

3

PERMEABILIDAD DE LA MEMBRANA DEPENDIENTE DE VOLTAJE

Aspectos generales

EL POTENCIAL DE ACCIÓN ES LA SEÑAL ELÉCTRICA primaria generada por las células nerviosas y se origina por cambios en la permeabilidad de membrana a iones específicos. El conocimiento actual de estos cambios en la permeabilidad iónica se basa en las pruebas obtenidas por la técnica de pinzamiento de voltaje, que permiten una caracterización detallada de los cambios de permeabilidad en función del potencial de membrana y del tiempo. En la mayoría de los tipos de axones, estos cambios implican una elevación rápida y transitoria en la permeabilidad al sodio (Na^+), seguida por una elevación más lenta pero más sostenida en la permeabilidad al potasio (K^+). Ambas permeabilidades son dependientes del voltaje, y aumentan a medida que el potencial de membrana se despolariza. La cinética y la dependencia del voltaje de las permeabilidades al Na^+ y al K^+ brindan una explicación completa de la generación del potencial de acción. La despolarización del potencial de membrana hasta el nivel umbral produce un aumento rápido y autosostenido en la permeabilidad al Na^+ que produce la fase de elevación del potencial de acción; sin embargo, el aumento de la permeabilidad al Na^+ es breve y es seguido por un incremento más lento de la permeabilidad al K^+ que restablece el potencial de membrana hasta su nivel de reposo negativo habitual. Un modelo matemático que describe el comportamiento de estas permeabilidades iónicas predice casi todas las propiedades observadas de los potenciales de acción. Es importante destacar que este mismo mecanismo iónico permite la propagación de los potenciales de acción a lo largo de los axones neuronales, lo que explica cómo se transmiten las señales eléctricas en todo el sistema nervioso.

Corrientes iónicas a través de las membranas de las células nerviosas

El capítulo anterior introdujo la idea de que las células nerviosas generan señales eléctricas en virtud de una membrana que es diferencialmente permeable a distintas especies de iones. En particular, un incremento transitorio en la permeabilidad de la membrana neuronal al Na^+ inicia el potencial de acción. En este capítulo se considera con exactitud cómo se desarrolla este aumento en la permeabilidad al Na^+ . Una clave para comprender este fenómeno es la observación de que los potenciales de acción se inician *solo* cuando el potencial de membrana neuronal se vuelve más positivo que cierto nivel umbral. Esta observación sugiere que el mecanismo responsable del

incremento en la permeabilidad al Na^+ es sensible al potencial de membrana. Por lo tanto, si pudiera comprenderse cómo un cambio en el potencial de membrana activa la permeabilidad al Na^+ , debería ser posible explicar cómo se generan los potenciales de acción.

El hecho de que la permeabilidad al Na^+ que genera el cambio en el potencial de membrana es en sí misma sensible al potencial de membrana presenta obstáculos tanto conceptuales como prácticos para estudiar el mecanismo del potencial de acción. Un problema práctico es la dificultad para variar en forma sistemática el potencial de membrana para estudiar el cambio de permeabilidad, porque estas alteraciones en el potencial de membrana producen el potencial de acción, que genera cambios nuevos no

controlados. Históricamente, no fue posible comprender entonces los potenciales de acción hasta que se desarrolló una técnica que permitió que los investigadores controlen el potencial de membrana y midan de manera simultánea los cambios de permeabilidad subyacentes. Esta técnica, el **método de pinzamiento de voltaje** (Recuadro 3A), brinda toda la información necesaria para definir la permeabilidad iónica de la membrana en cualquier nivel del potencial de membrana.

A fines de la década de 1940, Alan Hodgkin y Andrew Huxley utilizaron la técnica de pinzamiento de voltaje para investigar los cambios de permeabilidad subyacentes al potencial de acción. Una vez más, estos autores decidieron utilizar la neurona gigante del

RECUADRO 3A Método de pinzamiento de voltaje

Los descubrimientos en la investigación científica a menudo se basan en el desarrollo de tecnologías nuevas. En el caso del potencial de acción, solo se obtuvo un conocimiento detallado después de que Kenneth Cole, en la década de 1940, inventó la técnica de pinzamiento de voltaje. Este dispositivo se denomina así porque controla o pinza el potencial de membrana (o voltaje) en cualquier nivel que el experimentador desee. El método mide el potencial de membrana con un microelectrodo (u otro tipo de electrodo) colocado en el interior de la célula (1), y compara electrónicamente este voltaje con el que se desea mantener (denominado *voltaje comando*) (2). A continuación, el circuito de pinzamiento pasa una corriente retrógrada a la célula a través de otro electrodo in-

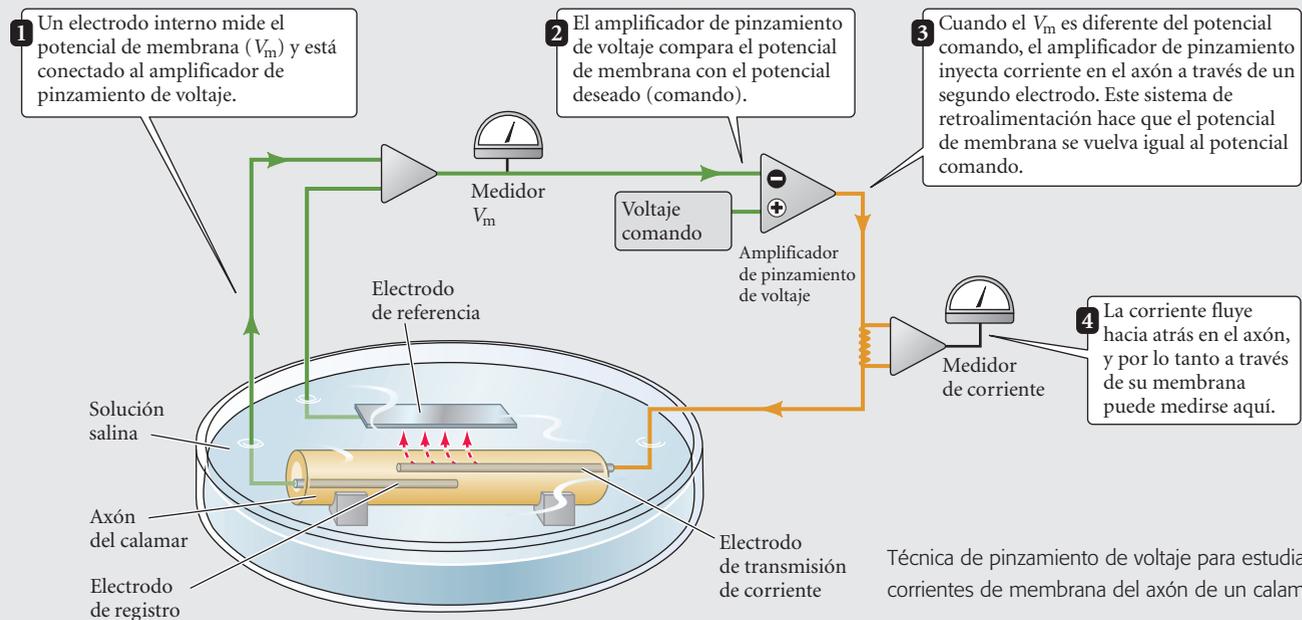
tracelular (3). Este circuito electrónico de retroalimentación mantiene el potencial de membrana en el nivel deseado, aun frente a cambios en la permeabilidad que en condiciones normales alterarían el potencial de membrana (como los generados durante el potencial de acción). Lo que es más importante, el dispositivo permite la medición simultánea de la corriente necesaria para mantener la célula en un voltaje dado (4). Esta corriente es exactamente igual a la cantidad de corriente que fluye a través de la membrana neuronal, lo que permite la medición directa de estas corrientes de membrana. Por lo tanto, la técnica de pinzamiento de voltaje puede indicar cómo fluye el potencial de membrana en el flujo de corrientes iónicas a través de la membrana. Esta información brindó a Hodgkin

y a Huxley los conocimientos clave que condujeron a su modelo para la generar el potencial de acción.

En la actualidad, el método del pinzamiento de voltaje se utiliza ampliamente para estudiar las corrientes iónicas en las neuronas y otras células. La versión contemporánea más popular de este enfoque es la técnica de pinzamiento en parche, método que puede aplicarse casi a cualquier célula y tiene una resolución suficientemente alta como para medir corrientes eléctricas diminutas que fluyen a través de canales iónicos aislados (véase Recuadro 4A).

Bibliografía

Cole, K. S. (1968) Membranes, Ions and Impulses: A Chapter of Classical Biophysics. Berkeley, CA: University of California Press.



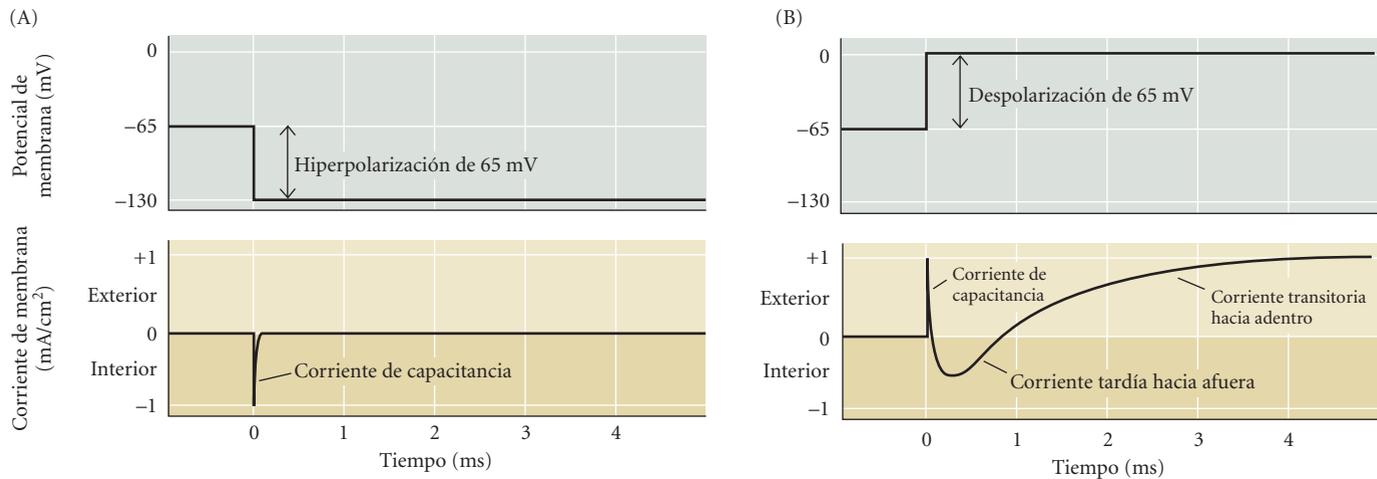


FIGURA 3.1 Flujo de corriente a través de la membrana del axón de un calamar durante un experimento de pinzamiento de voltaje. (A) Una hiperpolarización de 65 mV del potencial de membrana produce solo una corriente de capacitancia muy breve. (B) Una despolarización de 65 mV del potencial de membrana también produce una corriente de capacitancia breve, pero le sigue una frase más prolongada, aunque transitoria, de corriente hacia dentro y una corriente tardía pero sostenida hacia fuera. (De Hodgkin y cols., 1952.)

calamar, dado que su gran tamaño (hasta 1 mm de diámetro; véase Recuadro 2B) permitía la inserción de los electrodos necesarios para el pinzamiento de voltaje. Estos investigadores fueron los primeros en evaluar directamente la hipótesis de que los cambios de permeabilidad al Na^+ y al K^+ sensibles al potencial son tanto necesarios como suficientes para la producción de potenciales de acción.

