



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

Área Académica de Matemáticas

Propiedades eléctricas lineales en membranas de células
nerviosas de *Helix aspersa*.

Tesis presentada

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA Y TECNOLOGÍA AVANZADA

por

Yair Augusto Gutiérrez Fosado

asesorado por

Dr. Roberto Ávila Pozos

Pachuca Hgo.
Septiembre de 2009

Agradecimientos

La tesis que tiene en sus manos no habría sido posible sin las aportaciones de numerosas personas, entre ellas el Dr. Roberto Ávila Pozos quien me inició en la investigación de un tema tan interesante como lo es el estudio electrofisiológico de células nerviosas. Así mismo, el andar en este conocimiento se tornó más claro gracias a la experiencia y ayuda proporcionada por los doctores José Antonio Santiago García y Fernando Donado Pérez quienes a pesar de sus diferentes actividades, siempre tuvieron tiempo y calma para orientarme en problemas relacionados con mi tesis e incluso aspectos personales.

No puedo pasar por alto a mis sinodales, los doctores: Arturo Rojo Domínguez, Juan José Godina Nava, Roberto Noriega Papaqui, Carlos Soto Campo, Pedro Miranda Romagnoli y la M. en C. Ericka Torres, cada uno de los cuales dedicó generosamente tiempo y atención para mejorar esta tesis, ya que con sus constantes observaciones y recomendaciones, poco a poco obtuve un espectro de visión más amplio y correcto.

Además, quiero agradecer a dos personas del Centro de Investigaciones Biológicas de la U.A.E.H., a la Dra. María del Carmen Sánchez Hernández por facilitarme su laboratorio de genética evolutiva y ambiental y al M. en C. Mario Segura Almaráz quien realizó la captura de una imagen extraordinaria que se muestra en esta tesis (Fig. 3.7). Gracias también a la Dra. Edna García Naranjo del Instituto de Biología de la U.N.A.M. quien me hizo favor de caracterizar la especie de los caracoles con los que trabajé.

Estoy particularmente agradecido con mi amigo Juan Carlos Muñoz Medina que me brindó la ayuda para que esta tesis se imprimiera en tiempo y forma. De igual manera al proyecto UAEH-CA-46 del fondo PIFI 2007 que me otorgó un fondo económico durante el periodo en que realicé este trabajo.

Finalmente mi mayor deuda es con la gente que hasta la culminación de este trabajo ha estado conmigo, mis padres: Benjamín Gutiérrez Escamilla y Flor de María Fosado Quiroz; mi fuente de inspiración 'mi abue' como cariñosamente le llamo, la Sra. Ernestina Quiroz Alba y a mis amigos: Marco, Jorge de Jesus, Doriscela, Juan Carlos, Eduardo, Jorge y Javier por apoyarme en los tiempos difíciles.

Yair Augusto Gutiérrez Fosado.
Pachuca de Soto, Hgo; septiembre de 2009.

A mi familia

"Siempre que afloran los prejuicios étnicos o nacionales, en tiempos de escasez, cuando se desafía a la autoestima o vigor nacional, cuando sufrimos por nuestro insignificante papel y significado cósmico o cuando hierve el fanatismo a nuestro alrededor, los hábitos de pensamiento familiares de épocas antiguas toman el control. La llama de la vela parpadea. Tiembla su pequeña fuente de luz. Aumenta la oscuridad. Los demonios empiezan a agitarse"

Carl Sagan.

¿De donde surge todo este orden y belleza que vemos en el mundo?

Isaac Newton.

Resumen

En este trabajo de tesis, se realiza un análisis de la estructura electrotónica, en neuronas del ganglio subesofágico, de *Helix aspersa* (Müller, 1774). Con este fin, se lleva a cabo un ajuste utilizando el modelo de Rall a la función de carga encontrada experimentalmente, tras estimular eléctricamente a dichas neuronas. Este ajuste permite estimar las resistencias y capacitancias del modelo eléctrico empleado, lo cual constituye la estructura electrotónica.

La hipótesis principal en el modelo de Rall es que mientras se estimule eléctricamente a la célula, de tal manera que no sea excitada, las conductancias iónicas no varían apreciablemente. En estas condiciones, las células nerviosas pueden caracterizarse por sus propiedades pasivas o propiedades de cable, ya que su comportamiento se asemeja al de un cable conductor rodeado de una capa aislante y sumergido en un medio conductor.

La importancia del estudio de las neuronas de *Helix aspersa*, radica en el entendimiento de los mecanismos de la integración neuronal y aunque se han realizado estudios previos de esta índole, se considera relevante e innovador el estudio a través del modelo de Rall, de estas neuronas.

Los modelos sirven para determinar la estructura electrotónica a partir de datos electrofisiológicos. Estos datos fueron obtenidos usando la técnica de fijación de voltaje, la cual permite desplazar el voltaje de la membrana a un valor fijo, establecido por el experimentador, mientras se mide la intensidad de la corriente a través de la membrana. De esta manera, al realizar el análisis de las corrientes, se encuentra que:

1. El valor de la resistencia de entrada de las siete neuronas utilizadas (en $M\Omega$) es: 1.242 ± 0.097 , 2.574 ± 0.298 , 2.857 ± 0.071 , 9.906 ± 1.144 , 10.294 ± 0.070 , 20.056 ± 0.825 y 119.203 ± 34.752 .
2. La estimación de la longitud electrotónica de acuerdo al modelo de Rall, considerando dominancia del soma en las neuronas de *Helix aspersa*, adquiere los valores:
 - Para $\rho = 1$ entre 1.76 y 3.76.
 - Para $\rho = 0.1$ entre 0.75 y 1.60.
 - Para $\rho = 0.01$ entre 0.25 y 0.53.
 - Para $\rho = 0.001$ entre 0.08 y 0.17.

donde ρ se define como la razón entre la conductancia del soma y la conductancia del cilindro. Este parámetro no se midió experimentalmente por lo cual se le dieron valores posibles.

Así, se observa que al realizar diferentes funciones biológicas, las neuronas tienen propiedades eléctricas distintas, sin importar que se encuentren en un mismo ganglio. Es decir, que en cada individuo de la especie, hay varias células perfectamente identificables en lo que respecta a su ubicación, pigmentación y tamaño.

Debido a que la longitud electrotonica (L) representa fisiológicamente la distancia en términos eléctricos a la cual se encuentra una entrada sináptica, se considera que el proceso es eficiente si $L \leq 1$. Con lo cual se concluye que para $\rho \leq 0.01$ el proceso es eficiente y para $\rho \geq 0.1$ el proceso es ineficiente.

Abstract

In this thesis, an analysis of electrotonic structure is realised in the subesophagic ganglion neurones of *Helix aspersa* (Müller, 1774). For this purpose, an adjustment to Rall's model is carried out to charge function found experimentally after an electric stimulus to these neurones. From this adjustment, an estimation of resistances and capacitances of the electrical model used is obtained, which constitutes electrotonic structure.

The main hypothesis in Rall's model is that while cells are electrically stimulated in a gently form which do not excite them, ionic conductances do not vary appreciably. In these conditions, nervous cells can be characterised by their passive properties, also called cable properties since its behaviour is resembled to a conductor surrounded by an insulating coat and submerged in a conductive solution.

The importance of studying neurones of *Helix aspersa* resides first in the understanding of the mechanisms of neural integration, and second in the demonstration of the relevance and innovating nature of Rall's model for describing neuronal conductivity, although previous studies of this nature have been done.

Models serve to determine electrotonic structure from electrophysiological data. These data is collected by using the voltage fixation technique, which allows to move the membrane voltage to a fixed value, established by the researcher, while current intensity through the membrane is measured. This way, when realising the analysis of currents, is that:

1. The aproximation value of membrane resistances is: 1.242 ± 0.097 , 2.574 ± 0.298 , 2.857 ± 0.071 , 9.906 ± 1.144 , 10.294 ± 0.070 , 20.056 ± 0.825 y 119.203 ± 34.752 .
2. The estimated electrotonic length according to Rall's model, considering soma dominance in neurones of *Helix aspersa*, acquires the values:
 - For $\rho = 1$ between 1.76 and 3.76.
 - For $\rho = 0.1$ between 0.75 and 1.60.
 - For $\rho = 0.01$ between 0.25 and 0.53.
 - For $\rho = 0.001$ between 0.08 and 0.17.

where ρ is defined as the reason between soma's conductance and cylinder's conductance. This parameter was not measured experimentally which were given possible values.

Thus, it is observed that when realising different biological functions, neurones have different electrical properties in spite of they are in a same ganglion. This means that in each individual, several perfectly identifiable cells exists, independently to its location, pigmentation and size. With these bases one concludes that neurones are unique.

Because electrotonic length (L) physiologically represents distance in electrical terms, to which is a sinaptical entrance, it is considered that process is efficient if $L \leq 1$. Consequently one concludes that for $\rho \leq 0.01$ the process is efficient and for $\rho \geq 0.1$ the process is inefficient.

Glosario

A continuación se definen algunos de los términos empleados en fisiología, que serán útiles para poder entender los conceptos escritos en este trabajo de tesis.

1. Iones.- Átomos con un exceso de carga. Si el exceso de carga es positivo se denominan *cationes* (K^+ , Na^+ , Mg^{+2}) y si por el contrario si el exceso es negativo se denominan *aniones* (Cl^-).
2. Canales iónicos.- Complejos macromoleculares de proteínas que atraviesan la membrana celular, permitiendo así el flujo de iones hacia ambas direcciones de la membrana.
3. Corrientes iónicas.- Corrientes eléctricas formadas por el flujo de iones a través de la membrana celular.
4. Potencial de membrana.- Diferencia de potencial entre los dos puntos más cercanos a la membrana celular, uno en el medio extracelular y otro en el medio intracelular.
5. Potencial de reposo.- Es la diferencia de potencial que existe entre el interior y el exterior de una célula. Se conoce calculando la concentración de diferentes iones dentro y fuera de la célula. Además, se sabe que adquiere valores entre -40 y -90 mV.
6. Potencial umbral.- Intensidad mínima que debe tener un estímulo para que se produzca la despolarización de la membrana y la subsecuente propagación del estímulo.
7. Potencial de acción.- Comportamiento correspondiente a un impulso nervioso producido a lo largo de la membrana celular (de células nerviosas), en respuesta a estímulos externos o endógenos. Se utiliza en el cuerpo para transportar información entre tejidos.
8. Permeabilidad.- Capacidad de un material para permitir que un fluido lo atraviese, sin alterar su estructura interna.
9. Difusión.- Proceso físico irreversible en el que partículas se introducen en un medio que inicialmente estaba ausente de ellas, aumentando así la entropía del sistema completo formado por el soluto y el solvente.
10. Gradiente de concentración.- Diferencia de concentración entre dos puntos.
11. Flujo difusivo.- Flujo generado por el gradiente de concentración de iones entre el medio intracelular y el medio extracelular.
12. Potencial de difusión.- Diferencia de potencial producido por el flujo difusivo de los diferentes iones a través de la membrana celular.
13. Técnica de fijación de voltaje.- Técnica experimental que permite desplazar el voltaje de la membrana a un valor determinado, manteniéndolo constante, mientras se mide la intensidad de la corriente a través de la membrana en esas condiciones.

14. Neurona.- Célula que actúa como unidad anatómica y fisiológica del sistema nervioso. Las neuronas están conformadas por soma que es el cuerpo de la neurona, dendritas que son extensiones del soma que se proyectan a otras neuronas y un axón el cual se origina en el soma y es la estructura alargada que transmite los impulsos nerviosos hacia otras neuronas.
15. Membrana pasiva.- Es aquella membrana en la cual sólo se encuentran funcionando los canales permeables a alguna especie iónica. Estos canales permiten el flujo de iones del medio extracelular al medio intracelular y viceversa, además de que no dependen del potencial transmembranal de tal manera que tras este intercambio, la carga total en uno y otro lado de la membrana celular se conserva. De esta manera se produce una diferencia de potencial entre los puntos que se encuentran fuera y dentro de dicha membrana, esta diferencia de potencial es conocida como potencial de reposo (E_r) y en el modelo es considerado constante.

Índice general

Introducción	XIX
1. Consideraciones teóricas.	1
1.1. Membrana celular	1
1.2. Señalización neuronal y canales iónicos	3
1.3. Potencial de acción	4
1.4. Modelo eléctrico de una célula	5
1.5. Circuito equivalente	7
1.6. Ecuaciones de Fick	9
1.6.1. Primera ecuación de Fick	9
1.6.2. Segunda ecuación de Fick	10
1.7. Difusión vista como un evento aleatorio	11
1.7.1. Acerca del mol	11
1.7.2. Acerca del movimiento Browniano	11
1.7.3. Si fuera posible observar las moléculas y su movimiento	12
1.7.4. Caminatas aleatorias	12
1.8. Colisiones	14
1.9. Ecuación de Einstein-Smoluchowski	16
1.10. Relación entre difusión y movilidad de Einstein	17
1.11. Velocidad de deriva	20
1.12. Ecuación de Nernst-Planck	21
1.12.1. Flujo electroforético	21
1.12.2. Dedución de la ecuación de Nernst-Planck	22
1.12.3. Voltaje de Nernst	23
1.13. Permeabilidad, coeficiente de partición y equilibrio de Donnan-Gibbs	23
1.13.1. Permeabilidad	23
1.13.2. Coeficiente de partición del medio	25
1.13.3. Equilibrio de Donnan-Gibbs	26
1.14. Ecuación de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz	26
1.15. Conclusiones del capítulo	29
2. Modelo biológico	31
2.1. Teoría de cable y el modelo de Rall	31
2.1.1. Caso unidimensional	32
2.1.2. Resistencia intracelular del núcleo	32
2.1.3. Ley de Ohm para la corriente del núcleo	32
2.1.4. Conservación de la corriente	33
2.1.5. Relación entre la corriente de membrana y el voltaje interno	34
2.1.6. Efecto de suponer un voltaje equipotencial extracelular	34
2.1.7. Modelo de membrana pasiva	35

2.1.8. Ecuación de cable	36
2.2. Solución de la ecuación de cable para un cilindro de longitud finita	37
2.3. Solución de la ecuación de cable para un cilindro de longitud finita acoplado al soma	39
2.4. Conclusiones del capítulo	43
3. Consideraciones experimentales	45
3.1. Material	45
3.2. Métodos	47
3.2.1. Solución extracelular	47
3.2.2. Solución intracelular	48
3.2.3. Disección de neuronas de caracol	48
3.2.4. Instalación del Software de Estimulación y Adquisición de Señales Eléctricas Celulares (SEASEC)	52
3.2.5. Micropipeta	54
3.2.6. Cloruración	54
3.3. Ensamble del equipo	55
3.4. Registro intracelular	57
3.5. Conclusiones del capítulo	59
4. Análisis de resultados	61
4.1. Respuestas obtenidas	61
4.1.1. Corriente estable de la membrana	62
4.1.2. Corriente variable de la membrana	64
4.2. Resistencia de entrada	65
4.2.1. Resistencia de entrada para la corriente estable de la membrana	65
4.2.2. Resistencia de entrada para la corriente variable de la membrana	68
4.3. Longitud electrotónica	69
4.3.1. Longitud electrotónica vs tiempo	71
4.3.2. Longitud electrotónica vs ρ	72
5. Conclusiones	73
A. Resistencia de la membrana obtenida	79
B. Longitud electrotónica obtenida	93

Índice de figuras

1.1. Morfología externa de una neurona.	2
1.2. Estructura: (a) De un surfactante. (b) De una micela esférica. (c) De los anfífilos en la membrana celular.	2
1.3. Modelo de membrana celular propuesto por Singler y Nicholson.	3
1.4. Potencial de acción	5
1.5. Respuesta obtenida al aplicar pulsos cuadrados de corriente a la membrana celular de una célula nerviosa, utilizando la técnica de fijación de corriente.	6
1.6. Circuito eléctrico equivalente de las propiedades eléctricas pasivas de una célula.	7
1.7. Gráfica de la corriente encontrada al resolver el circuito equivalente de las propiedades eléctricas de la membrana celular.	8
1.8. Gradiente de concentración en un recipiente con dos compartimentos.	9
1.9. Flujo producido por un gradiente de concentración.	10
1.10. Diagrama de una caminata aleatoria en una dimensión	13
1.11. Gráfica de la función de probabilidad de colisión en un sistema formado por partículas que se encuentran sumergidas en un fluido a temperatura constante	14
1.12. Flujo electroforético.	22
1.13. Permeabilidad.	24
1.14. Coeficiente de partición del medio.	25
1.15. Esquema de una membrana celular, de acuerdo a las características impuestas en el modelo propuesto por Goldman-Hodgkin-Katz.	27
2.1. Ley de Ohm para la corriente del núcleo que representa las propiedades del medio intracelular.	33
2.2. Corriente de la membrana en términos del cambio de la corriente de núcleo.	34
2.3. Modelo de membrana pasiva.	36
2.4. Modelo eléctrico de las propiedades eléctricas pasivas de la membrana celular propuesto por Rall.	37
2.5. Modelo de un cilindro de longitud finita L y conductancia G_c acoplado a una esfera equipotencial que representa al soma con conductancia G_s . El cilindro tiene las mismas propiedades que el cilindro de la Fig. 2.4.	40
2.6. Modelo de un cilindro de longitud finita L y conductancia G_c al que se le aplica un voltaje estacionario en $X = 0$	41
3.1. Extracción del ganglio cerebral de caracol.	49
3.2. Corte de un pedazo de manto que pasa a través del anillo formado por el ganglio cerebral y el ganglio subesofágico.	49
3.3. Tejido colocado en una cámara de disección con el lado ventral hacia arriba.	50
3.4. Tejido perteneciente al ganglio cerebral y ganglio subesofágico de un caracol que se encuentra con el lado ventral hacia arriba.	50

3.5. Corte a través de la aorta.	51
3.6. Ganglio cerebral y ganglio subesofágico de un caracol visto bajo un microscopio de disección.	51
3.7. Ganglio subesofágico de un caracol visto bajo un microscopio óptico.	52
3.8. Interfase gráfica del Software de Estimulación y Adquisición de Señales Eléctricas Celulares.	53
3.9. Elaboración de una micropipeta utilizando un estirador vertical.	54
3.10. Cloruración.	55
3.11. Esquema de relación entre los elementos empleados en las técnicas de registro electrofisiológico a nivel celular.	55
3.12. Ensamblado del equipo (parte uno).	56
3.13. Ensamblado del equipo (parte dos).	57
3.14. Esquema del registro intracelular.	58
4.1. Corriente de la membrana celular (I_m) registrada al aplicar un pulso de voltaje de 80 mV y 100 ms de duración a una neurona de <i>Helix aspersa</i>	61
4.2. Corriente obtenida al aplicar pulsos de voltaje de 150 ms de duración, con el protocolo de estimulación de la tabla 4.1, a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 5.	63
4.3. Corriente obtenida al aplicar pulsos de voltaje de 150 ms de duración, con el protocolo de estimulación de la tabla 4.2, a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 3.	64
4.4. Ajuste lineal a la corriente de fuga obtenida para la neurona 5.	66
4.5. Gráfica del ajuste lineal realizado a la corriente de fuga obtenida para la neurona 5.	67
4.6. Gráfica del ajuste con dos exponenciales de la forma de la Ec. (2.24), realizado a la corriente rápida positiva de una neurona de <i>Helix aspersa</i>	70
4.7. Longitud electrotónica promedio calculada para estímulos de voltaje de diferente duración en la neurona 2, utilizando diferentes valores de ρ	71
4.8. Longitud electrotónica promedio calculada para la neurona 2 de acuerdo a los diferentes valores de ρ	72

Índice de tablas

3.1. Molaridad, moles y gramos de diferentes solutos empleados para elaborar la solución extracelular.	47
3.2. Molaridad, moles y gramos de diferentes solutos empleados para preparar la solución intracelular.	48
4.1. Protocolos de estimulación en seis diferentes neuronas con los que se encontró una corriente estable de la membrana como respuesta a los estímulos de voltaje aplicados.	63
4.2. Protocolos de estimulación aplicados a dos diferentes neuronas con los que se encontró una corriente variable en la membrana como respuesta al estímulo.	64
4.3. Pendiente de la mejor recta ajustada a la corriente de fuga estable registrada para la neurona 5.	65
4.4. Relación entre voltaje aplicado y corriente de fuga encontrada para la neurona 5.	66
4.5. Resistencia de entrada calculada para la corriente estable de la membrana	68
4.6. Valor máximo de la corriente de fuga registrada y resistencia de entrada mínima calculada para 15 estímulos diferentes de voltaje, en el caso de corriente variable.	68
4.7. Resistencia de entrada mínima calculada para la corriente variable de la membrana	69
4.8. Longitud electrotónica calculada para diferentes valores de ρ	71
4.9. Longitud electrotónica promedio de cada neurona calculada para diferentes valores de ρ	72
A.1. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 1. Se aplicaron pulsos de voltaje de diferente polaridad y duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	81
A.2. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 2. Se aplicaron pulsos de voltaje de diferente polaridad y duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	82
A.3. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 3. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	83
A.4. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 3. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.	84
A.5. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 4. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.	85

A.6. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 4. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.	86
A.7. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 5. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	87
A.8. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	88
A.9. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	89
A.10. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 7. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	90
A.11. Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de <i>Helix aspersa</i> etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.	91

Introducción

Antecedentes

A fines de la década de los cincuenta, Rall formuló un modelo matemático de las propiedades eléctricas pasivas de la motoneurona ¹, que cambia por completo la concepción de los neurofisiólogos acerca de la función de las dendritas en las neuronas. Para ello usa la teoría de cable, lo que permite caracterizar la relación entrada-salida de los árboles dendríticos pasivos. Esta teoría se desarrolla inicialmente, para analizar la distorsión de los potenciales eléctricos en los cables submarinos usados para transmitir señales a través del Atlántico. A partir del análisis realizado por Rall, quedó claro que acciones sinápticas iniciadas en las dendritas distales, contribuyen en forma significativa a los cambios de potencial registrados en el soma [1].

El formalismo de la teoría del cable conductor tiene una aplicación importante en neurociencias, en especial las propiedades pasivas de las dendritas y el axón, así como la propagación del potencial de acción en el axón, están basadas en la ecuación de cable, esto debido a su morfología cilíndrica. Este formalismo también se aplica para entender los procesos de conducción eléctrica en fibras musculares y cardíacas [2].

La ecuación de cable es una ecuación diferencial parcial de segundo orden en el espacio y de primer orden en el tiempo (ecuación diferencial parcial parabólica). La forma de esta ecuación se derivó en 1854 por Lord Kelvin. Esta ecuación se basa en la idea de una corriente longitudinal en el conductor interno y una corriente de fuga radial, entre la parte interna y externa, a través de un aislante imperfecto.

Estudios electrofisiológicos han establecido que la membrana celular se puede representar inicialmente por un equivalente eléctrico (compatible con la teoría de cable), que consiste en una resistencia r_m en paralelo con una capacitancia c_m [3]. En la parte interna existe una resistencia al flujo de carga representado por la resistencia r_i . Además, la resistencia externa puede despreciarse. La ecuación que describe el comportamiento eléctrico de este modelo es:

$$\frac{r_m}{r_i} \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} - r_m c_m \frac{\partial V_m}{\partial t} - V_m = 0, \quad (1)$$

donde r_m representa las propiedades pasivas de todas las poblaciones de canales iónicos, c_m representa las propiedades pasivas de la bicapa lipídica que es la membrana celular, r_i representa la resistencia axoplasmática y V_m es el potencial de la membrana.

Mediante un cambio de variables $X = \frac{x}{\lambda}$ y $T = \frac{t}{\tau}$, la Ec. (1) toma la forma:

$$\frac{\partial^2 V_m}{\partial X^2} - \frac{\partial V_m}{\partial T} - V_m = 0, \quad (2)$$

¹Célula nerviosa cuya terminal del axón está unida mediante una sinapsis a una célula muscular, de tal manera que cuando llega un estímulo a través de ella ocasiona la contracción de la fibra nerviosa.

donde se identifica $\tau = r_m c_m$ como la constante de tiempo en el capacitor del circuito equivalente propuesto en la teoría de Rall, $\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_i}}$ como la constante espacial que indica la caída de potencial a lo largo de las dendritas o de los axones y la longitud electrotónica X que representa fisiológicamente la distancia en términos eléctricos a la cual se encuentra una entrada sináptica. Intuitivamente se puede decir que X indica que tan lejos o que tan cerca (eléctricamente) del soma se encuentra la entrada sináptica.

La solución de la Ec. (2) depende de las condiciones iniciales y de frontera (valores de V_m en los extremos del cable). Bajo ciertas consideraciones se describen las propiedades pasivas de cables sellados, así como, de cables con múltiples ramas, siendo excelentes para describir las propiedades pasivas de las dendritas y axones [4].

Mediante el estudio de modelos biológicos adecuados y el uso de distintas teorías, en particular la teoría de Rall, los neurocientíficos, biofísicos e ingenieros biomédicos han realizado un ajuste a la función de carga encontrada experimentalmente, tras aplicar estímulos eléctricos a neuronas con diferentes características fisiológicas de diferentes animales (tortugas, gatos, ratones, entre otros) [5, 6, 7, 8, 9, 10]. Del ajuste de los modelos de cable a la función de carga, se obtiene el estimado de las resistencias y capacitancias del modelo eléctrico. Este modelo eléctrico constituye la estructura electrotónica y su estudio es fundamental para el entendimiento de los mecanismos de la integración neuronal². En este trabajo de tesis, se realiza un análisis de la estructura electrotónica, en neuronas del ganglio subesofágico, de *Helix aspersa* (Müller, 1774).

Características generales del molusco

El *Helix aspersa*, mejor conocido como caracol café de jardín, fue descubierto por Müller en el año 1774 en Italia y diseminado en varias partes del mundo intencionalmente debido a sus propiedades gastronómicas. Este tipo de caracoles prefieren un hábitat sin perturbaciones, con humedad adecuada y una buena fuente de alimentos.

El molusco pertenece a la clase gasterópoda³, su cuerpo está protegido por una coraza de calcio que es: larga, ovalada, dura, un poco delgada y esculpida con finas espirales castañas. La mayoría de los caracoles terrestres son nocturnos, pero cuando llueve se les puede ver durante el día. Se mueven con ayuda de un órgano muscular llamado pie, el cual secreta mucosidad constantemente para facilitar su movimiento. Además, es bien sabido que los adultos pueden llegar a medir hasta 8 cm de longitud y entre 28 y 32 mm de diámetro. Son animales hermafroditas y ovíparos.

Actividad eléctrica en neuronas de caracol

Como en cualquier molusco, las neuronas de *Helix aspersa* presentan actividad eléctrica en respuesta a estímulos externos. Estas neuronas se caracterizan por tener un soma de aproximadamente 200 micras y un árbol dendrítico pequeño, por ello, se dice que presentan dominancia del soma. Ya que al igual que los mamíferos, el *Helix aspersa* presenta mecanismos de integración neuronal en un sistema más sencillo (posee alrededor de 50 neuronas por ganglio), se considera que el estudio de sus propiedades eléctricas pasivas es relevante para comprender este tipo de mecanismos.

²Proceso en el cual el impulso nervioso suma las diferencias de las influencias excitadoras e inhibitoras que convergen sobre ella y sintetiza una nueva señal de salida.

³Los gasterópodos, gastrópodos o univalvos (Gastropoda, del griego gaster, estómago y poda, pie) constituyen la clase más extensa del filo de los Moluscos. Presentan área cefálica (cabeza), un pie musculoso ventral y una concha dorsal

Justificación

Debido a limitaciones técnicas, el estudio detallado de la transmisión de señales eléctricas entre neuronas ha sido complicado. La dificultad reside en el diámetro pequeño de las dendritas. El estudio de la actividad eléctrica de las neuronas se realiza empleando microelectrodos cuya punta es muy fina, de tal manera que permite su inserción en una neurona [9, 11]; sin embargo, en la práctica, esto sólo se puede realizar en el soma que es la porción de la neurona de mayor diámetro. Es por esto que en el presente trabajo se utilizaron neuronas de *Helix aspersa* (Müller, 1774) cuyo soma posee un diámetro relativamente grande de aproximadamente 200 micras. Además, las neuronas se pueden mantener con vida fácilmente utilizando soluciones salinas que simulen los medios intracelular y extracelular en los que se encuentran de manera natural. El estudio eléctrico en este tipo de sistemas biológicos es importante para entender un poco más acerca de sistemas más complicados como el de mamíferos.

Hipótesis

La hipótesis principal es que mientras se estimule eléctricamente a la célula, de tal manera que no sea excitada, las conductancias iónicas no varían apreciablemente. En estas condiciones, las células nerviosas pueden caracterizarse por sus propiedades pasivas o propiedades de cable, ya que su comportamiento se asemeja al de un cable conductor rodeado de una capa aislante y sumergido en un medio conductor.

Objetivos

El objetivo principal de este trabajo de tesis es determinar la estructura electrotónica de las neuronas de *Helix aspersa* a partir de datos electrofisiológicos y el uso de la teoría de Rall, para analizar la función de carga obtenida experimentalmente. Los datos se obtienen a partir de técnicas electrofisiológicas donde se lleva a cabo microdissección de caracoles para aislar las neuronas del ganglio subesofágico y con la técnica de fijación de voltaje, en la cual, a través de una micropipeta que se encuentra en contacto con el medio intracelular de la neurona, se aplica corriente positiva o negativa de la intensidad necesaria, para mantener el voltaje en la célula, al potencial que el experimentador desea fijar, de esta manera, se registra la corriente que cruza la membrana celular después de aplicarle pulsos cuadrados de voltaje de diferente magnitud y duración.

Métodos

Con este propósito la tesis comienza con la descripción de la estructura de la membrana celular en el primer capítulo, donde se hace énfasis en las propiedades eléctricas de la membrana de células nerviosas. También se da a conocer una aproximación matemática de las propiedades fisiológicas de la membrana celular, de esta manera es que se pueden entender las suposiciones que se realizan al modelar las diferentes especies iónicas con ayuda de los conceptos básicos de: partículas Brownianas, caminos aleatorios, fricción y difusión; para después entender el modelo de Rall, el cual se presenta en el capítulo dos. Finalmente en el capítulo tres se describe la forma en que se realizan los experimentos y se presenta una discusión de los resultados obtenidos.

Capítulo 1

Consideraciones teóricas.

En el presente capítulo, se habla de la estructura de la membrana celular, constituida por una bicapa lipídica capaz de aislar dos electrolitos, el medio intracelular y el medio extracelular. Estos dos medios se encuentran comunicados a través de canales iónicos, que son proteínas incrustadas en la membrana celular capaces de permitir el intercambio de iones entre ambos medios. Los canales iónicos son imprescindibles en la transmisión del impulso eléctrico en el sistema nervioso; ellos permiten el flujo a través de la membrana, de iones de potasio (K^+), sodio (Na^+), cloro (Cl^-) y magnesio (Mg^{+2}), entre otros.

También se establecen las suposiciones fisiológicas teóricas, que se hacen al respecto de la membrana celular, empleadas en las ecuaciones para deducir tanto la corriente como el potencial pasivo de membrana, en términos de la permeabilidad de la membrana a las diferentes especies iónicas y a la concentración en el medio intracelular y el medio extracelular de éstas.

1.1. Membrana celular

Aunque muchas células tienen forma sencilla de esfera o ladrillo, algunas pueden tener una morfología externa mucho más compleja, como las células nerviosas, las cuales poseen una estructura externa ramificada, que les permite intercambiar información con sus vecinos, como se muestra en la Fig. 1.1. Cada célula nerviosa consta de un núcleo central situado en el soma, un cuerpo celular o pericarion, con un conjunto de proyecciones ramificadas, las cuales se subdividen en pequeñas líneas de entrada (*dendritas*) y una prolongación larga de salida (*axón*). Cada axón termina en uno o varios *terminales axónicos*. Puesto que el sistema nervioso está compuesto de unidades discontinuas (neuronas), pero se comporta como un sistema de transmisión continua, existen conexiones funcionales entre las neuronas. Estas conexiones funcionales fueron llamadas *sinapsis*. Una sinapsis es la región que separa el terminal axónico de una célula nerviosa (*presináptica*), de las dendritas de la célula siguiente (*postsináptica*).

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.1. MEMBRANA CELULAR

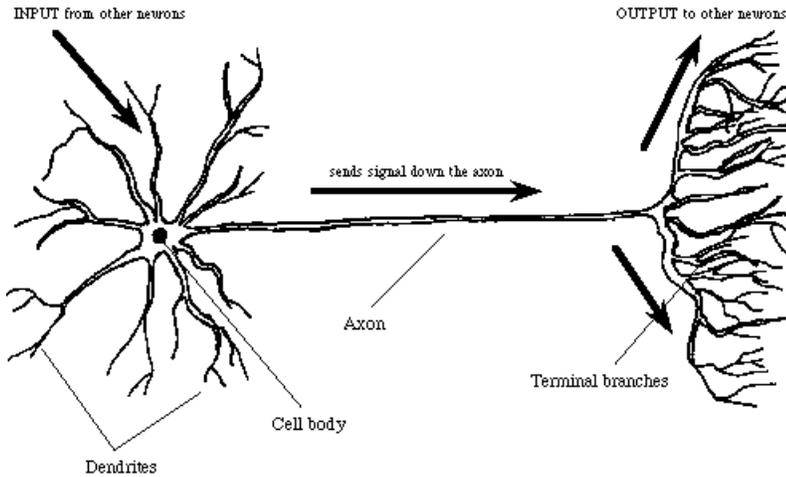


Figura 1.1: Morfología externa de una neurona en la que se aprecia: su cuerpo celular, dendritas, axón y los terminales axónicos.

Cada una de las células sensoriales está rodeada por una bicapa lipídica, que, como indica su nombre, está formada por una doble capa de anfífilos como los de la Fig. 1.2 (a). Dentro de la estructura de los anfífilos se distinguen dos partes importantes: una cabeza hidrofílica (polo lipófilo), formada por una cadena de hidrocarburos y unida químicamente a ella una cola lipofílica (polo hidrófilo). Debido a la naturaleza de estos anfífilos, al ser puestos en contacto con agua, todas las cabezas se orientan hacia el agua y las colas hacia el interior, como se muestra en la Fig. 1.2 (b). En el caso de una membrana celular existen moléculas de agua tanto en el medio extracelular como en el medio intracelular por lo cual la membrana bicapa, toma la forma de la Fig. 1.2 (c). Su estructura es la propuesta en el modelo de mosaico fluido de Singer y Nicholson.

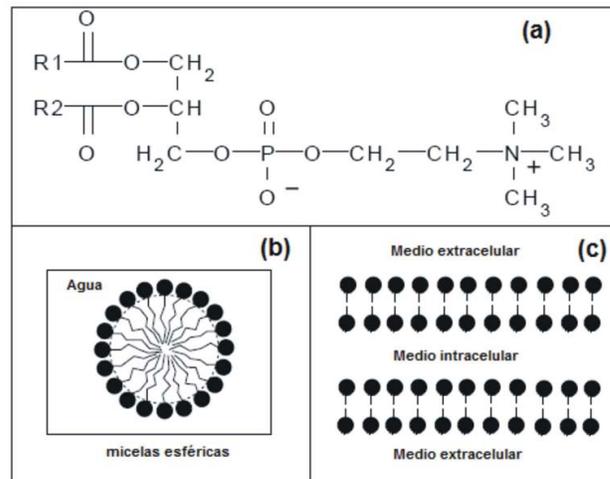


Figura 1.2: Estructura de la membrana celular. (a) Fosfatidilcolina, anfífilo de tipo glicerofosfolípido que presenta una cabeza hidrofílica del lado derecho y dos colas lipofílicas del lado izquierdo. (b) Agrupación de anfífilos, en una micela esférica. (c) Agrupación de anfífilos en una membrana celular.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.2. SEÑALIZACIÓN NEURONAL Y CANALES IÓNICOS

Aunque sólo tiene 4 nm de grosor aproximadamente, la membrana celular cubre todo el exterior de la célula, que posee un área de mil millones de nanómetros cuadrados o más. Pero las membranas bicapa hacen mucho más que limitar las células, ya que también contienen una variedad de dispositivos moleculares, como los que se muestran en la Fig. 1.3. Estos dispositivos comprenden tanto a las proteínas de membrana periféricas, que transmiten información al interior de la célula, como a las proteínas integrales de membrana, que atraviesan la membrana y se proyectan tanto al interior como al exterior de la misma. Ejemplo de estas proteínas son los canales iónicos, que permiten el paso de iones bajo condiciones específicas o los intercambiadores que impulsan activamente iones a ambos lados de la membrana. De este tipo de proteínas hablaremos con mayor detalle en secciones subsecuentes.

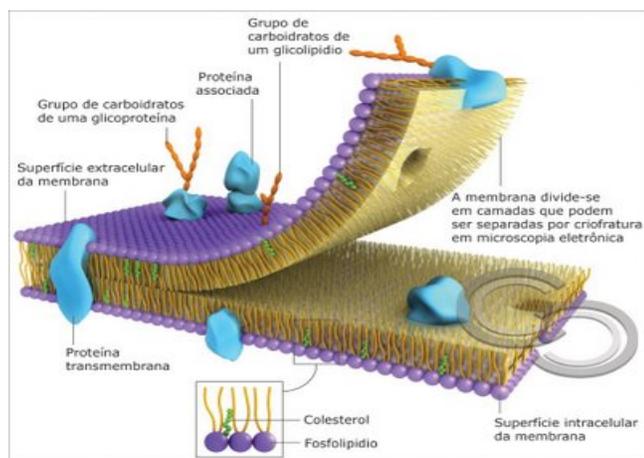


Figura 1.3: Modelo de membrana celular propuesto por Singer y Nicholson.

1.2. Señalización neuronal y canales iónicos

La señalización neuronal depende de la diferencia de concentración de iones entre los espacios extra e intracelulares, así como del flujo de éstos, lo que provoca variaciones en la diferencia de potencial a través de las membranas celulares neuronales. Cada célula neurológica puede generar variaciones de potencial en respuesta a estímulos externos, por ejemplo: los receptores oculares al fotón, las neuronas olfatorias a moléculas odoríferas y las células ciliadas del oído a movimientos vibracionales.

Durante un potencial de acción o impulso eléctrico, el potencial de membrana varía rápidamente. Estas alteraciones están mediadas por canales iónicos. Un mal funcionamiento de los canales iónicos provoca enfermedades vasculares o sistémicas. Se les emplea como mecanismos de obstrucción en fármacos contra venenos.

Los canales iónicos poseen tres propiedades importantes:

1. Transportan iones extremadamente rápido, en nervio y músculo los canales iónicos conducen hasta 100 000 000 de iones por segundo.
2. Son extremadamente selectivos a la naturaleza de un ion.
3. Se encuentran abiertos o se abren y cierran en respuesta a señales eléctricas, mecánicas o químicas.

Además existen dos tipos:

1. *Canales iónicos no regulados*: Son canales que se encuentran abiertos y son selectivamente permeables a algún tipo de ion, además contribuyen al potencial de reposo.
2. *Canales iónicos regulados*: Se abren y cierran en respuesta a estímulos y existen tres tipos:
 - a) Regulados por voltaje.
 - b) Regulados por ligando.
 - c) Regulados mecánicamente.

En este trabajo estamos interesados en el estudio de canales iónicos regulados por voltaje (que no exciten a la célula) y por tanto en las propiedades pasivas de la membrana, para lo cual, se utiliza la técnica de fijación de voltaje. Además, se utilizan neuronas de *Helix aspersa* ya que su conservación y tratamiento con soluciones químicas es simple.

1.3. Potencial de acción

Cuando una neurona es estimulada (natural o experimentalmente) de tal manera que dicho estímulo despolarice (lleve el potencial de membrana a un valor mayor que el potencial de reposo) o hiperpolarice (lleve el potencial de membrana a un valor más negativo que el potencial de reposo) a la membrana celular, ésta tiende a volver al potencial de reposo a menos que exista un estímulo despolarizante que rebase el valor del potencial umbral (aproximadamente 10 mV de diferencia con el potencial de reposo), en este caso el estímulo desencadena una respuesta masiva, denominada potencial de acción, en el cual el potencial de membrana se dispara, como se muestra en la Fig. 1.4 y a continuación decae rápidamente [12].

El potencial de acción es el comportamiento correspondiente a un impulso nervioso y tiene las siguientes características:

1. Al hiperpolarizar o despolarizar (por debajo del potencial umbral) a la membrana celular se obtiene una respuesta graduada de la corriente, lo cual quiere decir que la altura del pico en la gráfica corriente contra tiempo es proporcional a la intensidad del estímulo.
2. El potencial de acción es una respuesta de tipo todo o nada. Es decir, sólo ocurre para estímulos que sobrepasen el potencial umbral, si no es así, el potencial de membrana decrece hasta alcanzar el valor del potencial de reposo.
3. Los estímulos que sobrepasan el valor del potencial umbral producen una onda viajera, cuyo pico de potencial es independiente de la intensidad del estímulo inicial.
4. El potencial de acción se propaga a lo largo de la membrana celular con una velocidad constante que puede estar comprendida entre 0.1 m/s y 120 m/s (la velocidad de una señal eléctrica a través de un cable de cobre es mil millones de veces mas rápida).
5. Cuando el potencial de acción es medido a diversas distancias se halla que el pico de potencial es independiente de la distancia, a diferencia de los estímulos inferiores al del umbral o de los hiperpolarizantes. Un solo estímulo basta para enviar un potencial de acción hasta el final del axón más largo.
6. El potencial de acción conserva su forma a lo largo de su recorrido y esta forma es independiente del estímulo.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.4. MODELO ELÉCTRICO DE UNA CÉLULA

7. Después del paso de un potencial de acción, el potencial de membrana desciende ligeramente por debajo del potencial de reposo y a continuación adquiere lentamente el valor del potencial de reposo. Este comportamiento se denomina *hiperpolarización final*.
8. Durante un periodo posterior a la transmisión de un potencial de acción, es más difícil estimular la neurona que cuando ésta se halla en reposo.

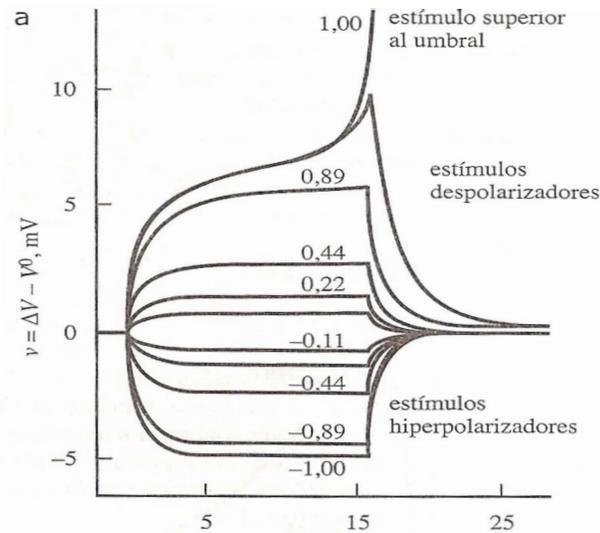


Figura 1.4: (Datos experimentales; curvas esquemáticas) Respuesta de un axón de cangrejo a estímulos de 15 ms de inyección de corriente. El eje vertical indica el potencial de membrana en un punto próximo al estímulo con respecto a su valor de reposo. Las líneas inferiores representan la respuesta a estímulos hiperpolarizantes; las líneas superiores representan pulsos despolarizantes. Se ha asignado el valor arbitrariamente de 1,0 al umbral del estímulo; las curvas están indicadas con su intensidad relativa respecto a este valor. La línea superior está justo después del umbral y muestra el inicio de un potencial de acción. Imagen obtenida de la Ref. [12].

Debido a que en este trabajo se estudian las propiedades pasivas de la membrana celular, sólo son de interés los estímulos hiperpolarizantes y despolarizantes que se encuentren por debajo del voltaje umbral.

1.4. Modelo eléctrico de una célula

Las membranas biológicas son sistemas muy complejos, por lo cual, se emplean modelos de su comportamiento eléctrico para comprender su funcionamiento. Un modelo biológico es una representación simplificada de uno más complejo, con la finalidad de incluir en el modelo sólo los componentes necesarios para explicar una o varias variables que se desean estudiar, la desventaja es que no representa completamente a la realidad.

