

Desarrollo de un Simulador de los Experimentos Clásicos y Actualizados de Fijación de Voltaje de Hodgkin y Huxley

A. Reyes-Lazalde¹, M. Reyes-Monreal², M. E. Pérez-Bonilla¹

¹Laboratorio de Biología Interactiva, Escuela de Biología BUAP

²Dirección General de Innovación Educativa, BUAP.

RESUMEN

Los estudios de Hodgkin y Huxley fueron el punto de partida de la generación de modelos matemáticos que explican, reproducen y predicen los resultados experimentales del comportamiento de los canales iónicos sensibles a voltaje del axón. Los altos costos de estos experimentos impiden su implementación en la práctica docente de licenciatura. Una alternativa didáctica son los experimentos virtuales mediante simuladores computacionales. En este trabajo se presenta el desarrollo de un simulador que reproduce paso a paso los experimentos clásicos de Hodgkin y Huxley sobre las conductancias de los canales dependientes de voltaje del axón gigante de calamar. El simulador fue desarrollado en lenguaje Visual Basic ver 5.0 para ambiente Windows®. Está formado de cuatro módulos: (1) simulación de corrientes iónicas; (2) experimentos clásicos de Hodgkin y Huxley; (3) versión actual del modelo; (4) potenciales de acción. Consta de pantallas de interfaz que permiten simular y calcular los valores de las variables relacionadas con la conductancia de los canales. El usuario puede realizar una cantidad ilimitada de experimentos virtuales que le facilitarán la comprensión del tema.

Palabras clave: Hodgkin y Huxley, simulación biofísica, experimentos virtuales, canales iónicos.

Correspondencia:

Arturo Reyes-Lazalde
Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio 112A Ciudad Universitaria.
CP. 72570. Puebla, Pue.
Correo electrónico: arturoreyeslazalde@gmail.com

Fecha de recepción:

1 de septiembre de 2015

Fecha de aceptación:

10 de diciembre de 2015

ABSTRACT

Hodgkin and Huxley's works were the starting point to generating mathematical models for explain, reproduce the experimental results and predict the behavior of voltage-sensitive ion channels in the axon. The high costs of these experiments avoid its implementation in teaching degree. An educational alternative is virtual experiments using computer simulations. In this work the development of a simulator that reproduces step by step the classic experiments of Hodgkin and Huxley on the conductance of voltage-dependent channels in squid giant axon is presented. The simulator was developed in Visual Basic language, ver 5.0 for Windows environment. It consists of four modules: (1) ionic currents simulation; (2) classical Hodgkin and Huxley's experiments; (3) current version model; (4) action potentials. It comprises connecting interface screens that allow simulate and compute the values of the variables associated with the channel conductance. The user can perform an unlimited number of virtual experiments that will facilitate the understanding of the subject.

Keywords: Hodgkin and Huxley, biophysics simulation, virtual experiments, ion channels.

INTRODUCCIÓN

Los canales iónicos de membrana regulan y controlan la mayoría de las funciones biológicas de los seres vivos. En el contexto biomédico, actualmente es muy importante el conocimiento fisiológico de los canales; ya que son la clave para comprender los mecanismos fisiopatológicos de múltiples y diversas enfermedades neurológicas, cardiovasculares, musculares, neuromusculares, metabólicas, neoplásicas, genéticas, autoinmunes; renales y sensoriales, catalogadas en general como canalopatías [1,2]. Se estima que alrededor del 30% de las canalopatías son multisistémicas, por lo que requieren del abordaje multidisciplinario en investigación básica para encontrar los métodos potenciales de diagnóstico y tratamiento eficaz.

La electrofisiología estudia la cinética y dependencia de voltaje de los canales iónicos; se trata de una disciplina que es esencialmente experimental y cuantitativa. Su enseñanza y aprendizaje implica un conocimiento multidisciplinario; donde convergen principios de física, química, biología, medicina, electrónica, computación y matemáticas, entre otras. Los procesos

de enseñanza-aprendizaje implicados resultan relativamente complejos. Por esta razón, la introducción del tema es muy importante, puede ser el punto de partida o el punto final. La explicación teórica de los conceptos básicos resulta difícil para los alumnos de licenciatura del área biomédica. Contar con herramientas interactivas de apoyo didáctico facilita significativamente la comprensión del tema [3].

Descripción del problema

La temática de la electrofisiología se incorpora actualmente en los cursos de las carreras de ingeniería biomédica, física médica, medicina y es común en biología. Para la educación médica se está pasando del estilo pedagógico de hechos a un aprendizaje basado en problemas, que propicia una participación activa en el proceso de enseñanza-aprendizaje [4]. Las prácticas de laboratorio propician un aprendizaje activo. Sin embargo, el trabajo de laboratorio es muy costoso. Esta situación se agrava por el rápido aumento de estudiantes. En China, por ejemplo, ha habido una reducción gradual de la exposición de los estudiantes

a clases de laboratorio experimental y un aumento hacia la simulación [5]. En México, en la Facultad de Medicina de la UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México) las prácticas electrofisiológicas son realizadas con simuladores [6].

En las neurociencias, el trabajo de modelado puede clasificarse con dos criterios: (1) la complejidad del modelo que puede ir de modelos muy simples a muy complejos y (2) La dirección del flujo de trabajo e ir de la escala microscópica a la macroscópica y viceversa [7]. Existen varios simuladores útiles para la investigación y la enseñanza como GENESIS y NEURON, entre otros [8,9,10,11]. Todos los simuladores reportados están basados en modelos matemáticos. Este tipo de modelos están apoyados en los trabajos de Hodgkin y Huxley [12,13,14,15] y particularmente, en el trabajo donde hacen una descripción cuantitativa de las corrientes de membrana y sus implicaciones en la conducción y excitabilidad en el axón [15], donde: (1) predicen la existencia de canales iónicos, que fueron hallados posteriormente, (2) describen un modelo eléctrico de la membrana, (3) derivan un modelo matemático. Este modelo es de tipo fenomenológico e incluye en todo detalle la forma experimental cuantitativa y se ha convertido en un trabajo toral en las neurociencias. El estudio de este artículo a nivel licenciatura resulta muy complicado, sobre todo en licenciaturas que no contienen en su currícula las materias de física y matemáticas; a nivel de posgrado todavía es considerado difícil. Sin embargo, comprender cómo se realizaron los experimentos, cómo se llegó a describir la cinética y dependencia de voltaje de apertura y cierre de los canales iónicos y cómo se pueden cuantificar las variables, es fundamental para comprender la electrofisiología de células únicas. El análisis cuantitativo de las corrientes y conductancias iónicas en el axón gigante de calamar se logró con la técnica conocida como fijación de voltaje (“voltage clamp”). Consiste en

insertar dos electrodos: uno para medir el voltaje de membrana y otro para inyectar la corriente necesaria para mantener fijo este voltaje a un valor determinado, llamado voltaje comando. Los electrodos, tanto el de voltaje como el de corriente, son largos filamentos de plata enrollados [15].