El primer objetivo de Hodgkin y Huxley fue determinar si, de hecho, la membrana neuronal tiene permeabilidad dependiente de voltaje. Para encarar esta cuestión, estos investigadores se preguntaron si las corrientes iónicas fluyen a través de la membrana cuando su potencial se modifica. En la Figura 3.1 se muestra el resultado de uno de estos experimentos. En la Figura 3.1A se exhiben las corrientes producidas por el axón de un calamar cuando su potencial de membrana, V_m , se hiperpolariza desde el nivel de reposo de -65 mV a -130 mV. La respuesta inicial del axón es resultado de la redistribución de la carga a través de la membrana axónica. Esta corriente de capacitancia es casi instantánea, y termina dentro de una fracción de un milisegundo. Además de este acontecimiento breve, fluye muy poca corriente cuando la membrana está hiperpolarizada. Sin embargo, si el potencial de membrana se despolariza desde -65 hasta 0 mV, la respuesta es muy diferente (Figura 3.1B). Tras la corriente de capacitancia, el axón produce una corriente iónica hacia el interior que crece rápidamente (hacia el interior se refiere a una carga positiva que ingresa en la célula, o sea, cationes dentro o aniones fuera), lo que deja el paso a una corriente tardía hacia el exterior y de crecimiento más lento. La generación de estas corrientes iónicas por la despolarización de la membrana establece que la permeabilidad de la membrana de los axones es, en efecto, dependiente de voltaje.

Dos tipos de corriente iónica dependientes de voltaje

Los resultados que aparecen en la Figura 3.1 demuestran que la permeabilidad iónica de la membrana neuronal es sensible al voltaje, pero los experimentos no identifican cuántos tipos de permeabilidad hay o cuáles son los iones involucrados. Como se explicó en el Capítulo 2 (véase Figura 2.6), la variación del poten-

cial a través de una membrana hace posible deducir el potencial de equilibrio para los flujos iónicos a través de la membrana y, por lo tanto, identificar los iones que fluyen. Dado que el método de pinzamiento de voltaje permite modificar el potencial de membrana mientras se miden las corrientes iónicas, para Hodgkin y Huxley era un asunto fácil determinar la permeabilidad iónica mediante el examen de cómo se modificaban las propiedades de las corrientes temprana hacia el interior y tardía hacia el exterior a medida que variaba el potencial de membrana (Figura 3.2). Como ya se señaló, no fluye corriente iónica apreciable alguna en los potenciales de membrana más con valores negativos que los del potencial de reposo. Sin embargo, con potenciales más positivos, las corrientes no solo fluyen sino que cambian de magnitud. La corriente temprana tiene una dependencia con forma de U del potencial de membrana, y aumenta en un intervalo de despolarizaciones hasta alrededor de 0 mV, pero disminuyen a medida que el potencial se despolariza más. Por el contrario, la corriente tardía se incrementa de manera uniforme con los potenciales de membrana crecientemente positivos. Estas respuestas diferentes al potencial de membrana pueden observarse con más claridad cuando las magnitudes de los dos componentes se representan en correlación con el potencial de membrana, como en la Figura 3.3.

La sensibilidad al voltaje de la corriente temprana hacia el interior aporta un indicio importante acerca de la naturaleza de los iones que transmiten la corriente, esto es, que no fluye corriente cuando el potencial de membrana se pinza en $+52$ mV. En las neuronas del calamar, que estudiaron Hodgkin y Huxley, la concentración externa de Na^+ es 440 mM y la concentración interna de Na^+ es 50 mM. Para este gradiente de concentración, la ecuación

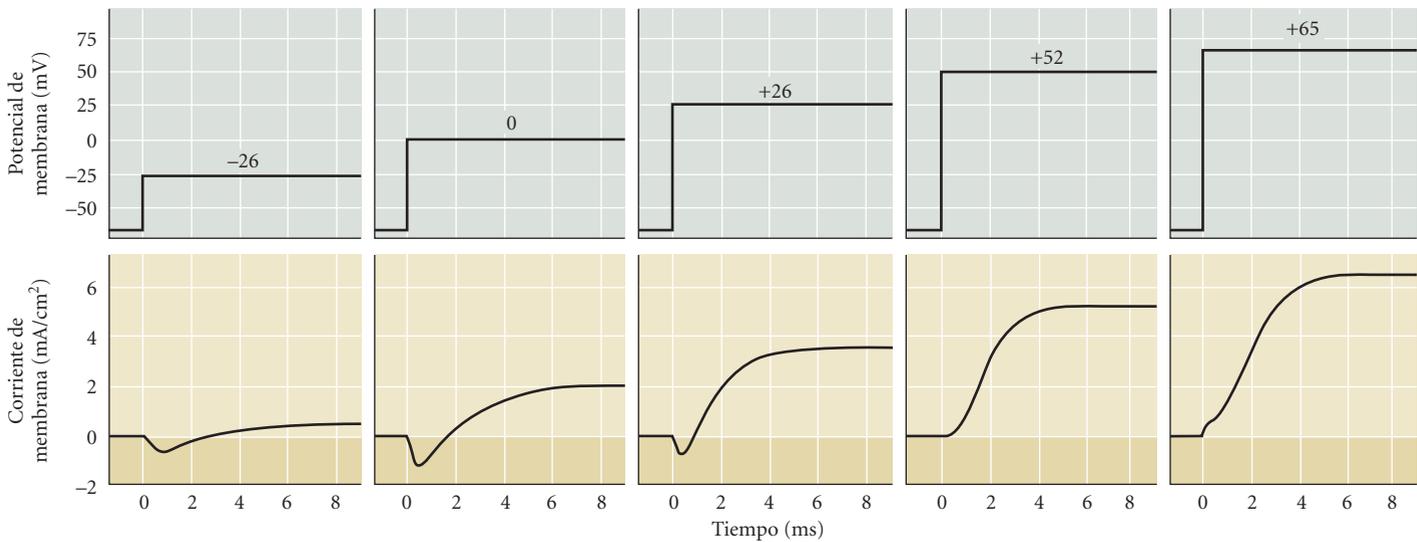


FIGURA 3.2 Corrientes producidas por despolarizaciones de membrana a varios potenciales diferentes. La corriente temprana al principio aumenta, luego su magnitud disminuye a medida que se incrementa la despolarización; obsérvese que esta corriente se invierte en polaridad con potenciales más positivos que alrededor de +55 mV. La corriente más tardía aumenta de forma monótona con la despolarización creciente. (De Hodgkin y cols., 1952.)

ción de Nernst predice que el potencial de equilibrio para el Na⁺ debe ser +55 mV. Recuérdese también del Capítulo 2 que en el potencial de equilibrio del Na⁺ no hay flujo neto de Na⁺ a través de la membrana, aun cuando la membrana sea muy permeable al Na⁺. Por lo tanto, la observación experimental de que no fluye corriente en el potencial de membrana donde no puede fluir Na⁺ es una indicación firme de que la corriente temprana hacia el interior es transportada por el ingreso de Na⁺ en el axón.

Una manera incluso más firme de evaluar si el Na⁺ transmite la corriente temprana hacia el interior es examinar el comporta-

miento de esta corriente después de *eliminar* el Na⁺ externo. La eliminación del Na⁺ en el exterior del axón convierte en negativo el E_{Na} ; si en estas condiciones se aumenta la permeabilidad al Na⁺, la corriente debe fluir hacia afuera a medida que el Na⁺ abandona la neurona, debido al gradiente electroquímico invertido. Cuando Hodgkin y Huxley realizaron este experimento, observaron que la eliminación del Na⁺ exterior ocasionó que la corriente temprana hacia el interior invirtiera su polaridad y se convirtiera en una corriente hacia el exterior con un potencial de membrana que dio origen a una corriente hacia el interior cuando había Na⁺ en el exterior (Figura 3.4). Este resultado demuestra convincentemente que la corriente temprana hacia el interior medida cuando está presente el Na⁺ en el medio externo debe ser consecuencia del ingreso de Na⁺ hacia la neurona.

En el experimento que se muestra en la Figura 3.4, la eliminación del Na⁺ en el exterior tiene poco efecto sobre la corriente hacia el exterior que fluye después de que la neurona se mantuvo en un voltaje de membrana despolarizado durante varios milisegundos. Este nuevo resultado muestra que la corriente tardía hacia el exterior se debe al flujo de un ion distinto de Na⁺. Varias evidencias presentadas por Hodgkin, Huxley y cols. mostraron que esta corriente hacia el exterior es causada por el K⁺ que sale de la neurona. Tal vez la demostración más firme de la participación del K⁺ es que la cantidad del eflujo de K⁺ desde la neurona, medida por la carga de la neurona con K⁺ radiactivo, se correlaciona íntimamente con la magnitud de la corriente tardía hacia el exterior.

Tomados en conjunto, estos experimentos muestran que la modificación del potencial de membrana hasta un nivel más positivo que el potencial de reposo produce dos efectos: un influjo temprano de Na⁺ hacia la neurona, seguido por un eflujo tar-

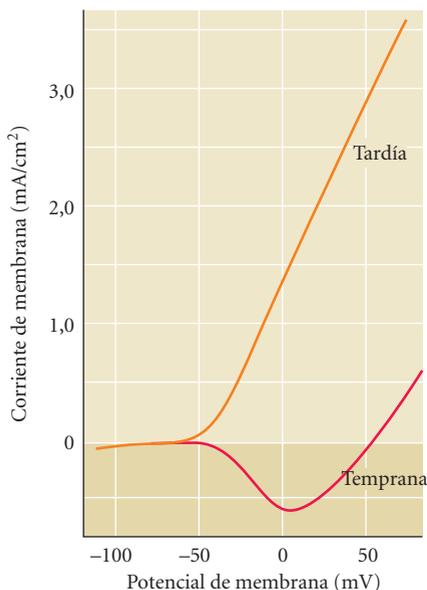


FIGURA 3.3 Relación entre la amplitud de corriente y el potencial de membrana.

