



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

SIMULACIÓN DE POTENCIALES DE ACCIÓN TIPO RÁFAGA
EN NEURONA DE HIPOCAMPO

Tesis presentada como requisito para obtener el título de:
Licenciatura en Biología

PRESENTA:
JESSICA HOYOS HERNÁNDEZ

Asesor de la tesis: Dra. María Eugenia Pérez Bonilla

Junio 2016



Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Biología Interactiva bajo la asesoría de la Dra. María Eugenia Pérez Bonilla.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad
y la energía atómica: la voluntad”
-Albert Einstein.

A mi asesor de tesis Doctora María Eugenia Pérez Bonilla, por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto bajo su dirección, por compartirme sus conocimientos, por su paciencia, su confianza, sus consejos, su disponibilidad en todo momento, sus orientaciones y sobre todo por creer en mí.

Al Doctor Arturo Reyes Lazalde, por enseñarme el maravilloso mundo de las neurociencias desde la perspectiva de la imaginación, junto con las matemáticas y la computación. Gracias a usted aprendí a ver la ciencia desde un enfoque más emocionante, aprendí que la realidad fisiológica se encuentra frente a la predicción matemática. Gracias por sus consejos, sus constantes ánimos, su paciencia y sus críticas para poder finalizar este proyecto.

Al Doctor Salvador Galicia Isasmendi por su apoyo en la revisión de la tesis, sus consejos y por formar parte del jurado.

A la Doctora Palestina Guevara Fiore, por todo el aprendizaje que adquirí al estar en su laboratorio, por su apoyo, confianza, paciencia y todos los consejos que me brindo.

A cada uno de los profesores que contribuyeron a mi formación académica durante esta institución.

¡Muchas Gracias!

DEDICATORIA

Llega el momento de cerrar una etapa, que parece inicio apenas ayer, al mirar atrás puedo recordar una gran cantidad de enseñanzas, experiencias, consejos y amistades ganadas durante estos años, por lo que me gustaría expresar mi dedicatoria a aquellos que más han influido en mi cerebro emocional:

Especialmente a mis padres: **Salomón Hoyos y Gloria Hernández**

Al término de esta etapa de mi vida quiero agradecerles por darme la vida y por ayudarme cada día a cruzar con firmeza el camino de la superación, porque con su apoyo y aliento hoy he logrado uno de mis más grandes anhelos.

También les agradezco por el apoyo moral, la confianza y por cada uno de los esfuerzos que realizaron para que hoy se cumpla una meta más de mi vida.

A mi padre gracias por sus consejos, apoyo y guiar mi camino, esto ha hecho que sea lo que soy.

A mi madre que es el ser más maravilloso de todo el mundo, gracias por tu apoyo, tu cariño y comprensión que desde siempre me has brindado y por estar junto a mí en cada uno de los momentos más difíciles.

Gracias a los dos por guiar mi vida con energía. Los quiero.

A mí hermano Cuahutémoc Hoyos

A ti hermano por siempre estar cuando te necesito, por aguantar mis malos ratos y por hacerme olvidar un poco de los problemas siempre con buena música y alegría, te quiero.

A mí abuelo Vicente Hernández por ser un gran ejemplo a seguir, por sus pláticas llenas de sabiduría, su cariño y por estar siempre pendiente de mí.

A mí tío Alfredo Hoyos por su apoyo, y por siempre preocuparse por mí.

A Anahí Ramírez (Nayiz)

A ti amiga que siempre estuviste conmigo en cada momento, por tus palabras de aliento y por soportar mis muy característicos cambios de humor. Te quiero amiga.

A Miguel Martínez

A ti por llegar en una etapa de mi vida muy importante, por las brindarme tu apoyo, por las palabras de aliento para seguir en este camino, gracias por tu cariño y amor. Te quiero.

Le agradezco al universo por tenerlos junto a mí.

¡Los Quiero Mucho!

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	2
DEDICATORIA	3
RESUMEN	6
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Enfermedades neurológicas que afectan el hipocampo en el humano.....	9
1.2 Cerebro de roedores.....	11
1.2.1 Hipocampo.....	11
1.2.2 Ritmos theta.....	14
1.2.3 Neuronas piramidales de región CA3.....	15
1.3 Cinética general de los canales iónicas dependientes de voltaje.....	16
1.3.1 Canales de K^+	17
1.3.1.1 Canales de K^+ activados por Ca^{++}	18
1.3.2 Canales de Na^+	20
1.3.3 Canales de Ca^{++}	22
1.4. Registro intracelular de neuronas piramidales de la región CA3.....	24
1.5. Modelo Hodgkin y Huxley.....	27
1.6. Modelo matemático de Traub.....	29
2. ANTECEDENTES	32
2.1 Simuladores en Internet.....	32
3. JUSTIFICACIÓN	34
4. OBJETIVOS	35
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	35
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	35
5. MATERIAL Y MÉTODO	36
6. RESULTADOS	38
6.1 Lecciones.....	39
6.1.1 Neurona.....	40
6.1.2 Potencial de acción.....	41

6.1.3 Tren de potenciales en neurona.....	41
6.2 Simulación.....	42
6.3 Ejemplos de simulaciones.....	44
6.3.1 Potenciales de acción en una neurona tipo Hodgkin y Huxley.....	44
6.4. Potenciales de acción en una neurona con ICa^{++} agregada.....	45
6.4.1 Efecto de disminuir la corriente de Ca^{++}	46
6.4.2 Efecto de un incremento en la corriente de Ca^{++}	47
6.5 Potenciales de acción en una neurona con $IKCa^{++}$ agregada.....	48
6.5.1 Efecto del aumento de la corriente de K^+ activado por Ca^{++}	49
6.5.2 Efecto de la disminución de la corriente de K^+ activada por Ca^{++}	50
6.6 Módulo de simulación de la cinética de canales de K^+ y Na^+	51
6.6.1 Cinética del canal de K^+ dependiente de voltaje.....	52
6.6. 1.1 Simulación de la apertura del canal de K^+	53
6.6.1.2 Efecto de la despolarización del potencial de membrana en la velocidad de apertura del canal de K^+	54
6.6.1.3 Efecto de la repolarización del potencial de membrana en la velocidad de cierre del canal de K^+	55
6.7 Cinética del canal de Na^+ dependiente de voltaje.....	56
6.7.1 Efecto del potencial de membrana en la velocidad de apertura del canal de Na^+	57
6.7.2 Ejemplo de inactivación del canal de Na^+	59
7. DISCUSIÓN	60
8. CONCLUSIONES	62
10. BIBLIOGRAFÍA	63

RESUMEN

El cerebro humano es un órgano complejo y misterioso, porque entre otras cosas, interactúa con un gran número de elementos. Lesiones en el cerebro pueden causar severas enfermedades neurológicas o pueden llevar a la muerte instantánea. Por ejemplo, la epilepsia es una enfermedad crónica que afecta a personas de todas las edades. De acuerdo con la organización Mundial de la Salud (OMS, 2015), en el mundo se calcula que unos 50 millones de personas padecen epilepsia convirtiéndola en una enfermedad de defunción más común. El Alzheimer es un síndrome de naturaleza crónica progresiva, caracterizada por el deterioro de la función cognitiva. La demencia afecta a la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, la capacidad de aprendizaje, el lenguaje y el juicio. El daño causado en estas enfermedades puede ocurrir en diferentes circuitos cerebrales, pero la región que se ve más involucrada suele ser el hipocampo. En la actualidad las neurociencias están creando nuevas técnicas, para el estudio del cerebro, tales como la implantación de electrodos en la superficie celular, la imagen óptica, los scanners cerebrales y los chips de sílice, conteniendo circuitos cerebrales artificiales entre otros. Las técnicas electrofisiológicas desarrolladas para monitorear la actividad neuronal se basan en los cambios del potencial de membrana en las neuronas activadas. En los intentos por comprender el mundo natural, y más aún el cómo se comportan las funciones básicas y complejas del cerebro humano se opta por modelar los componentes neuronales, fisiológicos, anatómicos, etc. En estos modelos se pueden realizar modificaciones que son difíciles de realizar experimentalmente. Los modelos se vuelven una herramienta poderosa para incluir corrientes iónicas con diversas características. Se construye una arquitectura de la neurona a voluntad del investigador y es así como se estudian mecanismos que posiblemente están presentes en una neurona real pero que son complicados de abordar experimentalmente. La investigación *in silico* se transforma en una posibilidad ilimitada para la investigación. Como se describe arriba, las neuronas del hipocampo están involucradas en varias funciones cerebrales importantes. Resulta importante introducir a los alumnos en los temas neuronales a partir de un modelo

de neurona de hipocampo. En el presente trabajo se presenta el desarrollo de un simulador didáctico, basado en el modelo Traub, de una neurona piramidal de hipocampo de la región CA3. El programa computacional está compuesto de dos módulos principales: (1) Lecciones y (2) Simulaciones. Con el módulo de lecciones el usuario puede ingresar a lecciones cortas e introductorias de la neurona, potenciales de acción y tren de potenciales de acción. Con el módulo de simulaciones, el usuario puede ingresar: (a) al simulador de potenciales de acción en una neurona basada en el modelo matemático para una neurona del hipocampo de la región CA3 y (b) a la simulación de corrientes iónicas. Con las simulaciones interactivas que permite el programa se puede estudiar el efecto que tienen las corrientes de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y K^+ dependientes de Ca^{++} en el tren de disparos de una neurona estimulada con un pulso de corriente. El usuario puede además simular la cinética de los canales de K^+ y de Na^+ y observar cómo cambian las constantes de velocidad de apertura y cierre de canales con respecto al potencial de membrana de la neurona. Los resultados de las simulaciones indican que la corriente de Ca^{++} voltaje dependiente cambia un tren de potenciales de acción sostenidos a una respuesta en ráfaga. Un incremento de la corriente de K^+ dependiente de Ca^{++} modifica la duración de esta ráfaga.

1. INTRODUCCIÓN

El cerebro de los humanos tiene la capacidad de adquirir, coordinar y diseminar la información del cuerpo y su ambiente. El sistema nervioso central en coordinación con las neuronas, realizan estas funciones generando señales eléctricas y químicas. Las neuronas se organizan en cadenas y redes que constituyen las diferentes vías por las cuales la información se transmite dentro del sistema nervioso.

El hipocampo es un componente importante de los cerebros de los seres humanos y otros mamíferos, se ve involucrado en enfermedades neurológicas, principalmente en la epilepsia y el Alzheimer, ya que el hipocampo es una de las regiones en sufrir daños; problemas de memoria y desorientación, acompañados de muerte neuronal selectiva o cambios en el circuito del hipocampo (Chiu *et al.*, 2004). Dentro de sus funciones se encuentra la memoria. La memoria es fundamental en la vida del ser humano, el cerebro tiene múltiples sistemas de memoria con diferentes características mediados por diferentes redes neuronales (Duvernoy, 2005). La epilepsia y el Alzheimer son enfermedades que se originan cerca o en el hipocampo, son trastornos neurológicos que afectan a millones de personas en el mundo. La epilepsia es un problema global que afecta a personas de todas las edades, tiene fuertes consecuencias biológicas, psicológicas y económicas en la sociedad. La epilepsia es un trastorno neurológico que representa una reacción anormal del encéfalo a ciertos tipos de agresión (Blümcke *et al.*, 2013). El Alzheimer, es otra de las enfermedades que se relaciona con el hipocampo, éste se inicia por pequeños cambios de personalidad y olvidos frecuentes, que con el paso del tiempo conduce a una incapacidad para cuidar de sí mismo y tomar decisiones. Las personas se caracterizan por un cambio sutil de humor, pérdida de interés y deterioro de memoria. La memoria es la que se ve más afectada, aumentando progresivamente a lo largo de la enfermedad (Ira, 2008). El interés por entender los procesos neuronales involucrados ha motivado al diseño de simuladores que ayuden a comprender y estudiar esta región.

El uso de simuladores didácticos brinda la facilidad de reproducir, conectar y analizar los conocimientos teóricos, así como también brinda una visión más amplia de los sucesos de las áreas biológicas (Silva, 2010). Con la ayuda de un software de programación computacional y con la base de modelos matemáticos se puede crear un simulador computacional didáctico. Navegando en el internet se encuentran simuladores biológicos; sin embargo, la mayoría suelen tener algún costo, o bien son exclusivos de instituciones, y muchos de estos no cuentan con las explicaciones necesarias para su manejo y por ello no se logra llegar al objetivo de los simuladores. El objetivo principal de este trabajo es diseñar y desarrollar un simulador computacional donde se puedan reproducir los potenciales de acción de una neurona piramidal de hipocampo de la región CA3.

1.1 Enfermedades neurológicas que afectan el hipocampo en el humano

Los neurocientíficos están de acuerdo en que el hipocampo desempeña un papel importante en la formación de nuevos recuerdos (Cantero *et al.*, 2003). Parte de esta función es que la participación del hipocampo está encargada de la detención de eventos nuevos, lugares y estímulos (Cooke y Bliss, 2006). El efecto retrógrado normalmente se extiende algunos años antes del daño cerebral, en algunos casos, los recuerdos más antiguos permanecen preservados. Este hecho conduce a la idea de que la consolidación en el tiempo implica la transferencia de los recuerdos del hipocampo a otras partes del cerebro (Diana *et al.*, 2007).

Condiciones relacionadas con la edad, el Alzheimer y la epilepsia son producidas en el hipocampo. Algunos de los primeros estudios informaron pérdida sustancial de neuronas en el hipocampo de las personas mayores, pero los estudios posteriores que utilizan técnicas más precisas, sólo encontraron diferencias mínimas, del mismo modo, algunos estudios de resonancia magnética han informado encogimiento del hipocampo en personas de edad avanzada, pero otros estudios no han logrado reproducir este hallazgo. Sin embargo; hay una relación, entre el tamaño del hipocampo y la memoria. También se tienen informes de que

las tareas de memoria tienden a producir una menor activación de hipocampo en personas de edad avanzada que las personas jóvenes (Rodríguez *et al.*, 2002).

Las crisis epilépticas están fuertemente relacionadas con el hipocampo. La esclerosis del hipocampo es el tipo más comúnmente visible de daño tisular en la epilepsia del lóbulo temporal. En experimentos donde las convulsiones son inducidas artificialmente en animales, el daño observado es generalmente en el hipocampo, esto puede ser porque el hipocampo es una de las partes más eléctricamente excitables del cerebro. También puede estar relacionado con el hecho de que el hipocampo es una de las pocas regiones del cerebro donde se siguen creando nuevas neuronas a lo largo de la vida (Kuruba *et al.*, 2009). El estado epiléptico deriva de la falla de los mecanismos neuronales, responsables de convulsiones prolongadas. Puede tener consecuencias a largo plazo, incluyendo la muerte neuronal, lesión neuronal y alteraciones de las redes neuronales, esto dependiendo del tipo y la duración de las convulsiones (Trinka *et al.*, 2015).

Las actividades epilépticas se producen en una población de neuronas cuando los potenciales de membrana de las neuronas se sincronizan de una forma anormal. Se sabe que es necesaria una sincronización de los ritmos theta y el comportamiento de las ondas agudas (SPW), sin embargo no se tiene claridad de los parámetros entre un estado normal y anormal. Con claridad se puede decir que se considera epilepsia si más del 25% de las células disparan durante 100 ms (Kuruba *at al.*, 2009).

Se sabe que concentraciones elevadas de K^+ extracelular producen actividad epileptiforme hipersincrónica. Un elemento de la epileptogénesis puede estar relacionado con la atenuación de las entradas altas de potasio en la sinapsis inhibitoria para las células piramidales durante las convulsiones. Los experimentos y estudios teóricos sugieren la existencia de un mecanismo de sincronización general en la región del hipocampo CA3. La inhibición sináptica regula la difusión de disparo de las neuronas piramidales (Traub y Miles, 1991).

La mayoría de estudios electrofisiológicos que se hacen en el hipocampo son realizados en animales de experimentación como los roedores.

1.2 Cerebro de roedores

1.2.1 Hipocampo

El hipocampo es una estructura cerebral que compone el sistema límbico, también se le conoce como paleocorteza o arquicorteza. La formación hipocámpica de los roedores consiste en varias subregiones anatómicas distintas, incluyendo la corteza entorrinal, giro dentado, Asta de Amón y el subículo.

La primera descripción del hipocampo surge cuando el anatomista Julio César Aranzi (1587) lo observa y lo asemeja a un caballito de mar. Años después Ramón y Cajal aplicando la tinción de Golgi, estudia en su totalidad el sistema nervioso central y describe al hipocampo como una circunvolución delgada que acompaña a la fascia dentada. También describió las diferentes partes del hipocampo (Fig.1) y propuso un circuito funcional para su estructura (Fairén, 2007).

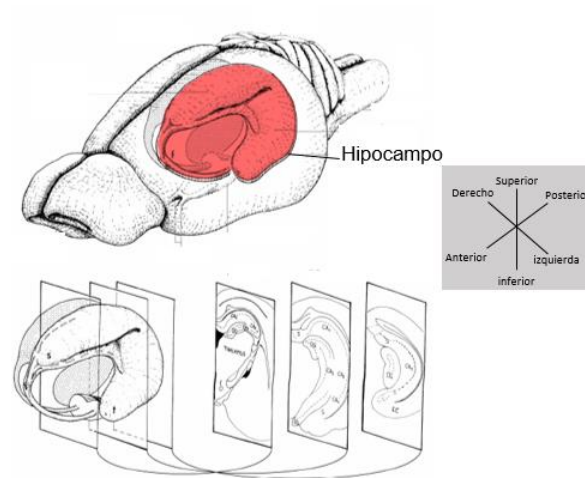


Fig. 1. Diagrama del hipocampo de rata. En la parte superior se muestra la localización del hipocampo en color rojo. En la parte inferior se muestra la organización tridimensional y las estructuras relacionadas del hipocampo (Cheung y Cardinal, 2005).

Histológicamente, la corteza del hipocampo se encuentra separada de la neocorteza, por una mesocorteza de transición; ésta a su vez se puede dividir en una zona periarquicortical o paralímbica externa. El septum forma parte de la pared medial de los hemisferios cerebrales, se puede dividir en una parte dorsal y una ventral. La región septal está bien desarrollada en el encéfalo humano. Algunos autores suelen dividir el hipocampo en tres partes: precomisural, supracomisural y retrocomisural. Donde la parte retrocomisural se encuentra bien desarrollada y representa la principal porción de la formación hipocámpica. La formación hipocámpica se encuentra compuesta por el giro dentado, hipocampo y subículo.

El giro dentado cuyo nombre hace referencia al aspecto dentado o abollonado, es la banda morfológica más medial del palio, en adultos humanos el giro dentado está localizado por encima de la fisura hipocámpica. Es la base de la mayoría de las aferencias entorrinales, de esta corteza se envía gran parte de la información sensorial de la cual es importante para que la formación hipocámpica realice sus funciones. El giro dentado forma la parte morfológicamente más medial de la corteza cerebral, debido a su curvatura, el giro dentado rodea el extremo, también curvo, de la capa de células piramidales del asta de Amón. El giro dentado se encuentra compuesto por tres capas:

- Stratum moleculare (capa molecular)
- Stratum granulosum (capa granulosa)
- Hilus (polimórfica)

En la capa granulosa encontramos los somas densamente agrupados de las células granulosas que son las más importantes, su soma tiene forma elíptica con una anchura aproximada de 10 μm y una altura de 18 μm . Las dendritas espinosas de estas células ingresan en la capa molecular, donde se ramifican en forma extensa (Lim, 1997).

El asta de Amón representa la mayor parte de la formación hipocámpica. Su capa celular contiene los somas de las células piramidales, que son la clase de neuronas más numerosas del asta de Amón (Lorente de Nó, 1934).

