

TESIS DE MAESTRÍA EN CIENCIAS FÍSICAS

**MODELOS DE RUIDO EN FOTORRECEPTORES  
BIOLÓGICOS Y SU INFLUENCIA EN LA  
DISCRIMINACIÓN CROMÁTICA**

**Adrián A. González C.**

**Dr. Sebastián Risau**  
Director

**Miembros del Jurado**  
Dr. Eugenio Urdapilleta  
Dr. Sebastián Bouzat  
Dr. Mauricio Sica

febrero 2022

Neurociencia computacional  
Departamento de Física Médica  
Centro Atómico Bariloche

Instituto Balseiro  
Universidad Nacional de Cuyo  
Comisión Nacional de Energía Atómica  
Argentina

(Biblioteca Leo Falicov CAB-IB)



A mi familia

A mis amigos



# Índice de símbolos

cG: guanosín monofosfato cíclico

G: proteína G, también conocida como transducina, en su estado usual (ligada a GDP)

$G_x$ : subunidad  $x$  de G cuando  $x = \alpha, \beta, \gamma$

$G_{\beta\gamma}$ :  $G_\beta$  y  $G_\gamma$  unidas

$G^*$ : G activada ( $G_\alpha$  ligada a GTP)

$G^P$ : G fosforilado ( $G_\alpha$  ligada a GDP y un grupo fosfato)

GC: guanilato ciclasa

$GC_{Ca}$ : guanilato ciclasa en su forma ligada al calcio

GMP: guanosín monofosfato

GDP: guanosín difosfato

GTP: guanosín trifosfato

PDE: fosfodiesterasa

$PDE_x$ : subunidad  $x$  de PDE cuando  $x = \alpha, \beta, \gamma$

$PDE^*$ : PDE activado

VP: pigmento visual

$VP^*$ : VP en cualquiera de sus formas activadas

$VP_n$ : VP activado con  $n$  sitios fosforilados



# Índice de contenidos

Índice de símbolos	v
Índice de contenidos	vii
Índice de figuras	ix
Índice de tablas	xiii
Resumen	xv
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Fotorreceptores . . . . .	1
1.2. Fototransducción . . . . .	3
1.2.1. Fotoactivación . . . . .	4
1.2.2. Cascada bioquímica . . . . .	4
1.2.3. Ciclo de retroalimentación negativa con el calcio . . . . .	6
1.2.4. Propagación electrónica . . . . .	7
1.2.5. Desactivación sináptica . . . . .	7
1.2.6. Disminución de glutamato en la sinapsis . . . . .	8
1.3. Discriminación cromática . . . . .	8
<b>2. Marco teórico</b>	<b>9</b>
2.1. Principios de cinética química . . . . .	9
2.1.1. Primer orden . . . . .	9
2.1.2. Segundo orden . . . . .	10
2.2. Algoritmo de Gillespie . . . . .	12
2.2.1. Ejemplo del algoritmo . . . . .	13
<b>3. Modelado de la cascada bioquímica</b>	<b>15</b>
3.1. Dinámica en los discos . . . . .	16
3.2. Dinámica de cG sin incluir los canales . . . . .	18
3.3. Ciclo de retroalimentación negativa del calcio . . . . .	19

3.4. Dinámica de canales iónicos controlados por cG . . . . .	21
3.4.1. Modelo Monod-Wyman-Changeux (MWC) . . . . .	21
<b>4. Resultados</b>	<b>27</b>
4.1. Elección de parámetros . . . . .	27
4.1.1. Dinámica del pigmento visual . . . . .	27
4.1.2. PDE . . . . .	27
4.1.3. GC . . . . .	28
4.1.4. Dinámica de canales . . . . .	28
4.1.5. Ajuste . . . . .	29
4.2. Modelo determinista . . . . .	29
4.2.1. Dinámica de los discos . . . . .	30
4.2.2. Dinámica de discos y canales . . . . .	31
4.2.3. Comparación de aproximaciones para los sitios de fotoisomerización	32
4.2.4. Análisis de la sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones . . . . .	33
4.3. Algoritmo de Gillespie . . . . .	34
4.3.1. Análisis de sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones	36
<b>5. Conclusiones y perspectivas</b>	<b>41</b>
<b>A. Tabla de sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones</b>	<b>43</b>
<b>B. Tabla de análisis de la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones con condición inicial <math>VP_0 = 13</math></b>	<b>45</b>
<b>C. Gráficas de realizaciones del algoritmo de Gillespie con condición inicial <math>VP_0 = 13</math></b>	<b>47</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>51</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>53</b>



# Índice de figuras

1.1. Diagrama de los conos y los bastones («cone, rod» by Wikimedia Commons user: Pancrat).	2
1.2. Absorción relativa de cada tipo de fotorreceptor en función de la longitud de onda de la luz («Color sensitivity» Illustration from Anatomy & Physiology, by OpenStax College).	3
1.3. Representación de la fotoisomerización	4
1.4. Diagrama de la fototransducción. En esta figura que representa la fototransducción en bastones se denota al pigmento visual VP como R debido a que en el caso de los bastones es la rodopsina. <b>Paso 1:</b> la rodopsina es fotoactivada. <b>Paso 2:</b> R* (VP*) se encuentra con G e induce el cambio de GDP por GTP lo que causa que se convierta a G*. <b>Paso 3:</b> G* se liga a PDE y lo activa, comienza a hidrolizar cGMP (también conocido como cG) a una tasa mayor. <b>Paso 5:</b> GC produce cGMP, la reducción en concentración de cGMP causa que se cierren los canales iónicos controlados por cGMP («Phototransduction Activation» from Wikimedia Commons by Jason J. Corneveaux, wiki user: Caddymob).	6
3.1. Esquema de los estados en el modelo MWC. Las cantidades que acompañan a las flechas representan las constantes de tasa de transición entre estados.	22
4.1. Curvas de fotocorriente para distintos valores de la condición inicial $VP_0 = f$ . Los puntos negros representan los puntos experimentales de corriente que tomamos de Korenbrot [1]. Mientras que los trazos continuos representan la solución del modelo completo con los parámetros ajustados.	29
4.2. Evolución temporal de los distintos estados de fosforilación del pigmento visual $[VP_n]$ $n \in \{0, 1, 2, 3, 4, 5, 6\}$ y el total de pigmento activado $[VP^*] = \sum_0^6 [VP_n]$ , para la condición inicial $VP_0=13$ con los parámetros de la tabla 4.1.	30

4.3. Evolución temporal de la transducina en sus formas activada y sin activar, normalizadas por el valor inicial $g_0$ , para la condición inicial $VP_0=13$ con los parámetros de la tabla 4.1. . . . .	31
4.4. Evolución temporal de las distintas formas de fosfodiesterasa, normalizadas por la concentración de sitios catalíticos total $p_0$ , para la condición inicial $VP_0=13$ con los parámetros de la tabla 4.1. . . . .	31
4.5. <b>(a)</b> Evolución temporal de las poblaciones de los distintos estados de los canales en el modelo MWC relativa a su población inicial, <b>(b)</b> proporción de las poblaciones de los estados cerrados del canal respecto al total de canales cerrados, <b>(c)</b> proporción de las poblaciones de los estados abiertos del canal respecto al total de canales abiertos y <b>(d)</b> proporción que ocupan las poblaciones de canales en estados abiertos y cerrados respecto del total de canales. Todo esto para la condición inicial $VP_0=13$ con los parámetros de la tabla 4.1. . . . .	32
4.6. Comparación de las curvas con distintas simplificaciones para los sitios de fotoisomerización. En trazos azules las curvas que obtenemos con el modelo que toma todas las fotoisomerizaciones en el mismo disco. En trazos discontinuos rojos las curvas que se obtienen con el modelo que toma cada fotoisomerización un disco distinto. . Entre más alto llegan las curvas mayor es el valor de la condición inicial de pigmento visual fotoisomerizado $VP_0 = f$ , las curvas que presentamos corresponden a $f = 13, 53, 307, 1000$ . . . . .	34
4.7. Ejemplo del calculo de la sensibilidad de los parámetros. La curva de trazo azul, llamada original, corresponde a la calculada con los parámetros de la tabla 4.1. La curva de trazo naranja corresponde a la curva calculada con esos mismos parámetros excepto por $b_o/f_o$ que incremento en un 10 %. El área sombreada en naranja es la diferencia entre estas dos curvas, cuyo valor luego elevamos al cuadrado, integramos en el intervalo $t \in [0, 10000]$ ms, tomamos raíz cuadrada del resultado y finalmente dividimos por el área bajo la curva original (sombreada en azul) para obtener la cantidad con la que caracterizamos la sensibilidad del modelo al aumento de 10 % al parámetro $b_o/f_o$ . . . . .	35
4.8. Sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de reacción. La altura de cada barra es igual a la sensibilidad del modelo a ese parámetro. Las barras de distinto color se encuentran apiladas (no superpuestas) por lo que la altura total de la barra multicolor en cada parámetro representa la suma de las sensibilidades. Respecto de esta suma esta ordenado el gráfico. . . . .	36

4.9. Evolución temporal de la población total de pigmento visual activado $VP^*$ en <b>(a)</b> y el estado de un sitio fosforilado $VP_1$ en <b>(b)</b> , para la condición inicial $VP_0=1$ y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista. . . . .	37
4.10. Evolución temporal de $G$ en <b>(a)</b> y de $PDE$ en <b>(b)</b> , para la condición inicial 1 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	37
4.11. Evolución temporal del $GC$ en <b>(a)</b> y de $cG$ en <b>(b)</b> , con condición inicial de 1 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	38
4.12. Modelo de la fotocorriente para la condición inicial 1 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo verde una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	39
4.13. Ejemplo de PSD para la fotocorriente. En trazos azules se observan las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie y en negro el promedio de estas. La línea roja vertical marca 0.5 kHz y la línea roja horizontal marca el nivel de ruido que corresponde a esa frecuencia umbral. Análogamente la línea verde vertical marca 5 kHz y la línea verde horizontal el nivel de ruido correspondiente. . . . .	39
4.14. Sensibilidad del ruido de la fotocorriente a los parámetros de reacción, tomando distintas frecuencias umbrales 0.5 kHz y 5 kHz a partir de las cuales promediar PSD para obtener el nivel de ruido. . . . .	40
C.1. Evolución temporal de la población total de pigmento visual activado $VP^*$ en <b>(a)</b> y el estado de un sitio fosforilado $VP_1$ en <b>(b)</b> , para la condición inicial $VP_0=1$ y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista. . . . .	47

---

C.2. Evolución temporal de G en <b>(a)</b> y de PDE en <b>(b)</b> , para la condición inicial 13 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	48
C.3. Evolución temporal del GC en <b>(a)</b> y de cG en <b>(b)</b> , con condición inicial de 13 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	48
C.4. Modelo de la fotocorriente para la condición inicial 13 VP activados y con los parametros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo verde una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista . . . . .	49

# Índice de tablas

4.1. El conjunto de parámetros de reacciones, tanto los ajustados y los sacados de bibliografía. . . . .	33
A.1. Sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones	43
B.1. Análisis de la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones con condición inicial $VP_0 = 13$ . . . . .	45



# Resumen

Las células fotorreceptoras realizan el proceso de conversión de un estímulo luminoso a una señal neuronal en el ojo. Este proceso se conoce como fototransducción y una de sus etapas consiste de una cascada bioquímica que amplifica y transforma la señal lumínica a una señal neuronal. El ruido intrínseco de la fototransducción es un factor importante para determinar la discriminación cromática, es decir cuales colores podemos distinguir. En este trabajo buscamos modelar este ruido. Para ello, primero modelamos la cascada bioquímica de manera determinista como una serie de reacciones de primer y segundo orden, aplicando los modelos de Monod-Wyman-Changeux a los canales iónicos controlados por cG, resolvemos las ecuaciones de la dinámica y encontramos un conjunto de parámetros que reproducen curvas experimentales de fotocorriente. Luego realizamos un análisis de sensibilidad de este modelo a los parámetros de reacción y encontramos que todos tienen importancias similares. Como el modelo determinista sólo contiene términos obtenidos usando la ley de acción de masas (o sea, no hay términos fenomenológicos), eso nos permitió hacer una versión estocástica exacta. Para analizarla, la simulamos con el algoritmo de Gillespie. A partir de esto estudiamos la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacción y encontramos que algunos, el ruido es más sensible a modificaciones en los parámetros referidos a la dinámica de los canales abiertos y de la síntesis de cG, que al resto.

**Palabras clave:** CASCADA BIOQUÍMICA, FOTOTRANSDUCCIÓN, FOTORRECEPTORES





# Capítulo 1

## Introducción

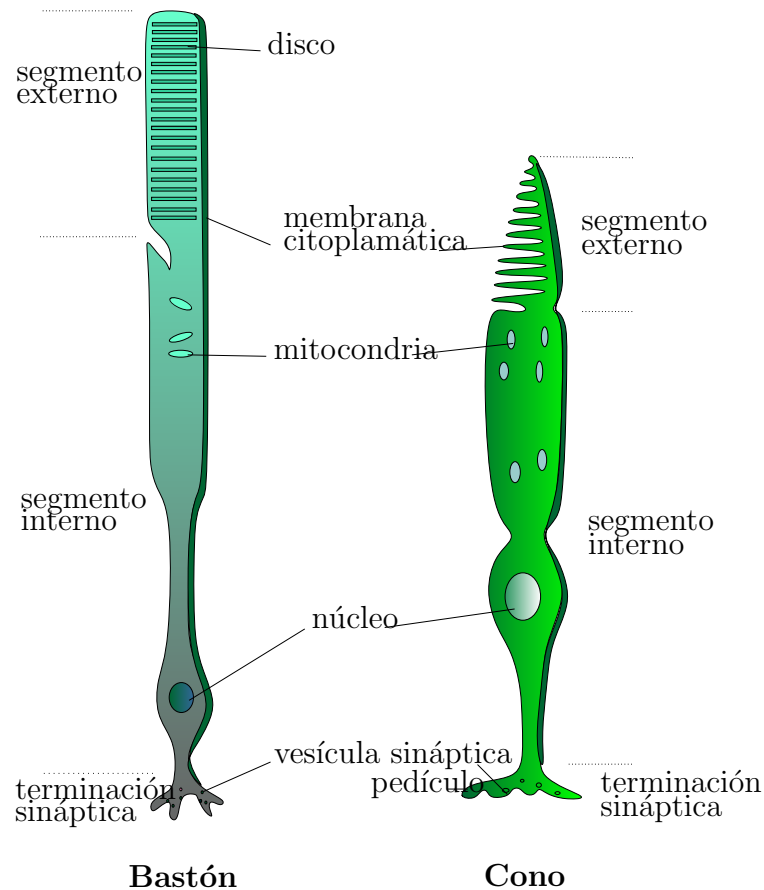
### 1.1. Fotorreceptores

La visión es un sentido que nos permite obtener información del mundo que nos rodea a partir de las señales lumínicas que este emite. En este trabajo nos concentraremos en los fotorreceptores, neuronas especializadas de la retina que se encargan de convertir los estímulos lumínicos en señales neuronales. Este proceso, que se conoce como fototransducción, comienza con la absorción de un fotón por una molécula denominada pigmento visual y culmina con una señal química entre neuronas.

Otras características notables de las células fotorreceptoras son que se dividen en tres segmentos:

- segmento exterior: donde se encuentra el pigmento visual,
- segmento interior: donde se encuentra el núcleo,
- terminal sináptica: que forma sinapsis con otras neuronas,

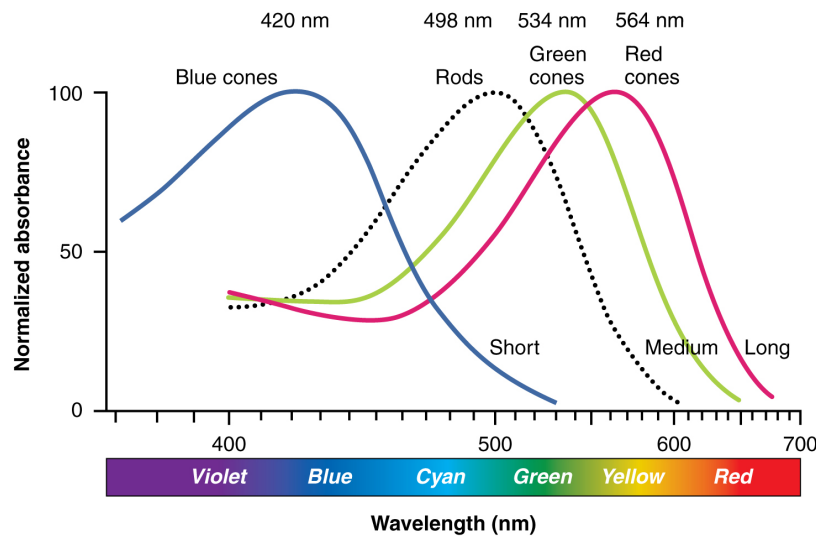
y que existen dos tipos de fotorreceptores, los conos y los bastones. Entre estos tipos hay muchas similitudes, por ejemplo en la manera general en la que realizan la fototransducción, pero también hay diferencias claves [2]. En la figura 1.1 podemos ver un esquema de ambos tipos de células. Comparando sus segmentos exteriores observamos que tienen formas distintas, en los bastones son alargados y de diámetro constante, mientras que en los conos son cortos y su diámetro disminuye hacia el exterior del ojo. Además, también tienen funciones distintas, los bastones son muy sensibles a la luz pero saturan a niveles de iluminación más altos y no proveen agudeza visual, ellos son responsables de la visión escotópica (visión en condiciones de baja iluminación). Por otro lado, los conos funcionan mejor con niveles más elevados de iluminación y proveen agudeza visual. Ellos son responsables de la visión fotópica (visión en condiciones de buena iluminación).