Experimentos como el que se muestra en la Figura 3.2 indican que la corriente tardía hacia el exterior aumenta abruptamente con la despolarización creciente, mientras que la corriente temprana hacia el interior primero aumenta de magnitud pero luego disminuye y se invierte a una corriente hacia el exterior en unos +55 mV (potencial de equilibrio para el sodio). (De Hodgkin y cols., 1952.)

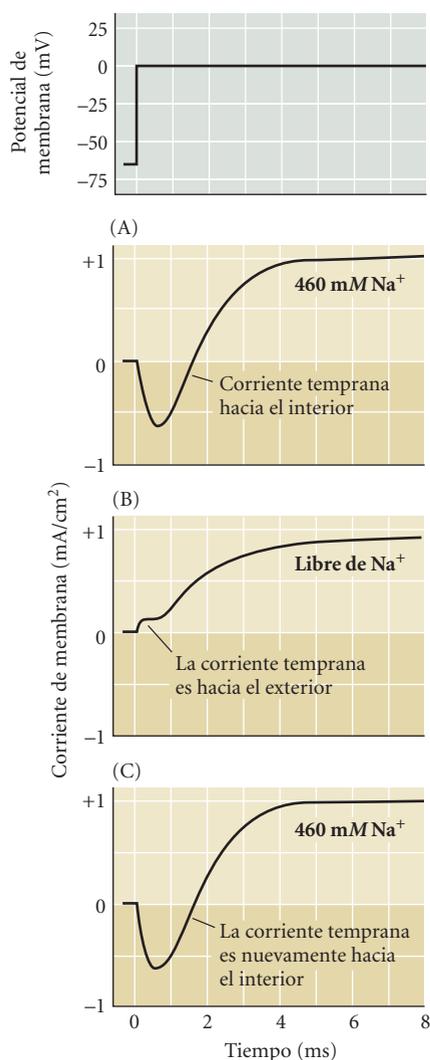


FIGURA 3.4 Dependencia del sodio de la corriente temprana hacia dentro. (A) En presencia de concentraciones externas normales de Na^+ , la despolarización del axón de un calamar hasta 0 mV (parte superior) produce una corriente inicial hacia el interior. (B) La eliminación del Na^+ externo hace que la corriente inicial hacia dentro se vuelva hacia fuera, efecto que se revierte (C) por el restablecimiento del Na^+ externo. (De Hodgkin y Huxley, 1952a).

de vías de permeabilidad independientes. Como se explica en el Capítulo 4, en la actualidad se sabe que estas vías son canales iónicos selectivamente permeables a Na^+ o K^+ . De hecho, la tetrodotoxina, el tetraetilamonio y otros fármacos que interactúan con tipos específicos de canales iónicos fueron herramientas de utilidad extraordinaria para caracterizar estas moléculas de los canales (véase Capítulo 4).

Dos conductancias de membrana dependientes de voltaje

El objetivo siguiente que Hodgkin y Huxley se propusieron fue describir matemáticamente los cambios de permeabilidad al Na^+ y al K^+ . Para hacerlo, aceptaron que las corrientes iónicas se deben a un cambio en la **conductancia de la membrana**, definida como la recíproca de la resistencia de la membrana. Por lo tanto, la conductancia de la membrana se relaciona en gran medida con su permeabilidad, aunque no es idéntica a ella. Cuando se evalúan los movimientos iónicos desde un punto de vista eléctrico, es conveniente describirlos en términos de conductancias iónicas y no de las permeabilidades iónicas. Para los fines actuales, permeabilidad y conductancia pueden considerarse sinónimos. Si la conductancia (g) de la membrana obedece la

dío de K^+ . El influjo temprano de Na^+ produce una corriente transitoria hacia el interior, mientras que el eflujo tardío de K^+ ocasiona una corriente sostenida hacia el exterior. Las diferencias en el curso temporal y la selectividad iónica de los dos flujos sugieren que dos mecanismos diferentes de permeabilidad iónica se activan por cambios en el potencial de membrana. La confirmación de que en realidad existen dos mecanismos distintos proviene de estudios farmacológicos de agentes que afectan específicamente estas dos corrientes (Figura 3.5). La *tetrodotoxina*, una neurotoxina alcaloide hallada en algunos peces globo, ranas tropicales y salamandras, bloquea la corriente de Na^+ sin afectar la corriente de K^+ . Por el contrario, los *iones de tetraetilamonio* bloquean las corrientes de K^+ sin afectar las de Na^+ . La sensibilidad diferencial de las corrientes de Na^+ y K^+ proporciona evidencia adicional firme de que el Na^+ y el K^+ fluyen a través

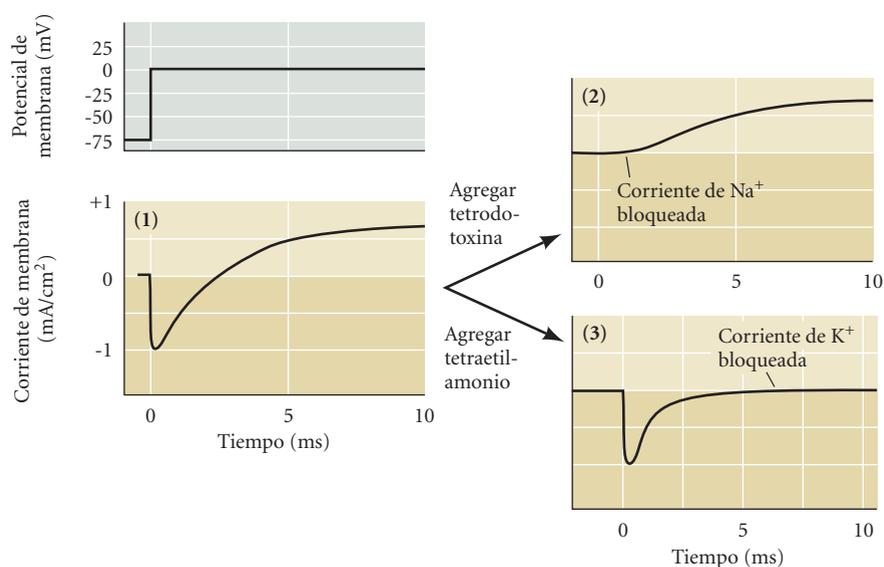


FIGURA 3.5 Separación farmacológica de las corrientes de Na^+ y de K^+ en los componentes sodio y potasio. En el panel (1) se observa la corriente que fluye cuando el potencial de membrana del axón de un calamar se despolariza hasta 0 mV en condiciones de control. (2) El tratamiento con tetrodotoxina hace que desaparezcan las corrientes tempranas de Na^+ pero respeta las corrientes tardías de K^+ . (3) El tratamiento de tetraetilamonio bloquea las corrientes de K^+ sin afectar las corrientes de Na^+ . (De Moore y cols., 1967, y Armstrong y Binstock, 1965.)

ley de Ohm (que establece que el voltaje es igual al producto de corriente por resistencia), entonces la corriente iónica que fluye durante un aumento de la conductancia de la membrana está dada por:

$$I_{ion} = g_{ion} (V_m - E_{ion})$$

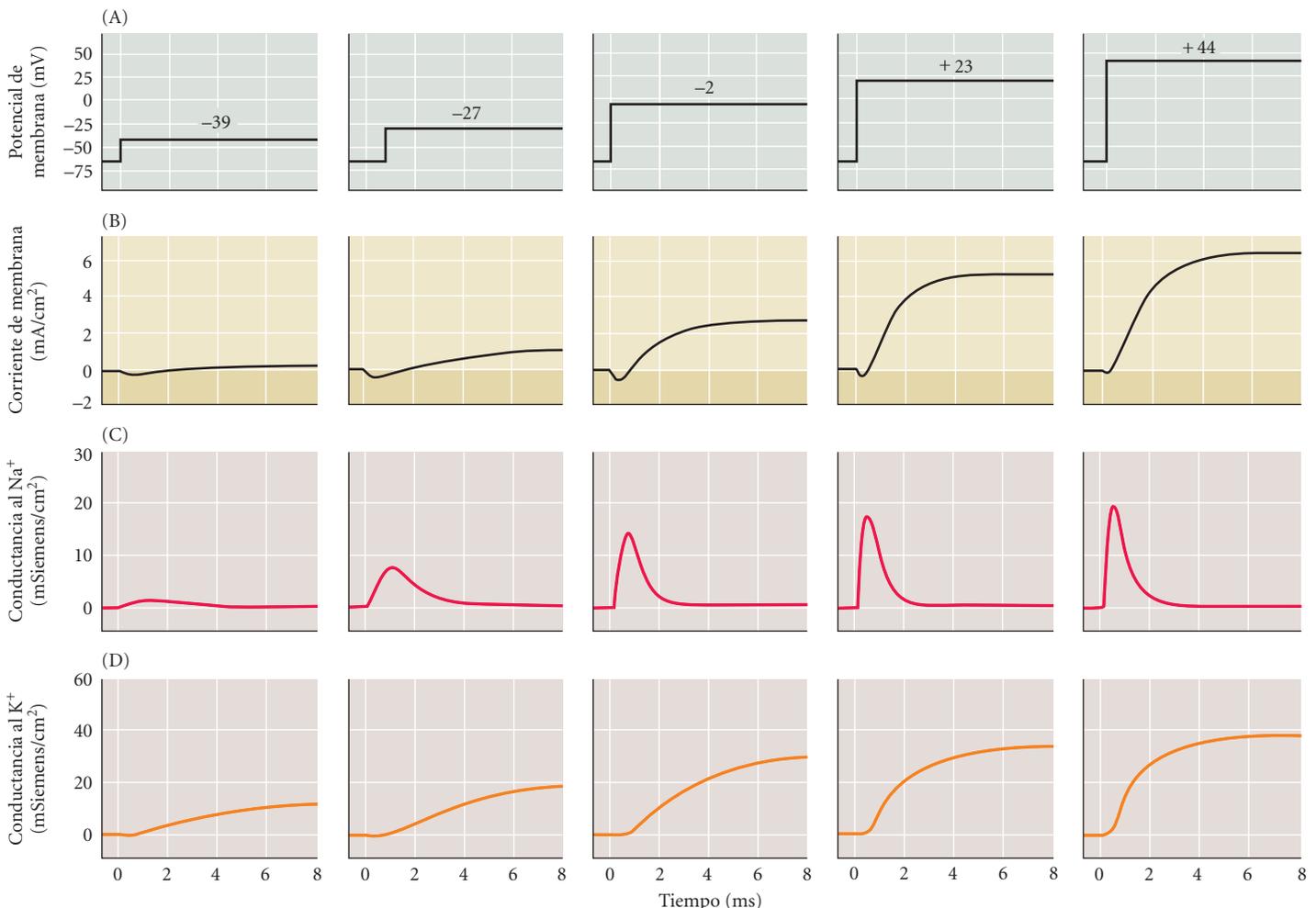
donde I_{ion} es la corriente iónica, V_m es el potencial de membrana y E_{ion} es el potencial de equilibrio para el ion que fluye a través de la conductancia, g_{ion} . La diferencia entre V_m y E_{ion} es la fuerza impulsora electroquímica sobre el ion.