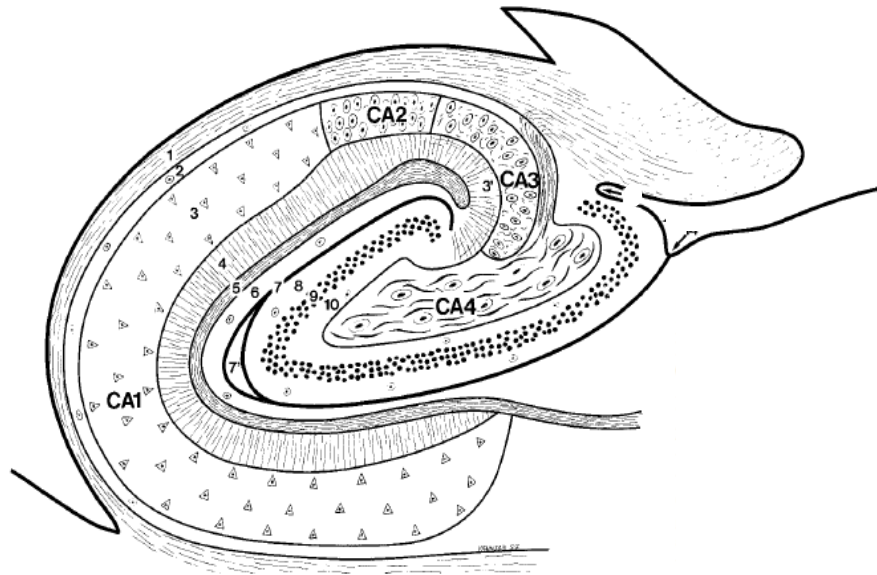


Fig. 2. Regiones del hipocampo de ratona. Se observa la organización de las regiones CA1, CA2, CA3 y CA4. 1- alveus, 2- stratum oriens, 3- stratum pyramidale, 4- stratum radiatum, 5- stratum lacunosum, 6- stratum moleculare, 7- vestigial hippocampal sulcus, 8- stratum moleculare, 9- stratum granulosum, 10- polymorphic layer (Durnoy H, 2005).

Lorente de Nó en sus estudios clásicos sobre el hipocampo, distinguió cuatro campos, que designó CA1, CA2, CA3 y CA4 (Fig. 2), las nombra CA por *cornus ammonis*, basada en una apreciación de la correlación de las diferentes conexiones arquitectónicas. CA1 es adyacente al Subículo, mientras que CA4 está situado en la así llamada región hiliar del giro dentado, no pertenece propiamente al asta de Amón. Insausti y Amaral propusieron eliminar el término CA4 e incluir todas las células piramidales de la región hiliar en CA3. CA2 cuenta con una extensión escasa, los principales campos amónicos son CA1 y CA3 (Fairén, 2007).

En el hipocampo el flujo de información es en gran parte unidireccional, con señales que se propagan a través de una serie de capas de células, primero las del giro dentado, siguiendo con la capa CA3, y a continuación a la capa CA1 y finalmente al Subículo fuera del hipocampo a la corteza entorrinal. Cada una de

estas capas contiene un complejo de circuitos intrínsecos y amplias conexiones longitudinales (Huerta *et al.*, 1993).

El campo CA1 es un componente integral de la formación del hipocampo y muestra características estructurales, fisiológicas y moleculares únicas entre las diversas áreas corticales del hipocampo (Zhao *et al.*, 2001).

Las vías de salida adicionales van a otras áreas corticales incluyendo la corteza prefrontal, y otro va de salida al área septal lateral. El hipocampo recibe la entrada moduladora de los sistemas de serotonina, norepinefrina y dopamina desde el núcleo reuniens del tálamo. Proyecciones muy importantes provienen de la zona septal medial, que envía fibras colinérgicas y GABAérgicas a todas partes del hipocampo. Las entradas de la zona septal juegan un papel clave en el control del estado fisiológico del hipocampo. Destrucción del área septal suprime el ritmo theta del hipocampo, y perjudica gravemente ciertos tipos de memoria.

1.2.2 Ritmos theta

El ritmo theta se caracteriza por presentar oscilaciones con una gran amplitud (~1 mV) y con frecuencias de 4 a 12-Hz. Está relacionado con comportamientos como caminar, exploración, exploración sensorial y fases durante el sueño. Por otra parte, se ha encontrado que la frecuencia de los ritmos se correlaciona con la velocidad del movimiento, finalmente se asocia con los estímulos sensoriales. El ritmo teta además de producirse en el hipocampo, también está presente en varias ubicaciones del sistema límbico. Se piensa que está presente en el subículo ya que éste recibe entradas de la región CA1, el ritmo se encuentra fuertemente relacionado a estas entradas.

En base a estudios fisiológicos se mostraron diferentes relaciones entre el comportamiento de las células individuales y el ritmo theta. Las células granulares disparan rítmicamente durante estados theta, teniendo un cambio en el aumento de la frecuencia que va de ocho a cinco veces en estados no-theta. Se han realizado estudios intracelulares del ritmo theta en células piramidales, las cuales

en el hipocampo generalmente descargan con una frecuencia muy baja (0.01-0.5 Hz) (Traub y miles, 1991).

1.2.3 Neuronas piramidales de región CA3

Las neuronas piramidales (Fig. 3) se encuentran en distintas áreas del cerebro, incluyendo la corteza cerebral, la amígdala y el hipocampo. En la región CA3 se encuentra un 90% de células piramidales (Traub y Miles, 1991).

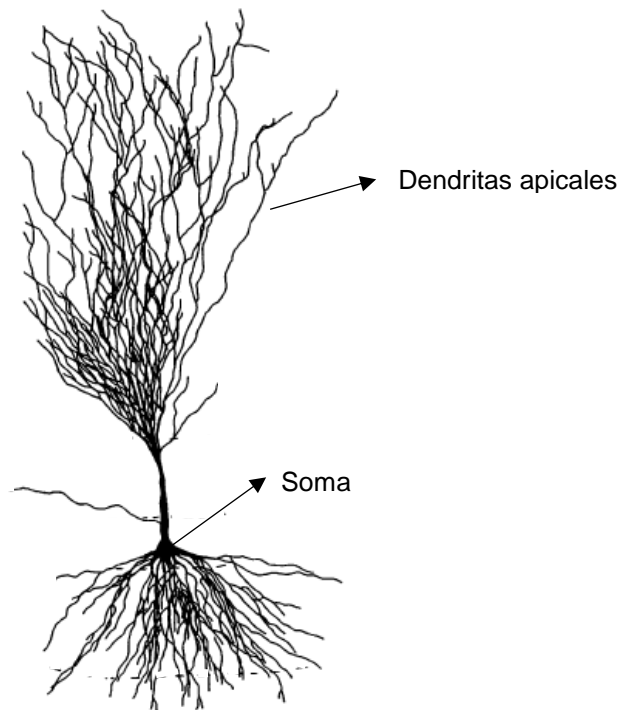


Fig. 3. Estructura de neurona piramidal de la región CA3. Se muestran las principales características que distinguen a una neurona piramidal; un soma en forma piramidal triangular, una rama dendrítica apical y un único soma (Traub. *et al.*, 1994).

La resistencia de entrada de las células piramidales de la región CA3 se encuentra en un rango de 20 a 50 M Ω y la constante de tiempo es típicamente de 30 a 50 ms. Una de las características de las células de CA3 es que cuentan con una variedad de corrientes dependiente de voltaje y dependientes de calcio. Estas corrientes permiten disparos de potencial de acción y ráfagas intrínsecas de ocho

picos de intervalos de 5-10 ms. El soma como las dendritas de las células piramidales de la región CA3, son capaces de generar ráfagas (Traub y Miles, 1991). Estas ráfagas sirven para aumentar la fiabilidad de la comunicación sináptica (Lisman, 1997).

Las neuronas tienen diferentes ritmos oscilatorios, los cuales tienen relación entre oscilaciones eléctricas y resonancia. La frecuencia de los ritmos se explica por los patrones de conectividad entre las neuronas y las propiedades dinámicas de las sinapsis. Al igual que los circuitos eléctricos las neuronas pueden exhibir resonancia y por lo tanto mantener preferencia de frecuencia (Hutcheon y Yarom, 2000).

1.3 Cinética general de los canales iónicos dependientes de voltaje

Los canales iónicos, son proteínas transmembranales encargadas del flujo pasivo de iones entre el medio intra y extracelular. Al igual que muchas proteínas, tienen partes móviles que realizan funciones útiles en movimiento. Las proteínas de los canales contienen un poro selectivo de iones que cruzan la membrana plasmática utilizando una serie de mecanismos de apertura y cierre en respuesta a estímulos biológicos tales como un cambio de voltaje. El papel biológico de los canales iónicos dependientes de voltaje es producir una señalización eléctrica en neuronas y otras células excitables. La apertura y cierre de los canales, está diseñado cuidadosamente para producir señales eléctricas y variables requeridas por el sistema nervioso para la transmisión rápida de la señal. Un canal dependiente de voltaje tienen más de una manera de abrir y cerrar sus poros, y estos mecanismos de activación son importantes en la determinación del comportamiento de señalización del canal.

1.3.1 Canales de K⁺

Los canales de K⁺ dependientes de voltaje (Fig. 4) son reguladores cruciales de la excitabilidad celular, permitiendo que el potasio fluya a lo largo de su gradiente electroquímico. Constituyen una familia de proteínas integrales de membrana, son tetrámeros, que contiene seis segmentos transmembranales en cada monómero (S1 a S6); cada subunidad contienen un único motivo central, el amino y carboxilo-terminal de las proteínas están en el lado intracelular de la membrana plasmática.

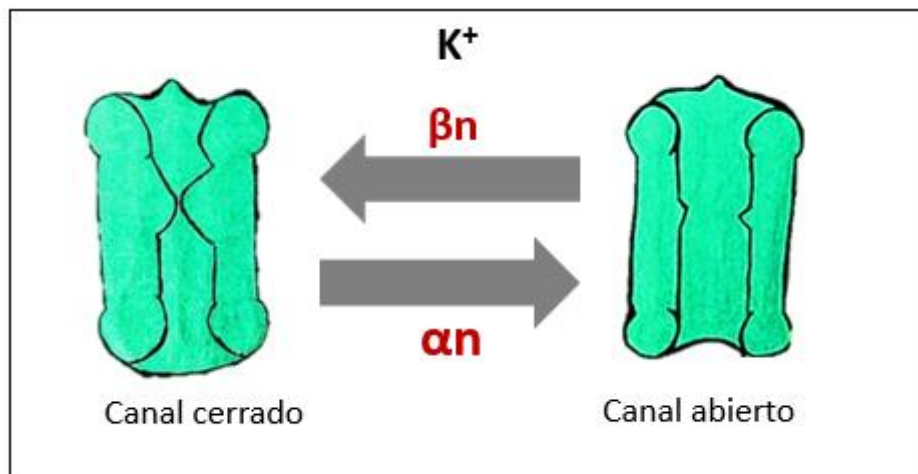


Fig. 4. Cinética de los canales de K⁺ dependientes de voltaje. Representando la velocidad de activación con αn , y la velocidad de desactivación con βn .

El poro que permite el flujo de K⁺ se encuentra en los segmentos S5-S6 y el sensor de voltaje en S4, en el que se muestra una serie de cargas positivas que impulsan su movimiento de los cambios de voltaje. Un estímulo que se traduce en un cambio conformacional en el módulo de permeación que finalmente permite el flujo de iones (Lorinczi *et al.*, 2015).

1.3.1 Canales de K⁺ activados por Ca⁺⁺

Los canales de potasio activados por calcio (KCa⁺⁺) son reguladores fundamentales en la excitabilidad neuronal. Se han identificado tres familias que se han organizado por razones biofísicas y farmacológicas, nombradas BK, IK y SK (Vergara et al., 1998). Estos canales son altamente selectivos al potasio y tienen grandes conductancias; requieren de calcio para la activación y despolarización de la membrana. La dependencia de calcio de estos canales depende fuertemente del potencial de membrana. Esta dependencia de calcio y del potencial de membrana es un determinante importante para el mecanismo de retroalimentación para regular la actividad de los canales de calcio dependientes de voltaje (Sah y Faber, 2002).

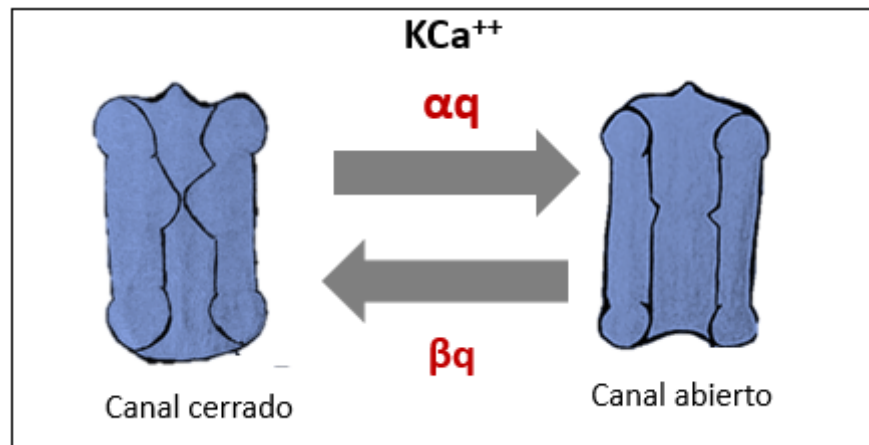


Fig.5. Cinética de los canales de KCa⁺⁺, la velocidad de activación representada con αq y βq representa la velocidad de desactivación.

Los canales de K⁺ activados por Ca⁺⁺ se componen de un complejo de dos tipos diferentes de subunidades: las subunidades α formadoras de poros y una subunidad β reguladora (Fig. 6). La estructura es muy homóloga a la de un canal de K⁺ dependiente de voltaje, con sus seis segmentos transmembranales (S1-S6), con un sensor de voltaje localizado en el segmento S4 y el poro de revestimiento localizado en los segmentos S5-S6 (Vergara et al., 1998).

Los canales BK, son de alta conductancia, se activan por la concentración de Ca^{++} en un rango de 10^{-8} - 10^{-5} M. La despolarización facilita la apertura a una $[\text{Ca}^{++}]$ determinada. Los canales IK tienen una conductancia intermedia, se activan por la $[\text{Ca}^{++}]$ en un rango 10^{-8} - 10^{-6} M. Los SK son de baja conductancia, insensibles a voltaje, a potenciales de reposo son más sensibles a $[\text{Ca}^{++}]$ que los BK.

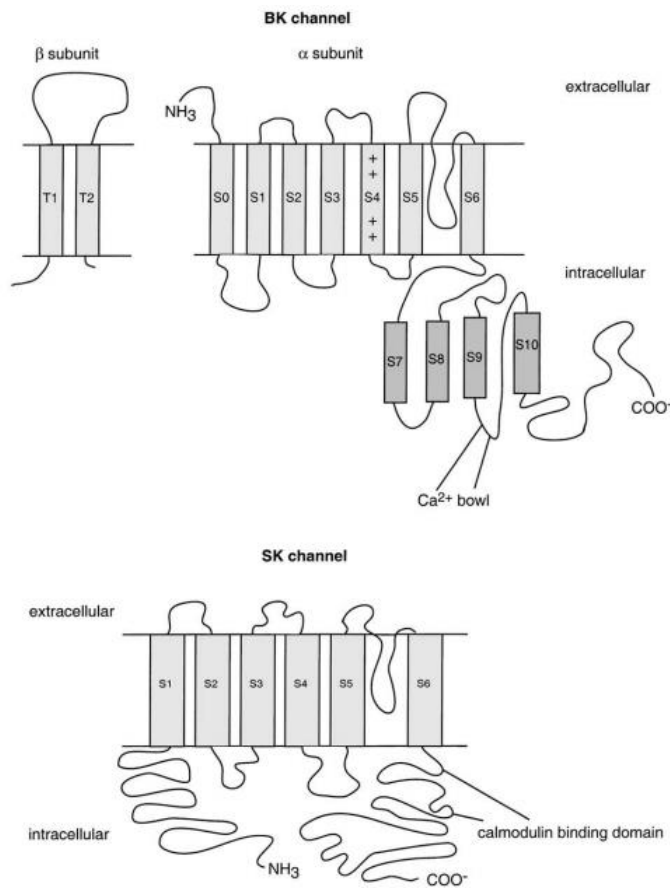


Fig. 6. Representación esquemática de los canales de K^+ activados por Ca^{++} . En la parte superior de la imagen se observa los canales tipo BK y en la parte inferior se muestran los canales tipo SK (Sah y Faber, 2002).

1.3.2 Canales de Na⁺

Los canales de sodio dependientes de voltaje son esenciales en la iniciación y propagación de los potenciales de acción en las neuronas y otras células excitables. Los canales de sodio cuentan con tres estados conformacionales: activo, desactivado e inactivo. Se activan e inactivan (Fig. 7) cuando se despolariza la membrana celular unos pocos milivoltios. En respuesta a unos cambios positivos de voltaje transmembranales el canal se abrirá rápidamente en un proceso llamado “activación”. Una restitución inmediata del potencial al nivel de reposo invierte el proceso, cerrando el canal “desactivación”. Si después de la activación el potencial se mantiene positivo, el canal se cerrara a pesar de la activación de estímulo, este tipo de cierre se le llama “inactivación” (Fig. 8). Las compuertas que subyacen a la activación esta denotada por m y la h para la compuerta de inactivación, postulada para tener la dependencia intrínseca de tensión y para formar de manera independiente (Hodgkin y Huxley, 1952).

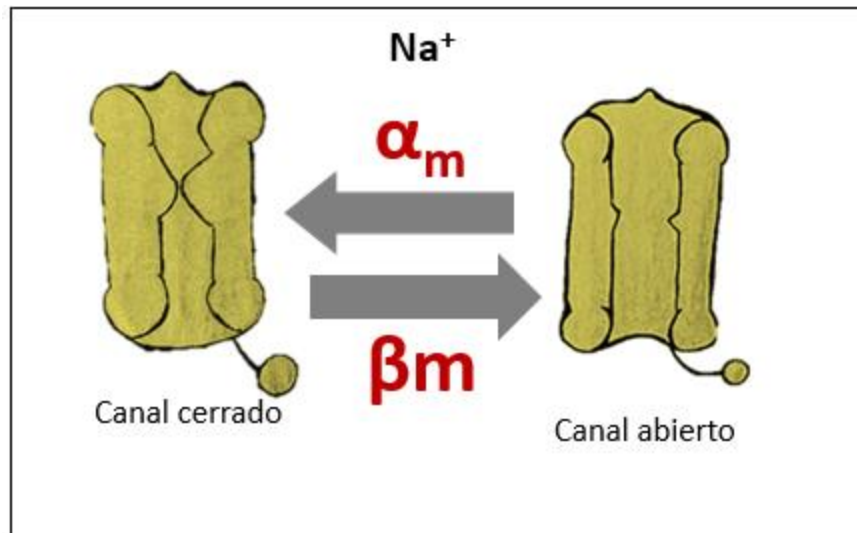


Fig. 7. Cinética de Na⁺ dependiente de voltaje, se observa α_m que representa la velocidad de activación del canal y β_m representa la desactivación del canal.

