



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial

Modelado computacional del efecto de bombas,  
intercambiadores y cotransportadores iónicos en el  
potencial de acción neuronal

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería Biomédica

AUTOR/A: Valiente Vizcaíno, Pablo

Tutor/a: Ferrero de Loma-Osorio, José María

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



ESCUELA TÉCNICA  
SUPERIOR INGENIERÍA  
INDUSTRIAL VALENCIA

**TRABAJO FIN DE GRADO EN INGENIERÍA BIOMÉDICA**

# **MODELADO COMPUTACIONAL DEL EFECTO DE BOMBAS, INTERCAMBIADORES Y COTRANSPORTADORES IÓNICOS EN EL POTENCIAL DE ACCIÓN NEURONAL**

AUTOR: PABLO VALIENTE VIZCAÍNO

TUTOR: JOSÉ MARÍA FERRERO DE LOMA-OSORIO

**Curso Académico: 2021-22**



## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y a mi hermana por todas las facilidades que siempre me han dado.

A mi tutor Chema por el tiempo dedicado y por la motivación que me daba en cada reunión.

A mis amigas de Almansa por estar siempre ahí.



## **RESUMEN**

En los modelos matemáticos comúnmente utilizados para simular el comportamiento eléctrico de las neuronas, raras veces se incluyen las bombas iónicas (como la bomba sodio-potasio), intercambiadores iónicos (como el intercambiador sodio-calcio) y los cotransportadores iónicos (por ejemplo, el cotransportador cloro-potasio) en las ecuaciones de las corrientes eléctricas transmembrana. En este trabajo se ha desarrollado un software de simulación en entorno Matlab que incluya estas corrientes en un modelo de una neurona y se ha estudiado su efecto en las variaciones dinámicas en las concentraciones de los electrolitos. Para llegar a este software se han fusionado dos modelos diferentes realizando distintos estudios de sensibilidad. Finalmente se han obtenido dos posibles modelos uno con buena dinámica y otro con correcta magnitud de las corrientes. Se ha alcanzado en ambos casos un buen ajuste de la bomba de calcio y del transportador sodio-calcio. En el caso del cotransportador de cloro-potasio, la bomba sodio-potasio y el cotransportador cloro-potasio-sodio, se requerirían datos experimentales para poder mejorar el ajuste.

**Palabras Clave:** bioelectricidad; modelo computacional; neurona; bombas iónicas; intercambiadores iónicos; cotransportadores iónicos; potencial de acción; homeostasis



## RESUM

Als models matemàtics comunament utilitzats per a simular el comportament elèctric de les neurones, poques vegades s'inclouen les bombes iòniques (com la bomba sodi-potassi), intercanviadors iònics (com l'intercanviador sodi-calci) i els cotransportadors iònics (per exemple, el cotransportador clor-potassi) a les equacions de les corrents elèctriques transmembrana. A aquest treball s'ha desenvolupat un software de simulació en un entorn Matlab que inclogui aquestes corrents en un model d'una neurona i s'ha estudiat el seu efecte a les variacions dinàmiques a les concentracions dels electròlits. Per arribar a aquest software s'han fusionat dos models diferents realitzant diferents estudis de sensibilitat. Finalment s'han obtingut dos possibles models, un amb bona dinàmica i un altre amb correcta magnitud de les corrents. S'ha arribat a ambdós dos casos a un fructífer ajustament de la bomba de calci i del transportador sodi-calci. En el cas del cotransportador de cloro-potassi, la bomba sodi-potassi i el cotransportador clor-potassi-sodi encara està per afinar, es requereixen dades experimentals per a poder millorar l'ajustament.

**Paraules clau:** bioelectricitat; model computacional; neurona; bombes iòniques; intercanviadors iònics; cotransportadors iònics; potencial d'acció; homeostasis





## **ABSTRACT**

In the mathematical models commonly used to simulate the electrical behavior of neurons, ion pumps (such as the sodium-potassium pump), ion exchangers (such as the sodium-calcium exchanger), and ion cotransporters (such as the potassium-chloride cotransporter) are rarely included in the equations of the transmembrane electrical currents. This work aims to develop a simulation software package in Matlab that includes these currents in a model of a neuron and to study their effect on dynamic variations in electrolyte concentrations. In this work, a simulation software has been developed in Matlab which includes these currents in a model of a neuron, and also their effect on dynamic variations in electrolyte concentrations has been studied. This software is the result of merge two different models carrying out different sensitivity studies. Finally, two models have been obtained, one with good dynamics and the other with the correct magnitude of the currents. A good fit of the calcium pump and the sodium-calcium transporter has been achieved in both cases. In the case of the chlor-potassium cotransporter, the sodium-potassium pump, and the chlor-potassium-sodium cotransporter, experimental data is required to improve the fit.

**Keywords:** bioelectricity; computational model; neuron; ion pumps; ion exchangers; ionic cotransporters; action potential; homeostasis



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

|          |                                  |
|----------|----------------------------------|
| CaPump   | Bomba de Calcio                  |
| GABA     | Ácido gamma-aminobutírico        |
| imax     | Corriente máxima                 |
| KCC2     | Cotransportador de $K^+/Cl^-$    |
| NaCaX    | Intercambiador $Na^+/Ca^{2+}$    |
| Na/KPump | Bomba de Sodio-Potasio           |
| NKCC1    | Cotransportador $Na^+/K^+/2Cl^-$ |
| SNC      | Sistema nervioso central         |
| SNP      | Sistema nervioso periférico      |



## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.1.</b> Morfología de una neurona clásica y sus elementos .....  | 4  |
| <b>Figura 1.2.</b> esquema de una neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5 .....   | 5  |
| <b>Figura 1.3.</b> Mecanismos de transporte iónico, diferenciando entre mecanismos activos: bombas, y mecanismos pasivos canales iónicos, intercambiadores y cotransportadores .....  | 8  |
| <b>Figura 1.4.</b> Relación entre el tiempo y la intensidad de estimulación, y la representación gráfica de los dos tipos de respuesta .....  | 8  |
| <b>Figura 1.5.</b> Potencial de acción y sus fases .....  | 9  |
| <b>Figura 1.6.</b> Propagación de los potenciales de acción a lo largo de todo el axón en ambas direcciones .....   | 10 |
| <b>Figura 1.6.</b> Mecanismos iónicos para mantener la homeostasis: KCC2, NKCC1, NaCaX, Canales iónicos, Corrientes de fuga, Bomba de Ca y Bomba de Na/K .....  | 11 |
| <b>Figura 1.7.</b> Esquema eléctrico de una neurona, formada por distintos canales iónicos, bombas, intercambiadores, cotransportadores y la capacidad de su membrana .....   | 12 |
| <b>Figura 4.1.</b> Estructura del código, mostrando el contenido de la entrada, las variables del módulo principal y las salidas de este .....  | 17 |
| <b>Figura 4.1.</b> Detalles de longitud y compartimentación de la neurona. Presentándose en primero lugar la morfología de la neurona. En segundo lugar, su compartimentación y finalmente, en tercer lugar, la longitud de cada de las partes en las que la neurona está dividida .....  | 19 |
| <b>Figura 5.1.</b> Comparación de la simulación con los datos originales y el primer ajuste para el KCC2. (A) Representa la componente de potasio cuando la corriente máxima es $3000 \mu A/cm^2$ con una dinámica rápida en los nodos de Ranvier (curva roja). (B) Representa la componente de potasio del KCC2 cuando la corriente máxima es $3000 \mu A/cm^2$ con una dinámica más lenta y estable. (C) Concentración intracelular de potasio para la corriente máxima original produciendo en los nodos de Ranvier una tendencia a la concentración nula. (D) Concentración intracelular de potasio para la corriente máxima modificada relajando la tendencia en los nodos ..... | 26 |
| <b>Figura 5.2.</b> Gráficas resultado del cambio de la corriente máxima para la bomba Na/K. (A) Potenciales de acción en el nodo 6. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación de la bomba. (B) Corriente de sodio causada por la bomba siendo cada curva un compartimento y el conjunto de líneas que descienden los nodos de Ranvier. (C) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento. (D) Corriente de potasio causada por la bomba siendo cada  |    |

curva un compartimento y el conjunto de líneas que asciende los nodos de Ranvier. (E) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento ..... 27

**Figura 5.3.** Gráficas resultado del cambio de la corriente máxima para la bomba de calcio. (A) La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación de la bomba. (B) Corriente de calcio causada por la bomba para los 3 primeros compartimentos. (C) Concentración intracelular de sodio para los 3 primeros compartimentos. .... 28

**Figura 5.4.** Gráficas resultado de incorporar únicamente el NKCC1. (A) Componente de potasio de la corriente generada por el NKCC1 resultado de la simulación con los valores originales siendo la línea amarilla los nodos de Ranvier. (B) Componente de potasio de la corriente generada por el NKCC1 resultado de la simulación con los valores modificados. (C) Concentración intracelular de potasio, siendo la línea roja los nodos de Ranvier. (D) Concentración intracelular de potasio para cada compartimento. (E) Concentración intracelular de sodio, siendo la línea roja los nodos de Ranvier. (F) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento ..... 30

**Figura 5.5.** Gráficas de la incorporación del intercambiador NaCaX con el primer ajuste a la neurona original. (A) La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación del NaCaX. (B) Corriente de sodio causada por el intercambiador en los tres primeros compartimentos. (C) Concentración intracelular de sodio para los tres primeros compartimentos ..... 31

**Figura 5.6.** Gráficas resultado de la primera fase del segundo ajuste en la que se juntan todos los mecanismos iónicos en un modelo. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con todas las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio en el nodo 6. (C) concentración intracelular de sodio en el nodo 6. (D) Concentración intracelular de calcio en los tres primeros nodos ..... 33

**Figura 5.7.** Gráficas de la relacion del orden de las corrientes con su corriente máxima ..... 35

**Figura 5.8.** (A) Concentración intracelular de potasio cuando  $imax\_KCC2$  tiene el valor de  $3 \mu A/cm^2$ . (B) Concentración intracelular de sodio cuando  $imax\_NaKPump$  tiene el valor de  $0.024 \mu A/cm^2$ . (C) Concentración intracelular de sodio cuando  $imax\_NKCC1$  tiene el valor de  $10 \mu A$  ..... 35

**Figura 5.9.** graficas comparativas del efecto de modificar las corrientes maximas de NaCaX o CaPump. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con  $imax\_CaPump$  con valor  $0.6 \mu A/cm^2$ . (B) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con  $imax\_NaCaX$  con valor  $0.01 \mu A$ . (C) Corriente de calcio generada por el NaCaX al modificar  $imax\_CaPump$ . (D) Corriente de calcio generada por el NaCaX al modificar  $imax\_NaCaX$ . (E) Concentración intracelular de calcio al modificar  $imax\_CaPump$ . (F) Concentración intracelular de calcio al modificar  $imax\_NaCaX$  ..... 37

**Figura 5.10.** Gráficas resultado de la simulacion con los datos de la Tabla 5.5. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales

iónicos; la curva roja representa el potencial con las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (C) Concentración intracelular de sodio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (D) Concentración de calcio intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos ..... 39

**Figura 5.11.** Gráficas de las corrientes iónicas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.5, donde la curva azul oscuro representa el nodo de Ranvier 6. (A) Corriente de potasio generada por el cotrasportador KCC2. (B) Corriente de potasio generada por el cotransportador NKCC1. (C) Corriente de potasio generada por la bomba Na/K. (D) Corriente de sodio generada por la bomba Na/K ..... 40

**Figura 5.12.** Gráficas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.6. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (C) Concentración intracelular de sodio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (D) Concentración de calcio intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos ..... 41

**Figura 5.13.** Gráficas de las corrientes iónicas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.6, donde la curva azul oscuro representa el sexto nodo de Ranvier. (A) Corriente de potasio generada por el cotrasportador KCC2. (B) Corriente de potasio generada por el cotransportador NKCC1. (C) Corriente de potasio generada por la bomba Na/K. (D) Corriente de sodio generada por la bomba Na/K ..... 42

**Figura 5.14.** Gráficas resultado de incluir los datos de la Tabla 5.5 o de la Tabla 5.6. (A) Corriente de calcio generada por el intercambiador NaCaX. (B) Corriente de sodio generada por el intercambiador NaCaX. (C) Corriente de calcio generada por la bomba de calcio ..... 43

**Figura 5.15.** Potencial de membrana del nodo de Ranvier 6 resultante del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5) ..... 47

**Figura 5.16.** Evolución de la concentración intracelular de calcio intracelular en los tres primeros compartimentos. En el azul el primer compartimento, en rojo el segundo y en verde el tercero. Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5) ..... 47

**Figura 5.17.** Concentración intracelular de potasio en todos los nodos (azul claro) y señalado el nodo 6 (azul oscuro). Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5) .... 48

**Figura 5.18.** Concentración intracelular de sodio, señalado en rojo la evolución en el compartimento 40 (nodo de Ranvier 19) y en azul oscuro el nodo 6. Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5) ..... 48

**Figura 5.19.** Potencial de membrana del nodo de Ranvier 6 resultante del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6) ..... 49

**Figura 5.20.** Evolución de la concentración intracelular de calcio intracelular en los tres primeros compartimentos. En el azul el primer compartimento, en rojo el segundo y en verde el tercero. Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6) ..... 49

**Figura 5.21.** Concentración intracelular de potasio en todos los nodos (azul claro) y señalado el nodo 6 (azul oscuro). Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6).. 50



**Figura 5.22.** Concentración intracelular de sodio, señalado en azul oscuro el nodo de Ranvier 6.  
Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6) ..... 50

## **LISTA DE TABLAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 4.1.</b> Corrientes iónicas generadas por los canales voltaje dependientes .....   | 20 |
| <b>Tabla 4.2.</b> Valores de los parámetros del KCC2 .....  | 21 |
| <b>Tabla 4.3.</b> Valores de los parámetros de la bomba Na/K .....  | 21 |
| <b>Tabla 4.4.</b> Valores de los parámetros para la bomba de calcio .....   | 22 |
| <b>Tabla 4.5.</b> Valores de los parámetros del NaCaX .....   | 22 |
| <b>Tabla 4.6.</b> Valores de los parámetros del NKCC1 .....   | 23 |
| <b>Tabla 5.1.</b> Tabla resumen de la modificación de los valores de la corriente máxima .....  | 29 |
| <b>Tabla 5.2.</b> Comparativa de valores de parámetros del cotransportador NKCC1 .....  | 29 |
| <b>Tabla 5.3.</b> Tabla del estudio de sensibilidad .....   | 34 |
| <b>Tabla 5.4.</b> Valores de las corrientes máximas para conseguir que los órdenes de sus respectivas corrientes sean de $10^{-4}$ .....            | 38 |
| <b>Tabla 5.5.</b> Valores de las corrientes máximas para conseguir que las dinámicas de las corrientes y de las concentraciones sean mejores .....  | 38 |
| <b>Tabla 5.6.</b> Valores de las corrientes máximas para conseguir una dinámica y una magnitud en las corrientes y concentraciones aceptables ..... | 38 |
| <b>Tabla 5.7.</b> Estudio de sensibilidad para los mecanismos iónicos KCC2, Na/Pump y NKCC1 .....   | 44 |
| <b>Tabla 1.1.</b> Costes de personal del trabajo .....  | 62 |
| <b>Tabla 1.2.</b> Costes materiales del trabajo .....   | 63 |
| <b>Tabla 1.3.</b> Costes totales del trabajo .....  | 63 |



# ÍNDICE

## DOCUMENTOS CONTENIDOS EN EL TFG

- Memoria
- Presupuesto

## ÍNDICE DE LA MEMORIA

|  |    |
|--|----|
| Capítulo 1: Motivación, antecedentes y justificación .....       | 1  |
| Capítulo 2: Introducción .....                                   | 3  |
| 2.1. El sistema nervioso .....                                   | 3  |
| 2.1.1. Neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5 ..... | 4  |
| 2.2. La electrofisiología de la neurona .....                    | 6  |
| 2.2.1. El potencial de acción .....                              | 8  |
| 2.2.2. Circuito eléctrico equivalente.....                       | 11 |
| Capítulo 3: Objetivos .....                                      | 15 |
| Capítulo 4: Desarrollo de software .....                         | 17 |
| Capítulo 5: Resultados y discusión .....                         | 25 |
| 5.1. Primer ajuste.....  | 25 |
| 5.2. Segundo ajuste .....  | 32 |
| 5.3. Tercer ajuste .....   | 43 |
| 5.4. Simulación final.....                                       | 45 |
| Capítulo 6: Conclusiones .....                                   | 51 |
| Capítulo 7: Limitaciones y líneas de trabajo futuras.....        | 53 |
| Capítulo 8: Anexos .....   | 55 |
| 8.1. Código de MATLAB .....                                      | 55 |
| Capítulo 9: Referencias .....                                    | 57 |

**ÍNDICE DEL PRESUPUESTO**

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 1. Objetivo.....                    | 62 |
| 2. Costes parciales.....            | 62 |
| 2.1. Costes de personal.....        | 62 |
| 2.1. Costes materiales.....         | 62 |
| 3. Costes totales del proyecto..... | 63 |

# MEMORIA



# **CAPÍTULO 1. MOTIVACIÓN, ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN**

El sistema nervioso es uno de los sistemas más complejos del cuerpo humano por llevar a cabo diversas funciones y estar compuesto por billones de neuronas interrelacionadas. Estas células probablemente sean las más diferenciadas y especializadas, por lo que estudiar en profundidad su comportamiento es complejo. Sin embargo, puede ayudar a diseñar mejores terapias o mejorar las ya existentes.

Las neuronas son incapaces de realizar mitosis una vez han madurado. Sin embargo, como el resto de las células del cuerpo humano, pueden morir por apoptosis o por necrosis. En el caso de la apoptosis, ésta es necesaria para que nuestro cuerpo tenga un desarrollo óptimo, por lo que se entiende como una muerte programada. Sin embargo, la necrosis se debe a factores externos como lesiones, intoxicaciones o infecciones. En cualquier caso, la neurona es incapaz de reponerse. Por lo tanto, es fundamental estudiar si existe la posibilidad de encontrar una alternativa ante esta incapacidad.

Este trabajo es la continuación de un Trabajo Final de Máster anterior: ‘Modelado y simulación computacional de la electroestimulación de neuronas piramidales in vitro’ (Serrano, 2020), donde se consiguió realizar un modelo detallado de ocho tipos diferentes de neuronas, auto excitables y no auto excitables. Mientras en este trabajo, tomando el artículo (Lewin et al., 2012), se añaden nuevas dinámicas al traspaso de iones a través de la incorporación al modelo de bombas, intercambiadores y co-transportadores iónicos, con el objetivo de tener un modelo que se acerque más a la realidad.

El desarrollo de este trabajo supone un avance necesario puesto que, a diferencia de los modelos cardiacos, que ya han alcanzado un alto nivel de refinamiento, los modelos neurológicos aún están por desarrollar completamente.

Entre las competencias específicas descritas en el Grado de Ingeniería Biomédica impartido en la Universidad Politécnica de Valencia se encuentra la número 14, que indica:

*“Capacidad de desarrollar, programar y aplicar métodos matemáticos en el análisis, la modelización y la simulación del funcionamiento de los seres vivos y de los sistemas y procesos utilizados en biología y medicina”.*

Entre otras capacidades relacionadas con la Ingeniería Biomédica, es esta competencia la que justifica y se desarrolla en el presente Trabajo Fin de Grado.





# CAPÍTULO 2. INTRODUCCIÓN

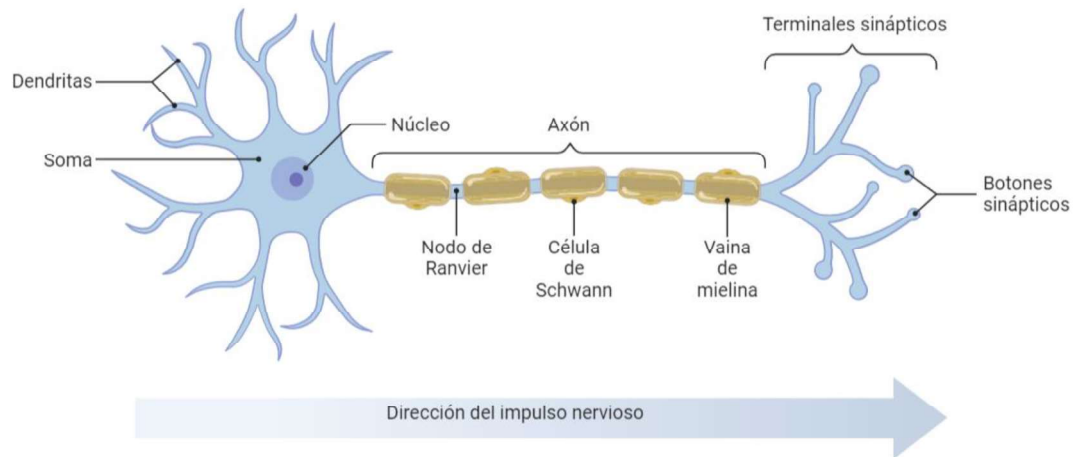
## **2.1. EL SISTEMA NERVIOSO**

El entorno que nos rodea conecta de manera inmediata con nuestros receptores periféricos especializados, proporcionándonos información que posteriormente será analizada por nuestro sistema nervioso central (SNC). El procesamiento de esta información tiene tres posibles finales que pueden estar interrelacionados: el almacenamiento en la memoria, la contracción de musculatura esquelética o lisa, y la secreción endocrina o exocrina. Estas funciones u objetivos finales son realizados gracias a las neuronas y su coordinación mediante sus interconexiones, o “sinapsis” (Tresguerres, 2005).

La neurona es la unidad básica funcional del SNC (Guyton & Hall, 2011). Morfológicamente una neurona está formada por cuatro regiones: el cuerpo celular o soma, las dendritas, el axón y los terminales sinápticos (Tresguerres, 2005). Las neuronas se diferencian del resto de células, por una parte, por su capacidad para excitarse ante estímulos externos y, por otra parte, por su habilidad para conducir esta excitación. Cada una de las regiones señaladas previamente tiene un papel específico y esencial en el desarrollo de estas funciones (Haines, 1997).

El soma es el centro metabólico de la neurona, y las dendritas son sus arborizaciones generalmente encargadas de la recepción de señales. El axón es una estructura tubular, que pudiendo alcanzar distancias considerables, juega un papel fundamental en la conducción. Este puede engrosarse si se rodea de una vaina aislante (vaina de mielina), proporcionada por las células de Schwann en el sistema nervioso periférico (SNP) o por los oligodendrocitos en el SNC. Las vainas de mielina y sus interrupciones (nodos de Ranvier) en los nervios periféricos son fundamentales para una conducción a alta velocidad. El axón como se muestra en la Fig. 1.1 une el soma y los terminales sinápticos, los cuales se encargan de la transmisión de señales (Tresguerres, 2005).

Por lo tanto, se deduce que existen dos áreas en la neurona: la zona presináptica, emisora de información, y la zona postsináptica, receptora de esta. La interacción de estas zonas entre neuronas físicamente cercanas da lugar a la sinapsis, produciéndose así la transmisión de información (Tresguerres, 2005).



**Figura 1.1.** Morfología de una neurona clásica y sus elementos. Fuente: Elaboración propia

Existen dos tipos de sinapsis según el tipo de transmisión de señal: sinapsis química y sinapsis eléctrica. El primer tipo predomina en el SNC y en ellas la primera neurona segrega una sustancia química denominada neurotransmisor a través de los botones sinápticos, que son ensanchamientos de los terminales sinápticos. Estos neurotransmisores son captados por proteínas receptoras en la membrana para excitar, inhibir o modificar la sensibilidad de la siguiente neurona. Los más conocidos son: la acetilcolina, la noradrenalina, la adrenalina, la histamina, el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), la glicina, la serotonina y el glutamato. En cambio, las sinapsis eléctricas se caracterizan por emplear canales fluidos abiertos que conducen de manera directa la electricidad de una célula a la siguiente (Guyton & Hall, 2011).