Los simuladores existentes permiten reproducir el potencial de acción y las corrientes iónicas en general, no se detienen en enfocarse a la enseñanza de los métodos de cuantificación propiamente dicho. A diferencia de estos simuladores, en este trabajo se describe un programa diseñado específicamente para estudiar los principios de las corrientes iónicas en el axón gigante de calamar, para reproducir paso a paso los experimentos cuantitativos realizados por Hodgkin y Huxley [15] en 1952. El diseño del programa está inmerso en el programa del curso de biofísica. Desde su construcción se especificaron los objetivos de enseñanza y aprendizaje que se pueden alcanzar:

Objetivos generales de enseñanza: (1) facilitar los principios del método cuantitativo en la electrofisiología. (2) enseñar la asociación de los resultados experimentales con los modelos matemáticos.

Objetivos generales de aprendizaje: (1) determinar los factores que influyen en los resultados; (2) determinar los parámetros utilizados y cómo se miden; (3) apreciar la base de los experimentos de Hodgkin y Huxley [15]; (4) percibir el alcance que tuvo el trabajo de Hodgkin y Huxley[15] en la neurociencias; (5) reproducir los experimentos de Hodgkin y Huxley[15] con su nomenclatura original, para entender el artículo; (6) reproducir los experimentos de Hodgkin y Huxley con la nomenclatura actual para comprender los textos actuales.

METODOLOGÍA

Para el diseño y desarrollo de este simulador se utilizó el lenguaje Visual Basic ver. 5.0, para ambiente Windows®, desde XP a Windows 8, con una resolución de pantalla

de 1,366 x 768 pixeles.

Para la simulación de las corrientes iónicas de sodio (I_{Na+}) y potasio (I_{K+}), cada una por separado o de modo conjunto, se utilizó la ecuación 1.

$$I_{TOTAL} = c \frac{dV_m}{dt} + \overline{g_K} n^4 (V_m - E_K) + \overline{g_{Na}} m^3 h (V_m - E_{Na}) \quad (1)$$

con $dV_m/dt = 0$, significa que el voltaje se mantiene fijo en el experimento.

Donde:

I_{TOTAL} = corriente total de membrana,
 V_m = voltaje de membrana.

En los experimentos de fijación de voltaje se consideró que:

$$V_m = V_c - V_h$$

V_C = voltaje comando

V_h = voltaje "holding" con $V_h = 0$

$\overline{g_K}$ y $\overline{g_{Na}}$ = conductancia máxima de potasio y de sodio, respectivamente.

E_K y E_{Na} = potencial de equilibrio de K^+ y de Na^+ , respectivamente.

Para ajustar las curvas de conductancia con respecto al tiempo se introdujeron variables dimensionales: para g_{K+} , n ; y para g_{Na+} , m y h .

Las funciones con respecto del tiempo $n(t)$, $m(t)$ y $h(t)$ deben satisfacer las siguientes ecuaciones diferenciales, con el supuesto de que la cinética de estos canales es de primer orden:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n \quad (2)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m \quad (3)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h \quad (4)$$

Las constantes de velocidad se obtienen con las siguientes ecuaciones, bajo el supuesto de que estas siguen una cinética de primer orden, de la misma manera que una reacción

química:

$$\alpha_n = \frac{n_\infty}{\tau_n} \quad (5)$$

$$\beta_n = \frac{(1 - n_\infty)}{\tau_n} \quad (6)$$

$$\alpha_m = \frac{m_\infty}{\tau_m} \quad (7)$$

$$\beta_m = \frac{(1 - m_\infty)}{\tau_m} \quad (8)$$

$$\alpha_h = \frac{h_\infty}{\tau_h} \quad (9)$$

$$\beta_h = \frac{(1 - h_\infty)}{\tau_h} \quad (10)$$

El ajuste de los datos experimentales para las constantes de velocidad se realizó con las siguientes ecuaciones (experimentos de Hodgkin y Huxley)[15]:

$$\alpha_n = 0.01(V_m + 10) / \left(\exp \frac{V_m + 10}{10} - 1 \right) \quad (11)$$

$$\beta_n = 0.125 \exp \left(\frac{V_m}{80} \right) \quad (12)$$

$$\alpha_m = 0.1(V_m + 25) / \left(\exp \frac{V_m + 25}{10} - 1 \right) \quad (13)$$

$$\beta_m = 4 \exp \left(\frac{V_m}{18} \right) \quad (14)$$

$$\alpha_h = 0.07 \exp \left(\frac{V_m}{20} \right) \quad (15)$$

$$\beta_h = 1 / \left(\exp \frac{V_m + 30}{10} + 1 \right) \quad (16)$$

Las conductancias iónicas se obtienen con las siguientes ecuaciones:

$$g_k(V_m, t) = I_k(V_m, t) / (V_m - E_k) \quad (17)$$

$$g_{Na}(V_m, t) = I_{Na}(V_m, t) / (V_m - E_{Na}) \quad (18)$$

Para el ajuste de las conductancias iónicas se usaron las ecuaciones 21 y 22, derivadas de las ecuaciones 19 y 20, respectivamente, en términos de los datos experimentales [15]:

$$g_{K+} = \bar{g}_K n^4 \quad (19)$$

$$g_{Na+} = \bar{g}_{Na} m^3 h \quad (20)$$

$$g_K = \left\{ (gK_{\infty})^{1/4} - [(gK_{\infty})^{1/4} - (gK_0)^{1/4}] \right\}^4 \quad (21)$$

$$g_{Na} = g'_{Na} [1 - \exp(t/\tau_m)]^3 \exp(t/\tau_h) \quad (22)$$

Donde:

gK_{∞} = conductancia de potasio en el estado estable y

gK_0 = conductancia de potasio a $t = 0$.

$$g'_{Na} = \bar{g}_{Na} m_{\infty}^3 h_0 \quad (23)$$

Las ecuaciones usadas en el módulo con la nomenclatura actual son las mismas; pero el voltaje negativo [16].