El modelo más simple de las propiedades pasivas de una célula surge al estudiar la respuesta del paso de corriente por la membrana mediante un circuito del tipo resistivo-capacitivo:

1. *Corriente*: Producida por iones en movimiento (Cl^- , K^+ , Mg^{+2} , Na^+) a través de los canales iónicos.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.4. MODELO ELÉCTRICO DE UNA CÉLULA

2. *Capacitancia:* La capacitancia es una propiedad de los condensadores. Esta propiedad rige la relación entre la diferencia de potencial entre las placas del capacitor y la carga eléctrica almacenada en éste, mediante la ecuación $q = CV$. Se mide en faradios.

q es la carga eléctrica almacenada dada en Coulombs.

V es la diferencia de potencial entre las placas dada en Volts.

C es la capacitancia dada en Faradios.

La membrana es una doble capa de lípidos (aislante) que separa dos electrolitos (el medio extracelular y el intracelular), por lo cual, se puede modelar como un condensador, por su propiedad de separar cargas de signo opuesto.

3. *Resistencia:* Puesto que la membrana es impermeable, el único sitio por el que pueden pasar los iones, es a través de los canales. Entonces, la resistencia se debe a la oposición que encuentran los iones para transitar a través de la membrana de uno a otro lado.

Las suposiciones que se realizaron para establecer este modelo, se comprobaron experimentalmente utilizando la técnica de fijación de corriente, en la cual se aplica un pulso de corriente a la célula y se observa el comportamiento en el potencial de membrana. Se obtuvieron resultados presentados en la Fig. 1.5, en donde se muestran los pulsos de corrientes aplicados a una membrana celular y la respuesta obtenida. Esta respuesta es comparable con la carga y descarga de un capacitor.

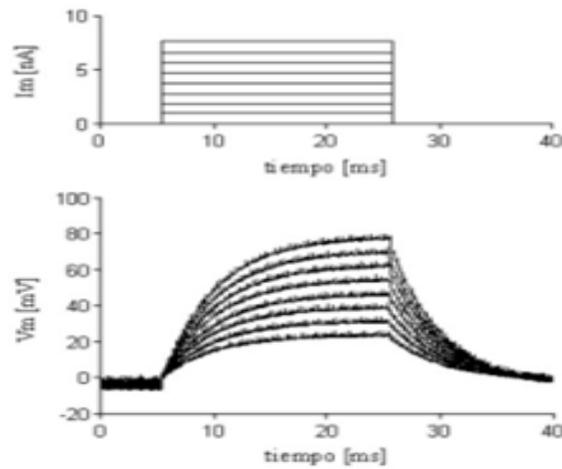


Figura 1.5: Respuesta obtenida al aplicar pulsos cuadrados de corriente a la membrana celular de una célula nerviosa, utilizando la técnica de fijación de corriente.

1.5. Circuito equivalente

El circuito eléctrico equivalente de las propiedades eléctricas de una célula, en condiciones en las que ésta se encuentra expuesta a un pulso de corriente eléctrica o a una diferencia de potencial insuficientes para excitar a la membrana, produciendo así que las conductancias iónicas no varíen apreciablemente, se muestra en la Fig. 1.6. En estas condiciones, la célula puede caracterizarse por sus propiedades eléctricas pasivas, cuyo comportamiento se asemeja al de un alambre conductor rodeado de una capa aislante y sumergido en otro medio conductor.

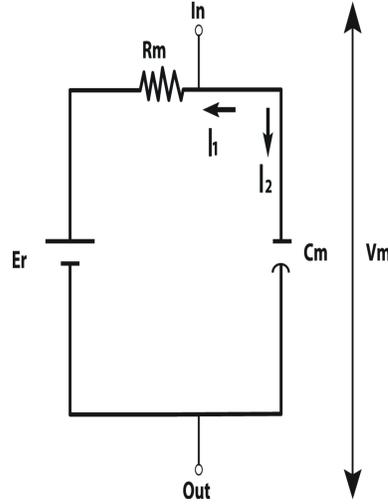


Figura 1.6: Circuito eléctrico equivalente de las propiedades eléctricas pasivas de una célula.

donde V_m , E_r , R_m y C_m son: el potencial de membrana, el potencial de reposo, la resistencia de la membrana y la capacitancia de la membrana respectivamente.

De la ley de Kirchoff para corrientes, se sabe que:

$$I(t) = \frac{V_m - E_r}{R_m} + C_m \frac{dV_m}{dt} \implies \frac{dV_m}{dt} = \frac{I(t)R_m - (V_m - E_r)}{R_m C_m}. \quad (1.1)$$

Para un pulso cuadrado de corriente se tienen las condiciones: $I(t = 0) = 0$, $I(t > 0) = i$; donde i es una constante. Resolviendo la Ec. (1.1) para el potencial:

$$a[V_m - E_r - I(t)R_m] = e^{-\frac{t}{\tau}}, \quad (1.2)$$

donde a es una constante de integración y $\tau = R_m C_m$ es la constante de tiempo del capacitor. Utilizando la condición $I(t = 0) = 0$, la Ec. (1.2) queda como:

$$I(t)R_m = (V_m - E_r)(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}). \quad (1.3)$$

con su correspondiente gráfica (ver Fig. 1.7)

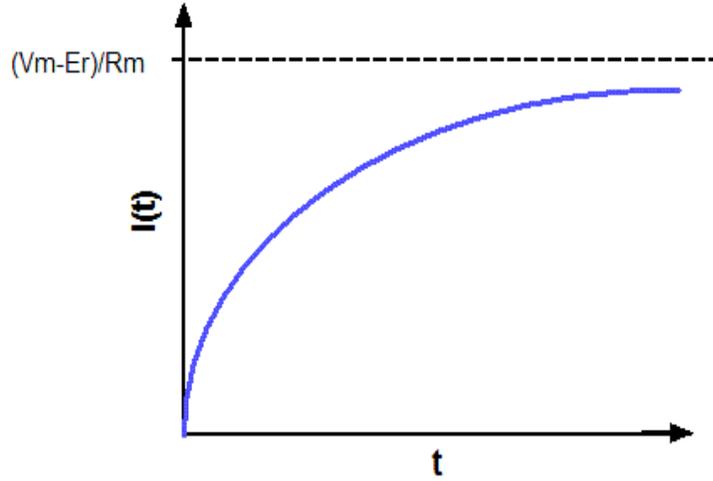


Figura 1.7: Gráfica de la corriente encontrada al resolver el circuito equivalente de las propiedades eléctricas de la membrana celular.

La Ec. (1.3) se cumple para todo $t > 0$, en especial se cumple para $t \rightarrow \infty$, esto junto con la condición $I(t > 0) = i$ da como resultado el límite asintótico en el cual:

$$iR_m = V_m - E_r,$$

sustituyendo en la Ec. (1.3), se tiene que el comportamiento del voltaje en la membrana celular está dado por:

$$V_m - E_r = iR_m(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}), \quad (1.4)$$

para un pulso cuadrado de corriente.

En el caso en que se aplica un pulso cuadrado de voltaje, debido a que se estudian las propiedades pasivas de la membrana celular, la relación entre la corriente y el voltaje es lineal. Entonces, la respuesta obtenida de la corriente tras aplicar dicho pulso, sólo diferirá de la Ec. (1.4) por una constante, esto es:

$$I(t) = \frac{(V_m - E_r)}{R_m}(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}). \quad (1.5)$$

Nótese que hasta este punto, sólo se ha dado una descripción de la membrana celular y las suposiciones de su modelo eléctrico. A continuación, se presentan las consideraciones teóricas acerca del flujo de las diferentes especies iónicas a través de la membrana celular. Este flujo, es modelado como la contribución de: un *flujo difusivo*, producido por el gradiente de concentración de iones en ambos lados de la membrana y un *flujo electroforético*, debido a la presencia de un campo eléctrico constante en la membrana celular. Por lo cual, en las secciones 1.6 a 1.11, se dan a conocer las ecuaciones que rigen el movimiento iónico, al realizar las consideraciones discutidas en cada sección.

1.6. Ecuaciones de Fick

Cuando se tiene un sistema termodinámico con muchos componentes (multicomponente), hay un gradiente de concentración ocasionado por la falta de equilibrio químico, originando un flujo irreversible de materia que se dirige de las altas concentraciones a las bajas. A este flujo se le denomina *difusión* y se define como el movimiento espontáneo de las partículas como consecuencia de su energía térmica que tiende a llevar al sistema a su estado de equilibrio de concentración constante.

1.6.1. Primera ecuación de Fick

Supóngase un sistema con dos compartimentos (ver Fig. 1.8) en el cual se tiene una sustancia de concentración $[c]$ en una solución, definida como el número de partículas por unidad de volumen. En equilibrio químico, las partículas se distribuirían uniformemente y $[c]$ no dependería de la posición. Fuera del equilibrio químico se pierde la uniformidad, de modo que para estudiar el proceso de evolución al equilibrio, ahora se toma en cuenta que $[c]$ dependería de su posición. Por conservación del número de partículas en todo tiempo se cumple que:

$$[c]V = ([c_I] + [c_{II}])V,$$

donde V , $[c_I]$ y $[c_{II}]$ son: el volumen de las cámaras que se considera no cambia y la concentración de partículas en las cámaras I y II respectivamente.

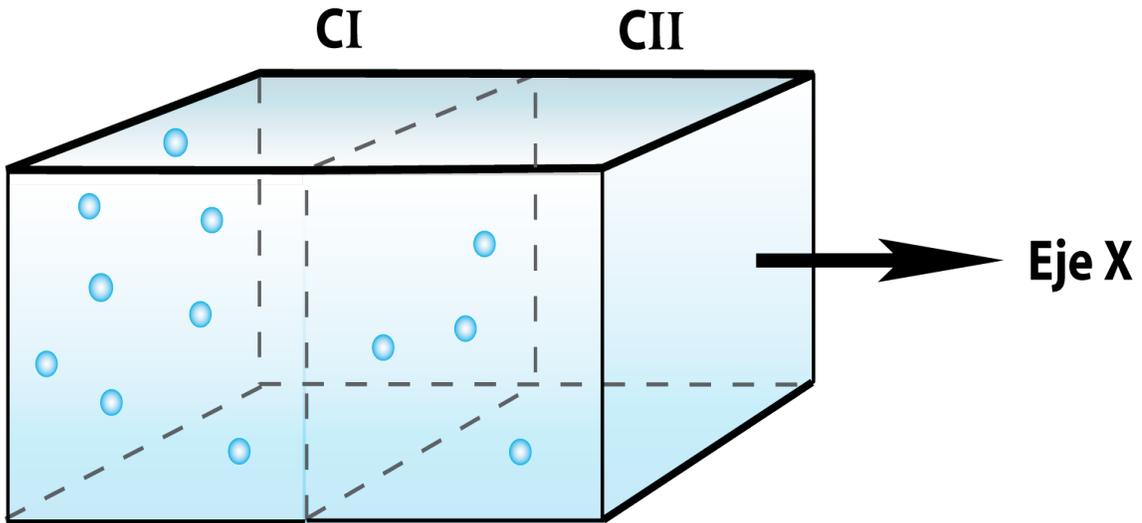


Figura 1.8: Distribución de las partículas en una solución. Esta solución se encuentra en un sistema con dos compartimentos de volumen V cada uno. Los compartimentos contienen concentraciones CI y CII de partículas respectivamente.

Si se denomina j_x al flujo de partículas que cruzan el área del plano en dirección x por unidad de tiempo; el flujo difusivo respecto al tiempo sería proporcional al cambio negativo de la concentración:

$$j_x = -D \frac{\partial [c]}{\partial x}, \quad (1.6)$$

donde la constante de proporcionalidad es el coeficiente de difusión del medio D y este siempre es positivo (más adelante se hablará con mayor detalle respecto del coeficiente de difusión). El signo

negativo indica que el flujo de partículas se produce del sitio de mayor concentración al lugar de menor concentración.

1.6.2. Segunda ecuación de Fick

Considérese una región intermedia en la vecindad de la división del sistema de dos compartimentos de ancho δx y área A , como se muestra en la Fig. 1.9. Se calcula el número de partículas que atraviesan el plano 1 hacia la región elegida en un intervalo δt de tiempo:

$$j_1 A \delta t.$$

El número de partículas que abandonan la región por el plano 2 es:

$$j_2 A \delta t.$$

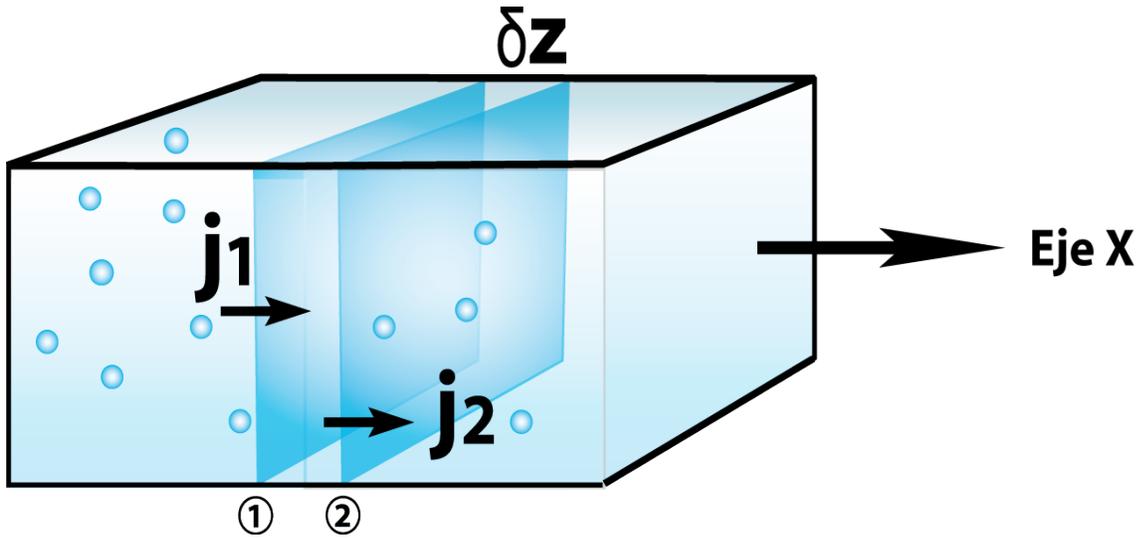


Figura 1.9: Flujo de las partículas a través del plano de grosor δz que divide los dos compartimentos. Este flujo es producido por la falta de equilibrio químico ($C_I \neq C_{II}$) y las partículas se mueven del lugar de altas concentraciones al lugar de bajas concentraciones.

Si se supone que $j_1 > j_2$, la concentración de partículas en la zona intermedia definida, aumentará en:

$$\delta[c] = \frac{j_1 - j_2}{A \delta x} A \delta t.$$

Si se toma un ancho de región δx lo suficientemente pequeño:

$$\frac{\partial j}{\partial x} = \lim_{\Delta x \rightarrow 0} \frac{j_2 - j_1}{\Delta x} \implies j_1 = j_2 - \frac{\partial j}{\partial x} \delta x,$$

y en el límite $\delta t \rightarrow 0$:

$$\frac{\partial [c]}{\partial t} = - \frac{\partial j}{\partial x},$$

empleando Ec. (1.6):

$$\frac{\partial[c]}{\partial t} = D \frac{\partial^2[c]}{\partial x^2}. \quad (1.7)$$

La cual es conocida como la segunda ecuación de Fick y es consecuencia de la conservación del número de partículas.

1.7. Difusión vista como un evento aleatorio

1.7.1. Acerca del mol

Hacia 1773, Benjamín Franklin se concentró en el estudio de láminas de aceite, observó que una cierta cantidad de aceite al ser depositada sobre agua sólo podía expandirse sobre una cierta área. Franklin supuso que si el aceite estaba compuesto de pequeñas partículas irreducibles, extenderse más supondría que la lámina de aceite se fragmentaría, así que dejó caer 5 cm^3 de aceite en un estanque y descubrió que esta cantidad de aceite puede cubrir hasta 2000 m^2 de área.

No sería muy difícil ir más allá de lo que hizo Franklin y calcular el grosor de esta capa:

$$\text{grosor} = \frac{V}{A},$$

donde V y A son el volumen y área de la capa de aceite respectivamente. Entonces:

$$\text{grosor} = \frac{5 \times 10^{-6} \text{ m}^3}{2000 \text{ m}^2} = 2.5 \text{ nm},$$

que es del orden del tamaño de las moléculas que hoy en día se sabe que existen.

Así, a finales del siglo *XIX* cuando comenzaba la teoría molecular y nadie sabía como designar un número de moléculas a un determinado elemento, los químicos proponen un nuevo patrón: el *mol*, definido como el número de átomos de carbono que se necesitan para obtener 12 g de este elemento.

1.7.2. Acerca del movimiento Browniano

Hasta finales del siglo *XIX* científicos connotados criticaban, e incluso ridiculizaban, la hipótesis de que la materia estuviese formada de partículas reales con estructura propia. Los físicos, sin embargo, habían llegado a la conclusión de que la teoría atómica era indispensable para explicar fenómenos como la ley de los gases ideales $PV = N_{mol}K_B T$, ya que el movimiento aleatorio de estas partículas se debe a la interacción de las moléculas del fluido por agitación térmica. A escala atómica, esta agitación ocasiona variaciones estadísticas importantes, así que la presión sobre ellas puede variar ligeramente con el tiempo y provocar el denominado movimiento Browniano.

Se pueden tomar 2 g de hidrógeno molecular (un mol) y medir su presión, volumen y temperatura y todo lo que se deduce de la ley de los gases ideales es el producto $K_B N_{mol}$ y no los valores de K_B y N_{mol} por separado, por lo tanto no se puede saber cuántas moléculas hay en este mol. Tómese en cuenta que en esa época todavía no se sabía el valor de la constante de Boltzman ($K_B = 1.3806504 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$).

1.7.3. Si fuera posible observar las moléculas y su movimiento

En 1828, el botánico Robert Brown observó que los granos de polen de tan sólo $1 \mu m$ de diámetro aproximadamente, suspendidos en agua realizaban un movimiento peculiar e incesante, visible en el microscopio. Brown supuso que estaba observando algún proceso vivo y se dispuso a verificar esta hipótesis. Descubrió que:

- El movimiento del polen jamás cesaba, incluso después de que los granos hubieran sido mantenidos durante un largo periodo en un recipiente sellado. Si el movimiento fuera un proceso vivo, los granos hubieran dejado de moverse.
- Las partículas carentes de vida presentan exactamente el mismo comportamiento. Robert Brown usó muchos materiales y observó que para partículas del mismo tamaño en agua a la misma temperatura el movimiento era siempre el mismo.

Durante la década de 1860, varios científicos habían propuesto que este movimiento (denominado *movimiento Browniano*) era causado por las colisiones entre el polen y las moléculas de agua, pero esta idea fue criticada con base en dos puntos:

1. Si las moléculas son tan pequeñas ¿Cómo puede una colisión molecular con un grano de polen, comparativamente enorme, hacer que el grano se mueva de forma apreciable?
2. Las moléculas se mueven a velocidades elevadas, de unos $10^3 m/s$ cuando se encuentran a temperatura ambiente y hay alrededor de 10^{12} colisiones por segundo, además nuestros ojos resuelven acontecimientos a una tasa de 24 por segundo. ¿Cómo se podrían ver los hipotéticos movimientos del polen?

1.7.4. Caminatas aleatorias

La solución de Einstein a las dos paradojas fue que ambos problemas se cancelan entre sí. Para comprender su lógica, imaginemos que estamos en la calle debajo de un rascacielos. Una vez por segundo lanzamos al aire una moneda y si sale cara nos movemos un paso a la derecha; por el contrario si sale cruz nos movemos un paso a la izquierda. Todo esto mientras una amiga nos observa desde lo alto del edificio.

Nuestra amiga no puede notar los movimientos pequeños con respecto a nuestra posición inicial pero, muy de vez en cuando saldrán 100 caras seguidas, dando lugar así a un paso claramente visible desde lejos, aunque ciertamente estos acontecimientos son poco frecuentes. Con esta idea se da respuesta a la primer pregunta pues al ser un movimiento aleatorio el realizado por las moléculas de agua, de vez en cuando la mayoría de éstas empujará al grano de polen en una misma dirección una distancia considerable como para poder ver este acontecimiento con ayuda de un microscopio.

Ahora supongamos que nuestra amiga mira en otra dirección durante 100 s. Cuando vuelva a mirar hacia la calle será poco probable que nos encontremos parados en el mismo lugar donde estábamos antes de que nuestra amiga volteara. De esta manera aunque Robert Brown no observara todos los choques que se presentaban, podía ver el resultado de todos éstos tras un determinado tiempo, con lo cual se respondía a la segunda pregunta.

Supóngase que cada paso es independiente del anterior y de longitud L . Así, el N -ésimo paso es $K_N L$ con $K_N = \pm 1$. Si se denota por X_N a la posición tras N pasos y se considera que la posición inicial es $X_0 = 0$, entonces:

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.7. DIFUSIÓN VISTA COMO UN EVENTO ALEATORIO

$$X_N = X_{N-1} + K_N L; \quad N = 1, 2, 3, \dots \quad (1.8)$$

Nada se puede decir de X_N pero si del desplazamiento cuadrático medio definido por:

$$\langle X_N^2 \rangle = \langle (X_{N-1} + K_N L)^2 \rangle, \quad (1.9)$$

donde el símbolo $\langle \rangle$ significa promedio de la cantidad en su interior. Así:

$$\langle X_N^2 \rangle = \langle (X_{N-1})^2 \rangle + 2L \langle X_{N-1} K_N \rangle + L^2 \langle K_N^2 \rangle,$$

como $K_N = \pm 1$, entonces, $\langle K_N^2 \rangle = 1$ y se reescribe la Ec. (1.9):

$$\langle X_N^2 \rangle = \langle (X_{N-1})^2 \rangle + 2L \langle X_{N-1} K_N \rangle + L^2.$$

A continuación se presenta el diagrama que representa las diferentes posibilidades de trayectorias tras dar los primeros tres pasos de una caminata aleatoria en una dimensión.

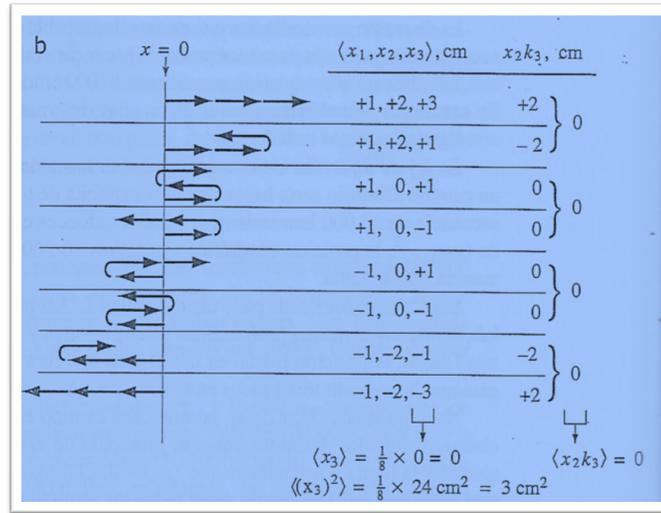


Figura 1.10: Ocho caminos distintos constituidos por tres pasos, cada paso con longitud $L = 1 \text{ cm}$. Cada uno de estos resultados es igualmente probable en el modelo más simple. Imagen obtenida de la Ref. [12]

Generalizando los resultados de este diagrama se puede observar que al tratar con un evento aleatorio se cumple que:

$$\langle (X_{N-1})^2 \rangle = L^2(N-1),$$

$$\langle X_{N-1} K_N \rangle = 0.$$

Utilizando estos resultados se llega a que el desplazamiento cuadrático medio está dado por:

$$\langle (X_N)^2 \rangle = NL^2. \quad (1.10)$$

Para más información acerca de este tema se recomienda revisar la Ref. [12].

1.8. Colisiones

Debido a que se trata con un sistema multicomponente (como se explicó en la sección 1.6), existe la probabilidad de que en este sistema termodinámico, formado por partículas que se encuentran sumergidas en un fluido a temperatura constante, colisionen entre sí. Esta probabilidad tiene una dependencia estadística temporal, por lo que se puede encontrar su función de peso.

Fijémonos en una partícula con velocidad \vec{v} que forma parte del sistema mencionado. Sea $P(t)$ la probabilidad de que dicha partícula pase un tiempo t sin sufrir colisiones. Entonces, $P(t = 0) = 1$ y $P(t)$ decrece con t .

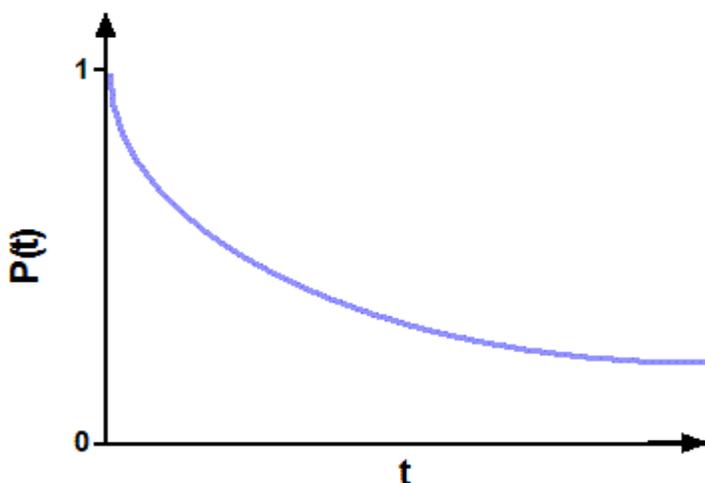


Figura 1.11: Gráfica de la función de probabilidad de colisión ($P(t)$) en un sistema formado por partículas que se encuentran sumergidas en un fluido a temperatura constante.

Sea ωdt la probabilidad de que la partícula sufra una colisión en el intervalo de tiempo t y $t + dt$, donde ω es la probabilidad por unidad de tiempo de que dicha partícula sufra una colisión. Se asume que ω es independiente de la última colisión y que además es una función de la velocidad ya que, dependiendo de \vec{v} el choque con otra partícula puede suceder en un lapso más corto o no.

Nótese que la probabilidad de que una molécula pase un tiempo $t + dt$ sin sufrir colisiones, debe ser igual a la probabilidad de que esta molécula sobreviva un tiempo t sin sufrir colisiones multiplicado ¹ por la probabilidad de que no sufra una colisión en el intervalo $[t, t + dt]$:

$$P(t + dt) = P(t)(1 - \omega dt), \quad (1.11)$$

en el caso que se analiza se lee como: la probabilidad de que la partícula pase un tiempo t sin colisiones por la probabilidad de que pase un tiempo dt sin colisiones dado que ya pasó un tiempo t sin colisiones.

¹El que se multipliquen las probabilidades surge del hecho que tratamos con una *probabilidad condicional*, que obedece a: $P(A \cap B) = P(B)P(\frac{A}{B})$, que se lee como la probabilidad de que ocurra el evento A y B es igual a la probabilidad de que ocurra el evento B por la probabilidad de que ocurra el evento A dado que ya ocurrió B . Por ejemplo: Si en un grupo hay ocho hombres y seis mujeres y se seleccionan al azar dos estudiantes ¿Cuál es la probabilidad de que se seleccionen dos varones seguidos? $R = P(H_1 \cap H_2) = P(H_1)P(\frac{H_2}{H_1}) = (\frac{8}{14})(\frac{7}{13}) = \frac{4}{13}$.

Por definición:

$$\frac{dP(t)}{dt} = \lim_{dt \rightarrow 0} \frac{P(t+dt) - P(t)}{dt},$$

entonces:

$$P(t+dt) = \frac{dP(t)}{dt} dt + P(t),$$

sustituyendo este resultado en Ec. (1.11), se tiene que:

$$\frac{dP(t)}{dt} = -\omega P(t),$$

la cual es una ecuación diferencial lineal de primer orden y de variables separables, cuya solución es:

$$P(t) = be^{-\omega t},$$

donde b es una constante de integración. El valor de b es fácil de encontrar con la condición $P(t=0) = 1$, entonces $b = 1$:

$$P(t) = e^{-\omega t}. \tag{1.12}$$

Multiplicando la probabilidad de supervivencia por la probabilidad de colisión se obtiene la probabilidad de que una partícula después de pasar un tiempo t sin colisiones, sufra una colisión en el intervalo de tiempo $[t, t+dt]$:

$$P(t)\omega dt = e^{-\omega t}\omega dt = K(t)dt,$$

con $K(t) = e^{-\omega t}\omega$ la función de peso. Así, lo único que se sabe es que en algún momento la partícula debe colisionar, lo cual se puede representar con:

$$\int_{t=0}^{t=\infty} K(t)dt = \int_{t=0}^{t=\infty} e^{-\omega t}\omega dt = 1.$$

Haciendo el cambio de variable $y = \omega t$ se reescribe la ecuación anterior como:

$$\int_{y=0}^{y=\infty} e^{-y} dy = 1.$$

Sea $\tau = \bar{t}$ el tiempo promedio entre colisiones, entonces por definición:

$$\tau = \int_{t=0}^{t=\infty} K(t)t dt = \int_{t=0}^{t=\infty} e^{-\omega t}\omega t dt = \frac{1}{\omega} \int_{y=0}^{y=\infty} e^{-y} y dy.$$

Al resolver la integral anterior:

$$\tau = \frac{1}{\omega}.$$

Así, se llega a la ecuación:

$$K(t)dt = e^{-\omega t}\omega dt = e^{-\frac{t}{\tau}} \frac{dt}{\tau}, \tag{1.13}$$

la cual será de utilidad para expresar el desplazamiento cuadrático medio en términos de la velocidad promedio de la partícula.

1.9. Ecuación de Einstein-Smoluchowski

Retomando el tema de caminatas aleatorias en el movimiento Browniano y considerando el caso en que los pasos no son necesariamente de la misma longitud L , entonces la Ec. (1.10) toma la forma:

$$\langle X_N^2 \rangle = N \langle \xi^2 \rangle ,$$

donde $\langle \xi^2 \rangle$ representa el promedio cuadrático de todos los pasos durante la caminata.

Una de las consideraciones fue que cada uno de los pasos era independiente del anterior. Ahora en lugar de pensar en pasos aleatorios, se considera que el movimiento es producido por el choque de las moléculas de agua con las partículas de polen, las cuales se suponen libres entre colisiones. Así, la velocidad de dichas partículas entre colisiones (v_x) es constante y la distancia que recorren es $X = v_x t$, por lo que el desplazamiento cuadrático medio entre colisiones se expresa por:

$$\langle X_N^2 \rangle = N \langle v_x^2 \rangle \langle t^2 \rangle , \quad (1.14)$$

donde $\langle t^2 \rangle$ puede ser calculado con ayuda de la Ec. (1.13):

$$\langle t^2 \rangle = \int_{t=0}^{t=\infty} K(t) t^2 dt = \int_{t=0}^{t=\infty} e^{-\frac{t}{\tau}} t^2 \frac{dt}{\tau} , \quad (1.15)$$

que se resuelve haciendo el cambio de variable $u = \frac{t}{\tau}$ e integrando por partes dos veces. Así se llega a:

$$\langle t^2 \rangle = 2\tau^2 . \quad (1.16)$$

Con este resultado la Ec. (1.14) se reescribe como:

$$\langle X_N^2 \rangle = 2N \langle v_x^2 \rangle \tau^2 ,$$

con τ el tiempo promedio entre colisiones. Como cada desplazamiento entre colisiones requiere un promedio de tiempo τ , el número total de desplazamientos efectuados en un tiempo t es:

$$N = \frac{t}{\tau} ,$$

con lo cual se llega a que:

$$\langle X_N^2 \rangle = 2t\tau \langle v_x^2 \rangle . \quad (1.17)$$

Por otro lado, imagínese que un total de N_1 partículas etiquetadas por unidad de área, son introducidas entre la división del sistema de los dos compartimentos de la Fig. 1.9, en un intervalo de tiempo δt muy pequeño. Entonces, las partículas se difundirán y por conservación del número de moléculas etiquetadas se sigue que:

$$\int_{X=-\infty}^{X=+\infty} [c(X, t)] dX = N_1 , \quad (1.18)$$

en donde $[c(X, t)]$ denota el número de moléculas etiquetadas por unidad de volumen situadas en la posición X al tiempo t . La Ec. (1.18) se cumple para todo t , por lo que:

$$\frac{1}{N_1} \int_{X=-\infty}^{X=+\infty} [c(X, t)] dX = 1 .$$

Definiendo $\frac{1}{N_1} [c(X, t)]$ como la función de peso, el desplazamiento cuadrático medio es:

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.10. RELACIÓN ENTRE DIFUSIÓN Y MOVILIDAD DE EINSTEIN

$$\langle X^2 \rangle = \frac{1}{N_1} \int_{X=-\infty}^{X=+\infty} [c(X, t)] X^2 dX.$$

Para encontrar explícitamente el desplazamiento cuadrático medio, se multiplica la *segunda ecuación de Fick* Ec. (1.7) por X^2 y se integra en todo el espacio:

$$\int_{X=-\infty}^{X=+\infty} X^2 \frac{\partial [c(X, t)]}{\partial t} dX = D \int_{X=-\infty}^{X=+\infty} X^2 \frac{\partial^2 [c(X, t)]}{\partial X^2} dX. \quad (1.19)$$

El lado izquierdo de la ecuación anterior, con ayuda de la función de peso, resulta ser:

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_{X=-\infty}^{X=+\infty} X^2 [c(X, t)] dX = N_1 \frac{\partial \langle X^2 \rangle}{\partial t}.$$

El lado derecho de la Ec. (1.19) al integrarla por partes dos veces da como resultado:

$$D \int_{X=-\infty}^{X=+\infty} X^2 \frac{\partial^2 [c(X, t)]}{\partial X^2} dX = 2DN_1,$$

quedando:

$$N_1 \frac{\partial \langle X^2 \rangle}{\partial t} = 2DN_1.$$

Con ello, tras resolver la ecuación por separación de variables se llega a la definición del coeficiente de difusión del medio o ecuación de Einstein-Smoluchowski:

$$\langle X^2 \rangle = 2Dt, \quad (1.20)$$

con la cual se expresa al coeficiente de difusión del medio D en términos del desplazamiento cuadrático medio $\langle X^2 \rangle$ y el tiempo total de duración de la caminata t .

La Ec. (1.20) se reescribe con ayuda de la Ec. (1.17) como:

$$D = \langle v_x^2 \rangle \tau, \quad (1.21)$$

donde hemos reemplazado X_N por X en la Ec. (1.17), ya que X_N representa el desplazamiento de la partícula tras N choques. Esta ecuación relaciona el coeficiente de difusión del medio con la velocidad cuadrática media de la partícula durante su recorrido.

1.10. Relación entre difusión y movilidad de Einstein

Considérese una partícula con masa m , cuyo centro de masa al tiempo t se encuentra en la posición $X(t)$ y su correspondiente velocidad es $v_x = \frac{dX(t)}{dt} = \dot{X}$. Esta partícula se encuentra inmersa en un fluido a temperatura constante (esto para facilitar la descripción del comportamiento de dicha partícula).

Todos los grados de libertad de la partícula se describen mediante una fuerza $F(t)$ y un campo externo $f(t)$, ambos actuando en una sola dimensión sobre esta partícula. Entonces, debido a la segunda ley de Newton, se tiene que:

$$m \frac{dv_x}{dt} = F(t) + f(t), \quad (1.22)$$

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.10. RELACIÓN ENTRE DIFUSIÓN Y MOVILIDAD DE EINSTEIN

con $m \frac{dv_x}{dt}$ la fuerza total actuando sobre el centro de masa, $F(t)$ la fuerza neta de interacción de la partícula con el medio y $f(t)$ la fuerza debida a un campo externo. Se puede decir poco del comportamiento de $F(t)$, sólo que fluctúa con el tiempo. Sin embargo, al fijarse en el promedio de $F(t)$ y agregarle una fluctuación, se puede redefinir $F(t)$ como:

$$F(t) = \overline{F(t)} + F_f(t),$$

$\overline{F(t)}$ representa el promedio de $F(t)$ y $F_f(t)$ representa la parte fluctuante de $F(t)$. Además, se comprueba que la velocidad de deriva cumple:

$$\overline{F(t)} = -\alpha \langle v_x \rangle ,$$

en donde α es una constante positiva llamada *constante de fricción* y $\langle v_x \rangle$ representa el promedio de la velocidad de la partícula. Así, la Ec. (1.22) adquiere la forma:

$$m \frac{dv}{dt} = f(t) - \alpha \langle v_x \rangle + F_f(t), \quad (1.23)$$

que es mejor conocida como la *ecuación de Langevin*.

Al considerar que la partícula se encuentra libre de fuerzas externas y que $v_x = \dot{X}$, la ecuación de Langevin se reescribe como:

$$m \frac{d\dot{X}}{dt} = -\alpha \dot{X} + F_f(t).$$

Multiplicando ambos lados por X :

$$mX \frac{d\dot{X}}{dt} = -\alpha X \dot{X} + XF_f(t).$$

Como $\frac{dX\dot{X}}{dt} = X \frac{d\dot{X}}{dt} + \dot{X}^2$, entonces:

$$m \left[\frac{d(X\dot{X})}{dt} - \dot{X}^2 \right] = -\alpha X \dot{X} + XF_f(t).$$

Al tomar el promedio de ambos lados de la ecuación y tomando en cuenta que $\frac{d \langle y \rangle}{dt} = \langle \frac{dy}{dt} \rangle$ se tiene:

$$m \frac{d \langle X\dot{X} \rangle}{dt} - m \langle \dot{X}^2 \rangle = -\alpha \langle X\dot{X} \rangle + \langle XF_f(t) \rangle .$$

Si se considera que el promedio de las fluctuaciones es cero, tras cada movimiento aleatorio la probabilidad de que una partícula se mueva hacia el sentido positivo de X o hacia el sentido negativo de X es la misma, se obtiene:

$$m \frac{d \langle X\dot{X} \rangle}{dt} - m \langle \dot{X}^2 \rangle = -\alpha \langle X\dot{X} \rangle .$$

Por el *teorema de equipartición de la energía*²

$$\frac{1}{2} m \langle \dot{X}^2 \rangle = \frac{1}{2} K_B T,$$

así:

²El valor promedio de cada término cuadrático independiente en la energía es igual a $\frac{1}{2} K_B T$, que representa la energía cinética promedio por efecto de la temperatura.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.10. RELACIÓN ENTRE DIFUSIÓN Y MOVILIDAD DE EINSTEIN

$$m \langle \dot{X}^2 \rangle = K_B T,$$

de lo cual se sigue que:

$$m \frac{d \langle X \dot{X} \rangle}{dt} = K_B T - \alpha \langle X \dot{X} \rangle.$$

Que es una ecuación diferencial lineal de primer orden en variables separables, que al resolver se obtiene:

$$\langle X \dot{X} \rangle = \frac{K_B T}{\alpha} - c e^{-\frac{\alpha}{m} t}.$$

Con la condición $X(t=0) = 0$, se encuentra el valor de c y se sustituye en la ecuación anterior:

$$\langle X \dot{X} \rangle = \frac{K_B T}{\alpha} [1 - e^{-\sigma t}],$$

con $\sigma = \frac{\alpha}{m}$ y $\langle X \dot{X} \rangle = \frac{1}{2} \frac{d \langle X^2 \rangle}{dt}$, entonces la ecuación adquiere la forma:

$$\frac{d \langle X^2 \rangle}{dt} = 2 \frac{K_B T}{\alpha} [1 - e^{-\sigma t}],$$

que se puede reescribir como:

$$\int d \langle X^2 \rangle = \frac{2K_B T}{\alpha} \int [1 - e^{-\sigma t}] dt,$$

resolviendo se llega a que:

$$\langle X^2 \rangle = \frac{2K_B T}{\alpha} \left[t + \frac{1}{\sigma} e^{-\sigma t} \right] + cte.$$

Aplicando nuevamente la condición $X(t=0) = 0$, se encuentra que $cte = -\frac{2K_B T}{\alpha} \frac{1}{\sigma}$ que al sustituir en la ecuación anterior:

$$\langle X^2 \rangle = \frac{2K_B T}{\alpha} \left[t + \frac{1}{\sigma} e^{-\sigma t} - \frac{1}{\sigma} \right].$$

Así, para $t \gg \frac{1}{\sigma}$:

$$\langle X^2 \rangle = \frac{2K_B T}{\alpha} t. \tag{1.24}$$

Resolviendo en términos del coeficiente de difusión del medio con ayuda de la Ec. (1.20):

$$D = \frac{K_B T}{\alpha}, \tag{1.25}$$

se encuentra la relación entre el coeficiente de difusión del medio y la constante de fricción.

Considérese ahora el caso de una partícula de carga e , masa m , que se mueve a una velocidad constante v_x , colocada en un campo eléctrico uniforme E . Entonces, la ecuación de Langevin Ec. (1.23) para dicha partícula es:

$$m \frac{dv_x}{dt} = eE - \alpha v_x + F_f(t). \tag{1.26}$$

Ya que se ha supuesto la velocidad de la partícula constante:

$$eE - \alpha v_x + F_f(t) = 0.$$

Tomando el promedio de la ecuación anterior, como el promedio de las fluctuaciones es cero, se sigue que:

$$eE - \alpha \langle v_x \rangle = 0.$$

Definiendo la movilidad μ como:

$$\mu = \frac{\langle v_x \rangle}{E} = \frac{e}{\alpha}, \quad (1.27)$$

y sustituyendo el valor de α de la Ec. (1.27) en la Ec. (1.25) se obtiene la *relación entre difusión y movilidad de Einstein*:

$$D = \frac{K_B T}{e} \mu. \quad (1.28)$$

Las secciones 1.8, 1.9 y 1.10 se encuentran descritas con mayor detalle en Ref. [13].

1.11. Velocidad de deriva

Fijémonos en una partícula sometida a una fuerza exterior \vec{F} constante, donde se analiza el caso en una dimensión con \vec{F} actuando sólo en la dirección x , denotada por F_x ; por ejemplo F_x podría ser la fuerza de gravedad. Se requiere saber el movimiento medio de cada partícula en su caída en la dirección de la fuerza, para esto se considera que un objeto que cae, alcanza finalmente una velocidad terminal determinada por la fricción.

Al estudiar el caso en que esta partícula se encuentra inmersa en un fluido; las colisiones con las moléculas que constituyen dicho fluido se producen de manera independiente y entre cada dos colisiones la partícula es libre de influencias aleatorias y obedece a las leyes de *Newton*:

$$F_x = ma_x = m \frac{dv_x(t)}{dt},$$

donde F_x es la fuerza actuando sobre la partícula de masa m , que presenta un movimiento uniformemente acelerado, con aceleración a_x y velocidad $v_x(t)$. Resolviendo esta ecuación diferencial, se llega a que:

$$v_x(t) = \frac{F_x}{m} t + v_{0x}, \quad (1.29)$$

con t el tiempo entre colisiones y v_{0x} el valor inicial de la velocidad justo después de una colisión.

Así, al tratarse de un movimiento uniformemente acelerado: $X = \frac{1}{2} a_x t^2 + v_{0x} t$, con lo que se encuentra el desplazamiento X de la partícula entre dos colisiones cuando actúa sobre ella una fuerza constante F_x :

$$X = \frac{F_x}{2m} t^2 + v_{0x} t. \quad (1.30)$$

Por lo que el desplazamiento medio está dado por:

$$\langle X \rangle = \frac{F_x}{2m} \langle t^2 \rangle + \langle v_{0x} \rangle \langle t \rangle. \quad (1.31)$$

Como se ha considerado que las colisiones se dan de manera independiente, v_{0x} apunta aleatoriamente a la derecha o izquierda tras cada colisión por lo que $\langle v_{0x} \rangle = 0$ y la Ec. (1.31) con ayuda de la Ec. (1.16) adquiere la forma:

$$\langle X \rangle = \frac{F_x}{2m} \langle t^2 \rangle = \frac{F_x}{m} \tau^2, \quad (1.32)$$

con $\langle t \rangle = \tau$ el tiempo promedio entre colisiones

Debido a que el tiempo t se considera constante entre cualquier colisión y esto se debe a que la partícula en su caída va chocando casi de manera incesante (en tiempos muy cortos casi iguales entre colisiones) contra las moléculas del fluido. Entonces, la velocidad promedio entre dos choques que se denotará por v_{deriva} es la misma durante toda la trayectoria de la partícula:

$$v_{deriva} = \frac{\langle X \rangle}{\tau} = \frac{F_x}{m} \tau = \frac{F_x}{\alpha}, \quad (1.33)$$

donde $\alpha = \frac{m}{\tau}$, se denomina coeficiente de fricción del medio y es medible experimentalmente.

