

Membranas Excitables

Ismael Acosta
(iacosta@fcien.edu.uy)
Facultad de Ciencias, UdelaR

Contenido de la clase

- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

Contenido de la clase

- **Introducción teórica**
 - **Análogo eléctrico**
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

Una célula en estado estacionario (i.e.: en reposo) tiene una diferencia de potencial (electroquímico) de membrana dada por la **Ecuación de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK)**:

$$\Delta V_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{p_{Na^+} [Na^+]_e + p_{K^+} [K^+]_e}{p_{Na^+} [Na^+]_i + p_{K^+} [K^+]_i} \right)$$

Ver Práctico
04: Potencial
de Membrana

A este potencial lo denominaremos V_{rest} , pero tengamos en cuenta que es una diferencia de dos potenciales entre el interior y el exterior celular.

Puesto que el medio interior celular y el medio exterior poseen iones en solución, ambas son *sustancias conductoras*.

Esto implica que si hacemos circular una corriente eléctrica a través de ellas tendremos un **movimiento de cargas**.

Por convención:

- **Corriente Saliente (+)**: despolariza el medio interior celular.
- **Corriente Entrante (-)**: hiperpolariza el medio interior celular.

Las membranas biológicas están formadas por una **bicapa lipídica**, la cual puede *modelarse* eléctricamente como las dos placas de un **Capacitor**.

La **Capacitancia** de una membrana queda definida como la cantidad de carga Q que puede distribuir a ambos lados de la membrana, sobre la cual se establecerá una **Diferencia de Potencial**.

$$C = \frac{Q}{V_m} \rightarrow [C] = \text{Faraday (F)}$$

Usualmente, la Capacitancia de una membrana se mide en función del área total de la membrana.

Asumiendo una célula esférica, dicha área es:

$$á = 4\pi r^2$$

Donde r es el radio de la célula. Definimos la **Capacitancia Específica de Membrana (c_m)** como:

$$c_m = \frac{C}{á} \rightarrow [c_m] = \frac{F}{m^2}$$

En membranas biológicas, c_m tiende a medirse en $\mu F/cm^2$.

Al inducir un cambio de voltaje sobre la membrana, se modifica la distribución de cargas a ambos lados, generando una corriente que denominaremos como **Corriente Capacitiva (I_c)**.

Sabiendo que la intensidad de corriente es la *cantidad de carga por unidad de tiempo*:

$$C = \frac{Q}{V} \implies Q = CV \implies \frac{dQ}{dt} = I_c = C \frac{dV}{dt}$$

La bicapa lipídica impide el pasaje de corrientes significativas de carga. Para el transporte de iones se requieren *vías difusionales pasivas*. Estos **transportadores** se comportan eléctricamente como **resistencias**.

La **Resistencia (R)** se expresa en términos de la **Resistencia Específica de Membrana (r_m)**.

$$r_m = \acute{a}R \rightarrow [r_m] = (m^2)(ohm) = \Omega m^2$$

Típicamente, r_m tiene unidades de Ωcm^2

Análogamente, se define la **Conductancia Específica de Membrana** como:

$$g_m = \frac{1}{r_m} \rightarrow [g_m] = \frac{1}{\Omega \text{ cm}^2} = \frac{1}{\Omega} \frac{1}{\text{cm}^2} = \frac{S}{\text{cm}^2}$$

Donde S es la unidad de conductancia del SI (Siemens). Podemos expresar Ω y S en función de las unidades fundamentales del SI (MKS):

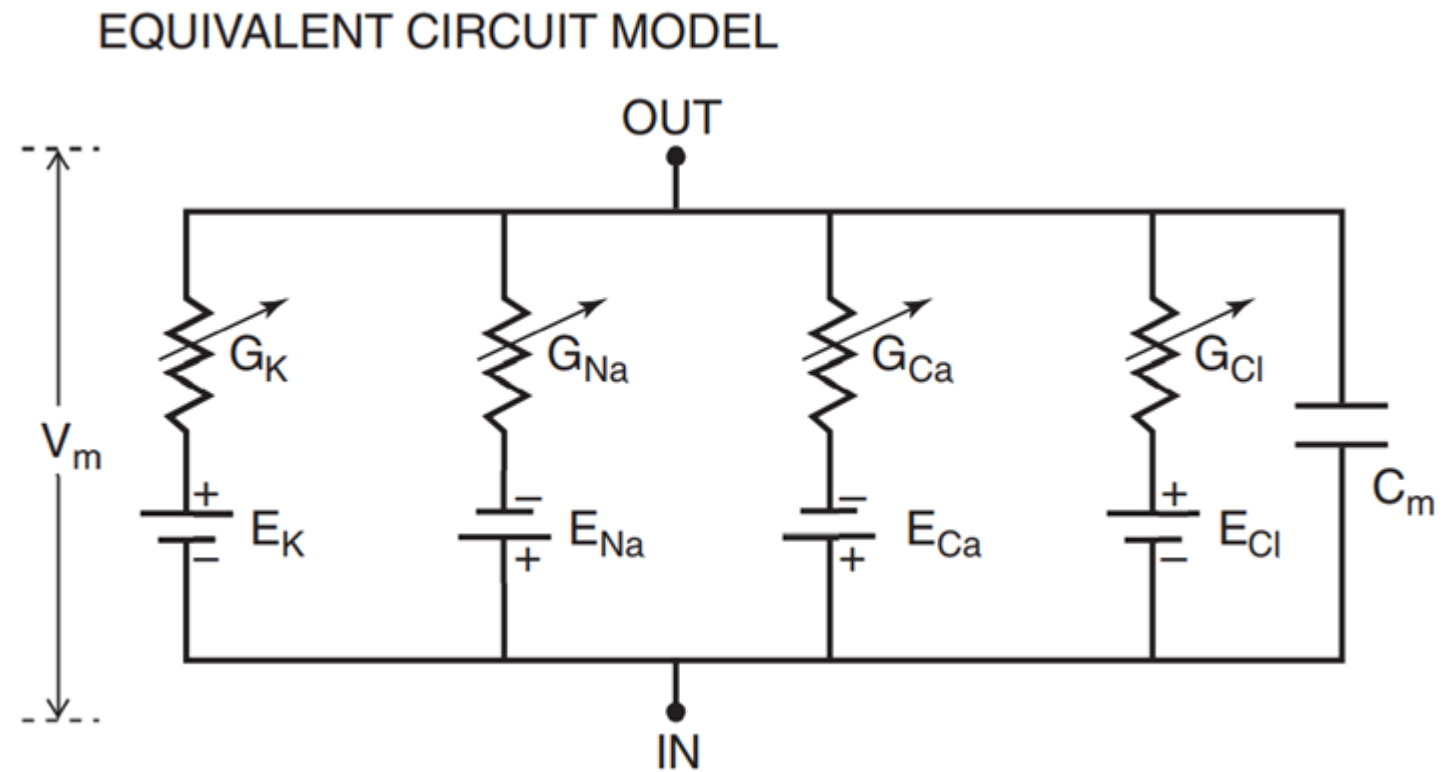
$$\Omega \equiv \frac{C^2 s}{kg \text{ m}^2} \Rightarrow S \equiv \frac{kg \text{ m}^2}{C^2 s}$$

Sobre estas resistencias circulará una corriente, denominada **Corriente Resistiva (I_r)** la cual obedece la **Ley de Ohm**.

$$I = \frac{\Delta V}{R} \Rightarrow I_r = \frac{V_m - V_{rest}}{R}$$

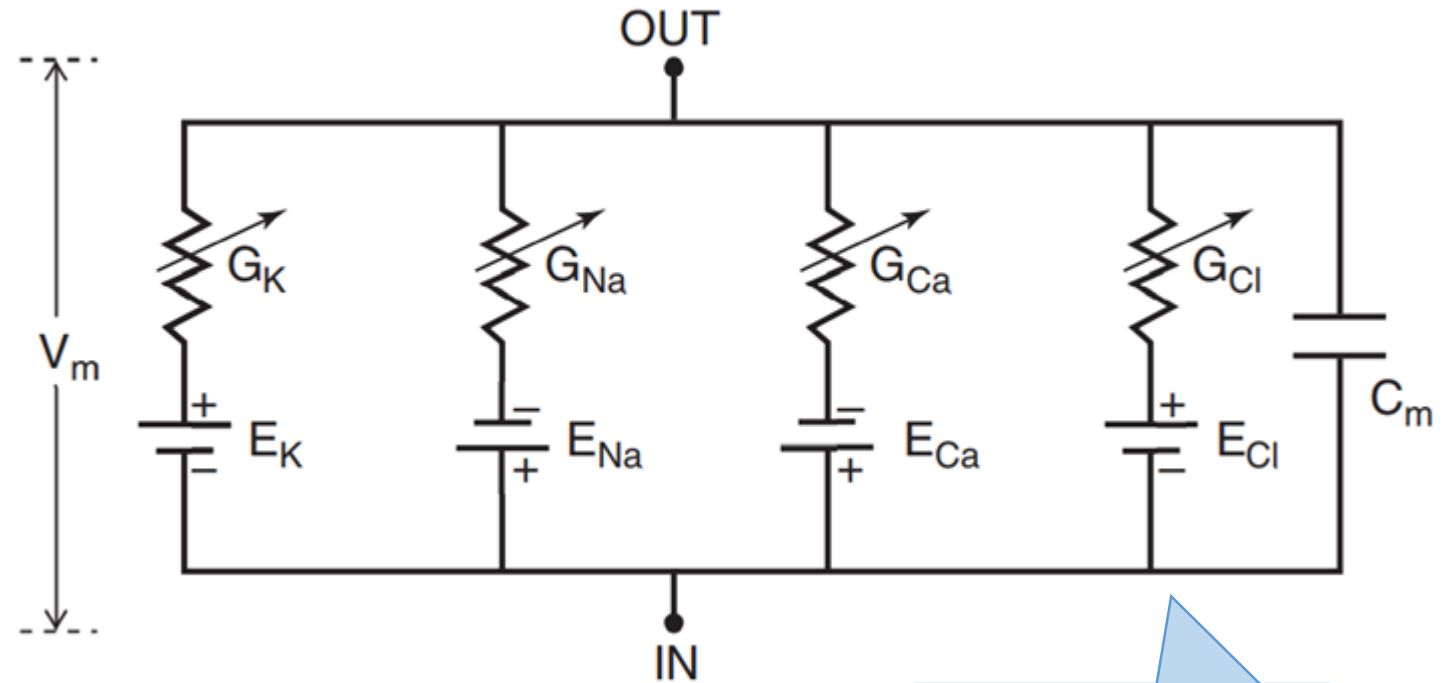
Notar que si la membrana está en reposo $V_m = V_{rest} \Rightarrow I_r = 0$, y no circula corriente. Cuando se inyecta algún tipo de corriente (saliente o entrante), V_m se modificará y $I_r \neq 0$.

El **circuito equivalente** permite modelar el comportamiento eléctrico de una membrana celular. La componente capacitiva está conectada en paralelo a las componentes resistivas de cada especie iónica.



Cada componente resistiva consta de una resistencia variable, asociada a una “*batería*” que depende del potencial en equilibrio de cada especie iónica (**Potencial de Nerst**).

EQUIVALENT CIRCUIT MODEL



Ver Práctico 04:
Potencial de Membrana

¿Por qué algunas baterías tienen su polaridad cambiada?

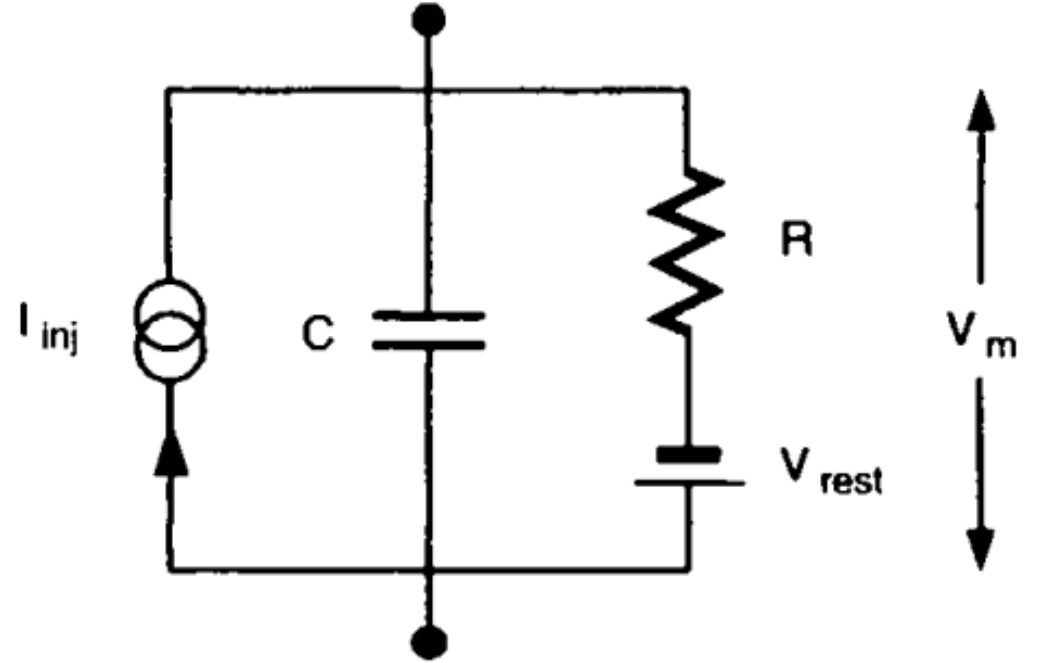
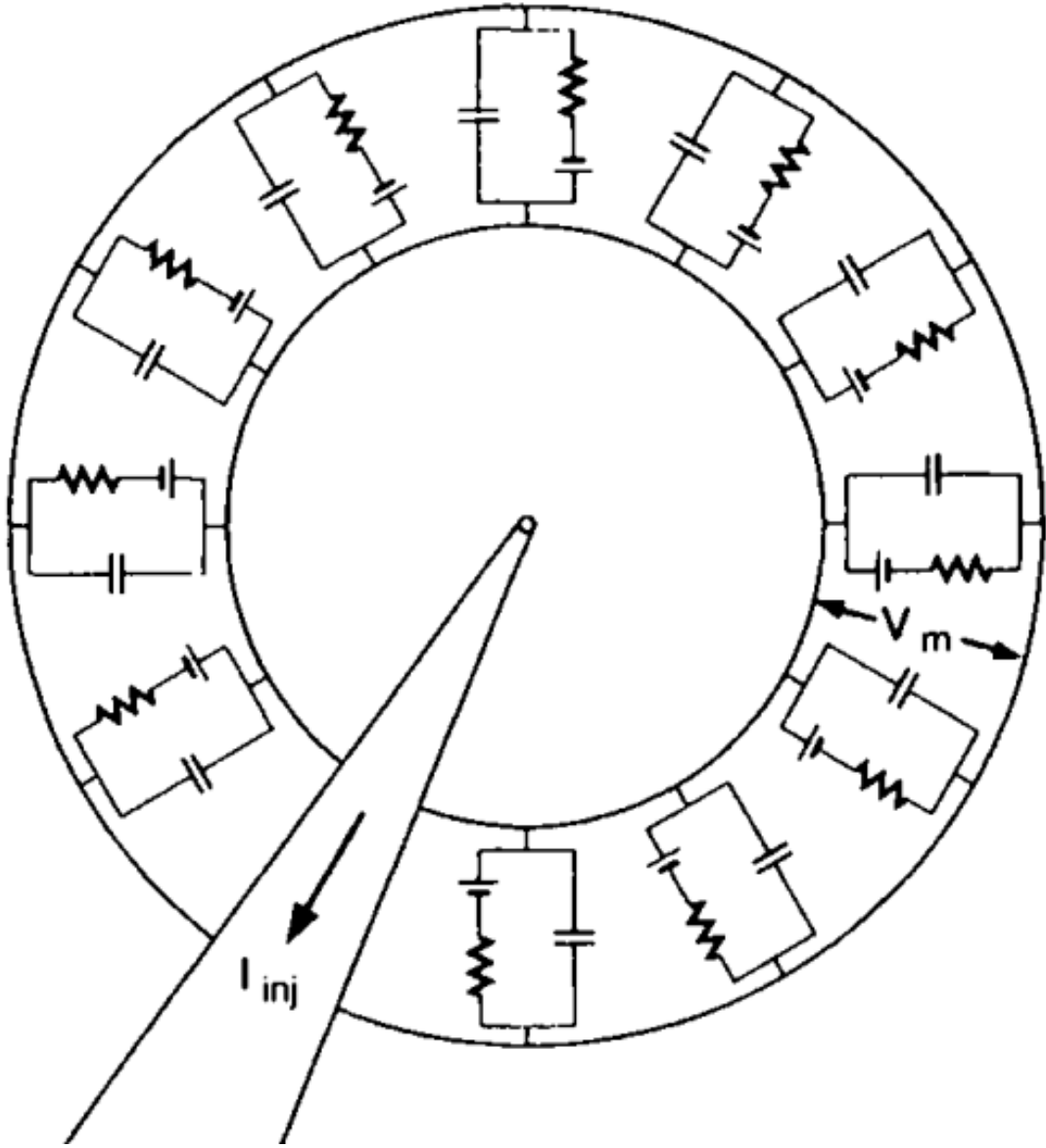
Puesto que las dimensiones de las células son relativamente pequeñas, ΔV_m será la misma en todos los puntos.

Si generamos un estímulo de corriente, no existirá dependencia del voltaje con respecto a la distancia (**Isopotencial**).

$$\frac{dV_m}{dx} = 0$$

La **Teoría del Cable** incluye una componente espacial del cambio de potencial de membrana, con su respectivo análisis matemático que aquí estamos asumiendo nulo. (Ver Teórico)

El comportamiento eléctrico de la célula puede ser descrito por una membrana compuesta con un solo circuito.



La **1era Ley de Kirchhoff (Ley de Nodos)** establece que la corriente que circula por un nodo del circuito es la suma algebraica de todas las corrientes aplicadas.

Definimos la **Intensidad de Corriente de Membrana (I_m)** como:

$$I_m = I_c + I_r = C \frac{dV_m}{dt} + \frac{V_m - V_{rest}}{R}$$

La ecuación obtenida es una **Ecuación Diferencial Lineal de Primer Orden**, que tiene *solución analítica*.

Si definimos: $\tau \equiv RC$

$$I_m = C \frac{dV_m}{dt} + \frac{V_m - V_{rest}}{R} \Rightarrow R I_m = RC \frac{dV_m}{dt} + V_m - V_{rest}$$

$$R I_m + V_{rest} - V_m = \tau \frac{dV_m}{dt}$$

Donde τ es la **Constante de Tiempo** o Tiempo Característico, medido en segundos, y es independiente del tamaño y la geometría de la célula. Típicamente, $10 \text{ ms} \leq \tau \leq 20 \text{ ms}$.

La **solución** de esta ecuación es:

$$V_m = V_0 \left(1 - \exp \left(-\frac{t}{\tau} \right) \right) + V_{rest}$$

Demostración en el Anexo de esta presentación

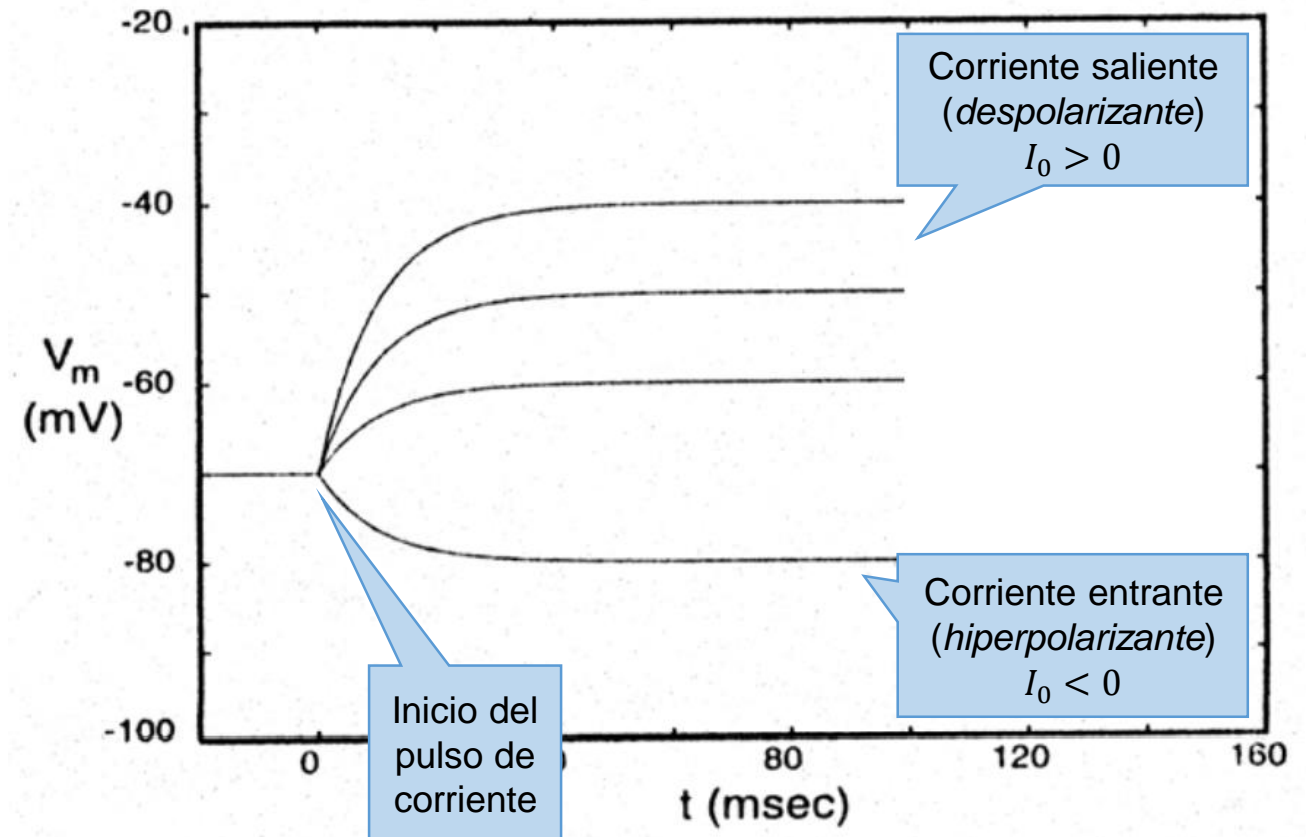
Donde la expresión \exp es una abreviación de la base exponencial e que permite visualizar mejor el exponente; y $V_0 = RI_0$, donde I_0 es la intensidad de corriente aplicada a la membrana.

Notar que si $I_0 = 0$ (no se aplica corriente), $V_m = V_{rest}$.
 Cuando $t \rightarrow +\infty$, $V_m = R I_0 + V_{rest}$.

Cuando se inicia el pulso de corriente eléctrica, dependiendo del signo (entrante o saliente) la membrana sufrirá un cambio de potencial.

Si el estímulo no cesa, el potencial de membrana alcanzará un nuevo valor constante.

$$V_m = V_0 \left(1 - \exp \left(-\frac{t}{\tau} \right) \right) + V_{rest}$$



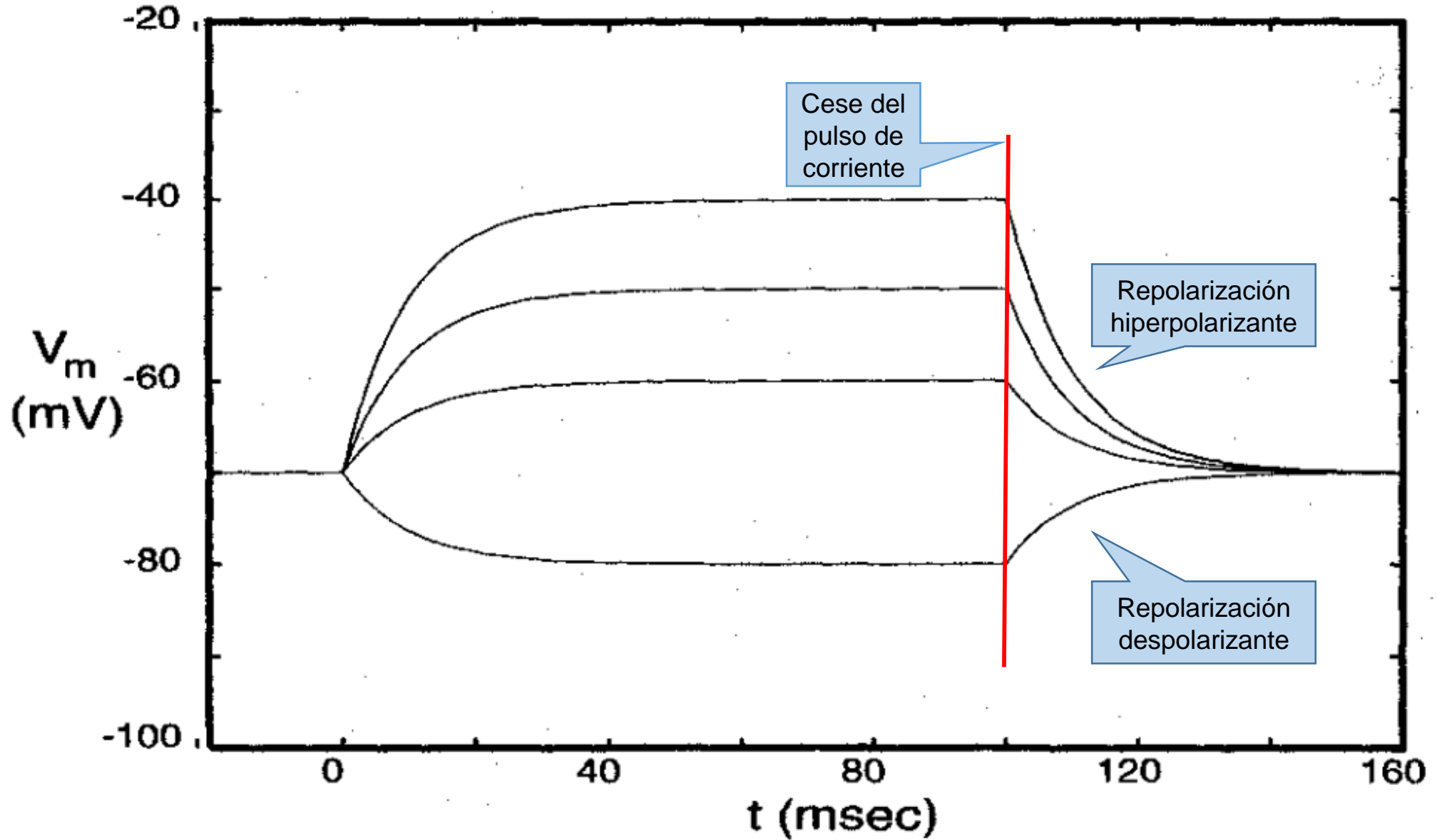
Cuando el pulso cesa el potencial de membrana es:

$$V_m(t) = V_0 \left(\exp \left(-\frac{t}{\tau} \right) \right) + V_{rest}$$

Demostración en el Anexo de esta presentación

Cuando $t \rightarrow +\infty$, $V_m = V_{rest}$ y el potencial de reposo se reestablece (**Repolarización**).

Una repolarización puede ser hiperpolarizante (si proviene de una despolarización) o despolarizante (si proviene de una hiperpolarización).



Significado físico de τ : tiempo necesario para alcanzar el 63% del valor final de potencial.

$$\text{si } t = \tau$$

Caso polarizante:

$$V_m(\tau) = V_0 \left(1 - \exp\left(-\frac{\tau}{\tau}\right) \right) + V_{rest} = V_0(1 - e^{-1}) + V_{rest}$$

$$\Rightarrow V_m - V_{rest} \approx 0,63V_0$$

Caso repolarizante:

$$V_m(\tau) = V_0 \left(\exp\left(-\frac{\tau}{\tau}\right) \right) + V_{rest} \Rightarrow V_m - V_{rest} \approx 0,37V_0$$

En general, distinguiremos dos respuestas eléctricas de acuerdo al tipo de célula:

1) Respuesta Electrotónica.

2) Potencial de Acción.

Los potenciales de acción solamente ocurre en células excitables, mientras que las respuestas electrotónicas ocurren tanto en células excitables como no excitables.

Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

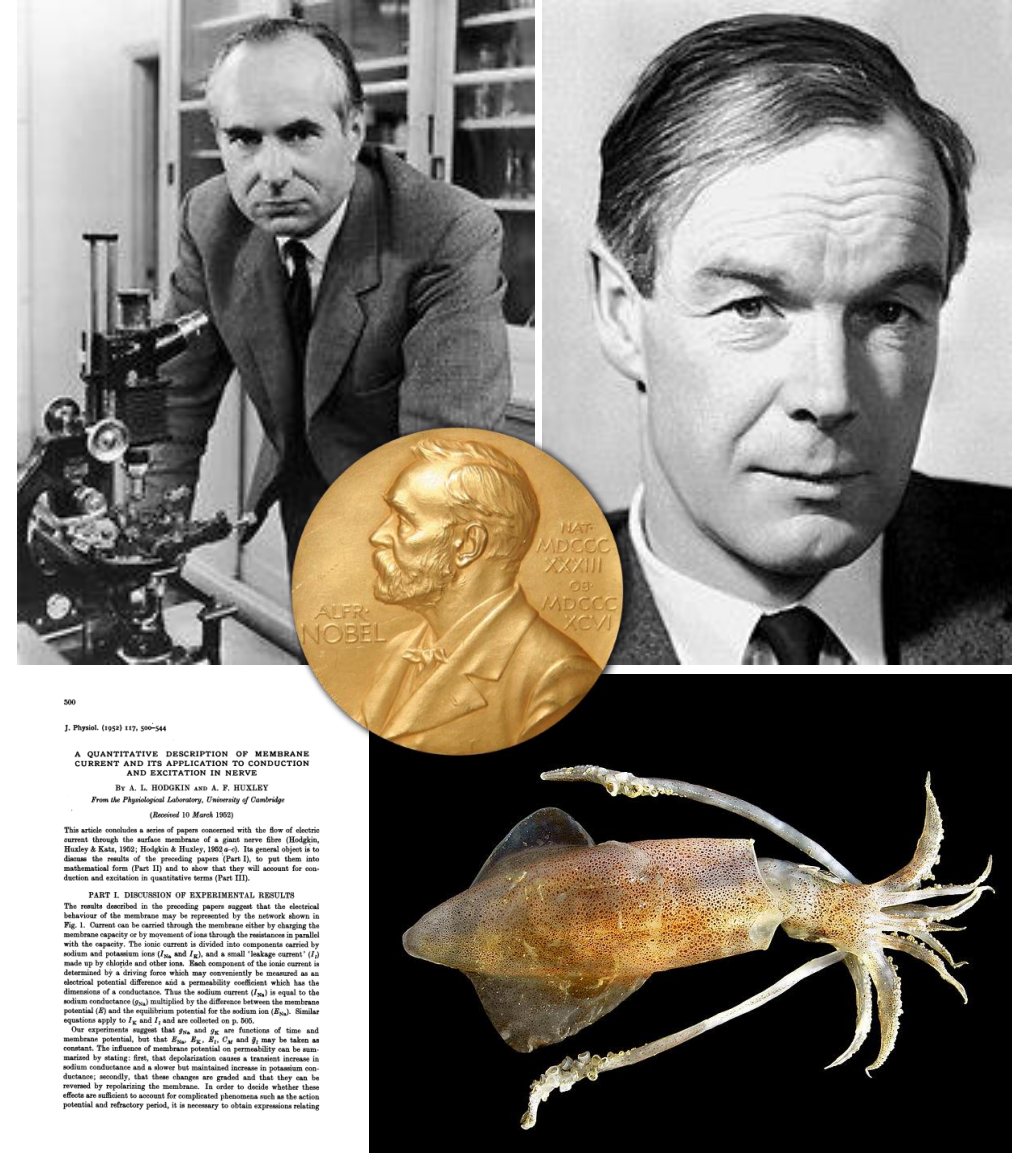
Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- **Introducción teórica**
 - Análogo eléctrico
 - **Modelo de Hodgkin-Huxley**
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

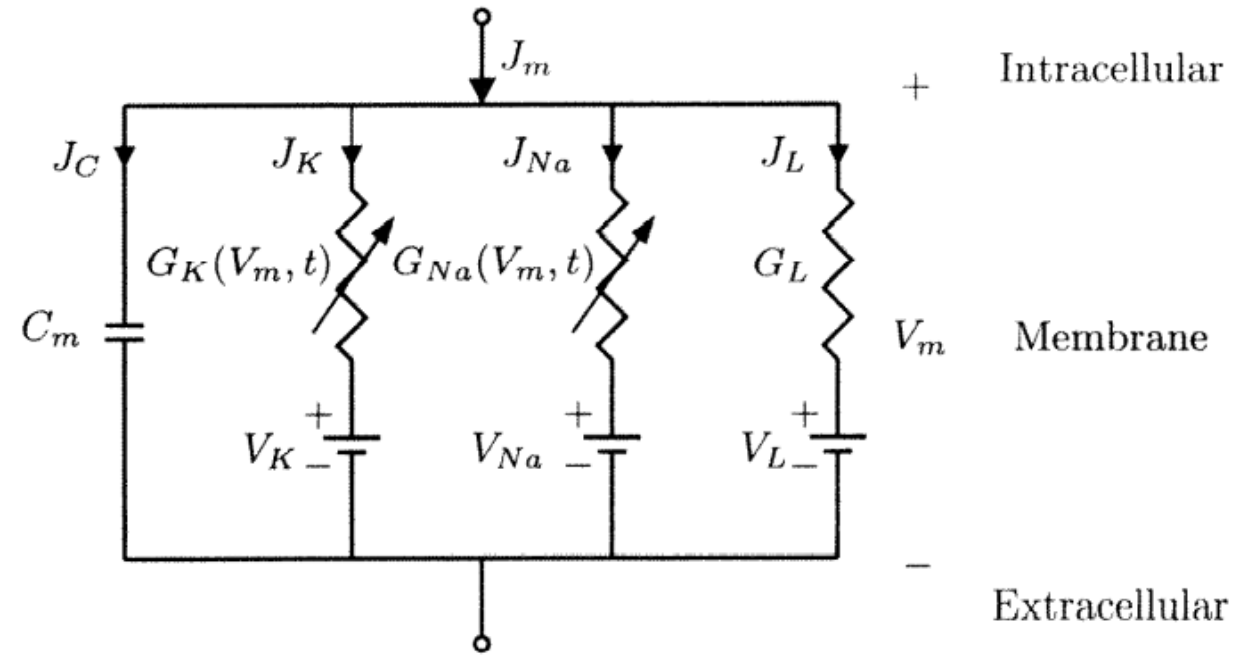
Los experimentos^[1,2] de Hodgkin y Huxley en 1952 en el **axón gigante de calamar** (*Loligo* sp.) permitieron el desarrollo de la biofísica de las membranas excitables^[3].

En 1963 recibieron el **Premio Nobel de Medicina y Fisiología** por sus “*descubrimientos en la mecánica de las membranas de las células nerviosas*”.

- [1] [The squid and its giant nerve fibre Part 1 – YouTube](#)
- [2] [The squid and its giant nerve fibre Part 2 - YouTube](#)
- [3] [Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. \(1952\). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology*, 117\(4\), 500.](#)



En estado estacionario y tomando en cuenta que el potencial de membrana depende principalmente de los potenciales de Na^+ y K^+ , podemos construir un circuito equivalente a la membrana plasmática como el que se muestra en la figura.

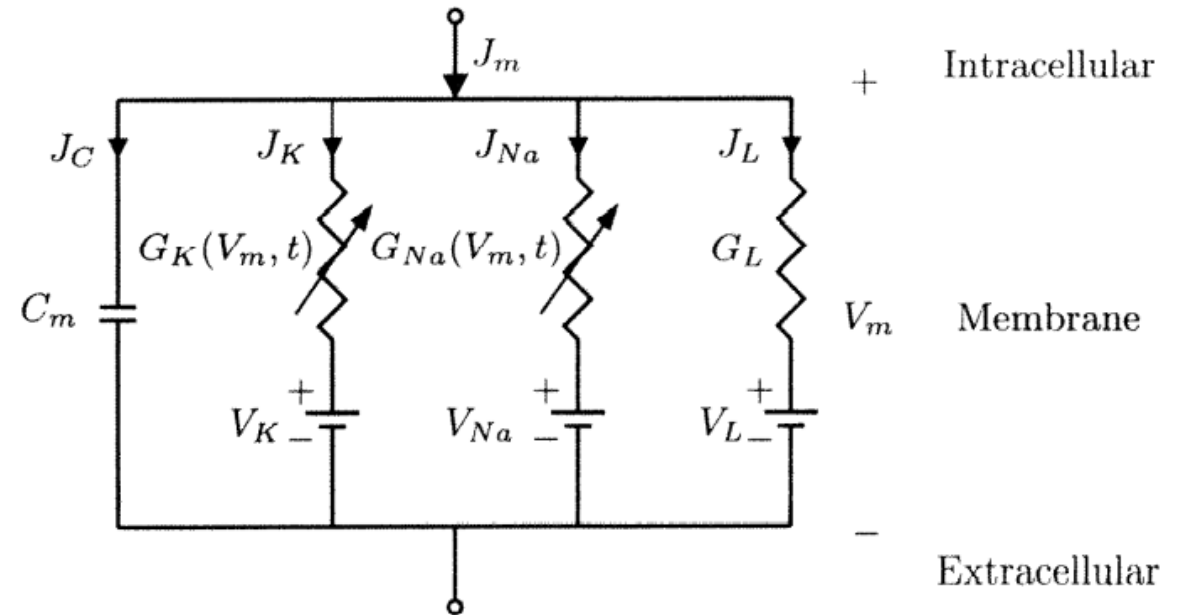


Las intensidades de cada uno de los iones se obtienen por **Ley de Ohm**:

$$I_{K^+} = g_{K^+}(V_m - E_{K^+})$$

$$I_{Na^+} = g_{Na^+}(V_m - E_{Na^+})$$

Los potenciales iónicos de equilibrio obedecen la **Ecuación de Nerst**.



En el estado estacionario:

$$I_{K^+} + I_{Na^+} = 0$$

$$g_{K^+}(V_m - E_{K^+}) + g_{Na^+}(V_m - E_{Na^+}) = 0$$

Resolviendo para V_m :

$$V_m = \frac{g_{K^+}E_{K^+} + g_{Na^+}E_{Na^+}}{g_{K^+} + g_{Na^+}}$$

Esta es la **Ecuación GHK** en función de las conductancias iónicas.

Las hipótesis propuestas por Hodgkin-Huxley respecto al potencial de acción son:

- 1) Los iones involucrados se mueven en favor de su gradiente electroquímico.
- 2) La remoción de alguno de los iones involucrados modifica la corriente total.
- 3) Las conductancias de los iones involucrados se modifica con el tiempo y es, por tanto, voltaje-dependiente.

Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- **AXOVACS**
 - **Voltage-Clamp**
 - Current-Clamp
 - Canales

AXOVACS

AXOVACS es un software creado por *Axon Instruments, Inc.* (1989) con el objetivo de simular la generación de potenciales de acción de acuerdo con el modelo de Hodgkin-Huxley (1952) en el Axón Gigante de Calamar.

```

DOSBox 0.73, Cpu Cycles: 3000, Frameskip 0, Program: AXOVACS
AXOVACS Electrophysiology Computer Lab - Version 2.0
(C) 1989 Axon Instruments, Inc.

A computer simulation, based on the model proposed by Hodgkin & Huxley
[J. Physiol. 117:500 (1952)] for generation of the action potential in the
squid giant axon.

(1) Channels (Simulation of single channel gating)
VOLTAGE CLAMP
(2) Conductances (Macroscopic Na and K conductances)
(3) Currents (Macroscopic currents)
(4) Advanced version (All voltage clamp options)
CURRENT CLAMP
(5) Action potential (The basic simulation)
(6) Expanded scales (A close look at threshold)
(7) Pharmacology (Specific blockade of Na or K channels)
(8) Ion substitution (Change external Na or K concentration)
(9) Advanced version (All current clamp options)
OR: (0) Quit (Exit to computer's operating system)

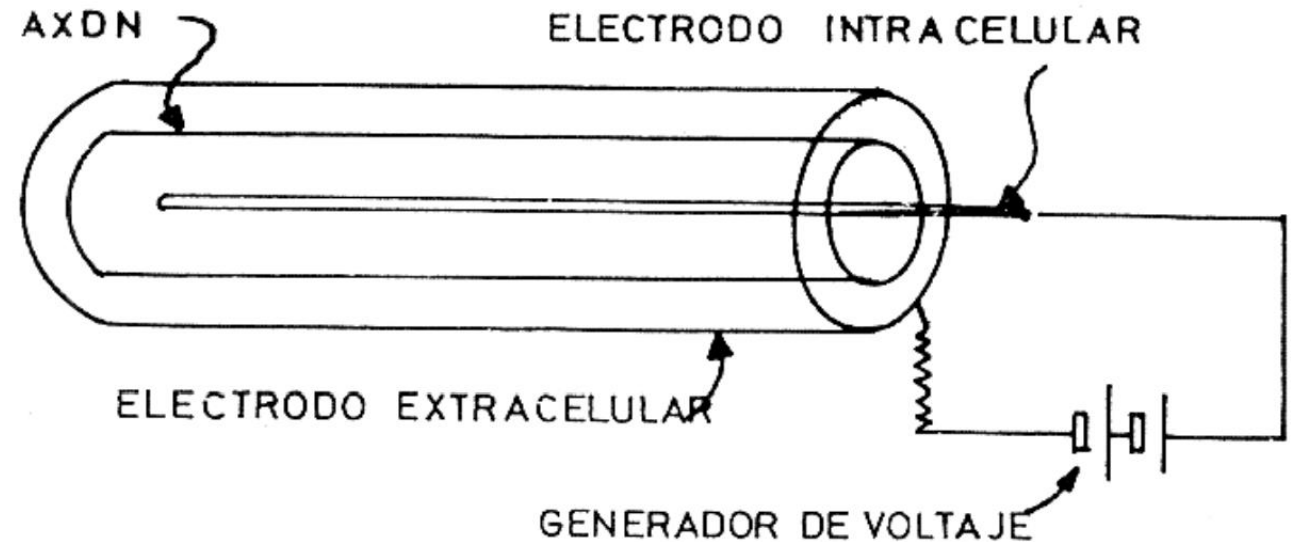
Enter your choice (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 0)? █

```

Space-clamp: Control Espacial

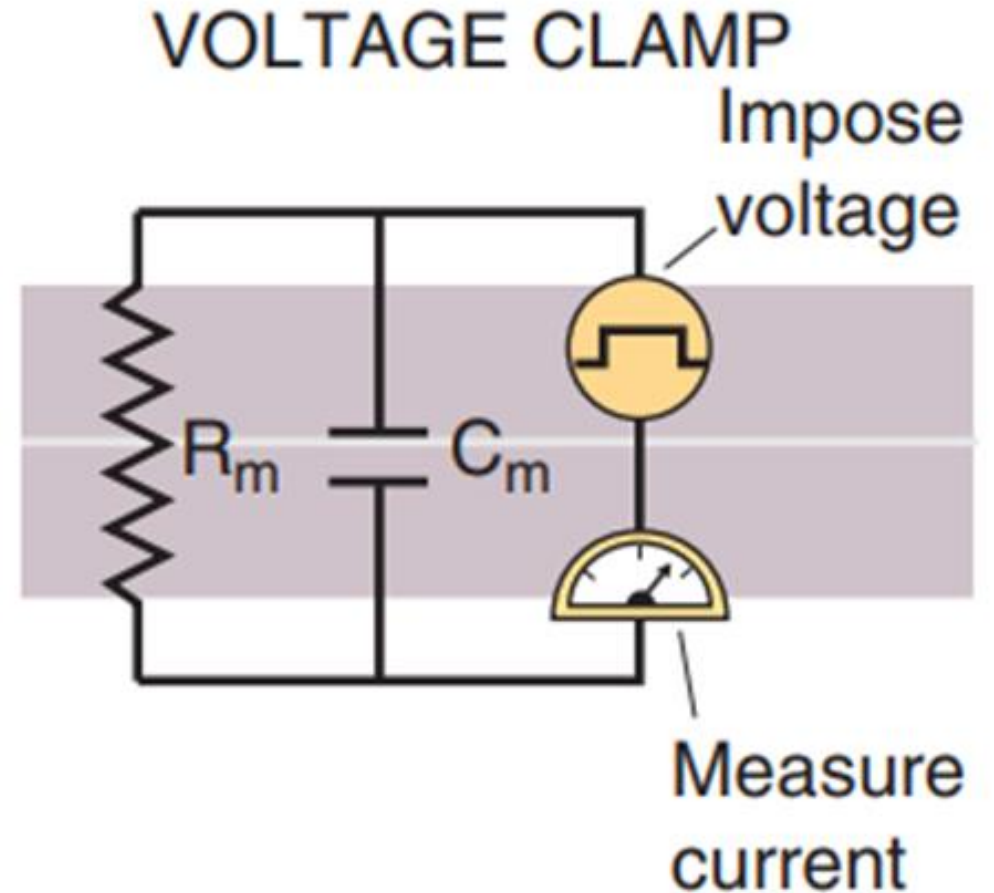
Todas las simulaciones que vamos a realizar a continuación asumen que la célula es **isopotencial**, es decir, no existe un cambio en el potencial de membrana en función de la distancia.

$$\frac{dV_m}{dx} = 0$$

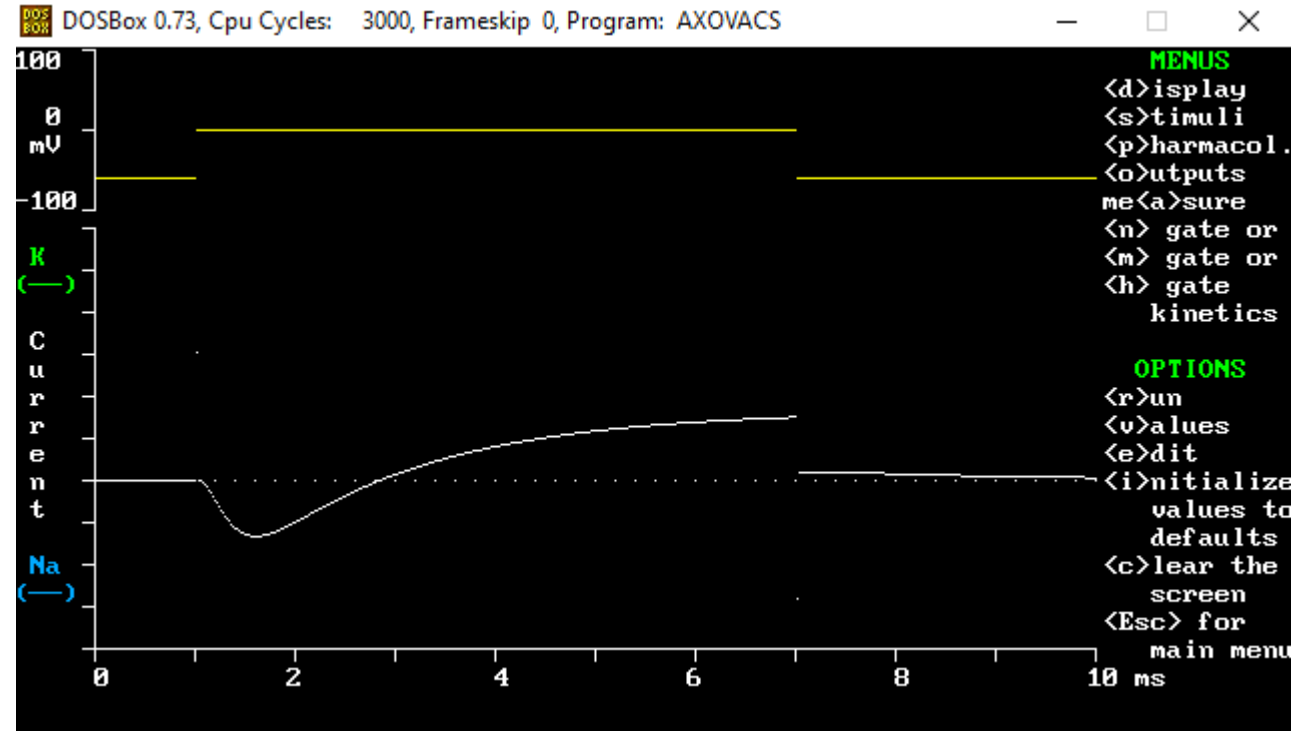


Voltage-clamp: Control de Voltaje

La técnica de '*voltage-clamp*' o **Control de Voltaje**, permite someter una célula excitable a una diferencia de potencial constante (fijada) y estudiar su comportamiento. A partir de esta diferencia de potencial se genera una corriente que atraviesa la membrana.



El gráfico superior corresponde al cambio en la diferencia de potencial eléctrico en función del tiempo, mientras que el gráfico inferior corresponde al cambio de la intensidad de corriente en función del tiempo. La corriente representada es la corriente total.



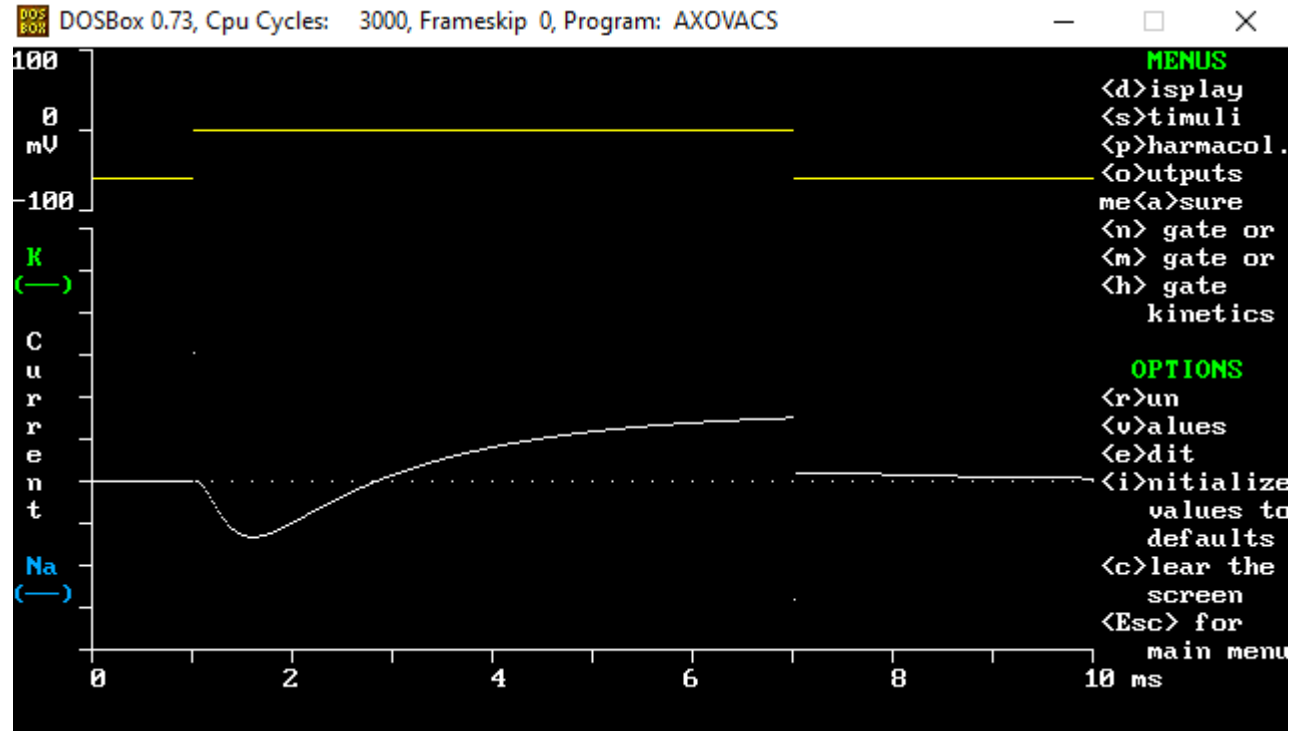
Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms .

El gráfico de corriente en función del tiempo muestra la suma algebraica de las corrientes resistiva y capacitiva de la membrana.

$$I_m = I_r + I_c$$

La corriente capacitiva es:

$$I_c = C \frac{dV_m}{dt}$$

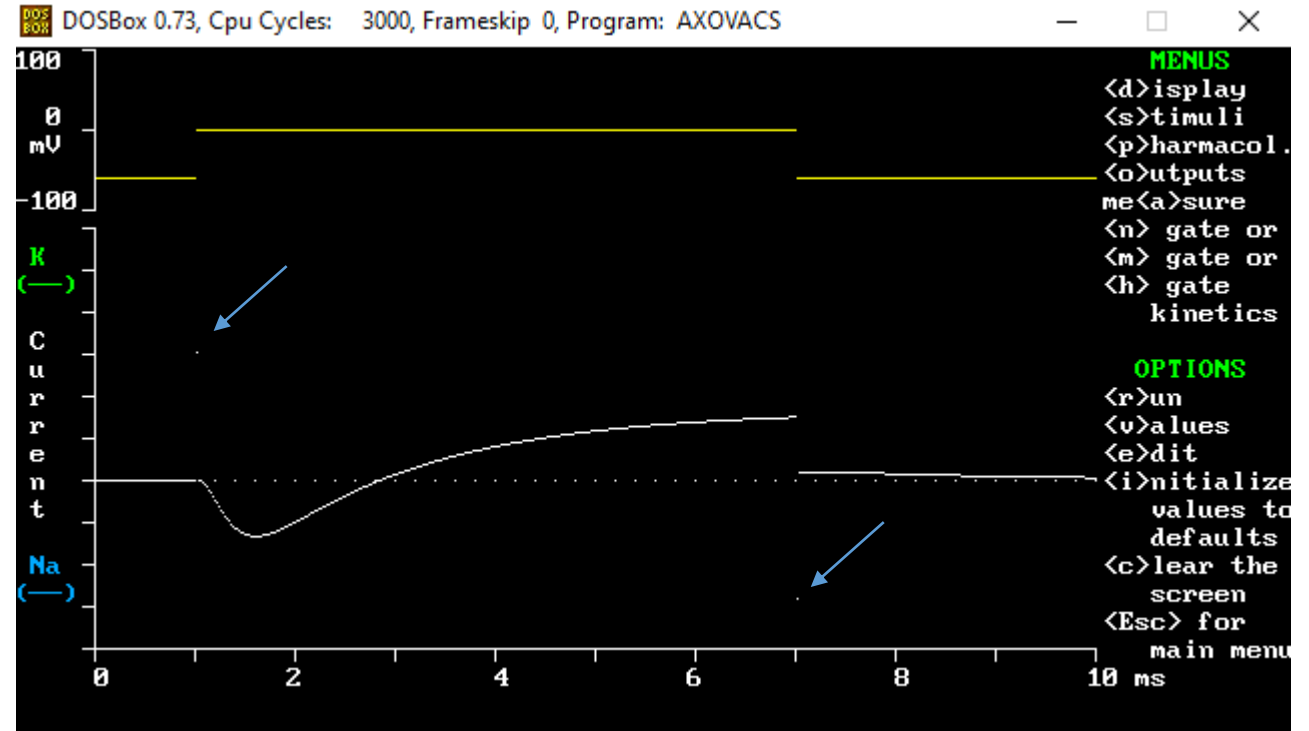


Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms.

Notar que cuando se produce el salto en el potencial de membrana,

$$\frac{dV_m}{dt} \neq 0 \implies I_c \neq 0$$

Esto se evidencia como los puntos iniciales y finales de la gráfica de corriente durante el pulso de voltaje.