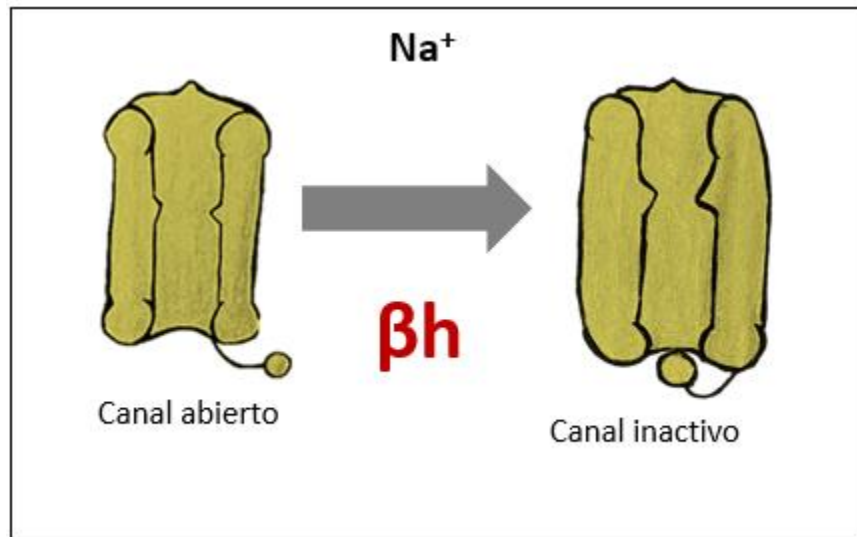


Fig. 8. Inactivación del canal de Na^+ dependiente de voltaje, representada con βh que es la velocidad de inactivación.

Molecularmente el canal de sodio dependiente de voltaje (Figura 9) es un gran complejo multímero, compuesto por una subunidad α con cuatro dominios, en cada dominio el sensor de voltaje se encuentra en el segmento S4, en los segmentos S5-S6 se forma el poro selectivo, y una o más subunidades β más pequeñas. El poro acuoso conductor de iones está totalmente contenido dentro de la subunidad α (Yu y Catterall, 2003).

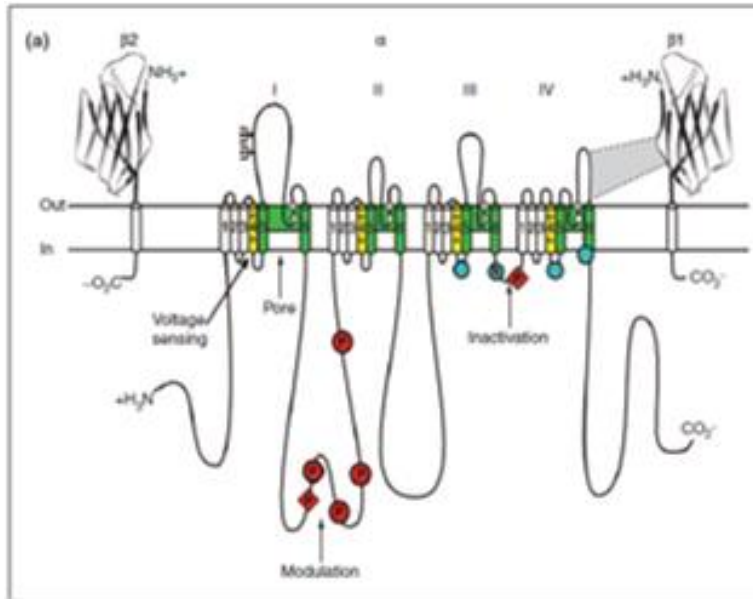


Fig. 9. Estructura de los canales de Na⁺ dependiente de voltaje. Se observa una representación esquemática de las subunidades de los canales de Na⁺. Los números romanos indican los dominios de la subunidad α, los segmentos en color verde son los segmentos de revestimiento del poro y las hélices S4 en color amarillo muestran los sensores de voltaje (H Yu y Catterall, 2003).

1.3.3 Canales de Ca⁺⁺

Los canales de calcio dependientes de voltaje son la vía más importante de las células excitables. Al abrirse los canales (Fig. 10), permiten el flujo selectivo de iones Ca⁺⁺ a través del poro del canal. Los canales de Ca⁺⁺ cuentan con tres estados conformacionales abiertos, cerrados e inactivos (Fig.11). La cinética de las corrientes de Ca⁺⁺ son importantes en dos aspectos, el primero, las corrientes de Ca⁺⁺ en parte dan forma a la respuesta activa de una neurona a las entradas sinápticas. En segundo lugar, la compuerta de los canales de Ca⁺⁺ determina la cantidad de entrada a la neurona durante el disparo celular (Kay y Wong, 1987).

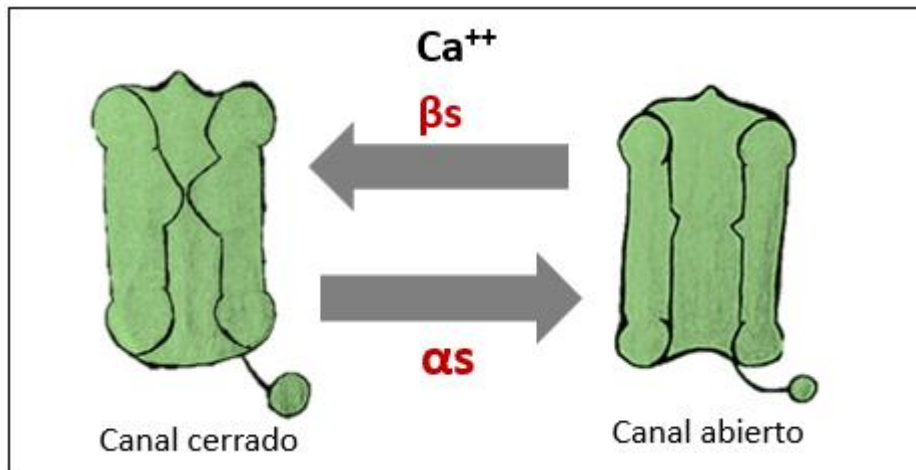


Fig.10. Cinética del canal de Ca^{++} , la velocidad de activación representada con αs y la velocidad de desactivación con βs .

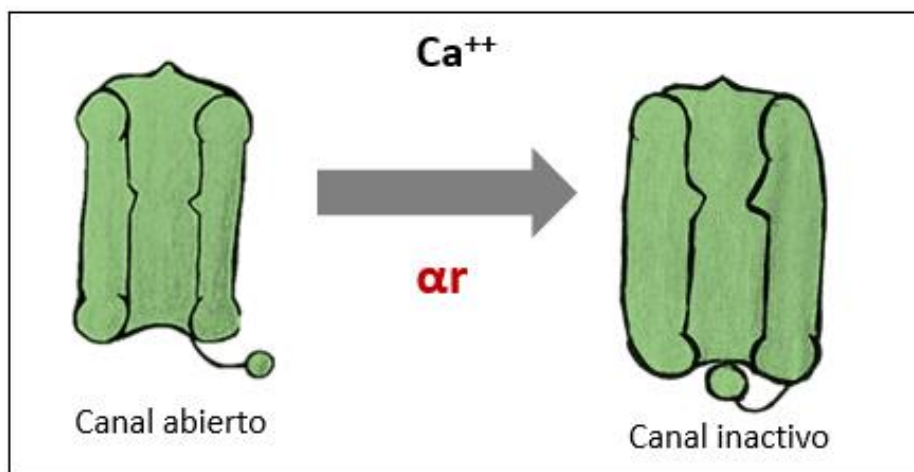


Fig.11. Inactivación del canal de Ca^{++} . Representa la velocidad de inactivación con αr .

Los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje (Fig. 12) se componen de un único polipéptido de formación de poros (subunidad α) y diversas subunidades auxiliares. Las subunidades α de estos canales contienen cuatro repeticiones de un motivo central, que consiste en seis segmentos transmembranales denominados S1-S6, con un bucle en las regiones S5 y S6 llamados P-bucles y el sensor de voltaje ubicado en el segmento S4 (Catterall, 2011).

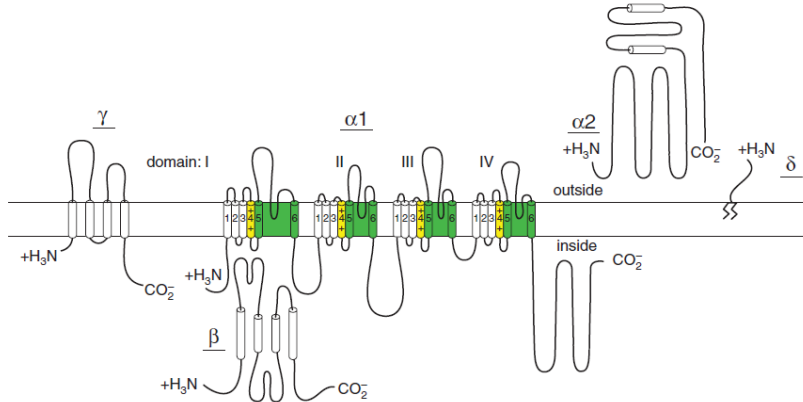


Fig. 12. Estructura de la subunidad de canales de Ca^{++} . Se observan los cuatro dominios y cada uno con sus seis segmentos. En amarillo se muestra el sensor de voltaje, y en verde se muestran los segmentos S5 y S6 donde se encuentran los bucles (Catterall, 2011).

1.4 Registro intracelular de neuronas piramidales de la región CA3

Tanto en la zona cortical, talámica como en el hipocampo, las neuronas exhiben potenciales oscilatorios, las respuestas de las neuronas son sensibles a la temporización de las espigas dentro de la ráfaga.

En las neuronas piramidales se observan constantemente disparos, estos disparos consisten en potenciales de acción seguidos por una hiperpolarización, que podría durar 30 a 50 ms. Este potencial de hiperpolarización tiene varias fases, cada una resultante de la activación de un tipo diferente de los canales de K^+ . Después del potencial de acción, hay una hiperpolarización rápida. Que dura 1-10 ms y se debe principalmente a la activación de las corrientes de K^+ dependientes de voltaje.

Al presentarse un serie de potenciales de acción, se le llama ráfaga (Fig. 13), una ráfaga puede ser activada como un evento de todo o nada. De forma análoga a un único potencial de acción, por un breve estímulo excitador, representa una forma de amplificación, tanto en términos de membrana total y en términos de duración (Traub y Miles, 1991).

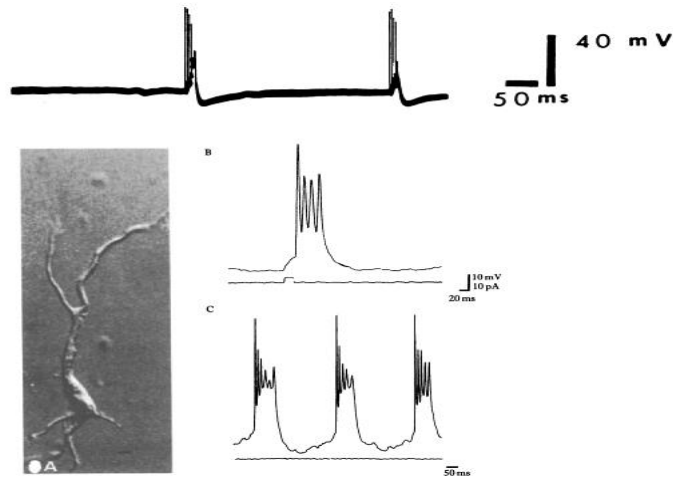


Fig. 13. Ráfagas intrínsecas de dendritas de células piramidales. Se observa una fotografía de una neurona piramidal, y en las imágenes se observa potenciales de acción tipo ráfaga con un corto periodo de tiempo de 30 a 50 ms (Traub y Miles 1991).

La importancia de las ráfagas es que aumentar la fiabilidad de la comunicación entre las neuronas, el envío de una corta ráfaga de picos en lugar de un solo pico aumenta las posibilidades de que al menos uno de los picos podría llegar a la transmisión sináptica (Lisman, 1997).

Una ráfaga está determinada por la hiperpolarización intrínseca mediada por una o más corrientes de potasio dependiente de calcio que aumentan la conductancia de entrada de la célula en un 25-40 % (Hotson and Prince, 1980).

Se necesita al menos de una corriente de calcio para que se produzca una ráfaga. Con una corriente grande se puede obtener un potencial de acción lento con una latencia retrasada por decenas de milisegundos. La relevancia de una corriente de calcio a ráfagas intrínsecas es conocida porque los bloqueadores de corriente de calcio impiden la ráfaga típica mientras permite que se reproduzcan los potenciales de acción individuales. Lo que hace que se desaparezcan las ráfagas en presencia de los bloqueadores de calcio son a causa de pos-potenciales despolarizantes.

La larga latencia de los picos de calcio refleja un umbral alto de activación lenta de la corriente responsable, o los canales que se ubican en las dendritas. Sin embargo; no todos los canales de calcio se encuentran en las dendritas (Wong y Prince, 1987).

Por grabaciones inter-dendríticas directos se sabe que las espigas de calcio se generan en las dendritas apicales de las células piramidales del hipocampo (Lacaille *at al.*, 1987). Con la presencia de múltiples sitios dendríticos, cada uno capaz de generar espigas de sodio o calcio o ambos.

En 1981 Wong y Prince llegan a la conclusión de que la ráfaga está fuertemente relacionada con la corriente de calcio y la dependencia con DAP (after potential), argumentando que la ráfaga se debe a un pulso corto despolarizante, y en el mismo pulso seguido de un pulso hiperpolarizante podría anular las ráfagas, dejando en su lugar una única espiga seguida por un DAP que durara decenas de milisegundos.

Las corrientes de calcio son importantes para la generación de ráfagas también lo son para la generación del DAP. Cuando tenemos la conductancia de calcio bloqueada y una única espiga, el DAP es considerablemente más pequeño, a pesar de que las espigas de Na^+ en el soma y dendritas están muy cerca de la misma amplitud (Traub y Wong 1982).

La cinética de las corrientes de Ca^{++} es importante, en primer lugar estas corrientes forman parte de la respuesta activa de una neurona a las entradas sinápticas, en segundo lugar, la compuerta de los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje de la membrana, determina la cantidad de Ca^{++} que entra en la neurona durante el disparo celular (Kay and Wong, 1987).

Las células CA3 expresan diferentes modos de disparo (Fig.14) en respuesta a la inyección constante de corriente en el soma, estas respuestas variaran dependiendo de la magnitud de la corriente inyectada. Con pequeñas corrientes despolarizantes, se pueden observar rítmicos disparos de baja frecuencia,

mientras que para grandes corrientes inyectadas, se ven solo individuales potenciales de acción.

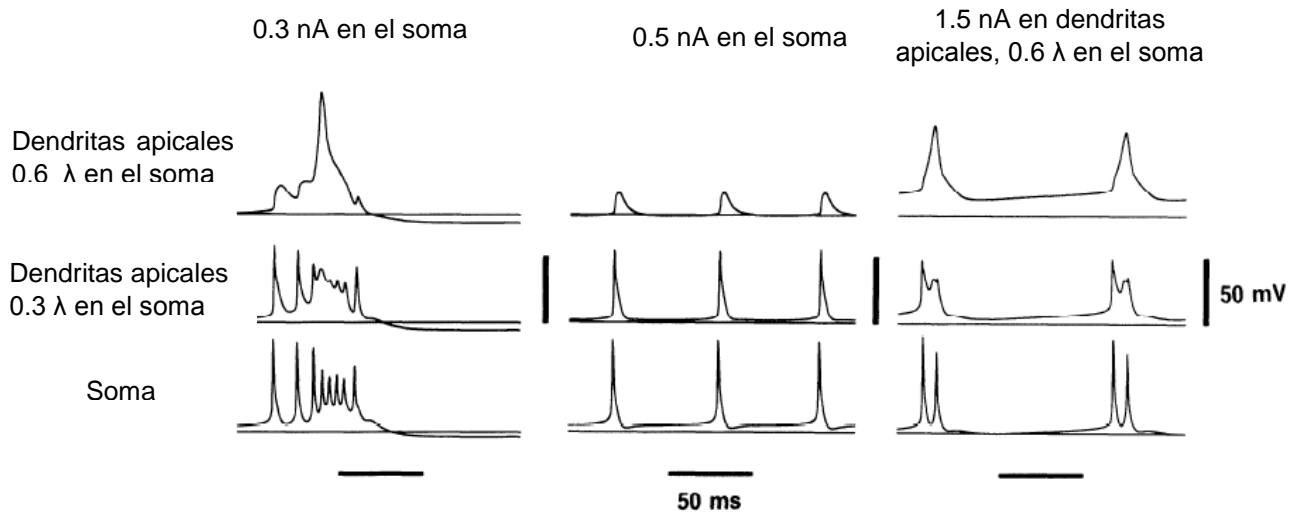


Fig. 14. Diferentes modelos de disparo de CA3 durante la estimulación de despolarización en el soma. Se observa corrientes aplicadas a diferentes regiones de la membrana del modelo CA3 (Traub *et al.*, 1991).

1.5 Modelo Hodgkin y Huxley

En 1952 los electrofisiólogos Alan Hodgkin y Andrew Huxley hacen una de las más grandes aportaciones para la biofísica y las neurociencias en general. En sus publicaciones describen un circuito eléctrico del axón gigante de calamar y el análisis matemático de las corrientes iónicas. En general el modelo describe cómo es la transición e iniciación de los potenciales de acción, conformado de ecuaciones diferenciales no lineales que se aproximan a las características eléctricas de células excitables como es el caso de las neuronas.

Los resultados de Hodgkin y Huxley representan el comportamiento eléctrico de la membrana como una red, donde las corrientes iónicas se dividen en componentes transportados por iones de sodio (Na^+), potasio (K^+) y una corriente de fuga, formado por el ión cloro (Cl^-) y otros iones. Estas corrientes se pueden

representar por la suma de los componentes de conducción y la capacitancia, como se observa en la figura 15. Este modelo fue desarrollado a partir de los resultados electrofisiológicos con el método de fijación de voltaje (voltaje clamp) para las corrientes de Na^+ y K^+ del axón gigante de calamar.

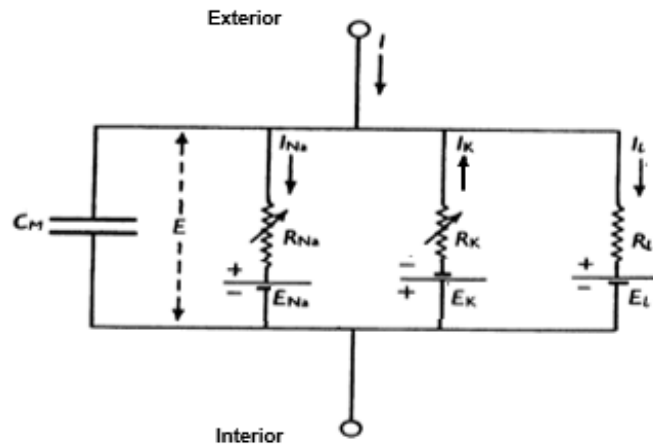


Figura 15. Representación del circuito eléctrico de una membrana celular. La corriente es transmitida a través de la membrana, por la capacitancia de la membrana o por el movimiento de los iones, la corriente iónica está conformada por una corriente de sodio (I_{Na}), una corriente de potasio (I_K) y una corriente de fuga (Hodgkin y Huxley, 1952).

Los componentes del modelo Hodgkin-Huxley como la conducción son una función de la diferencia de potencial a través de la membrana celular (V_m) y el potencial de equilibrio (E) de los iones.

Los resultados demostraron que la conductancia de sodio (g_{Na^+}) y la conductancia de potasio (g_{K^+}) son funciones de tiempo como también de voltaje; la conductancia de cloro es constante (Hodgkin y Huxley 1952).

1.6 Modelo matemático de Traub

El modelo de Traub y Miles fue desarrollado en 1991, está basado en simulaciones en el hipocampo, específicamente en la región CA3. El objetivo de sus simulaciones fue reproducir los resultados de las mediciones fisiológicas realizadas en rebanadas de hipocampo. Tanto las mediciones fisiológicas y la simulación en diversas circunstancias contribuyen a descubrir el mecanismo de fenómenos normales y patológicos.

El modelo clásico de Hodgkin-Huxley se modifica para la modelación de las redes neuronales de Traub; se tienen en cuenta los detalles estructurales de una neurona para representar las propiedades pasivas de las dendritas. El modelo incluye las espigas generativas de sodio y potasio, canales de potasio dependientes de calcio, se toma en cuenta la distribución no uniforme de los canales, por última la cinética y densidades de Na^+ y canales de K^+ son alterados para describir los patrones enriquecidos de las células piramidales.