**Figura 1.1:** Diagrama de los conos y los bastones («cone, rod» by Wikimedia Commons user: Pancrat).

Otro aspecto importante para distinguir los fotorreceptores es el pigmento visual. Esta es la molécula que absorbe el fotón y permite que se de el resto de la fototransducción. Se compone de dos partes, una proteína y un cromóforo. El cromóforo es una molécula capaz de excitarse al absorber un fotón. En el caso de los humanos, nuestros pigmentos visuales usan 11-cis-retinal. La parte de la proteína envuelve el cromóforo y afecta la región del espectro de la luz a la que es más sensible el pigmento. En el caso de los humanos tenemos distintos tipos de opsina. En particular los bastones tienen rodopsina, mientras que existen tres tipos de conos que corresponden a tres pigmentos visuales, uno por cada uno: la opsina de cono S (*short* corta), M (*medium* media) y L (*long* larga). Como podemos ver en la figura 1.2, los conos deben su nombre a la magnitud de la longitud de onda (en comparación de los otros dos) en la que su absorción es máxima. Esta diferencia en el espectro de absorción de los distintos tipos de conos es lo que nos permite obtener información acerca del color. Por otro lado, solo hay un tipo de bastón, por lo que no proporcionan información del color. Además, los fotorreceptores se diferencian también en la localización del pigmento visual dentro de su estructura. En los bastones el pigmento visual se encuentra en la membrana de orgánulos llamados discos, apilados en el segmento exterior; mientras que en los conos

se encuentra en invaginaciones en la membrana plasmática del segmento exterior.



**Figura 1.2:** Absorción relativa de cada tipo de fotorreceptor en función de la longitud de onda de la luz («Color sensitivity» Illustration from Anatomy & Physiology, by OpenStax College).

## 1.2. Fototransducción

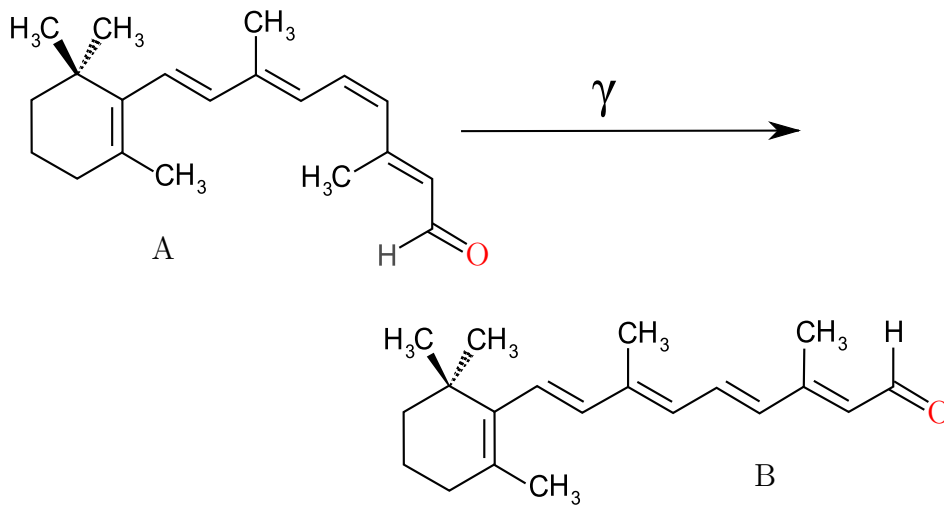
Nos enfocamos en la absorción de un único fotón en un bastón y más tarde generalizamos a conos y múltiples fotones. Podemos resumir la fototransducción en los siguientes pasos [3, cap. 8]:

- Fotoactivación: el pigmento visual absorbe un fotón y cambia de configuración
- Cascada bioquímica: la fotoactivación desencadena una serie de reacciones que culmina con el cierre de canales iónicos en el segmento exterior.
- Propagación electrónica: el cierre de canales iónicos del segmento exterior causa una diferencia de potencial que se propaga por toda la célula.
- Desactivación sináptica: la diferencia de potencial cierra canales de calcio regulados por voltaje en la terminal sináptica.
- Disminución de glutamato en la sinapsis: en la oscuridad el fotorreceptor secreta constantemente glutamato en la sinapsis. La tasa de secreción es regulada por el calcio, cuando deja de entrar calcio la tasa baja y como consecuencia disminuye la concentración de glutamato en la sinapsis.

En este trabajo nos concentraremos en realizar un modelo detallado de la cascada bioquímica.

### 1.2.1. Fotoactivación

Cuando el cromóforo absorbe un fotón, se excita y causa un cambio en la configuración de la proteína circundante, a esto denominamos fotoactivación. En el caso del 11-cis-retinal este se fotoisomeriza, cuando absorbe un fotón rota el doble enlace en el carbono 11 transformándose a su isómero todo-trans-retinal como esquematiza la figura 1.3. Este cambio en el cromóforo induce un cambio del pigmento visual, que de ahora en adelante denotaremos VP, a un estado activado VP\* el cual vamos a discutir en más detalle más adelante.



**Figura 1.3:** Representación de la fotoisomerización

### 1.2.2. Cascada bioquímica

#### Transducina

La transducina es una proteína G, por esto la denotaremos G. Se compone de 3 subunidades  $G_\gamma$ ,  $G_\beta$  y  $G_\alpha$ : a esta última liga a guanósín difosfato (GDP) o guanósín trifosfato (GTP). G son proteínas de membrana al igual que el pigmento visual, ambas difunden en la superficie de la membrana del disco. Cuando se encuentran de manera adecuada se ligan temporalmente y en menos de 0.1 ms [3, p. 166] las interacciones de G con VP\* causan el intercambio de GDP por GTP. Esto causa que G se separe en las subunidades  $\gamma$  y  $\beta$  juntas ( $G_{\beta\gamma}$ ) y por otro lado la subunidad  $\alpha$  ligada a GTP ( $G^*$ ). Otro aspecto que discutir respecto a la tasa con la que VP\* activa a G es que esta tasa se observa que disminuye con el transcurso del tiempo. Nos proponemos estudiar una hipótesis de Gibson [4], que propone que VP tiene varios sitios de fosforilación, en particular tomamos 6 como Korenbrot [1]. Por lo que, lo que venimos llamando VP\* se refiere a 7 estados distintos de pigmento visual activado  $VP_n$ , donde  $n \in \{0, 1, 2, 3, 4, 5, 6\}$  es el número de sitios fosforilados. Cada estado  $VP_n$  tiene una

probabilidad por unidad de tiempo de convertirse en  $VP_{n+1}$ . Al aumentar el número  $n$  de sitios fosforilados disminuye la efectividad para activar  $G^*$ , lo que causa que con el paso del tiempo la población de  $VP^*$  disminuya su poder catalítico. Además, al aumentar  $n$  aumenta la probabilidad por unidad de tiempo de volver al estado desactivado  $VP$  y disminuye la de pasar al estado  $n + 1$ .

### Fosfodiesterasa (PDE)

PDE es una molécula casi simétrica que tiene 4 subunidades: una subunidad  $\alpha$  con un sitio catalítico, una subunidad  $\beta$  con otro sitio catalítico y dos subunidades  $\gamma$  que usualmente bloquean los sitios catalíticos. PDE también es una proteína de membrana y cuando se encuentra una molécula de  $G^*$  esta puede unirse a una  $PDE_\gamma$  desbloqueando uno de los sitios catalíticos de PDE. Ambos sitios catalíticos funcionan independientemente por lo que  $PDE^*$  denotara un sitio desbloqueado y cuando hablemos de concentraciones de PDE y  $PDE^*$  en realidad hablaremos de la concentración de sus sitios catalíticos. La función de estos sitios es hidrolizar el guanósín monofosfato cíclico (cG). Estos sitios siempre tienen actividad pero cuando se desbloquean esta actividad es mucho mayor, por lo que la conversión de  $G$  a  $G^*$  causa una disminución en la concentración de cG.

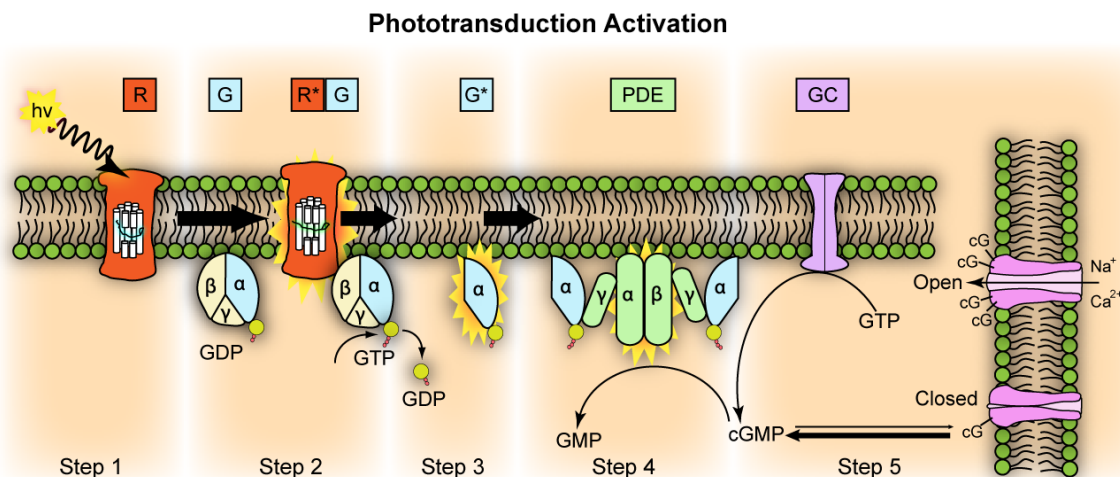
### Guanósín monofosfato cíclico (cG)

Consiste de una molécula de guanósín monofosfato a la que se agrega un enlace éster entre el azúcar y el grupo fosfato. Es producido constantemente dentro de los fotorreceptores por una enzima llamada guanilato ciclasa (GC) a partir de GTP.

### Canales iónicos activados por cG

En la membrana plasmática existen canales iónicos con 4 sitios de ligadura a moléculas de cG. El canal tiene dos estados, abierto o cerrado. Cuando los canales se encuentran abiertos dejan entrar iones  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  a la célula, es decir entra una corriente positiva a la célula. Cabe destacar que cuando hablemos de corriente nos referimos al flujo neto de las cargas positivas que entran a la célula. En la oscuridad esta corriente que entra al segmento exterior del fotorreceptor se conoce como corriente de oscuridad (dark current)  $J_{\text{dark}}$ . La cascada bioquímica de fototransducción produce una reducción en la corriente, que se conoce como fotocorriente. En la oscuridad la corriente oscura es balanceada por un flujo de iones  $K^+$  hacia afuera de la célula mediante canales selectivos de  $K$  en el segmento interior. La fotocorriente introduce un desbalance entre estas corrientes lo que causa que se acumule carga negativa en la célula hiperpolarizando la membrana celular por 1 mV [3, p. 172].

Estos canales son controlados por cG debido a que su estado depende de cuantos sitios de ligadura a cG se encuentran ocupados. Una hipótesis para su funcionamiento es que cuando 3 o más de estos sitios ligan a un cG el canal permanece abierto, de lo contrario se cierra [3, p. 169]. Las moléculas de cG no están fijas a sus sitios de ligadura, se ligan y desligan aleatoriamente debido a colisiones moleculares. Por esto la tasa con la el cG se liga a sitios de ligadura libres es proporcional a la concentración de cG. Por lo tanto, cuando disminuye la concentración de cG los canales pasan más tiempo en su estado cerrado que el abierto.



**Figura 1.4:** Diagrama de la fototransducción. En esta figura que representa la fototransducción en bastones se denota al pigmento visual VP como R debido a que en el caso de los bastones es la rodopsina. **Paso 1:** la rodopsina es fotoactivada. **Paso 2:**  $R^*$  ( $VP^*$ ) se encuentra con G e induce el cambio de GDP por GTP lo que causa que se convierta a  $G^*$ . **Paso 3:**  $G^*$  se liga a PDE y lo activa, comienza a hidrolizar cGMP (también conocido como cG) a una tasa mayor. **Paso 5:** GC produce cGMP, la reducción en concentración de cGMP causa que se cierren los canales iónicos controlados por cGMP («Phototransduction Activation» from Wikimedia Commons by Jason J. Corneveaux, wiki user: Caddymob).

### 1.2.3. Ciclo de retroalimentación negativa con el calcio

A pesar de que no está representado en la figura 1.4 el calcio es parte importante de un ciclo de retroalimentación negativa que es responsable de regresar el sistema a su estado de oscuridad. Una proporción de la corriente que entra a la célula por los canales iónicos controlados por cG es debida a iones de  $Ca^{+2}$ . Por otro lado, estos iones están siendo constantemente removidos de la célula por bombas en la membrana plasmática, por lo que al cerrarse canales se genera un desbalance entre la cantidad de  $Ca^{2+}$  que entra y sale de la célula. Como consecuencia disminuye la concentración de Ca en la célula. Esto a su vez aumenta la tasa de síntesis de cG ya que las proteínas GC son inhibidas por proteínas que ligan Ca.

Es decir que el ciclo de retroalimentación es el siguiente, la concentración de cG controla el estado de los canales iónicos controlados por cG. La disminución de concen-

tracción de cG causa la disminución de la población de canales abiertos. Esto disminuye la entrada de iones de calcio a la célula lo que causa una disminución en la concentración de calcio. La disminución de calcio causa la disminución de las proteínas inhibitoras de GC. Esto causa un aumento en la tasa de síntesis de cG con lo que se cierra el ciclo.

En resumen de la cascada bioquímica, VP absorbe un fotón y se convierte en VP\* (en particular en VP<sub>0</sub> y luego pueden ocurrir fosforilación que lo pase a alguno de los otros estados VP<sub>n</sub>,  $n \in \{0, 1, 2, 3, 4, 5, 6\}$ ). Cuando G y VP\* se encuentran en la superficie del disco se ligan temporalmente y ocurre la activación de G\*. Luego cuando G\* se liga a PDE y forman un complejo PDE\* que tiene una capacidad mucho mayor para hidrolizar cG. Esto resulta en una baja en la concentración de cG por lo que disminuye la cantidad de cG ligado a los canales. Como consecuencia se cierran una proporción de canales iónicos lo que causa una disminución en la corriente que entra a la célula respecto del valor de oscuridad. Además la disminución de la corriente causa una disminución en la entrada de calcio a la célula. Por lo que disminuye la concentración de calcio y de las proteínas que ligan calcio que inhiben GC. Como consecuencia GC aumenta la tasa de síntesis de cG y esto culmina por generar la restauración a los valores de oscuridad.

#### 1.2.4. Propagación electrónica

El potencial transmembrana de cualquier célula resulta en la acumulación de carga negativa en la cara interior de la membrana y carga positiva en el exterior, lo que se conoce como desplazamiento de cargas. Sin ayuda, el potencial de membrana tiende a igualarse en toda la extensión de la membrana. Entonces un cambio en el desplazamiento de carga en una sección de la membrana tiende a propagarse rápidamente para ecualizar el potencial de membrana.

#### 1.2.5. Desactivación sináptica

En la terminal sináptica de los fotorreceptores se encuentran canales de calcio controlados por voltaje. La hiperpolarización de la membrana causa el cierre de los canales. Debido a que la célula remueve calcio de su interior constantemente esto causa una baja en la concentración de calcio. En los fotorreceptores se libera el neurotransmisor glutamato constantemente en sitios especializados de la membrana celular posicionados en la cinta sináptica. La tasa con la que se libera el glutamato depende de la concentración de calcio, cuando disminuye la concentración de calcio se reduce la tasa de segregación de neurotransmisor.

### 1.2.6. Disminución de glutamato en la sinapsis

El glutamato es constantemente segregado en las invaginaciones de la terminal sináptica de los fotorreceptores. A su vez existe un mecanismo que constantemente remueve el glutamato de la sinapsis para mantener su concentración estable. Cuando ocurre la desactivación sináptica esta remoción causa una baja de concentración de neurotransmisor en la sinapsis. Esta baja de concentración constituye la señal que es detectada por la otra neurona. Para que esta señal represente verdaderamente la absorción de un fotón por un pigmento visual el proceso de remoción de glutamato debe ser eficiente y rápido.

## 1.3. Discriminación cromática

La percepción de color se debe a las señales que llegan al cerebro de los tres tipos de conos. Por lo que cualquier señal de color la podemos representar en un espacio que tiene como dimensiones la fotocorriente en los tres tipos de cono. Si no existiera el ruido cada punto en este espacio sería un color distinto, pero la fotocorriente es ruidosa por lo que un estímulo cromático genera una nube de puntos en este espacio. Hay varias fuentes de este ruido, en primer lugar la absorción de un fotón por un pigmento visual es un proceso estocástico y varía la cantidad de fotones absorbidos y esto produce ruido. Luego la cascada bioquímica también es un proceso estocástico con ruido intrínseco. En esta fuente de ruido nos vamos a enfocar ignorando las demás. Este ruido determina el ancho de la distribución de la nube de puntos correspondiente a un estímulo cromático [5]. Se define algún umbral como criterio para decir que dos estímulos cromáticos son distinguibles entre si, por ejemplo que las distribuciones estén más alejadas que el ancho típico de las distribuciones dadas por el ruido. Por lo tanto, el modelado del ruido podría permitir obtener un modelo para los umbrales de la discriminación cromática.



# Capítulo 2

## Marco teórico

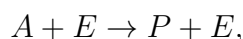
### 2.1. Principios de cinética química

En este trabajo buscamos modelar los procesos de la cascada bioquímica. Son procesos complejos, requieren la acción de enzimas y están vinculados a muchos otros procesos, por lo que buscamos simplificarlos.

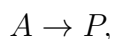
La reacción enzimática arquetípica es



donde el/los reactivo/s  $A$  se ligan temporalmente a la enzima  $E$  y forman el complejo  $EA$ . La enzima luego de que realizó su acción catalítica se separa inalterada de el/los producto/s  $P$ . Esta reacción la podemos simplificar; en caso de que el tiempo que existe  $EA$  sea corto podemos modelar esta reacción como



en la cual disminuimos en 1 las reacciones y las especies químicas a considerar. Si además podemos suponer que la concentración de  $E$  se mantiene constante podemos modelar esta reacción como



en la que reducimos en 1 la cantidad de especies químicas a considerar y los reactivos.