Para generar los potenciales de acción se resolvieron todas las ecuaciones de manera simultánea con $dV_m/dt \neq 0$.

RESULTADOS

En este apartado se describe el simulador, al mismo tiempo que se presentan ejemplos de la simulación de los experimentos de Hodgkin y Huxley [15], con la nomenclatura actual. Se sigue un orden conveniente didácticamente.

Descripción del simulador: menú principal

Al ejecutar el programa se presenta la interfaz de inicio, que muestra el menú principal que consta de cuatro módulos (ventanas). Una ventana superior: donde el usuario puede realizar la simulación de las corrientes de potasio (I_{K+}), de sodio (I_{Na+}) y total (I_T). La segunda ventana: para reproducir los experimentos clásicos de fijación de voltaje de Hodgkin y Huxley, tal como fueron descritos en su artículo [15]. Con la tercera ventana, se pueden realizar los mismos experimentos con la nomenclatura actual y con la cuarta ventana se simulan los potenciales de acción. En las primeras tres ventanas se presentan dos secciones: del lado

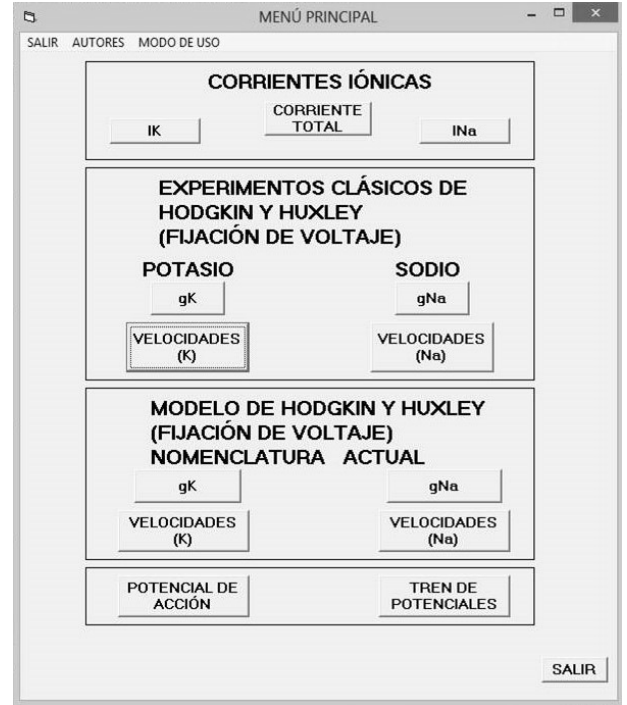


Figura 1. Pantalla de inicio del simulador. De arriba hacia abajo se agrupan en recuadros los módulos de las corrientes iónicas, la versión clásica, la versión actualizada y los potenciales de acción. Para fines de enseñanza-aprendizaje del tema se sugiere seguir la secuencia del artículo; pero no existe una ruta pre-establecida de navegación, el usuario puede acceder libremente a la sección de interés, en el orden deseado.

izquierdo de la pantalla, las simulaciones para el canal de K^+ y del derecho, para el canal de Na^+ (Figura 1).

I. Módulo de simulación de las corrientes iónicas

Este módulo consta de tres botones: simulación de la corriente de K^+ <IK>, simulación de la corriente Na^+ <INa> y simulación de la corriente total <CORRIENTE TOTAL> (Figura 1).

II. Módulo de la versión clásica del modelo de Hodgkin y Huxley

Este módulo consta de cuatro botones: simulación de la conductancia de K^+ (g_{K+}) <gK>, cálculo de las constantes de velocidad para los canales de K^+ <VELOCIDADES (K)>; simulación de la conductancia de

sodio (g_{Na+}) $<g_{Na+}>$ y cálculo de las constantes de velocidad de los canales de Na^+ $<VELOCIDADES (Na)>$. Desde cada uno de los botones de conductancia, se accede a una interfaz para realizar los experimentos correspondientes. Con los botones de constantes de velocidad se accede a las ventanas para graficar las constantes de velocidad para cada canal (Figura 1).

III. Módulo de la versión actual del modelo de Hodgkin y Huxley

El tercer módulo corresponde a los experimentos con la nomenclatura actual, contiene los cuatro botones equivalentes descritos en el módulo dos (Figura 1).

IV. Módulo de potenciales de acción

El módulo inferior corresponde a la generación de potenciales de acción. Consta de dos botones: $<POTENCIALES DE ACCIÓN>$ y $<TRENES DE POTENCIALES>$. Con el primer botón se puede estudiar el umbral de disparo y con el segundo botón se produce un tren de potenciales de acción ante un estímulo de larga duración.

Simulación de las corrientes iónicas

En esta sección el alumno puede obtener los trazos de las corrientes iónicas de K^+ , Na^+ , total y encontrar el potencial de inversión de la corriente de Na^+ . Las tres interfaces son semejantes (Figura 2). Los experimentos se realizan con la técnica de fijación de voltaje. El axón es llevado a 0 mV, y a partir de este voltaje se aplican pulsos con duración de 20 ms y amplitudes que pueden ser modificadas para obtener las corrientes respectivas. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de cada caso.

Simulación de la conductancia de K^+

En la Figura 3 se muestra la pantalla de interfaz para realizar la simulación de la g_{K+} . Esta interfaz consta de dos partes:

una superior donde se muestran tres gráficas, que corresponden de izquierda a derecha, a la probabilidad de apertura del canal de K^+ , la gráfica central corresponde a la conductancia de K^+ en unidades m-mho/cm² y la gráfica del lado derecho corresponde a la conductancia de potasio en unidades nS/cm². Del lado izquierdo de cada gráfica se encuentra un recuadro que muestra el valor de la conductancia en la región estable de cada trazo (g_{∞}).

En la parte inferior se localiza un recuadro para ingresar los valores del estímulo (amplitud del voltaje comando V_c). Debajo, se muestra el botón $<EXPERIMENTO>$ que sirve para iniciar la simulación, y el botón $<AJUSTE MATEMÁTICO>$ que traza la función que ajusta los datos experimentales.

Una vez explicado cómo se obtiene la conductancia a partir de las corrientes iónicas, por medio de la Ley de Ohm; con ayuda del simulador, se realizan los experimentos con pulsos de voltaje, con valores de V_c : 26, 32, 38, 51, 63, 76, 88, 100 y 109 mV.