1.12. Ecuación de Nernst-Planck

Cuando iones se encuentran en una solución, aparecen tres mecanismos para su movimiento: el movimiento Browniano debido a su acción térmica, la difusión debida al gradiente de concentración y el arrastre producido por el campo eléctrico.

1.12.1. Flujo electroforético

Al colocar una solución y iones (K^+ , Na^+ , Mg^{+2} y Cl^-) dentro de un recipiente, en una región de campo eléctrico constante $E(x)$ actuando en la dirección de x (ver Fig. 1.12), los portadores de carga se desplazarán por interacción eléctrica con el campo, en esa misma dirección. En su movimiento los iones sufrirán colisiones. Después de cada colisión, estos iones pierden velocidad, que lentamente es recuperada debido a la aceleración causada por el portador de carga y por el campo eléctrico.

Para describir este comportamiento, se sabe que cada partícula experimenta una fuerza por unidad de carga, denominada *fuerza de Lorentz*: $F_L(x) = e(\vec{E}(x) + \vec{v} \times \vec{B})$ cuya única contribución dentro del recipiente se debe al campo eléctrico: $F(x) = eE(x) = m \frac{dv}{dt} = v_{deriva} \frac{m}{\tau}$. Esta fuerza actúa en dirección del campo. De esta manera se puede determinar la velocidad neta a la que se desplaza cada una de estas partículas y escribir con ayuda de la Ec. (1.33) como:

$$v_{deriva} = \frac{F(x)}{m} \tau = \frac{eE}{m} \tau = \frac{eE}{\alpha}. \quad (1.34)$$

Se requiere saber el flujo de iones inducido por este campo a través de un plano de área A perpendicular al campo eléctrico. Este flujo es denominado *flujo electroforético* y se denota por j_c :

$$j_c = [c] v_{deriva} = -\frac{[c]}{\alpha} \frac{\partial V}{\partial x}, \quad (1.35)$$

donde se asume que se trata con un sistema conservativo ($F(x) = eE(x) = -\frac{\partial V}{\partial x}$). Utilizando las Ecs. (1.25) y (1.28), se reescribe el flujo electroforético como:

$$j_c = -\frac{D}{K_B T} [c] \frac{\partial V}{\partial x} = -\frac{\mu}{e} [c] \frac{\partial V}{\partial x}.$$

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.
1.12. ECUACIÓN DE NERNST-PLANCK

Ya que la carga de un ion se puede escribir en términos de la carga del protón como $q = ze$, donde q es el valor de la carga, z la valencia³ y e la carga del protón. Normalizando q se llega a:

$$j_c = -\mu z [c] \frac{\partial V}{\partial x}, \quad (1.36)$$

el flujo producido por la presencia de un campo eléctrico constante.

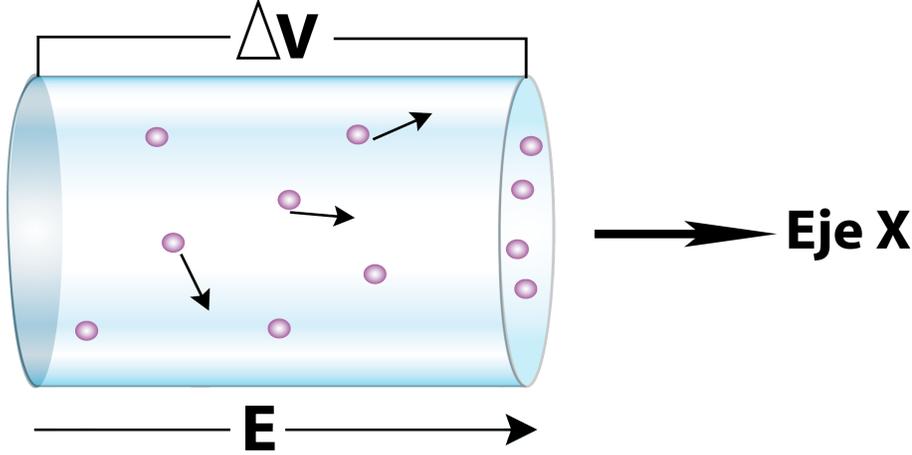


Figura 1.12: Un campo eléctrico que apunta en dirección de x actúa sobre las partículas de una solución con iones. Los portadores de carga se desplazarán por interacción eléctrica con el campo, en esa misma dirección. En su movimiento los iones sufrirán colisiones.

1.12.2. Deducción de la ecuación de Nernst-Planck

En el caso de una membrana celular, el campo eléctrico (que experimentalmente se mantendrá constante) es producido por la acumulación de iones en uno y otro lado de dicha membrana, por lo cual, existe un flujo electroforético j_c , además, esta misma diferencia de concentración de iones produce un flujo por difusión j_d que obedece a la primera ecuación de Fick Ec. (1.6). Así el flujo total es:

$$J = j_d + j_c = - \left[D \frac{\partial [c]}{\partial x} + \mu z [c] \frac{\partial V}{\partial x} \right]. \quad (1.37)$$

Definiendo la densidad de corriente como la cantidad de iones de la especie z que cruzan la membrana por unidad de área:

$$I = \frac{J}{N_A} z F, \quad (1.38)$$

donde $N_A = 6.02214 \times 10^{23}$ es el número de Avogadro, z es la valencia del ion y $F = e N_A = 9.64853 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$, es conocida como la constante de Faraday. Haciendo el cambio de variable $U = \frac{\mu}{N_A}$, con μ la movilidad del ion y utilizando el hecho de que $\frac{K}{e} = \frac{R}{F}$ donde

³El concepto fue desarrollado a mediados del siglo XIX, en un intento por racionalizar la fórmula química de compuestos químicos diferentes. En 1919, Irving Langmuir, tomó prestado el término para explicar el modelo de átomo cúbico de Gilbert N. Lewis al enunciar que el número de pares de electrones que cualquier átomo dado comparte con el átomo adyacente es denominado la covalencia del átomo. Así que un enlace covalente significa que los átomos comparten valencia. De ahí, si un átomo, por ejemplo, tiene una valencia +1, significa que perdió un electrón, y otro con una valencia de -1, significa que tiene un electrón adicional.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.13. PERMEABILIDAD, COEFICIENTE DE PARTICIÓN Y EQUILIBRIO DE DONNAN-GIBBS

$R = 8.31447 \text{ JKmol}^{-1}$ es la constante de los gases, además de sustituir el valor de D por el valor encontrado en la Ec. (1.28), se obtiene:

$$I = - \left[\underbrace{TzRU \frac{\partial [c]}{\partial x}}_{\text{flujo por difusión}} + \underbrace{Uz^2 F [c] \frac{\partial V}{\partial x}}_{\text{flujo por campo}} \right]. \quad (1.39)$$

Que es conocida como la *ecuación de Nernst-Planck*. Esta ecuación establece la presencia de una corriente a través de la membrana, la cual es producida por el flujo de iones. Si este flujo se debe a un gradiente de concentración, propiciado por la falta de equilibrio químico, se le denomina *flujo difusivo* (ver sección 1.6) y si es producido por la presencia de un campo eléctrico constante en la membrana, se le denomina *flujo electroforético*.

1.12.3. Voltaje de Nernst

Considérese el caso en que la corriente neta a través de la membrana es cero, entonces, de la Ec. (1.39) se sigue que:

$$\frac{\partial V}{\partial x} = - \frac{RT}{zF} \frac{1}{[c]} \frac{\partial [c]}{\partial x}.$$

Al considerar que la membrana tiene un espesor que va de $x = 0$ a $x = L$ y definiendo $V(x = 0) = V_1$, $V(x = L) = V_2$, $[c(x = 0)] = [c]_1$ y $[c(x = L)] = [c]_2$. Entonces, integrando la ecuación anterior desde $x = 0$ a $x = L$, se llega a la ecuación del *voltaje de Nernst*:

$$V_2 - V_1 = - \frac{RT}{zF} \ln \frac{[c]_2}{[c]_1}, \quad (1.40)$$

la cual establece el voltaje necesario que se debe aplicar a la membrana celular para que la corriente neta a través de ella sea cero.

Al considerar la temperatura constante y $z = 1$, la Ec. (1.40) queda:

$$V_2 - V_1 \simeq 25.8 \ln \frac{[c]_2}{[c]_1}.$$

1.13. Permeabilidad, coeficiente de partición y equilibrio de Donnan-Gibbs

En la sección anterior, se introdujeron ecuaciones que establecen la corriente de la membrana en términos de la concentración de iones en ambos lados de la misma y del potencial al que está sometida experimentalmente (mediante el uso de la técnica de fijación de voltaje). En esta sección, dichas ecuaciones se escriben bajo ciertas consideraciones, en términos de variables que se caracterizan experimentalmente de una manera más fácil, como lo son: la permeabilidad de la membrana a una determinada especie iónica y la concentración de iones tanto en el medio extracelular como en el medio intracelular.

1.13.1. Permeabilidad

Consideremos un tubo de vidrio fino y largo, llamado tubo capilar, de longitud L lleno de agua. Uno de sus extremos está en contacto con un recipiente que contiene agua pura y el otro extremo está en contacto con un recipiente que contiene una disolución de tinta en agua cuya concentración es $[c]_0$, como se muestra en la Fig. 1.13. Después de un tiempo largo, los recipientes de ambos

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.13. PERMEABILIDAD, COEFICIENTE DE PARTICIÓN Y EQUILIBRIO DE DONNAN-GIBBS

extremos llegarán al equilibrio con la misma concentración de tinta (un valor intermedio entre 0 y $[c]_0$, i.e. $\frac{[c]_0}{2}$), pero durante el proceso de equilibrio químico, el sistema estará en un estado cuasi-estacionario, lo cual significa que todas las variables que describen el sistema permanecerán prácticamente constantes en el tiempo.

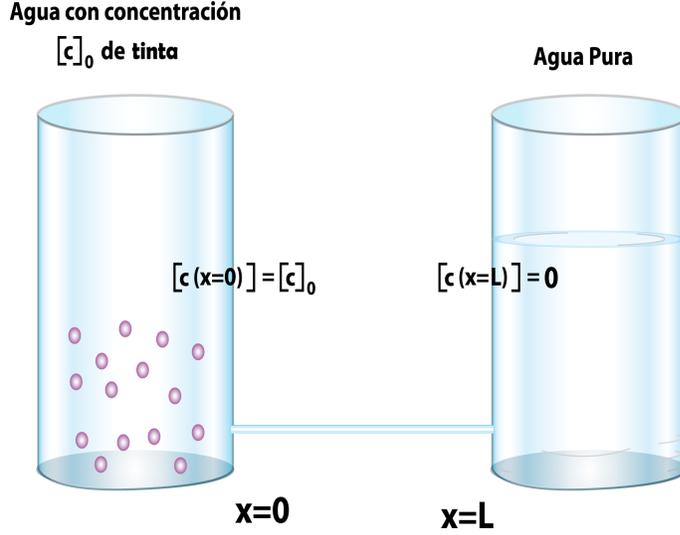


Figura 1.13: Recipiente con una disolución de tinta en agua unido mediante un tubo capilar a otro recipiente con agua pura. Esta diferencia de concentración produce un flujo por difusión que tiende a llevar al sistema a su estado de equilibrio químico.

Para el estado cuasi-estacionario se cumple que $\frac{\partial [c]}{\partial t} \simeq 0$, ya que el número de partículas de tinta se conserva, se puede emplear la segunda ecuación de Fick (1.7):

$$\frac{d^2 [c]}{dx^2} = 0 \Rightarrow \frac{d [c]}{dx} = cte, \quad (1.41)$$

De esto se deriva que $[c]$ responde linealmente con x . Usando las condiciones de frontera antes mencionadas:

$$[c] = [c]_0 \left(1 - \frac{x}{L}\right). \quad (1.42)$$

Sustituyendo este resultado en la Ec. (1.6) y renombrando j_x por j_d :

$$j_d = D \frac{[c]_0}{L}.$$

Si las concentraciones en ambos lados difieren de cero y $[c(x=L)] = [c]_L$, entonces el flujo por difusión se expresa como:

$$j_d = -D \frac{\Delta [c]}{L} = -P_s \Delta [c], \quad (1.43)$$

Donde $\Delta [c] = [c]_L - [c]_0$ y $P_s = \frac{D}{L}$, la permeabilidad de la membrana al soluto s que depende tanto de la membrana como de las moléculas cuya permeabilidad se desea estudiar. Cabe mencionar que la permeabilidad tiene unidades de velocidad.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.13. PERMEABILIDAD, COEFICIENTE DE PARTICIÓN Y EQUILIBRIO DE DONNAN-GIBBS

Los canales iónicos al ser más estrechos que el grosor de la membrana, se pueden modelar como tubos capilares, que unen el medio intracelular y el medio extracelular en los cuales existe una diferencia de concentración de iones.

1.13.2. Coeficiente de partición del medio

El coeficiente de partición del medio, expresa la solubilidad de una sustancia en un medio no polar con respecto a un medio acuoso y es denotado por β . Para entender un poco más este concepto, imaginemos agua en un recipiente con una capa de aceite flotando sobre ésta, en el cual se introduce una cucharada de azúcar y se agita posteriormente. Pasado suficiente tiempo para que el fluido alcance el equilibrio termodinámico, se observa que la mayor parte de azúcar se encuentra disuelta en el agua. El *coeficiente de partición* (β), caracteriza el grado en que las moléculas de azúcar prefieren estar en un medio que en otro, es medible experimentalmente y adquiere un valor constante.

$$\beta = \frac{\text{Concentración de azúcar en el aceite}}{\text{Concentración de azúcar en el agua}}. \quad (1.44)$$

Considérese el caso de una membrana como la que se muestra en la Fig. 1.14, donde $[c]_1$ representa la concentración de azúcar en el agua de la región 1, $[c]_2$ representa la concentración de azúcar en el agua de la región 2 y $\beta[c]_1$ y $\beta[c]_2$ son las concentraciones de azúcar en el aceite (la membrana es una bicapa lipídica), en la interfase entre la región 1 y 2 con la membrana celular respectivamente, esto ya que β es considerado constante.

Si tenemos el caso de iones (de la misma especie), es posible reescribir la ecuación del flujo por difusión (Ec. 1.43) en la forma:

$$j_d = -\frac{D}{L}\beta([c]_1 - [c]_2) = -P_s\Delta[c]. \quad (1.45)$$

Donde $p_s = \frac{D\beta}{L}$, la permeabilidad de la membrana celular que se estudia, para una especie iónica, en términos del coeficiente de partición.

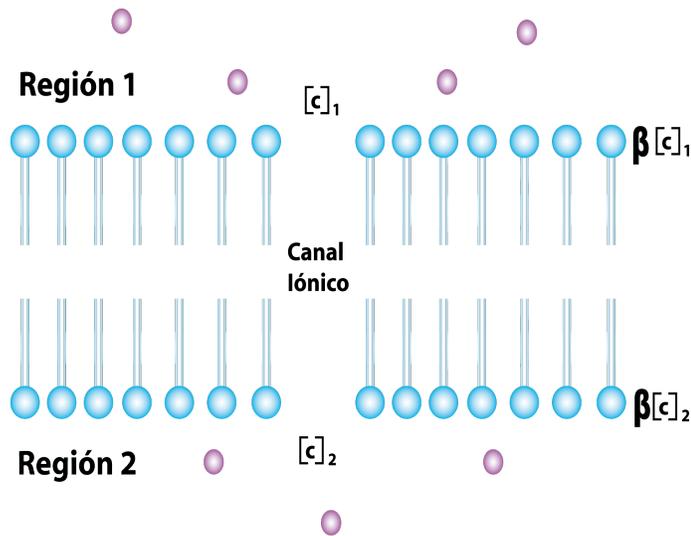


Figura 1.14: La concentración de iones de una sola especie, en la interfase entre el medio extracelular e intracelular con la membrana, puede ser expresado en términos del coeficiente de partición del medio.

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.14. ECUACIÓN DE CAMPO CONSTANTE DE GOLDMAN-HODGKIN-KATZ

1.13.3. Equilibrio de Donnan-Gibbs

El equilibrio de Donnan-Gibbs es el equilibrio que se produce entre iones que pueden atravesar la membrana y los que no son capaces de hacerlo.

Las ecuaciones de esta sección y la sección anterior, reflejan el hecho de que la función de potencial electrostático afecta a cada una de las especies iónicas que se encuentran tanto en el medio extracelular, como en el medio intracelular. Por lo tanto, en el equilibrio termodinámico, cada una de las especies iónicas que es capaz de atravesar la membrana celular, debe estar en equilibrio, en el sentido de Nernst ⁴ por separado al valor de ΔV . En el caso en que sólo se consideran tres especies iónicas $[Na^+]$, $[K^+]$ y $[Cl^-]$ el equilibrio de Donnan-Gibbs implica:

$$\Delta V = -\frac{K_B T}{e} \ln \frac{[c_{Na^+}]_2}{[c_{Na^+}]_1} = -\frac{K_B T}{e} \ln \frac{[c_{K^+}]_2}{[c_{K^+}]_1} = -\frac{K_B T}{e} \ln \frac{[c_{Cl^-}]_2}{[c_{Cl^-}]_1}, \quad (1.46)$$

donde $[c_y]_1$ y $[c_y]_2$ representan la concentración de la especie iónica y en el medio intracelular y el medio extracelular respectivamente, además se ha utilizado el hecho de que $\frac{K_B}{e} = \frac{R}{F}$ y sustituido el valor de la valencia del ion en la Ec. (1.40). A su vez la ecuación anterior implica que:

$$\frac{[c_{Na^+}]_2}{[c_{Na^+}]_1} = \frac{[c_{K^+}]_2}{[c_{K^+}]_1} = \frac{[c_{Cl^-}]_1}{[c_{Cl^-}]_2}, \quad (1.47)$$

lo cual significa que en un volumen dado, el número de cationes es igual al número de aniones.

1.14. Ecuación de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz

La ecuación de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz se emplea para determinar el potencial de reposo o equilibrio a través de la membrana celular, tomando en cuenta todos los iones que son permeables a tal membrana. Para deducir esta ecuación se consideran tres suposiciones importantes:

1. El campo eléctrico a través de la membrana celular es constante.
2. El movimiento iónico obedece a la ecuación de Nernst-Planck.
3. El movimiento iónico se da de manera independiente, es decir que no existe interacción entre las diferentes especies iónicas.

La Fig. 1.15 muestra las características que el modelo impone sobre la membrana celular, esto es:

- a) El espesor de la membrana es L .
- b) El potencial tiene las condiciones de frontera: $V(X = 0) = 0$ y $V(X = L) = V$.
- c) Las concentraciones extracelular e intracelular de iones (de una sola especie) están dadas por: $[c]_2$ y $[c]_1$ respectivamente.
- d) La concentración de iones (de una sola especie) en la interfase entre el medio extracelular y la membrana, se denota por $\beta[c]_2$.
- e) La concentración de iones (de una sola especie) en la interfase entre el medio intracelular y la membrana, se denota por $\beta[c]_1$.

⁴Equilibrio producido cuando la corriente neta a través de la membrana es cero, es decir, obedece a la ecuación del voltaje de Nernst.

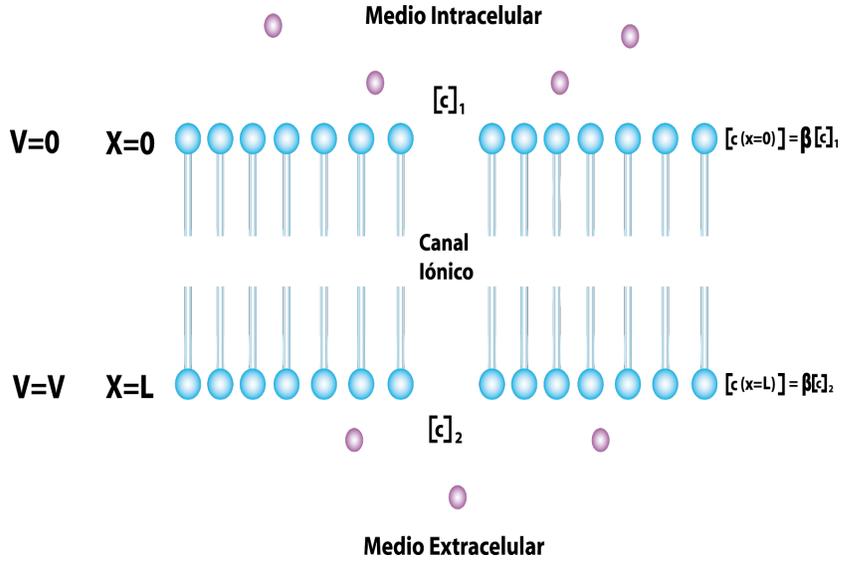


Figura 1.15: Esquema de una membrana celular, de acuerdo a las características impuestas en el modelo propuesto por Goldman-Hodgkin-Katz.

En vista de las suposiciones como el campo es constante ($F = \frac{V}{L}$) y que se trata con un sistema conservativo $F = \frac{\partial V}{\partial x}$, se puede reescribir la Ec. (1.39) como:

$$I = Uz^2F[c]\frac{V}{L} - TzRU\frac{\partial[c]}{\partial x}. \quad (1.48)$$

Haciendo el cambio de variable $y = I - Uz^2F[c]\frac{V}{L}$:

$$y = -URTz\frac{\partial[c]}{\partial x}. \quad (1.49)$$

Suponiendo que la corriente no cambia con el grosor de la membrana (condición de reposo ó estado estable) $\frac{dI}{dx} = 0$:

$$\frac{dy}{dx} = -\frac{Uz^2FV}{L}\frac{d[c]}{dx}. \quad (1.50)$$

Despejando el gradiente de concentración de las Ecs. (1.49) y (1.50) e igualándolas se obtiene:

$$dx = \frac{LRT}{zFV}\frac{dy}{y}.$$

Integrándola en el grosor de la membrana:

$$\int_{x=0}^{x=L} dx = \frac{LRT}{zFV} \int_{[c(x=0)]}^{[c(x=L)]} \frac{dy}{y},$$

se obtiene:

$$e^{\frac{zFV}{RT}} = \frac{I - \frac{Uz^2FV}{L}\beta[c_2]}{I - \frac{Uz^2FV}{L}\beta[c_1]}, \quad (1.51)$$

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS.

1.14. ECUACIÓN DE CAMPO CONSTANTE DE GOLDMAN-HODGKIN-KATZ

Al despejar la corriente, la ecuación anterior queda como:

$$I = \frac{\beta U z^2 F V}{L} \left[\frac{e^{\frac{z F V}{R T}} [c]_1 - [c]_2}{e^{\frac{z F V}{R T}} - 1} \right].$$

Utilizando la Ec. (1.45) y sustituyendo el coeficiente de difusión de la Ec. (1.28), además de usar la relación $\frac{K_B}{e} = \frac{R}{F}$, es posible expresar la corriente en términos de la permeabilidad de la membrana a cierta especie iónica (la cual puede medirse experimentalmente) como:

$$I = \frac{P}{N_A} \lambda z F \left[\frac{e^{\lambda} [c]_1 - [c]_2}{e^{\lambda} - 1} \right], \quad (1.52)$$

con $\lambda = \frac{z F V}{R T}$. Se considera que los canales iónicos de la membrana celular sólo son permeables a Na^+ , K^+ y Cl^- . Como se supuso independencia en el movimiento iónico:

$$I = I_{Na} + I_K + I_{Cl}.$$

Que se reescribe en términos de la permeabilidad con ayuda de la Ec. (1.52):

$$I_{Na} = \frac{\lambda z F}{1 - e^{-\lambda}} P_K \left[([K^+]_1 - e^{-\lambda} [K^+]_2) + \frac{P_{Na}}{P_K} ([Na^+]_1 - e^{-\lambda} [Na^+]_2) + \frac{P_{Cl}}{P_K} ([Cl^-]_2 - e^{-\lambda} [Cl^-]_1) \right]. \quad (1.53)$$

donde P_K , P_{Na} y P_{Cl} representan la permeabilidad al potasio, sodio y cloro respectivamente, mientras que $[K^+]_1$, $[Na^+]_1$ y $[Cl^-]_1$ representan la concentración de potasio, sodio y cloro en el medio intracelular; $[K^+]_2$, $[Na^+]_2$ y $[Cl^-]_2$ representan la concentración de potasio, sodio y cloro en el medio extracelular y N_A es el número de Avogadro. Es pertinente aclarar que las concentraciones de cloro no siguen el orden de la Ec. (1.52) y esto se debe a que al estar en equilibrio el sistema obedece a la ecuación de equilibrio de Donnan-Gibbs.

Definiendo:

$$a = [K^+]_1 + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_1 + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_2,$$

$$b = [K^+]_2 + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_2 + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_1,$$

la Ec. (1.53) en términos de a y b queda como:

$$I_{Na} = \frac{z F \lambda}{1 - e^{-\lambda}} (a - e^{-\lambda} b).$$

Haciendo que la corriente neta sea cero, lo cual se cumple sólo si $a - e^{-\lambda} b$ es cero y despejando el voltaje de esta ecuación, se sigue que:

$$V = \frac{R T}{z F} \ln \left[\frac{[K^+]_2 + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_2 + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_1}{[K^+]_1 + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_1 + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_2} \right]. \quad (1.54)$$

Que es conocida como la *ecuación de campo constante de Goldman, Hodgkin y Katz*, la cual establece el voltaje que se debe aplicar experimentalmente para que la corriente neta a través de la membrana sea cero. El valor de este voltaje está en términos de la permeabilidad de la membrana a ciertas especies iónicas y las concentraciones de las mismas en el medio extracelular, como en el medio intracelular.

1.15. Conclusiones del capítulo

Este capítulo estableció las bases para el análisis de la estructura celular a través de modelos eléctricos e introdujo algunas de las suposiciones teóricas de los mismos.

Se definieron las características fisiológicas del potencial de acción y se establecieron a través de este concepto las propiedades pasivas de la membrana celular.

Se justificó la realización de hipótesis, que llevaron a la deducción de tres de las ecuaciones que sustentan el modelo eléctrico, de las propiedades pasivas de la membrana celular: La ecuación de Nernst-Planck, el voltaje de Nernst y la ecuación de campo constante de Goldman, Hodgkin y Katz. Cabe aclarar que en el presente trabajo no se llevaron a cabo experimentos que comprobaran dichas ecuaciones, sin embargo, sí existen este tipo de trabajos [14, 15].

Con estas bases, se pueden explorar modelos biológicos más completos, que presenten otras propiedades de la membrana de células nerviosas.

Capítulo 2

Modelo biológico

El Capítulo 1 identificó varios aciertos en el modelo eléctrico celular; el Capítulo 2 describe la metodología utilizada para proporcionar los datos que van a ser investigados. El capítulo está organizado alrededor de dos temas principales:

- a) Las hipótesis realizadas por Rall, al modelar las propiedades pasivas de las dendritas y axones, como cilindros equivalentes sometidos a un potencial $V = V(x, t)$ [16].
- b) La estimación de la longitud electrotónica, en términos de las constantes de tiempo del capacitor del circuito equivalente propuesto en la teoría de Rall.

2.1. Teoría de cable y el modelo de Rall

La naturaleza de la propagación de los impulsos nerviosos era un enigma complejo para los biólogos de principios del siglo XX. La primera disyuntiva que se planteaban era determinar si los impulsos nerviosos eran de naturaleza eléctrica o química. En 1939 se lleva a cabo el primer registro de la diferencia de potencial en el axón de la neurona de calamar, con éste nació el término *potencial de acción* definido como aquel estado de despolarización que se transmite por la neurona en forma de onda que responde a diferencias de potencial. Más tarde, Hodgkin, mostró que estos potenciales axonales podían describirse por la ecuación de cable lineal. En 1952, gracias a la utilización de microelectrodos y a los avances tecnológicos con la incorporación de los microscopios electrónicos y a la matematización de la neurobiología, al usar ecuaciones diferenciales no lineales para explicar el potencial de acción y el fenómeno denominado umbral de estimulación¹; fue que se permitió desarrollar una investigación más exacta de las células nerviosas. Debido al concepto eléctrico del impulso nervioso, se le simuló como un circuito eléctrico y resurgió el modelo de Lapicque. Sin embargo, ahora las incógnitas se encontrarán en la función de la dendrita respecto al comportamiento integrativo, para lo cual Rall adecuó la teoría de cable para el estudio de las propiedades pasivas de la membrana celular [16] y estableció que podía ser modelada como un cable coaxial (por su morfología cilíndrica), cuyo núcleo representa las propiedades del medio intracelular. Este cable se encuentra sumergido en un fluido conductor que representa las propiedades del medio extracelular. De esta manera, Rall propuso siete consideraciones relevantes para el modelo:

¹Intensidad mínima que debe tener un estímulo para que se produzca la despolarización de la membrana y la subsecuente propagación del estímulo

2.1.1. Caso unidimensional

Con esta consideración se reduce la dependencia del potencial a una sola dimensión espacial $V = V(x, t)$, lo cual significa que cualquier dependencia radial o angular del voltaje, dentro del núcleo o fuera del cable que representa a la membrana celular, puede ser despreciado. Esto se puede explicar considerando que las partículas (Brownianas) que atraviesan la membrana celular, realizan movimientos aleatorios, ocasionando así, que el desplazamiento medio en cada pedazo de sección transversal del cable sea cero, por lo cual la trayectoria más probable es la del eje axial [17, 18, 19, 20, 21, 22, 23]. Cabe mencionar que experimentos con axones, han demostrado correspondencia con los resultados predichos por la teoría de cable en el caso unidimensional [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

2.1.2. Resistencia intracelular del núcleo

Se asume que el medio intracelular posee una resistencia óhmica, es decir que responde al flujo de corriente eléctrica conforme a la *Ley de Ohm*. Además de la suposición de que el voltaje cambia a lo largo de la membrana (del eje x), se implica que el largo y delgado núcleo puede ser caracterizado por una resistencia por unidad de longitud r_{int} , llamada *resistencia del núcleo por unidad de longitud*. Para un conductor uniforme el valor de $[r_{int}] = \frac{\Omega}{cm}$ es constante para todo x . Si $[R_{int}] = \Omega cm$ representa la resistencia específica de material homogéneo intracelular y si $[A_{int}] = cm^2$ representa el área de sección transversal del núcleo, la cual se considera circular de radio a , entonces:

$$r_{int} = \frac{R_{int}}{\pi a^2}. \quad (2.1)$$

2.1.3. Ley de Ohm para la corriente del núcleo

Para un segmento de longitud $\Delta x = x_2 - x_1$, como el que se muestra en la Fig. 2.1, la resistencia del núcleo es $[r_{int}\Delta x] = \Omega$. En especial, cuando $\Delta x \rightarrow 0$ la corriente del núcleo, denotada por $[i_{int}] = A$, no cambia en este incremento de longitud. La ley de Ohm implica que:

$$i_{int}r_{int}\Delta x = -\Delta V_{int}, \quad (2.2)$$

donde V_{int} representa el potencial intracelular y $-\Delta V_{int} = V_{int1} - V_{int2}$ representa la diferencia de potencial entre los puntos x_1 y x_2 del conductor. El signo menos se debe a que la corriente fluye en la dirección positiva de x . Esto corresponde a un ΔV_{int} negativo; es decir el potencial decrece con la distancia x .

Dividiendo ambos lados de la Ec. (2.2) por Δx y tomando el límite cuando $\Delta x \rightarrow 0$, se obtiene la manera en que cambia el potencial con x , esto es:

$$i_{int}r_{int} = -\frac{\partial V_{int}}{\partial x}. \quad (2.3)$$

²Para este capítulo: A representa Amperes, Ω representa Ohms, F representa Faradios, cm representa centímetros.

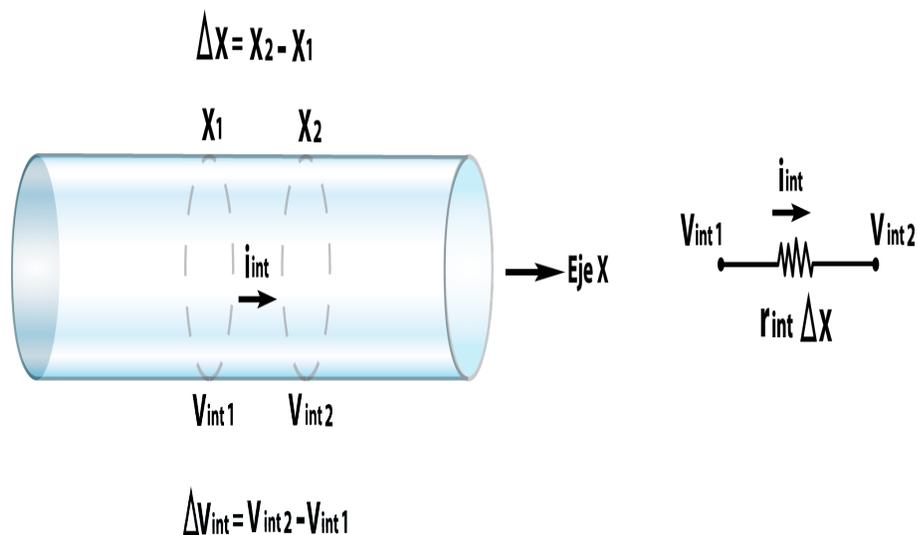


Figura 2.1: Relación entre el segmento de longitud del conductor cilíndrico y los elementos del circuito eléctrico equivalente, para conocer la corriente del núcleo en términos de la caída de potencial y la resistencia del medio intracelular.

2.1.4. Conservación de la corriente

Se asume que el núcleo es puramente resistivo (como un cable coaxial) y unidimensional. La conservación de corriente implica que cuando la corriente del núcleo fluyendo dentro de un pequeño segmento de longitud Δx excede la cantidad de corriente de núcleo fluyendo hacia adelante en esa región, este exceso debe escapar del núcleo y lo hace como corriente de membrana, como se muestra en la Fig. 2.2. Esto sucede por ejemplo cuando $i_{int1} > i_{int2}$, cuando los canales iónicos pasivos permiten la entrada de mucho sodio en comparación con el que sale (en el mismo tiempo). Entonces, para llevar a la célula a su estado de equilibrio, más canales se abren, dejando que fluyan iones del interior hacia el exterior de la membrana, llevando así el potencial de membrana a su estado de equilibrio (potencial de reposo).

Si $[i_m] = \frac{A}{cm}$ representa la corriente fluyendo hacia el exterior por unidad de longitud a través de un canal iónico y se toma el límite en que $\Delta x \rightarrow 0$, en el cual i_m no cambia en este segmento de longitud, entonces, $i_m \Delta x$ es la corriente en la longitud Δx atravesando la membrana. Así, por la ley de Kirchoff para corriente, se cumple que:

$$i_{int1} = i_{int2} + i_m \Delta x \implies i_m \Delta x = -\Delta i_{int} ,$$

dividiendo entre Δx y tomando el límite cuando $\Delta x \rightarrow 0$:

$$i_m = -\frac{\partial i_{int}}{\partial x} , \tag{2.4}$$

donde i_m e i_{int} pueden ser funciones tanto de x como de t .

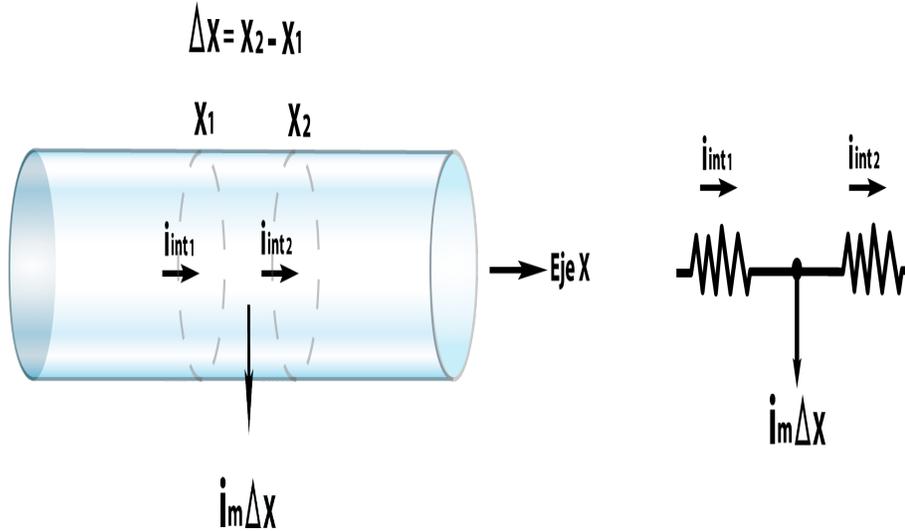


Figura 2.2: Relación entre el segmento de longitud del conductor cilíndrico y los elementos del circuito eléctrico equivalente, para conocer la corriente de membrana en términos del cambio de la corriente de núcleo.

2.1.5. Relación entre la corriente de membrana y el voltaje interno

Derivando la Ec. (2.3) respecto de x , suponiendo que el medio intracelular es uniforme, es decir, que r_{int} no cambia con x y combinando este resultado con la Ec. (2.4) obtenemos:

$$i_m r_i = -\frac{\partial^2 V_{int}}{\partial x^2}. \quad (2.5)$$

Es importante notar que esta ecuación no depende del modelo o de la distribución del potencial extracelular, sólo depende de la unidimensionalidad del sistema, que se trata con un conductor uniforme y de la conservación de corriente.

2.1.6. Efecto de suponer un voltaje equipotencial extracelular

En una membrana pasiva, sólo se encuentran funcionando los canales permeables a alguna especie iónica, estos canales permiten el flujo de iones del medio extracelular al medio intracelular y viceversa, además de que no dependen del potencial transmembranal de tal manera que tras este intercambio, la carga total en uno y otro lado de la membrana celular se conserva, produciendo así una diferencia de potencial que en el modelo se considera constante (típicamente -60 mV) entre los puntos que se encuentran fuera y dentro de dicha membrana, esta diferencia de potencial es el denominado potencial de reposo (E_r).

En el momento en que se aplique una diferencia de potencial a la membrana celular, los canales iónicos dependientes del voltaje se abren, produciendo así una corriente a través de la membrana la cual a su vez es responsable de que se genere un potencial V_m (además del potencial que siempre se encuentra presente E_r).

La diferencia del potencial de membrana se define, por convención desde 1958 [14, 15, 24, 32] como:

$$V_m = V_{int} - V_{ext},$$

donde V_{int} y V_{ext} representan el potencial interno y externo de la membrana celular respectivamente. El potencial extracelular es considerado equipotencial ($\frac{\partial V_{ext}}{\partial x} = 0$) ya que se ha supuesto una resistencia muy pequeña en el medio extracelular.

El cambio de V_m desde su valor de reposo está definido como:

$$V = V_m - E_r = V_{int} - V_{ext} - E_r,$$

donde E_r es el potencial de reposo de la membrana celular.

Para una membrana uniforme, E_r debe ser independiente de x , lo cual implica que $\frac{\partial E_r}{\partial x} = 0$. Así, derivando la ecuación anterior respecto a x :

$$\frac{\partial V}{\partial x} = \frac{\partial V_{int}}{\partial x},$$

con lo cual se puede reescribir la Ec. (2.5) como:

$$i_m = \frac{1}{r_{int}} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}, \quad (2.6)$$

que relaciona a i_m con V sin especificar algún modelo de membrana en particular.

2.1.7. Modelo de membrana pasiva

En la Fig. 2.3 se muestra el modelo que se usará para representar las propiedades de una membrana pasiva, el cual ya se ha visto en la sección de *circuito equivalente*, pero se redefinirán algunas propiedades:

Capacitancia por unidad de área [ζ_m] = $\frac{F}{cm^2}$, de cada uno de los cilindros de longitud Δx y radio a , como:

$$\zeta_m = \frac{C}{2\pi a \Delta x}, \quad (2.7)$$

donde C es la capacitancia del cilindro. La capacitancia por unidad de longitud [C_m] = $\frac{F}{cm}$, se puede expresar en términos de la capacitancia por unidad de área como:

$$C_m = 2\pi a \zeta_m. \quad (2.8)$$

Además, la resistencia por unidad de área [R_m] = Ωcm^2] es:

$$R_m = 2\pi a r \Delta x, \quad (2.9)$$

donde r es la resistencia del cilindro. De la misma manera se puede definir la resistencia por unidad de longitud [r_m] = Ωcm en términos de la resistencia por unidad de área como:

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi a}. \quad (2.10)$$

El hecho de que la corriente de membrana sea la suma de la corriente capacitiva y la corriente resistiva puede ser expresado como:

$$i_m \Delta x = (V_m - E_r) \frac{\Delta x}{r_m} + C_m \Delta x \frac{\partial V_m}{\partial t}.$$

Simplificando y empleando la definición de $V = V_m - E_r$

$$i_m = \frac{V}{r_m} + C_m \frac{\partial V}{\partial t}. \quad (2.11)$$

Es importante notar que en este modelo sólo se habla de la resistencia de la membrana r_m sin tomar en cuenta una resistencia interna o que el potencial es una función de x y t .

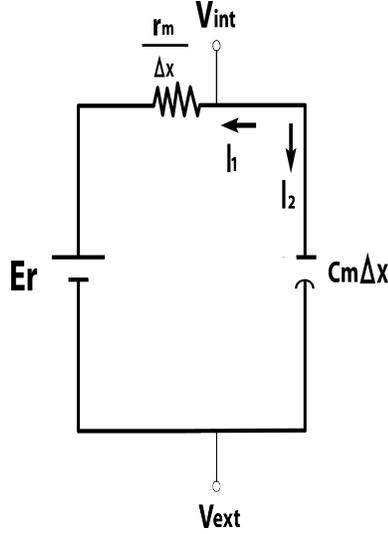


Figura 2.3: Modelo de membrana pasiva.

2.1.8. Ecuación de cable

En esta sección, se relacionan el modelo de membrana pasiva visto anteriormente con la teoría de cable. En este ámbito, la membrana se modela como un cable coaxial cilíndrico, como el de la Fig. 2.4. Esto se hace sustituyendo el valor de i_m de la Ec. (2.6) en la Ec. (2.11).

$$\frac{r_m}{r_{int}} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = V + r_m C_m \frac{\partial V}{\partial t}.$$

Definiendo la constante temporal y la constante espacial del axón: $\tau = r_m C_m$ y $\lambda^2 = \frac{r_m}{r_{int}}$, se reescribe la ecuación anterior como:

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - V - \tau \frac{\partial V}{\partial t} = 0, \quad (2.12)$$

conocida como la ecuación del cable.

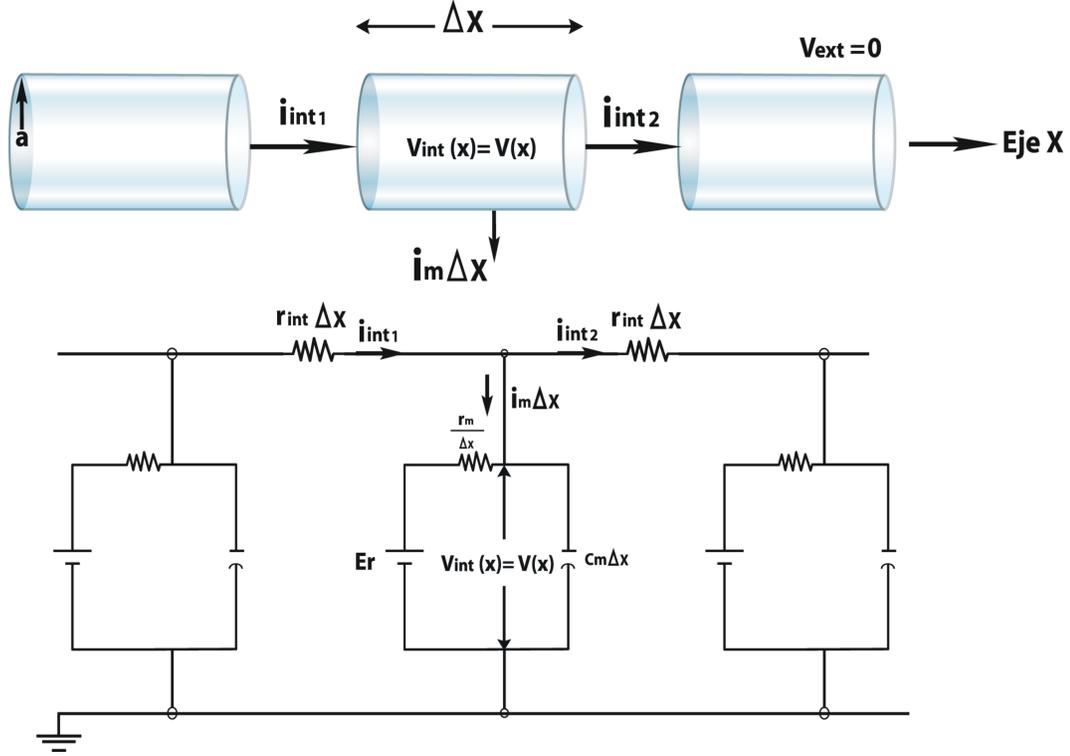


Figura 2.4: Modelo de un axón con elementos resistivos y capacitivos distribuidos. El axón es considerado como una cadena de módulos idénticos, etiquetados según su posición x a lo largo del axón. Cada uno de estos módulos tiene una longitud Δx , radio a y son considerados circuitos eléctricos, con un potencial de reposo E_r , una resistencia de membrana $r_m \Delta x$, la cual representa la permeabilidad pasiva de iones a través de la membrana del axón; un condensador $C_m \Delta x$ asociado; una resistencia del medio intracelular $r_{int} \Delta x$ y la resistencia del medio extracelular se considera cero por lo cual $V_e = 0$. La intensidad de corriente radial de la membrana $i_m \Delta x$, refleja el cambio neto de carga de todos los iones que salen de la membrana; las corrientes axiales i_{int1} e i_{int2} representan los iones fluyendo en el sentido positivo de x a través del medio intracelular; y $V(x) = V_{int}$ representa el potencial en el interior del axón y por lo tanto también la diferencia de potencial de la membrana.