Hodgkin y Huxley utilizaron esta relación sencilla para calcular la dependencia de las conductancias de Na^+ y K^+ sobre el tiempo y el potencial de membrana. Estos autores conocían V_m , que determinaron a partir de su dispositivo de pinzamiento de voltaje (Figura 3.6A), y pudieron determinar E_{Na} y E_K a partir de las concentraciones iónicas a ambos lados de la membrana axónica (véase Cuadro 2.1). Las corrientes transmitidas por Na^+ y K^+ (I_{Na} e I_K) pudieron determinarse por separado a partir de los registros de las corrientes de membrana resultantes de la despolarización (Figura 3.6B) midiendo las diferencias entre las corrientes registradas en presencia y ausencia de Na^+ externo (como se muestra en la Figura 3.4). A partir de estas medicio-

nes, Hodgkin y Huxley pudieron calcular g_{Na} y g_K (Figura 3.6C, D), de las cuales extrajeron dos conclusiones fundamentales. La primera es que las conductancias al Na^+ y al K^+ cambian con el tiempo. Por ejemplo, tanto la conductancia al Na^+ como al K^+ necesitan cierto tiempo para **activarse** o encenderse. En particular, la conductancia al K^+ tiene un retardo pronunciado, que necesita varios milisegundos para alcanzar su nivel máximo (Figura 3.6D), mientras que la conductancia al Na^+ alcanza su nivel máximo más rápidamente (Figura 3.6C). La activación más rápida de la conductancia al Na^+ permite que la corriente resultante de Na^+ hacia el interior preceda a la corriente de K^+ hacia el exterior retardada (Figura 3.6B). Si bien la conductancia al Na^+

FIGURA 3.6 Los cambios en la conductancia de membrana subyacentes al potencial de acción son dependientes de tiempo y de voltaje.

Las despolarizaciones hasta distintos potencial de membrana (A) producen diferentes corrientes de membrana (B). Debajo se muestran las conductancias al Na^+ (C) y al K^+ (D) calculadas a partir de estas corrientes. Tanto la conductancia pico al Na^+ como la conductancia en estado de equilibrio al K^+ aumentan a medida que el potencial de membrana se vuelve más positivo. Además, la activación de ambas conductancias, así como la velocidad de inactivación de la conductancia al Na^+ , se producen más rápidamente con despolarizaciones más grandes. (De Hodgkin y Huxley, 1952b.)



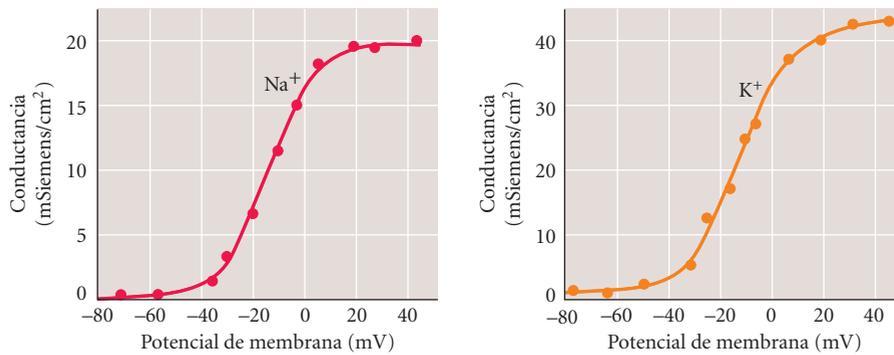


FIGURA 3.7 La despolarización aumenta las conductancias al Na⁺ y al K⁺ del axón gigante del calamar. La magnitud pico de la conductancia al Na⁺ y el valor en estado de equilibrio de la conductancia al K⁺ aumentan abruptamente a medida que el potencial de membrana se despolariza. (De Hodgkin y Huxley, 1952b).

se eleva con rapidez, declina con igual celeridad, aun cuando el potencial de membrana se mantenga en un nivel despolarizado. Esto muestra que la despolarización no solo hace que se active la conductancia al Na⁺, sino también que disminuya con el tiempo o se **inactiva**. La conductancia al K⁺ del axón del calamar no se inactiva de esta forma; por lo tanto, aunque las conductancias al Na⁺ y al K⁺ comparten la propiedad de activación dependiente del tiempo, sólo la conductancia al Na⁺ se inactiva. (A partir de este hecho, se descubrió la inactivación de las conductancias al K⁺ en otros tipos de células nerviosas; véase Cap. 4). Los cursos temporales de las conductancias al Na⁺ y al K⁺ son dependientes de voltaje, y la velocidad tanto de la activación como de la inactivación aumenta con los potenciales más despolarizados. Este hallazgo explica los cursos más rápidos de las corrientes de las membranas medidos en potenciales más despolarizados.

La segunda conclusión derivada de los cálculos de Hodgkin y Huxley es que la conductancia tanto al Na⁺ como al K⁺ es dependiente del K⁺, o sea que ambas conductancias aumentan progresivamente a medida que la neurona se despolariza. En la Figura 3.7 se muestra esto mediante el gráfico de la relación entre el valor pico de las conductancias (tomado de Figura 3.6C, D) y el potencial de membrana. Obsérvese la dependencia similar del voltaje para cada conductancia; ambas conductancias son muy pequeñas en los potenciales negativos, máximas en los potenciales muy positivos y sensiblemente dependientes del voltaje de la membrana en los potenciales intermedios. La observación de que estas conductancias son sensibles a los cambios del potencial de membrana muestra que el mecanismo subyacente a las conductancias “detecta” el voltaje a través de la membrana.

De acuerdo con todo esto, los experimentos de pinzamiento de voltaje llevados a cabo por Hodgkin y Huxley mostraron que las corrientes iónicas que fluyen cuando la membrana neuronal se despolariza se deben a tres procesos diferentes sensibles al voltaje: 1) activación de la conductancia al Na⁺, 2) activación de la conductancia al K⁺ y 3) inactivación de la conductancia al Na⁺.

Reconstrucción del potencial de acción

A partir de sus observaciones experimentales, Hodgkin y Huxley pudieron construir un modelo matemático detallado de los cambios en las conductancias al Na⁺ y al K⁺. El objetivo de

estos esfuerzos de modelado es determinar si los cambios al Na⁺ y al K⁺ aislados eran suficientes para producir un potencial de acción. Con esta información, de hecho los autores pudieron generar la forma y el curso temporal del potencial de acción con una precisión notable (Figura 3.8A). El modelo de Hodgkin-Huxley pudo simular muchas otras características del comportamiento del potencial de acción en el axón del calamar. Por ejemplo, es bien sabido que después de un potencial de acción, el axón se vuelve refractario a una mayor excitación durante un breve período, denominado **período refractario** (Figura 3.8B). El modelo fue capaz de imitar estrechamente este comportamiento (Figura 3.8C).

El modelo de Hodgkin y Huxley también proporcionó muchas ideas sobre el modo de generación del potencial de acción. La Figura 3.8A muestra un potencial de acción reconstruido, junto con los cursos temporales de las conductancias al Na⁺ y al K⁺ subyacentes. La coincidencia del aumento inicial en la conductancia al Na⁺ con la fase creciente rápida del potencial de acción demuestra que un incremento selectivo en la conductancia al Na⁺ es responsable de la iniciación del potencial de acción. El aumento de la conductancia al Na⁺ hace que éste ingrese en la neurona y despolarice así el potencial de membrana, que se aproxima a E_{Na^+} . Con posterioridad, la velocidad de despolarización cae porque la fuerza impulsora electroquímica sobre el Na⁺ disminuye y la conductancia al Na⁺ se inactiva. Al mismo tiempo, la despolarización activa con lentitud la conductancia al K⁺ dependiente de voltaje y hace que el K⁺ abandone la célula y repolarice el potencial de membrana hacia E_{K^+} . Dado que la conductancia al K⁺ es transitoriamente mayor que en la condición de reposo, el potencial de membrana se vuelve brevemente más negativo que el potencial de reposo normal (repolarización exagerada). La hiperpolarización del potencial de membrana hace que la conductancia al K⁺ dependiente de voltaje (y cualquier conductancia al Na⁺ no inactivada) se inactive, lo que permite que el potencial de membrana retorne a su nivel de reposo. El curso temporal relativamente lento de la inactivación de la conductancia al K⁺, así como la persistencia de la inactivación de la conductancia al Na⁺, es responsable del período refractario (véase también Figura 3.10).

Este mecanismo de generación del potencial de acción representa un circuito de retroalimentación positiva: la activación de la conductancia al Na⁺ dependiente de voltaje aumenta el ingreso del Na⁺ en la neurona, lo que hace despolarizar el potencial de