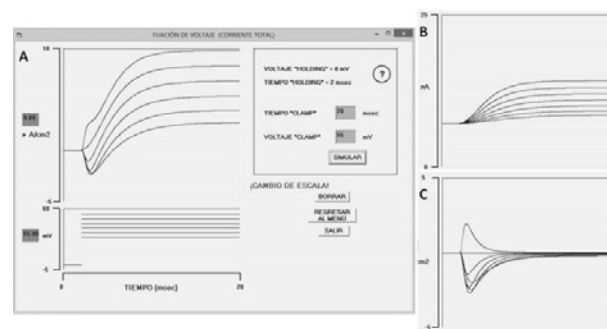


Figura 2. Pantallas de interfaz para la simulación de las corrientes iónicas totales. (A): Interfaz para simular la corriente total. En el recuadro superior se presenta la pantalla del osciloscopio que muestra la corriente total, en el recuadro inferior se muestran los pulsos de voltaje. El usuario debe ingresar los valores de tiempo “clamp” y voltaje “clamp”. Con el botón $<SIMULAR>$ se inicia la simulación para cada estímulo. (B) Registros de la I_{K+} . (C) Registros de la I_{Na+} . Para este ejemplo de simulación se utilizaron los siguientes valores de V_c : 25, 30, 35, 40, 45, 50 y 55 mV.

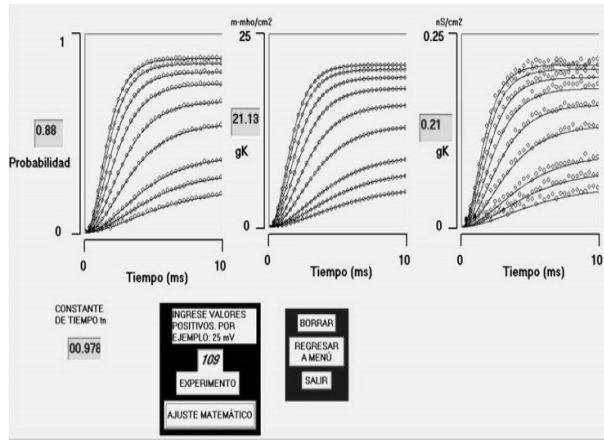


Figura 3. Pantalla de interfaz para la simulación de las conductancias de K^+ . Los dos últimos trazos de mayor amplitud corresponden a un V_c de 100 y 109, respectivamente. En este apartado se puede observar cómo los valores obtenidos de conductancia cambian muy poco a partir de 100 mV de estímulo. El estudiante puede estimular con valores de 120 o mayores y observar los pequeños cambios en la amplitud de la conductancia. Por convención, se establece la conductancia máxima como aquella alcanzada a estímulos de 100 mV más el 20% [15].

El estudiante puede observar las conductancias respectivas para cada estímulo y obtener la conductancia infinita para cada trazo. Al ajustar los datos experimentales con la función correspondiente (ecuación 21). La constante de tiempo se muestra en el recuadro inferior izquierdo, que se obtiene de las ecuaciones 2, 5 y 6.

Cálculo de las constantes de velocidad para los canales de K^+

Con los datos obtenidos en el simulador de la conductancia infinita y la constante de tiempo para un valor de V_c en particular y con la conductancia máxima obtenida, se pueden calcular las constantes de velocidad del canal para cada V_c . En la Figura 4 se muestra un ejemplo, al estimular el axón con un voltaje de 63 mV, la conductancia infinita alcanzada (valor de la conductancia en el estado estable) se muestra en el recuadro del eje de g_K . La constante de tiempo para ese trazo se muestra en el recuadro

correspondiente. El valor de la conductancia máxima es la conductancia de potasio, en el estado estable, con un estímulo de 100 mV más el 20% de este valor. Los módulos de cálculo se abren en el submenú de “ayuda” de la barra superior. Se incluye un módulo para calcular el valor de n_∞ y otro módulo para calcular las velocidades α_n y β_n (Figura 4).

Cada vez que se ejecuta una simulación se genera un nuevo axón, con conductancias diferentes en los canales y en consecuencia los valores en la simulación, aunque del mismo orden, son diferentes. El propósito es que cada alumno simule un axón diferente y los resultados que obtenga serán ligeramente distintos.

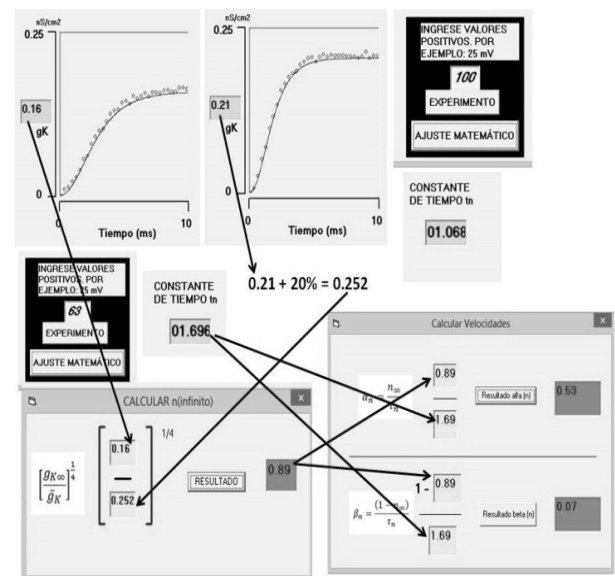


Figura 4. Pantallas de interfaz para el cálculo de las constantes de velocidad de los canales de K^+ . Los trazos superiores de conductancias corresponden a un estímulo de 63 y 100 mV respectivamente; los valores obtenidos de conductancia infinita y conductancia máxima son 0.16 y 0.25 nS/cm², respectivamente. El valor de n_∞ se obtiene de la conductancia infinita para el voltaje de estímulo entre la conductancia máxima, elevada a $(1/4)$, el resultado es de 0.89. Con este valor y la constante de tiempo 1.69 ms se calculan las velocidades α_n y β_n , los valores calculados fueron 0.53 y 0.07, respectivamente. Las flechas indican donde son usados cada uno de los valores experimentales y de cálculo.

