

Práctico 5:

MEMBRANAS EXCITABLES*Sección Biofísica**Facultad de Ciencias, Universidad de la República***Simulación de las ecuaciones de Hodgkin y Huxley para la generación del potencial de acción en el axón gigante de calamar.**

El modelo comúnmente utilizado para explicar la generación y propagación del potencial de acción fue planteado por Hodgkin y Huxley en 1952. El programa con el que trabajaremos resuelve numéricamente las ecuaciones de este modelo en una condición particular de no propagación.

Introducción al programa AXOVACS

El programa a utilizar es AXOVACS *ElectrophysiologyComputerLab, 2.0* ©, 1989, Axon Instruments Inc.

Para abrir el programa, colocar la carpeta Axovacs en una carpeta conocida

Abrir DOSBOX

z: mount C C:/

C:/

dir

Cd ...

Cd Axovacs

Axovacs

El comando *dir* permite ver las carpetas que hay dentro de C:/ y el comando *Cd* seguido del nombre de la carpeta permite entrar a la misma. Se deben ir seleccionando las carpetas hasta llegar a la carpeta Axovacs. Luego con el comando AXOVACS se corre el programa.

Alt + Enter = pantalla completa

Alternativamente, puede abrir la carpeta Axovacs y arrastrar el archivo ejecutable sobre el ícono DOSBOX en el escritorio

Al correr el programa, nos presenta una pantalla con 10 opciones:

(1) Channels

VOLTAGE CLAMP

(2) Conductances

(3) Currents

(4) Advanced Version

CURRENT CLAMP

(5) Action Potential

(6) Expanded Scales

(7) Pharmacology

(8) Ion Substitution

(9) Advanced Version

OR: (0) Quit

1ª PARTE - Opción (9): Control de Corriente

Permite observar el efecto de un pulso rectangular de corriente sobre la membrana, evitando la propagación del estímulo. Es decir que, en un tiempo dado, todos los puntos de la membrana están al mismo potencial.

Para aplicar el estímulo, utilizar el comando *Run <R>* para observar la curva de potencial en función del tiempo. Utilizar la opción *Stimuli <S>* para modificar las características del estímulo aplicado.

Puede ser útil mantener un estímulo de referencia, utilizando las opciones por defecto para comparar con lo que ocurre cuando se modifica algún parámetro. Para limpiar la pantalla, utilizar el comando *Clear <C>*.

Actividades

- 1) Estudiar el efecto de variar la duración e intensidad del estímulo sobre el tipo de respuesta generada. Encuentre el umbral de disparo de la membrana.
- 2) Utilizando la opción *Expanded scales* en el menú *Display <D>* estudie el comportamiento de las corrientes de Na^+ y K^+ en las respuestas subumbral y regenerativa. A partir de lo observado explique qué propiedades de la membrana del axón determinan la existencia de un umbral.
- 3) Explore las características del periodo refractario y periodo de sumación latente, utilizando un segundo pulso de corriente.
- 4) Utilizar la opción *Pharmacology <P>* para estudiar la variación de la respuesta de potencial de acción al agregar las drogas Saxitoxina y Trietanolamina (TEA), así como al modificar los flujos iónicos.

2ª PARTE - Opción (4): Control de Voltaje.

Esta opción nos permite simular la experiencia de cambiar y mantener fijo, por un período de tiempo determinado, el potencial de una zona de la membrana, y medir las corrientes iónicas y las conductancias. Al igual que en el caso anterior, pueden modificarse las características del estímulo aplicado con la opción *<S>*.

Actividades

- 1) Identifique las corrientes de sodio y de potasio. Describa su comportamiento.
- 2) Estudie la dependencia con el voltaje del pico de I_{Na} y la máxima I_K al final de un pulso de 5 ms.
- 3) Proponga una forma de invertir el sentido de las corrientes de I_{Na} y I_K variando el potencial al que se fija la membrana. ¹

3ª PARTE - Opción (1): Canales

Esta opción nos muestra la simulación del comportamiento de los canales de potasio y sodio según el modelo de Hodgkin y Huxley.

Si seleccionamos para comenzar un canal de potasio, vemos como varía la apertura de los canales al causar una despolarización. En este modelo el canal de potasio tiene cuatro compuertas que pueden estar en el estado abierto o cerrado; el canal está abierto si las cuatro están abiertas.

En la parte superior de la pantalla se observa el comportamiento de cada una de las compuertas (GATES) y del canal (CHANNEL). La probabilidad de que en un instante dado una compuerta esté abierta se muestra abajo (PROBABILITY THAT GATE IS OPEN). Cada barrido (sweep) representa la observación de un canal durante 20 ms. En el gráfico inferior al de las compuertas, se muestra cómo evoluciona la probabilidad de que un canal esté abierto al pasar el tiempo (PROBABILITY THAT CHANNEL IS OPEN). En forma superpuesta se muestra frecuencia de apertura de los canales de la parte superior.

Actividades:

- 1) Observar lo que sucede con la frecuencia de apertura (curva quebrada en la última gráfica) al variar el número de barridos (sweeps: probar 1, 2, 10, 100 y 400). ¿Qué se puede concluir, con respecto a la conductancia al potasio de esta membrana modelo cuando el potencial se lleva a $0mV$?
- 2) Tomar nota de lo que sucede cuando el potencial al que se lleva la membrana es de $20mV$ y a $-70mV$. ¿Cómo se explican estos comportamientos?
- 3) ¿Qué sucede con la conductancia macroscópica de la membrana al potasio, cuando se despolariza la célula y dicha despolarización se mantiene en el tiempo? ¿Qué pasa cuando se hiperpolariza?
- 4) Cambiar el canal a Sodio. Dar una explicación de lo que significan h y m .
- 5) ¿Qué sucede con la conductancia al sodio al despolarizar la célula y mantener dicha despolarización en el tiempo?
- 6) Compare el comportamiento de la conductancia al sodio y al potasio.

¹ Sugerencia: considere cómo se producen las variaciones de permeabilidad de la membrana y qué es lo que define el sentido de las corrientes iónicas