

CIRCUITO ELÉCTRICO EQUIVALENTE DE UNA VESÍCULA SINÁPTICA

Electric Circuit Equivalent to a Synaptic Vesicle

XAIRA CORTÉS¹ Y RAMÓN FAYAD^{1,2}

¹ Departamento de Física. Universidad Nacional de Colombia.

² Departamento de Física. Universidad de los Andes.

Recibido, junio 11 de 2003. Aceptado, julio 8 de 2003.

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolla un modelo eléctrico de uno de los elementos primordiales en la sinapsis nerviosa: la vesícula sináptica. Dicha vesícula se considera como un organelo esférico, despojada de neurotransmisores y se asume, además, que su lumen, su membrana y el citoplasma neuronal se comportan como medios lineales, homogéneos e isotrópicos caracterizados por conductividades y permitividades específicas. El método utilizado será la aplicación teórica de un campo eléctrico (que varía en el tiempo a bajas frecuencias) sobre esta vesícula, lo que induce a través de su membrana una diferencia de potencial cuya caracterización se obtiene a partir de las ecuaciones de Maxwell sometidas a condiciones de contorno adecuadas, en la denominada aproximación cuasi-estacionaria. A su vez, mediante aplicación de la Transformada de Laplace a las expresiones resultantes se obtiene la FUNCIÓN DE TRANSFERENCIA, que conduce a sintetizar un circuito RLC equivalente de la vesícula en estudio. El modelo predice valores de capacitancia para vesículas esféricas individuales que, al ser contrastados con los que presenta la literatura existente derivada de procesos experimentales previos, alienta la perseverancia en este enfoque teórico germinal.

Palabras clave: Vesícula sináptica, circuito eléctrico equivalente, exocitosis.

ABSTRACT

In the present work an electrical model of the synaptic vesicle is developed. The vesicle is considered as a spheroidal organelle without neurotransmitters in its inner space. In addition, its lumen, its membrane and the neuronal cytoplasm behave like linear, homogenous and isotropic media characterized by specific conductivities and permittivities. The theoretical approach considers the application of an electric field (varying in time at low frequencies) on this vesicle. A transmembrane potential difference is induced and its characterization is obtained from Maxwell's equations subject to appropriate boundary conditions, in the so-called quasi-stationary approach. By applying the Laplace Transform to the resulting equations, the TRANSFER FUNCTION is obtained. In this way, we were able to synthesize an RLC circuit equivalent of the vesicle under study. The model predicts capacitance values for individual spherical vesicles, which contrasted with those reported in the existing literature from previous experimental processes, encourages the continuity of this theoretical approach.

Key words: Synaptic vesicle, equivalent electric circuit, exocytosis.

INTRODUCCIÓN

El cerebro es el órgano que obtiene la información del medio ambiente, la procesa para generar conocimiento y la transforma, si corresponde, en comportamientos definidos. El cerebro es, por lo tanto, el responsable de intrincados fenómenos como los sentimientos, los presagios, las conductas, los sueños, las concepciones abstractas y el bagaje mental evolutivo de cada individuo, en tal dimensión que podemos afirmar, sin hipérbole, que el cerebro hace de nosotros lo que somos y que somos, en esencia, nuestro cerebro. En las autorizadas palabras de uno de los padres de la neurociencia moderna, Rodolfo Llinás, “el yo es un estado funcional del cerebro y nada más, ni nada menos”. He aquí, instalada en el objetivo final del conocimiento de nuestra propia esencia, la razón por la cual la naturaleza y la fisiología de las unidades funcionales del cerebro, las células nerviosas, sean uno de los mayores retos investigativos de la ciencia contemporánea. La investigación experimental del tejido nervioso ha sido predominante en la comprensión del sistema habiendo avanzado en la actualidad hasta el dominio de la biología molecular. Sin embargo, no es suficiente y se requiere de una aproximación teórica para afinar el enfoque con que debe proseguirse en la búsqueda de la aprehensión, palmo a palmo, del portento total. Así, en el presente artículo se desarrolla un modelo teórico, físico-matemático, de uno de los elementos primordiales en una sinapsis nerviosa: la vesícula sináptica.

ANTECEDENTES

Las neuronas están limitadas por una membrana plasmática de 6 a 8 nm de espesor (Kandel *et al.*, 2000) que separa el medio intracelular o citoplasma neuronal del medio extracelular. La composición interna del citoplasma difiere apreciablemente de la del fluido extracelular; así, el ión potasio K^+ se encuentra más concentrado en el interior mientras en el exterior son el ión sodio Na^+ y el ión cloro Cl^- los que presentan una mayor concentración. Las observaciones experimentales realizadas por los pioneros de la electrofisiología en sistemas de membrana, tales como las células excitables de vertebrados e invertebrados y, sobre todo, en el axón gigante de calamar, llevaron a Cole y Curtis (1939) a proponer un circuito eléctrico sencillo cuyas propiedades constituirían un modelo del comportamiento de las membranas excitables. Este circuito se denominó circuito equivalente. Cualitativamente, todas las propiedades pasivas importantes de una membrana neuronal son representadas por este circuito que consta de resistores (que representan los canales iónicos), baterías (que representan los gradientes de concentración de las especies iónicas relevantes) y condensadores (que representan la capacidad de la membrana de almacenar carga eléctrica). Las corrientes eléctricas a través de las membranas biológicas se deben esencialmente al flujo iónico de Na^+ , K^+ y Cl^- . Las bicapas son impermeables a estos iones, que atraviesan la membrana casi exclusivamente a través de canales iónicos específicos, actuando en favor de sus gradientes de concentración, lo que genera fuerzas electromotrices, correspondientes a los potenciales de Nernst asociados e independientes para cada uno de ellos. Los canales iónicos actúan, así, a modo de fuentes de potencial microscópicas. La resistencia eléctrica que ofrece la unidad de área de la membrana o resistencia específica, R_M , de la membrana excitable es una propiedad intrínseca suya y

representa la capacidad de permitir o no el paso de iones que la atraviesen; dicha resistencia depende únicamente de la clase y del número de canales iónicos abiertos, presentes en la membrana. Análogamente, su conductancia, $G_M = 1/R_M$, representa la capacidad de la membrana para oponerse al flujo de una corriente iónica. La conductancia no sólo dependerá de las propiedades de la membrana sino también de la concentración iónica a uno y otro lado de la misma. Esto equivale a decir que los canales iónicos se comportan como una resistencia variable, que representa la conductancia específica, g_i de cada canal; esta conductancia específica individual es variable en virtud de que un canal no conduce de igual manera en todo momento. Los canales iónicos son proteínas sometidas a transiciones conformacionales que resultan en procesos de apertura o cierre; la conductancia total de la membrana viene dada por la suma de las conductancias individuales de los canales iónicos que en un momento dado se hallen abiertos y por consiguiente, la conductancia específica g_i de una especie iónica equivale al producto de la conductancia individual de su canal correspondiente por el número de canales abiertos por unidad de área de la membrana. Las propiedades eléctricas de la membrana asociadas a la corriente generada por una especie iónica (como el ión K^+ potasio) se resumen, finalmente, en una resistencia variable, que representa la conductancia total de la membrana para cada tipo de ión, en serie con una fuerza electromotriz (f.e.m.), que representa el voltaje generado por el gradiente de concentración. En la figura 1 se representa el circuito equivalente que corresponde al ión potasio K^+ . Al igual que los canales de potasio K^+ , los canales de sodio Na^+ y cloro Cl^- tienen un equivalente eléctrico.

