

# Modeling The Electrical Activity in Myelinated Nerve Fibers: Towards the Electrophysiological Validation of Neuronal Bridges

Nilda M. De Marco<sup>1,2</sup>, María C. Socci<sup>1,2</sup>, Carla B. Goy<sup>1</sup>, Ana L. Albarracín<sup>1,2</sup>,  
Carmelo J. Felice<sup>1,2</sup> and Fernando D. Farfán<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Medios e Interfases (LAMEIN) y Laboratorio de Investigación en Neurociencias y Tecnologías Aplicadas (LINTEC), Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología (FACET),

Universidad Nacional de Tucumán (UNT), Tucumán, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO),

Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Tucumán, Argentina.

**Abstract**— When severe injuries occur in the Central or Peripheral Nervous Tissue, this often triggers events that permanently damage the neurological function, which leads to a reduction in the patient's quality of life. The use of bio-materials scaffolding to create bridges that re-establish the lost connections are promising, but currently, have limited applicability; and electrophysiological and biological validations demand considerable time, so it is still a field being explored by many investigators around the world. In this paper a simplified empirical model is proposed to describe an action potential generation and conduction through myelinic fibers. The model's electrophysiological validation was performed through qualitative analysis in three experimental situations that call for action potential: a) sciatic nerve in frog, b) giant lateral axons and giant medial axon in earthworm, and c) infraorbital nerve in rats. Results evidence the proposed empirical model's great versatility to the different evoked action potentials. The proposed model could become a valuable tool to determine the percentage of functionally connected fibers through neural bridges made of various materials.

**Keywords**— Compound action potential, differential recording, electrophysiological characterization, neuronal bridges.

**Resumen**— Cuando ocurren lesiones severas en el Tejido Nervioso Central o Periférico, a menudo se desencadenan eventos que dañan permanentemente la función neurológica conduciendo así al déficit motor y sensorial del paciente. El uso de andamios de biomateriales para crear puentes que restablezcan las conexiones perdidas son prometedores, pero actualmente tienen una aplicabilidad limitada y las validaciones biológicas y electrofisiológicas demandan un tiempo considerable por lo que aún sigue siendo un campo explorado por numerosos investigadores en todo el mundo. En este trabajo proponemos un modelo empírico simplificado que describe la generación y conducción de un potencial de acción compuesto a lo largo de fibras mielínicas. La validación electrofisiológica del modelo se realizó a través del análisis cualitativo en tres situaciones experimentales en las cuales se evocan potenciales de acción compuestos: a) nervio ciático del sapo, b) axones gigantes laterales y axón gigante medial de una lombriz, y c) nervio infraorbitario en ratas. Los resultados ponen en evidencia la gran versatilidad del modelo empírico propuesto a los diferentes potenciales de acción evocados. El modelo propuesto podría convertirse en una valiosa herramienta para determinar el porcentaje de fibras funcionalmente conectadas a través de puentes neuronales fabricados con diversos materiales.

**Palabras clave**— Potencial de acción compuesto, registro diferencial, caracterización electrofisiológica, puentes neuronales.

## I. INTRODUCCIÓN

Las lesiones traumáticas severas pueden conducir a una discapacidad de por vida en los pacientes, reducción de la calidad de vida y pesadas cargas económicas y sociales [1]. La lesión de médula espinal (LME) conduce frecuentemente a la pérdida permanente de las funciones neurológicas por debajo del nivel afectado. La recuperación del sistema nervioso central (SNC) es pobre debido a la débil capacidad de crecimiento intrínseca de los axones y a un microambiente inhibitorio, así como a la falta de sustratos de crecimiento adecuados y factores estimuladores del crecimiento, que limitan la regeneración axonal [2]. En la

actualidad el uso de andamios de biomateriales está siendo un campo muy explorado en la Ingeniería de Tejidos ya que pueden ser utilizados para llenar o tender un puente sobre la cavidad de la lesión, proporcionar un sustrato para la siembra celular, ofrecer orientación física para la regeneración de axones o actuar como vehículo para la administración de fármacos. Sin embargo, el uso de los mismos como puente para la reparación de LME y restablecimiento de conexiones perdidas es complicado y existen limitaciones debida al material utilizado que aún no han podido ser resueltas [3].

Por otro lado, cuando ocurre un traumatismo en el sistema nervioso periférico (SNP), la regeneración de tejidos y axones es generalmente más exitosa que la encontrada después de una lesión del SNC, debido principalmente a la respuesta pro-regenerativa de las células

de Schwann residentes; sin embargo, la restauración funcional después de lesiones nerviosas mayores (por ejemplo, de varios centímetros) generalmente es deficiente debido a la reinervación axonal insuficiente de los objetivos distales.

En la actualidad existen numerosas estrategias tanto *in vitro* como *in vivo* para crear puentes neurales utilizando distintos tipos de materiales de origen biológico y/o sintético con el objetivo de restablecer la propagación del impulso nervioso, el cual se ve interrumpido cuando ocurre un daño o sección en un nervio. Como ejemplo podemos nombrar: autoinjertos de nervio sensoriales, aloinjerto de nervio descelularizado, y tubos guías de nervios sintéticos o biológicos. Hasta la fecha, ni las estrategias de reemplazo con células exógenas ni los enfoques basados en biomaterial acelular han tenido éxito en la formación de tejido neural y la búsqueda de caminos axonales a larga distancia en el sistema nervioso [2].

