

Constante de tempo da membrana (Lesson 2).

Essa lição e a próxima simulam as propriedades passivas da membrana.

Na lição 2, no painel de controle temos as variáveis que controlam a resistência e capacitância da membrana, a esquerda, e no centro e a direita temos o controle do estímulo. Na parte de baixo temos o da escala do gráfico.

-Para facilitar a visualização dos dados altere *sweep duration* para 300 ms e *sweep width* para 100 ms.

1) Usando os valores padrões de resistência de membrana ($10 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$) e amplitude do pulso (11 pA) calcule **graficamente** o valor da constante de tempo (τ) da membrana. Compare com a resistência da membrana mostrada no painel de controle.

2) Nesse exercício vamos demonstrar a lei de ohm. Altere a amplitude do estímulo para 5 pA e 15 pA, meça a alteração de potencial causado pela injeção e corrente (inclusive em $10 \mu\text{A}$), faça um gráfico plotando a corrente injetada versus a alteração de potencial e calcule a resistência da membrana. Altere a resistência da membrana dobrando-a e pela metade e faça os gráficos

3) Nesse exercício vamos demonstrar a influência da resistência da membrana na constante de tempo da mesma. Mantendo a amplitude do estímulo em 11 pA, altere a resistência da membrana para 1 e $20 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$ e meça a constante de tempo da membrana.

Constante de espaço da membrana (Lesson 3).

Nessa lição o painel de controle temos o controle das variáveis das propriedades dos axônios e dendritos e do estímulo. Na extrema esquerda podemos selecionar se queremos ver as alterações de potencial pela distância ou pelo tempo. Vamos observar as alterações do potencial com a distância.

- Para facilitar a visualização dos dados altere *Length* para $2000 \mu\text{m}$ e amplitude para 11 pA.

4) Meça graficamente a constante de espaço da membrana.

5) Nesse exercício vamos estudar o efeito da resistência da membrana e do citoplasma na constante de espaço. Altere os parâmetros do axônio como nas opções abaixo, meça a constante de espaço da membrana e explique seus resultados.

a) Altere a resistência da membrana de 5 para 1 e $50 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$.

b) Volte a resistência da membrana para $5 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$. Altere o diâmetro do axônio para 0,5 e 1 micrometro

Questões:

1. Fisiologicamente em um neurônio, o que alteraria a sua resistência da membrana? Explique.
2. Dois neurônios, um com constante de tempo é de 2 ms e outro que é de 20 ms. Como eles difeririam no disparo de potenciais de ação? Qual seria o melhor para seguir fielmente uma frequência de estímulo de 200 Hz (1 estímulo a cada 5 ms)?
3. Explique os efeitos da resistência da membrana sobre a constante de espaço. Explique usando um modelo elétrico do axônio.
4. Explique os efeitos do diâmetro do axônio sobre a constante de espaço. Explique usando um modelo elétrico do axônio.
5. Explique os efeitos da bainha de mielina sobre a constante de tempo, de espaço e velocidade de propagação do sinal elétrico ao longo do axônio.

Problemas sobre potencial de ação

Potencial de ação (Lesson 4).

Nessa lição é simulado o potencial de ação do nervo usando-se os parâmetros clássicos de Hodgkin e Huxley. Simula-se um nervo com uma condutância de sódio e outra de potássio, dependentes de potencial, e uma de vazamento, não dependente de potencial.

Nos painéis de controle podemos controlar as condutâncias e os potenciais de equilíbrio do sódio e potássio, adicionar os bloqueadores tetrodotoxina (TTX) e tetraetilamônio (TEA), no painel à esquerda. No painel seguinte temos os controles da condutância de vazamento (leak) e no painel abaixo podemos selecionar a exibição das condutâncias ou das correntes de sódio e potássio que formam o potencial de ação. Podemos controlar também a corrente de manutenção (holding) e a temperatura. Mas não alteraremos nenhum desses parâmetros nessa aula. Abaixo temos os controles dos estímulos a serem aplicados a célula virtual, e no painel inferior o controle de exibição do gráfico.

Nesse momento no painel “Conductances and Currents” vamos assinalar “showing ionic conductances” (mostrar as condutâncias iônicas).

1) Altere a amplitude do estímulo para 0 μA , vá aumentando até 100 μA em passos de 10 μA .

