

Universidad Central de Venezuela

Facultad de Ciencias

Escuela de Química



**MODELO FISCOQUÍMICO EN DOS DIMENSIONES DE LA DIFUSIÓN
DEL IÓN Ca^{2+} EN UN MIOCITO ESQUELÉTICO.**

Trabajo Especial de Grado
presentado ante la ilustre
Universidad Central de
Venezuela, por el Br. Juan
Carlos A. Ugas Rojas, para
optar al título de Licenciado
en Química.

Caracas, Octubre de 2010

ACTA VEREDICTO

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: **“MODELO FISCOQUÍMICO EN DOS DIMENSIONES DE LA DIFUSIÓN DEL IÓN Ca^{2+} EN UN MIOCITO ESQUELÉTICO”**. Presentado por el Br. Juan Carlos Agustín Ugas Rojas, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Prof. Edgardo Leal
Tutor

Prof. Antonio D' Alessandro M.
Tutor Director

Prof. Emilio Esquitieri
Miembro del Jurado

Profa. Miriam Rivas
Miembro del Jurado

Nosotros, Profesor Edgardo Leal, Investigador a dedicación exclusiva en el Área de fisicoquímica y resonancia magnética en la Escuela de Química, Universidad Central de Venezuela y el Profesor Antonio D' Alessandro Martínez, docente a tiempo completo e Investigador del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Cátedra de Fisiología, Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

Certificamos que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**MODELO FISICOQUÍMICO EN DOS DIMENSIONES DE LA DIFUSIÓN
DEL IÓN Ca^{2+} EN UN MIOCITO ESQUELÉTICO.**

Que presenta el Br. Juan Calos Agustín Ugas Rojas, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo nuestra dirección, durante el año 2010, y con esta fecha autorizamos su presentación.

Caracas, Octubre de 2010

Prof. Edgardo Leal
Tutor

Prof. Antonio D' Alessandro M.
Tutor

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de grado, si bien ha requerido de esfuerzo y mucha dedicación por parte del autor y sus tutores, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaré y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos de angustia y desesperación.

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis Madres Marisol Rojas y Rosaura Rojas, por ser mí soporte y guía en los momentos más difíciles.

A mi hijo Juan Carlos, por existir, por ser mi luz e inspiración.

A Mi hermano Jesús Ugas, a mis primas Aura y María, a mi sobrina Milanger, personas que desde siempre me brindaron y me brindan todo el apoyo, colaboración y cariño sin ningún interés.

De igual manera mi más sincero agradecimiento a mis tutores el Prof. Antonio D' Alessandro Martínez y al Prof. Edgardo Leal, por su gran desempeño y colaboración con mi persona, para que este trabajo pudiera culminarse exitosamente.

A todos... Muchas Gracias.

INDICE GENERAL

	Pág
RESÚMEN	
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	5
2. La Célula, membrana celular y retículo sarcoplasmático (RS).....	6
2.1. Músculo esquelético.....	9
2.2.El tejido muscular.....	9
2.3. Características morfológicas de la célula muscular.....	11
2.4. Composición histológica del músculo.....	13
2.5. Sarcómero y contracción muscular.....	14
2.6. Excitación y Contracción	15
2.7. Relajación Muscular.....	17
2.8. Túbulos T (TT) y Tríadas.....	18
2.9. Canales de Calcio.....	19
2.9.1. Canales de Calcio voltaje dependientes.....	19
2.9.2. Estructura de los canales de Calcio voltaje dependientes.....	20
2.9.3. Clasificación de los canales de Calcio voltaje dependientes.....	21
2.9.4. Canales de calcio tipo L.....	22
2.9.5. Canales receptores ligando dependientes o ROC.....	23

2.9.6. Canales de goteo.....	23
2.9.7 .Canales receptores de Dihidropiridina (DHPR) y Rianodina (RyR).....	24
2.9.8. Canales “sensor voltaje”. Mecanismo predominante en el musculo esquelético.....	25
2.10. Bombas de calcio.....	26
2.11 Regulación intracelular de Ca^{2+}	33
2.12 Calcio intracelular.....	38
2.13 Mecanismos de entrada del Ca^{2+} hacia el citoplasma (ON).....	41
2.14 Células no excitables.....	41
2.15 Células excitables.....	42
2.16 Receptores de rianodina.....	43
2.17 Amortiguadores y sensores de Ca^{2+} intracelular.....	44
2.18 Relajación y amortiguadores de Calcio (Parvoalbúmina).....	46
2.19 Mecanismos de extrusión del Ca^{2+} citoplasmático (OFF).....	48
2.20 Las Ca^{2+} -ATPasas	48
2.21 El intercambiador Na^+/Ca^{2+} de la membrana plasmática.....	50
2.22 Técnicas experimentales para la determinación del calcio.....	53
 CAPITULO III. MODELOS MATEMÁTICOS.....	57
3. Modelos matemáticos. Método de elementos finitos.....	58

3.1 Descripción del Método de los Elementos Finitos (MEF).....	60
3.2 Relaciones de esfuerzo – deformación	63
3.3 Grados de libertad, desplazamiento nodal y Funciones de forma.....	67
3.4 Energía Potencial Π : modelo continuo.....	69
3.5 Energía Potencial Π : modelo discreto.....	70
3.6 Método de Galerkin.....	71
3.7 ¿Cómo trabaja el MEF en la práctica?.....	76
3.8 Preproceso.....	76
3.8.1 Preproceso y generación de la malla.....	76
3.9 Cálculo.....	78
3.9.1 Cálculo y resolución de sistemas de ecuaciones.....	78
3.10 Postproceso.....	78
3.10.1 Postproceso.....	79
3.11 Limitaciones.....	79
CAPITULO IV. DIFUSIÓN QUÍMICA.....	81
4. Difusión química.....	82
4.1 Ecuación Difusión-Reacción.....	83
4.2 Cinética de buffer lento.....	87

4.3 Cinética de buffer rápido.....	88
------------------------------------	----

CAPITULO V. MODELO COMPUTACIONAL.....93

5. COMSOL 3.4. Descripción y Características.....	94
---	----

5.1 Áreas de aplicación de COMSOL 3.4.....	95
--	----

5.3 Justificación del modelo.....	96
-----------------------------------	----

5.4 Antecedentes.....	97
-----------------------	----

CAPITULO VI. METODOLOGÍA.....99

6. Analogías fisiológicas con respecto al modelo.....	100
---	-----

6.1 Modelo geométrico bidimensional.....	101
--	-----

6.2 Condiciones de Contorno, dimensiones y coordenadas de medición. (j= flujo).....	102
--	-----

6.3 Instalación de COMSOL multiphysics 3.4.....	103
---	-----

6.4 Características del computador utilizado.....	103
---	-----

6.5 Preproceso.....	103
---------------------	-----

6.5.1 Ajuste de dimensiones y modos de aplicación.....	104
--	-----

6.5.2 Ajustes de ejes.....	105
----------------------------	-----

6.5.4 Espaciado de rejilla manual.....	106
--	-----

6.5.5	Controlar la apariencia de la rejilla.....	107
6.5.6	Modo Dibujo.....	108
6.5.7	Generación y visualización de mallas.....	109
6.5.8	Condiciones iniciales de subdominios y contorno.....	111
6.5.9	Configuración del subdomino.....	111
6.5.10	Elemento Shlag (2',c') (interpolación por polinomio de lagrange).....	114
6.5.11	Restricciones Ideales y no ideales.....	114
6.5.12	Configuración del contorno.....	115
6.5.13	Establecer condiciones de límites.....	116
6.5.13	Las condiciones de contorno.....	117
6.5.14	Modificar la configuración de límites para el sistema de ecuaciones.....	118
6.5.15	Configuración de condiciones sobre los límites interiores.....	118
6.5.16	Aplicaciones y condiciones de la interfaz.....	118
6.5.17	Constantes.....	122
6.5.18	Adición de constantes.....	122
6.5.21	Expresiones. Variables de expresión.....	123
6.5.22	Guardar y cargar variables de expresiones globales y Variables de expresiones escalares.....	124

6.6 Cálculo.....	130
6.6.1 Seleccionar un tipo de análisis.....	131
6.6.2 Seleccionar el tipo de análisis en el modelo de navegación.....	131
6.6.3 UMFPACK (Unsymmetric MultiFrontal method).....	133
6.6.3.1 Características del método frontal.....	133
6.6.3.2 Pasos método frontal.....	135
6.6.3.3 Método multifrontal.....	135
6.6.4 Euler Hacia atrás.....	139
6.7 Postproceso.....	141
6.7.1 Especificación de la línea de corte transversal o propiedades de gráfico de extrusión.....	142
6.7.2 Configuración en el área de datos del eje y determinación de la cantidad para mostrar en ese eje.....	143
6.7.3 Gráfico 2D de corte transversal de puntos.....	144
6.7.4 Gráficos 2D de superficie de dominio.....	145
6.7.5 Gráficos 2D de línea/extrusión de dominio.....	146
6.7.6 Grafico 2D para dominio en puntos.....	147

CAPITULO VII. RESULTADOS Y DISCUSION “IN SILICO”	149
7.1 DIFUSIÓN-REACCIÓN.PARA R=0. (PRUEBA DE SOFTWARE) CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.....	150
7.2 DIFUSIÓN-REACCIÓN. 1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO, 2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA. 3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMINOS. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.....	153
7.3 DIFUSIÓN-REACCIÓN. 1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL SARCOLEMA (PMCA), 2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA DEL (PMCA). 3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMI- NOS. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.....	159
7.4 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE UN (1) CANAL RECEPTOR DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).....	165
7.5 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE DOS (2) CANALES RECEPTORES DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).....	169
7.6 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE TRES (3) CANALES RECEPTORES DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).....	173
7.7 DIFUSIÓN-REACCIÓN. INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO (SERCA) A SU MAXIMA CAPACIDAD. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.....	177

7.8 DIFUSIÓN-REACCIÓN. INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL SARCOLEMA (PMCA) A SU MAXIMA CAPACIDAD. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.....	182
--	-----

CAPITULO VIII. DATA COMPARATIVA.....186

8. Data comparativa de la comunidad científica con respecto a este modelo....	187
---	-----

8.1 El lenguaje del calcio.....	187
---------------------------------	-----

8.2 Amplitude Distribution of Calcium Sparks in Confocal Images: Theory and Studies with an Automatic Detection Method.....	189
---	-----

8.3 Novel approach to real-time flash photolysis and confocal $[Ca^{2+}]$ imaging.....	191
--	-----

CAPÍTULO IX. CONCLUSIONES.....194

CAPÍTULO X. ANEXOS.....200

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	231
---------------------------------	-----

ÍNDICE DE FIGURAS.....	242
------------------------	-----

ÍNDICE DE TABLAS.....	251
-----------------------	-----

GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	252
---------------------------	-----

Resumen

Cuando una célula de músculo esquelético (ME) está expuesta a un determinado estímulo externo (físico, químico o eléctrico) ocurre a una elevación transitoria del nivel de Ca^{2+} en el citosol y ello origina el acortamiento de la célula contráctil y luego, la recaptación del ión produce la relajación celular. Diversos mecanismos participan en el proceso: canales de calcio dependientes de voltaje (canales de dihidropiridina, DHPR) que permiten la entrada de calcio extracelular cuando se produce despolarización del sarcolema (SL), canales del tipo “sensor voltaje”, canales de Ryanodina (RyR) ubicados en la membrana del retículo sarcoplásmico (RS) que liberan Ca^{2+} hacia el citosol por diversos mecanismos, proteínas buffers que se unen al calcio quelándolo transitoriamente y haciendo su difusión más lenta, bombas que sacan Ca^{2+} del citosol, bien hacia depósitos intracelulares como el RS (SERCA) o hacia el medio extracelular (PMCA), intercambiadores del SL y de la membrana mitocondrial, entre otros. El RS es el principal almacén de calcio intracelular en el músculo estriado y participa de forma determinante en la regulación del proceso acoplamiento-excitación-contracción (AEC), regulando las concentraciones intracelulares de calcio durante la contracción y la relajación muscular. En este trabajo se modeló la dinámica correspondiente a la evolución de la concentración $c(x,y,t)$ del ión calcio en el espacio confinado que existe entre las membranas del RS y el sarcolema (“junctional space”, “cleft space”) de una célula de músculo esquelético, el modelaje se hizo en dos dimensiones y se fundamentó en la ecuación de difusión-reacción (D-R) considerando diversas fuentes (liberación impulsiva a través de pocos receptores de RyR y flujos de fuga compensatorios) y sumideros (SERCA, PMCA) y la amortiguación del Ca^{2+} por la parvoalbúmina. Al resolver numéricamente (ya que no tiene solución analítica) la ecuación de D-R (a la cual se le impuso la condición de borde homogénea de Neumann) mediante el paquete computacional COMSOL Multiphysics3.4 ® basado en Elementos Finitos se obtuvo la $c(x,y,t)$ en función de la posición para diversos instantes

de tiempo y $c(x,y,t)$ en función del tiempo para diversas locaciones del dominio, con liberaciones simultáneas o no de tres receptores de RyR .

palabras claves: músculo esquelético, miocito, ión calcio, difusión-reacción, elementos finitos, COMSOL, receptores de RyR.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

Capítulo I: Introducción.

Cuando se hace referencia al calcio surge de inmediato su relación con los dientes y los huesos. También es posible que se le relacione con el potencial de acción cardíaco o con las acciones de la vitamina D, la calcitonina y la hormona paratiroidea. Sin embargo, el ión Ca^{2+} tiene una función bioquímica mucho más sutil que está relacionada con la activación intracelular de diferentes procesos. En este caso, la llegada a la célula de un determinado estímulo externo (físico, químico o eléctrico) da lugar a una elevación temporal del nivel de Ca^{2+} en el citoplasma (señal de Ca^{2+}) y eso origina una respuesta en el interior de la célula. Se dice que el Ca^{2+} tiene una función como regulador intracelular. El mecanismo de la contracción muscular ilustra esta importante función del ion Ca^{2+} [1].

Desde que se demostró en 1883 la necesidad del Ca^{2+} para la función cardíaca (descubriendo el primer mensajero intracelular conocido) hasta hoy, se ha visto que tanto las células procariontas como las eucariotas usan este catión como mensajero intracelular. En general las células mantienen concentraciones intracelulares bajas de Ca^{2+} , un prerequisite para que este ión pueda actuar como mensajero intracelular. Además las bombas y proteínas efectoras de calcio de procariontas y levaduras son muy similares a las que hay en las células de los vertebrados, mostrando lo ancestral de la señalización por calcio en la historia de la vida [2].

En muchos casos, la concentración de Ca^{2+} en el citosol muscular se controla usando como fuente principal de Ca^{2+} el medio extracelular. En otros casos, no se requiere ión Calcio extracelular. Así, la célula controla la concentración del ión calcio por medio de la creación de una compleja maquinaria que le permite regular con mucha precisión los niveles de calcio iónico intracelular [2].

Estos mecanismos pueden ser tan variados como proteínas que se unen al calcio quelándolo, bombas que sacan Ca^{2+} del citosol, bien hacia depósitos intracelulares (el retículo endoplasmático) o hacia el medio extracelular, por ejemplo, el intercambiador Na^+ - Ca^{2+} que normalmente extrae Ca^{2+} hacia el medio extracelular e ingresa Na^+ o viceversa, dependiendo del potencial de membrana; los receptores de Inositol 3-fosfato (IP_3) y rianodina RyR que movilizan calcio de los depósitos intracelulares (retículo sarcoplásmico), los canales de calcio dependientes de voltaje que permiten la entrada de calcio extracelular cuando se produce despolarización de la membrana, o los canales que se activan con la despolarización de la membrana “Sensor Voltaje” y por acople mecánico abren los canales de RyR e IP_3 ^[3].

El retículo sarcoplásmico (RS) es el principal almacén de calcio intracelular en el músculo estriado y participa de forma importante en la regulación del proceso acoplamiento-excitación-contracción (AEC) en el músculo esquelético y cardíaco, regulando las concentraciones intracelulares de calcio durante la contracción y la relajación muscular^[3].

Varios fenómenos en biología celular presentan un comportamiento muy complejo, cuya comprensión exige un esfuerzo de especialistas de diferentes áreas. De hecho, en los últimos años, varias herramientas matemáticas y métodos habitualmente utilizados en la física teórica, con énfasis en los métodos computacionales, han mostrado ser muy eficientes en este sentido, ya sea aumentando la comprensión teórica de los fenómenos biológicos, o aún sugiriendo nuevos experimentos^[4, 5, 6].

Un interesante ejemplo del trabajo interdisciplinario es el intento por comprender la dinámica del calcio en el interior de las células. El calcio participa como regulador en múltiples funciones celulares, como la plasticidad sináptica, la expresión génica y la muerte de las células. Para coordinar tal variedad de funciones en las células el ión calcio necesita estar muy bien controlado, tanto en el tiempo como en el espacio.

Dentro de las células el calcio es liberado por los canales de calcio, que se abren y se cierran en forma estocástica, cooperativa y no lineal [4, 5,6].

Con el objeto de modelar la dinámica correspondiente a la evolución de la concentración del ión calcio en el citosol en una célula de músculo esquelético, se desarrollará un modelo matemático en dos dimensiones, basado en ecuaciones en derivadas parciales (EDP) obtenidas a partir de leyes físico-químicas (ecuación de difusión-reacción) que permitirá representar la dinámica de la evolución de la concentración del ión calcio en el citosol en una célula de músculo esquelético; la misma puede ser resuelta a través de diversos métodos numéricos, por ejemplo, basados en elementos finitos y diferencias finitas (métodos explícitos e implícitos). Las células de músculo esquelético presentan una geometría más ordenada que la correspondiente a células cardíacas, lo cual conlleva a modelos más sencillos.

Como objetivos de este trabajo, nos planteamos los siguientes:

- 1-** Elaborar un modelo geométrico en dos dimensiones considerando diversas fuentes y sumideros.
- 2-** Elaborar un modelo físico-químico en dos dimensiones de la dinámica del ión Ca^{+2} libre, en el citosol de un miocito esquelético; considerando su amortiguación por una única proteína (Parvoalbúmina)
- 3-** Resolver la ecuación en derivadas parciales, usando COMSOL 3.4 ®, que es un paquete computacional basado en elementos finitos.
- 4-** Realizar diversos experimentos computacionales” in silico”.
- 5-** Discutir y comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los resultados experimentales publicados por la comunidad científica.

CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPITULO II. Revisión Bibliográfica.

2. La Célula, membrana celular y retículo sarcoplasmático (RS)

La unidad funcional mas pequeña que sustenta la vida es la célula (Figura 1), existen muchos tipos de células, todas ellas con diferencias microscópicas pero tienen en común ciertos rasgos estructurales. En el hombre existen más de 100 tipos de células diferentes, cada una cumpliendo funciones distintas. ^[7]

La célula puede ser dividida en dos partes importantes; el núcleo (también llamado nucleoplasma) y el citoplasma, que es todo lo que rodea al núcleo, en ambos compartimientos se encuentran un conjunto de componentes celulares que pueden ser clasificados como organelos e inclusiones dependiendo del rol que desempeñan. ^[7]

Los organelos son estructuras que se consideran metabólicamente activas y que realizan funciones esenciales específicas, las inclusiones por el contrario se consideran como acúmulos metabólicamente inertes y se toman como componentes no indispensables y muchas veces transitorios. Se puede encontrar una tercera categoría denominada componentes citoesqueléticos (microfilamentos, filamentos intermedios y túbulos). ^[7]

Los organelos celulares y las inclusiones están suspendidas en la matriz citoplasmática, que está formada por una fase líquida (citosol) que ocupa los intersticios de una red compleja tridimensional de componentes fibrilares que forman el citoesqueleto. ^[7] Cada organelo de la célula está limitado por una fina membrana de fosfolípidos y proteínas que a menudo tiene una estructura interna compleja. ^[7]

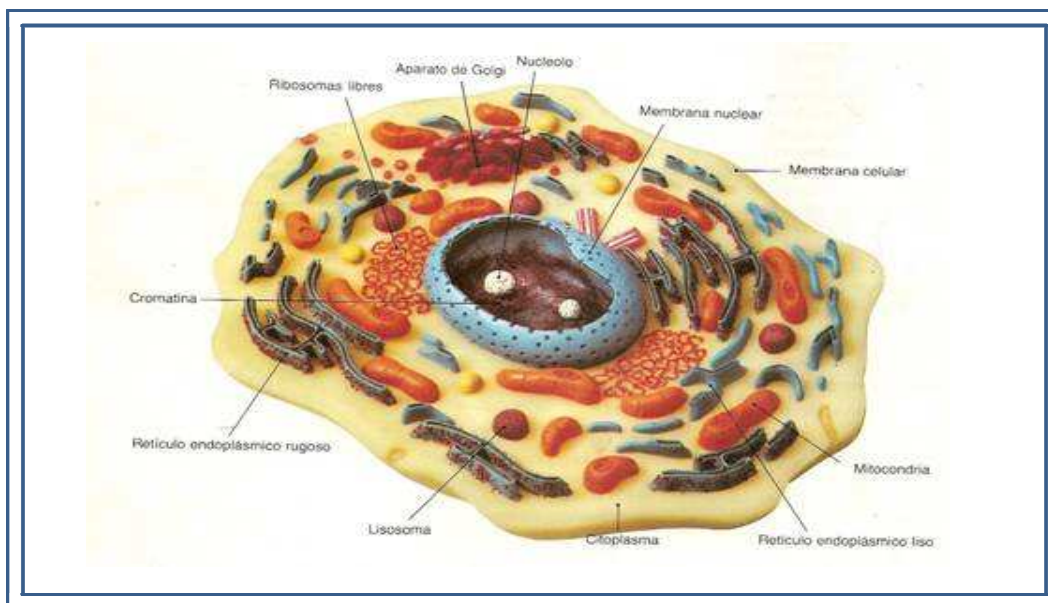


Figura 1: Representación de una célula y sus elementos. FUENTE: [www.utchvirtual.net/ .../ imagenes/celvegetal1.jpg/](http://www.utchvirtual.net/.../imagenes/celvegetal1.jpg/)

La membrana celular es el límite externo de la célula (Figura 2), también llamado plasmalema (en las células musculares se denomina sarcolema). Tiene una organización molecular compleja y es capaz de llevar a cabo múltiples funciones entre las cuales está la regulación del movimiento de iones, macromoléculas y gases hacia dentro y fuera de ella; posee dispositivos para la unión y comunicación intercelular, bombas de iones, moléculas transportadoras e intercambiadoras, para regular el ambiente interno de la célula, receptores de hormonas y mecanismos para producir moléculas mensajeras que activan respuestas fisiológicas a determinados estímulos. [7].

Está constituida por una capa bimolecular de fosfolípidos mixtos, orientados con sus extremos hidrofílicos hacia la superficie externa, en contacto con el fluido extracelular y sus cadenas hidrofóbicas se ubican hacia el interior de la doble capa [7].

Gran parte de los procesos fisiológicos de las células se llevan a cabo en las superficies membranosas e interfases, una parte de las moléculas con actividad enzimática (que

catalizan las reacciones químicas) se ubican en la superficie de la membrana celular (que separa a la célula del entorno) o en las membranas internas (que separan los organelos del citoplasma). Esta compartimentación celular es de suma importancia para la vida celular, las membranas mantienen separados a enzimas y sustratos en un determinado momento, permite su interacción controlada debido a la permeabilidad de la membrana y a la velocidad de transporte a través de esta ^[7].

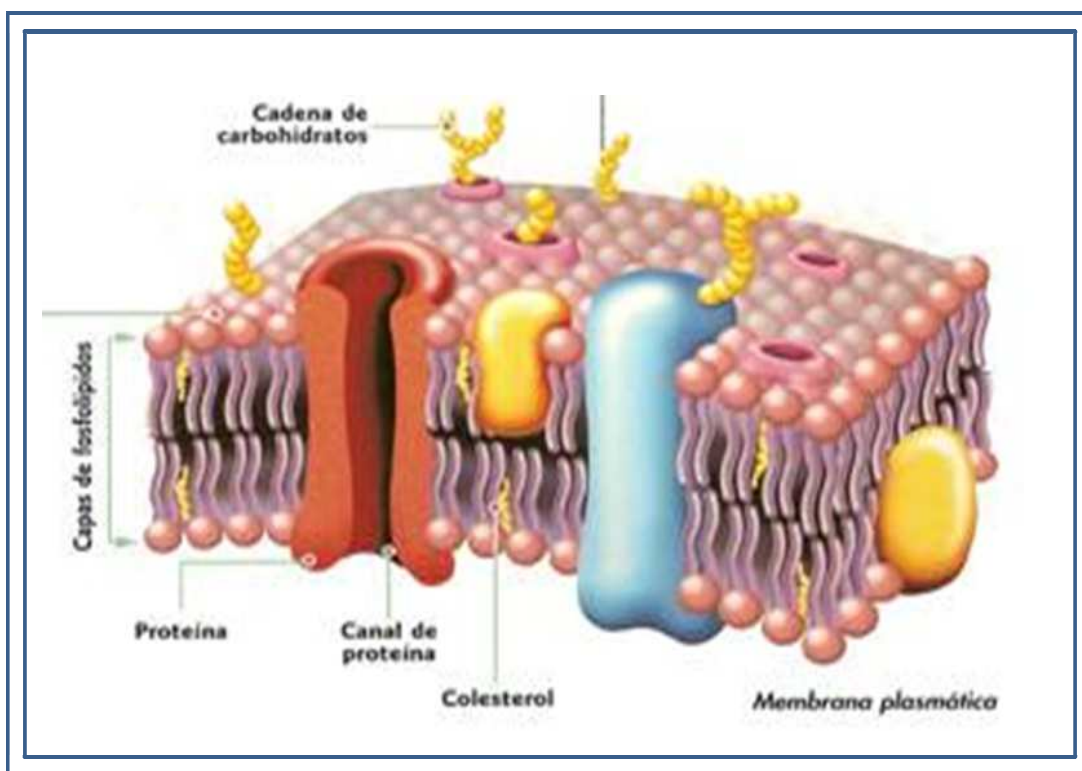


FIGURA 2: Representación de la membrana celular. FUENTE: docencia.izt.uam.mx /.../ membrana_celular.png.

2.1 Músculo esquelético.

Los músculos esqueléticos son un tipo de músculo estriado unido al esqueleto, por medio de tendones y ligamentos. Están formados por células o fibras alargadas y multinucleadas que sitúan sus núcleos en la periferia. Obedecen a una organización de proteínas de actina y miosina que le confiere esa estriación que se ve perfectamente al microscopio óptico; (debido a la anisotropía óptica de las diversas estructuras). Son usados para producir el movimiento a través de la unión hueso-tendón a través de su contracción. Son, generalmente, de controlados voluntariamente (a través de inervación nerviosa), aunque pueden contraerse involuntariamente. El cuerpo humano está formado aproximadamente de un 40% en peso, de este tipo de músculo y un 10% de músculo cardíaco y liso ^[8].

2.2 El tejido muscular

Los músculos se pueden clasificar morfológicamente como: estriado esquelético, estriado cardíaco y liso. El Músculo esquelético realiza su trabajo gracias a tres características funcionales: Excitabilidad - Contracción - Relajación ^[8, 9].

La excitabilidad del músculo esquelético es la que le permite responder ante un estímulo eléctrico o nervioso, el cual lo llevará a la segunda característica que es la Contracción donde el músculo luego de ser estimulado por el nervio, recibe dicha información a lo largo de todas sus fibras musculares y se acorta para lograr la función propia. Luego de que el músculo realiza la función determinada, este debe recobrar su forma para evitar una alteración en el mismo por su contracción sostenida y es en ese caso cuando alcanza la tercera característica funcional denominada Relajación, donde simplemente sus fibras contraídas se relajan y esperan nuevamente ser estimuladas ^[8,9].

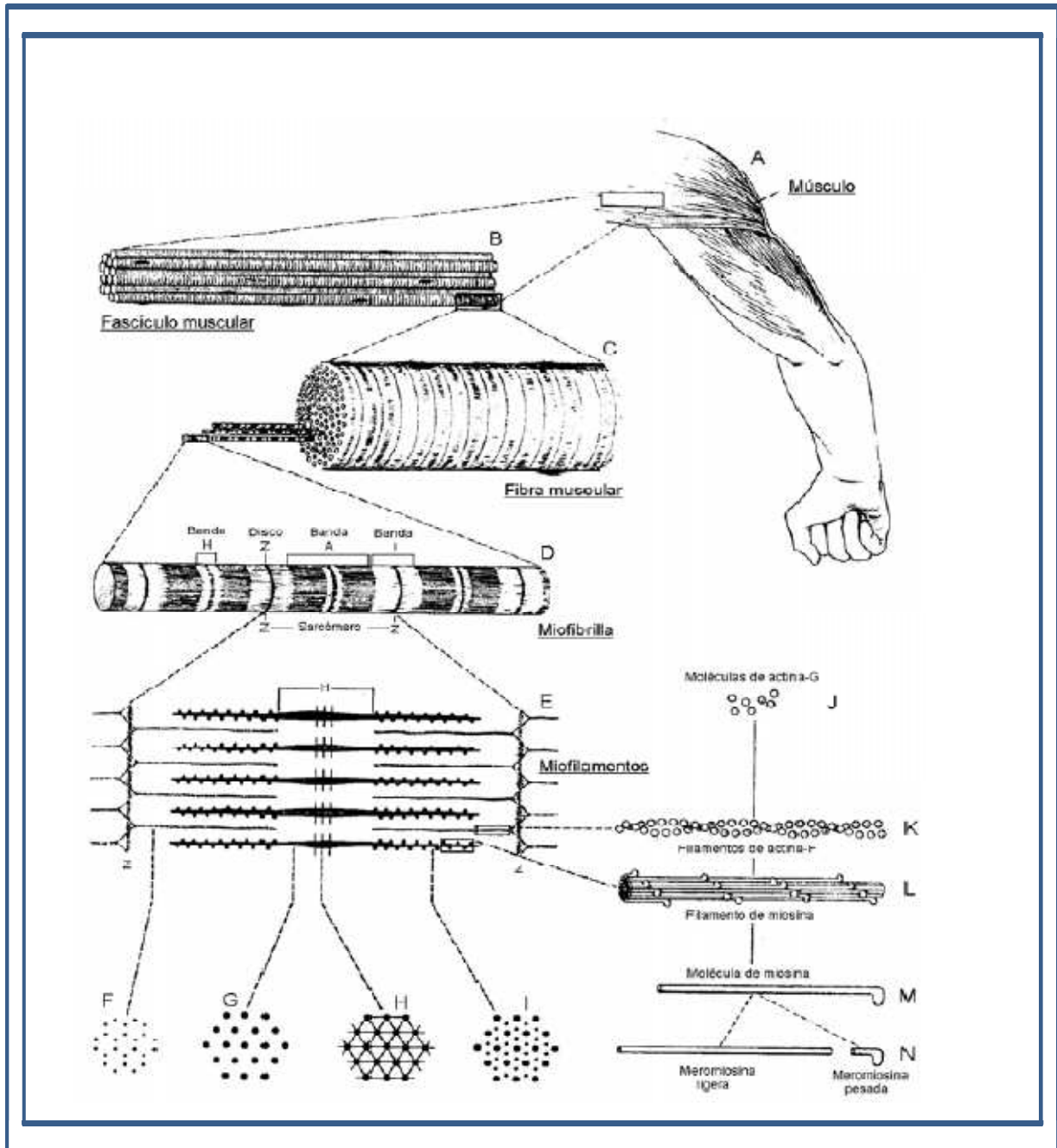


FIGURA 3. Esquema de la organización del músculo esquelético desde el nivel macroscópico al molecular. **Fuente:** Bloom-Fawcett. Tratado de histología. Interamericana Mc Graw -Hill. 11^{ava} edición. 1987.

2.3 Características morfológicas de la célula muscular

La célula muscular (fibra muscular), al igual que las células de cualquier otro órgano o tejido, poseen una composición estructural definida y unos organelos propios. Un músculo está formado por células llamadas Miocitos, que por su forma, alargada también reciben el nombre de Fibras Musculares. Cada miocito o fibra muscular se encuentra recubierto por una membrana celular, esta recibe el nombre de Sarcolema [9,10].

Al citoplasma del miocito, se le llama Sarcoplasma, presenta retículo endoplásmico denominado Retículo Sarcoplásmico; a las mitocondrias se les cita con el nombre de Sarcosomas. El sarcómero, es la unidad Anatómica y Funcional del Músculo [9,10].

El retículo sarcoplasmático (RS) o retículo endoplasmático (RE), es un sistema continuo de sarcotúbulos limitados por membranas y se extienden por todo el sarcoplasma y que forma una red de canales de malla fina en torno a cada miofibrilla y corre a lo largo de la fibra muscular [3].

En el RS se distinguen dos regiones, los túbulos longitudinales y las vesículas o cisternas terminales (Figura 4), que son dilataciones locales que forman sacos. Se presenta con un patrón repetitivo y localizado que mantiene una relación constante entre las bandas de las miofibrillas estriadas (Figura 4). La función más importante del RS es almacenar y liberar Ca^{+2} [3].

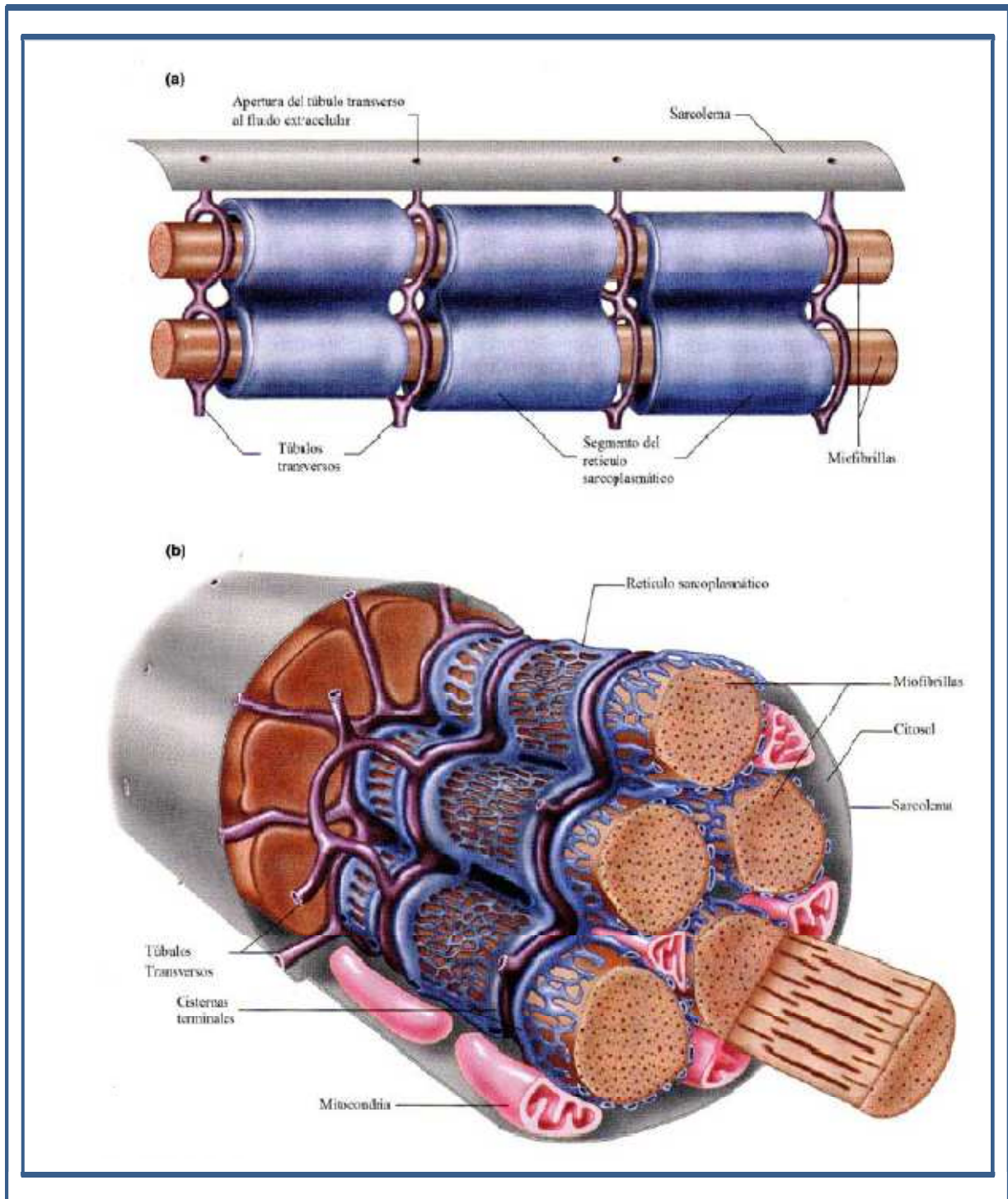


FIGURA 4. a) Representación diagramática de la estructura interna de una célula de músculo esquelético, b) Representación anatómica de una célula de músculo esquelético. **Fuente:** Vander A, Sherman J., Luciano D. Human Physiology. The mechanisms of Body Function. 2001. 8th edition. McGraw-Hill. USA.

2.4 Composición histológica del músculo.

El músculo esquelético está constituido por un gran número de células musculares o miocitos envueltas por una membrana denominada endomisio, varias células se reúnen y constituyen un paquete denominado Haces musculares los cuales están envueltos por otra membrana denominada perimisio; y finalmente varios haces musculares se reúnen para constituir el músculo ^[10].

Una fibra muscular está constituida por un gran número de miofibrillas; estas a su vez están constituidas cada una por un gran número de estructuras mas pequeñas denominadas miofilamentos ^[10]. Los miofilamentos se organizan estructuralmente para constituir la unidad Anatómica y Funcional contráctil del músculo denominada sarcómero. Los miofilamentos son proteínas contráctiles y se clasifican en Gruesos y Finos. Los gruesos son la Miosina y los finos son la Actina, Troponina y Tropomiosina ^[10].

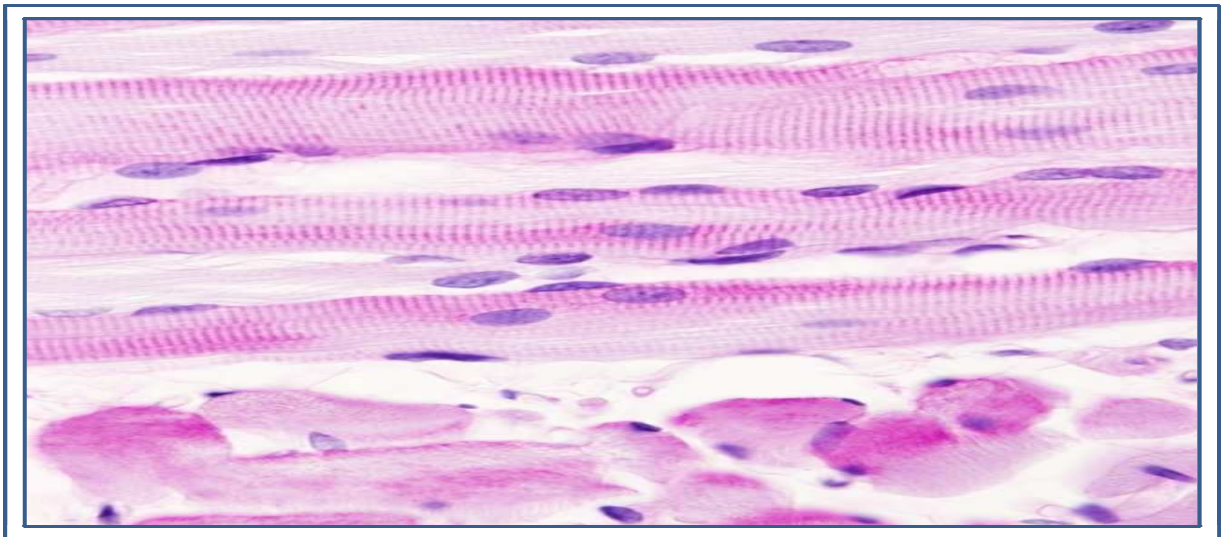


Figura 5. Representación histológica de músculo esquelético en Ratón. Técnica. Hematoxilina-eosina en cortes de 8 micras de parafina. Fuente: [_webs.uvigo.es/.../imágenes/muscular-estriado.jpg](http://webs.uvigo.es/.../imágenes/muscular-estriado.jpg).

2.5 Sarcómero y Contracción Muscular.

El sarcómero se define como la unidad anatómica y funcional del músculo, por ser la mínima parte del músculo capaz de realizar las funciones contracción y relajación ^[10].

El sarcómero está comprendido entre dos líneas Z. Cada miofibrilla contiene numerosos sarcómeros. Los sarcómeros presentan unas Bandas A que se ven como bandas anchas y oscuras (estrías transversales) que alternan con otras claras y estrechas denominadas Bandas I ^[10].

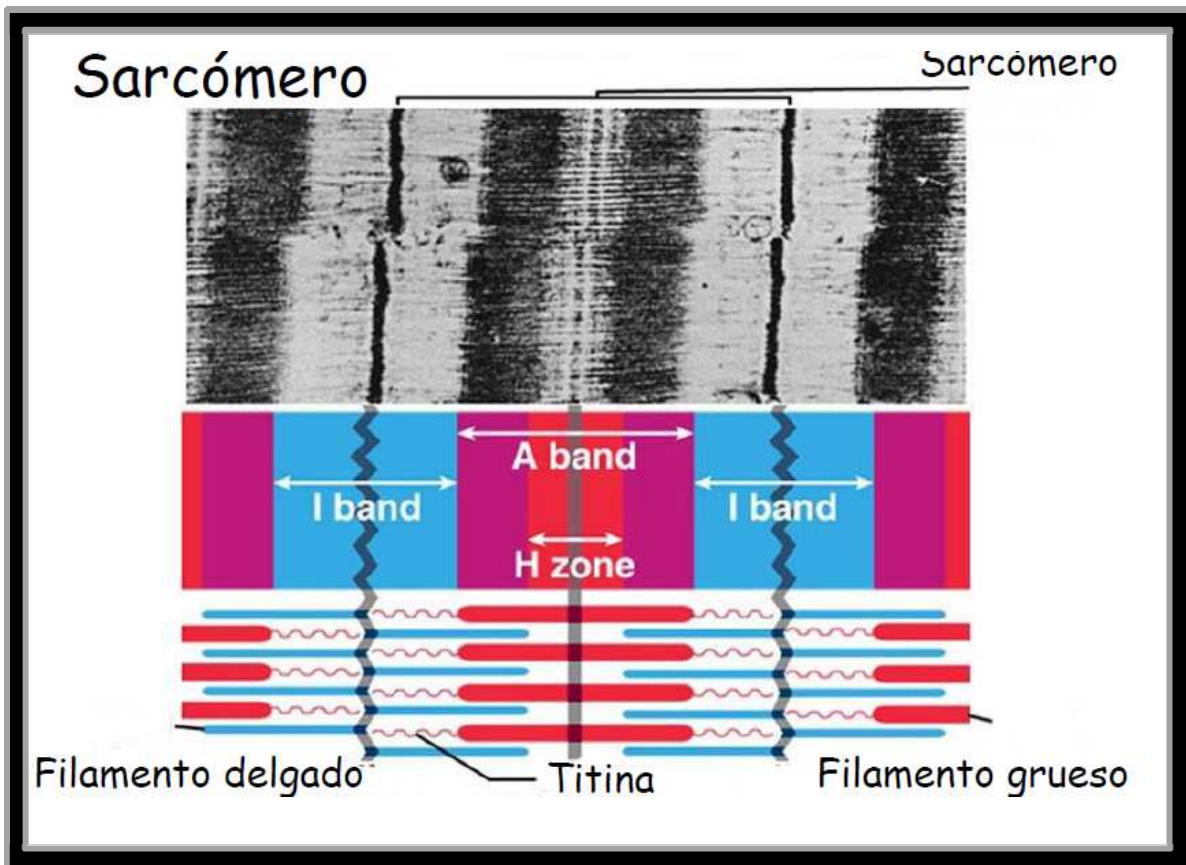


Figura 6. Micrografía electrónica de una sección de fibra muscular. Fuente: Ganong, W. F. Fisiología médica. 18ava edición en español. Editorial El Manual moderno. (2002)

2.6 Excitación y Contracción:

El impulso nervioso o potencial de acción se transmite través del axón de la motoneurona desde el centro de control medular, cuando llega al final del mismo provoca que se vierta al espacio sináptico la acetilcolina que contienen las vesículas sinápticas (para ello es necesario, que difunda el Ca^{2+} del espacio extracelular al citosol de las terminaciones nerviosas). La acetilcolina “flota” en la sustancia del espacio sináptico y llega hasta la placa motora de la fibra, donde existen una serie de receptores (colinérgicos del tipo nicotínico), que al unirse con la acetilcolina provocan la despolarización primero de la placa motora y luego del sarcolema. Esta despolarización se transmite hasta el sarcoplasma a través de los túbulos T. Una vez realizada la transmisión a través del espacio sináptico, unos enzimas se encargan de romper (hidrolizar) la acetilcolina y dejar libres de nuevo los receptores para recibir nuevos impulsos^[10].

Cuando los receptores de Rianodina o IP_3 del retículo sarcoplásmico interactúan con el Ca^{2+} que ingresa por los receptores de DHP se vierte el Ca^{2+} hacia el citosol donde se unirá con la Troponina (en la zona C), esta unión hace que se debilite el enlace entre troponina y actina y permite que la tropomiosina se desplace lateralmente y deje al descubierto el sitio activo donde la actina se une con la miosina^[10].

Por cada Ca^{2+} que se une a la troponina se destapan varios sitios de enlace para la miosina. Es ahora cuando las cabezas de moléculas de miosina se unen a los sitios de enlace de actina y una vez unidos las cabezas de la miosina actúan como bisagras desplazándose y arrastrando a la cadena de actina (golpe activo, con gasto de ATP) para después romper espontáneamente este enlace y saltar hasta el sitio de unión

siguiente. De esta forma se produce el desplazamiento de los filamentos de actina sobre los de miosina.^[10]

La anchura de las bandas A permanece constante mientras que las líneas z se juntan, se produce así la contracción muscular por la suma del acortamiento individual de cada sarcómero que se acorta entre un 30 y 50 %.^[10]

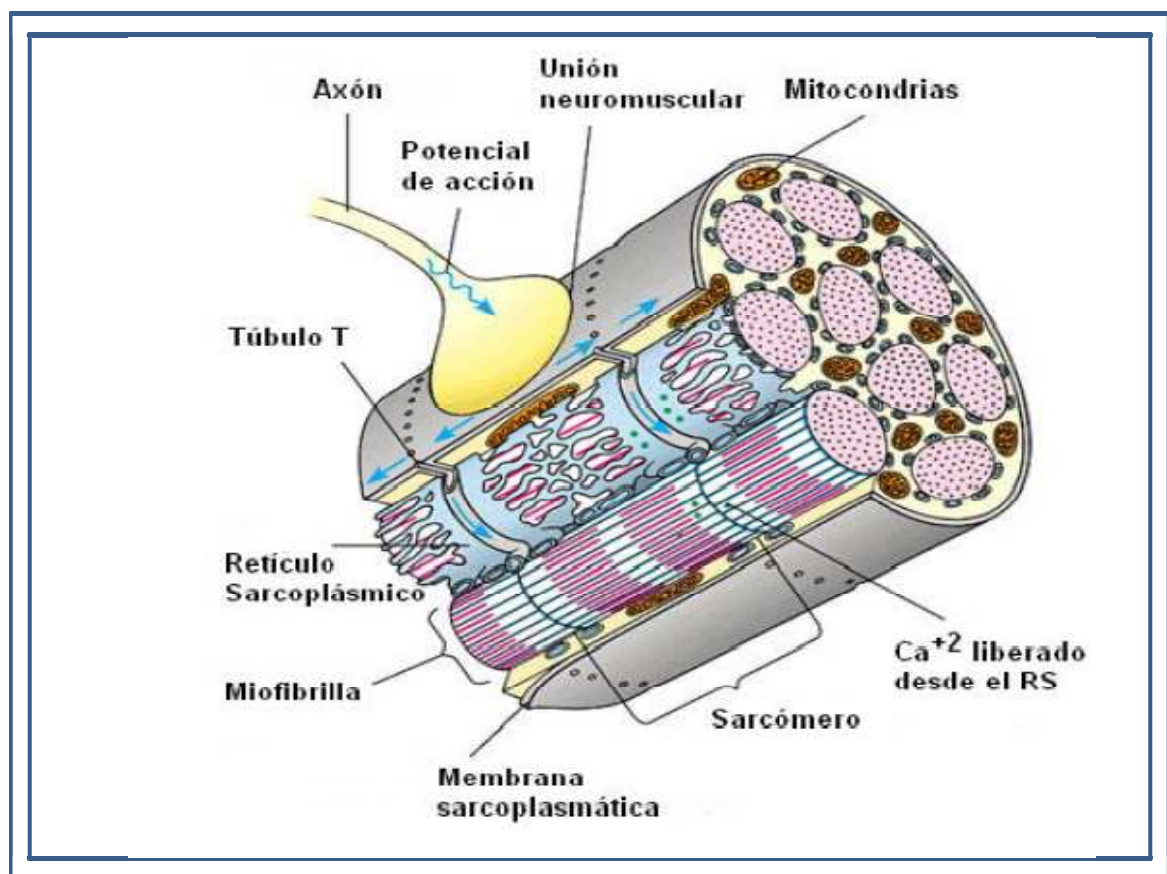


Figura 7. Representación tridimensional de una sección de célula de músculo esquelético donde se observa la unión del axón y la placa motora. **FUENTE:** <http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/neuro/muscle.ht>

2.7 Relajación Muscular:

Una vez realizada la contracción, si no hay nuevos impulsos nerviosos que determinen la repetición del proceso contráctil, el Retículo sarcoplásmico comienza a reacumular Ca^{2+} que pasa desde el sarcoplasma en un proceso que se realiza contra gradiente y requiere gasto de ATP. Así pues, tanto la contracción muscular para mantener los enlaces actina-miosina como la relajación para reacumular Ca^{2+} en la cisternas del retículo necesitan energía. Cuando la concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma es lo suficientemente baja, la troponina queda libre de su unión con el Ca^{2+} , se une fuertemente a la actina, la tropomiosina recupera su posición inicial bloqueando los sitios activos de la actina, Se rompen los enlaces actina-miosina y el sarcómero recupera su longitud inicial^[10].

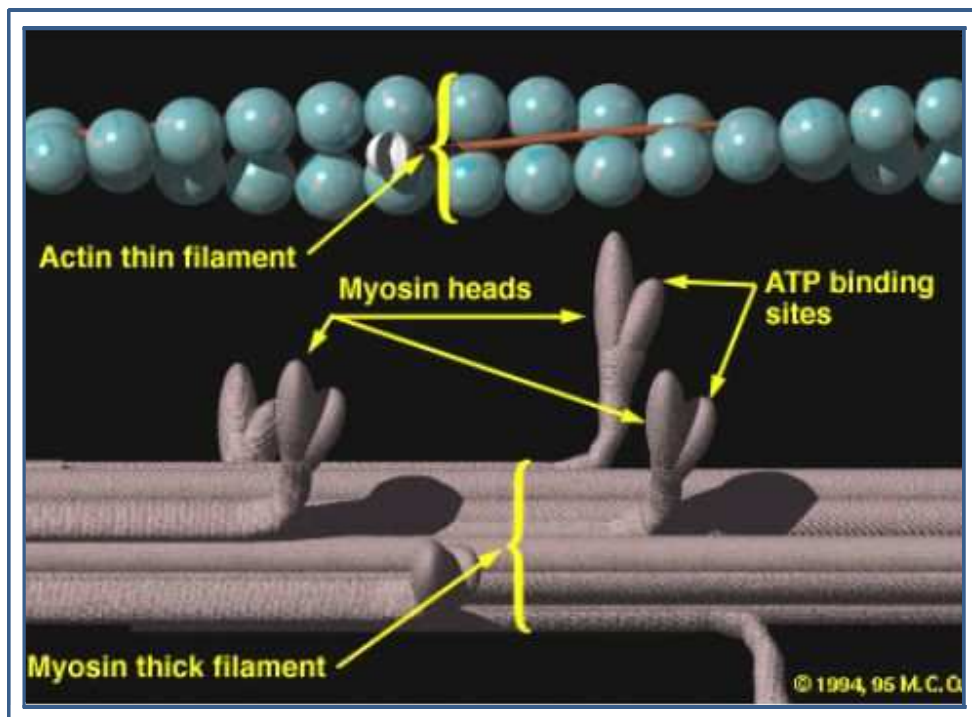


Figura 8. Mecanismo de relajación muscular Fuente: Brown L.E. Muscle Fuel. *NSCA's Performance training journal*. 2002;9: 6-7 . www.efdeportes.com/efd94/musc06.jpg.

2.8 Túbulos T (TT) y Tríadas.

Los túbulos T forman la red que se localiza perpendicularmente al eje longitudinal de la fibra muscular y rodea a las miofibrillas con intervalos regulares, a cada lado del túbulo T se encuentran las cisternas y este conjunto se le llama triada. ^[3,5]

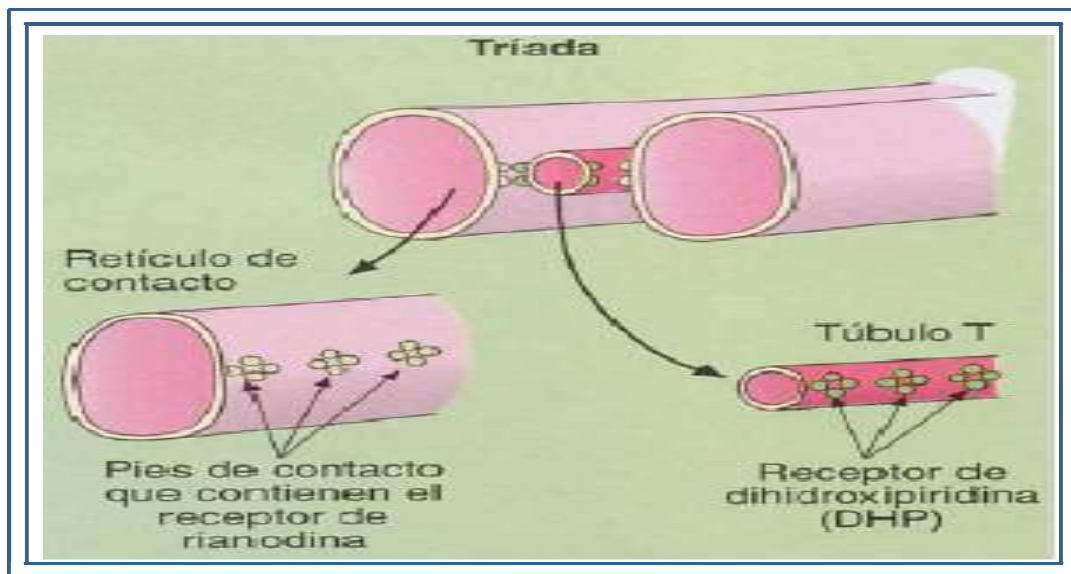


FIGURA 9: Dibujo esquemático de la distribución del retículo sarcoplásmico en torno a las miofibrillas del músculo esquelético de mamífero. Los sarcotúbulos longitudinales se reúnen en unas cisternas terminales transversales. El túbulo T transverso y delgado, penetra desde el sarcolema y está flanqueado por dos cisternas terminales. Se constituyen así las “triadas” del retículo. En músculo esquelético de mamífero hay dos triadas por sarcómero y están alineadas con las uniones de las bandas A con las bandas I. Fuente: Estudio de la fatiga muscular mediante estimulación de baja frecuencia. José H. Malén Arroyo. Universidad de Barcelona. España. Tesis Doctoral 2005.

El espacio existente entre los Túbulos T y el RS se llama “Cleft” o “Junctional Sarcoplasmic Reticulum” (“JSR”). En este espacio se encuentran las interacciones de los Receptores de DHPR en los túbulos y los receptores de RyR sobre el RS.

2.9 Canales de Calcio.

La entrada de calcio a las células tiene lugar mediante canales de calcio, que no necesitan aporte energético, ya que lo hace a favor de gradiente. Estos canales son de tres tipos:

1. Dependientes del potencial o VOC (voltage on channel).
2. Receptor dependientes o ROC. (Receptor on channel).
3. De goteo.

2.9.1 Canales de Calcio voltaje dependientes. Los canales VOC tienen composiciones complejas y pueden ser lentos o rápidos, lo que se utiliza según el tipo de célula. Así, los canales tipo L son canales lentos (500-1000 ms), que se activan con un potencial de -10 mV, están compuestos por glicoproteínas y necesitan quinasas AMPc dependientes, mientras que los de tipo T son rápidos (20-50 ms); se activan con potenciales de -40 mV y son insensibles al cadmio y antagonistas del calcio. En los canales L se han visto dos formas, una activa y otra inactiva, formada por glicoproteínas, tal como se muestra en la figura 10 ^[91].

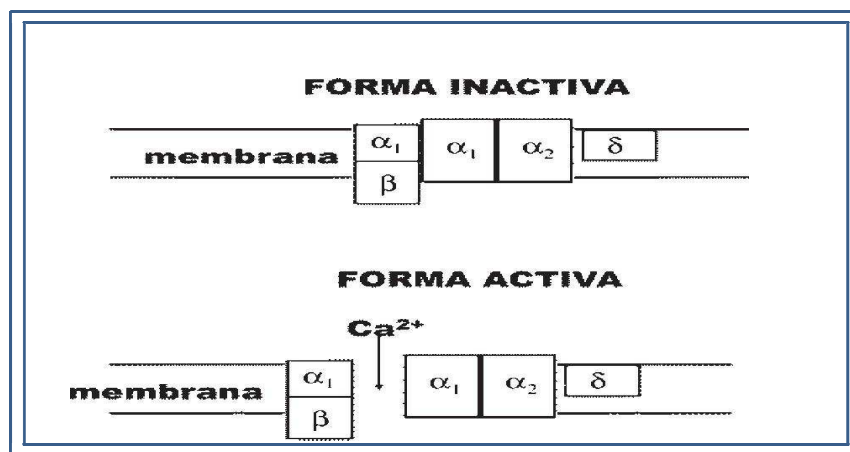


Figura 10. Canales L y entrada de calcio Las redes de señales intracelulares del calcio. Antonio Luis Doadrio Villarejo .Universidad Complutense. España. Pag 74

Unas de las vías para la entrada de Ca^{2+} en las células excitables (Células musculares, neuronas y células de glándulas neuroendocrinas) son los canales de Ca^{2+} voltajes

dependientes. Al abrirse, permiten el flujo selectivo de iones Ca^{2+} a través del poro del canal, iniciándose una variedad de procesos intracelulares entre los que se incluyen la contracción muscular, la secreción de neurotransmisores, la expresión génica, la modulación de la excitabilidad de la membrana, etc. De esta forma, los canales de Ca^{2+} del sarcolema constituye el enlace entre las señales eléctricas de la superficie de la membrana y las respuestas bioquímicas intracelulares. Debido al papel que juegan en muchos procesos fisiológicos y fisiopatológicos, en este trabajo se revisan aspectos relacionados con la estructura, clasificación, biología molecular y las propiedades biofísicas y farmacológicas de los canales de calcio voltajes dependientes.^[91]

2.9.2 Estructura de los canales de Calcio voltaje dependientes.

Los canales de calcio son proteínas oligoméricas, constituidos por una subunidad principal, α_1 , que sirve como poro y sensor del cambio de potencial y diversas subunidades reguladoras o auxiliares tales como la subunidad β , las subunidades α_{2s} (unidas por puentes disulfuro) y dependiendo del tejido, una quinta subunidad, la subunidad γ del músculo esquelético o la subunidad neuronal $\rho 95$ pueden también formar parte del canal con un tamaño aproximado de 2000 aminoácidos, la subunidad α_1 tiene la misma estructura general que los canales de Na^+ dependientes de voltaje; está constituida por 4 dominios, los que a su vez están formados por 6 segmentos transmembrana. El cuarto de estos segmentos, S4, está altamente cargado y se considera que es la zona que actúa como sensor de los cambios de potencial de la membrana. El asa ("loop") que une el quinto y sexto segmento. formaría también parte del poro del canal^[91].

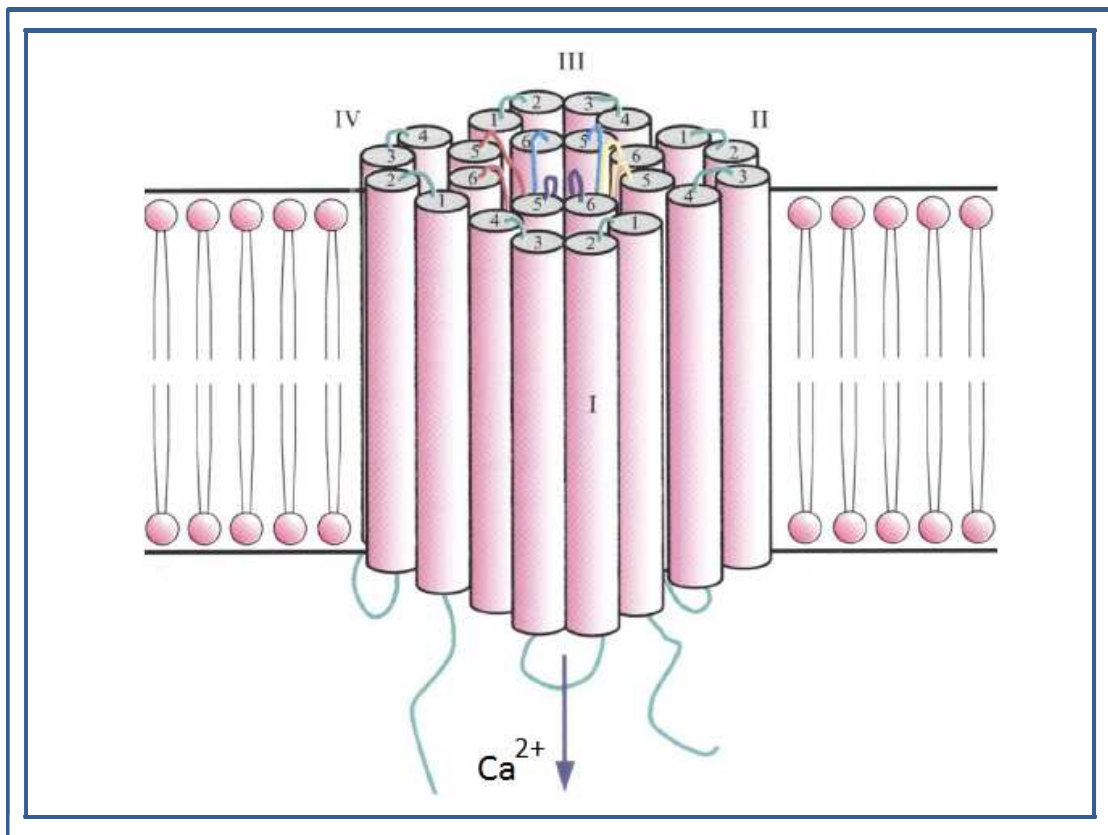


Figura 11: Modelo tridimensional de la subunidad α_1 del canal de calcio. Fuente: Anette, C. Voltage-Dependent Calcium Channels and their modulation by neurotransmitters and G proteins. *Experimental Physiology* (1995) UK.

2.9.3 Clasificación de los canales de Calcio voltaje dependientes.

Se han descrito seis tipos funcionales de canales de Ca^{2+} , denominados T, L, N, P, Q y R. Estos canales se pueden clasificar atendiendo a sus propiedades biofísicas y farmacológicas; sin embargo, la clasificación más utilizada se basa en el rango de voltaje necesario para su activación, clasificándolos en dos categorías: canales de Ca^{2+} de bajo y de alto umbral. El canal de tipo T es el único canal de Ca^{2+} de bajo umbral descrito hasta la actualidad, mientras que los canales de tipo L, N, P, Q y R han sido caracterizados como canales de Ca^{2+} de alto umbral debido a que se requieren grandes despolarizaciones para su activación.^[91]

2.9.4 Canales de calcio tipo L (canales de Dihidropiridina).

Los canales de Ca^{2+} de tipo L son los mejores estudiados y se encuentran ampliamente distribuidos en todas las células excitables y en la mayoría de las células no excitables. Constituyen la principal vía de entrada de iones Ca^{2+} en las células de los músculos cardíaco, esquelético y liso, y, contribuyen de forma significativa a controlar la secreción de neurotransmisores y los mecanismos de acoplamiento excitación, contracción en las células neuroendocrinas, en algunas preparaciones neuronales y en las células musculares estriadas. ^[91]

Su activación es voltaje dependiente y el potencial de activación depende del tipo celular; por ejemplo, en las células neuroendocrinas y en el músculo cardíaco se activan a partir de potenciales próximos a -30 mV y la amplitud máxima de la corriente se alcanza en torno a los + 5 mV mientras que, en neuronas sensoriales se activan alrededor de -10 mV. La inactivación es más lenta que los canales de tipo T y en el curso temporal de dicho proceso tiene una constante de tiempo del orden de segundos y depende de diversos factores: 1) del ión que pasa a través del canal (los iones Ca^{2+} la aceleran y los iones Ba^{2+} la enlentecen), 2) de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (los quelantes de Ca^{2+} la enlentecen) y 3) de la amplitud de la corriente (cuanto mayor es la amplitud de la corriente, más rápida es la inactivación). Estos datos sugieren que la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ desempeña un papel fundamental en el proceso de inactivación de los canales de Ca^{2+} de tipo L y en general de todos los canales de alto umbral; sin embargo, en células cardíacas se ha observado que la inactivación también depende del potencial de membrana. Por tanto, la inactivación de los canales de Ca^{2+} de alto umbral es un fenómeno complejo que depende al menos de dos factores: de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, que a su vez depende de la actividad de los canales; y, del potencial que alcanza la membrana durante su activación. ^[91]

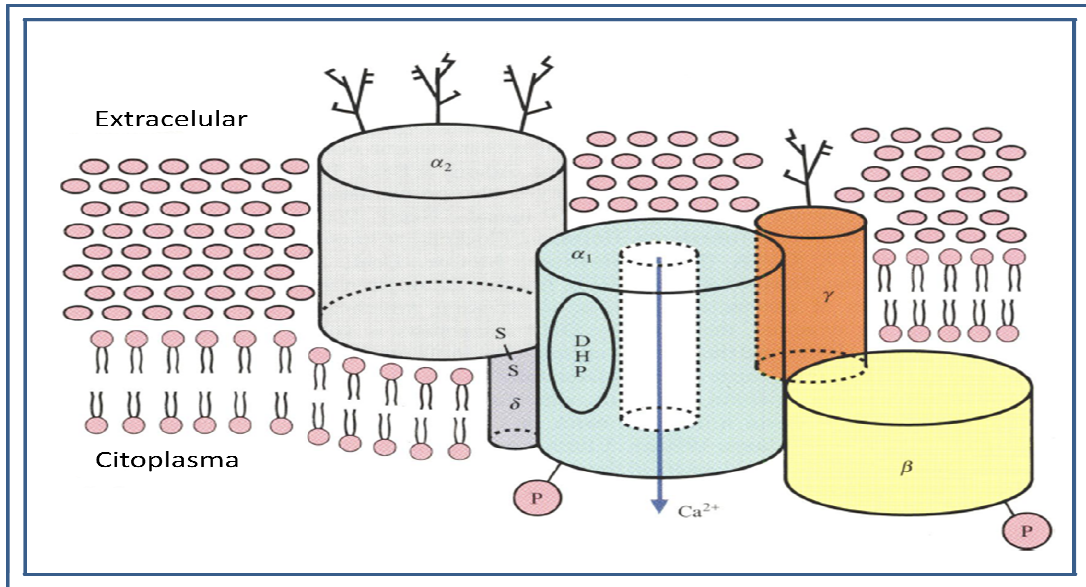


Figura 12: Modelo de la estructura del canal de calcio muscular esquelético, P denota los sitios de fosforilación. Fuente: Dolphin, A. Voltage-Dependent Calcium Channels and their modulation by neurotransmitters and G proteins. Experimental Physiology (1995) UK.