Tabla 1. Datos de Hodkin y Huxley vs simulación

V (mV)	gK_{∞}	sim	n_{∞}	sim	τ_n (ms)	sim	α_n (m/s)	sim	β_n (m/s)	sim
-100	20.00	20.02	0.95	0.95	1.10	1.06	0.86	0.90	0.043	0.05
-88	18.60	19.01	0.93	0.94	1.25	1.21	0.74	0.78	0.052	0.05
-76	17.00	17.64	0.91	0.92	1.50	1.41	0.61	0.65	0.057	0.06
-63	15.30	15.59	0.89	0.89	1.70	1.69	0.52	0.53	0.064	0.07
-51	13.27	12.99	0.85	0.85	2.05	2.07	0.41	0.41	0.069	0.07
-38	10.29	9.26	0.80	0.79	2.60	2.66	0.31	0.30	0.075	0.08
-32	8.62	7.28	0.77	0.74	3.20	3.01	0.24	0.25	0.071	0.09

En la Tabla 1 se muestra la comparación de las variables gK_{∞} , n_{∞} , τ_n , α_n y β_n de los experimentos reportados en uno de los axones registrados experimentalmente por Hodgkin y Huxley [15] contra los generados en uno de los axones simulados (con el módulo de experimentos clásicos, para poder comparar). Aunque los valores obtenidos por la simulación son ligeramente diferentes, la variabilidad es similar a la biológica. Esto se logra al generar valores de conductancias iónicas al azar para el axón a simular.

Simulación de la conductancia de Na^+

La interfaz para la simulación de las g_{Na^+} se muestra en la Figura 5. La ventana tiene un recuadro (osciloscopio) donde se muestra cada una de las g_{Na^+} en respuesta a V_c : 26, 32, 38, 51, 63, 76, 88, 100 y 109 mV. El estudiante observa una parte ascendente y una descendente en la conductancia. El valor pico de cada trazo se muestra en el recuadro del eje g_{Na^+} . Abajo y a la izquierda se muestran las constantes de tiempo τ_m y τ_h para cada trazo. El botón <BORRAR> borra los trazos, el botón <REGRESAR A MENÚ PRINCIPAL> regresa a la ventana de menú principal. En cualquier momento se puede salir del simulador con <SALIR>.

Cálculo de las constantes de velocidad para los canales de Na^+

En la Figura 6 se muestran las simulaciones de la conductancia del canal de Na^+ para un V_c de 50 mV. La conductancia al pico fue de 0.54 nS/cm^2 .

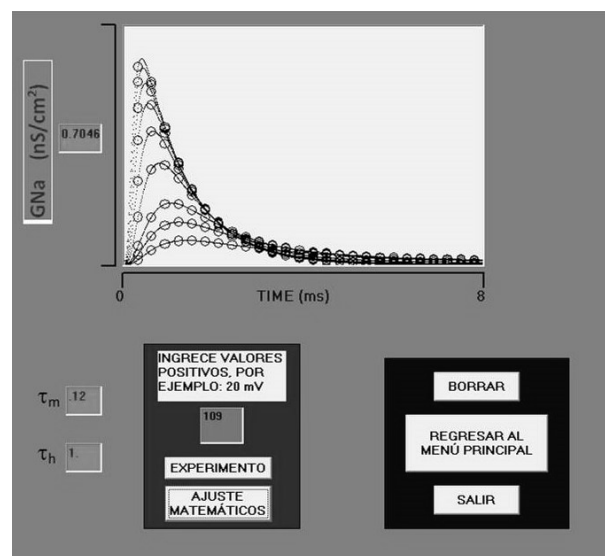


Figura 5. Pantalla de interfaz para la simulación de las g_{Na^+} . En la parte superior se muestra la ventana de simulación de la g_{Na^+} . La conductancia máxima de obtiene con un V_c de 100 mV + el 20%. Las constantes de tiempo τ_m y τ_h aparecen después de ajustar los datos generados (círculos) con la ecuación 22 (líneas continuas).

La conductancia máxima se obtuvo de un pulso V_c de 100 mV + el 20% de este valor, dando como resultado 0.84 nS/cm^2 . Las constantes de tiempo $\tau_m = 0.34$ y $\tau_h = 1.13$ ms. La ecuación para calcular m_{∞} se muestra en el módulo de cálculo y corresponde a la raíz cúbica de la conductancia al pico del pulso entre la conductancia máxima, el valor resultante es 0.86. La velocidad α_m y β_m se calculan con el módulo correspondiente con las ecuaciones 7 y 8 (Figura 6). El estudiante puede repetir paso a paso los experimentos realizados por Hodgkin y Huxley en su nomenclatura original y

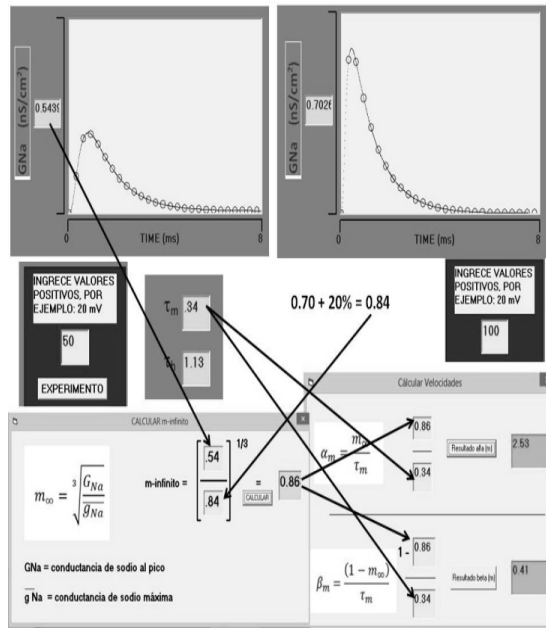


Figura 6. Pantallas de interfaz para el cálculo de las constantes de velocidades para los canales de Na^+ . Ejemplo de simulación para calcular los valores de m_∞ , α_m y β_m para un pulso de $V_c = 50$ mV. Las ventanas para los cálculos se abren desde el submenú de ayuda de la barra superior. Los valores calculados para α_m y β_m fueron 2.53 y 0.41, respectivamente. Las flechas indican donde son usados cada uno de los valores experimentales y de cálculo.

actualizada, y con ellos realizar una gráfica con Excel® directamente desde el simulador, o bien usar otro programa para graficarlos y ajustar las ecuaciones 13 y 14. Los valores calculados para cada uno de los parámetros con los voltajes correspondientes a los experimentos originales fueron muy próximos (tabla no presentada).