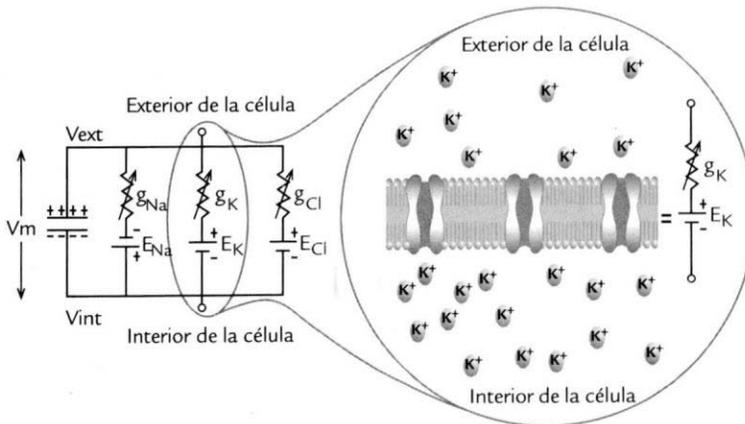


Figura 1. Modelo eléctrico del comportamiento pasivo de una membrana neuronal con canales de Na^+ , K^+ y Cl^- .

Las membranas biológicas son estrictamente electroneutras en el sentido de que la concentración de cargas positivas en cualquiera de los compartimientos que separan es siempre idéntica a la de cargas negativas. No obstante, las membranas fosfo-

lipídicas tienen la propiedad de poderse polarizar, es decir, de admitir una diferencia microscópica de carga entre sus caras externas, lo que, sin violar el principio de electroneutralidad, trae consigo ciertas consecuencias de tipo eléctrico. La membrana polarizada actúa como un condensador, de forma que las dos capas fosfolipídicas corresponden a las placas de un condensador plano y la fase hidrocarbonada de la membrana actúa como medio dieléctrico. Así, el modelo eléctrico de la membrana neuronal se complementó al incorporar la tercera propiedad pasiva de la membrana: Su capacitancia, C_M , definida como la capacidad con la que cuenta un aislante para separar la carga eléctrica cuando sus caras externas se someten a una diferencia de potencial. En este caso, el aislante es la membrana que separa el citoplasma del medio extracelular, que son medios altamente conductivos por su composición química. En otras palabras, la capacidad específica de la membrana, C_M , representa el número de cargas que ésta separa por unidad de superficie al aplicar una diferencia de potencial a través de la misma. Así, el circuito equivalente de la membrana adquirió finalmente la forma del circuito de la figura 1. La analogía entre las propiedades eléctricas de las membranas y las del circuito equivalente se apoyó en una extensa evidencia experimental y se constituyó así en un modelo puramente cualitativo de la misma.

Un eslabón básico de las vías de comunicación en el sistema nervioso es la transmisión sináptica química. En ésta, las señales son transmitidas entre neuronas a través de mensajeros químicos (neurotransmisores) contenidos en pequeñas vesículas membranosas, denominadas vesículas sinápticas, y liberados desde la célula pre-sináptica hacia la célula post-sináptica. El primer paso en la activación de la célula pre-sináptica es la propagación de un potencial de acción en los terminales nerviosos. La generación y propagación de este potencial de acción requiere la intervención de diversos canales iónicos que se encuentran en la membrana neuronal. Una revisión de los procesos de transporte iónico involucrados en la transmisión del impulso nervioso se encuentra en Cortés (2003). El paso siguiente es la invasión del potencial de acción en el terminal nervioso pre-sináptico: cuando el potencial de acción invade el terminal nervioso pre-sináptico se produce una despolarización de su membrana; esta despolarización actúa sobre un gran número de canales iónicos voltaje-dependientes, entre los cuales se encuentran los particularmente importantes canales de calcio cuya apertura permite la entrada de calcio (Ca^{2+}) hacia el terminal nervioso pre-sináptico incrementando la concentración de calcio en su interior. Este incremento local en la concentración de calcio intracelular promueve la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana plasmática del terminal pre-sináptico por la acción de proteínas (como la sinaptotagmina, Borst y Sakmann, 1996) que, hipotéticamente, actúan como sensores de calcio (Broadie *et al.*, 1994, Geppert, 1994, Chapman *et al.*, 1995, Kelly, 1995). Así, mediante este proceso de exocitosis, los neurotransmisores liberados se difunden a través de la hendidura sináptica y se unen a proteínas receptoras específicas, ionotrópicas o metabotrópicas, situadas en la membrana post-sináptica. La unión con el neurotransmisor determina un cambio conformacional de la proteína receptora, lo que causa en el terminal post-sináptico la iniciación de un potencial de acción que se propagará nuevamente a lo largo de la célula post-sináptica. Finalmente, las vesículas originales son recicladas, en un proceso conocido con el nombre

de endocitosis, habilitándose para ser llenadas nuevamente de neurotransmisores. Estos se introducen en el lumen vesicular por mecanismos de transporte favorecidos por un gradiente electroquímico establecido por bombas iónicas de protones (V-ATPasas) presentes en la membrana de la vesícula. Luego del reciclaje, las vesículas pueden ser almacenadas cerca de los sitios de liberación, en la membrana del terminal nervioso pre-sináptico, en lo que se conoce como reserva de vesículas, liberable instantáneamente, o en sitios alejados de la membrana plasmática constituyendo una reserva que parece ser movilizada de acuerdo con la intensidad de la estimulación del terminal nervioso (Pieribone *et al.*, 1995; Koenig e Ikeda, 1996; Kuromi y Kidokoro, 1998). Como resultado del proceso de exocitosis la membrana vesicular se incorpora a la membrana plasmática y por lo tanto hay un incremento en el área de la célula. Tal incremento puede ser estimado mediante el monitoreo de los cambios en la capacitancia asociada a la membrana celular esquematizados en la figura 2.

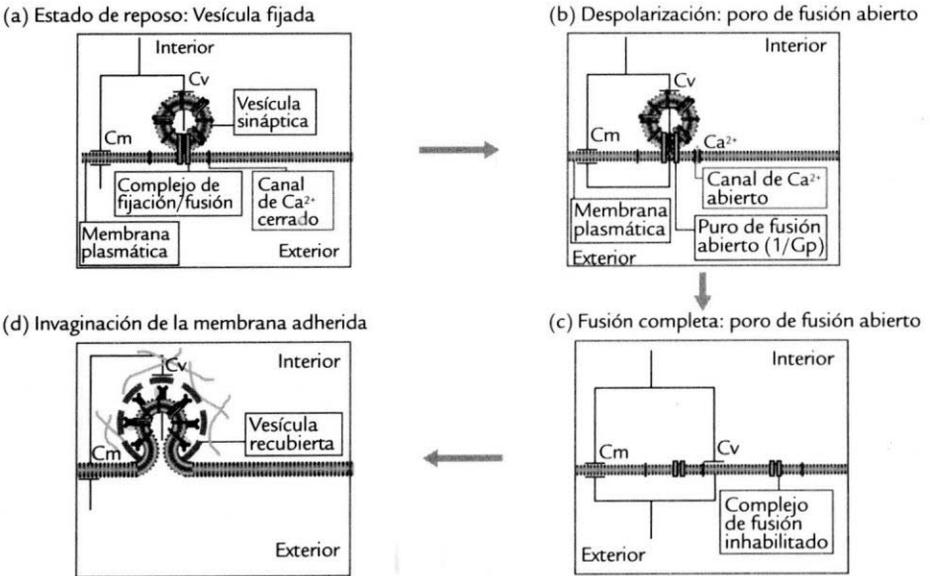


Figura 2. Diagrama esquemático de los cambios en la capacitancia de la membrana celular que acompañan los procesos de exocitosis y endocitosis.

Estas medidas de capacitancia son potencialmente útiles en las sinapsis nerviosas como un índice asociado a la liberación de neurotransmisores. Así, Von Gersdorff y Matthews (1994); Von Gersdorff *et al.* (1996) y Matthews (1999), en sus estudios sobre células bipolares de terminales nerviosos de salmón reportan un salto en la capacitancia de 150fF subsecuente al proceso de exocitosis; lo que corresponde a la fusión de aproximadamente 5.700 vesículas según Mathews (1999) y de 6.000 vesículas según Von Gersdorff *et al.* (1996). Friis *et al.* (2000) presentan un estudio similar al anterior aplicado a células juxtglomerulares.

