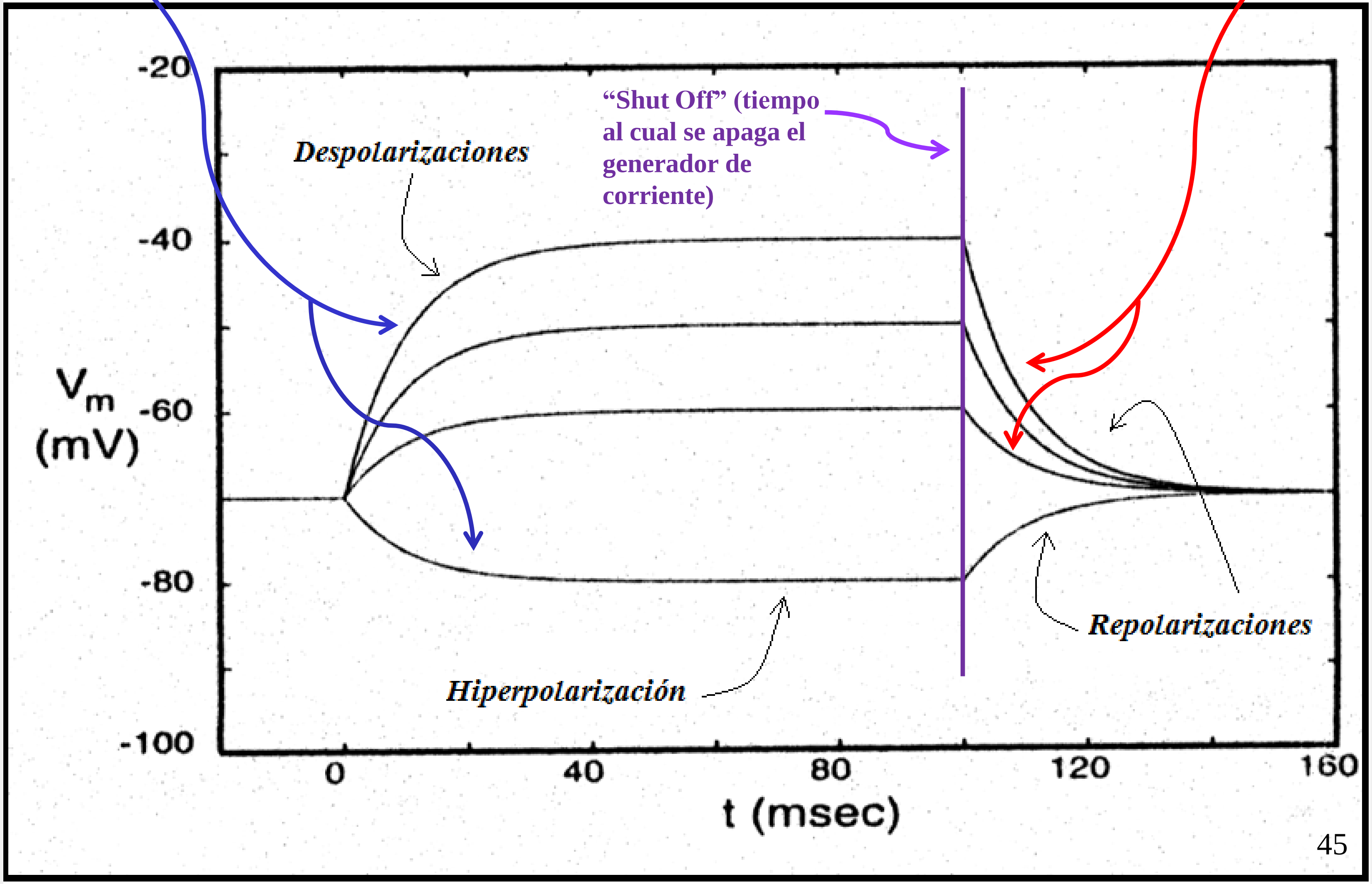
$$\boxed{V_m(t) = V_{\infty} \cdot \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right) + V_{rest}} \quad \textbf{\textit{Ec. (2)}}$$

$$V_m(t) = V_\infty \cdot \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}$$