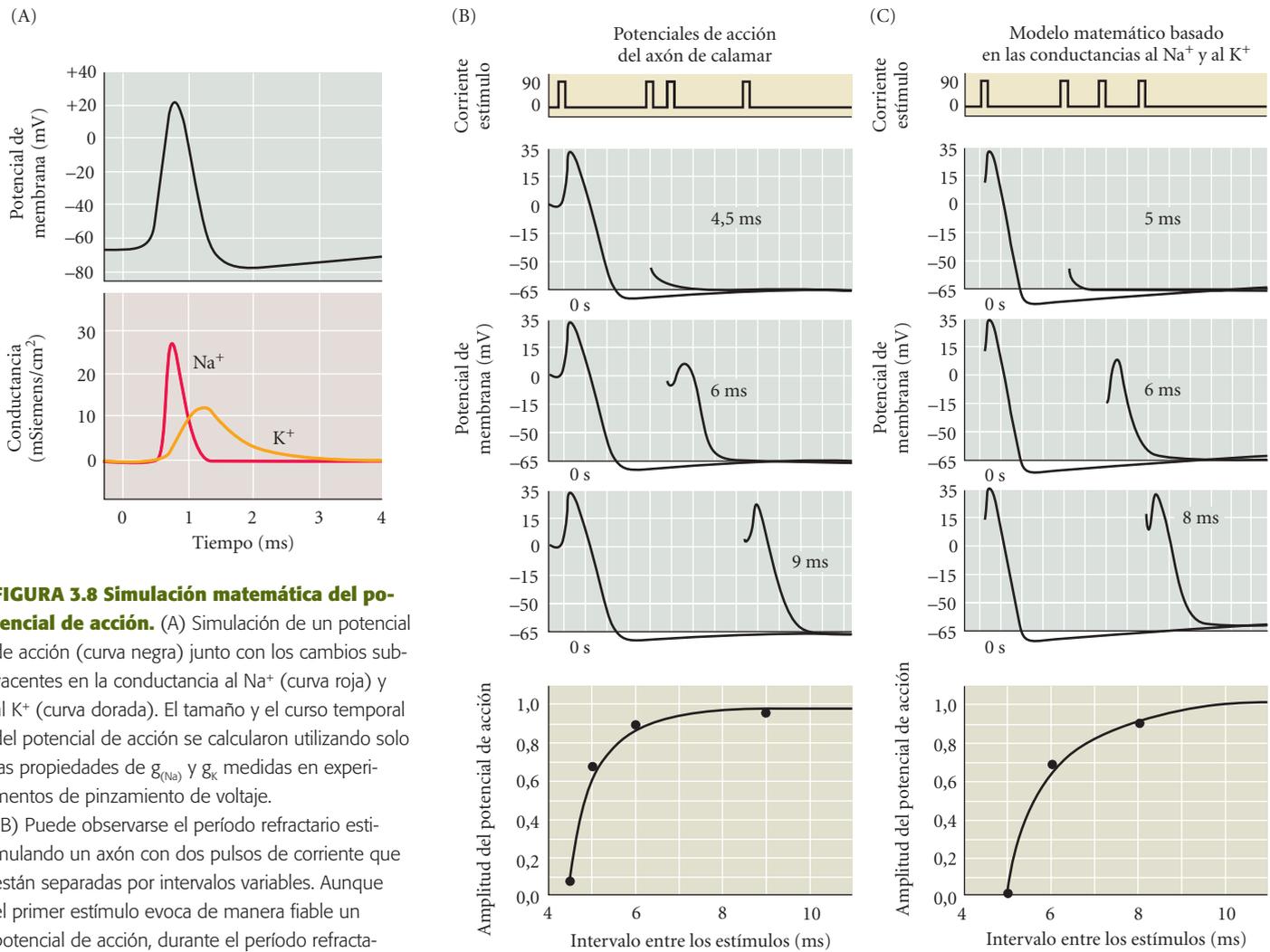
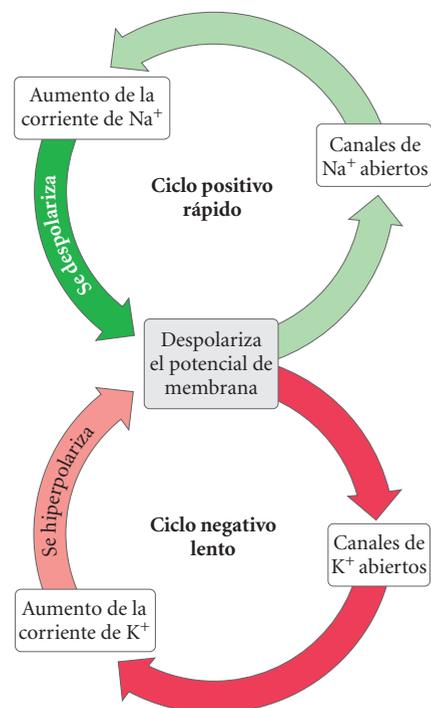


FIGURA 3.8 Simulación matemática del potencial de acción. (A) Simulación de un potencial de acción (curva negra) junto con los cambios subyacentes en la conductancia al Na⁺ (curva roja) y al K⁺ (curva dorada). El tamaño y el curso temporal del potencial de acción se calcularon utilizando solo las propiedades de $g_{(Na)}$ y g_K medidas en experimentos de pinzamiento de voltaje. (B) Puede observarse el período refractario estimulando un axón con dos pulsos de corriente que están separadas por intervalos variables. Aunque el primer estímulo evoca de manera fiable un potencial de acción, durante el período refractario el segundo estímulo solamente generará un pequeño potencial de acción o ninguna respuesta en absoluto. (C) El modelo matemático predice con exactitud respuestas del axón durante el período refractario. (De Hodgkin y Huxley, 1952d.)

membrana y conduce aún más a la activación de la conductancia al Na⁺, a un ingreso mayor de Na⁺ y a la despolarización incluso mayor (Figura 3.9). La retroalimentación positiva no desaparece hasta que la inactivación de la conductancia al Na⁺ y la activación de la conductancia al K⁺ restablecen el potencial de membrana hasta el nivel de reposo. Debido a que este circuito de retroalimentación positiva, una vez iniciado, es sostenido por las propiedades intrínsecas de la neurona –a saber, las depen-

FIGURA 3.9 Ciclos de retroalimentación responsables de los cambios del potencial de membrana durante un potencial de acción. La despolarización de la membrana activa con rapidez un ciclo de retroalimentación positiva impulsado por la activación dependiente de voltaje de la conductancia al Na⁺. Este fenómeno es seguido por la activación más lenta de un circuito de retroalimentación negativa a medida que la despolarización activa una conductancia al K⁺, que ayuda a repolarizar el potencial de membrana y terminar el potencial de acción.



RECUADRO 3B Umbral

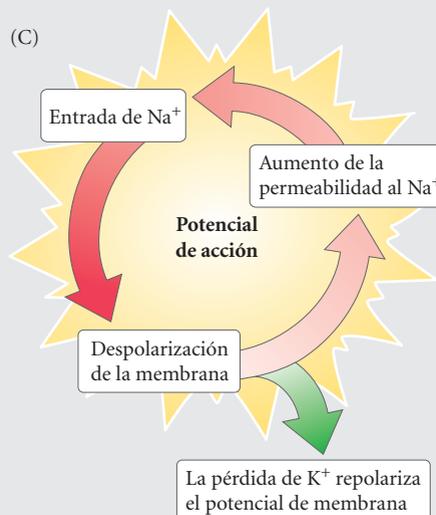
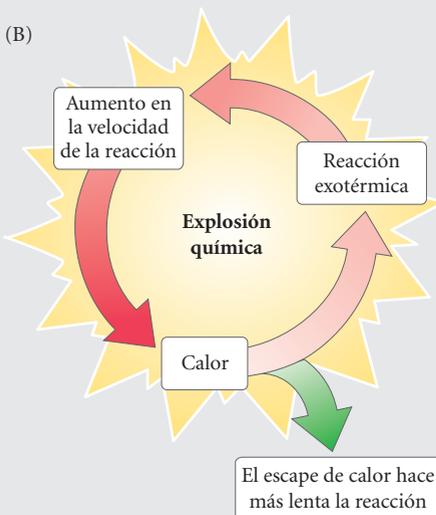
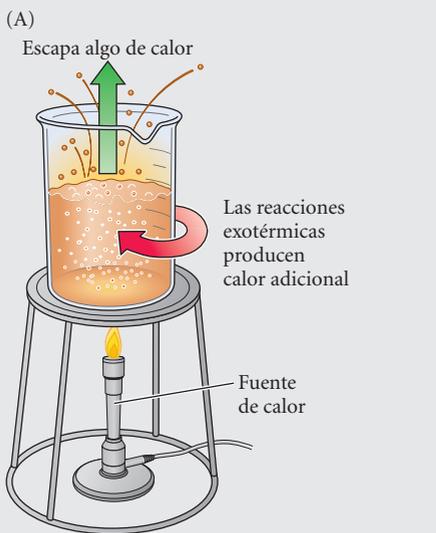
Una propiedad importante, posiblemente asombrosa, del potencial de acción es su iniciación a partir de un potencial particular de la membrana, denominado umbral. En efecto, los potenciales de acción nunca se desarrollan sin un estímulo despolarizante que lleve a la membrana a este nivel. El “gatillo” despolarizante puede ser uno de los siguientes acontecimientos: una aferencia sináptica, un potencial de receptor generado por órganos receptores especializados, la actividad de los marcapasos endógenos de las células que generan potenciales de acción en forma espontánea o la corriente local que media la propagación del potencial de acción a través del axón.

Es posible comprender por qué el potencial de acción “despega” en un nivel particular de despolarización al comparar los hechos subyacentes con una explosión química (Figura A). El calor exógeno (análogo a la despolarización inicial del potencial de membrana) estimula una reacción química exotérmica, que aumenta más la reacción (Figura B). Como resultado de este circuito de retroalimentación positiva, la velocidad de la reacción crece de manera exponencial: la definición de una explosión. Sin embargo, en cualquiera de estos dos procesos hay un umbral, o sea, un punto hasta el cual se puede aportar calor sin que se produzca una explosión. El umbral para la explosión química representada aquí es el punto en el cual la cantidad de calor aportado en forma exógena es solo igual a la cantidad de calor que puede disiparse por las circunstancias de la reacción (como el escape de calor de la jarra).

En principio, el umbral de iniciación del potencial de acción es similar (Figura C). Hay una despolarización “subumbral”, donde el ritmo de aumento de ingreso de sodio es menor que el ritmo de salida de potasio (recuérdese que la membrana en reposo es altamente permeable al K⁺, que por lo tanto fluye hacia fuera a medida que la membrana se despolariza). El punto en el cual el influjo de Na⁺ iguala el eflujo de

K⁺ representa un equilibrio inestable análogo al punto de la ignición de una mezcla explosiva. El comportamiento de la membrana en el umbral refleja esta inestabilidad: el potencial de membrana puede continuar en el nivel umbral durante un período variable antes de que retorne al nivel de reposo o crezca hasta un potencial de acción completo. Al menos en teoría, si hay ganancia interna neta de un solo ion sodio, se desarrolla un potencial de acción; por el contrario, la pérdida neta de un solo ion potasio conduce a la despolarización. Por lo tanto, una definición más precisa de umbral es ese valor del potencial de membrana en el que la corriente transmitida por el Na⁺ que ingresa en la neurona es exactamente igual a la corriente de K⁺ que fluye hacia fuera. Una vez que el acontecimiento gatillo despolariza la membrana más allá de este punto, el circuito de retroalimentación positiva de la entrada de Na⁺ sobre el potencial de membrana se cierra y el potencial de acción “se dispara”.

Como las conductancias al Na⁺ y al K⁺ cambian dinámicamente con el tiempo, el potencial umbral para producir un potencial de acción también varía como consecuencia de la actividad previa de la neurona. Por ejemplo, después de un potencial de acción, la membrana se vuelve transitoriamente refractaria a una mayor excitación, porque el umbral para disparar un potencial de acción se eleva de manera transitoria. Por lo tanto, no hay un valor específico del potencial de membrana que defina el umbral para una célula nerviosa dada en todas las circunstancias.



El circuito de retroalimentación positiva subyacente al potencial de acción explica el fenómeno de umbral.