Estas sinapsis permiten la transmisión del impulso nervioso o potencial de acción en sucesiones de neuronas. No obstante, cada transmisión puede: 1) quedar bloqueada, 2) crear una cadena repetitiva, o 3) originar patrones muy complejos integrándose con otros impulsos (Guyton & Hall, 2011).

La sinapsis es un método de estimulación neuronal *in vivo* que pudo ser confirmado gracias a modelos y técnicas *in vitro*. El desarrollo de estas nuevas técnicas experimentales, como la técnica de fijación de potencial (*voltage clamp*) con microelectrodos y la técnica de *patch-clamp*, ha permitido registrar diferentes corrientes iónicas asociadas a potenciales sinápticos (Tresguerres, 2005).

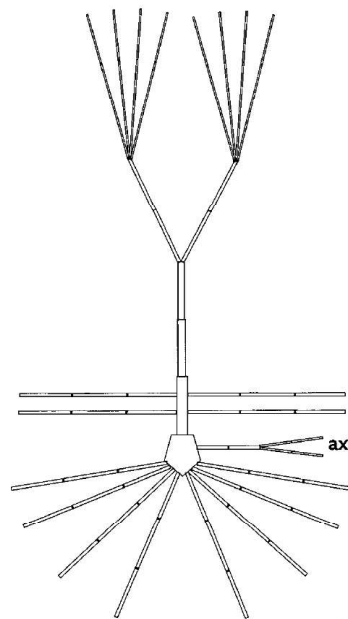
### 2.1.1. Neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5.

Las neuronas piramidales de estallido intrínseco de capa 5 se denominan así por estar localizadas en la capa profunda 5 (5B) del neocórtex. Estas neuronas se caracterizan por un soma con forma piramidal, dos zonas dendríticas con origen en la base y ápex del soma, y un solo axón con múltiples ramas colaterales, que más adelante se bifurcan numerosas veces dentro del neocórtex. Esta morfología se puede observar en la Fig. 1.2 (Ramaswamy & Markram, 2015).

Estas neuronas reciben un gran volumen de sinapsis glutamatérgicas directamente sobre las dendritas bases, apicales y oblicuas, mientras que las sinapsis GABAérgicas son recibidas

principalmente por el soma, las dendritas proximales, el segmento inicial del axón y los terminales sinápticos (Ramaswamy & Markram, 2015).

La fisiología de las dendritas de estas neuronas piramidales ejerce una profunda influencia en la transformación de la sinapsis a un potencial de acción, involucrando a canales iónicos voltage-dependientes, propiedades regenerativas e integración de gradientes en compartimentos a nivel individual. El axón posee ramas colaterales primarias como se observa en la Fig. 1.2 y estas son amielínicas, puesto que la mielina se va progresivamente estableciendo en ramas de mayor orden. Las funciones principales de este axón es iniciar y propagar el potencial de acción, la integración de señales y la regulación del mecanismo de excitación-relajación (Ramaswamy & Markram, 2015).



**Figura 1.2.** Esquema de una neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5. Fuente: (Ramaswamy & Markram, 2015)

Estas neuronas mayormente responden a inyecciones de corrientes somáticas de despolarización con un patrón claro de *spikes* a alta frecuencia, aunque también pueden responder disparando una ráfaga de potenciales de acción. Durante estas ráfagas se mejora el emparejamiento por sinapsis de este tipo de neuronas a través de distintos mecanismos de amplificación pre y postsinápticos (Ramaswamy & Markram, 2015).

En cuanto a los mecanismos iónicos con mayor importancia encontramos los canales de calcio que con su activación en las dendritas juegan un papel fundamental en los potenciales de acción en ráfaga, y los canales de sodio que generan una corriente persistente en los nodos de Ranvier facilitando así el disparo. Además, si se profundiza en la fisiopatología de estas neuronas, el cotransportador de  $K^+/Cl^-$  (KCC2) es una pieza imprescindible por su relación con las respuestas hiperpolarizantes GABA. Concretamente la baja regulación del KCC2 en casos de neocórtex dañados crónicos puede generar epileptogénesis aguda en estas células (Ramaswamy & Markram, 2015).

## 2.2. LA ELECTROFISIOLOGÍA DE LA NEURONA

La membrana celular aparte de proporcionar estructura a las neuronas, juega un papel imprescindible en su electrofisiología. La membrana puesto que es una bicapa lipídica tiene naturaleza hidrófoba y esto impide que a través de ella traspasen libremente los iones cargados en disolución. Por lo tanto, su equivalente electrónico sería un condensador con una capacidad relativamente alta, aproximadamente  $1\mu\text{F}/\text{cm}^2$  (Plonsey & Barr, 2007).

La membrana permite que exista una diferencia de concentraciones entre el medio extracelular y el intracelular. Así, el potasio ( $\text{K}^+$ ) está 56 veces más concentrado dentro que fuera de la neurona, mientras que el cloro ( $\text{Cl}^-$ ) y el sodio ( $\text{Na}^+$ ) están 33 y 13 respectivamente más concentrados fuera que dentro. En el caso del ion de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), aunque hay una gran cantidad de este dentro de la célula, la existencia de unas estructuras que lo secuestran, genera que el medio extracelular posea una concentración 20 000 veces mayor que el medio intracelular (Tresguerres, 2005).

La separación de estos iones cargados genera fuerzas de difusión desde la zona de mayor concentración de iones a la que haya menos, y fuerzas de campo eléctrico por la carga eléctrica de los iones. En consecuencia, se genera una diferencia de potencial a ambos lados de la membrana, a la cual se le denomina potencial de membrana. Este potencial en condiciones normales de reposo tiene un valor aproximadamente de  $-70\text{mV}$ .

La ecuación de Nerst (1.1) nos permite hallar el valor de potencial de equilibrio para cada uno de los iones, es decir, los potenciales de membrana necesarios para contrarrestar la tendencia de cada ion a cruzar la membrana de acuerdo con su gradiente químico (Tresguerres, 2005).

$$E_S = \frac{RT}{z_S F} \ln \frac{[S]_{out}}{[S]_{in}} \quad (1.1)$$

Para cuantificar el movimiento y establecer el sentido para cada ion cuando ocurren cambios en el potencial de membrana se emplea la ley de Ohm. De modo que, como se muestra en la ecuación 1.2, por medio del producto entre la diferencia del potencial de membrana y el potencial de equilibrio del ion, y la conductancia del ion (inverso de la resistencia eléctrica de la membrana), se puede calcular la corriente iónica para cada ion (Tresguerres, 2005).

$$I_S = \gamma_S (V_m - E_S) \quad (1.2)$$

Sin embargo, los iones son capaces de penetrar en el medio intracelular por medio de canales iónicos, intercambiadores, co-transportadores y bombas. Estos mecanismos de conducción iónica son proteínas incrustadas en la membrana y se regulan mediante señales eléctricas activadas por voltaje o por la unión de sustancias químicas (ligandos). Cabría diferenciar que estos mecanismos pueden ser activos o pasivos, según la necesidad de aporte de energía para

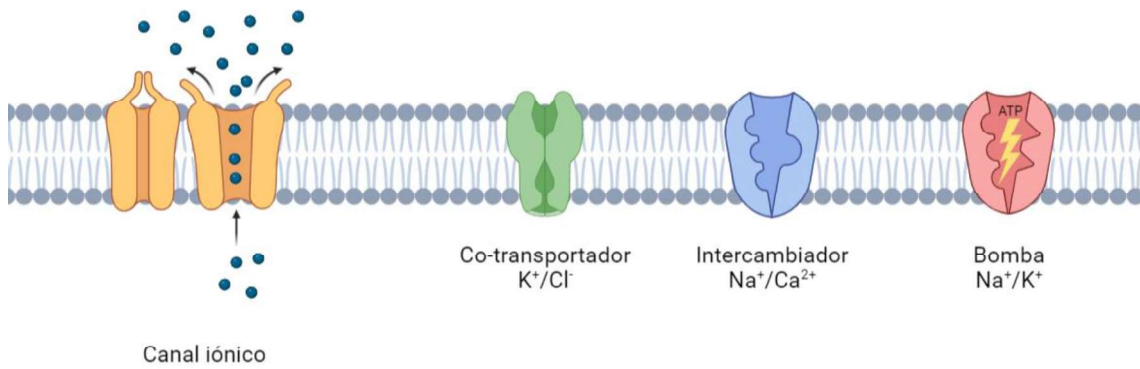
realizar su función. Como se muestra en la Fig. 1.3, los canales iónicos, los intercambiadores y los co-transportadores son mecanismos que no requieren energía (pasivos), mientras las bombas sí que la precisan (activos) (Ferrero, 2020).

Los canales iónicos están constituidos por un poro central que cuando se encuentra abierto circulan selectivamente los iones gracias a las fuerzas de difusión y de campo eléctrico. Las primeras están causadas por la diferencia de concentraciones entre el medio extracelular e intracelular, por lo que su sentido se mantiene constante, a diferencia de las fuerzas de campo eléctrico que al depender del potencial de membrana está condicionado por el potencial de acción (Ferrero, 2020).

Las diferentes proteínas-canal pueden desplazarse y girar como respuesta a cambios en el potencial de membrana. En consecuencia, a estos movimientos, un canal puede abrirse o cerrarse en función de sus compuertas que se abren o se cierran al variar el potencial de membrana. Si la compuerta tiende a abrirse al crecer el potencial de membrana, se trata de una compuerta de activación, en cambio si la compuerta tiende a cerrarse al crecer el potencial, es una compuerta de inactivación. La presencia de más de una compuerta en los canales iónicos explica las diferentes dinámicas que pueden haber incluso dentro de una misma familia de canales iónicos (Ferrero, 2020).

El resto de los mecanismos de conducción iónica: bombas, intercambiadores y co-transportadores, se encargan de establecer y mantener los gradientes de concentración iónica a través de la membrana (Ferrero, 2020). Entre estas estructuras, que resultan esenciales en este Trabajo Fin de Grado, encontramos:

- Bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ : constituye el mecanismo básico de introducción de  $\text{K}^+$  y de extracción de  $\text{Na}^+$  en una célula. Introduce dos iones de potasio y extrae tres de sodio en contra del gradiente de concentración, por lo que necesita energía la cual extrae por la desfosforilación del ATP (Ferrero, 2020).
- Intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ : constituye el mecanismo básico de extracción de  $\text{Ca}^{2+}$  de una célula. Introduce tres iones de  $\text{Na}^+$  y extrae un ion de  $\text{Ca}^{2+}$ , a favor de gradiente y en consecuencia sin aporte de energía (Ferrero, 2020).
- Cotransportador  $\text{K}^+/\text{Cl}^-$  (KCC2): constituye el mecanismo básico de extracción de  $\text{Cl}^-$  de una célula. Aprovecha que el potasio está a favor de gradiente para extraer un ion de cloro junto a otro de potasio, sin aporte de energía (Ferrero, 2020).
- Bomba de  $\text{Ca}^{2+}$ : constituye un mecanismo básico de extracción de  $\text{Ca}^{2+}$ . Para extraer el ion de calcio, dado que se hace en contra del gradiente de concentraciones, necesita el aporte de energía proporcionado por la desfosforilación del ATP.
- Cotransportador  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$  (NKCC1): constituye un mecanismo básico de introducción de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en la célula. Aprovecha que el sodio está a favor de gradiente electroquímico para introducir un ion de sodio, un ion de potasio y dos de cloro, sin necesidad de energía en forma de ATP.

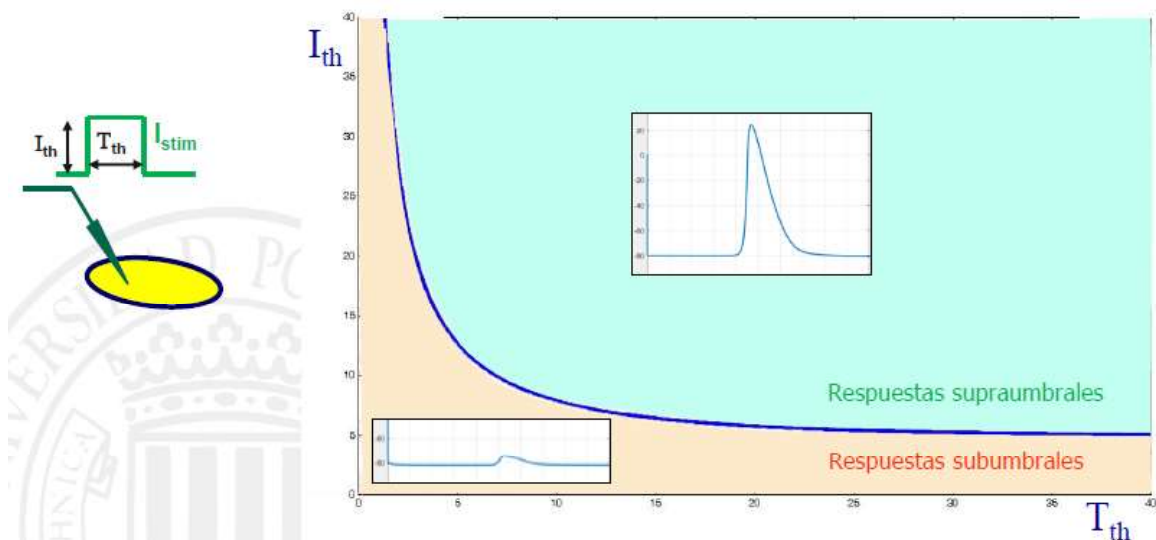


**Figura 1.3.** Mecanismos de transporte iónico, diferenciando entre mecanismos activos: bombas, y mecanismos pasivos canales iónicos, intercambiadores y cotransportadores. Fuente: Elaboración propia.

### 2.2.1. El potencial de acción.

Las señales nerviosas se transmiten mediante potenciales de acción que son cambios rápidos del potencial de membrana (Guyton & Hall, 2011). Estos potenciales tienen diferentes morfologías y duraciones como consecuencia de la interacción entre los distintos canales iónicos y la presencia de diferentes números y combinaciones de compuertas en ellos (Ferrero, 2020).

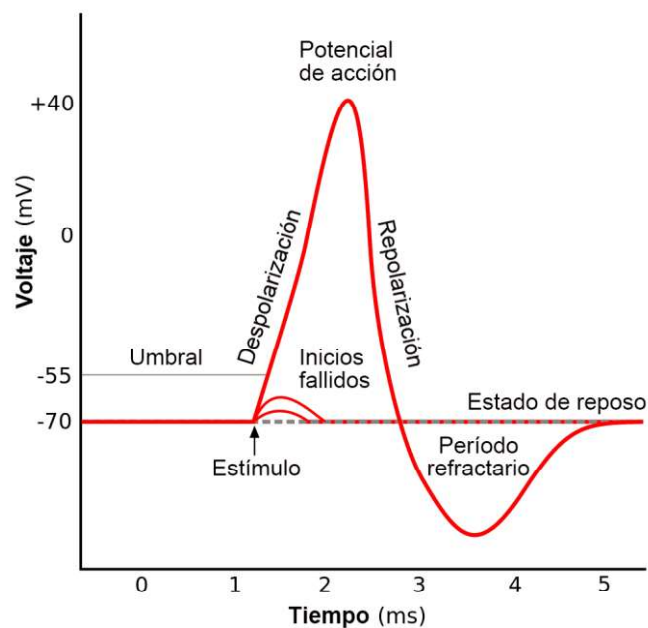
Para que se genere un potencial de acción se debe de pasar un umbral de excitabilidad. Por lo tanto, que la respuesta sea supraumbral o subumbral depende de la relación entre la duración del estímulo y de su amplitud (Fig. 1.4) (Ferrero, 2020).



**Figura 1.4.** Relación entre el tiempo y la intensidad de estimulación, y la representación gráfica de los dos tipos de respuesta. Fuente: (Ferrero, 2020)

Cuando se estimula la neurona con el suficiente estímulo las fases del potencial de acción que se generan en una neurona son las siguientes (Fig. 1.5) (Guyton & Hall, 2011):

- Fase de reposo: es el estado de comienzo en el que la membrana está polarizada puesto que se encuentra con un potencial de membrana de  $-69\text{mV}$ . Esto es porque la conductancia de los iones de  $\text{K}^+$  es de 50 a 100 veces mayor que la conductancia a los iones de  $\text{Na}^+$ , a través de los canales de fuga (Guyton & Hall, 2011).
- Fase de despolarización: en este momento se produce la entrada masiva de iones de sodio debido a que la membrana se hace súbitamente muy permeable a estos iones, aumentando la conductancia al sodio en varios miles de veces. Esto genera que inmediatamente el potencial aumente en dirección positiva (Guyton & Hall, 2011).
- Fase de repolarización: Al cabo de unas pocas diezmilésimas de segundo de que la membrana se haya hecho permeable al sodio, los canales de este ion comienzan a cerrarse. El inicio del potencial de acción también produce activación de los canales de potasio, pero estos se abren más lentamente. De este modo, se consigue restablecer el potencial de membrana en reposo negativo normal (Guyton & Hall, 2011).
- Periodo refractario: se produce cuando tras la fase de repolarización el potencial de membrana ha disminuido a valores inferiores a los de reposo, impidiendo así que la neurona conduzca otro estímulo. Transcurrido este periodo se vuelve a las condiciones iniciales de potencial de reposo (Ferrero, 2020).

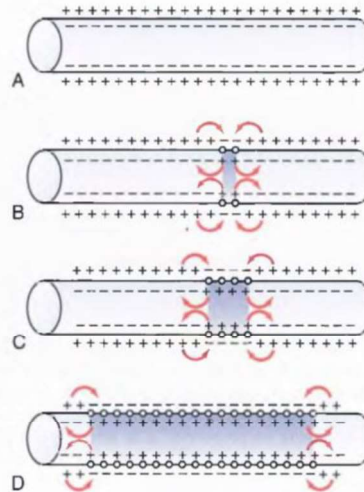


**Figura 1.5.** Potencial de acción y sus fases. Fuente: (de Vicente, 2020).

El proceso explicado hasta ahora consigue que en una porción de la neurona y de manera muy rápida, la carga total sea más positiva en el interior y más negativa alrededor, pero un potencial de acción habitualmente también es capaz de propagarse en zonas adyacentes. Esto es posible porque las cargas positivas (iones de  $\text{Na}^+$ ) son desplazadas por difusión hacia dentro de la membrana y posteriormente unos milímetros en ambos sentidos a lo largo del axón (Fig. 1.6). Por lo tanto, la dirección de propagación del potencial de acción no es única, sino que viaja en



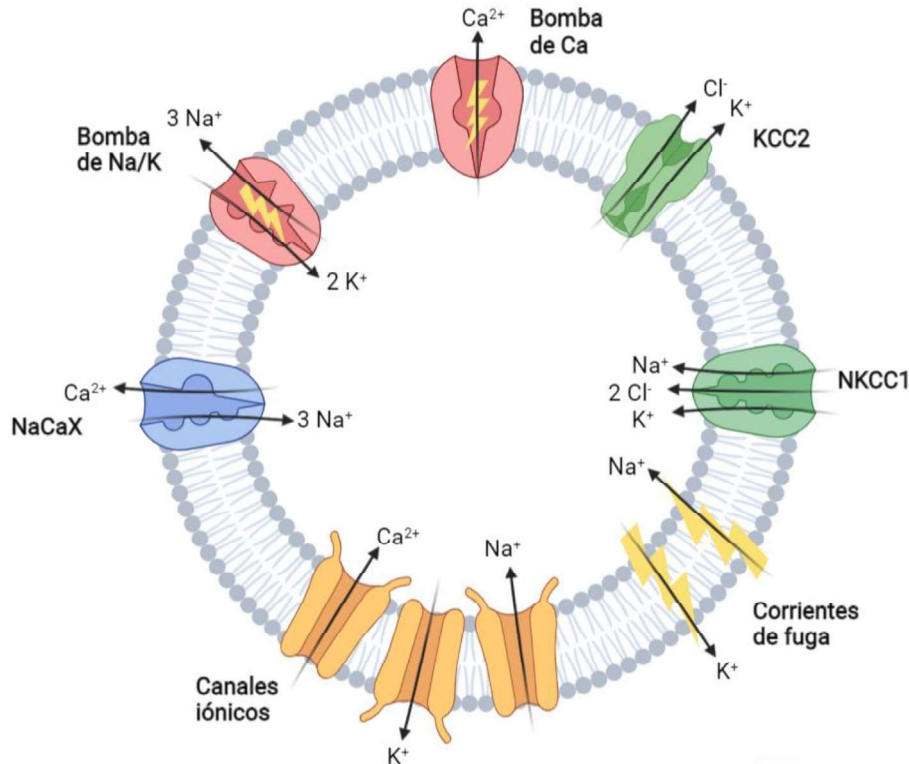
todas las direcciones alejándose del estímulo hasta que se consigue despolarizar toda la membrana. Para que se produzca esta propagación se deben de cumplir las condiciones adecuadas siguiendo el *principio del todo o nada*, de modo que si se cumplen el proceso de despolarización viajará por toda la membrana, o no viajará en absoluto si no se cumplen (Guyton & Hall, 2011).



**Figura 1.6.** Propagación de los potenciales de acción a lo largo de todo el axón en ambas direcciones.  
Fuente: (Guyton & Hall, 2011)

La propagación de cada potencial de acción y la vuelta al estado de reposo reduce la diferencia de concentraciones entre el exterior y el interior de la membrana de sodio y potasio por la dirección de difusión de ambos iones. Sin embargo, este efecto a nivel de un solo potencial es ínfimo, de hecho se pueden transmitir entre 100.000 y 50 millones de impulsos en fibras nerviosas grandes antes de que la diferencia de concentraciones alcance el punto de que se interrumpa la conducción del potencial de acción. Por lo tanto, con el tiempo es necesario mantener un cierto equilibrio entre la diferencia de concentraciones de los iones de la célula, en especial del sodio y del potasio (Guyton & Hall, 2011).

Tras un potencial de acción es fundamental que se mantenga la homeostasis iónica de la neurona. Como se observa en la Fig. 1.7, hay diferentes mecanismos para asegurar la homeostasis de cada ion: 1) para el  $\text{Na}^+$  se introducen iones mediante sus canales iónicos, su corriente de fuga y el intercambiador  $\text{Na}/\text{Ca}$  ( $\text{NaCaX}$ ) y se extraen mediante la bomba  $\text{Na}/\text{K}$  y el transportador de  $\text{Na}$  dependiente de  $\text{K}$  y  $\text{Cl}$  ( $\text{NKCC1}$ ); 2) para el  $\text{K}^+$  los iones se introducen vía el transportador  $\text{NKCC1}$  y la bomba  $\text{Na}/\text{K}$  y se extraen por medio de sus canales voltaje dependientes, su corriente de fugas y el transportador  $\text{KCC2}$ ; 3) para el  $\text{Cl}^-$  hay intercambio iónico hacia dentro de la célula mediante el transportador  $\text{NKCC1}$  y los canales  $\text{GABA}_A$  y hacia fuera mediante el intercambiador  $\text{KCC2}$ ; y 4) para el  $\text{Ca}^{2+}$  se introducen iones con sus canales y se extraen por medio del intercambiador  $\text{NaCaX}$  y la bomba de  $\text{Ca}$ . (Lewin et al., 2012).