A continuación explicaremos como modelamos las reacciones químicas según la cantidad de reactivos que toman parte en la reacción.

#### 2.1.1. Primer orden

Las reacciones de primer orden son aquellas en las que una especie  $A$  se convierte espontáneamente en una especie  $P$  [6, pp. 4-5]. Modelamos estas reacciones como un

proceso de Poisson, es decir, la probabilidad de transformación de  $A$  a  $P$  en un pequeño intervalo de tiempo  $\Delta t$  viene dada por

$$p(A \rightarrow P, \Delta t) = \Delta t/\tau$$

, donde  $\tau$  es el tiempo medio que existe una molécula de  $A$ , que se conoce como *tiempo característico*. Consideremos  $N_A(t)$  el número de moléculas de  $A$  a tiempo  $t$  y el cambio  $\Delta N_A(t, \Delta t) = N_A(t + \Delta t) - N_A(t)$  en un intervalo de tiempo  $[t, t + \Delta t]$  o equivalentemente  $-\Delta N_A(t, \Delta t)$  la cantidad de moléculas de  $A$  que se han transformado a  $P$  en ese intervalo de tiempo. Esta última cantidad tiene un valor esperado de  $-\Delta N_A(t, \Delta t) = p(A \rightarrow P, \Delta t)N_A(t)$ . Para  $\Delta t$  suficientemente pequeño podemos escribir

$$-\Delta N_A(t, \Delta t) = \left(\frac{\Delta t}{\tau}\right)N_A(t).$$

Tomando  $N_A(t)$  como una función continua podemos reordenar esta expresión y tomar el límite

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta N_A(t, \Delta t)}{\Delta t} = \frac{d}{dt}N_A(t) = -\frac{N_A(t)}{\tau},$$

y obtenemos la familiar ley de decaimiento exponencial con tasa  $1/\tau$ . Sin embargo,  $N_A(t)$ , que corresponde a un número de moléculas de  $A$ , es una función que tiene por imagen los números naturales más el cero  $\mathbb{N}_0$  y no puede ser continua a menos que sea constante. Además, falta justificar la razón de sustituir  $-\Delta N_A(t, \Delta t)$  por su valor esperado. Hay varias maneras de justificar ambas cosas[7], por un lado podemos pensar que  $N_A$  es un número suficientemente grande que podemos aproximarla como una función continua y pensando en la probabilidad de manera frecuentista en este límite  $N_A$  es igual a su valor esperado. Por otro lado, podemos definir  $N_A(t)$  como el valor de expectación del número de moléculas de  $A$  en función del tiempo para un *ensemble* estadístico y esto también resuelve ambos problemas.

Como por ahora nos interesa trabajar con concentraciones, utilizaremos la notación en la que  $[X]$  representa la concentración de la especie química  $X$ . Podemos pasar la tasa de cambio de  $N_A(t)$  a la de  $[A]$  dividiendo ambos lados de la igualdad por el volumen correspondiente.

En resumen, si tenemos una reacción  $A \rightarrow P$  modelamos la tasa de cambio de las especies debido a esta como

$$-\frac{d}{dt}[A] = \frac{d}{dt}[P] = \frac{[A]}{\tau}.$$

### 2.1.2. Segundo orden

Las reacciones de segundo orden son aquellas que requieren dos reactivos  $A$  y  $B$  para formar el/los producto/s  $P$  [6, pp. 5-6]. La capacidad de reaccionar una molécula

de  $A$  con una de  $B$  aumenta con la proximidad entre ellas, por lo que consideramos el espacio  $V$  en donde se encuentran distribuidas las especies químicas y lo subdividimos en celdas de tamaño  $\Delta V$ . Con esto proponemos que una molécula de  $A$  y una molécula de  $B$  que se encuentran en la misma celda  $\Delta V$  tienen una probabilidad de reaccionar en un intervalo de tiempo  $\Delta t$  dada por  $p(\text{reacción}|\text{encuentro}) = k\Delta t/\Delta V$ , donde  $k$  es el coeficiente de tasa de reacción y ambas  $\Delta V$  y  $\Delta t$  deben ser suficientemente pequeñas. Destacamos que esta probabilidad es proporcional a  $\delta t$  porque entre más tiempo transcurra más probable será que reaccionen e inversamente proporcional a  $\delta V$  porque entre más pequeña sea la región del espacio en la que se encuentran ambas mayor será la probabilidad que reaccionen.

Para describir la tasa de cambio de especies hacemos un análogo con el caso de primer orden concentrándonos en la especie  $A$ , la cantidad esperada de moléculas transformadas es  $-\Delta N_A(t, \Delta t) = p(\text{reacción}; \text{encuentro})N_A(t)$ , donde  $p(\text{reacción}; \text{encuentro})$  es la probabilidad conjunta que tiene cada molécula de  $A$  encontrarse en la misma celda que una molécula de  $B$  y luego reaccionar. La probabilidad conjunta verifica  $p(\text{reacción}; \text{encuentro}) = p(\text{reacción}|\text{encuentro})p(\text{encuentro})$ . En el caso de que las especies estén distribuidas de manera homogénea en  $V$  la probabilidad de que una molécula de la especie  $X$  ( $X = A$  o  $B$ ) se encuentre en una dada celda es  $[X]\Delta V$ , si nos concentramos en las moléculas de  $A$  entonces  $p(\text{encuentro}) = [B]\Delta V$ . Luego para  $\Delta V$  y  $\Delta t$  pequeños podemos escribir  $p(\text{reacción}; \text{encuentro}) = k\Delta t[B]$ , a partir de esto y dividiendo ambos lados por  $V$  para dejar todo en términos de concentraciones obtenemos

$$-\Delta[A](t, \Delta t) = k\Delta t[B](t)[A](t).$$

Reordenamos los términos y suponiendo  $[A](t)$  (o equivalentemente  $N_A(t)$ ) continua podemos tomar el límite

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta[A](t, \Delta t)}{\Delta t} = \frac{d}{dt}[A](t) = -k[A](t)[B](t),$$

esta expresión se conoce como la ley de acción de masas. Destacamos que  $[A][B]$  es la probabilidad de que una molécula de  $A$  y una de  $B$  se encuentren en la misma región del espacio.

En resumen, para reacciones del tipo  $A + B \rightarrow P$  modelamos la tasa de cambio de las especies debido a esta como

$$-\frac{d}{dt}[A] = -\frac{d}{dt}[B] = \frac{d}{dt}[P] = k[A][B].$$

## 2.2. Algoritmo de Gillespie

Alternativamente al método determinista con el que venimos escribiendo ecuaciones diferenciales se puede plantear a formulación estocástica de la cinética química. Para ello empleamos el algoritmo de Gillespie, un método exacto para el cálculo numérico dentro de la formulación estocástica de la cinética química de la evolución temporal de una mezcla homogénea de especies que interactúan mediante un conjunto definido de canales de reacción [8]. Aquí las tasas de reacción que se utilizan en la formulación determinista se convierten en probabilidades por unidad de tiempo que ocurra la reacción.

Consideramos  $N$  especies químicas  $S_i$   $i \in \{1, 2, \dots, N\}$  que interactúan mediante  $M$  reacciones  $R_\mu$   $\mu \in \{1, 2, \dots, M\}$  entre ellas. El método de Gillespie se basa en una cantidad llamada la función de densidad de probabilidad de reacción  $P(\tau, \mu)$ , que es tal que  $P(\tau, \mu)d\tau$  es la probabilidad de que a tiempo  $t$  la siguiente reacción que ocurra sea  $R_\mu$  en el intervalo diferencial de tiempo  $(t + \tau, t + \tau + d\tau)$ . Ella es igual a

$$P(\tau, \mu) = a_\mu \exp\left(-\sum_{\nu=1}^M a_\nu \tau\right),$$

donde  $a_\mu$  es el equivalente a la tasa de reacción que consideramos en las secciones anteriores, transformando las cantidades apropiadamente para trabajar con números de moléculas en lugar de concentraciones. Esta  $a_\mu$  es igual a la probabilidad por unidad de tiempo de que los reactivos de  $R_\mu$  se encuentren por la probabilidad de que reaccionen una vez se encontraron. Para realizar la simulación se generan pares  $(\tau, \mu)$  que sigan esa distribución, para ello basta con generar dos números aleatorios  $r_1$  y  $r_2$  en el intervalo  $[0,1]$  y a partir de ellos tomar

$$\tau = \frac{\ln(1/r_1)}{A_M}$$

y el mayor  $\mu$  que cumpla la condición

$$r_2 A_M \leq A_\mu$$

, donde  $A_\mu = \sum_{\nu=1}^M a_\nu$ . Una vez obtenidos  $\tau$  y  $\mu$  actualizamos el tiempo  $t$  y la cantidad de las especies químicas según la estequiometría de  $R_\mu$ , sumando las moléculas que se produzcan y restando los reactivos que se consumen.

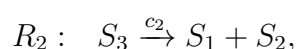
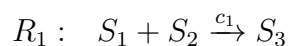
Llamemos  $\mathbf{X}$  al vector de las cantidades  $X_i$  de moléculas de  $S_i$  y  $\delta_\mu$  el vector que hay que sumar a  $\mathbf{X}$  para actualizarlo según la estequiometría de  $R_\mu$ . Escribamos el algoritmo para el paso  $j$ :

1. calculamos  $\mathbf{A}_j$ . Si tuviéramos  $A_M = 0$  no se pueden dar más reacciones y se detiene el algoritmo.

2. sorteamos los números aleatorios  $(r_1, r_2)$
3. a partir de esto obtenemos  $\tau$  y  $\mu$
4. actualizamos  $t_{j+1} = t_j + \tau$  y  $\mathbf{X}_{j+1} = \mathbf{X}_j + \delta_\mu$

### 2.2.1. Ejemplo del algoritmo

Supongamos que tenemos las especies químicas  $S_1$ ,  $S_2$  y  $S_3$ , tales que  $S_1$  y  $S_2$  pueden ligarse para formar  $S_3$  y desligarse espontáneamente



donde  $c_1$  y  $c_2$  son los coeficientes de tasa de reacción. Podemos escribir las probabilidades de reacción por unidad de tiempo análogamente a como escribiríamos la tasa de reacción

$$a_1 : c_1 X_1 X_2$$

$$a_2 : c_2 X_3,$$

donde  $X_i$  es el número de moléculas de  $S_i$ .

Damos valores numéricos a las constantes para hacer un paso del algoritmo. Supongamos  $c_1 = 0,1$ ,  $c_2 = 1$  y  $t_0 = 0$ . Demos una condición inicial  $\mathbf{X}_0 = (1, 1, 1)$ . Para tener claro como se realiza la actualización escribamos los  $\delta_\mu$

$$\delta_1 = (-1, -1, 1)$$

$$\delta_2 = (1, 1, -1).$$

Ahora apliquemos el primer paso

1. calculamos  $\mathbf{A}_0 = (0,1, 1,1)$
2. sorteamos  $(r_1, r_2) = (0,30119783, 0,3006778)$
3. calculamos  $(\tau, \mu) = (1,0908982, 2)$
4. actualizamos  $t_1 = 1,0908982$  y  $\mathbf{X}_1 = (2, 2, 0)$



## Capítulo 3

# Modelado de la cascada bioquímica

En este capítulo presentamos las reacciones que tomaremos en cuenta y las tasas de reacción que les corresponden.

La dinámica de la cascada bioquímica la podemos dividir en la parte que ocurre en la superficie de los discos y la que ocurre en el citoplasma y la membrana plasmática exterior. En ambos casos aproximaremos la concentración como si se encontrara uniformemente distribuida en la región de interés, el disco o el citoplasma del segmento exterior. En el caso del disco esta aproximación parece razonable porque no conocemos factores que impidan la difusión por su superficie. Para la dinámica del citoplasma y la membrana plasmática exterior debemos recordar la estructura del fotorreceptor, los discos apilados a lo largo del segmento exterior presentan restricciones para la difusión. Podríamos tomar esto en cuenta explícitamente teniendo concentraciones que dependen de la posición, que sería complejo, o podemos realizar alguna simplificación. La primera simplificación que se nos ocurre sería tomar únicamente la región del espacio alrededor de un único disco en donde podemos suponer que las concentraciones se encuentran distribuidas uniformemente ya que no hay otro disco que entorpezca la difusión. Esto tiene como defecto que la cantidad de canales presentes en esta región del espacio no son suficientes para generar las fotocorrientes requeridas. Así que optamos por la segunda simplificación más natural que se nos ocurre, que consiste en ignorar la difusión por completo tomando todas las concentraciones en el segmento exterior bien uniformemente distribuidas.

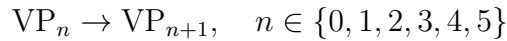
Por otro lado, para la dinámica en los discos cuando se absorben múltiples fotones debemos tener en cuenta que hay muchos discos en un bastón y por lo tanto hay varias maneras en las que podrían repartirse los fotones absorbidos entre ellos. Tomar en cuenta todas las posibilidades sería algo complejo por lo que decidimos simplificar. Las simplificaciones que proponemos son tomar como si todos los fotones fueran absorbidos en discos distintos o tomar como si todos los fotones fueran absorbidos en el mismo disco. En nuestro caso tomamos como si todos fueran absorbidos en un solo disco, pero

en el capítulo 4 cuando presentemos los resultados mostraremos que los resultados de fotocorriente que se obtienen son muy similares a lo que se puede obtener si todos los fotones fueran a un disco distinto.

### 3.1. Dinámica en los discos

Para construir la dinámica de la cascada bioquímica en un disco estudiamos la tasa con la que ocurren las reacciones asociadas. En esta parte de la dinámica todas las cantidades que nos interesan se refieren a proteínas de membrana, por lo que cuando hablamos de sus concentraciones nos referimos a la cantidad de moléculas presentes por unidad de área de la superficie del disco. Las reacciones que tomamos en cuenta son

- Fosforilación del pigmento visual:

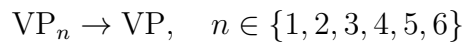


Aumenta en uno el número de sitios fosforilados del pigmento visual activado. Modelamos esta reacción como una de primer orden que ocurre con tasa dependiente del número de sitios fosforilados

$$\gamma_n[VP_n],$$

donde  $\gamma_n = \gamma_0 \exp(-n\omega_\gamma)$  es el coeficiente de tasa de reacción para el cual tomamos la hipótesis de como varía con  $n$  de Korenbrot [1]. Cabe destacar que uno de los parámetros que buscamos ajustar es  $\gamma_0$ .

- Desactivación del pigmento visual:



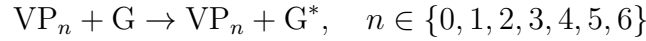
Se desactiva el pigmento visual, este proceso solo ocurre para pigmentos con al menos un sitio fosforilado. Modelamos este proceso como una reacción de primer orden que ocurre con tasa

$$\mu_n[VP_n],$$

donde  $\mu_n = \mu_0 n$  es el coeficiente de tasa de reacción, que debe su forma a que se observa experimentalmente que la afinidad del pigmento visual activado con la enzima que lo desactiva aumenta linealmente con la fosforilación [4], lo modelamos como Korenbrot [1]. Destacamos que  $\mu_0$  es uno de los parámetros que buscamos ajustar.



- Activación de G:



En esta reacción  $\text{VP}_n$  actúa como una enzima que activa G en un tiempo despreciable. Modelamos este proceso como una reacción de segundo orden que ocurre con tasa

$$\psi_n[\text{G}][\text{VP}_n],$$

donde  $\psi_n = \psi_0 \exp(-n\omega)$  es el coeficiente de tasa de la reacción para el cual tomamos una variación exponencial en función de  $n$  porque experimentalmente se observa que la ligadura de  $\text{G}^*$  y  $\text{VP}^*$  decae aproximadamente exponencialmente con la fosforilación [4]. Usamos un modelo inspirado en el de Korenbrot [1] que toma la activación de G directamente como una activación de PDE mientras que nosotros tomamos los pasos intermedios de activación de G y luego de  $\text{PDE}^*$ . Cabe destacar que  $\psi_0$  es uno de los parámetros que buscamos ajustar.

- Desactivación de  $\text{G}^*$ : Eventualmente  $\text{G}^*$  es desactivado y luego vuelve a su estado original G, proponemos que este proceso ocurre independientemente de si  $\text{G}^*$  se encuentra libre o forma parte del complejo  $\text{PDE}^*$ , por lo que da lugar a dos reacciones



Modelamos este proceso como reacciones de primer orden con tasas

$$\frac{1}{\tau_{\text{G}^*}}[\text{G}^*] \quad \text{y} \quad \frac{1}{\tau_{\text{PDE}^*}}[\text{PDE}^*]$$

respectivamente, ambas con el mismo tiempo característico  $\tau_{\text{G}^*}$  al cual debemos encontrar un valor satisfactorio. Destacamos que no consideramos ninguna otra vía para la desactivación de  $\text{PDE}^*$ , esto se debe a que ocurren en tiempos mucho más largos que esta y básicamente no se observan.

- Activación de PDE:



Cuando PDE y  $\text{G}^*$  reaccionan resulta en la activación de  $\text{PDE}^*$ . Este es un complejo que consiste del sitio catalítico desbloqueado y  $\text{PDE}_\gamma$  ligado a  $\text{G}^*$ . Modelamos este proceso como una reacción de segundo orden de tasa

$$k[\text{G}^*][\text{PDE}],$$

donde  $k$  es la constante de tasa de la reacción a la cual debemos encontrar un

valor satisfactorio.