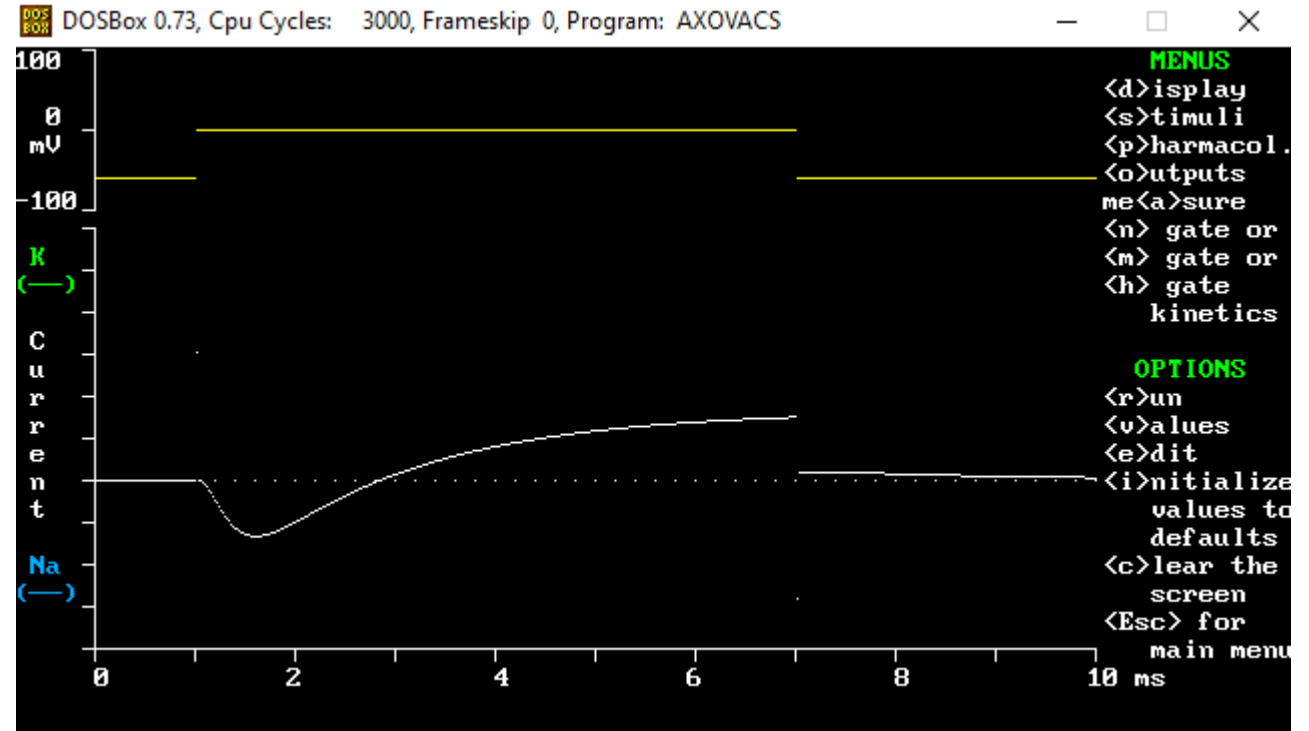
Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms .

Mientras se mantiene el voltaje fijado,

$$\frac{dV_m}{dt} = 0 \implies I_c = 0$$

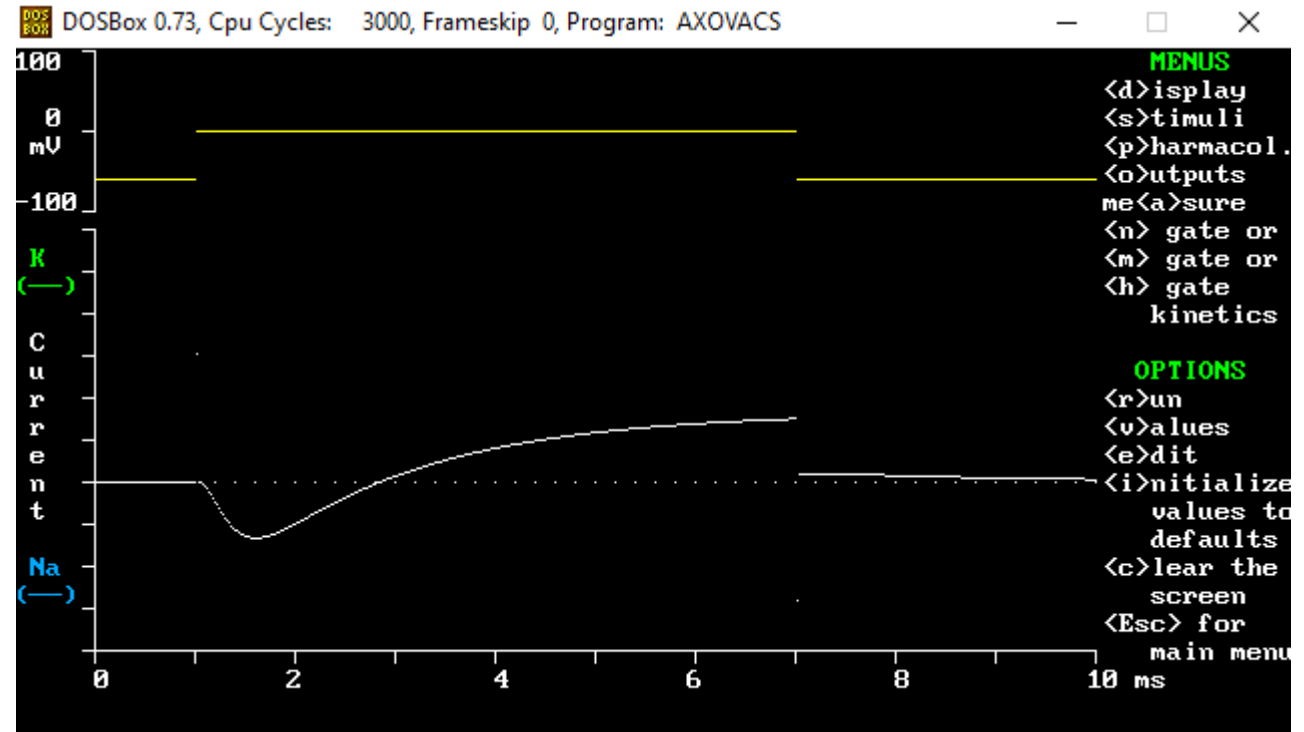
Esto es, toda la corriente que circula por la membrana es corriente resistiva.

$$I_m = I_r$$



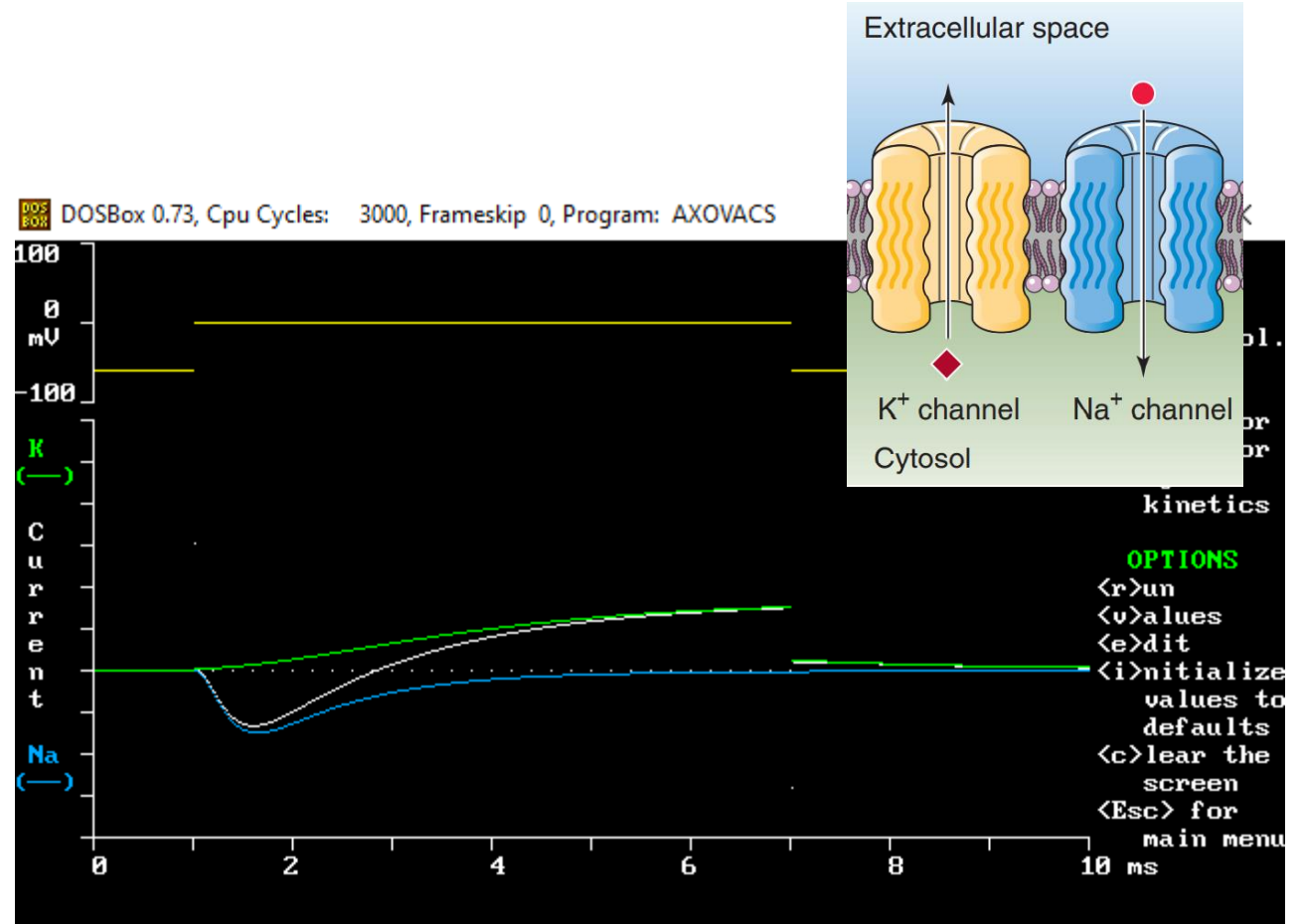
Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms .

La curva de intensidad en función de tiempo posee dos componentes: entrante (cuando $I_r < 0$) y saliente (cuando $I_r > 0$). Esta curva es la suma algebraica de las corrientes generadas por el movimiento de cargas iónicas de Na^+ y K^+ .



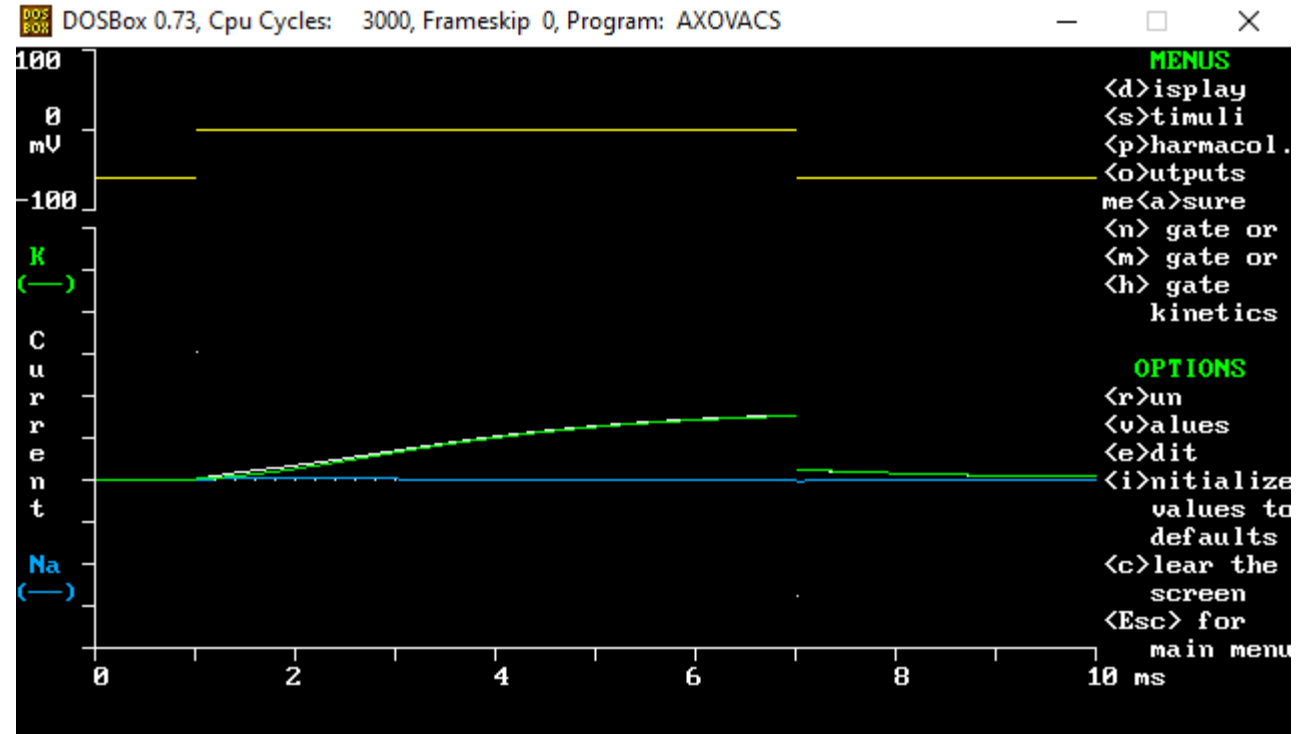
Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms .

La **curva verde** corresponde a la corriente generada por el movimiento de iones K^+ , mientras que la **curva azul** corresponde a la de los iones Na^+ . El signo de ambas corrientes obedece a sus respectivos gradientes electroquímicos.

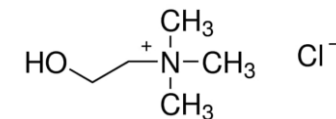


Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms .

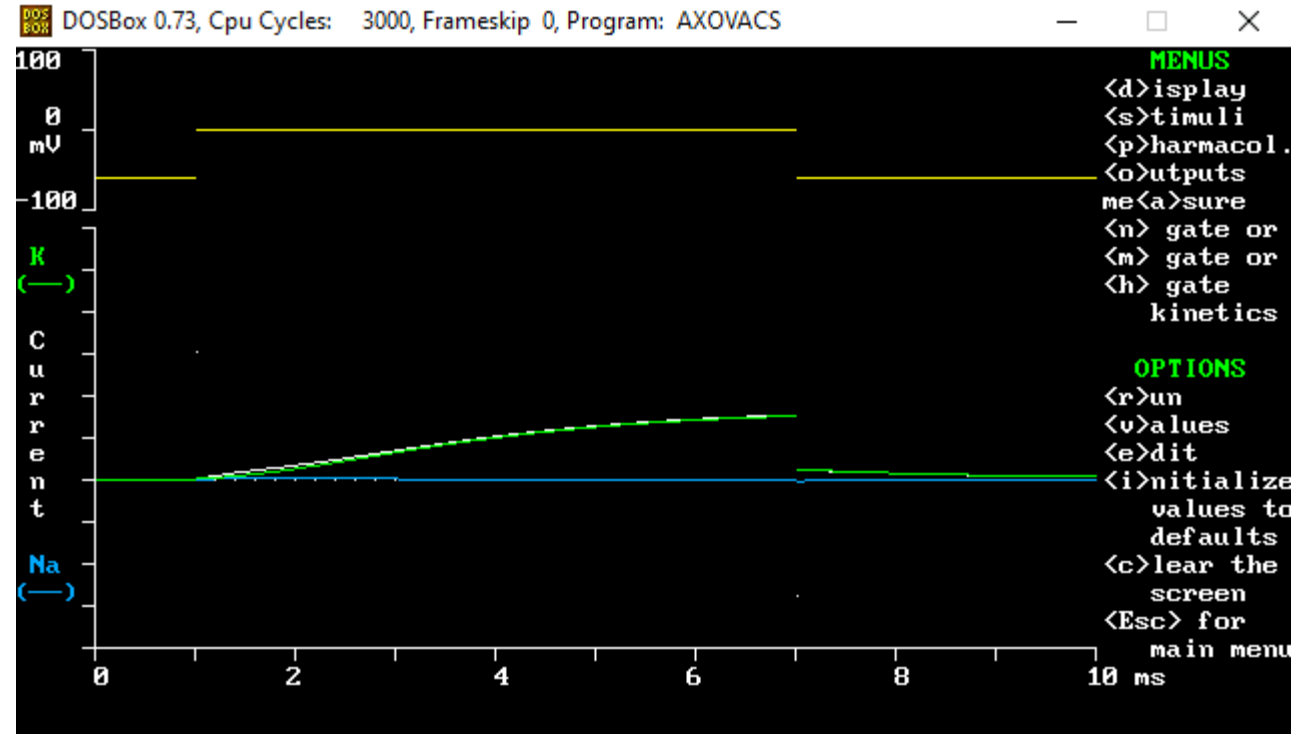
Hodgkin-Huxley lograron diseccionar la curva de intensidad total en función de las intensidades iónicas de Na^+ y K^+ a partir de la sustitución de NaCl por Cloruro de Colina, limitando el gradiente electroquímico del Na^+ al 10%.



Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms , con un cociente de concentración de Na^+ al 10% de las concentraciones fisiológicas (simulando la presencia de Cloruro de Colina en el medio).



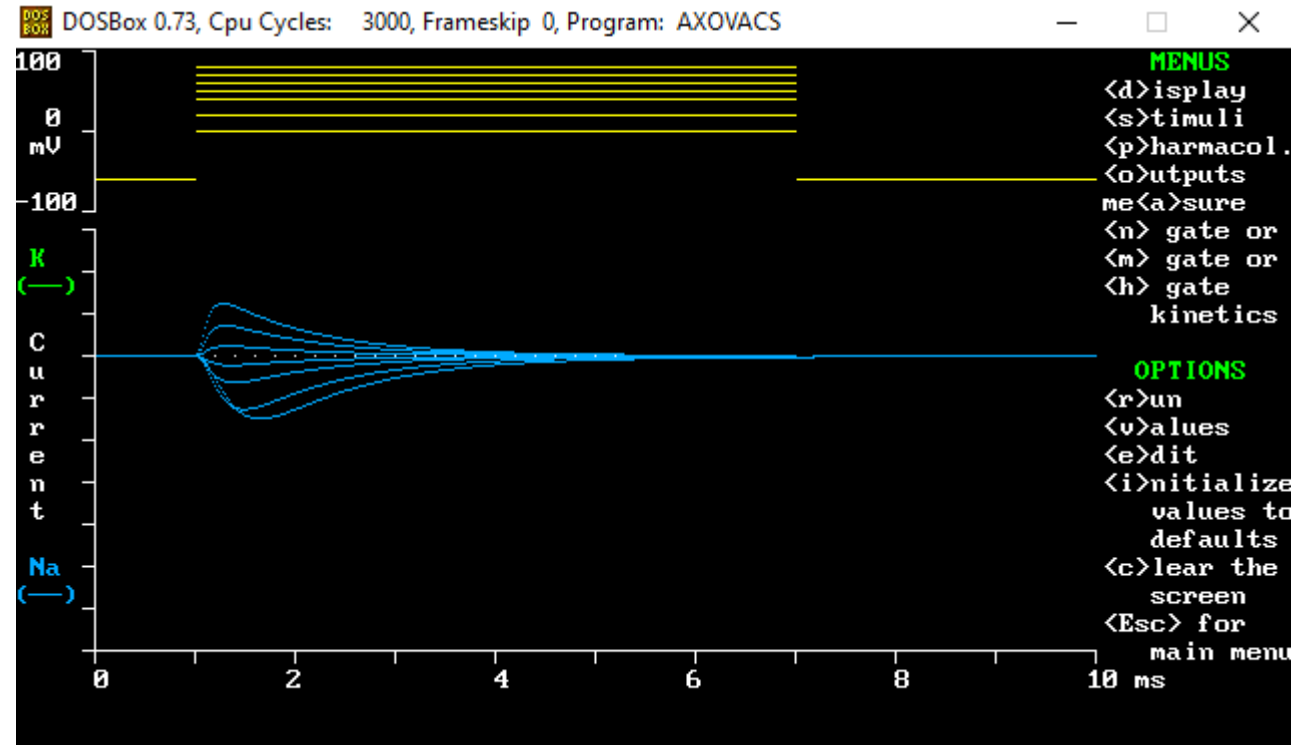
En ausencia (o baja presencia) de Na^+ , prácticamente toda la corriente resistiva registrada pertenece a la corriente iónica del K^+ (**curva verde**). Restando la intensidad total con la intensidad del K^+ , se obtiene la curva para el Na^+ .



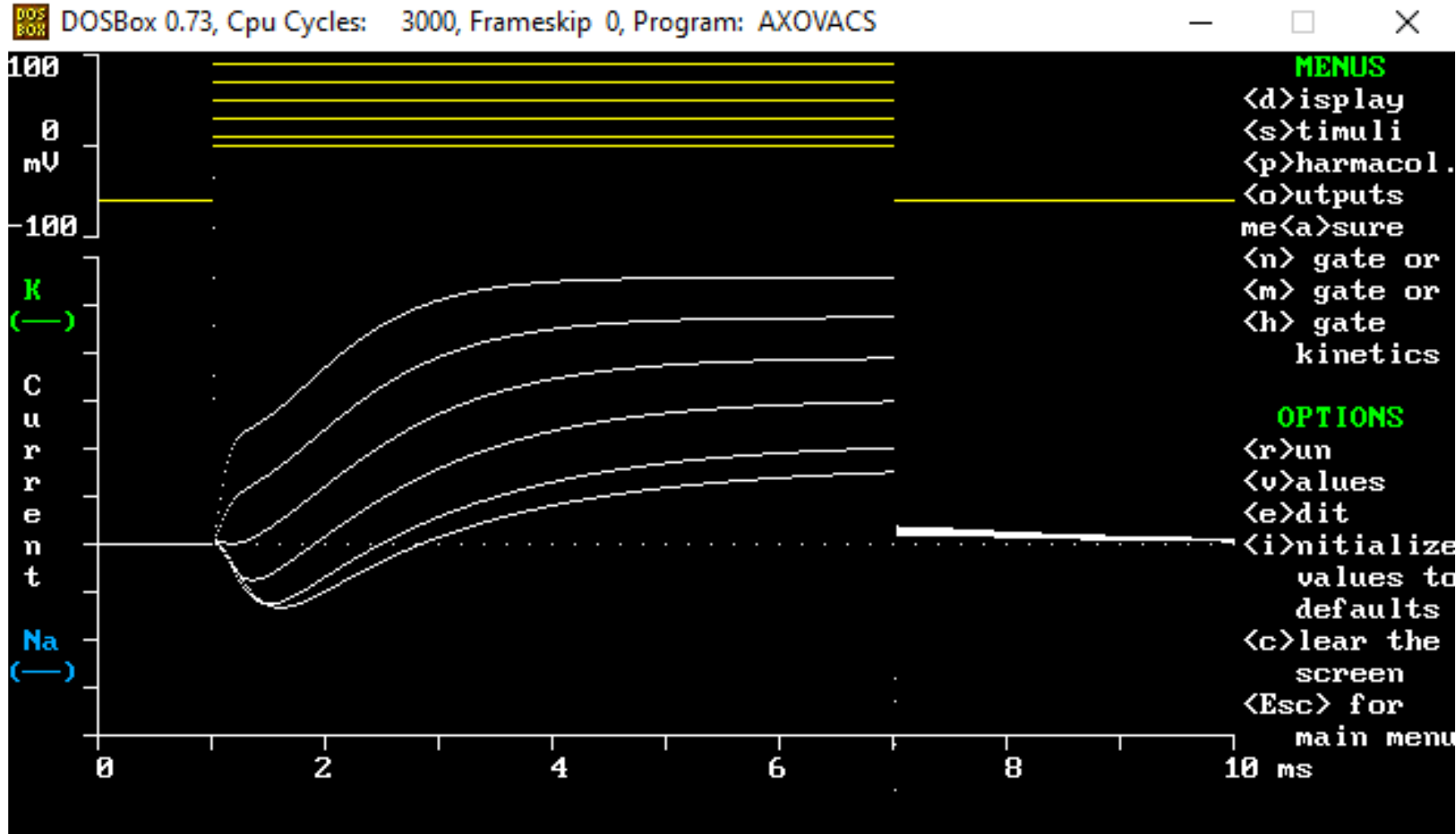
Axón gigante de calamar sometido a un voltaje de 0 mV por un lapso de 6 ms , con un cociente de concentración de Na^+ al 10% de las concentraciones fisiológicas (simulando la presencia de Cloruro de Colina en el medio).

Mediante diversos pulsos de voltaje es posible notar que la corriente iónica del Na^+ varía.

Para un voltaje cercano a su potencial de equilibrio ($E_{Na^+} \approx +55 mV$), no existe corriente. Para voltajes superiores, la corriente se invierte.

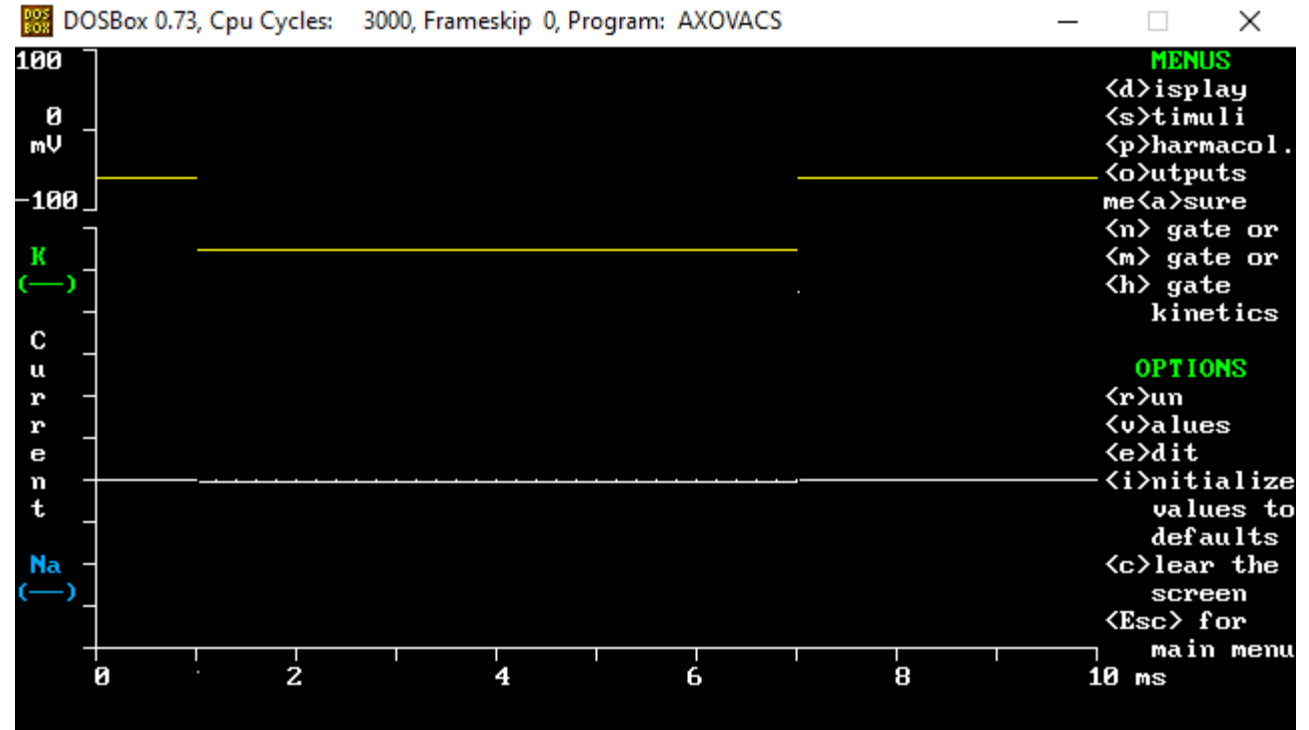


Corriente iónica del Na^+ en función de diferentes pulsos rectangulares de voltaje. Para voltajes superiores al potencial de equilibrio la corriente se invierte (saliente).



Corriente total de membrana en función de diferentes pulsos rectangulares de voltaje. Para voltajes superiores al potencial de equilibrio del Na^+ la corriente total se vuelve enteramente saliente.