**Figura 1.7.** Mecanismos iónicos para mantener la homeostasis: KCC2, NKCC1, NaCaX, canales iónicos, corrientes de fuga, Bomba de Ca y Bomba de Na/K. Fuente: Elaboración propia.

### 2.2.2. Circuito eléctrico equivalente.

El potencial de membrana de una neurona no es un fenómeno local sino que es una función del tiempo y del espacio, como muestra la ecuación 1.3, de modo que permite medir la velocidad de propagación entre dos puntos del axón, su eje longitudinal ( $z$ ).

$$V_m = V_m(z, t) \quad (1.3)$$

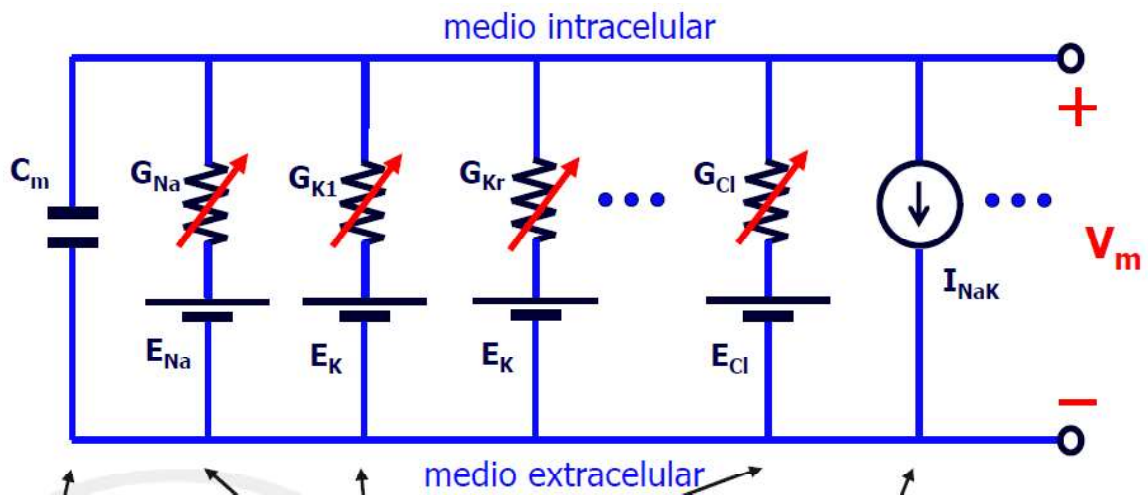
El circuito electrónico equivalente de una neurona se conforma combinando en paralelo: las ramas de las diferentes familias de canales iónicos, las ramas de las bombas, intercambiadores y co-transportadores, y la rama de la capacidad de membrana celular (Ferrero, 2020).

Para una familia de canales iónicos su circuito equivalente se corresponde con una fuente de tensión continua, cuyo valor será el potencial de equilibrio del ion en serie con la conductancia de la población. El valor de esta conductancia viene determinado por la conductancia agregada de todos los canales que están abiertos en un instante de tiempo, por lo tanto, este valor depende tanto del tiempo como del potencial de membrana. La conductancia de la población queda definida por la ecuación 1.4 donde  $\gamma_S$  es la conductancia unitaria,  $N_S$  el número total de canales y  $f_S$  la fracción de canales abiertos (Ferrero, 2020).

$$G_S = N_S f_S \gamma_S \quad (1.4)$$

Un canal está abierto cuando todas sus compuertas independientemente de ser de activación o inactivación están abiertas. Por lo tanto, la fracción de canales abiertos hace referencia a la probabilidad de que un canal de la familia este abierto en un instante y a un potencial de membrana determinados. Concretamente al cambiar el potencial de membrana la fracción de canales abiertos  $f_S$  se adapta según una constante de tiempo y siempre con tendencia a alcanzar su probabilidad estacionaria (Ferrero, 2020).

El esquema eléctrico que se muestra en la Fig. 1.8 equivale a una neurona completa, combinando la capacidad de membrana, los distintos tipos de canales iónicos y las bombas, intercambiadores y co-transportadores modelados como una fuente de corriente (Ferrero, 2020).



**Figura 1.8.** Esquema eléctrico de una neurona, formada por distintos canales iónicos, bombas, intercambiadores, cotransportadores y la capacidad de su membrana. Fuente: (Ferrero, 2020).

Tanto el medio intracelular como el medio extracelular son resistivos, por lo que equivale eléctricamente a una resistencia. Al analizar el comportamiento eléctrico del axón se deduce una ecuación continua (ecuación 1.5). Esta establece una proporcionalidad entre la segunda derivada espacial de potencial de acción con la suma de: el producto de la primera derivada temporal y la corriente capacitiva; las diferentes corrientes de canales iónicos, bombas, intercambiadores, co-transportadores y la corriente de estimulación (Serrano, 2020).

$$\frac{D\sigma_i}{4(1+\beta)} \frac{\partial^2 u_m}{\partial z^2} = C_m \frac{\partial u_m}{\partial t} + \sum_S g_S (u_m - E_S) + I_{B,I,T} + I_{stim} \quad (1.5)$$

Donde cada término es:

- $D$ : el diámetro del axón
- $\sigma_i$ : la conductividad intracelular
- $\beta$ : un factor de forma
- $u_m$ : el potencial de membrana
- $z$ : la coordenada longitudinal del axón
- $C_m$ : la capacidad de membrana
- $g_s$ : la conductancia de la familia  $s$ -ésima de canales iónicos
- $E_S$ : el potencial de equilibrio de los iones de paso
- $I_{B,IT}$ : la corriente de las bombas y los intercambiadores
- $I_{stim}$ : la corriente de estímulo

Sin embargo, para neuronas con axón mielinizado se utiliza la versión discretizada. De modo que se utilizan cuatro ecuaciones que modelan la heterogeneidad en los tamaños de los compartimentos permitiendo diferenciar entre compartimentos internodales (1.6), nodales (1.7) y paranodales (1.8) (1.9) (Serrano, 2020).

$$I_{int}(internodo) = G_{ax}[V_e(j-1) - 2V_e(j) + V_e(j+1)] \quad (1.6)$$

$$I_{int}(nodo) = G_{an}[V_e(j-1) - 2V_e(j) + V_e(j+1)] \quad (1.7)$$

$$I_{int}(paranodo) = G_{ax}[V_e(j-1) - V_e(j)] + G_{an}[V_e(j+1) - V_e(j)] \quad (1.8)$$

$$I_{int}(rparanodo) = G_{an}[V_e(j-1) - V_e(j)] + G_{ax}[V_e(j+1) - V_e(j)] \quad (1.9)$$



## CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

El objetivo principal de este Trabajo Final de Grado es desarrollar un modelado matemático que permita la simulación computacional del potencial de acción de una neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5 que incluya bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos, elementos de los que carece el modelo original.

Los subobjetivos del trabajo son los siguientes:

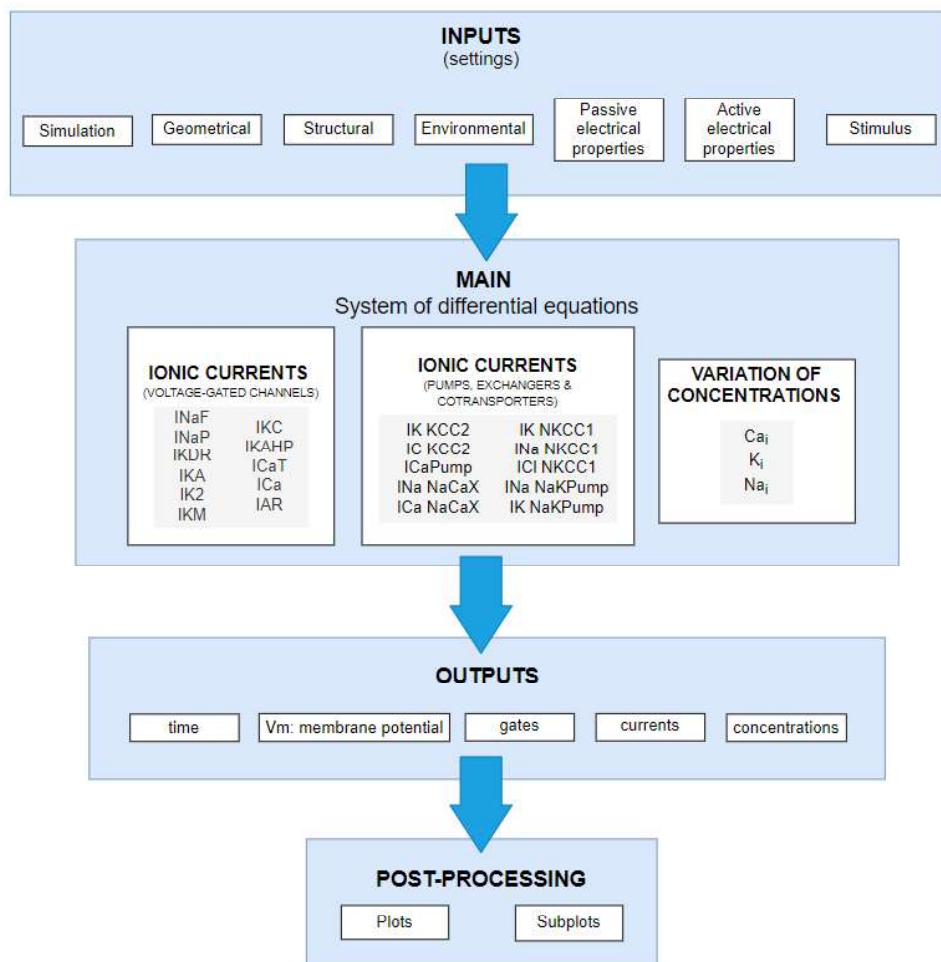
- Avanzar en el desarrollo de un software ya existente en entorno Matlab® que permita simular la actividad eléctrica del potencial de acción de una neurona mielínica y su propagación a lo largo de sus diferentes compartimentos.
- Inicialmente, modificar el modelo base para que permita simular los cambios dinámicos en las concentraciones iónicas.
- A continuación, desarrollar un modelo que incluya bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos compatible con el software anterior.
- Finalmente, desarrollar una versión definitiva del software que fusione los dos modelos, capaz de simular el funcionamiento de las neuronas piramidales.
- Utilizando el software desarrollado, analizar las simulaciones de las concentraciones y corrientes iónicas resultantes de este modelo para determinar el efecto de bombas, co-transportadores e intercambiadores iónicas en el potencial de acción simulado.



# CAPÍTULO 4: DISEÑO DEL SOFTWARE

En este Trabajo Fin de Grado se ha modelado y simulado neuronas mielínicas con expresión de canales, bombas, intercambiadores y co-transportadores iónicos en entorno Matlab®. Para llevar a cabo este trabajo, se tomó como punto de partida del software correspondiente al Modelo 3 del Trabajo Fin de Máster de Emma Serrano (2020), al cual se le han añadido nuevos mecanismos de conducción iónica y alguna otra modificación, como hacer variables las concentraciones intracelulares de sodio y potasio.

El código se divide en cuatro módulos según la estructura representada en la Fig. 4.1.



**Figura 4.1.** Estructura del código, mostrando el contenido de la entrada, las variables del módulo principal y las salidas de este.

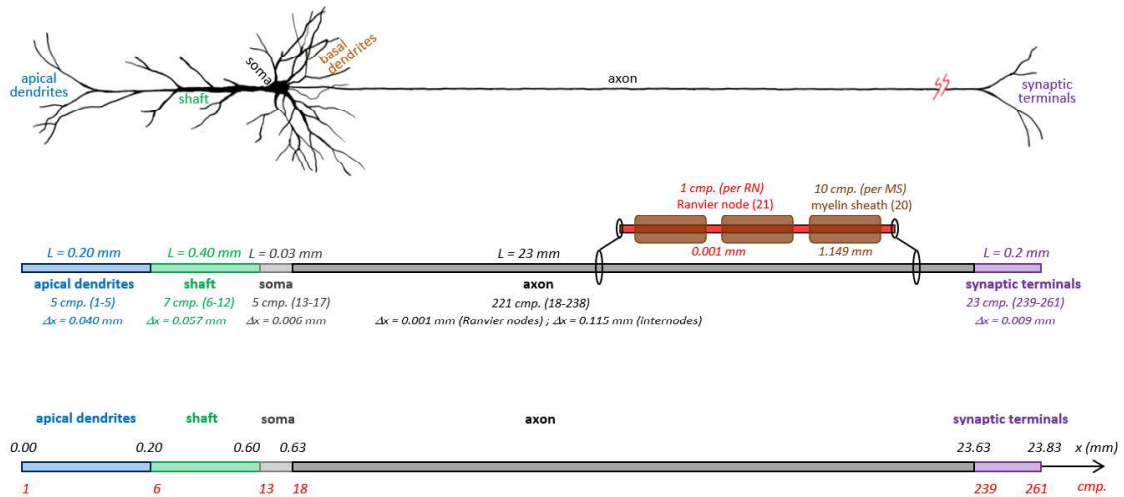


A través del primer módulo (INPUT) se regula la información de entrada al módulo principal. Este módulo se divide a su vez en grupos según su finalidad (Serrano, 2020):

- *Simulation*: este es el bloque que controla los parámetros de la simulación tales como: su duración, su paso de tiempo y el paso de tiempo para los datos de salida, todo ello en milisegundos.
- *Structural*: permite configurar la estructura de la neurona que se utilice. Por un lado, permite determinar qué tipo de neurona utilizar dentro de ocho tipos diferentes. Por otro lado, configura la neurona en función de los compartimentos, pudiéndose establecer el número de compartimentos dedicados a cada parte de la neurona: dendritas apicales, 'shaft', soma, nodos de Ranvier, vaina de mielina y terminales sinápticos.
- *Geometrical*: estos settings configuran geoméricamente la neurona y las seis partes diferentes en las cuales se divide, controlando su longitud y diámetro. Además, permite modificar el ratio de diámetro axón internodo / diámetro fibra y la anchura de las láminas de mielina.
- *Environmental*: en la configuración de los settings del ambiente se controla las concentraciones iónicas, para el sodio extracelular  $[Na^+]_o$ , el potasio extracelular  $[K^+]_o$ , el calcio extracelular  $[Ca^{2+}]_o$ , el cloro intracelular  $[Cl^-]_i$  y extracelular  $[Cl^-]_o$ , todas ellas en mmol/L.
- *Passive electrical properties*: permite la configuración de las propiedades eléctricas pasivas por medio de establecer la capacidad por unidad de área de la axolema en las seis zonas que se ha dividido la neurona. En esta sección también se puede ajustar la conductancia de fugas por unidad de área de la membrana de una lámina de mielina y la resistividad del medio intracelular y extracelular.
- *Active electrical properties*: estos settings permiten configurar las conductancias de fuga por unidad de área en el axolema de las diferentes zonas de la neurona, los diferentes factores multiplicativos de los canales iónicos voltaje dependientes, el potencial de reversión de fugas en las vainas de mielina y los parámetros que controlan la acumulación de calcio intracelular.
- *Stimulus*: determina las características del estímulo a través de la configuración de parámetros como su amplitud, duración y offset. Además, permite modificar el número de estímulos, la frecuencia de estimulación y donde se produce el estímulo por medio de la introducción de coordenadas, si se realiza una estimulación por campo extracelular, o por medio de indicar el compartimento para estimulación de corriente intracelular.

En el desarrollo de este trabajo la estructura y la geometría de la neurona utilizada se muestra en la Fig. 4.2. La neurona que se ha modelado está formada por seis secciones diferentes: dendritas apicales (1), 'shaft' apical (1), soma (1), nodos de Ranvier (21), vainas de mielina (20) y terminales sinápticos (1). Por lo tanto, la neurona resultante se divide en 45 secciones distribuidos a lo largo de una longitud total de 23.83mm.

## Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal



**Figura 4.2.** Detalles de longitud y compartimentación de la neurona. Presentándose en primero lugar la morfología de la neurona. En segundo lugar, su compartimentación y finalmente, en tercer lugar, la longitud de cada de las partes en las que la neurona está dividida. Fuente: (Serrano, 2020)

Las características del estímulo también se configuran en el módulo de INPUTS y para el desarrollo de este trabajo se emplea para estimular a la neurona tipo 4 (neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5) un estímulo rectangular directamente inyectado con un electrodo sobre el primer compartimento. Este estímulo se aplica durante 500  $\mu$ s a una frecuencia de 100Hz y con una amplitud de -8nA. Adicionalmente, cabe señalar que en función del tiempo que se desee simular se variará proporcionalmente el tiempo de estimulación y el número de estímulos, de modo que cada 10ms se produzca un estímulo.

En el siguiente módulo, el módulo MAIN, según los settings establecidos en el módulo anterior se aplican una serie de bucles para finalmente crear los diferentes vectores del módulo OUTPUT.

Para conseguir la dinámica del modelo se han utilizado las ecuaciones y los bucles computacionales del modelo de Serrano (2020), de modo que se va actualizando el potencial de membrana en función del sumatorio de las corrientes iónicas totales, del posible estímulo aplicado y del potencial de membrana del instante anterior.

La ecuación de cable (4.1) es una aproximación de la original la ecuación (1.5), para describir así la evolución del voltaje en un compartimento  $k$ .

$$\frac{C_k dV_k}{dt} = \sum_m \gamma_{m,k} (V_m - V_k) - I_{ionic,k} \quad (4.1)$$

Los parámetros representan:

- $C_k$ : capacitancia del compartimento  $k$ .
- $V_k$ : el voltaje transmembrana.
- $m$ : todos los compartimentos conectados al compartimento  $k$ .

Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal

- $\gamma_{m,k}$ : conductancia interna entre compartimentos.
- $I_{ionic,k}$ : corriente iónica transmembrana para el compartimento  $k$ .

Finalmente, después de cada iteración del bucle se calcula la corriente iónica generada por todos los mecanismos de conducción iónica según la ecuación 4.2. Estas corrientes se calculan gracias a los tres subgrupos dentro del módulo MAIN.

$$\begin{aligned}
 I_{ion} = & I_{NaF}(j, n) + I_{NaP}(j, n) + I_{NaNaCaX}(j, n) + I_{NaNKCC1}(j, n) + I_{NaNaKPump}(j, n) \\
 & + I_{KDR}(j, n) + I_{KA}(j, n) + I_{K2}(j, n) + I_{KM}(j, n) + I_{KC}(j, n) + I_{KAHP}(j, n) \\
 & + I_{KNKCC1}(j, n) + I_{KNKCC2}(j, n) + I_{KNaKPump}(j, n) + I_{CaT}(j, n) \\
 & + I_{CaL}(j, n) + I_{CaNaCaX}(j, n) + I_{CaPump}(j, n) + I_{ClNKCC1}(j, n) \\
 & + I_{ClKCC2}(j, n) + I_{AR}(j, n)
 \end{aligned} \tag{4.2}$$

Las corrientes iónicas generadas por los canales iónicos voltaje dependiente que intervienen en el modelo son las de la tabla 4.1:

**Tabla 4.7.** Corrientes iónicas generadas por los canales voltaje dependientes.

|            |  |
|------------|--|
| $I_{NaF}$  | Corriente rápida de sodio.                                       |
| $I_{NaP}$  | Corriente persistente de sodio.                                  |
| $I_{KDR}$  | Corriente de potasio rectificador retardado.                     |
| $I_{KA}$   | Corriente de inactivación transitoria de potasio.                |
| $I_{K2}$   | Corriente de activación e inactivación lenta de potasio.         |
| $I_{KM}$   | Corriente de potasio suprimida por el receptor muscarínico.      |
| $I_{KC}$   | Corriente de potasio rápida dependiente de voltaje y del calcio. |
| $I_{KAHP}$ | Corriente lenta de potasio dependiente de calcio.                |
| $I_{CaT}$  | Corriente de calcio inactivante de umbral bajo.                  |
| $I_{CaL}$  | Corriente de calcio no inactivante de umbral alto.               |
| $I_{AR}$   | Corriente de rectificador anómalo.                               |

Las ecuaciones para cada corriente y las de sus compuertas, así como los diferentes valores de las conductancias en las seis zonas en las que se dividió la neurona, pueden extraerse del documento de Serrano (2020).

Las ecuaciones utilizadas para modelar el resto de los mecanismos iónicos que se mostrarán a continuación, y que son el centro del presente Trabajo Fin de Grado, se han extraído del artículo científico (Lewin et al., 2012).

## IKCC2

Este cotransportador de  $K^+$  y  $Cl^-$ , contribuye a mantener la homeostasis iónica y su densidad es heterogénea a lo largo de toda la neurona. Su modelo es el siguiente:

$$I_{KCC2} = -i_{max}$$

$$\frac{([K^+]_o[Cl^-]_o - [K^+]_i[Cl^-]_i)/k_K k_{Cl}}{((1 + [K^+]_o/k_K)(1 + [Cl^-]_o/k_{Cl})) + ((1 + [K^+]_i/k_K)(1 + [Cl^-]_i/k_{Cl}))}$$

(4.3)

**Tabla 4.8.** Valores de los parámetros del KCC2.

| Parámetros | Valores                |
|------------|------------------------|
| $k_K$      | 9.0mM                  |
| $k_{Cl}$   | 6.0mM                  |
| $i_{max}$  | 3.0 mA/cm <sup>2</sup> |

La corriente de potasio por este cotransportador es  $I_{KCC2}$ , mientras que para el cloro es  $-I_{KCC2}$ .

## INaKPump

El modelo y las constantes utilizadas para modelar la bomba Na/K son:

$$I_{NaKPump} = i_{max}(1 + k_K/[K^+]_o)^{-2}(1 + k_{Na}/[Na^+]_i)^{-3} \quad (4.4)$$

**Tabla 4.9.** Valores de los parámetros de la bomba Na/K.

| Parámetros | Valores                   |
|------------|---------------------------|
| $k_K$      | 3.0mM                     |
| $k_{Na}$   | 10.0mM                    |
| $i_{max}$  | 0.0024 mA/cm <sup>2</sup> |

Las corrientes iónicas resultantes son:  $I_{Na NaKPump} = 3 \cdot I_{NaKPump}$  y  $I_{K NaKPump} = 2 \cdot I_{NaKPump}$ .

## ICaPump

La bomba de calcio se ha modelado según:

$$I_{CaPump} = i_{max} \left( 1 + \frac{K_{pump}}{[Ca^{2+}]_i} \right)^{-1} \quad (4.5)$$

**Tabla 4.10.** Valores de los parámetros para la bomba de calcio.

| Parámetros | Valores                  |
|------------|--------------------------|
| $K_{pump}$ | $6.9\mu M$               |
| $i_{max}$  | $6 \cdot e^{-5} mA/cm^2$ |

### INaCaX

Este intercambiador de sodio y calcio se modelado con las siguientes ecuaciones y constantes:

$$I_{NaCaX} = i_{max} \cdot q10 \cdot \frac{kqa[Na^+]_i^3 [Ca^{2+}]_o - kb[Na^+]_o^3 [Ca^{2+}]_i}{(kna^3 + [Na^+]_o^3)(kca + [Ca^{2+}]_o)(1 + 0.1kb)} \quad (4.6)$$

$$k = \frac{RT}{F \cdot 1e^{-3}} \quad (4.7)$$

$$q10 = 3^{(T-37)/10} \quad (4.8)$$

$$kqa = e^{\gamma \cdot V_m/k} \quad (4.9)$$

$$kb = e^{(\gamma-1) \cdot V_m/k} \quad (4.10)$$

**Tabla 4.11.** Valores de los parámetros del NaCaX.

| Parámetros | Valores   |
|------------|-----------|
| $\gamma$   | 0.35      |
| $kna$      | $87.5 mM$ |
| $kca$      | $1.38 mM$ |

La corriente de sodio producida por el intercambiador es  $3 \cdot I_{NaCaX}$  y la corriente de sodio  $-2 \cdot I_{NaCaX}$ . La  $i_{max}$  se controla por medio de la bomba de calcio y las corrientes de los canales.