Para construir las ecuaciones diferenciales que dictan la dinámica determinista solo hace falta fijarse cuales son los reactivos y cuales los productos en en estas reacciones. A cada diferencial de tiempo los reactivos pierden concentración con la tasa de la reacción y los productos la ganan. A partir de eso podemos armar este conjunto de ecuaciones diferenciales:

$$\begin{aligned}
\frac{d}{dt}[\text{VP}_0] &= -\gamma_0[\text{VP}_0] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_1] &= \gamma_0[\text{VP}_0] - e^{-\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_1] - \mu_0[\text{VP}_1] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_2] &= \gamma_0e^{-\omega\gamma}[\text{VP}_1] - e^{-2\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_2] - 2\mu_0[\text{VP}_2] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_3] &= \gamma_0e^{-2\omega\gamma}[\text{VP}_2] - e^{-3\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_3] - 3\mu_0[\text{VP}_3] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_4] &= \gamma_0e^{-3\omega\gamma}[\text{VP}_3] - e^{-4\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_4] - 4\mu_0[\text{VP}_4] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_5] &= \gamma_0e^{-4\omega\gamma}[\text{VP}_4] - e^{-5\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_5] - 5\mu_0[\text{VP}_5] \\
\frac{d}{dt}[\text{VP}_6] &= \gamma_0e^{-5\omega\gamma}[\text{VP}_5] - e^{-6\omega\gamma}\gamma_0[\text{VP}_6] - 6\mu_0[\text{VP}_6] \\
\frac{d}{dt}[\text{G}] &= -\psi_0 \left( \sum_{n=0}^6 e^{-\omega n}[\text{VP}_n] \right) [\text{G}] + \frac{1}{\tau_{\text{G}^*}}[\text{G}^*] + \frac{1}{\tau_{\text{G}^*}}[\text{PDE}^*] \\
\frac{d}{dt}[\text{G}^*] &= \psi_0 \left( \sum_{n=0}^6 e^{-\omega n}[\text{VP}_n] \right) [\text{G}] - \frac{1}{\tau_{\text{G}^*}}[\text{G}^*] - k[\text{PDE}][\text{G}^*] \\
\frac{d}{dt}[\text{PDE}] &= \frac{1}{\tau_{\text{G}^*}}[\text{PDE}^*] - k[\text{PDE}][\text{G}^*]
\end{aligned}$$

Donde dejamos por fuera las ecuaciones de algunas especies tomando en cuenta que podemos encontrarlas a partir de cantidades conservadas en el sistema. La cantidad de proteína G y PDE si tomamos en cuenta todas sus formas son cantidades constantes. A partir de eso podemos armar este conjunto de ecuaciones:

$$\begin{aligned}
[\text{G}] + [\text{G}^*] + [\text{PDE}^*] &= g_0 \\
[\text{PDE}] + [\text{PDE}^*] &= p_0,
\end{aligned}$$

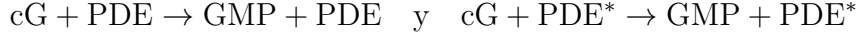
donde  $g_0, p_0$  son constantes de condiciones iniciales, se pueden obtener de la bibliografía.

### 3.2. Dinámica de cG sin incluir los canales

En las secciones siguientes planteamos modelos para la dinámica de los canales iónicos que queda acoplada a la dinámica de cG, por eso planteamos ahora las reacciones

que consideramos para la dinámica de cG sin incluir los canales iónicos todavía.

- Hidrólisis de cG en los sitios de PDE:



A pesar de que PDE en su estado usual tenga sus sitios catalíticos bloqueados ellos siempre tienen actividad catalítica. Modelamos esta catálisis como reacciones de segundo orden que ocurren con tasas

$$k_{\text{hidPDE}}[\text{cG}][\text{PDE}] \quad \text{y} \quad k_{\text{hidPDE}^*}[\text{cG}][\text{PDE}^*],$$

respectivamente con los poderes catalíticos de cada forma tal que  $k_{\text{hidPDE}} \ll k_{\text{hidPDE}^*}$ . Ya que  $k_{\text{hidPDE}^*}$  es una tasa catalítica de las más eficientes de la naturaleza, este hecho causa que una pequeña población de PDE\* consiga una respuesta amplificada en la disminución de cG [9].

Cabe destacar que hemos decidido modelar la tasa de reacción de la hidrólisis de cG como una reacción de segundo orden. Sin embargo, el cG y los sitios catalíticos  $X = \text{PDE}$  o  $\text{PDE}^*$  no están distribuidos uniformemente en la misma región del espacio. El cG difunde libremente por el citosol, su concentración  $[\text{cG}]$  tiene unidades de cantidad de moléculas por unidad de volumen, mientras que  $X$  son proteínas de membrana (de los discos) y su concentración  $[X]$  tiene unidades de cantidad de sitios sobre área. Proponemos que los sitios catalíticos  $X$  tienen acceso al cG que difunde más cerca que una dada distancia  $L$  de la membrana. Por lo tanto, las proteínas de membrana  $X$  que se encuentran en una pequeña sección de área interactúan con el cG que se encuentra en el volumen generado por esta sección de área y una longitud  $L$  perpendicular a ella. Luego, la probabilidad de que una molécula de cG y una de  $X$  se encuentren es  $[\text{cG}]L[X]$ . Finalmente, la tasa de reacción sería  $k[\text{cG}]L[X]$ , pero podemos redefinir el coeficiente de tasa de reacción  $k$  para que absorba ambas constantes.

### 3.3. Ciclo de retroalimentación negativa del calcio

La cascada bioquímica es un proceso autoregulado por un ciclo de retroalimentación negativa que involucra al cG, a los canales iónicos controlados por cG, al calcio y las proteínas GC que se encargan de sintetizar cG a partir de GTP.

- Entrada del calcio por los iónicos canales controlados por cG: Los canales iónicos controlados por cG dejan entrar una fotocorriente que esta compuesta en cierta proporción por calcio. Proponemos modelar este proceso como una tasa de

aumento de calcio proporcional a la población de canales abiertos

$$\alpha_1 p_{\text{open}},$$

donde  $\alpha_1$  es determinada por la corriente que entra por un canal abierto y la proporción que corresponde al calcio y  $p_{\text{open}}$  es la población de canales abiertos que estudiaremos más en detalle cuando veamos la dinámica de canales.

- Salida del calcio por acción de las bombas: En la célula hay bombas iónicas que constantemente sacan calcio de la célula para mantener una baja concentración de este en el interior. Modelamos este proceso como una reacción de primer orden de tasa

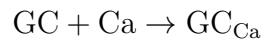
$$\alpha_2 [\text{Ca}],$$

donde  $\alpha_2$  se puede obtener de la bibliografía.

- Unión del calcio al GC: La proteína activadora de GC, denotada GCAP, usualmente se encuentra ligada al calcio e inhibe la síntesis de cG [10]. Pero, al disminuir la concentración de calcio pasan a unirse a un ion  $\text{Mg}^{2+}$ , en este estado GCAP se vuelve un activador de GC y aumenta la síntesis de cG. Proponemos modelar esto con dos especies químicas:

- GC va a denotar la proteína GC unida al GCAP unido a  $\text{Mg}^{2+}$  de mayor poder catalítico
- $\text{GC}_{\text{Ca}}$  va a denotar la proteína GC unida GCAP unida a  $\text{Ca}^{2+}$  de menor poder catalítico

consideramos que este segundo estado se obtiene a partir del primero por una reacción de segundo orden

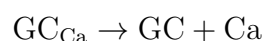


que ocurre con tasa

$$\alpha_3 [\text{Ca}][\text{GC}],$$

donde  $\alpha_3$  es la constante de tasa de reacción a la que buscaremos ajustar un valor satisfactorio.

- Separación de  $\text{GC}_{\text{Ca}}$ : Como complemento de la reacción anterior proponemos que el Ca se desliga espontáneamente del complejo  $\text{GC}_{\text{Ca}}$

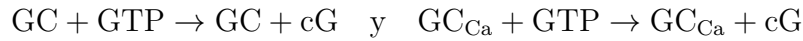


como una reacción de primer orden que ocurre con tasa

$$\alpha_4[\text{GC}_{\text{Ca}}],$$

donde  $\alpha_4$  es una cantidad que debe estar relacionada a  $\alpha_3$  para tener la proporción correcta de las poblaciones en equilibrio.

- Producción de cG:



Modelamos la síntesis de cG por parte de GC y  $\text{GC}_{\text{Ca}}$  como reacciones de primer orden de tasas

$$k_{\text{catGC}}[\text{GC}] \quad \text{y} \quad k_{\text{catGCCa}}[\text{GC}_{\text{Ca}}],$$

respectivamente, donde  $k_{\text{catGC}}$  y  $k_{\text{catGCCa}}$  son las constantes de tasa de reacción. En la sección 4.1 discutimos cómo se obtuvieron sus valores.

A partir de estas reacciones, considerando que tenemos dada la  $p_{\text{open}}$  que acopla esta parte de la dinámica a la de los canales, podemos escribir las ecuaciones de evolución

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}[\text{GC}] &= -\alpha_3[\text{GC}][\text{Ca}] + \alpha_4[\text{GC}_{\text{Ca}}] \\ \frac{d}{dt}[\text{Ca}] &= \alpha_1 p_{\text{open}} - \alpha_2[\text{Ca}] - \alpha_3[\text{GC}][\text{Ca}] + \alpha_4[\text{GC}_{\text{Ca}}] \end{aligned}$$

Y la conservación de GC en sus distintas formas

$$[\text{GC}] + [\text{GC}_{\text{Ca}}] = [\text{GC}_{\text{tot}}],$$

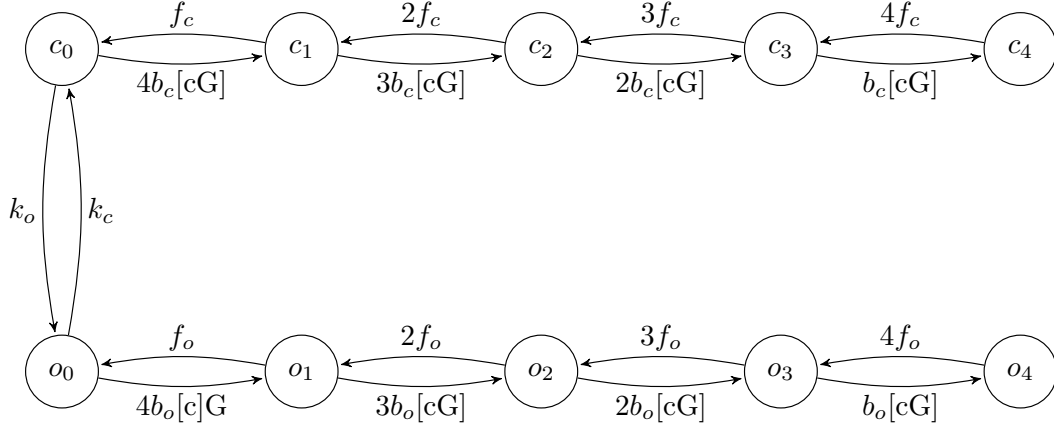
donde  $[\text{GC}_{\text{tot}}]$  es la concentración total de ambas formas de GC.

## 3.4. Dinámica de canales iónicos controlados por cG

### 3.4.1. Modelo Monod-Wyman-Changeux (MWC)

El modelo MWC es un modelo biofísico importante [11] que describe una situación de regulación alostérica en la que una macromolécula tiene un estado activo y otro inactivo. La decisión de si la molécula se encuentra activa o inactiva depende de ligandos reguladores que se unen de manera preferencial a uno de los dos estados. Proponemos explicar el comportamiento de los canales controlados por cG por el modelo MWC. Es decir, consideramos 10 estados  $i_n$  para el canal controlado por cG, donde  $i = o, c$

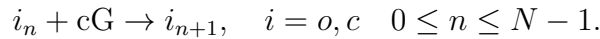
indica si esta abierto (*open*  $o$ ) o cerrado (*closed*  $c$ ) y  $n = 0, 1, 2, 3, 4$  indica el número de moléculas de cG ligadas a este. En la figura 3.1 podemos observar un esquema de la transición entre estados  $i_n$ .



**Figura 3.1:** Esquema de los estados en el modelo MWC. Las cantidades que acompañan a las flechas representan las constantes de tasa de transición entre estados.

A continuación detallamos las reacciones que cambian un canal entre estados. Escribimos en términos de  $N$  sitios de unión con  $n = 0, 1, \dots, N$  para utilizar este resultado en la siguiente sección, aquí basta con sustituir  $N = 4$ . Estas reacciones son:

- cG se liga a un sitio de unión del canal:

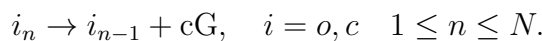


El cG difunde libremente en el citoplasma, espontáneamente puede chocar con un sitio de unión y quedar ligado a un canal con  $n$  moléculas ligadas. Modelamos esta como una reacción de segundo orden que ocurre con tasa

$$(N - n)b_i[i_n][\text{cG}],$$

donde  $b_i$  es la constante de tasa de unión a la cual debemos encontrar un valor satisfactorio.

- cG se libera de un sitio de unión del canal:



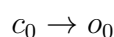
Espontáneamente, por colisiones moleculares, un cG ligado al canal puede desligarse de este. Modelamos esta como una reacción de primer orden que ocurre con tasa

$$nf_i[i_n],$$

donde  $f_i$  es la constante de tasa de liberación a la cual debemos encontrar un valor satisfactorio.

Las reacciones de unión de cG a los canales se dan entre proteínas de membrana, es decir los canales en sus respectivos estados  $i_n$ , y el cG que difunde libremente por el citoplasma. En esta situación aplica la misma discusión del final de 3.2.

- Apertura del canal:

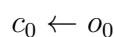


Modelamos este proceso como una reacción de primer orden que ocurre con tasa

$$k_o[c_0],$$

donde  $k_o$  es la constante de tasa de apertura a la cual debemos encontrar un valor satisfactorio.

- Cierre del canal:



Modelamos este proceso como una reacción de primer orden que ocurre con tasa

$$k_c[o_0],$$

donde  $k_c$  es la constante de tasa de cierre a la cual debemos encontrar un valor satisfactorio.

Destacamos que la única transición entre estados abiertos y cerrados en el modelo MWC es entre estados que no tienen ningún ligando unido, esto tiene por propósito mantener el modelo simple.

A partir de estas reacciones, las reacciones de 3.2 y las soluciones de [PDE] y [PDE\*] a las ecuaciones de 3.1 y sin olvidar que estas ecuaciones están acopladas a las de la sección 3.3 podemos describir la dinámica de [cG] y los  $[i_n]$   $i = o, c$   $n = 0, 1, 2, 3, 4$  por medio de las ecuaciones:

$$\begin{aligned}
\frac{d}{dt}[\text{cG}] &= k_{\text{catGC}}[\text{GC}] + k_{\text{catGCCa}}[\text{GCCa}] - k_{\text{hidPDE}}[\text{PDE}][\text{cG}] - k_{\text{hidPDE}^*}[\text{PDE}^*][\text{cG}] \\
&\quad + f_o([o_1] + 2[o_2] + 3[o_3] + 4[o_4]) - b_o(4[o_0] + 3[o_1] + 2[o_2] + [o_3])[\text{cG}] \\
&\quad + f_c([c_1] + 2[c_2] + 3[c_3] + 4[c_4]) - b_c(4[c_0] + 3[c_1] + 2[c_2] + [c_3])[\text{cG}] \\
\frac{d}{dt}[o_4] &= -4f_o[o_4] + b_o[\text{cG}][o_3] \\
\frac{d}{dt}[o_3] &= 4f_o[o_4] - b_o[\text{cG}][o_3] + 3f_o[o_3] + 2b_o[\text{cG}][o_2] \\
\frac{d}{dt}[o_2] &= 3f_o[o_3] - 2b_o[\text{cG}][o_2] + 2f_o[o_2] + 3b_o[\text{cG}][o_1] \\
\frac{d}{dt}[o_1] &= 2f_o[o_2] - 3b_o[\text{cG}][o_1]f_o[o_1] + 4b_o[\text{cG}][o_0] \\
\frac{d}{dt}[o_0] &= f_o[o_1] - 4b_o[\text{cG}][o_0] - k_c[o_0] + k_o[c_0] \\
\frac{d}{dt}[c_0] &= f_c[c_1] - 4b_c[\text{cG}][c_0] + k_c[o_0] - k_o[c_0] \\
\frac{d}{dt}[c_1] &= 2f_c[c_2] - 3b_c[\text{cG}][c_1]f_c[c_1] + 4b_c[\text{cG}][c_0] \\
\frac{d}{dt}[c_2] &= 3f_c[c_3] - 2b_c[\text{cG}][c_2] + 2f_c[c_2] + 3b_c[\text{cG}][c_1] \\
\frac{d}{dt}[c_3] &= 4f_c[c_4] - b_c[\text{cG}][c_3] + 3f_c[c_3] + 2b_c[\text{cG}][c_2]
\end{aligned}$$

Además, para completar las ecuaciones necesarias tomamos en cuenta la conservación de los canales iónicos

$$[o_4] + [o_3] + [o_2] + [o_1] + [o_0] + [c_0] + [c_1] + [c_2] + [c_3] + [c_4] = [\text{ch}],$$

donde la constante  $[\text{ch}]$  es la concentración total de canales en todos los estados.

También podemos obtener las concentraciones de equilibrio (generalizada para el modelo MWC de  $N$  sitios)

$$[i_n] = \binom{N}{n} \left( \frac{b_i[\text{cG}_0]}{f_i} \right)^n [i_0], \quad \text{con } [i_0] = \frac{k_i[\text{ch}]}{k_o(1 + b_o[\text{cG}]_0/f_o)^N + k_c(1 + b_c[\text{cG}]_0/f_c)^N}.$$

Luego podemos calcular la población de canales abiertos

$$p_{\text{open}} = \sum_{n=n_{\text{min}}}^N [o_n],$$

donde  $n_{\text{min}}$  es el numero de moléculas de cG que debe tener ligado el canal para considerarlo efectivamente abierto. Esta consideración la hicimos para probar la hipótesis ya mencionada que los canales se encuentran abiertos cuando tienen 3 o



más cG ligados que corresponde a  $n_{\min} = 3$ . Además, esta expresión difiere (para cualquier  $n_{\min}$ ) de la propuesta para MWC por Rodieck para el equilibrio [3, p. 411]  $p_{\text{open}} = [\text{ch}][\text{cG}]^m / ([\text{cG}]^m + K_{0,5}^m)$ , donde  $m$  y  $K_{0,5}$  son parámetros del modelo. Este no es el resultado de MWC, sino que corresponde a un modelo empírico que se emplea comúnmente [12, pp. 326-327].