2.2. Solución de la ecuación de cable para un cilindro de longitud finita

Partiendo de la Ec. (2.12) con las variables $X = \frac{x}{\lambda}$ y $T = \frac{t}{\tau}$, se puede reescribir la ecuación de cable:

$$\frac{\partial^2 V}{\partial X^2} = V + \frac{\partial V}{\partial T}. \quad (2.13)$$

Para el caso de un cilindro de longitud L se tiene que: $0 \leq X \leq L$. Además, si se supone que el cilindro está sellado por ambos extremos, las condiciones de frontera son:

$$\frac{\partial V}{\partial X} = 0 \text{ en } X = 0, \quad T > 0, \quad (2.14)$$

$$\frac{\partial V}{\partial X} = 0 \text{ en } X = L, \quad T > 0. \quad (2.15)$$

CAPÍTULO 2. MODELO BIOLÓGICO

2.2. SOLUCIÓN DE LA ECUACIÓN DE CABLE PARA UN CILINDRO DE LONGITUD FINITA

La condición inicial en $T = 0$ puede ser expresada como:

$$V(X, 0) = F(X) \quad 0 \leq X \leq L. \quad (2.16)$$

Resolviendo la Ec. (2.12) por el método de separación de variables, $V(x, t) = V(X)V(T)$, la solución para la parte espacial es de la forma:

$$V(X) = C_1 \cos(\alpha X) + C_2 \sen(\alpha X),$$

donde α es la constante de separación y C_1 y C_2 son constantes arbitrarias. La solución para la parte temporal es de la forma:

$$V(T) = C_3 e^{-(1+\alpha^2)T},$$

con C_3 otra constante arbitraria. La solución general vendrá expresada como:

$$V(X, T) = [C_1 \cos(\alpha X) + C_2 \sen(\alpha X)] e^{-(1+\alpha^2)T}. \quad (2.17)$$

Para aplicar las condiciones de frontera de las Ecs. (2.14) y (2.15), se deriva la solución encontrada para el voltaje respecto a X , esto es:

$$\frac{\partial V}{\partial X} = \alpha [C_2 \cos(\alpha X) - C_1 \sen(\alpha X)] e^{-(1+\alpha^2)T}. \quad (2.18)$$

Aplicando Ec. (2.14) se concluye que $C_2 = 0$ y aplicando Ec. (2.15) se llega a:

$$\left. \frac{\partial V}{\partial X} \right|_{X=L} = -\alpha C_1 \sen(\alpha L) e^{-(1+\alpha^2)T} = 0,$$

lo cual implica que:

$$\alpha_n = \frac{n\pi}{L}. \quad (2.19)$$

Como α puede tener n posibles valores es denotado por α_n , donde n es un entero positivo o cero, ya que usando enteros negativos, no habría eigenfunciones adicionales independientes. Para $n = 0$, $\alpha = 0$, se sigue que la parte temporal de la Ec. (2.17) se convierte en:

$$e^{-T} = e^{-\frac{t}{\tau_n}} = e^{-\frac{t}{\tau_0}}, \quad (2.20)$$

donde $\tau_0 = r_m C_m$, es decir, el estado base con $n = 0$ corresponde al de un circuito RC. Cuando n es cualquier entero positivo, el correspondiente α_n de la Ec. (2.19) implica que el exponente de la parte temporal de la solución adquiere el valor de:

$$-\left[1 + \left(\frac{n\pi}{L}\right)^2\right] \frac{t}{\tau_0} = -\frac{t}{\tau_n}, \quad (2.21)$$

de lo cual se desprende que:

$$\frac{\tau_0}{\tau_n} = 1 + \left[\frac{n\pi}{L}\right]^2. \quad (2.22)$$

Con lo que se puede reescribir el potencial:

$$V(X, T) = C_1 \cos(\alpha_n X) e^{-(1+\alpha_n^2)T},$$

donde C_1 es una constante arbitraria y cada solución corresponde a un valor particular de n . La ecuación de cable es lineal, entonces cualquier combinación lineal de soluciones también es solución. Es decir:

$$V(X, T) = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos\left(\frac{n\pi X}{L}\right) e^{-[1+(\frac{n\pi x}{L})^2]T}. \quad (2.23)$$

Imponiendo la condición (2.16), se llega a:

$$V(X, 0) = \sum_{n=0}^{\infty} B_n \cos\left(\frac{n\pi x}{L}\right),$$

cuyos coeficientes de Fourier (ver Ref. [33]) son:

$$B_0 = \frac{1}{L} \int_{X=0}^{X=L} F(X) dX,$$

$$B_n = \frac{2}{L} \int_{X=0}^{X=L} F(X) \cos\left(\frac{n\pi X}{L}\right) dX \quad n > 0.$$

Haciendo el cambio de variable $C_n = B_n \cos\left(\frac{n\pi X}{L}\right)$ y con ayuda de la Ec. (2.21), se llega a la solución de la ecuación de cable para el potencial de un cilindro de longitud finita L con ambos extremos sellados:

$$V(X, T) = \sum_{n=0}^{\infty} C_n e^{-\frac{t}{\tau_n}}. \quad (2.24)$$

2.3. Solución de la ecuación de cable para un cilindro de longitud finita acoplado al soma

En la Fig. 2.5 se muestra el modelo a resolver, en el cual, el punto $X = 0$ es elegido como el punto donde un segmento de membrana del soma es acoplado al origen del cilindro. El cilindro es considerado como un solo cilindro de longitud finita con una base sellada en $X = L$; también puede ser modelado como un cilindro equivalente que represente a uno o varios árboles dendríticos, los cuales tienen la misma longitud electrofónica.

La condición de frontera es más complicada. La corriente fluyendo fuera del segmento del soma puede ser expresada como:

$$I_s = \frac{V}{R_s} + C_s \frac{\partial V}{\partial t} = \frac{1}{R_s} (V + \tau \frac{\partial V}{\partial t}) = G_s (V + \frac{\partial V}{\partial T}),$$

donde $G_s = \frac{1}{R_s}$ representa la conductancia del soma y V es la diferencia de potencial en el mismo. La corriente dentro del cilindro en $X = 0$ puede ser expresada con ayuda de la Ec. (2.3) como:

$$I_c = -\frac{1}{r_{int}} \frac{\partial V}{\partial x} \Big|_{x=0} = -\frac{1}{\lambda r_{int}} \frac{\partial V}{\partial X} \Big|_{X=0}.$$

Si se aplica una corriente I_a a través de la membrana en el punto $X = 0$, de acuerdo con la ley de Kirchoff para corrientes se establece que:

$$I_a = I_s + I_c.$$

Colocando explícitamente los valores de I_s e I_c en la ecuación anterior, se puede encontrar la condición de frontera en el punto $X = 0$:

CAPÍTULO 2. MODELO BIOLÓGICO

2.3. SOLUCIÓN DE LA ECUACIÓN DE CABLE PARA UN CILINDRO DE LONGITUD FINITA ACOPLADO AL SOMA

$$\left. \frac{\partial V}{\partial X} \right|_{X=0} = \lambda r_{int} \left[-I_a + G_s \left(V + \frac{\partial V}{\partial T} \right) \right]. \quad (2.25)$$

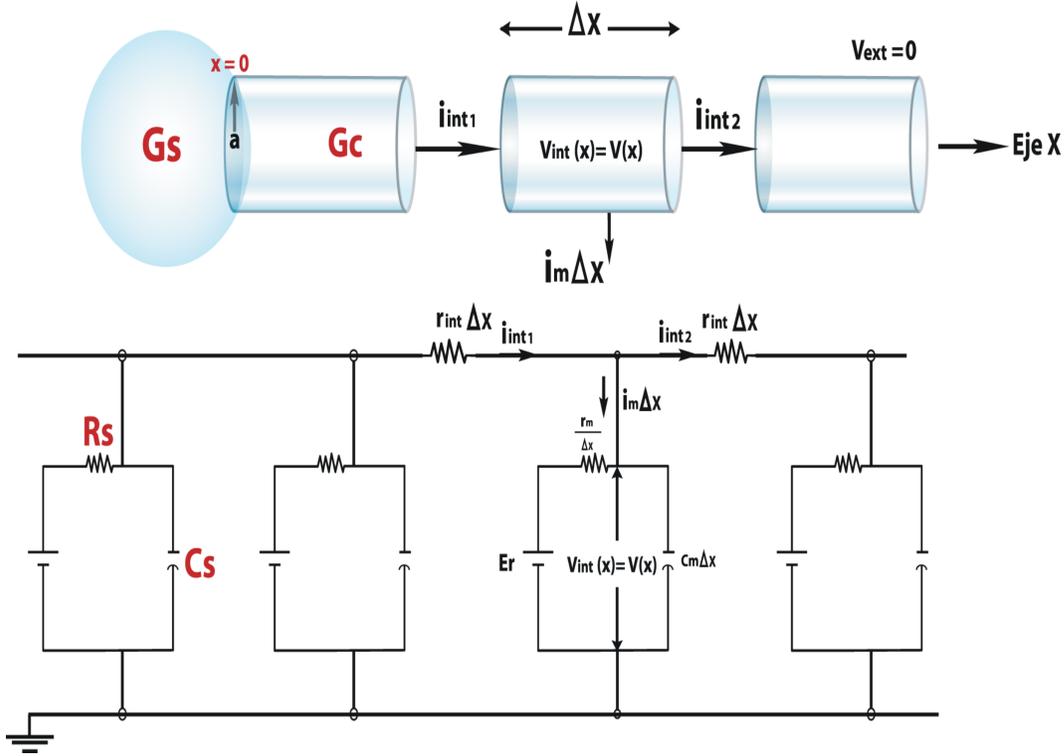


Figura 2.5: Modelo de un cilindro de longitud finita L y conductancia G_c acoplado a una esfera equipotencial que representa al soma con conductancia G_s . El cilindro tiene las mismas propiedades que el cilindro de la Fig. 2.4.

Conductancia del cilindro en el caso estacionario

Consideremos un cilindro de longitud finita L con un voltaje estacionario aplicado en el punto $X = 0$ como el que se muestra en la Fig. 2.6. El voltaje puede ser producido, por ejemplo, por una corriente aplicada. En el caso estacionario se cumple que $\frac{\partial V}{\partial T} = 0$, por lo cual la ecuación de cable adquiere la forma:

$$\frac{\partial^2 V}{\partial X^2} - V = 0,$$

cuya solución es:

$$V = b_1 \cosh(L - X) + b_2 \sinh(L - X). \quad (2.26)$$

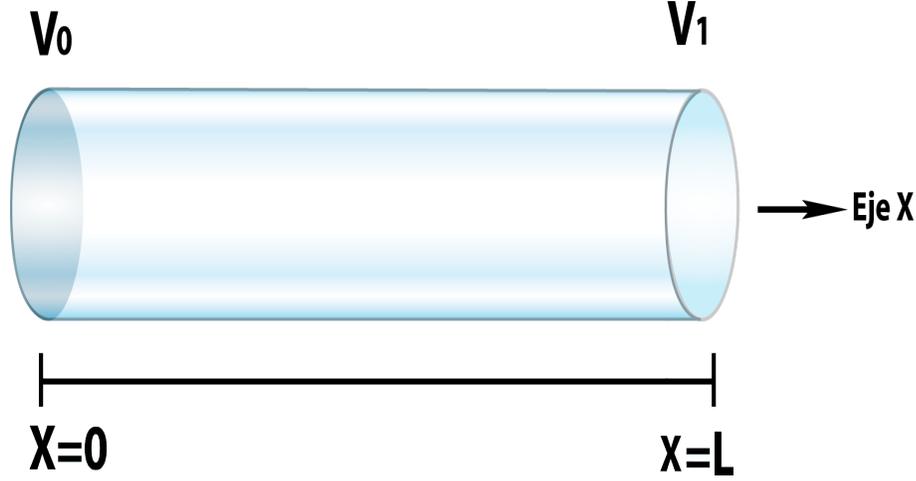


Figura 2.6: Modelo de un cilindro de longitud finita L y conductancia G_c al que se le aplica un voltaje estacionario en $X = 0$.

Considerando las condiciones de frontera en las cuales el voltaje en el punto $X = 0$ es V_0 y en el punto $X = L$ es V_1 . Sustituyendo la segunda condición de frontera en la Ec. (2.26) se obtiene $b_1 = V_1$ y debido a que b_2 es una constante arbitraria se puede escribir en términos de V_1 como $b_2 = V_1 c$ donde c es una constante. De esta manera la Ec. (2.26) adquiere la forma:

$$\frac{V}{V_1} = \cosh(L - X) + c \sinh(L - X). \quad (2.27)$$

Sin embargo los valores de V_1 y de c aún tienen que ser determinados. Utilizando la condición de frontera para el voltaje en el punto $X = 0$:

$$\frac{V_0}{V_1} = \cosh(L) + c \sinh(L).$$

La ecuación anterior define el factor de atenuación del voltaje en el estado estacionario. Eliminando V_1 de la Ec. (2.27):

$$V = V_0 \frac{\cosh(L - X) + c \sinh(L - X)}{\cosh(L) + c \sinh(L)}. \quad (2.28)$$

Considerando que el final del cilindro se encuentra sellado, se cumple que $\frac{\partial V}{\partial X} = 0$ en $X = L$. Esta condición implica que $c = 0$, por lo que el voltaje estacionario en el cilindro es de la forma:

$$V = V_c = V_0 \frac{\cosh(L - X)}{\cosh(L)}. \quad (2.29)$$

La conductancia del cilindro se puede escribir como:

$$G_c = \frac{1}{R_c} = \frac{I_c}{V_c} = -\frac{1}{\lambda r_{int}} \frac{\partial V_c}{\partial X} = \frac{\tanh(L - X)}{\lambda r_{int}}.$$

De esta manera, se define ρ como la razón entre la conductancia del soma (G_s) y la conductancia del cilindro (G_c):

CAPÍTULO 2. MODELO BIOLÓGICO

2.3. SOLUCIÓN DE LA ECUACIÓN DE CABLE PARA UN CILINDRO DE LONGITUD FINITA ACOPLADO AL SOMA

$$\rho = \frac{G_c}{G_s} = \frac{\frac{1}{\lambda r_{int}} \tanh L}{G_s} = \frac{\tanh L}{\lambda r_{int} G_s}. \quad (2.30)$$

Constantes de tiempo para el caso del cilindro acoplado al soma

Empleando la Ec. (2.30) para ρ y haciendo $I_a = 0$ en la Ec. (2.25) se obtiene:

$$\rho \frac{\partial V}{\partial X} = (V + \frac{\partial V}{\partial T}) \tanh L, \text{ en } X = 0, \quad (2.31)$$

como la condición de frontera que expresa el acoplamiento entre el cilindro y el soma. Además es válida la condición de frontera la Ec. (2.15) ($\frac{\partial V}{\partial X} = 0$ en $X = L$, $T > 0$).

Con estos datos se puede resolver la ecuación de cable (2.13) empleando el método de separación de variables de la sección anterior. En el problema del cilindro acoplado al soma, emplearemos el argumento $\alpha(L - X)$ en lugar de αX para tomar ventaja de que la condición de frontera es más simple en $X = L$. La solución tiene la forma:

$$V(X, T) = [C_1 \text{sen} \alpha(L - X) + C_2 \text{cos} \alpha(L - X)] e^{-(1+\alpha^2)T}. \quad (2.32)$$

La condición (2.15) en $X = L$ implica que $C_1 = 0$, por lo que el potencial adquiere la forma:

$$V(X, T) = [C_2 \text{cos} \alpha(L - X)] e^{-(1+\alpha^2)T}.$$

Utilizando la condición (2.31) para $X = 0$, en la ecuación anterior:

$$\rho \alpha C_2 \text{sen}(\alpha L) = -\alpha^2 C_2 \text{cos}(\alpha L) \tanh L,$$

esta condición se satisface para $\alpha = 0$ y para los valores de α que sean raíces de la ecuación trascendental:

$$\alpha L \text{Cot}(\alpha L) = -\frac{\rho L}{\tanh L} = -C, \quad (2.33)$$

donde C es una constante positiva a determinar. Las constantes de tiempo se calculan de la parte temporal de la solución y llevando a cabo el mismo análisis que en la Ec. (2.20), con lo cual se llega a:

$$\frac{\tau_0}{\tau_n} = 1 + \alpha_n^2, \quad (2.34)$$

α_n corresponde a cada una de las raíces de la Ec. (2.33). Dicha ecuación no tiene solución analítica, sólo se han analizado los casos límite: cuando ρ tiende al infinito y cuando ρ tiende a cero. Sin embargo, para el caso en ρ adquiere un valor finito se propone que L esté pesado por la función $\frac{\rho+1}{\rho}$, con base en dos razones: (1) Para que exista cierta concordancia con el experimento y (2) para que en el caso límite en que ρ sea muy grande, es decir, que la conductancia del cilindro (G_c) sea muy grande, se recupere el valor de la longitud electrotónica conocida para el caso resuelto analíticamente del cilindro solo. Lo cual implica que:

$$\frac{\tau_0}{\tau_1} = 1 + \left[\frac{\pi}{\frac{L(\rho+1)}{\rho}} \right].$$

En términos de ρ y las constantes de tiempo de la solución de la ecuación de cable se puede escribir la longitud electrotónica como:

$$L = \pi \left[\frac{\frac{\rho}{\rho+1}}{\frac{\tau_0}{\tau_1} - 1} \right]^{\frac{1}{2}}. \quad (2.35)$$

2.4. Conclusiones del capítulo

Este capítulo introdujo el modelo de Rall a través de la teoría de cable. En este modelo se realizan algunas suposiciones: unidimensionalidad del sistema, la existencia de una resistencia que caracteriza las propiedades del medio intracelular que además obedece a la ley de Ohm, conservación de la corriente, una relación entre la corriente de la membrana y el voltaje interno, se supone el voltaje extracelular equipotencial y se propone el modelo de una membrana pasiva como un circuito resistivo capacitivo. Con estas consideraciones se dedujo la ecuación de cable (Ec. 2.13) en términos de las variables $X = \frac{x}{\lambda}$ y $T = \frac{t}{\tau}$ que representan la longitud electrotónica y el tiempo electrotónico respectivamente.

La longitud electrotónica representa fisiológicamente la distancia en términos eléctricos a la cual se encuentra una entrada sináptica, está dada en términos de la constante espacial $\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_{int}}}$ que indica la caída de potencial a lo largo de las dendritas o de los axones. Es decir que la longitud física está escalada por la constante espacial, de tal manera que puede sufrir una contracción o dilatación dependiendo del valor de la resistencia interna (r_{int}). Se realiza el análogo en la parte temporal, lo cual se conoce como tiempo electrotónico, que se refiere al tiempo que tarda un ion en moverse de un lado a otro a través de un alambre de longitud electrotónica X .

Con estas bases se resuelve la Ec. (2.13) para un cilindro de longitud finita L , con los extremos sellados y que representa un árbol dendrítico. También se resuelve dicha ecuación para un cilindro de longitud finita L que se encuentra acoplado a una esfera equipotencial. Este último sistema representa las propiedades eléctricas pasivas de la neurona. Con ello encontramos la Ec. (2.35) con la que puede ser caracterizada la longitud electrotónica en términos de las constantes del tiempo del capacitor en el circuito de membrana pasiva propuesto en la teoría de Rall.

Capítulo 3

Consideraciones experimentales

En el capítulo uno se ha sentado claramente que las células nerviosas pueden ser estudiadas (debido a sus propiedades eléctricas) mediante modelos eléctricos. De estos modelos, se selecciona en particular el modelo de Rall (descrito en el capítulo dos) debido a las características morfológicas y eléctricas que presentan las neuronas de *Helix aspersa*. En la sección 2.3 se encontró la solución a la ecuación de cable propuesta en el modelo de Rall para el sistema constituido por una esfera equipotencial unida al extremo de un cilindro de longitud L que representa a una neurona, con esto, se llega a la Ec. (2.35), con la cual se caracteriza la longitud electrotónica de una neurona. En este capítulo se exponen los fundamentos de técnicas electrofisiológicas de investigación así como su uso para obtener la función de carga que será analizada con dicha ecuación. De esta forma se abordan los métodos utilizados para registrar las señales eléctricas a través de la membrana plasmática mediante el uso de microelectrodos y la técnica de fijación de voltaje en la modalidad de célula completa.

3.1. Material

A continuación se presenta el material empleado para aplicar la técnica de fijación de voltaje en neuronas de *Helix aspersa* y se da una breve descripción del mismo.

- Caracoles *Helix aspersa* de aproximadamente 6 cm de longitud.
- Sistema de fijación de voltaje: Aparato electrónico que permite tener control sobre parámetros como la corriente de fuga, la corriente capacitiva, el voltaje de fijación a partir del cual se estimula a la célula, entre otros.
- Tarjeta de conversión digital *National Instruments PCI – MIO – 16E – 1* con un cable conector *SH6850*.
- Micromanipulador: Instrumento que permite movimientos del orden de micrómetros en los ejes x , y y z .
- Micropipeta: Es realizada con un tubo capilar de borosilicato, producto de WPI (World Precision Instruments) cuyo diámetro externo es de 1.5 mm y diámetro interno es de 0.84 mm. Este tubo se calienta y estira de tal manera que la punta del tubo adquiere un diámetro de aproximadamente una micra.
- Solución intracelular: Solución salina que simula el medio intracelular en el que se encuentran de manera natural las neuronas de *Helix aspersa*.
- Solución extracelular: Solución salina que simula el medio extracelular en el que se encuentran de manera natural las neuronas de *Helix aspersa*.

CAPÍTULO 3. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

3.1. MATERIAL

- Holder: Sirve para sostener la micropipeta, se encuentra unido a una pastilla de AgCl que mejora la conexión eléctrica entre la solución intracelular y el holder.
- Cámara de registro: Molde plástico con tres cavidades circulares. La cavidad situada en el medio es donde se coloca el tejido y las otras dos cavidades sirven para realizar las conexiones eléctricas.
- Microscopio de disección: Microscopio que se utiliza con un aumento de 20× para llevar a cabo la disección.
- Microscopio óptico: Microscopio que se utiliza con un aumento de 100× para llevar a cabo la inserción de la micropipeta en el soma de la neurona.
- Osciloscopio: Aparato que sirve para monitorizar el potencial de membrana.
- Mesa óptica: Hecha de una placa de acero colocada sobre hule espuma, sirve para disminuir el movimiento mientras se realiza el experimento.
- Sonda: permite una conexión eléctrica entre el holder y un amplificador de corriente, puede enviar y recibir información.
- Tijeras de disección: Tijeras con puntas finas. Sirven para realizar cortes al tejido sin dañarlo.
- Pinzas de disección: Son pinzas con la parte media más ancha y paralela; extremo bruscamente estrechado. Punta muy fina, muy ligeras y de gran precisión.
- Minucia de acero también llamado *pin*: Alfileres entomológicos, delgados y con la punta muy fina que sirven para sujetar el tejido mientras se realiza la disección.
- Cámara de disección: Cámara de Petri con un polímero (Sylgard) de WPI en su base, el cual sirve para poder insertar las minucias de acero.
- Potenciómetro: Sirve para medir el pH de diferentes soluciones.
- Balanza de precisión: Sirve para medir la cantidad en gramos de una determinada substancia.
- Computadora.
- Jeringa de 30 ml.
- Manguera de 50 cm de longitud y 1 cm de diámetro.
- Alambre magneto calibre 18 para realizar conexiones.
- Tijeras de acero.

3.2. Métodos

Una vez descritos los materiales, se dan a conocer algunos aspectos relevantes de los procesos realizados previos al ensamble del equipo, como lo son: la elaboración de soluciones, pipetas, instalación de software, disección, entre otros.

3.2.1. Solución extracelular

En esta sección se presenta la manera de elaborar 500 ml de solución extracelular, que es la solución de sales que simula el medio extracelular en el que las células nerviosas de caracol se encuentran de manera natural.

La cantidad de gramos de soluto que son requeridos para que la solución adquiera la concentración elegida, está dada por:

$$X_{gr} = \frac{\text{Moles de soluto}}{1 \text{ Mol}} \text{Peso molecular del soluto}, \quad (3.1)$$

donde X_{gr} representa la cantidad de soluto en gramos necesarios para elaborar la solución. Los moles de soluto se calculan de:

$$\text{Moles de soluto} = (\text{Molaridad})(\text{Litros de solvente}),$$

la molaridad representa la concentración de soluto que se necesita en la solución y el solvente es agua desionizada.

En la tabla 3.1, la primera columna es el soluto ocupado, la segunda columna la molaridad del soluto, la tercera columna los moles de soluto en 500 ml de solución dada la molaridad de la columna anterior y finalmente la última columna muestra la cantidad de soluto en gramos a utilizar.

Soluto	Molaridad del soluto (mM)	Moles de soluto	Cantidad de soluto (g)
<i>NaCl</i>	80	4×10^{-2}	2.3376
<i>KCl</i>	4	2×10^{-3}	0.1491
<i>CaCl₂</i>	7	3.5×10^{-3}	0.3884
<i>MgCl₂</i>	5	2.5×10^{-3}	0.5082
<i>Hepes</i>	20	1×10^{-2}	2.3831

Tabla 3.1: Molaridad, moles y gramos de diferentes solutos empleados para elaborar la solución extracelular.

En poco menos de 500 ml de agua desionizada, se vierte la cantidad indicada en la tabla 3.1 de cada uno de los solutos y se agita la solución hasta que se disuelvan todas las sales. Se ajusta el valor del pH de la solución hasta 7.4, agregando gotas de hidróxido de sodio mientras se agita (el pH se verifica con un potenciómetro). Finalmente, se afora la solución hasta 500 ml con agua desionizada.

3.2.2. Solución intracelular

Para elaborar 100 ml de solución intracelular, que es la solución de sales que simula el medio intracelular en el que las células nerviosas de caracol se encuentran de manera natural, se recurre a la tabla 3.2 la cual muestra en la primera columna el soluto empleado, en la segunda columna la molaridad del soluto, en la tercera columna se muestran los moles de soluto en 100 ml de solución dada la molaridad de la columna anterior y finalmente la última columna muestra la cantidad de soluto en gramos empleado.

Soluto	Molaridad del soluto (mM)	Moles de soluto	Cantidad de soluto (g)
<i>KCl</i>	80	8×10^{-3}	0.5964
<i>MgCl₂</i>	1	1×10^{-4}	0.0203
<i>Tris</i>	5	5×10^{-4}	0.0605
<i>CaCl₂</i>	1	1×10^{-4}	0.0110
<i>EGTA</i>	2	2×10^{-4}	0.0760
<i>KOH</i>	1	4×10^{-2}	2.2444
<i>NaOH</i>	1	4×10^{-2}	1.6000

Tabla 3.2: Molaridad, moles y gramos de diferentes solutos empleados para preparar la solución intracelular.

En poco menos de 100 ml de agua desionizada, se vierte la cantidad indicada en la tabla 3.2 de cada uno de los solutos y se agita la solución hasta que se disuelvan todas las sales. Se ajusta el valor del pH de la solución hasta 7.2, agregando gotas de hidróxido de potasio mientras se agita. Finalmente, se afora la solución hasta 100 ml con agua desionizada.

3.2.3. Disección de neuronas de caracol

El cerebro de un caracol consiste primordialmente de varios ganglios. Cada ganglio contiene un número relativamente pequeño de neuronas, las cuales son muy grandes en comparación con las neuronas de vertebrados ya que llegan a tener diámetros de hasta 250 micras, además su identificación individual es relativamente sencilla y su mantenimiento con soluciones salinas es relativamente sencillo. Por estas razones las neuronas de caracol son utilizadas para el estudio de modelos celulares básicos. En particular se efectúa disección de *Helix aspersa* (Müller, 1774) de la familia Helicidae. La disección consiste en seis partes principales [34]:

- a) Se corta el exoesqueleto del caracol aproximadamente 2 cm con las tijeras de acero por la parte superior, después se coloca al caracol sobre una pieza de hule espuma (para que quede pegado en éste). Cuando se estire se coloca un alfiler a través de la masa visceral (donde se encontraba la coraza) y otro alfiler entre los cuatro tentáculos de la cabeza del caracol. Usando tijeras medias de disección, se realiza un corte desde la parte posterior (coraza) a la parte anterior (cabeza) a lo largo de la línea blanca que se encuentra en la parte central de la superficie dorsal del caracol, manteniendo la punta de las tijeras a poca profundidad para no dañar los tejidos internos del caracol. Se colocan alfileres de tal manera que se asome la parte interna del caracol, como se muestra en la Fig. 3.1. Se sujeta el manto del lado más cercano a la coraza y se levanta para poder cortar por debajo del tejido lo más cercano posible a la base del caracol hasta la parte anterior y poder liberar el ganglio cerebral.

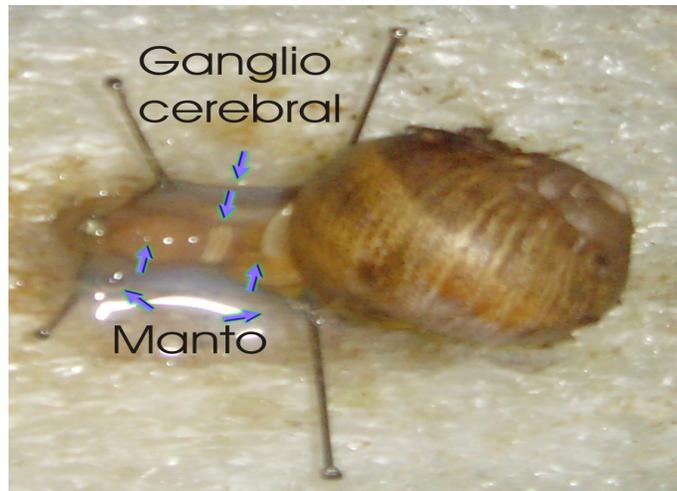


Figura 3.1: Disección de caracol. La parte entre flechas es el tejido aislado para realizar la disección del ganglio. El ganglio cerebral tiene forma de anillo y rodea al manto.

- b) Se coloca el tejido en una cámara de disección, la cual se llena previamente con solución extracelular que sirve para mantener el tejido con vida por un periodo más largo. Este tejido mide aproximadamente 0.5 cm. A partir de este punto se utiliza el microscopio de disección con aumento de 20×. El tejido es sujetado con tres minucias de acero; una en el manto y dos en las anténulas. Se procede a cortar el manto que atraviesa el anillo del ganglio cerebral como se muestra en la Fig. 3.2.

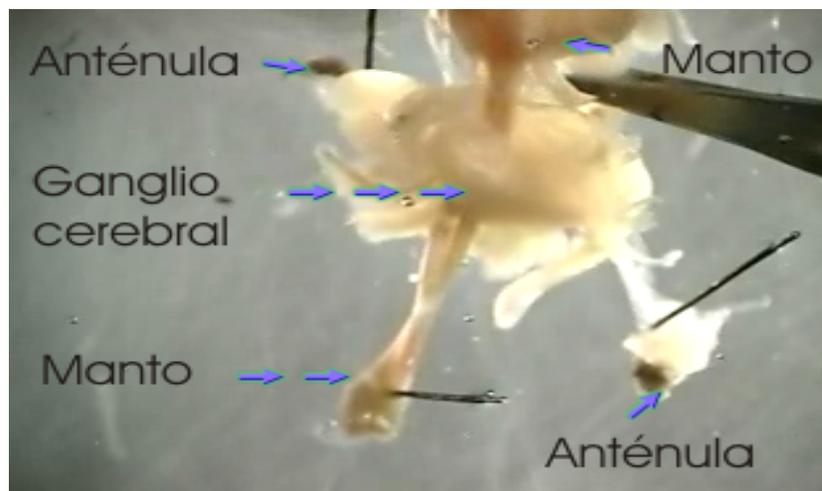


Figura 3.2: Corte de un pedazo de manto que pasa a través del anillo formado por el ganglio cerebral y el ganglio subesofágico. Imagen obtenida de la Ref. [34].

CAPÍTULO 3. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES
3.2. MÉTODOS

- c) El manto es retirado y se fija el tejido con algunas minucias de manera que el lado ventral quede hacia arriba. El lado ventral es sencillo de reconocer ya que tiene una textura rugosa en comparación del resto del tejido, como se muestra en la Fig. 3.3.

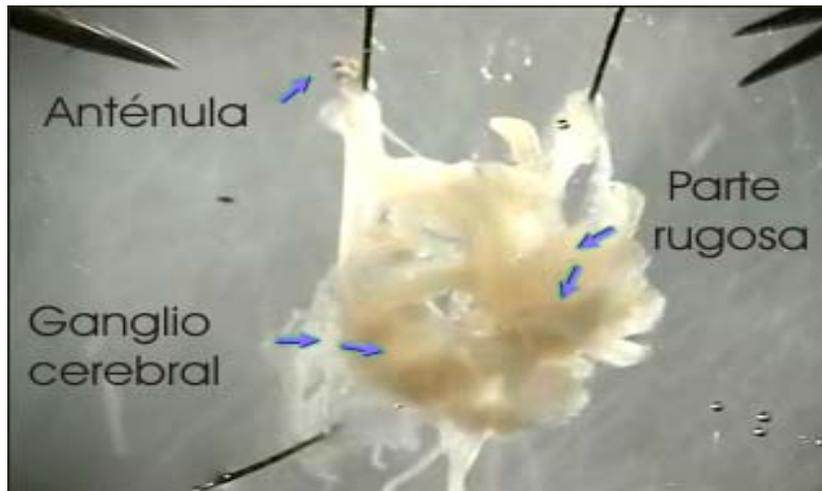


Figura 3.3: Tejido colocado en una cámara de disección con el lado ventral hacia arriba. Imagen obtenida de la Ref. [34].

- d) Se retira el exceso de músculo y tejido conectivo. El tejido es estirado usando entre seis y ocho minucias, posteriormente se fija de manera que el ganglio cerebral, el ganglio subesofágico y la aorta se aprecien, como se muestra en la Fig. 3.4.

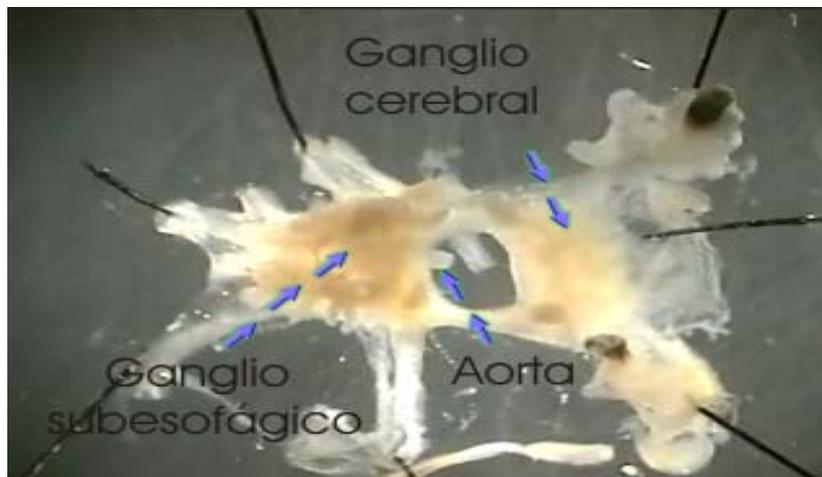


Figura 3.4: Tejido perteneciente al ganglio cerebral y ganglio subesofágico de un caracol que se encuentra con el lado ventral hacia arriba. Imagen obtenida de la Ref. [34].

- e) Se realiza un corte a través de la aorta (sin despedazar el tejido del ganglio subesofágico) y de esta manera es más simple retirar el exceso de tejido y nervios, como se muestra en la Fig. 3.5.



Figura 3.5: Corte a través de la aorta. (a) Se muestra el corte realizado a través de la aorta con el afán de retirar la mayor cantidad de tejido y nervios motores. (b) Se muestra el mismo tejido tras haber realizado el corte y retirar el exceso de tejido conectivo. Imagen obtenida de la Ref. [34].

- f) Finalmente se coloca el tejido con el lado dorsal hacia arriba y se retira la mayor cantidad de tejido conectivo. Así, al final se obtiene la fijación del tejido a estudiar, como se muestra en la Fig. 3.6

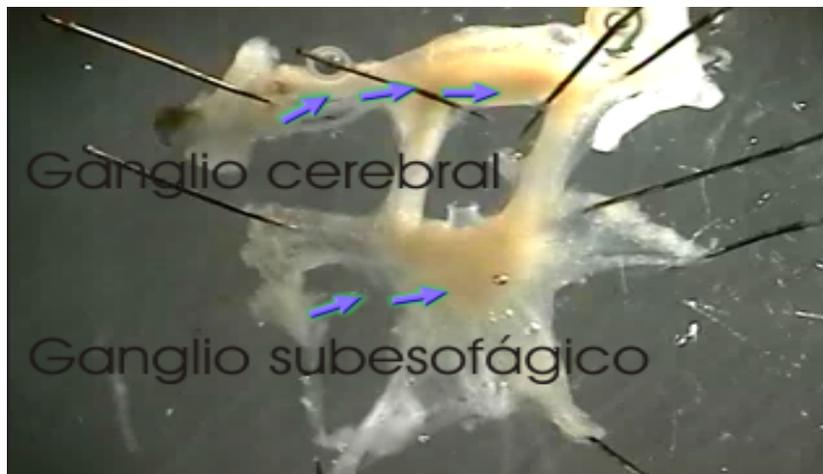


Figura 3.6: Tejido perteneciente al ganglio cerebral y al ganglio subesofágico de un caracol que se encuentra con el lado dorsal hacia arriba. Imagen obtenida de la Ref. [34].

Al finalizar la disección se coloca el tejido con el lado dorsal hacia arriba en una cámara de registro llena con solución extracelular y se trabaja bajo el microscopio óptico con aumento de 100×. El tejido, bajo el microscopio se observa como el de la Fig. 3.7, donde se aprecia el ganglio que contiene alrededor de 50 neuronas.

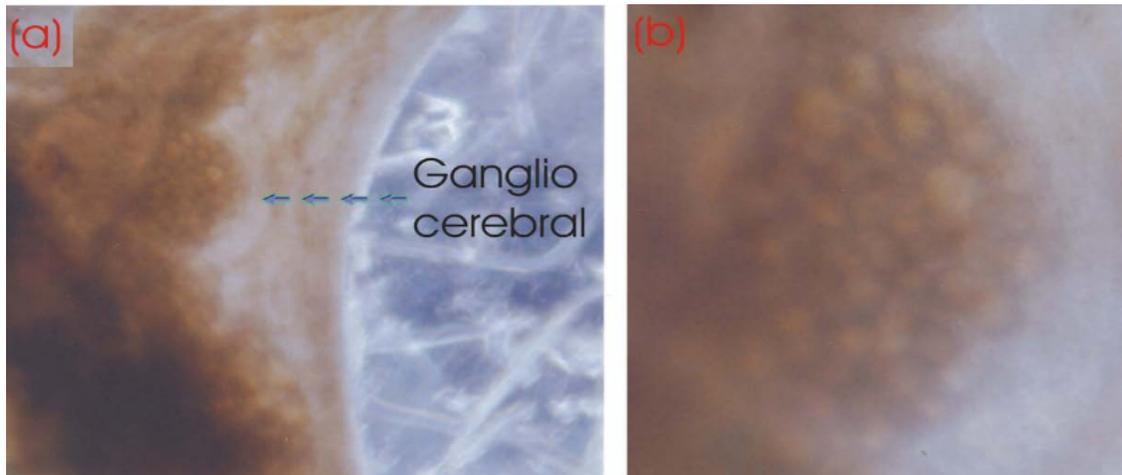


Figura 3.7: Ganglio subesofágico de un caracol visto bajo un microscopio óptico. (a) Ganglio colocado con el lado dorsal hacia arriba en una cámara de registro visto con un aumento de 100×. (b) Acercamiento al ganglio mostrado en la figura (a), se aprecia que el ganglio posee alrededor de 50 neuronas.

3.2.4. Instalación del Software de Estimulación y Adquisición de Señales Eléctricas Celulares (SEASEC)

Mediante el empleo de una computadora de escritorio con procesador Pentium III, sistema operativo Windows 98 y una tarjeta de conversión digital *National Instruments PCI – MIO – 16E – 1* con un cable conector *SH6850* se llevaron a cabo los estudios. Para el correcto funcionamiento del SEASEC se empleó el software *Labwindows / CVI* versión 5.08 y el software de adquisición de datos *NIDAQ* versión 6.1. Para la adquisición de datos se empleó un buffer sencillo para una frecuencia de muestreo de hasta 512,000 *muestras/seg*. Se programaron los convertidores de la tarjeta National de la siguiente manera: el convertidor D/A en modo bipolar y rango ± 10 V y el convertidor A/D en modo bipolar con rango definido por el usuario de ± 5 V o ± 10 V. Luego se carga el programa denominado *estimulador* proporcionado por la UAM-I¹.

El paquete (ver Fig. 3.8) permite controlar parámetros que dependen de los protocolos de estimulación y adquisición diseñados por el usuario. Primero se selecciona el tipo de señal (Pulso(s), Fig. 3.8) que puede ser de tipo rectangular o rampa. Posteriormente, se selecciona el número de muestras (Muestras, Fig. 3.8) cuyo valor puede ser de 512, 1,024, 2,048 ó 4,096; estos valores cubren con amplitud los utilizados normalmente. Es frecuente el empleo de más de un trazo de estimulación y adquisición de la señal, por lo cual el usuario cuenta con la opción de seleccionar el número de pulsos (Iteraciones, Fig. 3.8). El tiempo entre cada pulso de estimulación o iteración puede afectar las propiedades eléctricas que se pretenden estudiar, por lo cual, el usuario puede introducir el valor del intervalo de tiempo entre ellos (Espacio entre registros, Fig. 3.8) de acuerdo a sus condiciones experimentales. Una vez que concluye la aplicación del protocolo de pulsos, todos los trazos de estimulación se despliegan en la ventana (Pulsos) de estimulación y las respuestas

¹Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa

CAPÍTULO 3. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

3.2. MÉTODOS

eléctricas de cada uno de los trazos de estimulación se despliegan en la ventana (Adquisición). A los trazos de estimulación y de respuesta eléctrica celular se les asignaron colores con el fin de identificar rápidamente la respuesta eléctrica evocada por un estímulo determinado. Al final de la aplicación del protocolo de pulsos, el usuario cuenta con la opción de almacenar el conjunto de respuestas eléctricas adquiridas. El archivo de datos se almacena en código binario y en un formato compatible con el software que se empleará en el análisis de los datos obtenidos (Clampfit de Axon Instruments) y que se encuentra libre en la red. Además, este sistema cuenta con la opción de almacenar los datos en código ASCII para el empleo de software de análisis de propósitos generales.