Graficado de las constantes de velocidad para el canal de K^+

Cada uno de los experimentos realizados con el módulo actualizado, se pueden reproducir de la misma manera con el módulo de nomenclatura original. Los resultados para las variables calculadas son iguales; sin embargo las gráficas de n_∞ , α_n , y β_n con respecto del voltaje tienen trayectorias opuestas. A partir del botón <VELOCIDADES (K)> se ingresa a la

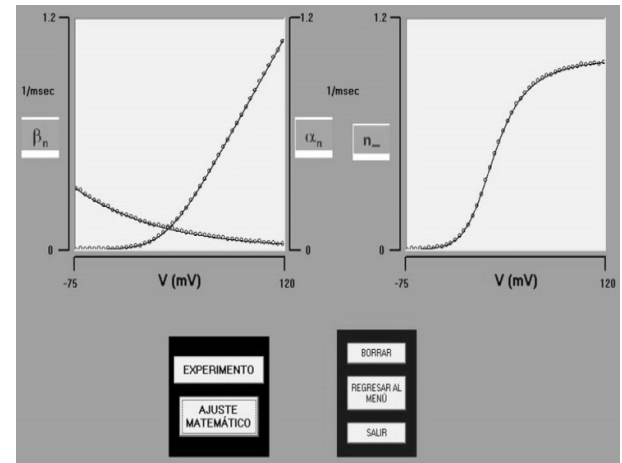


Figura 7. Gráficas de las constantes de velocidad para el canal de K^+ . Graficado de α_n , β_n y n_∞ . En círculos los datos calculados y el ajuste matemático en línea continua. Se observa como α_m aumenta conforme el voltaje es menos negativo, hasta llegar a valores positivos. En cambio, β_m disminuye. La gráfica de n_∞ aumenta.

interfaz para el graficado de n_∞ , α_m , y β_m (Figura 7). En este caso se presentan dos recuadros, uno izquierdo donde se grafican las velocidades α_n y β_n . El recuadro del lado derecho muestra la gráfica para n_∞ .

Graficado de las constantes de velocidad para el canal de Na^+

Los canales de Na^+ dependientes de voltaje del axón gigante de calamar presentan una cinética de activación y de inactivación. Después de obtener los datos con el simulador, las velocidades α_m , β_m , m_∞ y de α_h , β_h , h_∞ se pueden graficar con Excel® directamente del programa o con Origin® para ajustar los datos a las funciones matemáticas correspondientes. Desde el menú principal, se selecciona el botón <VELOCIDADES (Na)>, se puede acceder a las ventanas correspondientes, para de manera predeterminada, graficar los datos y ajustar la función matemática. En la Figura 8 se muestran los resultados de un ejemplo simulado. En A y B se observa la simulación de los experimentos actualizados de Hodgkin y Huxley [15] de las curvas

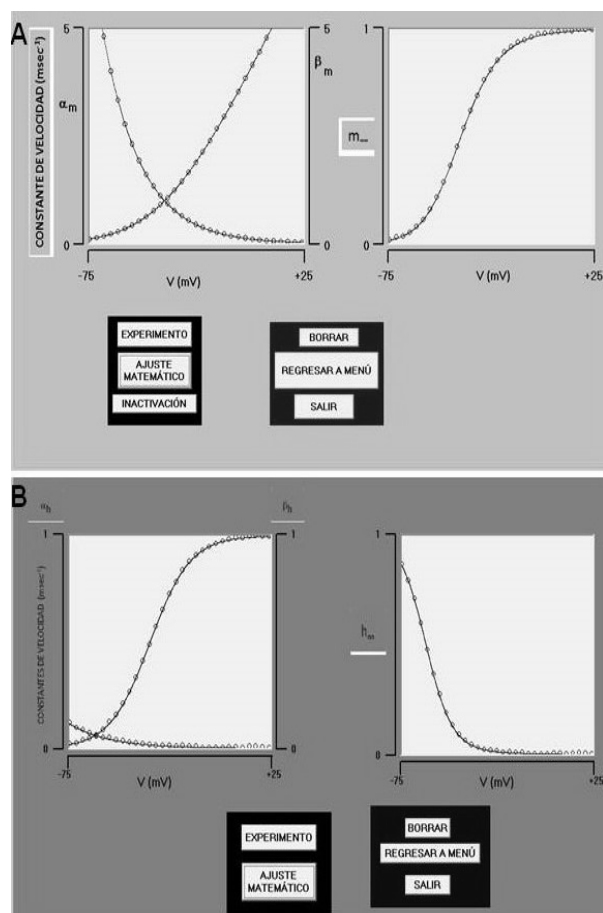


Figura 8. Graficado de las constantes de velocidad para el canal de Na⁺. (A) En el recuadro de la izquierda se grafican α_m y β_m . En el recuadro de la derecha se grafica m_∞ . (B) En el recuadro de la izquierda se grafican α_h y β_h . En el recuadro de la derecha se grafica h_∞ .

correspondientes a la activación y a la inactivación, respectivamente.

Simulación de los potenciales de acción

Con la solución simultánea de las ecuaciones del modelo, resultado de los experimentos con la técnica de fijación de voltaje, se puede reproducir el potencial de acción. La Figura 9, muestra el potencial de acción generado con un estímulo de corriente. En esta interfaz del simulador se puede estudiar de manera interactiva el umbral de disparo. El estudiante puede variar la duración y la amplitud del estímulo de corriente y determinar el umbral de disparo.

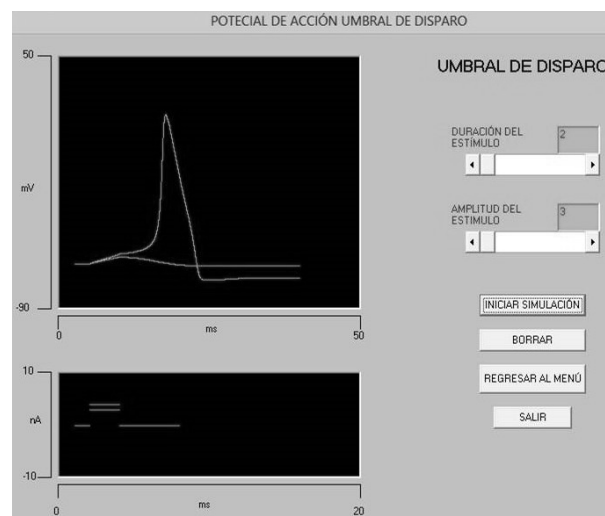


Figura 9. Potencial de acción. Se muestran dos trazos: (1) con un estímulo subumbral, el trazo muestra cómo se carga la membrana, pero no se produce el potencial de acción. La duración del pulso de corriente fue de 2 ms y su amplitud de 3 nA. (2) con un estímulo umbral, se observa el potencial de acción. La amplitud del pulso de corriente se incrementó a 4 nA.