Finalmente podemos obtener la fotocorriente  $J$  a partir de  $p_{\text{open}}$

$$J = J_{\text{dark}} - J_{1\text{ch}} p_{\text{open}} V_{\text{cit}},$$

donde  $J_{\text{dark}}$  es la corriente de oscuridad y  $J_{1\text{ch}} = 0,003$  pA es la corriente promedio que entra por un canal abierto [13] y  $V_{\text{cit}} = 7,5 \times 10^{-13}$  l es el volumen citoplásmico [3, p.535] [14].



# Capítulo 4

## Resultados

### 4.1. Elección de parámetros

En esta sección discutimos como elegimos los parámetros del modelo. Los podemos dividir en los que ajustamos a partir de datos experimentales de Korenbrot [1] y los que encontramos en la bibliografía.

#### 4.1.1. Dinámica del pigmento visual

La dinámica del pigmento visual la describimos en términos de los descrito por Korenbrot [1]. Por facilidad de comparación realizamos nuestro modelo para el mismo tipo de sujeto que utiliza Korenbrot, es decir salamandras, ya que nos limitamos a bastones. Cabe destacar que encontramos que los parámetros temporales para mamíferos y no mamíferos son muy distintos por lo que utilizamos cantidades medidas para no mamíferos siempre que fuera posible. Las cantidades  $\gamma_0$  y  $\mu_0$  ajustadas por Korenbrot sirvieron como punto de partida para la búsqueda de valores para nuestro ajuste de estas cantidades. Por otro lado, tomamos el mismo valor para  $\omega$  que describe cuanto disminuye el poder catalítico del pigmento visual al aumentar el numero de sitios fosforilados. A pesar de que esta parte de la dinámica en Korenbrot esta simplificada para evitar introducir la transducina, reflejando directamente los cambios de pigmento visual en cambios de PDE, para coeficiente de tasa de activación de PDE\* suficientemente alta no hay diferencia.

#### 4.1.2. PDE

Como la actividad catalítica por unidad de PDE es conocida experimentalmente para los bastones de salamandra tigre [5], a partir de esto determinamos  $k_{\text{hidPDE}}$ . Por otro lado, se ha medido la actividad catalítica del PDE\* [9] y a partir de esto determinamos  $k_{\text{hidPDE}^*}$ .

### 4.1.3. GC

Como mencionamos antes, nuestro modelo para GC es simplificado, ya que el calcio no actúa directamente sobre la GC, sino que actúa sobre su proteína activadora GCAP que al reducirse la concentración de calcio pasa de estar ligada a  $\text{Ca}^{2+}$  y ser un inhibidor de GC a ligarse a  $\text{Mg}^{2+}$  y activar GC. Esto lo abreviamos como dos formas de GC una ligada a Ca de menor tasa de síntesis, y otra no ligada a Ca. Por otro lado en todos los invertebrados se encuentran dos isomorfos de GCAP,  $\text{GCAP}_1$  y  $\text{GCAP}_2$ , cada una con su propio poder para activar GC [10]. Además, GC se compone de dos isoenzimas, RetGC1 y RetGC2, cada una con un poder catalítico y distinto. Finalmente lo que decidimos hacer con esto fue, como discutimos en la sección 3.3 simplificar el modelo usando solo dos especies químicas. La especie GC que tiene un poder catalítico máximo  $k_{\text{catGC,max}}$  que es el promedio de los poderes catalíticos máximos de RetGC1 ligado a  $\text{GCAP}_1$ , RetGC1 ligado a  $\text{GCAP}_2$ , RetGC2 ligado a  $\text{GCAP}_1$  y RetGC2 ligado a  $\text{GCAP}_2$  pesado por la concentraciones de  $\text{GCAP}_1$  y  $\text{GCAP}_2$ . La especie  $\text{GC}_{\text{Ca}}$  que tiene un poder catalítico máximo  $k_{\text{catGC}_{\text{Ca,max}}}$  que es el promedio de RetGC1 y RetGC2 no estimulados. Estos son máximos debido a que en la célula la concentración de GTP no se mantiene exactamente constante y a medida que se consume al generar cG disminuye la tasa de síntesis. Para tomar en cuenta esto propusimos que la tasa catalítica promediada en el tiempo van a ser iguales a la máxima dividida por algún  $x > 1$  común a ambos. Es decir que  $k_{\text{catGC}} = k_{\text{catGC,max}}/x$  y  $k_{\text{catGC}_{\text{Ca}}} = k_{\text{catGC}_{\text{Ca,max}}}/x$ , donde  $x$  es una cantidad que debemos ajustar.

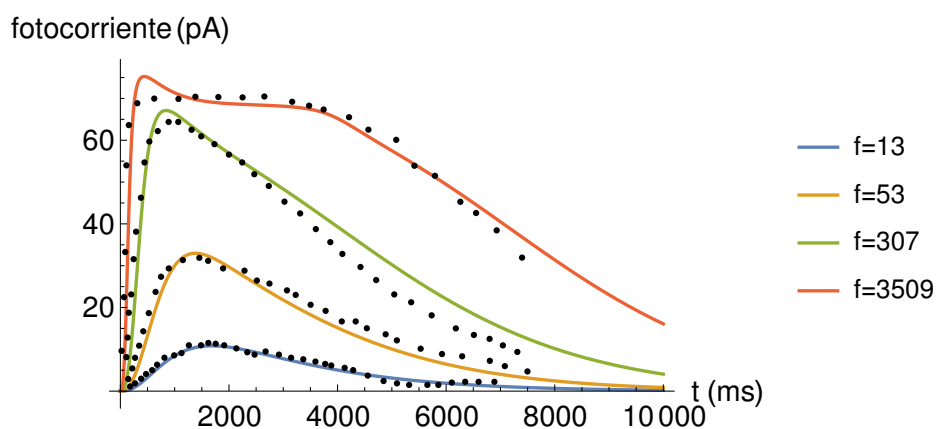
### 4.1.4. Dinámica de canales

Resultó complicado realizar el ajuste del modelo completo con los canales así que realizamos un modelo simplificado. La simplificación consistió en considerar una dinámica rápida para los canales iónicos controlados por cG. Esto nos permite ignorar lo descrito en la sección 3.4.1 y sustituir la población de canales abiertos en la dinámica del calcio por una aproximación de cuasiequilibrio en la que  $p_{\text{open}}$  es una función de cG (y del tiempo mediante este). Con esto en lugar de tener seis constantes de tasa de reacción independientes ( $b_o, f_o, b_c, f_c, k_c, k_o$ ) podemos escribir la dinámica en función de los cocientes  $b_o/f_o, b_c/f_c$  y  $k_c/k_o$ . Para volver al modelo sin simplificar necesitamos tres constantes temporales para obtener los seis valores iniciales, por simplicidad tomamos los tres iguales a un nuevo parámetro llamado  $T$ , que buscaremos ajustar. La manera de ajustar este parámetro es distinto a los demás ya que primero realizamos un ajuste directo del modelo simplificado a los datos experimentales. Luego ajustamos  $T$  haciendo que la curvas con la simplificación cuasiestática de los canales coincidan con las del modelo completo. Para esto bajamos el valor de  $T$  haciendo que la dinámica de los canales sea más rápida, hasta que consideramos que las curvas se superponen lo

suficiente.

### 4.1.5. Ajuste

Tomamos datos experimentales de corriente en bastones de Korenbrot [1]. Ellas fueron medidas con voltage clamp a  $-30$  mV en un bastón de salamandra tigre para intensidades de flash de luz correspondientes a la activación de 13, 53, 307 y 3509 moléculas de pigmento visual. De aquí en adelante  $f$  denotara la condición inicial de  $VP_0$ . Realizamos un ajuste del modelo simplificado con la aproximación de equilibrio cuasiestático para  $p_{open}$  a estos puntos experimentales. Luego dimos valores cada vez más pequeños a  $T$  hasta que coincidieron las curvas del modelo completo y el modelo simplificado. Finalmente en la figura 4.1 se observan las curvas de fotocorriente del modelo completo con los parámetros ajustados y los puntos experimentales que usamos para el ajuste. Es importante destacar que la curva de  $f = 3509$  no se usó para realizar el ajuste por razones que expondremos más adelante, pero la presentamos porque encontramos que nos pareció que muestra la bondad del ajuste.



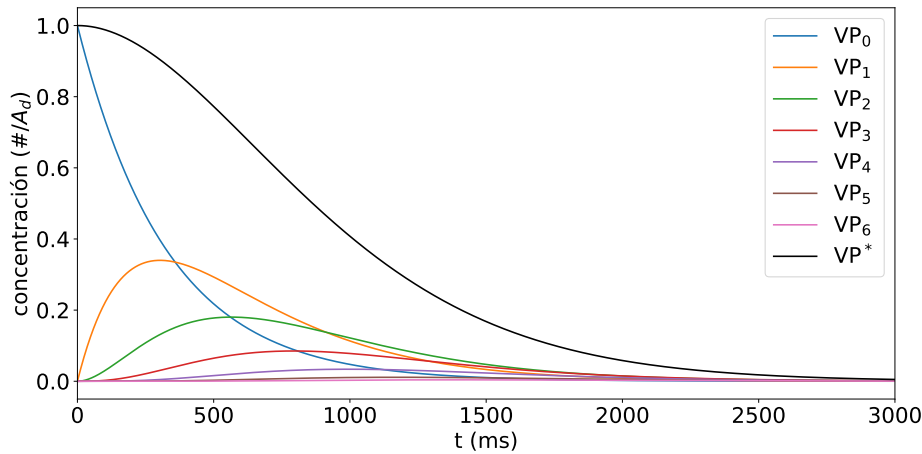
**Figura 4.1:** Curvas de fotocorriente para distintos valores de la condición inicial de  $VP_0 = f$ . Los puntos negros representan los puntos experimentales de corriente que tomamos de Korenbrot [1]. Mientras que los trazos continuos representan la solución del modelo completo con los parámetros ajustados.

## 4.2. Modelo determinista

A continuación examinaremos la solución de la dinámica para el conjunto de parámetros de reacciones que propusimos, que se encuentra en la tabla 4.1. En particular vamos a mostrar como ejemplo la dinámica con la condición inicial  $VP_0 = 13$ .

### 4.2.1. Dinámica de los discos

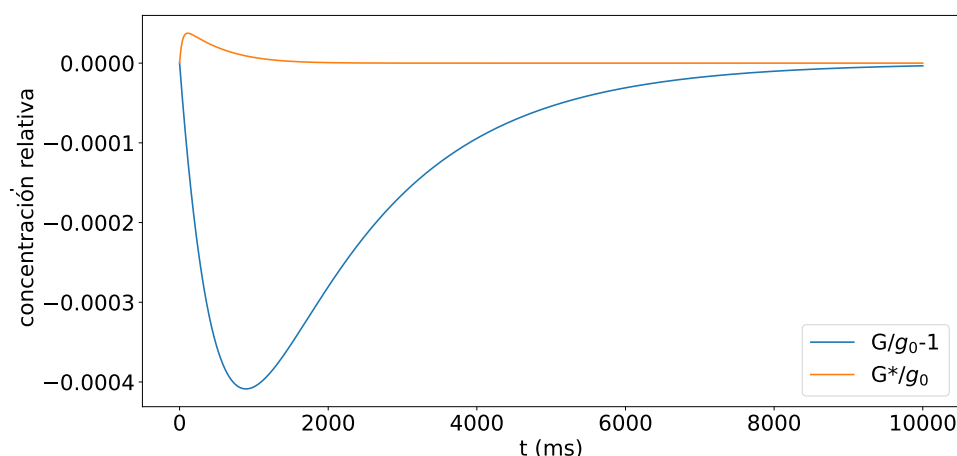
En la figura 4.2 podemos ver la evolución temporal de las distintas formas del pigmento visual  $VP_n$  y además del total de pigmento visual activado  $VP^*$ . Podemos notar que dentro de 3000 ms ya todas las formas de pigmento fotoactivado tienden a desaparecer [15]. También observamos que la proporción que representa  $VP_n$  de  $VP^*$  decae con  $n$  y para  $n \geq 4$  ya es menor que el 10 %.



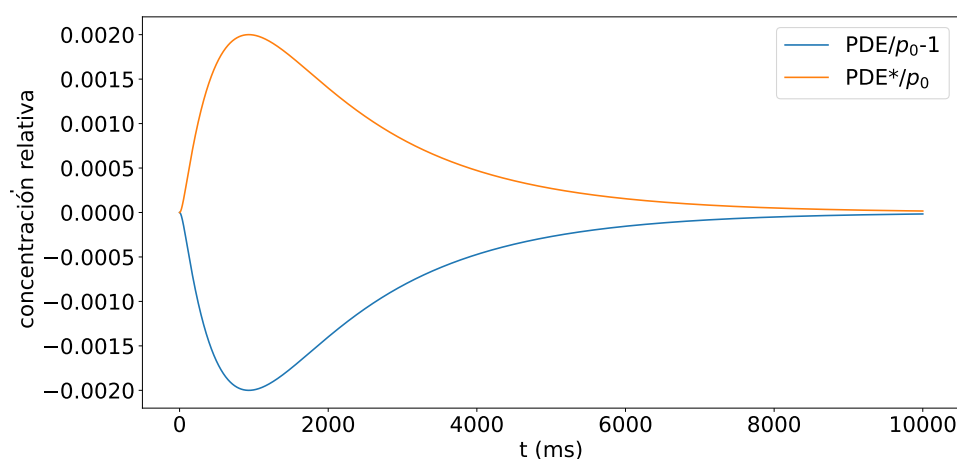
**Figura 4.2:** Evolución temporal de los distintos estados de fosforilación del pigmento visual  $[VP_n]$   $n \in \{0, 1, 2, 3, 4, 5, 6\}$  y el total de pigmento activado  $[VP^*] = \sum_0^6 [VP_n]$ , para la condición inicial  $VP_0=13$  con los parámetros de la tabla 4.1.

En la figura 4.3 podemos ver la evolución en el tiempo de  $G$  y su forma activada  $G^*$ . Podemos observar que  $G^*$  aumenta muy poco, por lo que el proceso de ligadura a PDE es bastante eficiente y el  $G$  que se pierde pasa a ser casi todo casi inmediatamente  $PDE^*$ , que es lo que esperábamos [15]. También observamos que  $G$  disminuye poco cerca de un 0.04 % debido a que básicamente todo lo que disminuye para a ser  $PDE^*$ .

En la figura 4.4 observamos la evolución temporal de las distintas formas de PDE. Podemos notar que se conserva la cantidad total y que el máximo de conversión a la forma activada es de cerca de 0.2 % . Este es un valor mucho menor que el valor que habíamos presentado antes como el valor biológico objetivo de 40 % en acuerdo con lo que dice Rodieck [3, p. 385], porque una mayor revisión de la literatura mostró que el porcentaje de conversión es bastante menor debido a que la capacidad catalítica es mucho mayor de lo que solía creer [9].



**Figura 4.3:** Evolución temporal de la transducina en sus formas activada y sin activar, normalizadas por el valor inicial  $g_0$ , para la condición inicial  $VP_0=13$  con los parámetros de la tabla 4.1.

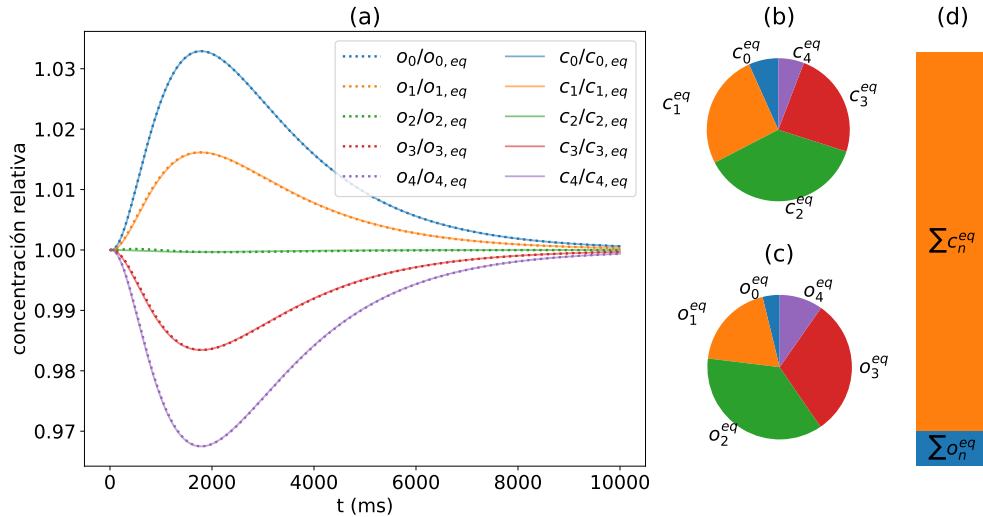


**Figura 4.4:** Evolución temporal de las distintas formas de fosfodiesterasa, normalizadas por la concentración de sitios catalíticos total  $p_0$ , para la condición inicial  $VP_0=13$  con los parámetros de la tabla 4.1.