Ec. (1)

$$V_m(t) = V_\infty \cdot \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right) + V_{rest}$$

Ec. (2)

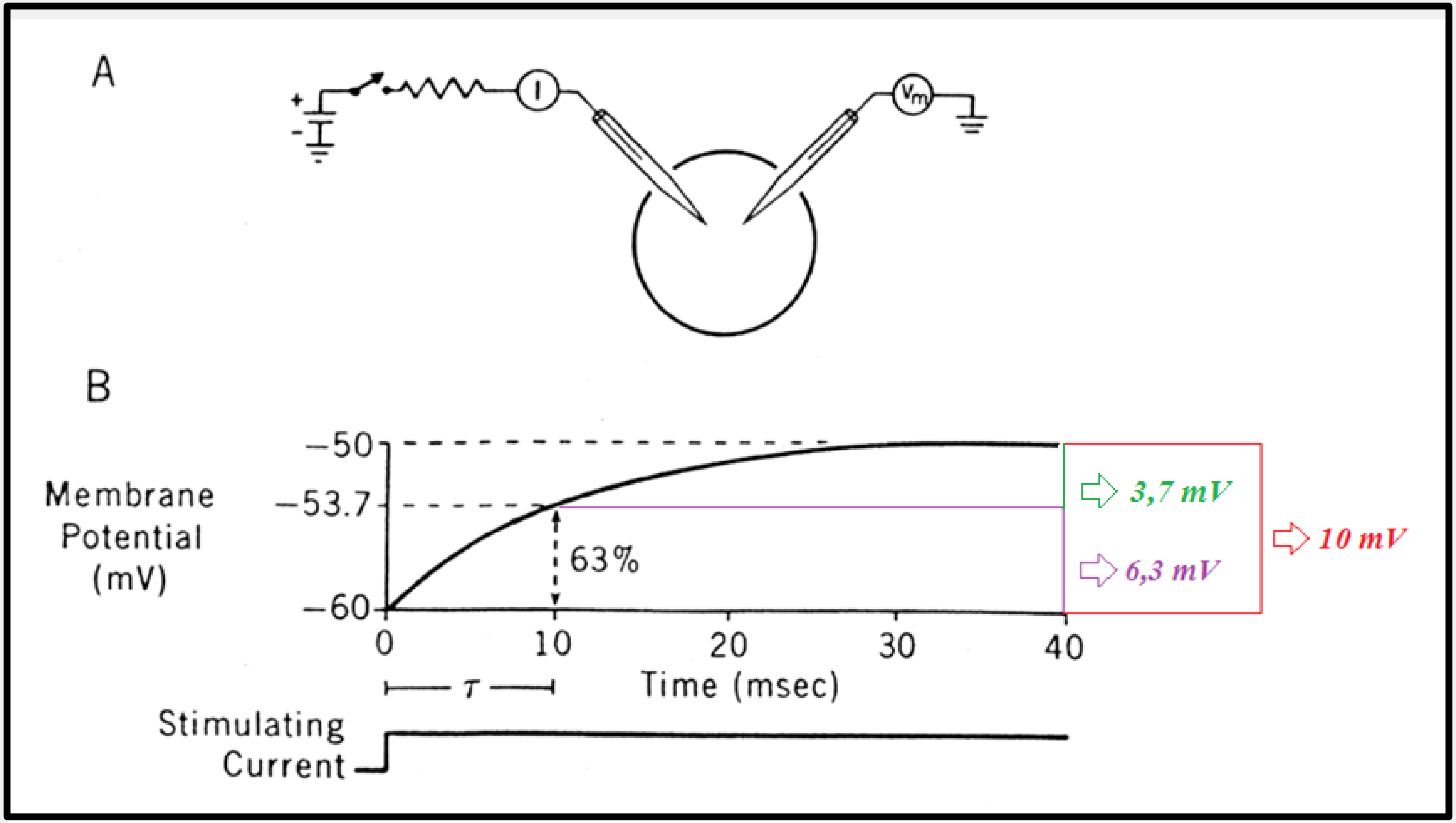


Constante de Tiempo (τ)

- La constante de tiempo cuantifica la lentitud del sistema para cambiar su voltaje, frente a un cambio en la corriente que lo atraviesa.