En las células piramidales CA3 se encuentra generalmente dos tipos de potenciales de acción: los potenciales rápidos, localizados en el soma y que son mediados por sodio, y los potenciales lentos, localizados en las dendritas y mediados por calcio. En términos generales el papel de los canales de sodio es la repolarización.

La respuesta que se obtienen en las células piramidales CA3 cuando se les inyecta corriente, son ráfagas intrínsecas que serán producidas por el modelo. La fuerza y la regularidad del potencial de acción van a variar dependiendo de la corriente que sea aplicada. Una ráfaga está compuesta de una serie de espigas rápidas a intervalos de 5-10 ms, que va a terminar en uno o más potenciales de acción más lentos.

Algunas de las características de las respuestas fisiológicas que produce:

- Una ráfaga intrínseca seguida por una larga AHP (after-hyperpolarization)
- Una dependencia de ráfagas en el potencial de reposo

- La capacidad de prevenir la generación de ráfagas completada por la hiperpolarización correctamente coordinado.

Para la modelación de las corrientes sinápticas, se incluyeron los receptores de relajación rápida AMP y relajación lenta NMDA, donde su localización de ambos receptores es en las regiones dendríticas. Cabe mencionar que se utiliza una sola corriente de potasio dependiente de calcio, la cual tiene cierta dependencia de voltaje, pero es controlada principalmente por un proceso de umbral provocada por un aumento en la concentración intracelular de Ca^{++} y una vez activada la corriente es independiente de Ca^{++} .

En los modelos comportamentales de las células piramidales del hipocampo se distinguen entre compartimientos somáticos apicales y compartimientos dendríticos basales.

Cada neurona está compuesta por 19 compartimentos, sin embargo; teniendo una red neuronal de aproximadamente 100 neuronas, solo se tomaron en cuenta 7 compartimentos.

En la figura 16 se observa el comportamiento típico del modelo, en el cual muestra una dependencia de tiempo en el potencial de membrana y la concentración de calcio, y las cuatro corrientes iónicas. Se puede observar que se genera una ráfaga intrínseca en respuesta a la inyección de corriente, la corriente de calcio muestra una cinética más lenta que la corriente de sodio. El modelo también fue capaz de mostrar como inyectando una pequeña corriente hiperpolarizante en el momento adecuado puede prevenir el desarrollo de una ráfaga completa.

Se hicieron simulaciones con interneuronas utilizando el mismo modelo que el utilizado para las piramidales.

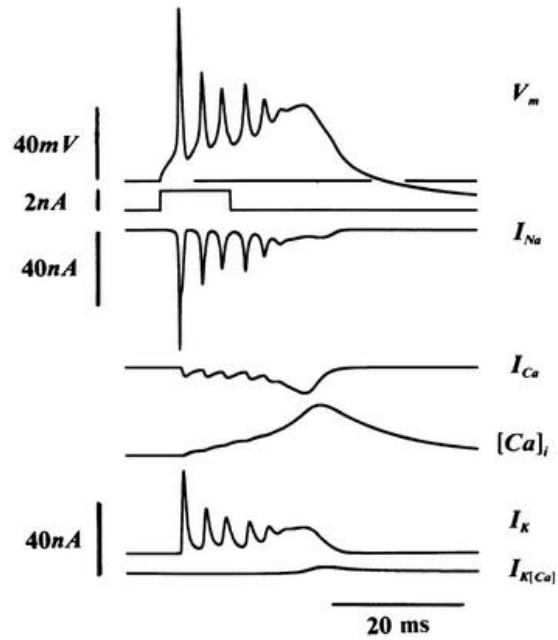


Fig. 16. Comportamiento de los potenciales de acción del modelo Traub de 1991. Se observa las corrientes de sodio (I_{Na}), corriente de calcio (I_{Ca}), corriente de potasio activada por calcio (I_{KCa}) (Traub y Miles, 1991).

2. ANTECEDENTES

2.1 Simuladores en Internet

Navegando por la red, se encuentran diversos simuladores de potenciales de acción en neuronas. En algunos se puede acceder gratuitamente y otros son privados de instituciones o requieren algún software especial para su ejecución.

MetaNeuron (Fig. 17) es un programa gratuito. Es un programa interactivo que muestra las propiedades básicas de las neuronas, como los potenciales de acción, las conductancias iónicas entre otras.

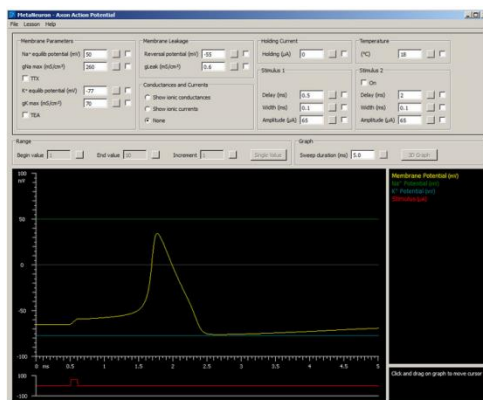
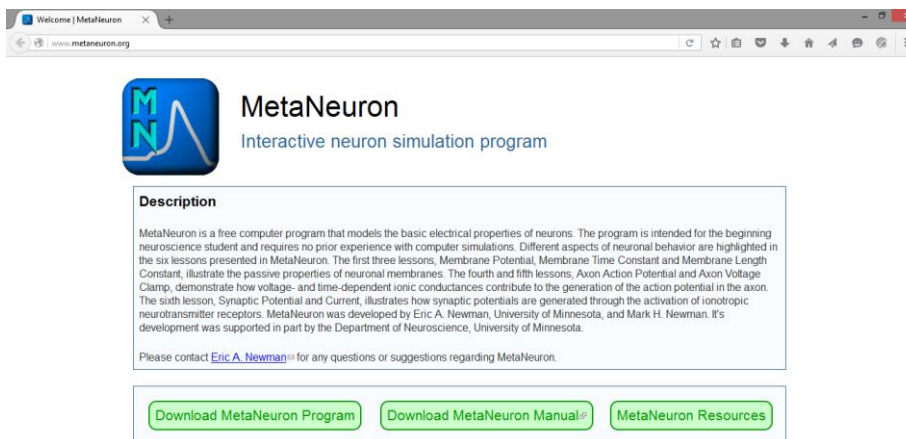


Fig. 17. Simulación que se puede hacer en el programa MetaNeuron, en el cual se muestra el potencial de membrana (amarillo), la concentración de Na^+ (verde) y la concentración de K^+ (azul).

Otro simulador encontrado que muestra las diferentes etapas del potencial de acción es el virtual Amrita (laboratorios Universalizing education) (Fig. 18), para poder acceder al simulador hay que estar registrado en la página que es solo para miembros de la institución.



Fig. 18. Ventana para descargar el programa Virtual Amrita laboratorios.

Un simulador (Fig. 19) más, encontrado por la universidad Boulder de Colorado. Es un simulador interactivo que muestra el potencial de acción de una neurona típica. El problema de este simulador es que necesita un software para su ejecución.

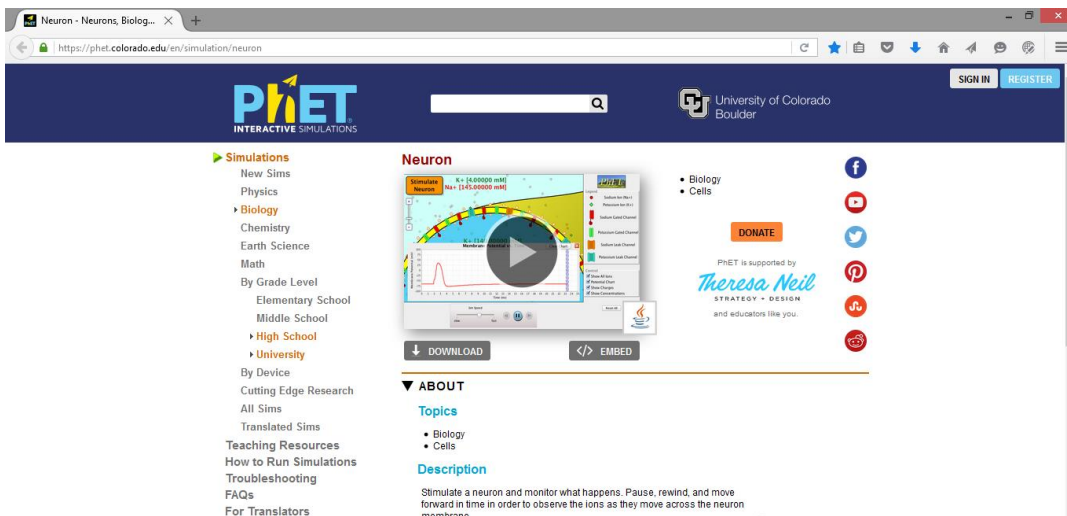


Fig. 19. Venta de simulador interactivo, encontrado en la Web (<https://phet.colorado.edu/>).

En la red se pueden encontrar una variedad de páginas que ofrecen algún simulador para los potenciales de acción en neuronas; pero no todos son de acceso gratuito y algunos necesitan de ciertas condiciones para poder ejecutar el programa o bien son exclusivos de instituciones.

Se encuentran simuladores para potenciales de acción y propiedades de una neurona clásica, con los canales iónicos de Na^+ y K^+ . No se encontró uno en el cual esté involucrado el canal de calcio, y tampoco específicamente programas que muestren potenciales en neuronas piramidales de hipocampo CA3 que simulen potenciales de acción en forma de ráfagas.

3. JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos años el desarrollo de la tecnología ha crecido significativamente. Se han desarrollado nuevas formas de enseñanza. Diferentes instituciones educativas ya han adoptado diferentes métodos de tecnologías para implementar la enseñanza y el aprendizaje mediante simuladores.

El cerebro humano es uno de los órganos más complejos y misteriosos. En la actualidad se está tratando de descifrar las interacciones que lleva a cabo. Para poder estudiar los aspectos básicos hay que empezar a comprender las propiedades biofísicas del órgano, los potenciales de acción, y las corrientes iónicas involucradas son parte de estas propiedades. Realizar prácticas experimentales tiene un costo elevado, esto se convierte en una barrera para poder realizar las diferentes prácticas, por ese motivo se busca la ayuda de simuladores didácticos. En la red se encuentran simuladores que tratan de los potenciales de acción, algunos gratuitos y otros privados o necesitan un software especial, además que la mayoría siempre suelen estar en inglés.

Considerando esta influencia y reconociendo el impacto del desarrollo tecnológico en la sociedad, surge el interés en desarrollar un simulador que sea ejecutable en todas las computadoras sin complicaciones, y que tengan un beneficio en la formación de los alumnos de esta institución.

OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar e implementar un simulador interactivo que se simulen los potenciales de acción tipo ráfaga de neuronas piramidales CA3 del hipocampo, que apoyen el proceso de enseñanza y aprendizaje de las áreas biológicas.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Desarrollar un módulo introductorio con información de las neuronas piramidales, los potenciales de acción y los trenes de potenciales en neuronas.
- Desarrollar un módulo con un modelo matemático que permita simular los potenciales de acción de las neuronas piramidales CA3.
- Desarrollar un módulo de simulación de la cinética de los canales dependientes de voltaje.

5. MATERIAL Y METÓDO

Se diseñó y desarrolló un simulador computacional interactivo que simula los potenciales de acción de una neurona piramidal de hipocampo de la región CA3. Se utilizó el programa Visual Basic® versión 6.0 para un ambiente Windows®.

El simulador está basado en el modelo matemático de Traub de 1991. Básicamente, la corriente total de la membrana (I_m) es igual a la suma de la corriente de Na^+ (I_{Na^+}), de K^+ (I_{K^+}), de Ca^{++} ($I_{\text{Ca}^{++}}$) y de K^+ activada por calcio ($I_{\text{K}^+[\text{Ca}^{++}]}$) (Fig. 20).

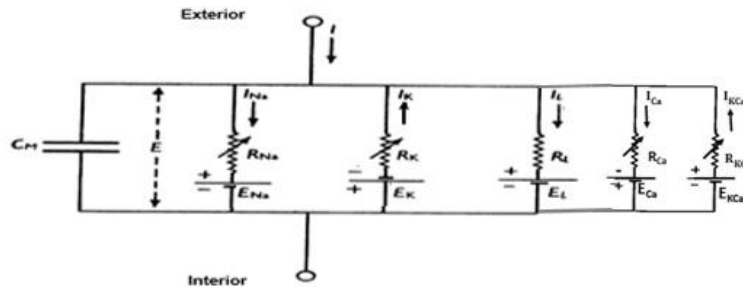


Fig. 20. Circuito eléctrico del modelo de Traub. Cuenta con una corriente de Na^+ , una corriente de K^+ , una corriente de Ca^{++} , una corriente de K^+Ca^{++} y una corriente de fuga compuesta por cloro y otros iones.

El modelo está formado por las siguientes ecuaciones que describen la corriente de membrana (I_m):

$$I_m = I_{\text{Na}} + I_{\text{K}} + I_{\text{Ca}} + I_{\text{K}[\text{Ca}]} \quad (1)$$

Donde:

$$I_{\text{Na}} = \bar{g}_{\text{Na}} m^3 h [V_m - E_{\text{Na}}] \quad (2)$$

$$I_{\text{K}} = \bar{g}_{\text{K}} n^4 y [V_m - E_{\text{K}}] \quad (3)$$

$$I_{\text{Ca}} = \bar{g}_{\text{Ca}} S^5 r [V_m - E_{\text{Ca}}] \quad (4)$$

$$I_{\text{KCa}} = \bar{g}_{\text{KCa}} q [V_m - V_{\text{K}}] \quad (5)$$

Las variables m, h, y, s, r, y q en las ecuaciones corresponden a la cinética de compuerta de los diferentes canales. Estas variables siguen una cinética de primer orden, como si se tratara de una reacción química tipo Michaelis-Menten. Una expresión matemática general corresponde a la ecuación 6.

$$\frac{dx}{dt} = \alpha(1 - X) - \beta(X) \quad (6)$$

En la corriente $I_{K^+ [Ca^{++}]}$ la compuerta de activación “q” depende de la concentración intracelular de Ca^{++} . La velocidad de apertura (α) está dada por la ecuación 7; en tanto que la velocidad de cierre (β) se considera constante con un valor de 0.002.

$$q = \frac{0.005(200-x)\exp\left(\frac{Vm}{20}\right)}{\exp\left(\frac{200-x}{20}\right)} \quad (7)$$

El cambio de la variable x con respecto al tiempo sigue la ecuación 8. Para el estudio del movimiento del calcio citoplasmático es necesario determinar las dimensiones del espacio en donde se encuentra localizado el calcio. En este caso se propone un área “A” 3320 μm y un diámetro de 0.0005 μm .

$$\frac{dx}{dt} = -\frac{c \cdot I_{Ca}}{A \cdot d} - \beta x \cdot x \quad (8)$$

6. RESULTADOS

El programa es ejecutable desde Windows. Está formado por dos módulos principales: (1) Lecciones y (2) Simulación. En la figura 21 se muestra la ventana inicial del programa, donde se encuentra el menú principal. Del lado izquierdo, se encuentran dos botones: <Lecciones> y <Simulación>. Del lado derecho, se presenta un esquema de trenes de potenciales de acción.

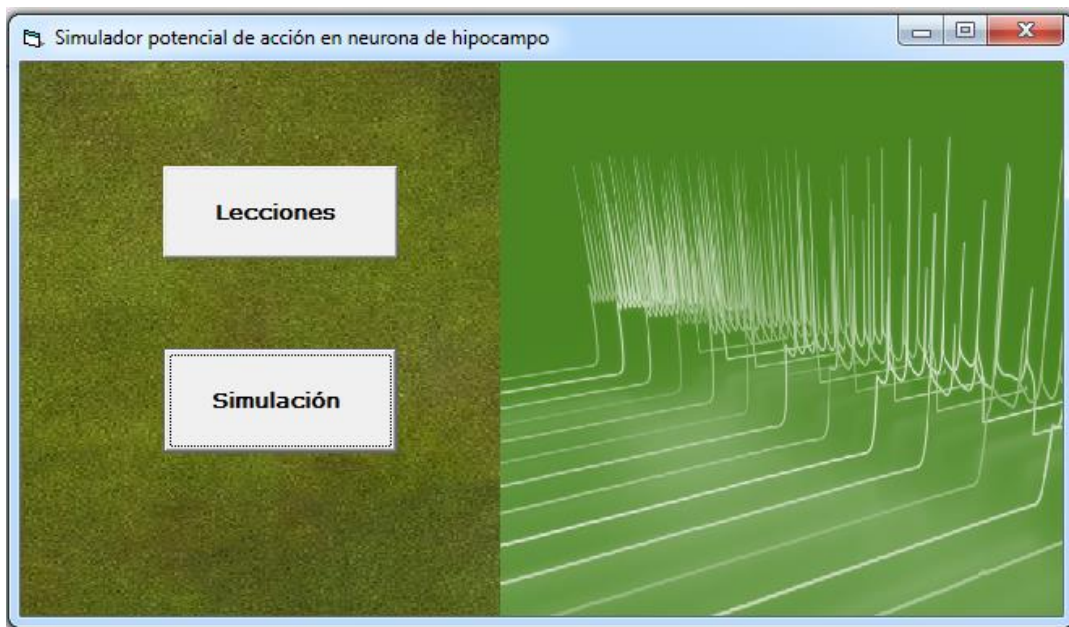


Fig. 21. Ventana de interfaz principal. La ventana está compuesta por dos botones: <Lecciones> y <Simulación>.

6.1 LECCIONES

Con el botón <Lecciones> se accede a la ventana de interfaz donde se muestra el menú para acceder a las siguientes lecciones: (1) neurona, (2) potencial de acción y (3) tren de potenciales de acción (Fig. 22).

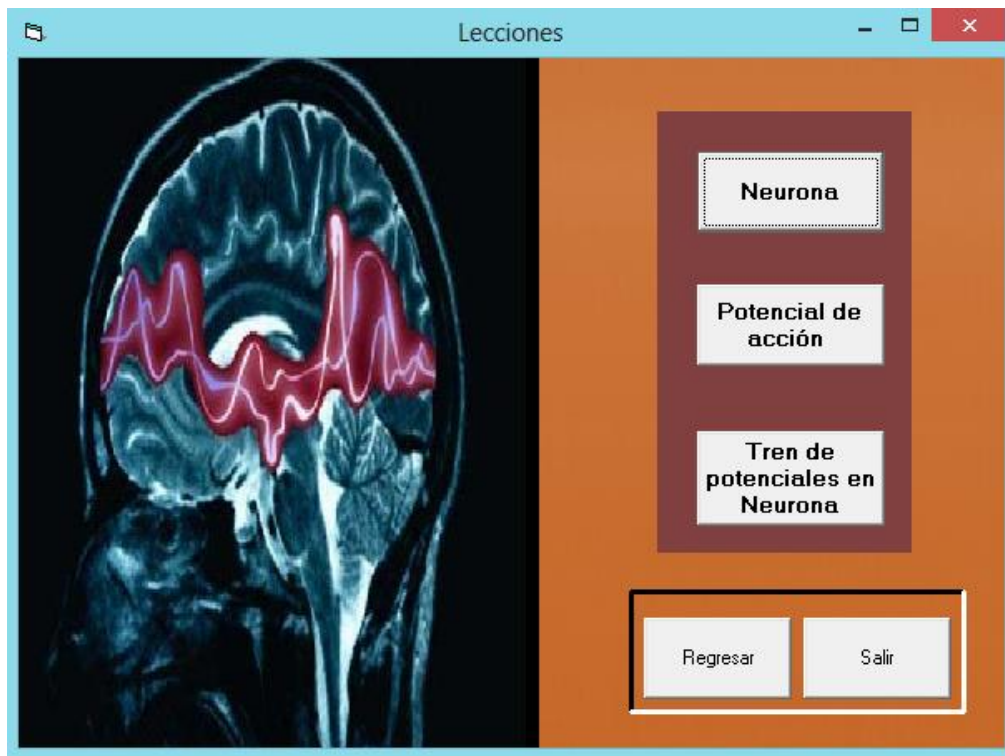


Fig. 22. Interfaz de usuario para acceder a las lecciones. Esta ventana cuenta con un menú de lecciones que llevarán al usuario a diferentes interfaces de información: <Neurona>, <Potencial de acción> y <Tren de potencial en Neurona>.