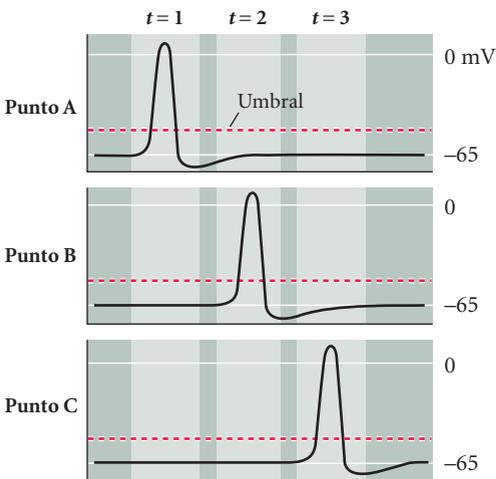
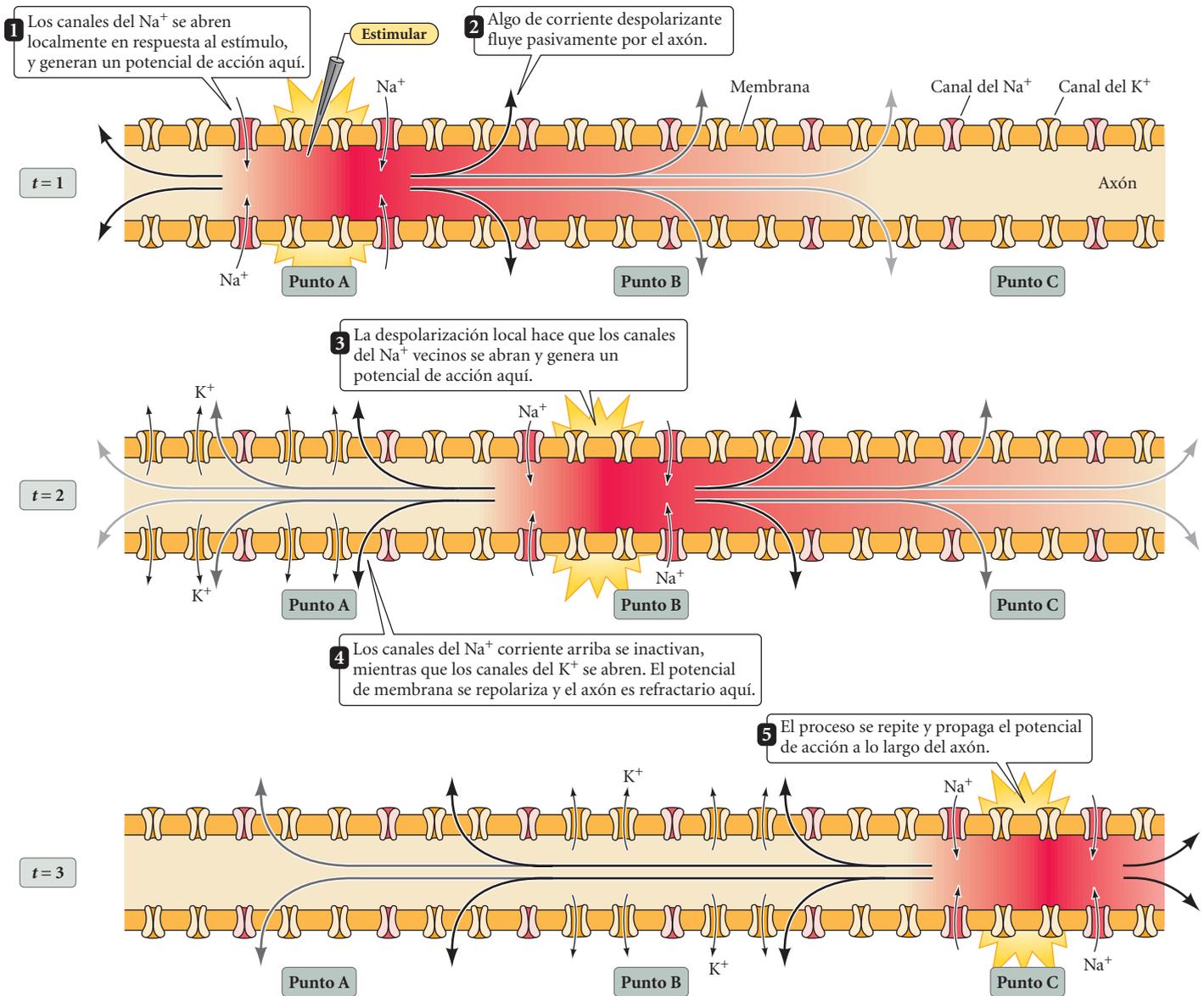


FIGURA 3.10 La conducción del potencial de acción requiere un flujo tanto activo como pasivo de corriente. La despolarización abre los canales del Na^+ localmente y produce un potencial de acción en el punto A del axón (tiempo $t = 1$). La corriente resultante hacia el interior fluye pasivamente a lo largo del axón y despolariza la región adyacente (punto B) del axón. En un momento posterior ($t = 2$), la despolarización de la membrana adyacente ha abierto los canales de Na^+ en el punto B, lo que provoca la iniciación del potencial de acción en este sitio y una corriente adicional hacia el interior que otra vez se propaga en forma pasiva hasta un punto adyacente (punto C) más alejado a lo largo del axón. En un tiempo posterior ($t = 3$), el potencial de acción se propaga incluso más lejos. Este ciclo continúa a lo largo de todo el axón. Obsérvese que a medida que el potencial de acción se propaga, el potencial de membrana se repolariza a causa de la apertura de los canales de K^+ y a la inactivación de los canales de Na^+ , lo cual deja una "estela" de refractariedad por detrás del potencial de acción que impide su propagación retrógrada (panel 4). El panel final muestra el curso temporal de los cambios en el potencial de membrana en los puntos indicados.

dencias de voltaje de las conductancias iónicas— el potencial de acción es autosostenido o **regenerativo**. Esta cualidad regenerativa explica por qué los potenciales de acción muestran un comportamiento todo o nada (véase Figura 2.1) y por qué tienen un umbral (Recuadro 3B). La activación retardada de la conductancia al K^+ representa un circuito de retroalimentación negativo que finalmente restablece la membrana a su estado de reposo.

La reconstrucción que hicieron Hodgkin y Huxley del potencial de acción y de todas sus características muestra que las propiedades de las conductancias al Na^+ y al K^+ sensibles al voltaje, junto con las fuerzas impulsoras electroquímicas creadas por los transportadores iónicos, son suficientes para explicar los potenciales de acción. El empleo de métodos tanto empíricos como teóricos condujo a un nivel de rigor sin precedentes para un problema tan antiguo, y estableció un estándar de verificación pocas veces logrado en la investigación biológica.

Señalización a larga distancia por medio de los potenciales de acción

Los mecanismos de generación del potencial de acción dependiente de voltaje también explican la transmisión a larga distancia de estas señales eléctricas. Recuérdese del Capítulo 2 que las neuronas son relativamente malas conductoras pasivas de la electricidad, al menos en comparación con un cable. No obstante, los potenciales de acción pueden atravesar grandes distancias a pesar de las escasas propiedades pasivas. ¿Cómo ocurre? El mecanismo de propagación del potencial de acción es fácil de comprender una vez que se conoce el modo en que se generan los potenciales de acción y cómo la corriente fluye pasivamente a lo largo de un axón. Un estímulo despolarizante —por lo general, una señal sináptica o un potencial de receptor en una neurona intacta o un pulso de corriente inyectado en un experimento como el que se muestra en la Figura 3.10— despolariza localmente el axón, y abre así los canales del Na^+ sensibles al voltaje en esa región. La apertura de los canales del Na^+ produce un movimiento hacia el interior de Na^+ , y la despolarización resultante del potencial de membrana genera un potencial de acción en ese sitio. Algo de la corriente local generada por el potencial de acción fluirá entonces pasivamente por el axón, de la misma forma en que las corrientes subumbrales se propagan a lo largo de un axón (véase Figura 2.3). Obsérvese que este flujo pasivo de corriente no requiere el movimiento de Na^+ a lo largo del axón, sino que en cambio se produce por un traslado de carga, algo similar a lo que sucede cuando los cables conducen pasivamente electricidad por transmisión de la carga de electrones. Este flujo pasivo de corriente despolariza el potencial de membrana en la región adyacente del axón y abre así los canales del sodio en la membrana vecina. La despolarización local desencadena un potencial de acción en esta región, que se propaga entonces de nuevo en un ciclo continuo hasta que el potencial de acción alcanza el extremo axónico. Por lo tanto, la propagación del potencial de acción requiere la actividad coordinada de dos formas de flujo de corriente: el flujo pasivo de corriente

así como las corrientes activas que fluyen a través de los canales iónicos dependientes de voltaje. Las propiedades regenerativas de la apertura de los canales del Na^+ permiten que los potenciales de acción se propaguen a todo o nada al actuar como refuerzo en cada punto de la longitud del axón, con lo cual aseguran la transmisión a largas distancias de las señales eléctricas.

Recuérdese que los axones son refractarios después de un potencial de acción: la generación de un potencial de acción por un tiempo corto hace más difícil que el axón produzca potenciales de acción posteriores (véase Figura 3.8B). La refractariedad limita la cantidad de potenciales de acción que una neurona puede producir por unidad de tiempo, y los diferentes tipos de neuronas tienen distintas velocidades máximas de disparo del potencial de acción debido a diferentes tipos y densidades de canales iónicos. Como se describió en la sección anterior, el período refractario se origina porque la despolarización que produce la apertura de los canales del Na^+ también causa una activación retardada de los canales del K^+ e inactivación de los canales de Na^+ , lo que transitoriamente hace más difícil para el axón producir otro potencial de acción. Esta refractariedad también tiene importantes consecuencias para la conducción del potencial de acción a lo largo de los axones. A medida que el potencial de acción se desplaza a lo largo de un axón, en su camino deja inactivados los canales de Na^+ y activados los de K^+ por un breve período. La refractariedad resultante de la región de la membrana donde se ha generado un potencial de acción impide la reexcitación posterior de esta membrana a medida que se generan los potenciales de acción en regiones adyacentes del axón (véase Figura 3.10). Esta importante característica impide la propagación retrógrada del potencial de acción hacia su punto de iniciación a medida que viajan por el axón. Por lo tanto, el comportamiento refractario asegura la propagación polarizada de los potenciales de acción desde su punto habitual de iniciación cerca del cuerpo de la célula neuronal hacia las terminaciones sinápticas en el extremo distal del axón.