- La constante de tiempo hace referencia al tiempo que se requiere para que ***el cambio en el PM*** (***la magnitud del desplazamiento con respecto al potencial de reposo***), alcance el 63% de su valor final.

Experimento: pulso de corriente saliente en célula esférica y registro del cambio en el PM de la célula



Adaptado de "An Introduction to Membrane Transport and Bioelectricity". 2nd Edition. 1994. Pág. 106. Byrne and Schultz.

Constante de tiempo (τ)

Basándonos en el registro experimental de la diapositiva anterior (gráfico), notemos lo siguiente:

$V_m\ (t) = V_{rest} + V_{\infty}\ .\ [1 - e^{-(t/\tau)}]$ **_Ec. (1)_**

$V_m\ (t \rightarrow +\infty) = V_{rest} + V_{\infty} = -50\ mV$; $V_{rest} = -60\ mV$ y $V_{\infty} = +10\ mV$ (como se observa en el gráfico).

Estos ***+10 mV*** representan ***la magnitud del desplazamiento total con respecto al potencial de reposo*** (en este caso se trata de un pulso de corriente saliente, por lo tanto el PM tiende a valores "menos negativos").

Sustituyendo en la ***Ec. (1)*** los valores numéricos anteriores para un tiempo ***t*** igual a τ, comprenderemos cómo surge el 63%:

$V_m\ (t) = -\ 60 + 10\ .\ (1 - e^{-1}) = -53{,}7\ mV.$

El valor aproximado de $(1 - e^{-1})$ es de *0,63*; en otras palabras, se multiplica la magnitud del desplazamiento total con respecto al potencial de reposo (*+10 mV*) por *0,63*. Por lo tanto, a un tiempo igual a τ (en este caso $\tau = +10$ *mseg.*) ***el cambio en el PM*** (***la magnitud del desplazamiento con respecto al potencial de reposo***) alcanza el *63%* de su valor final [en este caso, *+6,3 mV* (*63% de 10 mV*)].

Ejercicio de Examen

En una célula esférica de $R = 10^9\ \Omega$ se pasa un pulso rectangular de ***corriente saliente*** que cambia V_m en 20 mV. Calcular: 1) las intensidades de las corrientes capacitiva y resistiva 2τ después de apagado el pulso, y 2) el sentido en el que circulan estas corrientes.