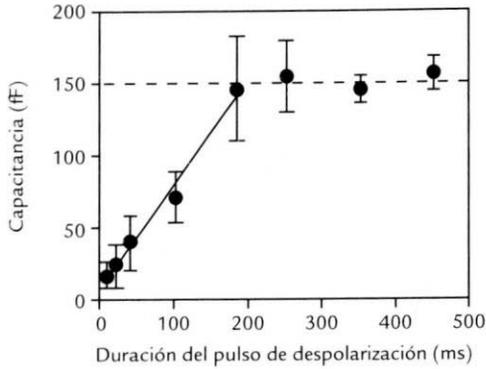


Figura 3. Capacitancia vs. duración del pulso despolarizante. La curva se satura luego de aproximadamente 200ms a un valor cercano a 150fF, esto sugiere que la reserva de vesículas se ha liberado completamente. El voltaje se llevó desde $-60mV$ a $0mV$ para una duración variable y el correspondiente salto en la capacitancia de la membrana neuronal fue registrado. Modificado de Von Gersdorff y Matthews (1994).

Dado que la vesícula sináptica bajo estudio es una estructura compuesta por tres medios: el lumen, el citoplasma neuronal y la bicapa lipídica que los separa, cerrada sobre sí misma (recuérdese que esta bicapa presenta proteínas de transporte como canales iónicos y bombas de transporte activo) es lógico pensar que las propiedades eléctricas de dicha vesícula pueden representarse por un circuito equivalente. En el presente estudio se desarrollará tal circuito pero no sólo cualitativamente como lo hicieron Cole y Curtis hace más de seis décadas para la neurona sino, además, de manera estrictamente cuantitativa. Así, el modelo teórico desarrollado aquí para una vesícula sináptica resulta ser un circuito eléctrico equivalente RLC mediante el cual se logra reproducir observaciones experimentales para los cambios de capacitancia durante el proceso de exocitosis en un terminal nervioso de una célula bipolar de salmón, además de interpretar comportamientos e incluso sugerir estudios experimentales sobre nuevas propiedades asociadas a las vesículas sinápticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de un fenómeno físico a menudo conduce a la elaboración de un modelo; en otras palabras, dicho estudio se constituye en una identificación del problema mediante la cual se busca diseñar una representación racional, usualmente matemática, del fenómeno, que dé cuenta de los aspectos esenciales de la situación real (Richalet *et al.*, 1971). Tal modelo tiene dos propósitos fundamentales: primero, que pueda corresponder a un gran número de hechos descubiertos experimentalmente; y segundo, que pueda predecir el comportamiento del sistema bajo condiciones diferentes. Muchos modelos consideran la estructura misma del sistema, mientras otros contemplan la relación entre la señal de entrada y su señal de salida describiendo el comportamiento de dicho sistema en relación con las condiciones externas que lo afectan. Estos últimos se conocen como modelos del tipo entrada-salida y un circuito

eléctrico equivalente es un buen ejemplo de ellos. Así, el primer paso en la modelación de sistemas biológicos es la definición de la entrada $u(t)$ y la salida $y(t)$ del sistema, lo que se logra mediante el análisis de las características estructurales y fisiológicas del elemento y el proceso a modelar. Si en el dominio de frecuencia (para un estudio detallado al respecto, refiérase a Ogata K., 2001) $Y(s)$ representa la función de salida del sistema y $U(s)$ la función de entrada al mismo, en donde s es la variable compleja de frecuencia, la razón $Y(s)/U(s)$ se denomina función de transferencia del sistema:

$$T(s) = \frac{Y(s)}{U(s)} \quad (1)$$

La función de transferencia es una representación compacta de la ecuación diferencial que describe al sistema y es por tanto la relación que permite modelarlo de manera directa.

El sistema biológico al que se enfocará el estudio es una vesícula sináptica limitada por una membrana que, como todas las membranas biológicas, contiene proteínas de transporte convertidas en canales iónicos y bombas de transporte activo que se encargan de mantener un pH particular responsable, entre otros, de procesos sinápticos como la recarga de neurotransmisores a las vesículas recicladas por endocitosis. Las vesículas sinápticas se asimilan a organelos esféricos en los que se desprecia la contribución de los neurotransmisores considerando, además, que su medio interior o lumen, su membrana y el citoplasma neuronal o su medio exterior se comportan como medios lineales, homogéneos e isotrópicos y están caracterizados por propiedades eléctricas específicas (conductividad σ y permitividad ϵ). El fenómeno físico por analizar será la inducción de un potencial transmembranal por un campo eléctrico aplicado sobre la vesícula. Las ecuaciones que describirán la diferencia de potencial a través de la membrana serán deducidas a partir de las ecuaciones de Maxwell sometidas a condiciones de contorno apropiadas. Así, para desarrollar el modelo de entrada-salida de esta vesícula esférica se aplicará un campo eléctrico variable en el tiempo a bajas frecuencias, lo que posibilitará el logro de una función de transferencia característica para las vesículas, mediante la cual se podrá modelar tal sistema como un circuito equivalente. La entrada al sistema será entonces el campo eléctrico aplicado y la respuesta será el potencial transmembranal inducido. Así que las vesículas se encontrarán entre dos electrodos que serán dos placas paralelas perfectamente conductoras, conectadas a una fuente de tensión DC, es decir que, despreciando los efectos de borde, el campo eléctrico en ausencia de la vesícula será uniforme y dirigido horizontalmente entre las placas.

PRINCIPIOS BÁSICOS

Propiedades eléctricas de las vesículas. Las características estructurales (Grabe y Oster, 2001) y morfológicas (Uchizono *et al.*, 1979; Delcomyn, 1997; Henkel *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001) básicas de las vesículas sinápticas se reportan en la tabla 1. Usualmente la permeabilidad de los sistemas biológicos se toma como, $\mu = 4\pi \times 10^7$ H/m, que es la correspondiente al espacio vacío.

Parámetro	Símbolo	Valor	Referencia
Conductividad citoplasmática	$\sigma_c = \sigma_e$	2.83 S/m	[1]
Conductividad membranal	σ_m	1.2×10^6 S/m	Gascoyne <i>et al.</i> , (1993)
Conductividad del lumen	$\sigma_l = \sigma_i$	1.82 S/m	[1]
Permitividad citoplasmática	$\epsilon_c = \epsilon_e$	6.4×10^{10} Aseg/Vm	Büchner <i>et al.</i> , (1999)
Permitividad membranal	ϵ_m	4.4×10^{11} Aseg/Vm	Gascoyne <i>et al.</i> , (1993)
Permitividad del lumen	$\epsilon_l = \epsilon_i$	6.4×10^{10} Aseg/Vm	Büchner <i>et al.</i> , (1999)
Radio	R	14 - 150 nm	Lee <i>et al.</i> , (2001)
Espesor de la membrana	d	2 - 4 nm	Loew (1993)

Tabla 1. Parámetros eléctricos y geométricos característicos de vesículas sinápticas. [1] Calculada en Cortés (2003) mediante valores experimentales tomados de Weiss (1996) y Grabe y Oster (2001).

Para los valores numéricos reportados en la tabla 1, las condiciones necesarias para estudiar el potencial eléctrico en la aproximación cuasi-estacionaria en efecto se satisfacen como se muestra explícitamente en Cortés (2003). Así, para evaluar el potencial eléctrico en todas las regiones del sistema vesicular, se parte de la ecuación de Laplace en dicha aproximación:

$$\nabla^2 \Phi(r, t) = 0 \quad (2)$$

Donde $\Phi(r, t)$ representa el potencial escalar eléctrico en función del tiempo t y de las coordenadas espaciales r .