Aumento de la velocidad de conducción como resultado de la mielinización

Como consecuencia de su mecanismo de propagación, los potenciales de acción se producen cada vez más tarde a mayores distancias a lo largo del axón (Figura 3.10, abajo a la izquierda). Así, el potencial de acción tiene un ritmo mensurable de transmisión denominado **velocidad de conducción**, que es un parámetro importante porque define el tiempo necesario para que la información eléctrica viaje del extremo de una neurona a otra y, de ese modo, limite el flujo de información dentro del sistema nervioso. No es sorprendente entonces que se desarrollaran varios mecanismos para optimizar la propagación de los potenciales de acción a lo largo de los axones. Como la conducción del potencial de acción requiere el flujo pasivo y el flujo activo de corriente, la velocidad de propagación del potencial de acción es determinada por los dos fenómenos. Una forma de mejorar el

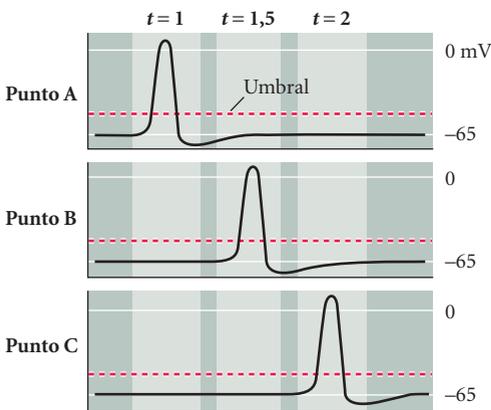
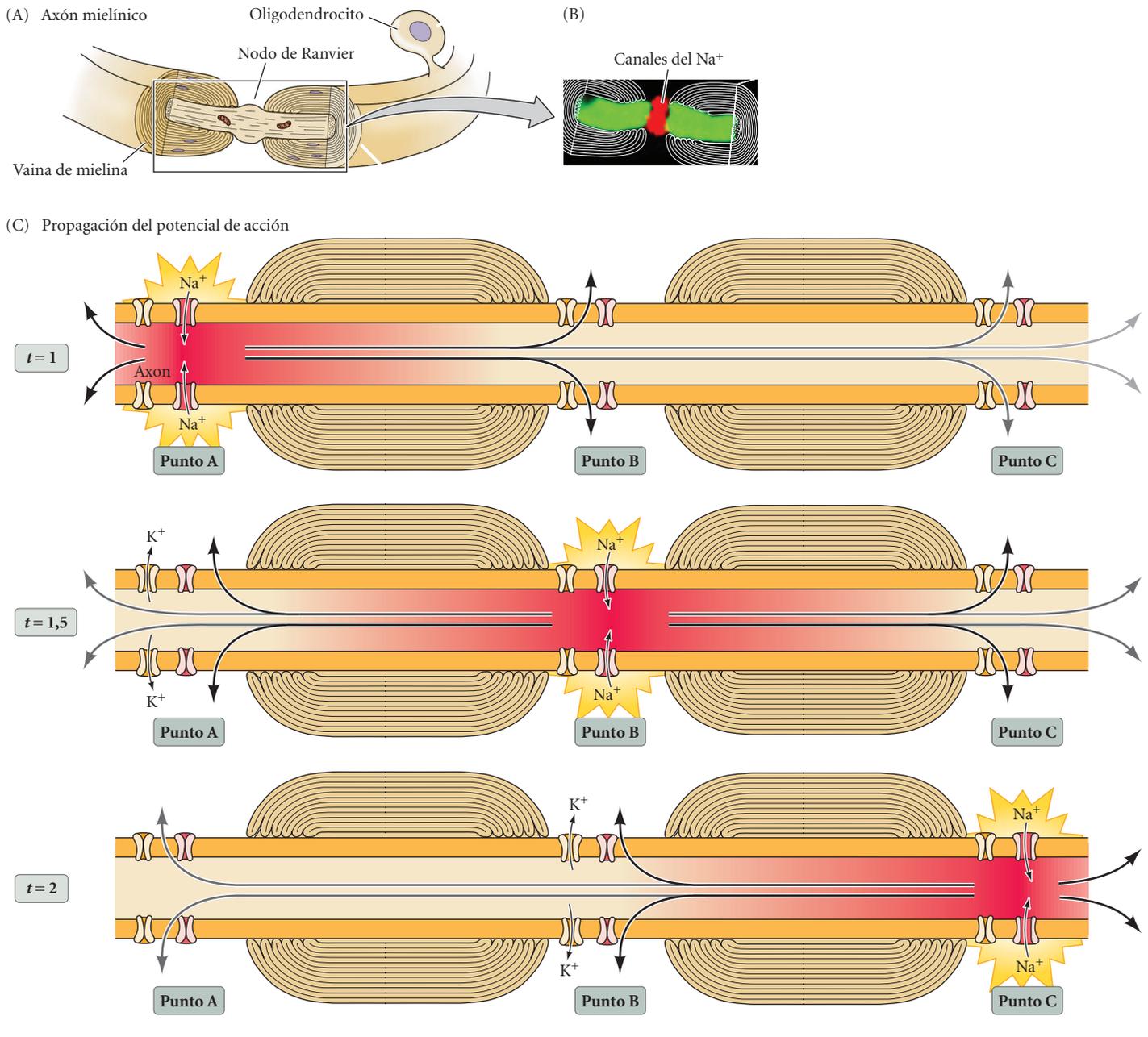


FIGURA 3.11 Conducción saltatoria del potencial de acción a lo largo de un axón miélnico.

(A) Diagrama de un axón miélnico. (B) Localización de los canales de Na con puerta de voltaje (rojo) en un nodo de Ranvier en un axón miélnico del nervio óptico. El verde indica la proteína Caspr, que se localiza adyacente al nodo de Ranvier. (C) La corriente local en respuesta a la iniciación del potencial de acción en un sitio particular fluye localmente, como se describe en la Figura 3.10. Sin embargo, la presencia de mielina impide que la corriente local escape a través de la membrana intermodal; por lo tanto, fluye más allá a lo largo del axón de lo que haría en ausencia de mielina. Más aún, los canales del Na⁺ con puerta de voltaje solo están presentes en los nodos de Ranvier (los canales del K⁺ con puerta de voltaje están presentes en los nodos de algunas neuronas, pero no en otras). Esta disposición indica que la generación de corrientes activas de Na⁺ con puerta de voltaje solo debe desarrollarse en estas regiones amielínicas. El resultado es un aumento muy grande de la velocidad de conducción del potencial de acción. El panel final representa el curso temporal de los cambios en el potencial de membrana en los puntos indicados. (B de Chen y cols., 2004.)

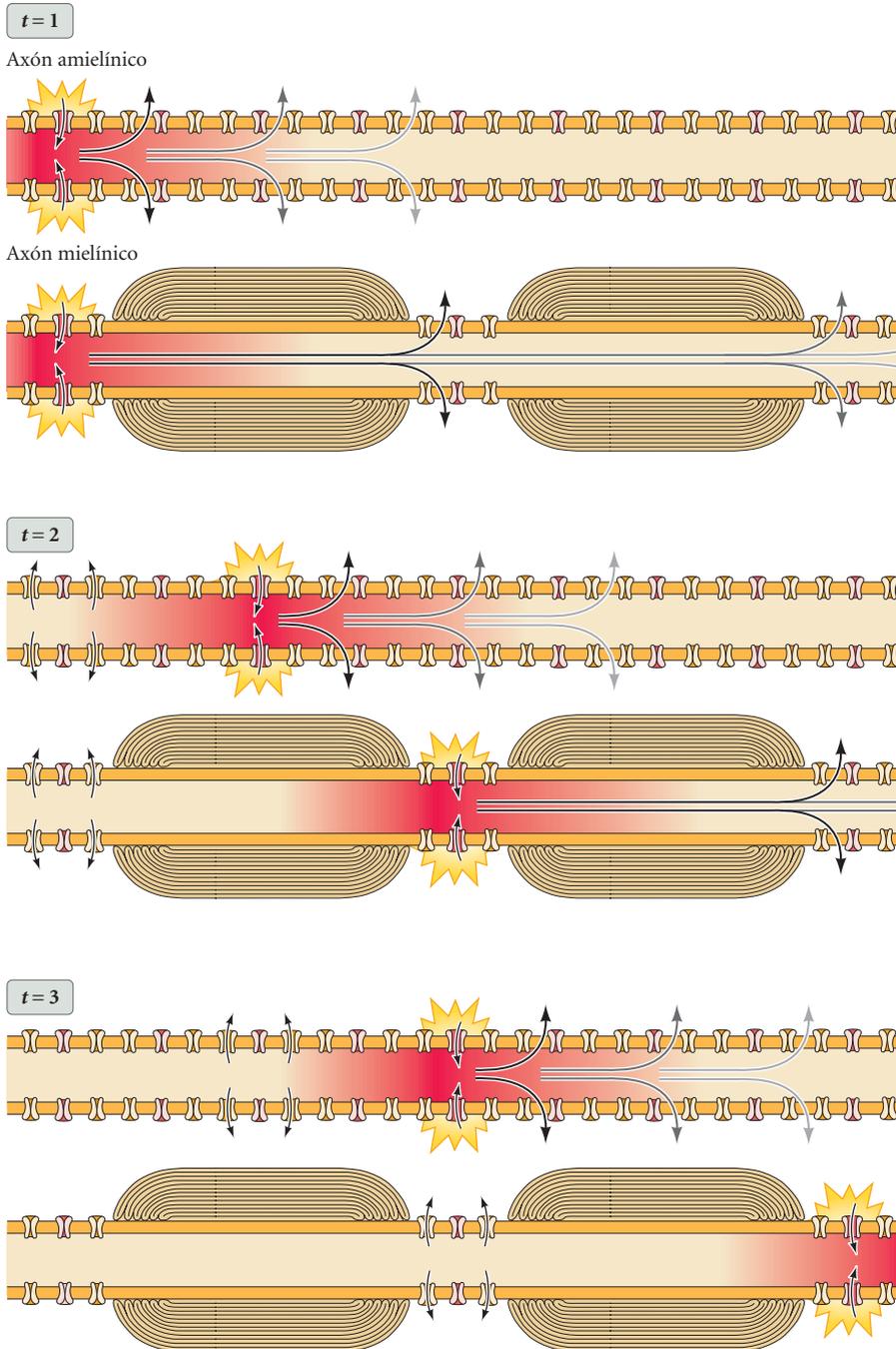


FIGURA 3.12 La mielina aumenta la velocidad de conducción del potencial de acción. El diagrama compara la velocidad de conducción del potencial de acción en axones amielínicos (panel superior de cada par) y mielínicos (paneles inferiores). Para aclarar, solo se muestra la conducción pasiva (flechas) para la dirección de propagación del potencial de acción.

flujo pasivo de corriente es aumentar el diámetro de un axón, lo que disminuye eficazmente la resistencia interna al flujo pasivo de corriente. Se presume que el aumento consiguiente en la velocidad de conducción del potencial de acción explica por qué los axones gigantes evolucionaron en vertebrados como el calamar y por qué los axones de conducción rápida en todos los animales tienden a ser más grandes que los de conducción lenta.