2.9.5 Canales ligando dependientes o ROC.

Estos se activan cuando un agonista se une a su receptor específico de membrana, siendo inhibidos por los bloqueantes de los canales de calcio. Pueden ser *canales sensibles a ligandos*, que se abren por la unión de un agonista extracelular (generalmente neurotransmisor) y que están presentes en neuronas y músculo liso, y *canales activados por agotamiento de las reservas intracelulares*, o de entrada capacitativa de calcio, controlados por IP3 en células no excitables y rianodina en células excitables, y que sirven para recargar los depósitos intracelulares de Ca^{2+} [91].

2.9.6 Canales de goteo

Los canales de goteo están siempre abiertos y no necesitan ningún tipo de activación, por lo que son utilizados para mantener la señal del calcio una vez que ha cesado debido al mecanismo de bombas citosólicas [91].

2.9.7 Canales-Receptores de Dihidropiridina (DHPR) y Rianodina (RyR)

El potencial de acción, al propagarse por los túbulos T, activa dos tipos de canales que son esenciales en la dinámica del calcio, el canal DHPR que es llamado así porque es bloqueado por la dihidropiridina, y el canal conocido como receptor de rianodina (RyR) por ser activado por la rianodina [4].

El canal DHPR es un ejemplo de canal tipo L (“large o long-lasting” en inglés). Consta de cinco subunidades: α -1, α -2, δ , β y γ . La subunidad α -1 contiene los sitios de unión farmacológica para numerosas sustancias que actúan como agonistas y antagonistas, forma el canal de Ca^{+2} en la isoforma cardíaca y es la unidad sensora de voltaje en la isoforma de músculo esquelético. Las otras subunidades tienen funciones reguladoras, ayudan a posicionar la subunidad α -1 en los túbulos T y aumentan su habilidad para detectar despolarizaciones o para actuar como canal de Ca^{+2} . El canal de DHPR en el músculo esquelético, también permite la entrada de pequeñas cantidades de Ca^{+2} a la fibra, pero este camino es secundario [2, 4,5].

Existen evidencias de que los canales de DHPR en los túbulos T, y los RyR en el RS, forman unidades macromoleculares para la liberación de Ca^{+2} que están organizadas espacialmente y son visibles con el microscopio electrónico [6]. Los canales DHPR están organizados en grupos de cuatro y concurren con uno de cada dos canales RyR en músculo esquelético. De acuerdo con datos actuales, la subunidad α -1 del DHPR interactúa con el RyR y provoca su apertura [2, 4,5].

2.9.8. Canales “sensor voltaje”. Mecanismo predominante en el musculo esquelético.

Se sugiere que uno de los mecanismos, mediante los que se puede liberar calcio a través de canales de la membrana del retículo sarcoplásmico, podría ser un acople mecánico entre las proteínas canal de los túbulos T, que actuarían como sensores de voltaje, y las proteínas canal de las cisternas del retículo sarcoplásmico, llamadas también proteínas pie (porque su prolongación en el interior del citosol, la que parece establecer contacto físico con las proteínas canal de los túbulos T, tiene forma de pie ^[96]

Las dos proteínas que participan en este acoplamiento son, por parte de los túbulos T, La DHPR, que es como ya se ha comentado una proteína canal de Ca^{2+} de tipo L formada por cuatro subunidades; y, por parte de las cisternas terminales, la proteína RyR. Entre ambas existe un contacto que permite que la primera experimente un cambio conformacional al ser despolarizada la membrana (funciona como un sensor de voltaje). Este cambio es pasado a la RYR, que responde abriendo canales de Ca^{2+} ^[96].

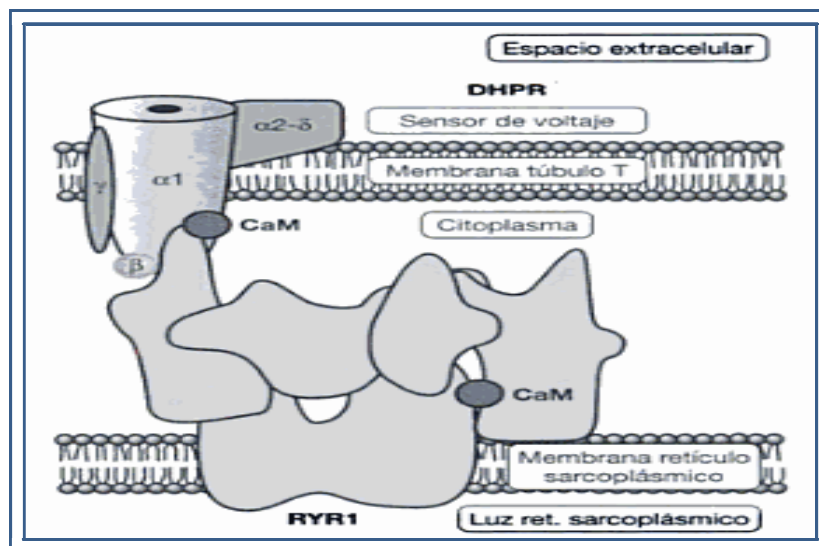


Figura 13. Mecanismos de acoplamiento mecánico” Sensor Voltaje”, entre proteínas canal de los tubulos T y las proteínas canal de las cisternas del retículo sarcoplásmico. Fuente: Córdova, A. Fisiología general. Masson S.A. Barcelona. 2003;6:87.

2.10 Bombas de Calcio

La regulación de la señal del calcio no sería posible sin un sistema de bombas e intercambiadores que puedan regular su concentración intracelular. Una vez que el calcio ha aumentado esta, resulta necesario que se restablezcan a los niveles normales, para que cese la señal, por lo que el calcio debe salir al medio extracelular. Pero esto no es fácil, ya que al contrario de su entrada por canales, (por ejemplo, los del tipo L), la salida del calcio es en contra de un gradiente de concentración, por lo que se necesita un aporte energético. Estos sistemas regularán la concentración de calcio citosólico y su señal como segundo mensajero, pero no son los únicos.^[91]

También hay bombas e intercambiadores de calcio para las mitocondrias y el RS, donde tenemos que considerar que la concentración de calcio es mayor ($>10^{-3}M$ en el retículo sarcoplásmico frente a $10^{-7}M$ en el citosol), ya que son depósitos de calcio, por lo que en este caso las bombas e intercambiadores de calcio deben facilitar la entrada de este en las mitocondrias y el RS. Consecuentemente, se considerarán tres tipos de sistemas^[91]:

- A) Citosólicos
- B) Mitocondriales
- C) Del retículo sarcoplásmico o endoplásmico (rugoso).

El calcio que entra por sus canales al citosol, es expulsado de él mediante dos tipos de sistemas citosólicos, una ATPasa dependiente de calcio (PMCA), que intercambia $1Ca^{2+}$ por $2H^{+}$ y que por ello es eléctricamente neutra, y otra que intercambia $1Ca^{2+}$ por $3Na^{+}$ que produce un gradiente electroquímico intermembranal, al tener una carga positiva de más que libera energía, que se puede almacenar para utilizarse en otros procesos que son deficitarios energéticamente. Por tanto, la energía necesaria para estos procesos contra gradiente proviene del ATP o del gradiente electroquímico que produce energía libre. En la figura 14 se muestra este proceso. El intercambiador



$\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$, es de gran capacidad de transporte y baja afinidad para el calcio (resultando lo contrario la bomba ATPasa) y es especialmente importante en células excitables donde se necesita una salida rápida de calcio del citosol. En otro tipo de células el protagonismo lo tienen las bombas de calcio ATPasas^[91].

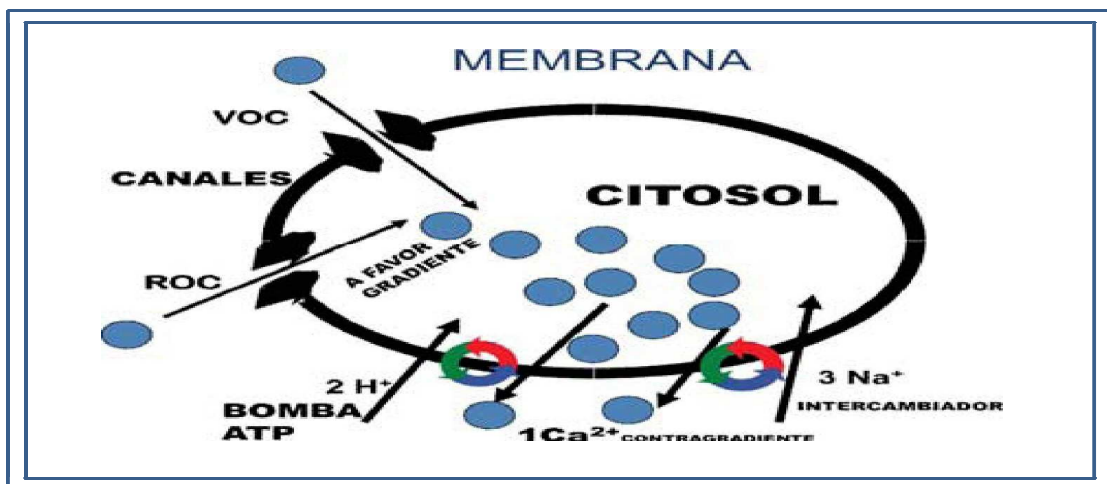


FIGURA 14. Sistema de bombas de calcio citosólicas. Fuente: Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 76.

La PCMA forma un complejo enzima fosfato y está codificada por dos familias de genes. Los genes PCMA1 y PCMA4 parecen ser más genéricos, mientras que los PCMA2 y PCMA3 se expresan de una manera más restringida^[91].

La entrada de calcio al retículo, tiene lugar mediante una bomba ATPasa dependiente, denominada SERCA, que intercambia 1Ca^{2+} por $1-2 \text{H}^{+}$ (probablemente solo uno), por lo que puede no ser eléctricamente neutra. Como en la PCMA, también está codificada, pero en este caso por 3 genes, resultando SERCA1 más abundante en tejido esquelético, mientras que SERCA2 es más abundante en músculo cardíaco y SERCA3 lo son en músculo liso y en tejidos no musculares. En la figura 15 se muestra este sistema^[91].

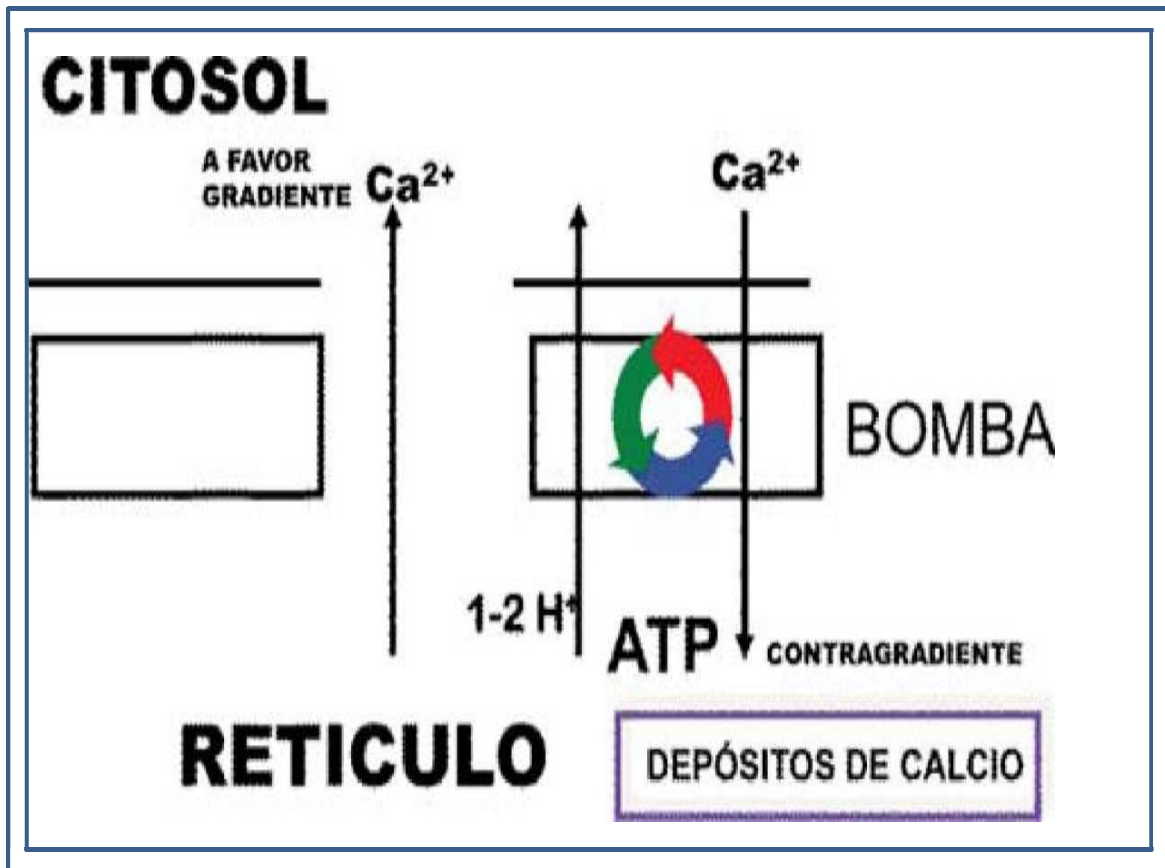


FIGURA 15. *Bomba ATPasa del retículo sarcoplásmico*. Fuente: Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 77.

Estas bombas son ATPasas de tipo P, y se denominan así porque durante su ciclo catalítico el ATP cede su fosfato terminal a un resto de ácido aspártico, formándose un intermediario fosforilado de la enzima. Durante el ciclo de transporte la enzima pasa por dos estados conformacionales, E1, que está abierto hacia el citosol y es más estable en la forma no fosforilada y E2, que es más estable en la forma fosforilada y está abierto hacia el compartimento de salida, tal como se muestra en la figura 16^[91].

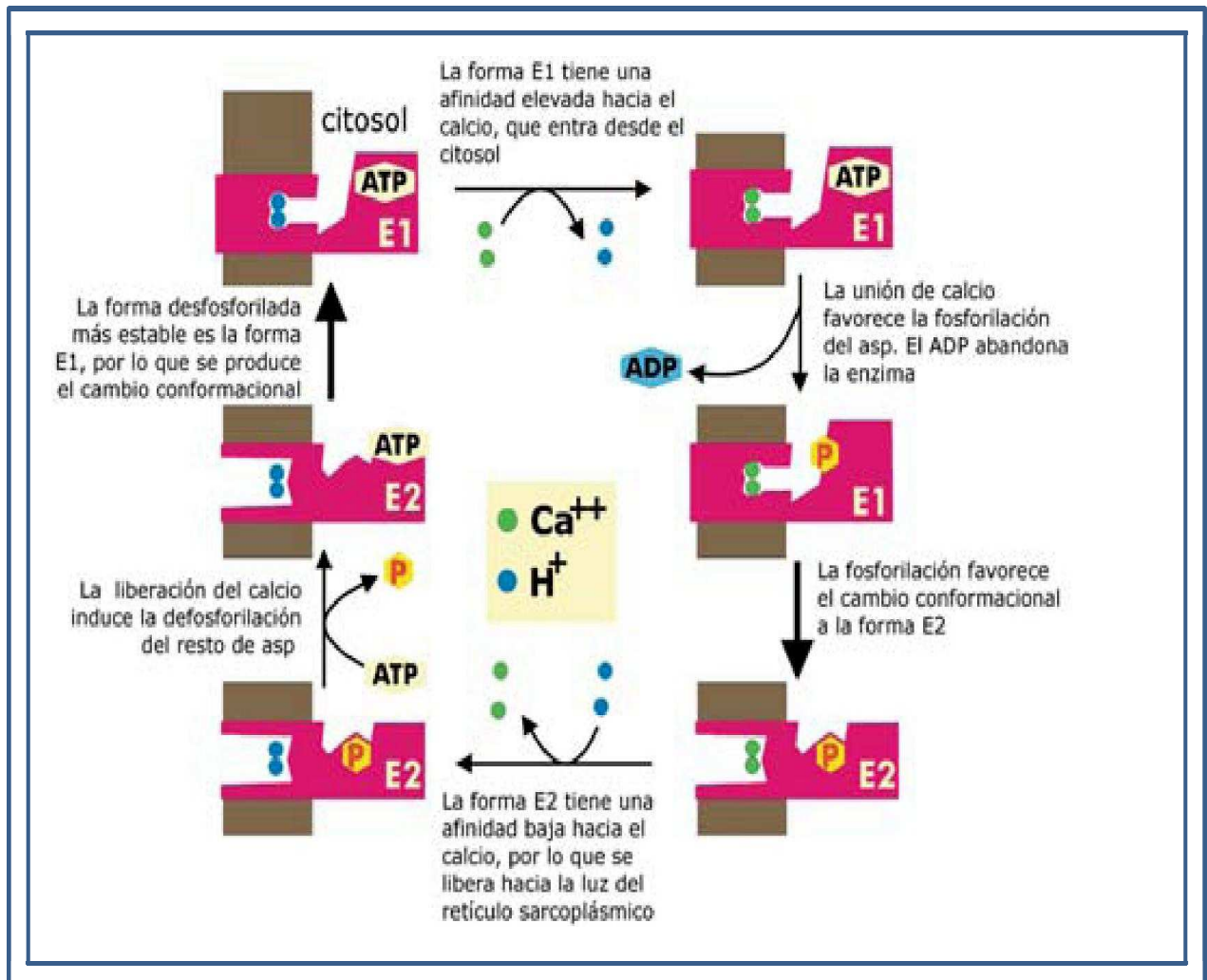


FIGURA 16. *Mecanismo de la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico ATPasa.* Fuente: Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 77

La forma E1 de la bomba de calcio de músculo de conejo fue determinada por difracción de rayos X y contiene dos iones calcio unidos a 3 restos de ácido glutámico y uno de ácido aspártico, tal como se ve en la figura 17, mientras que la forma E2 fue se muestra en la figura 18. La bomba ATPasa del citosol también pertenece a este tipo de familia de bombas, Ca^{2+} ATP asa dependientes, pero es menos conocida^[91].

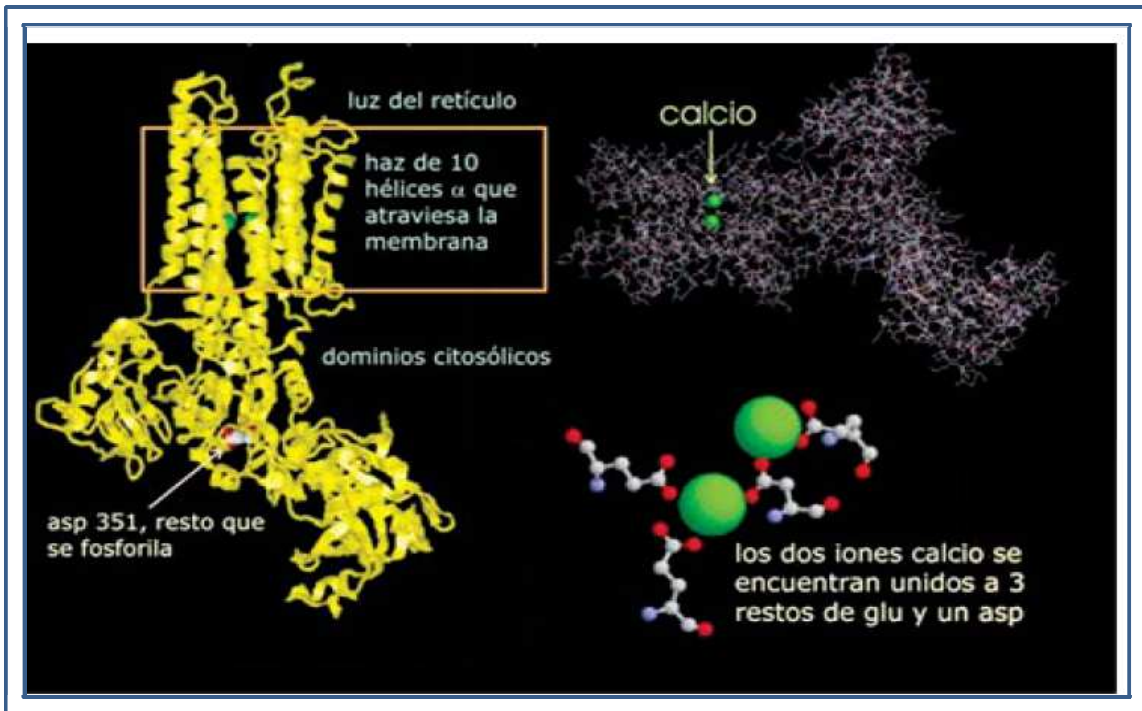


FIGURA 17. Forma E1 de la SERCA ATPasa del músculo de conejo. Fuente: (Tomado de: http://webpages.ull.es/users/bioquibi/temas_completos/transporte). Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 78.

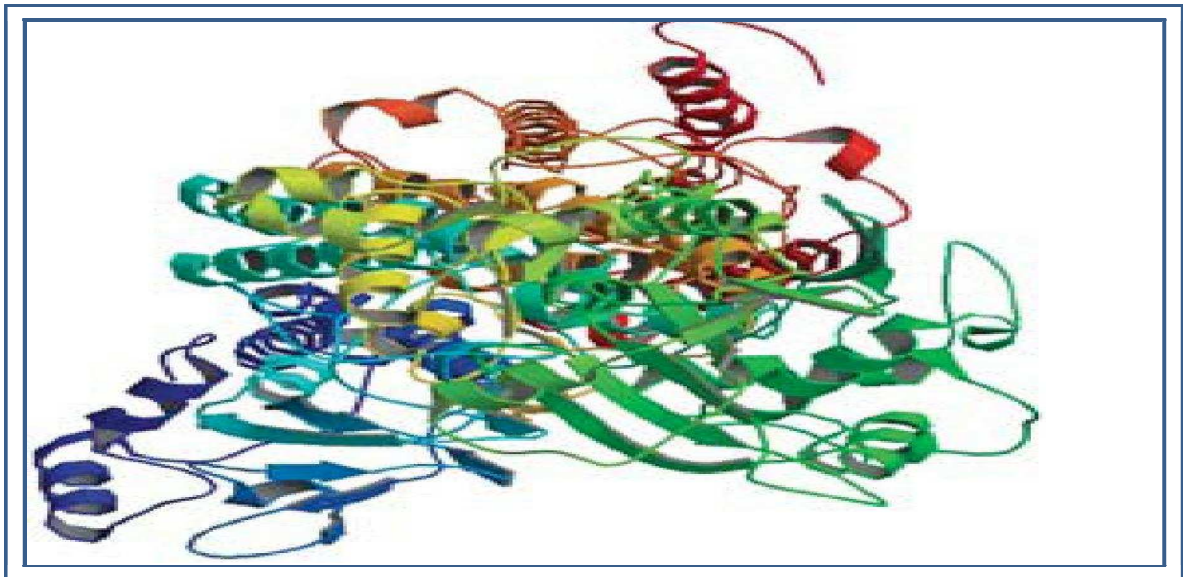


FIGURA 18. Estructura E2 de la SERCA ATPasa del músculo de conejo. Fuente: (Tomado de: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1KJU>). Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 78.

La mitocondria parece que no tiene un sistema de bombas ATPasas similar a las dos anteriores, y es en realidad un mero neutralizador de cargas, entrando 1Ca^{2+} acompañado de una molécula de H_2PO_4^- a nivel de la membrana interna, por lo que no es eléctricamente neutro y tiene que utilizar posiblemente el gradiente electromembranal almacenado en otros procesos donde se crea energía. De esta forma, en el interior de la mitocondria se almacena calcio en forma de hidroxapatito ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) muy insoluble, que se tiene como reserva de calcio para ser utilizado en caso de déficit intracelular de aquél. La salida de calcio a favor de gradiente desde la mitocondria al citosol, está operado a nivel de la membrana interna por un intercambiador calcio-sodio, que es eléctricamente neutro ($1\text{Ca}^{2+}/2\text{Na}^+$) y que por tanto no libera energía, tal como podemos ver en la figura 19. También es posible el intercambio con 1H^+ [91].

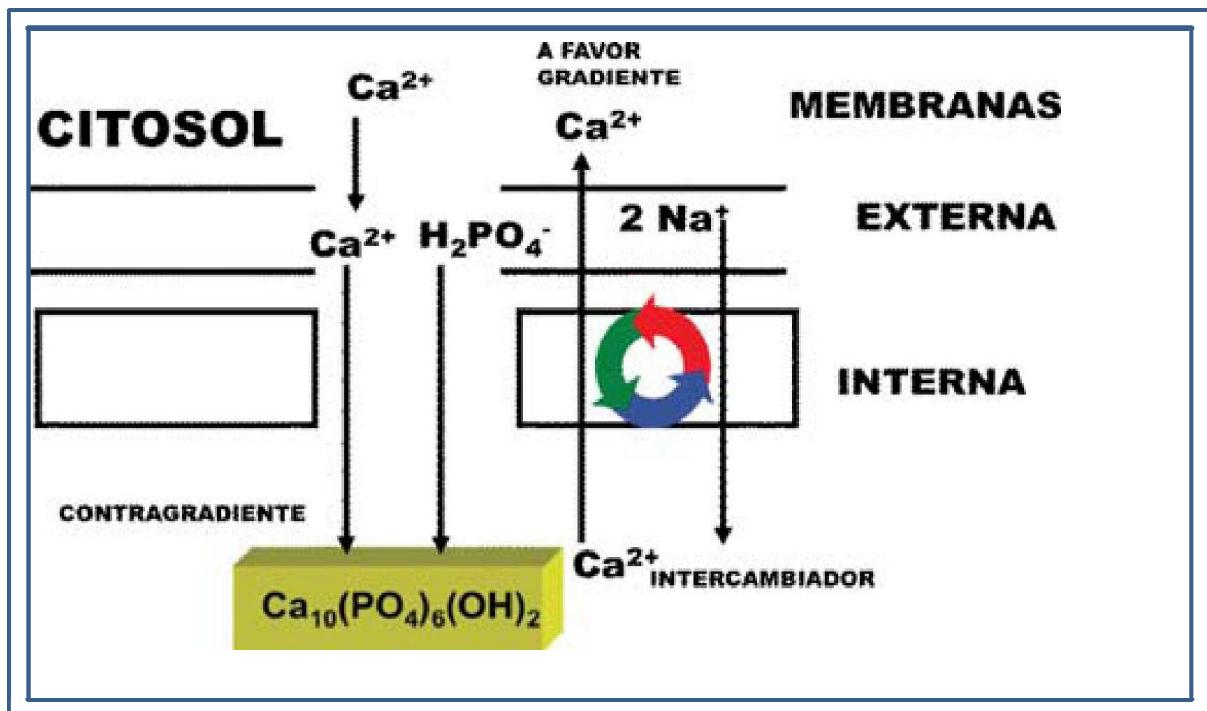


FIGURA 19. Intercambio de calcio a nivel mitocondrial. Fuente: Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 79

Las bombas de calcio son activadas por calmodulina, IP3, fosforilación de quinasas o escisión proteolítica del ATP^[91].

Un tipo de bomba de calcio poco conocida es la denominada de «goteo». Esta bomba está asociada a un canal de calcio, que permanece siempre abierto y que proporciona un continuo flujo de iones de calcio citosólicos, pero a nivel submembranal, tal como se muestra en la figura 20. La bomba está regulada por el DAG (diacilglicerol) y el PKC (proteína quinasa) y su papel parece fundamental para poder interpretar las señales intracelulares del calcio ^[91].

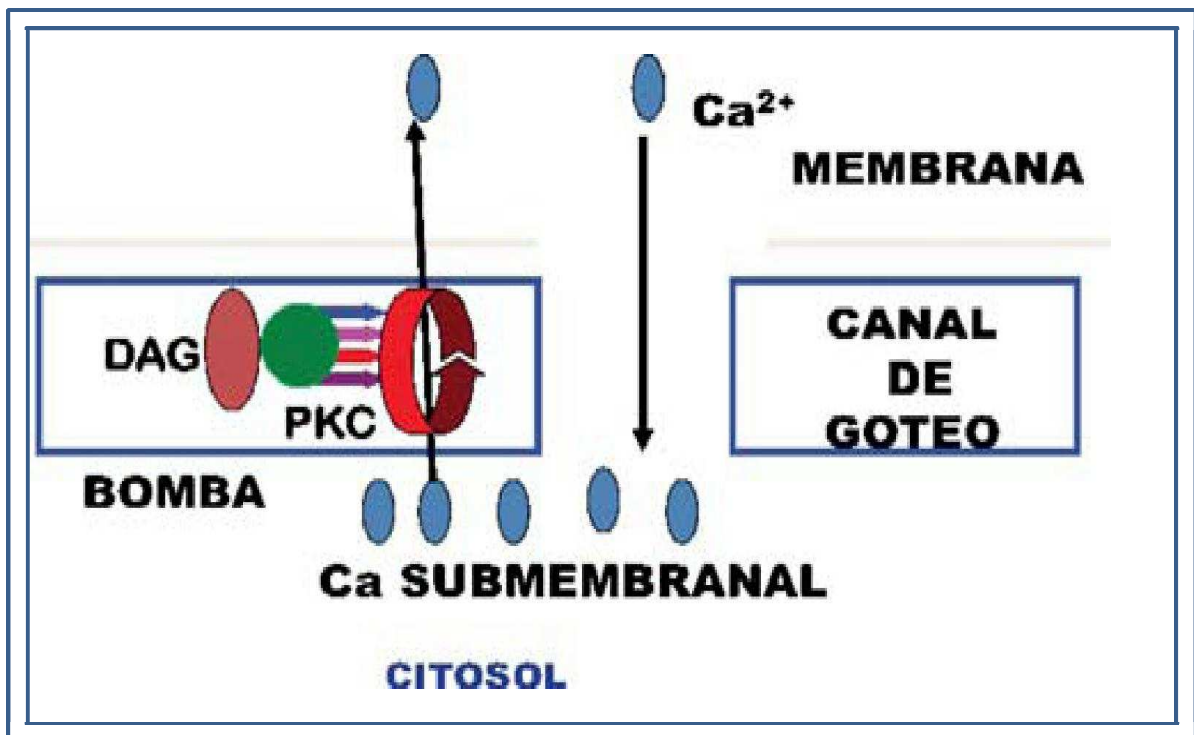


FIGURA 20. Canal y bomba de goteo del calcio submembranal. Fuente: Doadrio, L. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. Pag 80.

2.11 Regulación intracelular de Ca^{2+}

El primero en advertir el efecto del Ca^{2+} sobre la actividad celular fue Sidney Ringer (1835-1910). Mediante experimentos in vitro constató la necesidad de Ca^{2+} en el medio de incubación para observar el latido de un corazón aislado. Procesos tan diversos como: contracción muscular, liberación de neurotransmisores, división celular, visión, etc. dependen de una señal de Ca^{2+} . El ión Ca^{2+} es una de las señales bioquímicas más importantes que intervienen en el control de la actividad celular. Su participación se ha podido demostrar en todo tipo de células desde las más sencillas, las procarióticas, hasta las eucarióticas más especializadas como son las neuronas ^[11].

En tal sentido, una característica habitual en la generación de señales bioquímicas es que la síntesis y degradación de las moléculas reguladoras estén controladas por sistemas enzimáticos, esto permite a la célula ajustar en cada momento los niveles de regulador que necesita ^[11].

La concentración de Ca^{2+} , que no es un metabolito sino un ión, no se puede regular de esa forma. El control de su concentración en el citoplasma exige un complejo dispositivo de moléculas que se encargan de su unión y transporte. La concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma cuando la célula está en reposo es de $0.1\mu\text{M}$, mientras que en el medio extracelular alcanza un valor próximo a $2\mu\text{M}$. Ese importante gradiente de concentración permite que el Ca^{2+} pueda actuar como señal ^[12].

Para que una molécula o ión actúe como señal intracelular es necesario que su concentración pueda variar al menos un orden de magnitud y que tenga capacidad para unirse con gran afinidad a moléculas diana (habitualmente proteínas). El Ca^{2+} es de todos los iones presentes en medios biológicos, el más adecuado para cumplir funciones de regulación dadas sus características de radio iónico y carga eléctrica. El

ión Ca^{2+} se puede unir fuerte y selectivamente a proteínas debido a su capacidad de coordinación con átomos de oxígeno de glutamato, aspartato, glutamina y asparragina. Su unión a proteínas puede inducir cambios conformacionales de gran magnitud que actúan como señales de regulación ^[13].

Los centros de unión de Ca^{2+} no se pueden predecir analizando la estructura primaria de una proteína porque no son todos iguales. No obstante, hay un motivo estructural denominado hélice-lazo-hélice, también llamado mano EF, que es un tipo de centro de unión de Ca^{2+} que aparece en muchas proteínas implicadas en la unión y control del Ca^{2+} intracelular. Este tipo de centro se encuentra en las proteínas: parvalbúmina, troponina C y calmodulina. El coeficiente de difusión del Ca^{2+} en medio acuoso es de $1000 \mu\text{m}^2/\text{s}$ mientras que en extractos citoplásmicos de oocitos de *Xenopus laevis* es de $35 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Esta diferencia se debe a la alta viscosidad del medio intracelular y a la presencia de proteínas con alta afinidad y especificidad para unir Ca^{2+} ^[14]. Para nuestro caso se utilizara un coeficiente de difusión de $223 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ^[7].

A partir del coeficiente de difusión se puede calcular el radio de acción y así se ve que un ion Ca^{2+} no puede migrar más de $0,1-0,5 \mu\text{m}$ antes de unirse a alguna proteína. Esto equivale a 50 ms en unidades de tiempo. Si estos valores se comparan con los del regulador intracelular inositol trifosfato (IP_3) cuyo radio de acción es $24 \mu\text{m}$ podemos concluir que el efecto del Ca^{2+} es muy local y restringido a ciertos dominios mientras que el efecto de IP_3 se puede producir en dominios más amplios del citoplasma. Estos datos confirman que el medio intracelular no es un espacio uniforme con respecto a la distribución del Ca^{2+} ^[14]. Las concentraciones más altas se suelen encontrar en zonas donde hay proteínas con capacidad para unir Ca^{2+} . En unos casos se trata de puntos estáticos mientras que en otros son zonas móviles que cambian su localización con el tiempo ^[14].

La microscopia confocal de barrido ha permitido estudiar la naturaleza de la señal de Ca^{2+} . Utilizando miocitos aislados de corazón y el indicador fluorescente fluo-3 se ha podido demostrar la presencia de pequeñas regiones fluorescentes que se denominan destellos de Ca^{2+} (calcium sparks) [15].

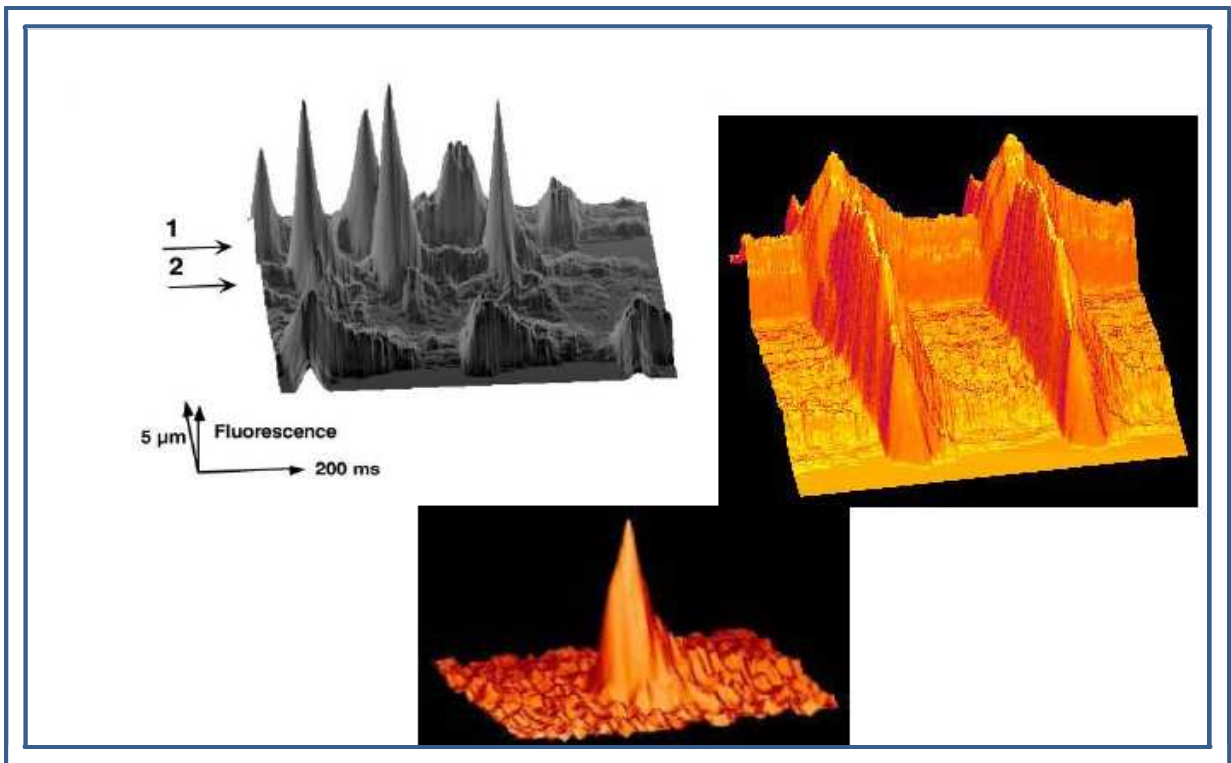


Figura 21: Gráfico de la fluorescencia superficial usando fluo-3 medido con un escáner confocal lineal en una célula estriada. Fuente: Localized intracellular calcium signaling in muscle: Calcium Sparks and Calcium Quarks.1999. Annu. Ver. Physiol. 61:311-35.

Esas regiones tienen aproximadamente $1,5 \mu\text{m}$ de radio y corresponden a elevaciones momentáneas de la concentración de Ca^{2+} . Aparecen en puntos concretos del citoplasma cuando la célula está en reposo y su localización varía con el tiempo (figura 21). Se estima que pueden haber unos 100 destellos/s en un miocito en reposo [15].

Cada destello hace que la concentración de Ca^{2+} en un punto del citoplasma se eleve desde aproximadamente $0.1 \mu\text{M}$ (nivel Basal) hasta aproximadamente $0.17 \mu\text{M}$ siendo aprox 20 ms el tiempo de desaparición de un destello. Cada destello se origina al abrirse un canal o un pequeño grupo de canales de la membrana plasmática o del retículo endoplasmico/ sarcoplásmico^[15].

Estas elevaciones momentáneas de Ca^{2+} se denominan componentes elementales de la señal, reciben distintos nombres (quark, spark, puff, bump, QED, STOC, etc.) y tienen distintos orígenes según el tipo de célula. Pueden actuar como señal de Ca^{2+} o bien se pueden coordinar para producir efectos mas duraderos y de mayor alcance como son las ondas de Ca^{2+} . La salida masiva de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico que se produce al despolarizar la membrana plasmática de un miocito es un ejemplo de onda de Ca^{2+} . Un detalle que resalta la complejidad de la señal de Ca^{2+} es la existencia de distintos tipos de ondas en distintos tipos de células dependiendo de los términos de reacción utilizados y de la geometría y obstáculos (organelos) que interfieren en la difusión del Ca^{2+} ^[15,16].

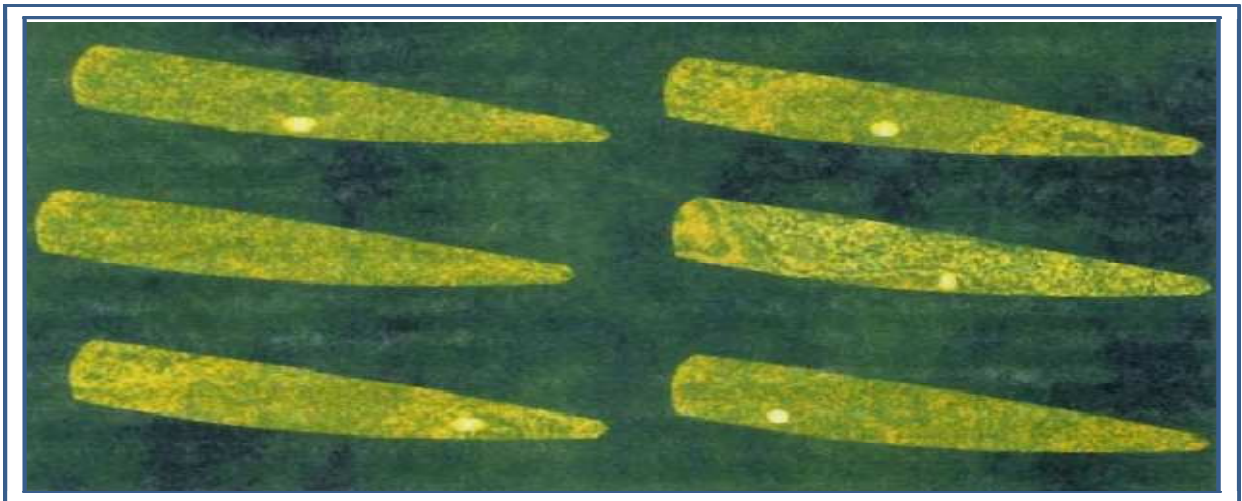


Figura 22. Destellos de Ca^{2+} en un miocito en estado de reposo. Las seis imágenes de microscopia confocal están tomadas cada 0,5 s. El indicador fluorescente es fluo-3. Barra de referencia= $14 \mu\text{m}$. Fuente: CANNELL, M.B., CHENG, H. y LEDERER, W.J. 1995: The control of calcium release in heart muscle. Science 268: 1045.

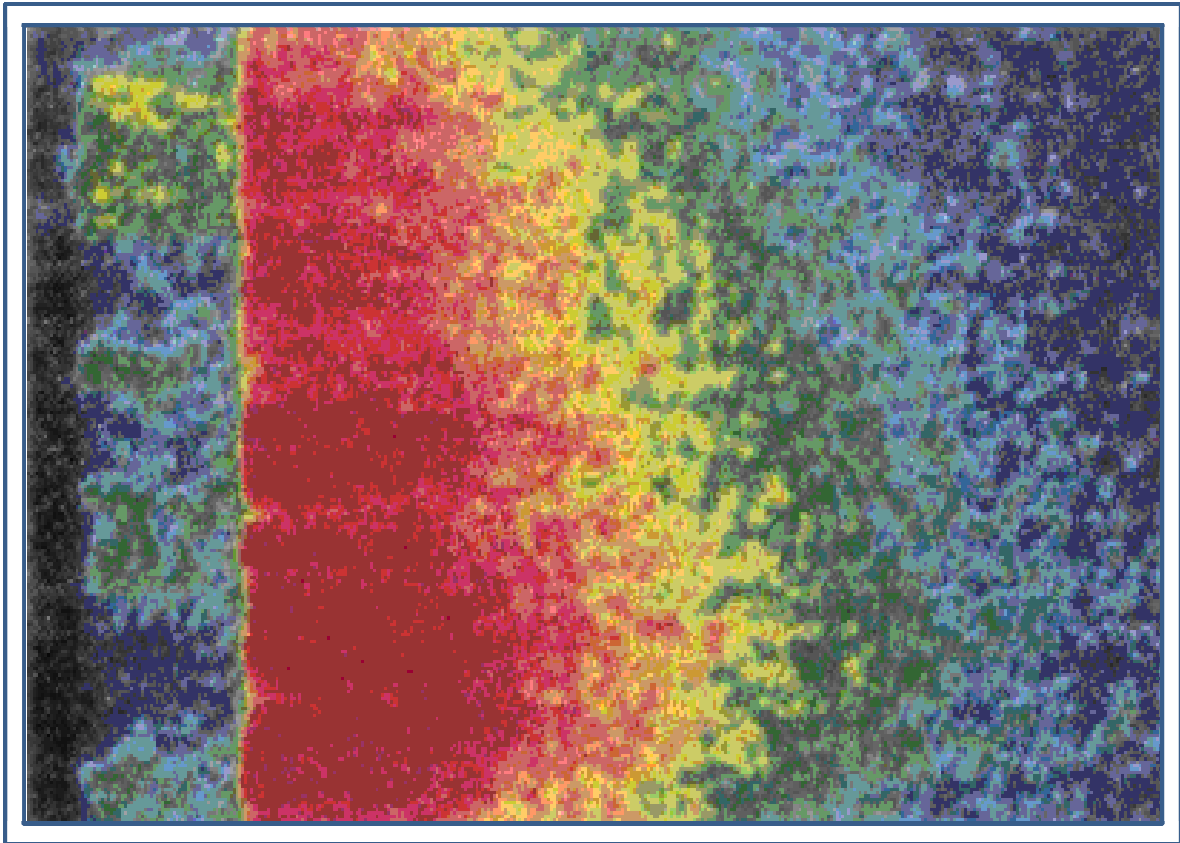


Figura 23. Onda de Ca^{2+} en el citoplasma de un miocito. La despolarización de la membrana plasmática provoca la salida masiva de Ca^{2+} desde el interior del retículo sarcoplásmico. La imagen corresponde a una microscopía confocal tras llenar la célula con el indicador fluorescente fluo-3. El tratamiento con pseudo-color permite mostrar distintas concentraciones de Ca^{2+} . el color rojo es la concentración más alta y el azul a la concentración es más baja. Fuente: CHENG, H., LEDERER, W.J. y CANNELL, M.B. 1993: Calcium sparks: elementary events underlying excitation contraction coupling in heart muscle. Science 262:740.

La concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma es en cada momento el balance entre los flujos de entrada, salida y amortiguación de este ión. Los sistemas de transporte mas importantes que controlan el nivel de Ca^{2+} en el citoplasma celular son los siguientes:

Los mecanismos ON y OFF que regulan la concentración intracelular de Ca^{2+} se discuten en el apartado 2.12

2.12 Calcio intracelular:

La concentración de este ión libre en el citosol resulta de la combinación de los aportes provenientes de bombas, transportadores, reservorios o amortiguadores. Ahora bien, el ión calcio puede ingresar a las células a través de canales de calcio insertados en la membrana plasmática o en membranas intracelulares. Una vez dentro del citoplasma el calcio puede difundir o unirse a estructuras móviles o inmóviles que pueden atraparlo por un tiempo breve y luego soltarlo nuevamente. Estas estructuras son generalmente proteínas y se denominan en inglés buffers (podríamos traducirlos como amortiguadores, pues en virtud de su capacidad de almacenar calcio podrían regular los cambios de la concentración intracelular de calcio) ^[17].

Por otro lado pueden ser exportadas hacia fuera de las células mediante otras proteínas llamadas transportadores o bombas. De este modo, hacer un modelo matemático de la concentración intracelular de calcio en todo el espacio interior de la célula en función del tiempo implica incorporar todos estos procesos. Para ello se puede emplear un sistema de ecuaciones llamadas de Reacción-Difusión, incorporando con sumo detalle todos y cada uno de los procesos comentados ^[17].

Una vez diferenciadas las células, el Ca^{2+} es utilizado como una señal intracelular para el control de diferentes procesos, entre los cuales se encuentran la contracción muscular, la secreción, el metabolismo, la excitabilidad y la proliferación celular. El Ca^{2+} no puede ser degradado como ocurre con otras moléculas que actúan como segundos mensajeros, por lo tanto, las células regulan estrictamente las concentraciones intracelulares de este ión ^[17].

En el agua de mar, donde se originó la vida, la concentración del otro catión divalente más común, el Mg^{2+} , es mayor que la del Ca^{2+} ; sin embargo, este no es excluido del citoplasma en la magnitud que ocurre con el Ca^{2+} . Una explicación para esta singularidad es la capacidad que posee el Ca^{2+} , en mayor grado que el Mg^{2+} , de precipitar al fosfato, el cual es empleado por las células para almacenar y utilizar la energía. Las principales fuentes de Ca^{2+} son el medio extracelular y algunos organelos intracelulares: el retículo endoplasmático (RE) o el retículo sarcoplasmático (RS) en las células musculares y las mitocondrias^[18].

Se plantea que el mecanismo general de acción del Ca^{2+} es el siguiente: cuando las concentraciones del Ca^{2+} citoplasmático se mantienen en niveles bajos (0.01-0.1 μM), las células permanecen quiescentes; sin embargo, cuando esas concentraciones se elevan (0.5 – 1 μM) dichas células se activan para realizar sus funciones específicas.

Existen sensores intracelulares responsables de la detección de los aumentos de Ca^{2+} , como son la calmodulina (CAM) y la troponina C (TnC). Esta señal es traducida en respuestas específicas de las células^[18].

La activación de las células está determinada por un balance entre mecanismos Ca^{2+} -ON y Ca^{2+} -OFF (figura 24). Como se detalla a continuación, todos los elementos que promueven la entrada de Ca^{2+} hacia el citosol forman parte de los mecanismos ON, y los que realizan la función contraria se incluyen en los mecanismos OFF.

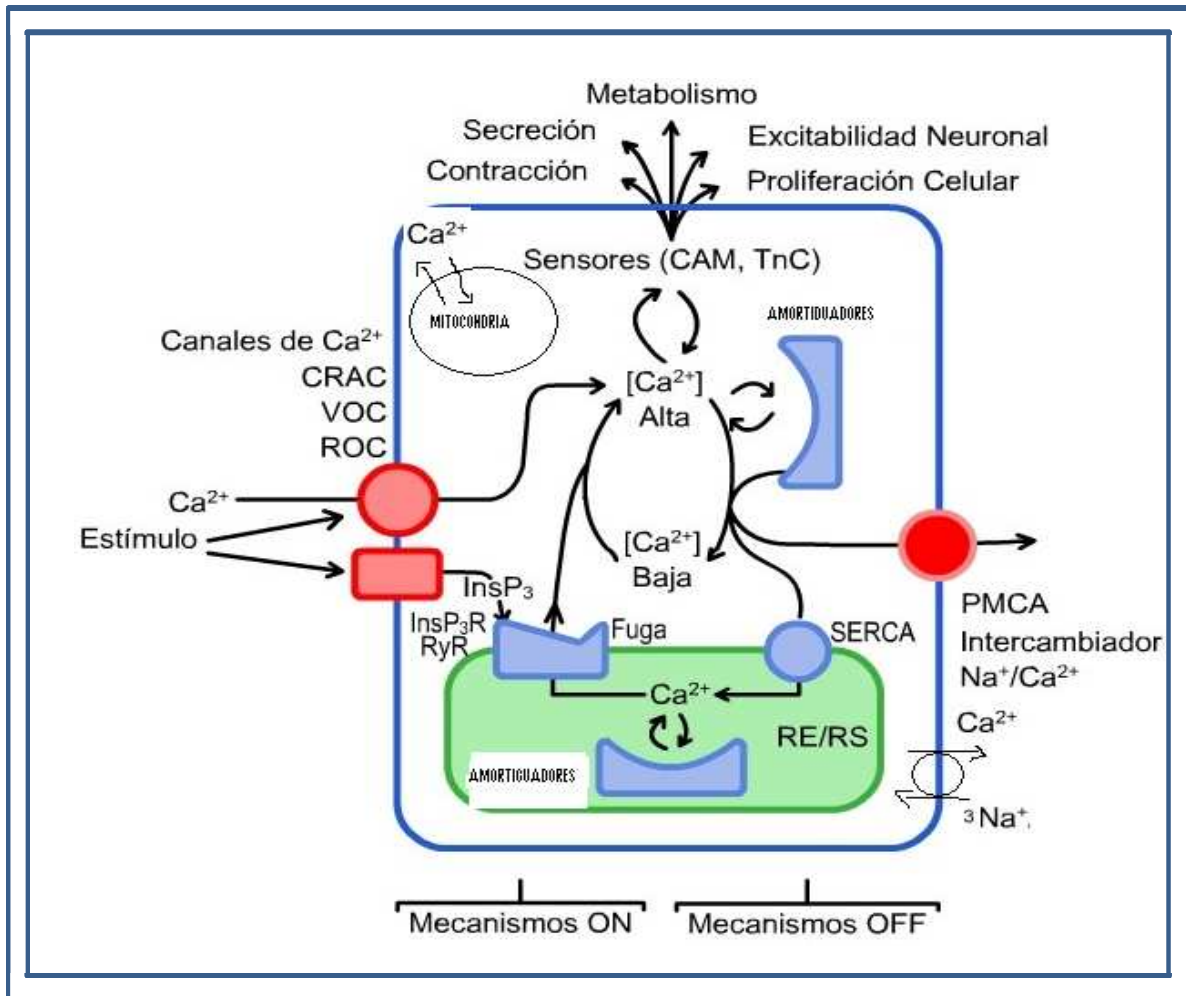


FIGURA. 24. Resumen de los principales mecanismos ON y OFF que regulan la concentración intracelular de Ca^{2+} . Los estímulos elevan su concentración mediante la activación de los mecanismos ON, los cuales promueven la entrada de Ca^{2+} externo y/o la liberación de Ca^{2+} de los reservorios intracelulares (RE/RS). Los cambios en Ca^{2+} son atenuados por amortiguadores situados ya sea en el retículo endoplasmático, como en el citoplasma. Los mecanismos OFF devuelven los bajos niveles o de "reposo" de Ca^{2+} mediante su extracción hacia el medio extracelular o hacia los reservorios intracelulares. Los efectos de una concentración elevada de Ca^{2+} están mediados por sensores como la calmodulina (CAM) o la troponina C (TnC) para la regulación de una gran variedad de actividades celulares. Fuente: Clapham DE. Calcium signaling. Cell 1995;80:259-268. www.bvs.sld.cu/.../end/vol14_3_03/f0108303.jpg.

2.13 Mecanismos de entrada del Ca^{2+} hacia el citosol (ON)

Las células presentan dos fuentes principales de Ca^{2+} : la extracelular y la existente en organelos intracelulares. El reservorio más importante de Ca^{2+} intracelular es el retículo endoplasmático, el cual es denominado retículo sarcoplasmático en las células musculares. La concentración de Ca^{2+} en el exterior de la célula ~20.000 veces mayor que en el citosol. Por otro lado, está cargado negativamente con respecto al exterior, así que existe un gradiente electroquímico que favorece la entrada de Ca^{2+} . Los 2 grupos de canales encargados de la liberación de Ca^{2+} hacia el citosol son: los canales de Ca^{2+} de la membrana plasmática y los canales de Ca^{2+} intracelulares ^[19].

El primer grupo se compone de los canales operados por voltaje (VOCs) (voltaje dependientes y los "sensor voltaje"), los canales regulados por ligando (ROC) y los canales activados por liberación intracelular de Ca^{2+} (CRAC). En el segundo grupo se incluyen los canales intracelulares: los receptores de inositol 1,4,5-trifosfato^[19] y los receptores de rianodina (RyRs)^[19]. Además, el Ca^{2+} puede salir del retículo endoplasmático a través de un mecanismo denominado "fuga de Ca^{2+} " ^[19].

2.14 Células no excitables:

En las células no excitables (no generan potencial de acción), como son las sanguíneas, los hepatocitos y las endoteliales, el incremento de las concentraciones de Ca^{2+} se realiza predominantemente a través de la vía del inositol 3-fosfato (InsP_3). Existen dos clases de receptores que conducen a la liberación de InsP_3 por diferentes vías: los receptores que se acoplan a la proteína G (GCR) y los receptores con función de tirosino-quinasa (RTK). Los receptores GCR activan a la fosfolipasa $\text{C}\beta$ mientras

que los RTK realizan la misma función sobre la fosfolipasa Cg. Ambas fosfolipasas catalizan la conversión del fosfatidilinositol (4,5) difosfato en InsP_3 y diacilglicerol [21].

El InsP_3 actúa como un segundo mensajero mediante su unión al receptor tetramérico del InsP_3 (~ 310 kD a cada subunidad) situado en la membrana del retículo endoplasmático y este produce la liberación de Ca^{2+} almacenado en este organelo. [22]. La liberación de Ca^{2+} por esta vía puede incrementar la concentración de Ca^{2+} citosólico desde ~0,1 hasta ~1 $\mu\text{mol/L}$. El receptor de InsP_3 se encuentra expresado, en mayor o en menor medida, en todos los tipos celulares. La unión del InsP_3 a cada subunidad del receptor ocurre en la región N-terminal cargada positivamente porque esta es rica en arginina y lisina. Esta unión puede ser bloqueada por la heparina y no se conoce otro antagonista efectivo hasta el momento [22].

El receptor de InsP_3 posee una homología parcial con el receptor de rianodina, mientras que esta semejanza no es significativa en relación con los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje. La región N-terminal de este receptor contiene dos sitios de unión a ATP y un sitio de unión al Ca^{2+} [22]. La regulación de la actividad del receptor de InsP_3 es compleja, pues este se desensibiliza por el propio InsP_3 , es sensible a las concentraciones de Ca^{2+} citoplasmático y puede ser fosforilado por la protein-quinasa A [23]. La sensibilidad de este receptor es mayor a concentraciones de InsP_3 entre 0,5 y 1 $\mu\text{mol/L}$; además, no es sensible al InsP_3 a muy altas o muy bajas concentraciones de Ca^{2+} citoplasmático [23,24].

2.15 Células excitables:

Las células excitables, como son las nerviosas y musculares, además de poseer el sistema descrito anteriormente para las no-excitables, poseen canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje. Estos canales de Ca^{2+} producen grandes incrementos de la

concentración citosólica de Ca^{2+} . Esto permite que las proteínas cercanas a la superficie interna de la membrana plasmática, (las cuales constituyen sensores de las variaciones de la concentración de Ca^{2+}), inicien funciones especializadas como son la exocitosis de neurotransmisores en las neuronas y la contracción en el músculo^[18].

La despolarización a partir del potencial basal de membrana (entre -90 y -70 mV, generalmente) inicia cambios conformacionales en los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, específicamente en regiones especiales sensibles a voltaje denominadas S4.^[18] Estos cambios conformacionales permiten el flujo de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática. Para el Ca^{2+} , el balance entre las fuerzas químicas y eléctricas es equivalente a la fuerza eléctrica resultante de un voltaje aproximado de +150 mV, por lo tanto, existe un gradiente favorable para la entrada de este ión en todos los potenciales de membrana fisiológicos (desde -90 hasta +60 mV).

La actividad de los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje está autolimitada, ya que estas proteínas se inactivan rápidamente después de la despolarización. Por otra parte, una despolarización de mayor magnitud sólo provocaría la disminución de la fuerza electroquímica que permite la entrada de Ca^{2+} al citoplasma. En las células excitables, la entrada de Ca^{2+} a través de los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje produce directamente la activación de los receptores de rianodina, los cuales provocan la liberación del Ca^{2+} acumulado en el retículo endoplasmático.^[18]

2.16 Receptores de rianodina:

El receptor de rianodina es tetramérico y está formado por subunidades de ~560 kDa de peso molecular relativo. Su función es modulada por Ca^{2+} , Mg^{2+} y ATP. Relativamente, el receptor de rianodina no es selectivo para los cationes aunque sí excluye a todos los aniones.^[18]

A principio de la década del 90, fue descrito que el vaciamiento de los reservorios intracelulares de Ca^{2+} inducía la entrada de este ión a través de la sarcolema por un mecanismo desconocido hasta ese momento. Este fenómeno se denominó entrada capacitiva de Ca^{2+} . Por ejemplo, la estimulación de los receptores muscarínicos tipo 3, los cuales incrementan las concentraciones de InsP_3 a través de la activación de la fosfolipasa $\text{C}\beta$, producen una elevación rápida y durante un período corto de las concentraciones de Ca^{2+} en el citosol como consecuencia de la salida de Ca^{2+} del retículo endoplasmático^[25].

La entrada de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática en ausencia de despolarización ha sido descrita por varios autores y esta pudiera ocurrir a través de los denominados canales activados por liberación de Ca^{2+} (CRAC); sin embargo, ninguno de estos supuestos canales iónicos ha sido purificado o clonado^[25].

Por otra parte, la corriente neta de Ca^{2+} relacionada con el mecanismo de entrada capacitiva es ~ 5 pA en una célula entera, a diferencia de los cientos de pA de corriente neta que atraviesan la membrana plasmática a través de los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje.^[25]

2.17 Amortiguadores y sensores de Ca^{2+} intracelular.

Las células poseen una gran variedad de proteínas que unen Ca^{2+} , y estas contribuyen a las señales mediadas por Ca^{2+} , ya sea cuando actúan como amortiguadores del Ca^{2+} libre, que modulan la respuesta celular, o cuando lo hacen como sensores que median el papel del Ca^{2+} como mensajero intracelular^[25].

Las proteínas capaces de funcionar como amortiguadores de Ca^{2+} se encuentran tanto en el citoplasma como en el interior del RE. Sólo una pequeña proporción de moléculas citoplasmáticas capaces de unir Ca^{2+} actúan como sensores, el resto parece funcionar exclusivamente como tampones. El Ca^{2+} unido a estos amortiguadores se encuentra en equilibrio con el Ca^{2+} citoplasmático libre y como los mecanismos de extrusión disminuyen la concentración del Ca^{2+} citosólico, la cantidad de Ca^{2+} unido a estos amortiguadores también disminuye [25].

La calsecuestrina es el principal amortiguador de Ca^{2+} en el retículo sarcoplasmático de los músculos estriados, y su función principal es el almacenamiento de Ca^{2+} en este organelo. Esta proteína de 45 kDa de peso molecular relativo facilita el transporte de Ca^{2+} desde los sitios de entrada a través de la Ca^{2+} -ATPasa del retículo sarcoplasmático hasta los sitios de liberación a través de los receptores de rianodina [26].

El punto isoeléctrico de este amortiguador se alcanza cuando el pH es 3,75 y posee más de un 30 % de residuos ácidos. La calsecuestrina se expresa también en el músculo liso y en otros tipos celulares como las neuronas e incluso en células de plantas [26].

La calreticulina, cuyo peso molecular relativo es de 60 kDa, se considera la proteína homóloga de la calsecuestrina en células no musculares, y aunque está presente en el retículo endoplasmático a altas concentraciones, también se expresa en el núcleo celular, contiene 37 residuos ácidos en el dominio cercano al extremo carboxilo-terminal y une Ca^{2+} de dos modos: con alta capacidad (25 meq/mol) y baja afinidad ($K_d \sim 250 \mu\text{M}$) y con baja capacidad (1 meq/mol) y alta afinidad ($K_d \sim 1 \mu\text{M}$) [26]. El extremo carboxilo terminal culmina con la secuencia señal KDEL (lisina-ácido aspártico-ácido

glutámico-leucina). Esta secuencia interactúa con el receptor KDEL, y por lo tanto, la calreticulina es retenida mayoritariamente en el retículo endoplasmático. Además de su función como amortiguador de Ca^{2+} , la calreticulina realiza otras funciones, dentro de las cuales se destacan la regulación de la proliferación celular y la transcripción génica^[26].

2.18 Relajación y amortiguadores de Calcio (Parvoalbúmina).

Una vez que cesa la actividad contráctil, la concentración de calcio en el citosol disminuye hasta la condición basal de $\sim (0,1\mu\text{M})$ debido a diversos mecanismos que actúan durante la relajación. De estos mecanismos los más importantes son:

1. Bombeo activo debido a bombas Ca-ATPasa ubicadas en el RS (SERCA), en este mecanismo los iones calcio son reingresados al interior del RS a través de estas bombas que consumen ATP.
2. Bufferado por proteínas ligantes de calcio donde la más importante en el músculo esquelético es la Parvalbúmina que presenta alta afinidad por el Ca^{+2} , captura este ión (intercambio Ca^{+2} - Mg^{+2} limitado por la velocidad de disociación del Mg^{+2}) hasta ubicarlo por difusión cerca de las bombas de calcio en el RS. SERCA tiene mayor afinidad por el Ca^{+2} que la parvalbúmina^[9].

El proceso de relajación tiene un consumo energético que está asociado al bombeo activo de los iones Ca^{+2} (se consume energía proveniente de la hidrólisis del ATP). Este proceso es llevado a cabo por la bomba Ca-ATPasa. La actividad de la bomba (controlada parcialmente por la concentración de Calmodulina y fosfolambano) genera un elevado gradiente de concentración a través del RS en el músculo en reposo^[10].

Al entrar los iones Ca^{+2} al RS, son separados de la bomba y tomados por proteínas que ligan Ca^{+2} , tales como la enzima ATPasa de alta afinidad y la CSQ de baja afinidad y alta capacidad. Puesto que cada bomba tiene una baja capacidad de transportar iones (20 iones/s), la superficie del RS contiene una enorme densidad de bombas de calcio. Se ha estimado que su número es casi igual al número de iones calcio liberados en una sacudida muscular simple. Por lo tanto, podemos suponer que cada ATPasa de calcio realiza en promedio un ciclo de transporte durante la relajación de una sacudida muscular simple [11].

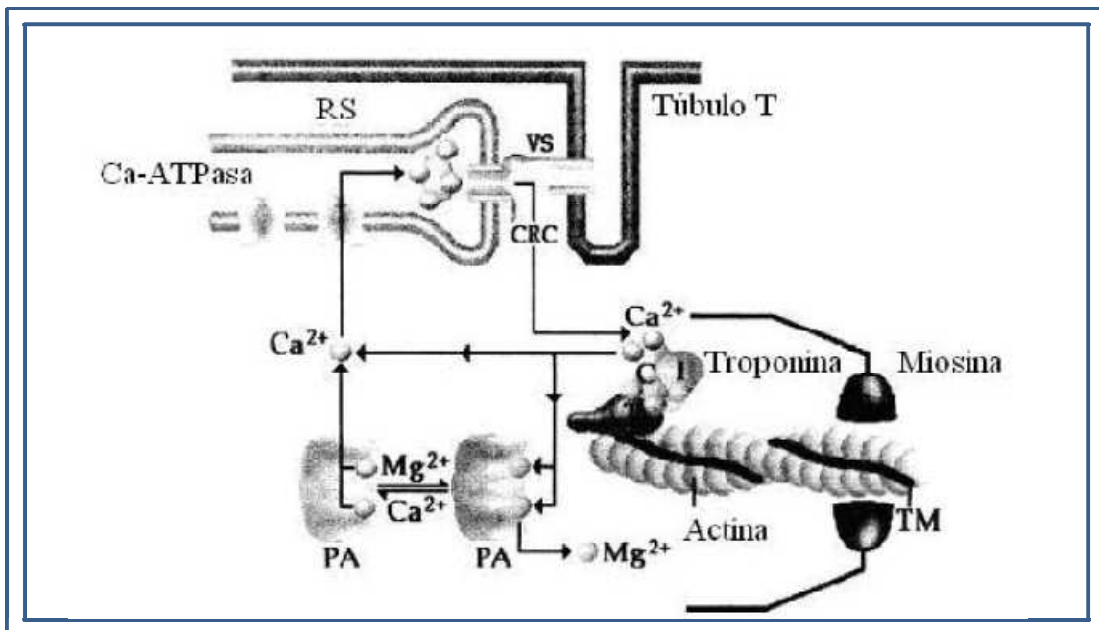


Figura 25: Control de Ca^{+2} en la contracción-relajación del músculo esquelético. Este esquema describe como la parvalbúmina podría acelerar la relajación en un músculo esquelético de contracción rápida. Con la estimulación muscular el potencial de acción viaja hasta los TT y activa sensores de voltaje los cuales causan la apertura de canales de liberación de Ca^{+2} en el RS. El Ca^{+2} liberado desde el RS se une preferencialmente con la troponina C para remover la inhibición de la tropomiosina y esto permite la interacción entre la miosina y la actina produciendo el desarrollo de fuerza muscular. Durante la contracción algunos Ca^{+2} son intercambiados por Mg^{+2} en la parvalbúmina dependiendo de la duración de la contracción. Durante la relajación Ca^{+2} es reingresado al RS via SERCA e intercambiado por Mg^{+2} en la parvalbúmina. Ambos mecanismos operan en paralelo para producir la relajación. Después de la relajación el Ca^{+2} unido a la parvalbúmina es reingresado al RS via SERCA por intercambio con Mg^{+2} . FUENTE: Rall, J.A. Role of Parvalbumin in Skeletal Muscle Relaxation. News Physiol. Sci. Vol11.December 1996. 249-255.