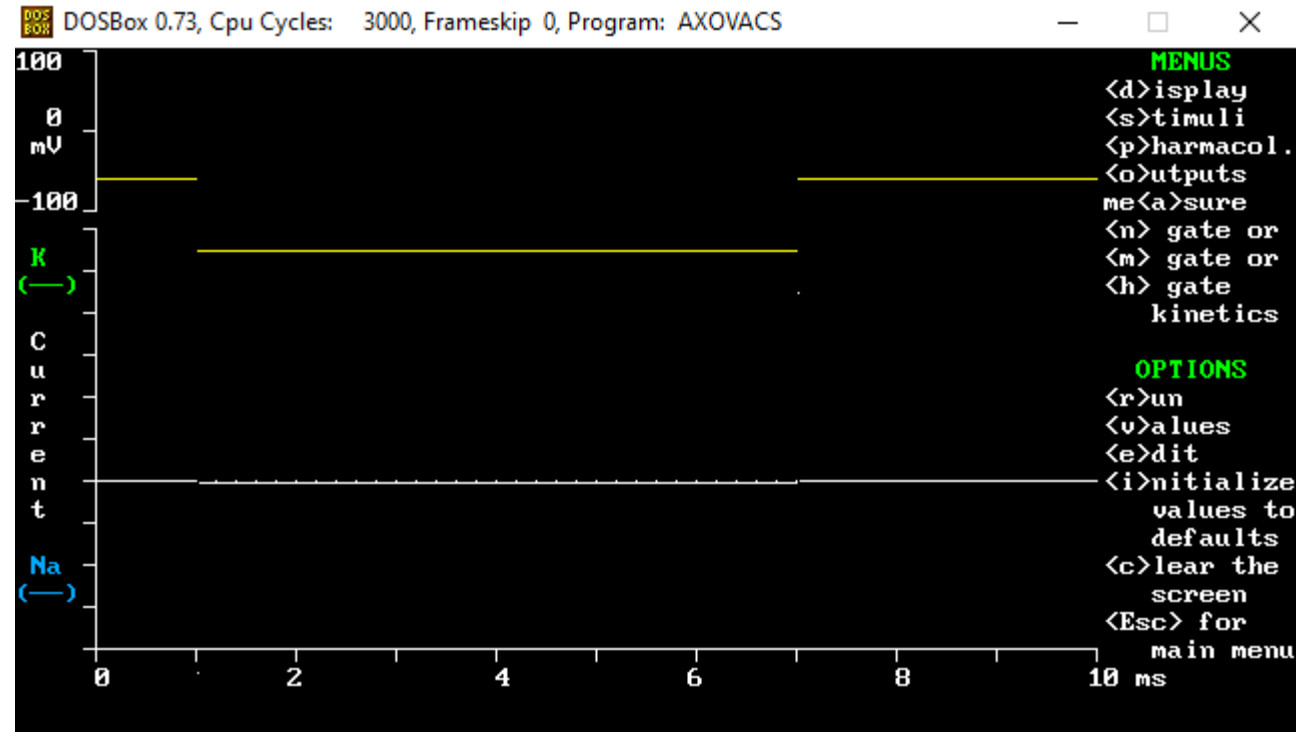
Análogamente, podríamos invertir la corriente iónica del K^+ estableciendo valores por debajo de su potencial de equilibrio ($E_{K^+} \approx -75 \text{ mV}$). Sin embargo, si establecemos $V_m = -150 \text{ mV}$, no se observa cambio en la corriente resistiva.



Corriente total de membrana para un voltaje por debajo del potencial de equilibrio del K^+ . Notar que no se observa cambio en la corriente resistiva de la membrana.

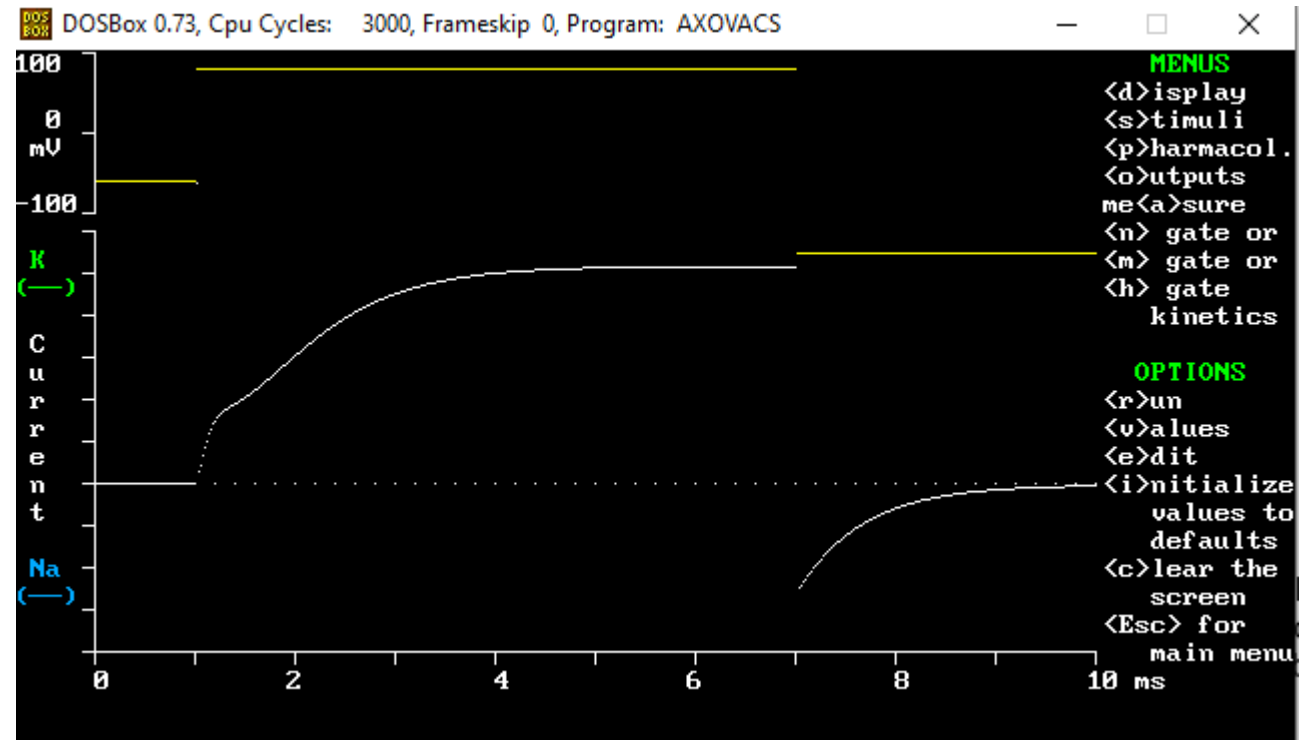
Esto se debe a que los canales, de Na^+ y K^+ *solamente* se abren cuando la membrana se despolariza.

Si fijamos potenciales por debajo del potencial de equilibrio de membrana ($V_{rest} \approx -60 mV$), *prácticamente* no habrá canales abiertos.



Corriente total de membrana para un voltaje por debajo del potencial de equilibrio del K^+ (hiperpolarización). Notar que no se observa cambio en la corriente resistiva de la membrana.

Para revertir la corriente del K^+ necesitamos generar primero una despolarización, y luego una hiperpolarización, para que los canales de K^+ se logren abrir. En la fase de hiperpolarización la corriente de K^+ es entrante.



Corriente total de membrana en función del tiempo para una fase de despolarización (+80 mV) seguida de una fase de hiperpolarización (-150 mV) en donde la corriente de K^+ se invierte.

La cinética de apertura de los canales de K^+ es *lenta*, por lo que son necesarios grandes potenciales y tiempos relativamente largos para que exista una cantidad suficiente de canales abiertos que generen el transporte de iones.

Paralelamente, bajo estos potenciales los canales de Na^+ se encuentran en un **estado abierto-inactivado**, por lo que para regresar a su estado cerrado es necesario retornar al potencial de reposo de la membrana ($V_{rest} \approx -60 \text{ mV}$).

Contenido de la clase

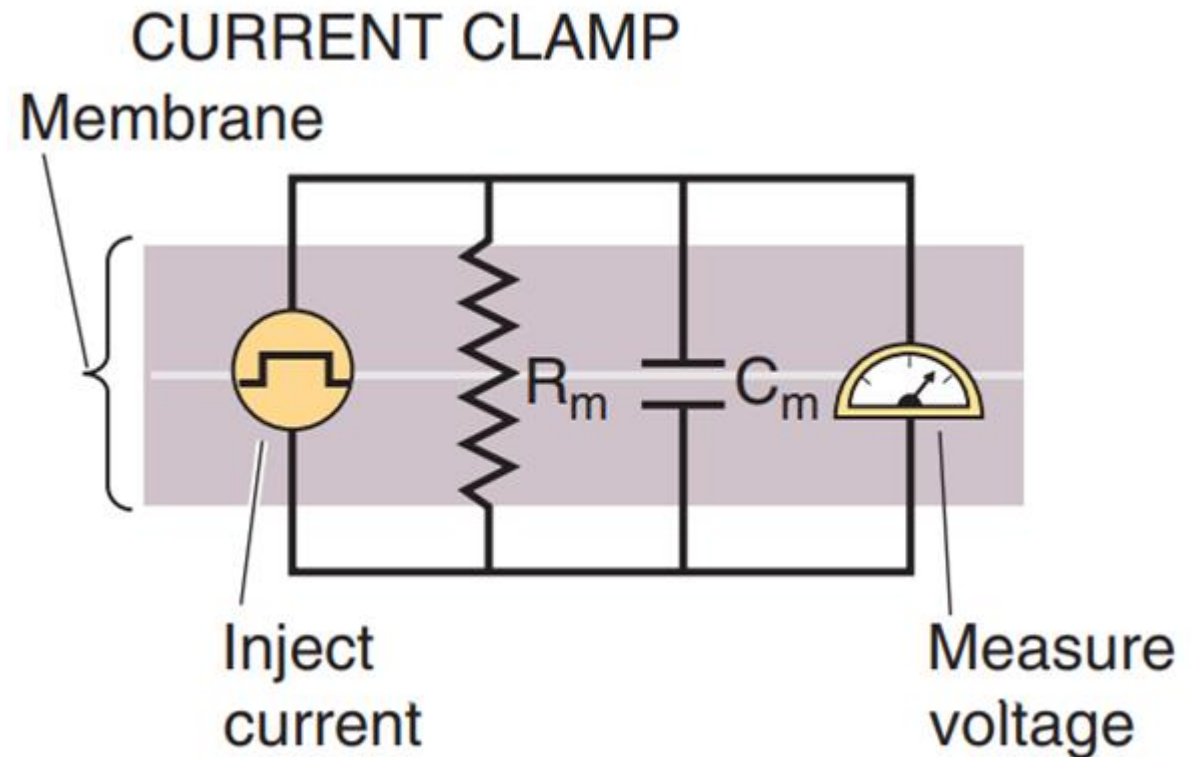
- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

Contenido de la clase

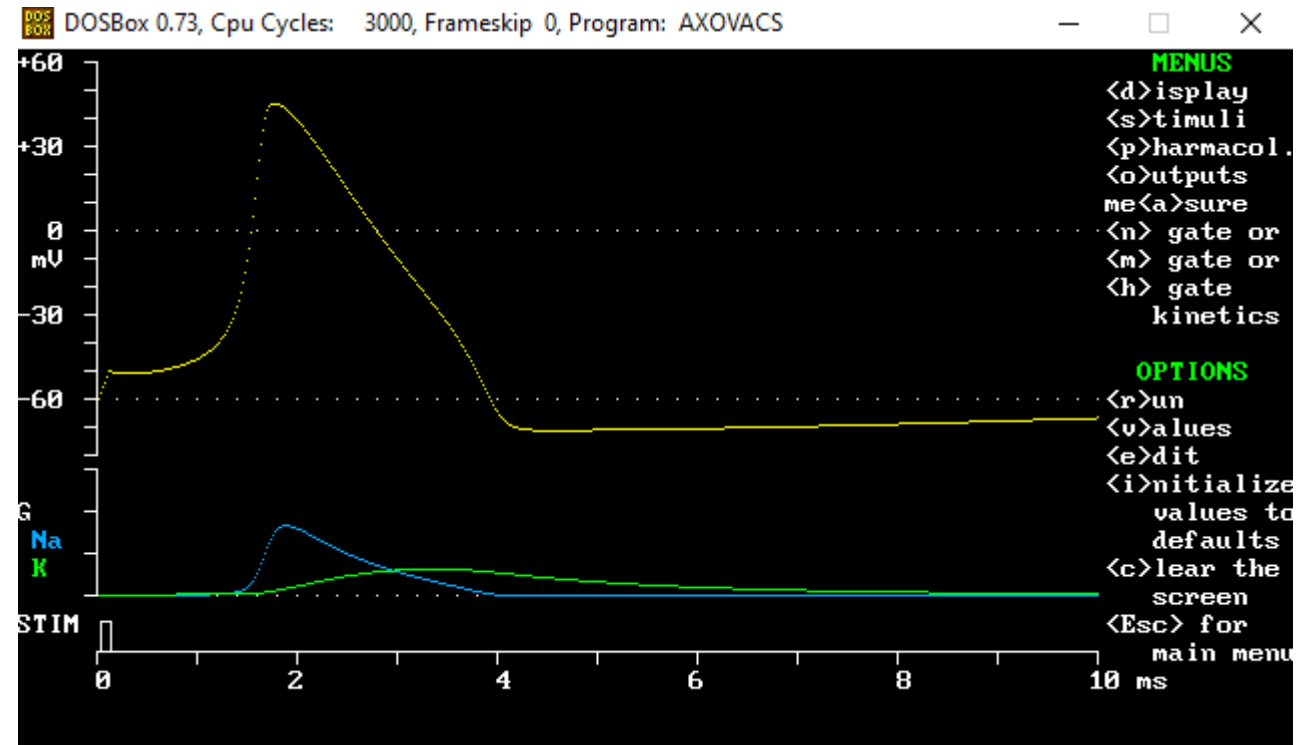
- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- **AXOVACS**
 - Voltage-Clamp
 - **Current-Clamp**
 - Canales

Current-clamp: Control de Corriente

La técnica de '*current-clamp*' o **Control de Corriente**, permite someter una célula excitable a una intensidad de corriente (fijada) y estudiar su comportamiento. A partir de esta corriente se generará una diferencia de potencial en la membrana capaz de generar o no un Potencial de Acción.



El gráfico superior muestra el cambio en la diferencia de potencial en función del tiempo, mientras que el gráfico medio muestra el cambio en las conductancias del Na^+ (curva azul) y el K^+ (curva verde) en función del tiempo. El gráfico inferior muestra el pulso rectangular del voltaje.

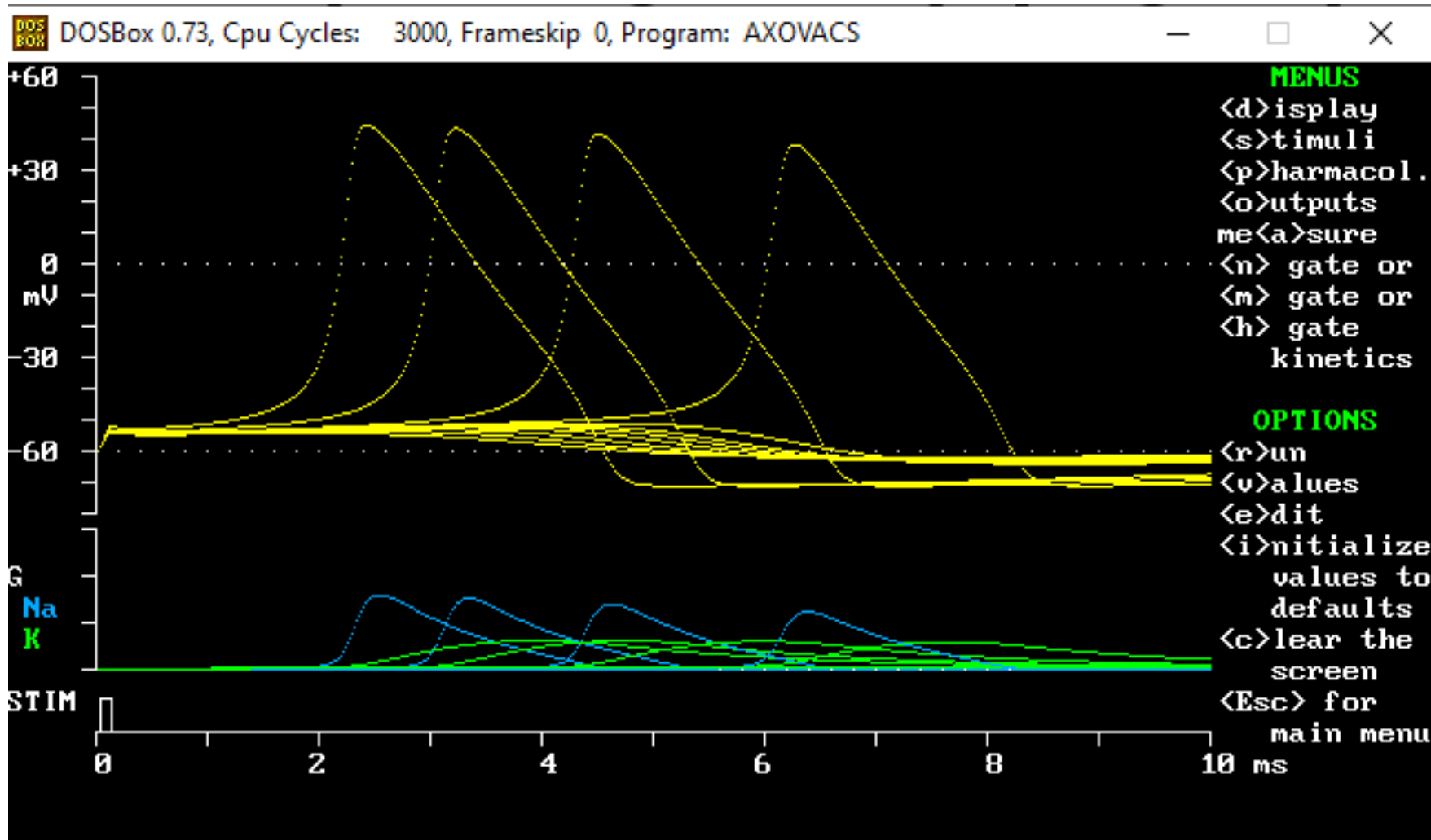


Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, a partir de una intensidad de corriente de $100 \mu A/cm^2$ por un lapso de $0,1 ms$.

Bajo estas condiciones se genera un Potencial de Acción. El voltaje de membrana parte del potencial de reposo, se despolariza hasta alcanzar un máximo y comienza a repolarizarse nuevamente, llegando a hiperpolarizarse hasta retornar al potencial de reposo.

¿Cuál es la amplitud umbral de corriente necesaria para generar un potencial de acción en $0,1 \text{ ms}$?

Variando la intensidad de corriente que circula por el axón determinar que el umbral de corriente necesario para que se dispare el potencial de acción es de $64 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

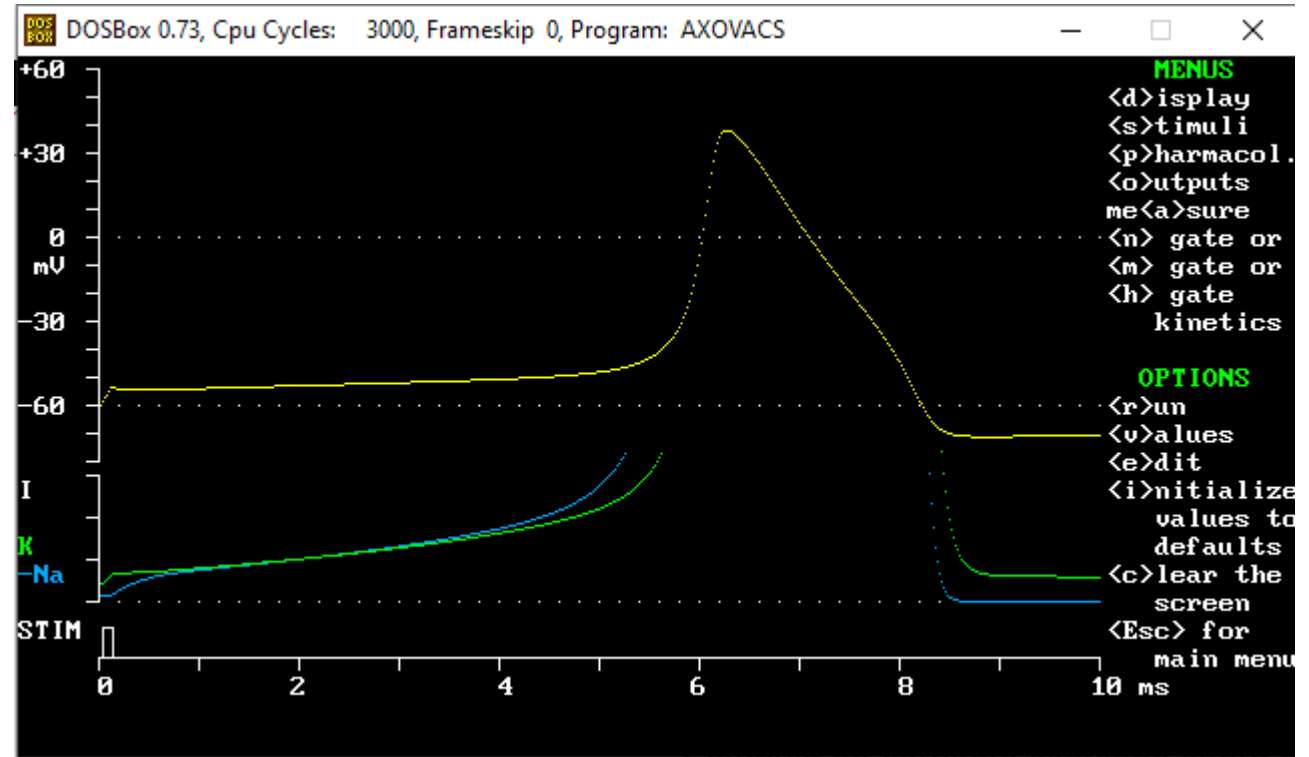


Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, variando la intensidad de corriente entre $80 \mu A/cm^2$ y $60 \mu A/cm^2$ por un lapso de $0,1 ms$.

En un potencial de acción a nivel de las corrientes de Na^+ y K^+ , se observa una variación como la de la figura. Inicialmente

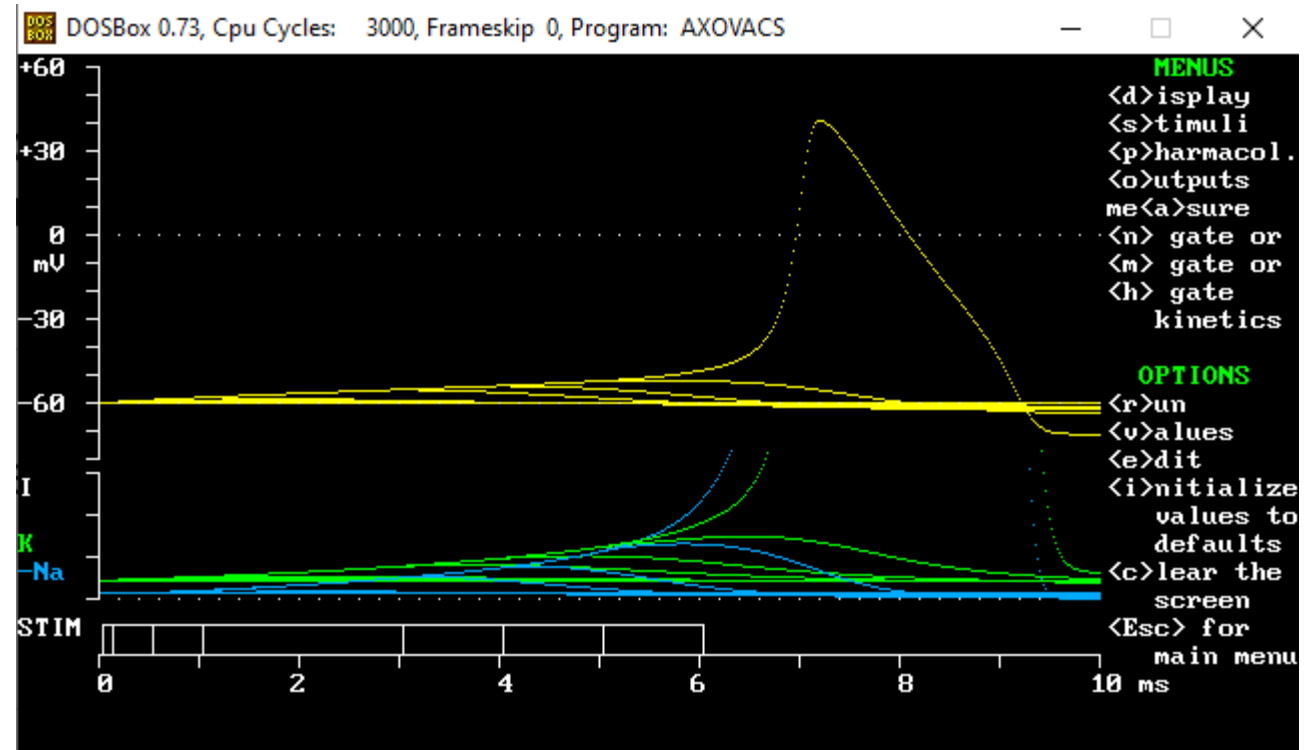
$I_{K^+} > I_{Na^+}$, pero posteriormente $I_{Na^+} > I_{K^+}$.

Una vez se dispara el potencial de acción se reestablece la relación $I_{K^+} > I_{Na^+}$.



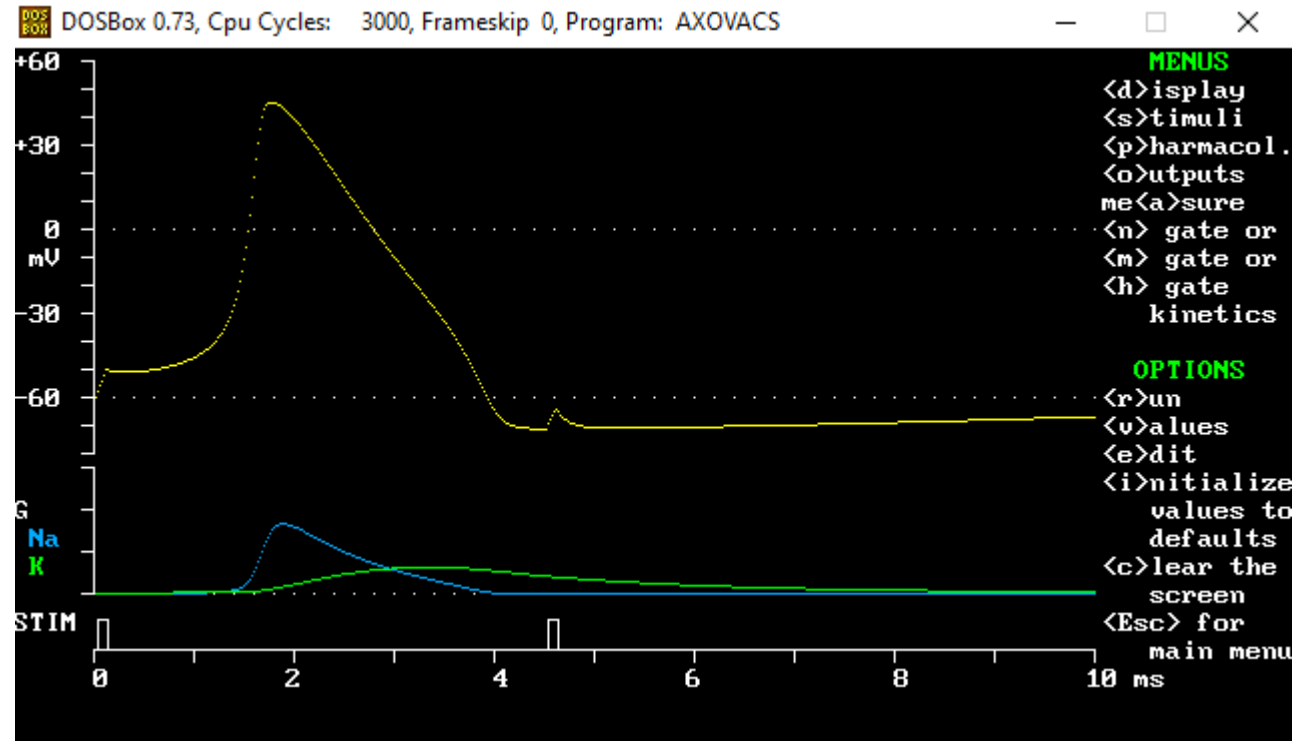
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, variando la intensidad de corriente entre $80 \mu A/cm^2$ y $60 \mu A/cm^2$ por un lapso de $0,1 ms$.

Es posible, en algunos escenarios, producir un potencial de acción aumentando la duración de un estímulo pero manteniendo una intensidad subumbral.