Por otro lado, las evaluaciones biológicas y/o electrofisiológicas de biomateriales utilizados como injertos, son procedimientos de larga duración (entre 3 y 6 meses en ratas) [4] por lo cual sería interesante proponer un modelo matemático que pudiera predecir el grado de reconexión cuando se construye e implanta un puente neuronal entre dos extremos distales de un nervio seccionado. Este tipo de análisis podría convertirse en una valiosa herramienta para seleccionar y definir el mejor candidato entre distintos tipos de biomateriales propuestos como andamios para crear un puente neural en nervios dañados.

El objetivo principal de este trabajo es: a) proponer un modelo empírico de la actividad eléctrica conducida a través de fibras nerviosas mielínicas (potenciales de acción compuestos, CAP), analizar y validar electrofisiológicamente el grado de ajuste a diferentes situaciones experimentales tales como registros en nervios ciáticos, haces de fibras mielínicas en el nervio infraorbitario y fibras simples como los laterales y mediales de la lombriz. La hipótesis de esta investigación se basa en que el correcto modelado de la actividad en haces de fibras nerviosas mielínicas, y por consiguiente la predicción de la forma de onda a una determinada distancia de la generación del potencial de acción permite determinar el porcentaje de fibras funcionalmente conectadas a través del puente neuronal. La conceptualización de esta hipótesis se muestra en la Fig. 1.

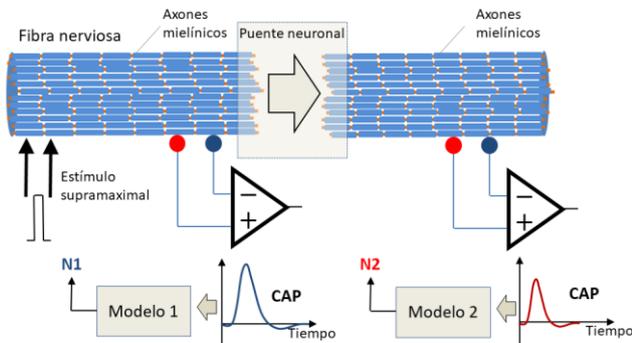


Fig. 1: Conceptualización de la hipótesis. A partir del correcto modelado de los CAP evocados es posible determinar N1 y N2 (p.e. número de fibras mielínicas activas) y por lo tanto el porcentaje de axones interconectados.

En este trabajo no se ha realizado un protocolo experimental de reconexión neuronal, sin embargo, se dejan

planteadas las bases neurofisiológicas y metodológicas de la validación de puentes neuronales.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se describen los aspectos anatómicos/funcionales de los diferentes sistemas utilizados en la validación experimental del modelo, como así también las bases teóricas del mismo. Los protocolos experimentales son brevemente descritos.

### A. Modelado empírico de la generación y propagación del potencial de acción nervioso

Un impulso nervioso,  $V_m$ , es capaz de propagarse a lo largo de un axón mielínico a una velocidad de conducción,  $v$ , la cual es directamente proporcional al diámetro de la fibra [5]. Tal propagación es realizada de un modo saltatorio, es decir, que el impulso nervioso se propaga desde un nodo a otro sin sufrir alteraciones de amplitud [6]. Así,  $V_m$  podría ser observado en cada uno de los nodos de Ranvier, pero en diferentes instantes de tiempo (Fig. 2A). Si un electrodo extracelular,  $e$ , es colocado en las cercanías de una fibra, podría observarse el potencial de acción de una fibra única (SFAP), el cual, matemáticamente, puede ser calculado como sigue:

$$SFAP = \sum_{i=-\infty}^{\infty} V_m \left( t - \frac{x_i}{v} \right) \cdot W_i \quad (1)$$

$$W_i = \begin{cases} W_{\max} \left( \frac{x_i - d_e}{d} \right) + W_{\max} & \text{if } d_e - d \leq x_i < d_e \\ -W_{\max} \left( \frac{x_i - d_e}{d} \right) + W_{\max} & \text{if } d_e \leq x_i \leq d_e + d \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

donde  $W_i$  es un factor de ponderación que depende de la conductividad longitudinal y el área transversal del intersticio, como así también de la distancia entre el  $i$ -ésimo nodo y el electrodo extracelular [7]. En la ec. 2,  $x_i$  es la distancia desde un hipotético origen en  $x = 0$  hasta el  $i$ -ésimo nodo,  $d_e$  es la distancia computada desde  $x = 0$  hasta el electrodo extracelular,  $d$  es la distancia entre la mínima y máxima atenuación de  $V_m$  (Fig. 2B).  $W_{\max}$  proporciona el mínimo factor de atenuación y ocurre en la posición longitudinal, cuya distancia entre el  $i$ -ésimo nodo y el electrodo de registro es mínima (posición  $x_i$  en la Fig. 2B).