### INKCC1

La corriente generada por este cotransportador viene dada por:

$$I_{NKCC1} = i_{max} (p(E_{1NaClKCl}) \cdot \gamma \cdot k_{ffull} - p(E_{2NaClKCl}) \cdot (1 - \gamma) \cdot k_{bfull}) \quad (4.11)$$

Para el sodio y el potasio la corriente resultante es  $-0.5 \cdot I_{NKCC1}$  y para el cloro es  $I_{NKCC1}$ .

Donde la  $y$  representa la fracción de estado en el medio extracelular y  $(1 - y)$  la fracción en el intracelular.

$$\frac{dy}{dt} = \beta(1 - y) - \alpha y \quad (4.12)$$

$$\alpha = k_{ffull}p(E_{1NaClKCl}) + k_{bempty}p(E_1) \quad (4.13)$$

$$\beta = k_{bfull}p(E_{2NaClKCl}) + k_{fempty}p(E_2) \quad (4.14)$$

$$k_{bempty} = k_{ffull} \cdot k_{fempty} / k_{bfull} \quad (4.15)$$

$$p(E_1) =$$

$$\frac{1}{1 + K_{Na}[Na^+]_o + K_{Na}[Na^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o + K_{Na}[Na^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o K_K[K^+]_o K_{Cl} + K_{Na}[Na^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o K_K[K^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o} \quad (4.16)$$

$$p(E_{1NaClKCl}) = p(E_1) \cdot K_{Na}[Na^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o K_K[K^+]_o K_{Cl}[Cl^-]_o \quad (4.17)$$

$$p(E_2) =$$

$$\frac{1}{1 + K_{Cl}[Cl^-]_i + K_K[K^+]_i K_{Cl}[Cl^-]_i + K_K[K^+]_i K_{Cl}[Cl^-]_i K_{Cl}[Cl^-]_i + K_K[K^+]_i K_{Cl}[Cl^-]_i K_{Cl}[Cl^-]_i K_{Na}[Na^+]_i} \quad (4.18)$$

$$p(E_{2NaClKCl}) = p(E_2) \cdot K_K[K^+]_i K_{Cl}[Cl^-]_i K_{Cl}[Cl^-]_i K_{Na}[Na^+]_i \quad (4.19)$$

$p(E_1)$  representa la probabilidad de que en el medio extracelular no haya iones ligados mientras que  $p(E_{1NaClKCl})$  representa la probabilidad de que estén todos ligados.  $p(E_2)$  y  $p(E_{2NaClKCl})$  son los equivalentes en el medio intracelular.

**Tabla 4.12.** Valores de los parámetros del NKCC1.

| Parámetros   | Valores          |
|--------------|------------------|
| $k_{ffull}$  | $3.065ms^{-1}$   |
| $k_{bfull}$  | $1.456ms^{-1}$   |
| $k_{fempty}$ | $37.767ms^{-1}$  |
| $K_{Na}$     | $0.08445mM^{-1}$ |

Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal

|          |                  |
|----------|------------------|
| $K_K$    | $0.00116mM^{-1}$ |
| $K_{Cl}$ | $0.05735mM^{-1}$ |

Las concentraciones iónicas varían en función del tiempo, del potencial de acción y en función del compartimento. Se han modelado las concentraciones intracelulares de calcio, sodio y potasio. Para ello se discretizó la ecuación x para cada ion (Lewin et al., 2012).

$$\frac{d[ion]_i}{dt} = \frac{\sum I_{ion} \cdot surface}{F \cdot volume} \quad (4.20)$$

$$\begin{aligned} Ca_i(j, n) = & Ca_i(j - 1, n) + dt \\ & \cdot \left( -B_{Ca}(n) \right. \\ & \cdot \left( I_{CaT}(j, n) + I_{CaL}(j, n) + I_{CaNaCaX}(j, n) + I_{CaPump}(j, n) \right) \\ & \left. - Ca_i(j - 1, n) / \tau_{Ca}(n) \right) \end{aligned} \quad (4.21)$$

$$\begin{aligned} Na_i(j, n) = & Na_i(j - 1, n) + dt \\ & \cdot \left( -B_{Na}(n) \cdot \left( I_{NaF}(j, n) + I_{NaP}(j, n) + I_{NaNaCaX}(j, n) + I_{NaNKCC1}(j, n) \right. \right. \\ & \left. \left. + I_{NaNaKPump}(j, n) \right) \right) \end{aligned} \quad (4.22)$$

$$\begin{aligned} K_i(j, n) = & K_i(j - 1, n) + dt \cdot \left( -B_K(n) \right. \\ & \cdot \left( I_{KDR}(j, n) + I_{KA}(j, n) + I_{K2}(j, n) + I_{KM}(j, n) + I_{KC}(j, n) \right. \\ & \left. \left. + I_{KAHP}(j, n) + I_{KNKCC1}(j, n) + I_{KKCC2}(j, n) + I_{KNaKPump}(j, n) \right) \right) \end{aligned} \quad (4.23)$$

# CAPÍTULO 5: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mayoría de las simulaciones realizadas estaban enfocadas a la realización de un análisis de sensibilidad cambiando los diferentes parámetros y constantes de manera organizada y estructurada. La razón que justifica este enfoque es que las constantes de los modelos de bombas, intercambiadores y co-transportadores iónicos no están ajustadas al tipo de neurona simulada en este Trabajo Fin de Grado, sino que fueron obtenidos ara otro tipo de neurona (Lewin et al. 2012). Siendo éste último el único modelo en el que existe la formulación de dichos mecanismos iónicos, su incorporación a la neurona simulada requirió de este análisis de sensibilidad.

Se realizan simulaciones de 30 milisegundos y de tres potenciales de acción según una frecuencia de disparo de 100 Hz sobre la neurona tipo 4, que se corresponde con una neurona piramidal de estallido intrínseco de capa 5.

## 5.1 PRIMER AJUSTE

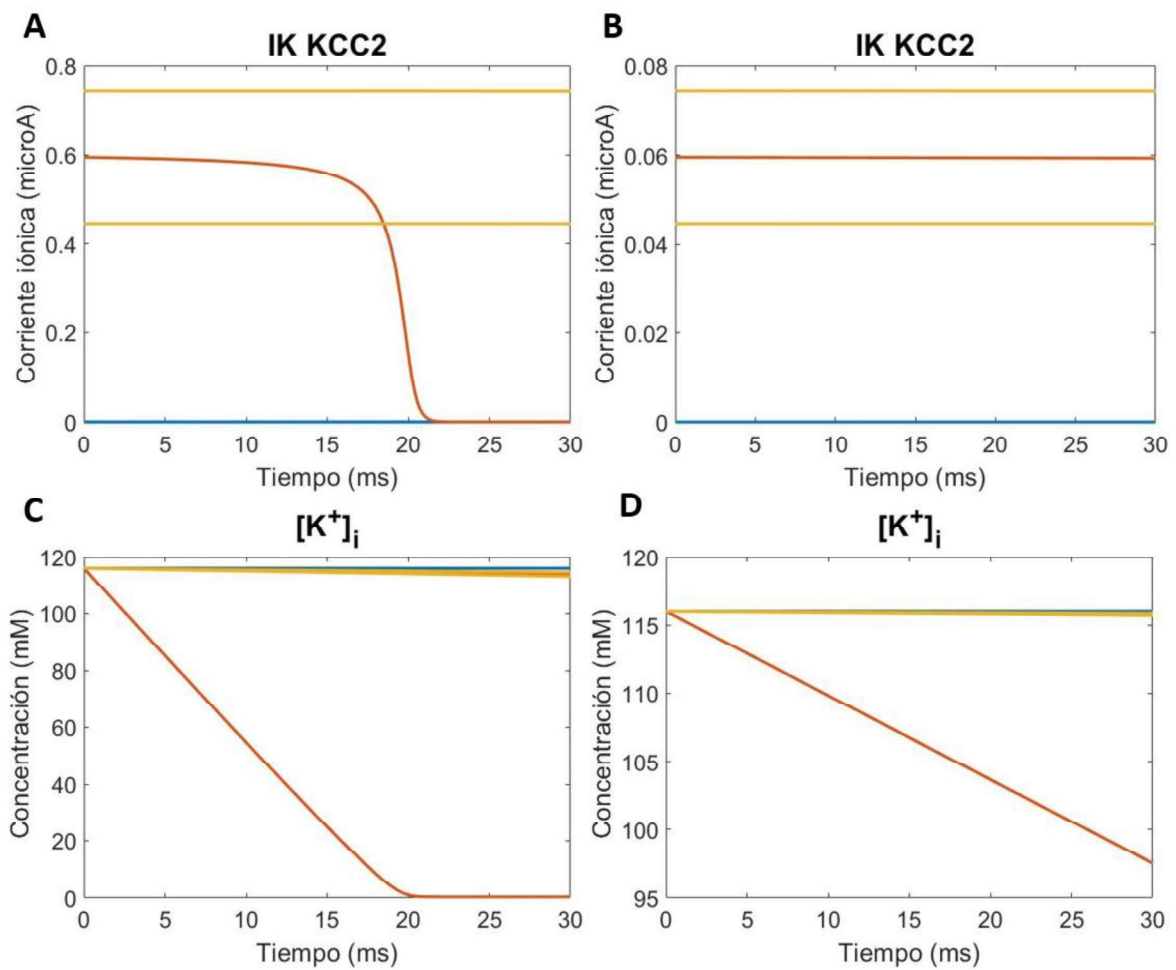
Se ha realizado un estudio de la contribución por separado de cada mecanismo iónico según los valores de las distintas constantes. Este primer ajuste, para el cotransportador KCC2 y las bombas de Na/K y de calcio, se ha centrado en modificar los valores de las corrientes máximas en factores de 10, pero sin alejarse mucho de los valores establecidos por Lewin et al.(2012).

En el caso del cotransportador KCC2 nos centramos en la dinámica, tanto de la función resultante de la concentración intracelular de potasio (Fig. 5.1.C) como la corriente de la componente de potasio de este cotransportador (Fig. 5.1.A) y su inversa, la corriente de cloro, puesto que no hay ninguna modificación sobre el potencial de acción puesto que  $I_{K\ KCC2}$  y  $I_{Cl\ KCC2}$  son de igual magnitud y contrarias.

Se observa como reduciendo en un factor de 10 se consigue durante los 30 milisegundos (ms) que se simula que la corriente  $I_{K\ KCC2}$  no tienda en los nodos de Ranvier a 0 (Fig. 5.1.B). Adicionalmente, se disminuye la magnitud de las corrientes resultantes, la concentración intracelular de potasio reduce su velocidad en la baja en nodos (Fig. 5.1.D).

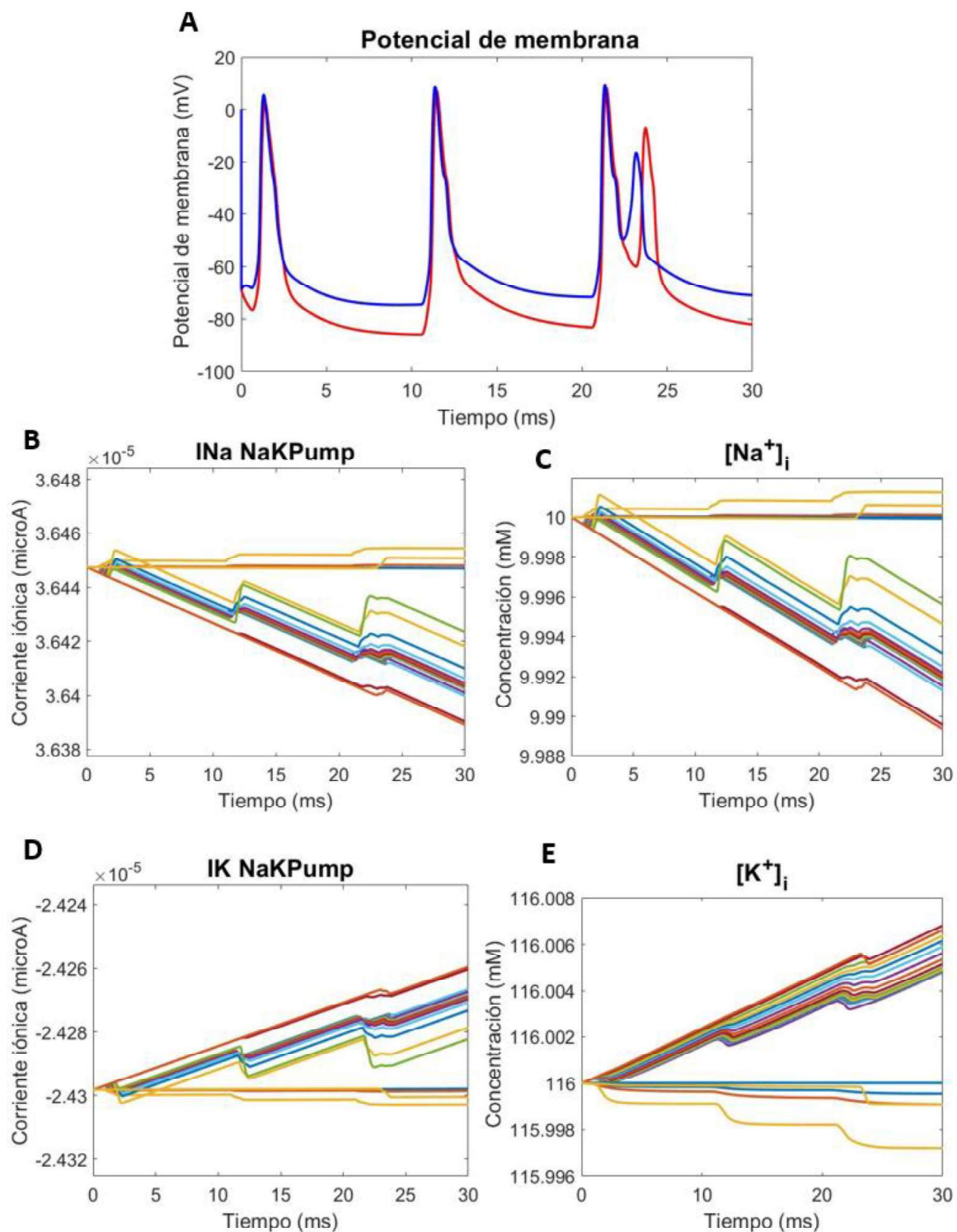
Por lo tanto, de este primer ajuste del KCC2 se puede deducir que disminuir la corriente máxima, reduce la dinámica tanto de la concentración intracelular de potasio como la del componente de potasio y cloro de esta corriente. Además, también permite reducir en un factor de 10 la magnitud de las corrientes  $I_{K\ KCC2}$  y  $I_{Cl\ KCC2}$ .





**Figura 5.1.** Comparación de la simulación con los datos originales y el primer ajuste para el KCC2. (A) Representa la componente de potasio cuando la corriente máxima es  $3000 \mu A/cm^2$  con una dinámica rápida en los nodos de Ranvier (curva roja). (B) Representa la componente de potasio del KCC2 cuando la corriente máxima es  $300 \mu A/cm^2$  con una dinámica más lenta y estable. (C) Concentración intracelular de potasio para la corriente máxima original produciendo en los nodos de Ranvier una tendencia a la concentración nula. (D) Concentración intracelular de potasio para la corriente máxima modificada relajando la tendencia en los nodos.

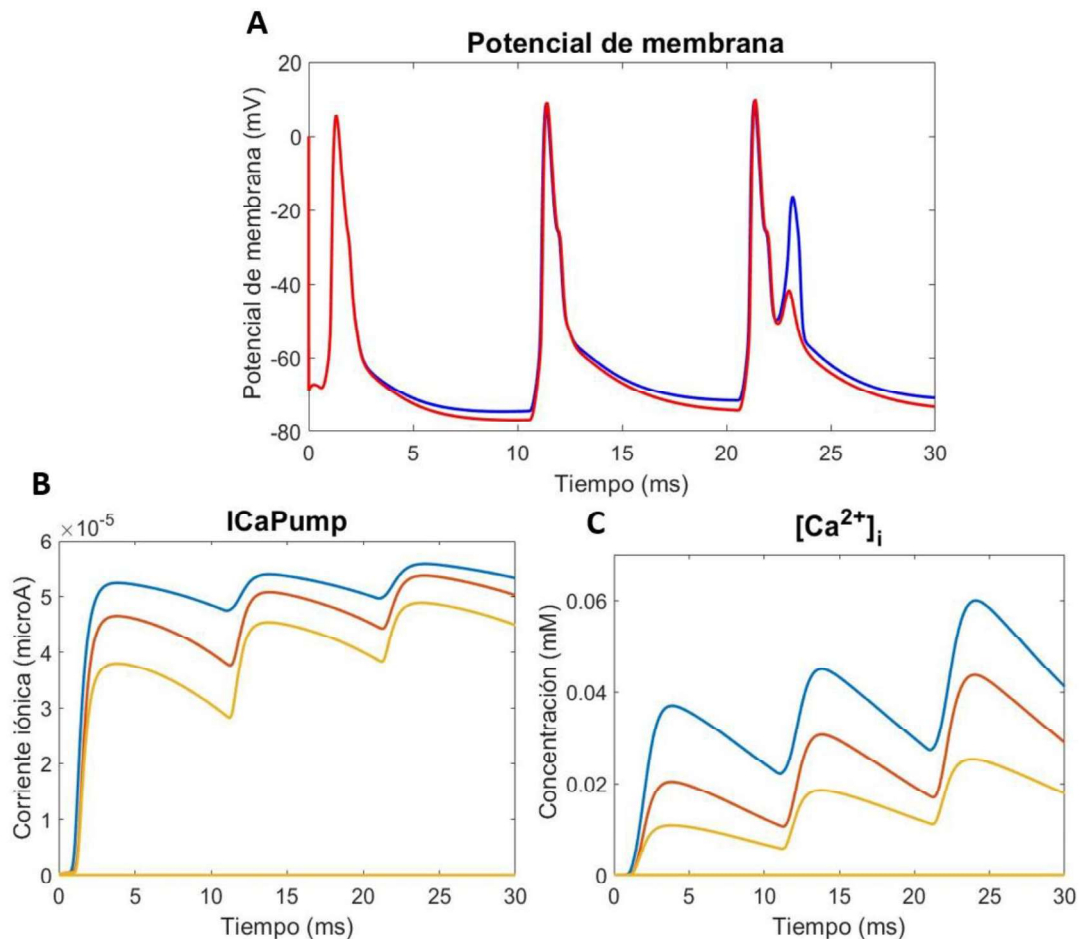
Con la introducción únicamente de la bomba sodio potasio al realizar la simulación con los valores originales, se genera una hiperpolarización en la neurona y por consiguiente la ausencia de un potencial de acción. Sin embargo, al disminuir la corriente máxima permite obtener los resultados de la Fig. 5.2. Se puede observar como esta bomba afecta al potencial de acción, disminuyendo el potencial de membrana tras cada potencial de acción. Esto se produce porque, a diferencia del KCC2, las corrientes  $I_{KNaKPump}$  y  $I_{NaNaKPump}$  son de distinta magnitud y contrarias.



**Figura 5.2.** Gráficas resultado del cambio de la corriente máxima para la bomba Na/K. (A) Potenciales de acción en el nodo 6. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación de la bomba. (B) Corriente de sodio causada por la bomba siendo cada curva un compartimento y el conjunto de líneas que descienden los nodos de Ranvier. (C) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento. (D) Corriente de potasio causada por la bomba siendo cada curva un compartimento y el conjunto de líneas que asciende los nodos de Ranvier. (E) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento.

## Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal

Para la bomba de calcio se ha mantenido el valor original puesto que las dinámicas de las curvas, tanto para la corriente resultante como para la concentración intracelular de calcio, muestran recuperación tras los potenciales de acción su dinámica (Figs. 5.3.B y 5.3.C) y la magnitud de la corriente guarda coherencia con los órdenes del resto de corrientes iónicas. Para el potencial de acción (Fig. 5.3.A) se observa como la introducción de este mecanismo iónico genera un menor potencial de membrana tras el potencial de acción original (curva azul).



**Figura 5.3.** Gráficas resultado del cambio de la corriente máxima para la bomba de calcio. (A) La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación de la bomba. (B) Corriente de calcio causada por la bomba para los 3 primeros compartimentos. (C) Concentración intracelular de sodio para los 3 primeros compartimentos.

Como resultado de la modificación de parámetros se obtiene la tabla 5.1. En esta se muestra como la corriente máxima del cotransportador KCC2 y la de la bomba Na/K se han reducido en un factor de 10, mientras que para la bomba de calcio se ha mantenido el valor original.

**Tabla 5.1.** Tabla resumen de la modificación de los valores de la corriente máxima.

| Mecanismo iónico    | Valor original                    | Valor modificado                |
|---------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| <b>imax_KCC2</b>    | $3.0 \text{ mA/cm}^2$             | $300 \text{ }\mu\text{A/cm}^2$  |
| <b>imax_CaPump</b>  | $6 \cdot 10^{-5} \text{ mA/cm}^2$ | $0.06 \text{ }\mu\text{A/cm}^2$ |
| <b>imax_NaKPump</b> | $0.0024 \text{ mA/cm}^2$          | $0.24 \text{ }\mu\text{A/cm}^2$ |

Para el caso del NKCC1, dado que su dinámica es más compleja y el valor de la corriente máxima no estaba especificado, se procedió a ajustar el resto de las constantes y dar un valor arbitrario a la corriente máxima (imax\_NKCC1) de  $1 \mu\text{A}$ . Para conseguir este ajuste se fue modificando en factores de 10 dos grupos: 1)  $k_{ffull}$ ,  $k_{bfull}$ ,  $k_{fempty}$ , y 2)  $K_{Na}$ ,  $K_K$ ,  $K_{Cl}$ .