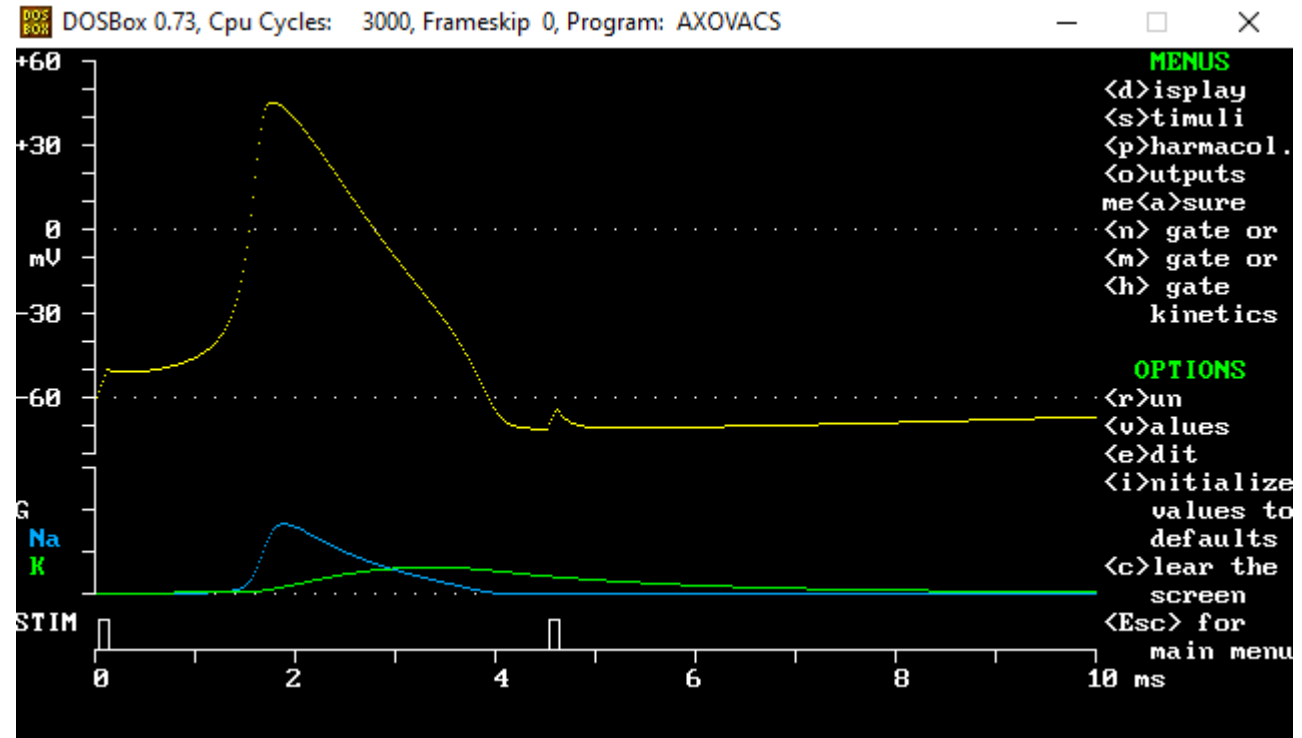
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, variando la duración del estímulo de corriente entre 0,1 ms y 6 ms para una intensidad de $2,3 \mu A/cm^2$.

Notar que si realizamos un estímulo supraumbbral generador de un potencial de acción, pero durante la hiperpolarización volvemos a generar un pulso de corriente supraumbbral, no se genera otro potencial de acción.



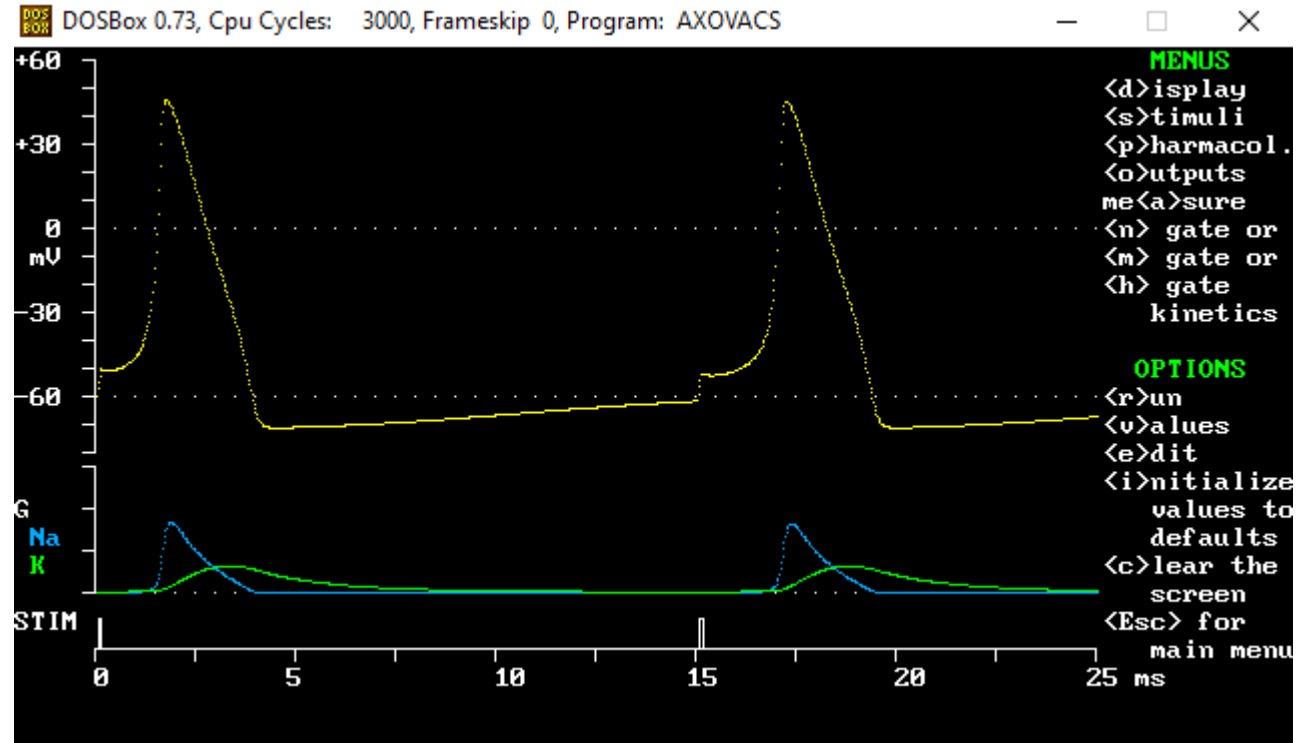
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan dos pulsos de corriente de $100 \mu A/cm^2$ en dos tiempos ($0,1 ms$ y $4,5 ms$).

Esto se debe a que los potenciales de acción presentan un **Período Refractario**: un tiempo característico para el cual no se genera un potencial de acción hasta que no haya concluido el potencial anterior.



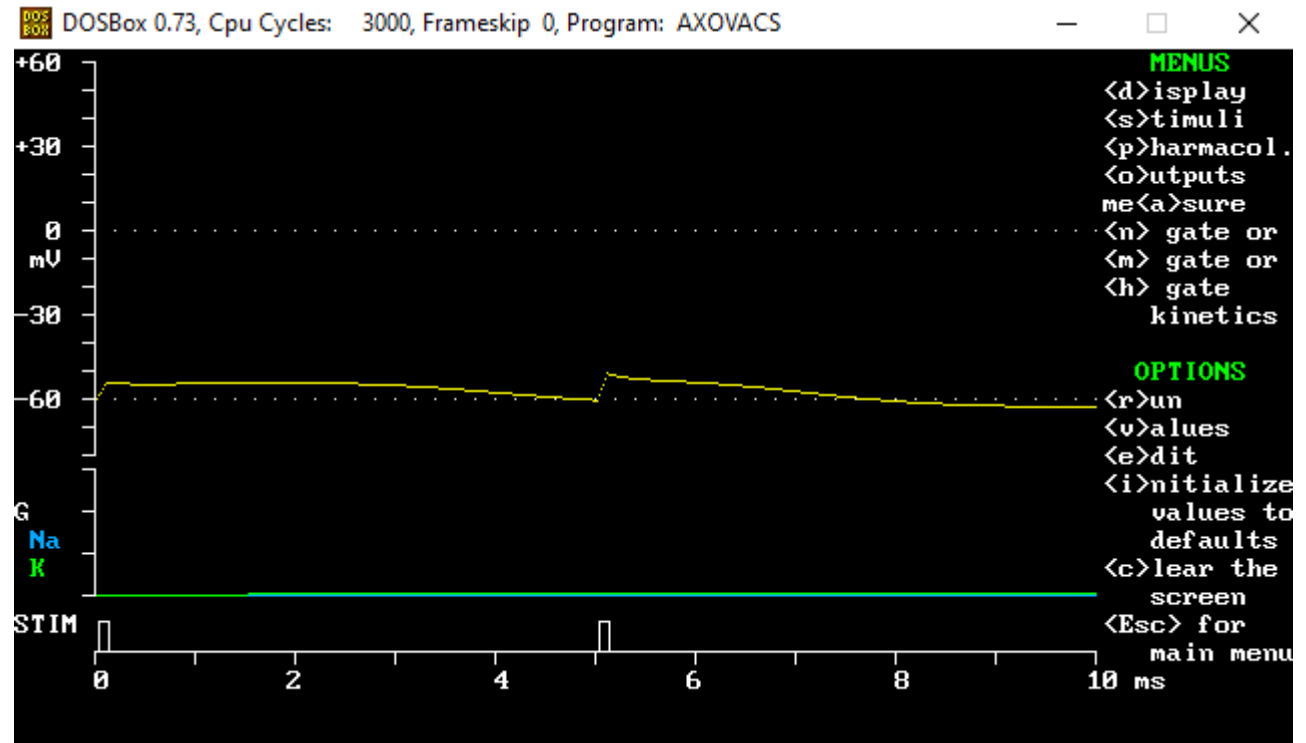
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan dos pulsos de corriente de $100 \mu A/cm^2$ en dos tiempos ($0,1 ms$ y $4,5 ms$).

Si dejamos transcurrir el tiempo suficiente para que los canales de Na^+ y K^+ regresen a su estado de reposo, podemos iniciar un nuevo potencial de acción.



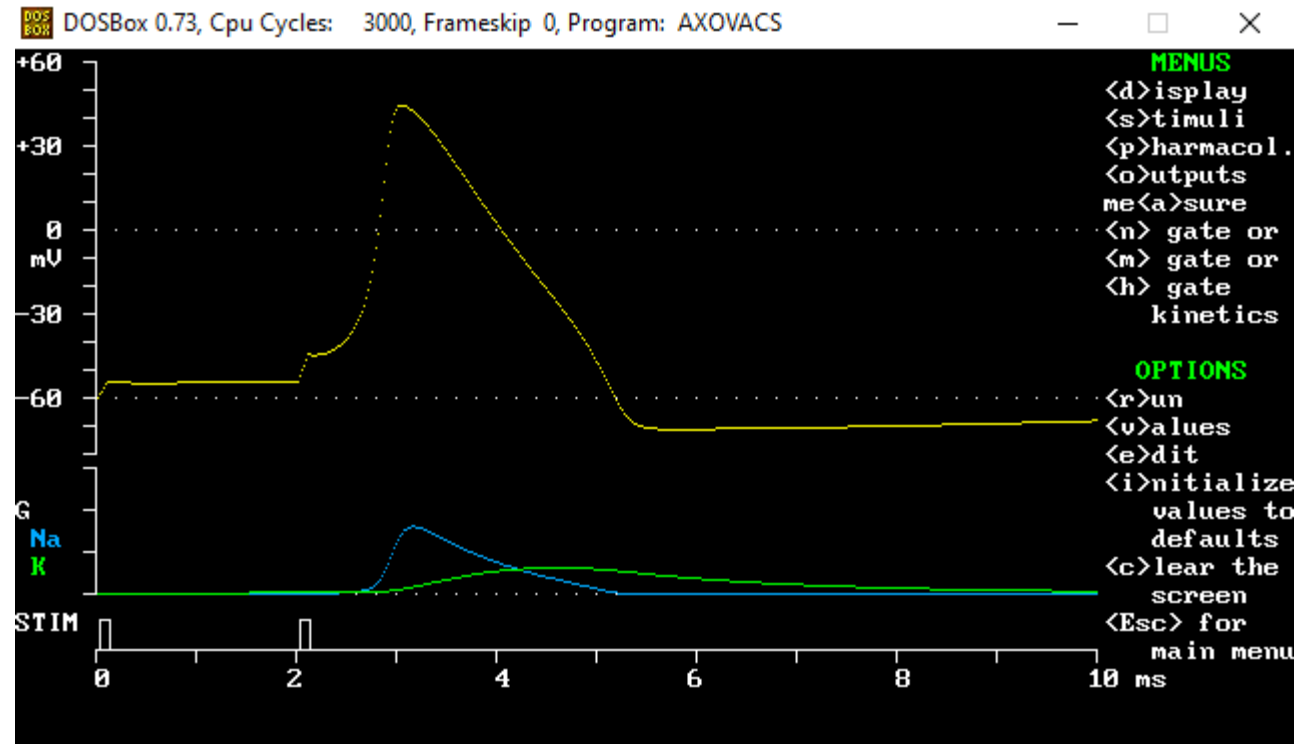
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan dos pulsos de corriente de $100 \mu A/cm^2$ en dos tiempos ($0,1 ms$ y $15 ms$).

Del mismo modo, dos estímulos subumbrales que se encuentren dentro de una misma ventana de tiempo, pueden generar un potencial de acción a partir del **Principio de Sumación.**



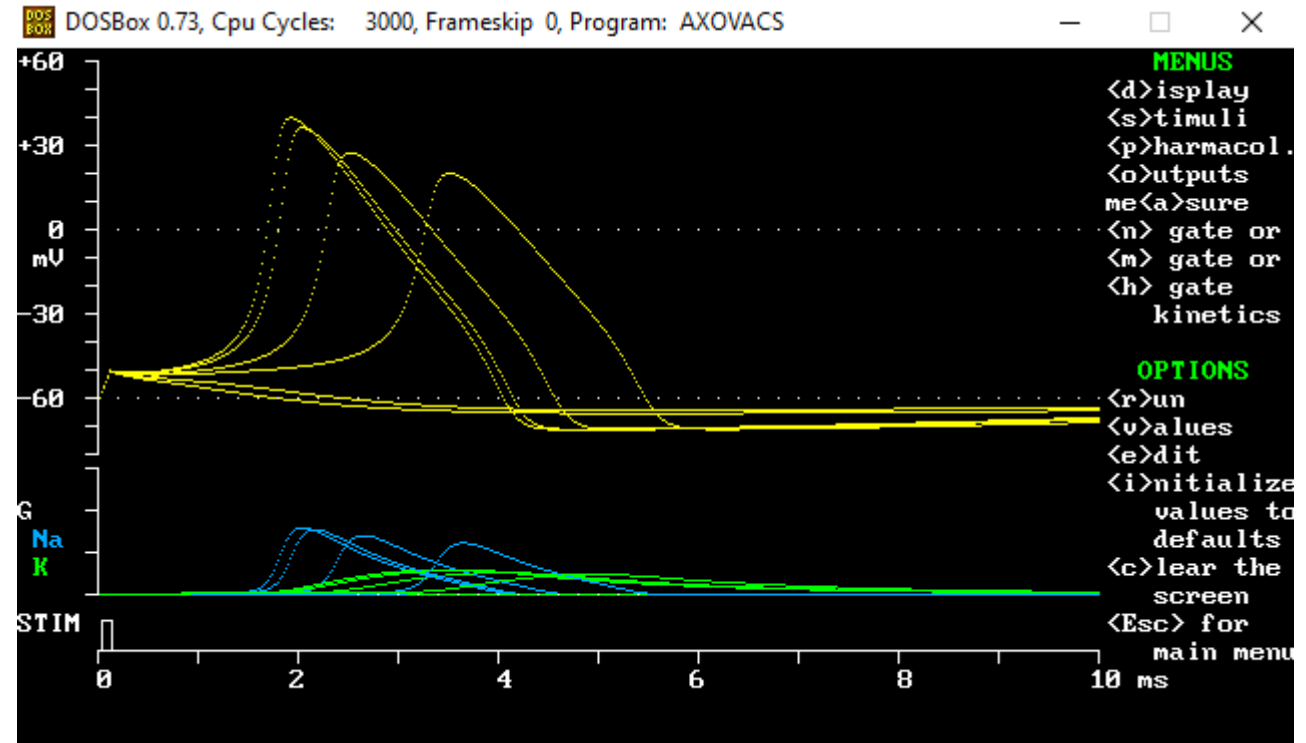
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan dos pulsos de corriente subumbrales de $60 \mu A/cm^2$ en dos tiempos ($0,1 ms$ y $5 ms$).

El Principio de Sumación establece que dos respuestas subumbrales (electrotónicas) sucesivas dentro de un lapso de tiempo comparable al del potencial de acción pueden disparar un potencial de acción actuando como un único pulso (supraumbral).



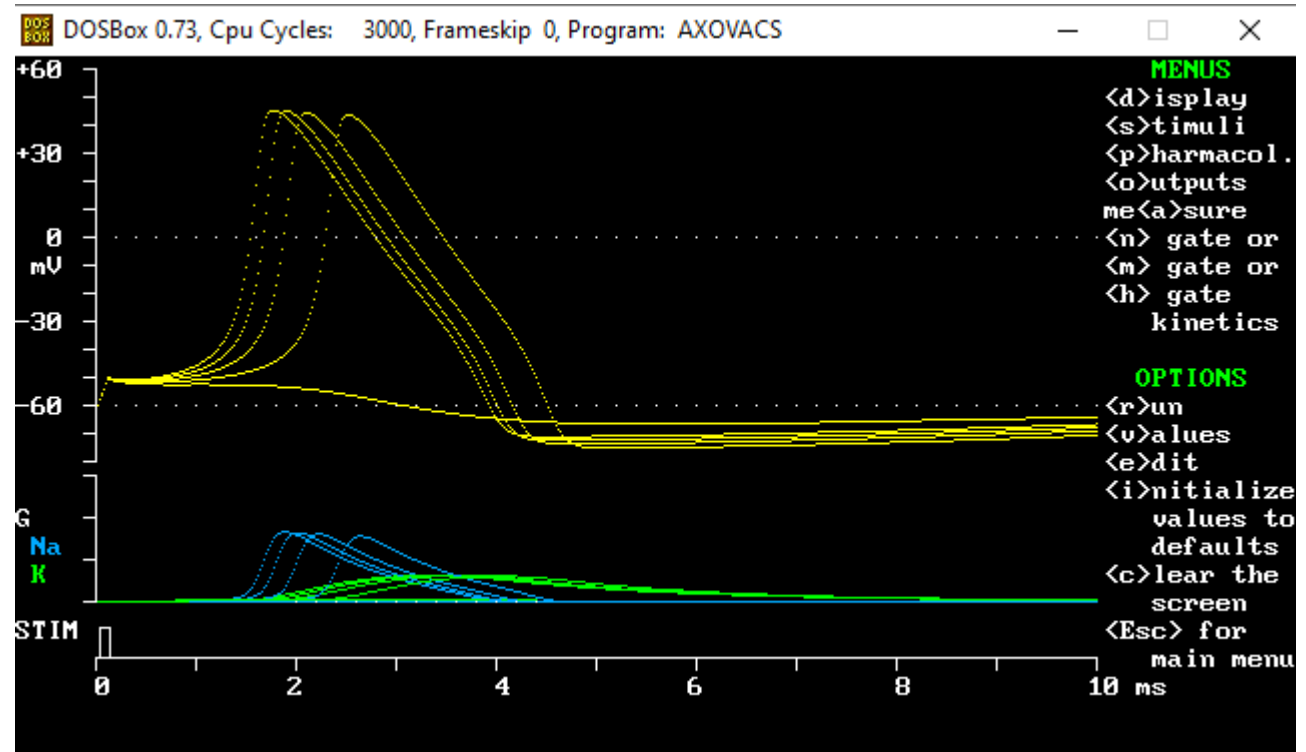
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan dos pulsos de corriente subumbrales de $60 \mu A/cm^2$ en dos tiempos ($0,1 ms$ y $2 ms$).

Al variar $[Na^+]_{ext}$ se observa que el tiempo de latencia entre el estímulo y el potencial de acción aumenta, al tiempo que la amplitud del potencial disminuye. Este efecto actúa principalmente en la fase inicial del potencial de acción.



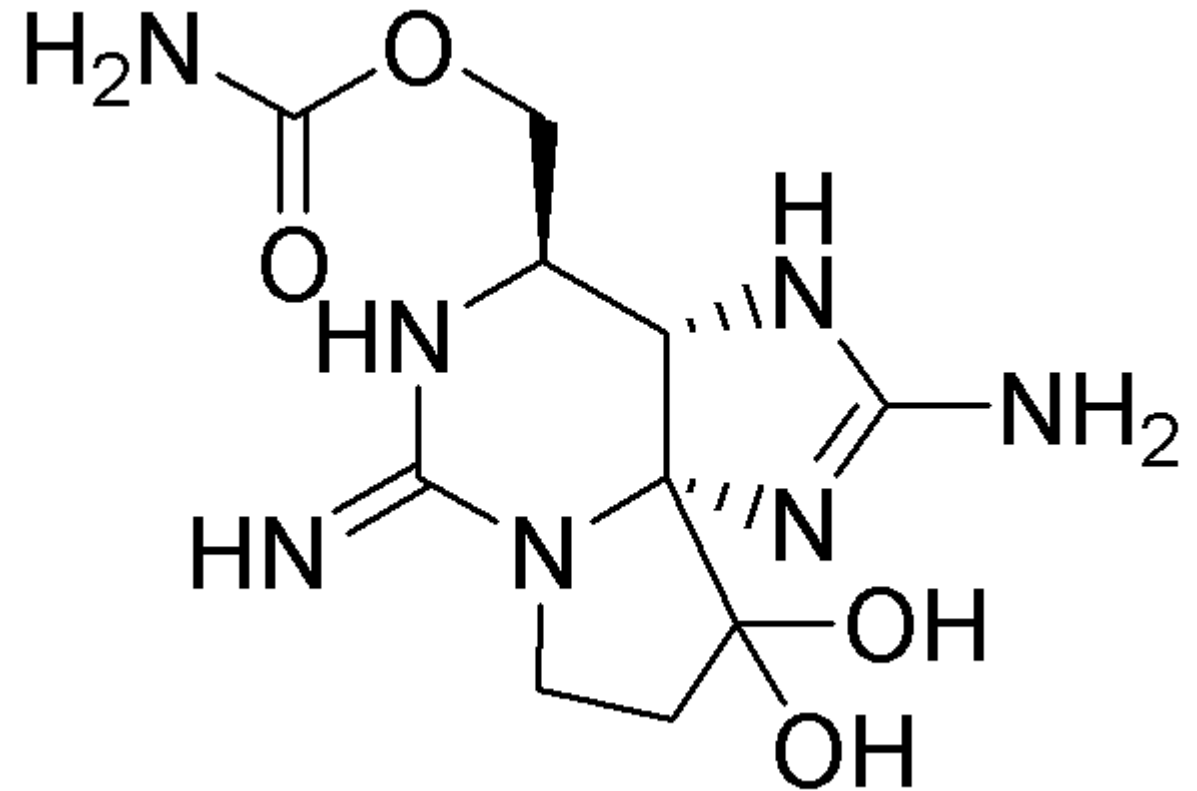
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan un pulso de corriente (supraumbral) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía el cociente de $[Na^+]_{ext}$ entre 1 y 0,2.

Análogamente, al variar el gradiente de $[K^+]$ se observa una dependencia similar, pero esta vez en todas las etapas del transcurso temporal del potencial de acción, incluyendo un efecto en la fase de repolarización.



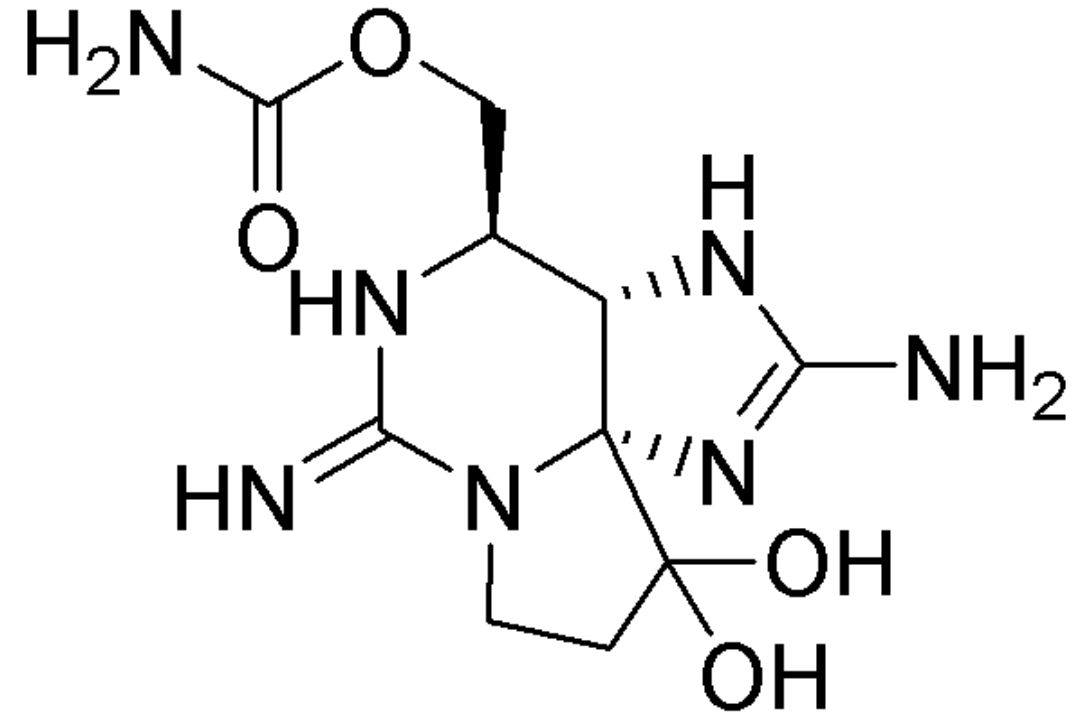
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se genera un pulso de corriente (supraumbral) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía el cociente de $[K^+]$ entre 1 y 0,8.

Una opción interesante que provee AXOVACS es observar el efecto de diferentes toxinas de interés biológico sobre el potencial de acción.



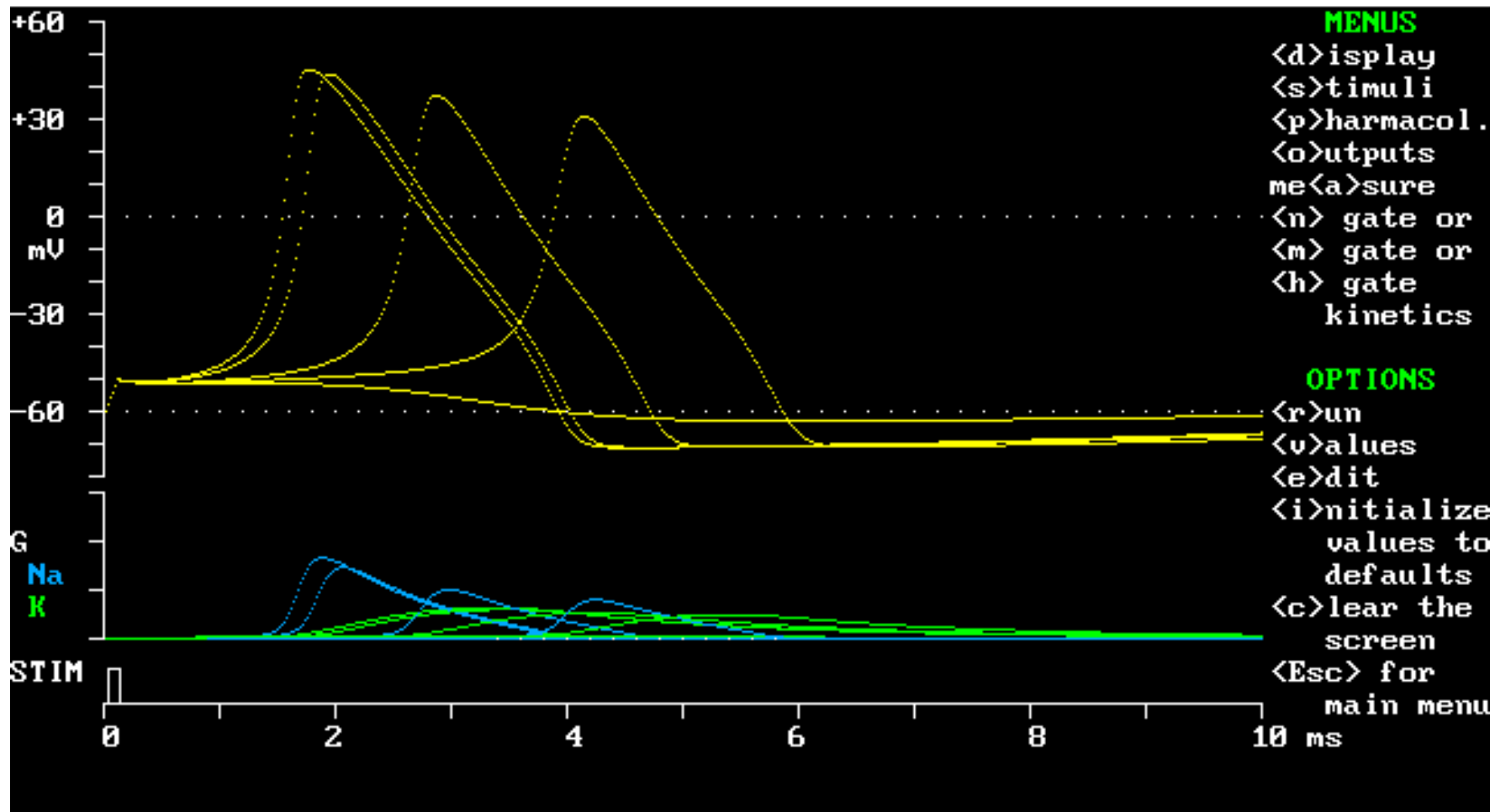
En concreto, la **Saxitoxina** (STX) es una fitotoxina producida principalmente por Cianobacterias (y algunos Dinoflagelados en relación simbiótica).