2.19 Mecanismos de extrusión del Ca^{2+} citoplasmático (OFF).

Una vez que el Ca^{2+} citoplasmático alcanza el nivel umbral para generar señales de activación de la célula, se desencadenan los procesos que promueven el retorno al estado basal de la concentración de Ca^{2+} . Estos procesos son muy activos, pues deben extraer no sólo el Ca^{2+} libre sino también el Ca^{2+} unido a amortiguadores y sensores cuando el catión se disocia de estos. La eliminación del Ca^{2+} citoplasmático es realizado por bombas e intercambiadores ^[26].

2.20 Las Ca^{2+} -ATPasas.

Las células disponen de 2 familias de Ca^{2+} -ATPasas: la Ca^{2+} -ATPasa de la membrana plasmática (PMCA) y la Ca^{2+} -ATPasa del retículo sarco/endoplasmático (SERCA),^[15] cuyas funciones son transportar el Ca^{2+} introducido en el citoplasma hacia el medio extracelular o hacia el retículo endoplasmático, respectivamente. Ambas Ca^{2+} -ATPasas utilizan el ATP como fuente de energía para transportar Ca^{2+} contra el gradiente electroquímico existente a través de las membranas donde estas se localizan. ^[27] Ellas son miembros de las ATPasas tipo P, pues forman un intermediario covalentemente fosforilado durante el ciclo de reacción.

La PMCA es una proteína de ~135 kDa de la cual se han descrito hasta la actualidad 4 isoformas. Cada isoforma de la PMCA puede mostrar variabilidad estructural, la cual es generada por empalmes alternativos de los transcritos primarios. Esta proteína parece estar expresada en todas las células eucarióticas y se considera que constituye el principal transportador de Ca^{2+} de alta afinidad localizado en la membrana plasmática. La PMCA posee 10 segmentos que atraviesan la membrana plasmática, mientras que los extremos carboxilo y amino se localizan en la parte citoplasmática de esta ^[27].

La mayor parte de la PMCA se encuentra localizada hacia el citosol y consiste en 3 grandes fragmentos: un lazo intracelular limitado por los segmentos transmembrana 2 y 3, otro entre los segmentos 4 y 5, y finalmente una larga "cola" a continuación del último segmento transmembrana. El segundo lazo (constituido por ~400 residuos) contiene el dominio catalítico el cual incluye el sitio de unión del ATP y el residuo de aspartato que forma el intermediario acil fosfato durante la hidrólisis del ATP [28].

La extensa "cola" carboxiterminal constituye el principal dominio regulatorio de la PMCA. El complejo Ca^{2+} -calmodulina se une a una secuencia situada a una distancia de ~40 aminoácidos posterior al último segmento transmembrana. En ausencia de Ca^{2+} -calmodulina esta secuencia actúa como un dominio autoinhibitorio, pues interactúa con dos sitios situados en el primer y segundo lazos citosólicos, mientras mantienen a la proteína en un estado inactivo [28].

Cuando se incrementa la concentración de Ca^{2+} en el citosol, aumenta también la concentración del complejo Ca^{2+} -calmodulina, el cual se une con alta afinidad al sitio autoinhibitorio. Consecuentemente, la PMCA se libera de la autoinhibición y su actividad se recupera. La K_m para el Ca^{2+} de la PMCA es 0,4-0,7 μM en presencia de Ca^{2+} -calmodulina [29].

La estructura de la SERCA se asemeja considerablemente a la estructura de la PMCA. La diferencia estructural principal entre ambas bombas está confinada a la "cola" carboxi-terminal. Este segmento es mucho más pequeño en la SERCA (~20-50 residuos) que en la PMCA (~70-200 residuos). El peso molecular relativo de la SERCA es de ~110 kDa y transporta (dos) 2 iones Ca por cada ATP hidrolizado, a diferencia de la PMCA, la cual transporta solo (uno)1 [25].

Mediante estudios de mutagénesis se han identificado 2 sitios (I y II) de alta afinidad por el Ca^{2+} en la SERCA, formados en su mayor parte por residuos ácidos conservados en todas las bombas tipo P. Estos sitios se encuentran localizados dentro de los segmentos transmembrana 4, 5 y 6. La PMCA, sin embargo, conserva sólo el sitio II. La

SERCA, además, contiene secuencias que interactúan con la taspigargina, su inhibidor específico, el cual fue aislado originalmente de la planta *Thapsia garganica*^[30].

La actividad de la SERCA se regula mediante el fosfolambano, una proteína pentamérica de bajo peso molecular (6 kDa). Cuando el fosfolambano se encuentra en su forma no fosforilada disminuye la afinidad de SERCA por el Ca^{2+} . Al ser fosforilado, aumenta la afinidad de ésta por el Ca^{2+} y su capacidad transportadora^[95].

2.21 El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrana plasmática

En la década de los años 60, se obtuvieron las primeras evidencias acerca de la existencia del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en el músculo cardíaco^[32,33] y desde entonces esta proteína ha sido detectada virtualmente en todos los tejidos^[34] y en especies, como el hombre,^[35] el perro,^[36] el calamar^[37] y la mosca de la fruta.^[38]

El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) se encuentra en la membrana plasmática y sin consumo directo de ATP, utiliza la energía almacenada en el gradiente electroquímico de Na^+ para extraer Ca^{2+} de la célula^[31]. Este mecanismo de extrusión está más desarrollado en células excitables como son las neuronas, el músculo cardíaco y liso, y en células neuroendocrinas, como las β pancreáticas.

El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ puede, en ocasiones, operar en el modo reverso y causar influjo de Ca^{2+} , como ocurre en el potencial de acción cardíaco, donde un incremento temporal de la concentración de Na^+ en el citosol (por ejemplo, bloqueando la bomba Na^+/K^+) revierte la dirección de operación del intercambiador, que resulta en un rápido influjo de Ca^{2+} . Todas las formas del movimiento de iones del intercambiador se resumen en la figura 26^[31].

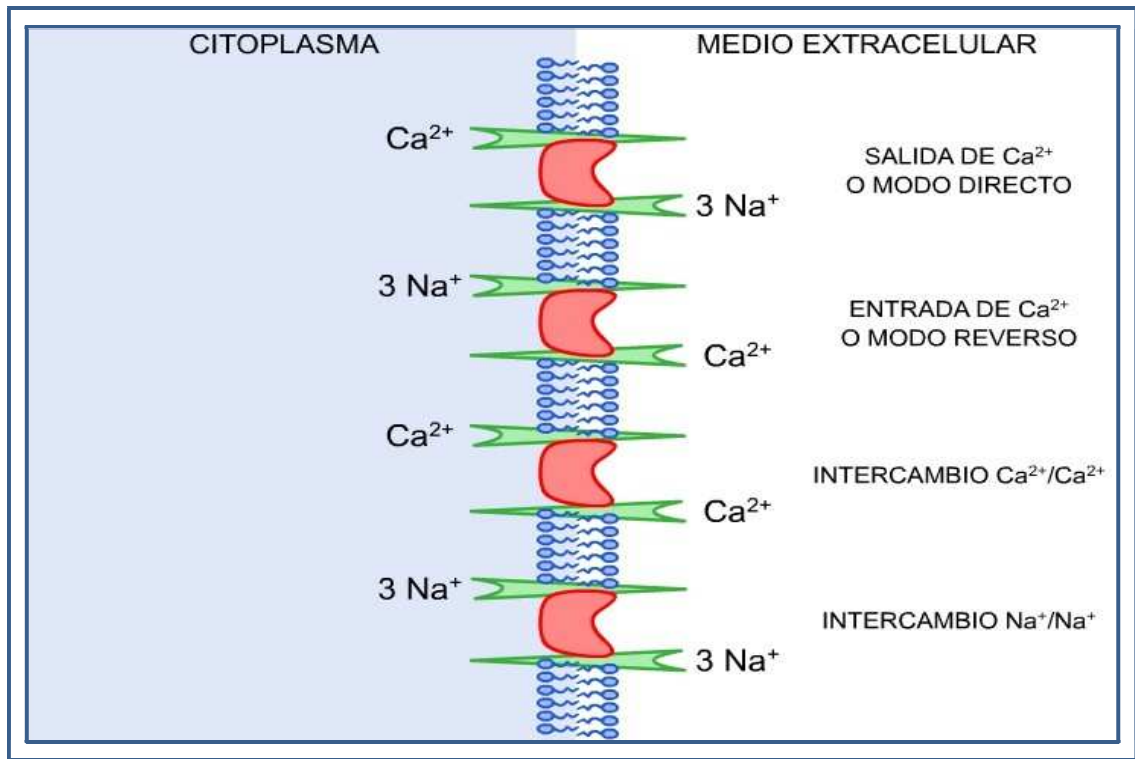


Figura 26. Diferentes modos de transporte de iones vía el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Fuente: Clapham DE. Calcium signaling. Cell 1995;80:259-268. www.bvs.sld.cu/.../end/vol14_3_03/f0208303.jpg.

El intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ es electrogénico, pues su estequiometría es $3\text{Na}^+:1\text{Ca}^{2+}$.^[39,40] Por lo tanto, se crea una corriente eléctrica hacia el citoplasma por el movimiento de una carga positiva neta. Además, el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ es sensible a cambios en el potencial de membrana y al gradiente de Na^+ . Recientemente, determinaciones realizadas del potencial reverso de la corriente del intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, han sugerido que la estequiometría de la proteína intercambiadora pudiera ser de $4\text{Na}^+:1\text{Ca}^{2+}$ y que esta varía en dependencia de las concentraciones iónicas de Na^+ y Ca^{2+} en el lado citoplasmático^[41].

El intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ es una reacción que incluye 2 sustratos y su mecanismo puede ser clasificado como secuencial o consecutivo (ping-pong). En el mecanismo consecutivo, el primer sustrato está unido por la proteína y el primer producto es liberado antes de la unión del segundo sustrato, mientras que en el secuencial, ambos sustratos se unen a la proteína antes de la liberación de los productos.

Mediante la determinación de las velocidades iniciales de incorporación de Ca^{2+} dependiente de Na^+ a proteoliposomas reconstituidos con el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, donde se incorporó el agente quelante EDTA y el estudio de los parámetros cinéticos, se propuso que el intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ se realiza a través de un mecanismo consecutivo^[42].

De igual forma, la utilización de técnicas electrofisiológicas de alta resolución ha permitido resolver ciclos de reacciones parciales en el intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ^[43]. Aparentemente, el paso electrogénico de este mecanismo de transporte iónico incluye la translocación del ion sodio, mientras que el movimiento del Ca^{2+} es electroneutral. Esto último implica que 2 cargas negativas pertenecientes a la proteína del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ atraviesan el campo eléctrico creado a través de la membrana plasmática mediante cambios conformacionales que acompañan el transporte iónico.^[44,45] El ciclo de reacción hipotético para el intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ se muestra en la figura 27.^[46,47]

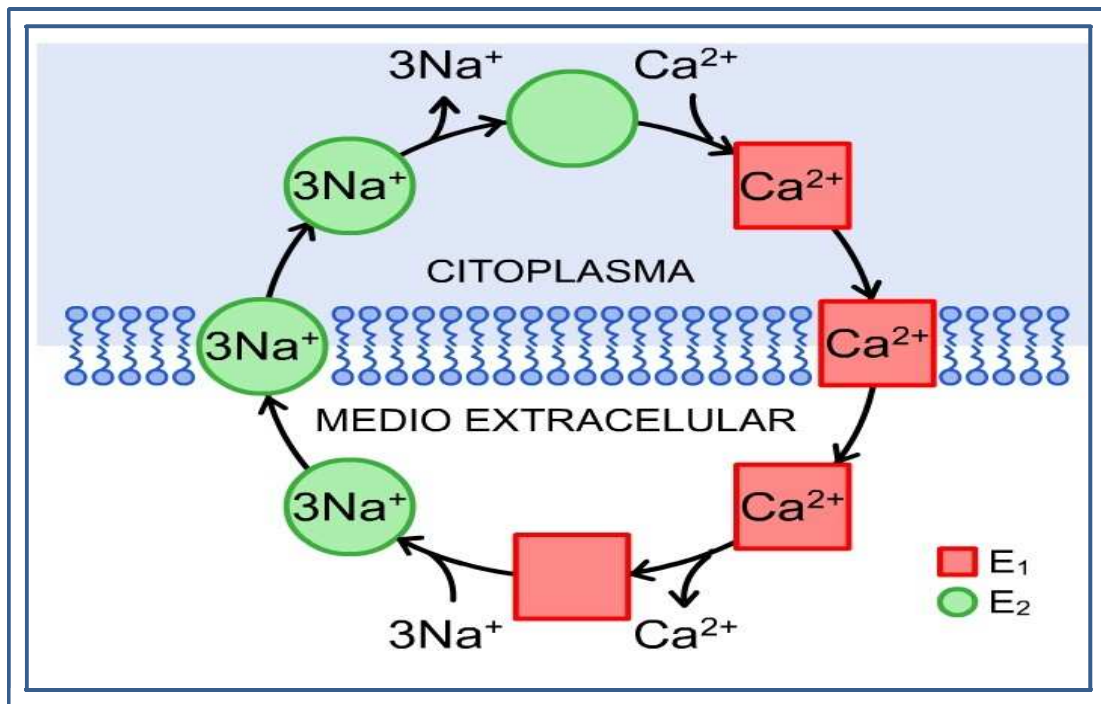


Figura. 27. Mecanismo de intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en el modo directo (extrusión de Ca^{2+}). El intercambiador expone su sitio de unión a iones hacia el lado citoplasmático (conformación E2), une un Ca^{2+} y provoca así un cambio de conformación hacia E1. Posteriormente el Ca^{2+} es liberado en el lado extracelular, se unen 3Na^+ y ocurre un cambio de conformación de regreso hacia E2. El sitio que une Na^+ se expone hacia la cara citoplasmática, se liberan los iones de Na^+ , y el intercambiador vuelve a unir Ca^{2+} para completar el ciclo. Fuente: Clapham DE. Calcium signaling. Cell 1995;80:259-268. www.bvs.sld.cu/.../end/vol14_3_03/f0308303.jpg.

2.22 Técnicas experimentales para la determinación del calcio

Desde los años 20, los científicos han procurado medir $[\text{Ca}^{2+}]_i$, pero con mucha imprecisión. En los años 80, Tsien y sus colegas produjeron una variedad de indicadores fluorescentes químicos.

Estos reactivos han proporcionado métodos dignos de confianza para la medición de $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Con el advenimiento del microscopio confocal de la exploración de láser (CLSM)

en los años 80, la medición del Ca^{2+} intracelular ha acelerado perceptiblemente y más recientemente, con la microscopía multifotónica.^[76]

Entre las técnicas de medición se tienen las ópticas y las no ópticas. Las técnicas ópticas se basan en la medición de la fluorescencia. De las no ópticas se tienen, la electrofisiológica, los electrodos selectivos de Calcio, vibración de Ca^{2+} -sonda selectiva. Las que miden fluorescencia son las más aplicadas.^[76]

Las sustancias fluorescentes se pueden clasificar en: químicos fluorescentes y bioluminescente. Los químicos fluorescentes se dividen a su vez dependiendo en qué parte del espectro emiten bien sea en el UV o visible. Los bioluminescentes se dividen en las fotoproteínas de enlace a Ca^{2+} y los indicadores verde fluorescente a base de proteína Ca^{2+} .^[76]



Figura 28. Imagen del Microscopio Láser Confocal Leica TCS SP2 AOBS. Rapid Scanning Confocal Microscopy. Cell Biological Applications of Confocal Microscopy. Edited by M. Matsumoto. Fuente: www.vet.unicen.edu.ar/..Microscopia%20de%20laser%20confocal%20PDF.pdf. 2006.

OPTICAS	NO OPTICAS
<p>Electrofisiologicas: Corrientes del ión Ca^{2+}. No detecta cambios absolutos de $[Ca^{2+}]$.</p>	<p>El multiparámetro digital con microscopía de vídeo: Una sola célula viva es etiquetada por múltiples indicadores.</p>
	<p>Microscopía laser de excitación (TPLSM Two-photon excitation laser scanning microscopy): Una molécula es excitada por dos fotones individuales simultáneamente.</p>
<p>Electrodos selectivos de calcio: el tiempo de respuesta a cambios de $[Ca^{2+}]$ es lento (0.5-1 s).</p>	<p>Citometría de flujo: Medición de un gran número de células, en forma individual, en un período muy corto de tiempo mientras se desplazan en un sistema de flujo o torrente líquido.</p>
	<p>Tubo fotomultiplicador: La intensidad de luz es recibida por una película de fotocátodo que emite fotoelectrones.</p>
<p>Vibración de Ca^{2+} - sonda selectiva: Mide corrientes extracelulares de iones. Detecta diferencias $[Ca^{2+}]$ de picomoles.</p>	<p>Microscopía láser confocal: Elimina la luz procedente de los planos fuera del foco. El microscopio confocal trabaja con epiluminación, es decir, con muestras que reflejan la luz o emiten fluorescencia.</p>

Tabla 1. Técnicas de medición del calcio intracelular. Fuente: Takahashi, A., Camacho, P. Measurement of Intracellular Calcium. Physio. Rev. 1999. Vol. 79, No. 4.

CAPITULO III:

Modelos matemáticos

3. Modelos matemáticos. Método de elementos finitos.

El modelo propuesto es del tipo físico-químico y utiliza elementos finitos para resolver la ecuación diferencial {38} (vista más adelante). Esto nos permitiría estudiar la dinámica del ión de calcio en el citosol de células de musculo esquelético.

El Método de Elementos Finitos (MEF en castellano o FEM en inglés) es un método numérico avanzado que permite obtener una aproximación de la solución de un problema de contorno, asociado a una ecuación diferencial, ordinaria o en derivadas parciales, bajo ciertas condiciones de frontera. Este método consiste básicamente, en aproximar la solución de un problema de frontera, por la solución del problema equivalente planteado sobre un subespacio de dimensión finita, lo cual caracteriza e identifica al MEF como esquema de Galerkin continuo. Usualmente la base de este espacio es generado por funciones lineales, que en el caso de mejorar la precisión de la solución se tendría que realizar un refinamiento de malla, lo que conduce a la búsqueda de algoritmos de convergencia rápida para la resolución de grandes sistemas de ecuaciones lineales. El hecho de elevar el grado de las funciones de interpolación polinomial y continuas a trozos, asociadas al subespacio respectivo a cada elemento, puede ser otra alternativa; en este sentido, requiere previamente un análisis del algoritmo para mejorar la precisión y el tiempo de proceso computacional.

El Método de Galerkin es una técnica que proporciona el marco general para la aproximación de algunos problemas variacionales, en la práctica, se convierte en un

algoritmo especial de discretización, que mediante la definición de una combinación lineal sobre un espacio de dimensión finita, se le denomina, Método de Elementos Finitos, (MEF). Su aplicación es muy importante, por ser muy usual en la resolución numérica de problemas de valores de frontera que con frecuencia se presentan en modelaciones fenomenológicas de la ciencia e ingeniería.

El MEF está pensado para ser usado en computadoras y permite resolver ecuaciones diferenciales asociadas a un problema físico sobre geometrías complicadas. El MEF se usa en el diseño y mejora de productos y aplicaciones industriales, así como en la simulación de sistemas físicos y biológicos complejos. La variedad de problemas a los que puede aplicarse ha crecido enormemente, siendo el requisito básico que las ecuaciones constitutivas y ecuaciones de evolución temporal del problema a considerar sean conocidas de antemano^[89].

El MEF permite obtener una solución numérica aproximada sobre un cuerpo, estructura o dominio (medio continuo) sobre el que están definidas ciertas ecuaciones diferenciales en forma débil (o integral), que caracterizan el comportamiento físico del problema dividiéndolo en un número elevado de subdominios no-intersectantes entre sí denominados «elementos finitos». El conjunto de elementos finitos forma una partición del dominio también denominada discretización. Dentro de cada elemento se distinguen una serie de puntos representativos llamados «nodos». Dos nodos son adyacentes si pertenecen al mismo elemento finito; además, un nodo sobre la frontera de un elemento finito puede pertenecer a varios elementos. El conjunto de nodos considerando sus relaciones de adyacencia se llama «malla»^[89].

Típicamente el método de los elementos finitos se programa computacionalmente para calcular el campo de desplazamientos y, posteriormente, a través de relaciones cinemáticas y constitutivas las deformaciones y tensiones respectivamente, cuando se

trata de un problema de mecánica de sólidos deformables o más generalmente un problema de mecánica de medios continuos. El método de los elementos finitos es muy usado debido a su generalidad y a la facilidad de introducir dominios de cálculo complejos (en dos o tres dimensiones). Además el método es fácilmente adaptable a problemas de transmisión de calor, de mecánica de fluidos para calcular campos de velocidades y presiones (mecánica de fluidos computacional, CFD) o de campo electromagnético. Dada la imposibilidad práctica de encontrar la solución analítica de estos problemas, con frecuencia en la práctica ingenieril los métodos numéricos y, en particular, los elementos finitos, se convierten en la única alternativa práctica de cálculo^[89].

Los cálculos se realizan sobre una malla de puntos (llamados nodos), que sirven a su vez de base para discretización del dominio en elementos finitos. La generación de la malla se realiza usualmente con programas especiales llamados generadores de mallas, en una etapa previa a los cálculos que se denomina pre-proceso. De acuerdo con estas relaciones de adyacencia o conectividad se relaciona el valor de un conjunto de variables incógnitas definidas en cada nodo y denominadas grados de libertad. El conjunto de relaciones entre el valor de una determinada variable entre los nodos se puede escribir en forma de sistema de ecuaciones lineales (o linealizadas). La matriz de dicho sistema de ecuaciones se llama matriz de rigidez del sistema. El número de ecuaciones de dicho sistema es proporcional al número de nodos^[89].

Una importante propiedad del método es la convergencia; si se consideran particiones de elementos finitos sucesivamente más finas, la solución numérica calculada converge rápidamente hacia la solución exacta del sistema de ecuaciones^[89].

3.1 Descripción del Método de los Elementos Finitos (MEF)

Es un método que surgió en el área de la mecánica del medio continuo, donde el continuo (cuerpo) se divide en un gran número de partes (elementos), es por esto que

para explicar su funcionamiento comenzaremos su análisis considerando un cuerpo continuo tridimensional que ocupa un volumen V y tiene superficie S . Los puntos del cuerpo están identificados por las coordenadas (x, y, z) , la frontera del cuerpo se restringe a la región donde se especifica el desplazamiento. Sobre una parte de la frontera se aplica una fuerza distribuida por unidad de área \mathbf{T} , llamada también tracción. Debido a la acción de la fuerza el punto $\mathbf{x} (= [x \ y \ z]^T)$ presenta un desplazamiento^[94]:

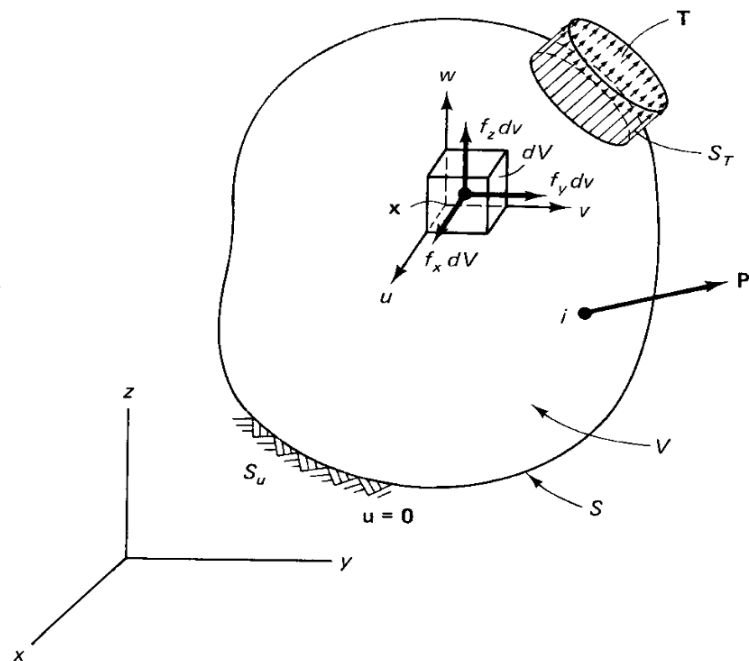


Figura 29. Cuerpo tridimensional Fuente: Chandrupatla, T.; A. Belegundu. 1999. Introducción al Estudio de Elementos Finitos en Ingeniería. 2 ed. México, Prentice Hall.

$$\mathbf{u} = [\Delta x \ \Delta y \ \Delta z]^T = [u \ v \ w]^T \quad \{1\}$$

La fuerza distribuida por unidad de volumen (por ejemplo, el peso por unidad de volumen) es el vector \mathbf{f} dado por:

$$\mathbf{f} = [f_x \ f_y \ f_z]^T \quad \{2\}$$

En la Figura 29 se muestra la fuerza que actúa sobre el volumen elemental dV . La tracción superficial \mathbf{T} (por ejemplo, las fuerzas de contacto, una de las cuales es la presión) se representa por el valor de sus componentes en los puntos de la superficie sobre las que actúa^[94]:

$$\mathbf{T} = [T_x \ T_y \ T_z]^T \quad \{3\}$$

Una carga \mathbf{P} actuando en un punto i se representa por:

$$\mathbf{P}_i = [P_x \ P_y \ P_z]^T_i \quad \{4\}$$

Las deformaciones (ϵ) correspondientes a los desplazamientos \mathbf{u} son:

$$\begin{aligned} \epsilon_x &= \frac{\partial u}{\partial x} & \epsilon_{xy} &= \frac{\gamma_{xy}}{2} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \right) \\ \epsilon_y &= \frac{\partial v}{\partial y} & \epsilon_{yz} &= \frac{\gamma_{yz}}{2} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial w}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial z} \right) \\ \epsilon_z &= \frac{\partial w}{\partial z} & \epsilon_{xz} &= \frac{\gamma_{xz}}{2} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial w}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial z} \right) \end{aligned} \quad \{5\}$$

Puede verse claramente que ϵ es un tensor simétrico el cual generalmente es representado por sus seis componentes independientes^[94]:

$$\begin{aligned} \epsilon &= \begin{bmatrix} \epsilon_x & \epsilon_{xy} & \epsilon_{xz} \\ \epsilon_{xy} & \epsilon_y & \epsilon_{yz} \\ \epsilon_{zx} & \epsilon_{zy} & \epsilon_z \end{bmatrix} \\ &= [\epsilon_x \ \epsilon_y \ \epsilon_z \ \gamma_{yz} \ \gamma_{xz} \ \gamma_{xy}]^T \end{aligned}$$

Los esfuerzos (σ) que generan estas deformaciones también se representan por un tensor simétrico^[94]:

$$\bar{\bar{\sigma}} = \begin{bmatrix} \sigma_x & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{xy} & \sigma_y & \tau_{yz} \\ \tau_{zx} & \tau_{zy} & \sigma_z \end{bmatrix}$$

$$\bar{\bar{\sigma}} = [\sigma_x \ \sigma_y \ \sigma_z \ \tau_{yz} \ \tau_{xz} \ \tau_{xy}]^T$$

3.2 Relaciones de esfuerzo – deformación

Para materiales elásticos lineales, las relaciones de esfuerzo – deformación se expresan mediante la ley de Hooke generalizada:

$$\bar{\bar{\sigma}} = \mathbf{D} \bar{\bar{\varepsilon}} \quad \{6\}$$

Donde \mathbf{D} es la matriz simétrica del material, para materiales isotrópicos depende sólo del Módulo de Young (E) y la relación de Poisson ν (es la relación entre la deformación transversal y la longitudinal) ^[94].

Para problemas unidimensionales:

$$\mathbf{D} = E$$

Para problemas bidimensionales:

$$\mathbf{D} = \frac{E}{1-\nu^2} \begin{bmatrix} 1 & \nu & 0 \\ \nu & 1 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1-\nu}{2} \end{bmatrix}$$

Para problemas tridimensionales:

$$\mathbf{D} = \frac{E}{(1+\nu)(1-2\nu)} \begin{bmatrix} 1-\nu & \nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & 1-\nu & \nu & 0 & 0 & 0 \\ \nu & \nu & 1-\nu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0.5-\nu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0.5-\nu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0.5-\nu \end{bmatrix}$$

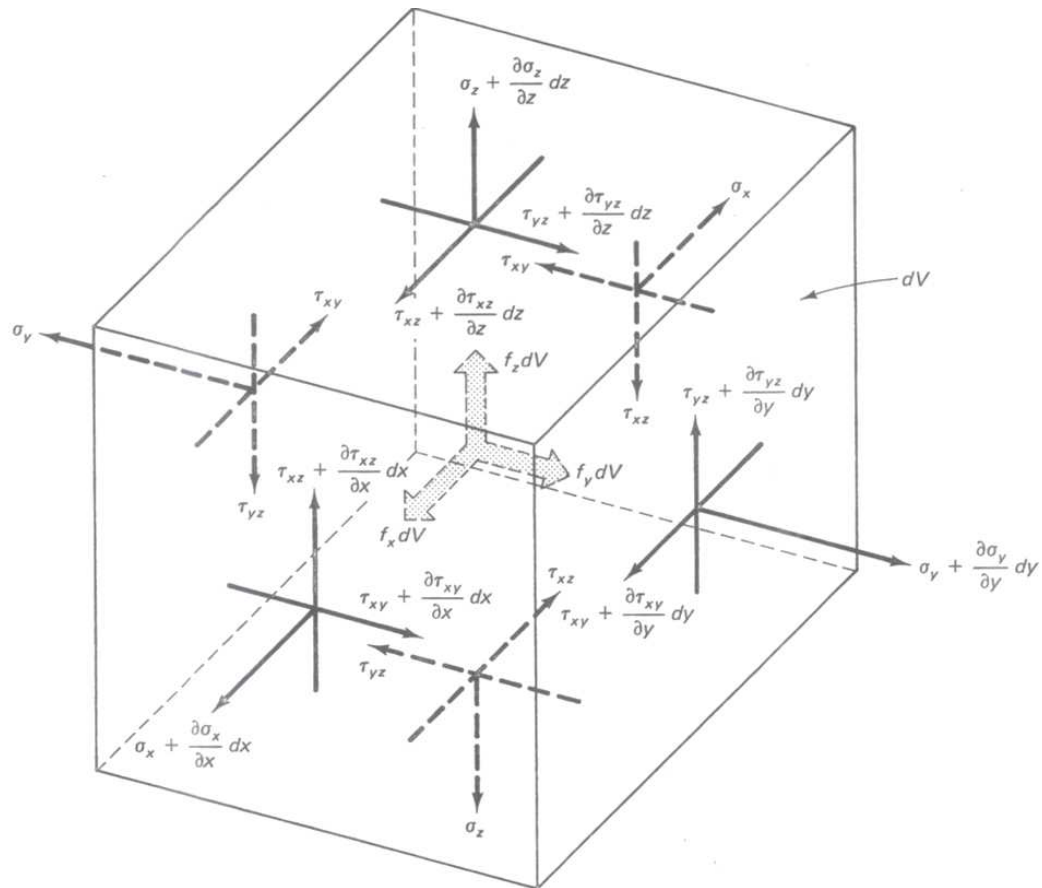


Figura 30. Equilibrio de un volumen elemental. Fuente: Chandrupatla, T.; A. Belegundu. 1999. Introducción al Estudio de Elementos Finitos en Ingeniería. 2 ed. México, Prentice Hall.

Las ecuaciones de equilibrio dinámico para un elemento diferencial (Figura 30) pueden escribirse de la forma:

$$\nabla \cdot \bar{\sigma} + \mathbf{f} = \mathbf{0} \quad \text{o bien:}$$

$$\left[\begin{array}{ccc} \frac{\partial}{\partial x} & \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial}{\partial z} \end{array} \right] \left[\begin{array}{ccc} \sigma_x & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{xy} & \sigma_y & \tau_{yz} \\ \tau_{xz} & \tau_{yz} & \sigma_z \end{array} \right] + [f_x \quad f_y \quad f_z] = [0 \quad 0 \quad 0]$$

Lo que nos lleva al siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \sigma_x}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial z} + f_x &= 0 \\ \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_y}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial z} + f_y &= 0 \\ \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_z}{\partial z} + f_z &= 0 \end{aligned} \quad \{7\}$$

En el análisis del cuerpo tridimensional de la Figura 30 se puede observar que hay condiciones de desplazamiento en la frontera y condiciones de carga en la superficie. Si \mathbf{u} se especifica sobre parte de la frontera denotada por S_u , se tiene $\mathbf{u} = \mathbf{0}$ en S_u . También es posible considerar las condiciones de frontera $\mathbf{u} = \mathbf{a}$ donde \mathbf{a} es un desplazamiento previamente definido.

Consideremos ahora el equilibrio del tetraedro elemental de Cauchy $ABCD$ mostrado en la Figura 31, donde DA , DB , DC son paralelos a los ejes x , y y z respectivamente, y dA es el área definida por los vértices ABC . Si $\mathbf{n} = [n_x \quad n_y \quad n_z]^T$ es la normal unitaria a dA , entonces tendremos que el área $BDC = n_x dA$, el área $ADC = n_y dA$ y el área $ADB = n_z dA$. La consideración del equilibrio a lo largo de los tres ejes coordenados arroja el resultado ^[94]:

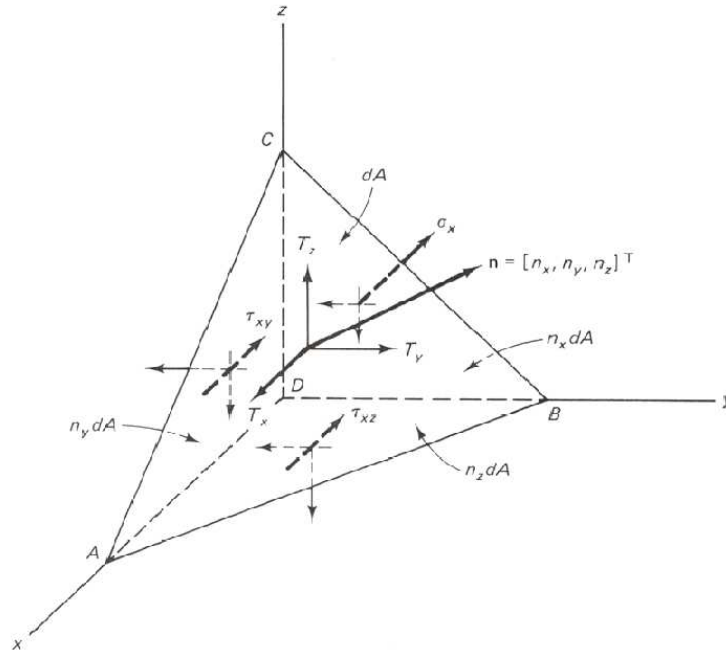


Figura 31. Volumen elemental en la superficie. Fuente: Chandrupatla, T.; A. Belegundu. 1999. Introducción al Estudio de Elementos Finitos en Ingeniería. 2 ed. México, Prentice Hall.

$\bar{\sigma} \cdot \mathbf{n}|_{S_T} = \mathbf{T}$ o bien:

$$\begin{bmatrix} \sigma_x & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{xy} & \sigma_y & \tau_{yz} \\ \tau_{xz} & \tau_{yz} & \sigma_z \end{bmatrix} \begin{bmatrix} n_x \\ n_y \\ n_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} T_x \\ T_y \\ T_z \end{bmatrix} \quad \{8\}$$

$$\sigma_x n_x + \tau_{xy} n_y + \tau_{xz} n_z = T_x$$

$$\tau_{xy} n_x + \sigma_y n_y + \tau_{yz} n_z = T_y$$

$$\tau_{xz} n_x + \tau_{yz} n_y + \sigma_z n_z = T_z$$

Estas condiciones deben satisfacerse sobre la frontera S_T donde se aplican las tracciones.

3.3 Grados de libertad, desplazamiento nodal y Funciones de forma.

En el método de elementos finitos el continuo se divide en un número finito de partes, *elementos*, cuyo comportamiento se especifica mediante un número finito de parámetros asociados a ciertos puntos característicos denominados *nodos*. Estos nodos son los puntos de unión de cada elemento con sus adyacentes ^[94].

Un elemento finito “*e*” viene definido por sus nodos (i,j,m) y por su contorno formado por líneas que los unen ^[94].

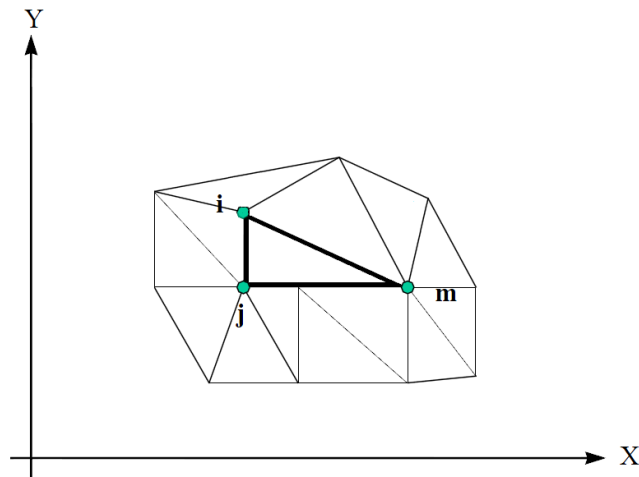


Figura 32. Coordenadas Nodales. Fuente: Frias E 2004. Aportaciones al estudio de las máquinas eléctricas de flujo axial mediante la aplicación del MEF. Tesis Doctoral UPC.

En un problema unidimensional, se permite que cada nodo se desplace solo en la dirección $\pm x$ así que cada nodo solo tiene un grado de libertad, y el problema tendrá tantos grados de libertad como nodos. En problemas bidimensionales cada nodo podrá desplazarse en dos direcciones ($\pm x$ y $\pm y$) así que se tendrá dos grados de libertad por nodo, y para problemas tridimensionales tres grados de libertad por nodo ($\pm x$, $\pm y$, $\pm z$). Los desplazamientos \mathbf{u} de cualquier punto del elemento se aproximan por un vector columna ^[94].

$$\mathbf{u} = \mathbf{Nq}^e$$

{9}

donde \mathbf{N} son funciones de posición dadas (funciones de forma) y \mathbf{q}^e corresponde a un vector formado por los desplazamientos nodales de los elementos considerados (desplazamiento nodal local). Estas funciones \mathbf{N} deben dar valores suficientemente aproximados de los corrimientos de cualquier punto del elemento, en función de los corrimientos de los nodos ^[94].

Los desplazamientos a lo largo de cada grado de libertad se denotan por el vector desplazamiento global $\mathbf{Q} = [Q_1 \ Q_2 \ Q_3 \ Q_4 \ \dots \ Q_n]^T$. En el caso unidimensional cada elemento tiene dos nodos y la forma de conectar los números locales de los nodos y los números globales se realiza a través de la *conectividad de los elementos*. La conectividad establece así la correspondencia local-global (como se muestra en la Figura 33) ^[94].

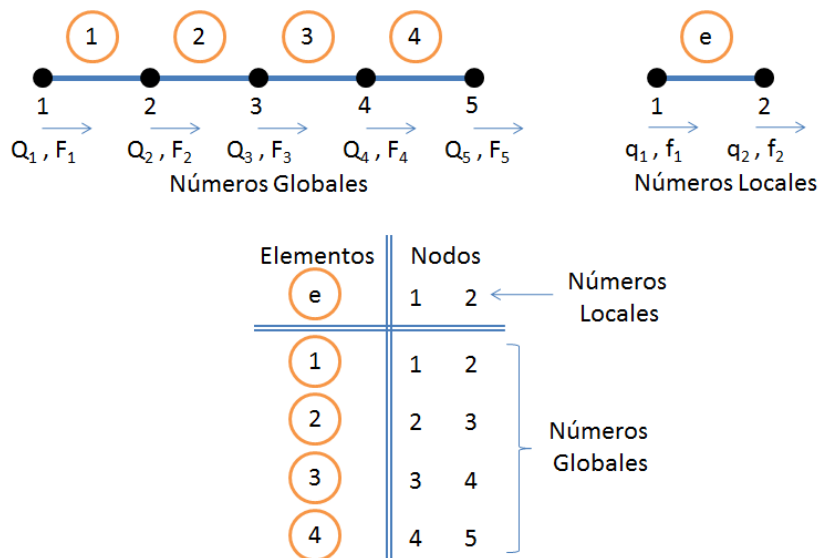


Figura 33. Conectividad de los elementos de un dominio discretizado en cuatro elementos finitos. Fuente: Chandrupatla, T.; A. Belegundu. 1999. Introducción al Estudio de Elementos Finitos en Ingeniería. 2 ed. México, Prentice Hall

Conocidos los desplazamientos de todos los puntos del elemento, se pueden determinar las deformaciones ϵ en cualquier punto, que vendrán dadas por la relación:

$$\epsilon = \mathbf{Bq}^e \tag{10}$$

donde \mathbf{B} es llamada matriz de deformación – desplazamiento del elemento.

Por lo tanto, en relación a la ecuación {6}, el esfuerzo se representa entonces como:

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{DBq}^e \quad \{11\}$$

3.4 Energía Potencial Π : modelo continuo

La energía potencial total Π de un cuerpo elástico se define como la suma de la energía de deformación (\mathbf{U}) y la energía de trabajo (\mathbf{W}_P) – potencial trabajo –:

$$\Pi = \mathbf{U} + \mathbf{W}_P$$

Para materiales elásticos lineales, la energía de deformación por unidad de volumen en el cuerpo es $dU/dV = \frac{1}{2} \boldsymbol{\sigma}^T \boldsymbol{\varepsilon}$. Al integrar esta expresión obtenemos para un cuerpo elástico lineal la energía de deformación^[94]:

$$U = \frac{1}{2} \int_V \boldsymbol{\sigma}^T \boldsymbol{\varepsilon} dV \quad \{12\}$$

La energía de trabajo \mathbf{W}_P está dado por:

$$W_P = - \int_V \mathbf{u}^T \mathbf{f} dV - \int_S \mathbf{u}^T \mathbf{T} dS - \sum_i \mathbf{u}_i^T \mathbf{P}_i \quad \{13\}$$

El potencial total para el cuerpo elástico será:

$$\Pi = \frac{1}{2} \int_V \boldsymbol{\sigma}^T \boldsymbol{\varepsilon} dV - \int_V \mathbf{u}^T \mathbf{f} dV - \int_S \mathbf{u}^T \mathbf{T} dS - \sum_i \mathbf{u}_i^T \mathbf{P}_i \quad \{14\}$$

Para sistemas conservativos, de todos los campos de desplazamiento cinemáticamente admisibles, aquellos que corresponden a condiciones de equilibrio extremizan la energía potencial total^[94].

3.5 Energía Potencial Π : modelo discreto

La energía potencial total de un cuerpo discretizado será la suma de la contribución de energía potencial de cada elemento. Así ^[94]:

$$\Pi = \sum_e \Pi_e \quad \{15\}$$

Sustituyendo las ec. ({9}, {10}, {11}) en la ec {14} y considerando el modelo discretizado descrito por la ec {15} se tiene:

$$\Pi = \frac{1}{2} \sum_e \mathbf{q}^{eT} \left(\int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \right) \mathbf{q}^e - \sum_e \mathbf{q}^{eT} \left(\int_{V^e} \mathbf{N}^T \mathbf{f} dV \right) - \sum_e \mathbf{q}^{eT} \left(\int_{S^e} \mathbf{N}^T \mathbf{T} dS \right) - \sum_i \mathbf{Q}_i^T \mathbf{P}_i \quad \{16\}$$

Considerando ahora las siguientes relaciones:

$$\mathbf{k}^e = \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \quad \{17\}$$

$$\mathbf{f}^e = \int_{V^e} \mathbf{N}^T \mathbf{f} dV \quad \{18\}$$

$$\mathbf{T}^e = \int_{V^e} \mathbf{N}^T \mathbf{T} dS \quad \{19\}$$

donde \mathbf{k}^e es la matriz de rigidez, \mathbf{f}^e es el vector de fuerza y \mathbf{T}^e es el vector de carga de tracción del elemento. Reemplazando cada una en la ec. {16}, se obtiene ^[94]:

$$\Pi = \frac{1}{2} \sum_e \mathbf{q}^{eT} \mathbf{k}^e \mathbf{q}^e - \sum_e \mathbf{q}^{eT} \mathbf{f}^e - \sum_e \mathbf{q}^{eT} \mathbf{T}^e - \sum_i \mathbf{Q}_i^T \mathbf{P}_i \quad \{20\}$$

Las matrices de rigidez (\mathbf{k}^e) y los vectores de fuerzas (\mathbf{f}^e y \mathbf{T}^e) de cada elemento se agrupan en posiciones globales a través de la conectividad de los elementos dando lugar a la matriz de rigidez \mathbf{K} y al vector de fuerza global \mathbf{F} ^[94].

La expresión de la energía Π , una vez realizado el ensamblaje, se transforma en:

$$\Pi = \frac{1}{2} \mathbf{Q}^T \mathbf{K} \mathbf{Q} - \mathbf{Q}^T \mathbf{F} \quad \{21\}$$

donde $\mathbf{Q} = [Q_1 \ Q_2 \ Q_3 \ Q_4 \ \dots \ Q_n]^T$ es el vector de desplazamiento nodal global (incógnitas), $\mathbf{F} = [F_1 \ F_2 \ F_3 \ F_4 \ \dots \ F_n]^T$ es el vector de carga global y n es el número total de grados de libertad. Las cargas puntuales \mathbf{P}_i son agregadas en la componente correspondiente de la fuerza global \mathbf{F} [94].

De todos los desplazamientos posibles que satisfacen las condiciones de frontera de un sistema estructural, aquellos que corresponden a configuraciones de equilibrio hacen que la energía potencial total adquiera un valor mínimo. Extremizando la ec. {21} respecto a \mathbf{Q} se tiene^[94]:

$$\frac{\partial \Pi}{\partial \mathbf{Q}} = \mathbf{K} \mathbf{Q} - \mathbf{F} = 0 \quad \{22\}$$

Obteniéndose un sistema de ecuaciones lineales

$$\mathbf{K} \mathbf{Q} = \mathbf{F} \quad \{23\}$$

Que al someterlo a las condiciones de frontera forma un sistema de ecuaciones algebraicas que permite determinar los desplazamientos nodales (incógnitas principales) que minimizan al funcional de la energía potencial. Los esfuerzos en los elementos y las reacciones en los soportes se obtienen a través de los desplazamientos obtenidos^[94].

3.6 Método de Galerkin

Para establecer una descripción cuantitativa de un problema físico es necesario, en primer lugar, plantear un sistema de ecuaciones diferenciales (ordinarias o en derivadas parciales) válidas en cierta región (o dominio) y sujetas a determinadas condiciones iniciales y de borde. En segundo lugar, se necesita resolver el sistema planteado. Las mayores dificultades surgen en esta instancia, ya que sólo las ecuaciones más simples pueden ser resueltas en forma exacta. Las ecuaciones diferenciales ordinarias con

coeficientes constantes son uno de los pocos casos para los cuales existen soluciones preestablecidas (aun en estos casos, la solución se complica considerablemente cuando aumenta el número de variables dependientes) ^[94].

Con el propósito de salvar estas dificultades y aprovechar las enormes ventajas de la computadora digital, se hace necesario replantear el problema matemático dándole una forma puramente algebraica que involucre solamente las operaciones matemáticas básicas. Para lograr este objetivo, el problema continuo debe ser discretizado, entendiéndose como tal el procedimiento en el que se reemplazan los infinitos puntos en los que se necesita conocer la función incógnita por un número finito de ellos, dando lugar a un número finito de parámetros desconocidos. Este proceso conlleva, en general, cierto grado de aproximación ^[94].

Consideremos una expresión general de una ecuación gobernante sobre una región V .

$$L u = P \quad \{24\}$$

Donde L se puede considerar como un operador actuando sobre u . La solución exacta necesita satisfacer a la ec. {24} en cada punto x . Si buscamos una solución aproximada \tilde{u} que se escribe como una combinación lineal de Q_j (desconocidos, son los parámetros constantes a determinar) y de las funciones de forma n_j ^[94]:

$$\tilde{u} = \sum_{j=1}^{M+1} Q_j n_j \quad \{25\}$$

Donde, M es el número de elementos finitos que han discretizado al dominio, las funciones de forma n_j son distintas de cero en sólo una pequeña parte del dominio del problema global, específicamente, n_j es distinta de cero solo en el intervalo $x_{j-1} < x < x_{j+1}$. Estas funciones n_j usualmente son polinomios. En el caso unidimensional y de fácil ilustración podemos elegir funciones lineales definidas como ^[94]:

$$\begin{aligned}
 n_j &= \frac{x - x_{j-1}}{x_j - x_{j-1}} & x_{j-1} \leq x \leq x_j \\
 n_j &= \frac{x_{j+1} - x}{x_{j+1} - x_j} & x_j \leq x \leq x_{j+1} \\
 n_j &= 0 & x < x_{j-1} \quad x > x_{j+1}
 \end{aligned}
 \tag{26}$$

Es evidente que, en este caso, las funciones de prueba son simples funciones de interpolación lineal, de tal manera que el valor de la solución \tilde{u} en $x_j < x < x_{j+1}$ es una combinación lineal los valores nodales Q_j y Q_{j+1} . Las cuatro primeras funciones de prueba son como se muestra en la Figura 34 (b), y observamos que, en el intervalo $x_2 \leq x \leq x_3$, por ejemplo, la solución aproximada dada por la ecuación {25} es:

$$\tilde{u} = Q_2 n_2 + Q_3 n_3 = Q_2 \frac{x_3 - x}{x_3 - x_2} + Q_3 \frac{x - x_2}{x_3 - x_2}$$

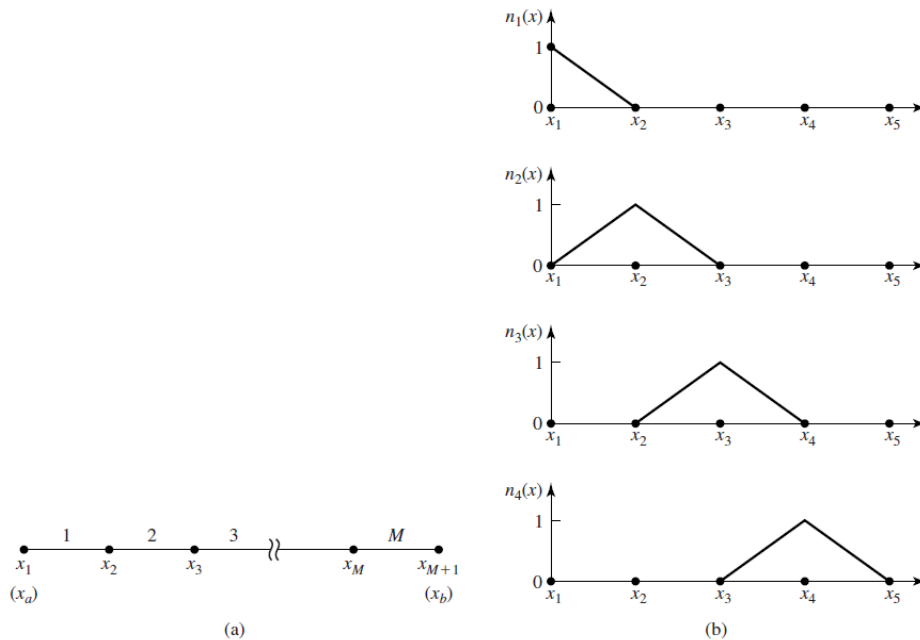


Figura 34. (a) Dominio discretizado en M elementos. (b) Las primeras cuatro funciones de forma. FUENTE: Hutton, D. "Fundamentals of Finite Element Analysis". 1^{era} edición. McGraw-Hill. Usa 2004.

Al evaluar esta aproximación ($\tilde{\mathbf{u}}$) en la ec. {24} se introduce un error residual, llamado residuo,

$$R = L \tilde{\mathbf{u}} - P \neq 0 \quad \{27\}$$

Al intentar disminuir el residuo sobre el dominio V , surgen expresiones integrales del error que ponderan a R de distintas maneras y cuya forma general es la siguiente:

$$\int_V W_i (L\tilde{\mathbf{u}} - P) dV \equiv \int_V W_i R dV = 0 \quad ; \quad \forall i = 1, 2, \dots, M+1 \quad \{28\}$$

Los métodos aproximados consisten en hacer igual a cero el residuo relativo a una función de peso W_i . La selección de la función de peso W_i conduce a varios métodos de aproximación. En el método de Galerkin, las funciones de peso W_i se toman iguales a las funciones de forma usadas para construir $\tilde{\mathbf{u}}$ ^[94].

$$W_i = n_i \quad i = 1, 2, \dots, m \quad \text{donde, } m = M+1 \quad \{29\}$$

Por lo tanto:

$$\int_V n_i (L\tilde{\mathbf{u}} - P) dV = 0 \quad ; \quad \forall i = 1, 2, \dots, m \quad \{30\}$$

$$\int_V n_i \left(\sum_{j=1}^m Q_j L(n_j) - P \right) dV = 0 \quad ; \quad \forall i = 1, 2, \dots, m \quad \{31\}$$

Evaluando {31} para $i = 1, 2, \dots, m$, se obtiene un sistema de m ecuaciones algebraicas lineales de la forma {23}:

$$\mathbf{KQ} = \mathbf{F} \quad ,$$

donde \mathbf{K} es una matriz de elementos:

$$K_{ij} = \int_V n_i L(n_j) dV \quad 1 \leq i, j \leq m$$

$$F_i = \int_V n_i P \, dV \quad 1 \leq i \leq m$$

$$\begin{bmatrix} K_{11} & K_{12} & \cdots & K_{1m} \\ K_{21} & K_{22} & \cdots & K_{2m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ K_{m1} & K_{m2} & \cdots & K_{mm} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} Q_1 \\ Q_2 \\ \vdots \\ Q_m \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} F_1 \\ F_2 \\ \vdots \\ F_m \end{bmatrix}$$

La solución de las ecuaciones resultantes para Q_j da entonces la solución aproximada \tilde{u} .

En resumen el MEF es un método de aproximación de problemas continuos de tal forma que:

- El continuo se divide en un número finito de partes, “elementos”, cuyo comportamiento se especifica mediante un número finito de parámetros asociados a ciertos puntos característicos denominados “nodos”. Estos nodos son los puntos de unión de cada elemento con sus adyacentes ^[94].
- La solución del sistema completo sigue las reglas de los problemas discretos. El sistema completo se forma por ensamblaje de la física local, la que ocurre en los elementos ^[94].
- Las incógnitas del problema dejan de ser funciones matemáticas y pasan a ser el valor de estas funciones en los nodos ^[94].
- El comportamiento en el interior de cada elemento queda definido a partir del comportamiento de los nodos mediante las adecuadas funciones de forma ^[94].

El MEF, por lo tanto, se basa en transformar un cuerpo de naturaleza continua en un modelo discreto aproximado, esta transformación se denomina discretización del modelo. El conocimiento de lo que sucede en el interior de este modelo del cuerpo aproximado, se obtiene mediante la interpolación de los valores conocidos en los

nodos. Es por tanto una aproximación de los valores de una función a partir del conocimiento de un número determinado y finito de puntos ^[94].

3.7 ¿Cómo trabaja el MEF en la práctica?

El MEF es un método numérico de resolución de ecuaciones diferenciales. La solución obtenida por MEF es sólo aproximada, coincidiendo con la solución exacta (cuando exista) sólo en un número finito de puntos llamados nodos. En el resto de puntos que no son nodos, la solución aproximada se obtiene interpolando a partir de los resultados obtenidos para los nodos, lo cual hace que la solución sea sólo aproximada debido a ese último paso ^[89].

El conjunto de puntos donde la solución es exacta se denomina conjunto nodos. Dicho conjunto de nodos forma una red, denominada malla formada por retículos. Cada uno de los retículos contenidos en dicha malla es un "elemento finito". El conjunto de nodos se obtiene dividiendo o discretizando la estructura en elementos de forma variada (pueden ser superficies, volúmenes y barras) ^[89].

Desde el punto de vista de la programación algorítmica modular las tareas necesarias para llevar a cabo un cálculo mediante un programa MEF se dividen en:

3.8 Preproceso, que consiste en la definición de la geometría, generación de la malla, las condiciones de contorno e iniciales y asignación de propiedades a los materiales y otras propiedades. En ocasiones existen operaciones cosméticas de regularización de la malla y preconditionamiento para garantizar una mejor aproximación o una mejor convergencia del cálculo ^[89].

3.8.1 Preproceso y generación de la malla

La malla se genera en general consta de miles (e incluso centenares de miles) de puntos. La información sobre las propiedades del material y otras características del

problema se almacena junto con la información que describe la malla. Por otro lado las fuerzas, los flujos térmicos o las temperaturas se reasignan a los puntos de la malla. A los nodos de la malla se les asigna una densidad por todo el material dependiendo del nivel de la tensión mecánica u otra propiedad^[89]. Las regiones que recibirán gran cantidad de tensión tienen normalmente una mayor densidad de nodos (densidad de malla) que aquellos que experimentan poco o ninguno. Algunas regiones de interés consisten en: zonas de fractura previamente probada del material, entrante, esquinas, detalles complejos, y áreas de elevada tensión. La malla actúa como la red de una araña en la que desde cada nodo se extiende un elemento de malla a cada nodo adyacente^[89].

Las tareas asignadas al preproceso en el caso de un problema de difusión-reacción:

1. El continuo se divide, mediante puntos, líneas o superficies imaginarias en un número de elementos finitos. Esta parte del proceso se desarrolla habitualmente mediante programas informáticos de mallado^[89].
2. Los elementos están conectados entre sí mediante un número discreto de puntos o “nodos”, situados en sus contornos. La concentración de estos nodos serán las incógnitas fundamentales del problema, tal y como ocurre en el análisis simple de estructuras por el método matricial^[89].
3. Se toma un conjunto de funciones que definan de manera única el campo de concentraciones dentro de cada “elemento finito” en función de los concentraciones nodales de dicho elemento. Por ejemplo, el campo de concentración dentro de un elemento lineal de dos nodos podría venir definido por: $u = N_1 u_1 + N_2 u_2$, siendo N_1 y N_2 las funciones comentadas (funciones de forma) y u_1 y u_2 los desplazamientos en el nodo 1 y en el nodo 2^[89].
4. Estas funciones de concentración definirán entonces de manera única el estado de deformación del elemento en función de las concentraciones nodales. Estas deformaciones, junto con las propiedades constitutivas del material, definirán a

su vez el estado de tensiones en todo el elemento, y por consiguiente en sus contornos^[89].

3.9 Cálculo, el resultado del preproceso, en un problema simple no-dependiente del tiempo, permite generar un conjunto de N ecuaciones y N incógnitas, que puede ser resuelto con cualquier algoritmo para la resolución de sistemas de ecuaciones lineales. Cuando el problema a tratar es un problema no-lineal o un problema dependiente del tiempo a veces el cálculo consiste en una sucesión finita de sistemas de N ecuaciones y N incógnitas que deben resolverse uno a continuación del otro, y cuya entrada depende del resultado del paso anterior^[89].

3.9.1 Cálculo y resolución de sistemas de ecuaciones

En un problema mecánico lineal no-dependientes del tiempo, como un problema de análisis estructural estático o un problema elástico, el cálculo generalmente se reduce a obtener los desplazamientos en los nodos y con ellos definir de manera aproximada el campo de desplazamientos en el elemento finito^[89].

Cuando el problema es no-lineal en general la aplicación de las fuerzas requiere la aplicación incremental de las fuerzas y considerar incrementos numéricos, y calcular en cada incremento algunas magnitudes referidas a los nodos. Algo similar sucede con los problemas dependientes del tiempo, para los que se considera una sucesión de instantes, en general bastante cercanos en el tiempo, y se considera el equilibrio instantáneo en cada instante. En general, estos dos últimos tipos de problemas requieren un tiempo de cálculo sustancialmente más elevado que en un problema estacionario y lineal^[89].

3.10 Postproceso, el cálculo proporciona valores de cierto conjunto de funciones en los nodos de la malla que define la discretización, en el postproceso se calculan magnitudes derivadas de los valores obtenidos para los nodos, y en ocasiones se

aplican operaciones de suavizado, interpolación e incluso determinación de errores de aproximación^[89].

3.10.1 Postproceso

En la etapa de post-proceso los resultados obtenidos de la resolución del sistema son tratados, para obtener representaciones gráficas y obtener magnitudes derivadas, que permitan extraer conclusiones del problema^[89].

3.11 Limitaciones

En general el MEF tal como se usa actualmente tiene algunas limitaciones:

- El MEF calcula soluciones numéricas concretas y adaptadas a unos datos particulares de entrada, no puede hacerse un análisis de sensibilidad sencillo que permita conocer como variará la solución si alguno de los parámetros se altera ligeramente. Es decir, proporciona sólo respuestas numéricas cuantitativas concretas no relaciones cualitativas generales^[89].
- El MEF proporciona una solución aproximada cuyo margen de error en general es desconocido. Si bien algunos tipos de problemas permiten acotar el error de la solución, debido a los diversos tipos de aproximaciones que usa el método, los problemas no-lineales o dependientes del tiempo en general no permiten conocer el error^[89].
- En el MEF la mayoría de las aplicaciones prácticas requiere mucho tiempo para ajustar detalles de la geometría, existiendo frecuentemente problemas de mal condicionamiento de las mallas, desigual grado de convergencia de la solución aproximada hacia la solución exacta en diferentes puntos, etc. En general una simulación requiere el uso de numerosas pruebas y ensayos con geometrías simplificadas o casos menos generales que el que finalmente pretende simularse, antes de empezar a lograr resultados satisfactorios^[89].

CAPITULO IV: DIFUSIÓN QUÍMICA

4. Difusión química

La ecuación de difusión muestra que la velocidad de cambio de concentración es proporcional a la segunda derivada de la concentración con respecto a la distancia. Si la concentración cambia grandemente de un punto a otro punto, entonces la concentración cambia rápidamente con el tiempo. [77]

La primera Ley de Fick, describe la observación general de que el flujo de partículas \vec{j} es proporcional al gradiente de concentración [77]:

$$\vec{j} = (j_x, j_y, j_z) = j_x \hat{i} + j_y \hat{j} + j_z \hat{k} \quad \{1\}$$

$$\hat{j} = -D \vec{\nabla} c \quad \{2\}$$

Donde por definición tenemos que:

$$j_x = \left(\frac{1}{A_{yz}} \right) \left(\frac{dN}{dt} \right)_x \quad \{3\}$$

Este flujo en este caso es en dos dimensiones, \vec{j} es un vector. D es la constante de difusión. Si usamos la ecuación de continuidad [77]:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{j} \quad \{4\}$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} \nabla \cdot (D \vec{\nabla} c) \quad \{5\}$$

Sustituyendo el flujo \vec{j} en la ecuación {2} en la ecuación {4} se obtiene la ecuación {5} y que en dos dimensiones se escribe:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} \right) \quad \{6\}$$

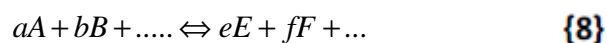
Donde hemos supuesto que D no depende de la posición. El coeficiente D se puede expresar como:

$$D = \frac{k_B T}{F_r} \quad \{7\}$$

Donde k_B , T y F_r representan la constante de Boltzmann, la temperatura absoluta y el coeficiente de fricción, respectivamente. Para una partícula esférica en un medio de fricción homogénea tenemos: $F_r = 6 \pi \eta R$ (ley de Stokes), con η la viscosidad del medio y R el radio de la partícula.

4.1 Ecuación Difusión-Reacción

Todas las reacciones químicas a todos los niveles, están gobernadas por la cinética química. Inclusive a nivel celular las reacciones y procesos químicos que ocurren en el citoplasma están regidos por las leyes cinéticas. Para una reacción química general donde:



donde a, b, e , f son los coeficientes estequiométricos de la reacción. A, B, E y F son las especies químicas de la reacción {8}, la velocidad de la reacción puede describirse en términos a la cual desaparece una de las especies, o en la cual aparece:

$$v = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \dots = \frac{1}{e} \frac{d[E]}{dt} = \frac{1}{f} \frac{d[F]}{dt} = \dots \quad \{9\}$$

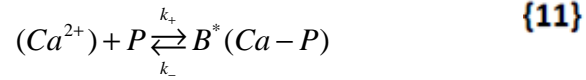
De la definición anterior se observa que la velocidad de reacción cambia con la concentración de los reactivos. La teoría de colisiones postula que para que exista una reacción química, deben chocar las moléculas reaccionantes entre sí y que la velocidad de reacción es proporcional al número de choques por unidad de tiempo. ^[78]

Experimentalmente, para cualquier reacción química se tiene la siguiente forma de ley de velocidad

$$v = k[A]^{\alpha}[B]^{\beta} \quad \{10\}$$

donde [A],[B]..... representan las concentraciones de los reactivos y k se llama constante de velocidad de la reacción, dada a una temperatura determinada. Los valores de los exponentes a y b no necesariamente guardan relación con los coeficientes de la ecuación química ajustada y deben determinarse experimentalmente ^[78].

Alrededor del 99% de todo el calcio en el citosol está ligado a grandes moléculas de proteínas que actúan como amortiguador de calcio. La reacción química para el amortiguador de calcio puede ser representada por:



Lo cual implica: $b_i = b + p$ {12}

La tasa de variación de la especie c será:

$$\frac{dc}{dt} = k_- b - k_+ c (b_i - b) \quad \{13\}$$

Donde:

$k_+ k_-$	Son las constantes de velocidad directa e inversa
P	Representa la molécula de proteína que actúa como amortiguador.
B^*	Es el complejo calcio-proteína amortiguador.
c	Concentración de Ca^{2+} libre.
b_T	Concentración total de la proteína (amortiguador).
b	Concentración de calcio ligado a la proteína (amortiguador)
p	Concentración de la proteína (amortiguador) no ligado al calcio.

Tabla 2. Distintos parámetros utilizados en la difusión-reacción de ión Ca^{2+} .

En la tabla (3) se muestran valores de las constantes k_+ , k_- , b_i , k , θ y α para algunas proteínas amortiguadoras.

Ca²⁺ Amortiguado	k_+ ($\mu M^{-1} ms^{-1}$) Constante de velocidad directa	k_- (ms^{-1}) Constante de velocidad inversa	b_i (μM) Concent. total	$k = \frac{k_-}{k_+}$ (μM) Constan de eq	$\theta = \frac{b_i k}{(k + c)^2}$
Fluo-3	80	90	50	1.13	37.35
Calmodulina	100	38	24	0.38	39.58
Troponina C	39	20	70	0.51	95.94
SR membrana	115	100	47	0.87	43.03
SL membrana	115	1000	1124	8.7	126.28
Parvoalbúmina	0.25	10⁻³	1000	4.10⁻³	369.82

Tabla 3. Valores de distintos parámetros de amortiguadores de calcio. Los valores de c utilizados en θ corresponden a la concentración basal citosólica ($0.1 \mu M$).

Los valores de θ para la Parvoalbúmina a una c de $1 \mu M$ y $20 \mu M$ son respectivamente 3.968 y 0.01

En las tablas (4) y (5) se listan algunas constantes y parámetros fisiológicos.