### 4.2.2. Dinámica de discos y canales

En la figura 4.5 podemos ver la evolución de la población de canales en cada uno de los estados posibles en el modelo MWC relativa a la cantidad inicial de canales en ese estado. Podemos ver que el comportamiento es muy parecido para estados que tienen la misma cantidad de sitios de unión a cG ocupados, independientemente de si se encuentran abiertos o cerrados. Además, vemos que la variación depende proporcionalmente de los  $n$  sitios de unión a cG ocupados en el estado, siendo aproximadamente simétrica respecto de  $n = 2$ . Por otro lado, vemos gráficos circulares de la proporción de canales en cada estado de los canales abiertos y cerrado en el equilibrios. Vemos que

estas proporciones son similares para el mismo  $n$ ,  $n = 2$  es el más abundante, luego  $n = 1$  y  $n = 3$  y los menos abundantes son  $n = 0$  y  $n = 4$ . En el caso de los canales cerrados las proporciones son bastante simétricas respecto de  $n = 2$ , mientras que para los canales abiertos favorecen mayor  $n$ . Y finalmente vemos un gráfico de barra que indica la proporción del total canales abiertos respecto del total de canales cerrados y vemos que estos últimos son mucho más abundantes.



**Figura 4.5:** (a) Evolución temporal de las poblaciones de los distintos estados de los canales en el modelo MWC relativa a su población inicial, (b) proporción de las poblaciones de los estados cerrados del canal respecto al total de canales cerrados, (c) proporción de las poblaciones de los estados abiertos del canal respecto al total de canales abiertos y (d) proporción que ocupan las poblaciones de canales en estados abiertos y cerrados respecto del total de canales. Todo esto para la condición inicial  $VP_0=13$  con los parámetros de la tabla 4.1.

### 4.2.3. Comparación de aproximaciones para los sitios de fotoisomerización

Como adelantamos en la introducción del capítulo 3 una decisión importante para el modelo es como tomar en cuenta que hay varios discos en los que un fotón puede fotoisomerizar el pigmento visual. Las dos simplificaciones que evaluamos para este modelo fueron tomar como si todos los pigmentos visuales se activaran en el mismo disco o tomar como si cada pigmento visual se activara en un disco distinto. En la figura 4.6 podemos ver las curvas obtenidas con ambos modelos. Podemos ver que para las curvas menos altas, correspondientes a menos pigmentos visuales activados, ambas simplificaciones dan resultados muy similares, presentan variaciones entre sí de menos del 10%. Para la curva de más fotoisomerizaciones vemos una diferencia más grande, por lo que la elección de simplificación parece importar menos para valores iniciales de  $VP_0 = f$  más chicos. Por esto elegimos no usar la curva de  $f = 3509$  para



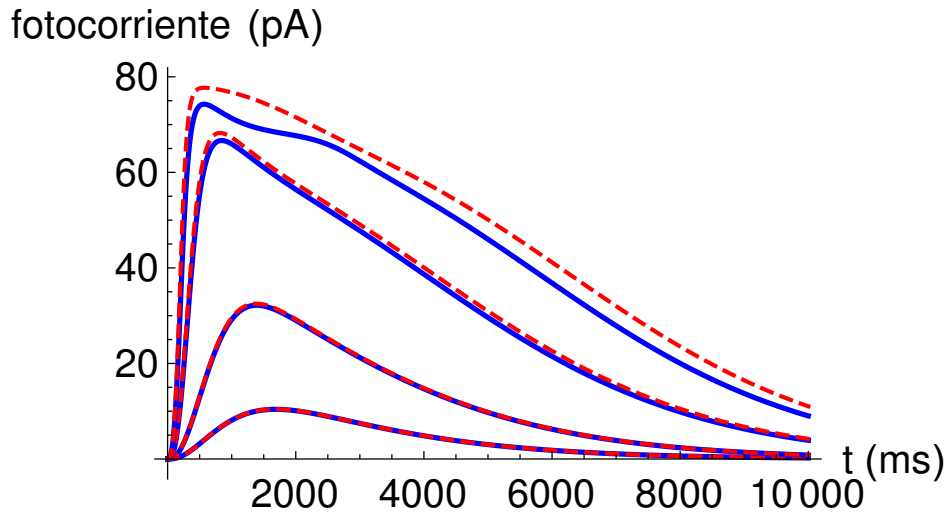
Constante	Valor	Fuente
$\omega_\gamma$	0.1	[1]
$\gamma_0$	0.0030501 ( $\text{ms}^{-1}$ )	ajuste
$\mu_0$	0.0007981 ( $\text{ms}^{-1}$ )	ajuste
$\omega$	0.69	[1]
$\tau_{G^*}$	1793 (ms)	ajuste
$k$	0.00005371 ( $\text{ms}^{-1}\mu\text{m}^{-2}$ )	ajuste
$\psi_0$	0.00003673 ( $\text{ms}^{-1}\mu\text{m}^{-2}$ )	ajuste
$x$	2	ajuste
$k_{\text{catGC,max}}$	60 ( $\text{s}^{-1}$ )	[10]
$k_{\text{catGCCa,max}}$	5.5 ( $\text{s}^{-1}$ )	[10]
$k_{\text{hidPDE}}$	0.0301 ( $\text{ms}^{-1}\mu\text{M}^{-1}$ )	[1]
$k_{\text{hidPDE}^*}$	440 ( $\mu\text{M}^{-1} \text{ms}^{-1}$ )	[9]
$\alpha_3$	0.01 ( $\mu\text{M}^{-1} \text{ms}^{-1}$ )	ajuste
$\alpha_4/\alpha_3$	0.06 ( $\mu\text{M}$ )	[10]
$b_o/f_o$	0.08054 ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	ajuste
$b_c/f_c$	0.06153 ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	ajuste
$T$	0.1 (ms)	ajuste

**Tabla 4.1:** El conjunto de parámetros de reacciones, tanto los ajustados y los sacados de bibliografía.

realizar los ajustes, pensando que podría empezar a resultar más importante tomar en cuenta de manera más compleja la distribución de  $\text{VP}^*$  entre los discos. Además, el número de discos en un bastón es 2000 [14], con lo que no podemos aplicar la simplificación de un  $\text{VP}^*$  por disco para la curva de  $f = 3509$ . Mientras que el número de moléculas de pigmento visual en un disco es  $\sim 10^5$  [16], por lo que decidimos usar la aproximación de todos los  $\text{VP}^*$  en un mismo disco para los resultados mostrados.

#### 4.2.4. Análisis de la sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones

Para analizar la sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones tomamos todas las constantes que afectan las tasas de reacción y las variamos una a una 10% por encima y por debajo del valor de la tabla 4.1. Luego calculamos el «error cuadrático medio», es decir que integramos el cuadrado de la diferencia de ambas curvas y tomamos la raíz cuadrada. Las curvas que comparamos con esto son las de los parámetros modificados respecto de la curva que se obtiene con los parámetros de la tabla 4.1 sin modificar. Además, para relativizar este valor de variación al valor de la curva original dividimos por el área bajo la curva original. Finalmente para tener un solo valor por parámetro promediamos los valores de sensibilidad de  $\pm 10\%$  para cada uno. En la figura 4.7 vemos un gráfico ilustrativo de las cantidades relevantes en este cálculo con el ejemplo de la curva que resulta aumentando el parámetro  $b_o/f_o$  en un

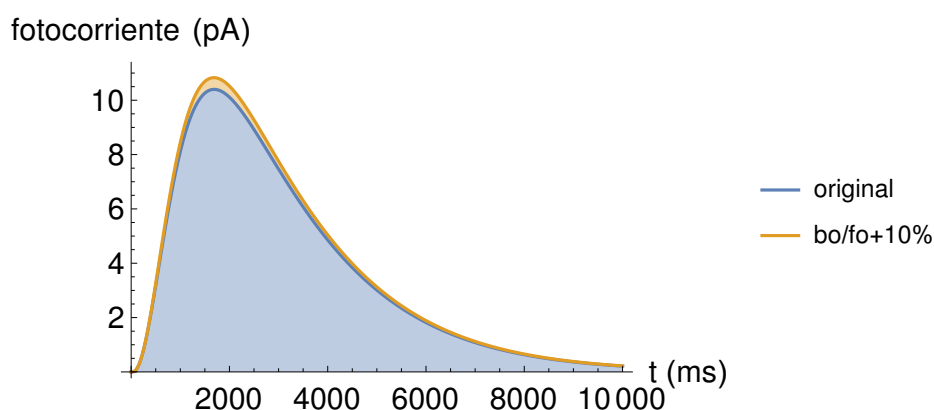


**Figura 4.6:** Comparación de las curvas con distintas simplificaciones para los sitios de fotoisomerización. En trazos azules las curvas que obtenemos con el modelo que toma todas las fotoisomerizaciones en el mismo disco. En trazos discontinuos rojos las curvas que se obtienen con el modelo que toma cada fotoisomerización un disco distinto. Entre más alto llegan las curvas mayor es el valor de la condición inicial de pigmento visual fotoisomerizado  $VP_0 = f$ , las curvas que presentamos corresponden a  $f = 13, 53, 307, 1000$ .

10 %. En trazo azul observamos la curva original y sombreada en azul debajo de esta su área. Mientras que en trazo naranja se observa la curva con el parámetro modificado y sombreada en naranja la diferencia entre las curvas, que elevamos al cuadrado e integramos para obtener el error cuadrático. Este cálculo se realiza para todos los parámetros de la tabla 4.1 y para cuatro las condiciones iniciales  $VP_0 = f \in \{13, 53, 307, 3509\}$ . En la figura 4.8 podemos observar las distintas sensibilidades, vemos que siempre la sensibilidad es mayor para las curvas de menor  $f$ . También observamos que las sensibilidades son del mismo orden casi todas, no hay algún parámetro mucho más sensible que los otros. Para mayor detalle numérico de las sensibilidades del modelo ver el apéndice A.

### 4.3. Algoritmo de Gillespie

Como el modelo solo toma en cuenta términos de acción de masas pudimos traducirlo a un modelo, que simulamos con el algoritmo de Gillespie. Realizamos 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie tomando como condición inicial  $VP_0 = 1$ . Guardamos el estado del sistema al final de cada uno de 100000 intervalos de tiempo equiespaciados entre 0 ms y 10000 ms, o sea sampleamos la dinámica estocástica cada 0.1 ms. A partir de esto realizamos las siguientes gráficas que muestran las distintas realizaciones, una realización ejemplo, su promedio y la superposición con el modelo determinista. Para un solo fotón absorbido se requieren muchas realizaciones para que el valor medio de las realizaciones tienda al valor del modelo determinista y no nos fue posible graficarlo



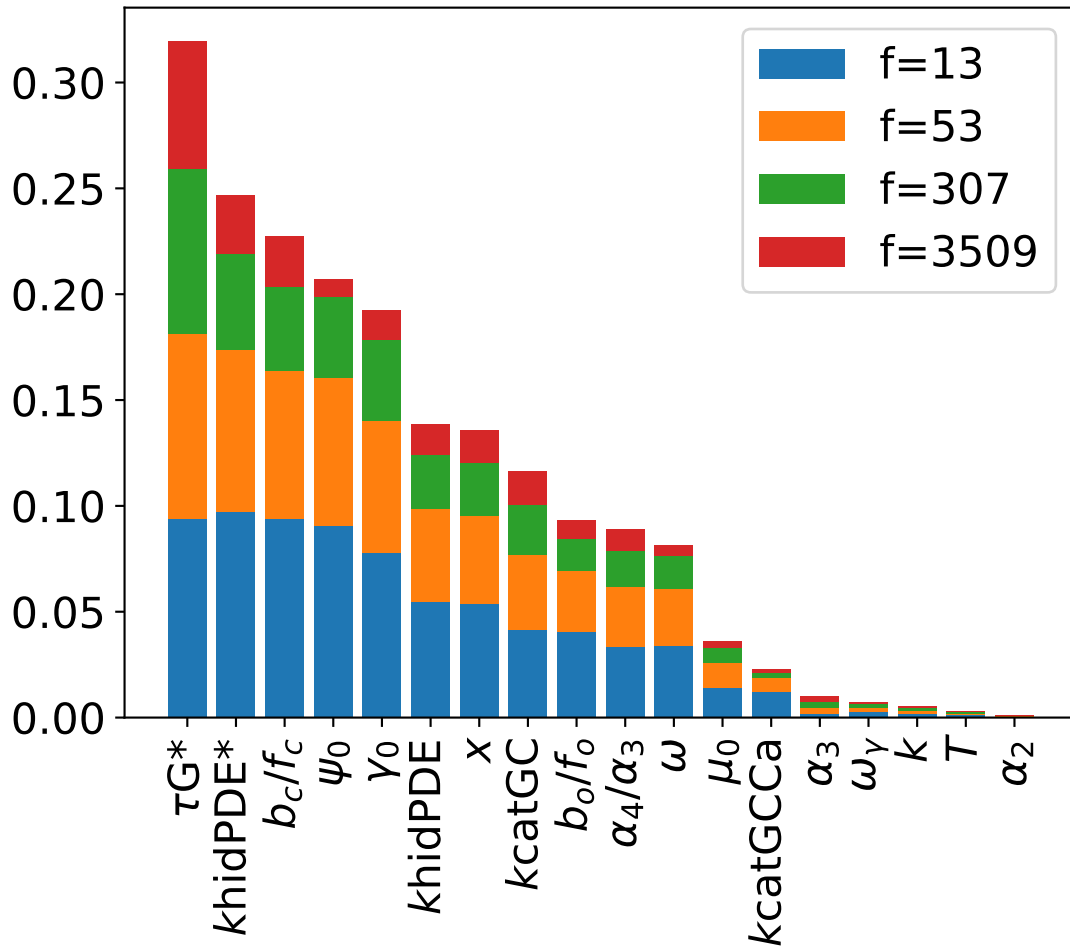
**Figura 4.7:** Ejemplo del cálculo de la sensibilidad de los parámetros. La curva de trazo azul, llamada original, corresponde a la calculada con los parámetros de la tabla 4.1. La curva de trazo naranja corresponde a la curva calculada con esos mismos parámetros excepto por  $b_o/f_o$  que incremento en un 10%. El área sombreada en naranja es la diferencia entre estas dos curvas, cuyo valor luego elevamos al cuadrado, integramos en el intervalo  $t \in [0, 10000]$  ms, tomamos raíz cuadrada del resultado y finalmente dividimos por el área bajo la curva original (sombreada en azul) para obtener la cantidad con la que caracterizamos la sensibilidad del modelo al aumento de 10% al parámetro  $b_o/f_o$ .

con más de 150 realizaciones. Para la condición inicial  $VP_0 = 13$  en 50 realizaciones las curvas coinciden bastante bien, estas curvas están presentadas en el apéndice C.

En la figura 4.9 podemos ver las figuras que tienen el comportamiento estocástico más fuerte debido a que se trata de una sola molécula. El valor medio de las realizaciones queda por encima del modelo determinista debido a que no fueron suficientes realizaciones.

En la figura 4.10 podemos ver que la dinámica de PDE y G son casi idénticas, como esperábamos debido a que la disminución de G ocurre al activarse y la alta tasa catalítica que tiene para activar PDE causa que casi en su totalidad pase a formar parte muy rápidamente del complejo PDE\* que decae solo cuando se desactiva G\*. La similitud en la evolución la podemos ver incluso realización a realización como se evidencia por la curva roja. El valor medio de las realizaciones queda por debajo del modelo determinista debido a que no tenemos suficientes realizaciones.

En la figura 4.11 podemos notar que la diferencia entre realizaciones es más que todo debido a la tortuosidad de la evolución alrededor del valor medio. Mientras que para cG las distintas realizaciones tienen curvas bastante suaves pero que difieren bastante entre sí. El valor medio de las realizaciones se aleja más del equilibrio que el modelo determinista debido a que no tenemos suficientes realizaciones. Como tenemos pocas realizaciones quedan sobre representados los estados de  $VP_n$  de  $n$  bajo que causan respuestas más grandes por lo que todos los promedios quedan más lejos del equilibrio que la dinámica determinista.

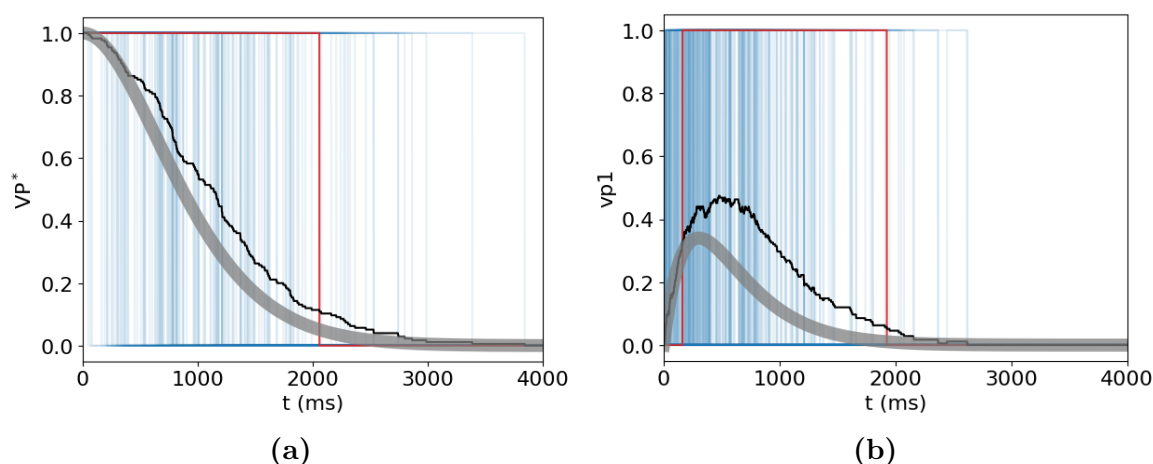


**Figura 4.8:** Sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de reacción. La altura de cada barra es igual a la sensibilidad del modelo a ese parámetro. Las barras de distinto color se encuentran apiladas (no superpuestas) por lo que la altura total de la barra multicolor en cada parámetro representa la suma de las sensibilidades. Respecto de esta suma esta ordenado el gráfico.