En el modelo propuesto, se consideran  $N$  fibras mielínicas, por lo que  $W_{\max}$  es una función de la distancia perpendicular entre la  $j$ -ésima fibra y el electrodo de registro ( $df_j$  en la Fig. 2C).

$$W_{\max}(df) = \begin{cases} 1 - \frac{df}{\Theta_b} \alpha & \text{for } 0 \leq df < \frac{\Theta_b}{\alpha} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (3)$$

Donde  $\Theta_b$  es el diámetro del haz de fibras nerviosas, y  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad la cual está relacionada a la conductividad transversal del intersticio. La ec. 3 es una recta de pendiente negativa y ordenada al origen 1, es decir que  $W_{\max} = 1$  para  $df = 0$  (esto corresponde a una fibra que está en contacto con el electrodo de registro). Por otro lado,  $W_{\max} = 0$ , para una  $df = \Theta_b/\alpha$  (correspondiente a la actividad de la fibra más lejana). Luego para  $N$  fibras, el CAP es computado como sigue:

$$CAP_{e_1} = \sum_{j=1}^N SFAP_j \quad (4)$$

$$CAP = CAP_{e_1} - CAP_{e_2} \quad (5)$$

donde SFAP es generado por la  $j$ -th fibra y  $CAP_{e_1}$  es el potencial de acción compuesto registrado por el electrodo  $e_1$  (Fig. 2C). Finalmente, el CAP diferencial es obtenido con la ec. 5.

El modelo propuesto fue sometido a simulaciones específicas con el fin de evaluar su comportamiento en diferentes condiciones experimentales. Tres tipos de fibras mielínicas fueron considerados: 1) el nervio ciático de sapo, 2) axones gigantes laterales y axón gigante medial de una lombriz, y 3) el nervio infraorbitario de rata. La implementación del modelo, en todos los casos, tuvo en cuenta las siguientes consideraciones, según Reutskiy et al. y Wang et al. [11], [12]: el axón tiene simetría cilíndrica, la sección transversal de la fibra es constante, los nodos de Ranvier están igualmente espaciados, las corrientes iónicas activas están concentradas en el nodo de Ranvier, la membrana internodal es totalmente pasiva, la sección transversal del axón es isopotencial, las concentraciones de iones son constantes, las fibras son paralelas y los nodos de Ranvier están alineados (Fig. 2C), las fibras no son idénticas, no hay acoplamiento radial directa entre fibras vecinas.

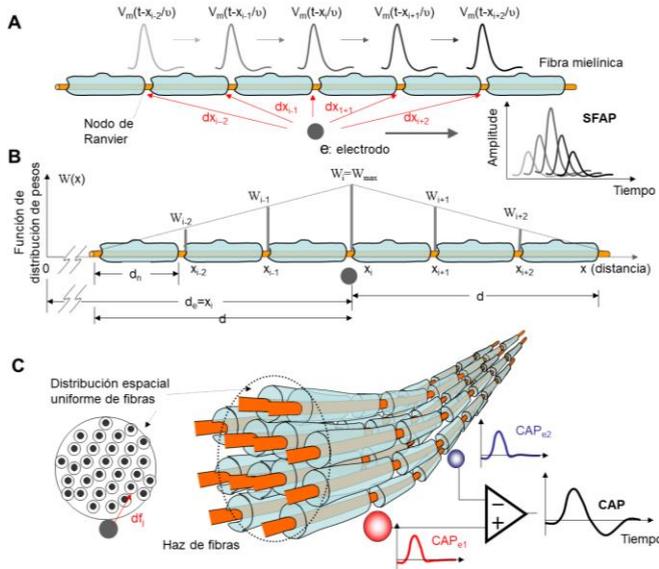


Fig. 2: Modelo simplificado de la actividad aferente multifibra. (A) Modelización del SFAP registrado a través de un electrodo de registro,  $e$ . La atenuación del impulso nervioso  $V_m$ , depende de la distancia entre el  $i$ -th nodo y el electrodo de registro. (B) Factor de atenuación en función de la distancia al electrodo de registro. El origen,  $x=0$ , es considerado como el punto de partida, en el cual se desencadena el impulso nervioso,  $V_m$ . (C) Consideraciones esquemáticas para la modelización de un CAP en un haz de fibras mielínicas. La disposición espacial de fibras tiene una distribución uniforme en toda el área transversal del haz.

**B. Simulación empírica de la propagación del potencial de acción compuesto en el nervio ciático de sapo**

Los parámetros morfológicos del nervio ciático fueron obtenidos de Wijesinghe et al. [13]. El nervio simulado tiene un diámetro de 1500  $\mu\text{m}$ , 4000 fibras mielínicas y distancia entre nodos 2000  $\mu\text{m}$ . Los diámetros de las fibras mielínicas tienen una distribución de frecuencias la cual es

directamente proporcional a la velocidad de conducción. Los electrodos de registros  $e_1$  y  $e_2$  son colocados a distancias  $d_{e1}$  y  $d_{e2}$ , respectivamente, de manera que la distancia mínima entre  $e_1$  y la  $j$ -ésima fibra es cero (ídem para  $e_2$ ). En estas condiciones, la simulación determina los CAPs observados por ambos electrodos (modos monopolar y diferencial), originados por la aplicación de un estímulo supramaximal en  $x = 0$ , el cual despolariza la totalidad de las fibras, desencadenando así la propagación de  $V_m$  a lo largo de cada una de ellas. Diferentes situaciones experimentales fueron simuladas:

- a) Variación de la distancia inter-electrodo ( $|d_{e1} - d_{e2}|$ ).  $e_1$  fue colocado a  $d_{e1}=1\text{cm}$ , y  $e_2$  fue colocado a distancias de modo que  $|d_{e1} - d_{e2}|$  fue 1, 2, 3, 4, 5 y 6 cm.
- b) Variación de la posición longitudinal de los electrodos de registro. La distancia inter-electrodo se mantuvo constante ( $|d_{e1} - d_{e2}|=1\text{cm}$ ), mientras que el par de electrodos fue desplazado longitudinalmente a 1, 2, 3, 4, 5 y 6 cm.