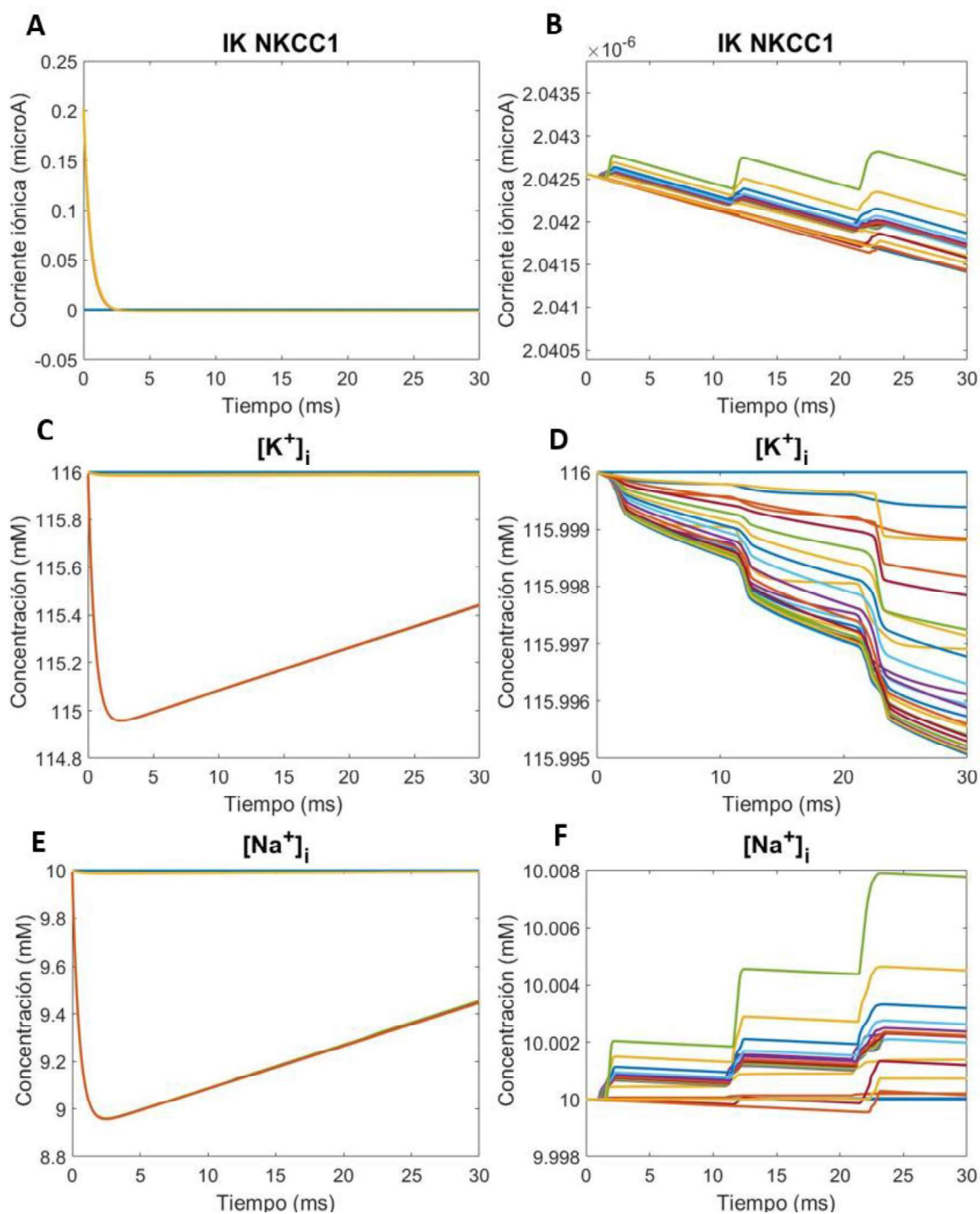
Con la modificación en factores de 10 se llegaron a los valores que muestra la tabla 5.2. Se estudió las componentes de potasio, sodio y cloro de la corriente generada por este cotransportador y las concentraciones intracelulares de potasio y sodio. No se estudió la contribución sobre el potencial de membrana porque al igual que KCC2 no es electrogénico a diferencia de las bombas Na/K y de calcio.

**Tabla 5.2.** Comparativa de valores de parámetros del cotransportador NKCC1

| Parámetros   | Valor original            | Valor modificado             |
|--------------|---------------------------|------------------------------|
| $k_{ffull}$  | $3.065 \text{ ms}^{-1}$   | $0.00003065 \text{ ms}^{-1}$ |
| $k_{bfull}$  | $1.456 \text{ ms}^{-1}$   | $0.00001456 \text{ ms}^{-1}$ |
| $k_{fempty}$ | $37.767 \text{ ms}^{-1}$  | $0.00037767 \text{ ms}^{-1}$ |
| $K_{Na}$     | $0.08445 \text{ mM}^{-1}$ | $0.08445 \text{ mM}^{-1}$    |
| $K_K$        | $0.00116 \text{ mM}^{-1}$ | $0.00116 \text{ mM}^{-1}$    |
| $K_{Cl}$     | $0.05735 \text{ mM}^{-1}$ | $0.05735 \text{ mM}^{-1}$    |

Observando que la dinámica a priori era muy rápida tanto para las corrientes de potasio (Fig. 5.4.A), de cloro y de sodio del cotransportador como para concentraciones de sodio y de potasio (Figs. 5.4.C y 5.4.E), se disminuyeron los valores  $k_{ffull}$ ,  $k_{bfull}$ ,  $k_{fempty}$  en un factor de 100000, valor en el que se consiguió la dinámica de las Figs. 5.4.B, 5.4.D y 5.4.F. Adicionalmente tras este ajuste se consiguió disminuir la corriente de potasio (Fig. 5.4.B), sodio y cloro.

El valor de su corriente máxima del intercambiador NaCaX depende la dinámica del calcio y la dinámica de los dos modelos es diferente respecto a este ion, se ha optado por dar un valor arbitrario a esta corriente máxima (imax\_NaCaX) de  $1 \mu\text{A}$ . A continuación, de manera análoga al resto de mecanismos iónicos se realizó un estudio a nivel individual. Para ese valor arbitrario la simulación resultante era errónea por lo que se probó con el valor  $0,1 \mu\text{A}$ , el cual no dio error.

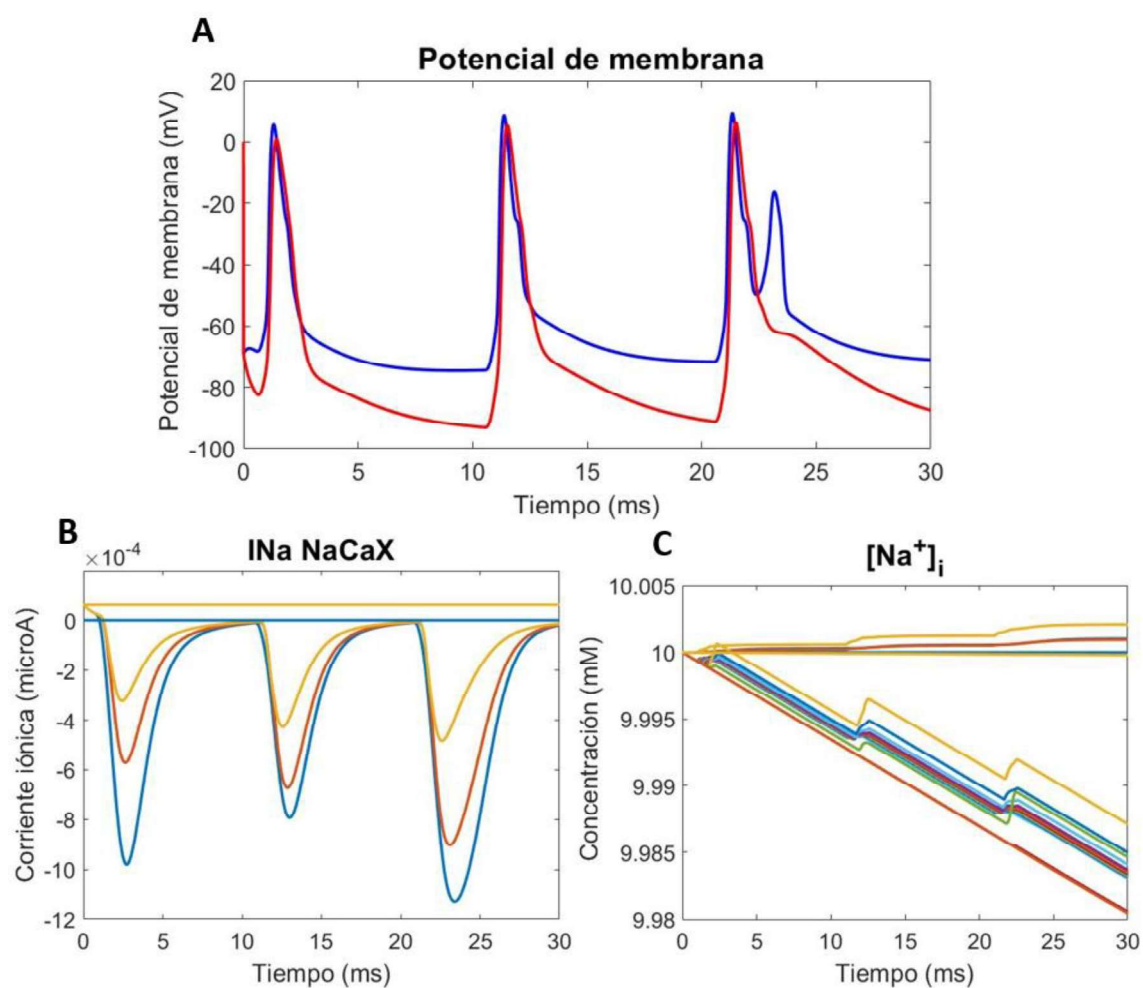


**Figura 5.4.** Gráficas resultado de incorporar únicamente el NKCC1. (A) Componente de potasio de la corriente generada por el NKCC1 resultado de la simulación con los valores originales siendo la línea amarilla los nodos de Ranvier. (B) Componente de potasio de la corriente generada por el NKCC1 resultado de la simulación con los valores modificados. (C) Concentración intracelular de potasio, siendo la línea roja los nodos de Ranvier. (D) Concentración intracelular de potasio para cada compartimento. (E) Concentración intracelular de sodio, siendo la línea roja los nodos de Ranvier. (F) Concentración intracelular de sodio para cada compartimento.

El objetivo es conseguir una aproximación más real del ajuste del modelo con la suma de todos los mecanismos iónicos y posteriormente probar a utilizar la corriente máxima del modelo de

Lewin et al. (2012), la cual depende de la dinámica del calcio intracelular. Esto realiza con la finalidad de tener de un modo u otro un ajuste del modelo que incluya las corrientes resultantes de este intercambiador ( $I_{Na NaCaX}$ ,  $I_{Ca NaCaX}$ ).

Se realizó el estudio del potencial de membrana y, como este intercambiador es electrogénico, el potencial de acción se modifica, generando en este caso una disminución de unos 20mV aproximadamente del potencial de membrana tras un potencial de acción (Fig. 5.5.A). También se estudió la dinámica del sodio y del calcio de las corrientes  $I_{Na NaCaX}$  (Fig. 5.5.B) y  $I_{Ca NaCaX}$ , y de las concentraciones intracelulares (Fig. 5.5.C), obteniéndose una dinámica bastante buena y un rango de valores acorde con lo esperado.



**Figura 5.5.** Gráficas de la incorporación del intercambiador NaCaX con el primer ajuste a la neurona original. (A) La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con la incorporación del NaCaX. (B) Corriente de sodio causada por el intercambiador en los tres primeros compartimentos. (C) Concentración intracelular de sodio para los tres primeros compartimentos.

## 5.2 SEGUNDO AJUSTE

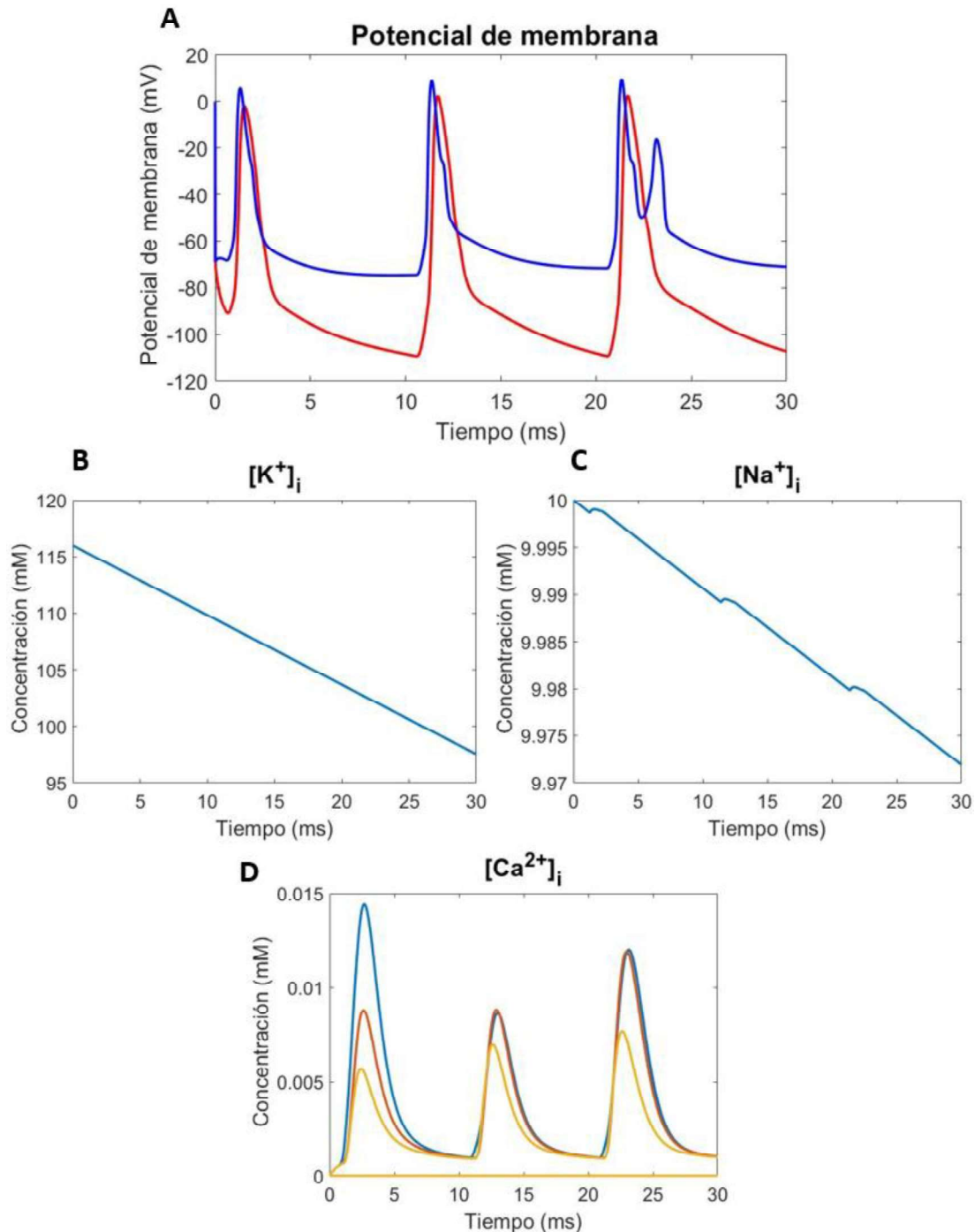
Este segundo ajuste se plantea de la siguiente manera: primero se incluyen en el modelo todos los mecanismos iónicos y se obtienen los resultados y gráficas; segundo se realiza un estudio de sensibilidad tal y como muestra la tabla 5.3, de este modo variando solo un parámetro podemos ver cómo afecta al resto de variables; tercero y último se seleccionan los valores para cada constante que se consideran correctos por sus dinámicas y magnitudes y se incluyen en el mismo modelo.

El objetivo de este segundo ajuste es obtener las siguientes características del modelo:

- Una ráfaga de potenciales de acción similares en morfología entre sí. Además de evitar que tras cada potencial de acción se produzca una bajada del potencial de membrana tan acusada como la observable en la Fig. 5.5.A.
- Las concentraciones de potasio y sodio, lo ideal sería que oscilaran pero sobre la línea base de su concentración intracelular inicial. Esto es fundamental para conseguir que el sistema no se desestabilice con el tiempo y así evitar que los nodos de Ranvier, tal y como se ha visto durante el primer ajuste, tengan tendencias diferentes al resto de compartimentos.
- La concentración de calcio, tal y como se observa en las Figs. 5.3.C y 5.3.E, tiene una dinámica que consiste en aumentar la concentración de calcio intracelular durante el potencial de acción y luego recuperarse hasta su valor de inicio aproximadamente. Por lo tanto, el objetivo sería que cuando se recupere tras el potencial de acción vuelva a esa concentración inicial.
- Las corrientes resultantes del cotransportador KCC2 idealmente serán del mismo orden que el resto de las corrientes de potasio, por lo tanto, si estas por lo general son del orden de  $10^{-4}$ , el cotransportador tendrá la misma magnitud. Además, su dinámica será oscilatoria.
- La corriente de potasio y de sodio de la bomba Na/K deben oscilar en todos sus compartimentos y su magnitud por el mismo razonamiento que con el KCC2 deberá ser de  $10^{-4}$ .
- Las corrientes de NKCC1  $I_{K\ NKCC1}$ ,  $I_{Cl\ NKCC1}$  y  $I_{Na\ NKCC1}$ , deben de seguir el mismo objetivo que los dos anteriores, tanto en la oscilación en sus dinámicas como en el orden de  $10^{-4}$ .
- La corriente de calcio por la acción de su bomba debe de tener una dinámica similar a la de la concentración de calcio y una magnitud de  $10^{-4}$ .
- Las corrientes resultantes del intercambiador NaCaX, deben de reflejar el funcionamiento de este, por lo tanto, debe mostrar que trabaja introduciendo tres iones de  $Na^+$  y extrayendo un ion de  $Ca^{2+}$  y también a la inversa. Además, idealmente debe de ser función del resto de corrientes de calcio. Por lo tanto, su dinámica y su magnitud se espera que sean similares a las que se pueden observar en las Figs. 5.3.B y 5.3.D.

El resultado de incluir todos los mecanismos con los valores del primer ajuste se muestra en la Fig. 5.6. Se observa como los potenciales de acción resultantes están desplazados en el tiempo a la derecha, no alcanzan la amplitud del original y aumenta su rango descendiendo mucho su potencial de membrana tras un potencial de acción (Fig. 5.6.A). En cuanto a las concentraciones

iónicas intracelulares, la de potasio (Fig. 5.6.B) y la de sodio (Fig. 5.6.C) descienden en nodos muy rápido, especialmente la primera. El estudio de estas concentraciones se realiza sobre el compartimento 14 que representa el sexto nodo de Ranvier. En el caso de la concentración de calcio se ajusta a lo esperado (Fig. 5.6.D).



**Figura 5.6.** Gráficas resultado de la primera fase del segundo ajuste en la que se juntan todos los mecanismos iónicos en un modelo. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial de membrana con todas las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio en el nodo 6. (C) concentración intracelular de sodio en el nodo 6. (D) Concentración intracelular de calcio en los tres primeros nodos.



Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal

A continuación, se lleva a cabo el estudio de sensibilidad en el que como se muestra en la Tabla 5.3, se estudian las corrientes máximas de cada mecanismo iónico para diferentes valores según se multiplique o divida el valor obtenido del primer ajuste por 10 o por 100.

**Tabla 5.3.** Tabla del estudio de sensibilidad.

|                 | <i>imax_KCC2</i> | <i>imax_CaPump</i> | <i>imax_NaKPump</i> | <i>imax_NaCaX</i> | <i>imax_NKCC1</i> |
|-----------------|------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Original</b> | 300 $\mu A/cm^2$ | 0.06 $\mu A/cm^2$  | 0.24 $\mu A/cm^2$   | 0.1 $\mu A$       | 1 $\mu A$         |
| <b>x10</b>      |                  |                    |                     |                   |                   |
| <b>:10</b>      |                  |                    |                     |                   |                   |
| <b>x100</b>     |                  |                    |                     |                   |                   |
| <b>:100</b>     |                  |                    |                     |                   |                   |

Para el cotransportador KCC2 en este segundo ajuste se confirma la hipótesis que se planteó tras el primer ajuste. Disminuir su corriente máxima, reduce la dinámica tanto de la concentración intracelular de potasio como la del componente de potasio y cloro de esta corriente. Además, también permite reducir en un factor de 10 la magnitud de las corrientes  $I_{K\ KCC2}$  y  $I_{Cl\ KCC2}$ . Por lo tanto, se podría decir que la dinámica del potasio y de las corrientes del KCC2 son inversamente proporcionales a la magnitud de las corrientes  $I_{K\ KCC2}$  y  $I_{Cl\ KCC2}$ .

En el caso de la bomba de sodio-potasio ocurre lo mismo, disminuir la corriente máxima de esta bomba mejora la dinámica de las concentraciones de potasio y sodio, y acostar a disminuir su magnitud también mejora la dinámica de las corrientes de potasio y sodio causadas por la bomba Na/K. Sin embargo, concretamente para este mecanismo iónico cuando se multiplica por 10 o por 100 la simulación resultante es errónea puesto que no muestra un potencial de acción.

El cotransportador NKCC1 tiene la misma condición que los anteriores. La dinámica del potasio y del sodio y de las corrientes del NKCC1 son inversamente proporcionales a la magnitud de las corrientes  $I_{Na\ NKCC1}$ ,  $I_{K\ NKCC1}$  y  $I_{Cl\ NKCC1}$ .

Por lo tanto, estos tres mecanismos iónicos a priori no parecen tener un valor de corriente máxima que les permita tener una dinámica y un orden de magnitud acorde con los objetivos que se presentaban al comienzo del segundo ajuste.

Las Figs. 5.7 y 5.8 tienen como objetivo mostrar esta condición que sufren estos tres mecanismos iónicos. La Fig. 5.7 por su parte muestra que al aumentar el orden de la corriente máxima afecta proporcionalmente al orden de las corrientes iónicas causadas por cada mecanismo. La Fig. 5.8 para ser comprendida debe ser comparada con la Fig. 5.6, de este modo se observa que cuando *imax\_KCC2* tiene el valor de 3  $\mu A/cm^2$ , la concentración de potasio desciende 0.2 mM (Fig. 5.8.B) frente a los 20mM que bajaba antes (Fig. 5.6.B).

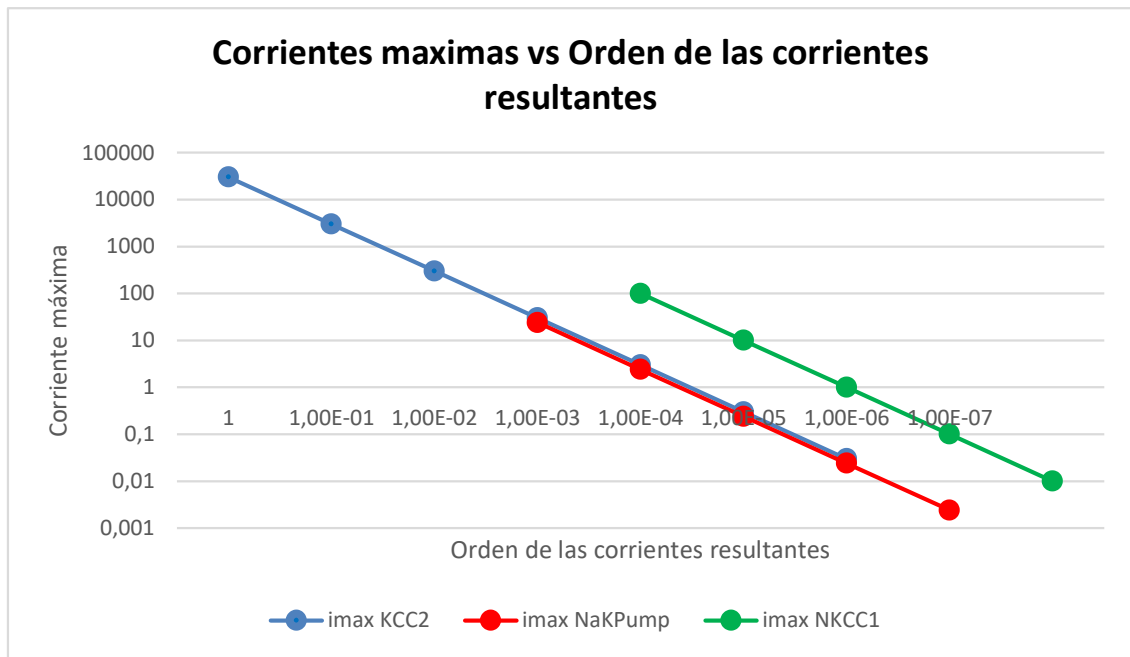


Figura 5.7. Gráficas de la relación del orden de las corrientes con su corriente máxima.