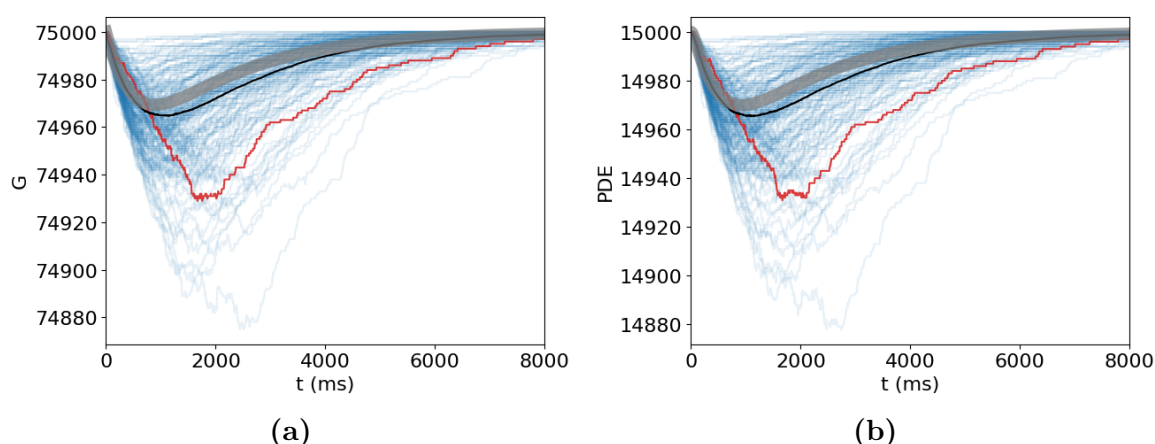
#### 4.3.1. Análisis de sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones

Para medir el ruido realizamos un análisis de densidad espectral de potencia (en inglés *Power Spectral Density* PSD) de las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie con  $VP_0 = 13$  y luego las promediamos, luego tomamos el promedio de la cola de la distribución y esta cantidad llamamos el nivel de ruido. La cola de la distribución corresponde a PSD de mayor frecuencia tal que la variación del modelo determinista sea muy pequeña. Tomamos dos valores para la frecuencia umbral a partir de la cual la PSD representa ruido: 0.5 kHz porque encontramos que para intervalos de tiempo menores que 2 ms el modelo determinista de fotocorriente varía menos de 10% y 5 kHz porque encontramos que para intervalos de tiempo menores que 0.2 ms el modelo determinista de fotocorriente varía menos de 1%.

En la figura 4.13 se observan las distintas realizaciones de la PSD y su promedio,



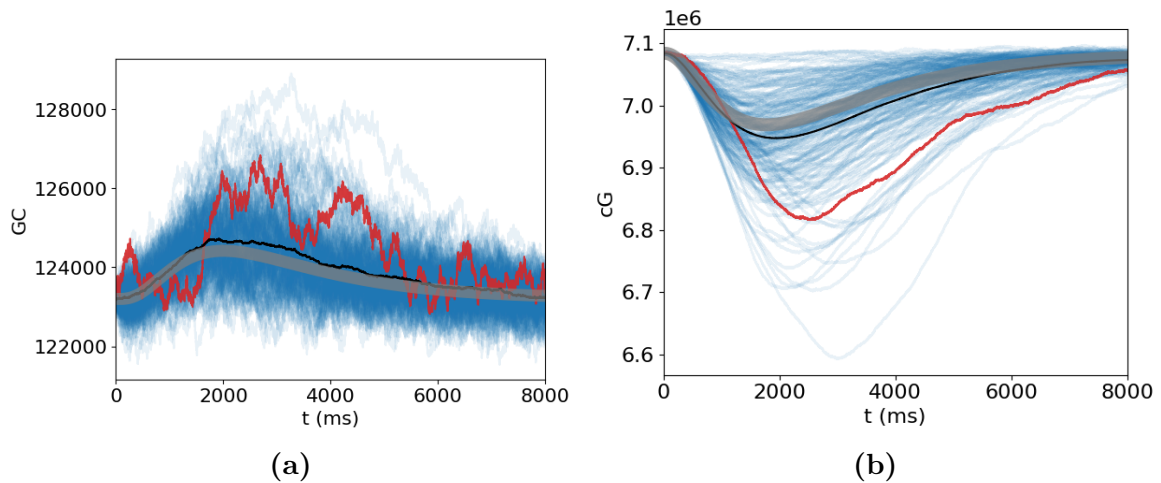
**Figura 4.9:** Evolución temporal de la población total de pigmento visual activado  $VP^*$  en (a) y el estado de un sitio fosforilado  $VP_1$  en (b), para la condición inicial  $VP_0=1$  y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista.



**Figura 4.10:** Evolución temporal de  $G$  en (a) y de  $PDE$  en (b), para la condición inicial 1  $VP$  activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista.

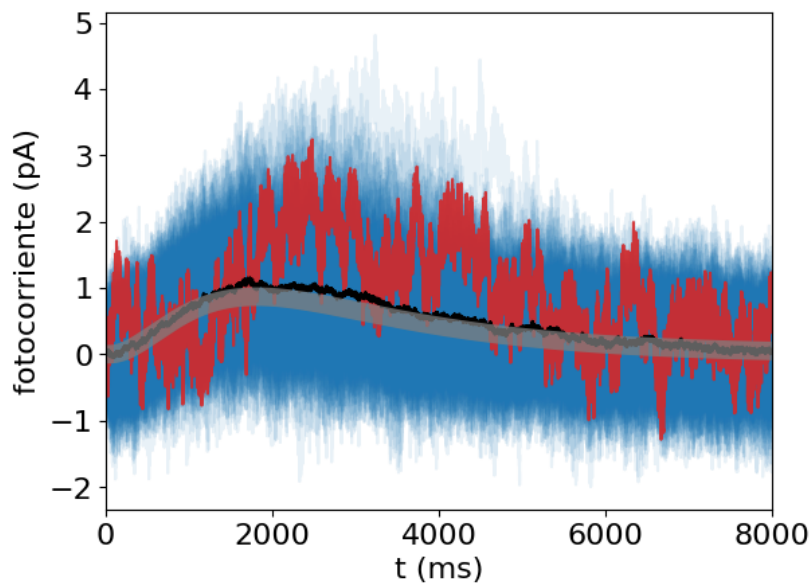
además de la frecuencias umbral a partir de la cual se tomaron las componentes como ruido y los niveles de ruido correspondientes. Igual que para el análisis de la sensibilidad del modelo determinista cambiamos uno a uno los parámetros de las reacciones aumentando o disminuyendo 10% respecto del valor en la tabla 4.1 y observando la PSD resultante para la fotocorriente. Finalmente, la sensibilidad la calculamos como el valor absoluto de la diferencia del nivel de ruido con el parámetro modificado y el nivel de ruido con los parámetros originales de la tabla 4.1 y dividimos esta diferencia por el nivel de ruido con los parámetros originales y promediado en ambas variaciones  $\pm 10\%$  de cada parámetro.

En la figura 4.14 podemos ver la sensibilidad del ruido de la fotocorriente a los parámetros de reacción. Podemos ver que esta varía muy poco respecto de si tomamos el

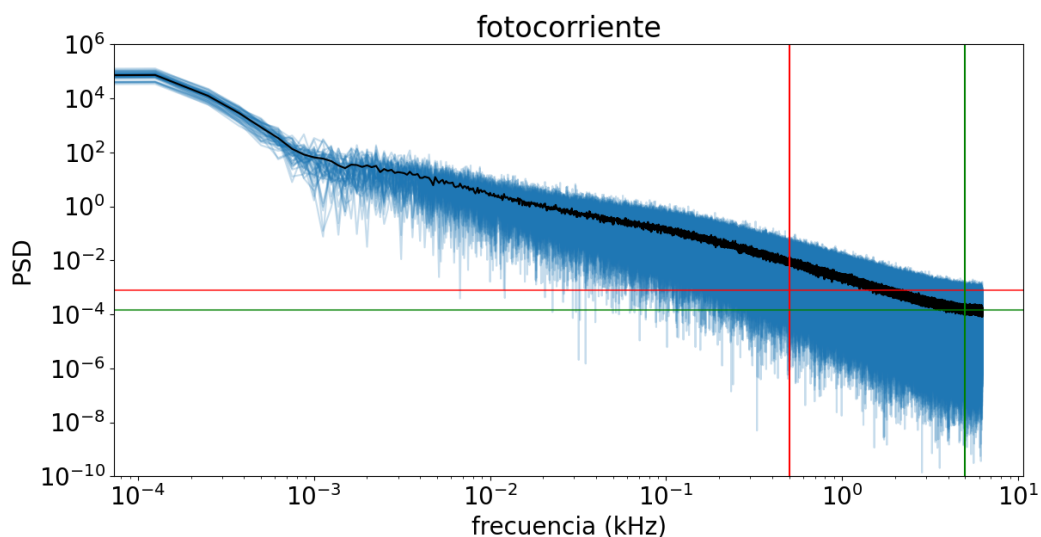


**Figura 4.11:** Evolución temporal del GC en (a) y de cG en (b), con condición inicial de 1 VP activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista

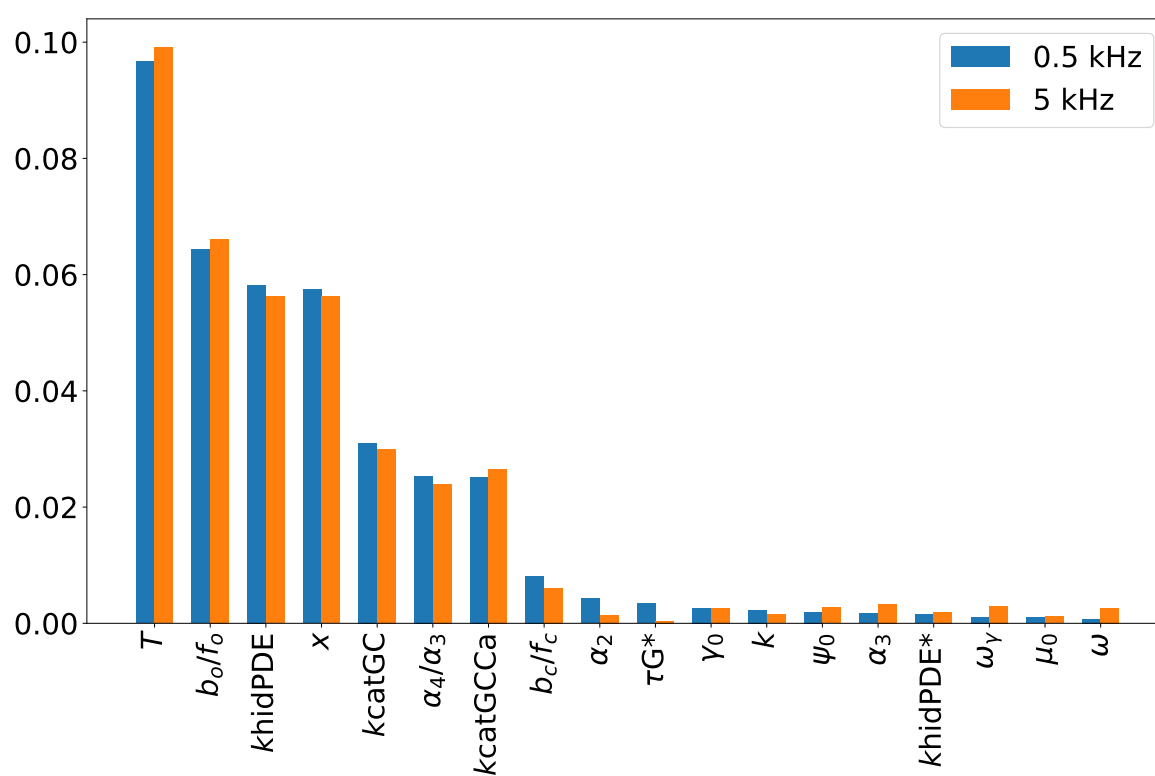
umbral de frecuencia como 0.5 kHz o 5 kHz, por lo que el resultado es robusto. Podemos ver que hay unos pocos parámetros mucho más sensibles que los otros: los parámetros  $T$  y  $b_o/f_o$ , relativos a la dinámica de los canales MWC abiertos; los parámetros  $k_{\text{catGC}}$ ,  $k_{\text{catGCCa}}$  y  $x$ , relativos a síntesis de cG; y los parámetros  $k_{\text{hidPDE}}$  y  $\alpha_4/\alpha_3$ , que dominan la tasas de síntesis e hidrolización de cG en el equilibrio. Para mayor detalle numérico de la sensibilidad del ruido ver el apéndice B.



**Figura 4.12:** Modelo de la fotocorriente para la condición inicial 1 VP activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 150 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo verde una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista



**Figura 4.13:** Ejemplo de PSD para la fotocorriente. En trazos azules se observan las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie y en negro el promedio de estas. La línea roja vertical marca 0.5 kHz y la línea roja horizontal marca el nivel de ruido que corresponde a esa frecuencia umbral. Análogamente la línea verde vertical marca 5 kHz y la línea verde horizontal el nivel de ruido correspondiente.



**Figura 4.14:** Sensibilidad del ruido de la fotocorriente a los parámetros de reacción, tomando distintas frecuencias umbrales 0.5 kHz y 5 kHz a partir de las cuales promediar PSD para obtener el nivel de ruido.



# Capítulo 5

## Conclusiones y perspectivas

### Conclusiones

En este trabajo realizamos un modelo determinista de la cascada bioquímica en los bastones, utilizando solo términos dados por la acción de masas, es decir sin términos fenomenológicos. Realizamos un ajuste de los parámetros de manera de producir curvas de fotocorriente semejantes a las que obtuvo Korenbrot [1] experimentalmente. Observamos que un modelo que considera una aproximación cuasiestática para la dinámica de canales iónicos controlados por cG genera curvas que logran reproducir el comportamiento biológico esperado. Caracterizamos la sensibilidad del modelo a los parámetros de este y encontramos que tiene el mismo orden de sensibilidad para todos.

Como el modelo solo emplea términos de acción de masas pudimos traducirlo a un modelo estocástico, que simulamos usando el algoritmo de Gillespie. Caracterizamos la sensibilidad del ruido de la fotocorriente a los parámetros del modelo. Encontramos que el ruido de la fotocorriente es particularmente sensible frente a modificaciones de los parámetros  $b_o/f_o$ ,  $T$ ,  $k_{\text{catGC}}$ ,  $k_{\text{catGCCa}}$ ,  $x$ ,  $k_{\text{hidPDE}}$  y  $\alpha_4/\alpha_3$ . Estos son los parámetros que dominan la dinámica de los canales iónicos controlados por cG abiertos, la dinámica de síntesis de cG y los valores de equilibrio de síntesis e hidrolizaron de cG.

### Perspectivas

Si se lograra hacer un ajuste más sistemático de los parámetros para la curva de fotocorriente se podrían comparar distintos aspectos del modelo, por ejemplo como afecta la variación de  $n_{\text{min}}$ .

Podría ser interesante tomar en cuenta la estructura del fotorreceptor en el modelo, es decir, tomar en cuenta la difusión y como se distribuyen en los discos los fotones que se absorben los fotones.

Por falta de tiempo no logramos hacer el estudio de la discriminación cromática por-

que no adaptamos el modelo para los conos. Para esto únicamente haría falta sustituir los parámetros de los bastones por los de los conos.