Concentraciones típicas del Ca²⁺ en los diferentes compartimientos líquidos	Valor
C_{REP} (Cconcentración basal de Calcio en el citosol de miocitos en reposo)	0.1 μM (Stern y col, 1999, Subramanian,2001)
C_{FE} (concentración de Calcio en el fluido extracelular)	1000 μM (Stern y col, 1999)
C_{RSR} (concentración basal de Calcio en el retículo sarcoplásmico)	150 μM - 500 μM (Stern y col, 1999)

Tabla 4. Valores de concentración del ión calcio de miocitos en reposo y fluido extracelular.

Coeficiente de difusión del Ca²⁺ libre en solución acuosa	600 $\frac{\mu m^2}{s}$ (REF)
Coeficiente de difusión del Ca²⁺ libre en el citosol	223 $\frac{\mu m^2}{s}$ (Kieger and cols, 1998)

Tabla 5. Valores de coeficientes de difusión (D) del Ca²⁺ libre en solución acuosa y el citosol.

4.2 Cinética de buffer lento:

Para este caso tenemos el siguiente sistema:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c + k_- b - k_+ c (b_t - b) + f(c) \quad \{14\}$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = D_b \nabla^2 b + k_- b - k_+ c (b_t - b) \quad \{15\}$$

Para nuestro caso:

$$\nabla^2 c = \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} \right) \quad \{16\}$$

$$\nabla^2 b = \left(\frac{\partial^2 b}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 b}{\partial y^2} \right) \quad \{17\}$$

Donde:

f(c): todas las reacciones químicas en el cual el calcio libre está presente.

D_c: coeficiente de difusión del calcio libre.

D_b: coeficiente de difusión de la proteína amortiguadora ligada al calcio.

4.3 Cinética de buffer rápido:

Considerando que k_+ y k_- son muy grandes comparadas con la constante de tiempo de la reacción del Ca^{2+} con el amortiguador.

Entonces:

$$\text{Condición casi-estacionaria} \quad \frac{db}{dt} = k_- b - k_+ c (b_t - b) = 0 \quad \{18\}$$

Donde:

$$b = \frac{b_t c}{k + c} \quad \{19\}$$

y

$$k = \frac{k_-}{k_+} \quad \{20\}$$

Entonces derivando parcialmente {19} respecto a t obtenemos:

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \frac{1}{(k + c)^2} \left[(k + c) b_t \frac{\partial c}{\partial t} - b_t c \frac{\partial c}{\partial t} \right] \quad \{21\}$$

$$\therefore \quad \frac{\partial b}{\partial t} = \frac{b_t k}{(k + c)^2} \left(\frac{\partial c}{\partial t} \right) \quad \{22\}$$

Sumando a ambos lados de {22} el término $\frac{\partial c}{\partial t}$, obtenemos:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{\partial b}{\partial t} = (1 + \theta) \frac{\partial c}{\partial t} \quad \{23\}$$

Con:

$$\theta = \frac{b_t k}{(k + c)^2} \quad \{24\}$$

Sumando {14} y {15} obtenemos:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \frac{\partial b}{\partial t} = D_c \nabla^2 c + D_b \nabla^2 c + f(c) \quad \{25\}$$

Sustituyendo {17} en {25} y expandiendo el segundo miembro de la ecuación resultante nos queda:

$$(1 + \theta) \frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c + D_b \nabla^2 \left(\frac{b_t c}{k + c} \right) + f(c) \quad \{26\}$$

$$\nabla^2 \left[\frac{c}{k + c} \right] = \nabla \cdot \nabla \frac{c}{k + c} = \nabla \cdot \left(\frac{(k + c) \nabla c - c \nabla (k + c)}{(k + c)^2} \right) = \nabla \cdot \left(\frac{(k + c) \nabla c - c \nabla c}{(k + c)^2} \right) = \nabla \cdot \left(\frac{k \nabla c}{(k + c)^2} \right) \quad \{27\}$$

$$k \nabla \cdot \left[\frac{1}{(k+c)^2} \nabla c \right] = k \left[\frac{(k+c)^2 \cdot \nabla^2 c - \nabla c \cdot \nabla (k+c)^2}{(k+c)^4} \right] = k \left[\frac{(k+c)^2 \cdot \nabla^2 c - 2(k+c) \nabla c \cdot \nabla c}{(k+c)^4} \right] \quad \{28\}$$

Donde ∇ y ∇^2 son los operadores gradiente y laplaciano, respectivamente.

Sustituyendo {27} en {28} y reagrupando términos obtenemos:

$$(1+\theta)(D_c + D_b \theta) \nabla^2 c - \frac{2D_b \theta}{k+c} |\nabla c|^2 + f(c) \quad \{29\}$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \left(\frac{1}{1+\theta} \right) D_c \nabla^2 c + \left(\frac{\theta}{1+\theta} \right) D_b \nabla^2 c - \frac{2\theta D_b}{(1+\theta)(k+c)} |\nabla c|^2 + f(c) \quad \{30\}$$

Esta es una ecuación en derivadas parciales de 2^{do} orden no-lineal.

Para nuestro caso consideraremos una cinética de amortiguado rápido y $\bar{\nabla} c$ es pequeño. Cuando el amortiguador está presente pero no difunde significativamente ($D_c \gg D_b$), entonces la ecuación {30} queda:

$$(1+\theta) \frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c + f(c) \quad \{31\}$$

Considerando la acción de un único amortiguador (la parvalbúmina) y dos mecanismos de recaptación de calcio, el asociado con la bomba SERCA, y la PMCA (bomba del sarcolema), tendremos que la ecuación {18}, queda:

$$(1 + \theta) \frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c - j_{serca} - j_{sarcolema} \quad \{32\}$$

$$j_{serca} = \frac{v_B c^{n_B}}{(k_B)^{n_B} + c^{n_B}} \quad n_B = 1, 2, 3, \dots \quad \{33\}$$

Que es una ecuación tipo Hill.

$$j_{sarcolema} = \frac{q_1 c^{n_B}}{q_2^{n_B} + c^{n_B}} \quad n_B = 1, 2, 3, \dots \quad \{34\}$$

Diversos Parámetros fisiológicos para SERCA Y PMCA		
v_B	0.208 mol/m³*s	Capacidad máxima de la bomba SERCA.
k_B	1e-4 mol/m³	Mitad del máximo de transporte del ión Ca ²⁺ .
n_B	1 y 2	Coefficientes de Hill SERCA y PMCA respectivamente.
c	-----	Concentración del ión Ca ²⁺ libre en el citosol
q_1	1e-4 mol/m³	Parámetro 1 PMCA
q_2	1e-2 mol/m³*s	Parámetro 2 PMCA

Tabla 6. Parámetros fisiológicos utilizados en la ecuación de Hill para el flujo de reentrada de Ca²⁺ en SERCA y para PMCA, donde el calcio es bombeado desde el citosol hacia el fluido extracelular.

Se deben considerar también dos términos j_{fuga} , uno que drena Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico hacia el citosol y otro que drena Ca^{2+} desde el exterior de la célula hacia el citosol y cumplen la condición:

$$j_{fuga1} = -j_{serca}(c = c_0) \quad \{35\}$$

$$j_{fuga2} = -j_{sarcolema}(c = c_0) \quad \{36\}$$

Donde C_0 es la concentración basal de Ca^{2+} en el citosol.

$$f(c) = j_{fuga1} - j_{serca} + j_{fuga2} - j_{sarcolema} \quad \{37\}$$

Los términos j_{fuga} evitan que la concentración disminuya por debajo de la concentración basal.

Por lo que la ecuación de difusión-reacción resultante es:

$$(1 + \theta) \frac{\partial c}{\partial t} = D_c \nabla^2 c + j_{fuga1} - j_{serca} + j_{fuga2} - j_{sarcolema} \quad \{38\}$$

CAPITULO V: MODELO COMPUTACIONAL

5. COMSOL 3.4. Descripción y Características.

COMSOL Multiphysics™ es una herramienta de modelado y análisis para prototipaje virtual de fenómenos físicos. COMSOL Multiphysics puede modelar virtualmente cualquier fenómeno físico que un ingeniero o científico pueda describir con ecuaciones diferenciales parciales (EDP), incluyendo transferencia de calor, movimiento de flúidos, electromagnetismo y mecánica estructural, soportando la integración de problemas de diferentes campos (Multifísica) ^[83].

La estructura sobre la que COMSOL trabaja es un sistema de Ecuaciones Diferenciales Parciales (EDPs), que describen matemáticamente de varios fenómenos físicos. Cualquier experto en su campo que sepa como crear simulaciones usando EPDs puede ampliar aquellos sistemas modelando explícitamente en términos de estos tipos de ecuaciones ^[83].

COMSOL Mph también acepta ecuaciones acopladas al sistema de EDP.

COMSOL Mph. simplifica el desarrollo de aplicaciones a través del uso de la Biblioteca de Modelos, que incorpora ejemplos de diversas áreas de aplicación. A través de ellos, los usuarios, sin necesidad de poseer profundos conocimientos en matemáticas o análisis numérico, podrán construir sus propios modelos ^[83].

- Interfaz gráfico "amigable" e interactivo para todas las etapas del proceso de modelado.
- Ilimitadas posibilidades de multifísica.
- Formulación general para un modelado rápido y sencillo de sistemas arbitrarios de EPDs.
- Multifísica para modelado simultáneo de sistemas en 1D, 2D y 3D.

- Incorpora herramientas CAD para modelado sólido en 1D, 2D y 3D.
- Permite importar y modificar la geometría de archivos CAD en formato DXF y IGES. En particular, permite la importación de archivos creados en AutoCAD y CATIA (ver apéndice).
- Generación automática y adaptativa de mallas, con un control explícito e interactivo sobre su tamaño.
- Extensa biblioteca de modelos que documentan y muestran más de 80 ejemplos resueltos.
- Disponibles los "solvers" más novedosos; entre ellos destacan, "solvers" iterativos para problemas estacionales lineales y no lineales, dependientes del tiempo, y de valores propios.
- Postprocesado interactivo que permite visualizar cualquier función de la solución.
- Integración total con MATLAB y sus toolboxes.

5.1 Áreas de aplicación de COMSOL 3.4

Las prestaciones de modelización y simulación de COMSOL, junto con las librerías de modelos disponibles para él, lo convierten en una herramienta aplicable en amplio abanico de áreas, entre las que destacamos:

- Reacciones químicas, difusión, dinámica de flúidos, flúidos en medios porosos, transferencia de calor, fenómenos de transporte.
- Acústica, electromagnetismo, sistemas microelectromecánicos (MEMS), ingeniería de microondas, componentes de radiofrecuencia, dispositivos semiconductores, propagación de ondas.
- Mecánica de estructuras
- Física, geofísica, óptica, fotónica, mecánica cuántica.
- Sistemas de control.
- Modelización de componentes.
- Matemática aplicada.

5.3 Justificación del modelo.

El conocimiento de la evolución de la concentración del ión calcio en posición y tiempo es imprescindible para determinar como varía la fuerza muscular en diversas condiciones experimentales. Debido a que la fuerza generada por los elementos contráctiles del músculo (sarcómeros) depende de la concentración del ión calcio, el estudio de esta evolución es precisamente uno de los objetivos de este trabajo.

El modelo propuesto en dos dimensiones espaciales permite controlar y estudiar con mucha precisión la influencia de cada uno de los factores mencionados en la evolución de la concentración de este ión.

La posibilidad de realizar experimentos “in silico” (computacional) muy parecidos a experimentos reales, que permitan predecir el comportamiento del sistema bajo estudio en condiciones similares a las experimentales “in vivo”, o “in vitro”, y que incluso

permitan simular algunas condiciones “in silico” que no se puedan realizar en experimentos “in vivo” y probar el uso de fármacos^[87].

El software elaborado permitiría, con la adecuada optimización, identificar las causas de miopatías mediante la comparación del resultado de la simulación obtenida “in silico” en diversas condiciones anormales (con los parámetros adecuados), con medidas experimentales realizadas en modelos de miocitos con determinadas^[87].

5.4 Antecedentes

En los últimos años se han publicado una gran cantidad de trabajos con respecto a la difusión-reacción del Ca^{2+} en células del músculo esquelético, cardíaco y liso.

Keizer (1998)^[85], realizó un modelo sencillo en geometría cilíndrica con dependencia espacial (r y z) de la dinámica de Ca^{2+} en un miocito cardíaco, resolviendo la ecuación en derivadas parciales resultante por el método de diferencia finita explícito (de primer orden en el tiempo y segundo orden en la posición), de igual manera hizo una simulación computarizada del “spark”, en el miocito cardíaco, en donde las ondas son obtenidas con un modelo de sitios libre, que reproduciendo el Ca^{2+} en el citosol.

Estos autores elaboraron un modelo simplificado llamado “fire difusse fire” el cual simula la difusión del Ca^{+2} inducido por el Ca^{2+} proveniente del fluido extracelular. Sugieren además, que el modo discontinuo y continuo de propagación de la onda puede ser inducido por la temperatura y la dependencia del Ca^{2+} con el buffer.

En el 2004 Okada y cols^[88], desarrolló un simulador 3D usando el método de elemento finito de miocitos cardíacos, en el cual fueron modelados como estructuras separadas las estructuras del sarcolema, las miofibrillas y las líneas Z con los sitios de liberación de Ca^{2+} . En este trabajo se simuló la propagación de la onda de Ca^{2+} en el espacio 3D

y el acortamiento activo del miocito. Ellos simularon varias formas de propagación del Ca^{2+} , proponiendo una dinámica rápida para el buffering. Una de las limitaciones de este trabajo fue que se obviaron algunas fuentes y sumideros de Ca^{2+} debido a que el modelo 3D requería un mayor poder computacional. ^[88]

Para modelar la liberación de Ca^{2+} en vez de usar un modelo estocástico adoptaron un modelo determinista por simplicidad; ya que el uso de un proceso estocástico aumenta pesadamente la carga de cómputo.

D' Alessandro (2007) ^[87], elaboró un modelo unidimensional, usando un método explícito de diferencia finita que permitió representar la difusión del ión Ca^{2+} a través del citosol del miocito del músculo esquelético.

En ese mismo año se desarrolló otro trabajo ^[84] el cual describió un modelo por elemento finito de la dinámica del calcio en mástil celulares, el cual simulaba la forma real del retículo endoplasmático en 3D. Con mallas tetraédricas describieron el volumen del lumen de ER, membrana de ER, citoplasma y membrana del plasma. ^[84]

Rojas (2007) ^[92], desarrolló un modelaje unidimensional de la dinámica del calcio utilizando la ecuación de Smoluchowski- Reacción en el citoplasma de un miocito esquelético. Aquí se usó el método de full implícito de diferencia finita.

CAPITULO VI: METODOLOGÍA

6. Modelo geométrico bidimensional:

Se consideró una geometría bidimensional, donde el cero referencial será el centro del retículo sarcoplásmico y se tomará una línea vertical paralela al eje de coordenadas Y, que será común a los tres receptores de Rianodina y pasará por el punto:

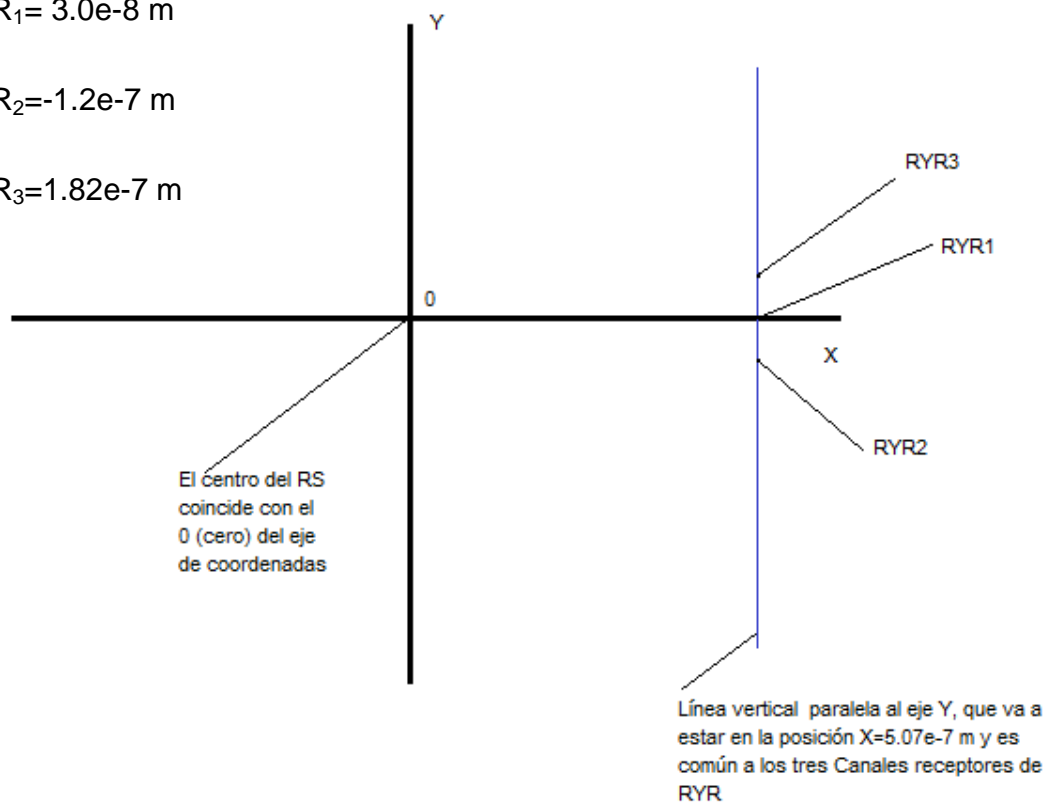
(*) $X=5.07e-7m$ ($5.07 \times 10^{-7}m$) Ver Gráfica.

Los puntos en el eje Y donde van a estar los tres receptores de rianodina, que liberarán iones Ca^{2+} estarán ubicados en:

$Y_1: RyR_1= 3.0e-8 m$

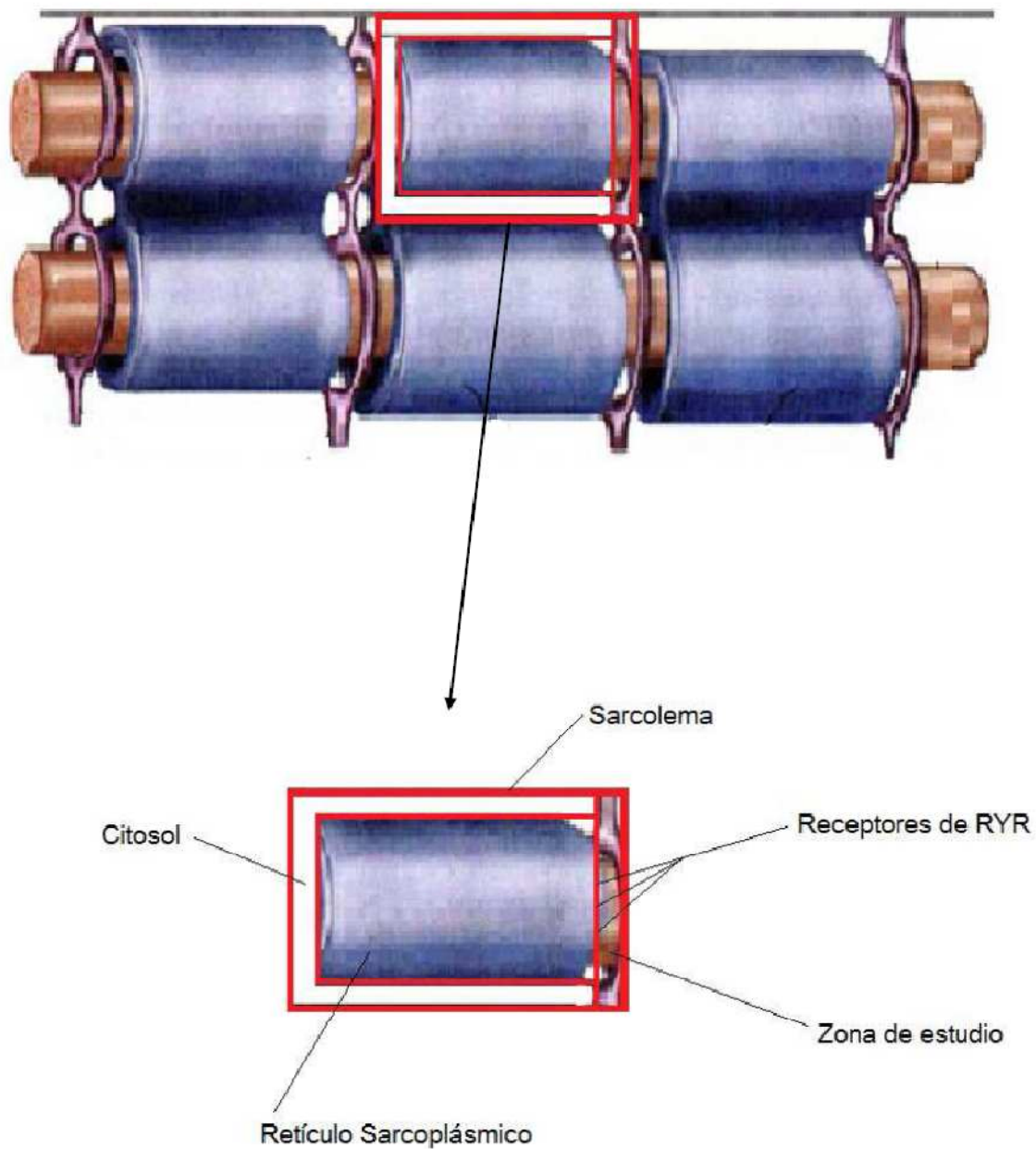
$Y_2: RyR_2=-1.2e-7 m$

$Y_3: RyR_3=1.82e-7 m$

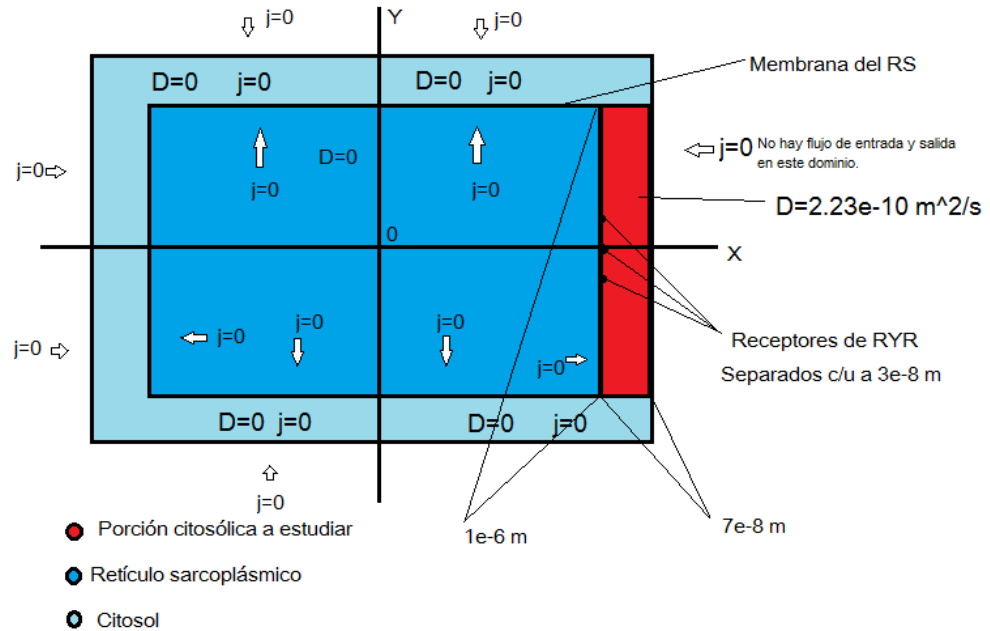


*La letra e es la base 10 para exponente, no confundir con exponencial cuyo caso sería exp.

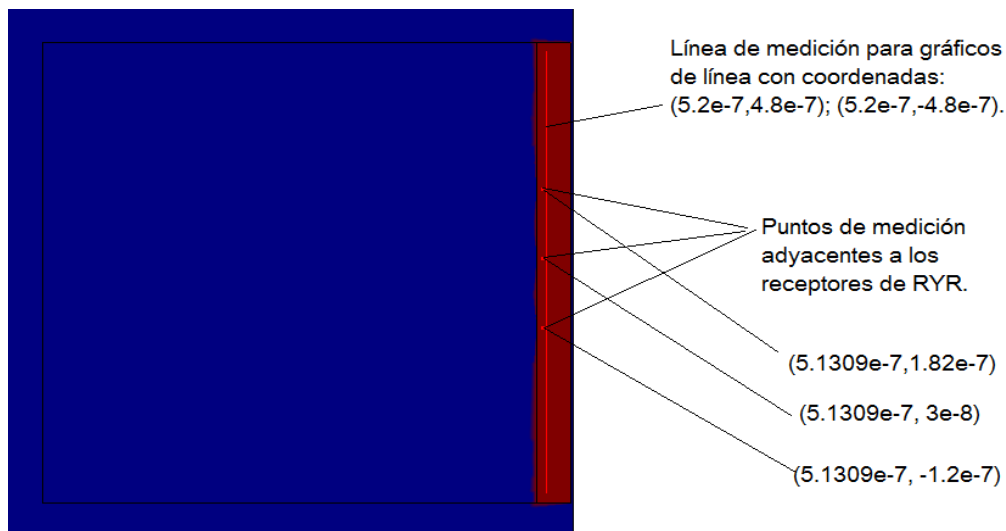
6.1 Analogías fisiológicas con respecto al modelo.



6.2 Condiciones de Contorno, dimensiones y coordenadas de medición. (j= flujo)



La longitud de la línea (alto del rectángulo rojo “área de estudio”) es **1e-6 m**, la cuál es el ancho de una miofibrilla promedio; el ancho del rectángulo rojo “área de estudio”) es de **7e-8 m**. Para estar acordes con la fisiología muscular los receptores se separaron a una distancia de **3e-8 m** [90].



Coordenadas de la línea y puntos de medición para la obtención de los graficos correspondientes.

6.3 Instalación de COMSOL multiphysics 3.4

Instalar COMSOL Multiphysics en un PC con los siguientes requerimientos mínimos para la instalación:

- Computador de escritorio. Marca LENOVO. Modelo A15.
- Procesador de 1 GHz 32-bit (x86) o uno de 64-bit (x64).
- 1 GB de RAM.
- 128 MB de memoria grafica.
- 40 GB de capacidad en disco con 15 GB libres.
- Unidades DVD-ROM .
- Acceso a Internet.

6.4 Características del computador utilizado

- Procesador Intel Pentium Dual Core T4300 (2.10GHz FSB 800MHz). Grafica Intel GMA X4500
- Memoria RAM: 2GB DDR3
- Disco duro: 250GB 5400rpm
- WiFi Broadcom 4312 BG
- Cámara integrada 0.3M
- Multigrabadora DVDRW

6.5 Preproceso: ajuste de dimensiones, ajuste de modos de aplicación, ajustes de ejes, ajustes de rejillas, modo dibujo, generación de la malla, las condiciones de contorno y subdominios. Constantes y expresiones escalares.

6.5.1 Ajuste de dimensiones y modos de aplicación:

- 1- Doble click en icono de escritorio de COMSOL Multiphysics 3.4.
- 2- Ajustar en dimensión de espacio: 2D.
- 3- Click en (+) COMSOL Multiphysics.
- 4- Click en (+) convección y difusión.
- 5- Click en (+) difusión.
- 6- Click en (+) análisis transitorio.
- 7- Seleccionar variables independientes= c. Nombre del modo de aplicación= di. Elemento Lagrange-Cuadrático que se describirá mas adelante.

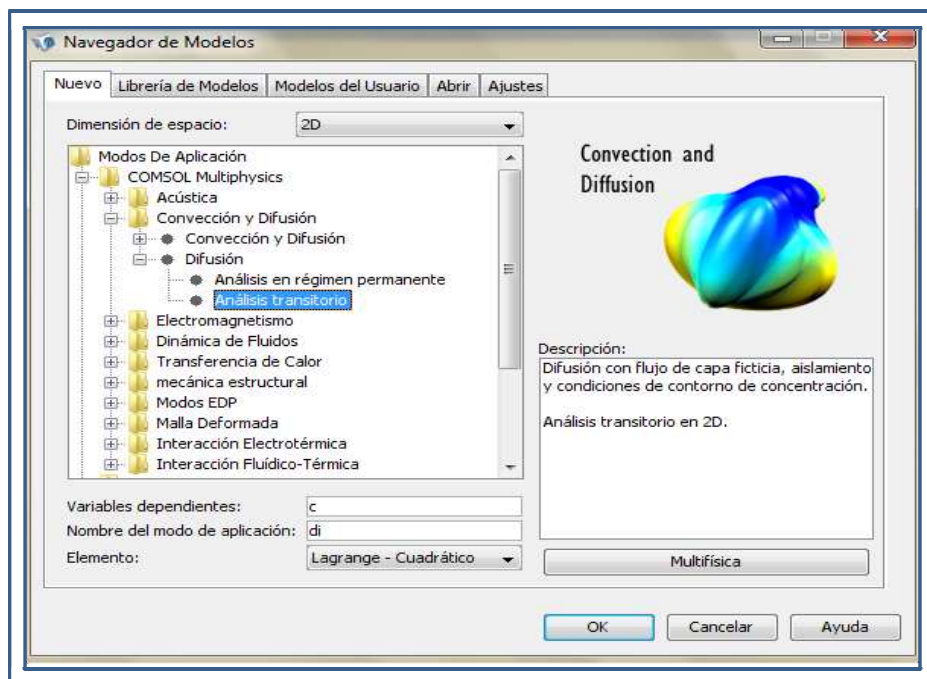


Figura 35: vista de la ventana inicial del software COMSOL Multiphysics 3.4.

8- Click en OK.

6.5.2 Ajustes de ejes:

Utilizar el cuadro de diálogo de configuración de Ejes/Rejilla, que se abre desde el menú de opciones.

La configuración del eje establece los límites de todos los ejes en el sistema de coordenadas.



Figura 36. Valores del eje en el modelo 2D.

En 2D, La Selección de la casilla auto realiza automáticamente un escalar para los límites del eje z. A pesar de que la geometría del modelo no incluye la tercera dimensión espacial, se puede determinar la escala del eje z en la creación de niveles de altura, por ejemplo, en el postprocesado.

6.5.3 Ajustes de rejillas:



Figura 37. Configuración de la rejilla en el cuadro de diálogo de configuración de ejes/Rejilla.

En la ventana de la rejilla, establecer las propiedades de la misma.

Las funciones son las mismas para todas las dimensiones del espacio.

6.5.4 Espaciado de rejilla manual:

A continuación, establecer un espaciado lineal introduciendo un espaciado escalar. Hay que tener en cuenta que la rejilla de espaciado siempre comienza en 0.

6.5.5 Controlar la apariencia de la rejilla:

- Seleccionar la casilla de verificación visible para ver la rejilla.
- Seleccionar la casilla de verificación de etiquetas para ver las etiquetas de la rejilla.

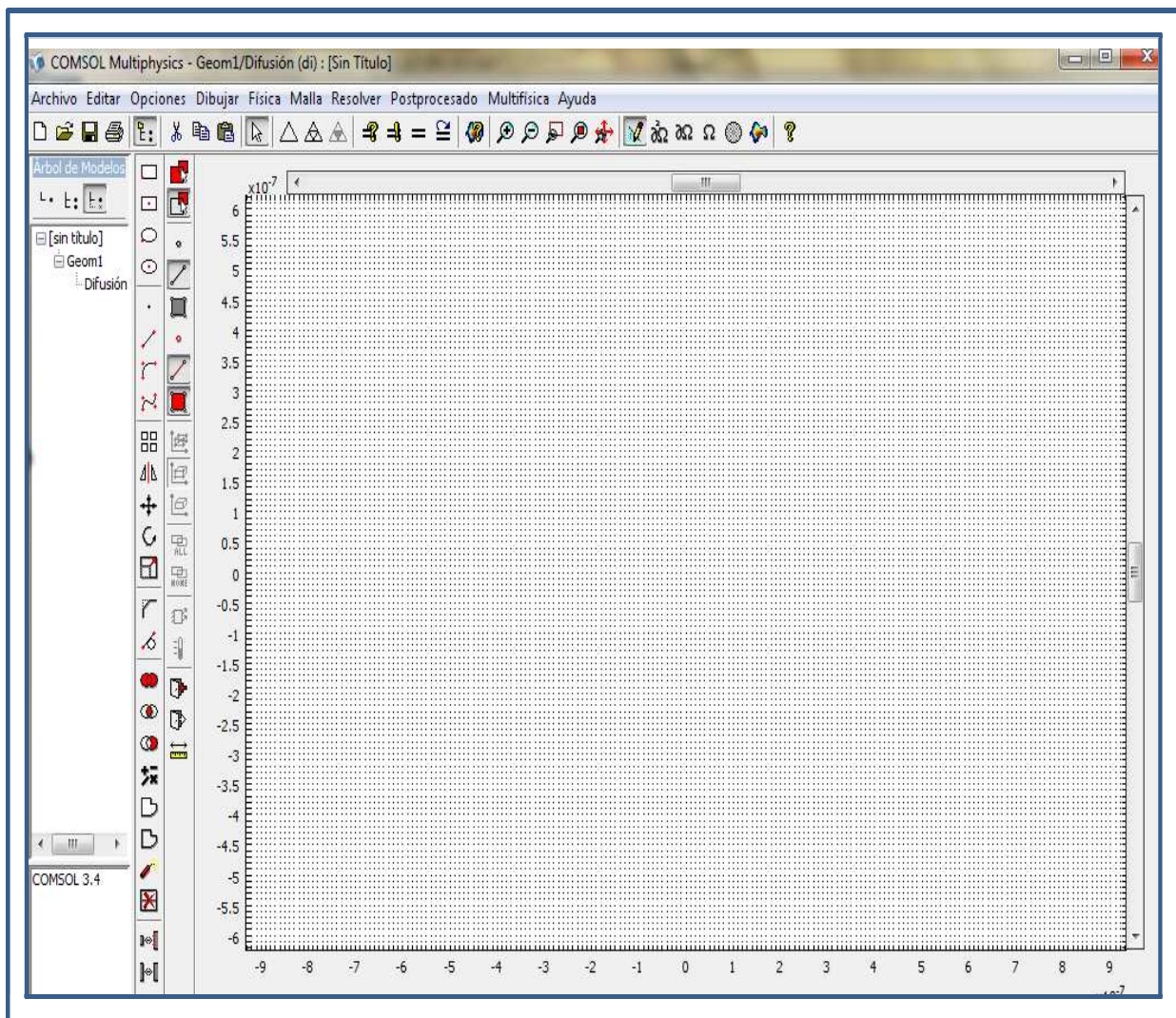


Figura 38. Vista de la ventana ya configurada la rejilla.

6.5.6 Modo Dibujo:

Se establecen dos rectángulos. Uno inscrito en el otro. El interno, será una porción del retículo sarcoplásmico y el borde externo será el sarcolema. El espacio entre ambos rectángulos será el espacio citosólico bajo estudio (“fuzzi space”).

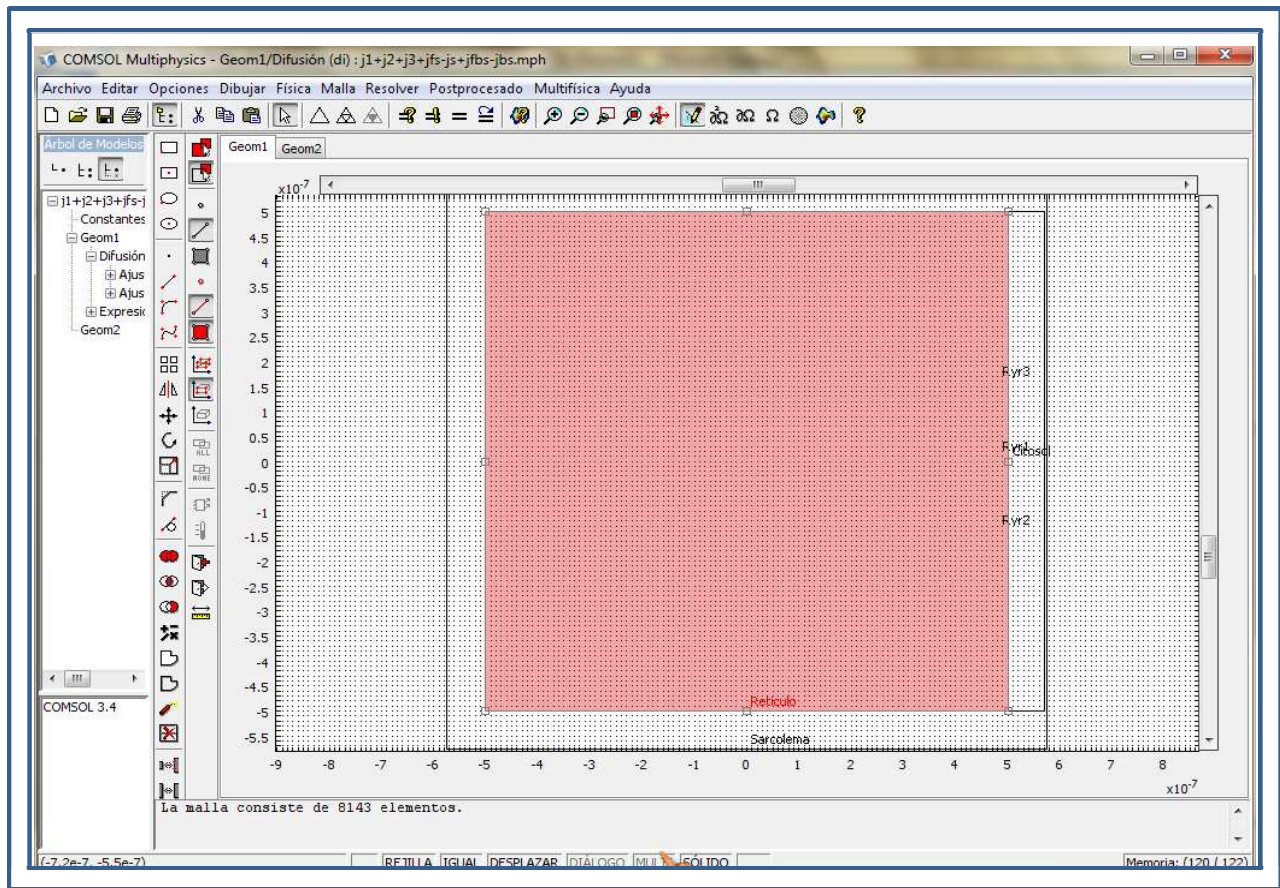


Figura 39. Vista de la ventana ya configurada el dibujo y geometrías.

En éste modelo se estudiará una parte del citosol (rectángulo derecho), donde están ubicados los canales receptores de Rianodina en las siguientes posiciones ya mencionadas.

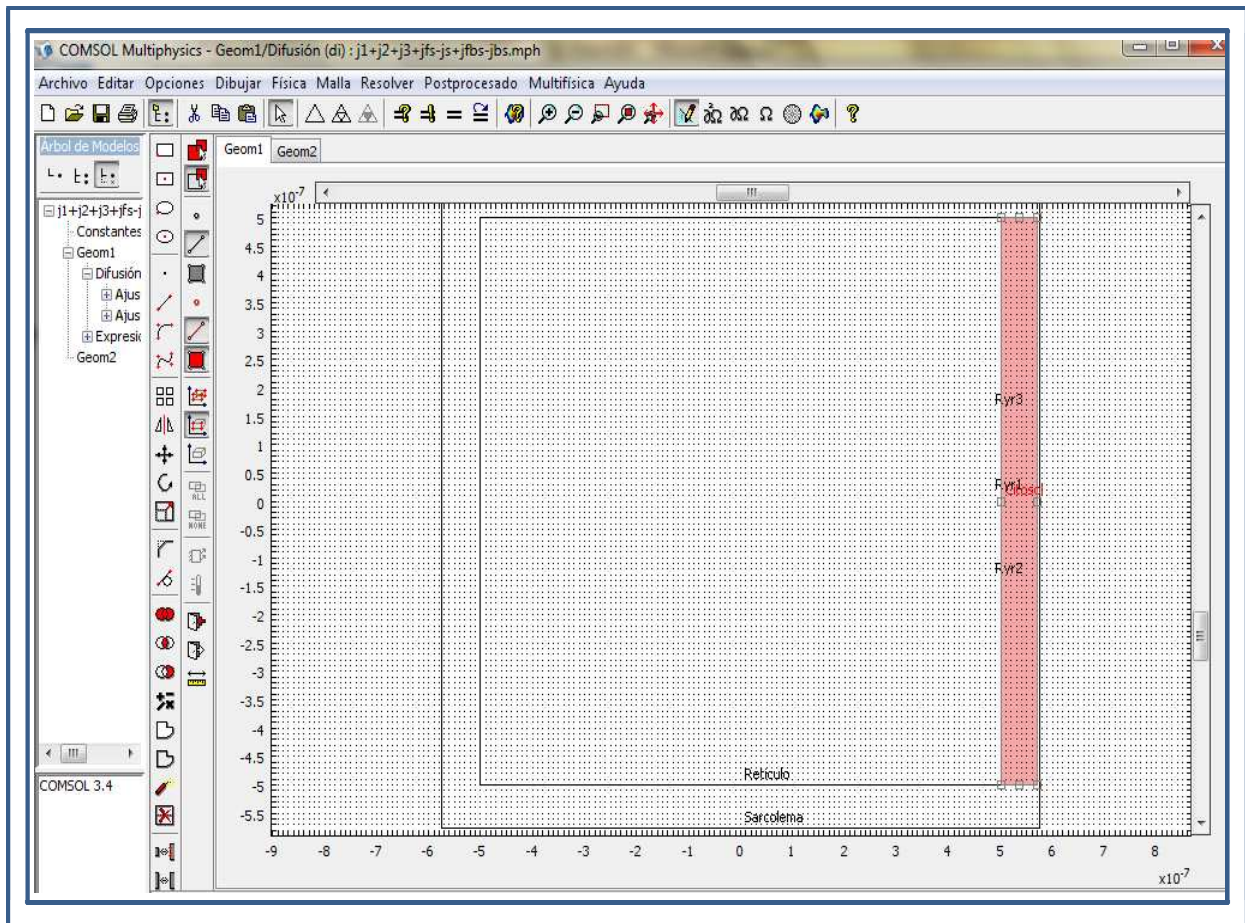


Figura 40. Vista de la ventana que muestra Subdominio a estudiar en rosado.

6.5.7 Generación y visualización de mallas:

Se puede visualizar una malla de varias maneras. Las visualizaciones de mallas se llevan a cabo en el modo de malla y las opciones relacionadas están disponibles en el cuadro de diálogo, parámetros de visualización de malla.

Mediante la casilla de verificación de elementos de subdominio, se pueden especificar si ciertos elementos de subdominio deben ser visibles en la trama de la malla. En el área de elementos de subdominio, se especifica lo que debe ser visible: el interior de los elementos (mediante la casilla de verificación de color de elemento), sólo el modelo de alambres (mediante la casilla de verificación de estructura metálica color), o ambos.

En este caso sólo se realizará un enmallado simple, por razones de memoria en el cálculo; ya que enmallados sucesivos producen lentitud, porque el número de elementos aumenta.

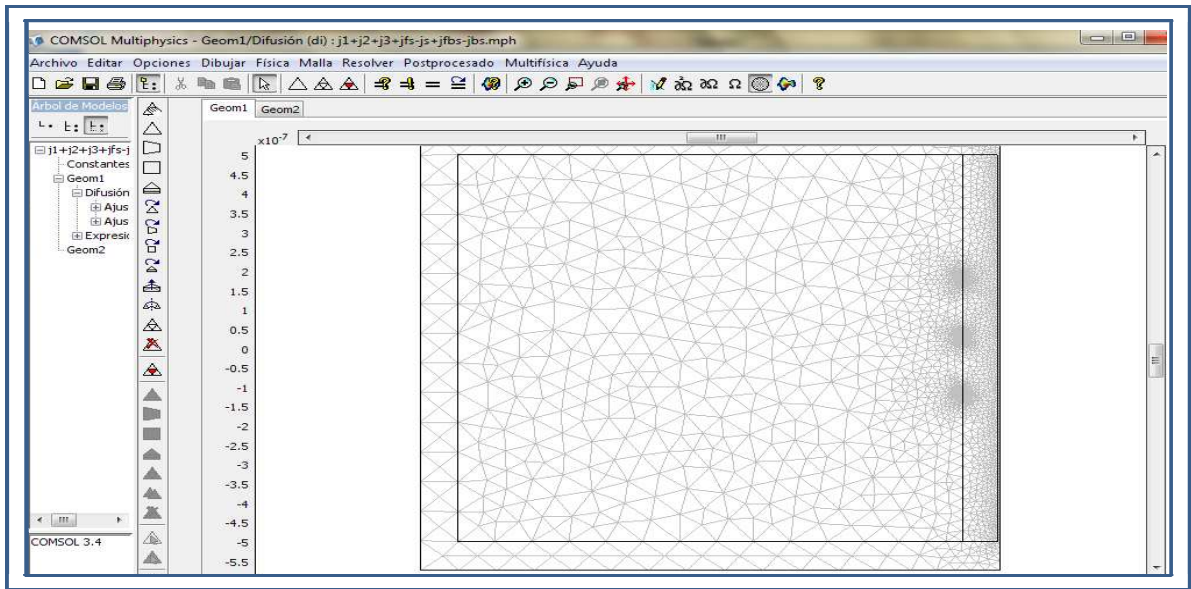


Figura 41. Vista de la ventana que muestra ya configurada la malla. Malla estructurada. Elementos Triangulares.

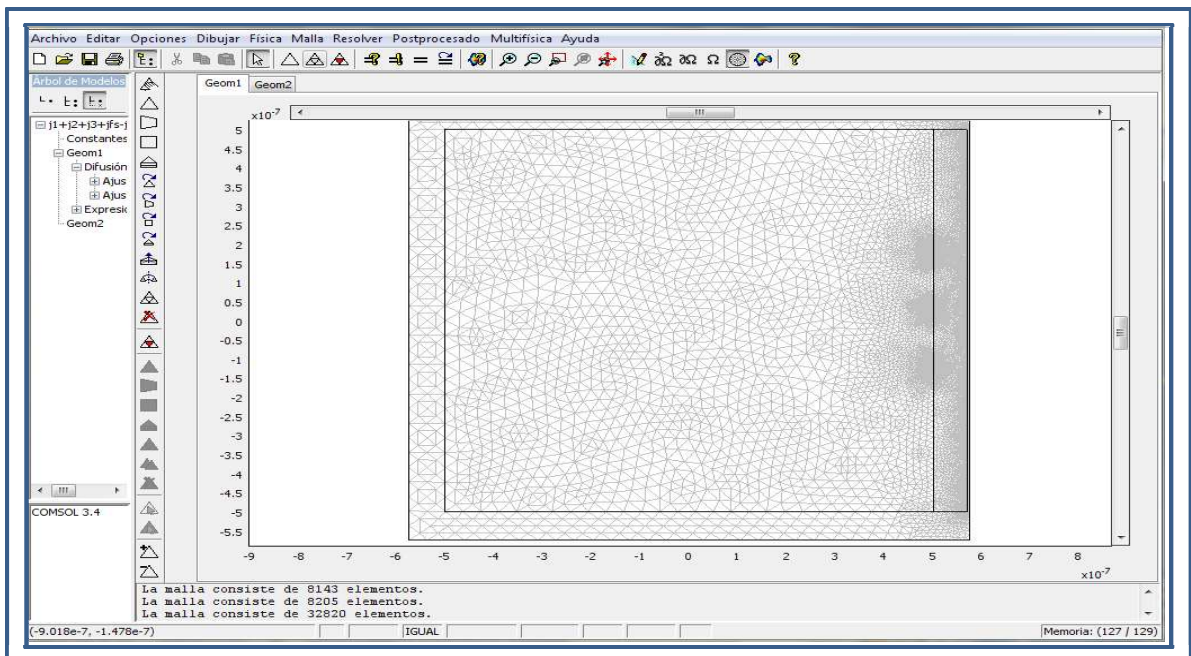


Figura 42. Vista de la ventana que muestra la malla refinada.

6.5.8 Condiciones iniciales de subdominios y contorno.

La concentración inicial de calcio en el citosol es de 0.1 μM , en los bordes del subdominio a estudiar, la concentración es constante y es de 0.1 μM ^[90].

6.5.9 Configuración del subdomino:

La configuración del subdominio describe la física sobre el dominio principal en un modelo, que se divide en subdominios. Se pueden definir valores diferentes para cada subdominio utilizando la configuración de los siguientes tipos:

- Coeficientes que definen el EDP en el subdominio. Los coeficientes EDP están disponibles para los modos EDP y los modos de forma débil.
- Propiedades de los materiales, las fuentes y sumideros que definen la física en el subdominio. Estas propiedades están disponibles en los modos de física y en los módulos de COMSOL Multiphysics. El software realiza la traducción a coeficientes EDP automáticamente.

Se pueden especificar coeficientes EDP para cualquier modelo de COMSOL Multiphysics, utilizando el cuadro de diálogo de configuración del subdominio para el sistema de la ecuación.

En el cuadro de diálogo de configuración de subdominio, realizar las entradas para el tipo de modo y el análisis de la aplicación seleccionada.

Las ecuaciones que resuelve el modo de aplicación aparecen en la parte superior del cuadro de diálogo. Si se seleccionan varios subdominios, los coeficientes EDP y otros ajustes que especifique, se aplicarán a todos los subdominios seleccionados. Si la configuración de los subdominios seleccionados actualmente difiere, los campos de edición para los subdominios están bloqueados, que se indican con fondo amarillo.

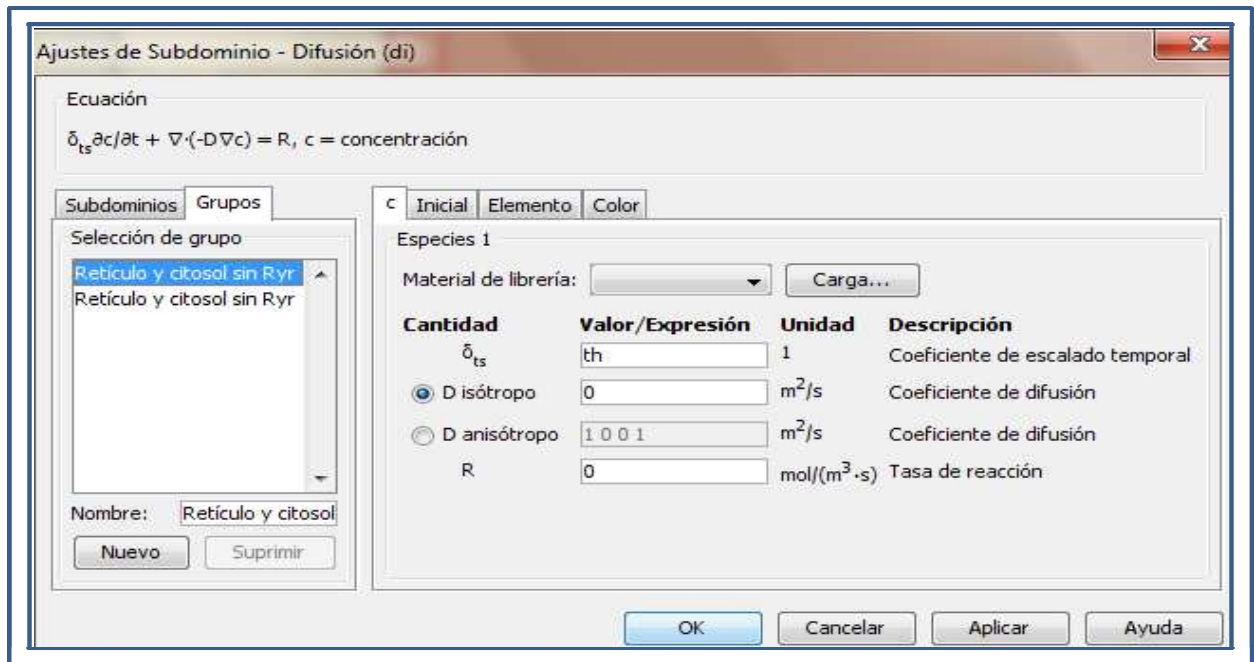


Figura 43. Configuración del grupo de subdominio para el retículo sarcoplásmico y la porción de citosol sin canales de RyR.

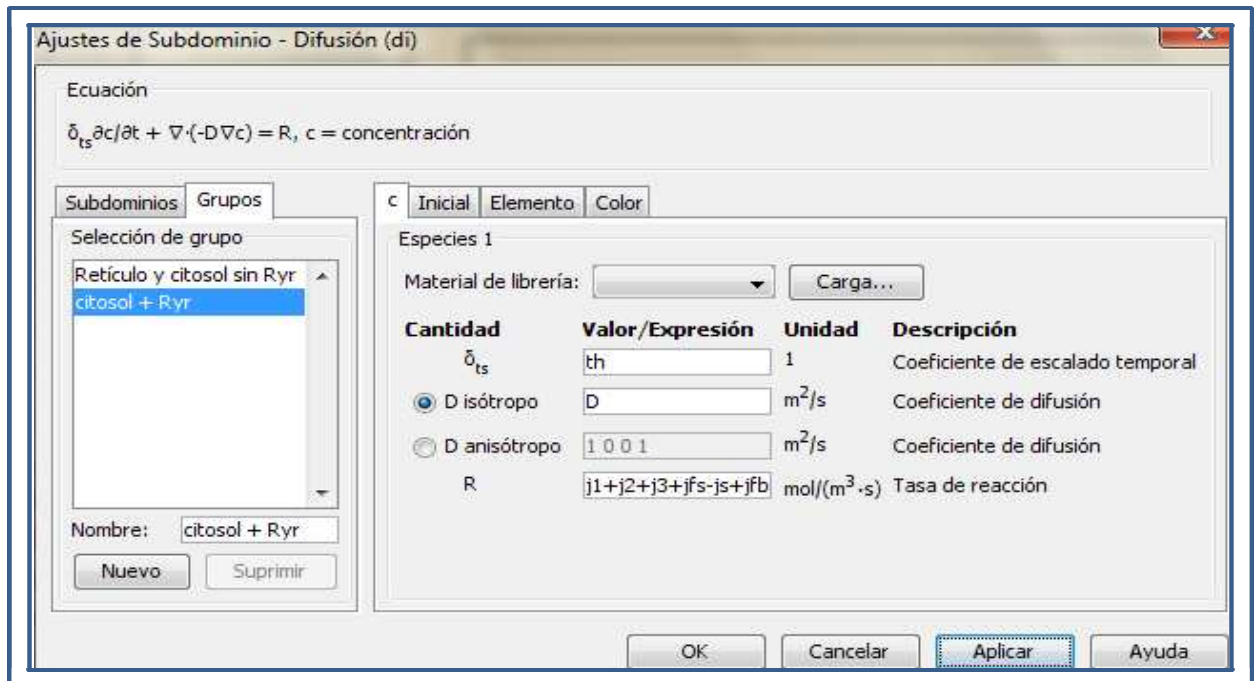


Figura 44. Configuración del grupo de subdominio la porción de citosol que contiene los 3 canales RyR. (El término th está definido más adelante).

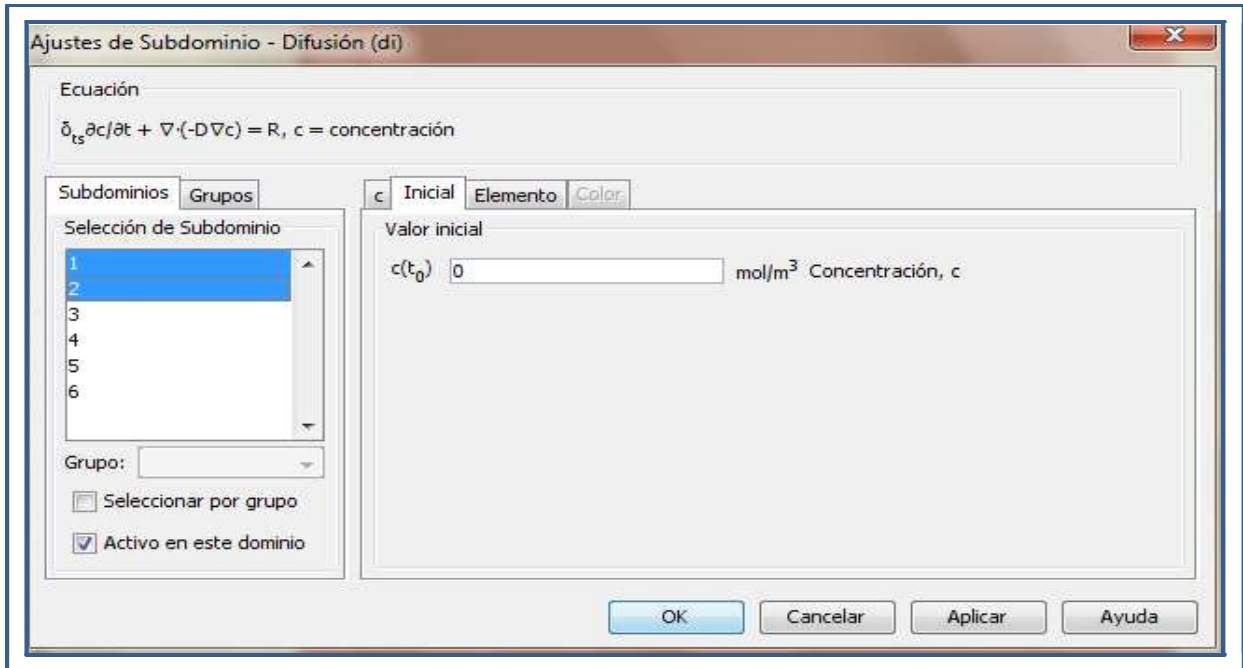


Figura 45: configuración del subdominio 1 y 2, pertenecientes al grupo Retículo y citosol sin RyR, que denotan una $c_{(t_0)}=0 \text{ mol/m}^3$.

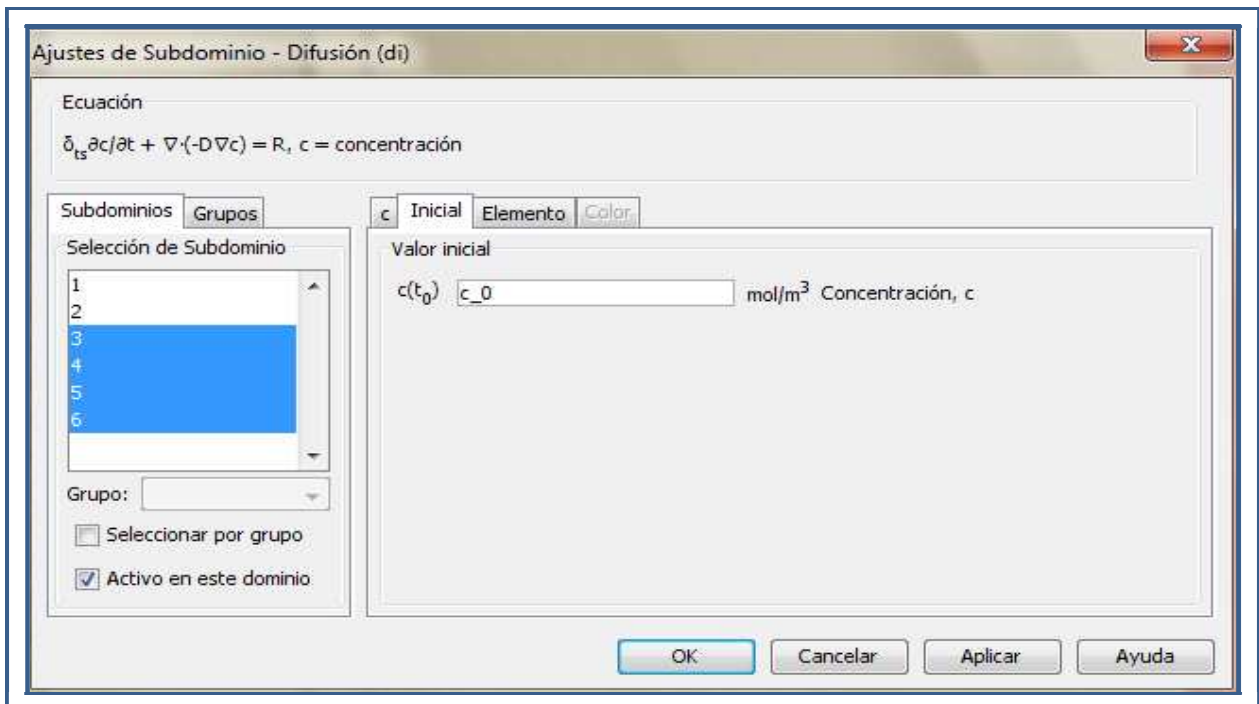


Figura 46: configuración del subdominio 3,4,5,6, pertenecientes al grupo citosol + RyR, que denotan una $c_{(t_0)}=c_0$.(ver Constantes).

6.5.10 Elemento Shlag (2',c') (interpolación por polinomio de Lagrange):

La resolución de un problema de interpolación lleva a un problema de álgebra lineal en el cual se debe resolver un sistema de ecuaciones. Eligiendo la base de Lagrange, se llega a la forma más simple de matriz identidad $= \delta_{i,j}$, que puede resolverse inmediatamente.

Especifica el tipo de elemento finitos. Además de especificar el tipo de elementos finitos para un modelo de navegación, puede controlar la configuración del elemento en el cuadro de diálogo de configuración de subdominio. Hacer click en la ficha de elemento para especificar la configuración de elementos finitos.

Para el subdominio seleccionado puede especificar:

- La función de forma de elemento: se utiliza para encontrar la U variable de campo de los valores conocidos en otros lugares.
- El orden de integración y restricciones: metodologías que transforman integrales iteradas o integrales múltiples cambiando el orden en que las integraciones se realizan.

Realizar una selección en la lista de elementos predefinidos. Los elementos predefinidos varían dependiendo del modo de aplicación. También se puede crear un elemento personalizado mediante la edición de las funciones de forma, y la integración de las órdenes de restricción.

6.5.11 Restricciones Ideales y no ideales:

Los modos de aplicación admiten dos tipos de restricciones, limitaciones ideales y no ideales. Se puede elegir qué tipo de restricción usar en el cuadro de diálogo de propiedades de modo de aplicación en el menú de la física, excepto en los modos de

EDP, donde se selecciona el tipo de restricción en las opciones de configuración del subdominio.

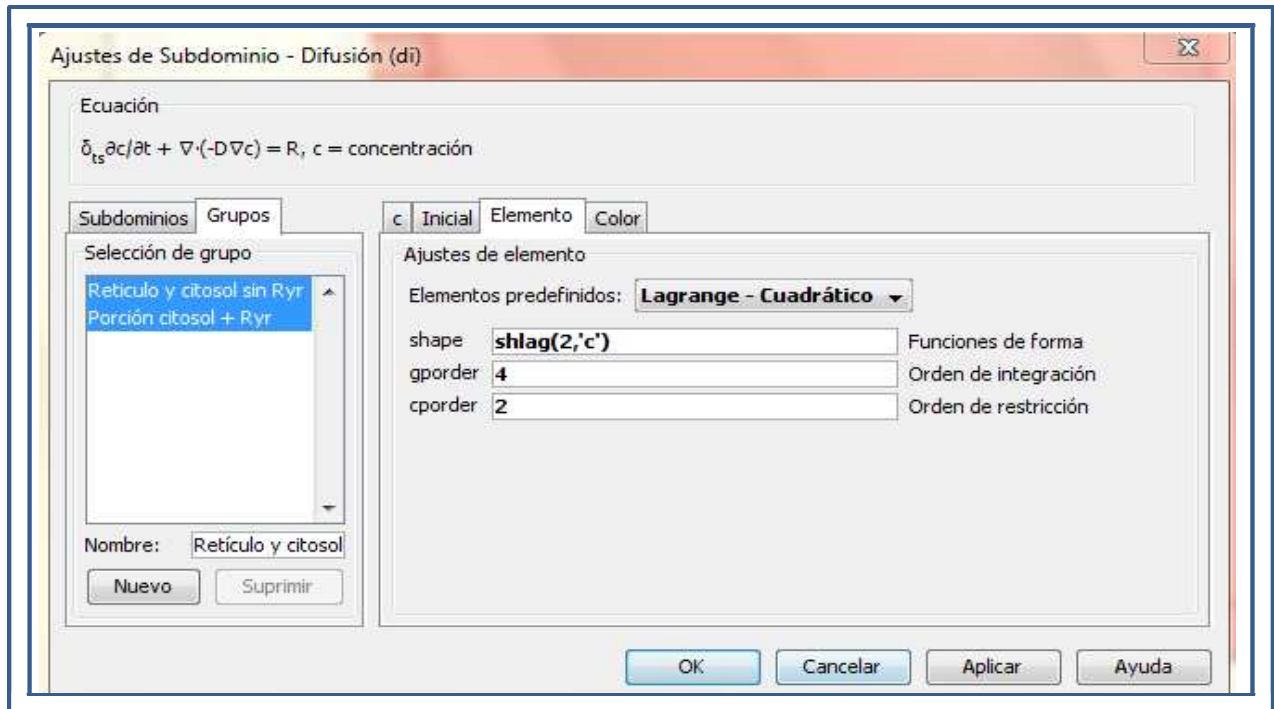


Figura 47. Especificación de la configuración de elementos finitos en el cuadro de diálogo de configuración de subdominio.

6.5.12 Configuración del contorno.

Define la interfaz entre la geometría del modelo y sus alrededores. También puede establecer las condiciones de la interfaz en límites interiores en una geometría del modelo.

Para los modos de física y los módulos opcionales de COMSOL, se seleccionan condiciones de límite predefinidas. Puede establecer diferentes condiciones de contorno para cada límite. Para especificar el límite general de coeficientes para cualquier modelo de COMSOL Multiphysics, se debe utilizar el cuadro de diálogo de configuración de límites para el sistema de la ecuación.

Cuando se especifica las condiciones límite y la interfaz, COMSOL Multiphysics distingue entre límites exterior e interior:

- Un límite exterior es una interfaz exterior del dominio de modelado.
- Límite interior es una interfaz divisoria entre dos subdominios en el dominio de modelado.

Si el modo de un ecuación o aplicaciones se desactiva en un dominio, el límite interior entre el dominio activo e inactivo se convierte en un límite exterior para sus variables porque es, a continuación, en la parte exterior del dominio de modelado para esos campos.

Los límites del dominio inactivo, a continuación, son nulos.

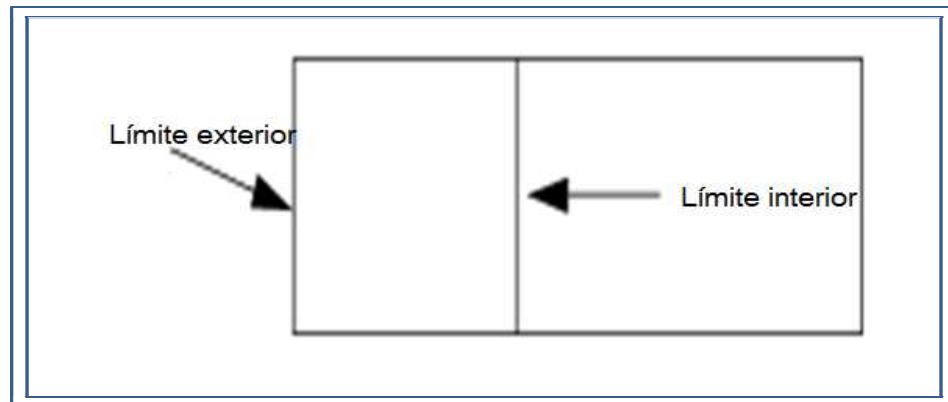


Figura 48. Ejemplos de las fronteras exteriores e interiores.