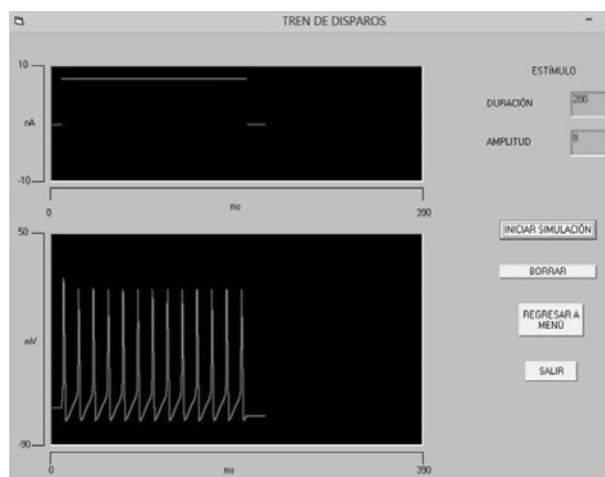


Figura 10. Simulación de un tren de potenciales de acción generados con un pulso de corriente con una duración de 200 ms y una amplitud de 8 nA.

La Figura 10, muestra la interfaz para generar un tren de disparos de potenciales de acción ante un estímulo de corriente de 200 ms de duración. Con estos ejemplos se muestra cómo el modelo matemático derivado del trabajo original de Hodgkin y Huxley reproduce los potenciales de acción.

DISCUSIÓN

Las condiciones socioeconómicas actuales están influyendo en los sistemas educativos para ofrecer cursos semi-presenciales y a distancia. La disposición de simuladores propios en cursos a distancia son estrategias de enseñanza que se están implementando paulatinamente [17]. La mayoría del aprendizaje basado en computadora presenta varios beneficios en común, que incluyen: la flexibilidad del tiempo (el estudiante puede realizar su práctica virtual individualmente, con tiempos y horarios propios a cada situación) [18]; flexibilidad (se puede interrumpir y proseguir en cualquier momento) [18]; control del ritmo de aprendizaje (se puede ocupar el tiempo necesario para comprender los conceptos) [19] y la disminución del sacrificio de animales de experimentación.

Existen varios estudios comparativos de eficiencia entre el uso de animales de laboratorio contra los medios alternativos [20,21,22,23]. En estos trabajos se mostró que el uso de medios alternativos es igual de eficiente que los métodos tradicionales de laboratorio [24].

De acuerdo con Vinardell *et al.* [25] la elaboración de materiales docentes alternativos, implica trabajo arduo, dedicación prolongada y competencias computacionales. Es conveniente la integración de grupos multidisciplinarios para su desarrollo: expertos en el tema, en educación, programadores, diseñadores instruccionales y artistas gráficos [26]. De acuerdo con Dewhurst *et al.* [27] la utilidad de un programa computacional alternativo (CAL), en cualquier plan de estudios, dependerá de la cercanía, del ajuste del programa con las necesidades del profesor y los alumnos. El uso de estos programas se incrementaría en gran medida si se tuviera la oportunidad de adaptarlos para satisfacer el contexto local de uso.

Para la electrofisiología existen varias herramientas computacionales. Simuladores

como NEURON y GENESIS son lenguajes de programación orientados a objetos para las neurociencias. Estos lenguajes permiten incluso simular neuronas específicas y redes neuronales para la investigación. NEURON [9] corre en ambiente Windows® y Linux y GENESIS [11] corre en Linux.

Si bien la electrofisiología está inmersa en los cursos de fisiología y biofísica para varias carreras de las ciencias de la vida, incluida la bioingeniería, los tiempos designados para su enseñanza son en realidad reducidos con respecto a la cantidad de principios básicos y de información que actualmente se tiene. Las herramientas descritas son muy grandes para ser usadas como apoyo didáctico. De manera que su empleo para fines de enseñanza queda comprometido por el tiempo necesario para aprender a usarlos. Sin embargo, se han realizado varios módulos de menor tamaño para ser usados en la enseñanza. Por ejemplo, se han preparado módulos más pequeños a partir de NEURON, como tutoriales (NeuroLab tutoriales y simulaciones usando NEURON) [28] o módulos para el estudio de los potenciales de acción del modelo de Hodgkin y Huxley, donde se pueden cambiar las propiedades geométricas del axón, efecto de la temperatura, cable y potenciales de acción (módulo SEMB, desarrollado por Hernández y Zurek [8]); y simuladores más pequeños como HR2 y Rall1 para el estudio de las propiedades pasivas [29].

Una de las ventajas del desarrollo de materiales propios, es la posibilidad de modificarlos y actualizarlos constantemente, de acuerdo a la retroalimentación de los estudiantes. Este simulador forma parte de una colección que se desarrolla con la finalidad de cubrir un curso completo de biofísica con asistencia computacional. La extensión de cada simulador se limita para facilitar su uso, manejo y transferencia de archivos. El simulador desarrollado, a diferencia de los demás, permite al usuario seguir cada uno de los pasos del trabajo de Hodgkin y Huxley [15]. Una descripción y

derivación detallada del modelo matemático utilizado en este trabajo se puede encontrar en Cronin [30].

CONCLUSIONES

El programa se desarrolló como una herramienta de apoyo didáctico para la comprensión de los mecanismos biofísicos de los canales iónicos dependientes de voltaje, responsables de la excitabilidad neuronal. El simulador está en idioma español, es ejecutable en ambiente Windows® y no requiere de programas adicionales para su ejecución, consta de diversas ventanas interactivas que permiten reproducir los experimentos de Hodgkin y Huxley [15] en el axón gigante de calamar; así como ventanas de ayuda para realizar los cálculos de las variables respectivas y para abrir un archivo de ayuda en pdf. El usuario puede realizar una cantidad ilimitada de experimentos virtuales que le facilitarán la comprensión del tema. Se recomienda usar el simulador al mismo tiempo que se estudia el artículo original. De esta manera, el usuario lo comprenderá mejor. Los módulos en su versión original y actualizada son independientes y el uso de cada uno de ellos es opcional y de acuerdo a los objetivos didácticos que se planteen.

