

Vá em <http://www.metaneuron.org/> e baixe o software *MetaNeuron*. Baixe também o manual do programa.

Essa lição simula 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 200 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 ($10 \mu\text{A}$) calcule graficamente o valor da constante de tempo (τ) da membrana da seguinte forma (veja a figura no final do relatório para melhor entendimento):

1. Calcule a amplitude da despolarização causada pela injeção da corrente.
2. Calcule 63% desse valor.
3. Some esse valor ao potencial antes de despolarização
4. Meça o tempo para o potencial da membrana alcançar esse valor.
5. Desconte os 2 ms da latência.

Quais parâmetros definem esse valor? O que ele significa eletricamente e biologicamente?

2) Altere os valores da corrente injetada para mais ($15 \mu\text{A}$) ou para menos ($5 \mu\text{A}$) e faça um gráfico da voltagem alcançada versus a corrente e calcule a inclinação da reta.

Qual a lei que a equação da reta está representando e qual variável a inclinação da reta representa? O que ela significa eletricamente e biologicamente?

3) Vamos analisar o efeito da resistência da membrana sobre a resposta da membrana celular a injeção de corrente.

a) Altere os valores da resistência da membrana para mais ($15 \text{ kohm}/\text{cm}^2$) e para menos ($5 \text{ kohm}/\text{cm}^2$) e meça a alteração máxima de voltagem em cada situação e a constante de tempo da membrana. Explique os resultados segundo seu conhecimento. Como um neurônio poderia alterar sua resistência da membrana a essa alteração fisiologicamente?

b) Supondo o limiar do potencial de ação a linha roxa, meça o tempo de disparo para uma despolarização de 100 mV em um modelo com as 3 constantes de tempo medidas. Para isso use um estímulo de $10 \mu\text{A}$ para a membrana de resistência de $10 \text{ kohm}/\text{cm}^2$; $20 \mu\text{A}$ para a membrana de resistência de $5 \text{ kohm}/\text{cm}^2$; e $6.66 \mu\text{A}$ para a membrana de resistência de $15 \text{ kohm}/\text{cm}^2$.

Analyze o impacto de se alterar a resistência da membrana sobre o disparo de potenciais de ação? Como o neurônio pode alterar sua resistência de membrana? Você acha que todos os neurônios possuem resistência de membrana iguais?

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 μm e amplitude para 11 pA.

4) Meça graficamente a constante de espaço da membrana.

Calcule a distância que o potencial caiu para 37% do valor inicial ($t=0$). Veja a figura no final para melhor entendimento.

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

6) Explique os efeitos da resistência da membrana sobre a constante de espaço. Explique usando um modelo elétrico do axônio.

7) Explique os efeitos do diâmetro do axônio sobre a constante de espaço. Explique usando um modelo elétrico do axônio.

8) 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 .

-Explique o comportamento do potencial de membrana.

-Explique o comportamento das condutâncias de sódio (verde) e de potássio (azul). O que gera essas condutâncias

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 usando as equações correspondentes.

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 e os motivos.

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

Voltage-clamp (Lesson 5).

4) A partir de um potencial de *holding* de -75 mV, despolarize a membrana (Amplitude do Estímulo 1) para -65 mV e prossiga com passos de 10 mV até 75 mV. Use as drogas para identificar as correntes de sódio e de potássio. Desenhe a corrente de sódio observada a -10 mV, e faça o mesmo para a corrente de potássio. Plote o gráfico corrente-voltagem para as correntes de sódio e potássio (meça o ponto máximo da corrente).

5) Isole com a droga a corrente de sódio. Altere o potencial de equilíbrio do sódio para 0 mV plote o gráfico corrente-voltagem. Explique as alterações nos gráficos em relação ao gráfico do exercício anterior.

-Explique o comportamento das correntes de sódio e potássio.

-Estime o valor do limiar do potencial de ação e do pico aproximado do potencial de ação

6) Ative (on) o segundo pulso. Isole com a droga a corrente de sódio. Altere o *sweep duration* para 20 ms. Altere a duração (*width*) de cada pulso (*sweep*) para 2 ms. Coloque a amplitude para cada pulso para -10 mV. 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 estimulados por pulsos pareados?

Calculando τ graficamente