**C. Validación electrofisiológica del modelo en potenciales de acción evocados en fibras nerviosas de la lombriz**

Como modelo experimental, los invertebrados tales como las lombrices (*Lumbricus terrestris*) cuentan con un sistema nervioso más simple, el cual principalmente se organiza en un cordón nervioso ventral central que cuenta con tres grandes fibras nerviosas, una gigante mediana (MGF) y otras dos laterales (LGF), con diámetros aproximadamente de 0.07 mm y 0.05 mm respectivamente (Fig. 3A). Las mismas son responsables en gran medida de los reflejos y contracciones propias de las lombrices. En el caso de las fibras laterales, se encuentran interconectadas por lo que pueden considerarse una sola fibra. Una destacada ventaja es que las lombrices sobreviven a los experimentos a pesar de ser anestesiadas; además, debido a que poseen una piel más delgada pueden hacerse mediciones sin ser diseccionadas. [14]

Para los experimentos fueron usadas lombrices *Eisenia andrei* en etapa adulta (varios meses de edad) las cuales fueron mantenidas y cuidadas en el laboratorio. Estas fueron anestesiadas en una solución alcohólica al 10%. La misma fue preparada con 10ml de vodka (etanol al 40%) en 30ml de agua corriente. Se las sumergió entre 5 a 10 minutos en la solución hasta observar flacidez en los músculos, luego fueron ligeramente lavadas con agua para quitar los residuos de alcohol [15].

Los potenciales de acción fueron evocados eléctricamente a través de electrodos metálicos dispuestos según la Fig. 3B, mientras que los electrodos de registro mantuvieron una configuración bipolar. La lombriz fue colocada sobre los electrodos de estimulación, registro y referencia de manera que su zona ventral hiciera contacto con todos los electrodos (Fig. 3B). La estimulación consistió en un pulso de 0.5 ms de duración y un rango de amplitud de 5V a 7.5V, generado con un estimulador Grass. Los registros de los potenciales evocados fueron adquiridos con un sistema Biopac Student Lab Pro MP30, a una frecuencia de muestreo de 25 kHz.

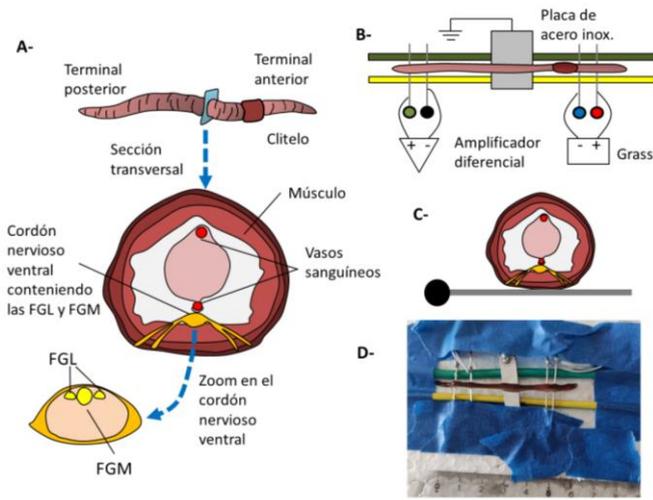


Fig. 3: Setup experimental para el registro de potenciales de acción evocados en las fibras nerviosas FGL (fiber giant lateral) y FGM (fiber giant medial). (A) Breve descripción de la anatomía de la lombriz de tierra. (B) Diagrama esquemático de la disposición de los electrodos de estimulación eléctrica, registro y referencia. (C) Posición relativa del electrodo de registro con el cordón nervioso ventral. (D) Fotografía del setup experimental.

**D. Validación electrofisiológica del modelo en potenciales de acción evocados en el nervio infraorbitario de la rata.**

Para validar experimentalmente las simulaciones sobre el nervio infraorbitario se realizaron experimentos agudos en ratas Wistar macho de 300 – 350 gr, bajo anestesia general con Uretano (150 mg/kg). Se expuso el nervio infraorbitario (IO) del lado derecho y se seccionó distalmente el nervio a la altura en que el IO ingresa a la región de las vibrissas (Fig. 4A).

Se insertaron, con una aguja hipodérmica, dos electrodos de estimulación (alambres de nichrome, 0.2 mm de diámetro; se retiró la capa aislante en alrededor de 0.5 mm del extremo) en el tronco del nervio infraorbitario. La distancia inter-electrodos de estimulación fue de 2.5 mm (Fig. 4A).

Se tomaron registros de la actividad del nervio IO con electrodos bipolares de plata, colocados sobre el nervio, y separados entre sí por aproximadamente 4 mm. La distancia entre los electrodos de estimulación y los de registros fue de 1.2 cm. Se estimuló con pulsos rectangulares de 1 Hz (30  $\mu$ s de duración, supramaximales). Se tomaron 40 registros de 7 msec cada uno y, posteriormente, se promediaron los CAPs generados.

