

## Roteiro *MetaNeuron*

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

### Problemas sobre bioeletrogênese

*Potencial de membrana (Lesson 1).*

**Essa lição simula o potencial de membrana usando as equações de Nerst para calcular os equilíbrios eletroquímicos e a equação GHK simplificada para os íons sódio e potássio.**

-Altere as concentrações **intracelulares** de potássio para 130 mM.

1) Meça o potencial de repouso da membrana (linha amarela) e o potencial de equilíbrio do potássio (linha azul) em diferentes concentrações de potássio extracelulares: 1 mM, 3 mM (concentração inicial), 6 mM, 12 mM, 18 mM, 24 mM, 32 mM, 64 mM e 128 mM. Plote ambos os valores contra o logaritmo (log) da concentração de potássio extracelular. Compare os dois gráficos e explique a diferença

2) Meça o potencial de repouso da membrana (linha amarela) e o potencial de equilíbrio do sódio (linha verde) em diferentes concentrações de sódio extracelulares: 120 mM (concentração inicial), 200 mM, 60 mM, 30 mM, 15 mM e 5 mM. Plote ambos os valores contra o logaritmo (log) concentração de sódio extracelular. Compare os dois gráficos e explique a diferença.

3) Compare as permeabilidades da membrana teórica ao sódio e ao potássio dadas pelo programa e explique como elas influenciaram os gráficos das questões 1 e 2? Refaça os gráficos invertendo-se as permeabilidades ao sódio e ao potássio. Explique os resultados.

4) Usando a condição de Donnan calcule a concentração de proteinato intracelular (assuma que não há proteinato extracelular) e de ânions móveis intracelulares.

*Constante de tempo da membrana (Lesson 2).*

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

-Altere *sweep duration* para 300 ms e *sweep width* para 200 ms.

5) 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 ( $\tau$ ) da membrana.

6) Altere a amplitude do estímulo para 5  $\mu\text{A}$  e 15  $\mu\text{A}$  e meça a constante de tempo da membrana e a amplitude da resposta. Explique os seus resultados.

7) Mantendo a amplitude do estímulo em 5  $\mu\text{A}$ , altere a para 5 e 20  $\text{k}\Omega \cdot \text{cm}^2$  e meça a constante de tempo da membrana. Explique os seus resultados.

*Constante de espaço da membrana (Lesson 3).*

- Altere *Length* para 2000  $\mu\text{m}$  e amplitude para 11 pA.

8) Meça a constante de espaço da membrana.

9) Altere os parâmetros do axônio como nas opções abaixo, meça a constante de espaço da membrana e explique seus resultados.

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

b) Volte a resistividade de membrana para 5  $\text{k}\Omega\cdot\text{cm}^2$ . Altere a resistividade interna do citoplasma de 70 para 35 e 140  $\Omega\cdot\text{cm}$ .

c) Volte a resistividade interna para 70  $\Omega\cdot\text{cm}$ . Altere o diâmetro do axônio para 1 e 10  $\mu\text{m}$ .

.

## 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.**

- 1) Altere a amplitude do estímulo para 10  $\mu\text{A}$ , vá aumentando até 100  $\mu\text{A}$  em passos de 10  $\mu\text{A}$ . Plote a amplitude do potencial de ação pelo estímulo e explique seus resultados.
- 2) Altere o valor de  $g_{\text{Na max}}$  para 400  $\text{mS}/\text{cm}^2$ . Altere o valor do potencial e equilíbrio do sódio para 0 mV e depois para 10 mV até chegar em 100 mV, em passos de 10 mV. Plote a amplitude do potencial de ação, e o potencial de repouso pela reversão do sódio. Explique seus resultados.
- 3) Retorne o valor de  $g_{\text{Na max}}$  para 260  $\text{mS}/\text{cm}^2$ . Ative o segundo estímulo (*stimulus 2 - on*). Aumente o *sweep duration* para 10 ms. Aumente o *delay* do segundo estímulo partir de 2 ms em passos de 1 ms até aparecer um segundo potencial de ação. O que isso representa? Como vc geraria um segundo potencial de ação em intervalos menores do que o observado. Teste para cada intervalo e plote seus resultados e os explique.

### *Voltage-clamp (Lesson 5).*

- 4) A partir de um potencial de *holding* de -75 mV, despolarize a membrana 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.
- 6) 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 par 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?

## Problemas de neurotransmissão

*Potenciais e correntes sinápticas (Lesson 6).*

-Essa lição simula uma sinapse excitatória e uma inibitória. A excitatória tem as características de um receptor glutamatérgico ionotrópico do tipo AMPA e a inibitória de um receptor GABAérgico ionotrópico GABA<sub>A</sub>. O Neurônio é mantido no repouso (0 pA de corrente de holding) ou você pode alterar o potencial de membrana injetando corrente despolarizando-o ou hiperpolarizando-o. Em 1 ms é iniciado o potencial sináptico. As correntes iônicas que formam esse potencial são representadas nos gráficos à direita.

- 1) Selecione a sinapse excitatória rápida (*fast excitatory synapse*). Altere a corrente (*holding current*) para 50 pA e vá até 200 pA em passos de 50 pA. Plote em gráfico a **amplitude** do potencial excitatório versus o **potencial** da membrana. Faça uma regressão linear e estime o potencial de reversão do potencial sináptico. Explique o comportamento do potencial sináptico de acordo com o potencial de membrana. Porque esse receptor é considerado excitatório?
- 2) Usando os parâmetros do exercício anterior, plote as amplitudes das correntes de sódio (verde) e potássio (azul) do receptor AMPA virtual à direita. Como essas correntes determinam a polaridade e a reversão do potencial sináptico?
- 3) Altere para medir a sinapse inibitória rápida (*fast inhibitory synapse*). Altere a corrente de holding de -50 para 50 pA em passos de 10 pA. Plote um gráfico com o pico do potencial versus o potencial de membrana e mostre o potencial de reversão do potencial sináptico GABAérgico, a faixa onde ele seria inibitório e onde ele seria excitatório.
- 4) Usando os parâmetros do exercício anterior, plote as amplitudes da corrente de cloreto do receptor GABA<sub>A</sub> (laranja) versus o potencial da membrana. Como essa corrente determinam a polaridade e a reversão do potencial sináptico?

*Constante de tempo da membrana (Lesson 2)*

-Altere *stimulus* para *synaptic potential* (ele simulará um potencial sináptico excitatório). Em *stimulus train*, coloque 5 estímulos (*number of stimuli*). Aumente a duração do gráfico para 100 ms (*sweep duration*).

- 5) Em *stimulus train* altere o intervalo entre os estímulos (*period*) para 2, 5 e 10 ms. Plote um gráfico com o pico de cada potencial sináptico com o estímulo, em cada trem. Explique o fenômeno observado e indique (olhando o limiar do potencial de ação em púrpura) se e onde um potencial de ação foi deflagrado.
- 6) Faça o mesmo gráfico para resistências de membrana 5 e 20KΩ.cm<sup>2</sup>. Descreva e explique o efeito da resistência da membrana nos resultados. Como um neurônio pode alterar sua resistência da membrana? Vc acha que isso possa ter implicações fisiológicas? Dê exemplos.

