



DISEÑO Y DESARROLLO DE UN SIMULADOR DE LAS CORRIENTES DE CALCIO TIPO T DEL NUCLEO GENICULADO LATERAL DEL GATO

Marleni Reyes Monreal^a, Beatríz Sarahí Méndez Rodríguez^b, Arturo Reyes Lazalde^b, María Eugenia Pérez Bonilla^b

^aDirección General de Innovación Educativa-BUAP, Puebla, Pue., marleni.reyes@yahoo.com.mx

^bEscuela de Biología-BUAP, Puebla, Pue., betty_0236@hotmail.com, arturoreyeslazalde@gmail.com, bonillaeugenia@gmail.com,

RESUMEN

En el tálamo se localiza el núcleo geniculado lateral (NGL). Se le considera el centro primario de relevo y procesamiento de la información visual recibida de la retina del ojo. A este núcleo le llegan axones directamente de las células ascendentes del ganglio retinal vía el tracto óptico y del sistema reticular activador. A su vez manda sus axones a través de la radicación óptica de manera directa a la corteza visual primaria. Dentro de las corrientes iónicas importantes en estas neuronas se encuentra la corriente entrante de calcio de tipo T. En este trabajo se diseñó y desarrolló un simulador de las corrientes del calcio tipo T del núcleo geniculado lateral del gato. El simulador se realizó en lenguaje Visual Basic ver. 5.0, para ambiente Windows® con una resolución de 1280 x 1024 pixeles. El simulador está basado en el modelo matemático propuesto por Zhan et al., en 1999. Los experimentos que puede realizar el usuario corresponden a la técnica de fijación de voltaje. El usuario debe ingresar las concentraciones de calcio interno y externo en la neurona y estimular a la neurona por medio de pulsos de voltaje. La corriente de calcio se puede observar en un recuadro que representa un osciloscopio. El programa es ejecutable y corre en Windows® desde XP a Windows 8. Para el manejo del simulador no se requiere de conocimientos especiales de computación.

1

1. INTRODUCCIÓN

El calcio (Ca^{2+}) es uno de los iones más importantes en los procesos celulares, está involucrado como segundo mensajero, en la liberación de neurotransmisores, estrés mecánico y proteínas musculares, así como en la comunicación célula-célula; también ayuda a mantener el balance osmótico dentro de la célula por la modulación de aniones y cationes y la permeabilidad al agua (Wiercinski, 1989).

Las corrientes de calcio tienen algunas similitudes y algunas diferencias con las corrientes de sodio. Son similares en que ambas son activadas por despolarización, ambas son corrientes entrantes a potenciales de membrana normales y ambas tienen algún grado de inactivación, dependiendo del tipo de corrientes de calcio o sodio que se esté midiendo. Difieren básicamente porque los canales son selectivos para calcio. Además el modelo del circuito para corrientes iónicas usado para describir las corrientes de sodio y potasio no es adecuado para representar corrientes de calcio (Johnston et al., 1995).

Los canales para calcio voltaje-dependientes pertenecen a una superfamilia de canales iónicos voltaje-dependientes dentro de la cual también se encuentran los canales para sodio y potasio, se pueden ver como maquinas macromoleculares que controlan la entrada de calcio a la célula en



respuesta a cambios en el potencial de membrana, juegan un rol importante en la interacción entre la señal eléctrica y la señal química en los sistemas biológicos (Van Petegem y Minor, 2006).

Han sido identificados varios tipos de canales para calcio dependientes de voltaje. Desde el primer registro de corrientes de calcio en el cardiomiocito, comenzó a ser aparente que hay múltiples tipos de corrientes de calcio definidas por criterio fisiológico y farmacológico. Las corrientes de calcio son distinguidas por alto voltaje de activación, conductancia de un solo canal, inactivación lenta dependiente de voltaje, marcada regulación de las vías de fosforilación proteica dependientes de AMPc y por inhibición específica por drogas antagonistas de calcio incluyendo dihidropiridinas, fenilalkilaminas y benzodiazepinas (Johnston et al., 1995; Koch, 1999 y Catterall, 1998).

La corriente de calcio tipo T (I_T) fue registrada en las neuronas de Purkinje, esta corriente se activa a potenciales de membrana mucho más negativos que la corriente tipo L y se inactiva rápidamente; un solo canal tiene una pequeña conductancia (Catterall, 1998). La letra T denota transitoriedad, es una corriente activada en potenciales cerca del reposo (activación máxima media es de alrededor de -40 mV). Esto muestra fuerte inactivación voltaje-dependiente en potenciales despolarizantes. La corriente de calcio de bajo umbral parece ser importante para disparos espontáneos de neuronas y para actividad subumbral porque esta exhibe sólo inactivación parcial cercana al potencial en reposo (Koch, 1999).