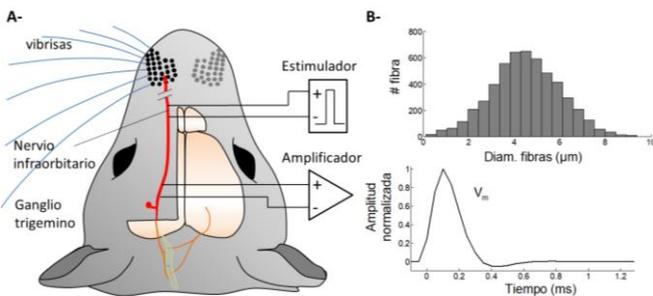


Fig. 4: Setup experimental para el registro de potenciales de acción compuesto (CAP) en el nervio infraorbitario. (A) Diagrama esquemático del protocolo experimental utilizado. (B) Consideraciones teóricas del modelo: Arriba, histograma de la distribución de diámetros pertenecientes a un haz de 5207 fibras miélicas, abajo, impulso nervioso que se propaga a lo largo de todas las fibras del nervio infraorbitario.

**III. RESULTADOS**

La modelización propuesta en este trabajo requiere el conocimiento previo de ciertas características anatómicas/funcionales de las fibras nerviosas miélicas, tales como diámetro total, distribución estadística de los diámetros de las fibras, velocidad de conducción, el impulso nervioso medido en los nodos de Ranvier, para poder estimar adecuadamente la morfología de los CAPs evocados. Así mismo, son requeridos características específicas del setup experimental que se desea simular, tales como la posición de los electrodos de registro, respecto del lugar donde se genera el impulso nervioso (p.e. posición del electrodo de estimulación).

**A. Simulación de CAPs en el nervio ciático**

La Fig. 5A muestra la simulación de CAPs diferenciales para distancias inter-electrodos incrementales. El electrodo  $e_1$  se mantiene en la posición 10000 $\mu$ m, mientras la posición de  $e_2$  varía. Se observa que la duración del CAP tiene un comportamiento incremental con  $|d_{e1} - d_{e2}|$ . Es importante destacar que la simulación de cada situación experimental fue repetida 10 veces, con la intención de observar la variabilidad debido a la distribución aleatoria de las fibras sobre la superficie transversal del haz.

El incremento de la distancia entre los electrodos de registro y el origen de los impulsos nerviosos produce una disminución en la amplitud del CAP diferencial, mientras la duración de estos se mantiene constante (Fig. 5B). Al mismo tiempo se observa la aparición de picos secundarios debido al aporte de fibras de menor diámetro (menor velocidad de propagación). Estas simulaciones fueron realizadas considerando una conductividad longitudinal del intersticio tal que el electrodo de registro es capaz de capturar la actividad de una fibra en contacto hasta a una distancia de 10000  $\mu$ m hacia ambos lados del mismo (equivalente a 5 nodos de Ranvier hacia cada lado). Así mismo se consideró en todos los casos que el impulso nervioso evocado en cada una de las fibras es de 0.5 ms de duración y amplitud unitaria en  $t = 0$ .

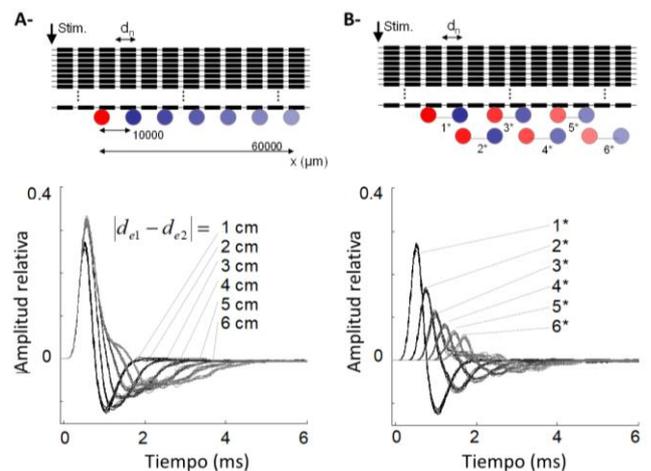


Fig. 5: Simulaciones en el nervio ciático. Las características morfológicas del nervio simulado fueron: diámetro del haz 1500 $\mu$ m, 10 nodos,  $d_n=2000\mu$ m, posiciones de  $e_1$  y  $e_2$ , variables. (A) Variación de la distancia inter-electrodo. La posición del electrodo  $e_1$  no varía y es 10000 $\mu$ m. (B) CAPs diferenciales obtenidos desde los electrodos colocados a diferentes distancias. En todos los casos 10 simulaciones fueron realizadas.

### B. Potenciales de acción en las fibras nerviosas de la lombriz

Los registros de los potenciales de acción evocados en los nervios gigantes laterales y medial fueron obtenidos a través de un protocolo de estimulación eléctrica incremental. Partiendo de una amplitud de 5V, sin respuesta evocada, y luego incrementando a 5.5V y 6V. A partir de lo observado en la Fig. 6A se establece el valor de amplitud de estimulación supramaximal (6V). Las respuestas evocadas por esta estimulación fueron promediadas y representadas gráficamente para su posterior determinación de los tiempos  $t_{FGL} = 8.2\text{ms}$  y  $t_{FGM} = 5\text{ms}$ . Conociendo la distancia entre los electrodos de estimulación y los de registro, fue posible determinar las velocidades de conducción de las fibras gigantes laterales (4.87 m/s) y la fibra gigante medial (7.9 m/s).