Particularmente, el simulador fue diseñado para que el usuario pueda lograr los siguientes objetivos:

1. Simular corrientes iónicas: la corriente saliente de K^+ , la corriente entrante de Na^+ y ambas al mismo tiempo; de utilidad para observar que la corriente de K^+ no inactiva; así como la activación e inactivación de la corriente de Na^+ y determinar su potencial de inversión.
2. Simular y calcular las conductancias iónicas de K^+ y Na^+ , mediante el manejo de la Ley de Ohm.
3. Calcular los valores de las constantes de velocidad de los canales de K^+ y Na^+ , mediante el ajuste de los datos de las conductancias, y obtener el valor de las constantes de tiempo respectivas.
4. Graficar las constantes de velocidad de los canales iónicos de K^+ y Na^+ .

REFERENCIAS

1. Curran J, Mohler PJ. "Alternative paradigms for ion channelopathies: Disorders of ion channel membrane trafficking and posttranslational modification," *Annu. Rev. Physiol.* (online), vol. 77, pp. 9.1-9.20, 2015. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021014-071838.
2. Kullmann DM. "Neurological channelopathies," *Ann. Rev. Neurosci.*, vol. 33, pp. 151-172, 2010. DOI: 10.1146/annurev-neuro-060909-153122.
3. Av-Ron E, Byrne JH, Baxter DA. "Teaching basic principles of neuroscience with computer simulations," *JUNE*, vol. 4 no. 2, pp. A40-A52, 2006.
4. Demir SS. "An quantitative electrophysiology training resource for simulation-based teaching and learning," *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE*, vol. 7, pp. 5169-5171, 2004. DOI: 10.1109/IEMBS.2004.1404439.
5. Qing-li Q. "Electrophysiology course with quantitative method," *ITIME*, vol. 1, pp. 706-710, 2009. DOI: 10.1109/ITIME.2009.5236332.
6. Alegría-Baños JA, Álvares-Romo E, Arredondo-Mendoza G, et al. *Manual de prácticas de laboratorio de fisiología*. 2011-2012. [revisado 25/08/2015]

- http://www.facmed.unam.mx/fm/pa/2010/practicas/practicas_fisiologia.pdf
7. Gerstner W, Sprekeler H, Deco G. "Theory and simulation in neuroscience," *Science*, vol. 338, pp. 60-65, 2012. DOI: 10.1126/science.1227356.
 8. Hernández OE, Zurek EE. "Teaching and learning the Hodgkin-Huxley model based on software developed in NEURON's programming language hoc," *BMC Med. Educ*, vol. 13, no. 70 pp. 1-9, 2013. DOI: 10.1186/1472-6920-13-70.
 9. Carnevale NT, Hines ML. *The neuron book*. New York, NY: Cambridge University Press, 2006.
 10. Ribaric S, Kordas M. "Teaching cardiovascular physiology with equivalent electronic circuits in a practically oriented teaching module," *Adv. Physiol. Educ*, vol. 35, pp. 149-160, 2011. DOI: 10.1152/advan.00072.2010.
 11. Bower JM, Beeman D. *The book of GENESIS*. 2nd Ed, TELOS Springer-Verlag (New York), 1998.
 12. Hodgkin A, Huxley A. "Currents carried by sodium and potassium ions," *J. Physiol*, vol. 116, pp. 449-472, 1952a. DOI: 10.1113/jphysiol.1952.sp004717
 13. Hodgkin A, Huxley A. "The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo," *J. Physiol*, vol. 116, pp. 473-496, 1952b. DOI: 10.1113/jphysiol.1952.sp004718
 14. Hodgkin A, Huxley A. "The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of Loligo," *J. Physiol*, vol. 116, pp. 497-506, 1952c. DOI: 10.1113/jphysiol.1952.sp004719
 15. Hodgkin A, Huxley A. "Quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve," *J. Physiol*, vol. 117, pp. 500-544, 1952d. DOI: 10.1113/jphysiol.1952.sp004764
 16. Johnston D, Wu MS. *Foundations of cellular neurophysiology*, MIT Press Cambridge (Massachusetts), 1995.
 17. Dewhurst D. "Computer-based alternatives in higher education: past, present and future," *ALTEX*, vol. 23, no. 3/06, pp. 197-201, 2006.
 18. Race P. *The Open Learning Handbook*. Kogan Page (London), 1994.
 19. Heerman DW, Fuhrmann TT. "Teaching physics in the virtual university: the mechanics toolkit," *Comput. Phys. Commun*, vol. 127, pp. 11-15, 2000. DOI: 10.1016/S0010-4655(00)00033-3.
 20. Clarke K. "The use of microcomputer simulations in undergraduate neurophysiology experiments," *ATLA*, vol. 14, pp. 134-140, 1987.
 21. Dewhurst D, Brown GJ, Mehan AS. "Microcomputer simulations of laboratory experiments in physiology," *ATLA*, vol. 15, pp. 280-289, 1998.
 22. Leathard HL, Dewhurst D. "Comparison of the cost-effectiveness of a computer assisted learning program with a tutored demonstration to teach intestinal motility to medical students," *Assoc. Learn. Technol*, vol. 3, pp. 118-125, 1995.
 23. Hughes IE. "Do computer simulations of laboratory practicals meet learning needs?," *Trends. Pharmacol. Sci*, vol. 22, pp. 71-74, 2001. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-6147\(00\)01605-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01605-9).

24. Gruber FP, Dewhurst D. "Alternatives to animal experimentation in biomedical education," *ALTEX*, vol. 21, Suppl. 1, pp. 33-48, 2004.
25. Vinardell MP. "Actividades de EURCA (European Resource Center for Alternatives in Higher Education) en el desarrollo e implantación de métodos alternativos al uso de animales en docencia," *Edusfarm*, vol. 2, pp. 1-7, 2007.
26. Abud FM. "MeISE: Metodología de ingeniería de software educativo," *Rev. Int. Educ. Ing*, vol. 2, no. 1, pp. 1-9, 2009.
27. Dewhurst D. "Is it possible to meet the learning objectives of undergraduate pharmacology classes with non-animal models?," *AATEX*, vol. 14, pp. 21-25, 2007.
28. Moore J, Stuart AE. "Neurons in action: computer simulations with NeuroLab," *J. Undergrad. Neurosc. Educ*, vol. 2, no. 2, pp. 6-7, 2004.
29. Reyes Lazalde A, Pérez ME, Fuchs OL, Reyes M. "Interactive simulators to study the passive properties of the axon and the dendritic tree," *Rev. Mex. Ing. Biomedica*, vol. 33, no.1, pp. 29-40, 2012.
30. Cronin J. *Mathematical aspects of Hodgkin-Huxley neural theory*. Cambridge University Press (New York), 1987.