6.1.1 Neurona

Con el botón <Neurona> se accede a una ventana que muestra del lado izquierdo un esquema de neurona de hipocampo y del lado derecho una descripción breve de la neurona (Fig. 23).

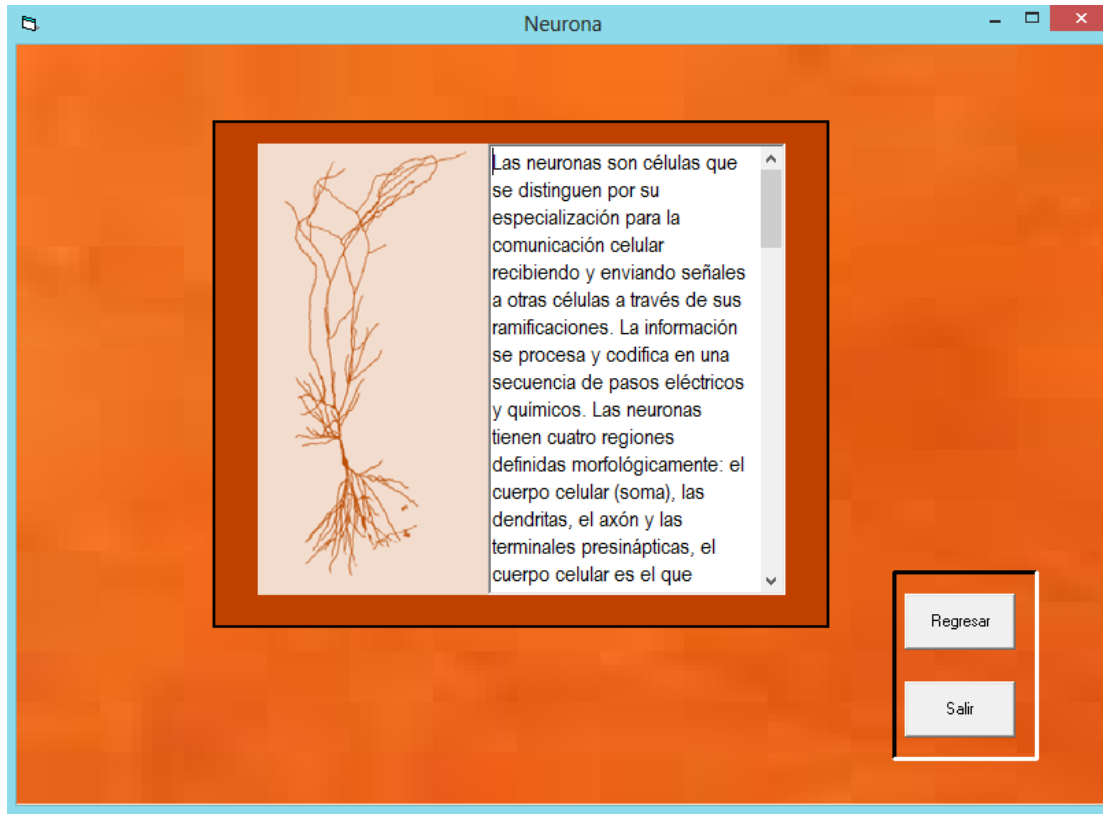


Fig. 23. Ventana de interfaz que muestra un esquema de la neurona piramidal CA3 de hipocampo. Muestra la morfología clásica de la neurona CA3.

6.1.2 Potencial de acción

La figura 24, muestra un esquema de potencial de acción del axón gigante de calamar. La despolarización del potencial de membrana se debe a una corriente entrante de Na^+ ; la repolarización se debe a una corriente saliente de K^+ .

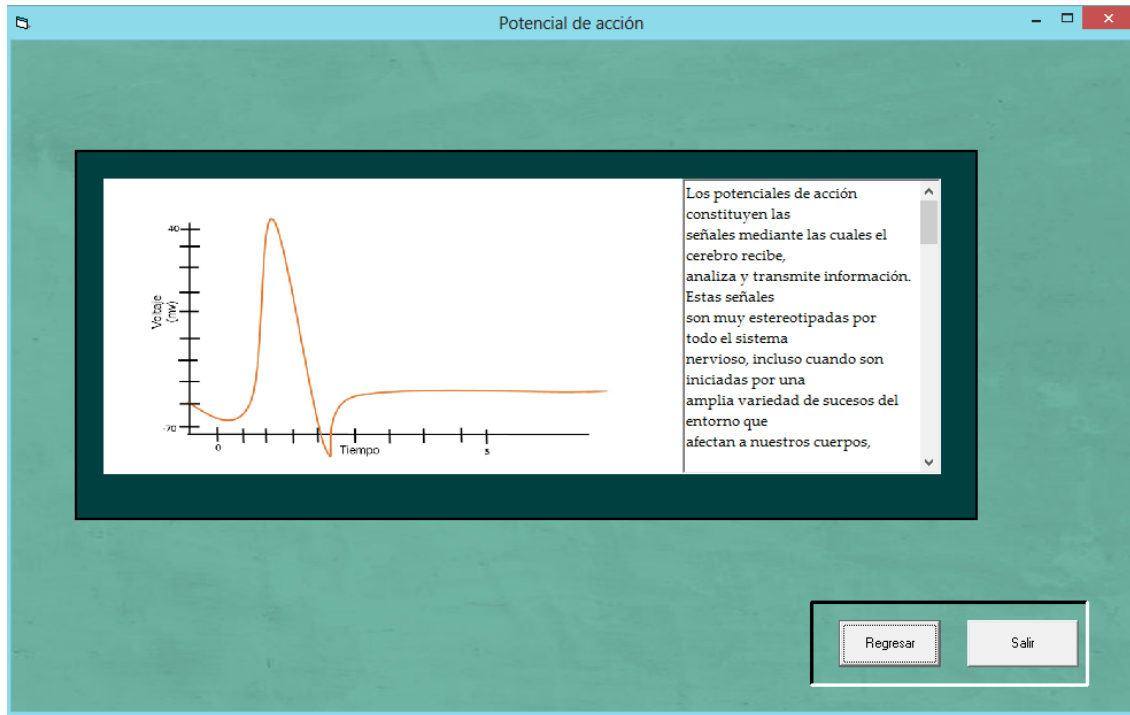


Fig. 24. Ventana de interfaz. Del lado izquierdo se muestra un esquema del potencial de acción. Del lado derecho, se encuentra un recuadro que describe dicho potencial.

6.1.3 Tren de potenciales en neurona

Con el botón <Tren de potenciales en neurona> se accede a una ventana que muestra del lado izquierdo un esquema de un tren de potenciales de acción de una neurona de hipocampo C3. Del lado derecho, se encuentra un recuadro que describe el tren de potenciales (Fig. 25).

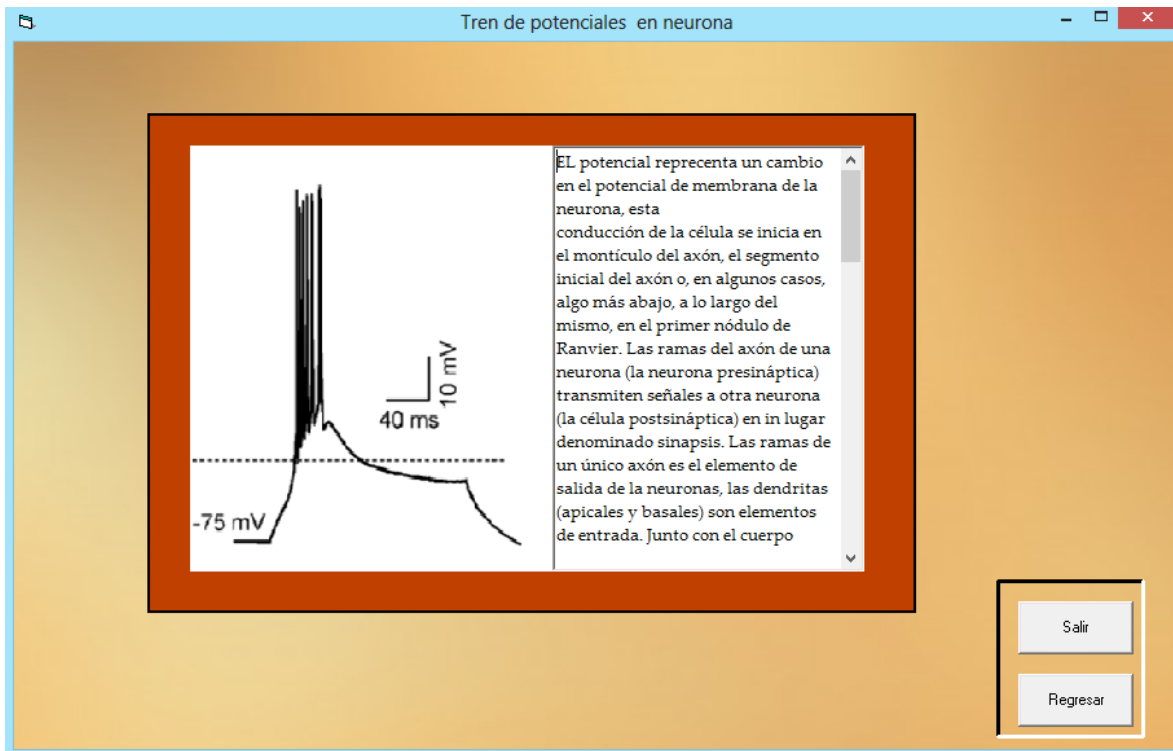


Fig. 25. Ventana que muestra la lección correspondiente a un tren de potenciales de acción. Se muestra una imagen de un potencial de acción tipo ráfaga de una neurona piramidal de hipocampo.

6.2 Simulación

Con el botón <Simulación> se accede a la ventana de interfaz que muestra el menú de simulaciones (Fig. 26). Del lado izquierdo se encuentran dos botones: <Simulación de potenciales de acción CA3> y <Corrientes iónicas>. En la parte inferior derecha se encuentran los botones: <Regresar> que regresa al menú anterior y <Salir> que permite cerrar el programa en cualquier momento.

Con el botón <Simulación de potenciales de acción CA3> se accede a la ventana de interfaz para realizar las simulaciones de los potenciales de acción (Fig. 27).

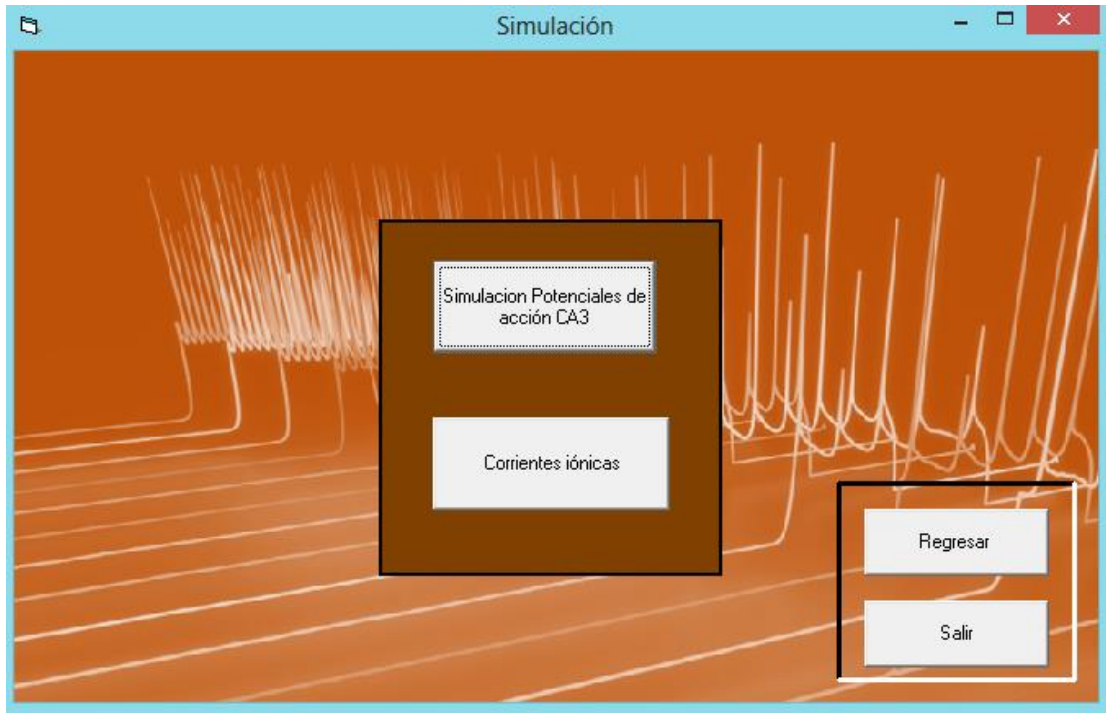


Fig. 26. Menú para realizar las simulaciones correspondientes. La interfaz de simulación cuenta con dos botones principales: <Simulación de Potenciales de acción CA3> y <Corrientes iónicas>.

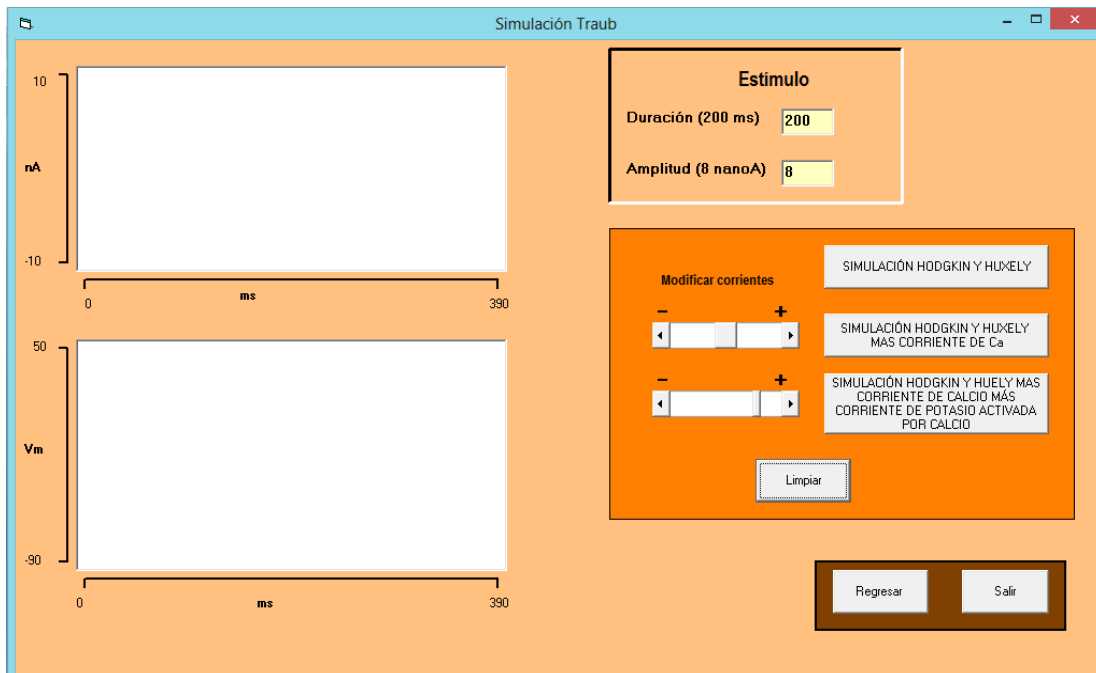


Fig. 27. Interfaz para las simulaciones de los potenciales de acción. Del lado izquierdo se muestran dos recuadros: El superior, corresponde a un osciloscopio donde se registrará el pulso de corriente de estímulo. El inferior, representa el osciloscopio donde se registrarán los potenciales de acción. Del lado derecho, se muestra en la parte superior dos recuadro: (1) ingreso del valor de la duración del pulso de estímulo y (2) amplitud de la corriente de estímulo. Debajo se encuentra un recuadro con tres botones que permiten realizar diferentes simulaciones: <SIMULACIÓN HODGKIN Y HUXLEY>, <SIMULACIÓN HODGKIN Y HUXLEY MAS CORRIENTE DE Ca> y <SIMULACION HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE CALCIO Y MÁS CORRIENTE DE POTASIO ACTIVADA POR CALCIO>.

6.3 Ejemplos de simulaciones

6.3.1 Potenciales de acción en una neurona tipo Hodgkin y Huxley

La figura 28, muestra la simulación de un tren de potenciales de acción ante un estímulo de corriente de 8 nA y 200 ms de duración. Al oprimir el botón <HODGKIN Y HUXLEY> se realiza la simulación. Se puede observar cómo los potenciales de acción presentan una frecuencia de disparo que no cambia.

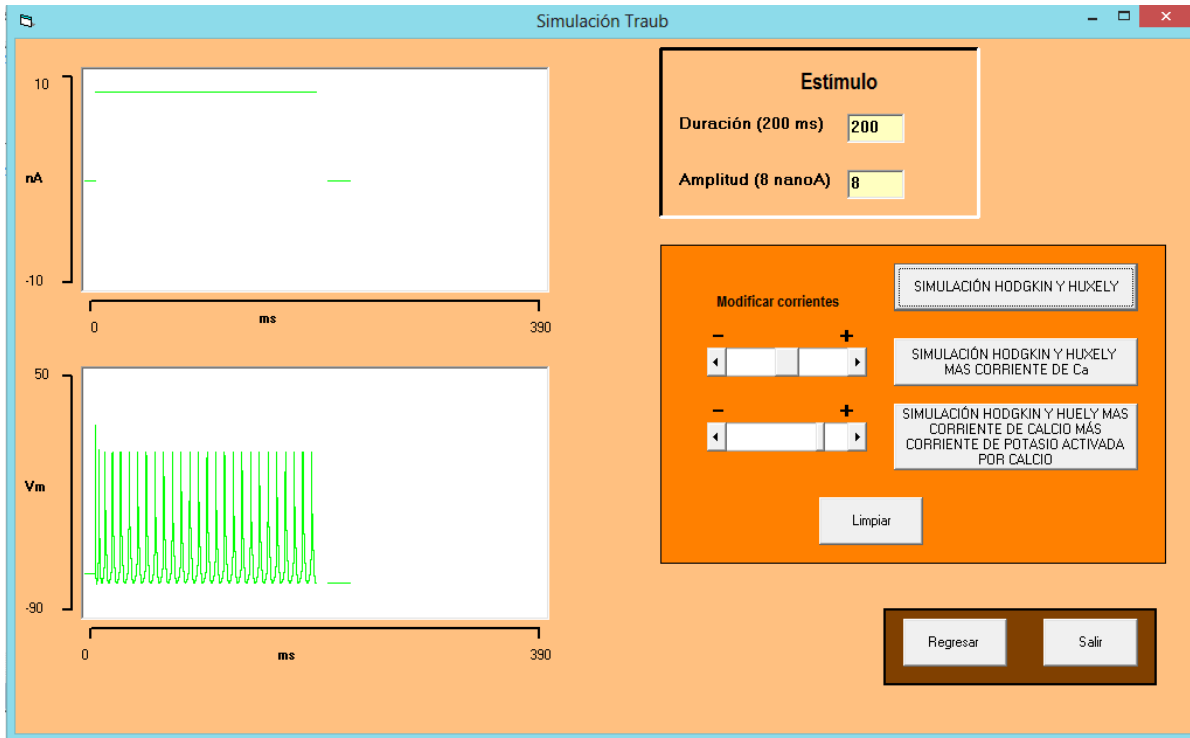


Fig. 28. Ventana de interfaz. Simulación de tren de potenciales de acción en una neurona con canales de Na^+ y K^+ dependientes de voltaje.