El software puede funcionar en modo Normal o Continuo (Fig. 3.8). En modo Normal se generan los protocolos de estimulación y adquisición ya descritos. En el modo Continuo se estimula-adquiere de manera continua hasta que el usuario detenga con un botón el proceso. En este modo, se refrescan las gráficas en cada iteración y no se guardan las adquisiciones. El modo Continuo es imprescindible para el usuario y consiste en la aplicación de un pulso de estimulación breve y de magnitud pequeña. Cuando se emplea la técnica de fijación de corriente sirve para medir la resistencia del microelectrodo, compensar las capacitancias parásitas, balancear las características eléctricas del circuito y observar el cambio en el voltaje de salida por cambio en la resistencia de la pipeta cuando se ubica sobre la superficie de la membrana celular. En el caso de la técnica de fijación de voltaje, el modo continuo permite medir la resistencia del microelectrodo, observar los cambios en la magnitud de corriente cuando se entra en contacto con el medio intracelular de la neurona, observar los transitorios capacitivos (función de carga). Para más información acerca del funcionamiento del SEASEC se recomienda revisar la Ref. [35].

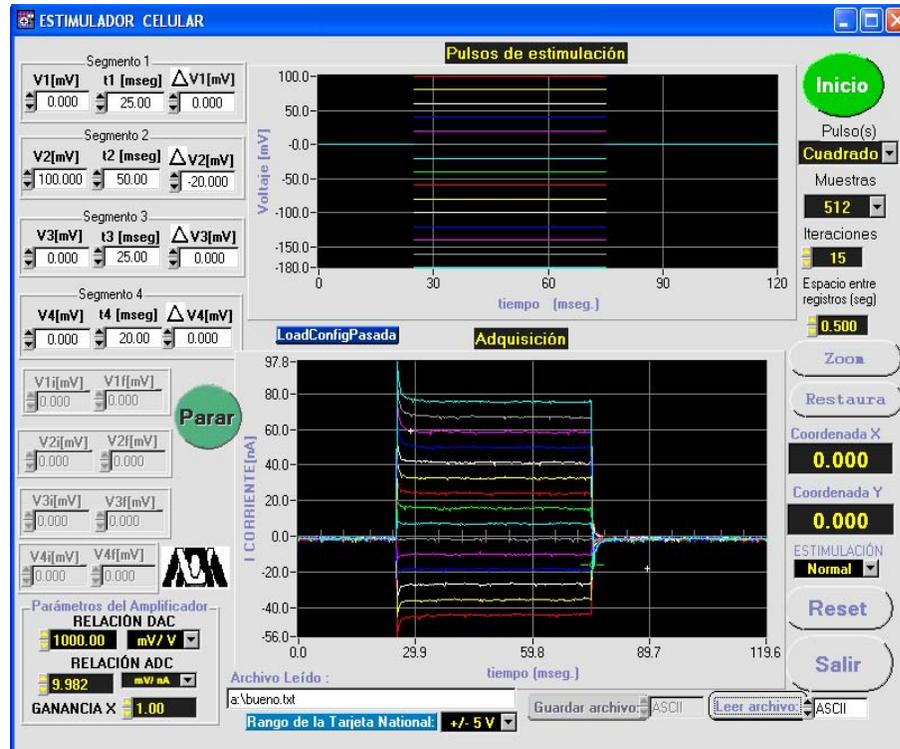


Figura 3.8: Gráficas mostradas a través de la interfase gráfica del software tras aplicar pulsos cuadrados de voltaje de diferentes magnitudes pero de la misma duración (50 ms).

3.2.5. Micropipeta

La micropipeta se construye con un estirador vertical (ver Fig. 3.9). Este instrumento hace incidir una gran cantidad de corriente (hasta 30 A) sobre un alambre redondo hecho con platino, para adquirir temperaturas muy elevadas. Previamente es colocado un tubo capilar (pipeta) justo en el centro del aro de platino. El tubo se sujeta de la parte superior a una prensa fija y de la parte inferior a una prensa que tiene libertad de movimiento sobre el eje vertical. Cuando el aro se calienta transmite este calor (casi uniforme) a la pipeta, haciendo que ésta se estire debido a la fuerza de gravedad.

El diámetro de la punta de la pipeta es asociado a la resistencia de la misma. Utilizando el estirador vertical se desarrolló un procedimiento para elaborar pipetas con resistencias entre $1 M\Omega$ y $2 M\Omega$ que tienen la función de un microelectrodo al realizar experimentos con la técnica de fijación de voltaje.



Figura 3.9: Elaboración de una micropipeta utilizando un estirador vertical.

3.2.6. Cloruración

Este proceso sirve para disminuir el potencial de unión que se genera al conectar dos materiales diferentes (en el experimento serán el filamento del holder en contacto con la solución intracelular y el cable calibre 18 en contacto con la solución extracelular).

Primero se suelda un trozo de plata al alambre calibre 18, esto para mejorar la conexión eléctrica que habrá entre la punta del alambre y la solución extracelular. Después se sumerge en una solución de hipoclorito de sodio, el filamento de plata del holder y el lado con plata del alambre recién soldado. Por último se conecta la parte de los alambres que no se encuentran sumergidos en cloro a un punto en común a tierra y se dejan reposar entre 20 y 60 minutos (para homogeneizar el material), como se muestra en la Fig. 3.10

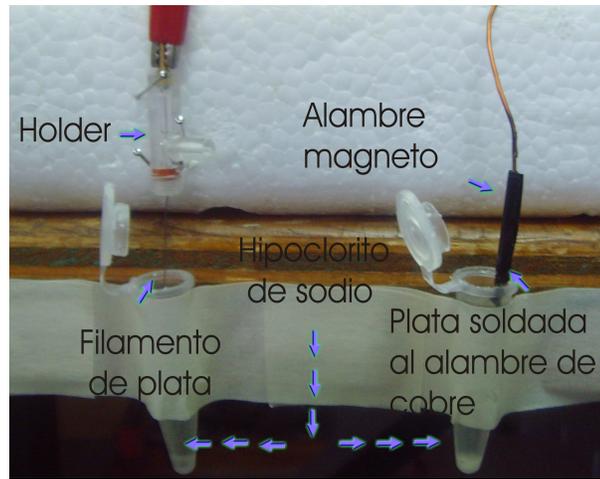


Figura 3.10: Esquema del proceso de cloruración.

3.3. Ensamble del equipo

En la Fig. 3.11 se muestra el esquema general de la relación que guardan los diferentes elementos empleados en las técnicas de registro electrofisiológico a nivel celular. A través de un microelectrodo (ME) se tiene acceso eléctrico al interior celular y con un amplificador de fijación de voltaje (FV) o de fijación de corriente (FI) se aplican pulsos de estimulación. Las respuestas eléctricas de las células se obtienen como señales de voltaje. Las señales de estimulación como de respuesta celular son desplegadas en un monitor de una computadora. El software de control de la tarjeta de conversión es crítico para la generación de las señales de estimulación y la obtención de las respuestas eléctricas de las células. Para más información acerca del ensamble se recomienda revisar la Ref. [35].

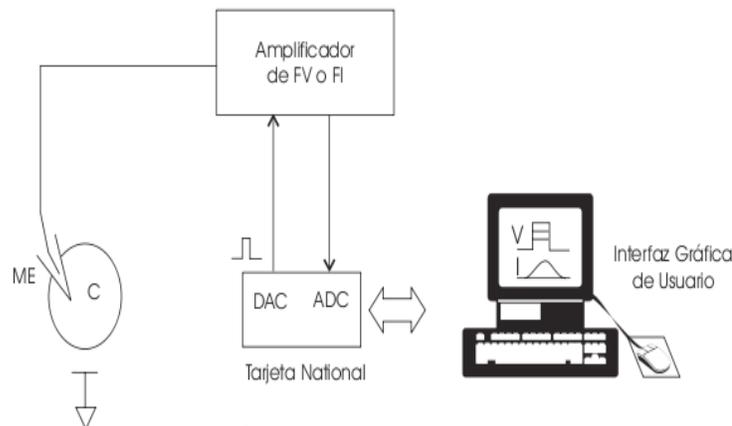


Figura 3.11: Esquema de relación entre los elementos empleados en las técnicas de registro electrofisiológico a nivel celular. Imagen obtenida de la Ref. [35].

CAPÍTULO 3. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

3.3. ENSAMBLE DEL EQUIPO

A continuación se describe el procedimiento detallado de las conexiones realizadas para registrar la corriente iónica que atraviesa la membrana celular. Se utiliza una micropipeta cuya diámetro (en la punta) es de aproximadamente una micra. la micropipeta se emplea como un microelectrodo en el experimento. Se llena con solución intracelular y se conecta al holder que se encuentra unido a una pastilla de AgCl (cloruro de plata) que mejora la conexión eléctrica entre la solución intracelular y éste. De este último sale una manguera conectada a una jeringa de 30 ml con la que se realiza succión para romper la membrana celular. A su vez, el holder está conectado a una sonda que está montada sobre el micromanipulador. La sonda permite una conexión eléctrica entre el holder y un amplificador de señales eléctricas. El circuito se completa conectando un alambre magneto calibre 18 de la tierra del amplificador, a la solución extracelular, la cual perfunde el tejido que contiene las células nerviosas del caracol. El tejido se coloca previamente en una cámara de registro debajo de un microscopio óptico. Todo el equipo se encuentra sobre una mesa amortiguadora como muestra en la Fig. 3.12.

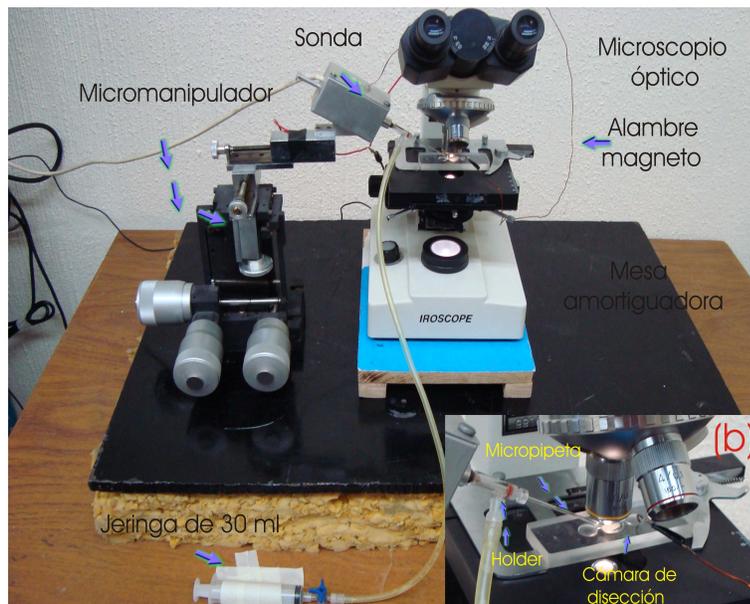


Figura 3.12: Ensamblado del equipo (parte uno). (a) Se muestran parte de los componentes necesarios para llevar a cabo la técnica de fijación de voltaje, como lo son: el micromanipulador, un microscopio óptico, jeringa etc. (b) Acercamiento a la sonda que está sujeta al holder y la pipeta. También se muestra la cámara de registro en la que se encuentra el tejido y el alambre magneto en contacto con la solución extracelular.

En la Fig. 3.13 se aprecia que la sonda está conectada al sistema de fijación de voltaje, el cual permite tener control sobre parámetros como la corriente de fuga, la corriente capacitiva, el voltaje de fijación a partir del cual se estimula a la célula. El sistema de fijación de voltaje está conectado a un osciloscopio que permite monitorizar el potencial de membrana. La frecuencia de muestreo de la tarjeta y del osciloscopio no es la misma y puede usarse otra resolución temporal para la corriente capacitiva. Finalmente, el sistema de fijación de voltaje se encuentra conectado a la tarjeta de conversión digital National Instruments *PCI – MIO – 16E – 1* que a su vez está conectada a una computadora la cual tiene previamente instalado el SEASEC.



Figura 3.13: Ensamblado del equipo (parte dos). Conexión del sistema de fijación de voltaje: osciloscopio, tarjeta de adquisición y computadora.

3.4. Registro intracelular

En la Fig. 3.14 se aprecia el esquema general del registro intracelular. Los amplificadores se conectan eléctricamente a las células (C) a través de un microelectrodo (ME). Al amplificador de fijación de corriente de la Fig 3.14 (a) se le aplica un pulso rectangular de voltaje ΔV , el amplificador convierte este pulso en un pulso de corriente ΔI el cual se inyecta a la célula; el cambio en el potencial de membrana (V_m) inducido por la corriente ΔI se mide a través del mismo microelectrodo; el voltaje V_m de la célula es multiplicado a la salida del amplificador (XV_m). En (b) se ilustra el amplificador de fijación del voltaje, se aplica el pulso rectangular de voltaje ΔV a la entrada del amplificador el cual es multiplicado por un factor para aplicar el pulso de fijación de voltaje ΔV_e , el cambio en el potencial de membrana de la célula produce la apertura de los canales iónicos generando corrientes iónicas ilustradas por las flechas, las corrientes pueden ser entrantes o salientes; el amplificador es un convertidor corriente a voltaje por lo cual la señal de corriente I_m se observa como una señal de voltaje de salida (V_0) del amplificador con una relación lineal de $\frac{V}{I_m}$. La solución electrolítica que da continuidad eléctrica entre el amplificador y la célula se indica con el símbolo *sol int.* En este trabajo sólo se utilizó la técnica de fijación de voltaje. Para más información acerca del registro intracelular se recomienda revisar la Ref. [35]

CAPÍTULO 3. CONSIDERACIONES EXPERIMENTALES

3.4. REGISTRO INTRACELULAR

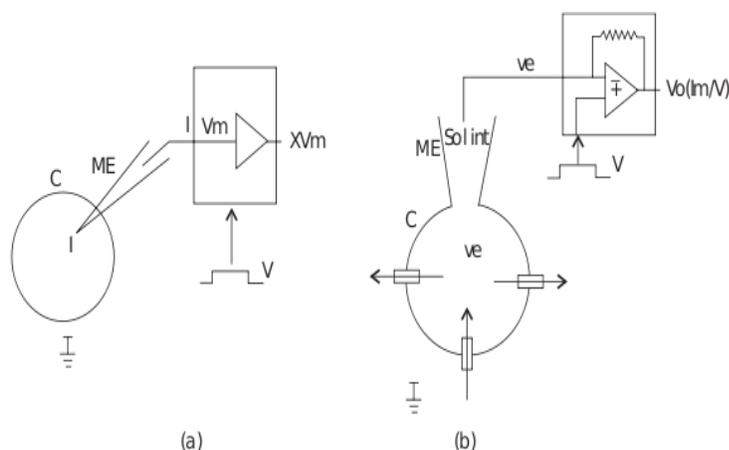


Figura 3.14: Esquema del registro intracelular. Imagen obtenida de la Ref. [35].

A continuación se describe el procedimiento detallado para llevar a cabo el registro intracelular. Bajo el microscopio óptico y mediante el micromanipulador se acerca la pipeta a la solución extracelular que se encuentra en la cámara de registro hasta que ambas queden en contacto. Esto producirá un potencial de unión entre la pipeta y la solución. El potencial de unión es constante y produce un cambio en el voltaje registrado de la membrana, por lo que se debe compensar moviendo el botón de balance que se encuentra en el sistema de fijación de voltaje.

Se desplaza la pipeta hacia la membrana de una neurona aumentando su resistencia. Este cambio se refleja en la disminución de la corriente registrada por el sistema de registro (el sistema responde conforme a la ley de Ohm). Una vez que la pipeta está en contacto con la membrana se procede a realizar succión con ayuda de la jeringa conectada al holder, esto con el afán de perforar la membrana celular. En esta condición, el interior de la micropipeta está en contacto con el interior de la célula. De esta manera, el amplificador puede registrar la corriente de todos los canales iónicos de la célula (si es interés del experimentador saber la corriente producida por algún tipo de ion en especial, se bloquean los canales iónicos que regulan el flujo de iones que no son de interés, esto se hace agregando fármacos en la solución extracelular). Tras mantener a la célula en un voltaje fijo (-60 mV) se mide la corriente transmembranal. Esto se logra con el sistema de fijación de voltaje el cual aplica a través de la micropipeta corriente positiva o negativa de la intensidad necesaria para que tras ocurrir un cambio de voltaje en la célula, ésta vuelva al potencial que el experimentador ha fijado, a esto se le conoce como *técnica de fijación de voltaje* [36, 37].

Para poder entender el funcionamiento de los canales iónicos, debe registrarse la corriente que cruza a través de ellos tras aplicar un pulso de voltaje (cuadrado) a la célula. Este pulso es generado por el SEASEC, viajando a través del sistema de fijación de voltaje, llegando así hasta la sonda y por ende creando una diferencia de potencial en el medio intracelular (al cual llega el pulso de voltaje) y el medio extracelular (conectado a la tierra del amplificador). Tras aplicar este pulso de voltaje se genera una corriente en la membrana celular debido a la apertura de los canales iónicos regulados por voltaje, esta corriente es registrada por el amplificador y enviada de vuelta a la tarjeta que a su vez digitaliza los datos y aparecen en la interfase gráfica del software.

3.5. Conclusiones del capítulo

Este capítulo estableció la manera en que se aplica la técnica de fijación de voltaje, dio a conocer el material y equipo necesarios para llevar a cabo el experimento y más aún la manera en la que se ensambla, ajusta y utiliza. Se aclararon los procesos previos al experimento como: disección, elaboración de soluciones, proceso de cloruración, elaboración de micropipetas y la instalación y manejo del software utilizado.

Capítulo 4

Análisis de resultados

En el capítulo tres se expuso la metodología a seguir para la obtención de registros electrofisiológicos usando la técnica de fijación de voltaje. En este capítulo, se presentan los datos recopilados tras llevar a cabo el experimento y se muestra como las ideas desarrolladas hasta este momento permiten analizar de una manera práctica los registros. Así, se pretende la obtención paulatina de conclusiones simples pero trascendentes que serán expuestas en el capítulo cinco.

4.1. Respuestas obtenidas

Como se estableció en las secciones 1.2 y 1.3, el interés de este trabajo radica en la obtención de resultados relacionados con las propiedades pasivas de la membrana celular. Estos resultados se obtienen al aplicar a la membrana, voltajes hiperpolarizantes y despolarizantes que se encuentran por debajo del potencial umbral. Al despolarizar a la membrana celular por debajo de este potencial, se observan varios eventos como se muestran en la Fig. 4.1. Cabe mencionar que no es el único tipo de respuesta obtenida, pero sirve para presentar las propiedades resistivo-capacitivas de la membrana celular.

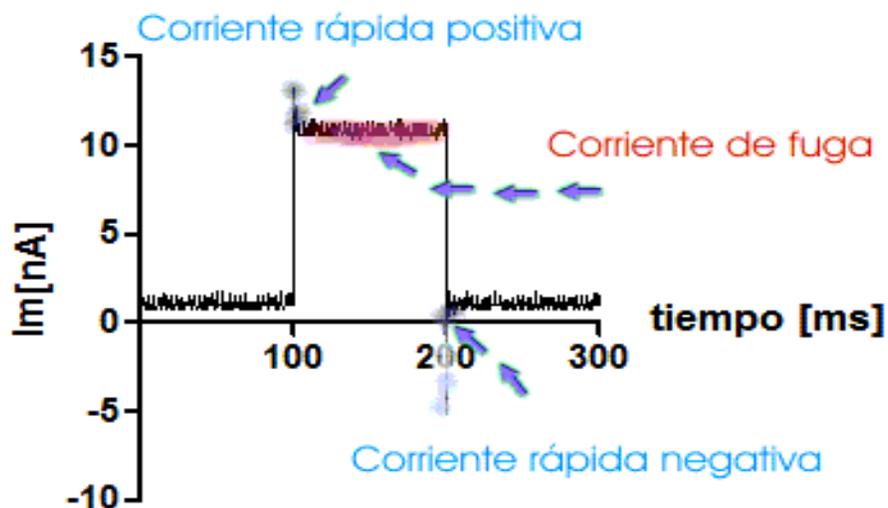


Figura 4.1: Corriente de la membrana celular (I_m) registrada al aplicar un pulso de voltaje de 80 mV y 100 ms de duración a una neurona de *Helix aspersa*.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. RESPUESTAS OBTENIDAS

Se puede observar del lado izquierdo existe una pequeña *corriente rápida positiva* la cual llega a un máximo y disminuye sin llegar a cero hasta un valor constante de la corriente denominada *corriente de fuga*. Cuando se deja de estimular, se genera una pequeña *corriente rápida negativa* la cual aumenta hasta alcanzar un valor próximo a cero. A las corrientes rápidas se les llama *corrientes capacitivas* y son originadas por la acumulación de cargas en ambos lados de la membrana y al flujo de iones. En el modelo de Rall estas corrientes se encuentran representadas por las propiedades resistivo-capacitivas del circuito. La *corriente de fuga*, es causada por la movilización de iones a través de los canales, los cuales presentan una oposición a este flujo. En el modelo de Rall esta corriente es representada únicamente por las propiedades resistivas del circuito.

Se realizaron registros con siete neuronas diferentes. Estas neuronas fueron sometidas a diferentes protocolos de estimulación, en los cuales:

- a) Se establece la forma del pulso aplicado (rectangular).
- b) Se selecciona el número de muestras adquiridas por la tarjeta ($1024 \frac{\text{muestras}}{\text{seg}}$).
- c) Se fija el tiempo de duración de los pulsos.
- d) Se aplican pulsos discretos de voltaje de diferente magnitud y polaridad pero de la misma duración (se fija en el punto anterior). En estos pulsos:
 - Se define el voltaje inicial a partir del cual se estimula a la célula y la cantidad de pulsos a aplicar (iteraciones).
 - Se establece la diferencia de voltaje aplicado entre cada iteración (ΔV)
- e) Se repite el proceso a partir del segundo punto, cambiando la duración del pulso.

Es decir que una vez establecido la duración del pulso, se realiza un barrido (discreto) del voltaje aplicado y se observa la respuesta obtenida. Después, se repite el proceso cambiando únicamente la duración del pulso.

Mediante la aplicación de diferente protocolos de estimulación, se encontraron dos respuestas diferentes en la corriente de la membrana de las neuronas de *Helix aspersa* al utilizar la técnica de fijación de voltaje. Estas corrientes presentan propiedades pasivas de la membrana y son significativamente diferentes.

4.1.1. Corriente estable de la membrana

En la tabla 4.1 se muestran los protocolos de estimulación con los cuales se obtuvo una respuesta estable de la corriente (ver Fig. 4.2). Cada protocolo consiste de pulsos rectangulares de voltaje, con una lectura de $1024 \frac{\text{muestras}}{\text{seg}}$. En la primera columna de la tabla, se fija la duración t_i de los pulsos para el primer barrido de voltaje, en la segunda columna se aprecia el voltaje inicial V_i a partir del cual se estimula a la célula, en la tercera columna se establece el número de iteraciones de voltaje, ΔV de la cuarta columna se refiere a la diferencia de voltaje aplicado entre iteraciones. Una vez hecho este barrido (discreto) de pulsos rectangulares (de la misma duración) de voltaje aplicado a la célula, se procede a cambiar la duración de los pulsos, este cambio se realiza con respecto a la duración del primer pulso y se denota por Δt que se muestra en la quinta columna, en la sexta columna se muestra las iteraciones de tiempo, nótese que para cada iteración de tiempo se realiza un barrido de voltaje. Finalmente, en la séptima columna se muestra la neurona (etiquetada con un número) a la que se le aplicó el protocolo mencionado.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.1. RESPUESTAS OBTENIDAS

t_i [ms]	V_i [mV]	Iteraciones de voltaje	ΔV [mV]	Δt	Iteraciones de tiempo	Neurona
20	100	15	-20	10	10	1
20	100	15	-20	10	10	2
50	100	15	-100	50	50	3
50	-100	15	100	50	50	5 y 6
50	100	15	-100	50	50	6
40	-20	15	10	20	20	7
40	20	15	-10	20	20	7

Tabla 4.1: Protocolos de estimulación en seis diferentes neuronas con los que se encontró una corriente estable de la membrana como respuesta a los estímulos de voltaje aplicados.

Con los protocolos de estimulación de la tabla 4.1, se obtuvieron respuestas estables de la corriente de la membrana (I_m). En particular, en la Fig. 4.2, se muestra la corriente estable obtenida tras aplicar el protocolo de estimulación para la neurona 5, cuando se fija la duración de los pulsos en 150 ms y se aplican pulsos rectangulares de voltaje de diferente magnitud y polaridad. Se observa que la respuesta de la corriente es proporcional al estímulo aplicado.

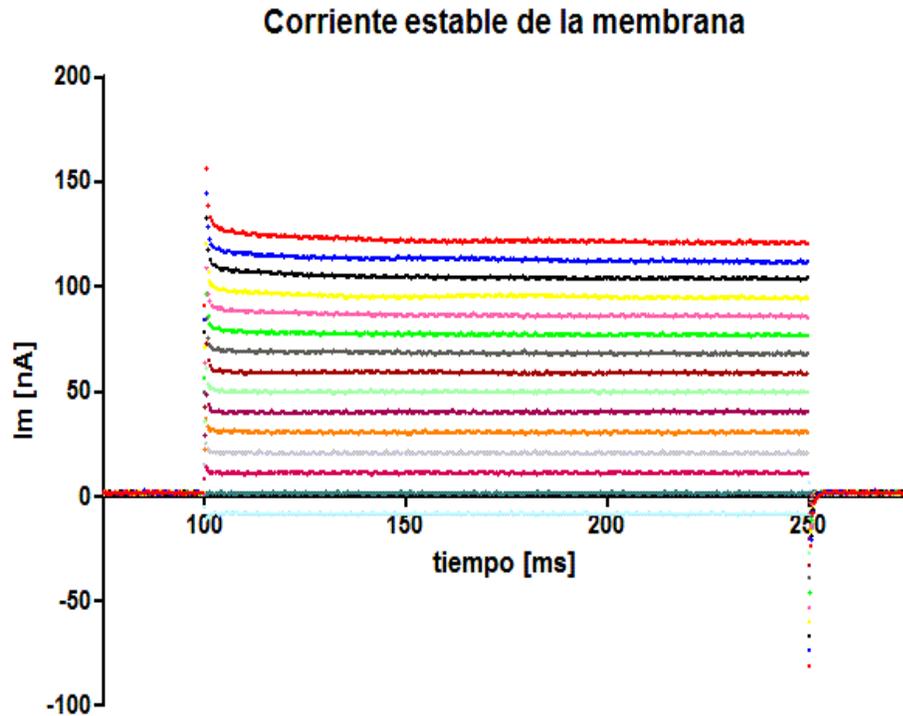


Figura 4.2: Corriente obtenida al aplicar pulsos de voltaje de 150 ms de duración, con el protocolo de estimulación de la tabla 4.1, a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 5.

4.1.2. Corriente variable de la membrana

En la tabla 4.2, se muestran los protocolos de estimulación con los cuales se obtuvo una respuesta variable de la corriente (ver Fig. 4.3). Cada columna de esta tabla tiene el mismo significado que las de la tabla 4.1.

t_i [ms]	V_i [mV]	Iteraciones de voltaje	ΔV [mV]	Δt	Iteraciones de tiempo	Neurona
50	-100	15	100	50	8	3
50	-200	15	200	50	8	4
50	200	15	-200	50	8	4

Tabla 4.2: Protocolos de estimulación aplicados a dos diferentes neuronas con los que se encontró una corriente variable en la membrana como respuesta al estímulo.

Para las dos neuronas mencionadas en la tabla 4.2, se encontró una respuesta variable de la corriente de la membrana (I_m). En particular, en la Fig. 4.3, se muestra la corriente variable obtenida tras aplicar el protocolo de estimulación para la neurona 3, cuando se fija la duración de los pulsos en 150 ms y se aplican pulsos rectangulares de voltaje de diferente magnitud y polaridad. En este caso también se observa que la respuesta de la corriente es proporcional al estímulo aplicado.

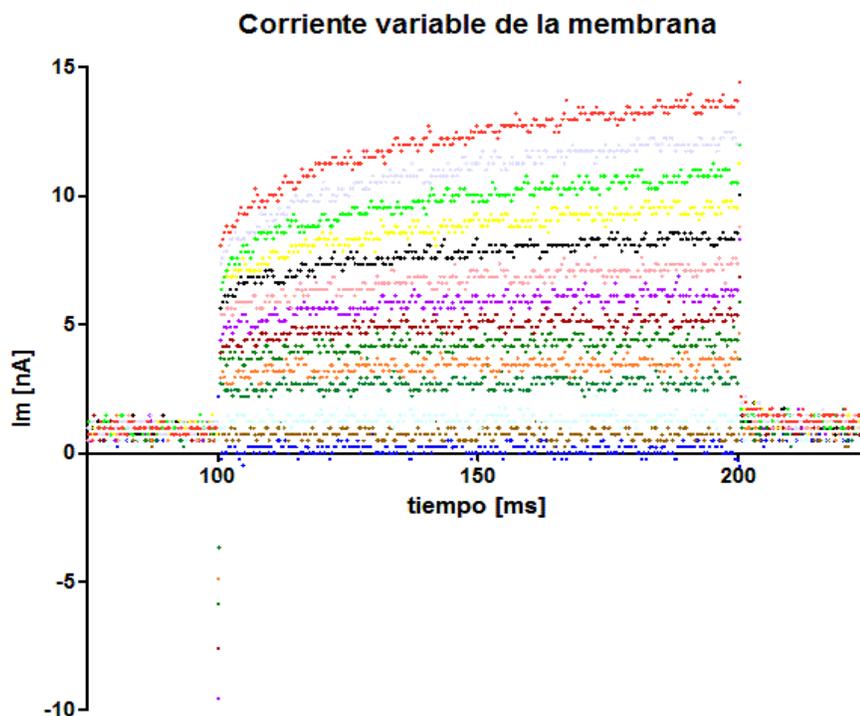


Figura 4.3: Corriente obtenida al aplicar pulsos de voltaje de 150 ms de duración, con el protocolo de estimulación de la tabla 4.2, a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 3.

4.2. Resistencia de entrada

Como se menciona en la sección 2.1.3, una de las hipótesis del modelo de Rall al estudiar las propiedades eléctricas pasivas de la célula, es que la corriente interna responde conforme a la ley de Ohm, por lo cual, la relación entre la corriente de fuga registrada y el voltaje aplicado debe ser lineal. Para comprobar esta hipótesis, los datos obtenidos (correspondientes a la corriente de fuga) tras aplicar estímulos de voltaje, se ajustan a una recta cuya pendiente debe ser próxima a cero, lo cual indica que la gráfica representa una constante. El valor de esta constante corresponde entonces al valor de la corriente de la membrana debida únicamente a sus propiedades resistivas. Al graficar los datos de voltaje aplicado, contra el valor de la corriente de fuga (constante) obtenida al aplicar dicho pulso, se puede determinar si esta relación es lineal.

A continuación se presenta el análisis realizado a las corrientes de fuga de los dos tipos de respuestas encontradas (corriente estable y corriente variable).

4.2.1. Resistencia de entrada para la corriente estable de la membrana

Una vez obtenidos los resultados de corriente estable tras aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1, se realiza el análisis de las corrientes de fuga obtenidas para cada pulso de voltaje aplicado en las diferentes neuronas. Para observar como se lleva a cabo este análisis, retomemos el caso particular de la neurona 5 en la que se aplican los protocolos de estimulación mencionados y elijamos los pulsos cuya duración es de 150 ms (ver Fig. 4.2). Se procede a realizar el ajuste a los puntos de la corriente de fuga obtenida en el intervalo de tiempo [150 ms, 200 ms] (donde existe menos ruido). Este ajuste resulta ser una recta, cuya pendiente (m) y desviación estándar se muestran en la segunda columna de la tabla 4.3 y la primera columna se refiere al voltaje aplicado a la célula.

Voltaje aplicado [mV]	$m \left[\frac{nA}{mV} \right]$
1300	0.00026 ± 0.00182
1200	0.00009 ± 0.00154
1100	-0.00358 ± 0.00170
1000	-0.00013 ± 0.00177
900	-0.00105 ± 0.00165
800	0.00020 ± 0.00185
700	-0.00297 ± 0.00168
600	-0.01602 ± 0.00194
500	-0.00624 ± 0.00199
400	-0.01083 ± 0.00194
300	-0.01262 ± 0.00184
200	0.00282 ± 0.00217
100	-0.01445 ± 0.00174
0	-0.03292 ± 0.00190
-100	-0.00151 ± 0.00197

Tabla 4.3: Pendiente de la mejor recta ajustada a la corriente de fuga estable registrada para la neurona 5. En la primera columna se muestran la magnitud y polaridad de los pulsos de voltaje de 150 ms de duración aplicados a la neurona. En la segunda columna se aprecian la pendiente y desviación estándar de la recta ajustada a la corriente de fuga registrada tras aplicar los estímulos de voltaje mencionados.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.2. RESISTENCIA DE ENTRADA

En la Fig. 4.4 se presenta el ajuste de la tabla anterior, realizado a los datos obtenidos de la corriente de fuga (entre 150 ms y 200 ms) registrada para la neurona etiquetada con el número 5.

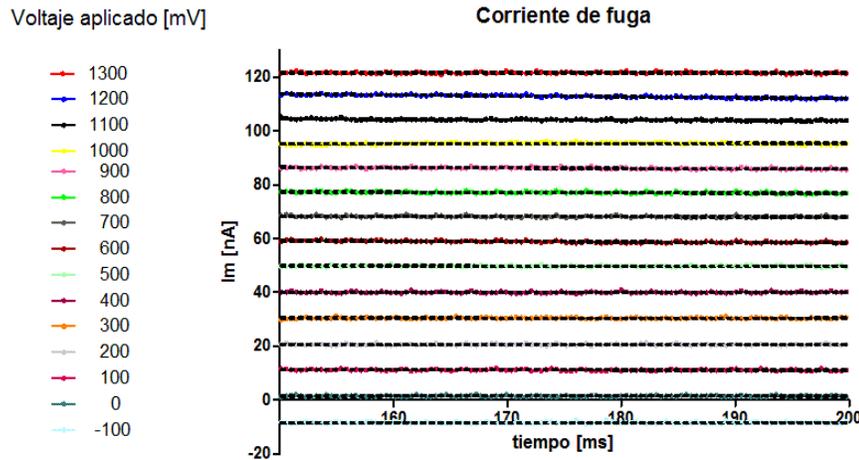


Figura 4.4: Ajuste lineal a la corriente de fuga obtenida para la neurona 5.

Dado que los valores de pendiente se encuentran distribuidos uniformemente alrededor de cero y con magnitudes muy pequeñas, se puede decir que efectivamente la corriente de fuga adquiere un valor constante. Este valor se encuentra tomando el valor promedio de los valores de la corriente de fuga (entre 150 ms y 200 ms) para cada estímulo de voltaje aplicado a la neurona 5. En la tabla 4.4 se presenta: en la primera columna el voltaje aplicado a la célula y en la segunda columna el valor promedio de la corriente de fuga correspondiente a este voltaje.

Voltaje aplicado [mV]	Promedio de la corriente de fuga [nA]
1300	121.61 ± 0.29
1200	112.87 ± 0.24
1100	104.12 ± 0.28
1000	95.34 ± 0.28
900	86.14 ± 0.26
800	77.05 ± 0.29
700	68.14 ± 0.27
600	58.81 ± 0.39
500	49.77 ± 0.33
400	40.00 ± 0.35
300	30.43 ± 0.35
200	20.56 ± 0.34
100	11.12 ± 0.35
0	1.45 ± 0.57
-100	-8.44 ± 0.31

Tabla 4.4: Relación entre voltaje aplicado y corriente de fuga encontrada para la neurona 5. En la primera columna se muestra la magnitud y polaridad de los pulsos de voltaje aplicados. En la segunda columna se aprecia el valor promedio de la corriente de fuga correspondiente a cada pulso de voltaje.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.2. RESISTENCIA DE ENTRADA

En la Fig. 4.5, se aprecia la gráfica de la corriente de fuga promedio contra el voltaje aplicado (tabla 4.4). La relación que presentan estas cantidades es lineal, por lo cual, también se presenta el ajuste de la mejor recta.

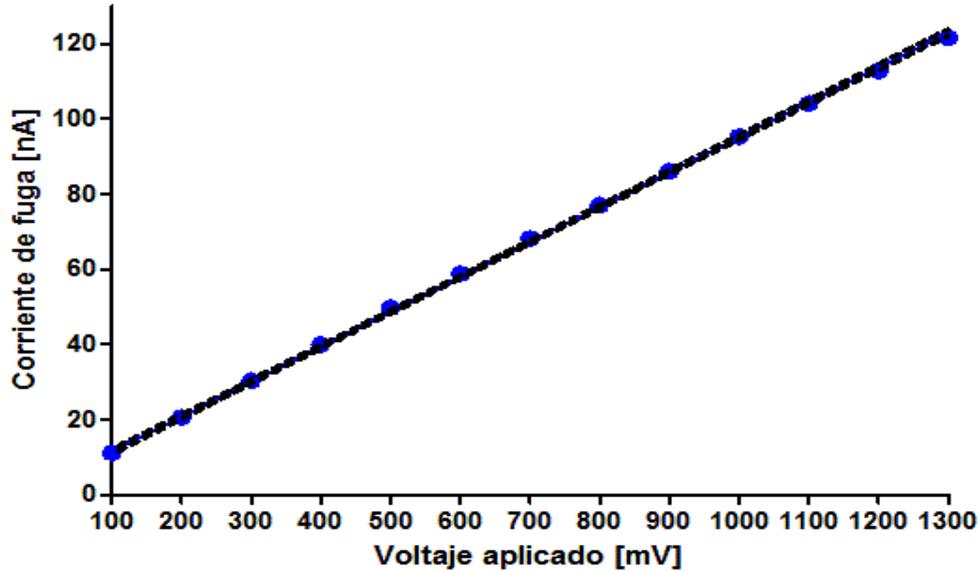


Figura 4.5: Gráfica del ajuste lineal realizado a la corriente de fuga obtenida para la neurona 5.

Con esto, se comprueba que la hipótesis acerca de que la corriente responde conforme a la ley de Ohm, es correcta siempre que se estudien las propiedades eléctricas pasivas de la membrana celular. Debido a este hecho, se puede calcular el valor aproximado de la resistencia de entrada R_e ¹ de la neurona 5, como el recíproco de la pendiente ($m_f = 0.09295 \pm 0.00049$) de la recta mostrada en la Fig. 4.5:

$$R_e = \frac{\text{Voltaje aplicado}}{\text{Corriente de fuga promedio}} = \frac{1}{m_f} = 10.758 \text{ M}\Omega. \quad (4.1)$$

Este análisis se repite para cada uno de los estímulos de los protocolos de la tabla 4.1. Así, para cada neurona se encuentran distintos valores de la resistencia de entrada (véase apéndice A). El promedio de estos valores y su respectiva desviación estándar se muestran en la tercera columna de la tabla 4.5 y en la primera columna se aprecia la neurona a la que corresponde el valor de R_e . La segunda columna presenta la polaridad del estímulo de voltaje aplicado para calcular R_e .

¹Resistencia debido a la oposición del flujo de iones a través de los canales iónicos, es decir a la resistencia de la membrana más la contribución de la resistencia de la micropipeta con la que se realizó el experimento.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.2. RESISTENCIA DE ENTRADA

Neurona	Polaridad del estímulo	Promedio de la resistencia de entrada [MΩ]
1	+ y -	2.8578 ± 0.0718
2	+ y -	2.5747 ± 0.2980
3	+	91.6240 ± 15.9121
5	+ y -	10.2942 ± 0.0702
6	-	8.4474 ± 0.4283
6	+	11.3646 ± 1.8602
7	-	0.6286 ± 0.0235
7	+	1.8571 ± 0.1718

Tabla 4.5: Resistencia de entrada calculada para la corriente estable de la membrana. En la primera columna se muestra la neurona estimulada, en la segunda columna la polaridad del estímulo y en la tercera se aprecia el valor promedio de la resistencia de entrada y su respectiva desviación estándar.

4.2.2. Resistencia de entrada para la corriente variable de la membrana

En el caso de obtener una respuesta variable de la corriente tras estimular a la célula, debido a que el valor de la corriente de fuga no es constante, lo único que se puede calcular es el valor de la resistencia de entrada mínima (corresponde a la conductancia máxima). Para esto, retomemos el caso particular de la neurona 3 en la que se aplican los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 y elijamos los pulsos cuya duración es de 100 ms (ver Fig. 4.3). Nótese que para un mismo estímulo de voltaje, la corriente de la membrana aumenta con el tiempo, lo cual indica la dependencia temporal de la apertura de los canales iónicos.

La conductancia máxima de la membrana corresponde a la resistencia de entrada mínima para cada estímulo de voltaje. Para calcular la resistencia de entrada mínima se requiere saber el valor máximo de la corriente de fuga registrada, este valor se muestra en la segunda columna de la tabla 4.6 correspondiente al estímulo de voltaje aplicado a la célula que se presenta en la primera columna de la misma tabla. Con estos dos valores se calcula la resistencia de entrada mínima utilizando la ley de Ohm, este resultado se muestra en la tercera columna.

Voltaje aplicado [mV]	Corriente de fuga máxima [nA]	Resistencia de entrada mínima [MΩ]
1300	13.6965	94.9145
1200	11.9844	100.1296
1100	11.0061	99.9442
1000	9.5386	104.8365
900	8.3157	108.2283
800	7.5820	105.5129
700	5.8699	119.2516
600	5.3807	111.5080
500	4.6470	107.5954
400	3.6687	109.0300
300	2.9349	102.2156
200	1.9566	102.2156
100	1.4674	68.1437
0	0.7337	0
-100	0.4891	-204.431

Tabla 4.6: Valor máximo de la corriente de fuga registrada y resistencia de entrada mínima calculada para 15 estímulos diferentes de voltaje, en el caso de corriente variable.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.3. LONGITUD ELECTROTÓNICA

Se procede a calcular el valor promedio de la resistencia de entrada mínima \bar{R}_e , omitiendo en este proceso los valores máximo y mínimo obtenidos en la tercera columna de la tabla 4.6, así como el valor calculado cuando el voltaje aplicado es cero (este valor es siempre el mismo).

$$\bar{R}_e = 101.1895 \pm 11.3857$$

Este análisis se repite para cada uno de los estímulos de los protocolos de la tabla 4.2. Así, para cada neurona se encuentran distintos valores de la resistencia de entrada mínima. El promedio de estos valores y su respectiva desviación estándar se muestran en la tercera columna de la tabla 4.7 y en la primera columna se aprecia la neurona a la que corresponde el valor mínimo de \bar{R}_e . La segunda columna presenta la polaridad del estímulo de voltaje aplicado para calcular el mínimo de \bar{R}_e .

Neurona	Polaridad del estímulo	Promedio de la resistencia de entrada mínima [M Ω]
3	–	146.7837 \pm 53.5937
4	–	18.0613 \pm 0.9035
4	+	22.0524 \pm 0.7471

Tabla 4.7: Resistencia de entrada mínima calculada para la corriente variable de la membrana. En la primera columna se muestra la neurona estimulada, en la segunda columna la polaridad del estímulo y en la tercera se aprecia el valor promedio de la resistencia de entrada mínima y su respectiva desviación estándar.

4.3. Longitud electrotónica

Para calcular la longitud electrotónica se utiliza la Ec. (2.35), la cual depende de los parámetros τ_0 , τ_1 y ρ . El valor de ρ depende de las conductancias del cilindro y del soma (ver Ec. 2.30) y como las neuronas de *Helix aspersa* presentan dominancia del soma, se considera que la conductancia del soma es mayor o igual a la conductancia del cilindro que representa a las dendritas o axones. Esto implica que $\rho \leq 1$.

Los valores de τ_0 y τ_1 se calculan al realizar un ajuste con dos exponenciales a las corrientes capacitivas de los registros. La forma de estos exponenciales se establece en la Ec. (2.24) como $\sum_{n=0}^{\infty} C_n e^{-\frac{t}{\tau_n}}$. Nótese que aunque ésta es la solución de la ecuación de cable para el voltaje, debido a que se estudian las propiedades lineales de la membrana, la solución de la corriente difiere sólo por una constante. En el modelo de Rall se propone que las propiedades eléctricas pasivas de una neurona puedan ser modeladas a través de un circuito eléctrico equivalente (ver Fig. 2.5). Los primeros dos circuitos RC del modelo, son los que tiene un mayor aporte en la respuesta de la corriente, por lo cual, el ajuste de la corriente capacitiva sólo se realiza con dos exponenciales.