Diferencia de potencial transmembranal inducido en vesículas esféricas en la aproximación cuasi-estacionaria. Se considera, ahora, la distorsión del campo eléctrico homogéneo $E_0(r, t)$ en un campo eléctrico $E(r, t)$ debido a la presencia de la vesícula. Bajo el objetivo de buscar la diferencia de potencial transmembranal inducido se inicia con la expresión de $E(r, t)$ en términos del potencial eléctrico en función del tiempo:

$$E(r, t) = -\nabla \Phi(r, t)$$

Donde $\Phi(r, t)$ satisface la ecuación de Laplace (2) con las siguientes condiciones: El campo eléctrico debe ser homogéneo lejos de la vesícula:

$$\lim_{r \rightarrow \infty} (-\nabla \Phi(r, t)) = E_0(t) \quad (3)$$

El potencial debe ser finito en el interior de la vesícula:

$$\lim_{r \rightarrow 0} \Phi(r, t) < \infty \quad (4)$$

Las densidades de corriente $J(r, t)$, las componentes tangenciales del campo eléctrico $E(r, t)$ y las componentes normales del campo $D(r, t)$ en las fronteras entre el lumen o

interior vesicular (i) y la membrana (m) y entre la membrana (m) y el citoplasma neuronal o exterior vesicular (e) deben ser continuas:

$$(\Phi_i - \Phi_m)|_{S_i} = 0 \quad (\Phi_m - \Phi_e)|_{S_e} = 0 \quad (5)$$

$$n \cdot (\sigma_i \nabla \Phi_i - \sigma_m \nabla \Phi_m)|_{S_i} = -\frac{\partial \sigma_{su}^i}{\partial t}, \quad n \cdot (\sigma_m \nabla \Phi_m - \sigma_e \nabla \Phi_e)|_{S_e} = -\frac{\partial \sigma_{su}^e}{\partial t} \quad (6)$$

$$n \cdot (\epsilon_i \nabla \Phi_i - \epsilon_m \nabla \Phi_m)|_{S_i} = \sigma_{su}^i, \quad n \cdot (\epsilon_m \nabla \Phi_m - \epsilon_e \nabla \Phi_e)|_{S_e} = \sigma_{su}^e \quad (7)$$

Donde S_i y S_e son las superficies interna y externa de la membrana, Φ_i , Φ_m y Φ_e denotan la función potencial Φ en el interior de la vesícula, en la membrana y en el exterior de la misma; σ_i , σ_m y σ_e las conductividades de estas tres regiones; ϵ_i , ϵ_m y ϵ_e sus permitividades; σ_{su}^i y σ_{su}^e son las densidades superficiales de carga inducidas sobre las superficies interna y externa de la membrana; y n es el vector unitario normal a la superficie de frontera. Los parámetros del modelo se representan en la figura 4.

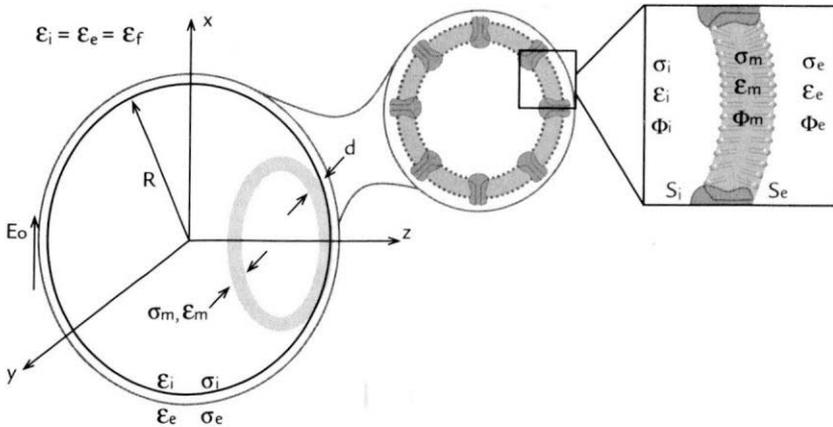


Figura 4. Ilustración de los parámetros usados en las condiciones de contorno del modelo vesicular. En este caso, R es el radio de la esfera y d es el espesor de la membrana.

La diferencia de potencial transmembranal inducido por el campo eléctrico sobre la membrana vesicular está dada por la diferencia aritmética:

$$\Delta \Phi(r, t) = \Phi(r, t)|_{S_i} - \Phi(r, t)|_{S_e}$$

Al solucionar la ecuación de Laplace (2) en coordenadas esféricas, proloides y obloides bajo las condiciones (3) - (7) se obtiene expresiones para el potencial trans-

membranal en el dominio temporal que se llevan al dominio de frecuencia mediante la aplicación de la transformada de Laplace con el fin de obtener la función de transferencia definida en (1) para cada una de dichas geometrías características. Para una descripción detallada del procedimiento numérico refiérase a Cortés (2003). De esta manera, las expresiones para el potencial transmembranal en el dominio de frecuencia resultan ser:

Vesícula esférica:

$$\Delta\Phi(R,s) = E_0(s) \cos\varphi \left[\frac{R \left[p_0 p_3 - p_1 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_3 + p_1(h_1+s)) + h_0(h_3 p_1 + p_3(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)} \right]}{d+R + \frac{-p_2 p_3 + p_1 p_4}{p_0 p_4 - p_2 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_4 + p_2(h_1+s)) + h_0(h_3 p_2 + p_4(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)}}} \right] \quad (8)$$

$$\frac{(p_2 p_3 - p_1 p_4)(R+d)^2}{(p_2 p_3 - p_1 p_4)(R+d)^2}$$

Donde φ es el ángulo polar que varía entre 0 y π y p_i y h_i con $i = 0,1,2,3,4,5$ están definidas en el apéndice A para la geometría correspondiente.

Vesícula proloide:

$$\Delta\Phi(\xi_0, \xi, s) = \eta E_0(s) \left[\frac{c \xi_0 + \frac{\xi \left[p_0 p_3 - p_1 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_3 + p_1(h_1+s)) + h_0(2h_3 p_1 + p_3(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)} \right]}{-p_2 p_3 + p_1 p_4}}{\left[p_0 p_4 - p_2 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_4 + 2p_2(h_1+s)) + h_0(2h_3 p_2 + p_4(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)} \right] \times \frac{p_2 p_3 - p_1 p_4}{p_2 p_3 - p_1 p_4}} \right] \quad (9)$$

$$\times \left[-1 + \frac{1}{2} \xi_0 \ln \left[\frac{1+\xi_0}{-1+\xi_0} \right] \right]$$

Donde η varía entre -1 y 1 y se asume que las superficies interna y externa de la vesícula son esferoides proloides tales que $\xi = b_i / c$ y $\xi_0 = b_o / c$ de manera que el esferoide que representa la superficie interna de la membrana es un esferoide proloide cuyo eje mayor es de longitud b_i y por su parte, el esferoide que representa la superficie externa de la membrana tiene un eje mayor de longitud b_o . Los dos esferoides tienen los mis-mos focos, siendo $2c$ su distancia interfocal. Además p_i y h_i con $i = 0,1,2,3,4,5$ están definidas igualmente en el apéndice A para la geometría correspondiente.