Con estos valores de conducción se simuló la generación del CAP en la lombriz de tierra. Para ello, además se utilizaron los siguientes parámetros. Distancia desde el electrodo de estimulación al  $e_1 = 35000\text{ }\mu\text{m}$  (3.5 cm), al  $e_2 = 45000\text{ }\mu\text{m}$  (4.5 cm), distancia internodal = 1000  $\mu\text{m}$ . Al igual que en las simulaciones realizadas en el CAP del nervio ciático, se consideró una conductividad longitudinal del intersticio tal que el electrodo de registro es capaz de capturar la actividad de una fibra en contacto hasta una distancia equivalente a 5 nodos de Ranvier hacia cada lado. En todos los casos se consideró que el impulso nervioso evocado en cada una de las fibras es de 0.5 ms de duración y amplitud unitaria en  $t = 0$ . El resultado de la simulación muestra un buen ajuste de la onda registrada experimentalmente (Fig. 6B), sin embargo, un potencial negativo, posterior a los 10 ms no se ajusta adecuadamente el registro experimental. Esta particularidad se debe a que la forma de onda registrada ha sido alterada por un detrending no lineal aplicado a todos los registros para quitar un artefacto de baja frecuencia.

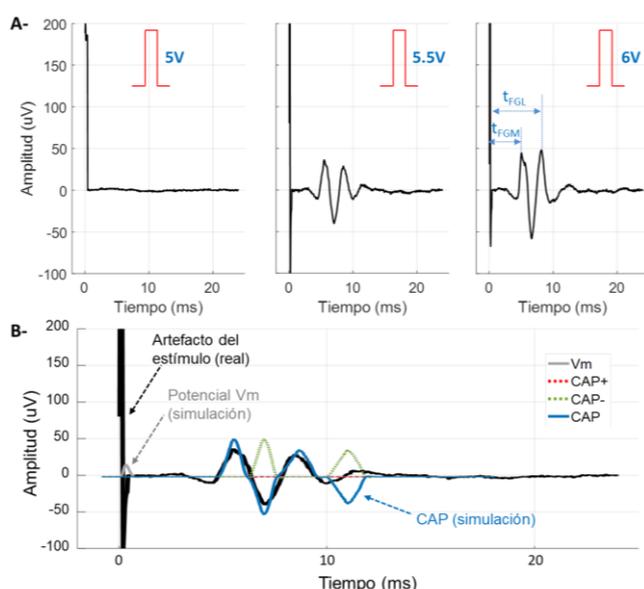


Fig. 6: Registro y simulación de los potenciales de acción evocados en la lombriz de tierra. (A) Forma de onda promedio de 10 potenciales de acción registrados. En la primera grafica se estimuló con 5V y no se observa potencial evocado. Estimulando con 5.5V se evoca un potencial compuesto por la actividad de las fibras gigantes laterales y medial. Se establece un valor de 6V como valor supramaximal (gráfica del extremo derecho). (B) Resultado de la simulación, las velocidades de conducción fueron determinadas de A.

### C. Modelización y ajuste del CAP evocado en el nervio infraorbitario

La Fig. 7A muestra las simulaciones obtenidas en el nervio infraorbitario, teniendo en cuenta características morfológicas específicas. Debido a que la distancia entre nodos de Ranvier no se encuentra en la bibliografía citada, hemos considerado: 500, 1000, 1500 y 2000  $\mu\text{m}$ . La duración del impulso nervioso es constante e igual a 0.5 ms. Los CAPs diferenciales así simulados muestran variaciones de amplitud y duración. Finalmente, los CAPs registrados experimentalmente pueden ser descritos por el modelo propuesto tal como se muestra en la Fig. 7B. Es importante destacar que las simulaciones realizadas requieren el conocimiento previo de la velocidad de propagación promedio, la cual, en este trabajo, fue experimentalmente determinada empleando el protocolo descrito anteriormente.

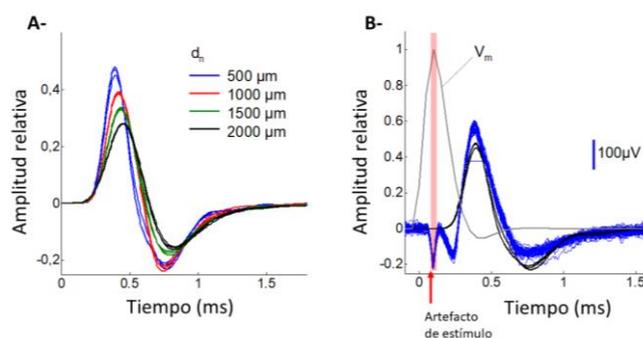


Fig. 7: Simulaciones en el nervio infraorbitario y registros experimentales. (A) CAPs diferenciales obtenidos para fibras con diferentes distancias entre nodos. Tres simulaciones fueron realizadas para cada caso. Las amplitudes de los CAPs son relativas al impulso nervioso ( $V_m$ ). Las especificaciones comunes de estas simulaciones fueron: diámetro del haz 1265 $\mu\text{m}$ , 10 nodos,  $d_n$ =variable, posiciones de  $e_1$  y  $e_2$ , 12000 y 16000 $\mu\text{m}$ , respectivamente. (B) 40 registros CAPs diferenciales obtenidos experimentalmente (azul) y 3 CAPs simulados (líneas de trazo negro). El impulso nervioso coincide temporalmente con el artefacto de estímulo en los registros experimentales.