Para el ajuste de las corrientes capacitivas se utiliza un software especializado llamado pClamp, este programa tiene una interfaz gráfica en la que aparecen las curvas de carga de los datos obtenidos experimentalmente. Las corrientes capacitivas de estas curvas son seleccionadas y el programa realiza el mejor ajuste de los datos a una función con la forma de la Ec. (2.24), como se muestra en la Fig 4.6. De este ajuste se obtienen los valores de τ_0 y τ_1 para las diferentes curvas.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.3. LONGITUD ELECTROTÓNICA

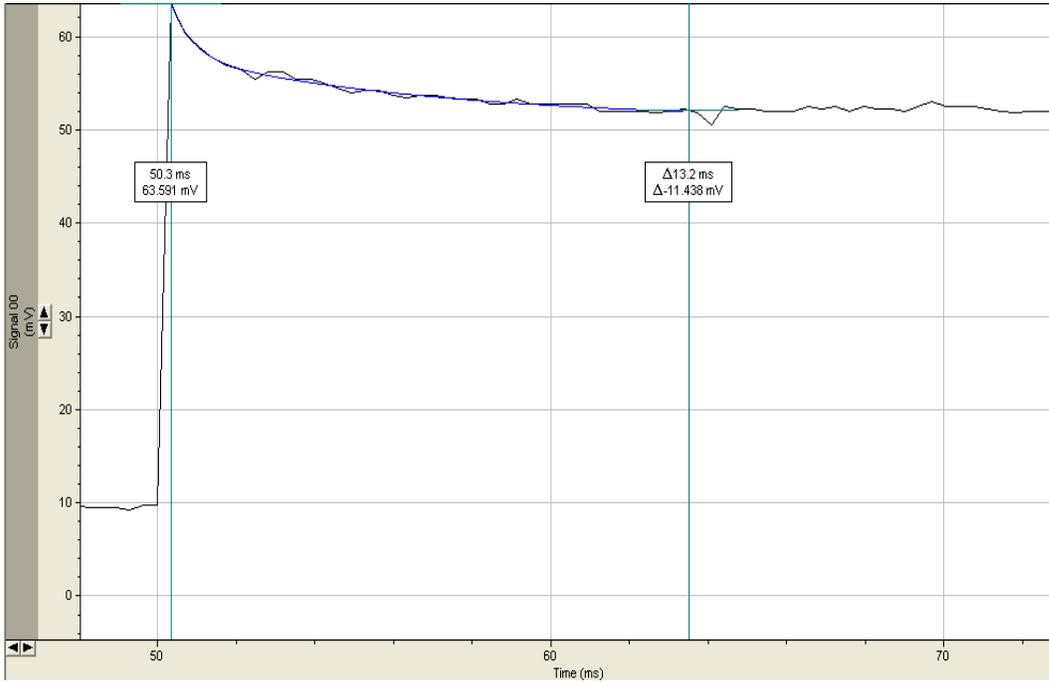


Figura 4.6: Gráfica del ajuste con dos exponenciales de la forma de la Ec. (2.24), realizado a la corriente rápida positiva de una neurona de *Helix aspersa*. Este ajuste resulta ser satisfactorio tanto por el resultado obtenido como por la inspección visual del trazo del modelo a través de los datos experimentales.

Tomemos el caso particular de la neurona etiquetada con el número 2 en la que se aplican los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 y elijamos los pulsos cuya duración es de 20 ms. Al realizar el análisis de las constantes de tiempo con el software pClamp, se obtienen los valores de τ_0 y τ_1 mostrados en la primera y segunda columna de la tabla 4.8 respectivamente. Las dos constantes de tiempo deben cumplir los criterios: $\tau_0 > \tau_1$ y $\tau_0 > 0$ y $\tau_1 > 0$. La primera condición se establece ya que τ_0 es el estado base (solución con $n = 0$ de la Ec. 2.19) y la segunda condición se debe al hecho de que el ajuste se realiza únicamente a corrientes rápidas decrecientes (exponenciales decrecientes). El número de datos que cumplen estas condiciones se presenta en la tercera columna de la misma tabla.

Finalmente, se calcula la longitud electrotonica L al utilizar la Ec. (2.24) y fijar diferentes valores de ρ , considerando que existe dominancia del soma. En particular se calcula el valor de la longitud electrotonica para $\rho = 1$, $\rho = 0.1$, $\rho = 0.01$ y $\rho = 0.001$, estos valores se presentan en la cuarta, quinta, sexta y séptima columnas de la tabla 4.8 respectivamente, al final de cada una de estas últimas columnas se muestra el promedio respectivo.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS
4.3. LONGITUD ELECTROTÓNICA

τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
1.7689	0.1838	12	0.7566	0.3226	0.1064	0.0338
1.0793	0.1768		0.9832	0.4192	0.1383	0.0439
0.7845	0.1102		0.8981	0.3829	0.1268	0.0401
-4.6316	0.3127					
1.7537	0.2672		0.9419	0.4016	0.1325	0.0421
1.2362	-0.2804					
1.8295	0.2420		0.8675	0.3699	0.1220	0.0387
1.9417	0.2255		0.8052	0.3433	0.1133	0.0359
0.9392	0.0962		0.7507	0.3201	0.1056	0.0335
3.7065	0.2034		0.5353	0.2282	0.0753	0.0239
6.2294	0.3147		0.5124	0.2185	0.0721	0.0229
1.0552	0.1415		0.8743	0.3728	0.1230	0.0390
2.8990	0.3107		0.7697	0.3282	0.1083	0.0344
1.2997	0.1743		0.8744	0.3728	0.1230	0.0390
			Prom	Prom	Prom	Prom
			0.7974	0.3400	0.1122	0.0356

Tabla 4.8: Longitud electrotónica calculada para diferentes valores de ρ .

4.3.1. Longitud electrotónica vs tiempo

El análisis realizado en la sección anterior se repite para la misma neurona utilizando las funciones de carga obtenidas para estímulos de diferente duración; con lo cual se obtiene la distribución de la Fig. 4.7, en la se aprecia la forma en la que la longitud electrotónica promedio cambia con el tiempo, para diferentes valores de ρ .

Se espera que al estudiar las propiedades eléctricas pasivas de la misma neurona, la longitud electrotónica no cambie entre registros. El comportamiento que apoya esta consideración se presenta para $\rho = 0.01$ y $\rho = 0.001$, lo cual presenta concordancia con la hipótesis de que las neurona de *Helix aspersa* presentan dominancia del soma.

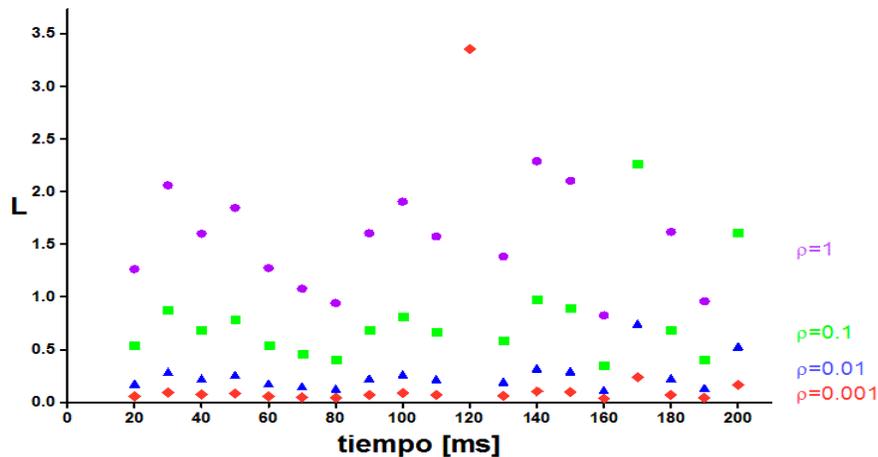


Figura 4.7: Longitud electrotónica promedio calculada para estímulos de voltaje de diferente duración en la neurona 2, utilizando diferentes valores de ρ .

4.3.2. Longitud electrotónica vs ρ

El análisis de la longitud electrotónica (L) se repite para cada uno de los estímulos realizados. Así, para cada neurona se encuentran distintos valores de L . El promedio de estos valores (\bar{L}) y su respectiva desviación estándar se muestran en la segunda, tercera, cuarta y quinta columnas de la tabla 4.9 de acuerdo a los diferentes valores que se fijan para ρ y en la primera columna se aprecia la neurona a la que corresponde el valor de \bar{L} . Nótese que el valor de la desviación disminuye al disminuir el valor de ρ .

Neurona	\bar{L} para $\rho = 1$	\bar{L} para $\rho = 0.1$	\bar{L} para $\rho = 0.01$	\bar{L} para $\rho = 0.001$
1	1.81 ± 1.08	0.77 ± 0.46	0.26 ± 0.15	0.08 ± 0.05
2	1.76 ± 0.56	0.75 ± 0.24	0.25 ± 0.08	0.08 ± 0.03
3	3.76 ± 1.30	1.60 ± 0.56	0.53 ± 0.18	0.17 ± 0.06
5	2.05 ± 0.87	0.87 ± 0.37	0.29 ± 0.12	0.09 ± 0.04
6	2.89 ± 1.86	1.23 ± 0.79	0.41 ± 0.26	0.13 ± 0.08
7	2.68 ± 1.00	1.14 ± 0.43	0.38 ± 0.14	0.12 ± 0.04

Tabla 4.9: Longitud electrotónica promedio de cada neurona calculada para diferentes valores de ρ .

De esta manera se encuentra que el comportamiento de la longitud electrotónica promedio por neurona, al variar el valor de ρ , es el de la serie de potencias:

$$\bar{L} = cte \rho^{0.453}.$$

donde el valor del exponente (0.453) es el mismo para la longitud electrotónica promedio encontrada para cada neurona. Este ajuste se muestra en particular para la neurona 2 en la Fig. 4.8.

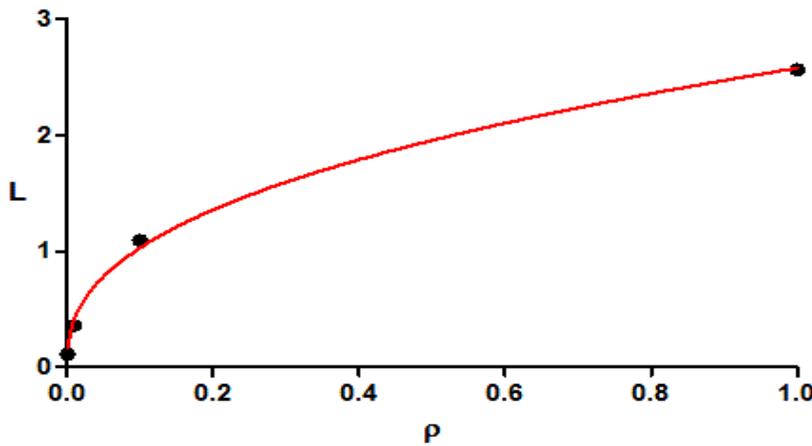


Figura 4.8: Longitud electrotónica promedio calculada para la neurona 2 de acuerdo a los diferentes valores de ρ .

Capítulo 5

Conclusiones

Las células se encuentran limitadas por una superficie elástica, integral y funcional de las mismas, denominada membrana plasmática. Una parte fundamental de ésta son los canales iónicos, que son proteínas incrustadas en la membrana, primordiales en la regulación del contenido de la célula, ya que todos los elementos nutritivos o las secreciones deben pasar a través de ellos. Estos canales son selectivamente permeables, ya que el tamaño de las moléculas, su carga eléctrica, el número de moléculas de agua ligadas a ellas, su concentración y otros factores son importantes para determinar si atravesarán o no la membrana.

Existen tres mecanismos sumamente importantes que regulan el movimiento de las moléculas cuando se encuentran en el medio celular: (1) el movimiento Browniano, debido al choque entre moléculas, (2) el flujo electroforético, producido por la presencia de un campo eléctrico constante y (3) la difusión, producida por el gradiente de concentración de material. Como las moléculas que se encuentran en la célula generalmente poseen carga, su movimiento produce corrientes eléctricas, por lo cual se considera relevante el estudio de modelos eléctricos celulares.

Existen tres ecuaciones fundamentales que sustentan el modelo eléctrico de las propiedades pasivas de células excitables, pues se han corroborado experimentalmente: (1) ecuación de Nernst-Planck, (2) voltaje de Nernst y (3) la ecuación de campo constante de Goldman-Hodgkin-Katz.

El estudio de las propiedades eléctricas de células excitables y algunas no excitables, ha sido indispensable para conocer los mecanismos por los cuales la actividad eléctrica induce y regula la función celular. En este trabajo se investigaron en particular las propiedades eléctricas pasivas de las neuronas del ganglio subesofágico de *Helix aspersa*, para esto se emplearon modelos eléctricos que representan las propiedades de la membrana celular mediante una resistencia y un capacitor en paralelo, mientras que el medio citoplasmático es representado por resistencias en serie.

Debido a las propiedades de la membrana celular se encontró que la relación entre la corriente de fuga registrada y el estímulo de voltaje aplicado a la membrana es lineal, como se muestran en la Fig. 4.5, donde la pendiente de la recta representa la resistencia de entrada, un aproximado de la resistencia que se le asigna a la membrana celular en el modelo eléctrico. Se analizó la corriente obtenida tras estimular eléctricamente a 7 neuronas de *Helix aspersa* de un grupo total de 45 neuronas por ganglio. Del análisis de las corrientes de fuga registradas se encontraron los valores de la resistencia de entrada promedio de estas neuronas (en $M\Omega$) y su respectiva desviación estándar: 1.242 ± 0.097 , 2.574 ± 0.298 , 2.857 ± 0.071 , 9.906 ± 1.144 , 10.294 ± 0.070 , 20.056 ± 0.825 y 119.203 ± 34.752 . Donde se ha tomado el promedio de los resultados obtenidos para una misma neurona aún para estímulos de diferente polaridad.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

Para estudiar las propiedades del medio citoplasmático, se utilizó el modelo de Rall, debido a que las neuronas utilizadas pueden ser modeladas como un largo tubo cilíndrico acoplado a una esfera equipotencial cuya membrana separa dos soluciones de diferente composición química. Una de las hipótesis fundamentales del modelo, es que en el interior de neuronas en las que se estudian propiedades pasivas existe una corriente óhmica. Esta hipótesis resulta no ser siempre cierta [38] y su validez no es conocida a priori del experimento [39].

Al llevar a cabo el análisis de las corrientes capacitivas se encontró que la longitud electrotónica de las 7 neuronas presenta una menor dispersión en el tiempo (ver Fig. 4.7) y una menor desviación estándar (ver Fig. 4.8) para $\rho = 0.01$ y $\rho = 0.001$. Este es el comportamiento esperado al analizar la longitud electrotónica de una misma neurona, con lo que se concluye que la hipótesis realizada acerca de que la dominancia del soma es mayor a la dominancia del cilindro, es correcta.

Uno de los objetivos de este trabajo fue calcular la eficiencia eléctrica de las neuronas de *Helix aspersa* y ya que la longitud electrotónica representa fisiológicamente la distancia en términos eléctricos a la cual se encuentra una entrada sináptica, se considera que el proceso es eficiente si $L \leq 1$. Observando la tabla 4.9, se concluye que para $\rho \leq 0.01$ el proceso es eficiente y para $\rho \geq 0.1$ el proceso es ineficiente.

Cabe mencionar que el modelo de Rall es uno de los modelos más sencillos y sus restricciones no son válidas para todos los modelos biológicos, sólo funciona para el estudio de propiedades eléctricas lineales de algunas células excitables. Existe otro tipo de modelos como los compartamentales o los mixtos que cubren el estudio de propiedades eléctricas no lineales. También se considera una corrección al modelo de Rall, para la cual se encuentra la ecuación de cable no lineal:
$$\lambda^2 \frac{d^2V}{dx^2} - \tau \frac{dV}{dt} = \frac{V(V - V_1)(V - V_2)}{V_1V_2}.$$

Finalmente, se considera que otras variables interesantes por estudiar en trabajos futuros son: el cálculo experimental de la conductancia del axón y la conductancia del soma en neuronas de *Helix aspersa* con lo cual se estimaría el valor aproximado de ρ . También se propone el estudio de propiedades eléctricas no lineales como el potencial de acción o los potenciales sinápticos. Desarrollar estas ideas exigirá conocimientos y habilidades de diferentes disciplinas. En este trabajo se ha presentado la unión de diferentes ramas de la ciencia: química, biología, fisiología, física estadística, mecánica y neurociencias, siendo estas ramas parte de la construcción de modelos sencillos para atacar problemas complejos de interés.

Bibliografía

- [1] W. R. Holmes and W. Rall. *Electrotonic length estimates in neurons with dendritic tapering or somatic shunt*. Journal of Neurophysiology. 68: 1421-1437, (1992).
- [2] E. R. Kandel, J. H. Schwartz and T. M. Jessell. *Principios de neurociencia*. McGraw Hill Interamericana, España, 4th edition, 2001.
- [3] J. J. B. Jack, D. Noble and R. W. Tsien. *Electrical current flow in Excitable Cells*. Clarendon Press, Oxford, 1975.
- [4] W. R. Holmes and W. Rall. *Estimating the electrotonic structure of neurons with compartmental models*. Journal of Neurophysiology.68: 1438-1452, (1992).
- [5] T. V. Bui, S. Cushing, D. Dewey, R. E. Fyffe, and P. K. Rose. *Comparison of the morphological and electrotonic properties of Renshaw cells, Ia inhibitory interneurons, and motoneurons in the cat*. J. Neurophysiol, Nov 2003; 90: 2900 - 2918.
- [6] B. S. Mleux and L. E. Moore. *Firing properties and electrotonic structure of Xenopus larval spinal neurons*. J. Neurophysiol, Mar 2000; 83: 1366 - 1380.
- [7] G. Svirskis, A. Gutman and J. Hounsgaard. *Electrotonic structure of motoneurons in the spinal cord of the turtle: Inferences for the mechanisms of bistability*. J. Neurophysiol, Jan 2001; 85: 391 - 398.
- [8] L. Olstedal, M. L. Veruki and E. Hartveit *Passive membrane properties and electrotonic signal processing in retinal rod bipolar cells* J. Physiol. Feb 2009; 587: 829 - 849.
- [9] A. Devor and Y. Yarom *Electrotonic coupling in the inferior olivary nucleus revealed by simultaneous double patch recordings*. J. Neurophysiol, Jun 2002; 87: 3048 - 3058.
- [10] J. M. Wilson, A. I. Cowan, and R. M. Brownstone *Heterogeneous electrotonic coupling and synchronization of rhythmic bursting activity in mouse Hb9 interneurons*. J. Neurophysiol, Oct 2007; 98: 2370 - 2381.
- [11] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley. *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*. Journal of Physiology, 117: 500 - 544, (1952).
- [12] Philip Nelson. *Física biológica. Energía, información, vida*. Reverté, first edition, 2005.
- [13] Reif. *Statistical physics*. Berkeley: University of California, McGraw Hill.
- [14] Eccles, J. C. *The physiology of nerve cells*. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1957.
- [15] Hodgkin, A. L. *Ionic movements and electrical activity in giant nerve fibres (The Croonian Lecture)*. Proc. Roy Soc. London Ser B 148: 1-37, 1958.
- [16] W. Rall. *Handbook of physiology. Peptides*, 16(8):1375-1383, (1995).

- [17] Clark J. and R. Plonsey. *The extracellular potential field of the single active nerve fiber in a volume conductor*. Biophys. J. 8: 842-864, 1968.
- [18] Eisenberg R. S. and E. A. Johnson. *Three dimensional electric field problems in physiology*. Progr. Biophys. 20: 1-65, 1970.
- [19] Peskoff A. and R. S. Eisenberg. *A point source in a cylindrical cell: potential for a step-function of current, inside an infinite cylindrical cell in a medium of finite conductivity*. UCLA Engr. School Rep. No. 7421, April 1974.
- [20] Pickard W. F. *A contribution to the electromagnetic theory of the unmyelinated axon*. Math. Biosci. 2: 111-121, 1968.
- [21] Plonsey R. *Volume conductor fields of action currents*. Biophys. J. 4: 317-328, 1964.
- [22] Plonsey R. *Bioelectric phenomena*. New York: McGraw Hill, 1969.
- [23] Rall W. *Distributions of potential in cylindrical coordinates and time constants for a membrane cylinder*. Biophys. J. 9: 1509-1541, 1969.
- [24] Cole K. S. *Membranes, Ions and Impulses*. Berkeley: University of California Press, 1968.
- [25] Cole K. S. and A. L. Hodgkin. *Membrane and protoplasm resistance in the squid giant axon*. J. Gen. Physiol. 22: 671-687, 1939.
- [26] Hodgkin A. L. *The membrane resistance of a non-medulated nerve fiber*. J. Physiol. London 106: 305-318.
- [27] Hodgkin A. L. AND W. A. H. Rushton. *The electrical constants of a crustacean nerve fiber*. Proc. Roy. Soc. London Ser B 133: 444-479, 1946.
- [28] Katz B. *The electrical properties of the muscle fiber membrane*. Proc. Roy. Soc. London Ser B 135: 506-534, 1948.
- [29] Rashbass C. and W. A. H. Rushton. *The relation of structure to the spread of excitation in the frog's sciatic trunk*. J. Physiol. London 110: 110-135, 1949.
- [30] Tasaki I. *Conduction of the nerve impulse*. In: *Handbook of Physiology. Neurophysiology*. edited by H. W. Magoun. Washington, D.C.: Am. Physiol. Soc., 1959, sect. 1, vol. 1, p. 75-121.
- [31] Taylor R. E. *Cable theory*. In: *Physical Techniques in Biological Research*. edited by W. L. Nastuk. New York: Academic, 1963, vol. 6, chapt. 4, p. 219-262.
- [32] Katz B. *Nerve, muscle and synapse*. New York: McGraw Hill, 1966.
- [33] D. G. Zill and M. R. Cullen. *Ecuaciones diferenciales con problemas de valores en la frontera*. Math learning, 5a. edición, 2002.
- [34] R. A. Wyttenbach, B. R. Johnson and Ronald R. Hoy. *Crawdad a CD-ROM lab manual for neurophysiology*. Sinauer Associates, Inc.
- [35] Velasco N.D., Ávila P. R., Godínez F.R. *Desarrollo de un software de estimulación y adquisición de señales eléctricas celulares, basado en una tarjeta comercial de adquisición de datos*. Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica, Vol. 26, Núm. 2, septiembre de 2005.
- [36] Ávila P. R., Godínez F. R. *La técnica de fijación de voltaje*. Contactos: Revista de educación en ciencias básicas e ingeniería, 1995.
- [37] J. Douglas. *Nerve and muscle excitation*. Sinauer Associates, Inc. second edition.
-

BIBLIOGRAFÍA
BIBLIOGRAFÍA

- [38] Hufnagel CA. *Aortic plastic valvular prosthesis*. Bull Georgetown Univ Med Center 1951; 4: 128-33.
- [39] A. Reyes, E. Galarraga, J. Bargas. *Modelos de la Estructura Electrotónica de las Dendritas Neuronales*. Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica, Vol XIX No.2, ISSN 0188-9532, abril 1998.

Apéndice A

Resistencia de la membrana obtenida

En este apéndice se presentan las tablas de la corriente de fuga obtenida al llevar a cabo la técnica de fijación de voltaje en neuronas de *Helix aspersa*, donde se utilizaron los protocolos de estimulación de las tablas 4.1 y 4.2. La primera fila de cada tabla presenta el voltaje aplicado a la membrana celular. En las filas sucesivas se presentan alternadamente el valor de la corriente de fuga registrada y la resistencia de entrada calculada por ley de Ohm. La duración del estímulo aplicado también se presenta en la primera columna.

El promedio realizado para la resistencia de entrada y su respectiva desviación estándar, obtenidos al aplicar estímulos de voltaje de la misma duración pero de diferente magnitud y polaridad, se aprecia en la última columna. Realizando el promedio de los valores de la resistencia de entrada, expuestos en la última columna de cada tabla se calcula el aproximado de la resistencia de la membrana.

Los resultados se presentan en 11 tablas según la neurona estudiada y la polaridad del estímulo aplicado. Para 6 de estas neuronas se encontró una respuesta estable de la corriente al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 con lo cual se observa que:

- Al aplicar estímulos de polaridad positiva y negativa, a la neurona 1 (ver tabla A.1), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 2.8578 ± 0.0718 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva y negativa, a la neurona 2 (ver tabla A.2), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 2.5747 ± 0.2980 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva, a la neurona 3 (ver tabla A.3), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 91.6240 ± 15.9121 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva, a la neurona 5 (ver tabla A.7), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 10.2942 ± 0.0702 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva, a la neurona 6 (ver tabla A.8), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 11.3646 ± 1.860 .
- Al aplicar estímulos de polaridad negativa, a la neurona 6 (ver tabla A.9), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 8.4474 ± 0.4283 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva, a la neurona 7 (ver tabla A.10), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 1.8571 ± 0.1718 .
- Al aplicar estímulos de polaridad negativa, a la neurona 7 (ver tabla A.11), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 0.6286 ± 0.0235 .

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

Mientras que para 2 de las neuronas estudiadas se encontró una respuesta variable de la corriente al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2. En este caso se observa que:

- Al aplicar estímulos de polaridad negativa, a la neurona 3 (ver tabla A.4), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 146.7837 ± 53.5937 .
- Al aplicar estímulos de polaridad positiva, a la neurona 4 (ver tabla A.5), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 22.0524 ± 0.7471 .
- Al aplicar estímulos de polaridad negativa, a la neurona 4 (ver tabla A.6), se calcula que la resistencia aproximada de la membrana es: 18.0613 ± 0.9035 .

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	100	80	60	40	20	0	-20	-40	-60	-80	-100	-120	-140	-160	-180	Resistencia media (MΩ)
I(nA)	36.932	28.616	21.034	13.452	6.115	-1.223	-9.049	-16.632	-23.724	-32.040	-39.867	-46.960	-54.542	-62.613	-70.195	2.626 ± 0.169
R(MΩ)	2.708	2.796	2.853	2.974	3.271	0.000	2.210	2.405	2.529	2.497	2.508	2.555	2.567	2.555	2.564	
I(nA)	35.220	27.393	19.811	12.474	4.892	-2.690	-9.783	-16.876	-24.458	-31.796	-38.888	-46.715	-53.808	-61.390	-68.727	2.692 ± 0.251
R(MΩ)	2.839	2.920	3.029	3.207	4.089	0.000	2.044	2.370	2.453	2.516	2.571	2.569	2.602	2.606	2.619	
I(nA)	35.220	27.393	19.811	13.452	4.647	-2.201	-9.294	-15.898	-23.724	-30.817	-38.399	-46.226	-52.829	-60.411	-67.749	2.713 ± 0.178
R(MΩ)	2.839	2.920	3.029	2.974	4.304	0.000	2.152	2.516	2.529	2.596	2.604	2.596	2.650	2.649	2.657	
I(nA)	34.730	26.659	19.811	12.229	4.647	-3.180	-9.049	-17.610	-24.947	-31.551	-39.133	-46.715	-54.052	-61.634	-68.483	2.694 ± 0.289
R(MΩ)	2.879	3.001	3.029	3.271	4.304	0.000	2.210	2.271	2.405	2.536	2.555	2.569	2.590	2.596	2.628	
I(nA)	34.730	27.882	21.034	12.718	5.870	-1.467	-9.049	-16.387	-23.724	-31.062	-38.644	-45.737	-53.319	-60.411	-67.749	2.703 ± 0.196
R(MΩ)	2.879	2.869	2.853	3.145	3.407	0.000	2.210	2.441	2.529	2.576	2.588	2.624	2.626	2.649	2.657	
I(nA)	33.997	27.148	19.322	12.229	4.647	-2.446	-9.539	-16.632	-22.991	-31.551	-38.644	-45.247	-54.542	-61.390	-67.993	2.740 ± 0.262
R(MΩ)	2.941	2.947	3.105	3.271	4.304	0.000	2.097	2.405	2.610	2.536	2.588	2.652	2.567	2.606	2.647	
I(nA)	35.220	27.393	20.789	13.207	5.625	-1.712	-8.805	-15.898	-23.724	-30.328	-38.155	-45.003	-50.139	-59.678	-67.260	2.733 ± 0.160
R(MΩ)	2.839	2.920	2.886	3.029	3.555	0.000	2.271	2.516	2.529	2.638	2.621	2.666	2.712	2.681	2.676	
I(nA)	34.486	26.659	20.300	12.963	5.136	-1.467	-8.805	-15.898	-22.746	-30.328	-37.421	-44.758	-51.117	-58.944	-66.281	2.771 ± 0.173
R(MΩ)	2.900	3.001	2.956	3.086	3.894	0.000	2.271	2.516	2.638	2.638	2.672	2.681	2.739	2.714	2.716	
I(nA)	34.730	26.415	19.566	12.474	5.381	-2.446	-9.539	-15.898	-23.969	-30.573	-37.665	-44.758	-51.607	-59.189	-66.771	2.772 ± 0.224
R(MΩ)	2.879	3.029	3.066	3.207	3.717	0.000	2.097	2.516	2.503	2.617	2.655	2.681	2.713	2.703	2.696	
I(nA)	34.486	27.148	19.811	12.474	5.136	-1.467	-6.848	-16.387	-22.746	-29.839	-37.665	-44.269	-50.628	-58.944	-65.059	2.828 ± 0.203
R(MΩ)	2.900	2.947	3.029	3.207	3.894	0.000	2.920	2.441	2.638	2.681	2.655	2.711	2.765	2.714	2.767	
I(nA)	34.975	26.904	19.811	12.718	5.870	-1.223	-8.560	-14.675	-22.012	-29.594	-36.198	-43.046	-50.628	-57.721	-64.569	2.836 ± 0.139
R(MΩ)	2.859	2.974	3.029	3.145	3.407	0.000	2.336	2.726	2.726	2.703	2.763	2.788	2.765	2.772	2.788	
I(nA)	34.486	27.148	19.811	12.963	5.870	-0.734	-8.316	-14.919	-22.012	-28.861	-35.953	-43.046	-49.650	-57.966	-63.836	2.842 ± 0.123
R(MΩ)	2.900	2.947	3.029	3.086	3.407	0.000	2.405	2.681	2.726	2.772	2.781	2.788	2.820	2.760	2.820	
I(nA)	33.997	25.926	19.077	12.229	5.136	-2.201	-8.560	-16.142	-22.746	-28.861	-36.687	-43.780	-50.139	-57.232	-64.080	2.850 ± 0.224
R(MΩ)	2.941	3.086	3.145	3.271	3.894	0.000	2.336	2.478	2.638	2.772	2.726	2.741	2.792	2.796	2.809	
I(nA)	32.774	25.926	18.833	11.984	5.381	-1.712	-8.560	-15.653	-22.257	-29.594	-36.687	-43.291	-50.384	-57.232	-63.591	2.876 ± 0.234
R(MΩ)	3.051	3.086	3.186	3.338	3.717	0.000	2.336	2.555	2.696	2.703	2.726	2.772	2.779	2.796	2.831	
I(nA)	32.774	26.415	18.833	11.984	4.647	-2.201	-8.560	-15.409	-22.501	-29.105	-36.443	-42.802	-49.650	-56.498	-63.836	2.886 ± 0.220
R(MΩ)	3.051	3.029	3.186	3.338	4.304	0.000	2.336	2.596	2.666	2.749	2.744	2.804	2.820	2.832	2.820	
I(nA)	33.263	24.703	18.588	11.740	5.381	-1.467	-8.805	-15.164	-22.746	-29.105	-35.709	-43.046	-49.405	-56.743	-63.102	2.917 ± 0.249
R(MΩ)	3.006	3.239	3.228	3.407	3.717	0.000	2.271	2.638	2.638	2.749	2.800	2.788	2.834	2.820	2.853	
I(nA)	33.018	25.681	19.077	12.229	4.647	-1.467	-7.827	-15.409	-21.708	-28.371	-35.464	-42.312	-48.427	-56.009	-62.613	2.918 ± 0.188
R(MΩ)	3.029	3.115	3.145	3.271	4.304	0.000	2.555	2.596	2.756	2.820	2.820	2.836	2.891	2.857	2.875	
I(nA)	33.018	25.926	19.322	12.229	5.870	-0.978	-8.071	-14.919	-21.523	-27.638	-34.730	-41.090	-47.693	-54.542	-61.390	2.955 ± 0.154
R(MΩ)	3.029	3.086	3.105	3.271	3.407	0.000	2.478	2.681	2.788	2.895	2.879	2.920	2.935	2.934	2.932	
I(nA)	33.752	26.415	20.300	12.963	5.870	-0.978	-7.582	-13.941	-20.300	-26.904	-34.241	-40.600	-46.960	-54.297	-60.167	2.969 ± 0.053
R(MΩ)	2.963	3.029	2.956	3.086	3.407	0.000	2.638	2.869	2.956	2.974	2.920	2.956	2.981	2.947	2.992	

Tabla A.1: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 1. Se aplicaron pulsos de voltaje de diferente polaridad y duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	100	80	60	40	20	0	-20	-40	-60	-80	-100	-120	-140	-160	-180	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	52.829	44.025	34.241	25.681	16.387	7.827	-0.978	-10.028	-18.833	-28.616	-37.665	-46.226	-54.542	-64.080	-72.641	2.482 \pm 0.680
R(M Ω)	1.893	1.817	1.752	1.558	1.220	0.000	20.443	3.989	3.186	2.796	2.655	2.596	2.567	2.497	2.478	
I(nA)	52.829	43.291	34.241	25.681	15.898	8.316	-0.978	-9.783	-18.344	-26.904	-35.709	-44.289	-53.319	-61.390	-70.684	2.556 \pm 0.720
R(M Ω)	1.893	1.848	1.752	1.558	1.258	0.000	20.443	4.089	3.271	2.974	2.800	2.711	2.626	2.606	2.547	
I(nA)	52.829	43.535	34.486	26.415	18.099	9.294	0.489	-8.316	-17.121	-25.926	-34.730	-43.291	-51.607	-61.145	-69.706	2.662 \pm 0.905
R(M Ω)	1.893	1.838	1.740	1.514	1.105	0.000	-40.886	4.810	3.505	3.086	2.879	2.772	2.713	2.617	2.582	
I(nA)	54.542	44.269	33.508	23.235	13.207	2.935	-6.848	-16.387	-27.148	-36.687	-45.737	-56.743	-66.526	-75.086	-86.826	2.050 \pm 0.215
R(M Ω)	1.833	1.807	1.791	1.722	1.514	0.000	2.920	2.441	2.210	2.181	2.186	2.115	2.104	2.131	2.073	
I(nA)	53.074	44.025	35.464	26.904	18.099	9.539	1.223	-7.337	-15.409	-24.458	-32.285	-40.356	-48.916	-57.721	-65.548	2.829 \pm 1.101
R(M Ω)	1.884	1.817	1.692	1.487	1.105	0.000	-16.355	5.452	3.894	3.271	3.097	2.974	2.862	2.772	2.746	
I(nA)	51.607	43.046	34.730	26.170	17.854	9.294	0.978	-7.337	-15.409	-23.480	-32.040	-40.356	-48.182	-56.254	-64.569	2.870 \pm 1.090
R(M Ω)	1.938	1.858	1.728	1.528	1.120	0.000	-20.443	5.452	3.894	3.407	3.121	2.974	2.906	2.844	2.788	
I(nA)	52.340	42.557	34.241	26.415	18.588	9.783	0.978	-6.359	-14.675	-22.746	-31.551	-39.133	-46.960	-55.031	-62.857	2.995 \pm 1.298
R(M Ω)	1.911	1.880	1.752	1.514	1.076	0.000	-20.443	6.290	4.089	3.517	3.169	3.066	2.981	2.907	2.864	
I(nA)	50.628	42.312	33.997	26.659	18.099	9.294	1.712	-6.604	-14.430	-22.501	-30.573	-38.155	-46.470	-54.542	-63.346	3.009 \pm 1.250
R(M Ω)	1.975	1.891	1.765	1.500	1.105	0.000	-11.682	6.057	4.158	3.555	3.271	3.145	3.013	2.934	2.842	
I(nA)	55.520	44.758	35.220	25.192	16.142	7.582	-1.957	-11.740	-21.034	-30.328	-40.111	-49.161	-58.210	-67.049	-77.043	2.318 \pm 0.530
R(M Ω)	1.801	1.787	1.704	1.588	1.299	0.000	10.222	3.407	2.853	2.638	2.493	2.441	2.405	2.362	2.336	
I(nA)	50.873	41.823	33.018	25.681	17.610	10.272	1.957	-6.359	-14.430	-22.012	-30.817	-38.155	-45.247	-53.563	-61.879	3.060 \pm 1.292
R(M Ω)	1.966	1.913	1.817	1.558	1.136	0.000	-10.222	6.290	4.158	3.634	3.245	3.145	3.094	2.987	2.909	
I(nA)	50.628	41.579	32.774	25.436	18.099	9.783	1.712	-5.625	-13.697	-22.746	-29.839	-36.932	-45.003	-52.829	-60.901	3.167 \pm 4.878
R(M Ω)	1.975	1.924	1.831	1.573	1.105	0.000	-11.682	7.111	4.381	3.517	3.351	3.249	3.111	3.029	2.956	
I(nA)	51.362	42.068	34.486	26.170	17.854	10.517	2.446	-5.870	-13.941	-21.768	-29.839	-37.910	-45.247	-53.074	-60.656	3.125 \pm 1.438
R(M Ω)	1.947	1.902	1.740	1.528	1.120	0.000	-8.177	6.814	4.304	3.675	3.351	3.165	3.094	3.015	2.968	
I(nA)	50.873	42.068	33.997	25.681	18.099	10.028	1.957	-5.870	-13.452	-21.279	-29.350	-37.665	-45.003	-52.829	-60.901	3.159 \pm 1.448
R(M Ω)	1.966	1.902	1.765	1.558	1.105	0.000	-10.222	6.814	4.460	3.760	3.407	3.186	3.111	3.029	2.956	
I(nA)	54.052	43.780	33.997	25.436	16.632	7.093	-1.712	-10.517	-20.056	-27.882	-36.443	-45.492	-54.786	-64.325	-72.885	2.464 \pm 3.281
R(M Ω)	1.850	1.827	1.765	1.573	1.203	0.000	11.682	3.803	2.992	2.869	2.744	2.638	2.555	2.487	2.470	

Tabla A.2: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 2. Se aplicaron pulsos de voltaje de diferente polaridad y duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	-100	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-0.245	0.734	1.223	1.712	2.201	3.180	3.913	5.136	5.625	6.604	7.582	8.560	9.783	10.762	12.474	119.397 \pm 7.315
R(M Ω)	408.863	0.000	81.773	116.818	136.288	125.804	127.770	116.818	124.436	121.145	118.702	116.818	112.437	111.508	104.220	
I(nA)	0.489	0.734	1.467	1.957	2.935	3.669	4.647	5.381	5.870	7.582	8.316	9.539	11.006	11.984	13.697	101.190 \pm 11.389
R(M Ω)	-204.431	0.000	68.144	102.216	102.216	109.030	107.595	111.508	119.252	105.513	108.228	104.837	99.944	100.130	94.915	
I(nA)	0.978	1.957	2.690	2.690	3.669	4.158	5.136	6.115	6.848	7.827	9.294	10.272	11.251	13.207	14.919	88.094 \pm 17.935
R(M Ω)	-102.216		37.169	74.339	81.773	96.203	97.348	98.127	102.216	102.216	96.836	97.348	97.772	90.858	87.135	
I(nA)	0.978	1.712	2.446	3.180	3.913	4.402	5.381	6.115	7.093	8.560	9.783	11.006	12.474	14.186	15.898	82.768 \pm 16.206
R(M Ω)	-102.216	0.000	40.886	62.902	76.662	90.858	92.923	98.127	98.691	93.454	91.994	90.858	88.186	84.592	81.773	
I(nA)	1.467	1.957	2.935	3.424	3.669	4.892	5.870	6.604	7.827	8.560	10.028	11.495	13.207	14.675	16.632	78.456 \pm 16.372
R(M Ω)	-68.144	0.000	34.072	58.409	81.773	81.773	85.180	90.858	89.439	93.454	89.750	86.992	83.287	81.773	78.165	
I(nA)	2.201	1.957	2.690	3.424	3.913	4.892	5.136	6.604	7.337	8.560	10.028	11.495	12.963	14.186	16.632	79.840 \pm 16.632
R(M Ω)	-45.429	0.000	37.169	58.409	76.662	81.773	97.348	90.858	95.401	93.454	89.750	86.992	84.858	84.592	78.165	
I(nA)	1.957	1.957	2.446	3.180	3.913	4.647	5.625	6.115	7.582	8.805	9.783	11.251	12.963	14.675	17.121	80.169 \pm 29.607
R(M Ω)	-51.108	0.000	40.886	62.902	76.662	86.076	88.883	98.127	92.324	90.858	91.994	88.883	84.858	81.773	75.932	
I(nA)	2.446	2.690	3.424	3.913	4.158	5.136	6.359	6.848	8.071	9.294	10.517	11.740	13.941	15.409	17.121	73.844 \pm 17.065
R(M Ω)	-40.886	0.000	29.204	51.108	72.152	77.879	78.627	87.613	86.728	86.076	85.576	85.180	78.903	77.879	75.932	

Tabla A.3: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 3. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	100	0	-100	-200	-300	-400	-500	-600	-700	-800	-900	-1000	-1100	-1200	-1300	Resistencia media (MΩ)
I(nA)	-1.223	-2.690	-2.635	-4.138	-4.892	-5.625	-6.359	-6.848	-7.337	-7.582	-8.316	-9.294	-10.028	-10.762	-10.762	84.899 ± 26.367
R(MΩ)	-81.773	0.000	34.072	48.101	61.329	71.107	78.627	87.613	95.401	105.513	108.228	107.395	109.695	111.508	120.800	
I(nA)	1.467	0.245	-0.489	-1.223	-1.957	-2.690	-3.180	-3.424	-3.913	-4.158	-4.647	-5.136	-5.870	-6.359	-6.604	177.553 ± 17.593
R(MΩ)	68.144	0.000	204.431	163.545	153.324	148.677	157.255	175.227	178.877	192.406	193.672	194.697	187.395	188.706	196.860	
I(nA)	1.467	0.000	-0.978	-1.223	-2.201	-2.690	-3.180	-3.180	-3.913	-4.158	-4.402	-4.647	-5.136	-5.870	-5.381	177.898 ± 34.410
R(MΩ)	68.144		102.216	163.545	136.288	148.677	185.847	188.706	178.877	192.406	204.431	215.191	214.166	204.431	241.601	
I(nA)	1.223	0.245	-1.223	-0.978	-1.957	-2.201	-2.201	-3.180	-3.424	-3.913	-4.158	-4.647	-4.647	-5.136	-4.647	195.663 ± 42.820
R(MΩ)	81.773	0.000	81.773	204.431	153.324	181.717	227.146	188.706	204.431	204.431	216.457	215.191	236.710	233.636	279.748	
I(nA)	1.957	0.245	-0.734	-0.978	-1.223	-1.223	-1.957	-2.690	-2.935	-2.690	-3.424	-3.913	-4.158	-3.913	-4.158	250.225 ± 48.340
R(MΩ)	51.108	0.000	136.288	204.431	245.318	327.090	255.539	223.016	238.503	297.355	262.840	255.539	264.558	306.647	312.660	
I(nA)	1.467	0.734	-0.489	-0.978	-2.201	-2.201	-2.446	-2.935	-2.935	-3.424	-3.424	-3.913	-3.913	-3.913	-3.669	226.166 ± 46.567
R(MΩ)	68.144	0.000	204.431	204.431	136.288	181.717	204.431	238.503	233.636	262.840	255.539	281.093	306.647	354.348		
I(nA)	1.223	0.245	-0.245	-1.223	-1.957	-1.712	-1.957	-2.201	-2.446	-2.935	-3.180	-2.935	-3.180	-2.935	-2.690	285.405 ± 81.694
R(MΩ)	81.773	0.000	408.863	163.545	153.324	233.636	255.539	272.575	286.204	272.575	283.059	340.719	345.961	408.863	483.201	
I(nA)	1.712	0.734	-0.245	-0.489	-0.978	-1.223	-1.957	-1.957	-2.690	-2.935	-3.180	-3.180	-3.424	-3.424	-3.669	313.431 ± 43.974
R(MΩ)	58.409	0.000	408.863	408.863	306.647	327.090	255.539	306.647	260.185	272.575	283.059	314.510	321.249	350.454	354.348	