6.4 Potenciales de acción en una neurona con ICa^{++} agregada.

La figura 29 muestra la simulación de un tren de disparo tren de potenciales de acción ante un estímulo de corriente de 8 nA y 200 ms de duración. Al oprimir el botón <SIMULACIÓN HODGKIN Y HUXLEY MAS CORRIENTE DE Ca > se realiza la simulación. Se puede observar cómo los potenciales de acción presentan una disminución en la amplitud y la duración de la ráfaga se reduce hasta 100ms.

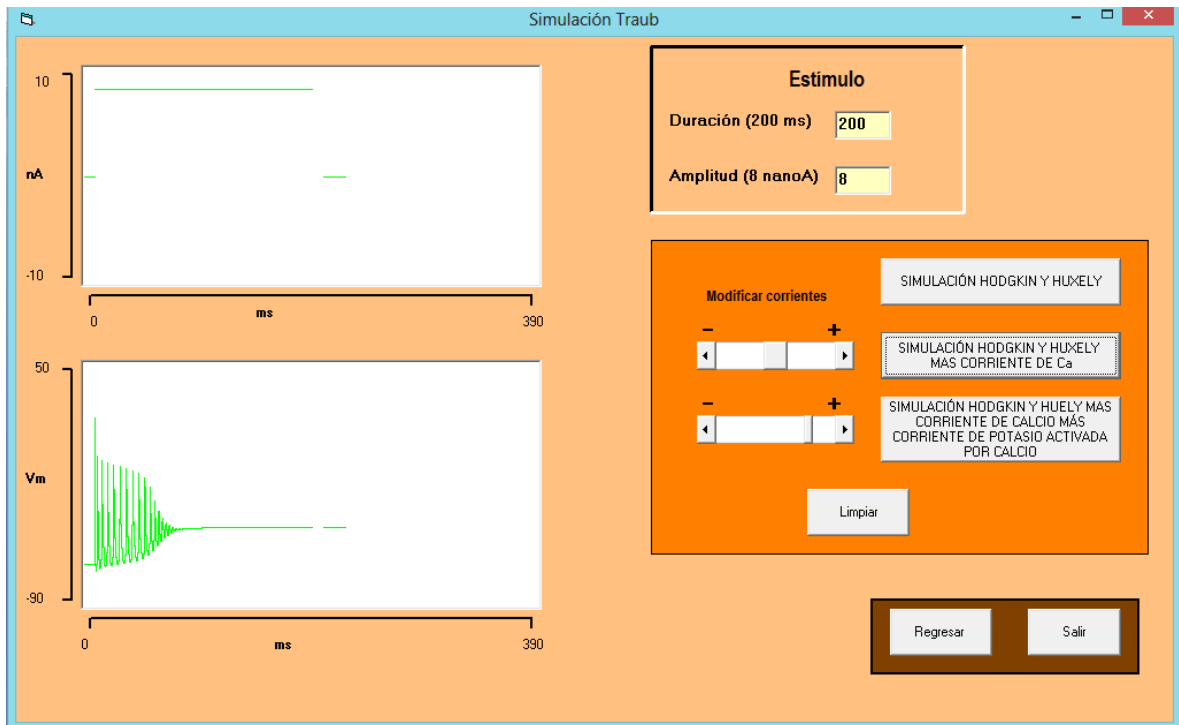


Fig. 29. Ventana de interfaz. Simulación de tren de potenciales de acción en una neurona con canales de Na^+ , K^+ y Ca^+ dependientes de voltaje. Al agregar una corriente de calcio a la simulación se observa el potencial de acción en forma de ráfaga, con potenciales rápidos y con una disminución en la duración de la ráfaga.

6.4.1 Efecto de disminuir la corriente de Ca^{++}

En la figura 30 muestra la simulación de <HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE Ca> cuando la corriente de Ca^{++} es disminuida. Se puede observar que al disminuir la corriente de Ca^{++} hay una mayor duración en la ráfaga.

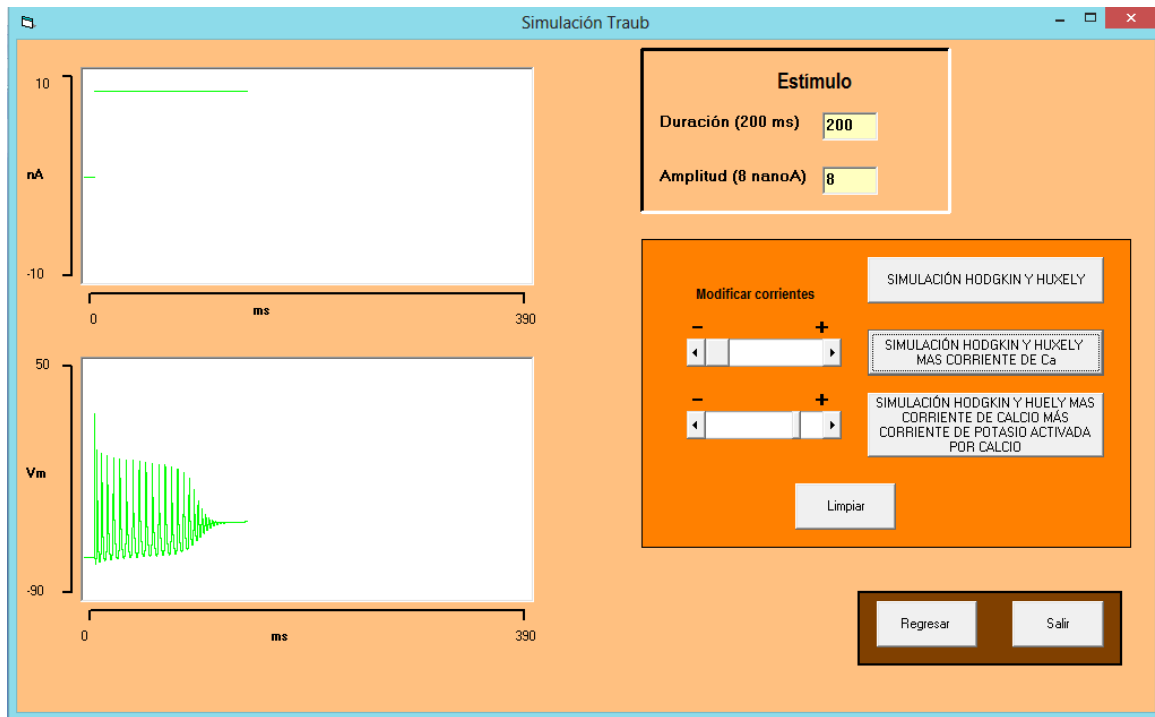


Fig. 30. Ventana de interfaz. Simulación de tren de potenciales de acción en forma de ráfaga en una neurona con canales de Na^+ , K^+ , Ca^{++} dependientes de voltaje. Efecto de disminuir la corriente de Ca^{++} . Se observa que los potenciales siguen en forma de ráfaga pero la duración se hace más larga con respecto a la simulación anterior.

6.4.2 Efecto de un incremento en la corriente de Ca^{++}

El efecto en el tren de potenciales de acción al aumentar la corriente de Ca^{++} , se observa en la figura 31. Se mueve a la derecha el indicador de la barra correspondiente y se oprime el botón <SIMULACIÓN HODGKIN Y HUXLEY MAS CORRIENTE DE Ca >. Se puede observar que al aumentar la corriente de Ca^{++} la frecuencia de disparos de potenciales aumenta y la duración de la ráfaga se hace menor comparándola con las dos simulaciones anteriores.

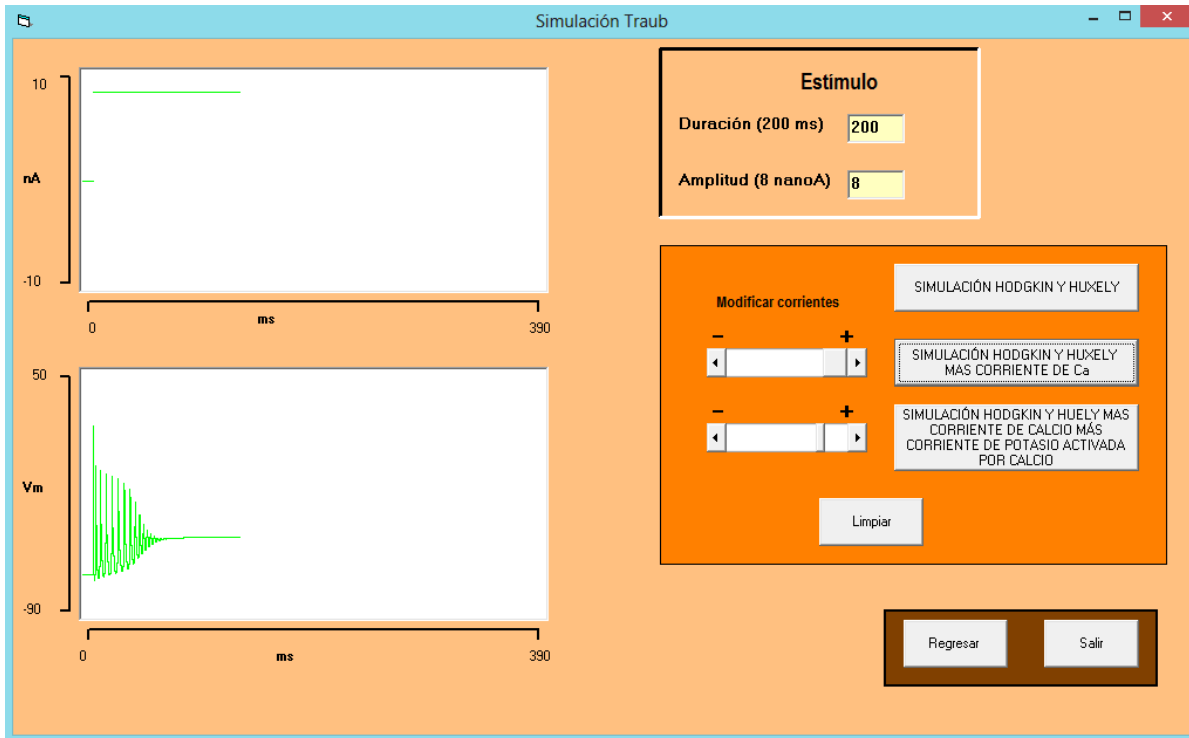


Fig. 31. Ventana de simulación de una ráfaga con corrientes de Na^+ , K^+ y Ca^{++} , aumentando la corriente de Ca^{++} . Al aumentar la corriente, los potenciales de acción se observan en forma de ráfaga con una duración aproximada de 50 ms.

6.5 Potenciales de acción en una neurona con KCa^{++} agregada.

El programa permite simular una neurona con las corrientes de: Na^+ , K^+ , Ca^{++} y KCa^{++} . El botón <HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE CALCIO MÁS CORRIENTE DE POTASIO ACTIVADA POR CALCIO> que se encuentra del lado derecho de la interfaz permite esta posibilidad. Con la barra situada a la izquierda de este botón se puede aumentar o disminuir la corriente de K^+ activada por Ca^{++} .

La figura 32, muestra la simulación de un tren de potenciales de acción ante un estímulo de corriente de 8 nA de amplitud y 200 ms de duración. Al oprimir el botón <HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE CALCIO MÁS CORRIENTE DE POTASIO ACTIVADA POR CALCIO> se realiza la simulación. Se puede observar cómo los potenciales de acción presentan una disminución de la amplitud de los potenciales de acción.

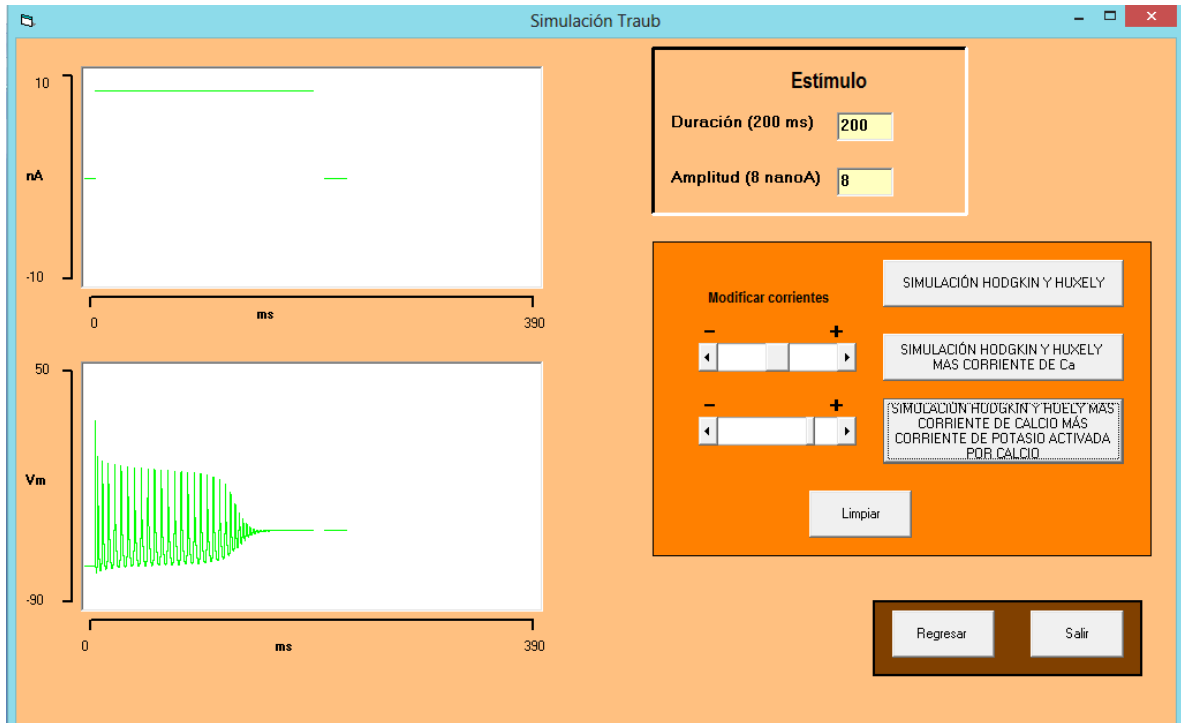


Fig. 32. Ventana de simulación de tipo ráfaga con corrientes de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y KCa^{++} . Se observan un tren de disparos de potenciales de acción con una duración de 150 ms.

6.5.1 Efecto del aumento de la corriente de K^+ activada por Ca^{++}

En la figura 33, se muestra la simulación de potenciales de acción con un aumento de la corriente. Al mover la segunda barra de <modificar corriente> a la derecha y oprimiendo el botón <HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE CALCIO MÁS CORRIENTE DE POTASIO ACTIVADA POR CALCIO> se realiza la simulación. Se puede observar que aumenta la duración de la ráfaga de potenciales de acción.

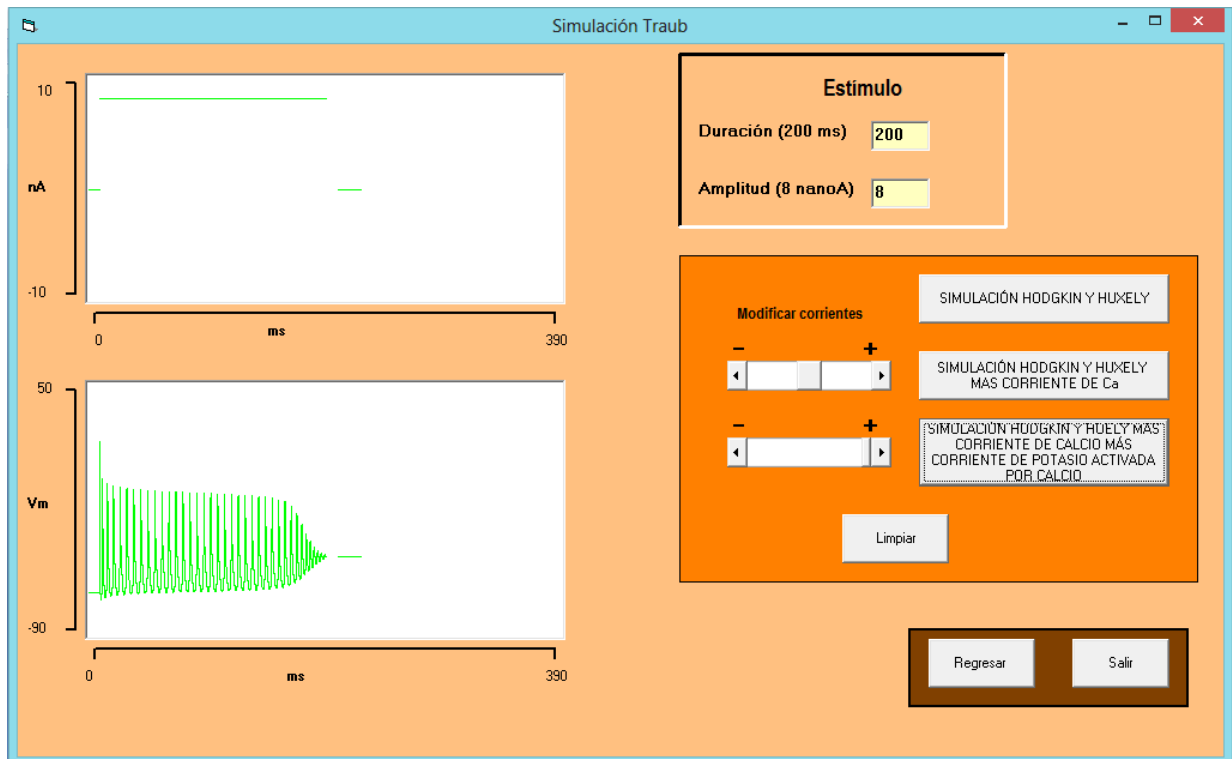


Fig. 33. Ventana de simulación tipo ráfaga con corrientes Na^+ , K^+ , Ca^+ , KCa^{++} aumentando la corriente. Se observan potenciales de acción tipo ráfaga con una duración de 170 ms.

6.5.2 Efecto de la disminución de la corriente de K^+ activada por Ca^{++}

En la figura 34, se muestra la simulación de una ráfaga cuando se disminuye la corriente de K^+ activada por Ca^{++} . Para realizar la simulación se mueve el indicador a la izquierda, de la segunda barra en "Modificar corrientes". Se oprime el botón <HODGKIN Y HUXLEY MÁS CORRIENTE DE CALCIO MÁS CORRIENTE DE POTASIO ACTIVADA POR CALCIO> y se ejecuta la simulación correspondiente. Se puede observar que la duración de las ráfagas disminuye a menos de 100 ms.