6.5.13 Establecer condiciones de límites:

En el menú de la física, elegir, Configuración de límite para abrir el cuadro de diálogo configuración de límites. En este cuadro de diálogo, seleccionar los límites y especificar las condiciones de frontera.

La ecuación en la parte superior del cuadro de diálogo describe la condición de frontera actualmente seleccionada.

6.5.13 Las condiciones de contorno

Hacer click en la ficha de coeficiente para especificar las condiciones de frontera.

Existen dos tipos básicos de condiciones de frontera:

- Generalizada: condición de Neumann (o la condición de Robin), donde se determina la condición de frontera por los coeficientes \mathbf{q} y \mathbf{g} con arreglo a la ecuación. La condición de Neumann estándar no incluye el término \mathbf{qu} . En el caso de sistema con \mathbf{n} variables dependientes, \mathbf{q} es una matriz de $\mathbf{n} \times \mathbf{n}$ y \mathbf{g} es un vector de $\mathbf{n} \times \mathbf{1}$.

- Condiciones de Dirichlet: \mathbf{u} se especifica en la frontera. La ecuación de la condición de frontera es $\mathbf{hu} = \mathbf{r}$, donde \mathbf{h} es un peso que normalmente es igual a $\mathbf{1}$. En un modelo con \mathbf{n} variables dependientes, \mathbf{h} es una matriz de $\mathbf{n} \times \mathbf{n}$ y \mathbf{r} es un vector de $\mathbf{n} \times \mathbf{1}$. La condición de Dirichlet también incluye una condición de Neumann:

. La condición de Neumann está activa para los componentes de la solución donde la matriz \mathbf{h} no impone una restricción.

Los modos de física contienen condiciones predefinidas de límite específicos de la aplicación de ambos tipos.

Se pueden definir los coeficientes en las condiciones de límite con constantes y expresiones, así como funciones matemáticas y lógicas.

La condición de frontera por defecto para las fronteras en los modos EDP es la \mathbf{n} de la condición de Dirichlet = 0. La condición de frontera por defecto para los modos de física varía.

6.5.14 Modificar la configuración de límites para el sistema de ecuaciones:

Para ver y establecer las condiciones de contorno en el sistema de ecuación completa como coeficientes de límite estándar:

- 1- Ir al menú de la física, elegir el sistema de ecuaciones y a continuación, hacer click en configuración de límites.
- 2- En el cuadro de diálogo configuración de límites, editar los coeficientes de límite para el sistema de la ecuación.

6.5.15 Configuración de condiciones sobre los límites interiores.

Por defecto, se pueden establecer las condiciones de la interfaz en límites interiores. COMSOL Multiphysics siempre garantiza la continuidad del flujo a través de las fronteras interiores. Para permitir la especificación de interfaz de condiciones sobre los límites interiores:

1. Ir al menú de física y elegir configuración de límites.
2. Seleccionar la casilla de verificación de las fronteras interiores.

Ahora se pueden seleccionar todos los límites de la lista de selección de límite.

6.5.16 Aplicaciones donde las condiciones de la interfaz en los límites interiores pueden ser útiles incluyen:

- Interna de fuentes y sumideros
- Discontinuidades en el flujo a través de una frontera interior

Para cada modo de aplicación, la lista de condición de frontera muestran los tipos de condiciones aplicables para las fronteras interiores y exteriores.

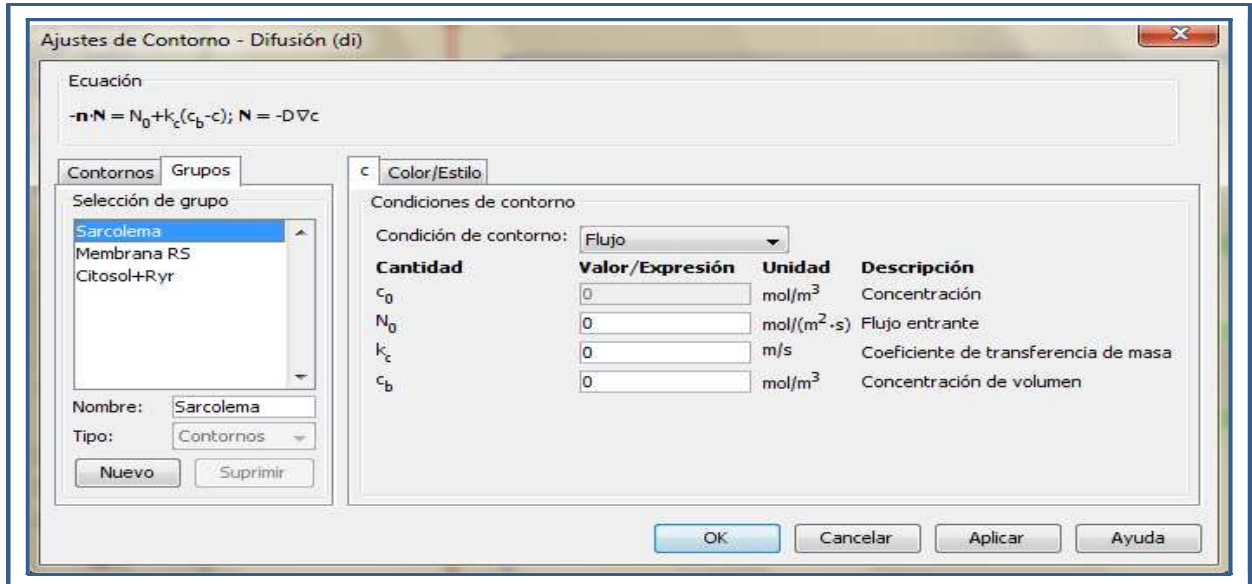


Figura 49. Configuración de contorno para el grupo Sarcolema, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

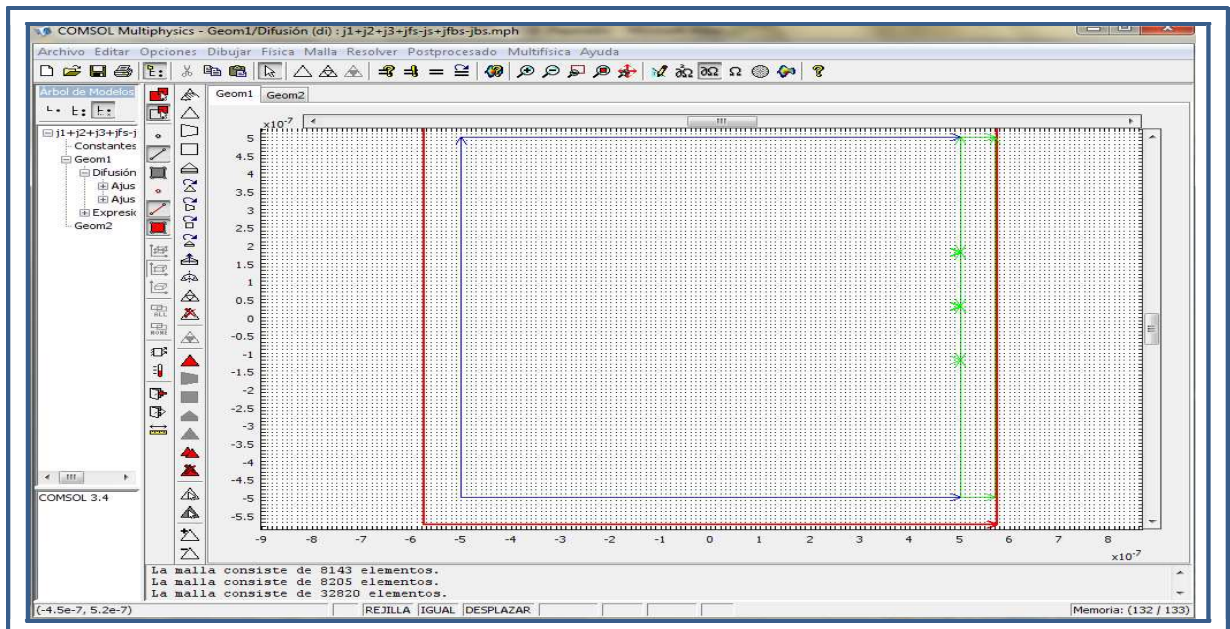


Figura 50. Ventana general que denota los contornos del grupo Sarcolema en rojo.

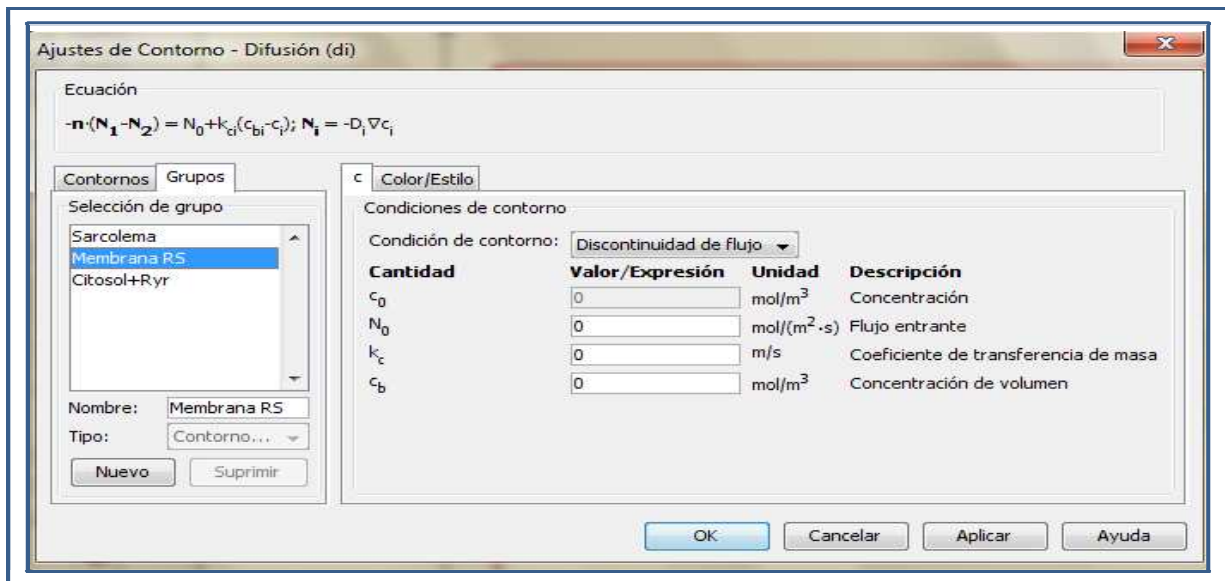


Figura 51. Configuración del contorno para el grupo Membrana RS, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

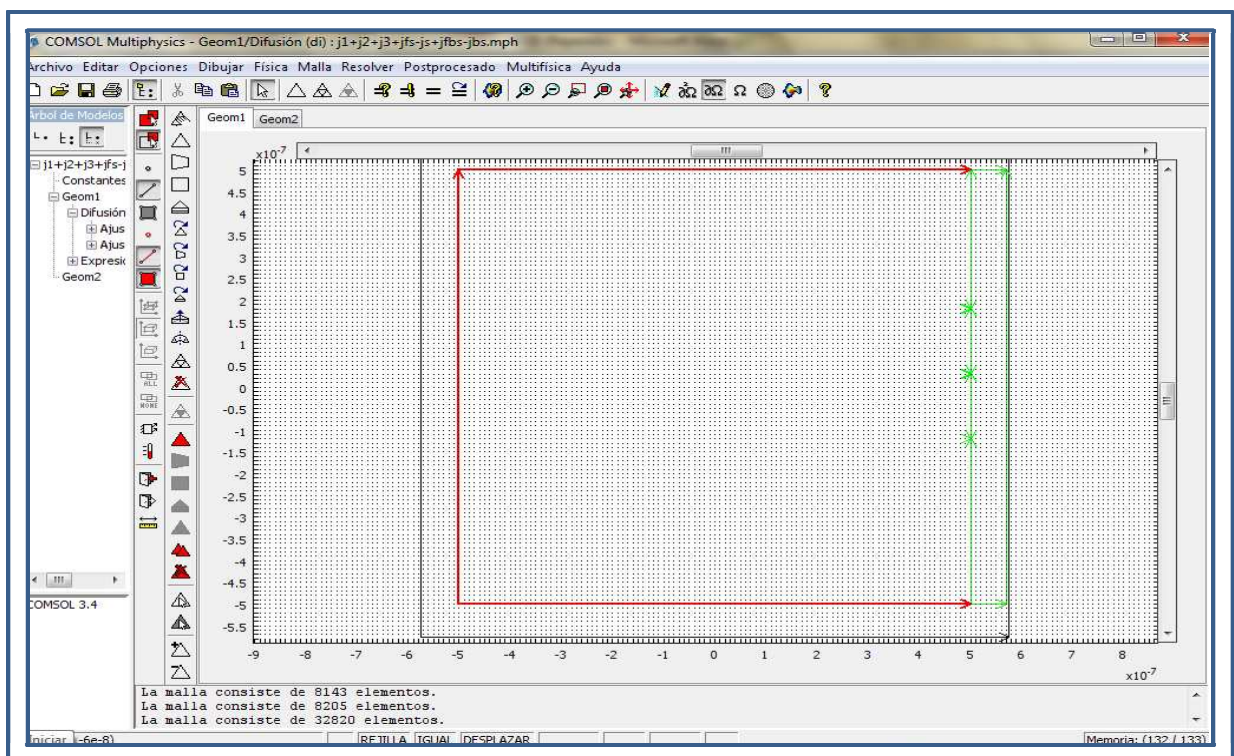


Figura 52. Ventana general que denota los contornos del grupo Membrana RS en rojo.

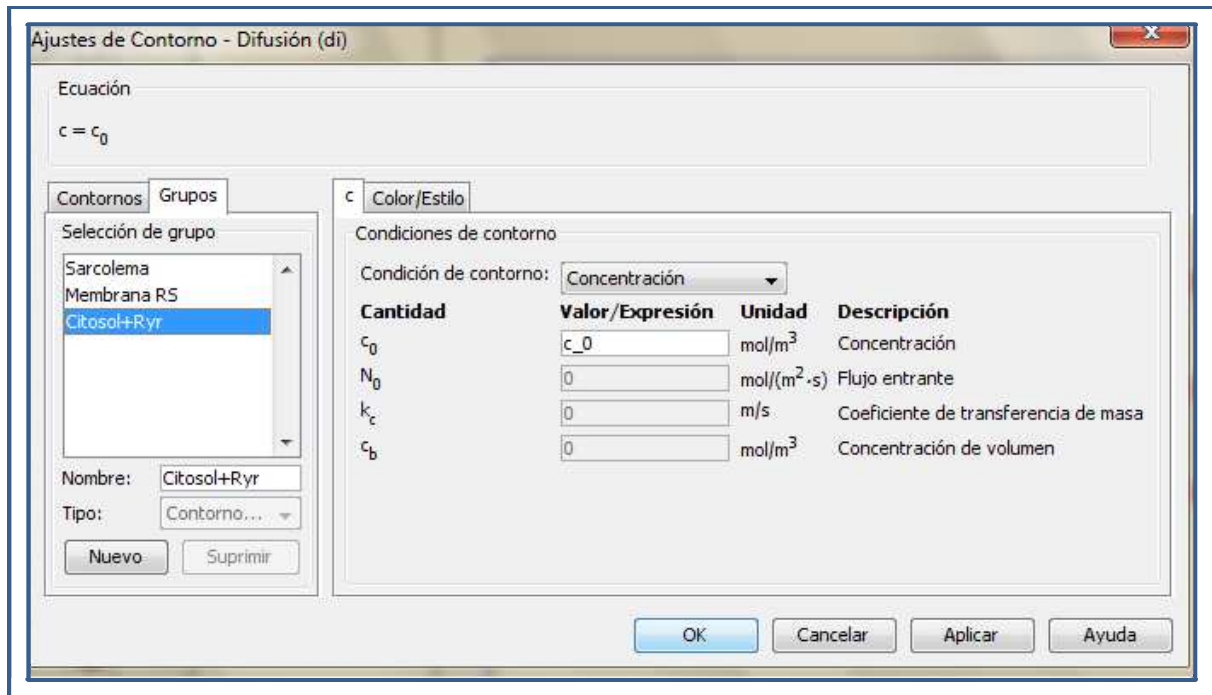


Figura 53. Configuración del contorno para el grupo citosol + RyR, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

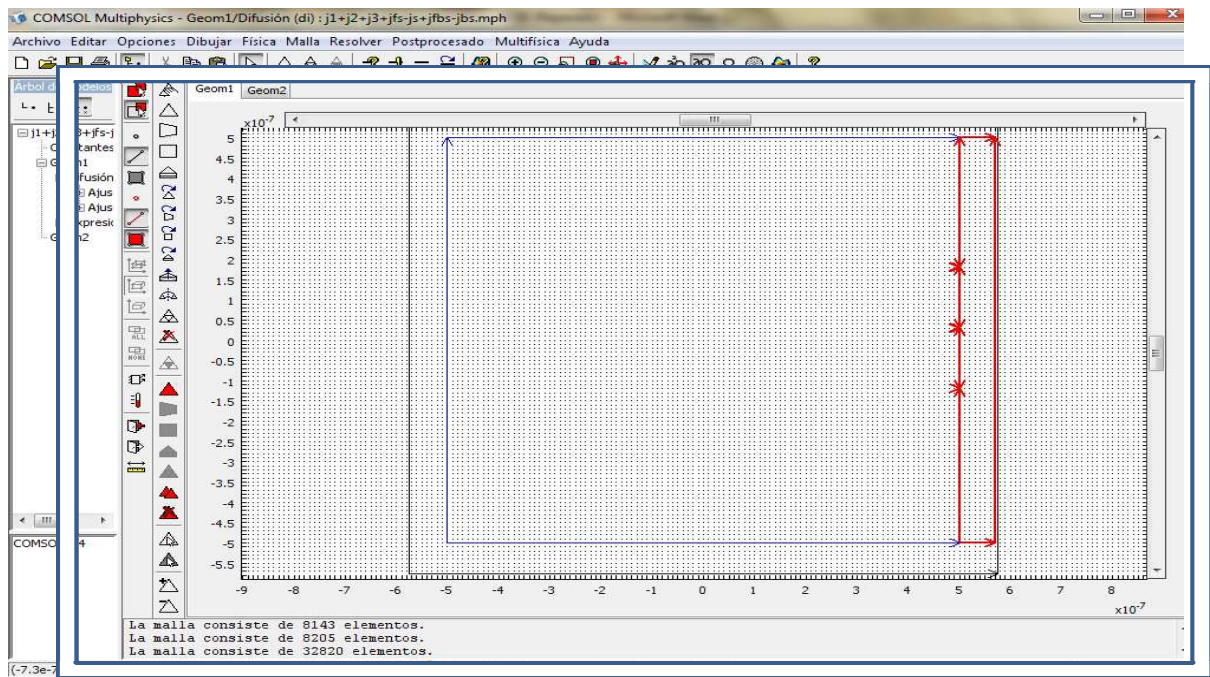


Figura 54. Ventana general que denota los contornos del grupo citosol + RyR en rojo.

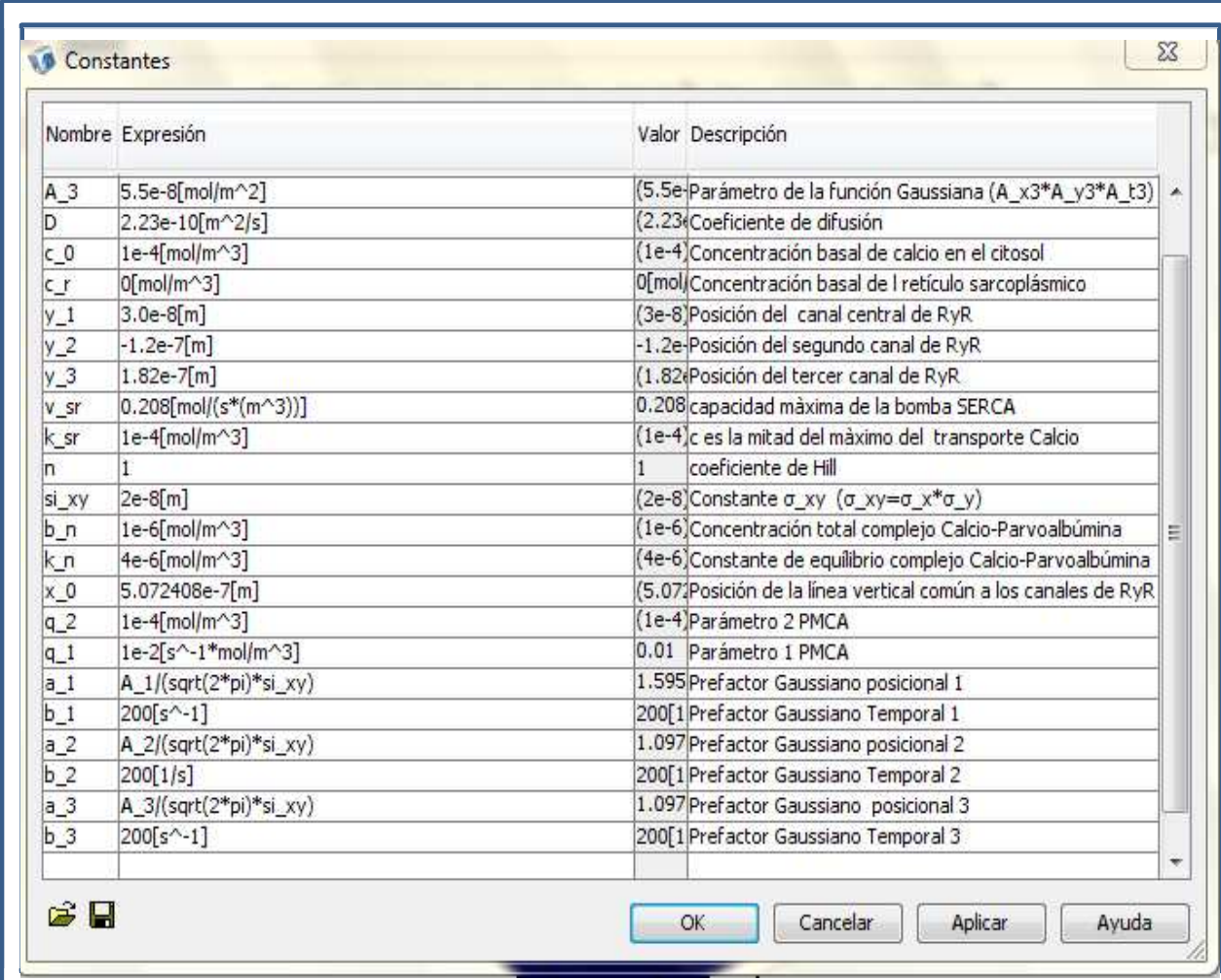
6.5.17 Constantes:

Las constantes son globales, es decir, son las mismas para todas las geometrías y subdominios. Las constantes pueden depender de otras constantes y contener cualquier función matemática.

6.5.18 Adición de constantes:

Se pueden agregar tantas constantes como se desee:

1. En opciones en el menú principal, elegir constantes.
2. En el cuadro de diálogo resultante de constantes se realiza una entrada en el campo de edición de nombre.
3. La expresión define el valor de la constante en la expresión. Esta expresión puede incluir cualquier constante ya definida y también unidades. Hacer click en aplicar o hacer click en otro campo de edición para evaluar la constante. El valor numérico (y la unidad en el sistema de unidad base del modelo, si es aplicable) aparecen en la columna valor.
4. Agregar una descripción de la constante en la descripción del campo de edición. Esta descripción opcional puede ser cualquier cadena de caracteres.
5. Agregar más constantes introduciendo valores en nuevas filas en la tabla.



Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_3	5.5e-8[mol/m ²]	(5.5e-8)	Parámetro de la función Gaussiana (A_x3*A_y3*A_t3)
D	2.23e-10[m ² /s]	(2.23e-10)	Coefficiente de difusión
c_0	1e-4[mol/m ³]	(1e-4)	Concentración basal de calcio en el citosol
c_r	0[mol/m ³]	0	Concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	3.0e-8[m]	(3e-8)	Posición del canal central de RyR
y_2	-1.2e-7[m]	-1.2e-7	Posición del segundo canal de RyR
y_3	1.82e-7[m]	(1.82e-7)	Posición del tercer canal de RyR
v_sr	0.208[mol/(s*(m ³))]	0.208	capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	1e-4[mol/m ³]	(1e-4)	c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1	1	coeficiente de Hill
si_xy	2e-8[m]	(2e-8)	Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy}=\sigma_x*\sigma_y$)
b_n	1e-6[mol/m ³]	(1e-6)	Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	4e-6[mol/m ³]	(4e-6)	Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	5.072408e-7[m]	(5.072408e-7)	Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	1e-4[mol/m ³]	(1e-4)	Parámetro 2 PMCA
q_1	1e-2[s ⁻¹ *mol/m ³]	0.01	Parámetro 1 PMCA
a_1	A_1/(sqrt(2*pi)*si_xy)	1.595	Prefactor Gaussiano posicional 1
b_1	200[s ⁻¹]	200	Prefactor Gaussiano Temporal 1
a_2	A_2/(sqrt(2*pi)*si_xy)	1.097	Prefactor Gaussiano posicional 2
b_2	200[1/s]	200	Prefactor Gaussiano Temporal 2
a_3	A_3/(sqrt(2*pi)*si_xy)	1.097	Prefactor Gaussiano posicional 3
b_3	200[s ⁻¹]	200	Prefactor Gaussiano Temporal 3

Figura 55. Configuración general de las constantes utilizadas en el modelo, vistas en el cuadro de diálogo constantes.

6.5.21 Expresiones. Variables de expresión:

Las expresiones globales están disponibles en el modelo para generalizar, las expresiones escalares se definen en cualquier lugar de la geometría actual.

Con las expresiones de límite, las expresiones de subdominio, las expresiones de punto y las expresiones de límite de malla interior también se pueden crear expresiones que tienen diferentes significados en diferentes partes del modelo.

Las expresiones pueden contener otras variables y expresiones que COMSOL Multiphysics calcula al resolver el modelo, tales como los componentes de la solución, otras variables de expresión, las variables de espacio y tiempo.

Las variables de expresión pueden facilitar el modelo, mediante la introducción de nombres cortos para expresiones complejas. Otro uso para las variables de la expresión es durante el postprocesado. Si necesita ver un campo variable a lo largo del modelo, pero tiene diferentes nombres en diferentes dominios, se crea una variable de expresión compuesta de los diferentes dominios y, a continuación, se traza esa variable.

6.5.22 Guardar y cargar variables de expresiones globales y Variables de expresiones escalares.

Se pueden guardar las variables de expresión globales y escalares a archivos de texto y también cargar esas variables desde archivos de texto en los cuadros de diálogo de expresiones globales y expresiones escalares. Esto funciona de la misma manera como para las constantes.

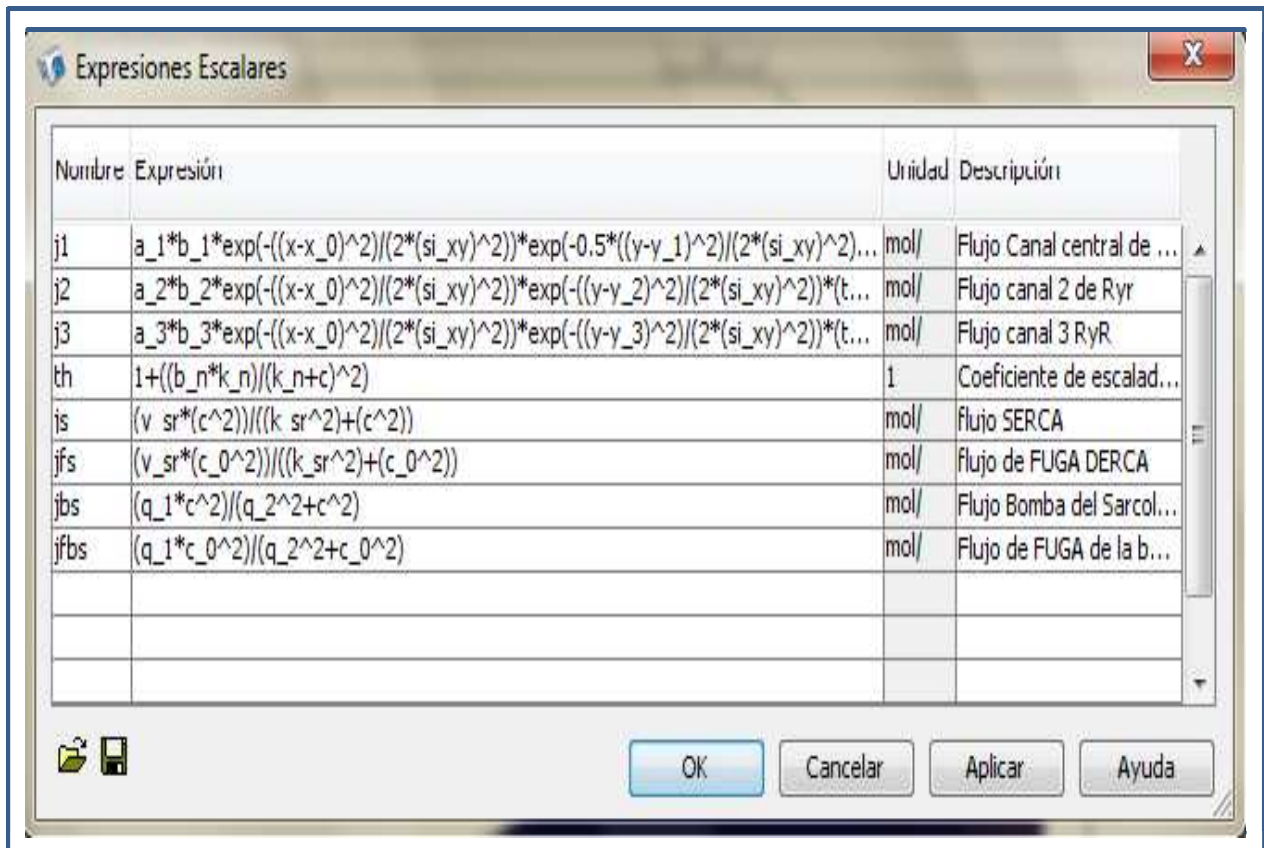


Figura 56. Configuración general de las expresiones escalares utilizadas en el modelo en el cuadro de diálogo, expresiones escalares.

Se pueden utilizar muchos operadores matemáticos, lógicos comunes y funciones junto con constantes para especificar coeficientes y las propiedades del material.

Las tablas siguientes muestran los operadores y funciones disponibles:

OPERADOR	DESCRIPCIÓN
+	suma
-	resta
*	multiplicación
/	división
^	elevado
==	igual
~=	diferente
>	Mayor que
>=	Mayor o igual que
<	Menor que
<=	Menor o igual que
	o
&	y

Tabla 7. Operadores binarios utilizados en COMSOL Multiphysics.

FUNCIÓN	DESCRIPCIÓN	SINTAXIS
abs	valor absoluto	abs(x)
acos	Arcoseno	acos(x)
acosh	Arcoseno hiperbólico	acosh(x)
acot	Arcotangente	acot(x)
acoth	Arcotangente hiperbólico	acoth(x)
acsc	Arcosecante	acsc(x)
acsch	Arcosecante hiperbólico	acsch(x)
angle	Ángulo de fase	angle(x)
asec	Arcosecante	asec(x)
asech	Arcosecante hiperbólico	asech(x)
asin	Arcoseno	asin(x)
asinh	Seno hiperbólico	asinh(x)
atan	Arcotangente	atan(x)
atan2	Arcotangente IV cuadrante	atan2(y,x)
atanh	Arcotangente hiperbólico	atanh(x)
besselj	Función de Bessel de orden 1	besselj(a,x)

bessely	Función de Bessel de orden 2	bessely(a, x)
besseli	Función de Bessel de orden 3	besseli(a, x)
besselk	Función de Bessel de orden 4	besselk(a, x)
conj	Complejo conjugado	conj(x)
cos	Coseno	cos(x)
cosh	Coseno hiperbólico	cosh(x)
cot	Cotangente	cot(x)
coth	Cotangente hiperbólico	coth(x)
csc	Cosecante	csc(x)
csch	Cosecante hiperbólico	csch(x)
eps	Punto flotante de precisión relativo	eps
erf	Función error	erf(x)
exp	Exponencial	exp(x)
i, j	Unidad imaginaria	i
imag	Parte imaginaria	imag(u)
inf	Infinito	inf
log	Logaritmo natural	log(x)

log10	Logaritmo base 10	log10(x)
log2	Logaritmo base 2	log2(x)
max	Máximo de 2 argumentos	max(a,b)
min	Mínimo de 2 argumentos	min(a,b)
mod	Operador modulo	mod(a,b)
NaN, nan	Not-a-number	nan
real	Parte real	real(u)
pi	pi	pi
sec	Secante	sec(x)
sech	Secante hiperbólica	sech(x)
sign	Función signo	sign(u)
sin	Seno	sin(x)
sinh	Seno hiperbólico	sinh(x)
sqrt	Raíz cuadrada	sqrt(x)
tan	Tangente	tan(x)

Tabla 8. Funciones matemática y constantes utilizadas en COMSOL Multiphysics.

6.6 Cálculo: parámetros del resolvidor, resolución del problema. COMSOL Multiphysics incluye un número de diferentes algoritmos de resolución para problemas basados en el EDP.

TIPO DE RESOLVEDOR	USOS
RESOLVEDOR	USOS
Estacionaria	Para problemas estacionarios. PDE (lineal o no lineal)
Dependiente del tiempo	Para problemas PDE, dependientes del (lineal o no lineal)
Valores propios	Para problemas PDE con valores propios
Paramétrica	Para conjuntos parametrizados de PDE (lineal o no lineal)
Estacionaria segregada	Para multifísica estacionaria PDE (lineal o no lineal)
Paramétrica segregada	Para conjuntos parametrizados de PDE con multifísica estacionaria (lineal o no lineal)
Adaptiva	Para sistemas estacionarios (lineal o no lineal) o valores propios PDE, usando adaptaciones en el refinamiento de la malla.

Tabla 9. Resolvedores de COMSOL Multiphysics.

6.6.1 Seleccionar un tipo de análisis.

Para la mayoría de los modelos, no se necesita seleccionar un resolvidor explícitamente. En su lugar, se elige un tipo de análisis.

Los tipos de análisis disponibles son estacionario, eigenfrecuencia, análisis transitorio, dependiente del tiempo y paramétrico.

6.6.2 Seleccionar el tipo de análisis en el modelo de navegación.

Con la excepción de los modos de EDP, el tipo de análisis es una propiedad del modo de aplicación que puede cambiar más adelante. Para ello, elegir propiedades en el menú de física para abrir el cuadro de diálogo de propiedades de modo de aplicación o seleccionarlo de la lista de análisis en el cuadro de diálogo parámetros del resolvidor.

El tipo de análisis configura varias ecuaciones para el modo de aplicación y sugiere un solucionador de forma predeterminada. Para omitir este comportamiento predeterminado, abrir en el cuadro de diálogo parámetros de resolvidor y especificar el resolvidor de su elección en la lista de resolvidor.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que hacerlo así que puede resultar en un ajuste de resolvidor que es incompatible con las ecuaciones que se desea resolver. Se puede desactivar la selección de resolvidor automático basada en el tipo de análisis desactivando la casilla de verificación de resolvidor. Seleccionar auto debajo de la lista de análisis en el cuadro de diálogo parámetros de resolvidor.

Para los modelos de multifísicos, el modo de aplicación determina el tipo de análisis y sugiere un solucionador de forma predeterminada.

Generalmente, el tipo de análisis selecciona un solucionador apropiado, que usualmente no es necesario que usted mismo lo seleccione.

COMSOL Multiphysics, detecta automáticamente la no-linealidad, por lo que normalmente, no se necesita decidir si se desea utilizar un resolvidor lineal o un resolvidor no lineal. La detección automática funciona a través de análisis de las variables que contribuyen a la matriz Jacobiana residual y la matriz Jacobiana de restricción.

En algunos casos, puede que desee especificar de forma explícita que los algoritmos de resolución estacionarios y paramétricos utilicen resolvidor lineal o no lineal.

Estos casos incluyen:

- Modelos lineales, donde la detección automática de linealidad hace que COMSOL Multiphysics utilice un resolvidor no lineal. Esto puede ocurrir, por ejemplo, para los modelos que implican a algunos tipos menos comunes de variables de acoplamiento (directa o indirectamente como parte de algunas condiciones de frontera). El resolvidor no lineal normalmente converge directamente para problemas lineales, pero si no es el caso, puede cambiar al resolvidor lineal.
- Usando el resolvidor lineal para el método de Newton para un problema no lineal.
- Usando el resolvidor lineal para resolver un problema (no lineal) alineado.

Para controlar explícitamente qué algoritmo de resolvidor se utilizan los algoritmos de resolución estacionarios y paramétricos.

Hacer click en la ficha estacionario en el cuadro de diálogo parámetros de resolvidor.

A continuación, en la lista de linealidad, seleccionar lineal, para utilizar el resolvidor lineal o no lineal, para utilizar el resolvidor no lineal.

Con la configuración predeterminada, automática, COMSOL Multiphysics detecta la no-linealidad automáticamente.

- El resolvidor estacionario no lineal y el resolvidor dependiente del tiempo toman más tiempo a la convergencia a la solución correcta, y en algunos casos falla el resolvidor en encontrar una solución. Sin embargo, si los términos omitidos tienen una dependencia muy débil en la solución buscada, el impacto en la velocidad de convergencia es pequeño.

6.6.3 UMFPACK (Unsymmetric MultiFrontal method):

UMFPACK es un conjunto de rutinas para resolver sistemas lineales dispersos asimétricos, utilizando el método multifrontal asimétrico. El método frontal permite resolver matrices no simétricas. La ventaja de este método está fundamentada en el hecho de ir eliminando las variables tan pronto aparecen en la matriz global.

Cuando en un nodo en particular todos los elementos que incluyen a dicho nodo han dado su contribución, este es eliminado de la matriz frontal. De esta forma la matriz nunca es ensamblada, ya que todas las ecuaciones de reducción pueden ser eliminadas y almacenadas en el disco.

6.6.3.1 Características del método frontal

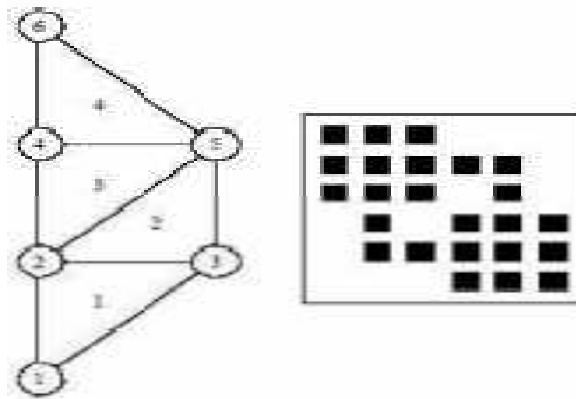
_ variante de los métodos de factorización, trabaja de a bloques.

_ presentado por Irons^[93] en años 70.

_ basado en la necesidad de resolución de grandes matrices simétricas y definidas positivas resultantes de la aplicación del método de los elementos finitos a problemas de análisis estructural^[93].

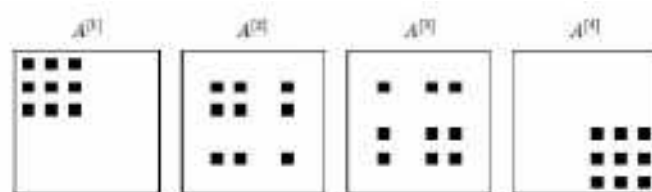
_ Inspirado en la metodología de trabajo de los MEF.

_ Se puede observar la relación existente entre la forma de construcción de la matriz de rigidez global por los MEF a través del ensamblaje de las matrices de rigidez de cada elemento según $A = \sum B_e$ (en donde B_e son las matrices de rigidez de los distintos elementos y A es la matriz de rigidez global) y la evolución de la factorización por la estrategia frontal^[93].



En la figura de arriba se puede observar la discretización de un problema utilizando MEF y la estructura (coeficientes no nulos) de la matriz de rigidez asociada al problema. En el ejemplo se utilizan 4 elementos triangulares de 3 nodos cada uno y una sola variable libre lo que implica que la matriz de rigidez global posea 6 ecuaciones^[93].

En la Figura de abajo se puede observar la estructura de cada una de las matrices de rigidez asociadas a cada uno de los 4 elementos del problema planteado en la Figura anterior.



El principal aporte realizado por Irons^[93], es la observación de que no es necesario calcular toda la matriz de rigidez global para luego factorizarla.

Se puede realizar un secuencia de factorizaciones, a medida que las submatrices (matrices de rigidez de cada elemento) se encuentren completas, es decir que se puede factorizar una fila y columna una vez que esta haya recibido todos los aportes^[93].


6.6.3.2 Pasos método frontal:

1. Calcular los coeficientes que aportan los elementos mientras se puedan agregar a la matriz frontal.
2. Buscar en la matriz frontal, dentro de las filas/columnas que se encuentran completamente sumadas (aquellas que no recibirían más aportes) un pivot.
3. Se elimina el pivot iterativamente (mientras sea posible) y se repiten los pasos 2 y 3.
4. Luego se agregan los coeficientes de la matriz del siguiente elemento a la matriz frontal y se repiten los pasos 2 y 3.
5. Cuando se eliminan todos los pivot se resuelve mediante sustitución.

6.6.3.3 Método multifrontal

El gran aporte de los métodos multifrontales es que están diseñados para trabajar con varios frentes en forma independiente, calculando la factorización de un frente y guardando los aportes del mismo a otros frentes hasta que sea necesario utilizarlos^[93]. En una etapa previa se realiza el análisis de la dependencia de datos entre los distintos frentes. Una vez establecido el orden de eliminación (árbol de eliminación) se van

resolviendo los distintos frentes. Antes de factorizar un frente es necesario ensamblar las matrices de rigidez de los elementos del frente y cargar y calcular el aporte de los complementos de Schur pendientes^[93]. En forma de ejemplo, se puede ver una matriz A y su árbol de eliminación.

$$A = \begin{pmatrix} x & & x & x & x \\ x & & x & x & x \\ x & & x & x & x \end{pmatrix}$$


$$\begin{matrix} 1 & 3 \\ 3 \end{matrix} \begin{pmatrix} x & x \\ x & x \end{pmatrix} \quad \begin{matrix} 2 & 4 \\ 4 \end{matrix} \begin{pmatrix} x & x \\ x & x \end{pmatrix}$$

Para la matriz A la técnica multifrontal factoriza el primer frente definido por la matriz de las entradas 1 y 3, y luego guarda en alguna estructura auxiliar los aportes de este frente ya que el frente 2 no posee dependencias de datos con el primer frente^[93].

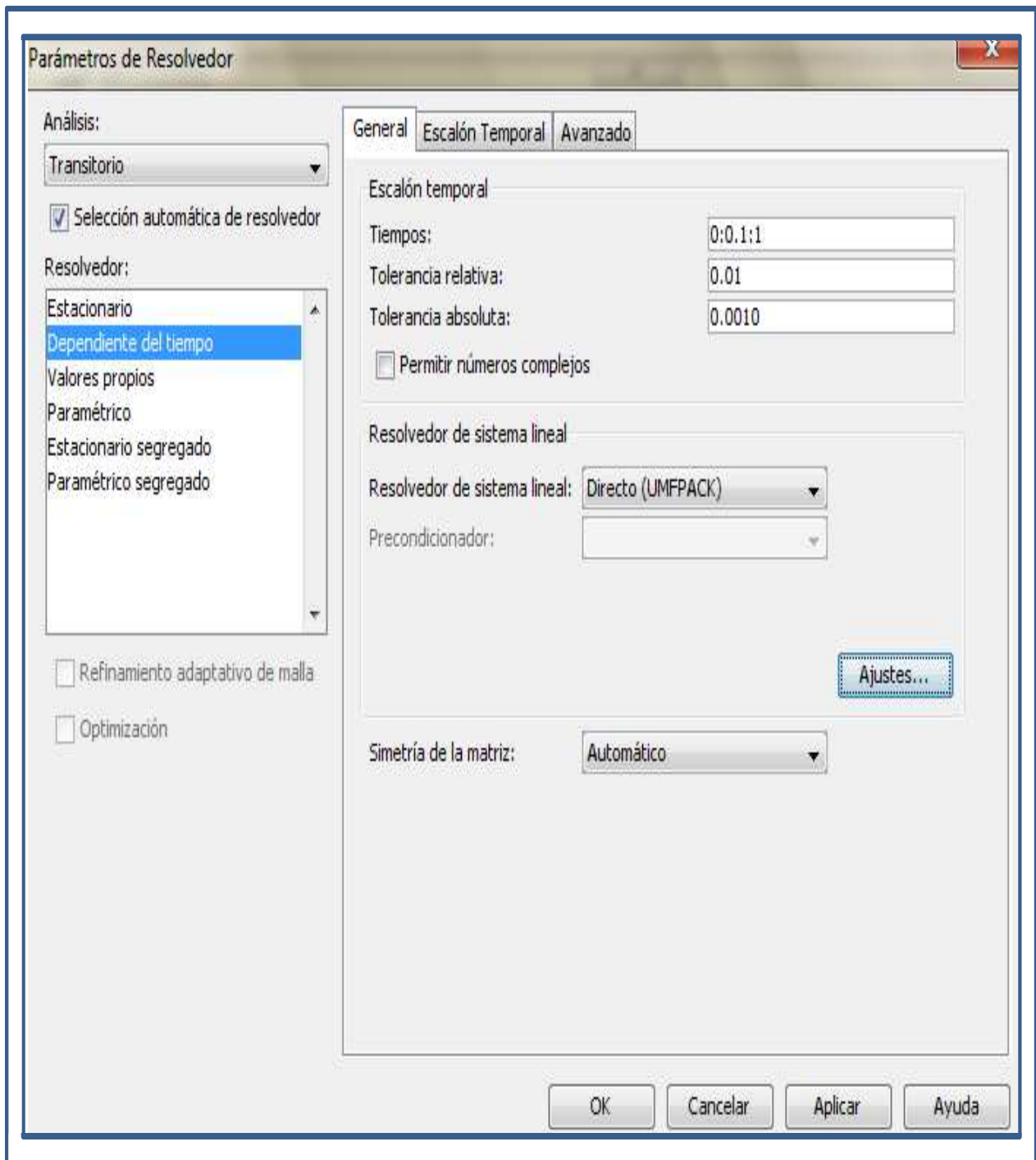


Figura 57. Configuración general, en el cuadro de diálogo, Parámetros del resolvedor.

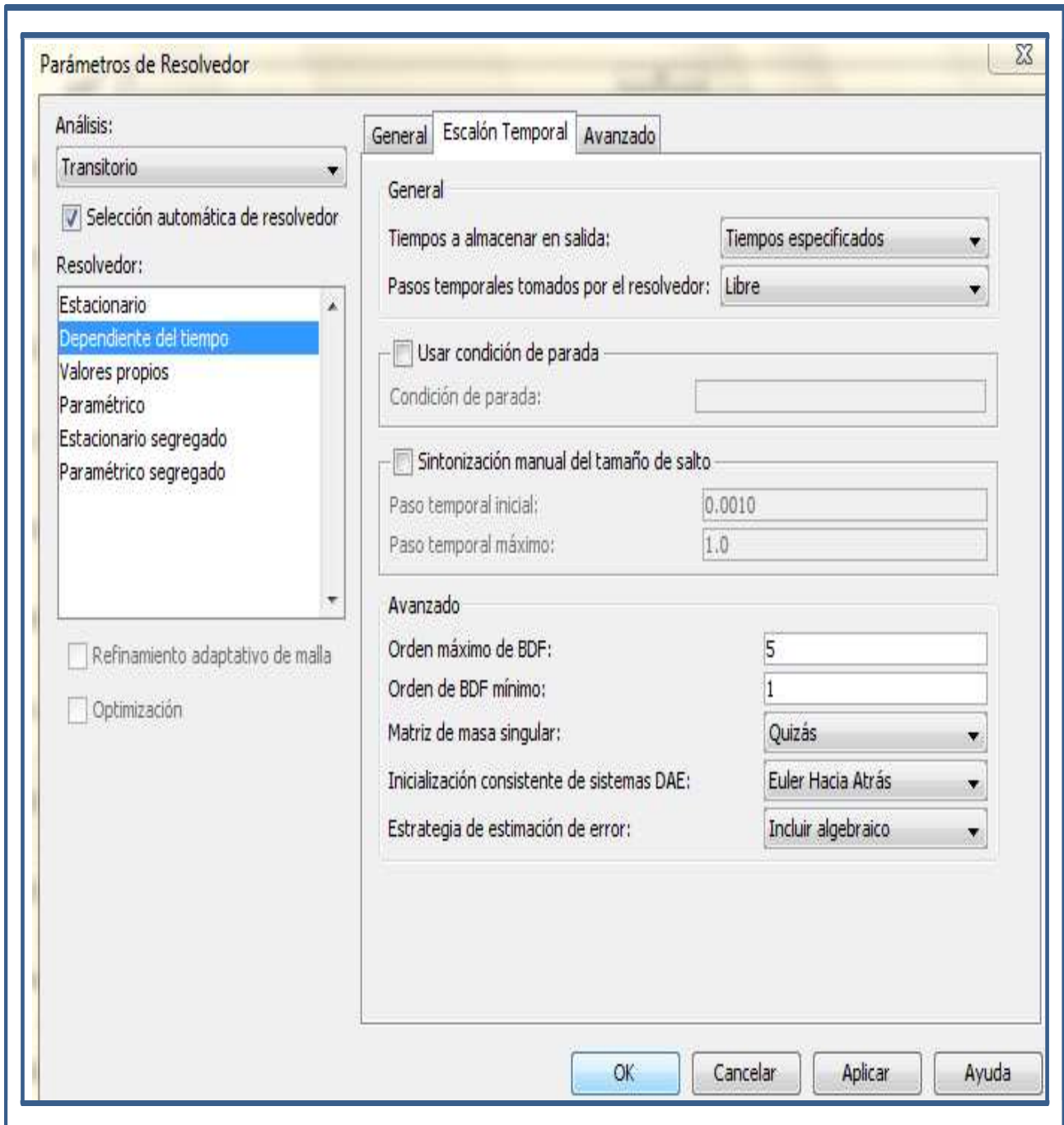


Figura 58. Configuración de escalón temporal, en el cuadro de diálogo Parámetros del resolvedor.

6.6.4 Euler Hacia atrás.

El método de Euler implícito hacia atrás se utiliza para resolver numéricamente problemas de valor inicial para ecuaciones diferenciales ordinarias.

Un método numérico para una ecuación diferencial ordinaria (EDO), genera una solución paso a paso aproximada en incrementos discretos en todo el intervalo de integración, en efecto producir una muestra discreta de valores aproximados de la función de solución.

En el método de Euler hacia atrás, la solución aproximada se avanza en cada paso por extrapolación a lo largo de la recta tangente cuya pendiente está dada por la (EDO) a lo desconocido sin embargo, como punto de destino.

En concreto, desde un valor de y_k y solución aproximada en el instante t_k tiempo para uno y ODE $y' = f(t, y)$, el método de Euler hacia atrás se aproxima a la solución $y(t_{k+1})$ en tiempo de $t_{k+1} = t_k + h$ resolviendo la ecuación y_{k+1} una implícita $y_{k+1} = y_k + h f(t_{k+1}, y_{k+1})$ y para $k+1$.

Puesto que esta ecuación puede ser no lineal, la solución es, en general, requiere un método de solución iterativa, como la iteración funcional o el método de Newton.

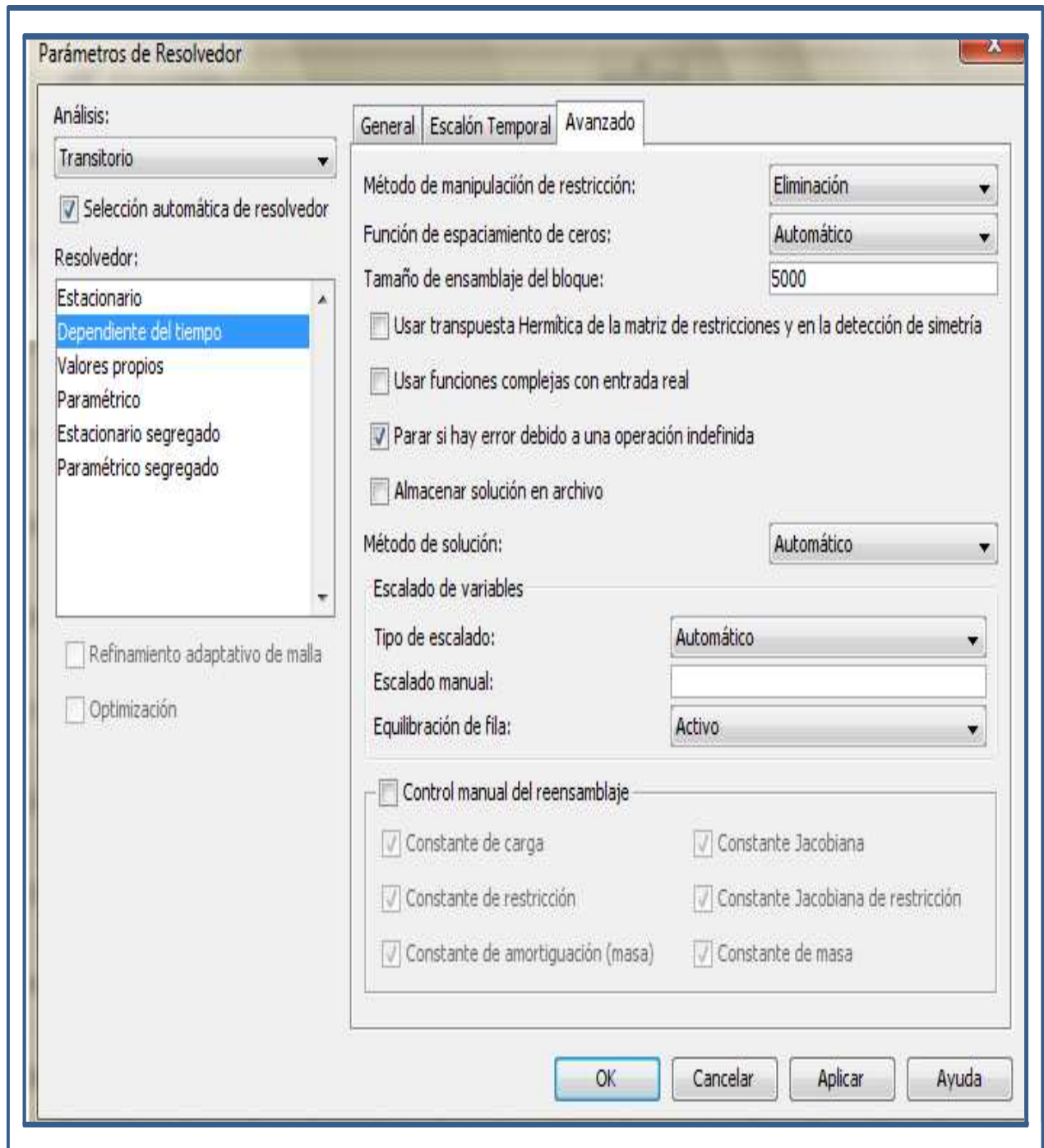


Figura 59. Configuración avanzada en el cuadro de diálogo Parámetros del resolvedor.

6.7 Postproceso: visualización de gráfico, de sección transversal de dominio. Gráficos de contorno, superficie, extrucción, línea, punto, curvas de nivel, 2D, 3D.

Gráficos de línea/extrusión de corte transversal 2D.

Los gráficos de corte transversal 2D de línea/extrusión visualizan una cantidad en una o varias líneas en el tiempo, a lo largo de un rango de parámetros, o para varios valores propios. El botón de gráfico de línea/extrusión se obtiene al hacer click en la ficha de línea/extrusión.

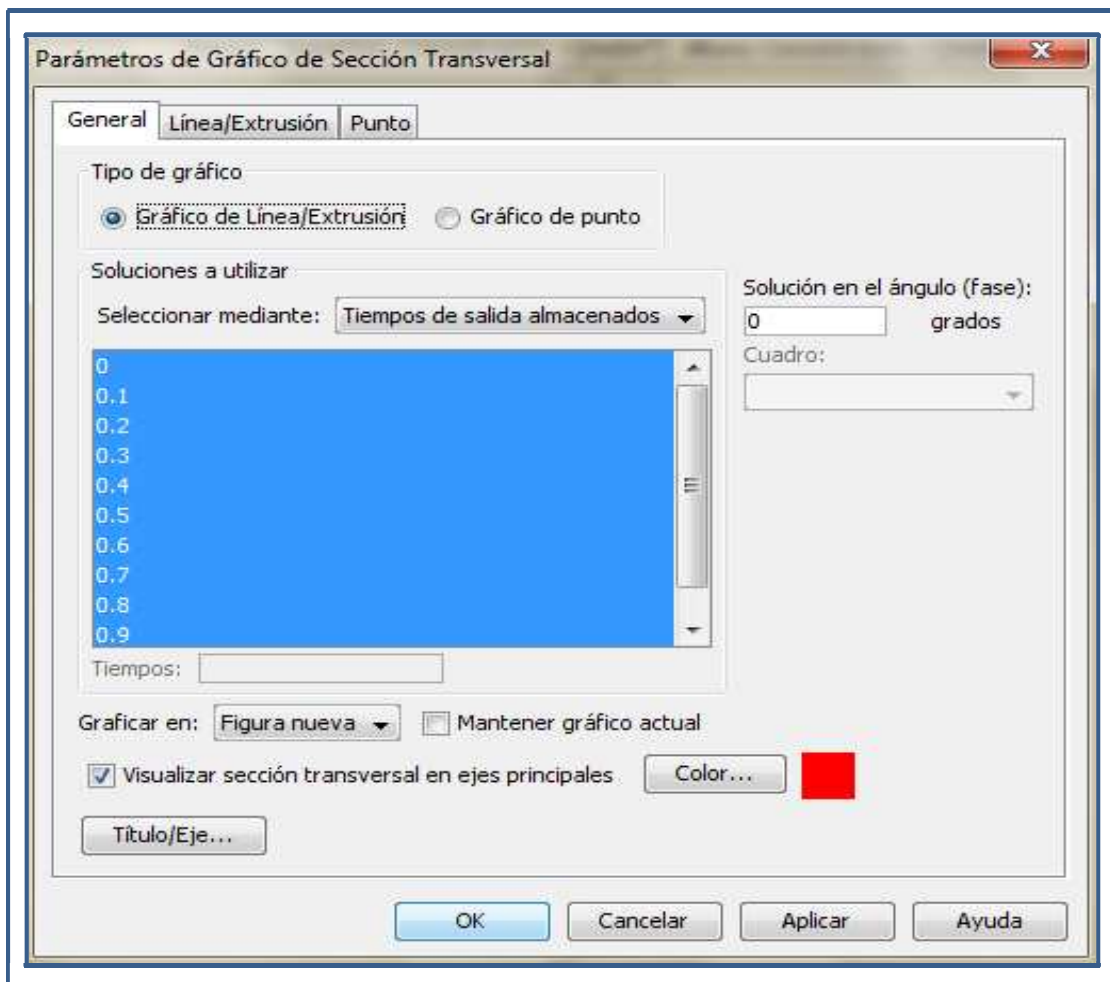


Figura 60. Configuración para gráficos de línea y extrusión de corte transversal en 2D.

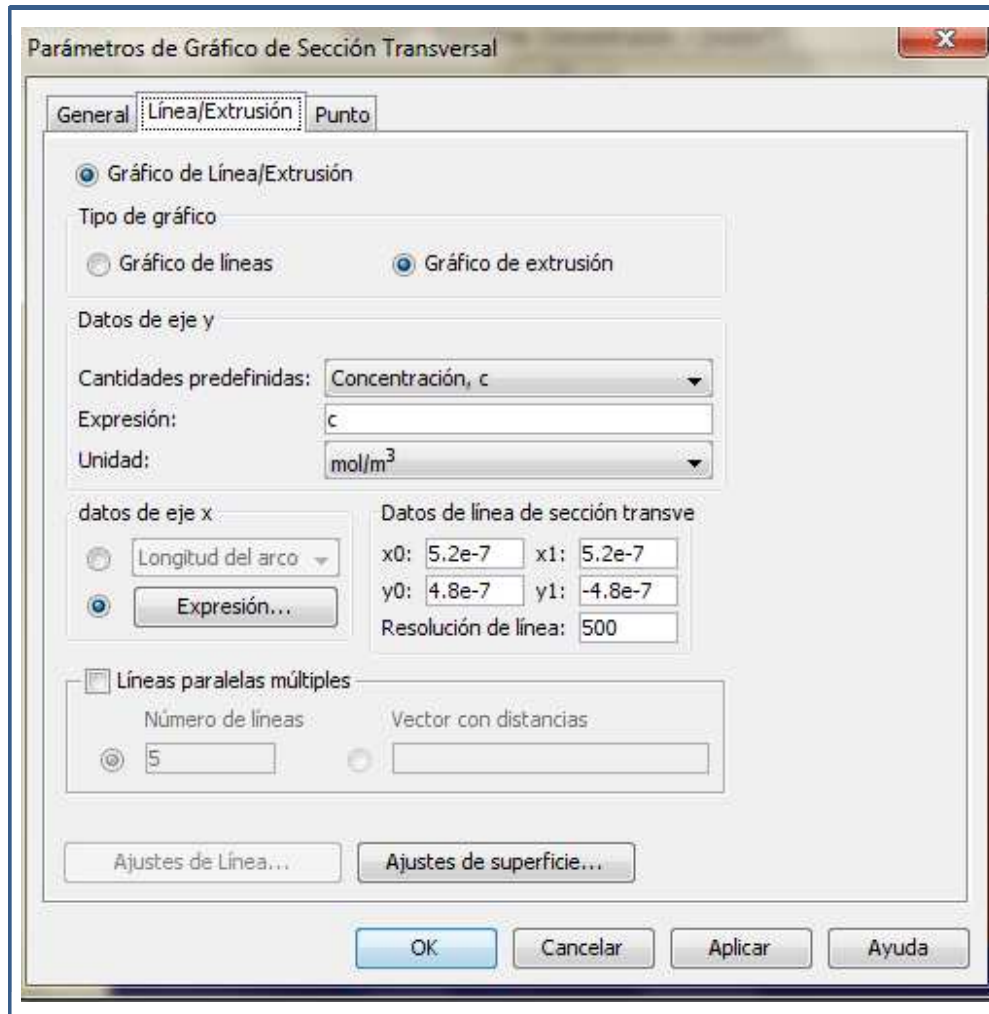


Figura 61. Configuración para gráficos de línea y extrusión de corte transversal en 2D.

6.7.1 Especificación de la línea de corte transversal o propiedades de gráfico de extrusión:

En el área de tipo gráfico, hacer click en gráfico de línea si desea gráficos de línea superpuesta, o hacer click en gráfico de extrusión para crear un trazado de superficie continuo.

6.7.2 Configuración en el área de datos del eje y determinación de la cantidad para mostrar en ese eje:

1. Seleccionar desde cantidades predefinidas o escribir una expresión que contiene variables. La configuración en el área de datos del eje x, determina la cantidad de ese eje.
2. Para especificar los datos del eje x, hacer click en el botón superior y seleccionar la coordenada x, coordenada o longitud de arco en la lista. Hacer click en el botón de la parte inferior y, a continuación, hacer click en el botón de expresión para escribir una expresión arbitraria.
3. En el área de datos de línea de Corte-Sección, introducir las coordenadas 2D para el gráfico. Configurar el inicio y el punto final de la línea en la x_0 , y_0 , x_1 , y_1 , para editar campos. En el campo de edición de resolución de línea, introducir el número deseado de puntos (el valor predeterminado es de 500).
4. Seleccionar la casilla de verificación de varias líneas paralelas para permitir la visualización de un conjunto de líneas paralelas. Elegir entre hacer una entrada en el número de líneas de campo de edición o proporcionar explícitamente distancias desde la línea especificada en los datos de la línea de Corte-sección. Introducir las distancias como campo de edición de valores separados por espacios en el vector de distancias.
5. Utilizar el área configuración de línea para ajustar el color, el estilo y los marcadores de una trama de línea y utilice el cuadro de diálogo de configuración de superficie para ajustar superficie de extrusión.

6.7.3 Gráfico 2D de corte transversal de puntos:

Visualiza una cantidad en uno o varios puntos en el tiempo, a lo largo de un rango de parámetros, o para varios valores propios. El de gráfico de punto se obtiene al hacer click en la ficha punto.

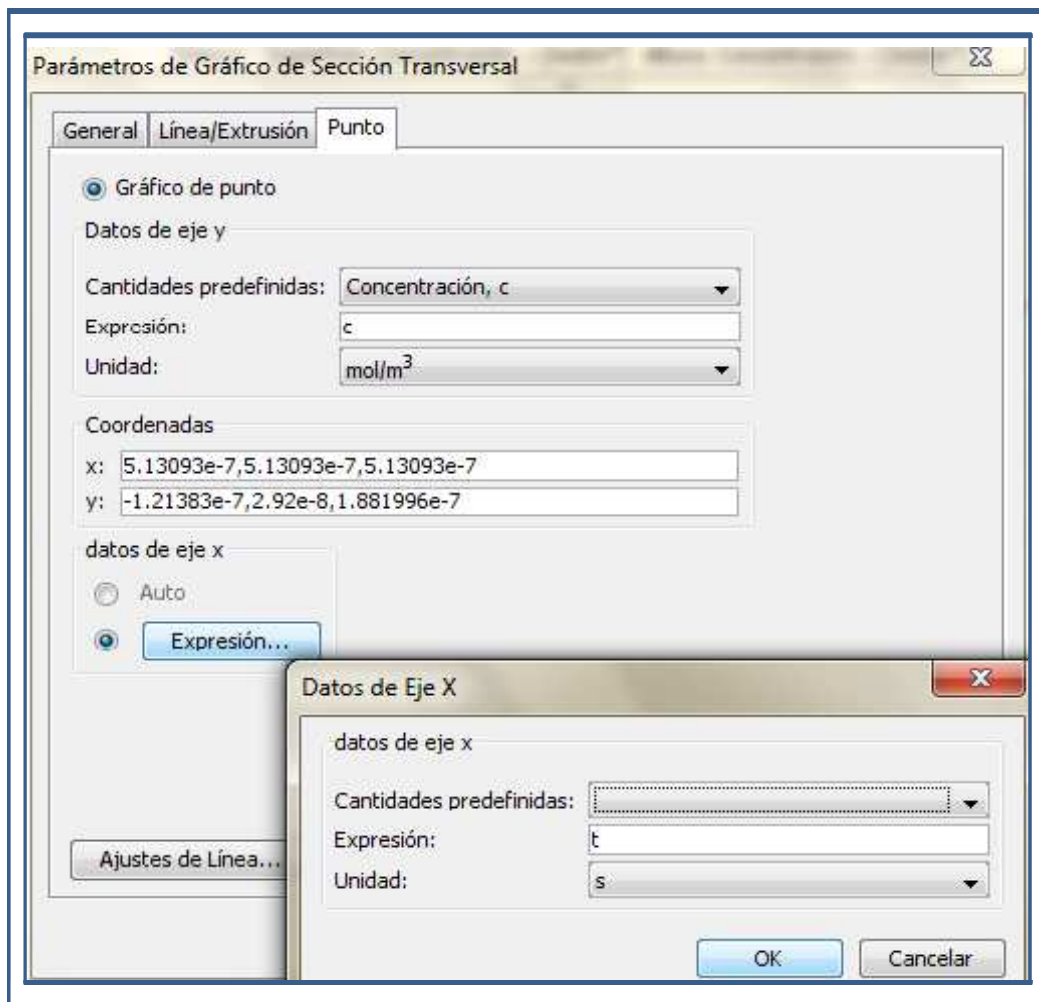


Figura 62. Los parámetros de gráfico 2D de corte transversal de punto.