Vesícula obloide:

$$\Delta\Phi(\xi_0, \xi_0, s) = \eta E_0(s) \left[\begin{array}{l} c\xi_0 + \frac{i\xi_0 \left[p_0 p_3 - p_1 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_3 + p_1(h_1+s)) + h_0(h_3 p_1 + p_3(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)} \right]}{-p_2 p_3 + p_1 p_4} \\ \left[p_0 p_4 - p_2 p_5 + \frac{-h_5(h_2 p_4 + p_2(h_1+s)) + h_0(h_3 p_2 + p_4(h_4+s))}{-h_2 h_3 + (h_1+s)(h_4+s)} \right] \\ - \frac{\quad}{p_2 p_3 - p_1 p_4} \times \\ \times (-1 + \xi_0 \operatorname{arc} \cot(\xi_0)) \end{array} \right] \quad (10)$$

Donde η varía entre -1 y 1 y se asume que las superficies interna y externa de la vesícula son esferoides obloides tales que $\xi_0 = b_i / c$ y $\xi_0 = b_0 / c$ de manera que el esferoide que representa la superficie interna de la membrana es un esferoide obloide cuyo eje menor es de longitud b_i y por su parte, el esferoide que representa la superficie externa de la membrana tiene un eje menor de longitud b_0 . Los dos esferoides tienen los mismos focos, siendo $2c$ su distancia interfocal. Además p_i y h_i con $i = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ están definidas igualmente en el apéndice A para la geometría correspondiente. La función de transferencia que se estaba buscando está dada, para las tres geometrías, por la ecuación (1) tomando en ésta las expresiones (8), (9) y (10), para $\Delta\Phi(r, s)$, como respuesta o salida del sistema y asumiendo que la señal de entrada es el campo eléctrico aplicado $E_0(s)$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al encontrar la razón entre las expresiones obtenidas para $\Delta\Phi(r, s)$ y el campo aplicado $E_0(s)$ e introducir los parámetros geométricos y eléctricos característicos de estas vesículas (Tabla 1) se consigue finalmente las siguientes funciones de transferencia asociadas a la diferencia de potencial transmembranal inducido en cada tipo de vesícula:

Vesícula esférica:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{1.26 \times 10^{-8} s^2 + 89.20s + 1.47 \times 10^{11}}{s^2 + 4.28 \times 10^9 s + 1.61 \times 10^{18}}$$

Vesícula proloide:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{1.26 \times 10^{-8} s^2 + 89.55s + 1.47 \times 10^{11}}{s^2 + 4.39 \times 10^9 s + 1.48 \times 10^{18}}$$

Vesícula obloide:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{1.26 \times 10^{-8} s^2 + 92.36s + 1.53 \times 10^{11}}{s^2 + 4.13 \times 10^9 s + 1.39 \times 10^{18}}$$

De estas funciones de transferencia se concluye que su forma algebraica general viene dada por:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{As^2 + Bs + a_0}{s^2 + Cs + c_0} \tag{11}$$

Siendo A, B, a_0, C y c_0 constantes particulares asociadas a cada geometría.

Al multiplicar el numerador y el denominador de la última expresión por s se obtiene:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{As + B + \frac{a_0}{s}}{s + C + \frac{c_0}{s}}$$

Que corresponde a la configuración serie paralelo de la figura 5.

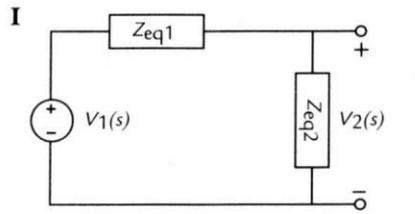
Circuito	Función de Transferencia
	$T(s) = \frac{Z_{eq2}(s)}{Z_{eq1}(s) + Z_{eq2}(s)}$

Figura 5. Configuración serie-paralelo para un circuito equivalente y su correspondiente función de transferencia.

Optando por la configuración serie-paralelo de la figura 5 para el circuito equivalente que se busca, el ordenamiento adecuado de los términos de la expresión dará los valores correspondientes a $Z_{eq1}(s)$ y $Z_{eq2}(s)$ así:

$$T_{\Delta\Phi}(s) = \frac{As + B + \frac{a_0}{s}}{s + C + \frac{c_0}{s}} = \frac{Z_{eq2}(s)}{Z_{eq1}(s) + Z_{eq2}(s)}$$

y recordando las impedancias y admitancias de resistencias, condensadores e inductores (refiérase a Ogata K., 2001), el circuito equivalente de la función de transferencia (11) resulta estar compuesto finalmente como se muestra en la figura 6. Donde $R, C,$ y $L,$ toman los valores reportados en la tabla 2 para cada tipo de vesícula.

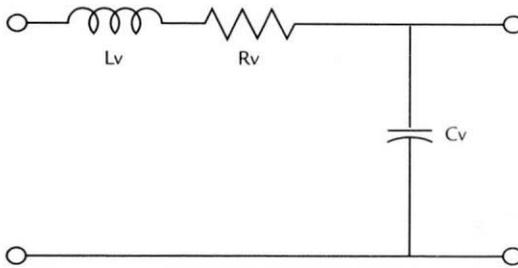


Figura 6. Topología general del circuito equivalente a la función de transferencia asociada al potencial transmembranal inducido sobre una vesícula esférica por un campo eléctrico aplicado.

Geometría	$R, [\rho\Omega \cdot \mu m^2]$	$C, [fF / \mu m^2]$	$L, [mH \cdot \mu m^2]$
Esférica	4.29	0.68	1.00
Proloide	4.39	0.67	1.00
Obloide	4.13	0.65	1.00

Tabla 2. Parámetros eléctricos asociados al circuito de la figura 6 para vesículas esféricas

Matthews (1996) reporta, valores de la capacitancia total de vesículas sinápticas con un diámetro determinado. Así, a una vesícula de $300nm$ de diámetro se asocia una capacitancia de $2.80 \times 10^{15}F$ mientras que a una vesícula de $50nm$ de diámetro corresponde una capacidad de $7.80 \times 10^{17}F$. En la tabla 3 se hace una comparación de los datos que el presente modelo teórico predice con estos valores reportados en la literatura.

Radio de la vesícula [nm]	$C_m [F]$ - Modelo Teórico	$C_m [F]$ - Matthews <i>et al.</i>
150	$1.92 \times 10^{15}F$	$2.80 \times 10^{15}F$
25	$7.85 \times 10^{17}F$	$7.80 \times 10^{17}F$

Tabla 3. Tabla comparativa de las capacitancias que predice el presente modelo teórico con las reportadas por Matthews (1996).

Al comparar los resultados así obtenidos con los reportados por Matthews (1996) y más recientemente, con los de Von Gersdorff y Matthews (1999) o los de Friis *et al.* (2000) correspondientes a vesículas en exocitosis, se puede concluir que los valores que el presente modelo teórico predice para la capacitancia se acercan igualmente a los reportados en la mencionada literatura, lo que hace procedente su aplicación en el análisis de la capacitancia implicada en el proceso de exocitosis. Así, en un terminal nervioso de una neurona bipolar de salmón, la curva de capacitancia en función de la duración temporal del impulso de despolarización (figura 3) se satura alrededor de $150fF$, esto sugiere que la reserva de vesículas se ha liberado completamente. Para convertir esta meseta de capacitancia en un número de vesículas, es necesario conocer la capacitancia total de una vesícula individual. En terminales de células bipolares de salmón, el valor medio del diámetro de una vesícula es $29nm$, que según lo predice teóricamente el circuito equivalente aquí implementado, corresponde a una capacitancia de $33.30aF$. Luego, un salto en la capacitancia de $150fF$ corresponde a la fu-

sión de aproximadamente 4500 vesículas. Este valor concuerda aceptablemente con el número total de vesículas estimado por Von Gersdorff *et al.* (1996) de aproximadamente 6.000 vesículas.

CONCLUSIONES

El efecto de la estimulación de una vesícula mediante un campo eléctrico uniforme dependiente del tiempo (en la aproximación cuasi-estacionaria) es la inducción de una diferencia de potencial transmembranal. Luego de solucionar la ecuación de Laplace en la aproximación cuasi-estacionaria para vesículas esféricas, proloides y obloides bajo las condiciones de contorno adecuadas se encuentran expresiones teóricas para la diferencia de potencial transmembranal inducido en cada una de estas geometrías características de las vesículas sinápticas. La aplicación del campo eléctrico sobre la vesícula produce una polarización de su membrana que se traduce en una fuerza electromecánica que actúa sobre dicha membrana. Se comprueba aquí que en vesículas esferoidales bajo la aplicación de un campo eléctrico uniforme variable en el tiempo, los requerimientos básicos para la aproximación cuasi-estacionaria se satisfacen tanto en el caso de los efectos de propagación como en el de los efectos capacitivos e inductivos generados por el campo eléctrico sobre el sistema vesicular en estudio. De esta manera, al aplicar un campo eléctrico uniforme y dependiente del tiempo en dicha aproximación las expresiones obtenidas para la diferencia de potencial en el dominio del tiempo se pueden trasladar al espacio de frecuencia lo que hace posible encontrar una función de transferencia que finalmente permite diseñar la topología de un circuito eléctrico RLC equivalente. Este circuito sugiere la presencia de un componente inductivo en la membrana vesicular que es susceptible de verificar en algún estudio experimental posterior. Así mismo, el modelo predice aceptablemente los valores de capacitancia para vesículas esféricas y aquellos correspondientes a vesículas en exocitosis reportados en la literatura. Esto hace factible que el circuito diseñado se aplique en el análisis de la capacitancia implicada en el proceso de exocitosis. Así, como aplicación final del modelo, se considera el proceso de exocitosis de una reserva vesicular en un terminal nervioso de una célula bipolar de salmón en el que la curva de capacitancia en función de la duración del impulso despolarizante se satura alrededor de 150fF. Según lo predice el presente modelo, este salto corresponde a la fusión de 4.500 vesículas que coincide aceptablemente con el número total de vesículas estimado por Von Gersdorff (1996) de aproximadamente 6000 vesículas.