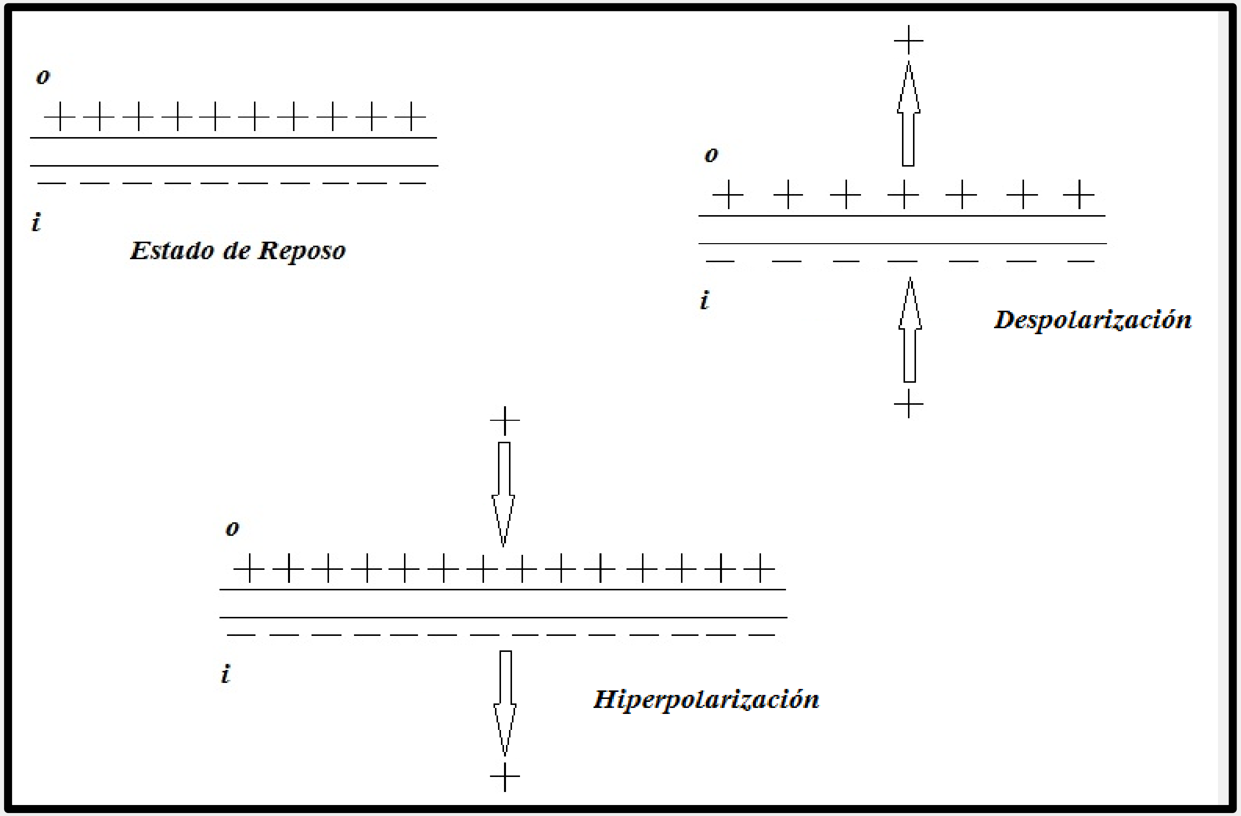
R: resistencia total de la membrana (*ohm*).

τ: constante de tiempo de la membrana (*seg.*).

Antes de resolver el ejercicio, es importante explicar lo siguiente:

Si uno considera a la membrana de una célula como un condensador de placas paralelas podremos interpretar lo que representan la despolarización y la hiperpolarización de una manera intuitiva [sabemos que existe otra vía de cambio en el PM y que se refiere al componente "resistivo" de la misma, pero en última instancia todo cambio que se verifique en el PM producido por un pulso de corriente se verá también reflejado en las placas del condensador (ambos lados de la membrana), como consecuencia de una redistribución de cargas en estas placas].

Por lo tanto, podemos "visualizar" la despolarización y la hiperpolarización de una célula, partiendo del potencial de reposo de la misma, por medio de los siguientes esquemas:



- Recordar como se definió corriente saliente y corriente entrante (diapositiva Nro. 9).