Esta molécula bloquea selectivamente los canales de Na^+ voltaje-dependientes^[4,5].



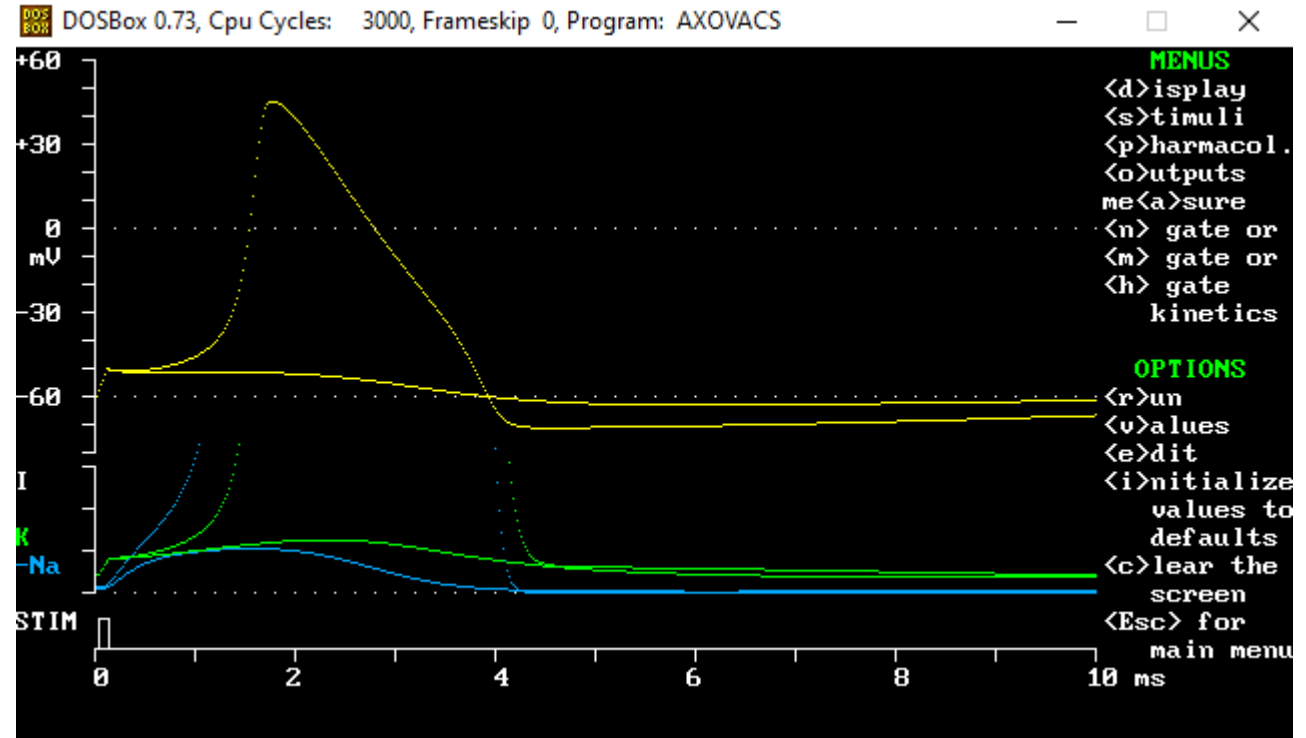
[4] [Li, T., & Chen, J. \(2018\). Voltage-gated sodium channels in drug discovery. In *Ion Channels in Health and Sickness*. IntechOpen. \[Open Access\]](#)

[5] [Terlau, H., Heinemann, S. H., Stühmer, W., Pusch, M., Conti, F., Imoto, K., & Numa, S. \(1991\). Mapping the site of block by tetrodotoxin and saxitoxin of sodium channel II. *FEBS letters*, 293\(1-2\), 93-96. \[Open Access\]](#)



Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se generan un pulso de corriente (supraumbra) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía $[STX]$ entre $0 nM$ y $0,6 nM$.

El efecto que se observa es un aumento de la latencia de disparo del potencial de acción y una disminución de la amplitud del mismo. La fase de despolarización se ve afectada por lo que se comprueba su efecto sobre los canales de Na^+ .



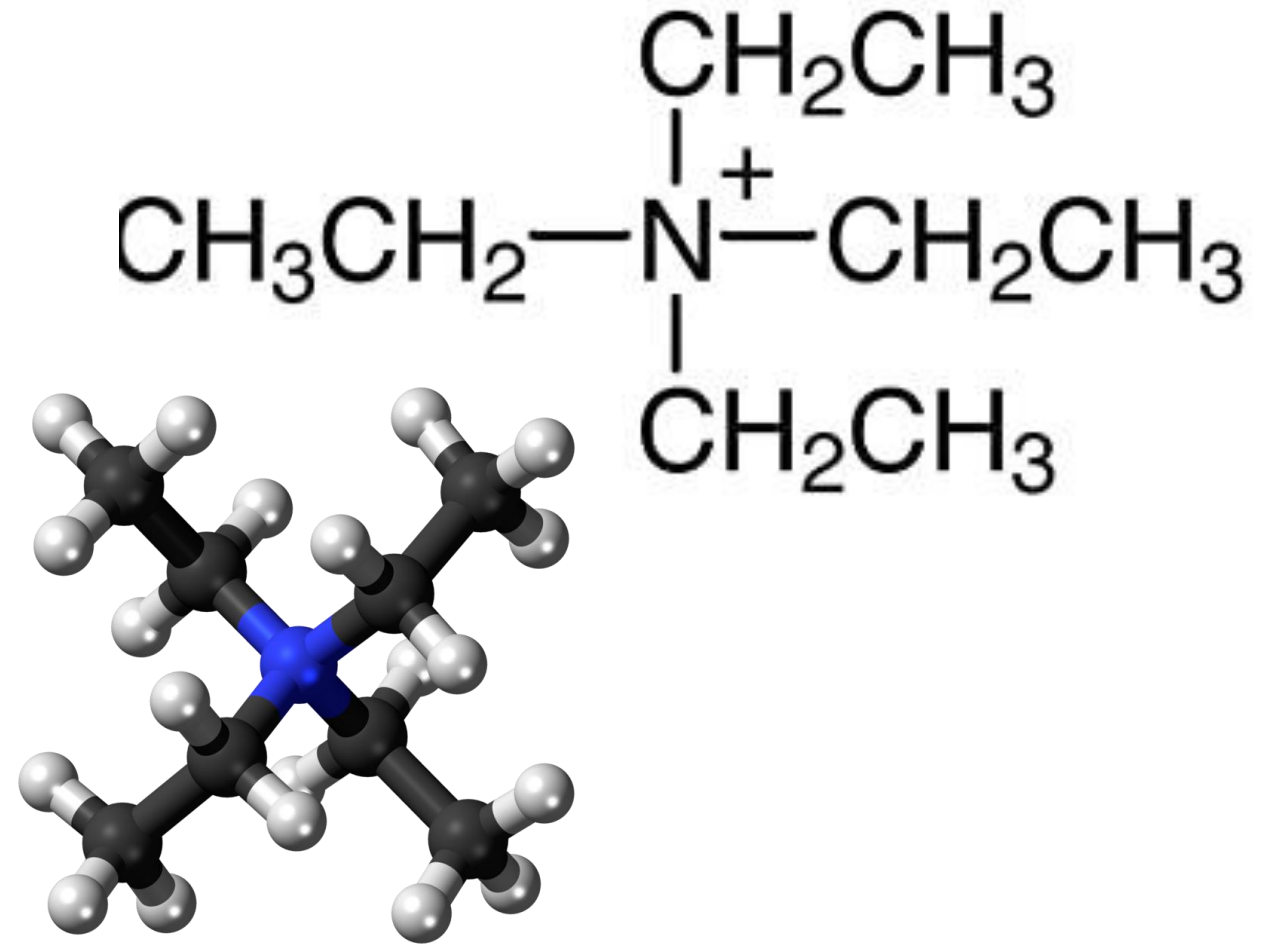
Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se genera un pulso de corriente (supraumbra) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía $[STX]$ entre $0 nM$ y $0,6 nM$.

Bajo concentraciones de STX muy altas, la corriente saliente del K^+ permanece por encima de la corriente entrante del Na^+ durante todo el estímulo y nunca se dispara el potencial de acción.

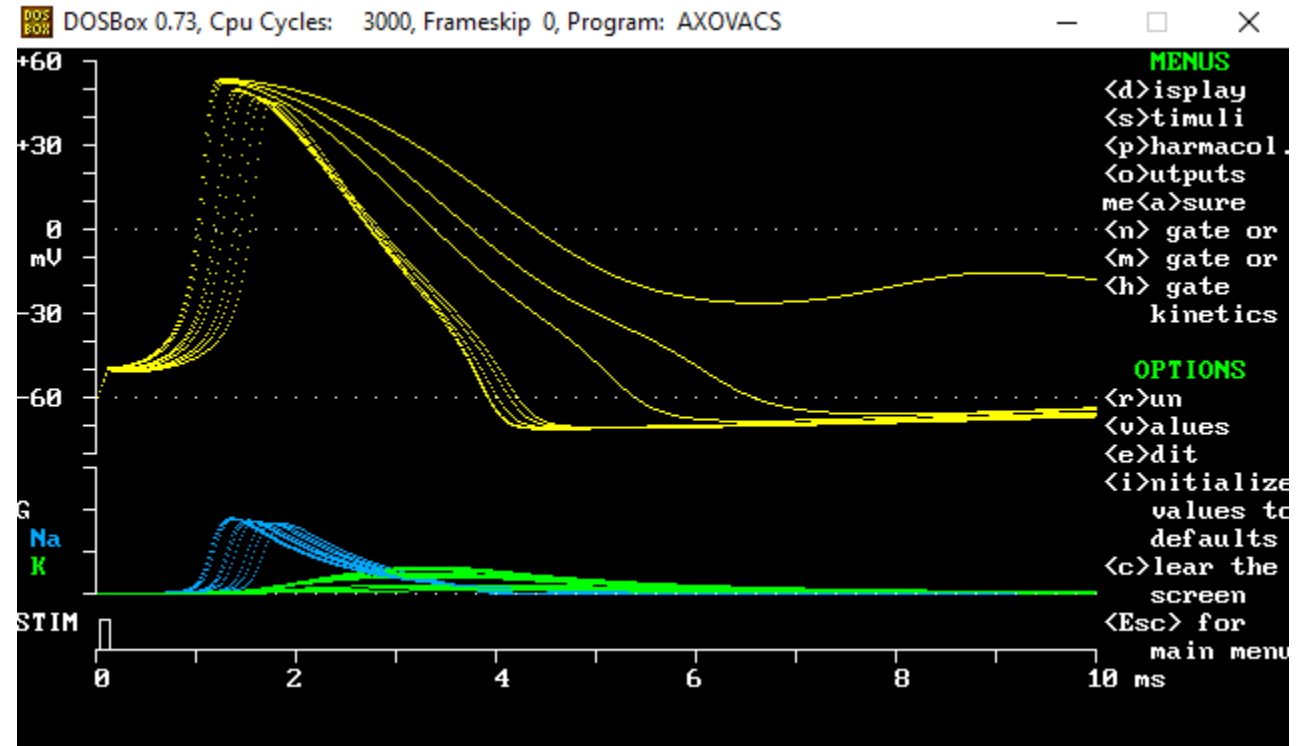
El efecto de la STX es únicamente sobre los canales de Na^+ voltaje-dependientes, impidiendo la generación de un potencial de acción. No posee un efecto sobre el potencial de membrana. Si se deja transcurrir tiempo suficiente, la membrana vuelve a su potencial de reposo.

El Tetraetilamonio (TEA) es una toxina que tiende a bloquear los canales de K^+ voltaje-dependientes y por lo tanto tendrá un efecto sobre el potencial de acción^[6].

[6] [Choi, K. L., Aldrich, R. W., & Yellen, G. \(1991\). Tetraethylammonium blockade distinguishes two inactivation mechanisms in voltage-activated \$K^+\$ channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88\(12\), 5092-5095. \[Open Access\]](#)

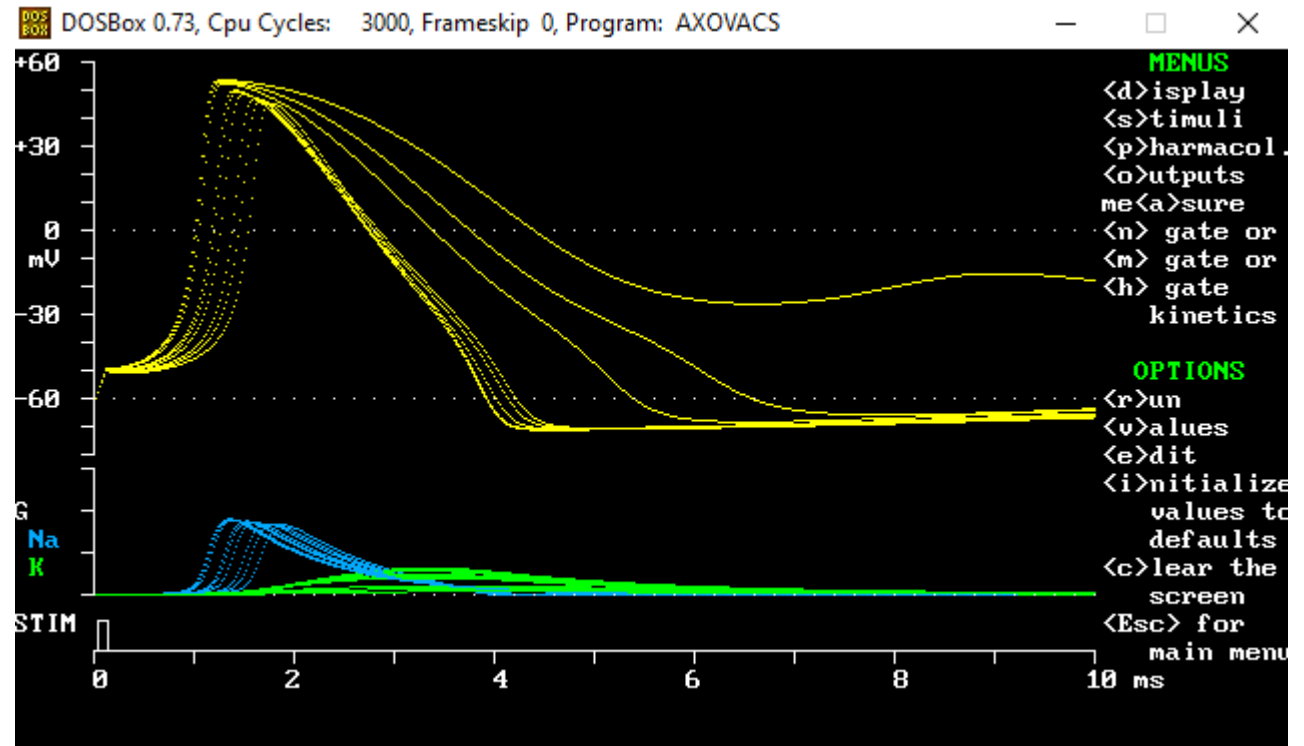


La adición de TEA en el medio disminuye el período de latencia de disparo del potencial de acción, al tiempo que se modifica drásticamente la fase de repolarización. Para concentraciones muy altas de TEA no llega a reestablecerse el potencial de reposo.



Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se genera un pulso de corriente (supraumbra) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía $[TEA]$ entre $0 mM$ y $15 mM$.

Puesto que hay canales de K^+ que están bloqueado y no lograron abrirse para la salida de cationes, éstos quedarán retenidos en el axoplasma celular, despolarizando completamente la membrana.



Estímulo de corriente simulado sobre el axón gigante de calamar, donde se genera un pulso de corriente (supraumbra) de $100 \mu A/cm^2$ en $0,1 ms$, y se varía $[TEA]$ entre $0 mM$ y $15 mM$.

Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- AXOVACS
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - Canales

Contenido de la clase

- Control de lectura: Práctico 06
- Introducción teórica
 - Análogo eléctrico
 - Modelo de Hodgkin-Huxley
- **AXOVACS**
 - Voltage-Clamp
 - Current-Clamp
 - **Canales**

Un aspecto crucial del Modelo de Hodgkin-Huxley es el hecho de que las conductancias de Na^+ y K^+ varían con el tiempo.

Por lo tanto, el circuito equivalente de este comportamiento implica resistencias variables con el tiempo.

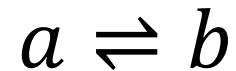
$$g_{Na^+}(t) = \frac{I_{Na^+}(t)}{V_m - E_{Na^+}}$$

$$g_{K^+}(t) = \frac{I_{K^+}(t)}{V_m - E_{K^+}}$$

Esta variación en las conductancias puede estudiarse a partir de la dinámica de apertura y cierre de los canales voltaje-dependientes, de acuerdo con sus características estructurales (moleculares).

En la época en que se realizaron estos experimentos, se *desconocía de la existencia de estas estructuras proteicas*. Por lo que estos experimentos sugirieron la existencia de “compuertas” (*‘gates’*) capaces de dejar pasar las corrientes iónicas.

Supongamos un canal formado por compuertas, las cuales pueden estar en dos estados: cerrado (a) y abierto (b), con cierta probabilidad voltaje-dependiente. Ambos estados estarán en equilibrio:



Llamaremos α, β a las constantes de transformación en el equilibrio de los estados cerrado y abierto, respectivamente^[7]. Llamaremos y a la probabilidad de la compuerta de estar cerrada, por lo que $n = (1 - y)$ es la probabilidad de la compuerta de estar abierta.

[7] Esta notación es la misma que se utiliza en el Anexo del práctico

La ecuación diferencial que describe la velocidad de apertura del canal es:

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

Notar que en el estado estacionario ($dy/dt = 0$),

$$y_{ee} = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}$$

La solución de la ecuación diferencial es:

$$n(t, V) = n_{\infty} - (n_{\infty} - n_0) \left(\exp \left(-\frac{t}{\alpha + \beta} \right) \right)$$

Donde,

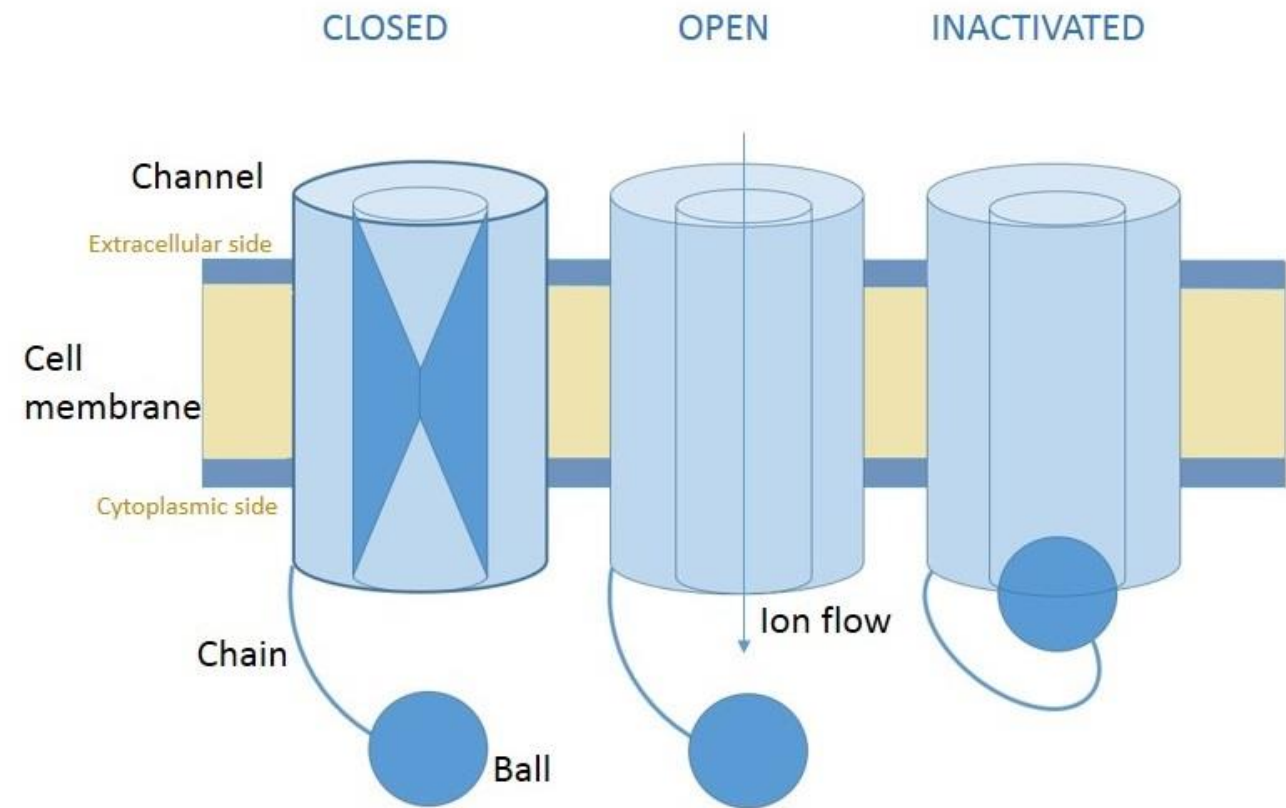
n_0 es la probabilidad estacionaria en el voltaje de reposo (V_{rest}),

n_{∞} es la probabilidad estacionaria para el voltaje inducido (RI_0).

En este modelo se considera que **las compuertas del canal operan de manera independiente**, y solamente bajo un determinado estado de compuertas abiertas el canal logra abrirse del todo.

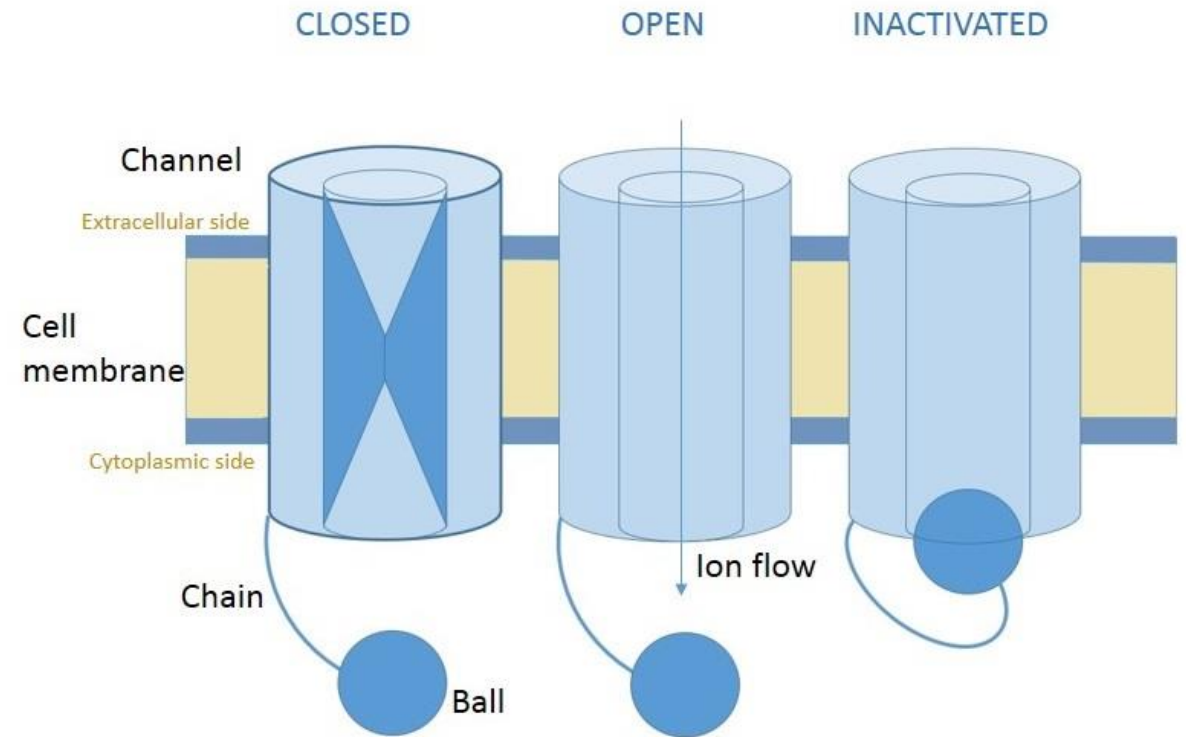
La estructura proteica de los canales de Na^+ es compleja^[8-10].

Sin embargo, el **Modelo de Bola y Cadena** (*'Ball and Chain Model'*) permite explicar su comportamiento temporal frente a diferentes escenarios eléctricos.