## IV. DISCUSIONES

La caracterización electrofisiológica *in vitro*, o *in vivo*, de fibras mielínicas periféricas es un procedimiento estándar que permite determinar aspectos funcionales del nervio, tales como, velocidad de conducción, distribución de fibras mielínicas/no-mielínicas, y características refractarias temporales de las fibras nerviosas [5]. Para ello, la morfología temporal del potencial de acción compuesto (CAP, por sus siglas en inglés), registrado en un haz de fibras nerviosas, es analizada [16]. Para el modelado del CAP se utilizan diversos tipos de aproximaciones, frecuentemente referidos como modelos físicos, los cuales determinan analíticamente los potenciales de acción de fibra única (SFAPs) usando la teoría de conducción por volumen y descripciones de la actividad eléctrica intracelular [17][18], mientras que otras, referidos como modelos empíricos, establecen la forma de onda del SFAP y se asumen ciertas condiciones de propagación sobre el haz de fibras [7]-[10]. Sin embargo, en todos los casos, las formulaciones requeridas tienen implementaciones matemáticas complejas.

En este trabajo proponemos un modelo simplificado de la actividad electrofisiológica de un haz de fibras mielínicas, el cual permite predecir la forma de onda del CAP registrado en diferentes condiciones experimentales.

Nuestra aproximación empírica permite simular condiciones experimentales tales como: adquisición del CAP en forma monopolar/diferencial, variación de forma de onda del CAP en función de la posición y distancia entre electrodos de registro, cambios del CAP en función de la morfología intrínseca del impulso nervioso, contribución electrofisiológica de fibras anatómicamente diferentes y el efecto de los cambios de conductividad eléctrica del intersticio. El modelo reúne conocimientos físico-químicos de la generación y propagación de potenciales en fibras mielínicas, conducción por volumen, propiedades eléctricas del medio, y son implementados a través de simples parámetros cualitativos [19].

La validación fue realizada a través del análisis cualitativo de simulaciones de CAPs obtenidos en el nervio ciático de sapo bajo diferentes condiciones experimentales, y a través de registros experimentales de CAPs registrados en el nervio infraorbitario de rata y en las fibras gigantes lateral y medial de la lombriz de tierra. Los resultados revelan un adecuado ajuste del modelo a registros CAP obtenidos experimentalmente. La intuitiva parametrización, utilizada por nuestra aproximación, facilita su implementación e interpretación de resultados, del mismo modo que le proporciona gran versatilidad y robustez.

La modelización matemática del CAP ha permitido revelar aspectos funcionales específicos, los cuales muchas veces resultan experimentalmente dificultosos de acceder, tales como la contribución electrofisiológica de diferentes haces de fibras mielínicas [20]. Si bien las predicciones aún deben ser validadas directamente por experimentos, la metodología propuesta puede ser utilizada en el tratamiento de lesiones del sistema nervioso, como así también en la evaluación de andamios celulares para la reconstitución de caminos nerviosos. Estos últimos frecuentemente presentan limitaciones ya que los axones regenerativos no pueden atravesar el material debido a que no presentan la geometría y/o porosidad adecuada [3], por lo que el correcto modelado de este sistema sería atractivo para su uso en metodologías predictivas para la determinación del porcentaje de reconexión/regeneración de fibras nerviosas.

## V. CONCLUSIONES

El modelo propuesto reúne, de manera cualitativa y cuantitativa, las características más relevantes de la conducción nerviosa en fibras mielínicas, permitiendo así parametrizar, de manera simplificada e intuitiva, condiciones experimentales reales. Permite la entrada de parámetros simples, los cuales pueden representar condiciones intrínsecas y dinámicas de la conducción nerviosa. La validación experimental ha demostrado un adecuado ajuste del modelo. Finalmente, la evaluación global del modelo, revela importantes características de simplicidad, versatilidad y robustez. Esta herramienta teórica podría ser de gran provecho en el futuro para áreas como la ingeniería de tejido enfocándonos en el tratamiento de lesiones en el sistema nervioso como es el caso de la LME y otras enfermedades de tipo neurodegenerativas. Poder predecir según el material y arquitectura, que porcentaje de fibras funcionalmente conectadas se recuperan luego de realizada la implantación, así como la velocidad de conducción y/o la amplitud del impulso nervioso, es fundamental a la hora de inclinarse hacia una combinación en particular (de biomateriales) y/o estrategias para la reparación de diferentes heridas/lesiones nerviosas.