# Apéndice A

## Tabla de sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones

**Tabla A.1:** Sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones

Parámetro	cambio	$f = 13$	$f = 53$	$f = 307$	$f = 3509$	promedio
$\tau_{G^*} = 1793$ (ms)	-10 %	0.0951	0.0886	0.0804	0.0644	0.0822
	+10 %	0.0928	0.0859	0.0759	0.0557	0.0776
$k_{\text{hidPDE}^*} = 0,44$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0984	0.0788	0.0472	0.0295	0.0635
	+10 %	0.0964	0.0743	0.0426	0.0259	0.0598
$b_c/f_c = 0,06153$ ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0948	0.0703	0.0393	0.0236	0.0570
	+10 %	0.0927	0.0701	0.0397	0.0240	0.0566
$\psi_0 = 0,00003673$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{m}^2$ )	-10 %	0.0913	0.0723	0.0401	0.00897	0.0532
	+10 %	0.0895	0.0683	0.0362	0.00750	0.0504
$\gamma_0 = 0,0030501$ ( $\text{ms}^{-1}$ )	-10 %	0.0842	0.0671	0.0404	0.0150	0.0517
	+10 %	0.0712	0.0580	0.0357	0.0131	0.0445
$k_{\text{hidPDE}} = 0,0301$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0577	0.0463	0.0263	0.0144	0.0362
	+10 %	0.0515	0.0422	0.0248	0.0141	0.0331
$x = 2$	-10 %	0.0567	0.0446	0.0265	0.0166	0.0361
	+10 %	0.0507	0.0391	0.0228	0.0141	0.0316
$k_{\text{catGC}} = 0,03$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0437	0.0373	0.0249	0.0166	0.0306
	+10 %	0.0392	0.0336	0.0226	0.0153	0.0277
$b_o/f_o = 0,08054$ ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0416	0.0296	0.0157	0.00899	0.0240
	+10 %	0.0391	0.0280	0.0150	0.00870	0.0227
$\alpha_4/\alpha_3 = 0,06$ ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.0337	0.0280	0.0171	0.0101	0.0222
	+10 %	0.0337	0.0279	0.0169	0.00993	0.0221

**Tabla de sensibilidad del modelo determinista a los parámetros de las reacciones**

$\omega = 0,69$	-10 %	0.0360	0.0284	0.0164	0.00499	0.0214
	+10 %	0.0321	0.0256	0.0150	0.00466	0.0194
$\mu_0 = 0,0007981 \text{ (ms}^{-1}\text{)}$	-10 %	0.0148	0.0121	0.00775	0.00334	0.00950
	+10 %	0.0134	0.0110	0.00705	0.00297	0.00861
$k_{\text{catGCCa}} = 0,00275 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}\text{)}$	-10 %	0.0119	0.00579	0.00242	0.00177	0.00547
	+10 %	0.0128	0.00689	0.00250	0.00163	0.00596
$\alpha_3 = 0,1 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}\text{)}$	-10 %	0.00204	0.00287	0.00360	0.00263	0.00279
	+10 %	0.00167	0.00235	0.00297	0.00216	0.00229
$\omega_\gamma = 0,1$	-10 %	0.00271	0.00223	0.00144	0.000629	0.00175
	+10 %	0.00271	0.00223	0.00144	0.000630	0.00175
$k = 0,00005371 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{m}^2\text{)}$	-10 %	0.00209	0.00169	0.00117	0.000669	0.00141
	+10 %	0.00172	0.00139	0.000979	0.000571	0.00117
$T = 0,1 \text{ (ms)}$	-10 %	0.00131	0.000942	0.000543	0.000293	0.0221
	+10 %	0.00108	0.000773	0.000447	0.000242	0.000635
$\alpha_2 = 0,0015 \text{ (ms}^{-1}\text{)}$	-10 %	0.000278	0.000370	0.000474	0.000382	0.000376
	+10 %	0.000227	0.000302	0.000388	0.000312	0.000307

# Apéndice B

## Tabla de análisis de la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones con condición inicial

$$VP_0 = 13$$

En esta tabla se presenta el cociente del nivel de ruido con un parámetro cambiado sobre el nivel de ruido con los parámetros originales de la tabla 4.1. En lugar de la sensibilidad de la figura 4.14

**Tabla B.1:** Análisis de la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones con condición inicial  $VP_0 = 13$

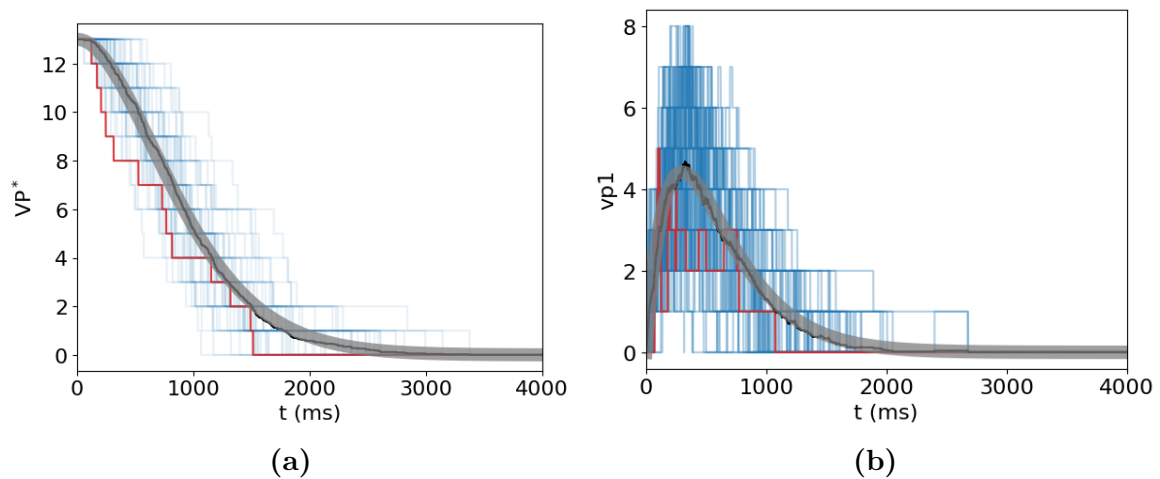
Parámetro	cambio	$J$	$G$	PDE	cG	GC
$T = 0,1$ (ms)	-10 %	0.9226	1.0273	1.0337	1.0481	1.0057
	+10 %	1.0748	0.9988	1.0092	1.0116	0.9807
$b_o/f_o = 0,08054$ ( $\mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	1.0848	0.9935	0.9929	1.0794	1.0138
	+10 %	0.9293	1.0170	1.0145	0.9770	0.9946
$x = 2$	-10 %	0.9245	1.0319	1.0365	1.3431	0.9962
	+10 %	1.0677	1.0400	1.0393	0.8517	1.0062
$k_{\text{hidPDE}} = 0,0301$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	0.9308	1.0346	1.0286	1.8486	1.0127
	+10 %	1.0691	0.9499	0.9410	0.5288	0.9670
$k_{\text{catGC}} = 0,03$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	1.0427	0.9964	0.9984	0.9301	0.9995
	+010 %	0.9687	1.0056	1.0024	1.1537	0.9977
$k_{\text{catGCCa}} = 0,00275$ ( $\text{ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$ )	-10 %	1.0399	1.0171	1.0225	0.8584	1.0020
	+10 %	0.9695	1.0019	1.0051	1.1559	0.9921
$\alpha_4 = 0,006$ ( $\text{ms}^{-1}$ )	-10 %	1.0337	0.9849	0.9774	0.8634	0.8969
	+10 %	0.9745	0.9715	0.9632	1.0083	1.0722

**Tabla de análisis de la sensibilidad del ruido a los parámetros de reacciones con  
46 condición inicial  $VP_0 = 13$**

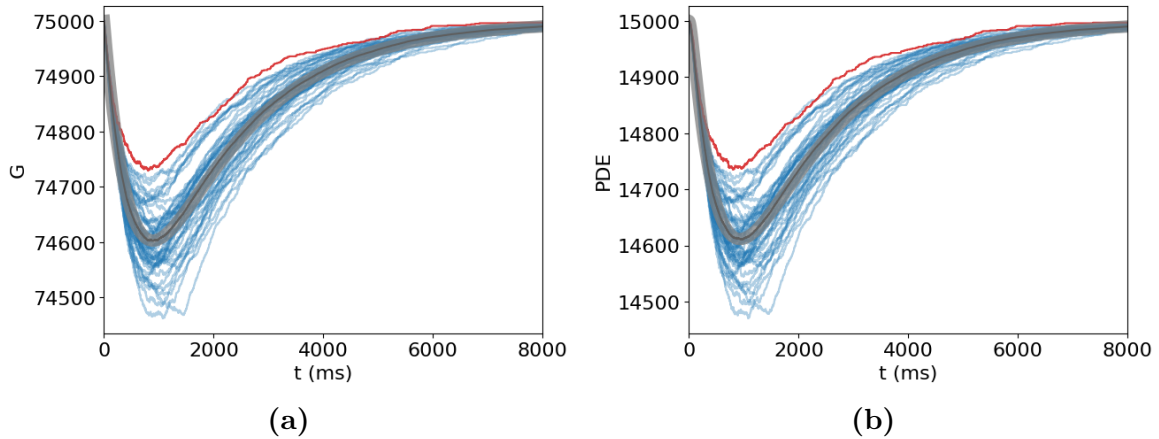
$b_c/f_c = 0,06153 \text{ (}\mu\text{M}^{-1}\text{)}$	-10 %	0.9982	1.0246	1.0231	08996	10209
	+10 %	1.0099	1.0288	1.0297	1.0904	1.0003
$\alpha_3 = 0,1 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}\text{)}$	-10 %	1.0010	1.0050	1.037	1.0754	0.9024
	+10 %	1.0054	1.0410	1.0403	1.0961	1.0778
$\omega_\gamma = 0,1$	-10 %	1.0019	1.0062	1.0026	1.0477	0.9787
	+10 %	1.0062	1.0238	1.0232	1.1318	1.0093
$\psi_0 = 0,00003673 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{m}^2\text{)}$	-10 %	0.9987	0.9407	0.9377	0.9726	0.9999
	+10 %	1.0006	1.1227	1.1191	1.1421	1.0136
$\omega = 0,69$	-10 %	1.0037	1.0653	1.0691	1.1532	0.9986
	+10 %	0.9997	1.0037	0.9949	1.0725	1.0001
$\gamma_0 = 0,0030501 \text{ (ms}^{-1}\text{)}$	-10 %	1.0029	1.0922	1.0819	1.1469	1.0151
	+10 %	1.0004	0.9460	0.9369	0.8821	0.9767
$k_{\text{hidPDE}^*} = 0,44 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{M}^{-1}\text{)}$	-10 %	1.0031	1.0182	1.0134	0.8566	0.9860
	+10 %	1.0060	0.9986	1.0006	1.1711	1.0137
$k = 0,00005371 \text{ (ms}^{-1} \mu\text{m}^2\text{)}$	-10 %	1.0049	1.0251	1.0342	1.0910	1.0003
	+10 %	1.0016	1.0547	1.0541	1.1549	1.0056
$\alpha_2 = 0,0015$	-10 %	1.0059	0.1.0687	1.0633	1.1689	1.0139
	+10 %	1.0007	1.0340	1.0201	1.0419	1.0118
$\mu_0 = 0,0007981 \text{ (ms}^{-1}\text{)}$	-10 %	1.0027	1.0624	1.0641	1.1119	1.0223
	+10 %	0.9976	1.0020	0.9999	0.9759	0.9941
$\tau_{G^*} = 1793 \text{ (ms)}$	-10 %	0.9981	0.9340	0.9317	0.5812	0.9554
	+10 %	1.0003	1.1713	1.1538	1.8480	1.0858

## Apéndice C

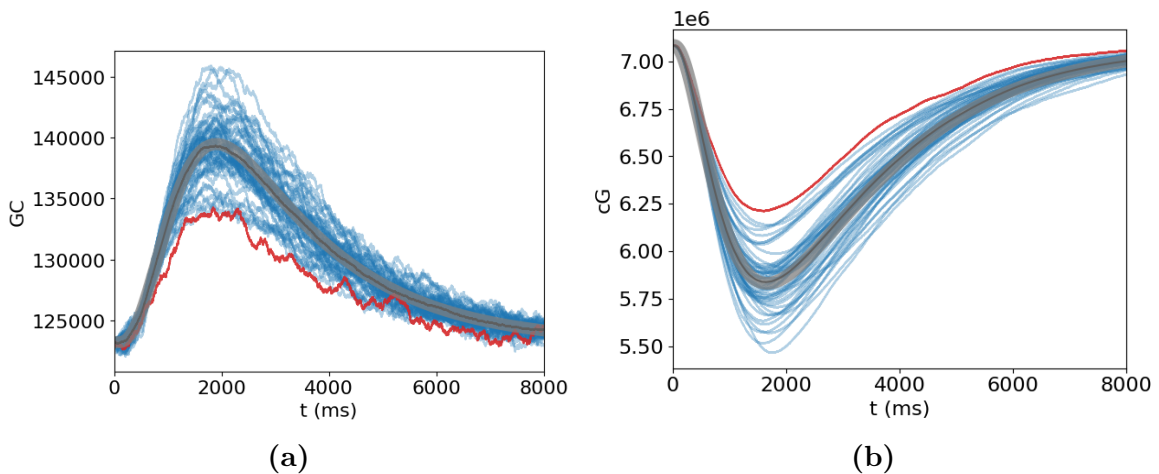
### Gráficas de realizaciones del algoritmo de Gillespie con condición inicial $VP_0 = 13$



**Figura C.1:** Evolución temporal de la población total de pigmento visual activado  $VP^*$  en (a) y el estado de un sitio fosforilado  $VP_1$  en (b), para la condición inicial  $VP_0=1$  y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista.

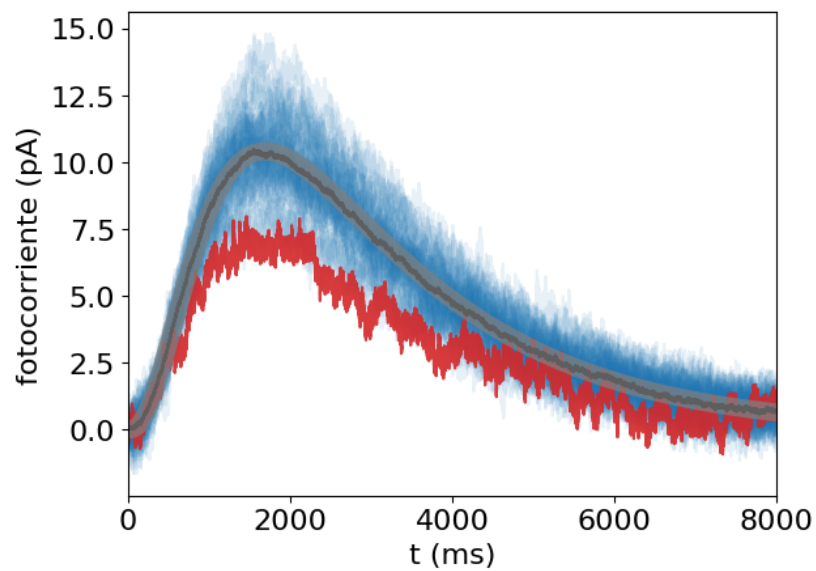


**Figura C.2:** Evolución temporal de  $G$  en (a) y de  $PDE$  en (b), para la condición inicial 13 VP activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista



**Figura C.3:** Evolución temporal del  $GC$  en (a) y de  $cG$  en (b), con condición inicial de 13 VP activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo rojo una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista





**Figura C.4:** Modelo de la fotocorriente para la condición inicial 13 VP activados y con los parámetros de la tabla 4.1. En trazos azules las 50 realizaciones del algoritmo de Gillespie, en trazo verde una realización en particular, en trazo negro el valor medio de las realizaciones y en trazo gris grueso el valor del modelo determinista



# Bibliografía

- [1] Korenbrot, J. I. Speed, sensitivity, and stability of the light response in rod and cone photoreceptors: Facts and models. *Progress in Retinal and Eye Research*, **31** (5), 442–466, sep. 2012. URL <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2012.05.002>. ix, 4, 16, 17, 27, 29, 33, 41
- [2] Kawamura, S., Tachibanaki, S. Explaining the functional differences of rods versus cones. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, **1** (5), 675–683, feb. 2012. URL [doi.org/10.1002/wmts.8](https://doi.org/10.1002/wmts.8). 1
- [3] Rodieck, R. *The First Steps in Seeing*. Sinauer, 1998. 3, 4, 5, 6, 25, 30
- [4] Gibson, S. K., Parkes, J. H., Liebman, P. A. Phosphorylation modulates the affinity of light-activated rhodopsin for g protein and arrestin. *Biochemistry*, **39** (19), 5738–5749, abr. 2000. URL <https://doi.org/10.1021/bi991857f>. 4, 16, 17
- [5] Hodgkin, A. L., Nunn, B. J. Control of light-sensitive current in salamander rods. *The Journal of Physiology*, **403** (1), 439–471, sep. 1988. URL <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017258>. 8, 27
- [6] Cornish-Bowden, A. *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. Elsevier Science, 2014. 9, 10
- [7] McKane, A. J., Newman, T. J. Stochastic models in population biology and their deterministic analogs. *Physical Review E*, **70** (4), oct. 2004. URL [doi.org/10.1103/physreve.70.041902](https://doi.org/10.1103/physreve.70.041902). 10
- [8] Gillespie, D. T. A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of Computational Physics*, **22** (4), 403–434, dic. 1976. URL [https://doi.org/10.1016/0021-9991\(76\)90041-3](https://doi.org/10.1016/0021-9991(76)90041-3). 12
- [9] Leskov, I. B., Klenchin, V. A., Handy, J. W., Whitlock, G. G., Govardovskii, V. I., Bownds, M., *et al.* The gain of rod phototransduction. *Neuron*, **27** (3), 525–537, sep. 2000. URL [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)00063-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00063-5). 19, 27, 30, 33

- [10] Peshenko, I. V., Olshevskaya, E. V., Savchenko, A. B., Karan, S., Palczewski, K., Baehr, W., *et al.* Enzymatic properties and regulation of the native isozymes of retinal membrane guanylyl cyclase (RetGC) from mouse photoreceptors. *Biochemistry*, **50** (25), 5590–5600, jun. 2011. URL <https://doi.org/10.1021/bi200491b>. 20, 28, 33
- [11] Marzen, S., Garcia, H. G., Phillips, R. Statistical mechanics of monod-wyman-changeux (MWC) models. *Journal of Molecular Biology*, **425** (9), 1433–1460, mayo 2013. URL [doi.org/10.1016/j.jmb.2013.03.013](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.03.013). 21
- [12] Nelson, P., Bromberg, S., Hermundstad, A., Kinder, J. From Photon to Neuron: Light, Imaging, Vision. Princeton University Press, 2017. 25
- [13] Yau, K.-W., Baylor, D. A. Cyclic GMP-activated conductance of retinal photoreceptor cells. *Annual Review of Neuroscience*, **12** (1), 289–327, mar. 1989. URL [doi.org/10.1146/annurev.ne.12.030189.001445](https://doi.org/10.1146/annurev.ne.12.030189.001445). 25
- [14] Reingruber, J., Pahlberg, J., Woodruff, M. L., Sampath, A. P., Fain, G. L., Holcman, D. Detection of single photons by toad and mouse rods. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110** (48), 19378–19383, nov. 2013. URL <https://doi.org/10.1073/pnas.1314030110>, supporting Information. 25, 33
- [15] Arshavsky, V. Y., Burns, M. E. Current understanding of signal amplification in phototransduction. *Cellular Logistics*, **4** (2), e29390, mayo 2014. URL <https://doi.org/10.4161/cl.29390>. 30
- [16] How many rhodopsin molecules are in a rod cell? URL <http://book.bionumbers.org/how-many-rhodopsin-molecules-are-in-a-rod-cell/>. 33

# Agradecimientos

A mi familia por su apoyo desde cerca y de lejos. A mis profesores que muchas veces me tuvieron más paciencia de la que me merecía, en particular a mi director. A mis compañeros porque no hubiera podido con la carrera sin ellos, en particular a Nacho. A Yhibo por su ayuda para hacer que ande el código de Gillespie. A Lichu y Chiky por su apoyo cuando no tenía tiempo para nada. Y al pabellón Sabato de la segunda temporada del 2022.