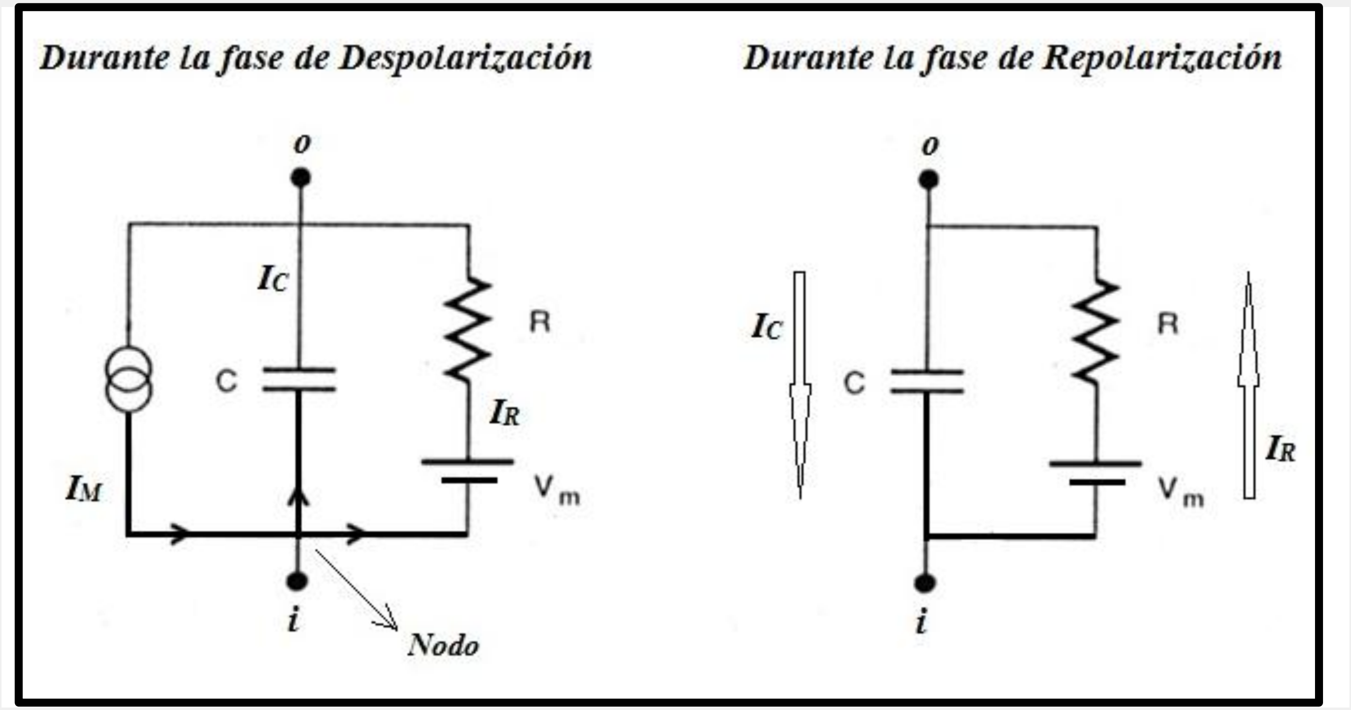
- Durante un pulso de corriente saliente (despolarización), el interior celular se vuelve menos electronegativo. Esto es lo que se observa en el esquema correspondiente a la despolarización (diapositiva anterior). En el lado interno adyacente a la membrana (“*i*”) (placa interna) se acumulan cargas positivas (“anulando” a una fracción de las cargas negativas que posee la membrana en su estado de reposo), mientras que en el lado externo adyacente a la membrana (“*o*”) (placa externa) se pierden cargas positivas (lo cual provoca una menor diferencia, con respecto a la situación de reposo, a favor de las cargas positivas en relación a las cargas negativas). Esto produce, en consecuencia, una corriente de cargas positivas hacia el exterior celular [aunque esta corriente no atraviesa a la membrana, en la interpretación que estamos realizando la misma ocurre como resultado de una redistribución de cargas en ambos lados de la membrana (placas)].

- Durante un pulso de corriente entrante (hiperpolarización), el interior celular se vuelve más electronegativo. Esto es lo que se observa en el esquema correspondiente a la hiperpolarización (diapositiva anterior). En el lado interno adyacente a la membrana (“*i*”) (placa interna) se pierden cargas positivas (lo cual provoca una mayor diferencia, con respecto a la situación de reposo, a favor de las cargas negativas en relación a las cargas positivas), mientras que en el lado externo adyacente a la membrana (“*o*”) (placa externa) se ganan cargas positivas (lo cual provoca una mayor diferencia, con respecto a la situación de reposo, a favor de las cargas positivas en relación a las cargas negativas). Esto produce, en consecuencia, una corriente de cargas positivas hacia el interior celular [aunque esta corriente no atraviesa a la membrana, en la interpretación que estamos realizando la misma ocurre como resultado de una redistribución de cargas en ambos lados de la membrana (placas)] .

Solución del Ejercicio – Parte 2)

Según la letra del ejercicio esta célula de dimensiones pequeñas (esférica) experimenta un cambio en el PM de +20 mV ($\boldsymbol{V_\infty}$ **=** +20 mV) (pulso de corriente saliente → despolarización). Al ser de dimensiones pequeñas, toda la membrana de esta célula podrá ser representada por un único circuito equivalente como el que se construyó y analizó a partir de la diapositiva Nro. 24 (es decir, el cambio en el PM depende solo del tiempo). No conocemos el valor del PM en reposo. A su vez, nos piden calcular los valores de I_C e I_R a un tiempo igual a dos veces tau (la constante de tiempo) luego de haber apagado el generador de corriente. Esto último nos indica que la célula se encuentra en fase de repolarización (el PM está retornando a su valor de reposo luego de que la célula experimentó una despolarización de +20 mV) (ver diapositiva Nro. 45). Conocemos además la resistencia de la membrana.