2) Nesse exercício vamos investigar o efeito de alterações nas concentrações de sódio no potencial de ação. Pode-se desabilitar a exibição das condutância se assim for desejado. Para isso vamos alterar o valor do potencial de equilíbrio do sódio (E_{Na}) gradativamente. Porém para facilitar o disparo de potenciais de ação vamos primeiro aumentar a amplitude do estímulo em 100 μA . Agora altere o valor do potencial de equilíbrio do sódio para 10 mV e depois para 20 mV até chegar em 100 mV, em passos de 10 mV. Plote o valor do pico do potencial de ação pelo valor de E_{Na} . Explique seus resultados.

3) Vamos agora estudar como dois potenciais de ação disparados próximos um do outro se comportam. Primeiro vamos retornar os valores de E_{Na} para 50 mV e da intensidade do estímulo para 65 μA . Agora ative o segundo estímulo (*stimulus 2 - on*). Aumente o *sweep duration* para 10 ms para melhor visualizarmos os dois potenciais de ação. Coloque o *delay* (atraso) do segundo estímulo em 1 ms. Vá aumentando esse valor em passos de 1 ms até aparecer um segundo potencial de ação. Explique o que está acontecendo.

-Faça o mesmo experimento com uma intensidade do segundo estímulo de 100 e 200 μA .

Voltage-clamp (Lesson 5).

Nessa parte vamos estudar as correntes iônicas que geram o potencial de ação, usando uma simulação de um neurônio no modo *voltage-clamp*. Nesse modo mantemos o potencial da célula em valores determinados e medimos as correntes iônicas geradas. Mantemos a célula em um potencial de manutenção (“holding”) e estimulamos as correntes geradas por um potencial teste.

Os painéis de controle dessa lição são semelhantes a da lição anterior como você pode observar.

No visor, vemos a corrente iônica em amarelo, o potencial em vermelho, e os potenciais de equilíbrio do sódio e do potássio em azul e verde respectivamente.

4) Observe a tela inicial da lição. Explique a corrente gerada pelo potencial teste (-5 mV por 4 ms). Observe os efeitos da aplicação de TTX e TEA, e descreva as diferenças observadas das correntes isoladas. Quais são os íons carreadores dessas correntes? Relacione as correntes iônicas com o potencial de ação.

5) Vamos agora estudar a dependência das correntes iônicas. Isole a corrente de sódio com o bloqueador do canal de potássio e altere a amplitude do Estimulo 1 para -65 mV e prossiga com passos de 10 mV até 75 mV. Plote o gráfico corrente-voltagem para a corrente de sódio medindo o ponto máximo da corrente (seja ela negativa ou positiva). Bloqueie agora apenas a corrente de sódio, com seu respectivo bloqueador e faça o mesmo experimento para a corrente de potássio.

6) Como fizemos com os potenciais de ação vamos fazer a mesma coisa com as correntes de sódio, vamos estudar como duas correntes de sódio ativadas próximas umas das outras se comportam. Então ative (on) o segundo pulso. Isole com a droga a corrente de sódio. Altere o *sweep duration* para 20 ms e duração (*width*) de cada pulso (*sweep*) para 2 ms, para melhor visualização das correntes.

Agora altere o intervalo (*delay*) do segundo *sweep* de 1 ms até 10 ms, em passos de 1 ms. Plote a razão entre o pico da corrente de sódio do pulso 2 com a do pulso 1, pelo intervalo entre os dois pulsos. Explique os resultados e como esse fenômeno influencia o disparo de potenciais de ação?

Questões:

- 1-Explique o comportamento do potencial de membrana no exercício 1
- 2 Explique como as correntes de sódio e potássio dependentes de voltagem geram condutâncias de sódio (verde) e de potássio (azul) do potencial e ação.
- 3-Explique usando as equações de condutância de corda e GHK o comportamento do potencial de membrana visto no exercício 2.
- 4- Mostre nos gráficos do exercício 5 a faixa de ativação das correntes e a faixa de condutância máxima para as duas correntes. Explique porque a corrente de sódio altera sua polaridade (vai de uma corrente de entrada, negativa, para uma de saída positiva) em um determinado potencial. Mostre no gráfico e explique onde deve ser o limiar do potencial de ação e o valor do seu aproximado do seu pico
- 5-Explique o observado no exercício 3 com base no observado no comportamento das correntes de sódio dependentes de potencial visto no exercício 6