Tabla A.4: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 3. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V (mV)	-200	0	200	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000	2200	2400	2600	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-15.164	-6.115	1.467	10.762	20.056	29.594	39.622	48.916	58.699	68.483	78.755	88.538	99.055	108.594	119.356	25.220 \pm 4.442
R(M Ω)	13.189	0.000	136.288	37.169	29.917	27.032	25.238	24.532	23.850	23.364	22.856	22.589	22.210	22.101	21.784	
I(nA)	-14.186	-4.892	2.935	11.740	21.034	28.861	40.356	50.628	60.656	70.195	80.467	91.229	102.235	112.996	124.247	24.388 \pm 3.898
R(M Ω)	14.099	0.000	68.144	34.072	28.525	27.720	24.780	23.702	23.081	22.794	22.369	21.923	21.519	21.240	20.926	
I(nA)	-13.207	-4.158	2.935	11.984	21.768	31.551	41.334	51.362	60.901	71.662	82.424	92.696	103.702	115.442	127.671	23.746 \pm 3.665
R(M Ω)	15.143	0.000	68.144	33.377	27.564	25.356	24.193	23.364	22.988	22.327	21.838	21.576	21.215	20.790	20.365	
I(nA)	-12.229	-3.913	4.647	13.697	22.257	31.796	42.068	51.851	62.368	73.130	84.136	94.897	106.393	118.133	130.362	22.998 \pm 2.848
R(M Ω)	16.355	0.000	43.038	29.204	26.958	25.161	23.771	23.143	22.447	21.879	21.394	21.075	20.678	20.316	19.945	
I(nA)	-12.718	-3.669	3.913	13.697	22.746	32.529	42.802	53.074	63.346	74.108	85.359	96.609	107.860	120.089	132.074	22.641 \pm 2.857
R(M Ω)	15.725	0.000	51.108	29.204	26.378	24.593	23.364	22.610	22.101	21.590	21.087	20.702	20.397	19.985	19.686	
I(nA)	-11.984	-2.690	5.136	13.941	23.969	34.241	44.025	54.052	65.303	76.554	88.294	99.544	112.018	124.736	137.944	21.879 \pm 2.814
R(M Ω)	16.688	0.000	38.939	28.692	25.032	23.364	22.715	22.201	21.438	20.900	20.387	20.092	19.640	19.241	18.848	
I(nA)	-11.984	-2.690	4.892	14.675	24.458	33.997	45.003	54.786	66.526	77.777	89.027	100.767	113.486	126.448	139.900	21.506 \pm 2.557
R(M Ω)	16.688	0.000	40.886	27.258	24.532	23.532	22.221	21.903	21.044	20.572	20.218	19.848	19.386	18.980	18.585	
I(nA)	-12.474	-2.446	5.381	14.430	24.703	34.730	45.492	55.764	67.015	78.021	90.495	102.969	116.176	129.628	143.324	21.237 \pm 2.751
R(M Ω)	16.034	0.000	37.169	27.720	24.289	23.035	21.982	21.519	20.891	20.507	19.891	19.423	18.937	18.515	18.141	

Tabla A.5: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 4. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	200	0	-200	-400	-600	-800	-1000	-1200	-1400	-1600	-1800	-2000	-2200	-2400	-2600	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-2.446	-10.028	-20.056	-29.350	-39.378	-48.182	-57.966	-66.771	-76.309	-85.359	-93.430	-102.969	-111.529	-119.600	-128.160	17.187 \pm 2.974
R(M Ω)	-81.773	0.000	9.972	13.629	15.237	16.604	17.252	17.972	18.346	18.744	19.266	19.423	19.726	20.067	20.287	
I(nA)	-2.446	-10.028	-19.566	-28.127	-38.399	-47.693	-56.009	-65.059	-74.353	-82.913	-91.229	-99.789	-107.860	-115.687	-123.269	17.682 \pm 3.071
R(M Ω)	-81.773	0.000	10.222	14.221	15.625	16.774	17.854	18.445	18.829	19.297	19.731	20.042	20.397	20.746	21.092	
I(nA)	-2.201	-9.783	-19.322	-29.350	-38.888	-48.182	-56.743	-66.526	-75.086	-83.157	-91.962	-99.789	-108.105	-115.687	-123.269	17.523 \pm 3.093
R(M Ω)	-90.858	0.000	10.351	13.629	15.429	16.604	17.623	18.038	18.645	19.241	19.573	20.042	20.351	20.746	21.092	
I(nA)	-2.935	-11.495	-21.279	-31.062	-41.090	-50.628	-60.656	-69.461	-78.021	-87.560	-96.120	-102.724	-111.529	-118.622	-126.938	16.735 \pm 3.175
R(M Ω)	-68.144	0.000	9.399	12.878	14.602	15.801	16.486	17.276	17.944	18.273	18.727	19.470	19.726	20.292	20.483	
I(nA)	-1.957	-9.539	-18.099	-27.393	-35.709	-45.737	-54.542	-62.857	-71.418	-79.733	-87.805	-95.876	-103.702	-110.551	-117.888	18.444 \pm 3.102
R(M Ω)	-102.216	0.000	11.050	14.602	16.803	17.491	18.335	19.091	19.603	20.067	20.500	20.860	21.215	21.710	22.055	
I(nA)	-1.223	-8.805	-17.610	-26.904	-35.464	-45.492	-53.563	-61.879	-70.928	-78.755	-86.337	-94.164	-101.501	-108.839	-115.931	18.722 \pm 3.138
R(M Ω)	-163.545	0.000	11.357	14.868	16.918	17.585	18.670	19.393	19.738	20.316	20.849	21.240	21.675	22.051	22.427	
I(nA)	0.734	-7.337	-16.632	-26.415	-35.709	-44.269	-52.385	-61.634	-69.216	-77.332	-85.848	-93.430	-100.278	-107.126	-113.975	19.009 \pm 3.067
R(M Ω)	272.575	0.000	12.025	15.143	16.803	18.071	19.017	19.470	20.226	20.637	20.967	21.406	21.939	22.403	22.812	
I(nA)	0.000	-7.827	-17.121	-25.926	-33.997	-44.025	-52.829	-61.145	-69.216	-77.332	-84.625	-92.207	-99.055	-105.414	-112.018	19.191 \pm 3.160
R(M Ω)	0.000	0.000	11.682	15.429	17.649	18.172	18.929	19.625	20.226	20.637	21.270	21.690	22.210	22.767	23.211	

Tabla A.6: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.2 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 4. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente variable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	-100	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-9.539	0.489	11.006	20.056	29.839	39.867	50.139	58.944	68.727	77.777	87.071	96.365	105.414	115.687	124.492	10.221 \pm 0.178
R(M Ω)	10.484	0.000	9.086	9.972	10.054	10.033	9.972	10.179	10.185	10.286	10.336	10.377	10.435	10.373	10.442	
I(nA)	-9.049	1.467	10.762	20.056	30.083	39.867	49.895	58.944	68.238	78.021	87.315	95.631	104.681	113.241	122.780	
R(M Ω)	11.050	0.000	9.292	9.972	9.972	10.033	10.021	10.179	10.258	10.254	10.307	10.457	10.508	10.597	10.588	
I(nA)	-8.560	1.957	10.762	20.300	30.083	40.111	50.139	58.455	67.993	76.554	86.092	95.142	103.458	112.018	122.290	10.310 \pm 0.302
R(M Ω)	11.682	0.000	9.292	9.852	9.972	9.972	10.264	10.264	10.295	10.450	10.454	10.511	10.632	10.713	10.630	
I(nA)	-8.071	1.957	11.251	20.056	30.328	39.867	49.161	58.210	67.749	76.309	86.092	93.919	102.479	111.529	120.089	
R(M Ω)	12.390	0.000	8.888	9.972	9.892	10.033	10.171	10.307	10.332	10.484	10.454	10.647	10.734	10.760	10.825	

Tabla A.7: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 5. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	-100	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-8.316	2.201	12.229	22.501	32.285	41.579	51.851	60.411	69.706	78.266	86.826	95.631	103.702	110.795	118.622	10.072 \pm 0.627
R(M Ω)	12.025	0.000	8.177	8.888	9.292	9.620	9.643	9.932	10.042	10.222	10.366	10.457	10.607	10.831	10.959	
I(nA)	-9.783	1.957	13.697	25.436	36.687	47.449	58.699	68.727	78.755	87.560	96.609	105.170	112.996	121.068	129.383	9.022 \pm 0.704
R(M Ω)	10.222	0.000	7.301	7.863	8.177	8.430	8.518	8.730	8.888	9.137	9.316	9.508	9.735	9.912	10.048	
I(nA)	-7.093	2.201	11.006	20.056	29.350	37.910	46.226	53.808	61.634	69.216	75.820	82.668	89.027	95.387	101.990	11.440 \pm 0.924
R(M Ω)	14.099	0.000	9.086	9.972	10.222	10.551	10.816	11.151	11.357	11.558	11.870	12.097	12.356	12.580	12.746	
I(nA)	-6.115	2.201	11.006	18.099	25.436	33.508	41.579	48.182	54.786	61.145	67.993	73.619	83.402	88.049	92.452	12.735 \pm 0.895
R(M Ω)	16.335	0.000	9.086	11.050	11.794	11.938	12.025	12.453	12.777	13.084	13.237	13.583	13.189	13.629	14.061	
I(nA)	-5.381	2.201	9.539	17.365	24.703	31.551	38.644	45.492	51.851	57.966	64.080	69.216	75.331	80.712	87.071	13.555 \pm 1.097
R(M Ω)	18.585	0.000	10.484	11.517	12.144	12.678	12.939	13.189	13.500	13.801	14.045	14.447	14.602	14.868	14.930	
I(nA)	-5.870	2.446	9.539	16.632	24.214	31.062	38.644	44.758	51.117	56.498	62.857	67.749	73.130	78.021	83.891	13.874 \pm 1.170
R(M Ω)	17.036	0.000	10.484	12.025	12.390	12.878	12.939	13.405	13.694	14.160	14.318	14.760	15.042	15.380	15.496	
I(nA)	-5.625	1.957	10.517	17.121	24.703	32.529	40.111	45.492	52.585	57.721	63.591	68.972	74.842	79.733	84.870	13.555 \pm 1.223
R(M Ω)	17.777	0.000	9.508	11.682	12.144	12.297	12.465	13.189	13.312	13.860	14.153	14.499	14.698	15.050	15.318	
I(nA)	-6.604	2.201	11.006	20.056	29.350	37.421	45.492	52.829	60.167	66.526	73.374	79.978	85.603	91.473	97.588	11.746 \pm 1.121
R(M Ω)	15.143	0.000	9.086	9.972	10.222	10.689	10.991	11.357	11.634	12.025	12.266	12.503	12.850	13.119	13.321	

Tabla A.8: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	100	0	-100	-200	-300	-400	-500	-600	-700	-800	-900	-1000	-1100	-1200	-1300	Resistencia media (MΩ)
I(nA)	11.740	2.690	-7.582	-17.365	-27.393	-37.421	-47.693	-57.721	-67.749	-78.510	-89.517	-100.278	-111.284	-122.535	-134.275	8.853 ± 0.529
R(MΩ)	8.518	0.000	13.189	11.517	10.952	10.689	10.484	10.395	10.332	10.190	10.054	9.972	9.885	9.793	9.682	
I(nA)	11.984	2.201	-7.582	-17.365	-27.393	-36.932	-47.938	-58.455	-69.461	-80.223	-91.229	-102.479	-114.219	-125.225	-137.699	8.737 ± 0.633
R(MΩ)	8.344	0.000	13.189	11.517	10.952	10.831	10.430	10.264	10.078	9.972	9.865	9.758	9.631	9.583	9.441	
I(nA)	11.251	2.446	-7.337	-16.632	-26.904	-36.198	-47.693	-58.944	-69.706	-81.445	-93.919	-105.170	-118.622	-130.851	-141.123	8.679 ± 0.899
R(MΩ)	8.888	0.000	13.629	12.025	11.151	11.050	10.484	10.179	10.042	9.823	9.583	9.508	9.273	9.171	9.212	
I(nA)	14.919	3.913	-7.337	-17.854	-29.105	-41.334	-53.074	-64.080	-76.554	-88.049	-101.501	-113.730	-127.182	-141.612	-156.776	7.948 ± 0.821
R(MΩ)	6.703	0.000	13.629	11.202	10.307	9.677	9.421	9.363	9.144	9.086	8.867	8.793	8.649	8.474	8.292	
I(nA)	13.697	2.690	-7.337	-17.365	-28.861	-40.356	-52.096	-62.857	-75.331	-88.294	-100.767	-114.219	-128.405	-142.591	-156.776	8.020 ± 0.926
R(MΩ)	7.301	0.000	13.629	11.517	10.395	9.912	9.598	9.545	9.292	9.061	8.931	8.755	8.567	8.416	8.292	
I(nA)	12.963	2.446	-7.093	-16.632	-28.127	-38.399	-50.139	-61.390	-73.863	-87.071	-101.012	-114.708	-128.894	-143.080	-157.266	8.167 ± 1.113
R(MΩ)	7.714	0.000	14.099	12.025	10.666	10.417	9.972	9.774	9.477	9.188	8.910	8.718	8.534	8.387	8.266	
I(nA)	11.984	2.446	-7.093	-16.876	-26.904	-36.932	-49.161	-60.411	-72.641	-84.625	-99.055	-112.752	-128.160	-142.346	-157.755	8.302 ± 1.144
R(MΩ)	8.344	0.000	14.099	11.851	11.151	10.831	10.171	9.932	9.636	9.453	9.086	8.869	8.583	8.430	8.241	
I(nA)	11.984	1.957	-7.582	-17.121	-27.882	-38.155	-49.650	-60.656	-72.641	-85.114	-98.322	-111.774	-125.959	-140.145	-150.173	8.284 ± 0.958
R(MΩ)	8.344	0.000	13.189	11.682	10.760	10.484	10.071	9.892	9.636	9.399	9.154	8.947	8.733	8.563	8.657	

Tabla A.9: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	-20	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	Resistencia media (M Ω)
I(nA)	-47.693	-39.133	-27.148	-17.121	-6.359	3.180	11.495	20.545	29.594	39.378	49.895	60.656	67.260	78.510	89.027	1.746 \pm 0.799
R(M Ω)	0.419	0.256	0.000	-0.584	-3.145	9.435	3.480	2.434	2.027	1.778	1.603	1.484	1.487	1.401	1.348	
I(nA)	-51.851	-42.557	-28.616	-26.904	-16.632	-8.071	0.245	9.539	19.077	27.882	38.399	49.405	56.743	69.216	79.244	2.228 \pm 1.356
R(M Ω)	0.386	0.235	0.000	-0.372	-1.203	-3.717	163.545	5.242	3.145	2.511	2.083	1.822	1.762	1.589	1.514	
I(nA)	-62.613	-44.269	-34.730	-25.192	-17.610	-8.560	0.489	8.071	16.876	25.681	34.975	47.449	57.721	66.526	76.309	2.438 \pm 1.663
R(M Ω)	0.319	0.226	0.000	-0.397	-1.136	-3.505	81.773	6.195	3.555	2.726	2.287	1.897	1.732	1.653	1.573	
I(nA)	-36.932	-25.926	-17.854	-9.783	-0.978	7.582	17.121	25.192	34.241	46.470	55.520	52.096	68.972	78.021	88.783	1.530 \pm 0.469
R(M Ω)	0.542	0.386	0.000	-1.022	-20.443	3.957	2.336	1.985	1.752	1.506	1.441	1.728	1.450	1.410	1.352	
I(nA)	-50.139	-40.600	-31.796	-22.257	-15.164	-6.848	1.957	12.474	22.012	30.817	44.025	54.786	62.613	70.439	80.956	1.945 \pm 0.997
R(M Ω)	0.399	0.246	0.000	-0.449	-1.319	-4.381	20.443	4.008	2.726	2.271	1.817	1.643	1.597	1.562	1.482	
I(nA)	-47.204	-38.644	-29.839	-21.523	-12.474	-3.669	4.402	12.718	22.257	31.306	43.535	53.563	62.368	71.907	81.201	1.935 \pm 0.968
R(M Ω)	0.424	0.259	0.000	-0.465	-1.603	-8.177	9.086	3.931	2.696	2.236	1.838	1.680	1.603	1.530	1.478	
I(nA)	-46.226	-38.888	-29.594	-22.012	-12.718	-2.446	5.381	13.697	20.300	30.573	45.247	53.319	63.102	70.439	80.467	1.936 \pm 0.930
R(M Ω)	0.433	0.257	0.000	-0.454	-1.573	-12.266	7.434	3.651	2.956	2.290	1.768	1.688	1.585	1.562	1.491	
I(nA)	-47.938	-38.399	-29.594	-21.523	-10.272	-3.669	4.647	13.452	21.279	31.551	43.046	54.052	62.857	72.151	81.935	1.920 \pm 0.931
R(M Ω)	0.417	0.260	0.000	-0.465	-1.947	-8.177	8.608	3.717	2.820	2.219	1.858	1.665	1.591	1.525	1.465	

Tabla A.10: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 7. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad positiva y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

APÉNDICE A. RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OBTENIDA

V(mV)	20	10	0	-10	-20	-30	-40	-50	-60	-70	-80	-90	-100	-110	-120	Resistencia media (MΩ)
I(nA)	-24.214	-28.616	-35.220	-43.535	-52.096	-68.238	-73.130	-79.489	-88.538	-97.832	-107.126	-116.176	-124.247	-132.318	-143.080	0.655 ± 0.154
R(MΩ)	-0.826	-0.349	0.000	0.230	0.384	0.440	0.547	0.629	0.678	0.716	0.747	0.775	0.805	0.831	0.839	
I(nA)	-22.257	-31.306	-40.600	-50.384	-61.390	-68.483	-77.288	-86.092	-95.631	-106.148	-114.708	-121.801	-132.563	-138.922	-149.439	0.613 ± 0.149
R(MΩ)	-0.899	-0.319	0.000	0.198	0.326	0.438	0.518	0.581	0.627	0.659	0.697	0.739	0.754	0.792	0.803	
I(nA)	-24.703	-34.486	-41.823	-50.873	-60.167	-68.483	-77.288	-86.582	-94.653	-104.681	-113.241	-120.089	-128.894	-136.476	-145.770	0.621 ± 0.154
R(MΩ)	-0.810	-0.290	0.000	0.197	0.332	0.438	0.518	0.577	0.634	0.669	0.706	0.749	0.776	0.806	0.823	
I(nA)	-24.703	-35.709	-42.557	-50.873	-60.411	-68.238	-77.777	-86.826	-94.897	-104.436	-112.507	-119.845	-130.362	-140.634	-149.194	0.617 ± 0.151
R(MΩ)	-0.810	-0.280	0.000	0.197	0.331	0.440	0.514	0.576	0.632	0.670	0.711	0.751	0.767	0.782	0.804	
I(nA)	-29.594	-37.421	-46.226	-55.520	-64.814	-72.151	-80.223	-88.783	-96.854	-107.371	-114.464	-123.758	-132.807	-141.857	-148.950	0.601 ± 0.154
R(MΩ)	-0.676	-0.267	0.000	0.180	0.309	0.416	0.499	0.563	0.619	0.652	0.699	0.727	0.753	0.775	0.806	
I(nA)	-25.436	-33.997	-43.780	-52.829	-60.901	-69.706	-76.554	-86.826	-96.365	-103.947	-113.241	-124.003	-130.606	-139.411	-147.971	0.614 ± 0.150
R(MΩ)	-0.786	-0.294	0.000	0.189	0.328	0.430	0.523	0.576	0.623	0.673	0.706	0.726	0.766	0.789	0.811	
I(nA)	-22.012	-30.573	-39.867	-47.938	-56.498	-65.059	-74.842	-83.157	-92.452	-101.746	-110.306	-119.356	-127.427	-136.232	-145.526	0.636 ± 0.148
R(MΩ)	-0.909	-0.327	0.000	0.209	0.354	0.461	0.534	0.601	0.649	0.688	0.725	0.754	0.785	0.807	0.825	
I(nA)	-15.898	-25.681	-32.040	-43.780	-52.829	-61.145	-68.972	-77.777	-87.560	-95.631	-104.192	-113.975	-124.003	-132.318	-140.145	0.670 ± 0.149
R(MΩ)	-1.258	-0.389	0.000	0.228	0.379	0.491	0.580	0.643	0.685	0.732	0.768	0.790	0.806	0.831	0.856	

Tabla A.11: Datos obtenidos al aplicar los protocolos de estimulación de la tabla 4.1 a la neurona de *Helix aspersa* etiquetada con el número 6. Se aplicaron pulsos de voltaje de polaridad negativa y de diferente duración. En todos los casos se encontró una corriente estable como respuesta.

Apéndice B

Longitud electrotónica obtenida

En este apéndice se presenta la longitud electrotónica calculada a partir de la corriente capacitiva registrada al estimular a las neuronas de *Helix aspersa*, con los protocolos de estimulación de las tablas 4.1 y 4.2. Recordemos que en los protocolos de estimulación, lo que se hace es fijar el tiempo de los estímulos y se realiza un barrido (discreto) de voltaje (ver sección 4.1). En las tablas de este apéndice la primera columna indica este *tiempo*. Al aplicar los estímulos se obtienen respuestas de la corriente, en particular estamos interesados en las corrientes capacitivas y el tiempo Δt (mostrado en la segunda columna) en el cual la corriente capacitiva pasa de su valor máximo al valor inicial de la corriente de fuga; i.e. cuanto dura la corriente capacitiva. El valor de Δt se considera constante para cada corriente capacitiva obtenida al aplicar pulsos de voltaje de la misma duración (*tiempo constante*).

Al hacer el ajuste de la corriente capacitiva con el programa pClamp, se obtienen los valores de las primeras dos constantes de tiempo del circuito eléctrico propuesto en la teoría de Rall, τ_0 y τ_1 (mostrados en la tercera y cuarta columna respectivamente). Estas constantes deben cumplir dos condiciones:

- a) $\tau_0 > \tau_1$.
- b) τ_0 y τ_1 deben ser siempre positivas.

El número de datos registrados que cumplen estas condiciones para estímulos de la misma duración se denota por *núm* (mostrado en la quinta columna).

Con la Ec. (2.35) se calcula la longitud electrotónica para diferentes valores de ρ . Los valores de la longitud electrotónica para cada caso se muestran en las columnas sexta a novena respectivamente. El promedio de cada uno de los valores de τ y L se muestran en la última fila de cada tabla.

Finalmente cabe aclarar que el apéndice se ha dividido en secciones. Cada una de éstas, se refiere a la longitud electrotónica encontrada para una neurona diferente.

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

Neurona 1 estimulada con voltajes de polaridad positiva y negativa

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
20 ms	3.1 ms	1.18566	0.146449	13	0.8339235	0.35558618	0.11734931	0.03727556	
		3.26261	0.260119		0.6538529	0.27880381	0.09200986	0.02922658	
		3.45157	0.316585		0.70593109	0.30101003	0.09933828	0.03155442	
		1.67369	0.176296		0.76223355	0.32501748	0.10726113	0.03407109	
		0.579222	0.492358		5.28877952	2.25514316	0.74423446	0.23640324	
		0.389799	0.162244		1.87575454	0.79982442	0.26395526	0.08384438	
		0.738564	0.200322		1.35522189	0.57786855	0.19070616	0.06057708	
		1.3542	0.150402		0.78520828	0.33481394	0.11049412	0.03509804	
		1.80265	0.245218		0.8814679	0.37585918	0.12403973	0.03940075	
		0.837192	0.0700143		0.67108922	0.28615341	0.09443535	0.02999703	
		0.913723	0.149452		0.9823405	0.4188714	0.13823447	0.04390965	
		-1.23502	0.304174						
		3.30541	0.293862			0.69392366	0.29589004	0.0976486	0.0310177
		1.50923	0.231139			0.94469279	0.40281836	0.13293671	0.04222684
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
			1.61565538		0.22265079		1.2641861	0.53905077	0.17789565

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
30 ms	3.3 ms	1.46208	0.0502334	10	0.41902256	0.17867182	0.05896465	0.0187299	
		2.57746	0.269752		0.75949826	0.32385115	0.10687622	0.03394882	
		6.30408	0.669445		0.76570138	0.32649617	0.10774912	0.0342261	
		2.59359	0.510831		1.10015528	0.46910779	0.15481331	0.04917586	
		0.660613	0.558825		5.20504511	2.21943869	0.73245139	0.23266039	
		0.215821	0.203445		9.00675263	3.84049222	1.26742581	0.40259298	
		0.643289	-0.300122						
		0.555528	-0.675959						
		0.899255	0.140044			0.9540824	0.4068221	0.13425801	0.04264654
		-1.20569	0.426511						
		-67.5074	0.554505						
		3.3241	0.19981			0.56178199	0.23954465	0.07905369	0.0251111
		1.68215	0.22987			0.88379358	0.37685085	0.124367	0.0395047
		1.05418	0.161538			0.94500383	0.40295099	0.13298047	0.04224074
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
			2.0773329		0.29937934		2.0600837	0.87842264	0.28989397

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
40 ms	3.3 ms	1.39568	0.17486	12	0.84072564	0.35848662	0.1183065	0.03757961	
		1.82232	0.488791		1.34491626	0.57347422	0.18925596	0.06011643	
		2.30083	0.173866		0.63512928	0.27082004	0.08937508	0.02838965	
		0.654926	0.559452		5.37741719	2.29293839	0.75670751	0.24036525	
		3.52764	1.15763		1.5525467	0.66200814	0.21847361	0.06939731	
		1.22893	0.930955		3.92653348	1.6742795	0.55253986	0.17551218	
		1.55074	0.168914		0.77667803	0.33117662	0.10929375	0.03471674	
		0.671483	0.199297		1.44320725	0.61538564	0.20308742	0.06450994	
		1.79969	0.155137		0.68228941	0.29092918	0.09601143	0.03049767	
		0.611073	-0.617492						
		3.84243	0.352806			0.70633957	0.30118421	0.09939576	0.03157268
		2.6906	0.309978			0.80159517	0.34180133	0.11280008	0.03583051
		1.47184	0.302986			1.1310089	0.48226381	0.15915502	0.05055498
		-4.08866	0.490687						
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
			1.91309242		0.414556		1.60153224	0.68289564	0.22536683

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
50 ms	3.8 ms	0.676235	0.581243	12	5.49503201	2.34308952	0.77325821	0.24562252	
		2.04772	0.189693		0.70979758	0.30265871	0.09988237	0.03172725	
		2.3208	0.194765		0.67236505	0.28669742	0.09461488	0.03005406	
		0.560194	-0.809196						
		1.3139	0.980034			3.80600495	1.62288597	0.53557915	0.17012467
		0.539532	0.474512			6.00115705	2.55890196	0.84447987	0.26824581
		0.512692	-0.410875						
		6.04639	0.350164			0.55077855	0.23485276	0.07750529	0.02461926
		0.771987	0.173897			1.19783679	0.51075933	0.16855901	0.05354213
		1.0985	0.082092			0.63132248	0.26919681	0.08883939	0.02821949
		3.50648	0.262208			0.6315376	0.26928854	0.08886966	0.02822911
		1.95497	0.245768			0.84236603	0.35918608	0.11853733	0.03765293
		1.72273	0.225794			0.86275892	0.36788164	0.12140701	0.03856447
		3.30437	0.337977			0.74983223	0.31972954	0.10551602	0.03351676
					Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom
		2.1086345	0.34151225		1.8458991	0.78709402	0.25975402	0.08250987	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
60 ms	2.8 ms	0.951544	0.209782	11	1.18137206	0.50373874	0.1662421	0.05280617	
		1.1206	0.230992		1.13196762	0.48267262	0.15928993	0.05059784	
		0.455428	-0.565271						
		0.962433	0.1514			0.95979515	0.40925803	0.1350619	0.0429019
		7.00244	0.0790719			0.23740357	0.10122922	0.03340731	0.01061171
		-0.963165	0.332263						
		0.616817	0.538982			5.84567331	2.49260347	0.82260028	0.26129584
		1.9082	0.277109			0.91563228	0.39042692	0.12884732	0.04092786
		2.16735	0.243195			0.78975461	0.3367525	0.11113388	0.03530125
		1.16996	0.22164			1.07394364	0.45793111	0.15112482	0.04800422
		8.20348	0.260845			0.40257225	0.17165738	0.05664977	0.01799458
		6.23727	0.261471			0.46467429	0.19813778	0.06538874	0.02077048
		-3.55038	0.308133						
		1.19871	0.206956			1.01478001	0.43270365	0.14279935	0.04535967
					Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom
		2.867164	0.24376763		1.27432444	0.54337377	0.17932231	0.05696105	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
70 ms	3.1 ms	1.24583	0.582775	11	2.08262249	0.88803321	0.29306561	0.09309118	
		1.39512	0.316698		1.20382447	0.51331248	0.16940159	0.05380977	
		2.17338	0.12978		0.55981021	0.23870387	0.07877622	0.02502297	
		1.83635	0.587663		1.52395539	0.64981676	0.21445025	0.06811931	
		-1.77177	0.398183						
		0.728878	0.101842			0.89526601	0.38174271	0.12598139	0.04001751
		1.29406	0.168266			0.85882286	0.3662033	0.12085313	0.03838854
		0.688957	0.20087			1.42509493	0.60766252	0.20053866	0.06370034
		0.560528	-0.526325						
		10.2858	1.04159						
		4.49064	0.315313			0.61046471	0.26030303	0.08590429	0.02728717
		0.911188	0.107884			0.81409189	0.34712995	0.11455861	0.03638911
		1.63979	0.213104			0.85855175	0.36608769	0.12081498	0.03837642
		1.26793	0.225445			1.03304745	0.44049291	0.14536993	0.0461762
					Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom
		1.60655664	0.26814909		1.07868656	0.45995349	0.15179224	0.04821623	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
80 ms	3.7 ms	1.175006	0.221799	11	1.07157126	0.45691952	0.15079098	0.04789818	
		0.633373	-0.64772						
		0.806269	-0.489526						
		1.53922	0.374136			1.25884136	0.53677176	0.17714354	0.05626897
		5.03706	0.190985			0.44100086	0.1880434	0.06205742	0.0197123
		0.858507	0.160147			1.06378681	0.45360022	0.14969556	0.04755022
		0.523457	-0.496941						
		2.0199	0.186056			0.70757995	0.30171311	0.0995703	0.03162813
		1.44646	0.15183			0.76074803	0.32438405	0.10705209	0.03400469
		1.45848	0.500035			1.60454344	0.68417962	0.22579056	0.07172151
		1.04158	0.117256			0.79120732	0.33737194	0.11133831	0.03536619
		1.61136	0.200829			0.83821759	0.35741718	0.11795357	0.0374675
		1.52581	0.20886			0.88466301	0.37722157	0.12448934	0.03954357
		2.09144	0.316132			0.93741576	0.39971542	0.13191268	0.04190156
					Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom
		1.80043845	0.238915		0.94177958	0.40157616	0.13252676	0.04209662	

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
90 ms	2.4 ms	1.7997	0.415858	12	1.21776686	0.51925753	0.17136355	0.05443298
		0.508601	-0.210357					
		0.775871	1.87078					
		8.67516	3.21237		1.70349319	0.72637194	0.23971473	0.07614447
		2.10032	1.01174		2.14160395	0.91318299	0.30136546	0.09572759
		1.52214	1.16126		3.9849071	1.6991701	0.56075417	0.17812142
		0.649524	0.408972		2.8965243	1.23508211	0.40759748	0.12947179
		0.920489	0.316655		1.60867854	0.68594283	0.22637245	0.07190635
		1.32403	0.136053		0.75176988	0.32055575	0.10578869	0.03360337
		0.721338	0.175795		1.26102484	0.5377028	0.1774508	0.05636657
		2.41022	0.24152		0.74133019	0.31610425	0.10431962	0.03313673
		0.807734	0.175008		1.16830433	0.49816664	0.16440321	0.05222205
		1.07605	0.133418		0.83573963	0.35636058	0.11760487	0.03735674
		0.73871	0.113253		0.94528116	0.40306924	0.1330195	0.04225314
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.89545125	0.6251585		1.604702	0.68424723	0.22581288	0.0717286

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
100 ms	3.4 ms	1.05517	0.201064	9	1.07781978	0.4595839	0.15167027	0.04817748
		3.48197	-35.8414					
		0.540968	-0.363094		0.85936121	0.36643285	0.12092889	0.0384126
		1.47408	0.191883					
		0.61257	1.47448		6.89146887	2.9385322	0.96976412	0.30804187
		0.55592	0.503593		1.18884314	0.50692442	0.16729342	0.05314012
		1.08201	0.240898		1.80978226	0.77169375	0.25467167	0.08089549
		8.03359	3.20489					
		0.148883	-0.562525		0.93658777	0.39936237	0.13179617	0.04186455
		1.4657	0.221216		1.0114655	0.43129034	0.14233293	0.04521151
		1.81175	0.311107					
		0.749345	-1.14701		2.61319271	1.11426912	0.3677272	0.11680714
		0.860871	0.499737		0.75072316	0.32010943	0.10564139	0.03355659
		3.75985	0.385385					
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		2.23321567	0.63997478		1.90436049	0.81202204	0.26798067	0.08512304

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
110 ms	2.8 ms	0.912245	0.461604	9	2.24830023	0.95867844	0.3163797	0.10049681
		0.635376	0.680285					
		0.883302	0.594754		3.18929378	1.35991944	0.44879586	0.14255829
		1.36392	0.121245		0.69388582	0.29587391	0.09764327	0.03101601
		2.04364	1.32865		3.02823927	1.29124556	0.42613234	0.13535931
		2.63805	0.557929		1.15048257	0.49056742	0.16189534	0.05142544
		0.367409	-0.553916					
		0.65924	-0.615339					
		1.76653	0.308525		1.02188153	0.43573175	0.14379867	0.0456771
		1.05968	0.251453		1.23907219	0.52834216	0.17436163	0.05538531
		2.10163	0.278581		0.86838328	0.37027987	0.12219847	0.03881588
		0.430913	-0.809566					
		4.0608	0.393689		0.72786274	0.31036171	0.10242449	0.03253475
		-4.65355	0.444798					
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.86997744	0.47738111		1.57415571	0.67122225	0.22151442	0.07036321

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
120 ms	2.9 ms	1.23399	0.241665	8	1.09626308	0.46744815	0.1542656	0.04900188
		0.578593	-0.838445					
		0.853808	0.853796		592.544962	252.662021	83.382636	26.4861765
		1.13304	0.215126		1.0754255	0.45856297	0.15133335	0.04807046
		-1.7353	0.153168					
		1.5093	-15.9206					
		0.402896	1.80263					
		1.83454	0.400138		1.1732872	0.50029134	0.1651044	0.05244478
		1.05252	4.30793					
		0.554353	-0.936843					
		1.49359	0.124266		0.66920307	0.28534915	0.09416993	0.02991272
		1.33988	0.335427		1.28371635	0.54737849	0.18064393	0.05738086
		3.58672	0.283101		0.65029528	0.27728684	0.09150923	0.02906756
		1.57134	0.400437		1.29909681	0.55393674	0.18280826	0.05806835
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.6308635	0.3567445		74.9740311	31.9690343	10.5503088	3.35126539

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
130 ms	2.9 ms	0.378255	-0.78109	4	2.24493563	0.95724377	0.31590624	0.10034641
		0.647259	3.59649					
		0.704034	0.704036					
		0.39326	-0.36346					
		0.513228	-0.516495					
		0.279694	-1.69369					
		0.876032	0.442624					
		-0.991979	0.378249					
		1.34825	-0.343928					
		1.53385	0.19885					
		9.88448	0.391534					
		1.07824	0.316632					
		1.3214	0.22282					
-5.50407	0.266018							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.2023805	0.2952315		1.38376911	0.59004113	0.19472331	0.06185312

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
140 ms	2.8 ms	0.96282	0.14116	8	0.92075615	0.39261174	0.12956835	0.04115689
		0.796044	0.375653					
		0.797911	0.634563					
		0.729452	0.940554					
		2.12215	1.58156					
		0.12656	0.302417					
		0.956533	0.460558					
		0.897414	-0.629129					
		2.11543	0.517201					
		0.806777	-0.735263					
		11.9385	0.36263					
		1.21225	0.230718					
		0.759106	0.444762					
0.783634	-0.346205							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.2152805	0.54827188		2.29031065	0.97659174	0.32229139	0.10237463

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
150 ms	3.2 ms	1.12206	0.23942	10	1.15697316	0.49333501	0.1628087	0.05171556
		0.925852	0.487849					
		0.889349	-0.55958					
		3.30389	1.07573					
		3.15727	2.1093					
		0.504104	0.467725					
		0.683709	1.21655					
		0.474154	0.490179					
		2.17353	0.258017					
		2.46197	0.252161					
		-1.74423	0.361764					
		0.76453	0.329782					
		1.62921	0.193731					
6.46277	0.365883							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		2.2505186	0.5779598		2.10226278	0.89640786	0.29582939	0.09396908

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
160 ms	3.0 ms	7.47708	0.369075	4	0.50619555	0.21584251	0.07123159	0.02262644
		1.59538	-22.4214					
		5.05493	0.1955					
		0.502804	-0.929678					
		0.493035	-0.430792					
		1.22537	-14.0635					
		-1.22027	-1.01445					
		-1.46558	0.137428					
		0.901905	-0.313549					
		1.06833	0.302158					
		1.24954	-3.77214					
		0.958046	-1.0361					
		0.804281	6.26139					
1.29495	0.200286							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		3.7238225	0.26675475		0.82425559	0.35146376	0.11598884	0.03684341

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
170 ms	2.8 ms	0.756768	-1.60593	5	6.89211598	2.93880813	0.96985518	0.3080708
		0.720884	0.653041					
		0.733247	-0.370401		6.15767461	2.62564128	0.86650495	0.27524199
		0.735535	1.43533					
		0.886915	0.784778		2.59111528	1.10485527	0.36462047	0.1158203
		2.06915	4.80502					
		280.679	-279.603		1.53969548	0.65652836	0.21666519	0.06882287
		0.587369	-0.506567					
		1.12584	1.82138		9.3687566	3.99485124	1.31836683	0.4187742
		0.877791	0.505927					
		1.18986	-5.30021					
1.38023	0.447892							
1.11011	-0.585841							
1.06107	1.00459							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		0.985378	0.6792456		5.30987159	2.26413685	0.74720252	0.23734603

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
180 ms	3.3 ms	0.958567	3.91457	6	3.34785227	1.42752901	0.47110813	0.1496457
		0.46025	-0.773911					
		0.724707	0.503168		1.49285438	0.63655525	0.21007374	0.06672912
		1.31695	0.409717					
		-2.72756	0.389658		0.98370766	0.41945435	0.13842686	0.04397076
		0.823945	-0.289355					
		1.02079	8.15585		0.95746807	0.40826576	0.13473444	0.04279788
		1.85221	0.30366					
		0.50789	-0.398512		0.78035171	0.33274309	0.10981071	0.03488095
		-1.95092	0.394942					
		2.60952	0.408826		2.1473644	0.91563926	0.30217606	0.09598507
1.83804	0.201898							
-34.5547	0.421693							
0.949883	0.45884							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.54855167	0.38101817		1.61826641	0.69003112	0.22772166	0.07233492

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
190 ms	3.6 ms	-1.31494	0.407751	7	1.55687733	0.66385473	0.21908301	0.06959088
		0.917677	0.302273					
		0.608998	-0.621565		0.54158556	0.23093286	0.07621165	0.02420834
		0.677178	5.89981					
		0.125355	0.622685		0.61821869	0.26360933	0.08699543	0.02763377
		0.581483	-0.520314					
		4.70954	0.264221		0.95378957	0.40669724	0.1342168	0.04263345
		0.228731	-8.19447					
		-2.24286	0.333628		1.64240997	0.70032596	0.23111912	0.07341411
		1.76927	0.127178					
		1.17635	0.183102		0.56623629	0.24144397	0.07968049	0.0253102
0.894911	0.316291							
6.3456	0.387133	0.83658135	0.35671949	0.11772332	0.03739436			
1.16278	0.144426							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		2.42516114	0.24637486		0.95938554	0.40908337	0.13500426	0.04288359

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
200 ms	3.4 ms	0.790298	-0.836874	7	1.09319839	0.46614136	0.15383434	0.04886489
		0.901683	-0.04878					
		2.0905	0.407564		5.5808318	2.37967468	0.78533191	0.24945769
		1.13453	0.979358					
		2.4561	1.81017		3.71879149	1.58569802	0.52330651	0.16622632
		-31.2704	9.75272					
		0.682789	-0.335539		1.32168529	0.5635685	0.1859869	0.05907803
		1.16621	0.304894					
		1.07792	-1.58321		7.36773963	3.14161474	1.0367847	0.32933071
		0.698409	0.640209					
		1.11536	0.416899		1.71624475	0.73180922	0.24150912	0.07671445
1.17853	1.02072							
0.896346	-0.510696	5.64964198	2.40901543	0.79501484	0.25253344			
1.48696	-3.20373							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.40566271	0.79711629		3.77830476	1.61107456	0.53168119	0.1688865

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

Neurona 2 estimulada con voltajes de polaridad positiva y negativa

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
20 ms	2.8 ms	1.76896	0.183893	12	0.7566476	0.32263562	0.10647508	0.0338214	
		1.07936	0.17682		0.98325766	0.41926248	0.13836354	0.04395065	
		0.78456	0.110231		0.89815404	0.38297417	0.1263878	0.0401466	
		-4.63162	0.312712						
		1.75378	0.267286		0.94197939	0.40166136	0.13255488	0.04210555	
		1.23628	-0.280463						
		1.82951	0.242086		0.86750751	0.36990644	0.12207523	0.03877673	
		1.9417	0.225507		0.80525202	0.34336062	0.11331467	0.03599397	
		0.939248	0.0962781		0.75074526	0.32011885	0.1056445	0.03355757	
		3.70651	0.203463		0.53537072	0.22828284	0.0753371	0.02393054	
		6.22943	0.314796		0.51249017	0.21852654	0.07211737	0.02290781	
		1.05526	0.141553		0.87436132	0.37282892	0.1230397	0.03908309	
		2.89909	0.310747		0.76971054	0.32820568	0.10831329	0.0344053	
		1.29975	0.174373		0.87443086	0.37285857	0.12304948	0.0390862	
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom	
		2.10726317	0.20391943		0.79749226	0.34005184	0.11222272	0.03564712	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
30 ms	3.1 ms	1.8585	0.199551	8	0.77045151	0.32852163	0.10841756	0.03443842	
		2.43374	0.187898		0.64254915	0.27398388	0.0904192	0.02872131	
		1.27128	-0.502581						
		0.58126	-0.217743						
		0.698655	0.583641		5.00417418	2.13378704	0.70418493	0.22368166	
		-2.44012	0.180174						
		0.512559	-0.807052						
		15.3866	0.195933						
		1.07337	0.831192		4.11545832	1.75483733	0.57912527	0.18395694	
		-2.32178	0.598978						
		1.58973	0.243695		0.9452137	0.40304048	0.13301001	0.04225012	
		1.66992	0.227355		0.88190019	0.3760435	0.12410056	0.03942007	
		1.79033	0.314902		1.02627458	0.43760495	0.14441686	0.04587346	
		2.11657	0.242684		0.7994363	0.34088078	0.11249628	0.03573402	
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom	
		1.65385188	0.35386475		1.77318224	0.75608745	0.24952133	0.0792595	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
40 ms	2.8 ms	-0.971778	0.530853	10					
		2.7526	0.10359		0.43929068	0.18731418	0.06181677	0.01963586	
		1.58423	0.146652		0.70951758	0.30253931	0.09984297	0.03171474	
		0.931278	0.276813		1.44472405	0.61603241	0.20330086	0.06457774	
		0.547358	0.476835		5.77635064	2.46304419	0.81284523	0.25819719	
		2.31406	-0.435357						
		0.606048	0.349044		2.58883888	1.10388461	0.36430014	0.11571855	
		-12.5942	2.10151						
		1.48396	0.0807711		0.5329725	0.22726024	0.07499963	0.02382335	
		0.897988	0.22555		1.28656036	0.54859118	0.18104414	0.05750798	
		-2.17039	0.700165						
		1.47472	0.362755		1.26880833	0.54102169	0.17854608	0.05671448	
		5.66648	0.636709		0.79037148	0.33701553	0.11122069	0.03532883	
		1.257	0.202229		0.97269683	0.41475932	0.13687742	0.04347859	
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom	
		1.7201662	0.28609481		1.58101313	0.67414627	0.22247939	0.07066973	