Otra estrategia para mejorar el flujo pasivo de corriente eléctrica es aislar la membrana axónica, lo que reduce la capacidad de la corriente para escapar del axón y aumenta así la distancia a lo largo del axón que puede fluir pasivamente una corriente local dada. Esta estrategia es evidente en la **mielinización** de los axones, proceso por el cual los oligodendrocitos en el sistema nervioso central (y las células de Schwann en el sistema nervioso periférico) envuelven el axón en **mielina**, que está formada por numerosas capas de membrana glial en íntima aposición (Figura 3.11A; véase también Capítulo 1). Al actuar como aislante eléctrico, la mielina acelera mucho la conducción del potencial de acción (Figura 3.12). Por ejemplo, mientras las velocidades de conducción de los axones amielínicos varían entre unos 0,5 y 10 m/s, los axones mielínicos pueden conducir a velocidades de hasta 150 metros por segundo. La razón principal subyacente a este incremento pronunciado de la velocidad es que el proceso prolongado de generación del potencial de acción se desarrolla solamente en puntos específicos a lo largo del axón, denominados **nodos de Ranvier**, donde existe una brecha en la envoltura de mielina (véase Figura 1.3G). Si se aislara toda la envoltura de un axón, no habría lugar para que la corriente fluyera fuera del axón y no podrían generarse los potenciales de acción. Por lo tanto, los canales de Na^+ con puerta de voltaje necesarios para los potenciales de acción se encuentran solo en estos nodos de Ranvier (Figura 3.11B). Un potencial de acción generado en un nodo de Ranvier produce una corriente que fluye pasivamente dentro del segmento mielínico hasta que se alcanza el siguiente nodo. Este flujo local de corriente genera entonces un potencial de acción en el segmento vecino, y el ciclo se repite a lo largo del axón. Dado que la corriente fluye a través de la membrana neuronal solo en los nodos (Figura 3.11C), este tipo de propagación se denomina **saltatoria**, lo que indica que el potencial de acción salta de nodo a nodo. No

es sorprendente que la pérdida de mielina, como se observa en enfermedades como la esclerosis múltiple, produzca distintos problemas neurológicos graves (Recuadro 3C).

Resumen

El potencial de acción y todas sus propiedades complejas pueden explicarse por cambios dependientes del tiempo y del vol-
ta-

RECUADRO 3C Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad del sistema nervioso central caracterizada por distintos problemas clínicos que surgen por la desmielinización y la inflamación a lo largo de las vías axónicas. En general, el trastorno comienza entre los 20 y los 40 años; se caracteriza por el inicio brusco de déficits neurológicos que en los casos típicos persisten durante días o semanas y luego remiten. El curso clínico varía desde los pacientes que no tienen ninguna pérdida neurológica persistente, algunos de los cuales experimentan solo exacerbaciones ocasionales con ulterioridad, hasta otros que se deterioran en forma progresiva como resultado de la afectación extensa e incesante del sistema nervioso central.

Los signos y síntomas de la EM están determinados por la localización de las regiones afectadas. Son en particular frecuentes la ceguera monocular (debida a lesiones del nervio óptico), la debilidad motora o la parálisis (debidas a lesiones de los tractos corticoespinales), sensaciones somáticas anormales (debidas a lesiones de las vías somatosensitivas, a menudo en los cordones posteriores), diplopía (debida a lesiones del fascículo longitudinal medial) y mareos (por lesiones de las vías vestibulares). A menudo se presentan anomalías en el líquido cefalorraquídeo, que suele contener una cantidad anormal de células asociada con inflamación y un aumento del contenido de anticuerpos (signo de una respuesta inmunitaria alterada). El diagnóstico de EM es difícil y generalmente se basa en la presencia de un problema neurológico que remite y luego retorna en un sitio no relacionado. A veces, la confirmación puede obtenerse mediante una resonancia magnética (RM) o por la evidencia funcional de lesiones en una vía particular en los potenciales evocados anormales. El distintivo histológico de la EM en el examen post mortem son las numerosas lesiones en diferentes sitios que muestran pérdida de mielina asociada con infiltración de células inflamatorias y, en algunos casos, pérdida de los propios axones.

El concepto de EM como enfermedad desmielinizante está profundamente introducido en la literatura clínica, aunque no se sabe con precisión de qué modo la

desmielinización se traduce en déficits funcionales. Es indudable que la pérdida de la vaina de mielina que rodea muchos axones compromete la conducción de los potenciales de acción, y los patrones anormales de conducción nerviosa que presumiblemente aparecen producen la mayor parte de los déficits clínicos en la enfermedad. Sin embargo, la EM puede tener efectos que se extienden más allá de la pérdida de la vaina de mielina. Está claro que algunos axones en realidad están destruidos, quizá como resultado de procesos inflamatorios en la mielina suprayacente, pérdida de apoyo trófico del axón por los oligodendrocitos o ambos. Por lo tanto, la pérdida axónica también contribuye a los déficits funcionales en la EM, en especial en las formas progresivas y crónicas de la enfermedad.

La causa final de la EM aún está poco clara. Es indudable que el sistema inmunitario contribuye con el daño y las nuevas terapias inmunorreguladoras proporcionan beneficios sustanciales a muchos pacientes. No se sabe con precisión de qué modo el sistema inmunitario se activa para producir la lesión. La hipótesis más popular es que la EM es una enfermedad autoinmunitaria (esto es, una enfermedad en la que el sistema inmunitario ataca los propios componentes del cuerpo). La posibilidad de que la inmunización de animales de experimentación con cualquiera de varios componentes moleculares de la vaina de mielina induzca una enfermedad desmielinizante (llamada encefalomiелitis alérgica experimental) muestra que un ataque autoinmunitario sobre la membrana de la mielina es suficiente como para producir un cuadro similar a la EM. Las pruebas muy recientes sugieren que una diana importante del ataque autoinmunitario es la contactina-2, una proteína que se encuentra en la glía y los axones en el nodo de Ranvier. Una explicación posible de la enfermedad humana es que un individuo con susceptibilidad genética se infecta transitoriamente (p. ej., por una enfermedad viral menor) por un microorganismo que expresa una molécula estructuralmente similar a la contactina-2 o a algún otro componente de la mielina. Se crea una respuesta inmunitaria a este antígeno para atacar

al invasor, pero la incapacidad del sistema inmunitario a la hora de discriminar entre la proteína extraña y la propia conduce a la destrucción de la mielina por otra parte normal, un escenario que se observa en ratones infectados por el virus de Theiler.

Una hipótesis alternativa es que la EM está causada por una infección persistente por un virus u otro microorganismo. Bajo esta interpretación, los esfuerzos en curso del sistema inmunitario para desembarazarse del patógeno producen el daño de la mielina. La paraparesia espástica tropical proporciona un precedente para esta idea. Este trastorno es una enfermedad caracterizada por la progresión gradual de debilidad de las piernas y deterioro del control de la función vesical asociados con hiperreflexia osteotendinosa y signo de Babinski positivo (véase Figura 17.16). Este cuadro clínico es similar al de la EM rápidamente evolutiva y se sabe que la paraparesia espástica tropical se produce por la infección persistente por un retrovirus (virus linfocitotrópico T humano-1). No obstante este precedente, la hipótesis de la infección viral persistente para la EM requiere una demostración clara de la presencia de un virus. A pesar de las comunicaciones periódicas de un virus asociado con EM, aún no hay evidencia convincente. En resumen, a pesar de los beneficios para algunos pacientes de las terapias inmunomoduladoras, el diagnóstico y el tratamiento de la esclerosis múltiple todavía representan un desafío clínico desalentador.

Bibliografía

- Bhat, R. and L. Steinman (2009) Innate and adaptive autoimmunity directed to the central nervous system. *Neuron* 64: 123-132.
- Derfuss T, and 18 others. (2009) Contactin-2/ TAG-1-directed autoimmunity is identified in multiple sclerosis patients and mediates gray matter pathology in animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 8302-8307.
- Ransohoff, R. M. (2007) Natalizumab for multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 356: 2622-2629.
- Waxman, S. G. (2006) Ions, energy, and axonal injury: Towards a molecular neurology of multiple sclerosis. *Trends Mol. Med.* 12: 192-195.
- Zanvil, S. S. and L. Steinman (2003) Diverse targets for intervention during inflammatory and neurodegenerative phases of multiple sclerosis. *Neuron* 38: 685-688.

je en las permeabilidades al Na^+ y al K^+ de las membranas neuronales. Esta conclusión deriva fundamentalmente de las pruebas obtenidas mediante un dispositivo denominado pinzamiento de voltaje. Esta técnica es un método de retroalimentación electrónica que permite el control del potencial de membrana neuronal y, simultáneamente, la medición directa de los flujos de Na^+ y de K^+ dependientes de voltaje que producen el potencial de acción. Los experimentos de pinzamiento de voltaje muestran que una elevación transitoria en la conductancia al Na^+ se activa con rapidez y luego se inactiva durante la despolarización sostenida del potencial de membrana. Estos experimentos también demuestran una elevación en la conductancia al K^+ que se activa de forma tardía y, al contrario de la conductancia al Na^+ , no se inactiva. Los modelos matemáticos de las propiedades de estas conductancias indican que ellos solos son responsables de la producción de potenciales de acción todo o nada en el axón del calamar. Los potenciales de acción se propagan a lo largo de los axones de las células nerviosas iniciados por el gradiente de voltaje entre las regiones activas e inactivas del axón en virtud del flujo local de corriente. De esta forma, los potenciales de acción compensan las propiedades eléctricas pasivas relativamente malas de las células nerviosas y permiten el señalamiento neural en largas distancias. Estos hallazgos electrofisiológicos clásicos proporcionan una base sólida para considerar las variaciones funcionales y finalmente moleculares del señalamiento neural que se analizan en el capítulo siguiente.

Lecturas adicionales

Revisiones

Armstrong, C. M. and B. Hille (1998) Voltage-gated ion channels and electrical excitability. *Neuron* 20: 371-380.

Salzer, J. L. (2003) Polarized domains of myelinated axons. *Neuron* 40: 297-318.

Artículos originales importantes

Armstrong, C. M. and L. Binstock (1965) Anomalous rectification in the squid giant axon injected with tetraethylammonium chloride. *J. Gen. Physiol.* 48: 859-872.

Chen, C. and 17 others (2004) Mice lacking sodium channel beta1 subunits display defects in neuronal excitability, sodium channel expression, and nodal architecture. *J. Neurosci.* 24: 4030-4042.

Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952a) Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 449-472.

Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952b) The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 473-496.

Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952c) The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 497-506.

Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952d) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 116: 507-544.

Hodgkin, A. L., A. F. Huxley and B. Katz (1952) Measurements of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 424-448.

Hodgkin, A. L. and W. A. H. Rushton (1938) The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proc. R. Soc. Lond.* 133: 444-479.

Moore, J. W., M. P. Blaustein, N. C. Anderson and T. Narahashi (1967) Basis of tetrodotoxin's selectivity in blockage of squid axons. *J. Gen. Physiol.* 50: 1401-1411.

Libros

Aidley, D. J. and P. R. Stanfield (1996) *Ion Channels: Molecules in Action*. Cambridge: Cambridge University Press.

Hille, B. (2001) *Ion Channels of Excitable Membranes*, 3rd Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Johnston, D. and S. M.-S. Wu (1995) *Foundations of Cellular Neurophysiology*. Cambridge, MA: MIT Press.

Junge, D. (1992) *Nerve and Muscle Excitation*, 3rd Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Matthews, G. G. (2003) *Cellular Physiology of Nerve and Muscle*, 4th Ed. Maiden, MA: Blackwell Publishing.