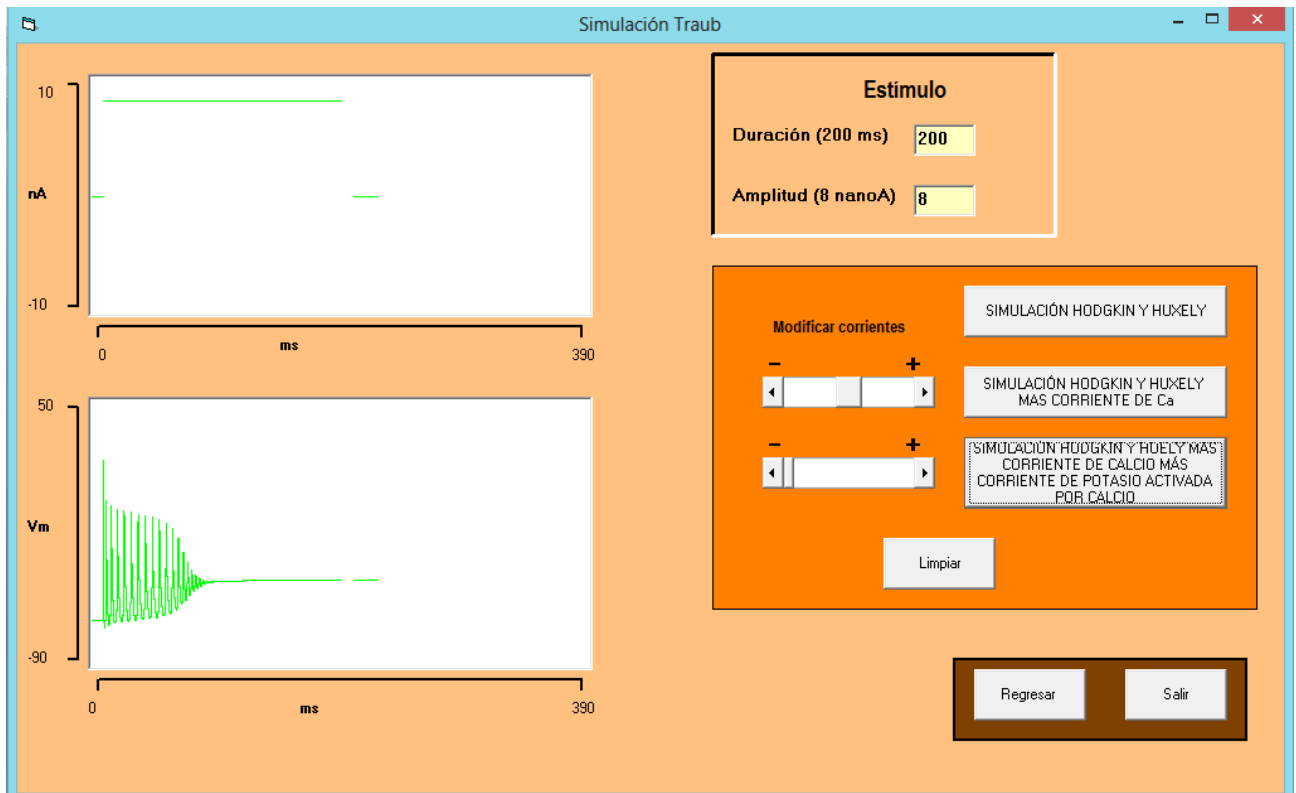


Fig. 34. Ventana de simulación tipo ráfaga con corrientes de Na^+ , K^+ , Ca^+ , KCa^{++} disminuyendo la corriente. Se observan potenciales de acción tipo ráfaga con una duración 100 ms, la duración disminuye comparándola con la simulación anterior.

6.6 Módulo de simulación de la cinética de canales de K^+ y Na^+

Con este módulo el usuario puede aprender la dependencia de voltaje de los canales. Como ejemplos se puede simular la cinética de los canales de K^+ y de Na^+ . El canal de K^+ analizado desde una visión lo más reducida posible, muestra dos estados: cerrado y abierto. La velocidad con que este tipo de canales pasa del estado cerrado al estado abierto es representada como α_n . La velocidad de pasar del estado abierto al cerrado es representada como β_n . Con forme cambia el potencial de membrana estas velocidades pueden aumentar o disminuir según el caso.

La figura 35 muestra la interfaz correspondiente. En la parte central se encuentran dos botones: <Corriente de potasio> y <Corriente de sodio>.

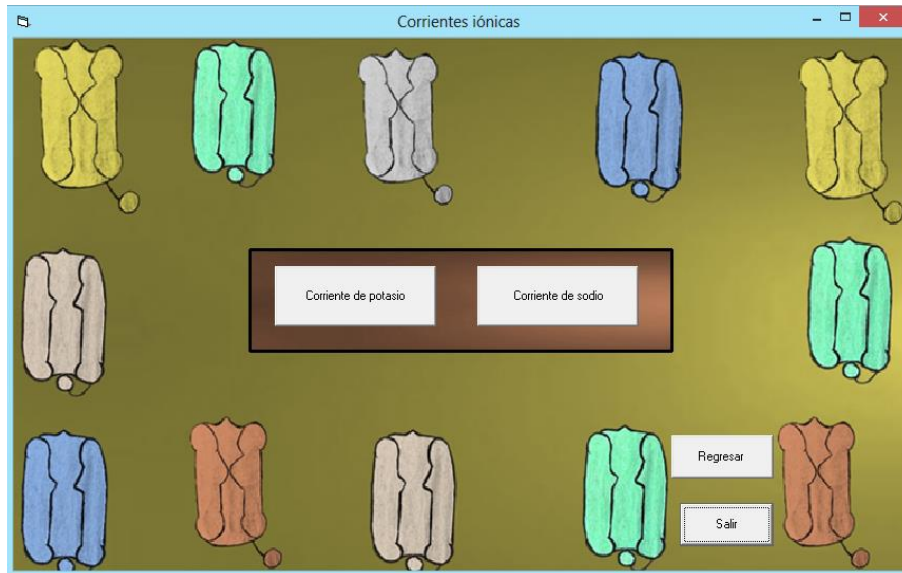


Fig. 35. Ventana de menú para las simulaciones de la cinética de los canales. Cuenta con dos botones: <Corriente de potasio> y <Corriente de sodio>, estos botones llevan al usuario a las diferentes interfaces para las simulaciones de la cinética de los canales de potasio y sodio.

6.6.1 Cinética del canal de K^+ dependiente de voltaje

Al oprimir el botón <Corriente de potasio> que llevará a una interfaz de menú para las simulaciones de potasio como se muestra en la figura 36.

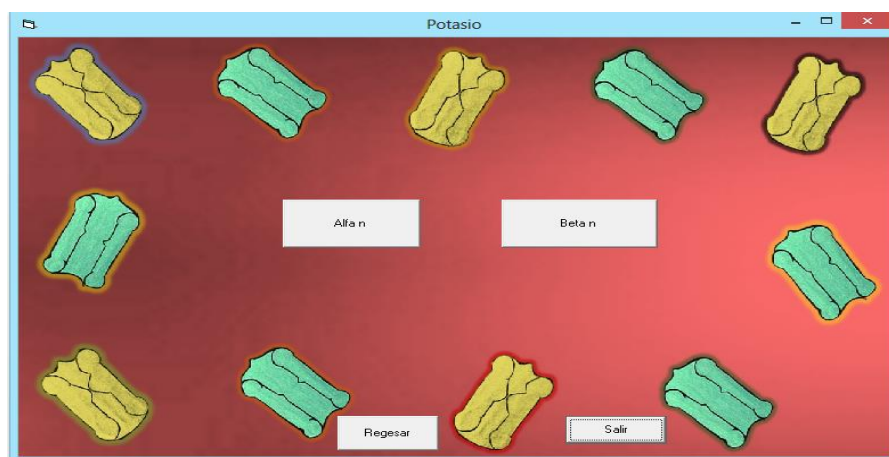


Fig.36. Ventana de menú para la cinética de potasio. Cuenta con dos botones <Alfa n> y <beta n>.

6.6.1.1 Simulación de la apertura del canal de K^+

La apertura del canal de K^+ depende de la velocidad α_n . La figura 37 muestra la ventana para la simulación. Está dividida en dos partes: (1) una superior destinada a presentar esquemas de canales de K^+ en sus dos estados: cerrado (del lado izquierdo) y abierto (del lado derecho). En la parte central se muestra un recuadro donde se presenta el valor de α_n . (2) una inferior con un recuadro donde se muestra la gráfica de α_n con respecto al potencial de membrana. Del lado izquierdo se encuentran dos botones: <Salir> y <Regresar>. Del lado derecho, se encuentra una barra horizontal que permite modificar el potencial de membrana.

El usuario puede modificar el potencial de membrana llevándolo desde valores muy negativos (por ejemplo, -80 mV) hasta valores positivos (por ejemplo, 40 mV).

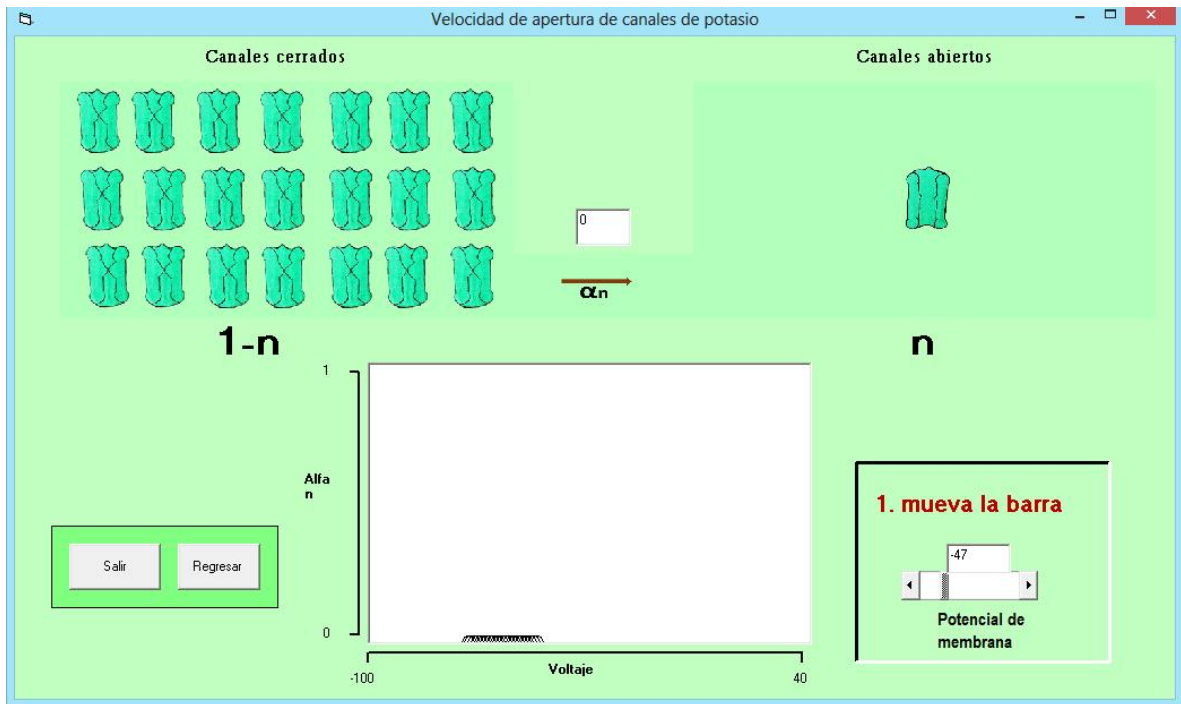


Fig. 37. Interfaz para mostrar la dependencia del voltaje del parámetro de velocidad de apertura del canal α_n . Se muestra un recuadro en el cual se graficará la apertura del canal que se acompaña de la interacción de las imágenes para el canal de potasio que mostrarán el estado de activación del canal.

6.6.1.2 Efecto de la despolarización del potencial de membrana en la velocidad de apertura del canal de K^+ .

En esta simulación se puede observar cómo la velocidad de apertura del canal de K^+ voltaje dependiente se encuentra prácticamente en cero en potenciales de membrana negativos. Esto significa que la mayoría de canales de K^+ dependientes de voltaje de este tipo están cerrados a estos potenciales. En el momento que el potencial de membrana se hace positivo, los canales empiezan a abrirse. Conforme este potencial se hace cada vez más positivo la velocidad de apertura del canal de K^+ se incrementa y como consecuencia, el número de canales abiertos es mayor. La figura 38, muestra esta cinética del canal. A potenciales de membrana cercanos a 40 mV la mayoría de los canales de K^+ estarán abiertos. Esta situación desencadena una corriente saliente de K^+ y como consecuencia se produce la fase de repolarización del potencial de acción.

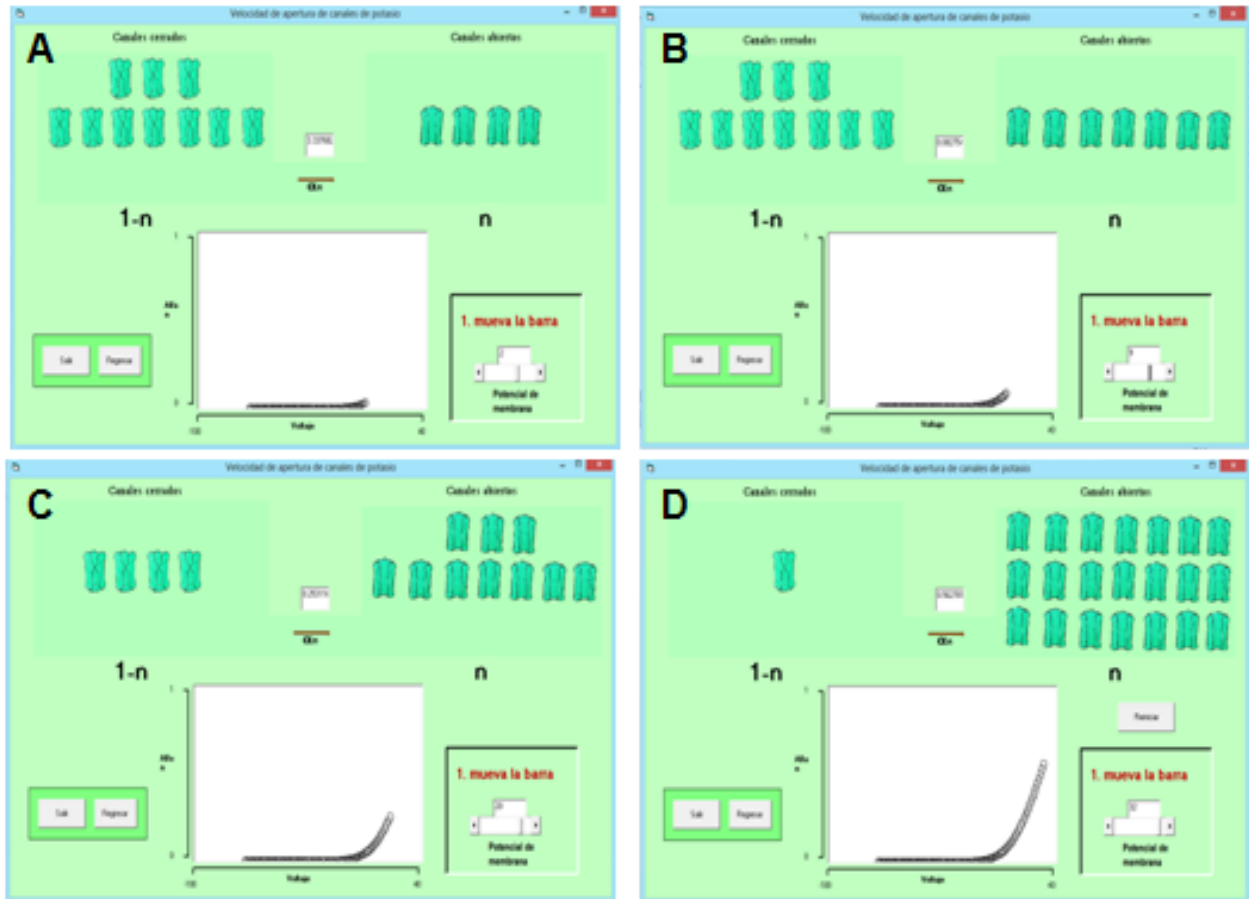


Fig. 38. Simulación de la cinética del canal K⁺ dependiente de voltaje. Con la simulación se explora el efecto que tiene el potencial de membrana en la velocidad de apertura del canal. (A) la velocidad α_n permanece cercana a cero a potenciales negativos. (B) Inicio de la apertura del canal a potencial de 2 mV. (C) La velocidad α_n aumenta a 0.8 con potenciales de 9 mV y (D) a potenciales de membrana de 20 mV, la velocidad α_n aumento a 0.25.

6.6.1.3 Efecto de la repolarización del potencial de membrana en la velocidad de cierre del canal de K⁺.

La velocidad de cierre del canal de K⁺ también se ve modificada conforme el potencial se modifica. Contrario a la velocidad de apertura, la velocidad de cierre se incrementa conforme el potencial de membrana se hace negativo. Esto obliga a que los canales permanezcan cerrados en estos potenciales. La figura 39 muestra una simulación donde se observa la cinética de cierre del canal de K⁺. La velocidad del cierre del canal de K⁺ fue concebido por Hodgkin y Huxley (1952) como una velocidad de reacción química. A la luz del descubrimiento de los

canales se puede interpretar, por lo menos para el canal de K^+ , como una velocidad de cierre. La velocidad cambia con el potencial de membrana. A valores negativos es cada vez mayor.

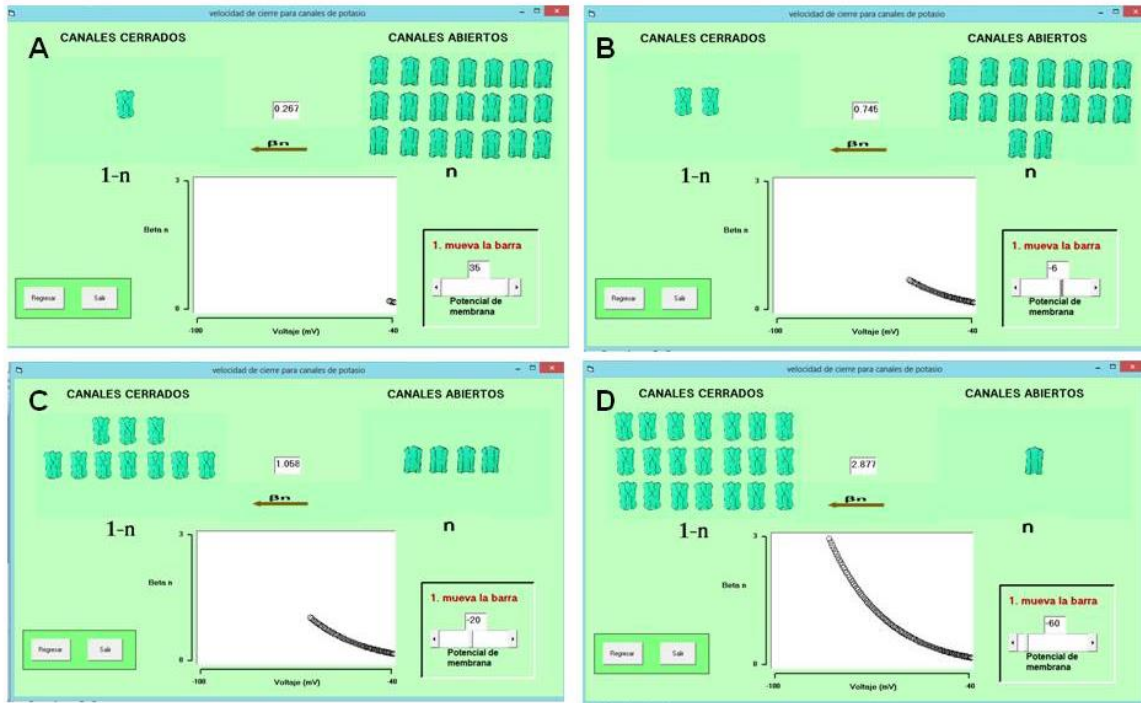


Fig. 39. Pantalla de interfaz para la cinética del cierre del canal de K^+ voltaje dependiente. (A) Desde valores positivos, por ejemplo, 36 mV la velocidad de cierre es de 0.26. (B) En valores negativos cercanos a cero (-6 mV) la velocidad es de 0.74. (C) Para valores de -20 mV la velocidad es de 1.05 y (D) en valores de -60 mV prácticamente todos los canales de K^+ están cerrados.

6.7 Cinética del canal de Na^+ dependiente de voltaje

El canal de Na^+ es el primero que se abre cuando se alcanza el umbral de disparo de la neurona. El segmento transmembranal 4 del canal cuenta con el sensor de voltaje que propicia una apertura del canal del tipo todo o nada. En un análisis cinético lo más simple posible de este canal se pueden distinguir tres estados conformacionales: (1) cerrado, (2) abierto e (3) inactivado. El paso de un estado a otro depende de una constante de velocidad que cambia dependiendo del voltaje.