6.7.4 Gráficos 2D de superficie de dominio:

Este tipo de gráfico visualiza una cantidad en uno o varios subdominios en el tiempo, a lo largo de un rango de parámetros, o para varios valores propios. El gráfico de superficie se obtiene al hacer click en la ficha de superficie y luego en aplicar.

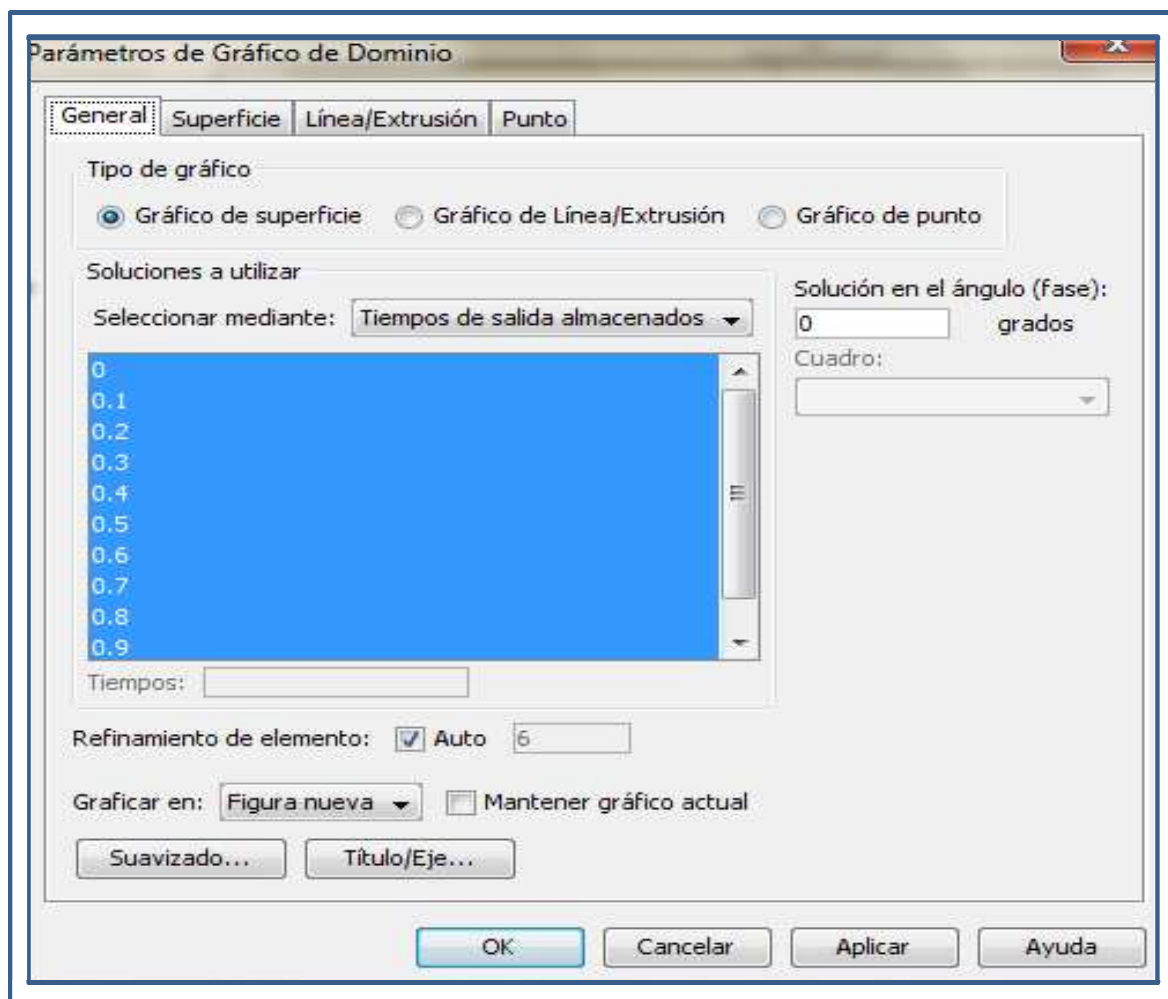


Figura 63. Configuración de gráficos 2D para superficies de dominios.

6.7.5 Gráficos 2D de línea/extrusión de dominio.

Este tipo de gráfico visualiza una solución en uno o varios límites o aristas geométricas. El gráfico de línea/extrusión se obtiene haciendo click en la ficha de línea/extrusión y luego en aplicar.

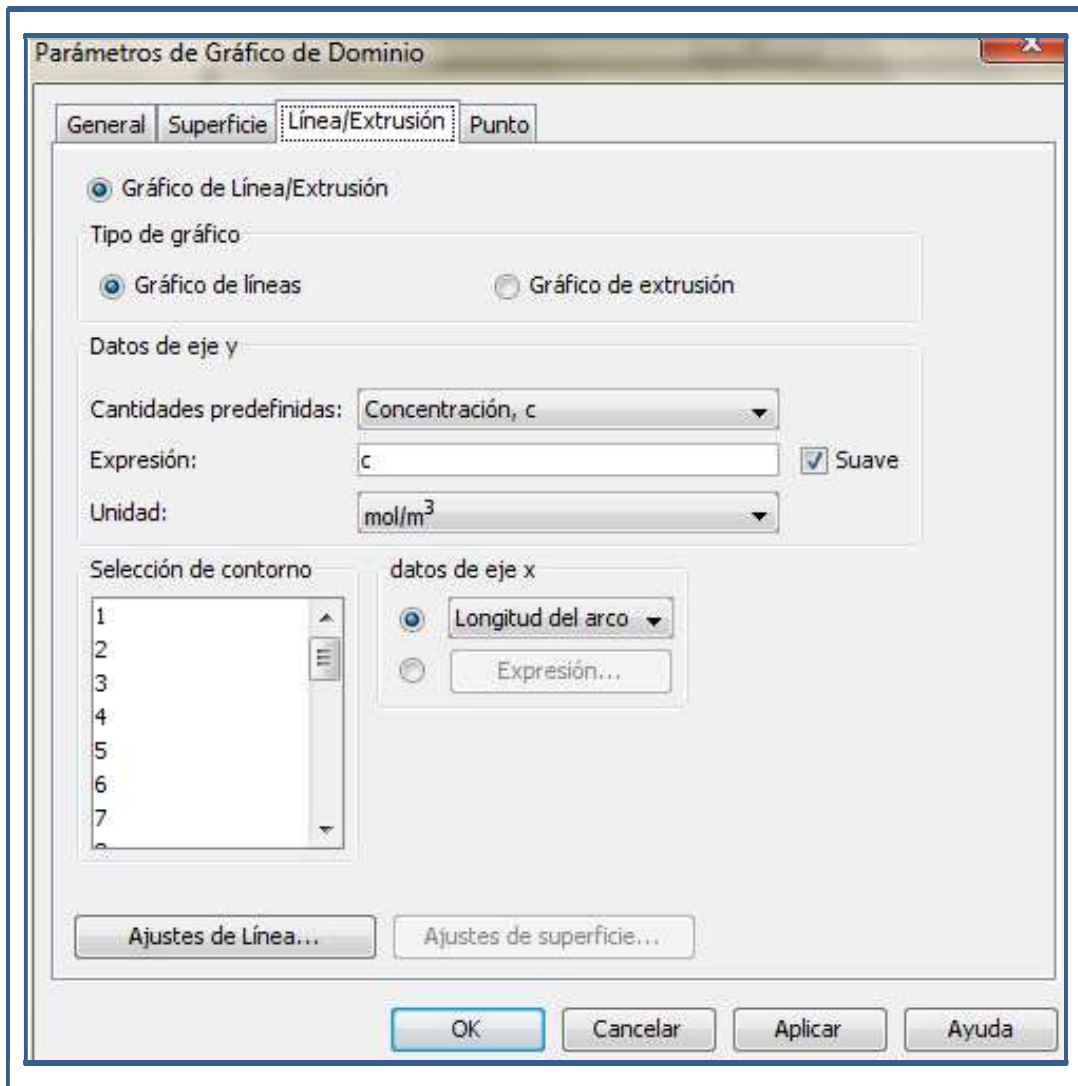


Figura 64. Configuración de gráficos 2D, para dominio de línea y extrusión.

6.7.6 Gráfico 2D para dominio en puntos.

Este tipo de gráfico visualiza la solución en uno o varios vértices o puntos geométricos. El gráfico de punto se obtiene haciendo click en la ficha punto y luego en aplicar.

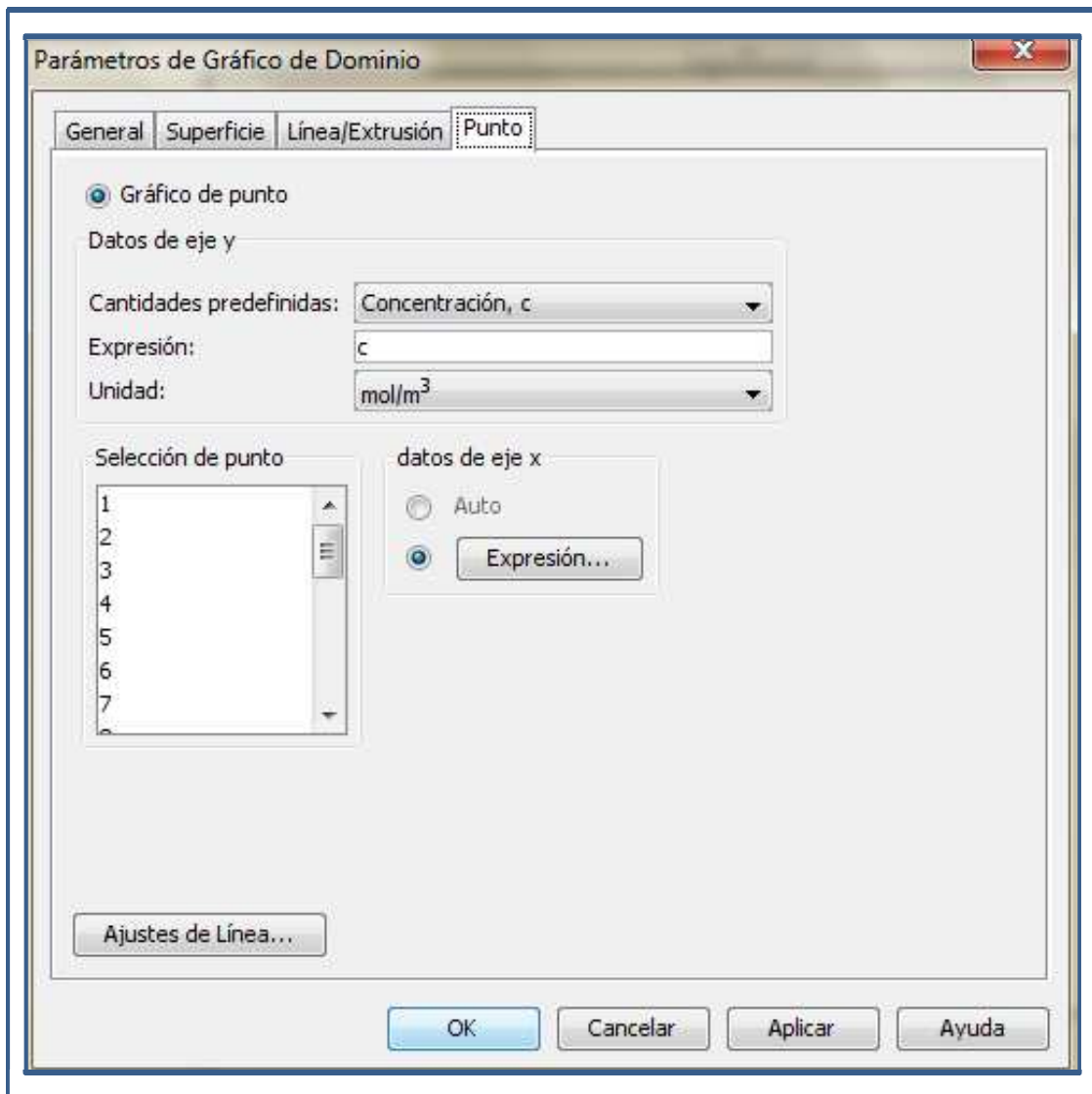


Figura 65. Configuración de gráficos, 2D para dominio en puntos.

CAPITULO VII:
RESULTADOS Y DISCUSION DE
LOS EXPERIMENTOS “IN SILICO”

7.1.DIFUSIÓN-REACCIÓN.PARA R=0. (PRUEBA DE SOFTWARE) CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.

Constantes:

Nombre	Expresión	Descripción
D	2.23e-10 [m ² /s]	coeficiente de difusión
c_0	1e-4[mol/m ³]	concentración basal de calcio en el citosol
b_n	1e-6[mol/m ³]	Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	4e-6[mol/m ³]	Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina

Expresiones:

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
th	$1 + ((b_n * k_n) / (k_n + c)^2)$	1	Coefficiente de escalado temporal

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

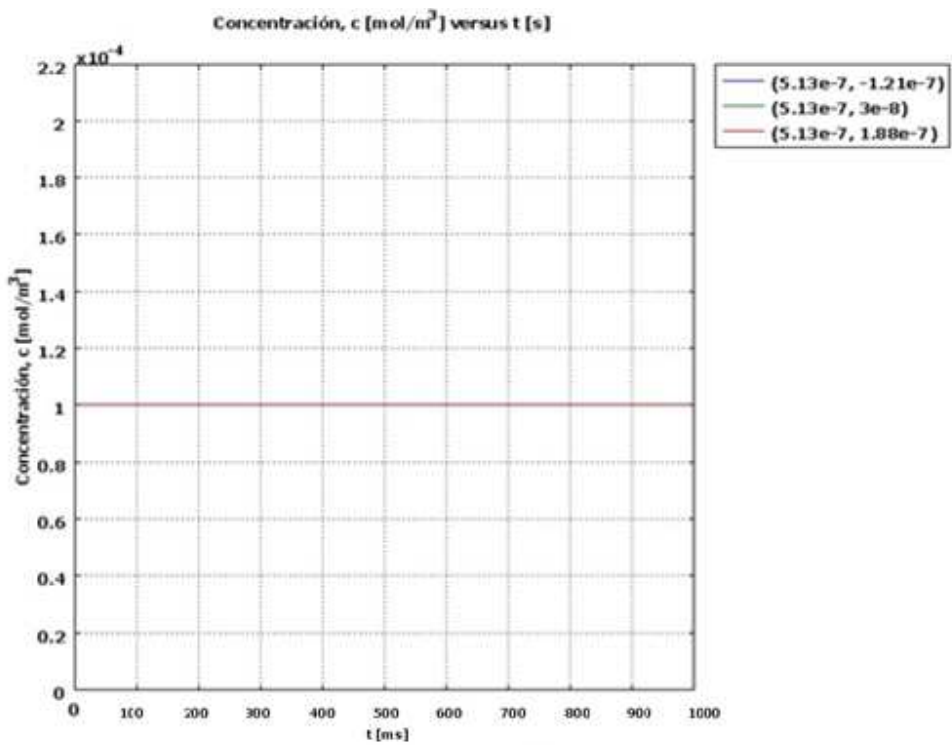
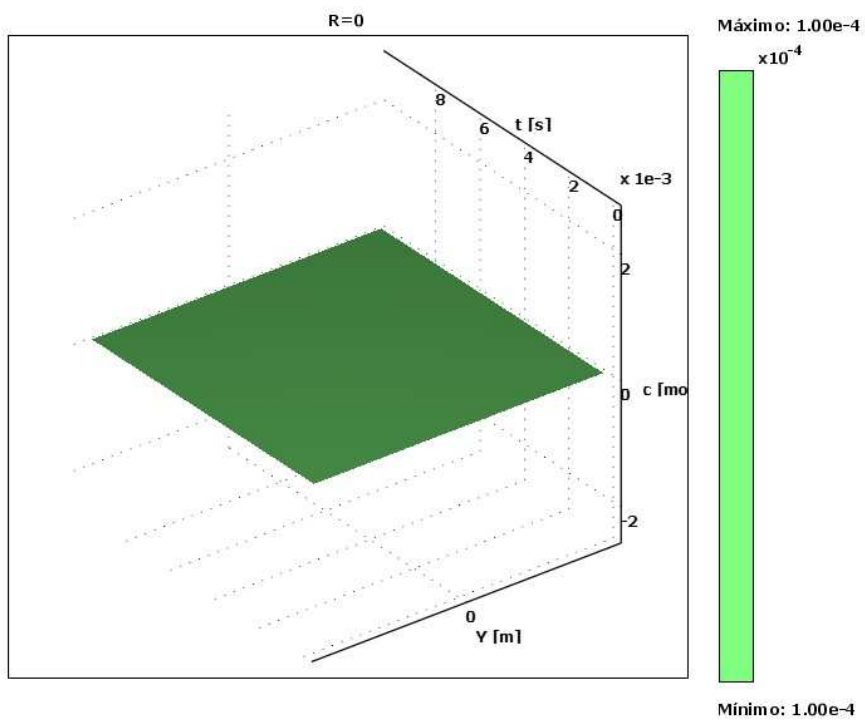
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

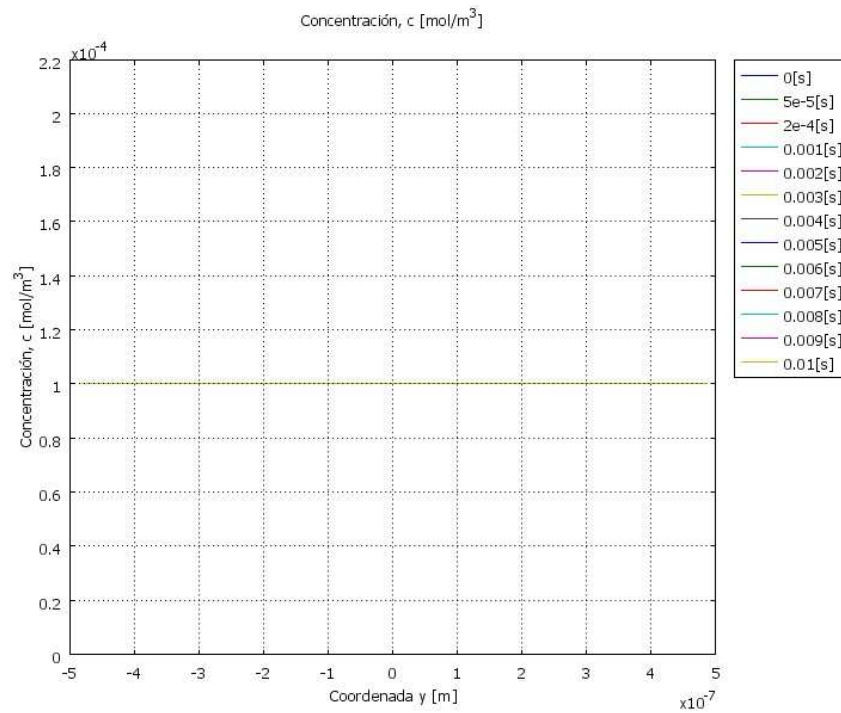
Donde:

δ_{ts} = th; Coeficiente de escalado temporal.

R = 0; Tasa de reacción

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: Al no existir gradiente de concentración, no existe difusión como lo predice la primera ley de Fick. Por otro lado, este experimento permite comprobar parcialmente el adecuado funcionamiento del software.

7.2 DIFUSIÓN-REACCIÓN. 1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO, 2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA. 3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMINOS. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.

Constantes.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
D	2.23e-10[m ² /s]		coeficiente de difusión
c_0	1e-4[mol/m ³]		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	0[mol/m ³]		concentración basal del retículo sarcoplásmico
v_sr	0.208[mol/(s*(m ³))]		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	1e-4[mol/m ³]		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
b_n	1e-6[mol/m ³]		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	4e-6[mol/m ³]		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina

Expresiones

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
th	$1 + ((b_n * k_n) / (k_n + c)^2)$	1	Coeficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr} * (c^2)) / ((k_{sr}^2) + (c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr} * (c_0^2)) / ((k_{sr}^2) + (c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

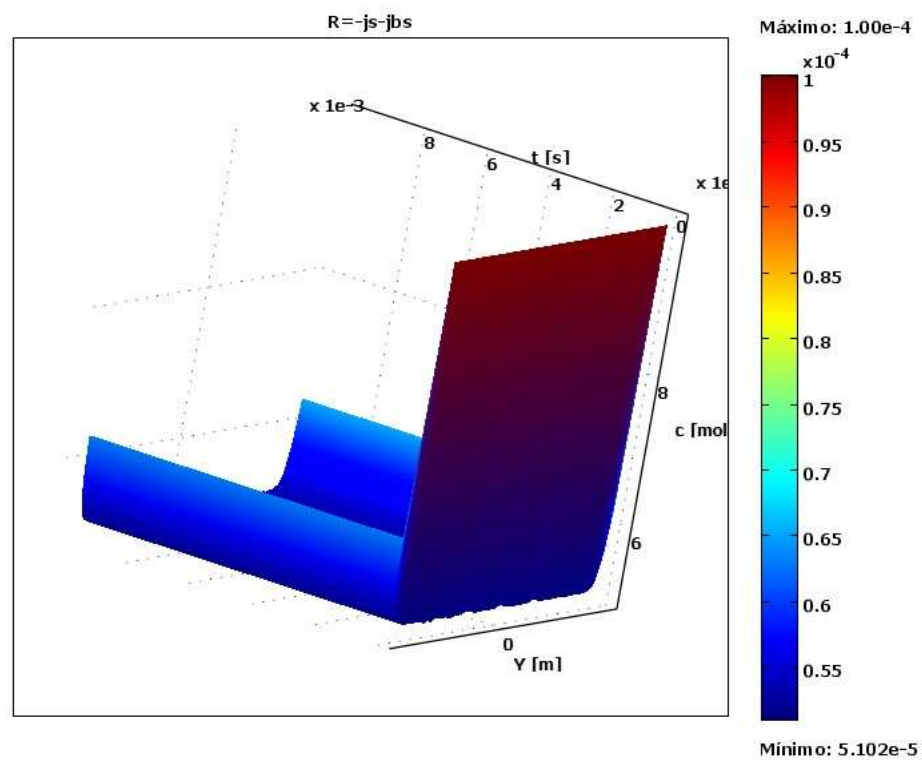
Donde:

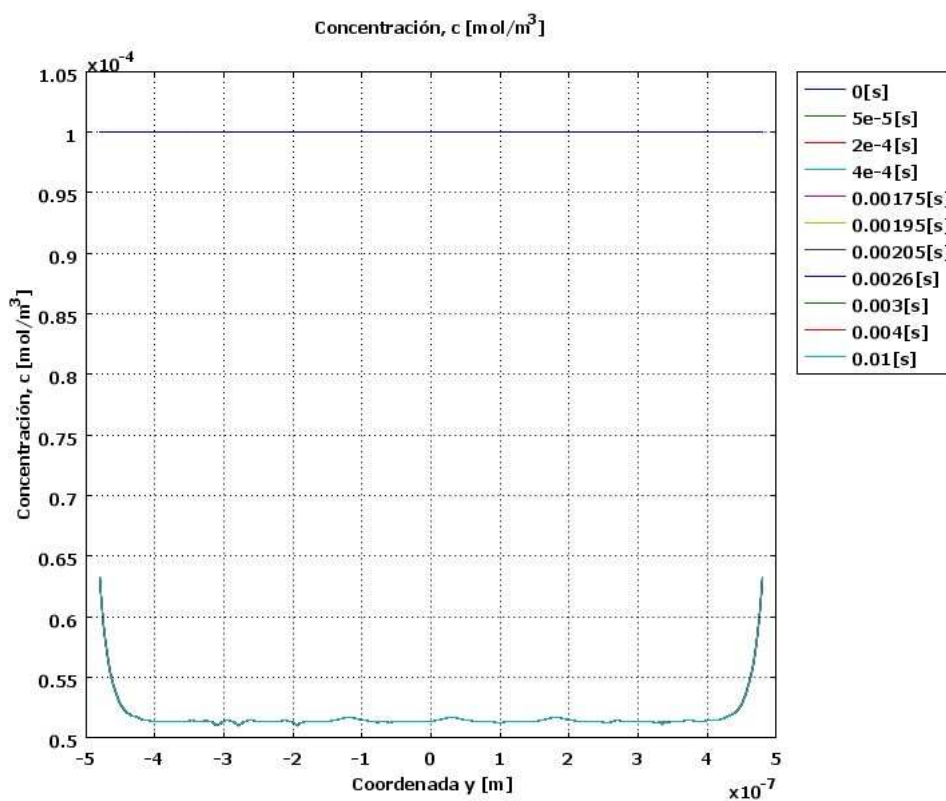
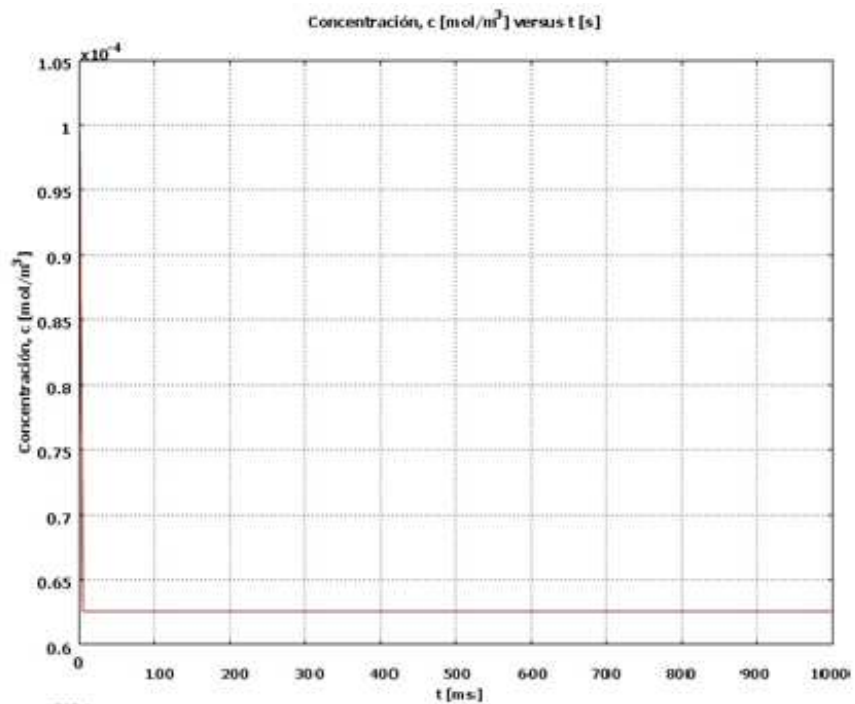
$\delta_{ts} = th$; Coeficiente de escalado temporal.

- 1) $R = -js$; Tasa de reacción.
- 2) $R = jfs$; Tasa de reacción.
- 3) $R = jfs - js$; Tasa de reacción.

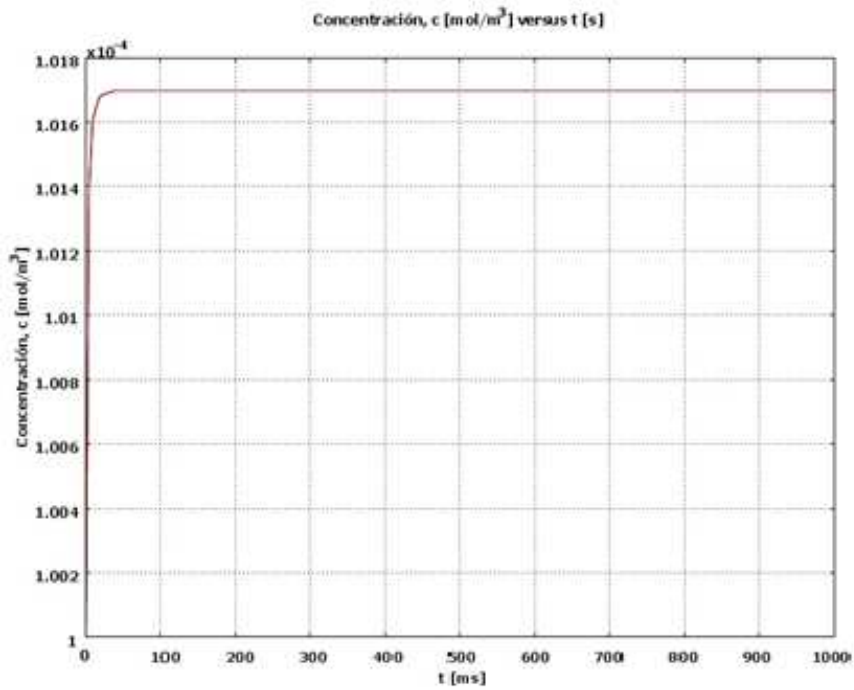
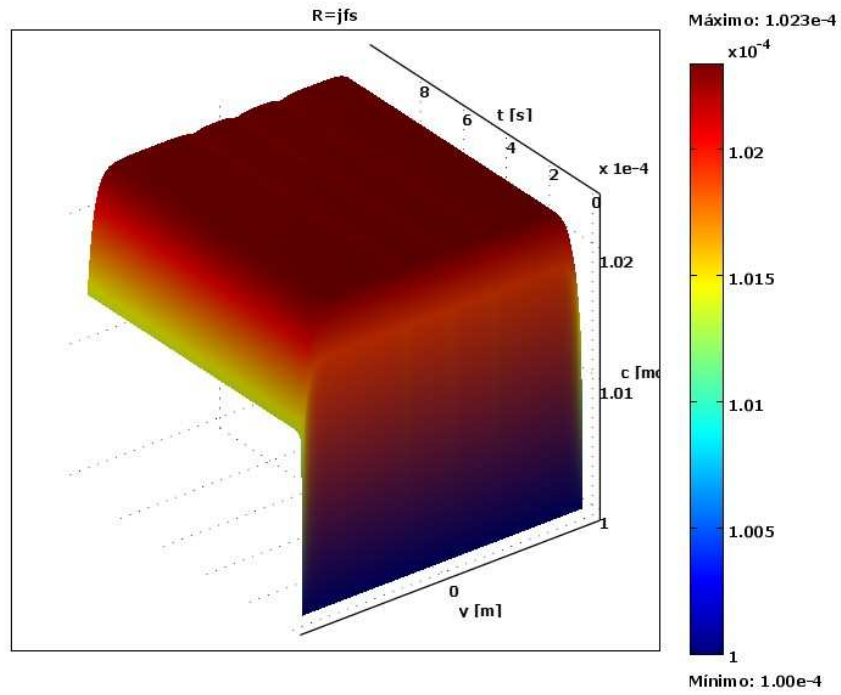
Los resultados se observan en las siguientes graficas:

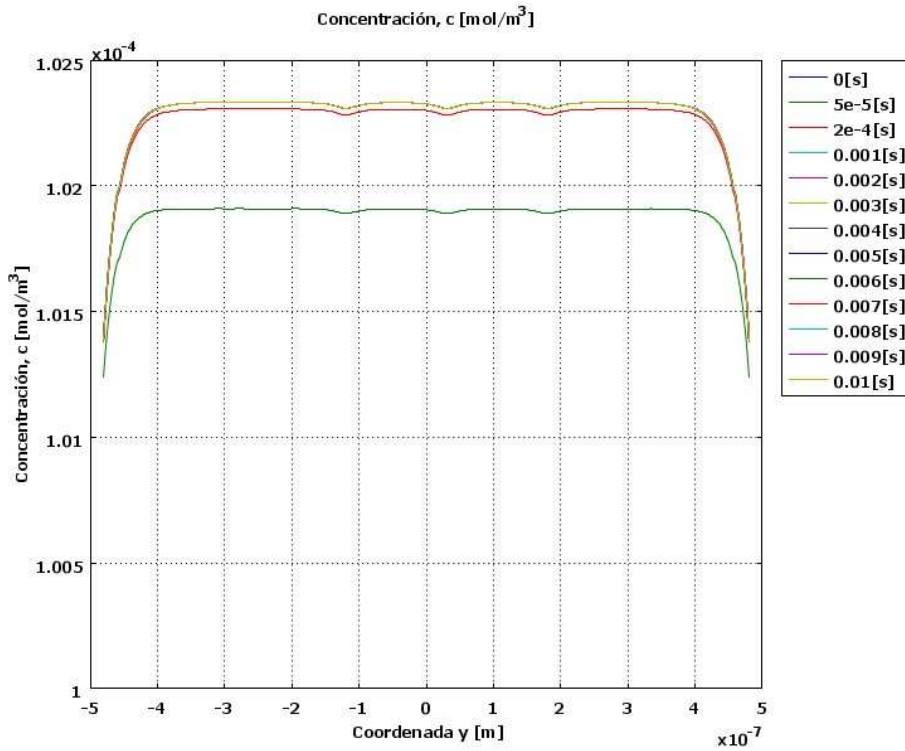
1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO.



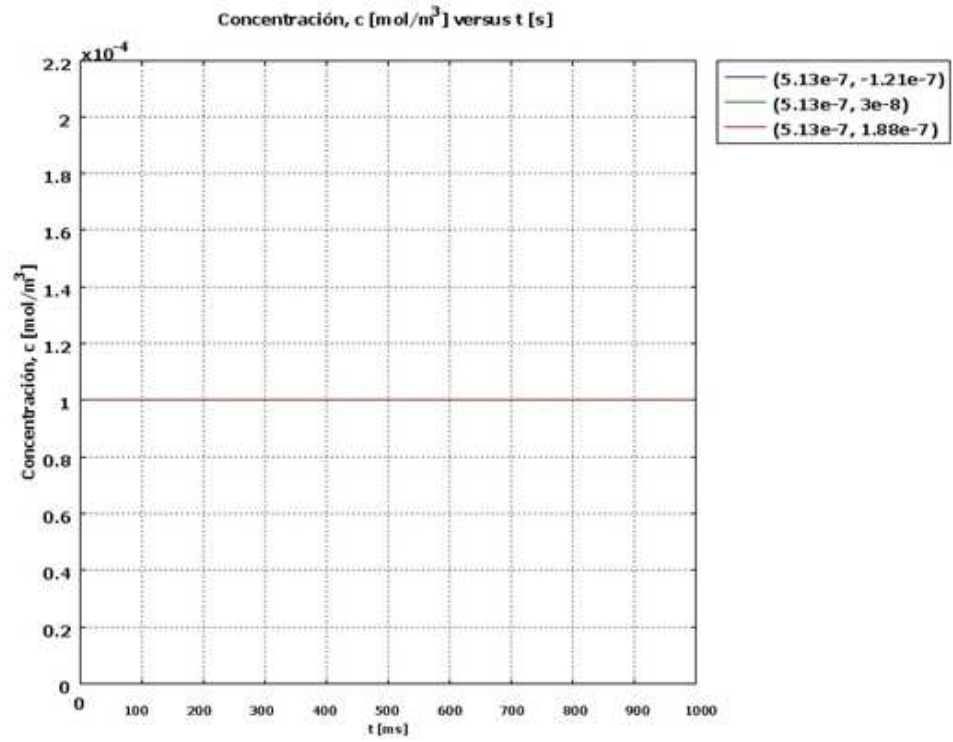


2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA.





3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMINOS.



Discución: En este grupo de experimentos de “in silico”, se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para la bomba SERCA (js), el término de fuga SERCA (jfs) y la influencia de ambas (jfs-js) **1)** Se observa una marcada disminución de la concentración, desde $1e-4 \text{ mol/m}^3$ (concentración basal), hasta $0.63e-4 \text{ mol/m}^3$ en $t=0$ y luego se alcanza el estado estacionario en el intervalo de (0,0.1] seg. **2)** Se observa un comportamiento contrario al anterior; ya que este término evita que la concentración disminuya por debajo de la concentración basal por lo que en $t=0$, hay un aumento en la concentración desde $1e-4 \text{ mol/m}^3$ hasta $1.017e-4 \text{ mol/m}^3$ y se alcanza el estado estacionario en el intervalo de (0,0.1] seg. **3)** La acción de SERCA se ve anulada por su término de fuga, por lo que se observa un estado estacionario en todo el espacio-tiempo [0, 0.1] seg.

Para las gráficas de concentración vs Posición se puede observar una forma de bote (SERCA) o bote invertido (Fuga SERCA) “forma cuadrática”, este comportamiento se manifiesta debido a que en puntos muy alejados de los receptores de RYR, la concentración está muy cercana a la basal de $1e-4 \text{ mol/m}^3$, es decir no se manifiestan patrones difusivos.

7.3 DIFUSIÓN-REACCIÓN. 1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL SARCOLEMA (PMCA), 2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA DEL (PMCA). 3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMINOS. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.

Constantes.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
D	2.23e-10[m ² /s]		coeficiente de difusión
c ₀	1e-4[mol/m ³]		concentración basal de calcio en el citosol
c _r	0[mol/m ³]		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
si _{xy}	2e-8[m]		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy}=\sigma_x*\sigma_y$)
b _n	1e-6[mol/m ³]		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k _n	4e-6[mol/m ³]		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
q ₂	1E-4[mol/m ³]		Parámetro PMCA 2
q ₁	1e-2[s ⁻¹ *mol/m ³]		Parámetro PMCA 1

Expresiones.

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
th	$1+((b_n*k_n)/(k_n+c)^2)$	1	Coeficiente de escalado temporal
jbs	$(q_1*c^2)/(q_2^2+c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1*c_0^2)/(q_2^2+c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

Donde:

$\delta_{ts} = th$; Coeficiente de escalado temporal.

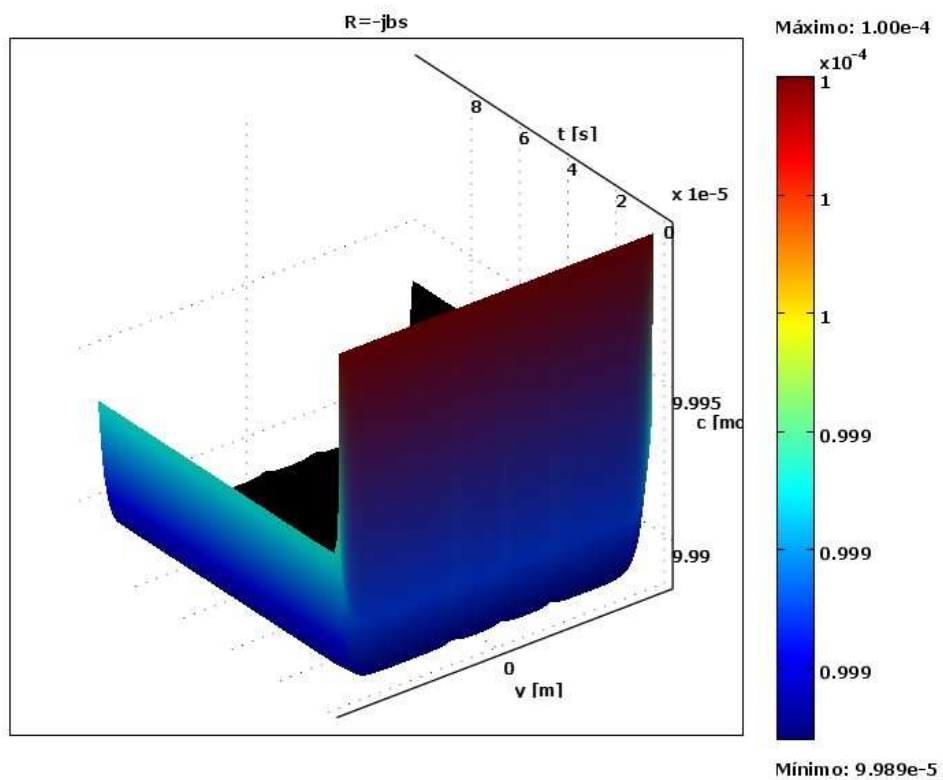
1) $R = -jbs$; Tasa de reacción.

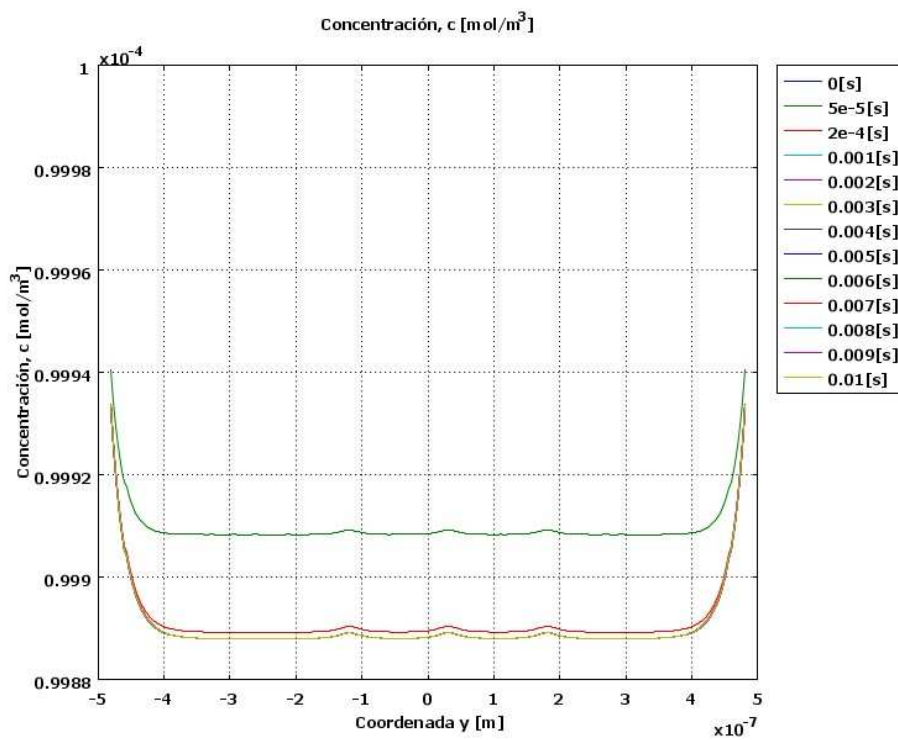
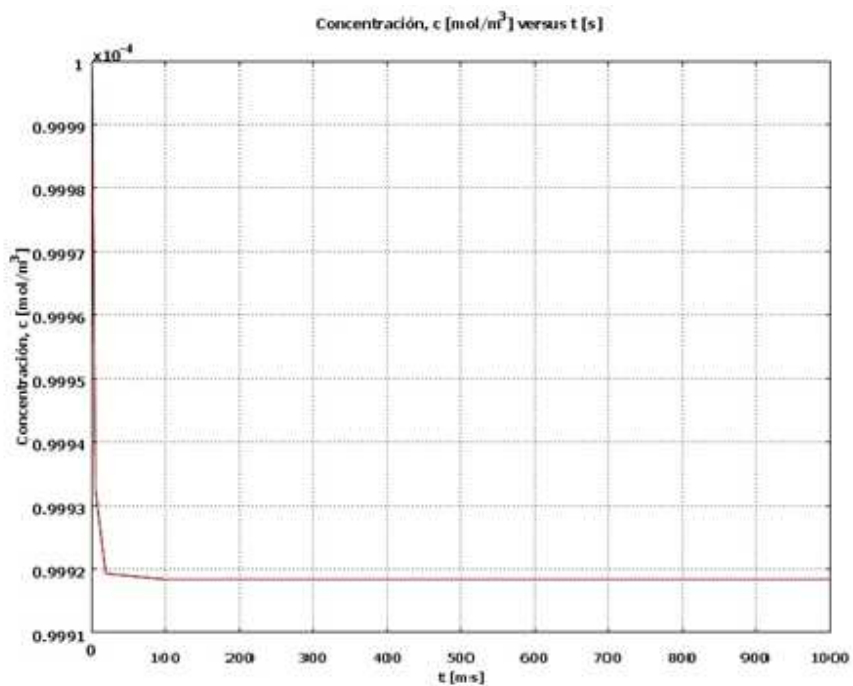
2) $R = jfbs$; Tasa de reacción.

3) $R = jfbs - jbs$; Tasa de reacción.

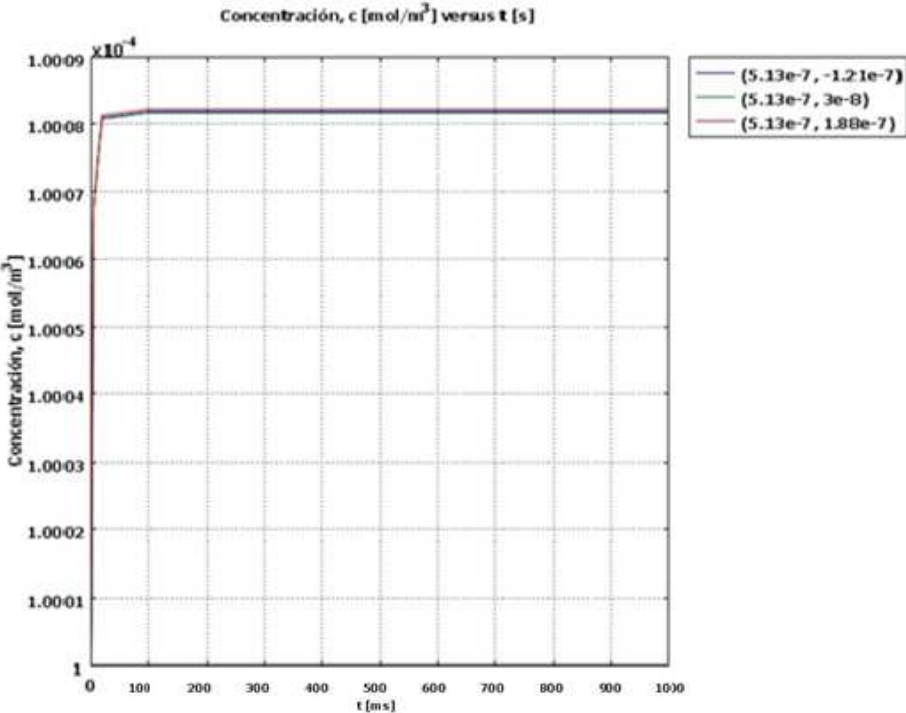
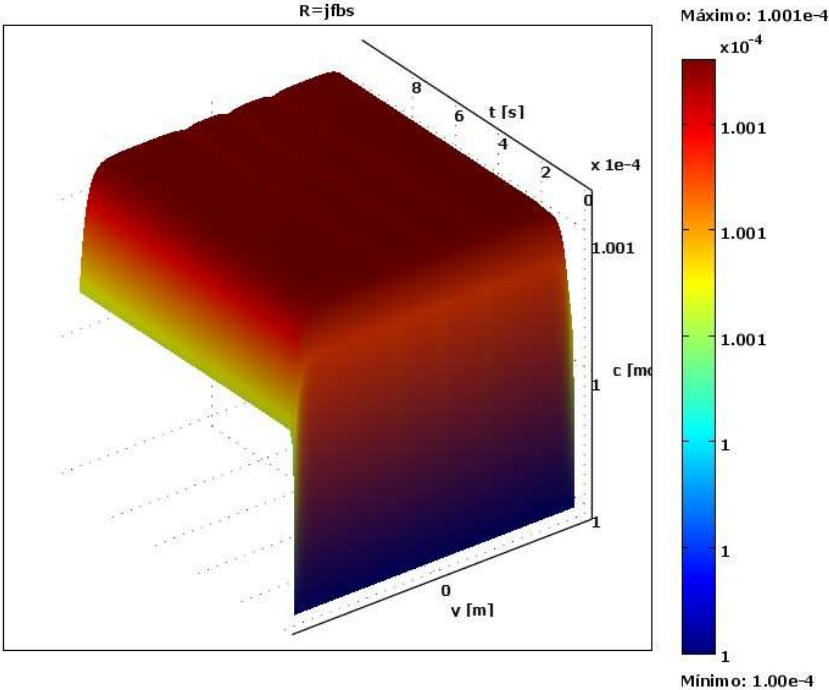
Los resultados se observan en las siguientes graficas:

1) INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL SARCOLEMA (PMCA).

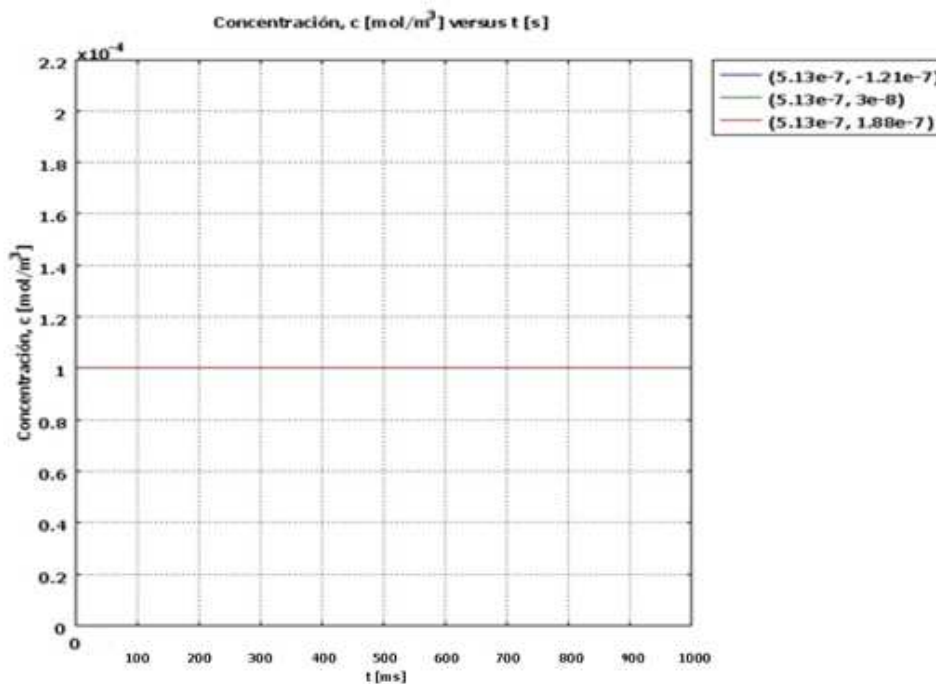




2) INFLUENCIA DE TÉRMINO DE FUGA DEL (PMCA).



3) INFLUENCIA DE LA COMBINACIÓN DE AMBOS TÉRMINOS.



Discusión: En este grupo de experimentos de “in silico”, se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para la bomba del sarcolema PMCA (jbs), el término de fuga PMCA (jfs) y la influencia de ambas (jfs-jbs) De forma análoga con la serie de experimentos del apartado 7.2 se observa similitud en los resultados y son los siguientes: **1)** Se observa una marcada disminución de la concentración, desde $1e-4$ mol /m³ (concentración basal), hasta $0.99918e-4$ mol/m³ en $t=0$ y luego se alcanza el estado estacionario en el intervalo de $(0,0.1]$ seg. **2)** Se observa un comportamiento contrario al anterior; ya que este término evita que la concentración disminuya por debajo de la concentración basal por lo que en $t=0$, hay un aumento en la concentración desde $1e-4$ mol/m³ hasta $1.00082e-4$ mol/m³ y se alcanza el estado estacionario en el intervalo de $(0,0.1]$ seg. **3)** La acción de SERCA se

ve anulada por su término de fuga, por lo que se observa un estado estacionario en todo el espacio-tiempo $[0, 0.1]$ seg.

Para las gráficas de concentración vs Posición se puede observar una forma de bote (Sarcolema) o bote invertido (Fuga Sarcolema) "forma cuadrática", este comportamiento se manifiesta debido a que en puntos muy alejados de los receptores de RYR, la concentración está muy cercana a la basal de $1e-4$ mol/m³, es decir no se manifiestan patrones difusivos.

7.4 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE UN (1) CANAL RECEPTOR DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).

Constantes:

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1	$8e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
v_sr	$0.208[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
si_xy	$2e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
b_n	$1e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	$4e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	$5.072408e-7[\text{m}]$		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	$1E-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetros PMCA 2
q_1	$1e-2[\text{s}^{-1} \cdot \text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetros PMCA 1
a_1	$A_1/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 1
b_1	$200[\text{s}^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 1

Expresiones:

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$a_1 \cdot b_1 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (\text{si}_{xy})^2)) \cdot \exp(-0.5 \cdot ((y-y_1)^2)/(2 \cdot (\text{si}_{xy})^2)) \cdot (t > 0) \cdot (t < 0.001)$	$\text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$	Flujo primer receptor de RYR

th	$1+((b_n*k_n)/(k_n+c)^2)$	1	Coeficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr}*(c^2))/((k_{sr}^2)+(c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr}*(c_0^2))/((k_{sr}^2)+(c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1*c^2)/(q_2^2+c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1*c_0^2)/(q_2^2+c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

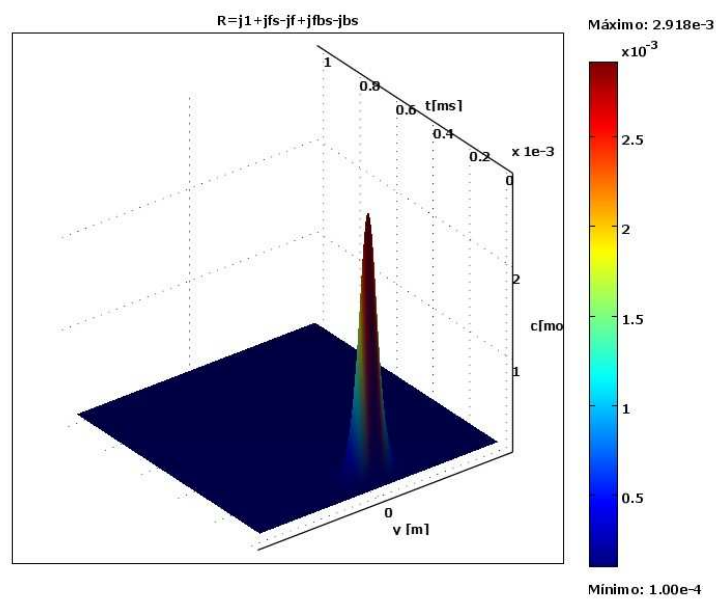
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

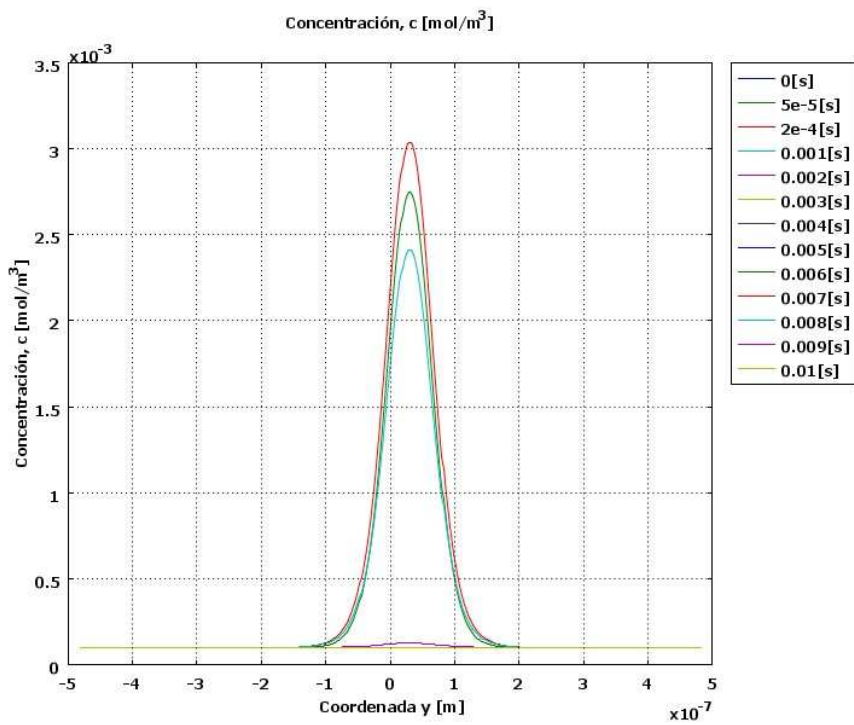
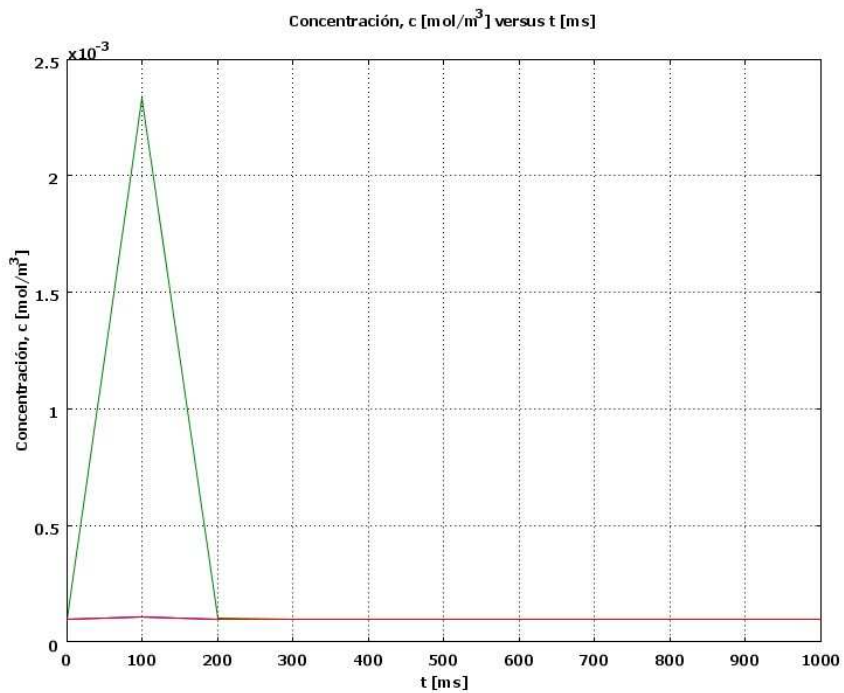
Donde:

$\delta_{ts} = th$; Coeficiente de escalado temporal.

$R = j1+jfs-js+jfbs-jbs$; Tasa de reacción

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se disparó un único canal de RyR. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para locaciones $X=5.07e-7$ m, $R_{yr1}= 3.0e-8$ m, donde aumenta la concentración progresivamente hasta alcanzar un punto máximo $c_{max}= 2.918e-3$ mol/m³, en un $t= 100$ ms, luego hay una posterior disminución en la concentración del canal central, por efectos de la difusión y la actividad de la bombas SERCA y del Sarcolema hasta llegar a la concentración basal, $c_0= 1e-4$ mol/m³, $t= 200$ ms.

7.5 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE DOS (2) CANALES RECEPTORES DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).

Constantes:

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1	$8e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
A_2	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x2} \cdot A_{y2} \cdot A_{t2}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
y_2	$-1.2e-7[\text{m}]$		Posición del segundo canal de RyR
v_sr	$0.208[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
si_xy	$2e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
b_n	$1e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	$4e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	$5.072408e-7[\text{m}]$		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	$1E-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetros PMCA 2
q_1	$1e-2[\text{s}^{-1} \cdot \text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetros PMCA 1
a_1	$A_1/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 1
b_1	$200[\text{s}^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 1
a_2	$A_2/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 2
b_2	$200[1/\text{s}]$		Prefactor Gaussiano temporal 2

Expresiones:

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$a_1 \cdot b_1 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-0.5 \cdot ((y-y_1)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0) \cdot (t < 0.001)$	mol/(m ³ *s)	Flujo primer receptor de RYR
j2	$a_2 \cdot b_2 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_2)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.003) \cdot (t < 0.004)$	mol/(m ³ *s)	Flujo segundo receptor de RYR
j3	$a_3 \cdot b_3 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_3)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.003) \cdot (t < 0.004)$	mol/(m ³ *s)	Flujo tercer receptor de RYR
th	$1 + ((b_n \cdot k_n)/(k_n + c))^2$	1	Coeficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr} \cdot (c^2))/((k_{sr}^2) + (c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr} \cdot (c_0^2))/((k_{sr}^2) + (c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1 \cdot c^2)/(q_2^2 + c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1 \cdot c_0^2)/(q_2^2 + c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

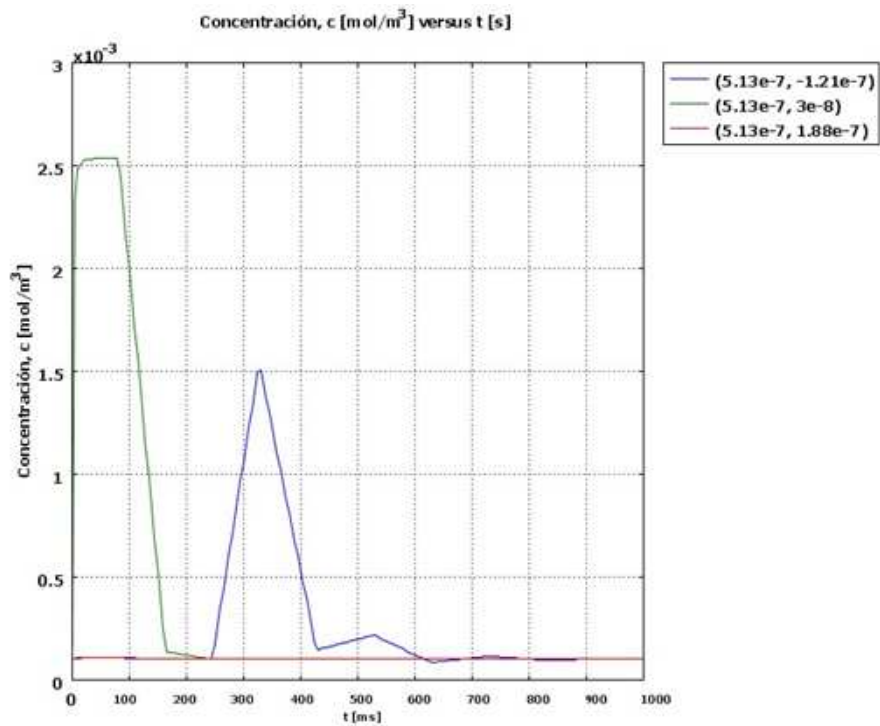
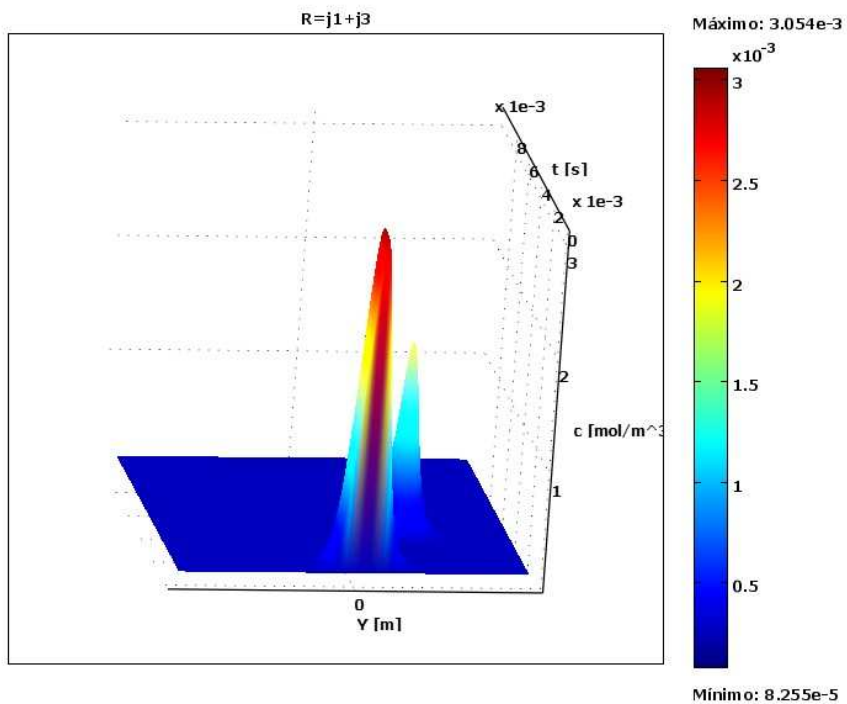
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

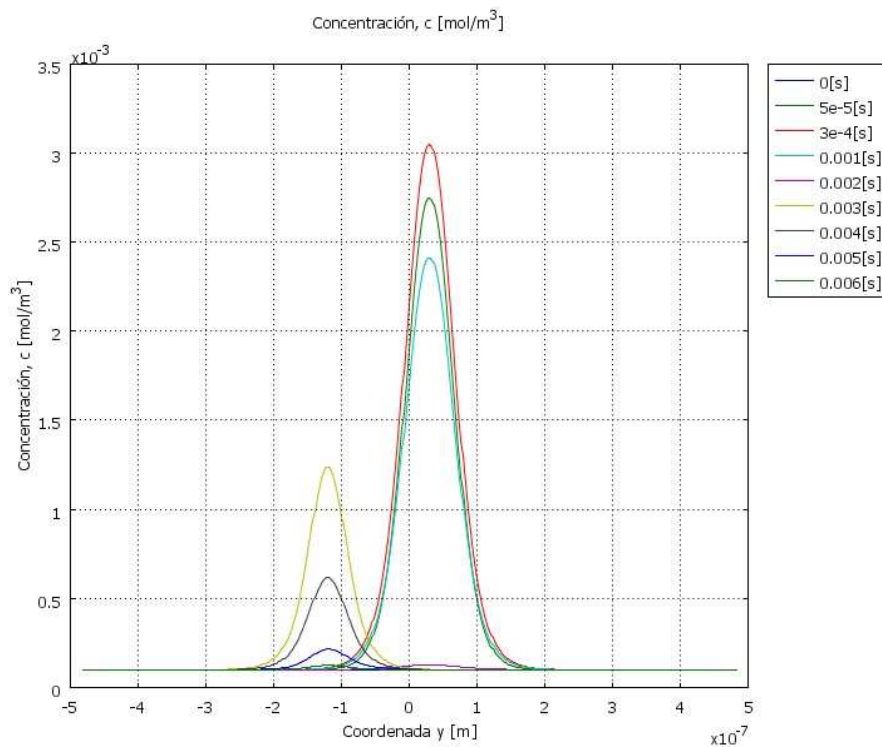
Donde:

δ_{ts} = th; Coeficiente de escalado temporal.

R = j1+j3+jfs-js+jfbs-jbs; Tasa de reacción

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se dispararon dos canales de RyR, en éstas posiciones: ($X=5.07e-7$ m, $Ryr_1= 3.0e-8$ m, $Ryr_2=-1.2e-7$ m); encontrándose que la concentración en el resto de las locaciones, se comporta en forma similar desde el punto de vista cualitativo a los experimentos “in silico” con un único canal.

7.6 DIFUSIÓN-REACCIÓN. LIBERACION DE TRES (3) CANALES RECEPTORES DE RIANODINA. BAJO LA INFLUENCIA DE LAS BOMBAS SERCA Y PMCA. (-js-jbs), CON SUS RESPECTIVOS TÉRMINOS DE FUGA (jfs+jfbs).

Constantes.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1	$8e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
A_2	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x2} \cdot A_{y2} \cdot A_{t2}$)
A_3	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x3} \cdot A_{y3} \cdot A_{t3}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
y_2	$-1.2e-7[\text{m}]$		Posición del segundo canal de RyR
y_3	$1.82e-7[\text{m}]$		Posición del tercer canal de RyR
v_sr	$0.208[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
si_xy	$2e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
b_n	$1e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	$4e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	$5.072408e-7[\text{m}]$		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	$1E-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 2
q_1	$1e-2[\text{s}^{-1} \cdot \text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 1
a_1	$A_1/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 1
b_1	$200[\text{s}^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 1

a_2	$A_2/(\sqrt{2\pi})\cdot si_{xy}$		Prefactor Gaussiano de posición 2
b_2	200[1/s]		Prefactor Gaussiano temporal 2
a_3	$A_3/(\sqrt{2\pi})\cdot si_{xy}$		Prefactor Gaussiano de posición 3
b_3	200[s^-1]		Prefactor Gaussiano temporal 3

Expresiones.