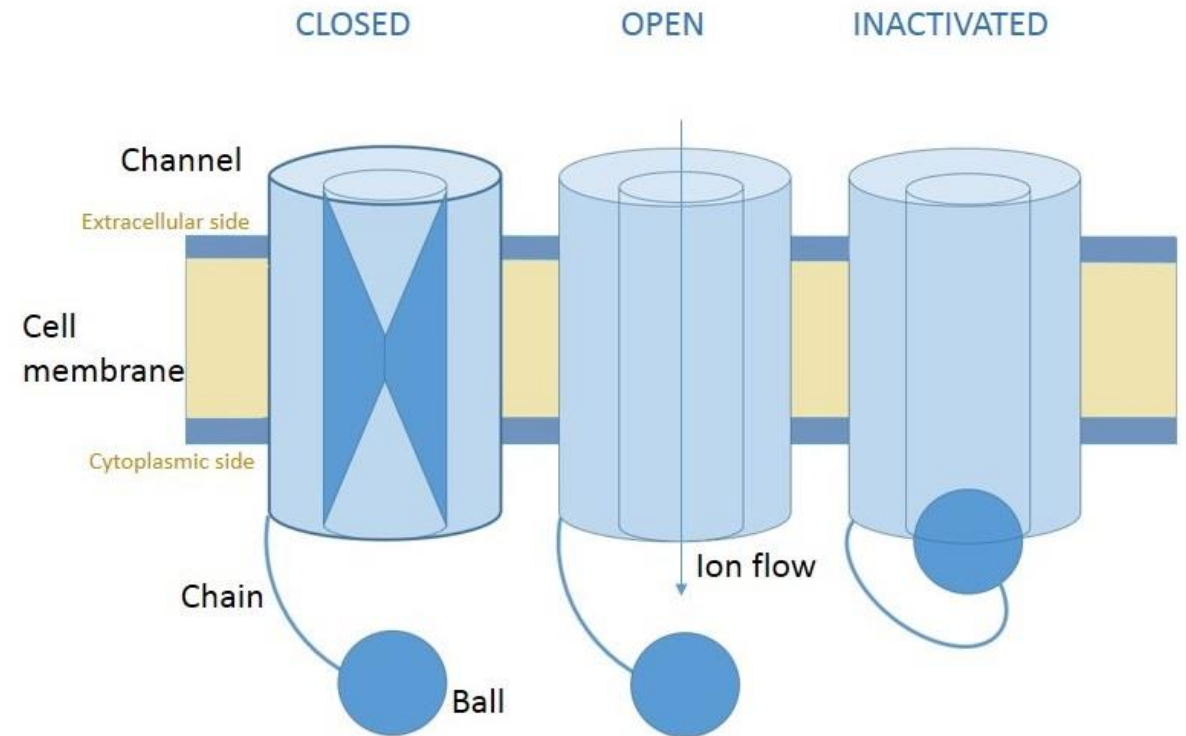


- [8] [Goldin, A. L. \(2003\). Mechanisms of sodium channel inactivation. *Current opinion in neurobiology*, 13\(3\), 284-290. \[Open Access\]](#)
- [9] [Bezanilla, F., & Armstrong, C. M. \(1977\). Inactivation of the sodium channel. I. Sodium current experiments. *The Journal of general physiology*, 70\(5\), 549. \[Open Access\]](#)
- [10] [Armstrong, C. M., & Bezanilla, F. \(1977\). Inactivation of the sodium channel. II. Gating current experiments. *The Journal of general physiology*, 70\(5\), 567-590. \[Open Access\]](#)

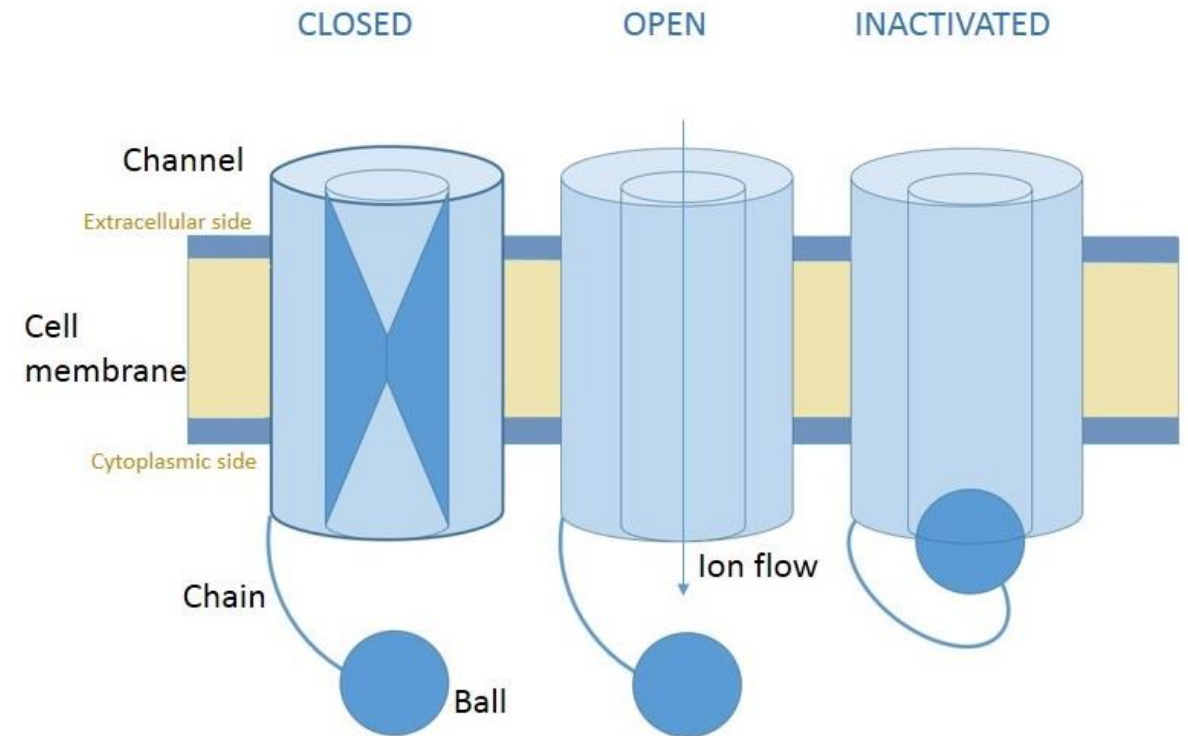
Los canales de Na^+ consisten en una proteína trans-membrana asociados a una cadena polipeptídica con un extremo, también peptídico, en forma de bola. En el estado de reposo, las compuertas internas del canal están cerradas y la bola permanece desligada.



Cuando la membrana se despolariza, las compuertas del canal modifican su conformación, se abren y permiten el flujo iónico (entrante). Durante la despolarización las compuertas permanecen abiertas, pero el flujo iónico disminuye al acercarse al E_{Na^+} .

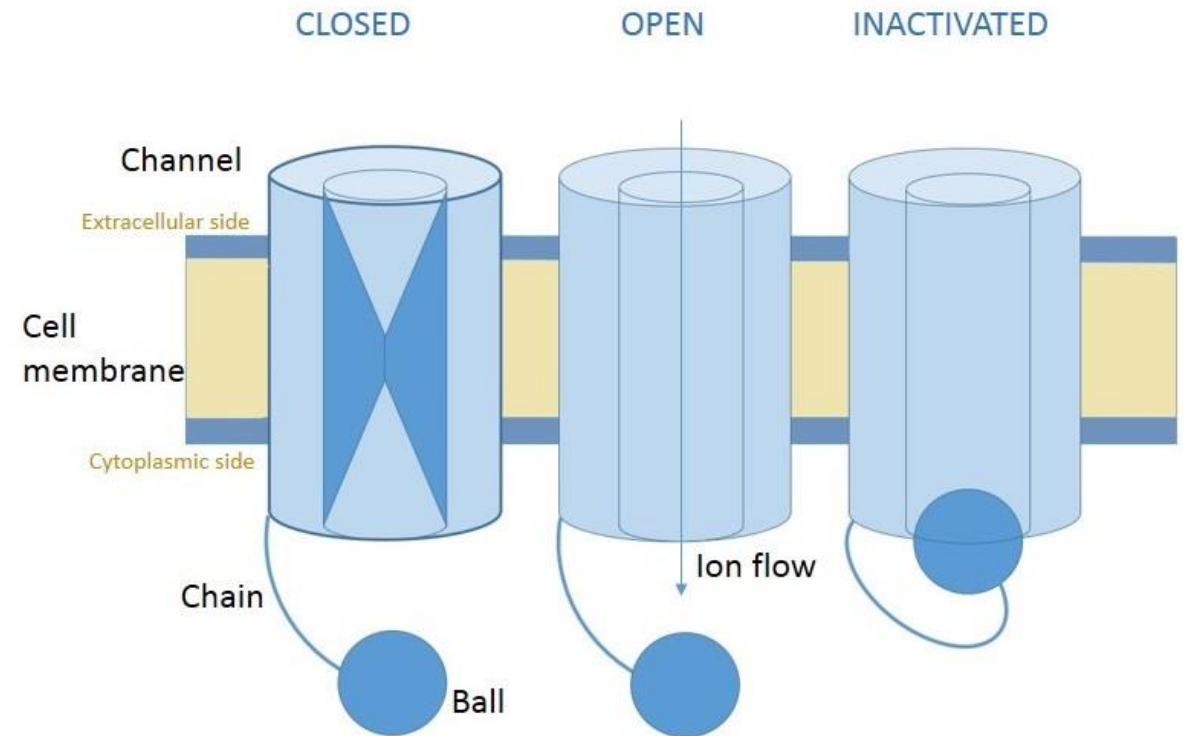


Una vez iniciada la repolarización, la bola comienza a acercarse en la región interna del canal y bloquea el flujo de iones. Notar que las compuertas permanecen abiertas durante la inactivación, por eso el estado es **Abierto Inactivado**.

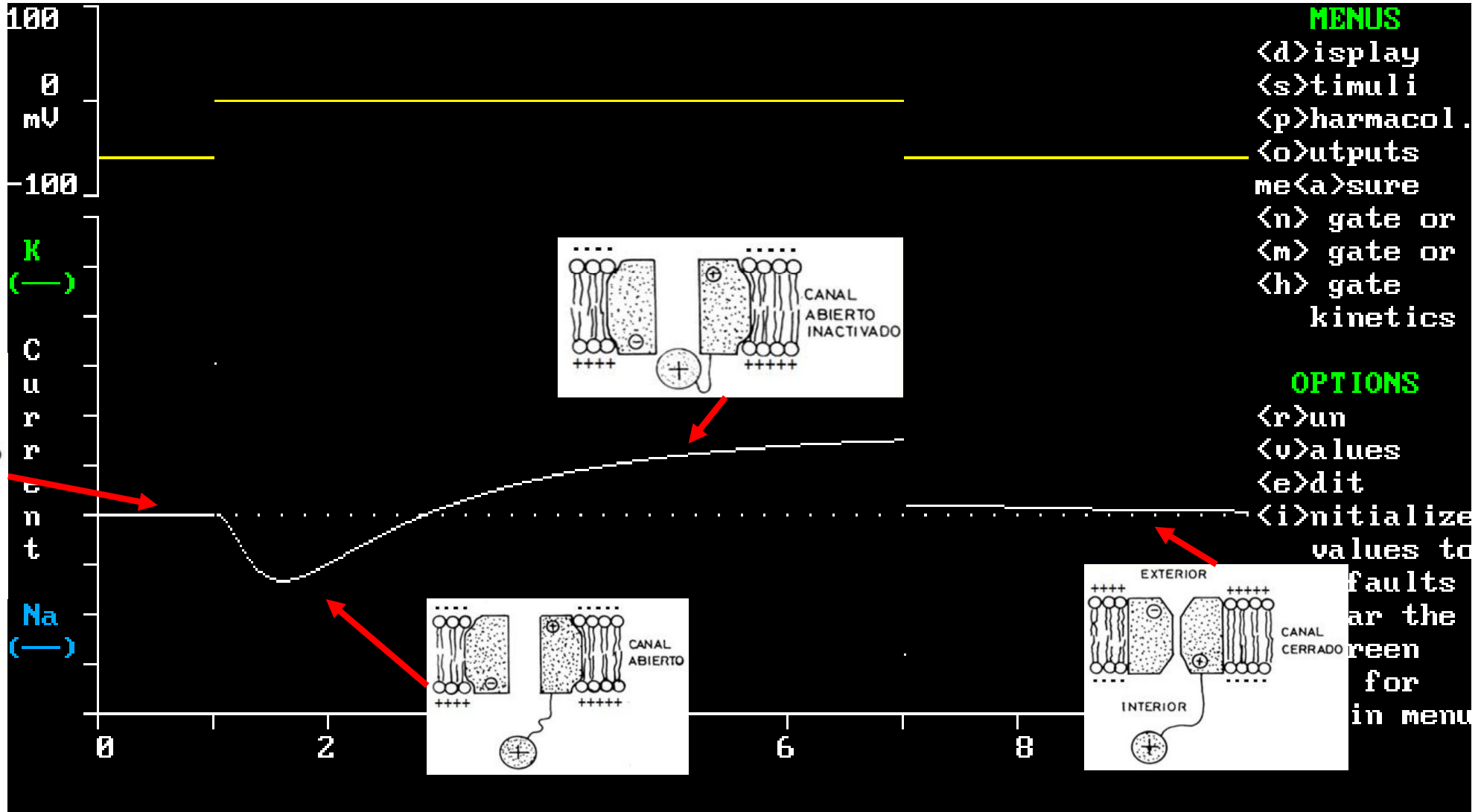
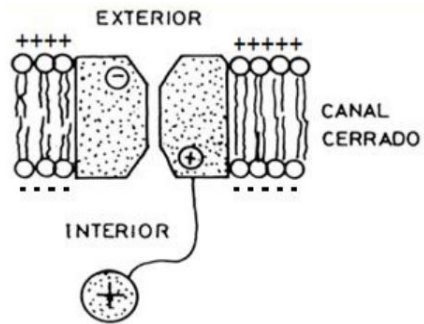


Los canales de Na^+ volverán al estado **Cerrado** una vez se alcance el potencial de reposo de la membrana ($V_{rest} \approx -60 mV$).

En la hiperpolarización permanecerán en el estado abierto-inactivado aunque, lentamente, la población de canales comenzará el cierre.



DOSBox 0.73, Cpu Cycles: 3000, Frameskip 0, Program: AXOVACS



MENUS
 <d>isplay
 <s>timuli
 <p>armacol.
 <o>utputs
 me<a>sure
 <n> gate or
 <m> gate or
 <h> gate
 kinetics

OPTIONS
 <r>un
 <v>alues
 <e>dit
 <i>nitalize
 values to
 faults
 ar the
 reen
 for
 in menu

En el modelo cinético que estamos considerando, podemos obtener la probabilidad de que el canal esté abierto en función de las probabilidades de apertura de las compuertas.

La particularidad de la inactivación del canal de Na^+ puede modelarse como una compuerta cuya apertura induce la inactivación. De esta manera distinguiremos dos tipos de compuertas: compuertas que permiten la apertura (m) y compuertas que inactivan el canal (h).

Para canales de Na^+ consideraremos un canal de cuatro compuertas: 3 de tipo m y 1 de tipo h .

Como las probabilidades de apertura de cada compuerta son independientes del estado de las demás compuertas, la probabilidad de apertura del canal (f_{Na^+}) es el producto de las probabilidades de las compuertas.

$$f_{Na^+} = [m(t, V)]^3 [h(t, V)]$$

Notar que el factor $[m(t, V)]^3$ es el producto de 3 compuertas tipo m , mientras que el factor $[h(t, V)]$ es la probabilidad de la compuerta tipo h . Ambos tipos de compuertas tienen una dependencia con el tiempo y el voltaje.

La conductancia del Na^+ estará dada por tres componentes:

- 1) La cantidad de canales presentes en la membrana (N_{Na^+}).
- 2) La conductancia individual de cada canal (γ_{Na^+}).
- 3) La fracción de canales abiertos (f_{Na^+}).

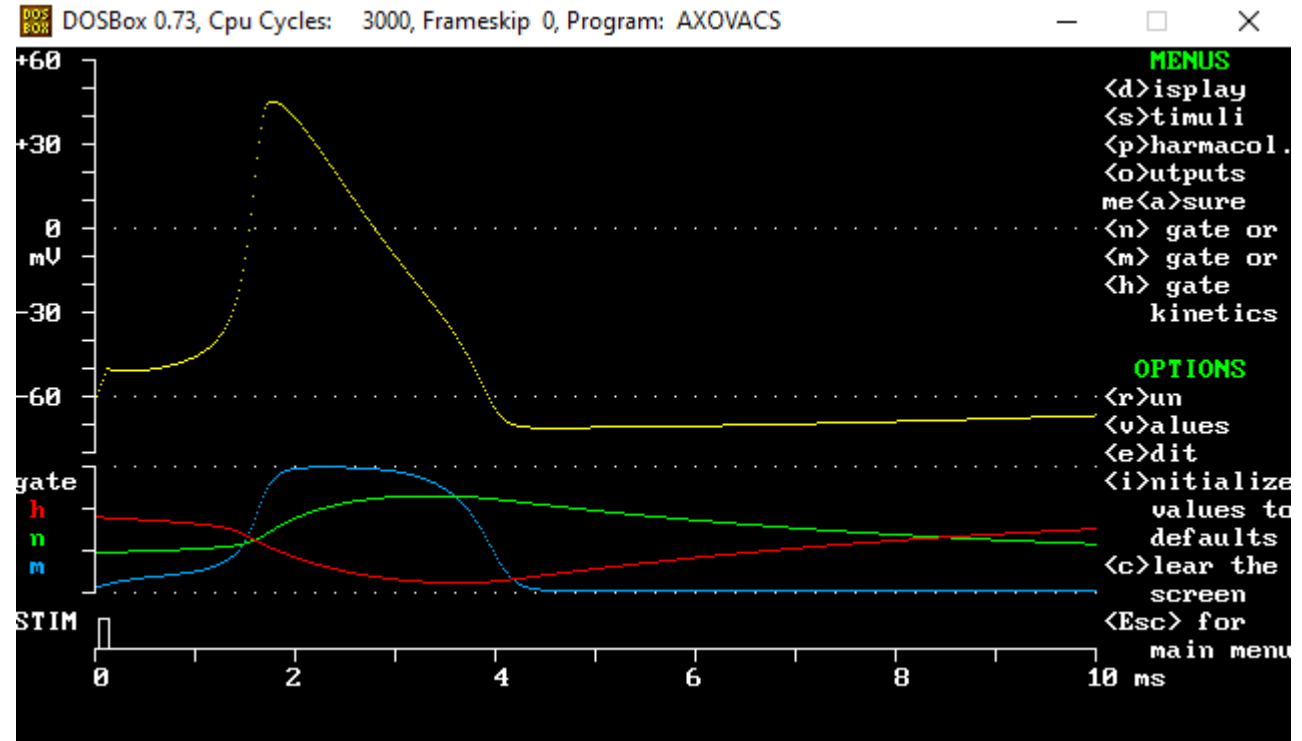
Por tanto,

$$g_{Na^+} = \gamma_{Na^+} N_{Na^+} f_{Na^+} = \gamma_{Na^+} N_{Na^+} ([m(t, V)]^3 [h(t, V)])$$

A partir de la expresión anterior puede obtener una expresión para la corriente del Na^+ en función de las probabilidades de apertura de las compuertas:

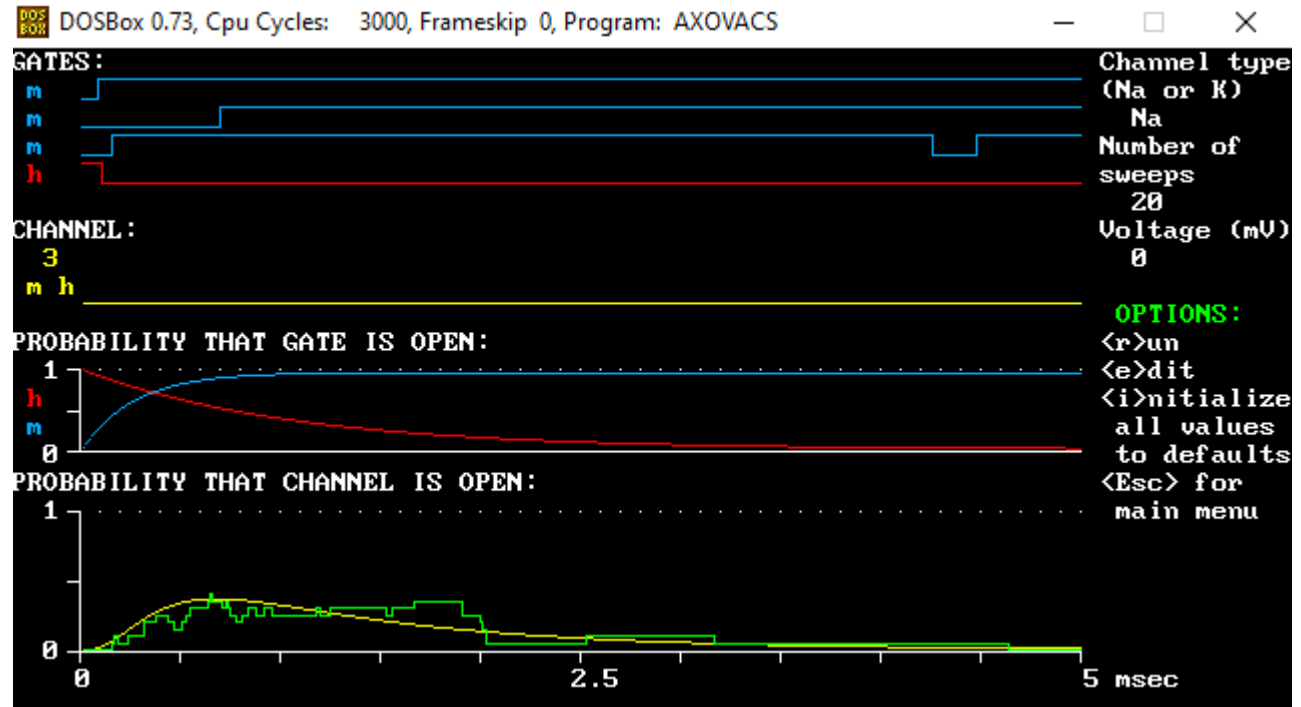
$$\begin{aligned}
 I_{Na^+}(t, V_m) &= g_{Na^+}(V_m - E_{Na^+}) \\
 &= \gamma_{Na^+} N_{Na^+} ([m(t, V_m)]^3 [h(t, V_m)])(V_m - E_{Na^+})
 \end{aligned}$$

La curva roja corresponde al número de compuertas abiertas tipo h , y la curva azul corresponde al número de compuertas abiertas tipo m en función del tiempo. Notar que cuando se dispara el potencial de acción el número de compuertas tipo m es máximo.



Axón gigante de calamar sometido a un estímulo supraumbral de $100 \mu A/cm^2$ disparador de un potencial de acción. La gráfica del medio muestra la evolución temporal del estado de las compuertas.

La opción 1 de AXOVACS permite observar la evolución temporal de los canales. La gráfica superior muestra el estado de las compuertas del canal de Na^+ , tanto las compuertas tipo m como la compuertas tipo h .



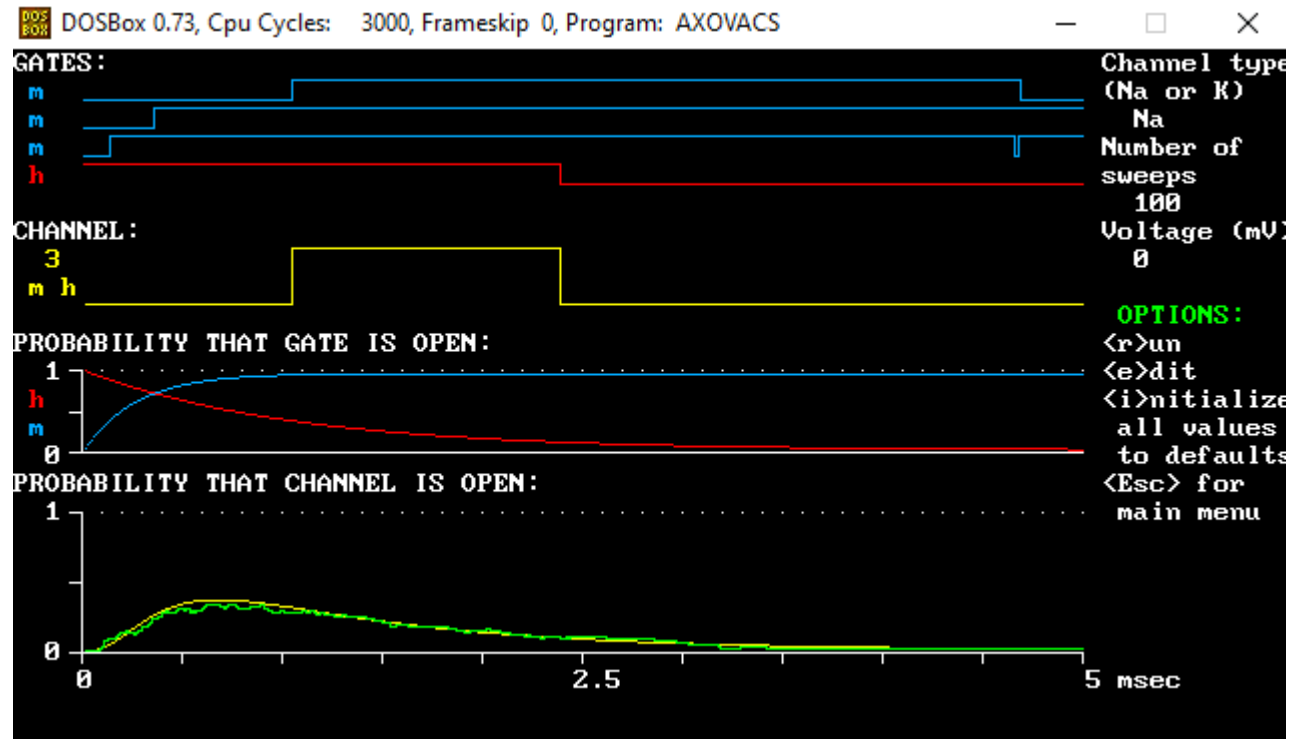
Áxon gigante de calamar sometido a un estímulo de voltaje 0 mV disparador de un potencial de acción.

El 2do gráfico muestra el estado del canal. El 3er gráfico muestra la probabilidad de que las compuertas estén abiertas. La **curva roja** muestra la probabilidad de que la compuerta tipo h esté abierta, mientras que la **curva azul** muestra la probabilidad de que las compuertas tipo m estén abiertas. El 4to gráfico muestra la probabilidad del canal esté abierto (**curva amarilla**), superpuesta con la frecuencia de apertura de los canales para ese instante de tiempo (**curva verde**). El instante de tiempo de observación de las compuertas es el número de barridos ('sweep').

Si aumentamos el número de barridos, la curva de frecuencias (**verde**) se acerca a la curva de probabilidad del canal abierto (**amarilla**).

Notar que la **curva amarilla** es similar a la curva de conductancia del Na^+ .

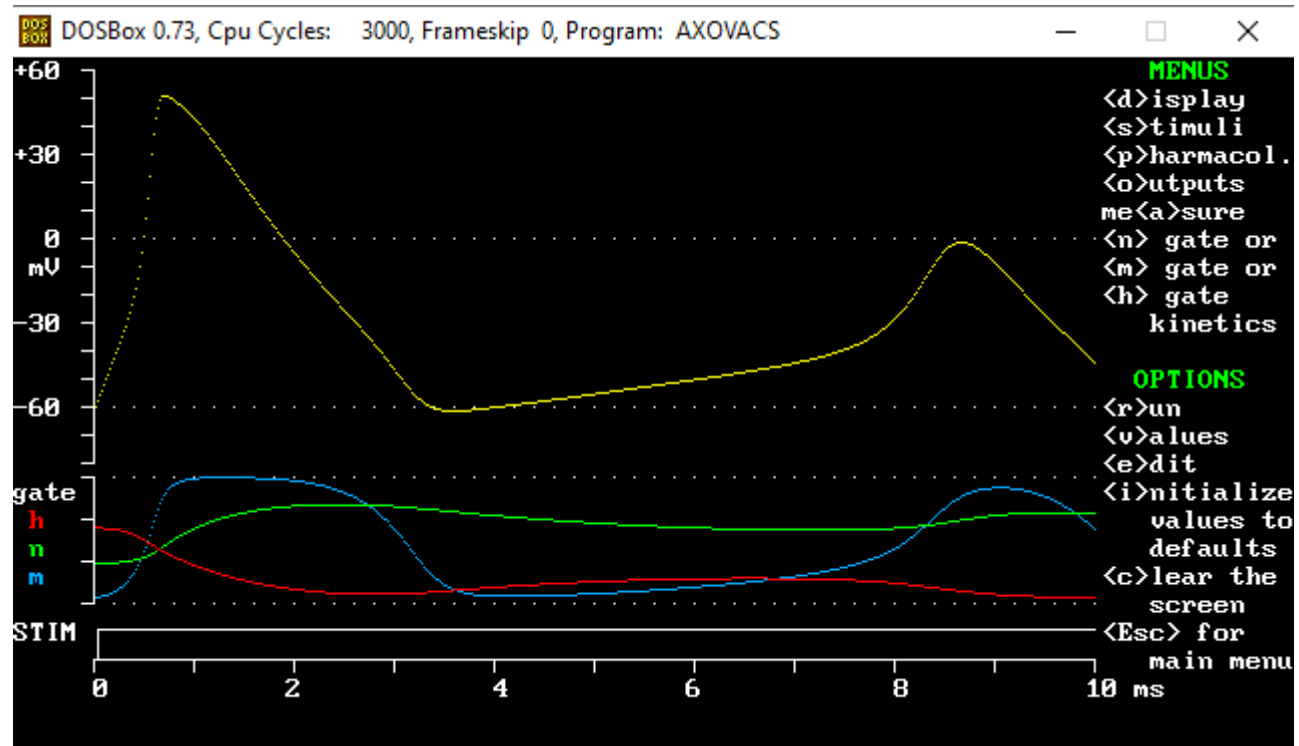
$$g_{Na^+}(t, V_m) \propto [m(t, V_m)]^3 [h(t, V_m)]$$



Áxon gigante de calamar sometido a un estímulo de voltaje 0 mV disparador de un potencial de acción. El número de barridos (instantes de observación de las compuertas) es 20.

Notar que cuando extendemos el estímulo de corriente por suficiente tiempo, las compuertas de los canales de Na^+ tipo m permanecen abiertas y no logran cerrarse completamente.