6.7.1 Efecto del potencial de membrana en la velocidad de apertura del canal de Na⁺

En valores de potencial de membrana en el reposo, para una neurona genérica entre -70 a -60 mV, la mayoría de canales de Na⁺ están cerrados. A potenciales despolarizados los canales se abren. La constante de velocidad se incrementa drásticamente a valores de -6 mV. La figura 40 muestra cómo cambia la velocidad de apertura del canal dependiendo del potencial de membrana.

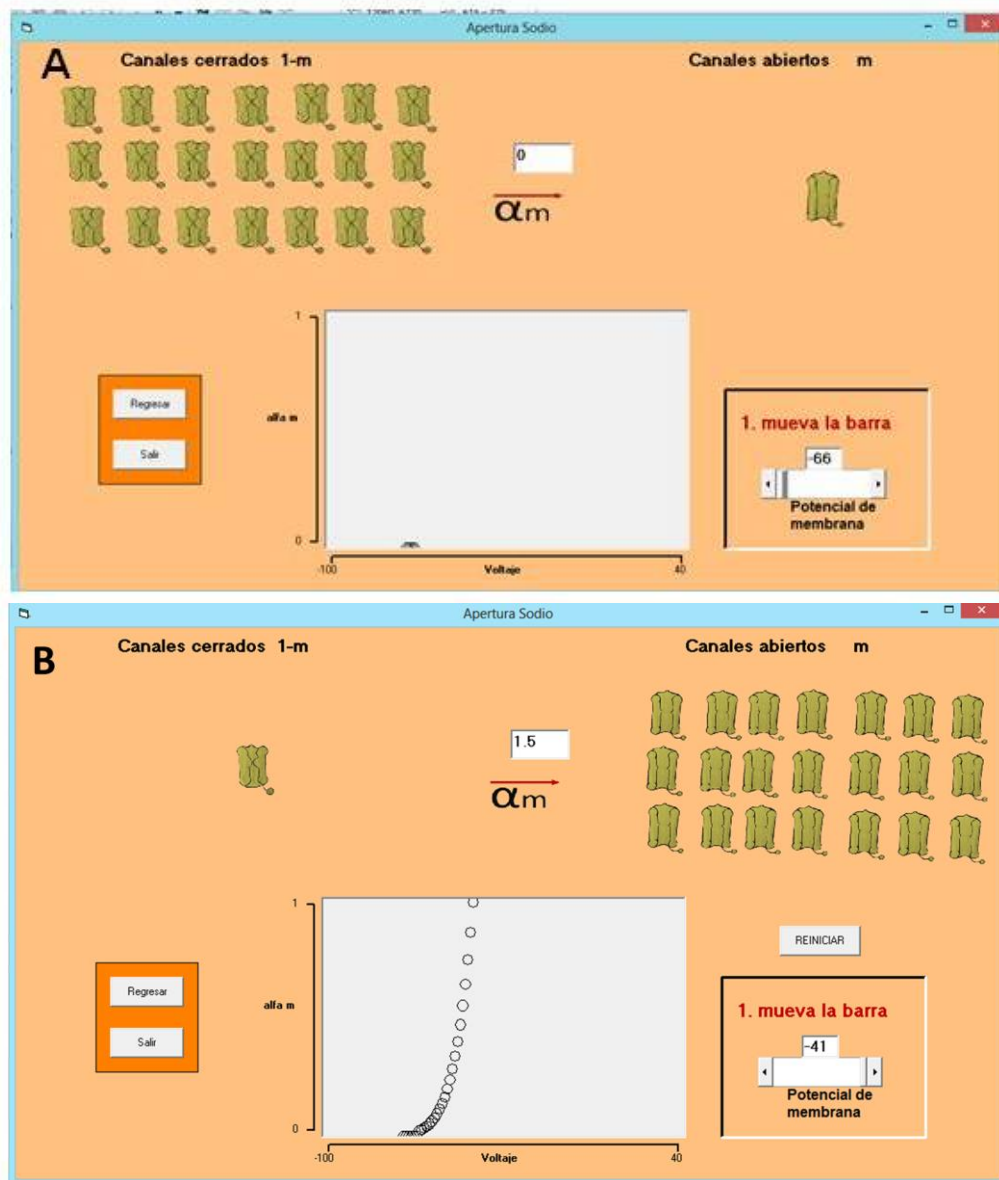


Fig. 40. Ventana de menú para la cinética del canal sodio. (A) A potenciales de membrana en reposo, la mayoría de canales de Na^+ están cerrados. (B) En potenciales umbrales (entre -45 a -40 mV) la velocidad de apertura del canal es muy grande y en consecuencia la mayoría de canales se encontrarán abiertos.

6.7.2. Ejemplo de inactivación del canal de Na⁺

La inactivación del canal de Na⁺ se alcanza en potenciales positivos cercanos al potencial de inversión (entre 30 a 50 mV) según la neurona de que se trate. En este proceso una parte de la cadena aminoacídica que compone el canal bloquea el poro del canal. La figura 41 muestra una simulación de la velocidad de inactivación (β_h). Se puede observar como a valores positivos del potencial de membrana (PM) la mayoría de canales de Na⁺ se inactivan. La hipótesis de este mecanismo sugiere que una parte aminoacídica del canal obstruye su luz.

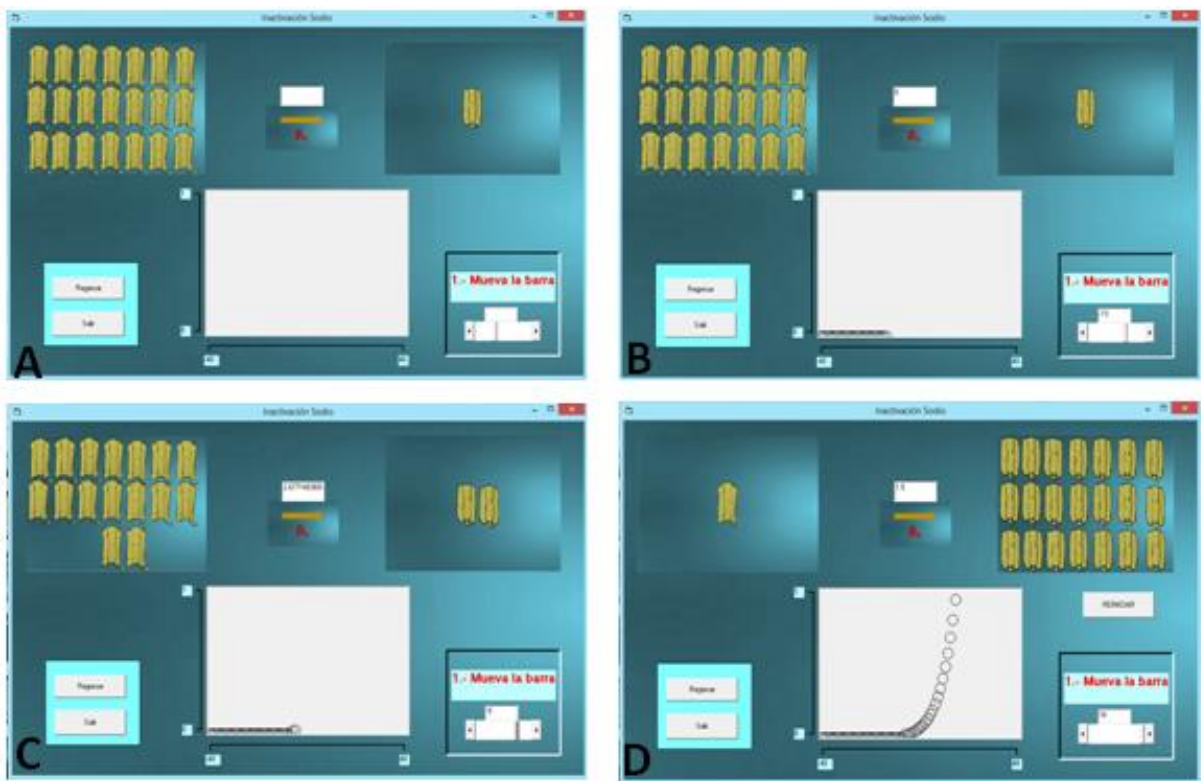


Fig. 41. Simulación de la velocidad de inactivación del canal de Na⁺. (A) a valores negativos del PM la mayoría de canales están abiertos. (B) a valores -20 mV los canales se encuentran abiertos (figuras de canales en el lado superior izquierdo). (C) a -10 son pocos los canales inactivos. (D) la velocidad de inactivación se incrementa exponencialmente y la mayoría de canales ahora se encuentran inactivos.

7. DISCUSIÓN

El cerebro es uno de los sistemas biológicos más complejos que el hombre quisiera comprender. Desde el punto de vista filosófico su entendimiento implica conocernos a nosotros mismos. Saber cómo pensamos, sentimos e incluso como interpretamos nuestra realidad. Para algunos (Berkeley 1685-1753), la realidad solo existe en nosotros, al alcance de nuestros sentidos. Por lo tanto el conjunto de átomos, del espacio y del tiempo es construcción propia. Para otros (Marx 1818-1883), la realidad existe independiente de nosotros. Estas visiones de la realidad encontradas que en ocasiones suelen confundir se deben justamente al poco conocimiento que se tiene de cómo es que funciona el cerebro, sobre todo en procesos cognitivos de alto nivel. Cómo se logra la memoria, cómo realmente sentimos, cómo es que construimos nuestro raciocinio, entre otras muchas funciones. El estudio de cerebro se puede realizar desde varias aristas, según la estrategia que se utilice. Desde la bioquímica, la anatomía, la electrofisiología, la citología, etc.

Desde los años ochenta la posibilidad de estudiar neuronas vivas en rebanadas de cerebro abrió las puertas para descubrir cómo es que funciona la neurona desde los registros intracelulares con técnicas de fijación de corriente y de voltaje (Sah y Faber, 2010). Se han descubierto un sin número de canales iónicos que explican el comportamiento de cómo es que la neurona es capaz de producir patrones de potenciales de acción tan variados. También, se han descubierto canales que modulan la excitabilidad neuronal acercándola o alejándola del umbral de disparo. ¿Cómo es que este conocimiento acumulado podrá explicar los procesos de alto nivel del cerebro? Es un misterio.

Lo que se presume es que los patrones de disparo de las neuronas parece ser el lenguaje con que se comunican las neuronas entre sí. En el presente trabajo se diseñó y desarrolló un simulador de una neurona de hipocampo para explorar el efecto corrientes iónicas como la de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y K^+ dependiente de Ca^{++} en el tren de disparo. Como una primera versión se planeó utilizar el modelo de Traub de 1991, en un solo compartimiento. De manera que solamente se podrá estudiar estas corrientes y su efecto en el tren de disparo. No se incluyen entradas

sinápticas y por lo tanto no se podrá simular el efecto de estas entradas sinápticas en puntos distantes al soma, lo que implica además un tratamiento de decremento de voltaje de tipo pasivo. Sin embargo, en el simulador desarrollado el usuario tendrá la posibilidad de observar cómo cambia el tren de disparo de una neurona según la corriente que se incluya. Por ejemplo, las corrientes de Na^+ y K^+ generan potenciales de acción de forma repetitiva y sostenida. El tren de potenciales de acción durará el mismo tiempo que lo haga el pulso de corriente de estímulo.

En este trabajo se muestra cómo la corriente de Ca^{++} modifica la duración del tren de potenciales de acción. Cuando existe una mayor corriente de Ca^{++} , la duración del tren de potenciales disminuye convirtiendo el tren en una ráfaga. En consecuencia la duración de la ráfaga es menor que la duración del pulso de estímulo de corriente. La amplitud de los potenciales de acción disminuyen y la frecuencia de disparo puede incrementar o no. Después, se puede observar cómo una corriente de K^+ activada por Ca^{++} puede hacer que esta ráfaga tenga mayor duración. Queda claro que la modulación de los potenciales de acción, en el sentido descrito, depende de corrientes de Ca^{++} y de la concentración intracelular de Ca^{++} . En otro simulador desarrollado en este laboratorio (Hernández, 2015) se mostró cómo la concentración misma de calcio intracelular puede oscilar. También puede aumentar por una respuesta a un neuromodulador o a la señal de segundos mensajeros. Seguramente, las corrientes de Ca^{++} de diversos tipos estén involucradas en procesos de alto nivel en el cerebro.

8. CONCLUSIONES

1. Se diseñó y desarrolló un programa de una neurona de un solo compartimiento que incluye canales dependientes de voltaje de Na^+ , K^+ , Ca^{++} y un canal de K^+ dependiente de Ca^{++} .
2. El usuario puede realizar diversas simulaciones combinando la presencia de estos canales en la neurona de hipocampo.
3. En todas las simulaciones siempre están presentes las corrientes de Na^+ y K^+ dependientes de voltaje descritas por Hodgkin y Huxley (1952).
4. La presencia o ausencia del canal de Ca^{++} está determinada por la conductancia máxima de la corriente en el modelo.
5. La presencia o ausencia del canal de K^+ dependiente de Ca^{++} está determinada por la conductancia máxima de la corriente en el modelo. La concentración de Ca^{++} sigue las especificaciones del modelo de Traub.
6. Se puede simular y observar cómo la corriente de Ca^{++} transforma un tren de potenciales de acción en una ráfaga.
7. Se puede simular y observar cómo la corriente de K^+ dependiente de Ca^{++} puede cambiar la duración de la ráfaga.
8. Con el simulador el alumno tiene la posibilidad de ver el efecto de cada corriente en el tren de disparo de la neurona.
9. El simulador permite al alumno explorar los cambios en las constantes de velocidad para el canal de Na^+ y K^+ dependiendo del potencial de membrana.

9. BIBLIOGRAFÍA

Blümcke I., Thom M., Aronica E., Armstrong D.D., Bartolomei F., Bernasconi A., Bernasconi N., Bien C.G., Cendes F., Coras R., Cross H., Jacques T.S., Kahane P., Mathern W.G., Miyata H., Moshé L.S., Oz B., Ozkara C., Perucca E., Sisidiya S., Wiebe S., Spreafico R. "International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: A Task Force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods", *Epilepsia*, 54: 1315-1329, 2013.

Cantero J.L., Atienza M., Stickgold R., Kahana M.J., Madsen J.R., Kocsis N. "Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex", *The Journal of Neuroscience*, 34: 10897-903, 2003.

Catterall W.A. "Voltage-Gated Calcium Channels", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 98195-7280, 2011.

Cooke S.F., Bliss T.V. "Plasticity in the human central nervous system". *Brain* 129: 1659-73, 2006.

Cheung H.C.T., Cardinal N.R. "Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats", *BMC Neuroscience*. 36: 6-36, 2005.

Chiu Y.C., Algom D., Whall A., Liang J., Liu H.C., Lin K.N., Wang P.N. "Getting lost: directed attention and executive functions in early Alzheimer's patients", *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 17: 174-80, 2004.

Diana R.A., Yonelinas A.P., Ranganath C. "Imaging recollection and familiarity in the medial temporal lobe: a three-component model", *Trends in Cognitive Sciences*, 11: 379-86, 2007.

Duvernoy H. "The human hippocampus. Functional anatomy vascularization and serial sections with MRI", Tercera edición, Springer, New-York, USA, 26-31, 2005.

Fairén A. "Cajal and Lorente de Nó in cortical interneurons: coincidences and progress", *Brain research reviews*, 55: 430-444, 2007.

Hernández J. "Simulador de la regulación de la concentración de calcio por rianodina e IP_3 ", Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 2015.

Hodgkin A.L., Huxley A.F. "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve", *The Journal of Physiology*, 117: 500-544, 1952.

Hoston J.R., Prince D.A. "A calcium-activated hyperpolarization follows repetitive firing in hippocampal neurons", *Journal of Neurophysiology*, 43:409-419, 1980.

Huerta P.T., Lisman J.E. "Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state". *Nature*, 364: 723, 1993.

Hutchen B., Yarom Y. "Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons", *Trends in Neurosciences*, 23: 216-222, 2000.

Ira F.S. "Fisiología Humana", Décima edición, 182-190, 2008.

Kay A., Wong R. "Calcium current activation kinetics in isolated pyramidal neurons of the CA1 region of the mature guinea-pig hippocampus", *Journal of Neurophysiology*, 392: 603-616, 1987.

Kuruba R., Hattiangady B., Shetty A.K. "Hippocampal neurogenesis and neural stem cells in temporal lobe epilepsy", *Epilepsy Behav* 14: 65-73, 2009.

Lacaille J.C., Muller A.L., Kunkel D.D., Schwartzkroin P.A. "Local circuit interactions between orient/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slice: electrophysiology and morphology", *Journal of Neurophysiology*. 7: 1979-1993, 1987.

Lim C., Blume H., Madsen J.R., Saper C. "Connections of the hippocampal formation in humans: I The Mossy Fiber Pathway", *Journal of Comparative Neurology*, 385:325-351, 1997.

Lisman J. "Bursts as a unit of neural information: making unreliable synapses reliable", *Trends Neuroscience*, 20: 38-43, 1997.

Lorinczi E., Posada G.J.C., De la Peña P., Tomczak A., Trillo F. J., Leipscher U, Stuhmer W, Barros F, Pardo A. L. "Voltage-dependent gating of KCNH potassium channels lacking a covalent link between voltage-sensing and pore domains", *Nature Communications*, 2015.

Lorente de Nó R. "Studies on the structure of the cerebral cortex II. Continuation of the study of the ammonic system", *Journal of Neurology and Psychology*, 46:113-177, 1934.

Rodríguez F., López J.C., Vargasa J.P., Broglia C., Gómez Y., Salas C. "Spatial memory and hippocampal pallium through vertebrate evolution: insight from reptiles and teleost fish", *Brain Research Bulletin*, 57: 499-503, 2002.

Silva R.A. "La educación virtual en México", *Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería y Ciencias Sociales y Administrativas*, 53-54,2010.

Sah P., Faber L. "Channels underlying neuronal calcium-activated potassium currents. *Prog. Neurobiol*", 66: 345-353, 2002.

Traub R.D., Jefferys J.G.R., Miles R., Whittington M.A., Tóth K. "A branching dendritic model of a rodent CA3 pyramidal neurone". *The Journal of Physiology*, 79-95, 1994.

Traub R.D., Miles R. "Neuronal networks of the hippocampus", Cambridge, NY, 1991.

Traub R.D., Wong R.K., Miles R., Michelson H. "A model of a CA3 hippocampal pyramidal neuron incorporating voltage-clamp data on intrinsic conductances", *The Journal of Neurophysiology*, 66, 1991.

Traub R.D., Wong R.K. "Cellular mechanism of neuronal synchronization in epilepsy", *Science*. 2016: 745-747, 1982.

Trinka E., Cock H., Hesdorffer D., Rossetti A.O., Scheffer I.E., Shinnar S., Shorvon S., Lowenstein D.H. "A definition and classification of status epilepticus – Report of the ILAE task force on classification of status Epilepticus", *Epilepsia*, 56:1515-123, 2015.

Vergara C., Latorre R., Marrion N.V, Aldeman J.P. "Calcium-activated potassium channels. *Curr. Neurobiol*", 8:321-329, 1998.

Wong R.K.S, Prince D.A. "Participation of calcium spikes during intrinsic burst firing in hippocampal neurons", *Brain Research*, 159: 385-90, 1978.

Yu H. F., Catterall A. W. "Overview of the voltage-gated sodium channel family", *Genoe Biol.* 4:207, 2003.

Zhao X., Lein ES., He A., Smith SC., Aston C., Gage FH. "Transcriptional profiling reveals strict boundaries between hippocampal subregions", *The Journal of Comparative Neurology*, 441: 187-196, 2001.