APÉNDICE A

Definición de p_i y h_i con $i = 0, 1, 2, 3, 4, 5$.

Vesícula esférica:

$$P_0 = \epsilon_m \left[-q_0 + \frac{2q_5}{R^3} \right]$$

$$P_1 = \epsilon_m \left[-q_1 + \frac{2q_3}{R^3} \right]$$

$$P_2 = \epsilon_f - \epsilon_m q_2 + \frac{2 \epsilon_m q_4}{R^3}$$

$$P_3 = \epsilon_m q_1 + \frac{2(\epsilon_f - \epsilon_m q_3)}{(R+d)^3}$$

$$P_4 = \varepsilon_m \left[q_2 - \frac{2q_4}{(R+d)^3} \right]$$

$$P_5 = \varepsilon_f + \varepsilon_m \left[q_0 - \frac{2q_5}{(R+d)^3} \right]$$

Donde

$$q_0 = - \frac{(R+d)^3}{d(d^2+3dR+3R^2)}$$

$$q_1 = - \frac{1}{d(d^2+3dR+3R^2)}$$

$$q_2 = q_3 = - \frac{R^3}{d(d^2+3dR+3R^2)}$$

$$q_4 = q_5 = \frac{R^3(R+d)^3}{d(d^2+3dR+3R^2)}$$

Mientras

$$h_0 = - \frac{\left[(p_0 p_3 - p_1 p_5) R^3 \sigma_1 - (2((p_0 p_4 - p_2 p_5) q_3 + (p_1 p_5 - p_0 p_3) q_4 + (p_2 p_3 - p_1 p_4) q_5) - ((p_2 p_3 - p_1 p_4) q_0 + (p_0 p_4 - p_2 p_5) q_1 + (p_1 p_5 - p_0 p_3) q_2) R^3) \sigma_m \right]}{(p_2 p_3 - p_1 p_4) R^3}$$

$$h_1 = \frac{p_4(-2q_3 + q_1 R^3) \sigma_m + p_3(2q_4 \sigma_m + R^3(\sigma_1 - q_2 \sigma_m))}{(p_2 p_3 - p_1 p_4) R^3}$$

$$h_2 = \frac{p_2(-2q_3 + q_1 R^3) \sigma_m + p_1(2q_4 \sigma_m + R^3(\sigma_1 - q_2 \sigma_m))}{(p_2 p_3 - p_1 p_4) R^3}$$

$$h_3 = \frac{-2p_4 \sigma_e - p_4(-2q_3 + q_1(R+d)^3) \sigma_m + p_3(-2q_4 + q_2(R+d)^3) \sigma_m}{(p_2 p_3 - p_1 p_4)(R+d)^3}$$

$$h_4 = \frac{-2p_4 \sigma_e + p_2(-2q_3 + q_1(R+d)^3) \sigma_m - p_1(-2q_4 + q_2(R+d)^3) \sigma_m}{(p_2 p_3 - p_1 p_4)(R+d)^3}$$

$$h_5 = \frac{\left[(2p_0 p_4 + d^3(p_2 p_3 - p_1 p_4) - 2p_2 p_5 + (p_2 p_3 - p_1 p_4)(3d^2 + 3dR + R^2)) R \sigma_e + ((d^3 + 3d^2 R + 3dR^2 + R^3)((p_2 p_3 - p_1 p_4) q_0 + (p_0 p_4 - p_2 p_5) q_1 + (p_1 p_5 - p_0 p_3) q_2) + 2((p_2 p_5 - p_0 p_4) q_3 + (p_0 p_3 - p_1 p_5) q_4 - (p_2 p_3 - p_1 p_4) q_5) \right] \sigma_m}{(p_2 p_3 - p_1 p_4)(R+d)^3}$$

Vesícula proloide:

$$P_0 = \epsilon_m \left[-q_0 + \frac{\xi q_5}{\xi^2 - 1} \right] - \frac{1}{2} \epsilon_m q_3 \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right]$$

$$P_1 = \epsilon_m \left[-q_1 + \frac{\xi q_3}{\xi_i - 1} \right] - \frac{1}{2} \epsilon_m q_3 \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right]$$

$$P_2 = \epsilon_f - \epsilon_m q_2 + \frac{\xi \epsilon_m q_4}{\xi_i^2 - 1} - \frac{1}{2} \epsilon_m q_4 \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right]$$

$$P_3 = \frac{2(-\epsilon_m q_1 + \xi_o(\epsilon_f + \xi_o \epsilon_m q_1 - \epsilon_m q_2))}{-1 + \xi_o^2} + (-\epsilon_f + \epsilon_m q_3) \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right]$$

$$P_4 = \epsilon_m \left[2q_2 - \frac{2\xi_o q_4}{-1 + \xi_o^2} + q_4 \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] \right]$$

$$P_5 = \frac{2(-1 + \xi_o^2)(\epsilon_f + \epsilon_m q_0) - 2\xi_o \epsilon_m q_5 + (1 + \xi_o^2)\epsilon_m q_5 \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right]}{-1 + \xi_o^2}$$

Donde

$$q_0 = \frac{\xi_o \left[-2 + \xi_i \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}{2\xi_o - 2\xi_i + \xi_o \xi_i \left[\ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] - \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}$$

$$q_1 = - \frac{\left[-2 + \xi_o \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] \right] \left[-2 + \xi_i \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}{4\xi_o - 4\xi_i + 2\xi_o \xi_i \left[\ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] - \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}$$

$$q_2 = q_3 = \frac{\xi_i \left[-2 + \xi_o \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] \right]}{2\xi_o - 2\xi_i + \xi_o \xi_i \left[\ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] - \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}$$

$$q_4 = q_5 = \frac{2\xi_o \xi_i}{2\xi_o - 2\xi_i + \xi_o \xi_i \left[\ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] - \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}$$

Mientras

$$h_0 = \frac{\left[-2(-1 + \xi_i^2)(p_o p_3 - p_i p_5) \sigma_i - 2(p_o((-1 + \xi_i^2)p_4 q_1 + p_3 q_2 - \xi_i p_4 q_3 + \xi_i p_3(-\xi_i q_2 + q_4)) \right. \\ \left. + p_2((-1 + \xi_i^2)p_3 q_o + p_5 q_i + \xi_i p_5(-\xi_i q_1 + q_3) - \xi_i p_i p_5) + p_i((-1 + \xi_i^2)p_5 p_2 - \xi_i p_5 q_4 \right. \\ \left. + p_4((1 - \xi_i^2)q_o + \xi_i q_5)) \right] \sigma_m - (-1 + \xi_i^2)((p_i p_4 - p_i p_5)q_3 + (p_i p_5 - p_i p_3)q_4 + (p_2 p_3 \\ - p_i p_4)q_5) \sigma_m \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right]}{2(-1 + \xi_i^2)(p_2 p_3 - p_i p_4)}$$