## REFERENCES

- [1] Li, X., & Dai, J. (2018). Bridging the gap with functional collagen scaffolds: tuning endogenous neural stem cells for severe spinal cord injury repair. *Biomaterials science*, 6(2), 265-271.
- [2] Gu, Y., Zhu, J., Xue, C., Li, Z., Ding, F., Yang, Y., & Gu, X. (2014). Chitosan/silk fibroin-based, Schwann cell-derived extracellular matrix-modified scaffolds for bridging rat sciatic nerve gaps. *Biomaterials*, 35(7), 2253-2263.
- [3] Zhu, W., Zhang, H., Chen, X., Jin, K., & Ning, L. (2018). Numerical characterization of regenerative axons growing along a spherical multifunctional scaffold after spinal cord injury. *PloS one*, 13(10), e0205961.
- [4] Wang, Z., Fan, J., Yang, X., Zhang, W., Zhang, P., & Jiang, B. (2018). The neural regeneration effect of chitin biological absorbable tubes bridging sciatic nerve defects with sural nerve grafts. *American journal of translational research*, 10(8), 2362.
- [5] T. C. Ruch, *Physiology and biophysics*, 20th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1973.
- [6] L. Goldman and J. S. Albus, "Computation of Impulse Conduction in Myelinated Fibers; Theoretical Basis of the Velocity-Diameter Relation," *Biophys J*, vol. 8, no. 5, pp. 596-607, May 1968.
- [7] L. N. S. Andreasen and J. J. Struijk, "Signal strength versus cuff length in nerve cuff electrode recordings," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 49, no. 9, pp. 1045-1050, Sep. 2002.
- [8] A. J. McComas, Galvani's Spark: The Story of the Nerve Impulse
- [8] N. M. Bogatov, L. R. Grigoryan, E. G. Ponetaeva, and A. S. Sinisyn, "Calculation of action potential propagation in nerve fiber," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 114, no. 3, pp. 170-174, May 2014.
- [9] D. J. Caddy, H. R. Kranz, and R. A. Westerman, "Electrophysiological determination of peripheral nerve conduction velocity distribution," in *New Approaches to Nerve and Muscle Disorders. Basic and Applied Contributions*, vol. 5, A. D. Kidman, J. K. Tomkins, and R. A. Westerman, Eds. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1981, p. 418.
- [10] G. Contento, V. Barbina, M. R. Malisan, R. Padovani, R. Budai, and I. Pittaro, "Dependence of the linear model for the nerve compound action potential on the single fibre action potential waveform," *Clin Phys Physiol Meas*, vol. 4, no. 4, pp. 417-433, Nov. 1983.
- [11] S. Reutskiy, E. Rossoni, and B. Tirozzi, "Conduction in bundles of demyelinated nerve fibers: computer simulation," *Biol Cybern*, vol. 89, no. 6, pp. 439-448, Dec. 2003.
- [12] T. Wang and Z. Fan, "A modified bidomain model for extracellular potential of the active bundle of compound nerve fibres," in *1992 14th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 1992, vol. 2, pp. 827-828
- [13] R. S. Wijesinghe, F. L. Gielen, and J. P. Wikswo, "A model for compound action potentials and currents in a nerve bundle. I: The forward calculation," *Ann Biomed Eng*, vol. 19, no. 1, pp. 43-72, 1991.
- [14] Kladt, N., Hanslik, U., & Heinzl, H. G. (2010). Teaching basic neurophysiology using intact earthworms. *Journal of Undergraduate Neuroscience Education*, 9(1), A20.
- [15] Shannon, K. M., Gage, G. J., Jankovic, A., Wilson, W. J., & Marzullo, T. C. (2014). Portable conduction velocity experiments using earthworms for the college and high school neuroscience teaching laboratory. *Advances in physiology education*, 38(1), 62-70.
- [16] F. Buchthal and A. Rosenfalck, "Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves," *Brain Research*, vol. 3, no. 1, pp. v-122, Nov. 1966
- [17] A. T. Barker, B. H. Brown, and I. L. Freeston, "Modeling of an Active Nerve Fiber in a Finite Volume Conductor and Its Application to the Calculation of Surface Action Potentials," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-26, no. 1, pp. 53-56, Enero 1979.
- [18] R. Schoonhoven, D. F. Stegeman, and J. P. C. DE Weerd, "The Forward Problem in Electroneurography I: A Generalized Volume Conductor Model," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-33, no. 3, pp. 327-334, Mar. 1986.
- [19] R. M. Silverman and P. M. Brunett, *The Compound Action Potential: An Introduction of Principles of Neurophysiology*. Phipps & Bird, Incorporated, 1978.
- [20] R. Schoonhoven, D. F. Stegeman, and A. van Oosterom, "The Forward Problem in Electroneurography II: Comparison of Models," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-33, no. 3, pp. 335-341, Mar. 1986.



**Nilda María De Marco** es Lic. en Biotecnología de la Universidad Nacional de Tucumán. Becaria CONICET. Estudiante del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Tucumán. Su área de interés es la electrofisiología y espectroscopia de impedancia.



**María Cecilia Socci** es Lic. en Biotecnología de la Universidad Nacional de Tucumán. Becaria CONICET. Estudiante doctoral del doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Tucumán en el área Ingeniera de Tejido.



**Carla Belén Goy** es Ingeniera Biomédica y Dra. en Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de Tucumán. Actualmente es docente del Departamento de electricidad, electrónica y computación. Sus áreas de interés son la bioingeniería, microfluídica, microelectrónica y sistemas vestibles.



**Ana L. Albarracín** es Bióloga y Dra. en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Tucumán. Docente en la Facultad de Medicina (UNT) e Investigador adjunto CONICET. Es integrante/investigador del LINTEC. Sus áreas de investigación son las neurociencias, electrofisiología animal y Parkinson.



**Carmelo J. Felice** es ingeniero en electrónica y Doctor en Bioingeniería de la Universidad Nacional de Tucumán. Es investigador principal del CONICET y se desempeña como profesor titular en la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología. Sus áreas de interés es la espectroscopía de impedancia.



**Fernando D. Farfán** es Ingeniero Electrónico, Magister en Bioingeniería y Doctor en Ciencias Biológicas. Actualmente es Profesor Adjunto en la carrera de Ingeniería Biomédica (UNT) e Investigador adjunto en CONICET. Es director del LINTEC. Sus áreas de interés son las neurociencias, biomimética, biomecánica y el procesamiento de señales.