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$a_1 \cdot b_1 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-0.5 \cdot ((y-y_1)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0) \cdot (t < 0.1)$	mol/(m ³ *s)	Flujo primer receptor de RYR
j2	$a_2 \cdot b_2 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_2)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo segundo receptor de RYR
j3	$a_3 \cdot b_3 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_3)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo tercer receptor de RYR
th	$1 + ((b_n \cdot k_n)/(k_n + c)^2)$	1	Coefficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr} \cdot (c^2))/((k_{sr}^2) + (c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr} \cdot (c_0^2))/((k_{sr}^2) + (c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1 \cdot c^2)/(q_2^2 + c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1 \cdot c_0^2)/(q_2^2 + c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

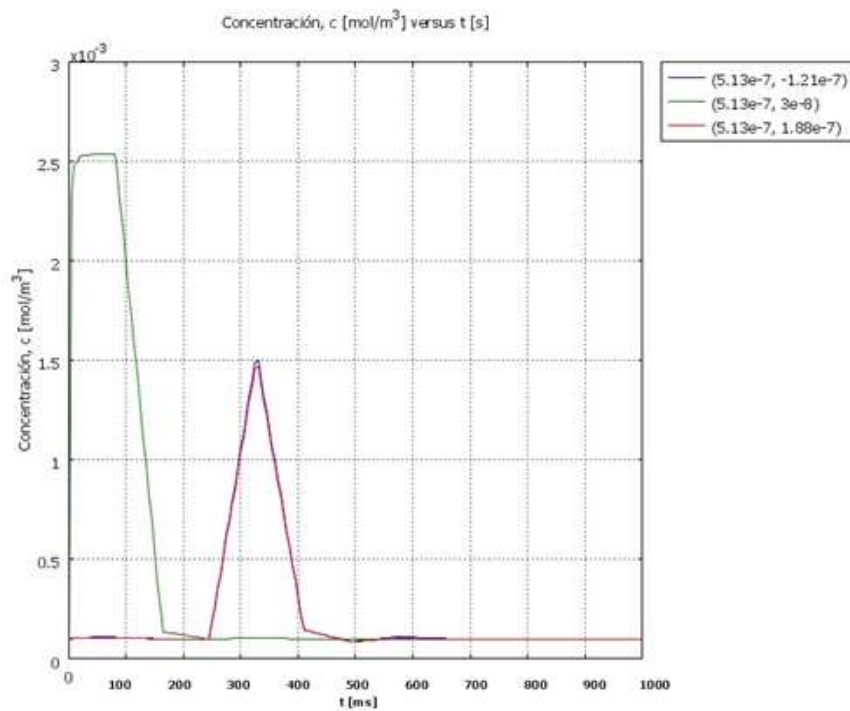
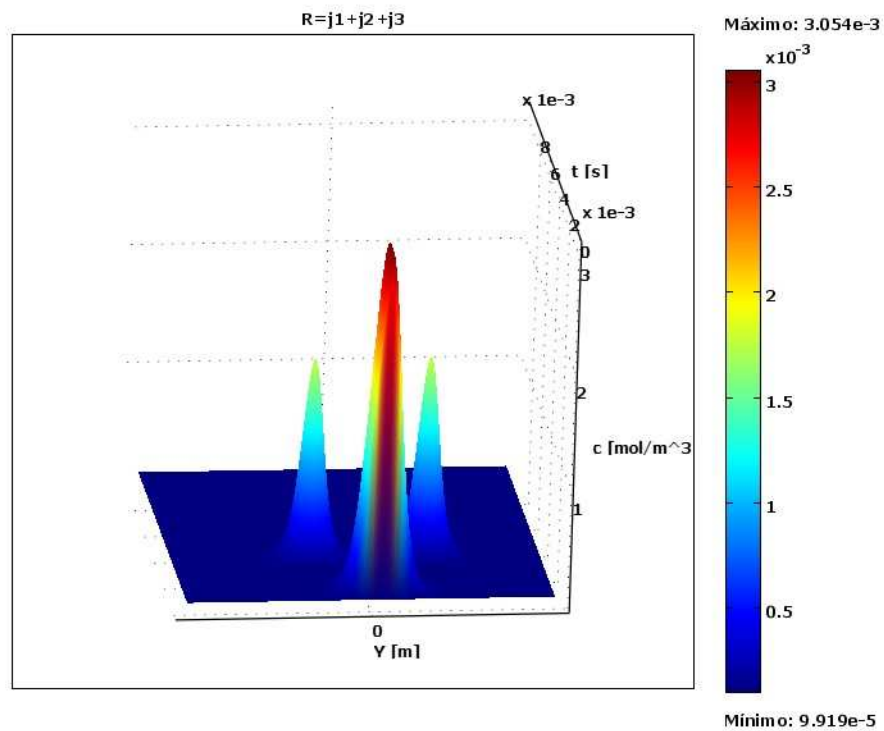
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

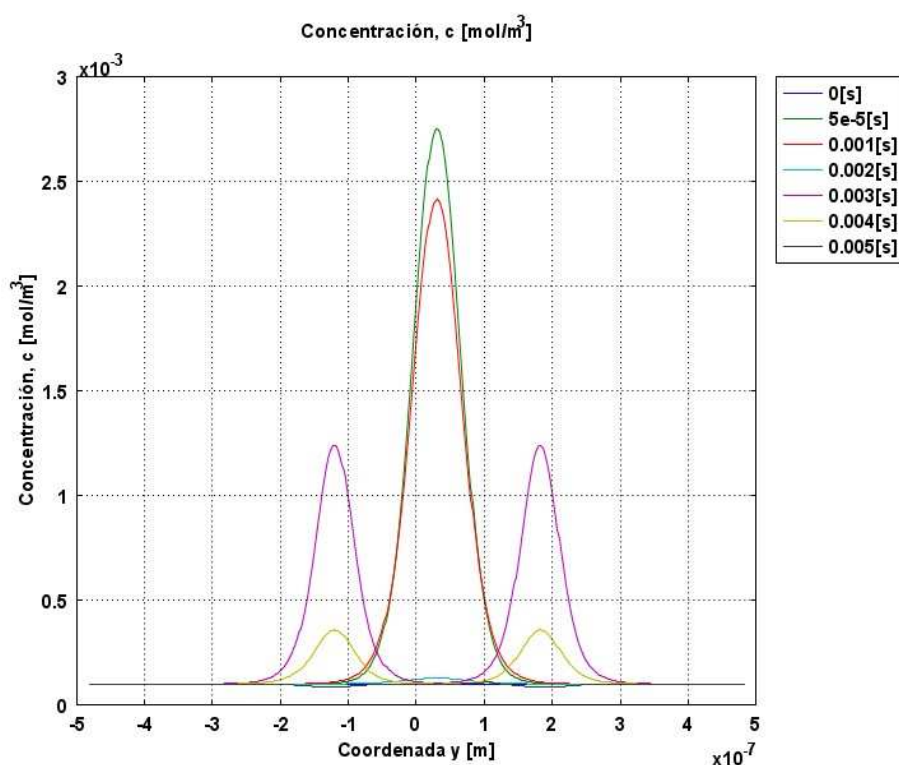
Donde:

$\delta_{ts} = th$; Coeficiente de escalado temporal.

$R = j_1 + j_2 + j_3 + j_{fs} - j_s + j_{fbs} - j_{bs}$; Tasa de reacción

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se dispararon tres canales de RyR, en éstas posiciones: ($X=5.07e-7$ m, $RyR_1= 3.0e-8$ m, $RyR_2=-1.2e-7$ m, $RyR_3=1.82e-7$ m); encontrándose que la concentración en el resto de las locaciones, se comporta en forma similar desde el punto de vista cualitativo a los experimentos “in silico” con liberación de uno y dos canales.

Podemos ver en la grafica de concentración vs tiempo, que el tercer canal no se observa debido a que esta solapado por el segundo, ya que la liberación del mismo se produce en el mismo instante de tiempo y a su vez se liberan la misma cantidad en moles de éste.

7.7 DIFUSIÓN-REACCIÓN. INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL RETÍCULO SARCOPLÁSMICO (SERCA) A SU MÁXIMA CAPACIDAD. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEÍNA AMORTIGUADORA.

Constantes.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1	$8e-8[(\text{mol}/\text{m}^2)]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
A_2	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x2} \cdot A_{y2} \cdot A_{t2}$)
A_3	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x3} \cdot A_{y3} \cdot A_{t3}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
y_2	$-1.2e-7[\text{m}]$		Posición del segundo canal de RyR
y_3	$1.82e-7[\text{m}]$		Posición del tercer canal de RyR
v_sr	$2080[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
si_xy	$2e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
b_n	$1e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	$4e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	$5.072408e-7[\text{m}]$		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	$1E-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 2
q_1	$1e-2[\text{s}^{-1} \cdot \text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 1
a_1	$A_1/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 1
b_1	$200[\text{s}^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 1

a_2	$A_2/(\sqrt{2\pi})\cdot si_{xy}$		Prefactor Gaussiano de posición 2
b_2	200[1/s]		Prefactor Gaussiano temporal 2
a_3	$A_3/(\sqrt{2\pi})\cdot si_{xy}$		Prefactor Gaussiano de posición 3
b_3	200[s^-1]		Prefactor Gaussiano temporal 3

Expresiones.

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$a_1 \cdot b_1 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-0.5 \cdot ((y-y_1)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0) \cdot (t < 0.1)$	mol/(m ³ *s)	Flujo primer receptor de RYR
j2	$a_2 \cdot b_2 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_2)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo segundo receptor de RYR
j3	$a_3 \cdot b_3 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_3)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo tercer receptor de RYR
th	$1 + ((b_n \cdot k_n)/(k_n + c))^2$	1	Coefficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr} \cdot (c^2))/((k_{sr}^2) + (c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr} \cdot (c_0^2))/((k_{sr}^2) + (c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1 \cdot c^2)/(q_2^2 + c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1 \cdot c_0^2)/(q_2^2 + c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

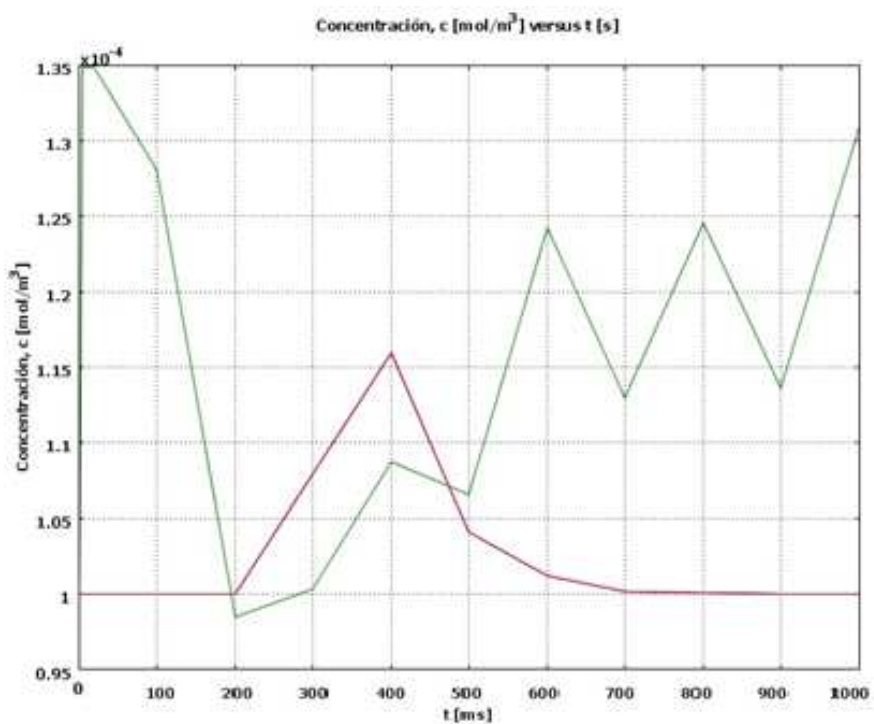
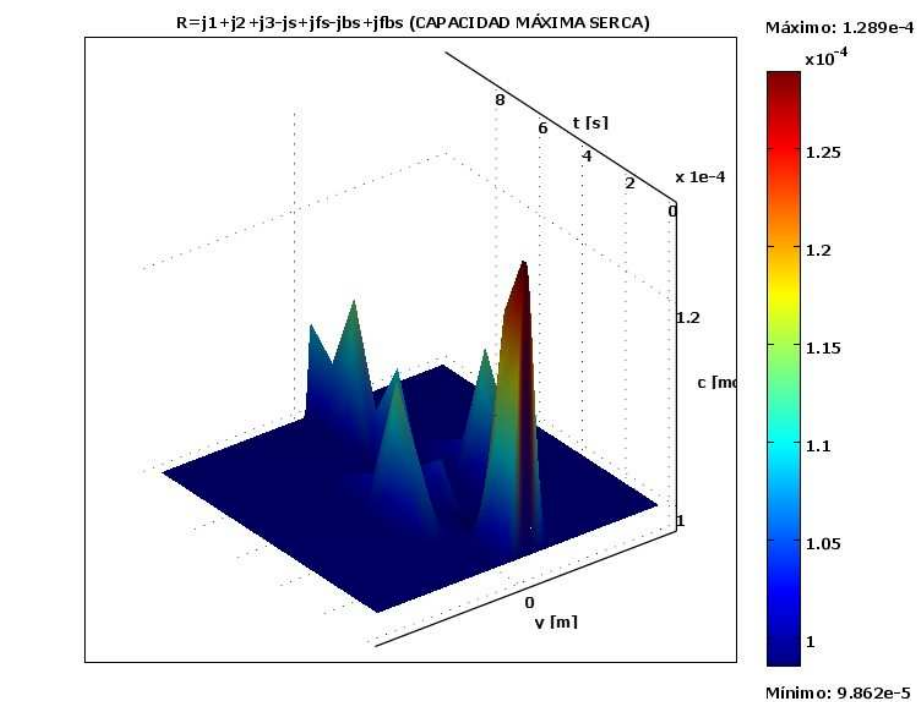
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

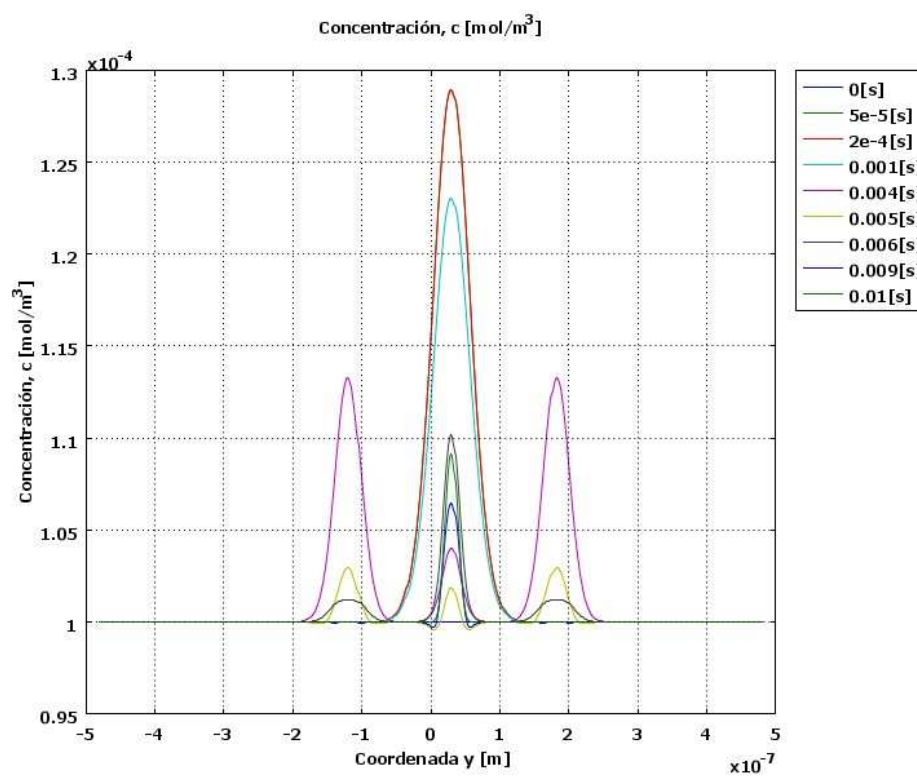
Donde:

δ_{ts} = th; Coeficiente de escalado temporal.

$R = j_1 + j_2 + j_3 - j_s + j_{fs} - j_{bs} + j_{fbs}$; Tasa de reacción.

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se dispararon tres canales de RyR Bajo la influencia de la bomba SERCA y su término de Fuga SERCA a una máxima capacidad. Para la liberación del canal central de RYR se observa una disminución de la concentración máxima en comparación a los experimentos con capacidad normal de la bomba SERCA .El comportamiento del canal central es oscilatorio, lo cual concluye que los efectos de la bomba SERCA a capacidad máxima junto a su término de Fuga son similares a interruptores. Para el intervalo de tiempo [0.2,0.3] seg, la intensidad de la bomba es suficientemente alta y la concentración no puede mantenerse por encima de la concentración basal sino que baja e instantáneamente se interrumpe la acción de SERCA, luego el mecanismo difusivo aumenta la concentración, SERCA entra de nuevo en acción y baja la concentración nuevamente, presentándose un ciclo oscilatorio el cual culmina cuando la concentración alcanza niveles tales que la acción de SERCA no puede abatir la

concentración hasta un valor inferior al basal y así la curva crece sostenidamente durante cierto tiempo,

Para las gráficas de concentración vs Posición se puede observar que en puntos alejados del receptor de RyR, la concentración se mantiene en los niveles basales.

7.8 DIFUSIÓN-REACCIÓN. INFLUENCIA DE LA BOMBA DEL SARCOLEMA (PMCA) A SU MAXIMA CAPACIDAD. CONSIDERANDO LA PARVOALBÚMINA COMO PROTEINA AMORTIGUADORA.

Constantes.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1	$8e-8[(\text{mol}/\text{m}^2)]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
A_2	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x2} \cdot A_{y2} \cdot A_{t2}$)
A_3	$5.5e-8[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x3} \cdot A_{y3} \cdot A_{t3}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
y_2	$-1.2e-7[\text{m}]$		Posición del segundo canal de RyR
y_3	$1.82e-7[\text{m}]$		Posición del tercer canal de RyR
v_sr	$0.208[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	1		coeficiente de Hill
si_xy	$2e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
b_n	$1e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	$4e-6[\text{mol}/\text{m}^3]$		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	$5.072408e-7[\text{m}]$		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	$1E-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 2
q_1	$1e2[\text{s}^{-1} \cdot \text{mol}/\text{m}^3]$		Parámetro PMCA 1
a_1	$A_1/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 1
b_1	$200[\text{s}^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 1
a_2	$A_2/(\text{sqrt}(2 \cdot \pi) \cdot \text{si}_{xy})$		Prefactor Gaussiano de posición 2
b_2	$200[1/\text{s}]$		Prefactor Gaussiano temporal 2

a_3	$A_3/(\sqrt{2\pi})\cdot si_{xy}$		Prefactor Gaussiano de posición 3
b_3	$200[s^{-1}]$		Prefactor Gaussiano temporal 3

Expresiones.

Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$a_1 \cdot b_1 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-0.5 \cdot ((y-y_1)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0) \cdot (t < 0.1)$	mol/(m ³ *s)	Flujo primer receptor de RYR
j2	$a_2 \cdot b_2 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_2)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo segundo receptor de RYR
j3	$a_3 \cdot b_3 \cdot \exp(-((x-x_0)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot \exp(-((y-y_3)^2)/(2 \cdot (si_{xy})^2)) \cdot (t > 0.3) \cdot (t < 0.4)$	mol/(m ³ *s)	Flujo tercer receptor de RYR
th	$1 + ((b_n \cdot k_n)/(k_n + c))^2$	1	Coefficiente de escalado temporal
js	$(v_{sr} \cdot (c^2))/((k_{sr}^2) + (c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_{sr} \cdot (c_0^2))/((k_{sr}^2) + (c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1 \cdot c^2)/(q_2^2 + c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del Sarcolema
jfbs	$(q_1 \cdot c_0^2)/(q_2^2 + c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

COMSOL resolverá la siguiente ecuación:

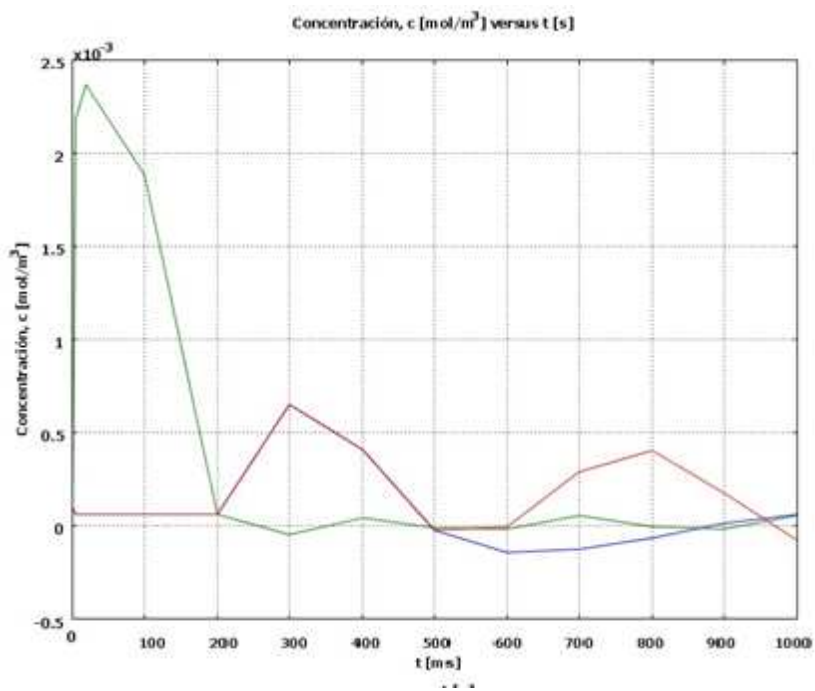
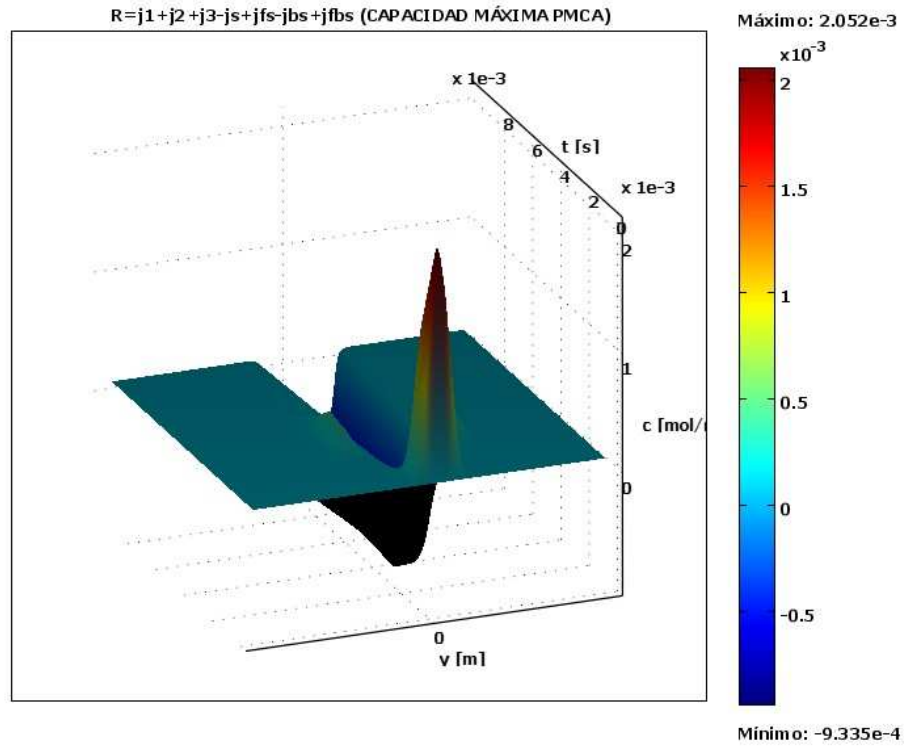
$$\delta_{ts} \frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) = R$$

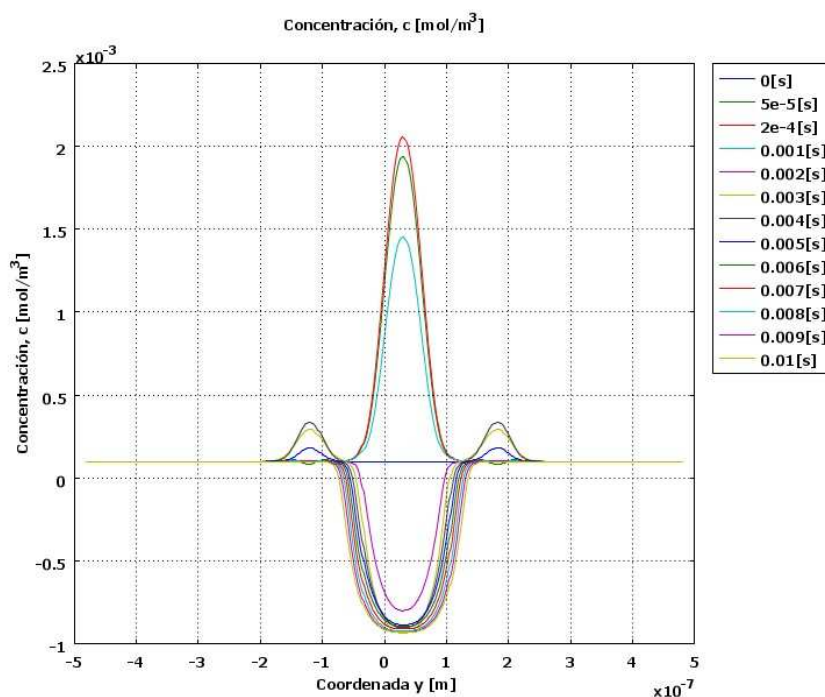
Donde:

δ_{ts} = th; Coeficiente de escalado temporal.

$R = j_1 + j_2 + j_3 - j_s + j_{fs} - j_{bs} + j_{fbs}$; Tasa de reacción.

Los resultados se observan en las siguientes graficas:





Discusión: se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico”, en donde se dispararon tres canales de RyR bajo la influencia de la bomba del Sarcolema y su término de Fuga Sarcolema, a una máxima capacidad. Para la liberación del canal central de RYR se observa una disminución de la concentración máxima en comparación a los experimentos con capacidad normal de la bomba del sarcolema. Se observa que para este caso, el termino de fuga del Sarcolema, no actúa de manera eficaz, permitiendo una disminución considerable de la concentración basal, lo que es de esperar; ya que el valor utilizado $q_1 = 1e2 \text{ mol/m}^3$, supera en 4 órdenes de magnitud al valor fisiológico de este parámetro.

CAPITULO VIII: DATA COMPARATIVA

8. Data comparativa de la comunidad científica con respecto a este modelo.

8.1

Micro Semanario

De Educación, Ciencia y Tecnología (Educyt)

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA
AÑO 16 - NÚMERO 552 LUNES, 20 DE MARZO DE 2006

Silvina Ponce Dawson.

El lenguaje del calcio.

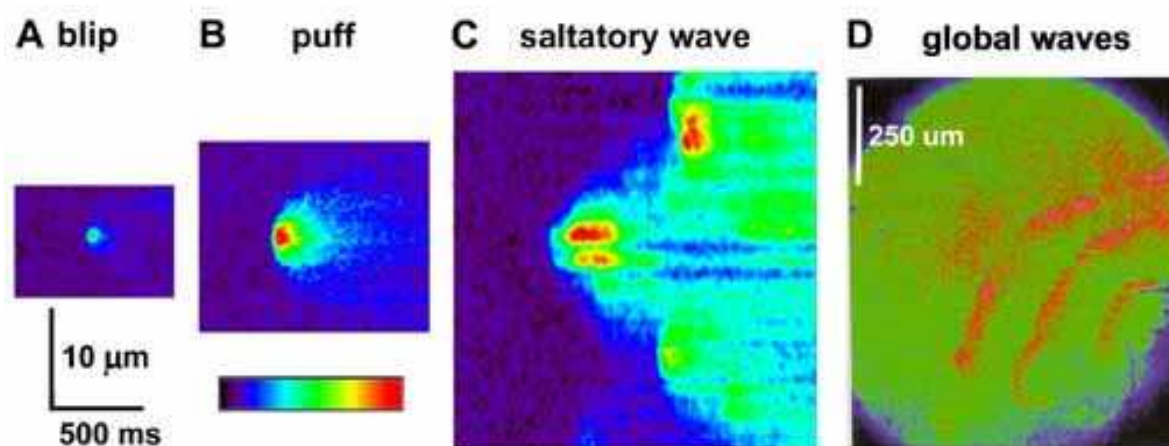
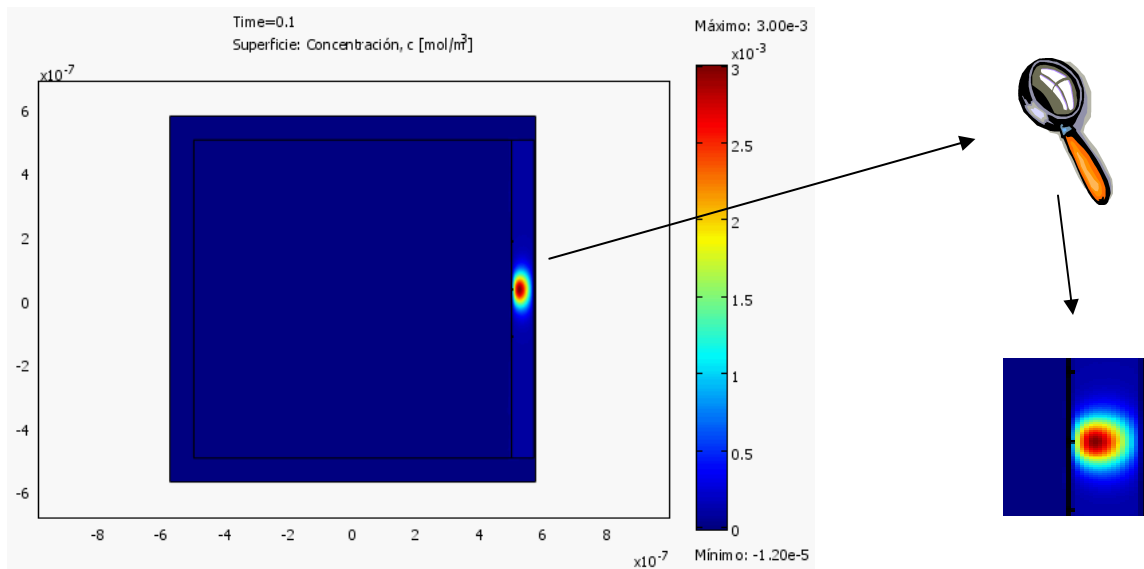


Figura comparativa 1. Señales de calcio en ovocitos de *Xenopus Laevis* usando microscopía confocal e indicadores fluorescentes de calcio. En estos ejemplos las señales de calcio ocurren cuando se libera calcio desde el retículo sarcoplásmico a través de canales/receptores de RYR. Las distintas señales son obtenidas liberando distintas cantidades de RYR. Los blips corresponden a liberaciones pequeñas y las

ondas a liberaciones mayores. En las figuras, el eje vertical es la posición y el horizontal es el tiempo. Los tipos de eventos que se observan son: blips (se supone que corresponden a la liberación a través de un único canal), puffs (se supone que corresponden a la liberación a través de varios canales en un cúmulo) y ondas (cuando la liberación desde un cúmulo induce la liberación desde otro vecino). Estas son algunas de las «palabras» que pronuncia el calcio en estas células. Las figuras fueron hechas por el grupo de Ian Parker de la Universidad de California en Irvine.

MODELO



Correspondencia 2D, de la liberación a través de un único canal, donde los llamados blips que corresponden a la liberación de Ca^{2+} a través de un único canal en la publicación; denotan una relación cualitativa con respecto a las Gráficas 2D del modelo.

8.2 Amplitude Distribution of Calcium Sparks in Confocal Images: Theory and Studies with an Automatic Detection Method

Heping Cheng,* Long-Sheng Song,* Natalia Shirokova,# Adom González,* Edward G. Lakatta,* Eduardo Ríos,# and Michael D. Stern*

*Laboratory of Cardiovascular Science, Gerontology Research Center, National Institute on Aging, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland 21224; and #Department of Molecular Biophysics and Physiology, Rush University, Chicago, Illinois 60612 USA

Los métodos utilizados en los experimentos con el músculo esquelético se han descrito en detalle (Shirokova y Ríos, 1997). En pocas palabras, segmentos de fibras de músculo semitendinoso de *Rana pipiens*, fueron fijados en una cámara de vacío en un microscopio invertido (Axiovert 100, Zeiss, Alemania) con un 403, 1.2 agua NA inmersión objetivo (c-Apochromat, Zeiss). Un microscopio confocal (MRC 1000, Bio-Rad, MA) se utilizó para analizar la fluorescencia de fluo-3 (Molecular Probes, Eugene, O) (presentada por la difusión de los extremos de corte) a lo largo de una línea paralela a el eje de la fibra.

Las imágenes de miocitos se estudiaron con un Zeiss LSM-410 (microscopio invertido confocal) (Carl Zeiss, Inc., Alemania). Todos los datos de las imágenes fueron tomados con la línea de exploración por lo general orientadas a lo largo del eje longitudinal de los miocitos, evitando los núcleos de las células. Cada imagen consistió de 512 líneas de barrido obtenidos a intervalos de 2,09 ms, cada uno compuesto por 512 píxeles espaciados a 0.156 mm intervalos. El objetivo del microscopio fue un Zeiss Plan Neofluar 403 de aceite inmersión NA 5 1.3, y el agujero de alfiler confocal se fijó en el ajuste prescrito por el fabricante para obtener resoluciones espaciales de 0,4 mm de el plano horizontal y 0,9 mm en la dirección axial. Tratamiento de imágenes, análisis de datos, y la presentación se realiza mediante el software IDL (Investigación Sistemas, Boulder, CO). Los experimentos se llevaron a cabo en la sala de temperatura (20 -22° C)

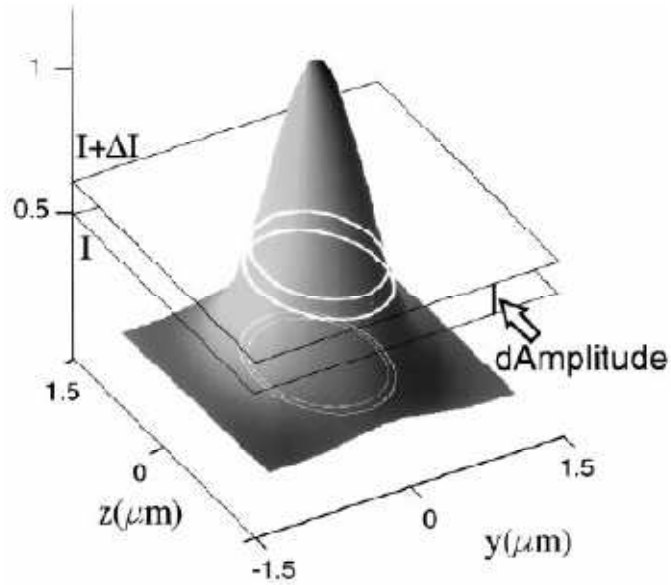
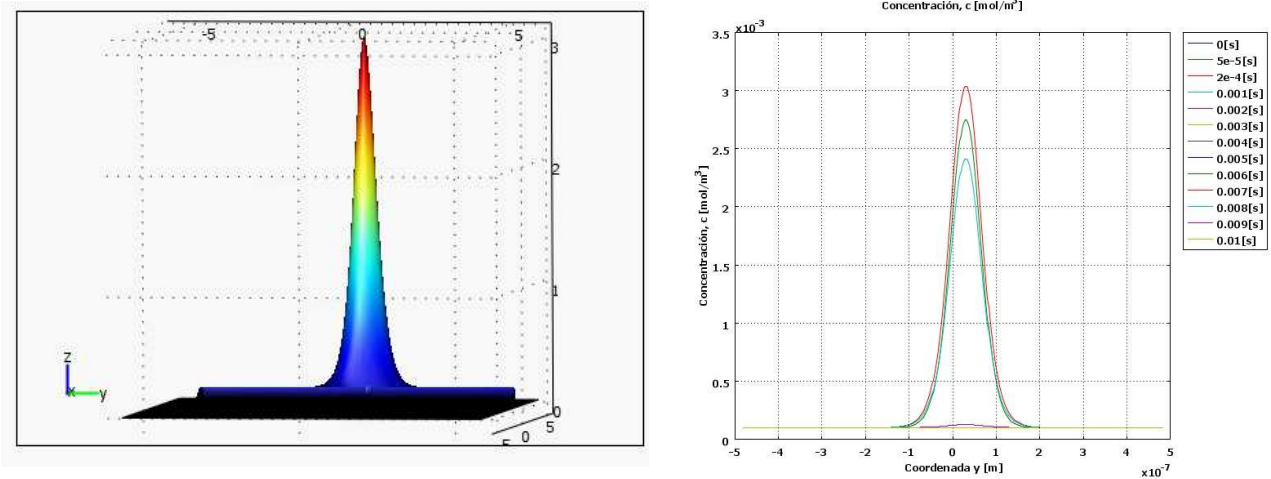


Figura Comparativa 2. Línea de imagen de la exploración de un Spark. Intensidad teórica de la imagen de un Spark que se origina en el punto de escaneado, como una función de desplazamientos con respecto al centro de la liberación de calcio en las direcciones y y z, perpendicular a la línea explorada. Modificado de Shirokova y Ríos, 1997.

Modelo



Correspondencia 3D-posicional de un Spark. En el modelo se observan patrones de simetría respecto a un centro que presentan total similitud a la publicación.

8.3 Novel approach to real-time flash photolysis and confocal $[Ca^{2+}]$ imaging

Eric A. Sobie^{1,2}, Joseph P.Y. Kao^{2,3}, and W. J. Lederer^{2,3}

¹Department of Pharmacology & Biological Chemistry Mount Sinai School of Medicine

²Medical Biotechnology Center University of Maryland Biotechnology Institute

³Department of Physiology University of Maryland School of Medicine

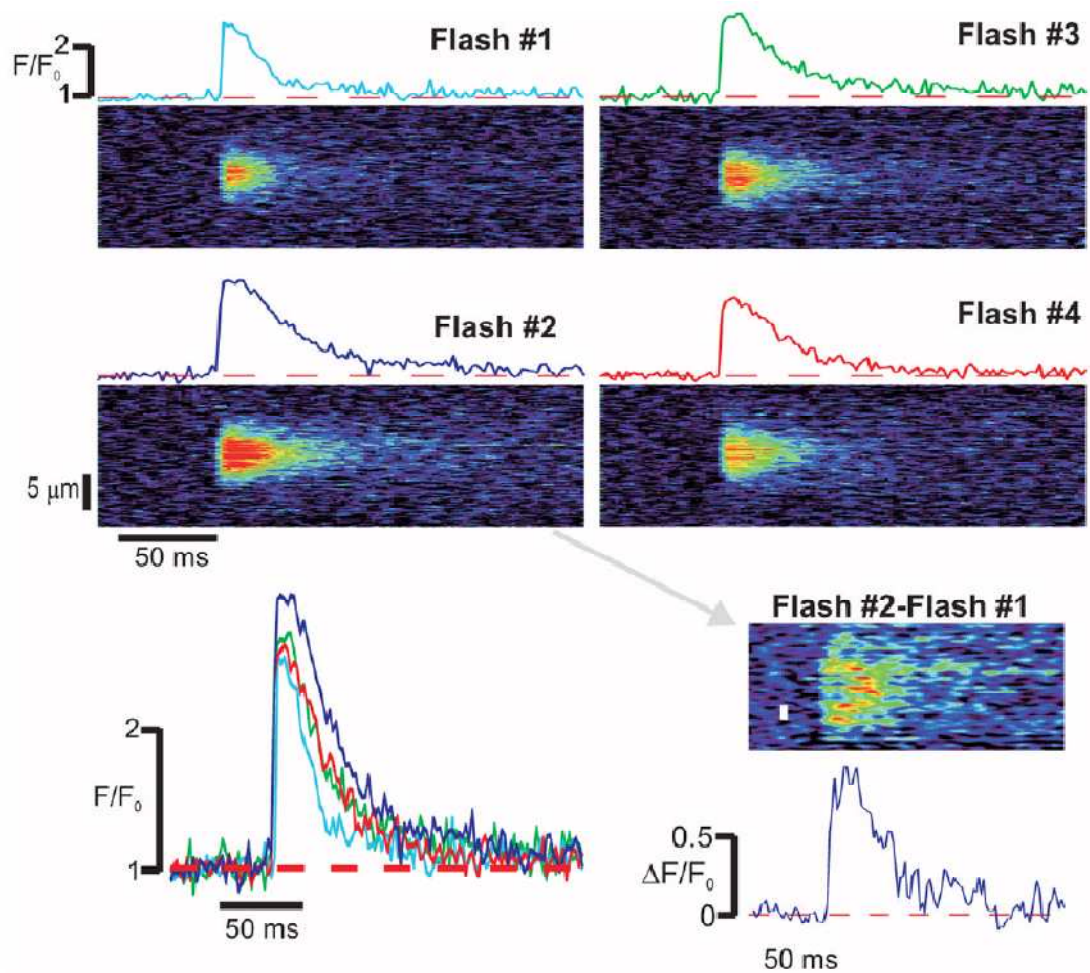
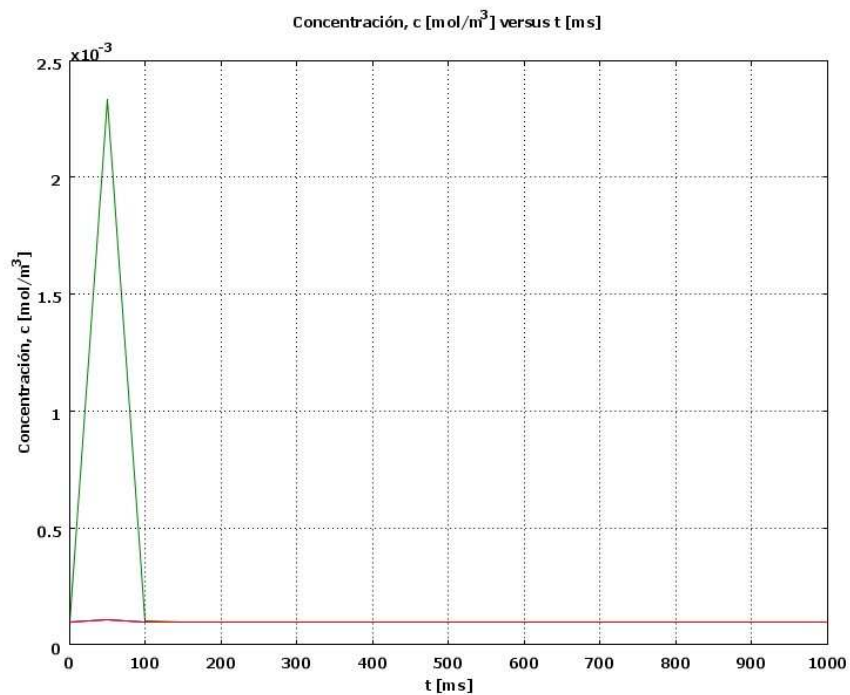


Figura comparativa 4. Activación localizada del CICR con la fotólisis flash de cuatro destellos láser (61 μJ , 10 segundos de diferencia), se realizaron a miocitos de musculo esquelético de rata, cargado con NP-EGTA. La variabilidad observada indica que el Ca^{2+} liberado por los destellos consecutivos causaron diferentes cantidades de Ca^{2+} liberado de SR. Una estimación de la liberación de Ca^{2+} SR disparado por cada flash se obtuvo al suponer que la respuesta más ténue era para un flash.

MODELO



Correspondencia concentración vs tiempo, de la liberación de Ca^{2+} , a través de un único canal de RYR, en este modelo, donde se observan relaciones respecto a el tiempo en que se libera un canal de RYR, con ciertas diferencias relativas a la inclusión de parámetros, como bombas, amortiguadores, factores cinéticos, etc.

CAPITULO IX: CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. El modelo bidimensional de difusión-reacción elaborado se pudo resolver utilizando el software COMSOL 3.4, por elementos finitos y las condiciones de borde ($C_o=0,1\mu\text{M}$) e iniciales fisiológicas ($C_o=0,1\mu\text{M}$).
2. Se logró simular la difusión del ión Ca^{2+} en el citosol de un miocito del musculo esquelético bajo un modelo fisicoquímico bidimensional, utilizando COMSOL 3.4.
3. Se ofrece una herramienta para la visualización en dos dimensiones del ion Ca^{2+} en el miocito coincidiendo con trabajos publicados anteriormente; ya que se programo basándose en medidas experimentales.
4. Se realizaron experimentos de difusión-reacción "in silico" en donde $R=0$ (taza de reacción) y $c_0= 1\text{e-}4 \text{ mol/m}^3$, donde al no existir gradiente de concentración, no ocurre difusión, como lo predice la primera ley de Fick. Por otro lado se permitió comprobar parcialmente el adecuado funcionamiento del software.
5. Se realizaron experimentos de difusión-reacción "in silico" en donde se dispararon uno, dos y tres canales de RyR. Se analizó el comportamiento de la concentración en función de la posición y el tiempo, ($X=5.07\text{e-}7 \text{ m}$, $RyR_1= 3.0\text{e-}8 \text{ m}$, $RyR_2=-1.2\text{e-}7 \text{ m}$, $RyR_3=1.82\text{e-}7 \text{ m}$), en estas diversas locaciones, para la bomba Serca y la Bomba del Sarcolema, encontrándose una disminución en la concentración basal, por lo que el uso de los términos de fuga para ambas bombas, estabilizaría el patrón, evitando así que la concentración no disminuya por debajo de la basal ($c_0= 1\text{e-}4 \text{ mol/m}^3$).

6. Se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se disparó un único canal de RyR, en presencia de la Bomba SERCA y la bomba del Sarcolema Con sus respectivos términos de FUGA. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para locaciones $X=5.07e-7$ m, $R_{yr_1}= 3.0e-8$ m, donde aumenta la concentración progresivamente hasta alcanzar un punto máximo $c_{max}= 2.918e-3$ mol/m³, en un $t= 100$ ms, luego hay una posterior disminución en la concentración del canal central, por efectos de la difusión y la actividad de la bombas SERCA y del Sarcolema hasta llegar a la concentración basal, $c_0= 1e-4$ mol/m³, $t= 200$ ms.

7. Se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se dispararon dos canales de RyR, en presencia de la Bomba SERCA y la bomba del Sarcolema con sus respectivos términos de FUGA. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para locaciones: ($X=5.07e-7$ m, $R_{yr_1}= 3.0e-8$ m, $R_{yr_2}=-1.2e-7$ m); encontrándose que la concentración en el resto de las locaciones, se comporta en forma similar desde el punto de vista cualitativo a los experimentos “in silico” con un único canal.

8. Se realizaron experimentos de difusión-reacción “in silico” en donde se dispararon tres canales de RyR, en presencia de la Bomba SERCA y la bomba del Sarcolema con sus respectivos términos de FUGA. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para locaciones: ($X=5.07e-7$ m, $R_{yr_1}= 3.0e-8$ m, $R_{yr_2}=-1.2e-7$ m, $R_{yr_3}=1.82e-7$ m); encontrándose que la concentración en el resto de las locaciones, se comporta en forma similar desde el punto de vista cualitativo a los experimentos “in silico” con liberación de uno y dos canales.

9. Se observa que para puntos alejados de los receptores de RyR, la concentración se mantiene inicialmente en los niveles basales.

10. Se mostró la influencia de tres liberaciones en distintos espacios, se observó como cambiaba el patrón de difusión del ión Ca^{2+} , según la disposición espacial de la apertura del sitio de liberación.

11. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para la bomba SERCA (js) y la bomba del SARCOLEMA, observándose para ambas una marcada disminución de la concentración.

12. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para el término de fuga SERCA (jfs) y el término de FUGA del SARCOLEMA (jfbs) donde se observa un aumento de la concentración; ya que estos términos evitan que la concentración disminuya por debajo de la concentración basal

13. Se analizó el comportamiento de la concentración en función del tiempo y la posición, para la influencia de ambas bombas con sus respectivos términos de FUGA, (jfs-js) y (jfbs-jbs). La acción de la bomba SERCA y Sarcolema, se ve anulada por sus respectivos términos de FUGA, por lo que se observa un estado estacionario en todo el espacio-tiempo $[0, 0.1]$ seg.

14. Se pudo observar para las gráficas de concentración vs Posición una forma de bote (SERCA) o bote invertido (Fuga SERCA) "forma cuadrática", este comportamiento se manifiesta debido a que en puntos muy alejados de los receptores de RYR, la concentración está muy cercana a la basal de $c_0 = 1e-4 \text{ mol/m}^3$, es decir no se manifiestan patrones difusivos.

15. Se pudo observar para las gráficas de concentración vs Posición una forma de bote (SARCOLEMA) o bote invertido (Fuga SARCOLEMA) "forma cuadrática", este comportamiento se manifiesta debido a que en puntos muy alejados de los receptores

de RYR, la concentración está muy cercana a la basal de $c_0 = 1e-4 \text{ mol/m}^3$, es decir no se manifiestan patrones difusivos.

16. Se realizaron experimentos de difusión-reacción "in silico" en donde se dispararon tres canales de RyR Bajo la influencia de la bomba SERCA y su término de Fuga SERCA a una máxima capacidad. Para la liberación del canal central de RYR se observa una disminución de la concentración máxima en comparación a los experimentos con capacidad normal de la bomba SERCA .El comportamiento del canal central es oscilatorio, lo cual concluye que los efectos de la bomba SERCA a capacidad máxima junto a su término de Fuga son similares a interruptores.

17. Se realizaron experimentos de difusión-reacción "in silico", en donde se dispararon tres canales de RyR bajo la influencia de la bomba del Sarcolema y su término de Fuga Sarcolema, a una máxima capacidad. Para la liberación del canal central de RYR se observa una disminución de la concentración máxima en comparación a los experimentos con capacidad normal de la bomba del sarcolema. Se observa que para este caso, el termino de fuga del Sarcolema, no actúa de manera eficaz, permitiendo una disminución considerable de la concentración basal, lo que es de esperar; ya que el valor utilizado $q_1 = 1e2 \text{ mol/m}^3$, supera en 4 órdenes de magnitud al valor fisiológico de este parámetro.

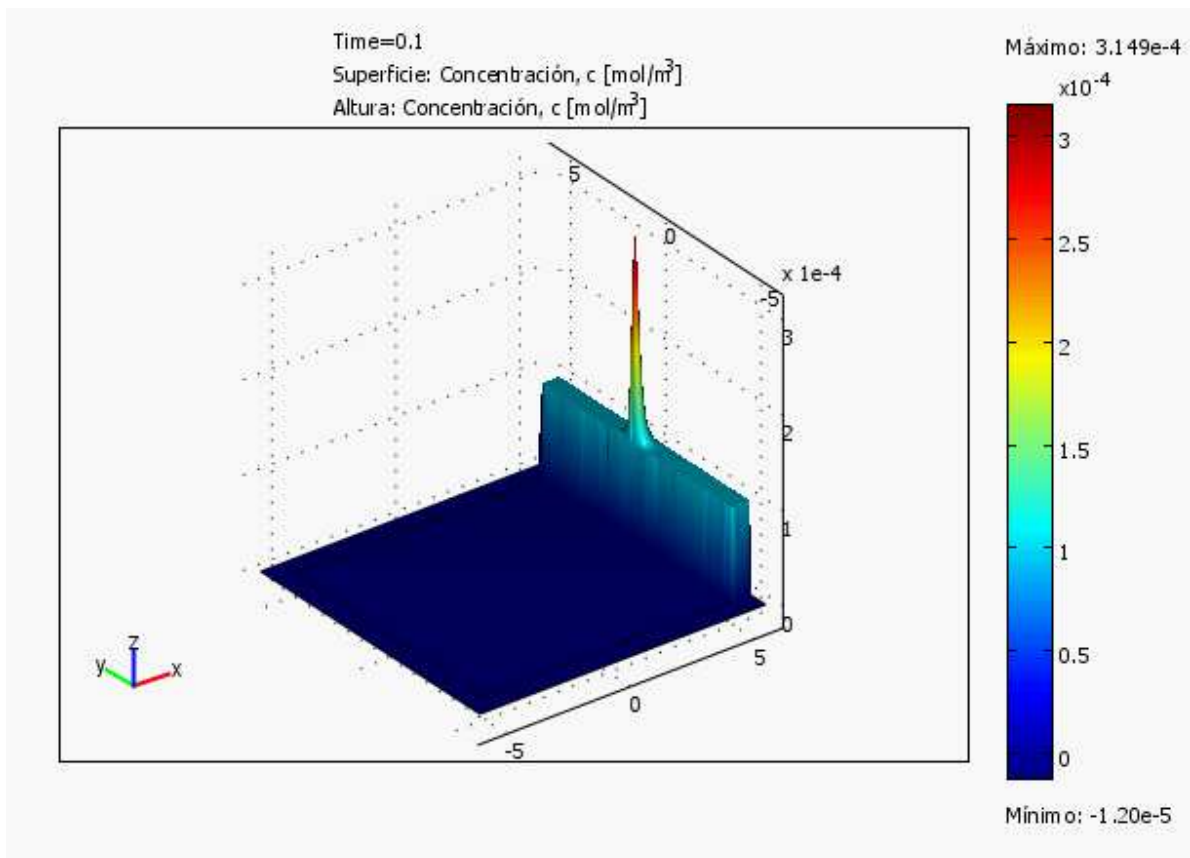
18. Se lograron establecer relaciones comparativas con trabajos anteriores, donde se verifica un tiempo de liberación de Spark de Ca^{2+} entre 100ms y 200ms y una elevación en la concentración del canal central de RYR de aproximadamente; diez (10) veces mayor que la concentración basal ($C_0 = 1e-4 \text{ mol/m}^3$).

19. Para próximos desarrollos se recomienda agregar otros términos de amortiguador, con otro tipo de cinética, intercambiadores intermembrana, factores electrostáticos, así como aumentar a 3D.

20. Este programa puede ser acoplado a otros programas para continuar su desarrollo, además la importación de formatos CAD para aproximar la geometría lo mejor posible al miocito del músculo esquelético.

CAPITULO X: ANEXOS

Anexo 1. Reporte general del modelo en dos dimensiones de la dinámica del ión Ca^{2+} en un miocito esquelético, para tres canales receptores de rianodina.



1. Tabla de Contenidos

- Tabla de Contenidos
- Propiedades del Modelo
- Constantes
- Geometría
- Geom1

- Geom2
 - Ajustes de Resolvedor
 - Postprocesado
 - Variables
-
- **2. Propiedades del Modelo**

Propiedad	Valor
Nombre del modelo	3 receptores de rianodina
Autor	Juan Carlos Ugas
Empresa	U.C.V
Departamento	Facultad de Ciencias.Escuela de Química Facultad de Medicina.Escuela Luis Razetti. Cátedra de Fisiología
Fecha de guardado	17-ago-2010 12:03:00
Fecha de creación	07-may-2010 8:10:40
Versión de COMSOL	COMSOL 3.4.0.248

Modos de aplicación y módulos utilizados en este modelo:

- Geom1 (2D)
 - Difusión
- Geom2 (3D)

3. Constantes

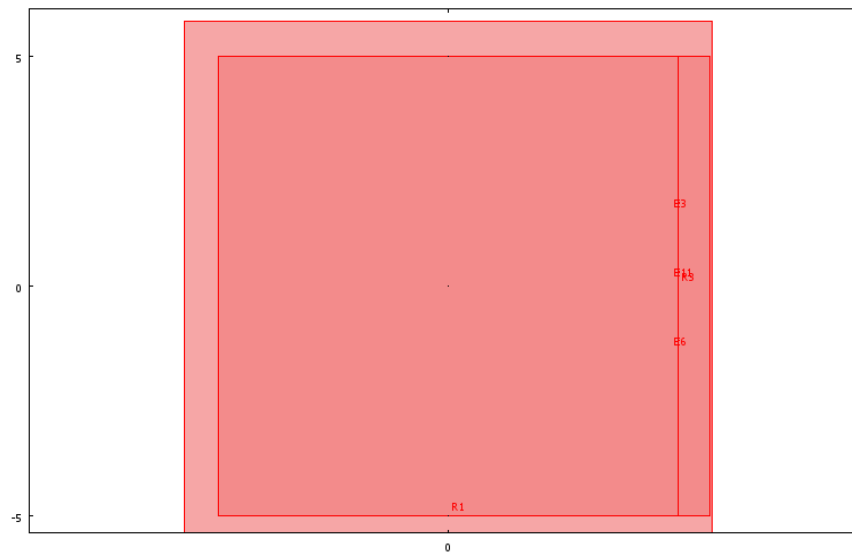
Nombre	Expresión	Valor	Descripción
A_1 R_YR1	$3.5e-4[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x1} \cdot A_{y1} \cdot A_{t1}$)
A_2 R_YR2	$3e-5[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x2} \cdot A_{y2} \cdot A_{t2}$)
A_3 R_YR3	$3e-5[\text{mol}/\text{m}^2]$		Parámetro de la función Gaussiana ($A_{x3} \cdot A_{y3} \cdot A_{t3}$)
D	$2.23e-10[\text{m}^2/\text{s}]$		coeficiente de difusión
c_0	$1e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de calcio en el citosol
c_r	$0[\text{mol}/\text{m}^3]$		concentración basal de l retículo sarcoplásmico
y_1	$3.0e-8[\text{m}]$		Posición del canal central de RyR
y_2	$-1.2e-7[\text{m}]$		Posición del segundo canal de RyR
y_3	$1.82e-7[\text{m}]$		Posición del tercer canal de RyR
v_sr	$208[\text{mol}/(\text{s} \cdot (\text{m}^3))]$		capacidad máxima de la bomba SERCA
k_sr	$1.84e-4[\text{mol}/\text{m}^3]$		c es la mitad del máximo del transporte Calcio
n	2		coeficiente de Hill
pi	3.14159		Constante Π (pi)
si_xy	$1e-8[\text{m}]$		Constante σ_{xy} ($\sigma_{xy} = \sigma_x \cdot \sigma_y$)
t_s	$6e-2[\text{s}]$		Constante σ_t
t_0	$0[\text{s}]$		Tiempo de disparo del primer canal

t_1	0.5[s]		Tiempo de disparo del segundo canal
t_2	0.5[s]		Tiempo de disparo del tercer canal
b_n	1[mol/m ³]		Concentración total complejo Calcio-Parvoalbúmina
k_n	4e-6[mol/m ³]		Constante de equilibrio complejo Calcio-Parvoalbúmina
x_0	5.072408e-7[m]		Posición de la línea vertical común a los canales de RyR
q_2	0[mol/m ³]		Parámetro PMCA 2
q_1	1e1[s ⁻¹ *mol/m ³]		Parámetro PMCA 1
t_s1	6e-1[s]		Constante σ_{t1}

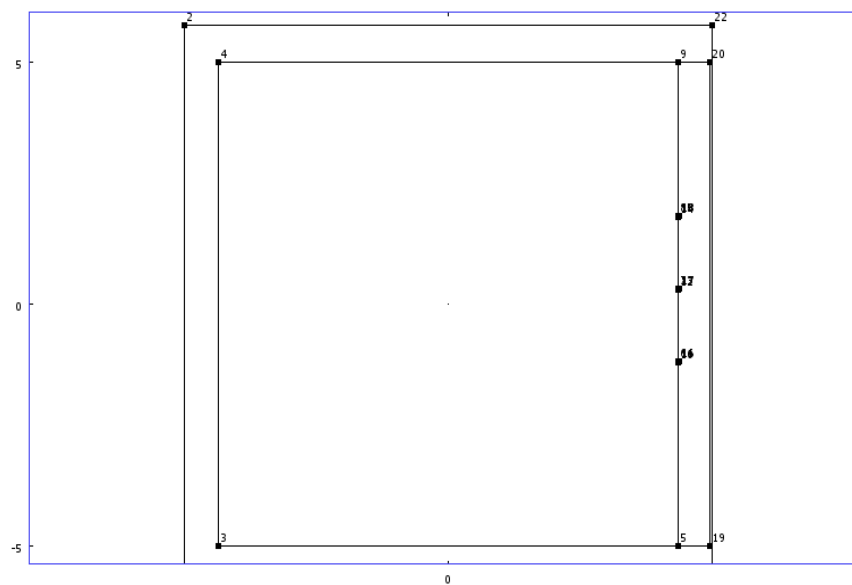
4. Geometría

Número de geometrías: 2

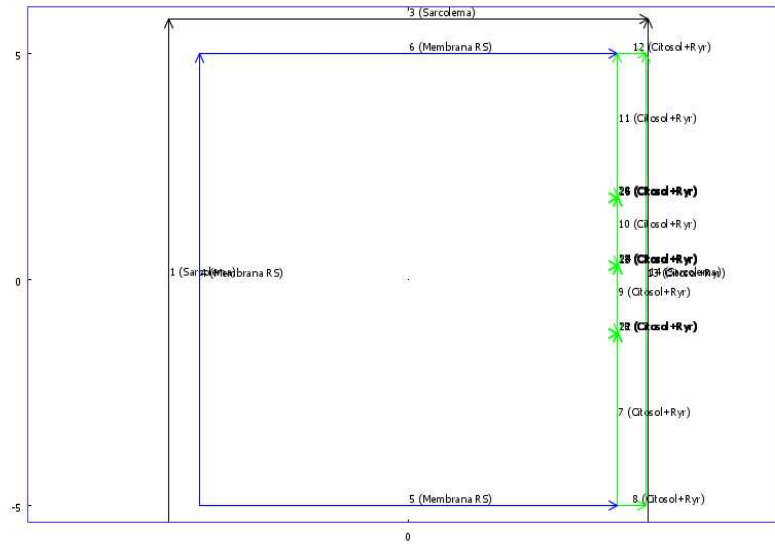
4.1. Geom1



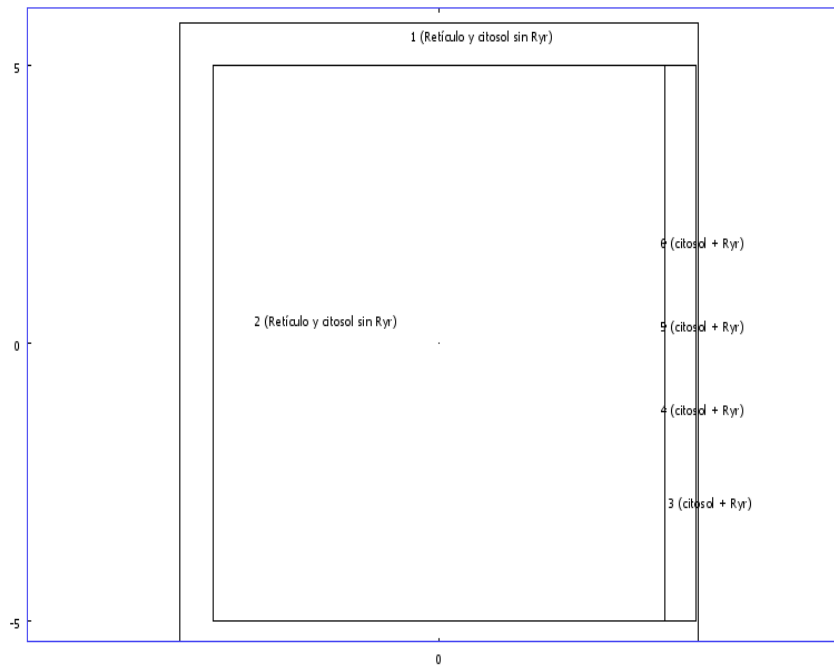
4.1.1. Punto modo



4.1.2. Contorno modo



4.1.3. Subdominio modo



4.2. Geom2

5. Geom1

Dimensiones de espacio: 2D

Variables independientes: x, y, z

5.1. Expresiones Escalares

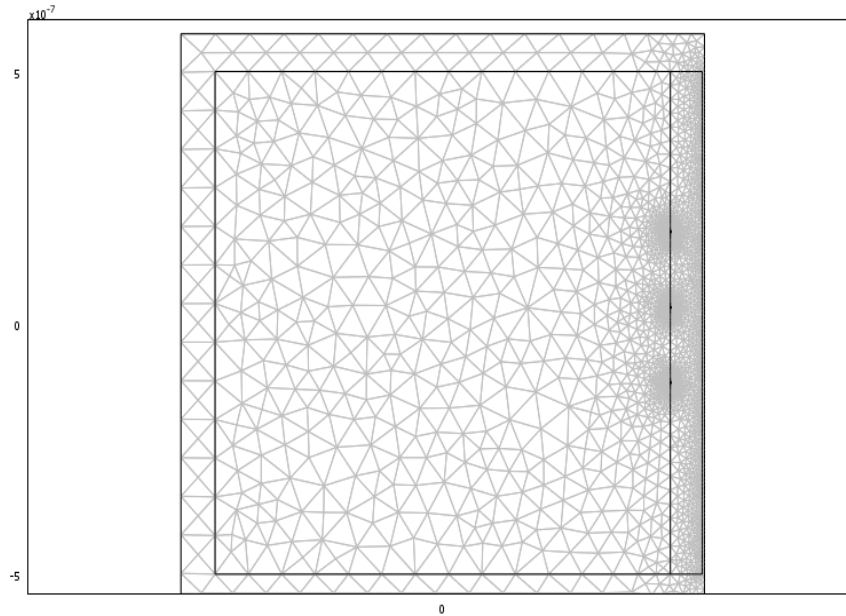
Nombre	Expresión	Unidad	Descripción
j1	$(A_1/(\sqrt{(2*\pi)^2*si_xy*t_s1}))^*exp(-((x-x_0)^2)/(2*(si_xy)^2))^*exp(-((y-y_1)^2)/(2*(si_xy)^2))^*exp(-((t-t_0)^2)/(2*(t_s)^2))$	mol/(m ³ *s)	concentracion
j2	$(A_2/(\sqrt{2*\pi^2*si_xy*t_s1}))^*exp(-((x-x_0)^2)/(2*(si_xy)^2))^*exp(-((y-y_2)^2)/(2*(si_xy)^2))^*(exp(-((t-t_1)^2)/(t_s)^2))$	mol/(m ³ *s)	concentracion
j3	$(A_3/(\sqrt{2*\pi^2*si_xy*t_s1}))^*exp(-((x-x_0)^2)/(2*(si_xy)^2))^*exp(-((y-y_3)^2)/(2*(si_xy)^2))^*exp(-((t-t_2)^2)/(2*(t_s)^2))$	mol/(m ³ *s)	concentracion
th	$1+((b_n*k_n)/(k_n+c)^2)$	1	Coeficiente de escalado temporal
js	$(v_sr*(c^2))/((k_sr^2)+(c^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo SERCA
jfs	$(v_sr*(c_0^2))/((k_sr^2)+(c_0^2))$	mol/(m ³ *s)	flujo de FUGA DERCA
jbs	$(q_1*c^2)/(q_2^2+c^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo Bomba del

			Sarcolema
jfbs	$(q_1 \cdot c_0^2) / (q_2^2 + c_0^2)$	mol/(m ³ *s)	Flujo de FUGA de la BOMBA DEL SARCOLEMA

5.2. Malla

5.2.1. Estadísticas de Malla

Número de grados de libertad	16490
Número de puntos de malla	4174
Número de elementos	8143
Triangular	8143
Cuadrilateral	0
Número de elementos de contorno	656
Número de elementos de vértice	22
Calidad mínima de elemento	0.164
Índice de área de elemento	0



5.3. Modo De Aplicación: Difusión (di)

Tipo de modo de aplicación: Difusión

Nombre del modo de aplicación: di

5.3.1. Propiedades del modo de aplicación

Propiedad	Valor
Tipo de elemento por defecto	Lagrange - Cuadrático
Tipo de análisis	Transitorio

Cuadro	Cuadro (ref)
Restricciones Débiles	No Activo
Tipo de restricción	Ideal

5.3.2. Variables

Variables dependientes: c

Funciones de forma: shlag(2,'c')

Contornos interiores activos

5.3.3. Ajustes de Contorno

Contorno		1-3, 14	4-6	7-13, 15-26
Tipo		Flujo	Discontinuidad de flujo	Concentración
name		Sarcolema	Membrana RS	Citosol+RyR
Concentración (c0)	mol/m ³	0	0	c_0

5.3.4. Ajustes de Subdominio

Subdominio		1-2	3-6
name		Retículo y citosol sin RyR	citosol + RyR
Coeficiente de difusión (D)	m ² /s	0	D
Tasa de reacción (R)	mol/(m ³ ·s)	0	j1+j2+j3+jfs-js+jfs-

			jbs	
Coeficiente de escalado temporal (Dts)	1	th	th	
	Valor inicial de subdominio		1-2	3-6
	Concentración, c (c)	mol/m ³	0	c_0

6. Geom2

Dimensiones de espacio: 3D

Variables independientes: x, y, z

7. Ajustes de Resolvedor

Resolver utilizando una secuencia de comandos: no activo

Tipo de análisis	Transient
Selección automática de resolvedor	Activo
Resolvedor	Dependiente del tiempo
Método de solución	Automático
Simétrico	auto
Adaption	No Activo
Optimization	No Activo

7.1. Directo (UMFPACK)

Tipo de resolvidor: Resolvidor de sistema lineal

Parámetro	Valor
Umbral de pivote	0.1
Factor de asignación de memoria	0.7

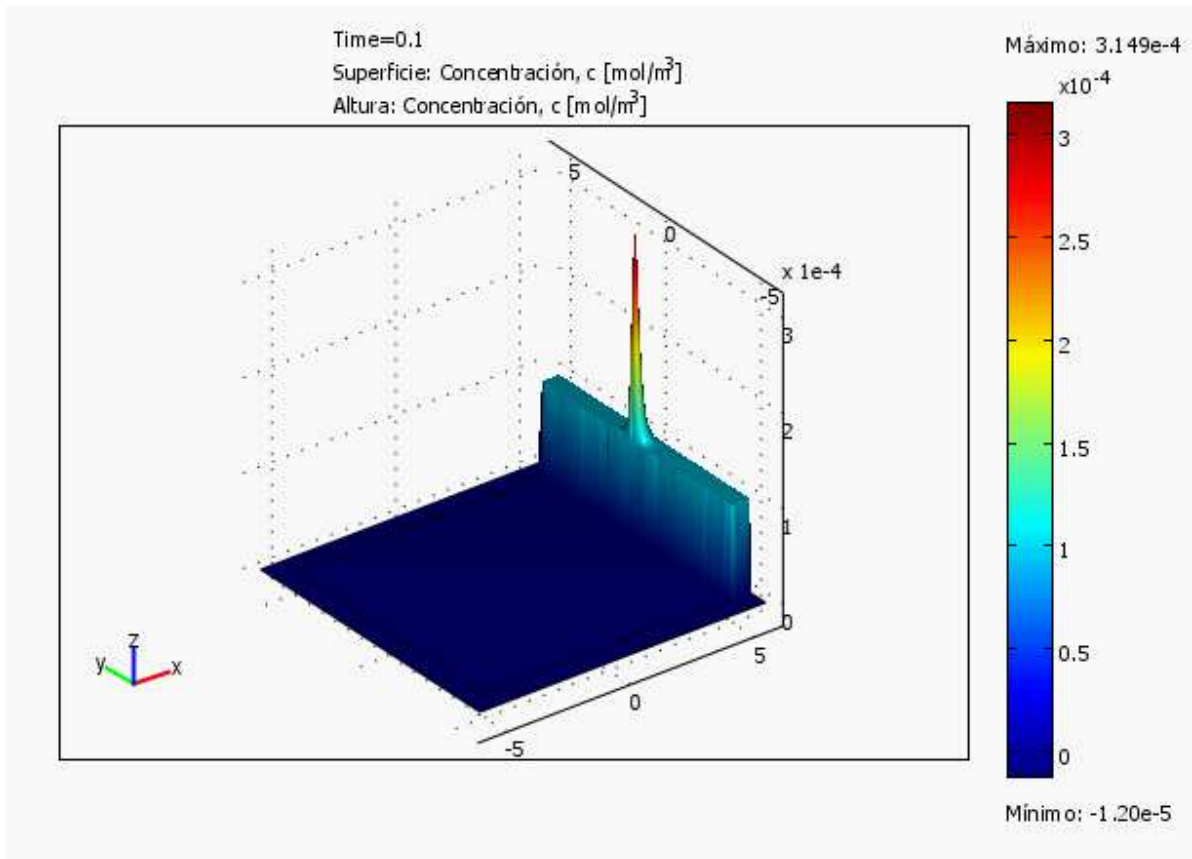
7.2. Escalón Temporal

Parámetro	Valor
Tiempos	0:0.1:1
Tolerancia relativa	0.01
Tolerancia absoluta	0.0010
Tiempos a almacenar en salida	Tiempos especificados
Pasos temporales tomados por el resolvidor	Libre
Sintonización manual del tamaño de salto	No Activo
Paso temporal inicial	0.0010
Paso temporal máximo	1.0
Orden máximo de BDF	5
Matriz de masa singular	Quizás
Inicialización consistente de sistemas DAE	Euler Hacia Atrás
Estrategia de estimación de error	Incluir algebraico
Permitir números complejos	No Activo

7.3. Avanzado

Parámetro	Valor
Método de manipulación de restricción	Eliminación
Función de espaciamiento de ceros	Automático
Tamaño de ensamblaje del bloque	5000
Usar transpuesta Hermítica de la matriz de restricciones y en la detección de simetría	No Activo
Usar funciones complejas con entrada real	No Activo
Parar si hay error debido a una operación indefinida	Activo
Almacenar solución en archivo	No Activo
Tipo de escalado	Automático
Escalado manual	
Equilibración de fila	Activo
Control manual del reensamblaje	No Activo
Constante de carga	Activo
Constante de restricción	Activo
Constante de masa	Activo
Constante de amortiguación (masa)	Activo
Constante Jacobiana	Activo
Constante Jacobiana de restricción	Activo

8. Postprocesado



9. Variables

9.1. Contorno

Nombre	Descripción	Unidad	Expresión
ndflux_c_di	Flujo difusivo normal, c	mol/(m ² *s)	$n_{x_di} * dflux_c_x_di + n_{y_di} * dflux_c_y_di$

9.2. Subdominio

Nombre	Descripción	Unidad	Expresión
grad_c_x_di	Gradiente de concentración, componente c, x	mol/m ⁴	cx
dflux_c_x_di	Flujo difusivo, componente c, x	mol/(m ² *s)	-Dxx_c_di * cx-Dxy_c_di * cy
grad_c_y_di	Gradiente de concentración, componente c, y	mol/m ⁴	cy
dflux_c_y_di	Flujo difusivo, componente c, y	mol/(m ² *s)	-Dyx_c_di * cx-Dyy_c_di * cy
grad_c_di	Gradiente de concentración, c	mol/m ⁴	sqrt(grad_c_x_di ² +grad_c_y_di ²)
dflux_c_di	Flujo difusivo, c	mol/(m ² *s)	sqrt(dflux_c_x_di ² +dflux_c_y_di ²)

Anexo2. Importación de archivos CAD a partir de una imagen en formato JPEG.