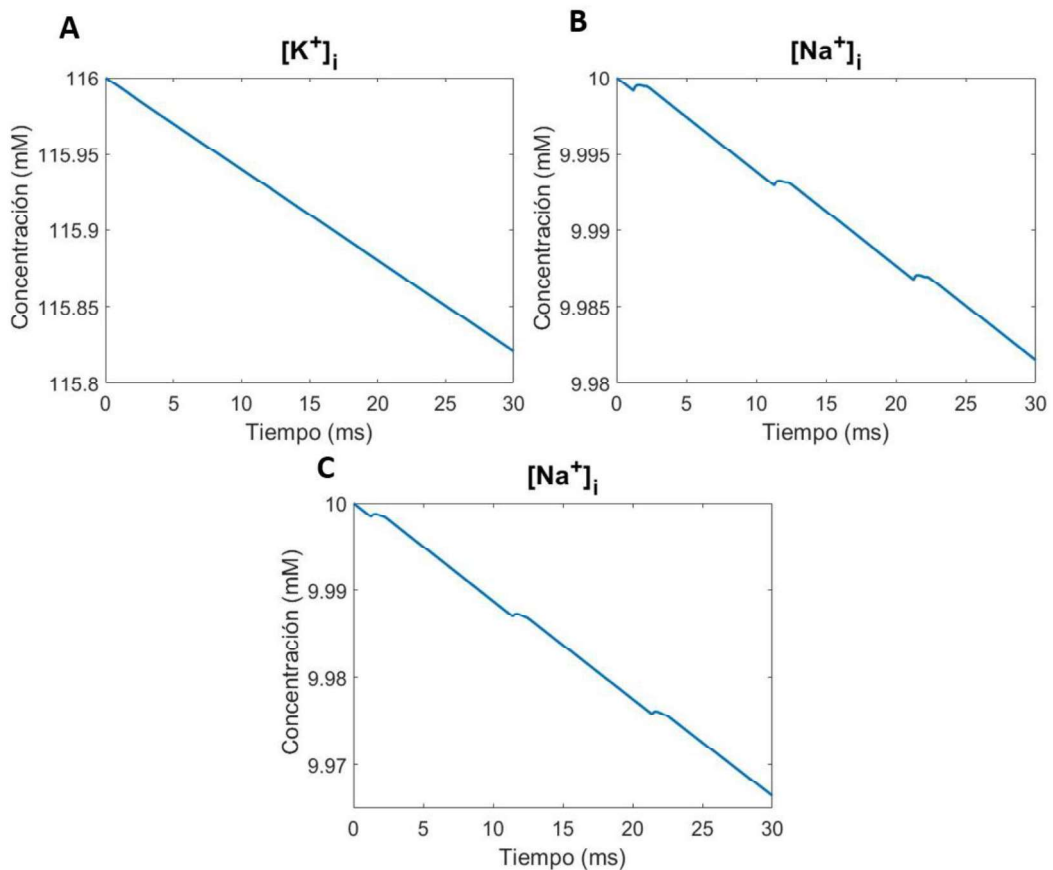


Figura 5.8. Variación de las concentraciones en el sexto nodo de Ranvier (compartimento 14). (A) Concentración intracelular de potasio cuando  $imax\_KCC2$  tiene el valor de  $3 \mu A/cm^2$ . (B) Concentración intracelular de sodio cuando  $imax\_NaKPump$  tiene el valor de  $0,024 \mu A/cm^2$ . (C) Concentración intracelular de sodio cuando  $imax\_NKCC1$  tiene el valor de  $10 \mu A$ .

Para los otros dos mecanismos iónicos, la bomba de calcio y el intercambiador sodio-calcio, durante el segundo ajuste se observa dependencia entre ellos, puesto que la modificación de la corriente máxima en uno afecta a las corrientes resultantes de ambos mecanismos y a la concentración de sodio y de calcio (Fig. 5.9).

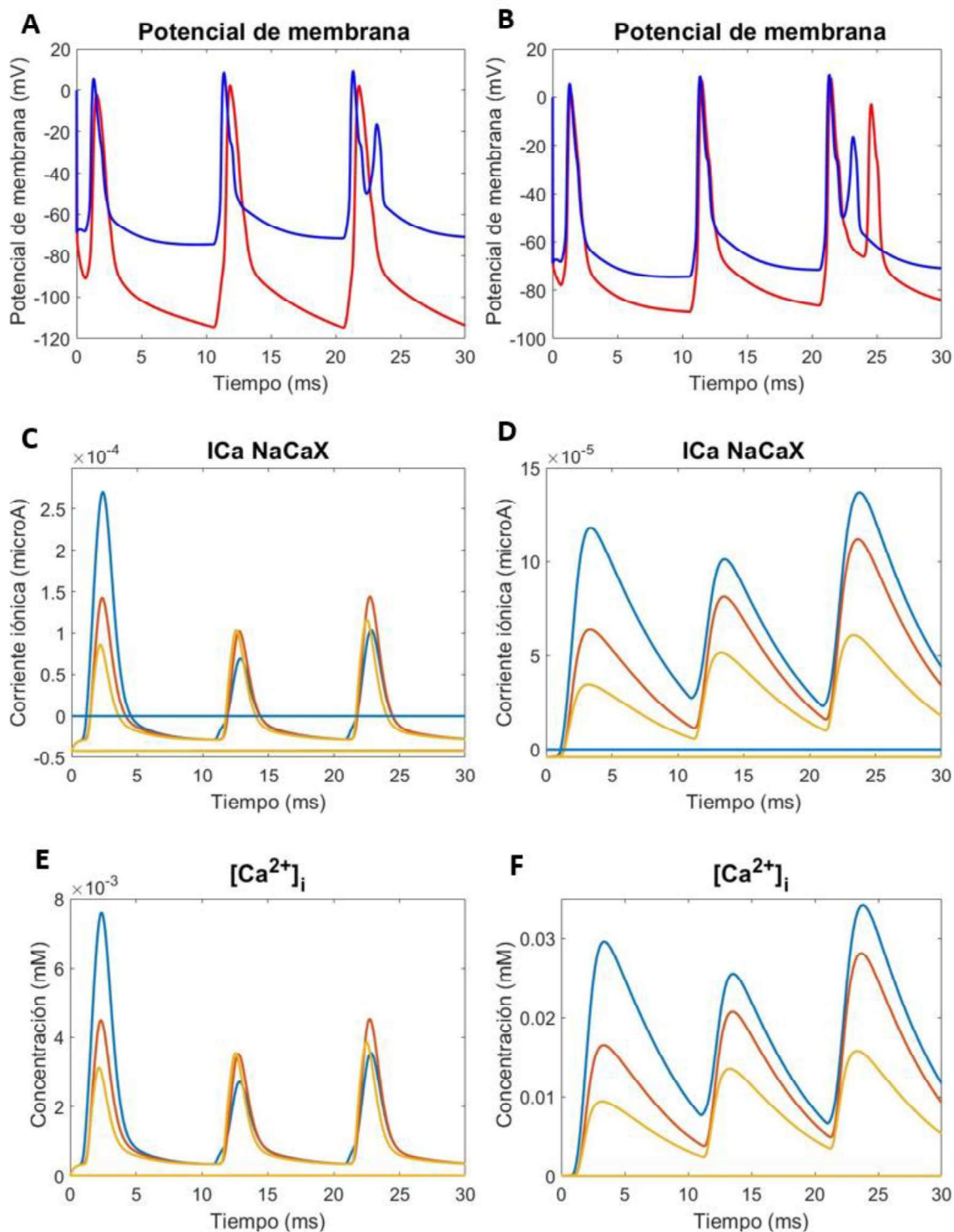
Tras comprobar las posibles combinaciones que se señalan en la Tabla 9 se ha deducido que los valores de las corrientes máximas  $i_{max\_CaPump}$  y  $i_{max\_NaCaX}$  deben ser  $0.6 \mu A/cm^2$  y  $0.01 \mu A$ .

Modificar únicamente los valores de la  $i_{max}$  de la CaPump produce cambios en el rango del calcio intracelular, en la corriente de calcio de la CaPump, en el potencial de acción y en las corrientes del NaCaX. Más concretamente para el valor  $0.6 \mu A/cm^2$  se disminuye el rango de la oscilación que producía en la concentración de calcio intracelular (Fig. 5.9.E) y aumenta la corriente de la CaPump. Por otro lado, sobre el NaCaX parece mantener su rango y magnitud, pero se ha desplazado en el eje de ordenadas por lo que ahora parece que trabaja en inverso en algunos tramos (Fig. 5.9.C). Finalmente, el potencial de membrana desciende aún más tras el potencial de acción (Fig. 5.9.A).

La modificación del parámetro  $i_{max\_NaCaX}$  no afecta en gran medida los valores de las corrientes  $I_{Na\_NaCaX}$ ,  $I_{Ca\_NaCaX}$  y  $I_{CaPump}$  ni a las concentraciones de calcio y sodio, pero sí afectan a su dinámica, modificando la morfología de las curvas (Figs. 5.9.D y 5.9.F). Además, también consigue que el potencial de membrana tras el potencial de acción no disminuya tanto como en otros casos (Fig. 5.9.B).

Por lo tanto, juntar todos los canales genera una situación en la que hay que elegir entre que el modelo disponga de una dinámica más adecuada o de unas magnitudes más reales. En consecuencia, hay tres posibles combinaciones de datos: A) modelo cuyo objetivo es alcanzar que todas las corrientes sean del orden de  $10^{-4}$ , independientemente de la dinámica (Tabla 5.4); B) modelo enfocado en obtener la mejor dinámica posible a costa de que los órdenes sean menores ( $10^{-6}$ ) en las corrientes generadas por el KCC2, la Na/KPump y el NKCC1 (Tabla 5.5); y C) modelo intermedio entre los anteriores que tiene como objetivo que las dinámicas no sean muy rápidas y el orden de las corrientes  $10^{-5}$  (Tabla 5.6).

Finalmente se realizaron las tres simulaciones para cada modelo propuesto y seguidamente estas tres simulaciones se repitieron haciendo que el intercambiador NaCaX dependiese de las corrientes de calcio, viéndose así que las dinámicas de las corrientes  $I_{Na\_NaCaX}$  y  $I_{Ca\_NaCaX}$ , mejoraban y simulaban mejor el comportamiento de este intercambiador (Figs. 5.14.A y 5.14.B).



**Figura 5.9.** Graficas comparativas del efecto de modificar las corrientes maximas de NaCaX o CaPump. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con  $i_{max\_CaPump}$  con valor  $0.6 \mu A/cm^2$ . (B) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con  $i_{max\_NaCaX}$  con valor  $0.01 \mu A$ . (C) Corriente de calcio generada por el NaCaX al modificar  $i_{max\_CaPump}$ . (D) Corriente de calcio generada por el NaCaX al modificar  $i_{max\_NaCaX}$ . (E) Concentración intracelular de calcio al modificar  $i_{max\_CaPump}$ . (F) Concentración intracelular de calcio al modificar  $i_{max\_NaCaX}$ .

**Tabla 5.4.** Valores de las corrientes máximas para conseguir que los órdenes de sus respectivas corrientes sean de  $10^{-4}$ .

|                 | <i>imax_KCC2</i> | <i>imax_CaPump</i> | <i>imax_NaKPump</i> | <i>imax_NaCaX</i> | <i>imax_NKCC1</i> |
|-----------------|------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Original</b> | $3 \mu A/cm^2$   | $0.6 \mu A/cm^2$   | $2.4 \mu A/cm^2$    | $0.01 \mu A$      | $100 \mu A$       |

**Tabla 5.5.** Valores de las corrientes máximas para conseguir que las dinámicas de las corrientes y de las concentraciones sean mejores.

|                 | <i>imax_KCC2</i>  | <i>imax_CaPump</i> | <i>imax_NaKPump</i> | <i>imax_NaCaX</i> | <i>imax_NKCC1</i> |
|-----------------|-------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Original</b> | $0.03 \mu A/cm^2$ | $0.6 \mu A/cm^2$   | $0.024 \mu A/cm^2$  | $0.01 \mu A$      | $1 \mu A$         |

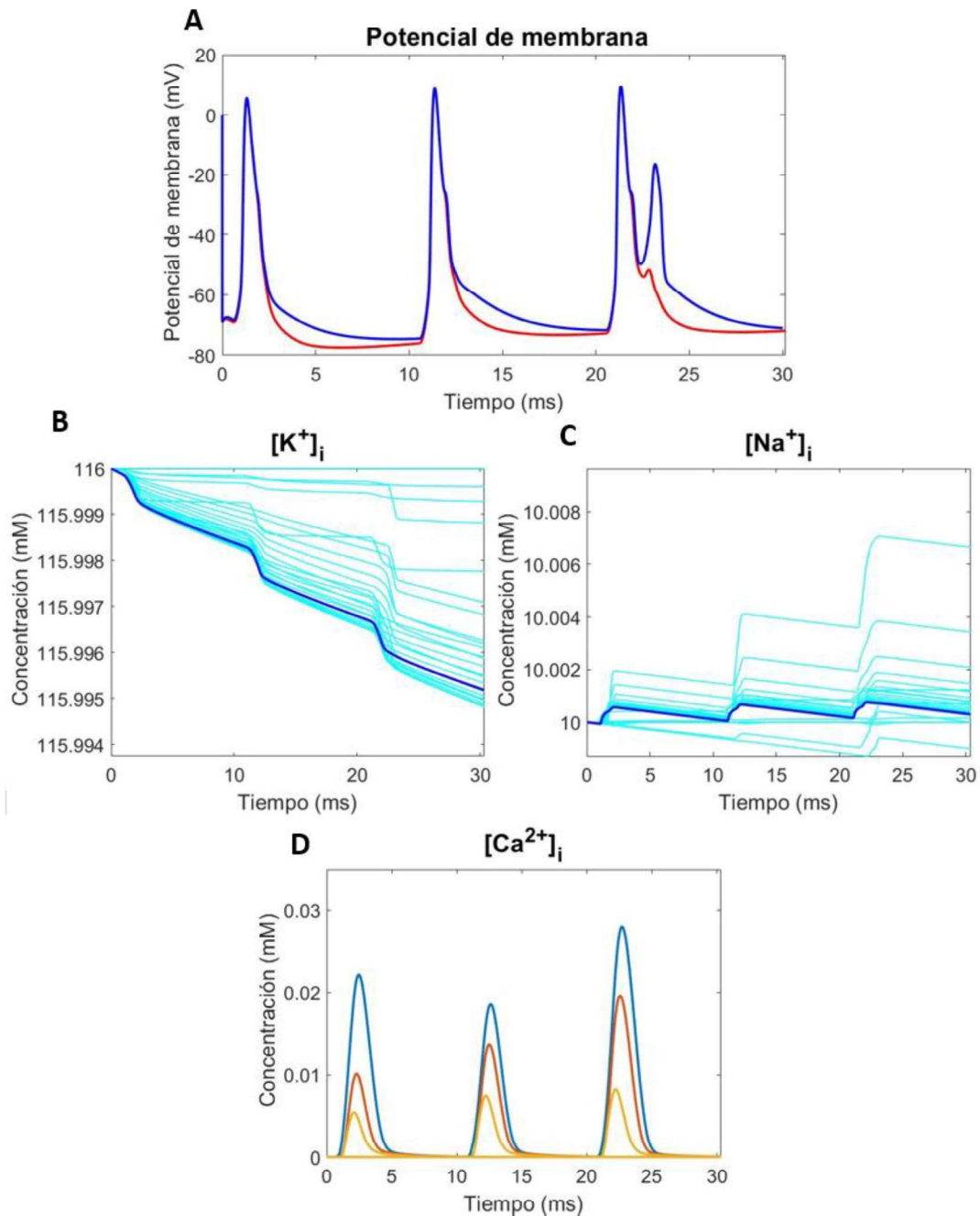
**Tabla 5.6.** Valores de las corrientes máximas para conseguir una dinámica y una magnitud en las corrientes y concentraciones aceptables.

|                 | <i>imax_KCC2</i> | <i>imax_CaPump</i> | <i>imax_NaKPump</i> | <i>imax_NaCaX</i> | <i>imax_NKCC1</i> |
|-----------------|------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| <b>Original</b> | $0.3 \mu A/cm^2$ | $0.6 \mu A/cm^2$   | $0.24 \mu A/cm^2$   | $0.01 \mu A$      | $10 \mu A$        |

Ahondando más en la simulación de cada modelo, para la primera, la realizada con los datos de la Tabla 5.4, su simulación resulta errónea puesto que no se produce ningún potencial de acción. Esto puede deberse a que la magnitud de estas nuevas corrientes condiciona demasiado a las concentraciones desestabilizándolas.

Para las simulaciones del segundo modelo obtenemos las gráficas de las Figs. 5.10, 5.11 y 5.14. En la primera figura se puede observar como el potencial de acción mantiene bastante bien la morfología respecto al original. A diferencia de los potenciales que habíamos visto hasta ahora, este consigue no disminuir tanto su potencial de membrana tras un potencial de acción y además consigue reducir el segundo pico que aparecía en el tercer potencial (Fig. 5.10.A).

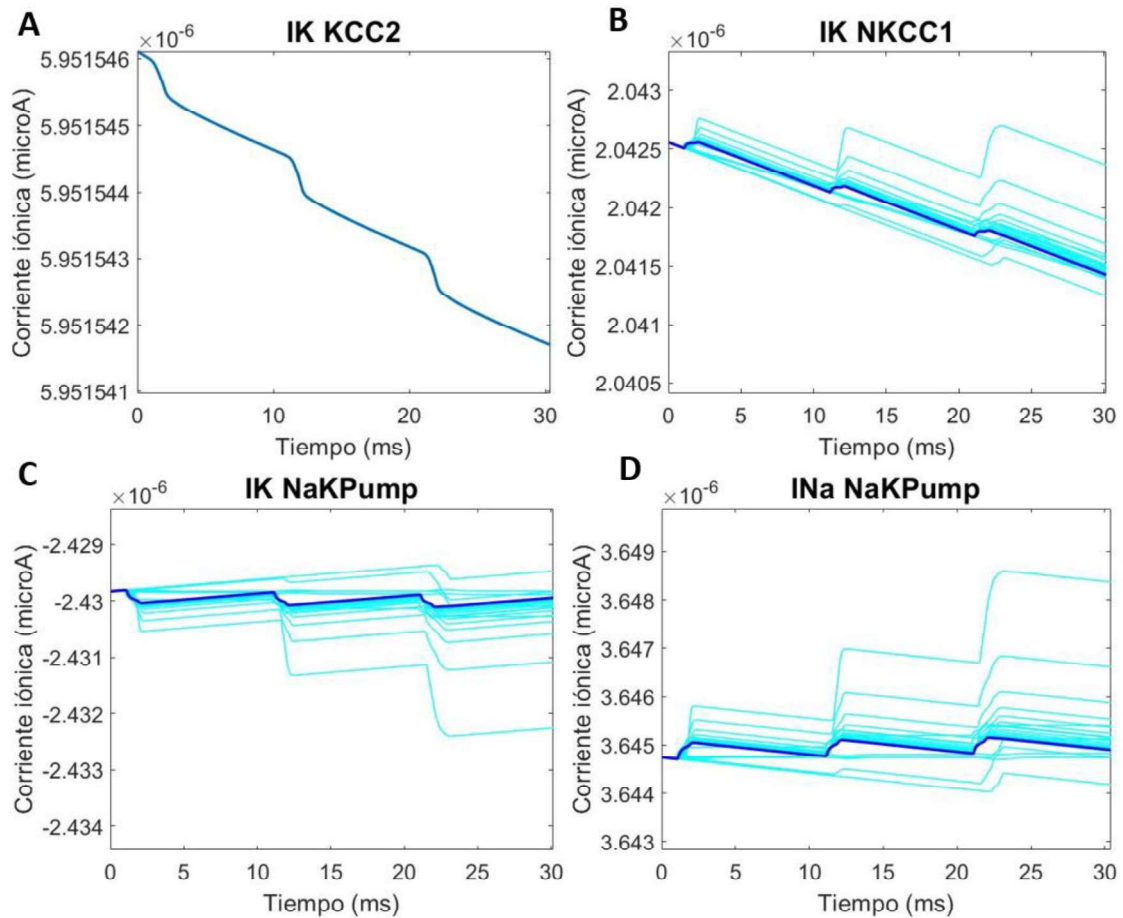
La concentración de potasio es descendente en todos sus compartimentos, pero se ha conseguido que esa variación sea lo menor posible (Fig. 5.10.B). Mientras, la concentración de sodio aparentemente consigue oscilar sobre la concentración de 10mM, al menos en el sexto nodo de Ranvier (Fig. 5.10.C). Dado que en ambas gráficas se observa que las distintas curvas, que representan los compartimentos, se separan con el tiempo se realizará un estudio más adelante realizando una simulación de mayor duración. Por su parte, la concentración de calcio se ajusta a lo esperado en su dinámica y magnitud (Fig. 5.10.D).



**Figura 5.10.** Gráficas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.5. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (C) Concentración intracelular de sodio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (D) Concentración de calcio intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos.

En la siguiente figura, se muestran algunas corrientes iónicas, pudiéndose observar que todas tienen un orden de magnitud de  $10^{-6}$ . El cotransportador KCC2 genera una corriente de potasio (Fig. 5.11.A) y otra de cloro muy estables en el tiempo, puesto que la variación al cabo de 30 ms es de  $4 \cdot 10^{-12} \mu A$ . El cotransportador NKCC1 genera corrientes de potasio (Fig. 5.11.B), sodio y cloro mostrando estabilidad durante esos 30 ms, aunque desciende más que el anterior, es una bajada de  $1 \cdot 10^{-10} \mu A$ . La bomba Na/K por su parte muestra bastante estabilidad en los nodos

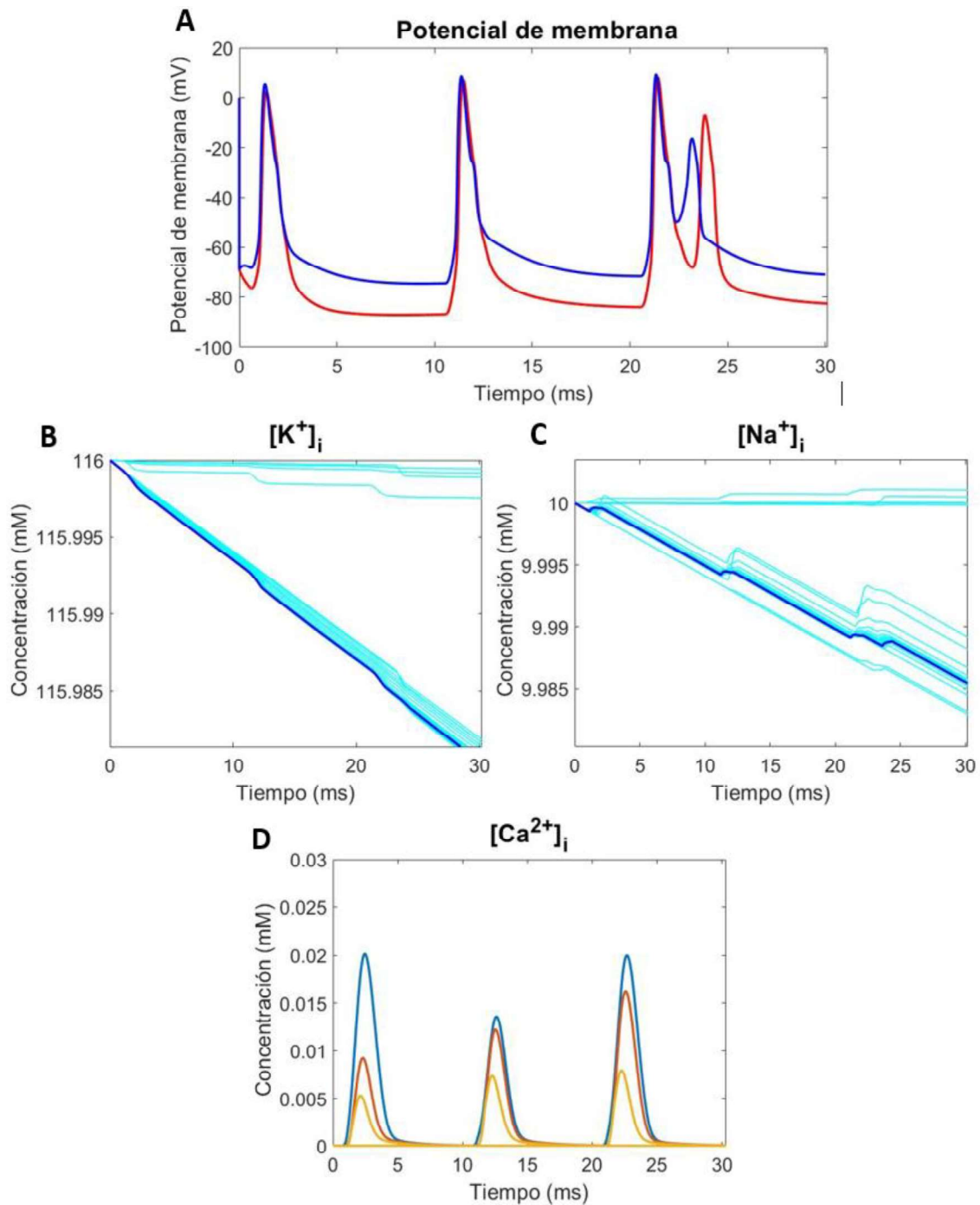
centrales (sexto nodo), pero es cierto que se observa una tendencia en cuanto a la separación de las curvas de los distintos compartimentos (Figs. 5.11.C y 5.11.D).