Circuitos equivalentes (la solución surge del estudio del circuito correspondiente a la ***fase de Repolarización***):



Observamos en el circuito correspondiente a la ***fase de Repolarización*** (diapositiva anterior) que la corriente capacitiva es entrante, mientras que la resistiva es saliente. Esto se entiende analizando lo que sucede en la rama capacitiva durante una fase de despolarización. Viendo el esquema de la diapositiva Nro. 50 (*Despolarización*), se puede apreciar que la corriente capacitiva durante un estímulo despolarizante es saliente (de "*i*" a "*o*"), y por lo tanto tendrá signo positivo (también se puede ver en la diapositiva anterior; *fase de Despolarización*). Cuando se apaga el generador de corriente cesa el pulso, por lo que se producirá la repolarización de la célula. Las cargas positivas acumuladas en el lado interno adyacente a la membrana ("*i*") (placa interna) durante la fase de despolarización tenderán a "salir" de la misma, mientras que las cargas positivas que se "deprendieron" del lado externo adyacente a la membrana ("*o*") (placa externa) durante la fase de despolarización tenderán a "volver", todo esto durante la *fase de Repolarización*.

De este modo, y al poder representar a toda la membrana de esta célula mediante un único circuito equivalente (en este caso, el de la *fase de Repolarización*), podemos comprender que la corriente que circula por la rama capacitiva será de igual magnitud pero con sentido contrario (diferentes signos) a la que circule por la rama resistiva. Es decir, si pudiéramos calcular una de ellas tendríamos el valor de la otra.

Mediante el análisis presentado hasta aquí ya hemos contestado una de las interrogantes que se plantea en la pregunta [concretamente la "2)"], el sentido correspondiente a cada corriente → $\boldsymbol{I_C < 0}$ ***(entrante) e*** $\boldsymbol{I_R > 0}$ ***(saliente) a*** $\boldsymbol{t = 2\tau}$.

Este ejercicio resulta ser un interesante ejemplo acerca de cómo el estudiante podría responder esta parte de la pregunta, si logró comprender los aspectos conceptuales del tema desarrollados a lo largo de esta primera clase.

Las magnitudes de las corrientes se calculan en la siguiente diapositiva.

Solución del Ejercicio – Parte 1)

Ya que la célula se halla en *fase de Repolarización*, podemos emplear la ***Ec. (2)*** (ver diapositiva Nro. 45):

$V_m(t) = V_\infty \, . \, e^{-(t/\tau)} + V_{rest}$ ***Ec. (2)***,

conjuntamente con la ecuación para la corriente resistiva I_R (ver diapositiva Nro. 23),

$I_R = (V_m - V_{rest}) / R$.

Sustituyendo V_m [***Ec. (2)***] en la ecuación anterior, se obtiene la siguiente expresión:

$I_R = [V_\infty \, . \, e^{-(t/\tau)}] / R$, y como $t = 2\tau \Rightarrow t/\tau = 2$.

Por lo tanto, $I_R = (20x10^{-3}\ V \, . \, e^{-2}) / 10^{+9}\ \Omega \approx 2{,}71x10^{-12}\ A$ (signo positivo como ya habíamos visto; corriente saliente).

En consecuencia, $I_C \approx -2{,}71x10^{-12}\ A$ (signo negativo como ya habíamos visto; corriente entrante).

En esta 1era Clase dedujimos 2 ecuaciones que describen el curso temporal del PM ante estímulos de corriente, y definimos $\boldsymbol{\tau}$.

$$\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest} + R \cdot I_0$$

$$V_m(t) = V_\infty \cdot \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}$$

$$\tau \cdot \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + V_{rest}$$

$$V_m(t) = V_\infty \cdot \left(\exp\left(\frac{-t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}$$

$$\boldsymbol{\tau = R \,.\, C = r_m \,.\, c_m}$$