Lo mismo puede apreciarse para las compuertas de K^+ .



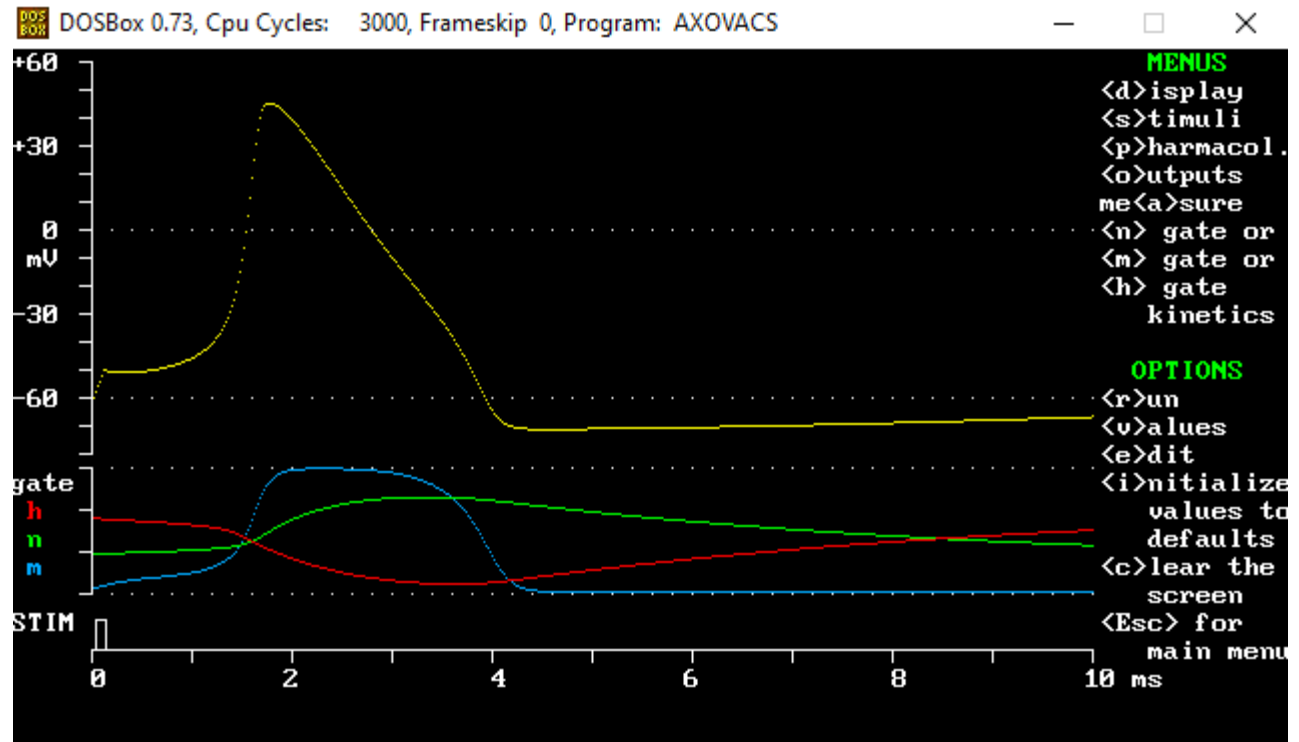
Axón gigante de calamar sometido a un estímulo de corriente de $100 \mu A/cm^2$ disparador de un potencial de acción, por un lapso de 10 ms.

Un análisis similar puede realizarse sobre los canales de K^+ tomando en cuenta el hecho de que estos canales no presentan inactivación. Podemos modelarlos como un canal de *4 compuertas independientes*, para el cual la apertura del canal se logrará cuando las 4 compuertas estén abiertas.

$$f_{K^+} = [n(t, V)]^4$$

$$I_{K^+} = \gamma_{K^+} N_{K^+} f_{K^+} (V_m - E_{K^+}) = \gamma_{K^+} N_{K^+} [n(t, V_m)]^4 (V_m - E_{K^+})$$

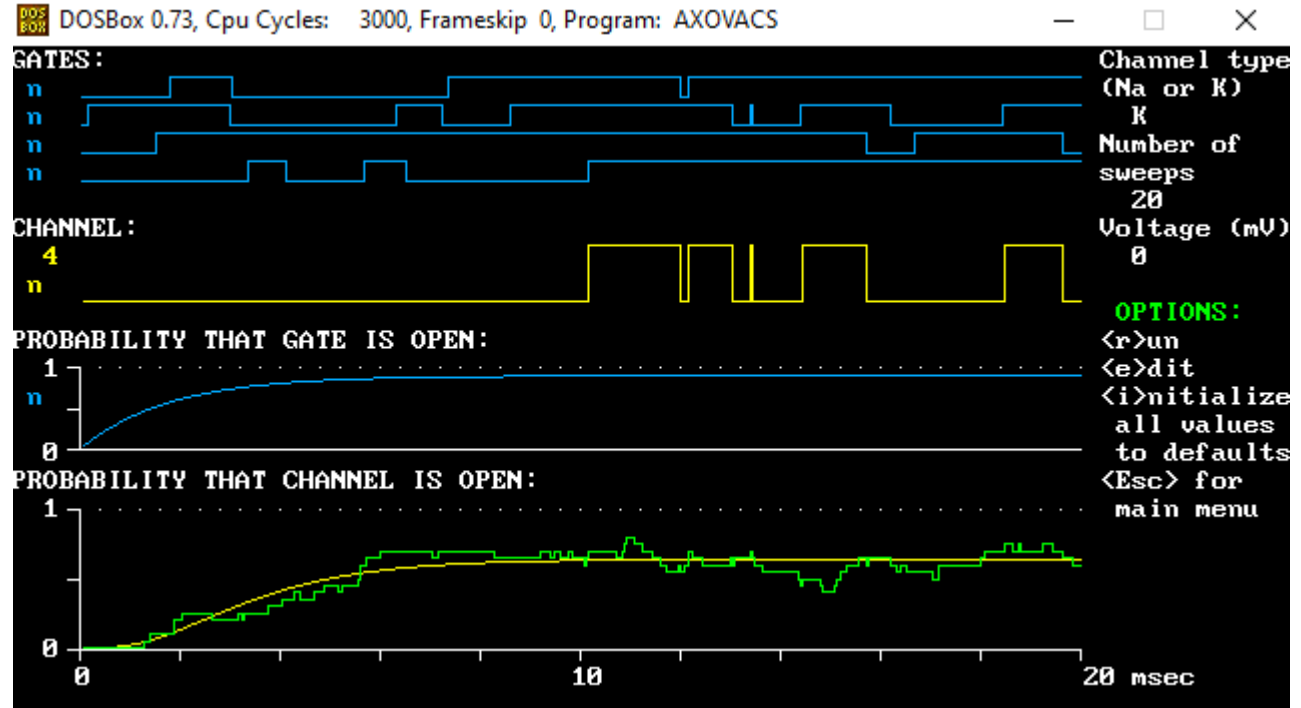
La curva verde corresponde al número de compuertas abiertas de los canales de K^+ en función del tiempo para un estímulo supraumbbral disparador de un potencial de acción.



Áxon gigante de calamar sometido a un estímulo supraumbbral de $100 \mu A/cm^2$ disparador de un potencial de acción. La gráfica del medio muestra la evolución temporal del estado de las compuertas.

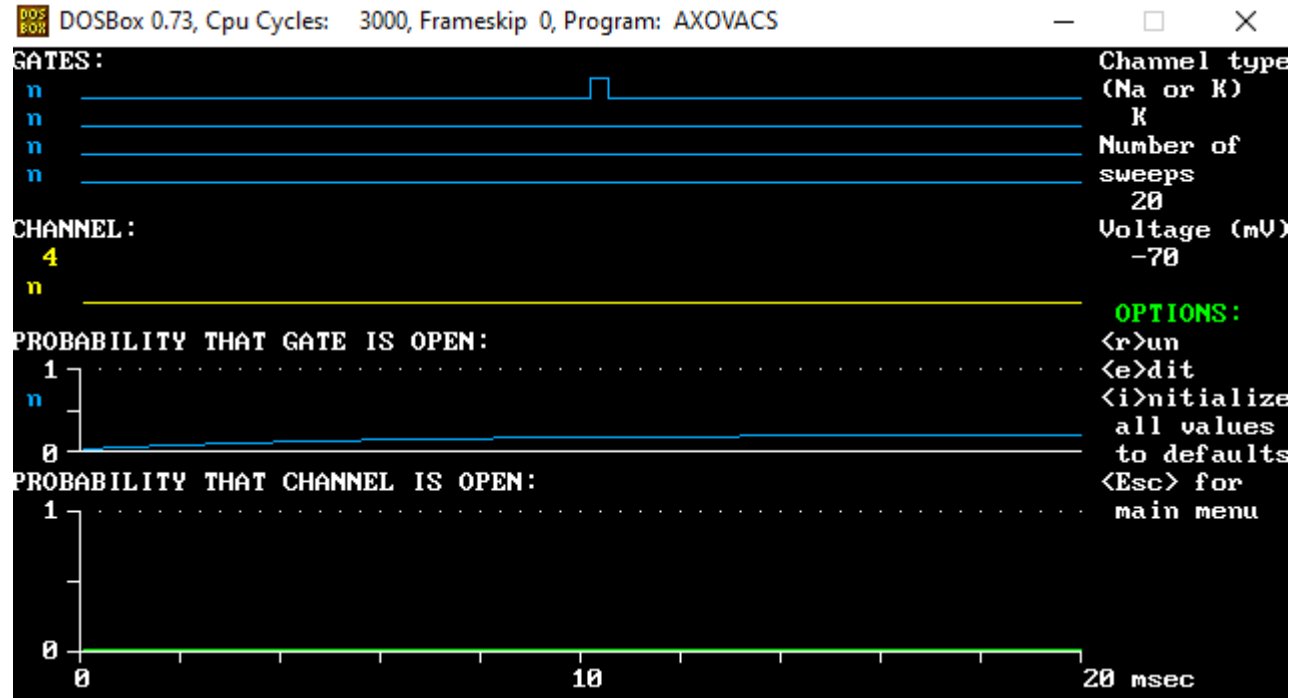
Se observa la evolución temporal de las compuertas, el canal y sus respectivas probabilidades.

Notar que los canales de K^+ logran abrirse en el tramo final del estímulo, solamente cuando las 4 compuertas están abiertas (gráfico superior **azul**).



Axon gigante de calamar sometido a un estímulo supraumbral de 0 mV disparador de un potencial de acción. El número de barridos de esta simulación es 20.

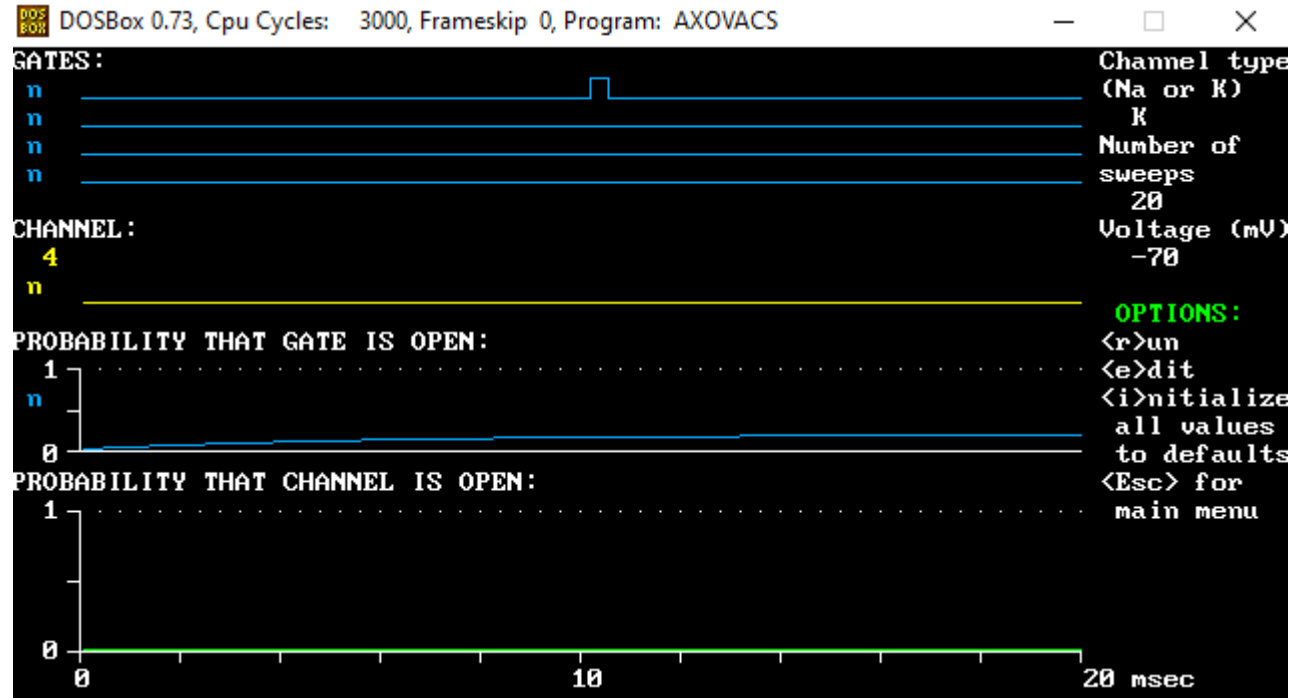
Cuando llevamos el estímulo de voltaje a -70 mV (hiperpolarizante), la probabilidad de que las compuertas se abran son muy bajas (aunque no nulas), por lo que la probabilidad de que el canal se abra es prácticamente nula.



Axón gigante de calamar sometido a un estímulo -70 mV . El número de barridos de esta simulación es 20.

Esto es consistente con el hecho de que los canales de K^+ solo se abren con potenciales despolarizantes.

Cuando el estímulo es hiperpolarizante, las compuertas de K^+ tienen una muy alta probabilidad de permanecer cerradas.



Axón gigante de calamar sometido a un estímulo -70 mV (hiperpolarizante). El número de barridos de esta simulación es 20.

Resumen

Las membranas biológicas pueden modelarse como un circuito equivalente sobre el que circulan dos tipos de corrientes: resistiva (asociado al movimiento de iones por transportadores) y capacitiva (asociado a las propiedades eléctricas de la bicapa).

La Teoría del Cable ofrece un marco teórico robusto para explicar los fenómenos electrofisiológicos observados en membranas de células excitables.

Resumen

La técnica de '*space-clamp*' permite mantener la misma diferencia de potencial a lo largo de un axón (isopotencialidad).

La técnica de '*voltage-clamp*' permite fijar una diferencia de potencial eléctrico y estudiar la variación de las corrientes.

La técnica de '*current-clamp*' permite inducir un pulso rectangular de corriente sobre la membrana y estudiar la variación temporal del voltaje.

Resumen

El modelo de Hodgkin-Huxley en el axón gigante de calamar significó un avance sustancial en la biofísica de las membranas excitables, llegando a predecir la existencia de compuertas necesarias para el transporte difusional de los iones de Na^+ y K^+ , previos al descubrimiento de los canales transmembrana.

Este modelo implica 3 hipótesis fundamentales: (1) los iones se mueven en favor de su gradiente electroquímico, (2) la remoción de los iones modifica las corrientes, (3) las conductancias de los iones son variables en el tiempo y dependientes del voltaje.

Resumen

La aplicación de una intensidad de corriente supraumbbral en la membrana del axón gigante de calamar dispara un potencial de acción.

En su fase despolarizante, se abren los canales de Na^+ dependientes de voltaje y permiten la entrada de Na^+ en favor de su gradiente. En su fase repolarizante, los canales de Na^+ comienzan a inactivarse, dando lugar a un movimiento de K^+ saliente, en favor de su gradiente, mediante la apertura de canales de K^+ voltaje-dependientes.

Resumen

En su fase hiperpolarizante, los canales de K^+ comienzan a cerrarse, al tiempo que se retorna al potencial de reposo. Los canales de Na^+ pasan a su estado cerrado.

Los potenciales de acción presentan un período refractario sobre el cual no es posible generar un nuevo potencial de acción, por más que se estimule el axón con una corriente supraumbrales.

Es posible generar un potencial de acción a partir de estímulos subumbrales de acuerdo con el principio de sumación, siempre que estén espaciados temporalmente dentro de un rango inferior al disparo del potencial.

Resumen

Las conductancias de los iones de Na^+ y K^+ varían con el tiempo y el voltaje aplicado. Esta variación depende de la cantidad de canales que posea la membrana, la conductancia individual de cada canal y el estado probabilístico de apertura de las compuertas.

Los modelos cinéticos de apertura y cierre de las compuertas son distintos para cada ion. Los canales de Na^+ presentan cuatro compuertas, de las cuales 1 de ellas genera la inactivación de todo el canal. Los canales de K^+ poseen 4 compuertas iguales y se requiere que las 4 compuertas estén abiertas para que el canal se abra por completo.

Resumen

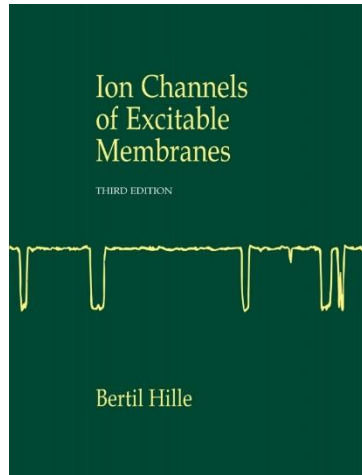
Existen diversas toxinas de relevancia biológica que bloquean los canales de Na^+ y K^+ dependientes de voltaje.

La Saxitoxina (STX) producida por las Cianobacterias, logra bloquear los canales de Na^+ y producir alteraciones en el potencial de acción, al punto de evitar que se dispare.

El Tetraetilamonio (TEA) es una toxina que bloquea los canales de K^+ , al punto de evitar que el potencial de acción alcance su fase hiperpolarizante.



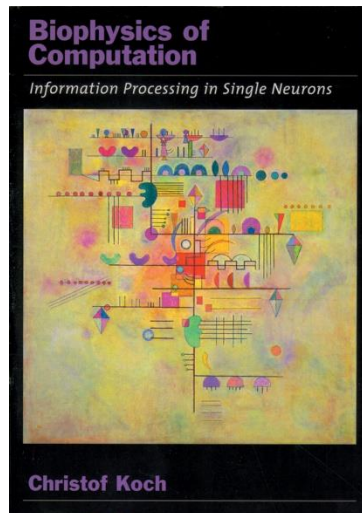
Bibliografía



Hille, B. (1992). *Ionic channels of excitable membranes*. University of Washington. Sinauer Associates INC.
 Cap. 1: *Introduction*. Págs.: 1-20.
 Cap. 2: *Classical biophysics of the squid giant axon*. Págs.: 21-58.
 Cap. 3: *Na⁺ and K⁺ channels of axons*. Págs.: 59-82.

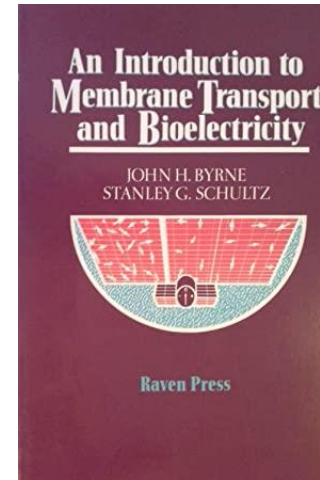
[\[Disponible en EVA\]](#)

[\[Disponible en Biblioteca\]](#)



Koch, C. (2004). *Biophysics of computation: information processing in single neurons*. Oxford University Press.
 Cap. 1: *The membrane equation*. Págs.: 5-24.
 Cap. 2: *Linear cable theory*. Págs.: 25-48.
 Cap. 6: *The Hodgkin-Huxley model of action potential generation*. Págs.: 142-171.
 Cap. 8: *Ionic channels*. Págs.: 193-211.

[\[Disponible en Web\]](#)



Byrne, J. H., & Schultz, S. G. (1988). *Introduction to membrane transport and bioelectricity*. Raven Press.
 Cap. 8: *Resting potentials and action potentials in excitable cells*. Págs.: 70-79.
 Cap. 9: *Ionic mechanisms underlying the action potential*. Págs.: 80-103.
 Cap. 10: *Propagation of action potentials*. Págs.: 104-112.

[\[Disponible en EVA\]](#)

[\[Disponible en Biblioteca\]](#)

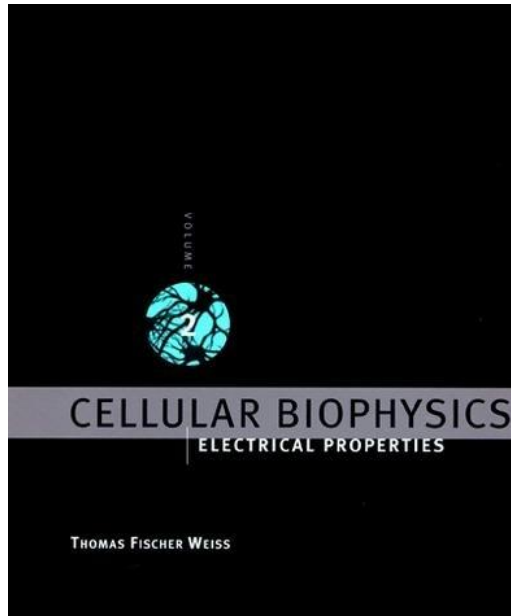


Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2016). *Medical physiology E-book*. Elsevier Health Sciences.
 Cap. 7: *Electrical excitability and action potentials*. Págs.: 179-211.

[\[Disponible en Biblioteca\] \(en español\)](#)

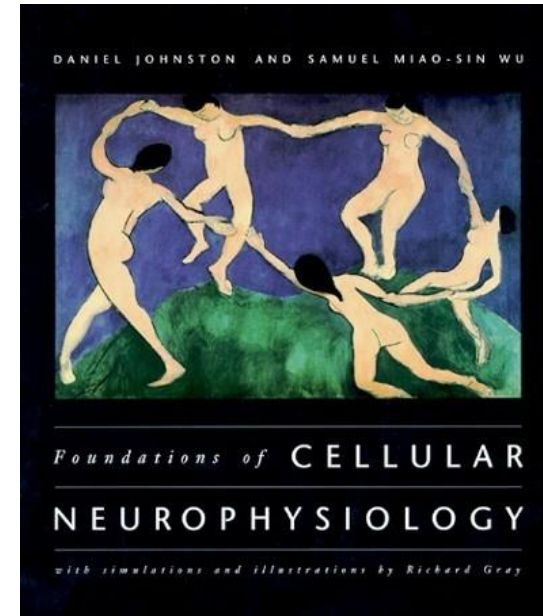
[\[Disponible en EVA\] \(en inglés\)](#)

Bibliografía



Weiss, T. F. (1996). *Cellular Biophysics, Vol. II: Electrical properties*. MIT Press.
 Cap. 1: *Introduction to electrical properties of the cell*. Págs.: 1-44.
 Cap. 2: *Lumped-parameter and distributed-parameter models of the cell*. Págs.: 45-88.
 Cap. 3: *Linear electrical properties of the cell*. Págs.: 89-162.
 Cap. 4: *The Hodgkin-Huxley model*. Págs.: 163-292.
 Cap. 6: *Voltage-gated ion channels*. Págs.: 351-510.

[Disponible en Biblioteca]



Johnston, D., & Wu, S. M. S. (1994). *Foundations of cellular neurophysiology*. MIT press.
 Cap. 3: *Electrical properties of excitable membranes*. Págs.: 39-54.
 Cap. 6: *Hodgkin and Huxley's analysis of the squid giant axon*. Págs.: 143-182.
 Cap. 7: *Functional diversity of voltage-gated ionic conductances*. Págs.: 183-214.

[Disponible en Biblioteca]

Anexo

Encontrar la solución de la **Ecuación Diferencial de Potencial Eléctrico de una Membrana** en función del tiempo:

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

Reordenamos y separamos variables,

$$\left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \left(\frac{1}{R I_0 + V_{rest} - V_m}\right) dV_m$$

Esta expresión es integrable a ambos lados de la igualdad.

$$\left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \left(\frac{1}{RI_0 + V_{rest} - V_m}\right) dV_m$$

$$\Rightarrow \int_0^t \left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \int_{V_{rest}}^{V_m} \left(\frac{1}{RI_0 + V_{rest} - V_m}\right) dV_m$$

Resolvemos la integral de la izquierda, como la integral de una constante.

$$\int_0^t \left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \left(\frac{1}{\tau}\right) (t - 0) = \frac{t}{\tau}$$

$$\int_{V_{rest}}^{V_m} \left(\frac{1}{RI_0 + V_{rest} - V_m} \right) dV_m$$

Resolvemos la integral de la derecha por sustitución:

$$u = RI_0 + V_{rest} - V_m \Rightarrow du = -dV_m$$

$$\Rightarrow \int_{V_{rest}}^{V_m} \left(\frac{1}{RI_0 + V_{rest} - V_m} \right) dV_m = \int_{-u_{rest}}^{-u_m} \left(\frac{1}{u} \right) (-du) = -\ln(u)$$

$$= -\ln(RI_0 + V_{rest} - V_m) \Big|_{V_{rest}}^{V_m} = -\ln(RI_0 + V_{rest} - V_m) - (-\ln(RI_0 + V_{rest} - V_{rest}))$$

$$= -\ln(RI_0 + V_{rest} - V_m) - (-\ln(RI_0))$$

Igualando a ambos lados,

$$\left(\frac{t}{\tau}\right) = -(\ln(RI_0 + V_{rest} - V_m)) - (-\ln(RI_0))$$

$$-\left(\frac{t}{\tau}\right) = \ln(RI_0 + V_{rest} - V_m) - \ln(RI_0)$$

$$-\frac{t}{\tau} = \ln\left(\frac{(RI_0 + V_{Rest} - V_m)}{RI_0}\right) \Rightarrow e^{-\frac{t}{\tau}} = \frac{(RI_0 + V_{rest} - V_m)}{RI_0}$$

$$RI_0 e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)} = RI_0 + V_{rest} - V_m \Rightarrow V_m = RI_0 + V_{rest} - RI_0 e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)}$$

$$V_m = RI_0 \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{\tau}\right)}\right) + V_{rest} \Rightarrow \text{si } RI_0 = V_0 \Rightarrow \mathbf{V_m(t) = V_0 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)\right) + V_{rest}}$$

Notar que cuando $I_0 = 0$ la ecuación diferencial queda:

$$V_{rest} - V_m = \tau \frac{dV_m}{dt}$$

Por lo que la solución es:

$$\left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \left(\frac{1}{V_{rest} - V_m}\right) dV_m \Rightarrow \int_0^t \left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \int_{V_{rest}+V_0}^{V_m} \left(\frac{1}{V_{rest} - V_m}\right) dV_m$$

$$\int_0^t \left(\frac{1}{\tau}\right) dt = \frac{1}{\tau} (t - 0) = \frac{t}{\tau}$$

$$u = V_{rest} - V_m \Rightarrow du = -dV_m$$

$$\int_{V_{rest}+V_0}^{V_m} \left(\frac{1}{V_{rest} - V_m}\right) dV_m = \int_{-V_0}^{V_{rest}-V_m} \left(\frac{1}{u}\right) (-du) = -\ln(u) = -\ln(V_{rest} - V_m) \Big|_{V_{rest}+V_0}^{V_m}$$

$$-\ln(V_{rest} - V_m) - (-\ln(V_{rest} - V_{rest} - V_0)) = -[\ln(V_{rest} - V_m) - \ln(-V_0)]$$

$$= -\ln\left(\frac{V_{rest} - V_m}{-V_0}\right) = -\ln\left(\frac{-V_{rest} + V_m}{V_0}\right)$$

$$\frac{t}{\tau} = -\ln\left(\frac{-V_{rest} + V_m}{V_0}\right) \Rightarrow \left(-\frac{t}{\tau}\right) = \ln\left(\frac{-V_{rest} + V_m}{V_0}\right) \Rightarrow e^{\left(-\frac{t}{\tau}\right)} = \frac{-V_{rest} + V_m}{V_0}$$

$$\Rightarrow V_0 e^{\left(-\frac{t}{\tau}\right)} = -V_{rest} + V_m \Rightarrow V_m = V_{rest} + e^{\left(-\frac{t}{\tau}\right)} V_0$$

$$\Rightarrow \mathbf{V_m(t) = V_0 \left(\exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \right) + V_{rest}}$$