$$h_1 = \frac{\left[-2((-1 + \xi_i^2)p_3 \sigma_i + ((-1 + \xi_i^2)p_4 q_1 + p_3 q_2 - \xi_i p_4 q_3 \right. \\ \left. + \xi_i p_3(-\xi_i q_2 + q_4)) \sigma_m) + (-1 + \xi_i^2)(p_4 q_3 - p_3 q_4) \sigma_m \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}{2(-1 + \xi_i^2)(p_2 p_3 - p_i p_4)}$$

$$h_2 = \frac{\left[2p_2((1 - \xi_i^2)q_1 + \xi_i q_3) \sigma_m - 2p_i((-1 + \xi_i^2)\sigma_i + q_2 \sigma_m + \xi_i(-\xi_i q_2 + q_4) \sigma_m) \right. \\ \left. - (-1 + \xi_i^2)(p_2 p_3 - p_i p_4) \sigma_m \ln \left[\frac{1 + \xi_i}{-1 + \xi_i} \right] \right]}{(-1 + \xi_i^2)(p_2 p_3 - p_i p_4)}$$

$$h_3 = \frac{\left[-2\xi_o p_4 \sigma_e - 2((-1 + \xi_o^2)p_4 q_1 + p_3 q_2 - \xi_o p_4 q_3 + \xi_o p_3(-\xi_o q_2 + q_4)) \sigma_m \right. \\ \left. + (-1 + \xi_o^2)(p_3 q_4 \sigma_m + p_4(\sigma_e - q_3 \sigma_m)) \ln \left[\frac{1 + \xi_o}{-1 + \xi_o} \right] \right]}{2(-1 + \xi_o^2)(p_2 p_3 - p_i p_4)}$$

$$h_4 = \frac{\left[2(\xi_0 p_2 \sigma_e + (-1 + \xi_0^2) p_2 q_1 + p_1 q_2 - \xi_0 p_2 q_3 + \xi_0 p_1 (-\xi_0 q_2 + q_4)) \sigma_m \right] - (-1 + \xi_0^2) (p_1 q_4 \sigma_m + p_2 (\sigma_e - q_3 \sigma_m)) \ln \left[\frac{1 + \xi_0}{-1 + \xi_0} \right]}{(-1 + \xi_0^2) (p_2 p_3 - p_1 p_4)}$$

$$h_5 = \frac{\left[2((-1 + \xi_0^2) (p_2 p_3 - p_1 p_4) + \xi_0 (p_1 p_4 - p_2 p_3)) \sigma_e + 2(p_0 (-1 + \xi_0^2) p_4 q_1 + p_3 q_2 - \xi_0 p_4 q_3 + \xi_0 p_3 (-\xi_0 q_1 + q_3) - \xi_0 p_3 q_5) + p_1 ((-1 + \xi_0^2) p_5 p_2 - \xi_0 p_5 q_4 + p_4 (q_0 - \xi_0^2 q_0 + \xi_0 q_5)) \sigma_m + (-1 + \xi_0^2) (p_2 p_3 \sigma_e + (-p_2 p_3 q_3 + p_1 p_3 q_4 + p_2 p_3 q_5 - p_1 p_4 q_3) \sigma_m - p_0 (p_3 q_4 \sigma_m + p_4 (\sigma_e - q_3 \sigma_m))) \right] \ln \left[\frac{1 + \xi_0}{-1 + \xi_0} \right]}{2(-1 + \xi_0^2) (p_2 p_3 - p_1 p_4)}$$

Vesícula obloide:

$$P_0 = \epsilon_m \left[-iq_0 + \frac{\xi_0 q_5}{\xi_0^2 - 1} - q_5 \operatorname{arc cot}(\xi_0) \right]$$

$$P_1 = \epsilon_m \left[-iq_1 + \frac{\xi_0 q_3}{\xi_0^2 - 1} - q_3 \operatorname{arc cot}(\xi_0) \right]$$

$$P_2 = i(\epsilon_f - \epsilon_m q_2) + \frac{\xi_0 \epsilon_m q_4}{\xi_0^2 + 1} - \epsilon_m q_4 \operatorname{arc cot}(\xi_0)$$

$$P_3 = i\epsilon_m q_1 + \frac{\xi_0 (\epsilon_f - \epsilon_m q_1)}{-1 + \xi_0^2} + (\epsilon_m q_3 - \epsilon_f) \operatorname{arc cot}(\xi_0)$$

$$P_4 = \epsilon_m \left[iq_2 - \frac{2\xi_0 q_4}{1 + \xi_0^2} + q_4 \operatorname{arc cot}(\xi_0) \right]$$

$$P_5 = \epsilon_f + i\epsilon_m q_0 - \frac{\xi_0 \epsilon_m q_5}{1 + \xi_0^2} + \epsilon_m q_5 \operatorname{arc cot}(\xi_0)$$

Donde

$$q_0 = \frac{i\xi_0(-1 + \xi_0 \operatorname{arc cot}(\xi_0))}{-\xi_0 + \xi_1 + \xi_0 \xi_1 (\operatorname{arc cot}(\xi_1) - \operatorname{arc cot}(\xi_0))} \quad q_1 = -q_0(-1 + \xi_0 \operatorname{arc cot}(\xi_0))$$

$$q_2 = q_3 = \frac{\xi_0(-1 + \xi_0 \operatorname{arc cot}(\xi_0))}{\xi_0 - \xi_1 + \xi_0 \xi_1 (\operatorname{arc cot}(\xi_0) - \operatorname{arc cot}(\xi_1))} \quad q_4 = -\frac{q_5}{i} = \frac{q_0 \xi_0}{(-1 + \xi_0 \operatorname{arc cot}(\xi_0))}$$

Mientras

$$h_0 = \frac{-i(1+\xi_i^2)(p_0p_3 - p_1p_5)\sigma_i + i(p_0(-p_4((1+\xi_i^2)q_1 + i\xi_i q_3) + p_3((1+\xi_i^2)q_2 + i\xi_i q_4)) + p_2(p_5((1+\xi_i^2)q_1 + i\xi_i q_3) - p_3((1+\xi_i^2)q_0 + i\xi_i q_5)) + p_1(-p_5((1+\xi_i^2)q_2 + i\xi_i q_4) + p_4((1+\xi_i^2)q_0 + i\xi_i q_5)))\sigma_m - (1+\xi_i^2)((p_0p_4 - p_2p_5)q_3 + (p_1p_5 - p_0p_3)q_4 + (p_2p_3 - p_1p_4)q_5)\sigma_m \operatorname{arc} \cot(\xi_i)}{(1+\xi_i^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

$$h_1 = \frac{i(1+\xi_i^2)p_3\sigma_i + (i(1+\xi_i^2)(p_4q_1 - p_3q_2) - \xi_i p_4q_3 + \xi_i p_3q_4)\sigma_m + (1+\xi_i^2)(p_2p_3 - p_1p_4)\sigma_m \operatorname{arc} \cot(\xi_i)}{(1+\xi_i^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

$$h_2 = \frac{p_2(-i(1+\xi_i^2)q_1 + \xi_i q_3)\sigma_m - ip_1((1+\xi_i^2)\sigma_i - ((1+\xi_i^2)q_2 + i\xi_i q_4)\sigma_m) - (1+\xi_i^2)(p_2p_3 - p_1p_4)\sigma_m \operatorname{arc} \cot(\xi_i)}{(1+\xi_i^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

$$h_3 = \frac{-\xi_i p_4\sigma_e + i(-p_4((1+\xi_o^2)q_1 + i\xi_o q_3) + p_3((1+\xi_o^2)q_2 + i\xi_o q_4))\sigma_m + (1+\xi_o^2)(p_3q_4\sigma_m + p_4(\sigma_e - q_3\sigma_m))\operatorname{arc} \cot(\xi_o)}{(1+\xi_o^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

$$h_4 = \frac{\xi_o p_2\sigma_e + (i(1+\xi_o^2)(p_2q_1 - p_1q_2) - \xi_o p_2q_3 + \xi_o p_1q_4)\sigma_m - (1+\xi_o^2)(p_1q_4\sigma_m + p_2(\sigma_e - q_3\sigma_m))\operatorname{arc} \cot(\xi_o)}{(1+\xi_o^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

$$h_5 = \frac{(1+\xi_o^2)(p_2p_3 - p_1p_4)\sigma_e + i(1+\xi_o^2)((p_2p_3 - p_1p_4)q_0 + (p_0p_4 - p_2p_5)q_1 + (p_1p_5 - p_0p_3)q_2)\sigma_m + \xi_o(-p_2p_5\sigma_e + (p_5(p_2q_3 - p_1q_4) + (p_2q_3 - p_1q_4)q_5)\sigma_m + p_0(p_3q_4\sigma_m + p_4(\sigma_e - q_3\sigma_m))) + (1+\xi_o^2)(p_2p_5\sigma_e + (p_5(p_1q_4 - p_2q_3) + (p_2p_3 - p_1p_4)q_5)\sigma_m - p_0(p_3q_4\sigma_m + p_4(\sigma_e - q_3\sigma_m))\operatorname{arc} \cot(\xi_o)}{(1+\xi_o^2)(p_2p_3 - p_1p_4)}$$