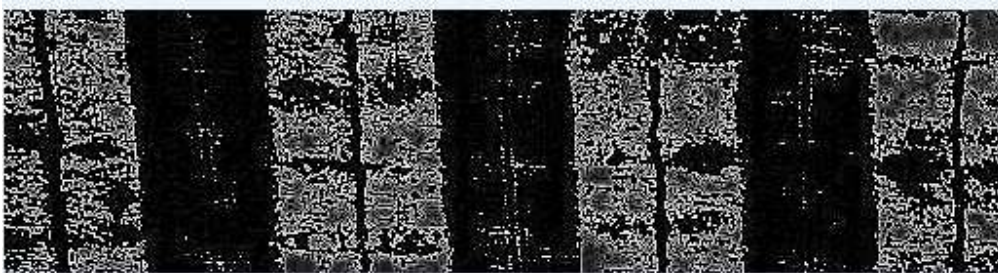
- 1) Descargar e instalar el programa img2CAD (DWG):



- 2) Descargar e instalar el programa Any DWG DXF converter:



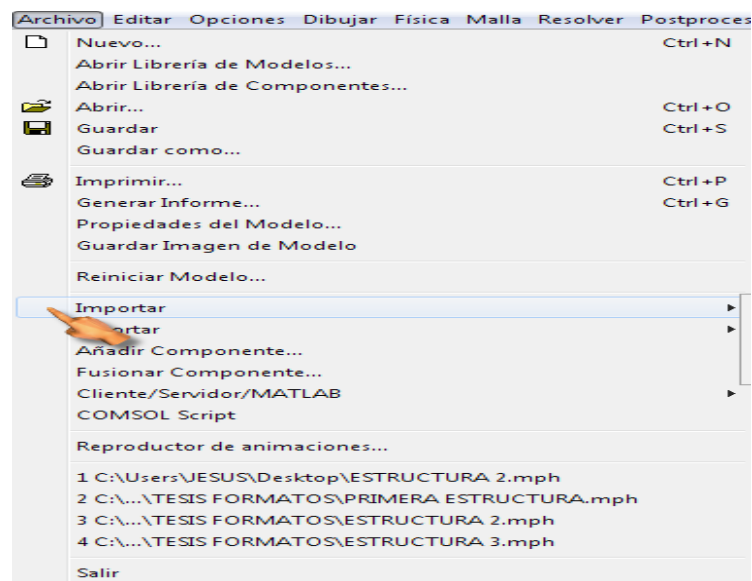
Imagen de una fibra de musculo esquelético en formato JPEG:



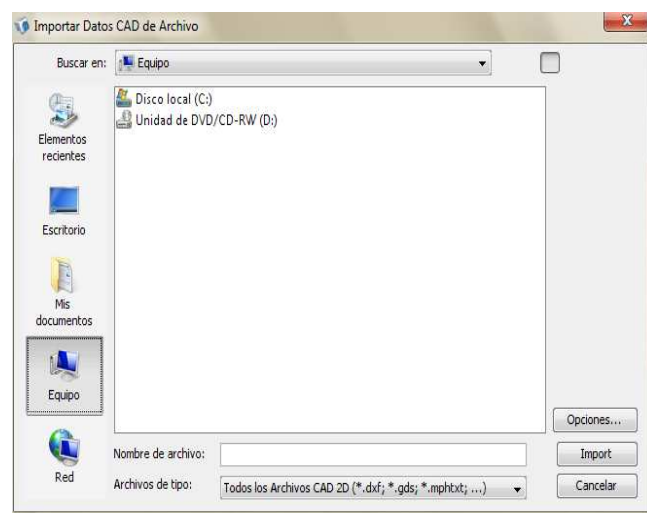
- 3) Hacer la conversión de la imagen JPEG a DWG con el primer convertidor y luego de DWG a DXF (compatible con COMSOL Multiphysics 3.4) con el segundo convertidor.

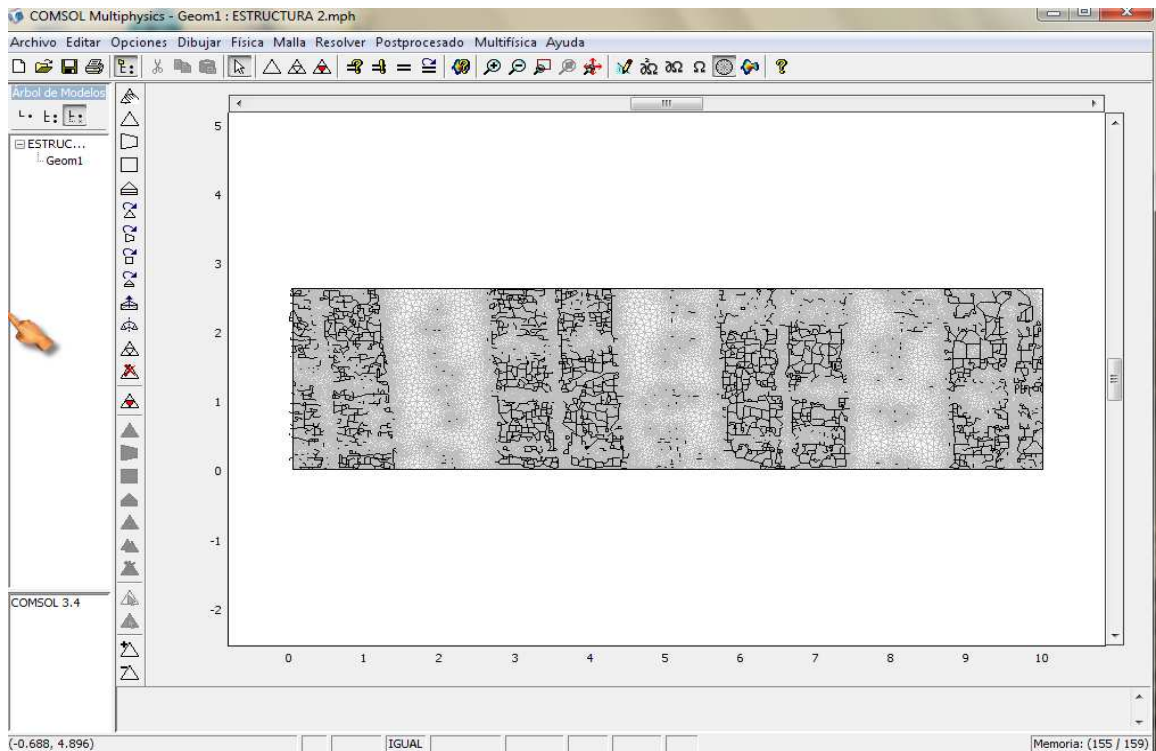
4) Abrir COMSOL Multiphysics 3.4

5) Pulsar el cuadro de dialogo Archivo- importar- importar datos CAD del Archivo.



6) Importar el archivo convertido.





7) Fijar parámetros de simulación.

El problema con la Importación de archivos CAD a partir de una imagen en formato JPEG, pdf o cualquier otro formato convencional, es la gran cantidad de subdominios y contornos generados (**elementos**) por lo aleatorio de las líneas graficas en la imagen. Esto trae la no convergencia en el cálculo matricial a la hora del procesado y por consiguiente un ERROR.



Anexo 3. Tabla comparativa de diversos métodos numéricos.

Método de los elementos finitos	Método de diferencias finitas	Método de los volúmenes finitos	Método de los elementos de contorno
Se discretiza todo el dominio.	Se discretiza todo el dominio.	Se discretiza todo el dominio.	Se discretiza solo el contorno del dominio.
División del dominio en elementos triangulares (en 2-D) o tetraédricos (en 3-D).	División del dominio en mallas Rectangulares.	Division del dominio en todos los poliedros.	El problema se reduce en una dimensión. Dominio de estudio infinito o semi-infinito. (preferiblemente)
Dependiendo del tipo de elemento y de la precisión que se quiera, se tendrá que definir una malla más o menos fina de elementos	Malla no estructurada.	Mallas estructuradas y no estructuradas	Sin Malla
Todo el dominio del problema desarrolla ecuaciones algebraicas que describen las soluciones aproximadas.	La ecuación (es) diferencial (es) del problema utiliza la integración numérica para obtener la solución en puntos discretos.	En cada punto de la malla se obtiene un sistema de ecuaciones algebraicos.	Reformulación de un problema de contorno en forma de ecuación integral y se resuelve la ecuación integral resultante.

Anexo 4. Breve reseña histórica del (MEF).

El Método de Elementos Finitos (MEF) fue al principio desarrollado en 1943 por R. Courant^[89], quien utilizó el método de Ritz de análisis numérico y minimización de las variables de cálculo para obtener soluciones aproximadas a un sistema de vibración. Poco después, un documento publicado en 1956 por M. J. Turner, R. W. Clough, H. C. Martin, y L. J. Topp estableció una definición más amplia del análisis numérico. El documento se centró en "la rigidez y deformación de estructuras complejas". Con la llegada de los primeros ordenadores se instaura el cálculo matricial de estructuras. Éste parte de la discretización de la estructura en elementos lineales tipo barra de los que se conoce su rigidez frente a los desplazamientos de sus nodos. Se plantea entonces un sistema de ecuaciones resultado de aplicar las ecuaciones de equilibrio a los nodos de la estructura. Este sistema de ecuaciones se esquematiza de la siguiente manera^[89]:

$$\mathbf{f} = \mathbf{K} \cdot \mathbf{u}$$

Donde las incógnitas son los desplazamientos en los nodos (vector \vec{u}) que se hallan a partir de las "fuerzas" o "solicitaciones" en los nodos (vector \vec{f}) y de la rigidez de las barras (matriz de rigidez \mathbf{K}). Conocidos dichos desplazamientos es posible determinar los esfuerzos exactamente en las barras. Los esfuerzos y deformaciones son tensores y los desplazamientos son vectores^[89].

Uso práctico del método hacia 1950

Cuando se produce la llegada de los primeros equipos de cómputo en la década de 1950, el cálculo de estructuras se encontraba en un punto en el que los métodos de cálculo predominantes consistían en método iterativos (métodos de Cross y Kani) que se realizaban de manera manual y, por tanto, resultaban bastante tediosos. El cálculo de una estructura de edificación de varios pisos, por ejemplo, podía llevar varias

semanas, lo cual suponía un coste sustancial de tiempo en detrimento de la posibilidad de invertir este en la optimización de la estructura^[89].

La llegada de la computadora permitió el resurgimiento del método de los desplazamientos ya conocidos en siglos anteriores (Navier, Lagrange, Cauchy), pero que eran difíciles de aplicar dado que al final conducían a la resolución de enormes sistemas de ecuaciones inabordables desde el punto de vista manual^[89].

De 1960 a 1970

Cuando las aplicaciones prácticas de elementos finitos crecieron en tamaño, los requerimientos de tiempo de cálculo y memoria de los ordenadores creció. En ese punto el desarrollo de algoritmos más eficientes se volvió importante. Para la resolución de los sistemas de ecuaciones se potencia el estudio de la adaptabilidad de los algoritmos ya conocidos (Gauss, Cholesky, Crout, Gradiente conjugado, etc). El ahorro de tiempo es impensable y con ello el uso del método matricial se extiende. Este desarrollo se hace especialmente notable en estructuras de edificación donde la discretización de los pórticos en barras, es prácticamente inmediata a partir de las vigas y los pilares^[89].

Sin embargo, y a pesar de desarrollarse modelizaciones de elementos superficiales mediante barras (losas con emparrillados, elementos curvos mediante aproximaciones de elementos rectos, etc.), se plantean grandes dificultades ante estructuras continuas (superficies y volúmenes) y con geometrías complejas. De ahí que sea precisamente dentro del campo aeroespacial donde comienzan a desarrollarse las nuevas técnicas del MEF. Dada su generalidad el método se amplió a otros campos no estructurales como la conducción de calor, la mecánica de fluidos, etc. donde compitió con otros métodos numéricos como el de método de las diferencias finitas que aún siendo más intuitivos, tenían de nuevo dificultades de planteamiento para geometrías complejas^[89].

Con la llegada de los centros de cálculo y los primeros programas comerciales en los años 60, el MEF a la vez que se populariza en la industria refuerza sus bases teóricas en los centros universitarios^[89].

En los años 70 se produce un gran crecimiento de la bibliografía así como la extensión del método a otros problemas como los no lineales. En esta década, el MEF estaba limitado a caros ordenadores centrales generalmente poseído por las industrias aeronáuticas, de automoción, de defensa y nucleares. Se estudian nuevos tipos de tipos de elementos y se sientan las bases matemáticas rigurosas del método, que había aparecido antes más como técnica de la ingeniería que como método numérico de la matemática^[89].

A partir de 1980

Por último, a partir de la década de los 80, con la generalización de los ordenadores personales, se extiende el uso de los programas comerciales que se especializan en los diversos campos, instaurándose el uso de pre y postprocesadores gráficos que realizan el mallado y la representación gráfica de los resultados. Se continúa en el estudio de la aplicación del método a nuevos modelos de comportamiento (plasticidad, fractura, daño continuo, etc.) y en el análisis de los errores^[89].

En la actualidad, dentro del campo estructural, el MEF comparte protagonismo con el método matricial, siendo muchos los programas que mezclan el análisis por ambos métodos, debido sobre todo a la mayor necesidad de memoria que requiere el análisis por elementos finitos. Así se ha dejado la aplicación del MEF para el análisis de elementos continuos tipo losa o pantalla, mientras que los pórticos siguen todavía discretizándose en barras y utilizando el método matricial. Y desde el rápido declive en el coste de los ordenadores y el fenomenal incremento en la potencia de cálculo, el MEF ha desarrollado una increíble precisión. A día de hoy, los superordenadores son capaces de dar resultados exactos para todo tipo de parámetros^[89].

1.35. Algunos programas “templates” para elementos finitos ^[89].

- **Abaqus** : es una suite de aplicaciones de software para análisis de elementos finitos y de ingeniería asistida por ordenador. Software Franco-Americano.
- **ALGOR**: simulador de eventos mecánicos, que combina cinemática, cuerpo rígido, cuerpo flexible y análisis de esfuerzos no lineales.
- **ANSA** : Un avanzado software de procesamiento de pre-CAD, para un modelo completo de construcción.
- **ANSYS** : es un software de simulación ingenieril. Está desarrollado para funcionar bajo de elementos finitos, para estructuras y volúmenes finitos, para fluidos. Software de U.S.A.
- **COMSOL Multiphysics** COMSOL Multiphysics Finite Element Analysis Software anteriormente FEMLAB.
- **Femap , Siemens PLM Software** : Un pre y post procesador para Windows.

- **Flujo** : Análisis de flujo electromagnético y térmico. American FEA.
- **JMAG** : es un software de simulación ingenieril para Análisis Acústico. Software japonés.
- **LS-DYNA** , LSTC es un programa para análisis de elementos finitos de propósito general; capaz de simular problemas complejos del mundo real. Está optimizado para ser compatible en plataformas Unix, Linux y Windows. Software Technology Corporation Livermore.
- **Lusas** : software de análisis de elementos finitos que puede resolver todos los tipos de estrés lineales y no lineales, dinámica, problemas de análisis de ingeniería compuestos y térmica. Software UK.
- **MADYMO** : Soluciones para la Seguridad Automotriz TNO.
- **Nastran** : un programa de análisis (FEA) de elementos finitos que fue desarrollado originalmente para la NASA en la década de 1960 bajo el Gobierno de Estados Unidos para la industria aeroespacial.
- **ENL Fusión** , **Software ENL** : modelador 3D CAD + Nastran FEA.

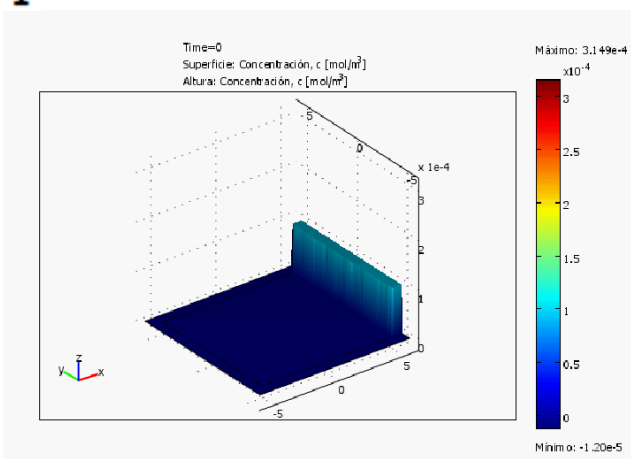
- **ENL Nastran , Software ENL** : Propósito General Análisis de Elementos Finitos.
- **NISA** : NISA es uno de los paquetes de software de análisis de elementos finitos más completos disponibles para atender las necesidades de la industria automotriz, aeroespacial, energía, potencia, gas, envases, electrónica y industrias de ingeniería civil. software de la India.
- **PZFlex** : software Americano para la propagación de ondas y dispositivos piezoeléctricos.
- **QuickField**: es un paquete de análisis de elementos finitos muy eficiente para electromagnética, térmica, diseño y simulación con el análisis de varios campos acoplados.
- **RADIOSS** : es un solucionador de elementos finitos rápido y preciso para problemas lineales de estática y dinámica. Esta alternativa moderna a NASTRAN, archivo de datos de entrada y salida de NASTRAN a directamente soporta formatos (OUTPUT2 y Punch) para facilitar la implementación y la interoperabilidad..

- **RFEM** : es un software para análisis de elementos finitos (FEA) en la mecánica estructural sobre todo en la ingeniería civil desarrollada por **el Ing.. Software Dlubal** . Analiza las fuerzas internas, deformaciones y reacciones en los soportes de la superficie en general, la membrana, la cáscara, sólido y las estructuras de marco.
- **SAMCEF** : SAMCEF es un paquete de software de análisis (FEA) de elementos finitos dedicado a la creación de prototipos mecánicos virtuales. Software de Bélgica.
- **SAP2000** : Programa de ingeniería. Se pueden analizar cualquier tipo de estructuras con este programa, e incluso diseñar elemento por elemento de manera precisa con los reglamentos mas conocidos en cada país (ACI En EU, EUROCODIGO en Europa, y otros).
- **Strand7** : software de análisis (FEA) de elementos finitos. Algunas aplicaciones de alto perfil de Strand7 incluyen la optimización del centro de natación de nacional de Beijing de "El cubo de agua" para las Olimpiadas de Beijing 2008, la escultura "Runner" que fue colocada en la parte superior de la torre de Sydney durante los Juegos Olímpicos Sydney 2000.Desarrollado en Sydney Australia Pty. Ltd. por Strand7 Comercializado como Straus7 en Europa.

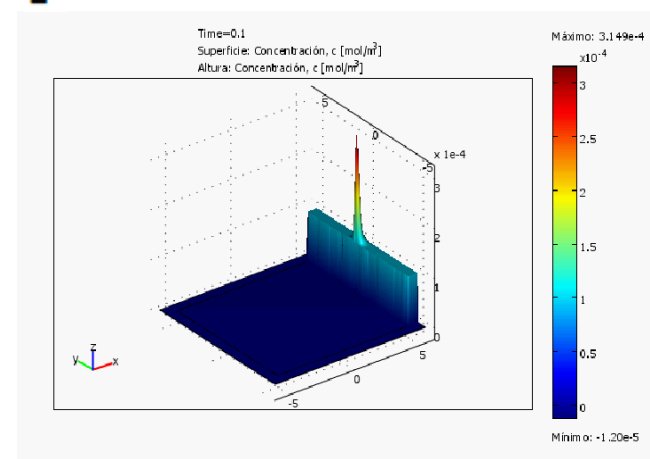
- **StressCheck**: es un software de análisis de elementos finitos desarrollado y apoyado por ERT, Inc. de St. Louis, Missouri. Es uno de los primeros productos (FEA), comercialmente disponibles
- **V flo**™ : software de modelado hidrológico distribuido, desarrollado por Vieux & Associates, Inc.
- **Zébulon** : es un programa (FEA), de avanzada orientado con muchas capacidades en soluciones no lineales. El programa está diseñado para ser flexible para el usuario y proporcionar opciones de solución que no se encuentran en otros códigos. software francés.

ANEXO 5. SECUENCIA EN 3D DE LAS DINAMICA DEL IÓN Ca^{+2} , LIBRE Y AMORTIGUADO. BAJO LA INFLUENCIA DE LA BOMBA SERCA Y DEL

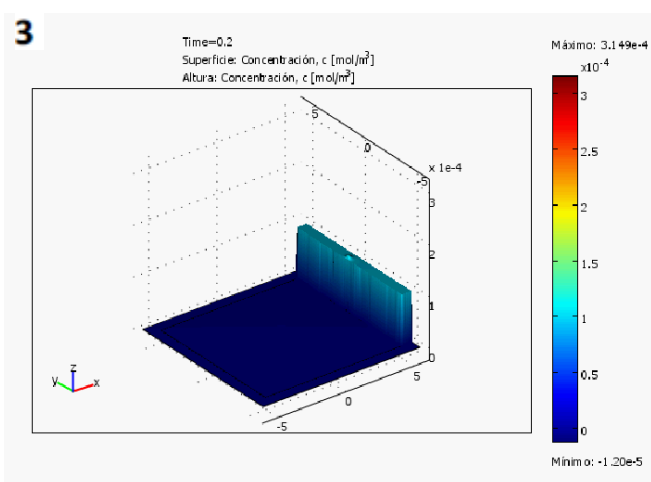
1 SARCOLEMA.



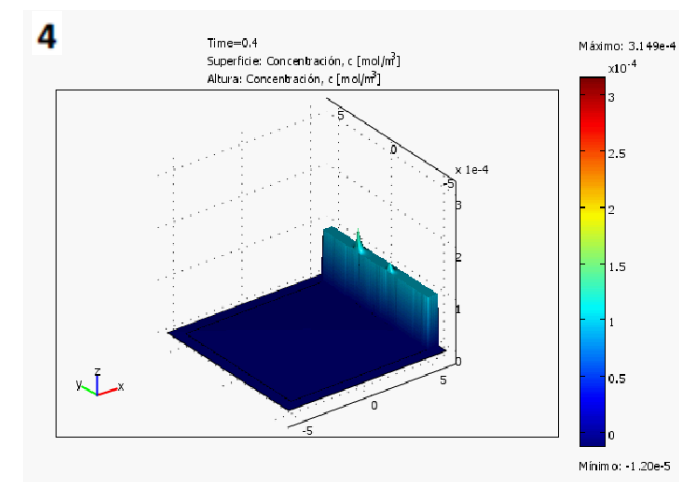
2



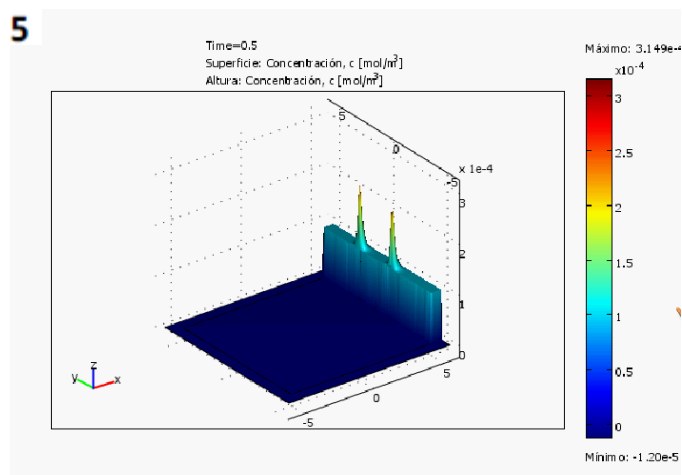
3



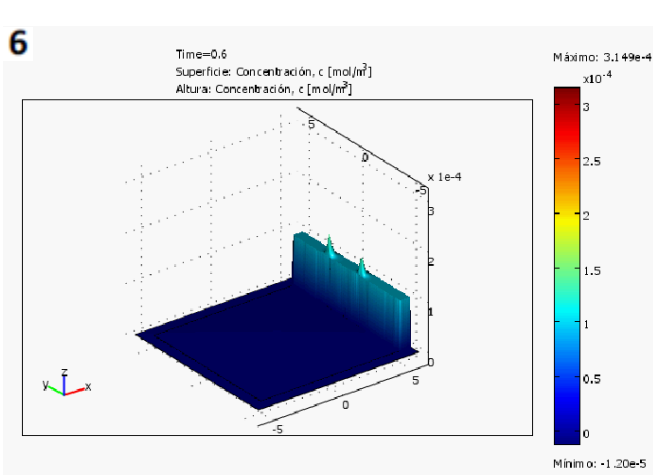
4



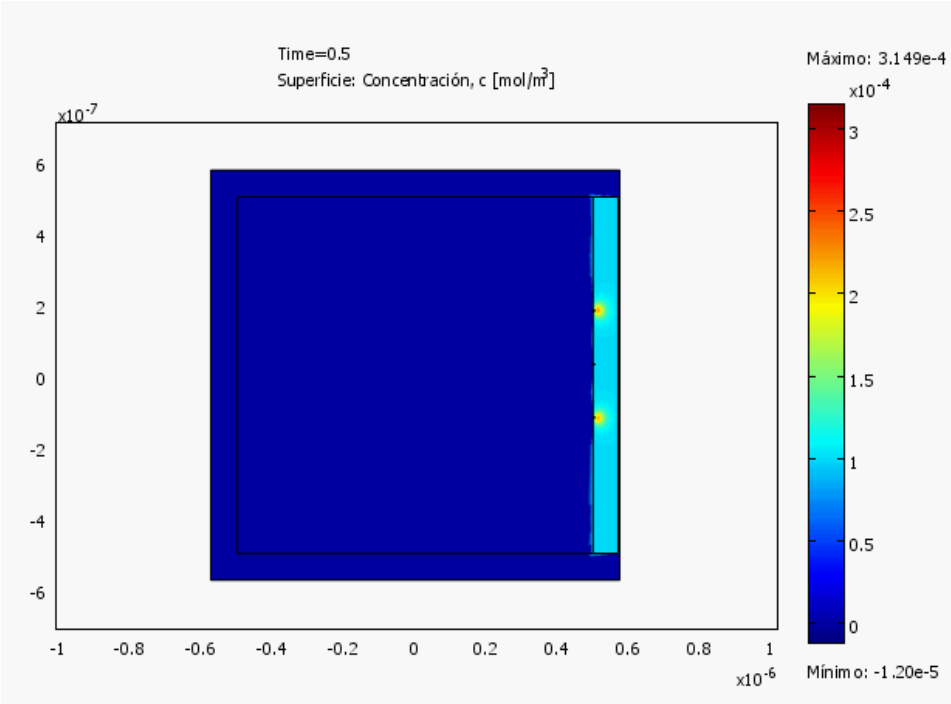
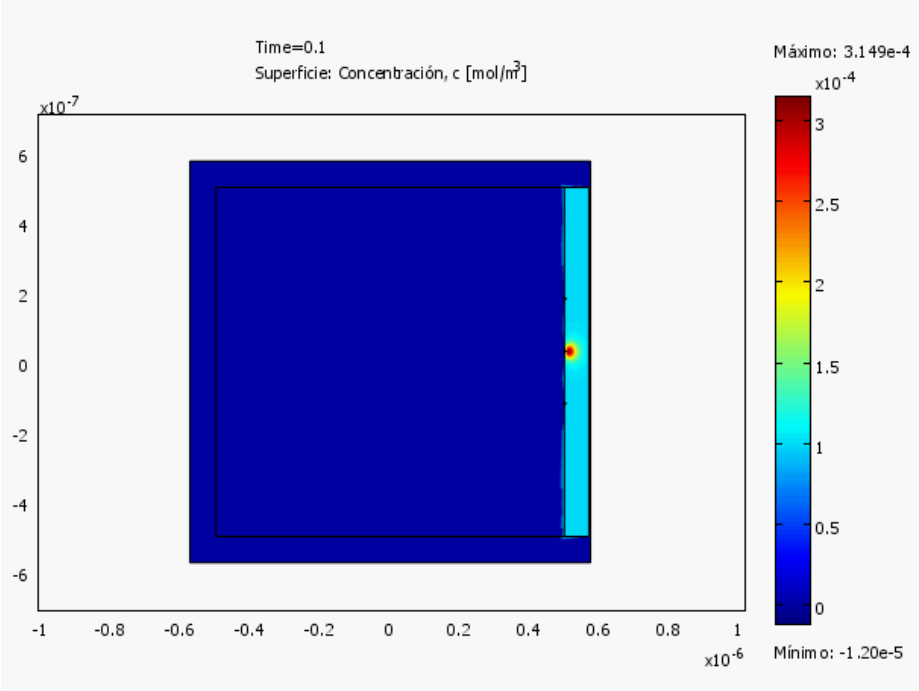
5

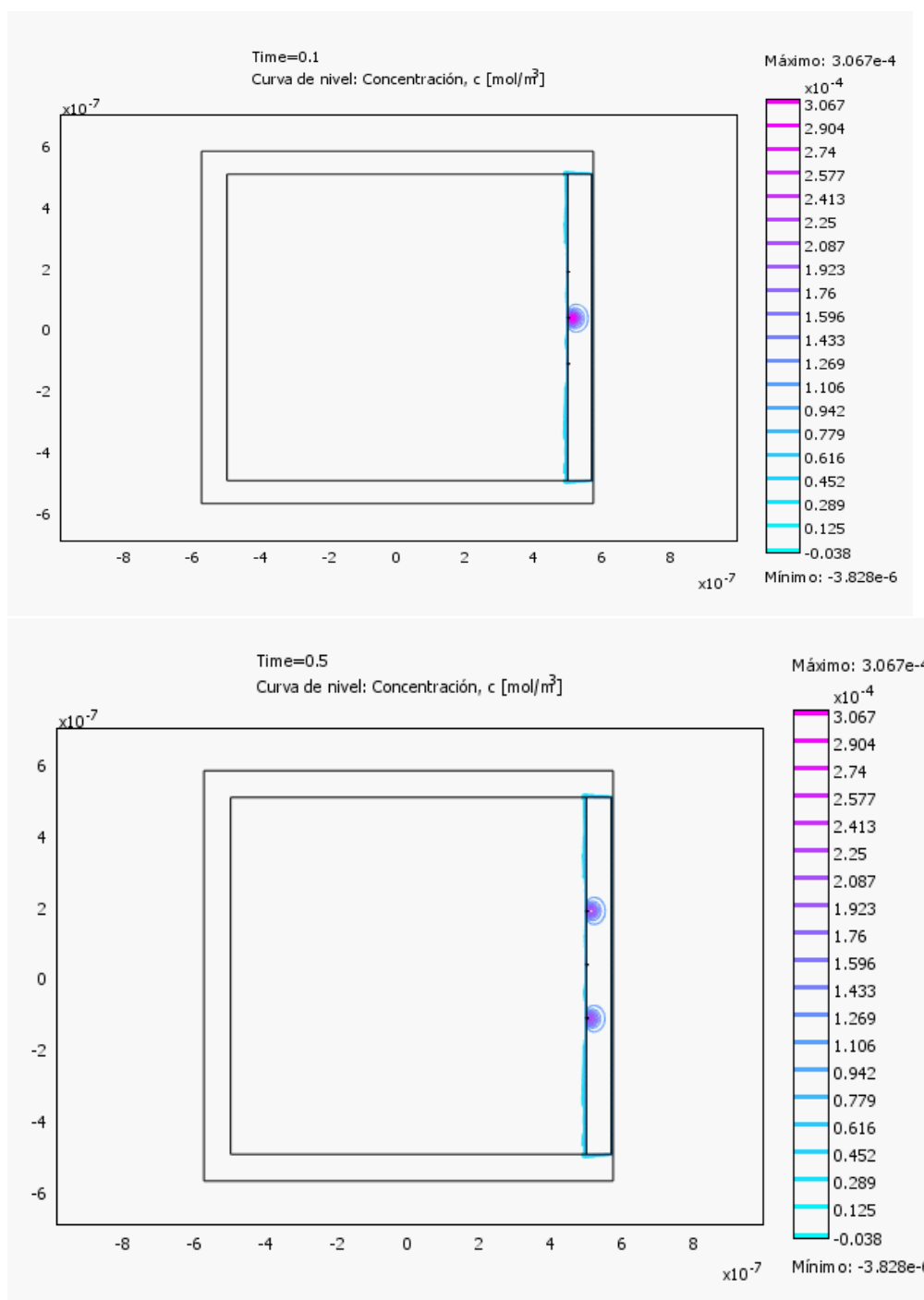


6



ANEXO 6. VISTA 2D (SUPERFICIE) DEL MODELO. PARA 3 CANALES DE RYR.



ANEXO 7. VISTA 2D (CURVA DE NIVEL) DEL MODELO. TRES CANALES DE RYR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 .Fernández, F; Plenge, T. The biochemical calcium signal. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 3007 Espinardo, Murcia, España. 1997-98 ;13-14: 23-34.
2. Calvar, J. Regulación de calcio en las células 1997; 1-4
3. Reyes; Juárez. Función del retículo sarcoplásmico y su papel en las enfermedades cardíacas Arch Cardiol Mex 2006; 76.
4. Guisoni, N. Modelos computacionales para la dinámica del calcio celular. Phys. Rev. E ,2005; 71, 061910-1-6.
5. Oliveira, M. Modelos computacionales para la dinámica del calcio celular. Phys. Rev. E.2006; 74, 061905-1-6.
- 6 Diambra, L. Modelos computacionales para la dinámica del calcio celular. 2005: 37 , 321-332.
7. D´Alessandro, E. Modelaje físico-químico de la dinámica del calcio libre y bufferado en el citosol de una célula de músculo esquelético. Tesis de grado.Escuela de Química. Universidad Central de Venezuela.2007.
8. Brown L. Muscle Fuel. *NSCA's Performance training journal*. 2002;9: 6-7.
9. Brown L.E. Muscle Contraction theory. *NSCA's Performance Training Journal*. 2002; 5: 6-7.

10. Beelen, A; Sargeant, J. Effect of fatigue on maximal power output at different contractions velocities in humans. *J. Appl. Physiol.* 1991; 71: 2332-2337.
11. Berridge, M. Elementary and global aspects of calcium signalling. *Physiol.* 1997; 499: 291-306.
12. Mc Phalen. Calcium-binding sites in proteins: a structural perspective. *Adv. Prot. Chem.* 1991; 42: 77-144.
13. Tsien, R.W; y Tsien, R.Y. Calcium channels, stores, and oscillations. *Ann. Rev. Cell Biol.* 1990; 6: 715-760.
14. Pozzan, T; Rizzuto, R; Volpe, P; Meldolesi, J. Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol. Rev.* 1994; 74: 595-636.
- 15.- Niggli, E. Localized intracellular calcium signaling in muscle: Calcium Sparks and Calcium Quarks. *Annu. Rev. Physiol.* 1999; 61:311-35.
- 16.- Niggli, E. Calcium Quarks. *Frontiers in Bioscience* 2002;7, d1288-1297.
17. Ventura, A. Simple data-driven models of intracellular calcium dynamics with predictive power. *Phys. Rev.* 2006; E 74, 011917-1:11.
18. Clapham, DE. Calcium signaling. *Cell* 1995;80:259-268.
19. Berridge, MJ. Cell signalling. A tale of two messengers. *Nature* 1993; 365:388-389.
20. Lomax, RB; Camello, C; Van Coppenolle, F; Petersen, OH; Tepikin, AV. Basal and physiological Ca^{2+} leak from the endoplasmic reticulum of pancreatic acinar cells.

Second messenger-activated channels and translocons. *J Biol Chem* 2002; 277:26479-26485.

21. Berridge, M. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 1989;341:197-205.

22. Mignery, GA; Sudhof, TC. The ligand binding site and transduction mechanism in the inositol-1,4,5-triphosphate receptor. *EMBO J* 1990;9:3893-3898.

23. Combettes, L; Champeil, P. Calcium and inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca^{2+} release. *Science* 1994;265:813-815.

24. Stehno-Bittel, L; Luckhoff, A; Clapham, DE. Calcium release from the nucleus by InsP3 receptor channels. *Neuron* 1995;14:163-167.

25. Hao, L; Rigaud, JL; Inesi, G. Ca^{2+}/H^{+} countertransport and electrogenicity in proteoliposomes containing erythrocyte plasma membrane Ca-ATPase and exogenous lipids. *J Biol Chem* 1994;269:14268-14275.

26. Nash, PD; Opas, M; Michalak, M. Calreticulin: not just another calcium-binding protein. *Mol Cell Biochem* 1994;135:71-78.

27. Malcomson, RD; Oram, SH; Harrison, DJ. The importance of apoptosis: is it real or imaginary? *Biologicals* 1996;24:295-299.

28. Hao, L; Rigaud, JL; Inesi, G. Ca^{2+}/H^{+} countertransport and electrogenicity in proteoliposomes containing erythrocyte plasma membrane Ca-ATPase and exogenous lipids. *J Biol Chem* 1994;269:14268-14275.

29. Clarke, DM; Loo, TW; Inesi, G; MacLennan, DH. Location of high affinity Ca^{2+} -binding sites within the predicted transmembrane domain of the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Nature* 1989;339:476-478.

30. Mikkelsen, EO; Thastrup, O; Christensen, SB. Effects of thapsigargin in isolated rat thoracic aorta. *Pharmacol Toxicol* 1988;62:7-11.
31. Lipp, P; Niggli, E. Sodium current-induced calcium signals in isolated guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol* 1994; 474:439-446.
32. Baker, PF; Blaustein, MP; Hodgkin, AL; Steinhardt, RA. The influence of calcium on sodium efflux in squid axons. *J Physiol* 1969; 200:431-458.
33. Reuter, H; Seitz, N. The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. *J Physiol* 1968; 195:451-470.
34. Kofuji, P; Hadley, RW; Kieval, RS; Lederer, WJ; Schulze, DH. Expression of the Na-Ca exchanger in diverse tissues: a study using the cloned human cardiac Na-Ca exchanger. *Am J Physiol* 1992;263:C1241-C1249.
35. Komuro, I; Wenninger, KE; Philipson, KD; Izumo, S. Molecular cloning and characterization of the human cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchanger cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:4769-4773.
36. Nicoll, DA; Longoni, S; Philipson, KD. Molecular cloning and functional expression of the cardiac sarcolemmal Na⁺-Ca²⁺ exchanger. *Science* 1990;250:562-565.
37. He, Z; Tong, Q; Quednau, BD; Philipson, KD; Hilgemann, DW. Cloning, expression, and characterization of the squid Na⁺-Ca²⁺ exchanger (NCX-SQ1). *J Gen Physiol* 1998;111:857-873.
38. Ruknudin, A; Valdivia, C; Kojufi, P; Lederer, WJ; Schulze, DH. Na⁺/Ca²⁺ exchanger in *Drosophila*: cloning, expression, and transport differences. *Am J Physiol* 1997; 273:C257-C265.

39. Philipson, KD. Sodium-calcium exchange in plasma membrane vesicles. *Annu Rev Physiol* 1985; 47:561-571.
40. Eisner, DA; Lederer, WJ. Na-Ca exchange: stoichiometry and electrogenicity. *Am J Physiol* 1985; 248:C189-C202.
41. Hilgemann, DW; Nicoll DA; Philipson KD. Charge movement during Na⁺ translocation by native and cloned cardiac Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Nature* 1991; 352:715-718.
42. Fujioka, Y; Komeda, M; Matsuoka, S. Stoichiometry of Na⁺-Ca²⁺ exchange in inside-out patches excised from guinea-pig ventricular myocytes. *J Physiol* 2000; 523 (Pt 2):339-351
43. Philipson, KD; Nicoll, DA. Sodium-calcium exchange: a molecular perspective. *Rev Physiol* 2000; 62:111-133.
44. Hilgemann, DW. Unitary cardiac Na⁺, Ca²⁺ exchange current magnitudes determined from channel-like noise and charge movements of ion transport. *Biophys J* 1996;71:759-768.
45. Kappl, M; Hartung, K. Rapid charge translocation by the cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchanger after a Ca²⁺ concentration jump. *Biophys J* 1996; 71:2473-2485.
46. Khananshvili, D. Mechanism of partial reactions in the cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchange system. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 639:85-95.
47. Li, JM; Kimura, J. Translocation mechanism of cardiac Na-Ca exchange. *Ann N Y Acad Sci* 1991;639:48-60.

48. Niggli, E; Lederer, WJ. Molecular operations of the sodium-calcium exchanger revealed by conformation currents. *Nature* 1991; 349:621-624.
49. Bers, DM. Species differences and the role of sodium-calcium exchange in cardiac muscle relaxation. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 639:375-385.
50. Fabiato, A. Stimulated calcium current can both cause calcium loading in and trigger calcium release from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell. *J Gen Physiol* 1985; 85:291-320.
51. Kieval, RS; Bloch, RJ; Lindenmayer, GE; Ambesi, A; Lederer, WJ. Immunofluorescence localization of the Na-Ca exchanger in heart cells. *Am J Physiol* 1992; 263:C545-C550.
52. Nicoll, DA; Philipson, KD. Molecular studies of the cardiac sarcolemmal sodium-calcium exchanger. *Ann N Y Acad Sci* 1991;639:181-188.
53. Van Eylen, F; Gourlet, P; Vandermeers, A; Lebrun, P; Herchuelz, A. Inhibition of Na/Ca exchange by Phe-Met-Arg-Phe-NH₂ (FMRFa)-related peptides in intact rat pancreatic B-cells. *Mol Cell Endocrinol* 1994;106:R1-R5.
54. Van Eylen, F; Lebeau, C. Albuquerque, J; Herchuelz, A. Contribution of Na/Ca exchange to Ca²⁺ outflow and entry in the rat pancreatic beta-cell: studies with antisense oligonucleotides. *Diabetes* 1998; 47:1873-1880.
55. Plasman, PO; Lebrun, P; Cragoe, EJ Jr; Herchuelz, A. Inhibition of Na/Ca exchange in pancreatic islet cells by 3',4'-dichlorobenzamil. *Biochem Pharmacol* 1991; 41:1759-1768.

56. Gall, D; Gromada, J; Susa, I; Rorsman, P; Herchuelz, A; Bokvist, K. Significance of Na/Ca exchange for Ca^{2+} buffering and electrical activity in mouse pancreatic beta-cells. *Biophys J* 1999; 76:2018-2028.
57. Takahashi, A; Camacho, P. Measurement of Intracellular Calcium. *Physiol. Rev.* 1999; Vol. 79, No. 4
58. Reilly, RF; Shugrue, CA; Lattanzi, D; Biemesderfer, D. Immunolocalization of the Na^+/Ca^{2+} exchanger in rabbit kidney. *Am J Physiol* 1993; 265:F327-F332.
59. Reilly, RF. Shugrue, CA. cDNA cloning of a renal Na^+-Ca^{2+} exchanger. *Am J Physiol* 1992; 262:F1105-F1109.
60. Van Eylen, F; Gourlet, P; Vandermeers, A; Lebrun, P; Herchuelz, A. Inhibition of Na/Ca exchange by Phe-Met-Arg-Phe-NH₂ (FMRFa)-related peptides in intact rat pancreatic B-cells. *Mol Cell Endocrinol* 1994;106:R1-R5.
61. Van Eylen, F; Lebeau, C; Albuquerque, J; Herchuelz, A. Contribution of Na/Ca exchange to Ca^{2+} outflow and entry in the rat pancreatic beta-cell: studies with antisense oligonucleotides. *Diabetes* 1998; 47:1873-1880.
62. Plasman, PO; Lebrun, P; Cragoe, EJ Jr; Herchuelz, A. Inhibition of Na/Ca exchange in pancreatic islet cells by 3',4'-dichlorobenzamil. *Biochem Pharmacol* 1991;41:1759-1768.
63. Gall, D; Gromada, J; Susa, I; Rorsman, P; Herchuelz, A; Bokvist, K. Significance of Na/Ca exchange for Ca^{2+} buffering and electrical activity in mouse pancreatic beta-cells. *Biophys J* 1999;76:2018-2028.

64. Nakagawa, T; Zhu, H; Morishima, N; Li, E; Xu, J; Yankner, BA; et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 2000;403:98-103.
65. Szatkowski, M; Attwell, D. Triggering and execution of neuronal death in brain ischaemia: two phases of glutamate release by different mechanisms. *Trends Neurosci* 1994; 17:359-365.
66. Choi, DW. Ischemia-induced neuronal apoptosis. *Curr Opin Neurobiol* 1996;6:667-672.
67. Mattson, MP; Guo, Q. Cell and molecular neurobiology of presenilins: a role for the endoplasmic reticulum in the pathogenesis of Alzheimer's disease? *J Neurosci Res* 1997; 50:505-513.
68. Pascale, A; Etcheberrigaray, R. Calcium alterations in Alzheimer's disease: pathophysiology, models and therapeutic opportunities. *Pharmacol Res* 1999; 39:81-88.
69. Furuya, Y; Lundmo, P; Short, AD; Gill, DL; Isaacs, JT. The role of calcium, pH, and cell proliferation in the programmed (apoptotic) death of androgen-independent prostatic cancer cells induced by thapsigargin. *Cancer Res* 1994; 54:6167-6175.
70. Iversen, LL; Mortishire-Smith, RJ; Pollack, SJ; Shearman, MS. The toxicity in vitro of beta-amyloid protein. *Biochem J* 1995; 311 (Pt 1):1-16.
71. Wolf, BB; Green, DR. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:20049-20052.
72. Cryns, V; Yuan, J. Proteases to die for. *Genes Dev* 1998; 12:1551-1570.

73. Namura, S; Zhu, J; Fink, K; Endres, M; Srinivasan, A; Tomaselli, KJ; et al. Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia. *J Neurosci* 1998; 18:3659-3668.
74. Bialik, S; Cryns, VL; Drincic, A; Miyata, S; Wollowick, AL; Srinivasan, A; et al. The mitochondrial apoptotic pathway is activated by serum and glucose deprivation in cardiac myocytes. *Circ Res* 1999; 85:403-414.
75. Oyadomari, S; Takeda, K; Takiguchi, M; Gotoh, T; Matsumoto, M; Wada, I, et al. Nitric oxide-induced apoptosis in pancreatic beta cells is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10845-10850.
76. Takahashi, A; Camacho, P. Measurement of Intracellular Calcium. *Physiol. Rev.* 1999; Vol. 79, No. 4.
77. Atkins. *Physical Chemistry*. 5ta Ed., New York. 2005.
78. Keener, J; Sneyd. *Mathematical Physiology*, Springer-Verlag. USA.1998.
79. Levine, I. *Fisicoquímica*. Tercera edición en español. McGraw-Hill. New York. 1990.
80. Bloom-Fawcett. *Tratado de Histología*. D.W. Fawcett. 11^{ava} edición.1987.
81. Tassi; Engelberger. *Introduccion al Metodo de Diferencias Finitas*.1995
82. *MATLAB User's Guide*, The MathWorks, Inc., Massachusetts.1995.
83. COMSOL 3.4 Multiphysics- ADDLINK software scientific <http://www.addlink.es/productos.asp?pid=87>.
84. Shawn, M; Smith, A; Shepherd, J; Shadid, J; Fowler, J; Wojcikiewicz, R; Mazel; Smith; and Wilson. Reaction Diffusion Modeling of Calcium Dynamics with Realistic ER Geometry. *Biophys*. 2006: J.105.075036.

85. Keizer, J; Smith, G; Ponce, S; Dawson; Pearson, J. Saltatory Propagation of Ca^{2+} Waves by Ca^{2+} Sparks. *Biophys.* 1998; J. 75: 595-600.
86. Keizer, J; Smith, G; Stern, M; Lederer, W; Cheng, H. A simple numerical model of calcium spark formation and detection in cardiac myocytes. *Biophys* 1998; J. 75:15-32.
87. Okada, J; Sugiura, S; Nishimura, S; Hisada, T. 3D simulation of calcium waves and contraction in cardiomyocytes using the finite element method. *Am J Physiol.* 2004;10.1152/ajpcell.00261
88. Hoffman, K; Chiang, S. A publication of engineering education system. *Computational fluid dynamics for engineers.* USA. 1998; Vol.1 3:62-90
89. Turner, M; Clough, H; Martin, L; Topp, L. "Stiffness and Deflection Analysis of Complex Structures", *J. Aeronautical Science* 1956; pp. 805-823.
90. Yuhua; Klein; Shneider. Numerical simulation of Ca^{2+} " Sparks" in skeletal. *Biophysical Journal.* 1999; Vol. 77. Pag 2333-2357.
91. Doadrio, A. Las redes de señales intracelulares del calcio. Universidad Complutense. España. 2003; Pag 74-80.
92. Rojas, R. Modelaje Físicoquímico de la dinámica del Calcio utilizando la ecuación de smoluchowski-reacción en el citoplasma de un miocito esquelético. Tesis de grado. Escuela de química. 2007.
93. Duff, J; Scott, A. The design of a new frontal code for solving sparse, unsymmetric systems, *ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS)*, 1996; v.22 n.1, p.30-45.
94. CHANDRUPATLA, T.R; BELEGUNDU, A.D. Introducción al Estudio de Elementos Finitos en Ingeniería. 2 ed. México, Prentice Hall. 1999.

95. Karaki, H; Weiss, GB; Calcium channels in smooth muscle. *Gastroenterology*. 1984; 87(4):960–970-
96. Córdova, A. *Fisiología general*. Masson S.A. Barcelona. 2003;6:87.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación de una célula y sus elementos.

Figura 2. Representación de la membrana celular.

Figura 3. Esquema de la organización del músculo esquelético desde el nivel macroscópico al molecular.

Figura 4. Distribución del retículo sarcoplásmico en torno a las miofibrillas del músculo esquelético de mamífero. Los sarcotúbulos longitudinales se

Figura 5. Representación histológica de musculo esquelético en Ratón. Técnica. Hematoxilina-eosina en cortes de 8 micras de parafina.

Figura 6. Micrografía electrónica de una sección de fibra muscular.

Figura 7. Mecanismo de la contracción muscular.

Figura 8. Mecanismo de relajación muscular

Figura 9. Dibujo esquemático de la distribución del retículo sarcoplásmico en torno a las miofibrillas del músculo esquelético de mamífero. Los sarcotúbulos

Figura 10. *Canales L y entrada de calcio* Las redes de señales intracelulares del calcio.

Figura 13. Modelo tridimensional de la subunidad α_1 del canal de calcio.

Figura 14. Modelo de la estructura del canal de calcio musculo esquelético, P denota los sitios de fosforilación.

Figura 13. Mecanismos de acoplamiento mecánico” Sensor Voltaje”, entre proteínas canal de los tubulos T y las proteínas canal de las cisternas del retículo sarcoplásmico.

Figura 14. *Sistema de bombas de calcio citosólicas.* Las redes de señales intracelulares del calcio.

Figura 15. *Bomba ATPasa del retículo sarcoplásmico.* Las redes de señales intracelulares del calcio.

Figura 16. *Mecanismo de la bomba de calcio del retículo sarcoplásmico ATPasa. Las redes de señales intracelulares del calcio.*

Figura 17. Forma E1 de la SERCA ATPasa del músculo de conejo.

Figura 18. Estructura E2 de la SERCA ATPasa del músculo de conejo.

Figura 19. Intercambio de calcio a nivel mitocondrial. Las redes de señales intracelulares del calcio.

Figura 20. Canal y bomba de goteo del calcio submembranal. Las redes de señales intracelulares del calcio.

Figura 21. Gráfico de la fluorescencia superficial usando fluo-3 medido con un escáner confocal lineal en una célula estriada.

Figura 22. Destellos de Ca^{2+} en un miocito en estado de reposo. Las seis imágenes de microscopia confocal están tomadas cada 0,5 s. El indicador

Figura 23. Onda de Ca^{2+} en el citoplasma de un miocito . La despolarización de la membrana plasmática provoca la salida masiva de Ca^{2+} desde el interior

Figura 24. Resumen de los principales mecanismos ON y OFF que regulan la concentración intracelular de Ca^{2+}

Figura 25. Control de Ca^{+2} en la contracción-relajación del músculo esquelético. Este esquema describe como la parvalbúmina podría

Figura 26. Diferentes modos de transporte de iones vía el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$.

Figura 27. Mecanismo de intercambio $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ en el modo directo (extrusión de Ca^{2+}). El intercambiador expone su sitio de unión a iones

Figura 28. Imagen del Microscopio Láser Confocal Leica TCS SP2 AOBS. Rapid Scanning Confocal Microscopy. Cell Biological Applications of Confocal Microscopy.

Figura 29. Volumen elemental en la superficie.

Figura 30. Coordenadas Nodales.

Figura 31. Conectividad de los elementos de un dominio discretizado en cuatro elementos finitos.

Figura 32. (a) Dominio discretizado en M elementos. (b) Las primeras cuatro funciones de forma.

Figura 33. Conectividad de los elementos de un dominio discretizado en cuatro elementos finitos.

Figura 34. (a) Dominio discretizado en M elementos. (b) Las primeras cuatro funciones de forma.

Figura 35. Vista de la ventana inicial del software COMSOL Multiphysics 3.4.

Figura 36. Valores del eje en el modelo 2D.

Figura 37. Configuración de la rejilla en el cuadro de diálogo de configuración de ejes/Rejilla.

Figura 38. Vista de la ventana ya configurada la rejilla.

Figura 39. Vista de la ventana ya configurada el dibujo y geometrías.

Figura 40. Vista de la ventana que muestra Subdominio a estudiar en rosado.

Figura 41. Vista de la ventana que muestra ya configurada la malla.

Figura 42. Vista de la ventana que muestra la malla refinada.

Figura 43. Configuración del grupo de subdominio para el retículo sarcoplásmico y la porción de citosol sin canales de RyR.

Figura 44. Configuración del grupo de subdominio la porción de citosol que contiene los 3 canales RyR.

Figura 45. Configuración del subdominio 1 y 2, pertenecientes al grupo Retículo y citosol sin RyR, que denotan una $c_{(t_0)}=0 \text{ mol/m}^3$.

Figura 46. Configuración del subdominio 3,4,5,6, pertenecientes al grupo citosol + RyR, que denotan una $c_{(t_0)}=c_0$.(ver Constantes).

Figura 47. Especificación de la configuración de elementos finitos en el cuadro de diálogo de configuración de subdominio.

Figura 48. Ejemplos de las fronteras exteriores e interiores.

Figura 49. Configuración de contorno para el grupo Sarcolema, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

Figura 50. Ventana general que denota los contornos del grupo Sarcolema en rojo.

Figura 51. Configuración del contorno para el grupo Membrana RS, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

Figura 52. Ventana general que denota los contornos del grupo Membrana RS en rojo.

Figura 53. Configuración del contorno para el grupo citosol + Ryr, en el cuadro de diálogo, ajustes de contorno.

Figura 54. Ventana general que denota los contornos del grupo citosol + Ryr en rojo.

Figura 55. Configuración general, de las constantes utilizadas en el modelo, en el cuadro de diálogo constantes.

Figura 56. Configuración general de las expresiones escalares utilizadas en el modelo en el cuadro de diálogo, expresiones escalares.

Figura 57. Configuración general, en el cuadro de diálogo, Parámetros del resolvedor.

Figura 58. Configuración de escalón temporal , en el cuadro de diálogo Parámetros del resolvedor.

Figura 59. Configuración avanzada en el cuadro de diálogo Parámetros del resolvedor.

Figura 60. Configuración para gráficos de línea y extrusión de corte transversal en 2D.

Figura 61. Configuración para gráficos de línea y extrusión de corte transversal en 2D.

Figura 62. Los parámetros de gráfico de corte transversal de punto 2D.

Figura 63. Configuración de gráficos 2D para superficies de dominios.

Figura 64. Configuración de gráficos 2D, para dominio de línea y extrusión.

.

Figura 65. Configuración de gráficos, 2D para dominio en puntos.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Técnicas de medición del calcio intracelular.

Tabla 2. Distintos parámetros utilizados en la difusión-reacción de ión Ca^{2+} .

Tabla 3. Valores de distintos parámetros de amortiguadores de calcio. Los valores de c utilizados en θ corresponden a la concentración basal citosólica ($0.1 \mu\text{M}$).

Tabla 4. Valores de concentración del ión calcio de miocitos en reposo y fluido extracelular.

Tabla 5. Valores de coeficientes de difusión (D) del Ca^{2+} libre en solución acuosa y el citosol.

Tabla 6. Parámetros fisiológicos utilizados en la ecuación de Hill para el flujo de reentrada de Ca^{2+} en SERCA y para PMCA, donde el calcio es bombeado desde el citosol hacia el fluido extracelular.

Tabla 7. Operadores binarios utilizados en COMSOL Multiphysics.

Tabla 8. Funciones matemáticas y constantes utilizadas en COMSOL Multiphysics.

Tabla 9. Resolvedores de COMSOL Multiphysics.

GLOSARIO DE TÉRMINOS:

ACTINA: es una proteína globular que forma los microfilamentos, uno de los tres componentes fundamentales del citoesqueleto de las células eucariotas.

AMORTIGUADOR: es un sistema constituido por un ácido débil y su base conjugada o por una base y su ácido conjugado que tiene capacidad "tamponante", es decir, que puede oponerse a grandes cambios de pH (en un margen concreto) en una disolución acuosa.

CALMODULINA: es una proteína ligante de calcio que media los efectos de los iones calcio en numerosos sistemas biológicos. Se encuentra en todas las células eucariotas y lleva a cabo su acción a través de una serie de proteínas quinasas dependientes de ella.

CALSECUESTRINA: proteína encontrada en las vesículas del retículo sarcoplásmico, rica en ácidos aspártico y glutámico, y capaz de fijar 43 iones Ca^{++} . Su función es almacenar el Ca^{++} introducido en el retículo sarcoplásmico por la bomba Ca^{++} -ATPasa liberándolo posteriormente para la contracción muscular.

CANAL RYR: canal receptor para rianodina, se llama así porque bloquea en la posición abierta por el alcaloide vegetal rianodina.

CITOESQUELETO: es una red de fibras proteicas que ocupa el citoplasma de las células y que mantiene la estructura y la forma de la célula. El citoesqueleto también se encarga de transportar sustancias entre las distintas partes de la célula.

CITOPLASMA: es la región de la célula externa al núcleo.

CITOSOL: es la región fluídica del citoplasma. Excluye los organelos celulares.

EDP o PDE: Ecuación en Derivadas Parciales.

FLUIDO INTRACELULAR: comprende todo el fluido dentro de una célula, es decir, el citosol más el fluido dentro de los organelos.

INOSITOL TRIFOSFATO, INOSITOL 1,4,5-TRIFOSFATO O TRIFOSFOINOSITOL: (abreviado InsP_3 o IP_3), es un segundo mensajero de la transducción de señal celular. Se produce, junto con el diacilglicerol, por hidrólisis catalizada mediante la fosfolipasa C del fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP_2), un fosfolípido de membrana. Su efecto en el entorno celular es la movilización del Ca^{2+} , almacenado en organelos como el retículo endoplasmático.

ORGANELOS: parte de la célula llamada así por ser los pequeños organos que las constituyen.

PARVOALBUMINA: Proteína citosólica que se une al calcio de forma reversible, teniendo por ello función como modulador enzimático y desempeñar un papel fundamental en las señales celulares y desarrollo del vegetal.

QUARK: Liberación de ión calcio desde un único receptor de RyR.

MIOSINA: es una proteína fibrosa, cuyos filamentos tienen una longitud de 1,5 μm y un diámetro de 15 nm, y está implicada en la contracción muscular, por interacción con la actina

RIANODINA: un alcaloide con propiedades insecticidas aislado de la *Ryania speciosa* que ha demostrado ser una valiosa herramienta para identificar y estudiar los canales de calcio intracelulares llamados receptores para la rianodina

SARCOPLASMA: citoplasma de una célula muscular

SERCA: Sarco/Endoplasmatic Reticulum Ca^{2+} -ATPasa

SERCA1: Presente en músculo esquelético predominantemente.

SERCA2: Presente en músculo cardíaco predominantemente.

SPARK: Liberación de ión calcio desde un cluster de canales de RyR.

TROPONINA: es una proteína globular de gran tamaño, contiene tres subunidades polipeptídicas: troponina C (fijadora de calcio), troponina I (inhibidora de la interacción actina-miosina) y troponina T (fijadora de tropomiosina).