**Figura 5.11.** Gráficas de las corrientes iónicas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.5, donde la curva azul oscuro representa el nodo de Ranvier 6. (A) Corriente de potasio generada por el cotransportador KCC2. (B) Corriente de potasio generada por el cotransportador NKCC1. (C) Corriente de potasio generada por la bomba Na/K. (D) Corriente de sodio generada por la bomba Na/K.

Para las simulaciones del modelo con los datos de la Tabla 5.6 se obtienen las Figs. 5.12, 5.13 y 5.14. La primera figura muestra los potenciales de acción (curva roja), donde se puede observar como desciende su potencial de membrana aproximadamente unos 15mV respecto al original tras el potencial de acción unos 15mV, sin embargo produce un aumento en el segundo pico que aparece en el tercer potencial (Fig. 5.12.A).

Respecto a las concentraciones intracelulares de potasio y de sodio, tienen dinámicas más rápidas en los nodos de Ranvier, en comparación al modelo anterior (Figs. 5.12.B y 5.12.C). En el caso de la concentración intracelular de calcio, la magnitud disminuye ligeramente pero su dinámica es muy similar (Fig. 5.12.D).

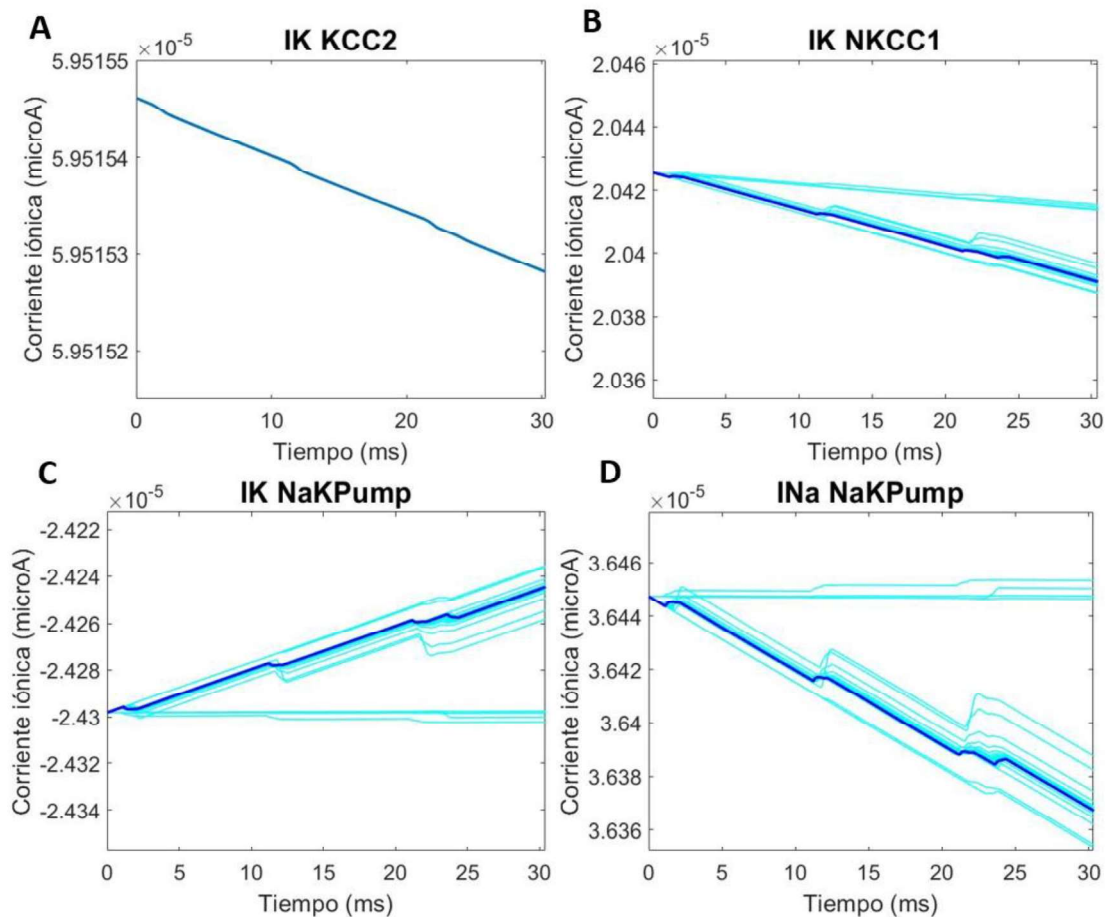


**Figura 5.12.** Gráficas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.6. (A) Potenciales de acción en el sexto nodo. La curva azul representa el potencial de membrana solo con canales iónicos; la curva roja representa el potencial con las modificaciones. (B) Concentración intracelular de potasio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (C) Concentración intracelular de sodio donde la curva azul oscuro señala el nodo 6. (D) Concentración de calcio intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos.

Las corrientes iónicas de potasio y de cloro producidas por el cotransportador KCC2 son bastante estables dado que en 30 ms solo disminuye  $2 \cdot 10^{-10} \mu A$  (Fig. 5.13.A). Para las corrientes generadas por el cotransportador NKCC1 también son relativamente estables puesto que en 30ms disminuye  $3 \cdot 10^{-3} \mu A$  (Fig. 5.13.B). En el caso de las corrientes de sodio y potasio causadas por su



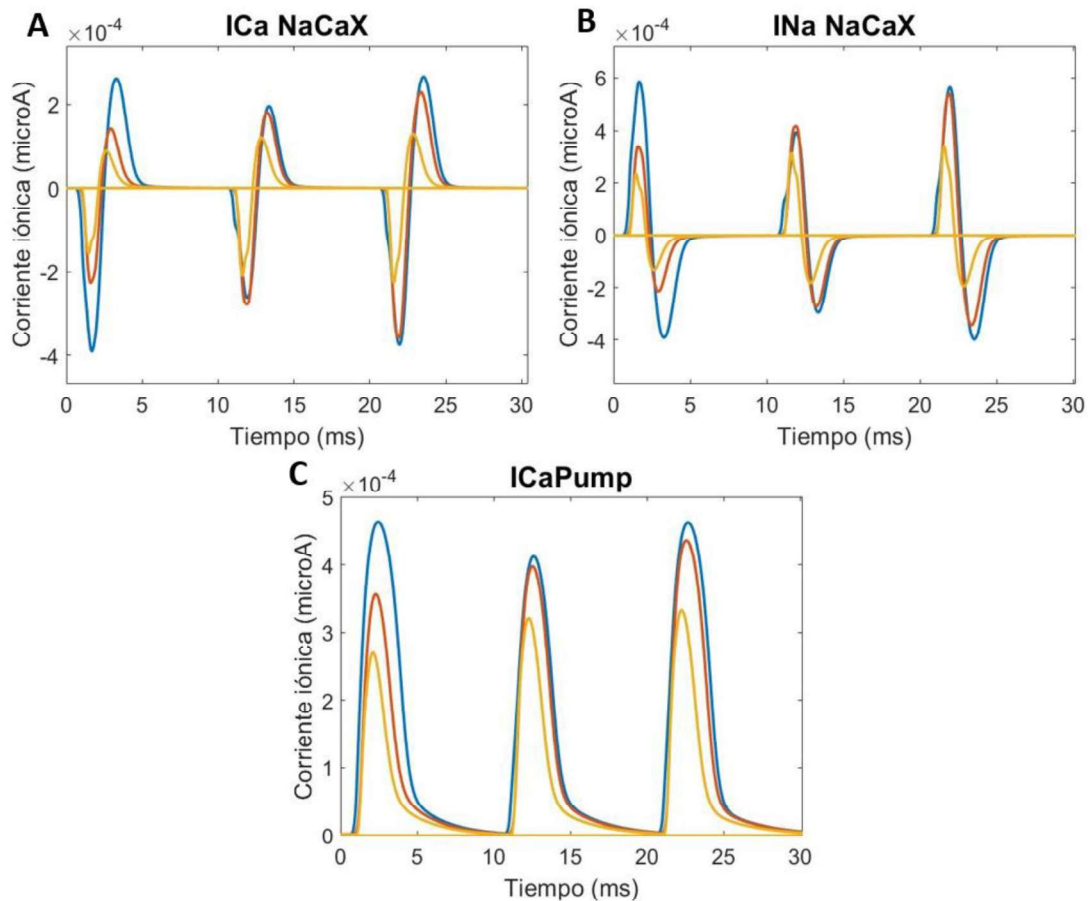
bomba son menos estables porque, aunque la variación en el tiempo sea relativamente baja, del orden de  $10^{-8}$  en 30 ms, hay una clara diferencias de tendencias entre los nodos y el resto de los compartimentos (Figs. 5.13.C y 5.13.D). Sin embargo, tal y como se esperaba, aunque las dinámicas hayan empeorado para todas las corrientes sus magnitudes ahora son del orden de  $10^{-5}$ .



**Figura 5.13.** Gráficas de las corrientes iónicas resultado de la simulación con los datos de la Tabla 5.6, donde la curva azul oscuro representa el sexto nodo de Ranvier. (A) Corriente de potasio generada por el cotrasportador KCC2. (B) Corriente de potasio generada por el cotransportador NKCC1. (C) Corriente de potasio generada por la bomba Na/K. (D) Corriente de sodio generada por la bomba Na/K.

La siguiente figura la comparten los dos modelos, el de la Tabla 5.5 y el de la 5.6, puesto que las gráficas resultantes de ambas simulaciones eran extremadamente similares. Esto se debe a que por un lado no se han modificado los valores de la bomba de calcio, y por otro la única variable que ha podido cambiar de un modelo a otro que afecte directamente al intercambiador NaCaX solo es el  $[Na^+]_i$ .

Se puede observar como las corrientes generadas por el NaCaX reflejan perfectamente el comportamiento que tiene este intercambiador capaz de modificar la orientación de las corrientes iónicas (Figs. 5.14.A y 5.14.B). En cuanto a la bomba de calcio su dinámica se podría decir que también se ajusta a lo esperado puesto que genera para los tres compartimentos unas curvas que concuerdan con el potencial de acción y una buena recuperación (Fig. 5.14.C). Finalmente cabe señalar que para ambos mecanismos iónicos las corrientes tienen el mismo orden que las otras corrientes causadas por los canales iónicos.



**Figura 5.14.** Gráficas resultado de incluir los datos de la Tabla 5.5 o de la Tabla 5.6. (A) Corriente de calcio generada por el intercambiador NaCaX. (B) Corriente de sodio generada por el intercambiador NaCaX. (C) Corriente de calcio generada por la bomba de calcio.

Por lo tanto, de este segundo ajuste la principal conclusión que se extrae es que ninguno de los modelos es aún óptimo. Sin embargo, es cierto que las dinámicas y magnitudes del intercambiador NaCaX y de la bomba de calcio se han conseguido modelar respecto a los objetivos establecidos al principio de este segundo ajuste. El resto de los mecanismos iónicos (KCC2, NKCC1 y Na/KPump) aún deben de seguir estudiándose para conseguir una dinámica estable y una magnitud adecuada.

### 5.3 TERCER AJUSTE

Dado que no todos los objetivos han sido cumplidos tras el segundo ajuste, no se ha llegado a aportar al modelo las características que necesita. En consecuencia, se realiza un estudio de sensibilidad respecto de las afinidades de cada mecanismo iónico por sus iones (Tabla 5.7).

Este estudio se realiza solo sobre los cotransportadores KCC2 y NKCC1, y la bomba Na/K. Esto se debe a que estos son los mecanismos que aún no se han conseguido ajustar, a diferencia del intercambiador NaCaX y la bomba de calcio. Sin embargo, el efecto de la modificación de los parámetros se estudiará para todos los mecanismos.

Cabe señalar que este tercer ajuste se realiza sobre el segundo modelo propuesto (Tabla 5.5), puesto que así se estudia sobre el modelo que se considera más estable.

**Tabla 5.7.** Estudio de sensibilidad para los mecanismos iónicos KCC2, Na/Pump y NKCC1.

| Mecanismo iónico | Parámetro | x10 | :10 | Control                 |
|------------------|-----------|-----|-----|-------------------------|
| KCC2             | $k_K$     |     |     | 9.0mM                   |
|                  | $k_{Cl}$  |     |     | 6.0mM                   |
| Na/KPump         | $k_K$     |     |     | 3.0mM                   |
|                  | $k_{Na}$  |     |     | 10.0mM                  |
| NKCC1            | $k_{Na}$  |     |     | 0.08445mM <sup>-1</sup> |
|                  | $k_K$     |     |     | 0.00116mM <sup>-1</sup> |
|                  | $k_{Cl}$  |     |     | 0.05735mM <sup>-1</sup> |

Cuando este estudio se realiza sobre los parámetros del KCC2 causa variaciones exclusivamente en la concentración de potasio intracelular, y en las corrientes  $I_{K\ KCC2}$  e  $I_{Cl\ KCC2}$ . Cuando se multiplican tanto  $k_K$  como  $k_{Cl}$  de manera independiente por 10 se genera a grandes rasgos el mismo efecto: aumentar el orden de las corrientes y acelerar la dinámica del potasio. Por el contrario, cuando estos parámetros se dividen entre 10 se produce un aumento en la magnitud de las corrientes y una dinámica más lenta en la concentración de potasio intracelular.

Por lo tanto, en base a los objetivos del modelo final, se deberá elegir entre introducir que  $k_K$  sea 90.0mM o bien que  $k_{Cl}$  sea 60.0mM. Sin embargo, se prefiere que  $k_{Cl}$  sea 60.0mM, puesto que, aunque las dinámicas sean muy similares en ambos casos, hay menos dispersión en los compartimentos conforme avanza al tiempo.

En el caso de la bomba Na/K solo hay dos posibilidades a considerar. La primera es modificar en el modelo  $k_{Na}$  por 1 mM. Esto es porque, a costa de acelerar la dinámica de la curva de la concentración intracelular de sodio, se dota al potasio de una dinámica diferente, pasando de ser continuamente decreciente en nodos, como se había visto hasta ahora, a creciente y con variaciones asumibles. Adicionalmente, permite aumentar la magnitud de las corrientes de potasio y de sodio (orden de 10<sup>-5</sup>). La segunda posibilidad consiste en dejar los parámetros con sus valores originales.

El resto de las opciones para la bomba Na/K se han desechado porque aceleran considerablemente la dinámica de la concentración de sodio y/o disminuye la magnitud de las corrientes iónicas.

Para el ajuste sobre el cotransportador NKCC1 se proponen también dos soluciones, puesto que el resto dotan al modelo de una mala dinámica y menores magnitudes en las corrientes. La primera, y la más óptima, consiste en modificar el parámetro  $k_{Na}$  por 0.8445mM<sup>-1</sup>. De este

modo se consigue que las corrientes aumenten ligeramente su magnitud y que mantengan la dinámica de las concentraciones de potasio y sodio tal y como en el caso de control. La segunda opción, como en el caso anterior, es dejar todos los parámetros con los valores originales.

No obstante, para los tres mecanismos iónicos se puede observar **cómo** existe **todavía** una relación de proporcionalidad inversa entre la magnitud de las corrientes y de las dinámicas de las concentraciones y corrientes. Independientemente de esta condición se introduce en el modelo las modificaciones de los parámetros (señalados en verde en la Tabla 5.7).

El resultado de esta simulación genera no una mejora a considerar, puesto que solo consigue modificar notablemente las magnitudes de las corrientes generadas por el KCC2 y por la bomba Na/K, todo esto empeorando la dinámica. Por lo tanto, se opta por no introducir en ninguno de los dos modelos (Tablas 5.5 y 5.6) estas modificaciones.

#### 5.4 SIMULACIÓN FINAL

Como se ha señalado durante la exposición de este capítulo es necesario comprobar las tendencias de las concentraciones y de las corrientes a largo plazo, por lo tanto, se plantean simulaciones de mayor duración en ambos modelos.

Para el primer modelo (Tabla 5.5) se observa como la morfología de los potenciales de acción es bastante estable con el tiempo. Tras un periodo en el que el segundo pico del potencial de acción crece en amplitud considerablemente, este crecimiento se estabiliza aumentando solo con cada potencial aproximadamente  $30\mu\text{V}$ . Los potenciales de acción con el tiempo se mantienen en un rango de valores que se ajustan a lo esperado puesto que el potencial de membrana en reposo está en torno a los  $69\text{mV}$  y la amplitud a los  $11\text{mV}$  (Fig. 5.15).

En cuanto a las curvas de la concentración intracelular de potasio se observa una tendencia clara a que las curvas de los compartimentos se separen y desciendan indefinidamente. Esto puede suponer un problema a largo plazo para el modelo puesto que claramente tiende al desorden (Fig. 5.17).

La Fig. 5.18, adjuntada como las dos anteriores en el anexo, muestra las curvas de la evolución de la concentración intracelular de sodio en los distintos compartimentos. Se puede observar como la tendencia del sexto nodo es oscilar en la línea base, no obstante, esta línea base con el tiempo parece crecer. Por lo tanto, mientras la dinámica en el nodo 6, un nodo central, se puede considerar adecuada, se puede observar como hay determinados nodos (nodo 19) que divergen muy rápidamente del resto. Esto a la larga puede ser un problema para el sistema puesto que puede desestabilizarlo.

Las tres curvas que representan la evolución de la concentración intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos de la neurona muestran una gran estabilidad con el tiempo, de modo que solo los seis primeros potenciales son diferentes al resto (Fig. 5.16).

Para el segundo modelo (Tabla 5.6) se observa un mayor desorden en todas las gráficas (Figs. 5.19, 5.20, 5.21 y 5.22). El potencial no presenta una morfología constante, ni en la amplitud de cada potencial, ni en el segundo pico del potencial. A diferencia con el caso anterior se observa

## Modelado computacional del efecto de bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos en el potencial de acción neuronal

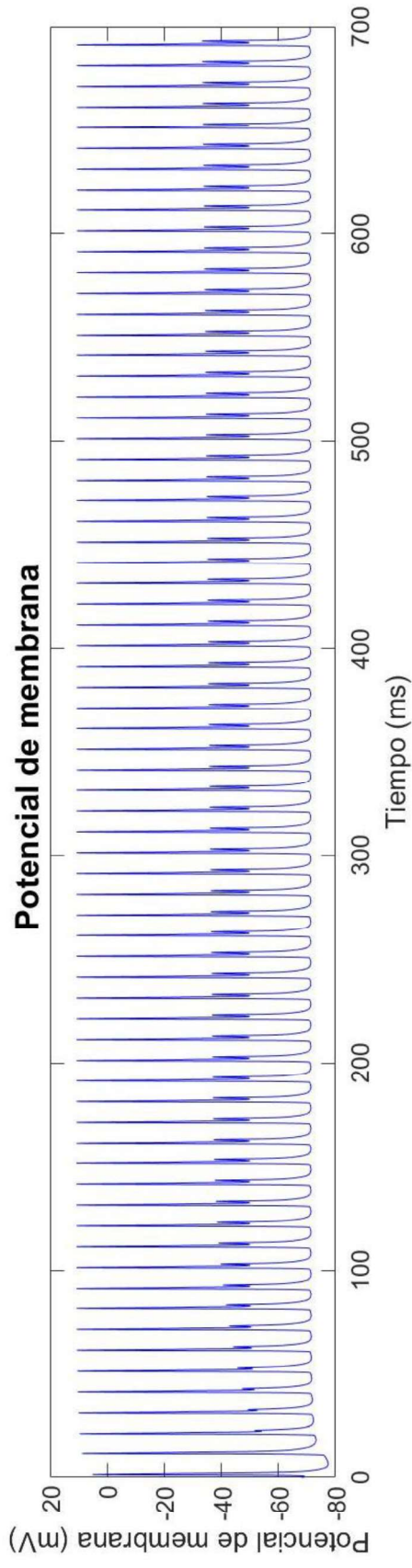
---

como el potencial de membrana en reposo disminuye hasta los  $-80\text{mV}$ , mientras que la amplitud es muy similar ( $9\text{mV}$ ).

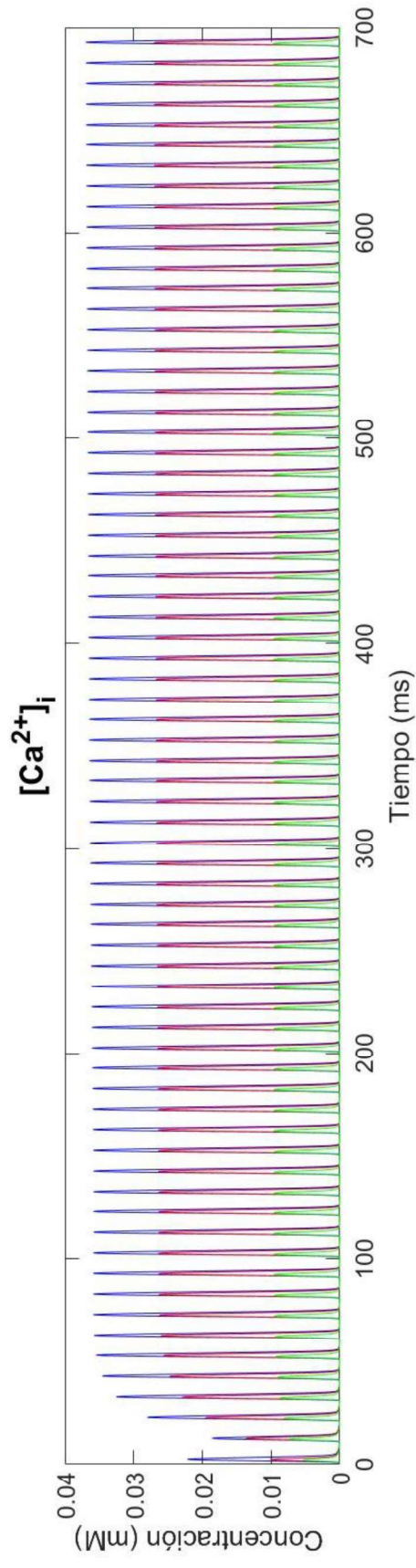
En cuanto a las curvas de la concentración intracelular de potasio se observa como tienen una dinámica más rápida, causando además menos oscilación durante los potenciales de acción. La bajada que se produce por parte de los nodos de Ranvier es  $0.36\text{ mM}$  mayor que para el modelo anterior.