La corriente tipo T de calcio puede ser activada por una entrada despolarizante, tal como un potencial postsináptico excitatorio (EPSP, por sus siglas en inglés), pero sólo si la membrana ha sido hiperpolarizada suficiente, por $\geq 50-100$ ms (Jahnsen y Llinás, 1984). Esto es porque a potenciales más despolarizados, I_T es inactivada y un periodo de hiperpolarización es requerido para remover la inactivación o desactivación de esta corriente.

El modelaje matemático constituye un importante complemento al trabajo experimental en el que se intenta elucidar las bases iónicas subyacentes del fenómeno electrofisiológico (Sun et al., 2000). La constitución de un modelo matemático el cual describe un fenómeno en particular está dada por un grupo de ecuaciones matemáticas que se han logrado establecer a partir de resultados experimentales obtenidos mediante una metodología estandarizada previamente. Partiendo de dichos resultados, el investigador plantea ecuaciones matemáticas hipotéticas con la ayuda de programas computacionales, que describan el fenómeno que se estudia y pretende entender, además el modelo debe contemplar todas las variables y condiciones físicas, químicas y biológicas que determinan intrínsecamente y extrínsecamente la realización del fenómeno.

Los simuladores son programas computacionales desarrollados a partir de modelos matemáticos, que tienen una gran gama de aplicaciones tales como realizar experimentos *in silico* para conocer el comportamiento de una variable de interés a partir de saber cómo se comporta otra con la que tiene relación, y a la cual se le modifica su valor. Los experimentos *in silico* nos permiten conocer más a fondo el fenómeno que nos importa estudiar sin la necesidad de realizar experimentos *in vivo* que implican la utilización de animales y equipo que presentan una mayor inversión económica. Los simuladores también son utilizados en el campo de la docencia, con ellos los educandos pueden establecer un mejor entendimiento de los procesos biológicos por ejemplo, sin que se lleve a cabo una práctica real.

Han sido publicados algunos modelos matemáticos que describen la corriente que se genera por este ión mediante el canal tipo T y cuyas ecuaciones matemáticas se usaron para desarrollar un simulador para su uso en la enseñanza de biofísica y neurobiología.



2. MATERIAL Y MÉTODO

El simulador fue creado con ayuda del software Microsoft Visual Basic 5.0® a partir de modelos matemáticos y datos experimentales que los sustentan. El simulador está basado en el Modelo de la corriente de calcio tipo T en las células del núcleo Geniculado Lateral de gato propuesto por Zhan y colaboradores en 1999.

3. RESULTADOS

La interfaz de usuario es la ventana que se abre al ejecutar el programa, en ella se encuentran los botones que permiten acceder al simulador, también esta una barra de menú en la que se encuentra SALIR, AUTORES y AYUDA, a partir de ellos se puede cerrar el programa, conocer el nombre de los creadores del simulador y acceder a información necesaria para entender mejor el fenómeno de la corriente de calcio (figura 1).

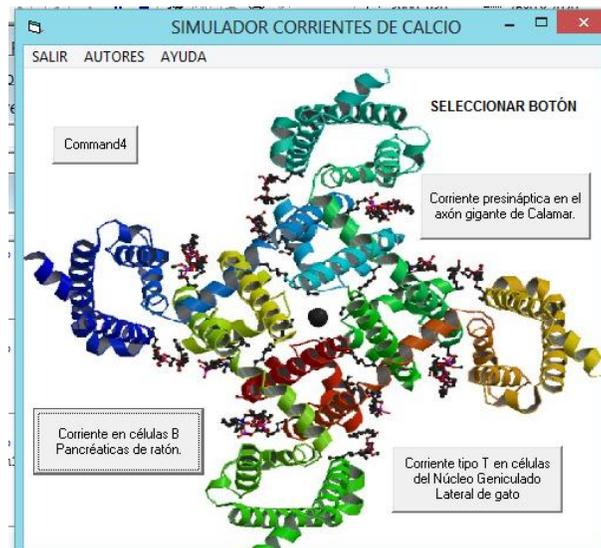


Fig. 1. Interfaz de usuario del simulador de corrientes de calcio. La imagen es la vista extracelular de la estructura tridimensional de un canal para calcio dependiente de voltaje.

Para poder visualizar las ecuaciones a partir de las cuales se desarrolló el simulador, basta con entrar a la ventana de ese simulador específicamente dando clic sobre el botón “Corriente tipo T en células del Núcleo Geniculado Lateral de gato” y una vez ahí entrar a la ayuda (de la barra de menú superior) MODELO MATEMÁTICO (figura 2).