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Física, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

BIBLIOGRAFÍA

- BORST J. G., SAKMANN B. 1996. Calcium Influx and Transmitter Release in Fast CNS Synapse. *Nature* 383, pp. 431-434.
- BROADIE K., BELLEN H. J., DIANTONIO A., LITTLETON J. T., SCHWARZ T. L. 1994. Absence of Synaptotagmin Disrupts Excitation-Secretion Coupling During Synaptic Transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, pp. 10727-10731.
- BÜCHNER R., HEFTER G. T., MAY P. M. 1999. Dielectric Relaxation of Aqueous NaCl Solutions. *J Phys. Chem. A* 103, pp. 1-9.
- COLE, K., CURTIS, H. 1939. Electrical Impedance of the Squid Giant Axon During Activity. *J. Gen. Physiol.* 22. 649-670.
- CORTÉS X. 2003. Modelo de polarización RC aplicado a vesículas sinápticas. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- CHAPMAN, E. R., HANSON P. I., AN S., JAHN R. 1995. Ca²⁺ Regulates the Interaction Between Synaptotagmin and Syntaxin 1. *J. Biol. Chem.* 270, pp. 23667-23671.
- DELCOMYN F. 1997. *Foundations of Neurobiology*. Freeman W. H. and Company. New York.
- DEBRUIN K. A., KRASSOWSKA W. 1999. Modeling Electroporation in a Single Cell. I. Effects of Field Strength and Rest Potential. *Biophys. J.* September. Vol. 77 No. 3, pp. 1213-1224.
- FIDLER L., N., NOWYCKY M. C., BOOKMAN R. J. 1990. Direct Measurement of Exocytosis and Calcium Currents in Single Vertebrate Nerve Terminals. *Nature* 344, pp. 449-451.
- FRIIS U. G., JENSEN B. L., HANSE P. B., ANDREASEN N. D., SKOTT O. 2000. Exocytosis and Endocytosis in Juxtglomerular Cells. *Acta Physiol Scand.* 168, pp. 95-99.
- GASCOYNE PRC, PETHIG R., BURT JPH, BECKER FF. 1993. Membrane Changes Accompanying the Induced Differentiation of Friend Murine Erythroleukemia Cells Studied by Dielectrophoresis. *Biochim. Biophys. Acta* 1146, pp. 119-126.
- GEPPERT M., GODAY, HAMMER R. E., LI C., ROSAHL T. W., STEVENS C. F., SUDHOF T. C. 1994. Synaptotagmin I: A Major Ca²⁺ Sensor for Transmitter Release at a Central Synapse. *Cell* 79, pp. 717-727.
- GILLIS, K. D. 1995. Techniques for Membrane Capacitance Measurements. In: Sakmann, B. and Neher, E. Editors, 1995. *Single-Channel Recording* (2 ed.), Plenum, New York. pp. 155-198.
- GRABE M., OSTER G. 2001. Regulation of Organelle Acidity. *J. Gen. Physiol.* April. Vol. 117.
- HAUS H. A., MELCHER J. R. 1990. *Electromagnetic Fields and Energy*. Prentice Hall.
- HENKEL A. W., HORSTMANN H. M., HENKEL K. 2001. Direct Observation of Membrane Retrieval in Chromaffin Cells by Capacitance Measurements. *FEBS Letters*. Volume 505, Issue 3, pp. 414-418.

- KANDEL E., SCHWARTZ J., JESSELL T. 2000. Principles of Neural Science. 4th. Ed. New York: McGraw Hill.
- KELLY R. B. 1995. Neural Transmission. Synaptotagmin is Just a Calcium Sensor. *Curr. Biol.* 5, pp. 257-259.
- KOENIG J. H., K. IKEDA. 1996. Synaptic Vesicles Have Two Distinct Recycling Pathways. *J. Cell Biol.* 135, 797-808.
- KUROMI H. & KIDOKORO Y. 1998. Two Distinct Pools of Synaptic Vesicles in Single Presynaptic Boutons in a Temperature-Sensitive Drosophila Mutant, Shibire. *Neuron* 20, 917-925.
- LEE S. H., VALTSCHANOFF J. G., KHARAZIA V. N., WEINBERG R., SHENG M. 2001. Biochemical and Morphological Characterization of an Intracellular Membrane Compartment Containing AMPA Receptors. *Neuropharmacology*. Nov. 41, 680-92.
- LINDAU, M., STUENKEL, E. L., NORDMANN, J. J. 1992. Depolarization, Intracellular Calcium and Exocytosis in Single Vertebrate Nerve Endings. *Biophysics Journal* 61, 19-30.
- LOEW L. M. 1993. Electrical Properties of Biomembranes. In *Biomembranes: Physical Aspects*. Shinitzky M. Ed. New York, VCH, 342-371.
- MATTHEWS G. 1996. Synaptic Exocytosis and Endocytosis: Capacitance Measurements. *Current Opinion in Neurobiology* 6, 358-364.
- _____. 1999. Synaptic Mechanisms of Bipolar Cell Terminals. *Vision Research*. July. Volume 39, Issue 15, 2469-2476
- OGATA K. 2001. *Modern Control Engineering*. Prentice Hall. 4th Edition.
- PANOFSKY W., PHILLIPS M. 1962. *Classical Electricity and Magnetism*. 2nd. Ed. Addison-Wesley. MA.
- PIERIBONE V. A., O. SHUPLIAKOV L., BRODIN S., HILFIKER-ROTHENFLUH A. J., CZERIIK, P. GREENGARD. 1995. Distinct Pools of Synaptic Vesicles in Neurotransmitter Release. *Nature* 375, 493-497.
- RICHALET J., RAULT A., POULIQUEN R. 1971. *Identification des Processus par la Méthode du Modèle*. Gordon & Breach. London.
- THOMAS P., SUPRENANT A., ALMERS W. 1990. Cytosolic Ca²⁺, Exocytosis, and Endocytosis in Single Melanotrophs of the Rat Pituitary. *Neuron* 5, 723-733.
- UCHIZONO K., OHSAWA K., IKEMOTO H., AL-SAMARRAI S. 1979. Morphological and Biochemical Properties of Synaptic Vesicles Isolated from Guinea Pig Brain. *Neuroscience*. Vol. 4 (5). May, 593-601.
- VON GERSDORFF H., MATTHEWS G. 1994. Dynamics of Synaptic Vesicle Fusion and Membrane Retrieval in Synaptic Terminals. *Nature* 367, 735-39.
- _____, VARDI E., MATTHEWS G., STERLING P. 1996. Evidence that Vesicles on the Synaptic Ribbon of Retinal Bipolar Neurons can be Rapidly Released. *Neuron* 16, 1221-1227.
- _____ & Matthews G. 1999. Electrophysiology of Synaptic Vesicle Cycling. *Annu. Rev. Physiol.* 61, 725-752.
- WEISS T. 1996. *Cellular Biophysics*. Vol. 1. Cambridge, Massachusetts: MIT.