La evolución de la concentración intracelular de sodio para este modelo muestra una dinámica bastante similar a la de potasio. Se observa como a diferencia de la evolución de esta concentración en el modelo anterior, en este caso, se produce un descenso generalizado en las concentraciones en todos sus nodos de Ranvier.

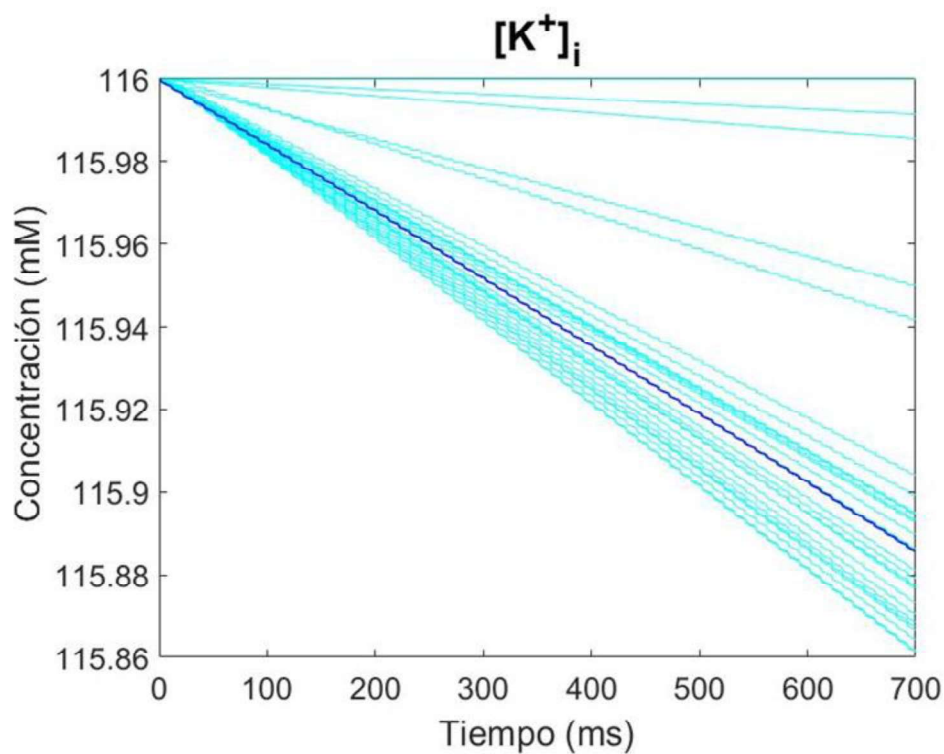
Para el calcio, su concentración intracelular de sodio para sus tres primeros compartimentos también varía con cada potencial de acción, sin embargo, esta variación presenta bastante estabilidad con el tiempo.



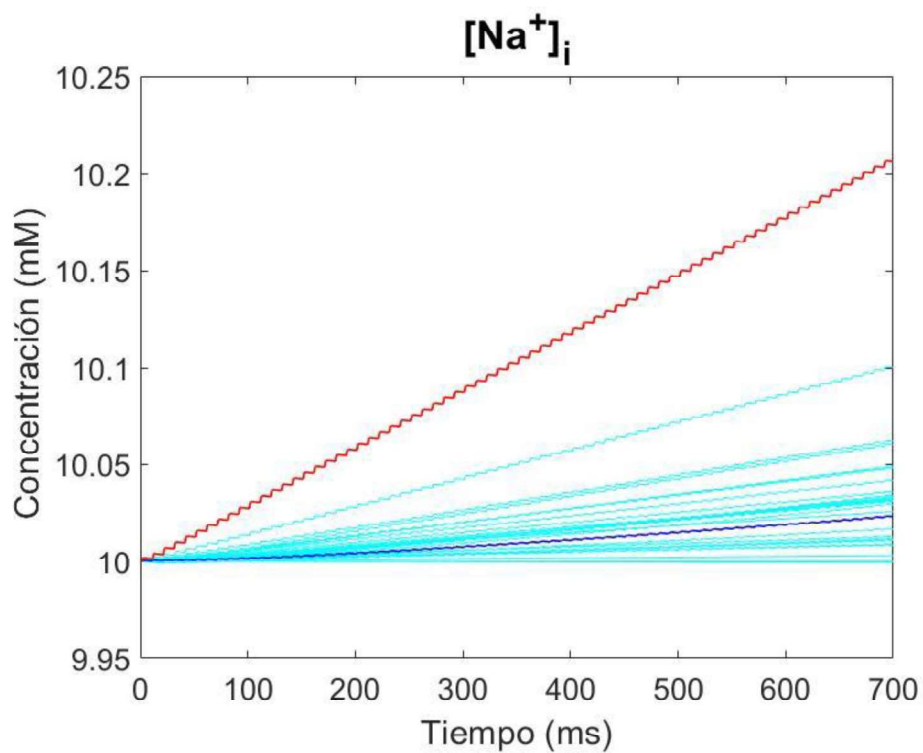
**Figura 5.15.** Potencial de membrana del nodo de Ranvier 6 resultante del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5)



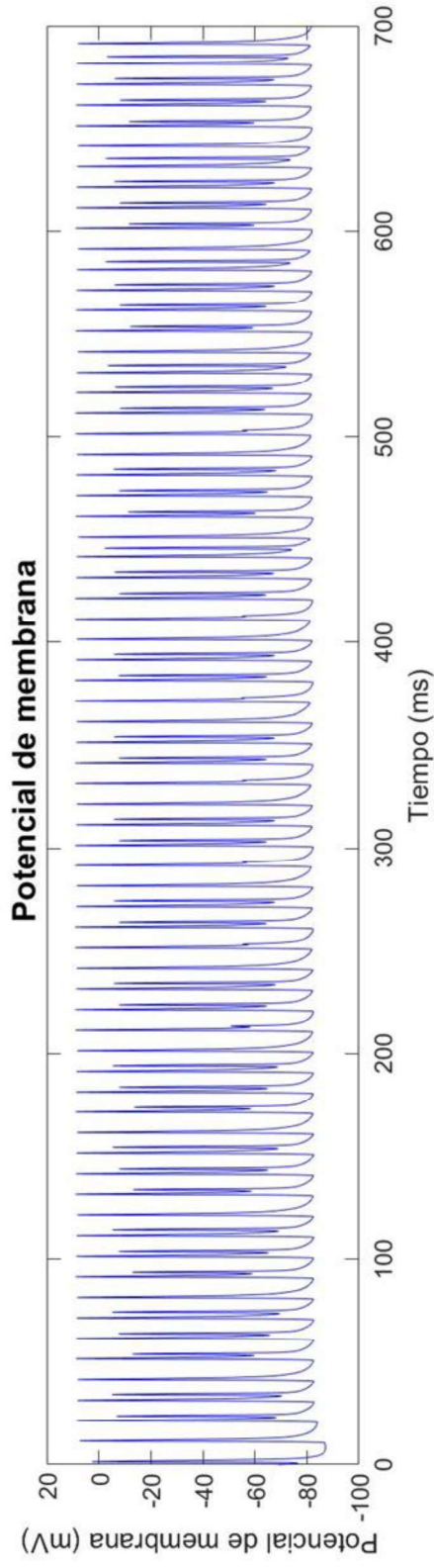
**Figura 5.16.** Evolución de la concentración intracelular de calcio en los tres primeros compartimentos. En el azul el primer compartimento, en rojo el segundo y en verde el tercero. Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5).



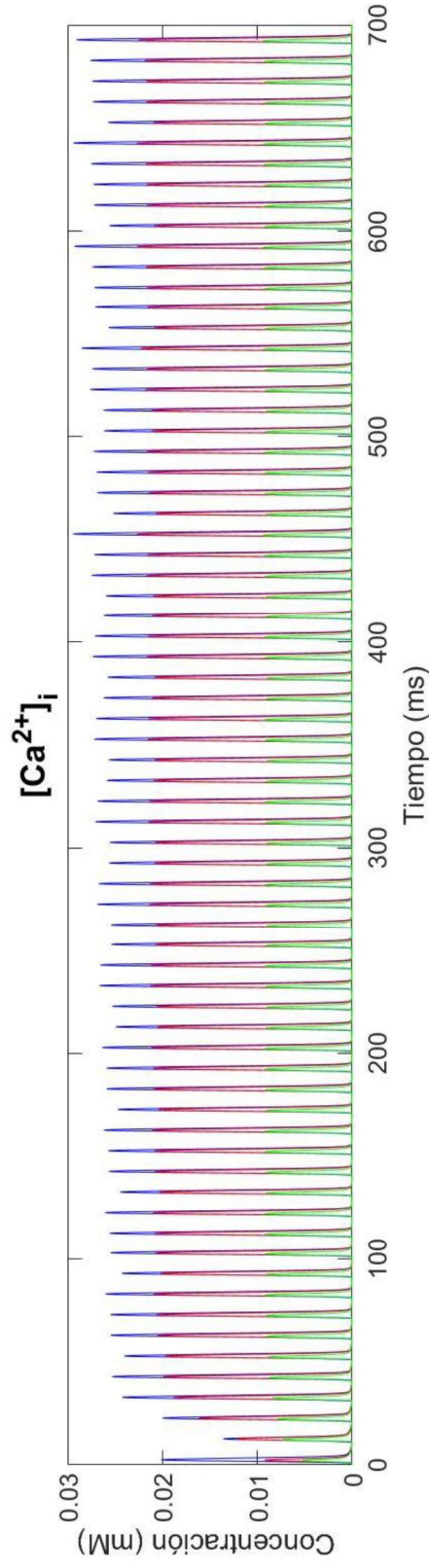
**Figura 5.17.** Concentración intracelular de potasio en todos los nodos (azul claro) y señalado el nodo 6 (azul oscuro). Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5).



**Figura 5.18.** Concentración intracelular de sodio, señalado en rojo la evolución en el compartimento 40 (nodo de Ranvier 19) y en azul oscuro el nodo 6. Gráfica resultado del modelo enfocado en las dinámicas (Tabla 5.5).

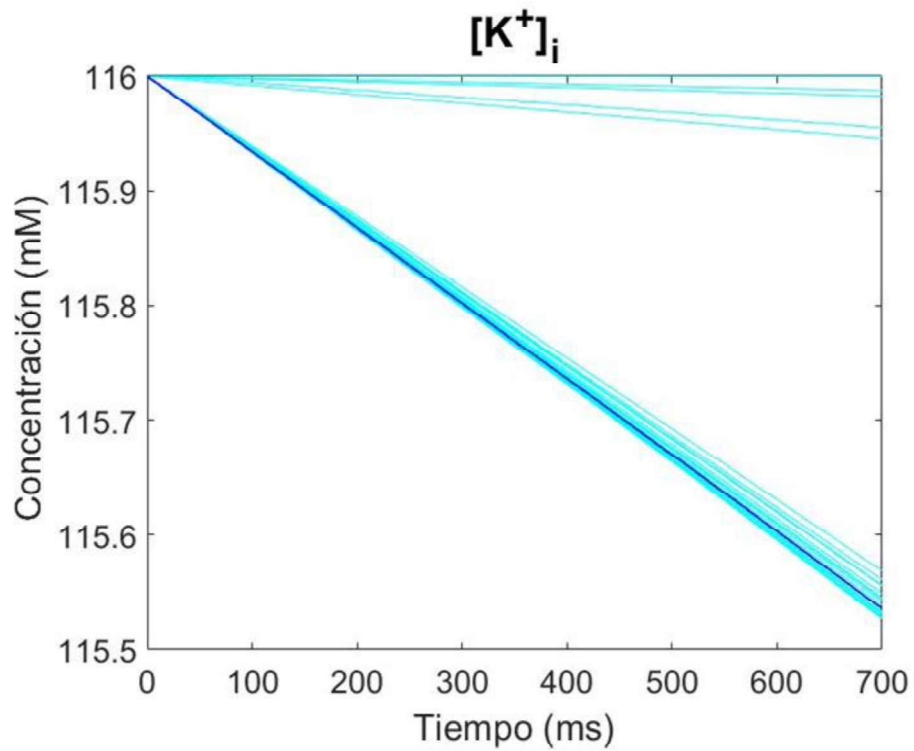


**Figura 5.19.** Potencial de membrana del nodo de Ranvier 6 resultante del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6)

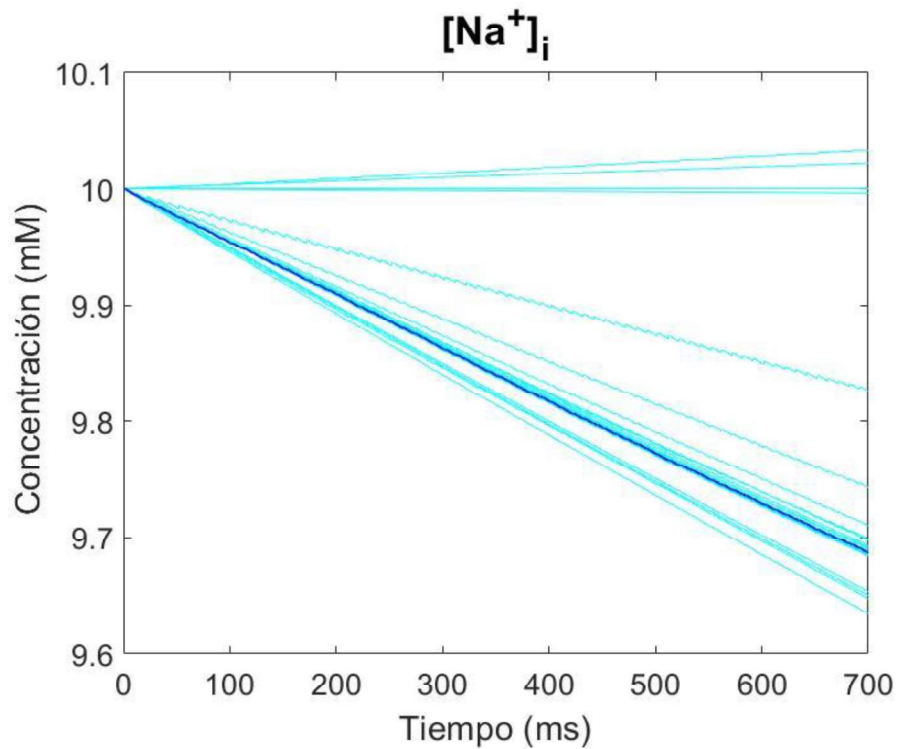


**Figura 5.20.** Evolución de la concentración intracelular de calcio intracelular en los tres primeros compartimentos. En el azul el primer compartimento, en rojo el segundo y en verde el tercero. Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6).





**Figura 5.21.** Concentración intracelular de potasio en todos los nodos (azul claro) y señalado el nodo 6 (azul oscuro). Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6).



**Figura 5.22.** Concentración intracelular de sodio, señalado en azul oscuro el nodo de Ranvier 6. Gráfica resultado del modelo enfocado en las magnitudes (Tabla 5.6).

## CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

El objetivo principal de este Trabajo Final de Grado era desarrollar un modelado matemático de una neurona piramidal que incluya bombas, intercambiadores y cotransportadores iónicos. Este objetivo se ha cumplido, como el resto de los subobjetivos planteados en el capítulo 3, desarrollando un software que fusiona dos modelos computacionales de neuronas piramidales.

Las principales conclusiones que se extraen de los dos modelos finales son:

- Los mecanismos iónicos KCC2, NKCC1 y Na/KPump, tienen una dinámica muy similar y están condicionados por el valor de corriente máxima que se incluya en el modelo. Adicionalmente, estos mecanismos iónicos tienen un gran efecto sobre las dinámicas de las concentraciones de potasio y de sodio.
- Existe relación de proporcionalidad inversa entre la magnitud de las corrientes y de las dinámicas de las concentraciones y corrientes.
- Los mecanismos iónicos: NaCaX y CaPump, tienen una relación de dependencia dado que la modificación de uno repercute en la dinámica y magnitud del otro. Para ambos modelos el resultado de la simulación de estos mecanismos es coherente con la naturaleza de su comportamiento.
- Ambos modelos presentados necesitan refinarse o compararse con datos experimentales para ver si las magnitudes y dinámicas presentadas para las corrientes iónicas se adecuan a la realidad de una neurona.



# **CAPÍTULO 7: LIMITACIONES Y LINEAS DE TRABAJO**

## **FUTURAS**

La principal limitación de este trabajo es no disponer de datos experimentales para corroborar que las simulaciones y los resultados obtenidos. Esto en un futuro permitiría decidir cuál de los dos modelos finales propuestos es más adecuado o si hay necesidad de replantear la introducción de estos mecanismos iónicos.

Las líneas futuras de trabajo podrían ser:

- Realizar pruebas experimentales para poder validar el modelado
- Realizar un análisis de sensibilidad más avanzado mediante la variación pseudo-aleatoria de las constantes de las bombas, intercambiadores y co-transportadores iónicos y estudiando el efecto multidimensional de los mismos sobre el potencial de acción y las concentraciones iónicas.
- Seguir desarrollando un modelo de la neurona más realista por ejemplo por medio de la implantación de receptores GABA que se ven afectados por la concentración de cloro controlada por los intercambiadores iónicos introducidos en el modelo de este Trabajo Fin de Grado.
- Extrapolar el modelo a mayor variedad de neuronas tanto piramidales como espinales.



# CAPÍTULO 8: ANEXOS

## 8.1. CÓDIGO DE MATLAB

Los códigos usados en este trabajo se encuentran en el siguiente enlace:

<https://www.dropbox.com/sh/xeglmi3swa2qm5i/AACfgtYqy3SLyOXnm84I2NL-a?dl=0>

En él podemos encontrar:

- El modelo original: *ChE\_v6.m*
- El modelo de la Tabla 5.5: *ChEP\_v1.m*
- El modelo de la Tabla 5.6: *ChEP\_v2.m*
- El script para la ejecución del modelo y el cálculo de graficas: *ejecutable.m*
- Una carpeta con las figuras del resultado del modelo 1 en formato *.fig*: *Potencial de membrana.fig* ; *Cai.fig*; *Ki.fig*; y *Nai.fig* .
- Otra carpeta con las figuras del resultado del modelo 2 en formato *.fig*: *Potencial de membrana.fig* ; *Cai.fig*; *Ki.fig*; y *Nai.fig* .



## CAPÍTULO 9: REFERENCIAS

### **BIBLIOGRAFÍA**

- de Vicente, M. (2020). *Todo lo que necesitas saber sobre el potencial de acción*. Obtenido de <https://blog.mdurance.eu/academia/el-potencial-de-accion/>
- Ferrero, J. (2020). Bioelectricidad. Grado de Ingeniería Biomédica. Universidad Politécnica de Valencia.
- Guyton, & Hall. (2011). *Tratado de Fisiología médica*. ELSEVIER SAUNDERS.
- Haines, D. (1997). *Fundamental Neuroscience*. New York.
- Lewin, N., Aksay, E., & Clancy, C. E. (2012). Computational Modeling Reveals Dendritic Origins of GABA-Mediated Excitation in CA1 Pyramidal Neurons. *PLOS one*.
- Plonsey, R., & Barr, R. C. (2007). *BIOELECTRICITY. A Quantitative Approach*. Durham, North Carolina, USA: Springer.
- Ramaswamy, S., & Markram, H. (Junio de 2015). Anatomy and physiology of the thick-tufted layer 5 pyramidal neuron. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.
- Serrano, E. (2020). Modelado y simulacion computacional de la electroestimulación de neuronas piramidales in vitro. Trabajo Final de Master.
- Tresguerres, J. (2005). *Fisiología Humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.







## **PRESUPUESTO**



## 1. OBJETIVO

El objetivo de este apartado es valorar económicamente el Trabajo Fin de Grado realizado. Para ello se estudiará por separado los costes de persona y los materiales, para finalmente hacer una estimación de los costes totales.

## 2. COSTES PARCIALES

Estos costes incluyen el coste de personal y el coste material.

### 2.1 Costes de personal

El coste de personal se calcula en base a las personas que han estado involucradas en el desarrollo del proyecto. En este caso han participado un ingeniero industrial superior, guiando y tutorizando el trabajo, y un estudiante de ingeniería biomédica, que ha realizado el presente TFG.

El sueldo base de un estudiante es aproximadamente de 1400 €/mes, mientras el de un ingeniero superior es de 2600 €/mes.

Si un año tiene 52 semanas, se trabajan un total de 46 ya que hay que restar cuatro de vacaciones y dos de festivos. Por lo tanto, si una jornada laboral son 8 horas diarias y se trabajan cinco días de la semana, se trabaja un total de 1840 horas en todo el año. Además, el coste de la seguridad social para una empresa es de un 31.55% sobre cada salario.

Como resultado, el coste del ingeniero estudiante es de 14,01 €/h y del ingeniero superior de 26,02 €/h.

Los costes totales asociados al personal se muestran en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1.** Costes de personal del trabajo

| Nº           | Descripción del recurso        | Unidad | Precio unitario | Cantidad (h) | Coste Total       |
|--------------|--------------------------------|--------|-----------------|--------------|-------------------|
| 1            | Ingeniero industrial superior  | €/h    | 26,02 €/h       | 50           | 1.301,00 €        |
| 2            | Ingeniero biomédico estudiante | €/h    | 14,01 €/h       | 320          | 4.483,20 €        |
| <b>TOTAL</b> |                                |        |                 |              | <b>5.784,20 €</b> |

### 2.2 Costes materiales

En el caso del coste de los materiales se tiene en cuenta para este trabajo, por un lado, los costes de software o licencias de programas informáticos, y por otro lado, los costes de hardware.

En la Tabla 1.2 se muestran estos costes.

**Tabla 1.2.** Costes materiales del trabajo.

| Nº           | Descripción del recurso       | Precio | Cantidad | Duración licencia | Periodo de uso | Factor de amortización | Coste total |
|--------------|-------------------------------|--------|----------|-------------------|----------------|------------------------|-------------|
| 1            | Matlab® R2021b                | 69 €   | 1        | 12 meses          | 6 meses        | 1/2                    | 34,50 €     |
| 2            | Microsoft Office® Student 365 | 149 €  | 1        | 12 meses          | 8 meses        | 2/3                    | 99,33 €     |
| 3            | Windows® 10                   | 136 €  | 1        | 60 meses          | 8 meses        | 2/15                   | 18,13 €     |
| 4            | HP Pavilion                   | 775 €  | 1        | 60 meses          | 8 meses        | 2/15                   | 103,33 €    |
| <b>TOTAL</b> |                               |        |          |                   |                |                        | 255,29 €    |

### 3. COSTE TOTAL DEL PROYECTO

Los costes totales asociados al proyecto se calculan como la suma entre los costes de personal y los costes materiales como se muestra en la Tabla 1.3.

**Tabla 1.3.** Costes totales del trabajo.

| Descripción       | Importe    |
|-------------------|------------|
| Coste de personal | 5.784,20 € |
| Costes materiales | 255,29 €   |
| <b>TOTAL</b>      | 5.759,29 € |