MODELO MATEMÁTICO

$$I_T = P_T m_T^2 h_T \frac{FzF^2}{RT} \frac{Ca_{int} - Ca_{ext} \exp\left(\frac{-zFV}{RT}\right)}{1 - \exp\left(\frac{-zFV}{RT}\right)}$$

AUTORES

Donde

P_T es la permeabilidad del Ca^{2+} ($30 \text{ cm}^3/\text{s}$)
 m_T y h_T son la cinética de activación e inactivación del canal respectivamente.
 V es el voltaje (estimulo).
 Ca_{int} es la concentración de Ca^{2+} dentro de la célula.
 Ca_{ext} es la concentración de Ca^{2+} fuera de la célula.
 z es la valencia de Ca^{2+} (2)
 F es la constante de Faraday (96.5 C/mol)
 R es la constante de los gases ($8.314 \text{ J/mol}^\circ\text{K}$)
 T es la temperatura absoluta ($290 \text{ }^\circ\text{K}$)

Para hallar m_T se resuelve:

$$\frac{dm_T}{dt} = \Phi [m_\infty(V) - m_T] / \tau_m(V)$$

A partir de

$$m_\infty(V) = 1 / (1 + \exp((-V - 60.5) / 6.2))$$

$$\tau_m(V) = 0.612 + (1 / \exp((V + 13.15) / -16.7) + \exp((V + 16.8) / 18.2))$$

Para hallar h_T se resuelve:

$$\frac{dh_T}{dt} = \Phi [h_\infty(V) - h_T] / \tau_h(V)$$

A partir de

$$h_\infty(V) = 1 / (1 + \exp((V + 84) / 4.03))$$

$$\tau_h(V) = 22.7 + (0.27 / \exp((V + 48) / 4) + \exp(-(V + 407) / 50))$$

Φ para ambos tiene valor 1

Fig. 2. Modelo matemático simulado sus ecuaciones y las variables y constantes que las conforman.

Para visualizar la corriente en el osciloscopio del usuario debe ingresar valores de referencia (en el recuadro de INTRODUCIR VALORES) al inicio e ir modificando cada uno de forma ordenada para poder entender que es lo que sucede con la corriente del ión al variarlos (figura 3).

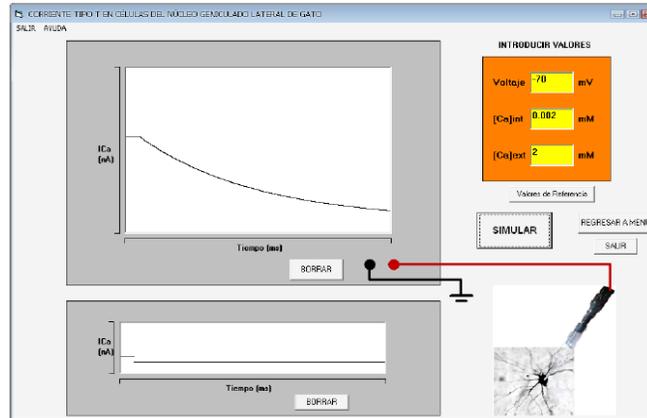


Fig. 3. Ejemplo de una simulación de la corriente de calcio aplicando un pulso de -70mV , y habiendo una concentración interna y externa de 0.002 mM y 2 mM , respectivamente. La corriente de calcio tipo T es de bajo umbral y es una corriente entrante.

4. CONCLUSIONES

El simulador desarrollado formará parte de las herramientas pedagógicas para la enseñanza-aprendizaje en materias como fisiología, biofísica y neurobiología. Se trata de un simulador ejecutable que permite observar la corriente entrante de calcio dependiente de voltaje. En este simulador las concentraciones de calcio citoplasmático y del calcio externo se pueden modificar junto con el voltaje de fijación; su uso es muy sencillo y no requiere de algún conocimiento especial de computación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Catterall W. A. "Structure and function of neuronal Ca^{2+} channels and their role in neurotransmitter release", Cell Calcium. Vol. 24:5, 1998, pp. 307-323.
2. Jahnsen H. and Llinás R. "Electrophysiological properties of guinea-pig thalamic neurons: an in vitro study", J. Physiol. Vol. 349:1, 1984, pp. 205-226.
3. Johnston D. and Miao-Sin Wu S., 1995, "Foundations of cellular neurophysiology", (1ra edición), The MIT Press, United States of America. pp. 192-209.
4. Koch C., 1999, "Biophysics of Computation: information processing in single neuron", (1ra edición), Oxford University Press, United States of America. pp. 212-224.
5. Sun L., Fan J. S., Clark J. W. y Palade P. T. "A model of the Ltype Ca^{2+} channel in rat ventricular myocytes: ion selectivity and inactivation mechanisms", J. Physiol. Vol. 529:1, 2000, pp. 139-158.
6. Van Petegem F. and Minor D. L., Jr. "The structural biology of voltage-gated calcium channel function and regulation", Biochemical Society Transactions. Vol. 34:5, 2006, pp. 87-893.
7. Wiercinski F. J., "Calcium an overview", Biol. Bull. Vol. 176:1, 1989, pp. 195-217.