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
50 ms	2.4 ms	1.26414	-0.774167	9				
		1.28431	0.207701		0.97571991	0.41604837	0.13730283	0.04361372
		0.563922	0.4956		5.98301702	2.55116703	0.84192722	0.26743497
		0.788291	-12.2267					
		0.575834	0.502914		5.8338923	2.48758004	0.82094246	0.26076924
		5.17954	0.219523		0.46734038	0.19927461	0.06576391	0.02088965
		2.71882	0.136766		0.51125938	0.21800173	0.07194417	0.02285279
		1.77436	0.152993		0.68238582	0.29097029	0.096025	0.03050197
		0.72919	-0.251894					
		-0.861417	0.377303					
		15.5776	0.250902					
		1.51265	0.142459		0.71629062	0.30542735	0.10079606	0.03201749
		1.09663	0.085684		0.64672666	0.27576517	0.09100706	0.02890804
		1.52702	0.25787		1.00133364	0.4269701	0.14090718	0.04475863
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.80367622	0.24461222	1.86866286	0.79680052	0.26295732	0.08352739		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
60 ms	3.7 ms	0.792096	0.212941	11	1.34699851	0.57436209	0.18954897	0.06020951	
		3.05074	0.249678		0.66322922	0.28280189	0.09332929	0.02964569	
		1.24726	0.158277		0.84690214	0.36112029	0.11917565	0.03785569	
		0.471375	-0.407099						
		-1.07954	0.346473						
		7.91354	0.094734		0.24452181	0.10426445	0.03440899	0.01092988	
		5.41309	0.184158		0.41689211	0.17776339	0.05866485	0.01863467	
		-2.66524	0.422102						
		2.13677	0.162676		0.63769455	0.27191387	0.08973606	0.02850432	
		1.31893	0.0709671		0.52973976	0.22588179	0.07454472	0.02367885	
		7.4414	0.401826		0.53073863	0.22630771	0.07468528	0.02372349	
		2.33301	0.25153		0.77222463	0.32927769	0.10866707	0.03451768	
		1.64886	0.183855		0.7869607	0.33556117	0.11074072	0.03517637	
		2.8058	0.306848		0.77842642	0.33192214	0.10953978	0.03479489	
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
			3.28195418		0.20704455	0.68675713	0.29283423	0.09664013	0.03069737

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
70 ms	2.5 ms	1.32579	0.188813	8	0.90526344	0.38600563	0.12738823	0.04046438
		0.747416	-0.298015					
		4.17527	1.65521		1.80034603	0.76767013	0.25334381	0.0804737
		0.654317	0.14391		1.17956547	0.50296841	0.16598787	0.05272542
		-0.507659	0.195117					
		0.0597631	-1.79588					
		0.604111	1.04431					
		0.672186	0.921126					
		0.613008	0.540217		6.05173853	2.58046998	0.85159767	0.27050675
		0.880746	0.296567		1.58279007	0.67490395	0.22272944	0.07074916
		0.829654	0.240261		1.41831935	0.6047734	0.1995852	0.06339748
		477.959	0.3376					
		1.10701	0.230381		1.13880742	0.48558911	0.16025242	0.05090357
		1.74515	0.353288		1.11918332	0.47722137	0.15749093	0.05002639
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom
	1.41636813	0.45608088	1.8995017	0.80995025	0.26729695	0.08490586		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
80 ms	2.6 ms	0.924428	-4.80657	9					
		1.04366	0.854279		4.71809344	2.0118018	0.66392779	0.21089413	
		0.563334	0.503781		6.46106254	2.75500632	0.90919755	0.28880314	
		2.40004	0.137996		0.54867807	0.23395711	0.07720971	0.02452537	
		0.342488	-0.516346						
		0.422187	-0.347544						
		0.468563	1.34027						
		5.30541	0.333912		0.57571461	0.24548554	0.08101428	0.02573388	
		-5.95296	0.329672						
		1.18012	0.170312		0.91230088	0.3890064	0.12837853	0.04077895	
		1.32931	0.225965		1.00530952	0.42866542	0.14146666	0.04493635	
		1.22237	0.154858		0.84608757	0.36077295	0.11906103	0.03781928	
		2.68892	0.294948		0.77973687	0.33248092	0.10972419	0.03485347	
		1.2834	0.138531		0.77273478	0.32949522	0.10873886	0.03454048	
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
			1.89072933		0.31273133	1.84663537	0.78740797	0.25985762	0.08254278

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
90 ms	2.5 ms	0.628035	1.68475	8					
		2.02419	0.30316						
		2.1938	0.269562						
		0.723102	0.159054						
		-6.91292	-8.04088						
		2.0422	1.44662			3.4621195	1.47625272	0.48718776	0.15475333
		12.5508	0.273233						
		0.808579	-0.466586						
		0.365733	-0.442						
		-12.2601	0.334307						
		1.22985	0.240702			1.09583227	0.46726445	0.15420498	0.04898262
		3.83599	0.318744			0.66873571	0.28514986	0.09410416	0.02989183
		2.11077	0.248002			0.81055611	0.34562229	0.11406106	0.03623106
		1.59458	0.251031			0.96022232	0.40944017	0.13512201	0.04292099
	Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.96931025	0.40460938		1.24261217	0.52985161	0.17485977	0.05554354		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
100 ms	3.1 ms	1.15902	0.161421	8	0.8935871	0.38102682	0.12574514	0.03994246	
		0.86913	0.657733		3.91841365	1.6708172	0.55139725	0.17514923	
		1.69888	0.309227		1.04790134	0.44682663	0.14746016	0.04684016	
		1.12098	0.557499		2.20961843	0.94218446	0.31093642	0.09876777	
		0.547339	0.221582		1.83212557	0.78122097	0.25781581	0.08189421	
		-2.17112	0.407822						
		-2.4068	0.39127						
		46.0816	0.355355						
		0.597548	-0.909273						
		0.893937	0.859859		11.1586446	4.75806205	1.57023899	0.49878043	
		0.809694	-0.483802						
		4.99689	0.310465		0.57176868	0.24380298	0.08045901	0.02555575	
		2.43252	0.371043		0.94244876	0.4018615	0.13262093	0.04212653	
		1.24392	-0.58408						
	Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.714837	0.43110363		2.82181352	1.20322533	0.39708421	0.12613229		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
110 ms	3.1 ms	2.76718	78.5476	7				
		1.6175	0.230059		0.90458051	0.38571443	0.12729213	0.04043386
		0.797517	0.697081		5.85237025	2.49545906	0.82354267	0.26159519
		1.05262	1.17307					
		-4.75825	0.173705					
		1.50753	1.8123					
		-2.00663	0.406187					
		0.86262	0.257622		1.449604	0.61811322	0.20398756	0.06479587
		3.20503	2.03961		2.93878089	1.25310038	0.4135438	0.13136061
		1.29705	0.206781		0.96743848	0.41251715	0.13613747	0.04324355
		-9.8412	0.509983					
		2.10189	0.225691		0.77046434	0.3285271	0.10841936	0.034439
		5.83441	0.505601		0.68426411	0.2917712	0.09628931	0.03058593
		-5.26023	0.716699					
	Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom	
	2.24514529	0.594635		1.93821466	0.82645751	0.27274461	0.08663629	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
120 ms	4.5 ms	1.23095	0.124805	13	0.74618212	0.31817312	0.10500238	0.03335361
		1.4374	0.722187		2.23224577	0.95183279	0.31412053	0.09979719
		1.47982	0.553857		1.71805429	0.73258081	0.24176376	0.07679534
		1.20664	-1.99682					
		1.0613	0.896989		5.19033171	2.21316488	0.73038093	0.23200272
		1.33077	1.07189		4.52023209	1.92743344	0.63608484	0.20204993
		0.683209	0.612082		6.51662054	2.77869634	0.91701564	0.29128652
		1.674	0.209876		0.84106069	0.35862948	0.11835365	0.03759458
		1.45306	0.19135		0.86510602	0.36888245	0.12173729	0.03866939
		3.62457	0.270879		0.63133668	0.26920286	0.08884139	0.02822013
		1.61763	0.323785		1.11127645	0.47384987	0.15637828	0.04967296
		6.01005	0.392198		0.58695177	0.25027707	0.08259556	0.02623617
		1.55676	0.188338		0.8241264	0.35140868	0.11597066	0.03683764
		4.59312	0.380019		0.66717013	0.2844823	0.09388385	0.02982185
	Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom	
	2.13481838	0.45678885		2.03466882	0.8675857	0.2863176	0.09094769	

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
130 ms	3.1 ms	0.867577	0.209462	7	1.2532468	0.53438623	0.17635627	0.0560189
		4.20617	0.242255		0.54917288	0.2341681	0.07727934	0.02454749
		0.950012	2.58092		1.46517242	0.62475162	0.20617834	0.06549177
		1.42645	0.432421					
		0.419972	-0.690247		1.16809036	0.4980754	0.1643731	0.05221249
		-0.489277	4.44211					
		0.719523	0.155851		4.16375046	1.77542916	0.58592092	0.18611555
		1.22034	-0.475071					
		1.14835	0.893906		2.698077	1.1504639	0.37967207	0.12060139
		1.04977	1.86226					
		0.729196	-0.935089		1.5746266	0.67142304	0.22158068	0.07038426
		1.21986	0.727019					
		2.93977	0.983108					
		0.587855	-1.09054					
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.78967143	0.52057457		1.83887665	0.78409964	0.25876582	0.08219598

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$				
140 ms	2.9 ms	0.712729	0.304172	5	1.91676188	0.81731001	0.26972579	0.08567737				
		0.888039	-9.86926									
		0.723613	-0.455929									
		0.676881	2.00181									
		0.719324	-3.71964									
		1.05566	-1.05567									
		0.396752	-0.572207									
		-2.32147	0.49788									
		0.848675	6.67041									
		-2.28473	0.515128									
		1.51698	0.74875						2.19309609	0.93513932	0.30861141	0.09802924
		1.12071	0.312632						1.3817356	0.58917404	0.19443716	0.06176222
		1.32281	0.4809						1.67891778	0.71589295	0.23625649	0.07504597
		1.15303	0.821894						3.49977062	1.49230721	0.492486	0.1564363
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom				
		1.1652518	0.5336696		2.1340564	0.9099647	0.30030337	0.09539022				

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$				
200 ms	3.6 ms	0.925054	-6.19109	4								
		1.10253	3.42335									
		0.693386	-0.928763									
		1.05617	-0.530306									
		0.591841	2.57076									
		1.09435	0.950829						5.71779208	2.43807473	0.80460489	0.25557968
		2.8746	0.689935						1.24837924	0.5323107	0.17567131	0.05580132
		2.20954	0.461902						1.14204721	0.48697057	0.16070832	0.05104839
		0.767394	-0.634064									
		28.1395	0.320492									
		1.59236	-2.78045									
		1.27868	-2.53053									
		1.25657	-0.394732									
		1.96592	0.174182						0.69262675	0.29533704	0.0974661	0.03095973
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom				
		2.0361025	0.569212		2.20021132	0.93817326	0.30961266	0.09834728				

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

Neurona 3 estimulada con voltajes de polaridad positiva

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
50 ms	2.8 ms	0.81111	0.329961	10	1.83961265	0.78441347	0.25886939	0.08222887
		0.0286266	0.0273948		10.4760809	4.46701589	1.47418895	0.4682705
		1.55025	0.134459		0.68458951	0.29190995	0.0963351	0.03060048
		0.0873424	0.126062					
		1.80518	0.0921816		0.5153218	0.21973395	0.07251583	0.02303438
		1.51509	0.0727407		0.49887115	0.21271937	0.0702009	0.02229905
		0.185294	0.0839516		2.02187253	0.86212934	0.28451691	0.09037571
		-2.17066	0.0931225					
		0.118323	0.289834					
		0.988695	0.0620192		0.57469053	0.24504887	0.08087017	0.0256881
		0.629761	0.0669676		0.76628927	0.32674684	0.10783185	0.03425238
		0.400428	0.0699321		1.02185699	0.43572129	0.14379521	0.045676
		0.184863	0.127318		3.30427346	1.40894694	0.46497574	0.14769777
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom
		0.80992976	0.10669256	2.17034588	0.92543859	0.30541001	0.09701232	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
100 ms	2.8 ms	0.81327	0.695928	9	5.40991307	2.30679469	0.76128031	0.24181779
		1.21527	0.173001		0.90504312	0.38591168	0.12735722	0.04045454
		0.0917797	-0.342736					
		0.339655	0.314542		7.86185263	3.35230522	1.10631604	0.35141707
		0.247018	0.234664		9.68175996	4.12831632	1.36241251	0.43276514
		0.539293	0.171252		1.51532085	0.64613498	0.21323521	0.06773335
		0.144203	0.485174					
		0.0875287	-0.559461					
		0.110546	-0.447256					
		0.471291	0.0885274		1.06833736	0.45554058	0.15033591	0.04775363
		0.91059	0.134232		0.92370201	0.39386786	0.12998289	0.04128857
		0.479373	0.186803		1.77505536	0.75688615	0.24978492	0.07934323
		0.986703	0.101446		0.75199968	0.32065374	0.10582103	0.03361365
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom
		0.66694033	0.23337727	3.32144267	1.41626791	0.46739178	0.14846522	

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
150 ms	2.9 ms	0.493993	0.522055	7				
		1.79855	0.187048		0.7568259	0.32271165	0.10650017	0.03382937
		1.06605	0.209902		1.09993935	0.46901572	0.15478293	0.04916621
		0.147473	-0.405218					
		0.264942	0.252632		10.0635227	4.29110048	1.41613397	0.44982956
		0.133073	-0.290972					
		2.37056	0.0541164		0.33953806	0.14477951	0.04777963	0.01517702
		0.171249	0.381721					
		0.120479	-0.116297					
		0.261691	0.239278		7.25832256	3.09495914	1.02138759	0.32443987
		-0.913592	0.102053					
		0.305566	0.292307		10.4303552	4.44751839	1.46775446	0.46622661
		2.49037	0.109765		0.47700523	0.20339572	0.06712394	0.02132166
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom
		1.22253271	0.19214977	4.34650128	1.85335437	0.61163753	0.19428433	

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
200 ms	3.0 ms	-0.693469 0.165936 -1.14624 -0.761077 0.80887 0.235976 -0.787162 0.0812199 0.0829112 0.137208 0.250054 0.101897 0.126336	0.167664 -10.084 0.121439 0.115248 0.167299 0.248886 0.0981407 0.308468 1.08721 38.9352 0.236389 -0.0978336 -7.26014	2	1.13438163	0.48370195	0.15962963	0.05070574
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		0.529462	0.201844		5.18688996	2.21169731	0.72989661	0.23184888

Neurona 3 estimulada con voltajes de polaridad negativa

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
100 ms	2.8 ms	-4.7345 0.641262 0.472644 1.27131 0.140822 -12.0394 0.105262 23.352 0.205981 4.29107 7.9997 0.10157 0.273682 0.278097	0.696796 0.561254 0.184444 0.147124 -0.443753 0.127864 -0.251237 0.119918 0.196146 0.0976037 0.0855818 -2.18571 0.132582 0.200952	8	5.88366439 1.77713391 0.80363261	2.50880293 0.75777244 0.3426701	0.82794636 0.25007741 0.11308679	0.26299401 0.07943614 0.03592159
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.92921825	0.20071094		3.08669901	1.31617288	0.43435877	0.13797241

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
150 ms	2.9 ms	1.95131 0.742397 0.39745 0.390102 0.327294 -1.12771 -0.711296 0.013711 0.308353 0.100707 0.112704 -2.06819 0.341238 0.0536081	238668 0.640437 0.367692 0.36148 0.305044 0.11781 0.0928878 -4.22167 0.309318 -0.0835997 -0.31142 0.0809176 0.174825 0.654657	5	5.56747363 7.80863451 7.89454352 8.22528795	2.37397873 3.32961294 3.36624467 3.50727457	0.78345216 1.09882721 1.11091629 1.15745848	0.24886059 0.34903828 0.35287832 0.36766227
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		0.4396962	0.3698956		6.35456694	2.70959645	0.89421154	0.28404289

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

Neurona 5 estimulada con voltajes de polaridad positiva

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
50 ms	2.7 ms	0.34447	0.18402	12	2.3790169	1.01441621	0.33477409	0.10633971		
		0.330903	-0.57563							
		0.348873	0.136764		1.78377973	0.76060623	0.25101261	0.0797332		
		0.393423	0.0767457		1.09358724	0.46630717	0.15388906	0.04888227		
		-7.2365	0.309657							
		0.586288	0.245303		1.88416385	0.80341017	0.26513861	0.08422027		
		0.677698	0.220398		1.54219077	0.65759235	0.21701633	0.06893441		
		1.92345	0.290598		0.93714712	0.39960087	0.13187488	0.04188955		
		0.754467	0.23527		1.49538171	0.6376329	0.21042938	0.06684209		
		0.828915	0.259452		1.49944531	0.63936563	0.21100121	0.06702373		
		1.35279	0.2729		1.11672666	0.47617385	0.15714523	0.04991658		
		0.641719	0.22219		1.61665048	0.68934208	0.22749426	0.07226269		
		0.908573	0.249198		1.36565473	0.58231713	0.19217426	0.06104342		
		0.54769	0.170214		1.49172182	0.63607232	0.20991436	0.0666785		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					0.77569633	0.21358773	1.51712219	0.64690308	0.21348869	0.06781387

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
100 ms	3.1 ms	-0.764622	0.362163	8						
		0.661544	0.580116		5.92932714	2.52827359	0.834372	0.26503509		
		-4.14857	0.390889							
		0.529993	1.11106							
		0.637387	0.287898		2.01621779	0.85971816	0.28372118	0.09012295		
		-1.9846	0.297909							
		0.772238	0.434017		2.516448	1.07301703	0.35411333	0.11248275		
		0.442441	-0.365808							
		1.32543	0.229316		1.01607132	0.43325426	0.14298106	0.04541739		
		6.73243	0.327042		0.501954	0.2140339	0.07063472	0.02243685		
		0.382259	-0.448053							
		0.662682	0.256069		1.76287999	0.75169455	0.24807161	0.078799		
		0.496171	0.0987649		1.10743673	0.47221261	0.15583795	0.04950133		
		0.615325	0.106233		1.01476729	0.43269823	0.14279756	0.0453591		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					1.48790088	0.28993199	1.98313778	0.84561279	0.27906618	0.08864431

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
150 ms	2.5 ms	0.0365641	0.0345707	7	9.25106505	3.94466739	1.30180533	0.4135135		
		0.436796	-1.40747							
		0.227913	0.278125							
		0.587008	-3.08801							
		0.281781	-0.62443							
		0.704885	0.213951		1.46649464	0.62531542	0.20636441	0.06555087		
		0.482222	2.24767							
		0.480797	0.17541		1.6835917	0.71788591	0.2369142	0.07525489		
		0.555858	0.496867		6.44706535	2.7490379	0.90722787	0.28817747		
		0.401425	-2.72277							
		1.01049	0.329522		1.54530329	0.65891954	0.21745432	0.06907354		
		1.25305	0.256792		1.12781978	0.48090397	0.15870625	0.05041243		
		0.407044	0.130184		1.52329345	0.64953451	0.21435711	0.06808972		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					0.63552687	0.23389953	3.29209047	1.40375209	0.46326135	0.1471532

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
200 ms	3.4 ms	1.75099	-0.854312	11						
		0.438693	0.287689		3.06621269	1.30743749	0.43147594	0.13705669		
		0.698597	0.178399		1.30090848	0.55470924	0.1830632	0.05814933		
		0.586159	0.28085		2.13060178	0.90849165	0.29981724	0.0952358		
		0.407884	0.414283							
		3.52399	0.402912		0.79815578	0.34033477	0.11231609	0.03567678		
		0.43055	-1.06958							
		3.9609	0.312592		0.65024655	0.27726606	0.09150238	0.02906538		
		0.570969	0.194797		1.59857411	0.68163429	0.22495056	0.07145469		
		0.681362	0.184969		1.35603695	0.5782161	0.19082085	0.06061352		
		1.24332	0.300386		1.25381676	0.53462926	0.17643648	0.05604437		
		2.29046	0.387117		1.00183792	0.42718513	0.14097814	0.04478117		
		1.4569	0.302324		1.13673681	0.48470621	0.15996105	0.05081102		
		1.042	0.223849		1.16197216	0.49546659	0.16351215	0.05193901		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					1.49939545	0.27780764	1.40500909	0.59909789	0.19771219	0.06280252

Neurona 6 estimulada con voltajes de polaridad positiva

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
50 ms	3.3 ms	-5.46556	0.710963	11						
		0.10879	-1.80313							
		3.35144	0.0885216		0.36589493	0.15601812	0.05148856	0.01635514		
		0.995896	0.101719		0.74924554	0.31947937	0.10543346	0.03349054		
		-4.72433	0.163465							
		1.53328	0.0960961		0.57442269	0.24493466	0.08083248	0.02567613		
		2.14539	0.131199		0.5669566	0.2417511	0.07978185	0.0253424		
		0.80527	0.0671374		0.66996165	0.28567261	0.09427667	0.02994663		
		1.4035	0.0807712		0.54894361	0.23407034	0.07724708	0.02453724		
		1.14798	0.112531		0.73232963	0.3122664	0.10305307	0.03273441		
		1.83048	0.110187		0.56221036	0.2397273	0.07911397	0.02513025		
		1.4865	0.124036		0.67026452	0.28580175	0.09431929	0.02996016		
		1.14523	0.1086		0.71901492	0.30658899	0.10117943	0.03213926		
		1.6654	0.12919		0.64420491	0.2746899	0.0906522	0.02879533		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					1.59185145	0.10454439	0.6184954	0.26372732	0.08703437	0.02764614

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$		
100 ms	2.6 ms	0.151813	-0.140929	7						
		2.57758	1.65273		2.96961521	1.26624818	0.41788279	0.13273888		
		2.56246	1.64927		2.98538386	1.27297196	0.42010175	0.13344372		
		0.561896	0.501952		6.4282552	2.74101723	0.90458091	0.28733668		
		-0.569867	0.417506							
		0.675242	4.70421							
		0.554171	1.33902							
		0.488801	0.443678		6.96578137	2.97021915	0.98022133	0.31136357		
		0.868958	-0.594487							
		1.80021	1.30531		3.6077213	1.53833753	0.50767677	0.16126159		
		0.911485	-1.77486							
		0.657928	2.18132							
		1.15044	0.268229		1.22490246	0.52230016	0.17236767	0.05475193		
		1.30545	0.224998		1.01372805	0.43225509	0.14265131	0.04531265		
					Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
					1.49240529	0.86373814	3.59934106	1.53476419	0.50649751	0.160887

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
150 ms	2.7 ms	3.92088	2.40075	10	2.79169506	1.19038277	0.39284596	0.12478602	
		0.388552	-0.486367						
		21.6275	-6.9137						
		2.07162	1.43318		3.32832096	1.41920083	0.46835969	0.14877267	
		-5.39801	0.762727						
		0.908199	0.77327		5.31799353	2.26760006	0.74834544	0.23770908	
		0.708088	0.622739		6.00051725	2.55862915	0.84438984	0.26821721	
		3.27128	2.0334		2.84712812	1.21401951	0.40064647	0.12726382	
		-0.97235	0.207802						
		1.26071	0.502081		1.80720345	0.77059414	0.25430878	0.08078022	
		0.468855	0.430537		7.44626861	3.1750996	1.04783526	0.33284088	
		2.181	1.55201		3.48947637	1.48791772	0.4910374	0.15597616	
		2.07079	1.4913		3.56364481	1.51954325	0.50147435	0.15929141	
		0.72055	0.135762		1.07034741	0.45639767	0.15061876	0.04784348	
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
	1.7581972	1.1375029	3.76625956	1.60593847	0.5299862	0.16834809			

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
200 ms	2.6 ms	0	0	7				
		-0.969278	-0.449048					
		87.9786	-5.18044					
		0.195845	-3.00215					
		4.68737	0.468041		0.73986951	0.31548142	0.10411407	0.03307144
		0.660906	0.431116		3.04275078	1.29743329	0.4281744	0.13600796
		0.818189	0.368022		2.00856059	0.85645311	0.28264366	0.08978068
		2.03612	-2.05204					
		5.67826	0.309864		0.53370118	0.22757095	0.07510217	0.02385592
		0.637906	0.246655		1.76381124	0.75209164	0.24820265	0.07884063
		0.571331	-1.49237					
		1.01282	0.263181		1.31624294	0.56124788	0.18522106	0.05883476
		1.15721	0.939745		4.61790721	1.96908225	0.64982963	0.20641591
		0.50017	-0.492299					
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom
	2.09323729	0.43237486	2.00326335	0.85419436	0.28189824	0.0895439		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
250 ms	2.8 ms	-1.13552	-0.961284	2				
		0.168201	-0.175474					
		0.577923	0.529188		7.32013994	3.12131816	1.0300865	0.32720305
		20.3286	4.55337					
		0.10395	-0.435114					
		1.36915	1.11991		4.70887937	2.00787291	0.66263119	0.21048227
		0.774722	38395.2					
		0.265483	-0.495424					
		-5.80994	0.297638					
		-2.47416	0.413485					
		0.5731	-12.8778					
		0.330632	-0.429792					
		0.425103	-0.349503					
		17.2685	0.230343					
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom
	0.9735365	0.824549	6.01450965	2.56459553	0.84635884	0.26884266		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
300 ms	3.0 ms	-15.1641	12.0507	3				
		0.818608	-1.47352					
		0	0					
		6.2117	0.423728		0.60105643	0.25629132	0.08458037	0.02686663
		0.184907	-0.176005					
		0.356654	-0.590061					
		0.1767	-3.78696					
		0.212474	-0.871301					
		0.288227	-0.892214					
		0.81044	0.331647		1.84883867	0.78834746	0.26016767	0.08264127
		0.129411	-0.671678					
		2.69219	0.14675		0.53338709	0.22743702	0.07505797	0.02384188
		0.406857	0.627958					
		-4.0155	0.303123					
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom
	3.23811	0.30070833	0.99442739	0.42402527	0.13993533	0.04444993		

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
350 ms	3.6 ms	0.545393	1.45751	3	7.22289916	3.07985455	1.01640282	0.32285648
		-2.29182	-1.73624					
		0.621342	0.567648					
		0	0					
		0.761294	2.40077					
		0	0					
		2.62325	0.364364					
		0.751583	-1.94875					
		-26.1541	0.22611					
		0.406562	4.68708					
		0.507563	5.62346					
		0.7409	-1.65403					
		0.862927	0.271171					
-1.68529	0.234932							
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.369173	0.401061		3.20628941	1.3671664	0.45118747	0.14331798

Neurona 6 estimulada con voltajes de polaridad negativa

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$							
100 ms	2.7 ms	0.274196	4.41147	7	2.95875955	1.26161931	0.41635519	0.13225364							
		0.491794	0.314506												
		0.223445	-0.346936												
		0.53165	0.471912												
		-22.2187	0.194795												
		0.434051	0.256752												
		0.793481	0.224918												
		0.712828	0.12731												
		0.133387	-0.333983												
		0.149463	-0.444047												
		-0.627455	0.151207												
		-4.88657	0.0917758												
		3.28215	0.160615												
		0.263866	0.260677												
									Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
									0.92997429	0.25952714		4.98528927	2.12573449	0.70152746	0.22283752

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$							
150 ms	2.6 ms	1.64776	1.24218	7	3.88766537	1.65770608	0.54707036	0.17377481							
		3.72068	2.10379												
		0.927136	0.771384												
		-1.44476	0.592134												
		-0.885744	0.173079												
		0.107875	-2.38737												
		0.306002	0.28896												
		-0.750339	0.0798878												
		0.22961	0.456482												
		0.221097	0.210517												
		2.77935	0.0973974												
		0.247288	0.453445												
		0.395426	0.286979												
		0.244085	0.836512												
									Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
									1.42820729	0.7144582		4.92268379	2.09903942	0.69271765	0.22003912

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
300 ms	3.6 ms	0.632625	-3.92031	5	5.12905092	2.18703466	0.72175753	0.22926353
		1.20212	1.01224					
		-2.03851	0.498304		7.67858901	3.27416135	1.08052727	0.34322537
		0.591954	0.546236					
		0.247468	1.10475		1.08799146	0.46392112	0.15310162	0.04863215
		0.348435	-2.4603					
		0.281468	-0.31247		1.12805219	0.48100307	0.15873895	0.05042282
		9.33456	0.199179					
		0.201743	-0.685936		2.33728678	0.99662243	0.32890185	0.10447442
		1.13999	0.220549					
		0.486184	0.754002					
		0.25489	-0.85253					
		0.819363	0.16797					
		0.699045	0.367275					
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	0.8904944	0.462854	3.47219407	1.48054853	0.48860544	0.15520366		

Neurona 7 estimulada con voltajes de polaridad positiva

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
30 ms	2.6 ms	0.456955	-0.255576	8	3.27324556	1.3957166	0.46060951	0.14631085
		1.76477	1.20826					
		0.356535	0.327379		7.44382772	3.1740588	1.04749178	0.33273177
		-13.6564	-3.03831					
		0.818721	0.675038		4.81500001	2.0531229	0.67756444	0.21522576
		1.03815	0.338212					
		-1.18946	1.07338		1.54418594	0.6584431	0.21729709	0.06902359
		-1.54502	0.513523					
		0.410987	0.371686		6.83158028	2.91299562	0.96133662	0.30536491
		6.08029	0.454479					
		9.84754	0.57035		0.63139221	0.26922654	0.0888492	0.02822261
		2.79044	0.289362					
		0.837899	0.304859		0.7556001	0.32218896	0.10632767	0.03377458
		0.445676	-0.603288					
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.762224	0.49615938	3.37185166	1.43776238	0.47448531	0.15071845		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
40 ms	2.7 ms	1.55018	0.237756	8	0.94550436	0.40316441	0.13305091	0.04226311
		9.19647	2.77777					
		1.39288	1.0268		3.72040144	1.5863845	0.52353306	0.16629828
		-1.55271	0.343856					
		0.524991	-1.26039		0.90308642	0.38507734	0.12708188	0.04036707
		2.54722	0.361268					
		2.36573	0.310337		0.86318566	0.3680636	0.12146706	0.03858355
		0.419444	-0.355751					
		1.10813	0.872395		4.27345785	1.82220855	0.60135889	0.19101936
		0.758693	-0.399091					
		1.13586	0.339492		1.45041655	0.6184597	0.2041019	0.06483219
		0.683949	-0.227078					
		0.430189	0.389411		6.86477048	2.92714797	0.96600713	0.30684848
		1.76757	0.617608					
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.53721988	0.51938338	2.58110059	1.10058499	0.36321121	0.11537266		

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
60 ms	2.8 ms	6.3467	0.4418	8	0.60763315	0.25909564	0.08550584	0.0271606
		0.899916	0.742574		4.82594548	2.05779007	0.67910468	0.21571501
		-12.1733	-3.1099					
		-1.86101	-1.29046					
		3.52106	0.289409		0.6647811	0.28346361	0.09354767	0.02971506
		-1.19262	0.304766					
		0.410477	-0.554268					
		2.0607	0.928307		2.01132429	0.85763156	0.28303257	0.08990422
		2.70893	0.393137		0.91528631	0.39027939	0.12879864	0.0409124
		5.30084	1.7031		1.52841067	0.6517165	0.2150772	0.06831845
		1.09671	0.32992		1.45713898	0.62132615	0.20504788	0.06513268
		0.957174	-0.176662					
		-11.0787	0.491269					
		1.14781	0.354843		1.48602268	0.6336422	0.20911238	0.06642375
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	2.88533325	0.64788625	1.68706783	0.71936814	0.23740336	0.07541027		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
80 ms	2.6 ms	5.22503	-4.53605	10				
		-1.53535	0.424879					
		13.461	3.31056					
		0.594797	0.136605		1.21295425	0.51720543	0.17068633	0.05421786
		4.19452	2.17236		2.30246489	0.98177433	0.32400173	0.10291791
		0.913953	0.662426		3.60504968	1.53719835	0.50730082	0.16114217
		0.819541	0.170971		1.14055878	0.4863359	0.16049887	0.05098185
		1.44816	0.336834		1.22298773	0.52148372	0.17209823	0.05466635
		2.3559	0.182191		0.64312832	0.27423084	0.0905007	0.0287472
		1.76273	0.24933		0.90166514	0.38447131	0.12688188	0.04030354
		0.894781	0.747059		4.99562392	2.1301412	0.70298175	0.22329947
		0.825056	1.43352					
		2.09242	0.30222		0.91273709	0.3891924	0.12843992	0.04079845
		1.86273	0.435032		1.22624515	0.52287269	0.17255661	0.05481195
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.6939532	0.5395028	1.81634149	0.77449062	0.25559468	0.08118868		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
100 ms	3.1 ms	37.674	0.452282	8				
		0.244962	-0.271706					
		-1.20476	-0.962247					
		1.0901	-3.4036					
		2.08907	0.199358		0.72152918	0.30766108	0.10153323	0.03225164
		1.00912	-8.58035					
		4.59089	2.31497		2.24041805	0.95531747	0.31527053	0.10014448
		2.46562	1.63272		3.11024285	1.32621201	0.43767185	0.13902479
		0.508986	0.45987		6.79737013	2.89840836	0.95652259	0.30383575
		0.643594	0.120487		1.06612887	0.45459888	0.15002513	0.04765491
		1.09314	0.200412		1.05253648	0.44880306	0.14811242	0.04704734
		0.98135	2.86519					
		1.13233	0.328945		1.42146006	0.6061126	0.20002716	0.06353787
		0.940153	0.11398		0.82511352	0.35182959	0.11610957	0.03688176
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.68297288	0.67134275	2.15434989	0.91861788	0.30315906	0.09629732		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
120 ms	2.6 ms	2.01077	1.42648	10	3.47099103	1.48003555	0.48843615	0.15514988
		2.60175	1.67445		2.98511342	1.27285664	0.42006369	0.13343163
		0.538077	-0.15786					
		1.04252	-0.614681					
		0.569662	0.511455		6.58492725	2.80782241	0.92662773	0.29433977
		2.81073	-0.549911					
		4.09405	1.26398		1.48458951	0.63303109	0.20891071	0.06635969
		0.303146	-0.39442					
		0.234474	0.2238		10.1718821	4.33730509	1.43138225	0.45467312
		1.21336	0.316706		1.32023297	0.56294923	0.18578254	0.05901311
		1.61149	0.344105		1.15751355	0.49356544	0.16288474	0.05173972
		0.44223	0.436726		19.7879218	8.43759822	2.78454664	0.88450063
		1.35982	0.179125		0.86525499	0.36894597	0.12175826	0.03867605
		3.28133	0.276273		0.67356225	0.28720791	0.09478335	0.03010757
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.7418936	0.66531	4.85019889	2.06813176	0.68251761	0.21679912		

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
140 ms	3.1 ms	0.481697	0.437709	9	7.00745802	2.98799014	0.98608605	0.31322648	
		4.73432	2.46661		2.31681503	0.98789325	0.32602107	0.10355935	
		1.08906	0.894511		4.76335793	2.03110264	0.67029739	0.21291741	
		5.27392	0.479395		0.70243935	0.29952114	0.09884692	0.03139835	
		1.13319	0.313792		1.37470135	0.58617462	0.1934473	0.0614478	
		10.4516	3.52152						
		0.747754	0.574462		4.04460646	1.72462599	0.56915503	0.18078993	
		1.03834	0.21117		1.12241535	0.47859951	0.15794574	0.05017086	
		0.909923	-0.266034						
		0.818675	1.57429						
		0.758822	-0.474822						
		0.586589	0.527467		6.63526028	2.82928449	0.93371057	0.2965896	
		-1.85798	0.362143						
		2.79056	0.467772		0.99688991	0.42507528	0.14028186	0.04456	
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
	1.98615889	0.70809867	3.21821596	1.3722519	0.45286577	0.14385109			

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
160 ms	3.0 ms	1.85782	1.36024	9	3.67291762	1.56613734	0.51685116	0.1641758	
		2.48244	1.69846		3.26971609	1.39421163	0.46011284	0.14615309	
		5.0522	2.51778		2.21413691	0.94411115	0.31157226	0.09896974	
		1.54261	-3.54129						
		1.79016	0.147546		0.66578014	0.2838896	0.09368825	0.02975972	
		0.804355	1.9054						
		2.1125	0.14734		0.60826979	0.25936711	0.08559543	0.02718906	
		6.0875	2.89065		2.11237734	0.90072073	0.2972527	0.09442119	
		1.44703	1.14043		4.28433199	1.8268453	0.60288909	0.19150542	
		0.807448	-7.37645						
		0.455904	-2.44205						
		1.85028	-3.54354						
		4.50165	2.45878		2.43710559	1.03918531	0.3429483	0.10893622	
		1.73038	0.134278		0.64432797	0.27474237	0.09066952	0.02880083	
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
	3.00685333	1.38838933	2.21210705	0.94324561	0.31128662	0.09887901			

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$	
180 ms	2.8 ms	-1.5683	2.00094	5					
		0.523907	-1.29431						
		1.00793	0.853865		5.22970855	2.22995522	0.73592202	0.23376282	
		-22.4403	7.54895						
		0.459006	-0.351928						
		0.506103	-0.597315						
		0.696263	-0.568196						
		-0.945102	-2.69967						
		5.90638	0.424649		0.61828836	0.26363904	0.08700523	0.02763688	
		0.875231	0.0894731		0.74961236	0.31963578	0.10548508	0.03350693	
		0.976223	0.457155		2.08475241	0.88894141	0.29336534	0.09318638	
		1.08834	0.5513		2.25074116	0.95971926	0.31672319	0.10060591	
		-1.89191	0.774303						
		0.662505	-1.12072						
			Prom τ_0		Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom
	1.9708208	0.47528842	2.18662057	0.93237814	0.307770017	0.09773979			

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

Neurona 7 estimulada con voltajes de polaridad negativa

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
40 ms	2.8 ms	-1.38565	0.206934	5	4.30823415	1.83703721	0.60625259	0.19257383
		1.16307	6.32122					
		1.03448	0.817208					
		-2.95705	0.239883					
		0.497178	-0.519895					
		0.63889	0.551043					
		0.42416	0.378369					
		-0.703583	0.29066					
		-0.932117	0.275966					
		0.513564	0.669663					
		-5.13903	0.407394					
		3.03017	0.135319					
		-1.70406	0.359863					
		3.17151	0.246447					
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		1.659842	0.4256772		3.47652921	1.48239704	0.48921548	0.15539743

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$							
60 ms	2.9 ms	0.432876	0.391928	10	6.87260958	2.93049057	0.96711025	0.30719888							
		5.02291	2.29449												
		0.329364	0.305551												
		0.45085	0.28525												
		-1.58135	0.692517												
		0.187607	-0.380609												
		0.564739	0.497472												
		1.19885	0.941709												
		2.94014	0.117152												
		0.692924	0.204798												
		1.56828	1.15156												
		0.425067	-0.314481												
		2.07352	0.191694												
		-1.51535	0.484232												
									Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
									1.5274453	0.6381604		3.63681987	1.5507452	0.51177151	0.16256227

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$							
80 ms	3.2 ms	1.22055	0.95219	11	4.1844443	1.78425304	0.58883295	0.18704054							
		1.97369	1.35847												
		1.27744	0.986557												
		2.5311	7.15657												
		0.455653	0.414132												
		1.55215	1.15726												
		-1.93754	0.404244												
		1.35587	1.04126												
		1.03947	0.285375												
		1.11394	0.443362												
		0.846531	0.713981												
		0.539271	0.197548												
		1.33877	-1.65042												
		0.770116	0.658479												
									Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
									1.10406191	0.74623764		3.80446863	1.62223088	0.53536296	0.170056

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
100 ms	2.7 ms	-0.948706	0.251707	6				
		51.1268	4.4372					
		2.00298	0.964856		2.14161554	0.91318794	0.30136709	0.09572811
		1.38495	1.06364		4.04175593	1.72341052	0.56875391	0.18066251
		1.42297	-1.56343					
		1.98782	1.35012		3.23230885	1.37826113	0.45484891	0.14448102
		0.379551	0.350621		7.73356286	3.29760228	1.08826317	0.34568265
		3.04238	0.153982		0.5129102	0.21870564	0.07217647	0.02292658
		0.354227	0.50779					
		0.851579	-0.771998					
		152.642	1.10249					
		1.42586	2.96311					
		1.6096	0.368986		1.21149459	0.51658303	0.17048092	0.05415262
10.1018	0.262555							
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.73454683	0.70870083	3.145608	1.34129176	0.44264841	0.14060558		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
120 ms	3.1 ms	3.17422	0.154958	6	0.50325891	0.21459032	0.07081835	0.02249518
		3.43487	1.98303		2.59621191	1.10702848	0.36533767	0.11604812
		4.44878	2.30414		2.3025661	0.98181748	0.32401597	0.10292244
		-71.5966	0.312306					
		15.441	-7.50645					
		-0.830603	0.430726		0.66707056	0.28443984	0.09386984	0.0298174
		2.94526	0.243614					
		-2.06721	0.323222					
		0.756468	1.1674					
		0.808671	0.143664		1.03251351	0.44026524	0.14529479	0.04615234
		0.656196	-5.09187					
		-2.84789	0.502624					
		-2.65903	0.387794					
2.71847	0.151559	0.53978441	0.23016484	0.0759582	0.02412783			
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	2.92171183	0.83016083	1.27356757	0.54305104	0.1792158	0.05692722		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
140 ms	2.7 ms	0.514721	0.598036	8				
		2.52814	0.813089		1.52955606	0.65220489	0.21523838	0.06836965
		1.20447	0.973873		4.56519372	1.94660514	0.64241182	0.20405967
		2.16282	1.52031		3.4171261	1.45706746	0.48085631	0.15274217
		0.892953	-4.09698					
		0.736391	0.41612		2.53212629	1.07970228	0.35631957	0.11318355
		1.21263	0.836155		3.31062659	1.41165592	0.46586975	0.14798175
		0.44184	0.407974		7.71026254	3.28766699	1.08498436	0.34464115
		2.05916	-0.312896					
		1.18529	0.472899		1.80992201	0.77175334	0.25469134	0.08090173
		1.11399	3.4162					
		1.38046	2.13327					
		1.02805	0.537654		2.32601685	0.99181692	0.32731595	0.10397066
1.11398	-2.42472							
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.31245388	0.74725925	3.40010377	1.44980912	0.47846093	0.15198129		

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
160 ms	3.0 ms	0.579376	0.522718	9	6.7474237	2.87711113	0.94949415	0.3016032
		0.795648	0.690895		5.70502649	2.43263147	0.80280853	0.25500907
		0.541658	0.489023		6.7711464	2.88722653	0.9528324	0.30266358
		0.902159	0.373541		1.86738145	0.79625412	0.262777	0.08347011
		-0.563764	-0.504372					
		1.01952	0.856177		5.08588329	2.16862792	0.715683	0.22733398
		0.67796	-0.407971					
		2.4812	1.71872		3.33521021	1.42213841	0.46932914	0.14908061
		1.4017	0.226265		0.97464006	0.41558792	0.13715087	0.04356545
		0.68421	-1.36963					
		0.481969	-0.66007					
		1.90673	0.189997		0.73902115	0.31511968	0.10399469	0.03303352
		-24.4668	0.133469					
5.03888	2.6067	2.29976015	0.98062102	0.32362112	0.10279701			
	Prom τ_0	Prom τ_1	Prom	Prom	Prom	Prom		
	1.62965233	0.85267067	3.72505477	1.58836869	0.52418788	0.16650628		

APÉNDICE B. LONGITUD ELECTROTÓNICA OBTENIDA

tiempo	Δt	τ_0 [ms]	τ_1 [ms]	núm	L para $\rho = 1$	L para $\rho = 0.1$	L para $\rho = 0.01$	L para $\rho = 0.001$
180 ms	3.2 ms	0.683376	0.14196	6	1.13750241	0.48503266	0.16006878	0.05084524
		9.91022	3.56909					
		0.280108	-0.664176					
		0.323136	-0.2383					
		-1.40709	0.615109					
		1.39055	-0.931909					
		0.944128	1.95346					
		0.406214	0.378096		8.14598682	3.47346045	1.14629926	0.36411759
		1.3518	-2.24258					
		0.349879	0.329055		8.83053557	3.76535302	1.24262863	0.39471625
		0.439755	0.196099		1.99289313	0.84977248	0.28043894	0.08908036
		1.7362	0.219806		0.84576287	0.3606345	0.11901534	0.03780477
		-1.9502	0.464815					
		0.728917	0.360588		2.19797401	0.93721927	0.30929782	0.09824727
		Prom τ_0	Prom τ_1		Prom	Prom	Prom	Prom
		0.72405683	0.270934		3.85844247	1.6452454	0.54295813	0.17246858