

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS UNICAMP

FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE COMPUTAÇÃO - FEEC  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA

EA-097 - Técnicas Experimentais em Engenharia Biomédica  
(Preparado por: Rafael de Almeida Ricardo e José W. M. Bassani)

Aluno(s): \_\_\_\_\_

## Potencial de Ação em Neurônio

### 1. Introdução

As células excitáveis mantêm uma diferença de potencial (negativo dentro com relação meio externo) através de suas membranas, denominada de potencial de membrana ( $E_m$ ). Este potencial pode variar em resposta a estímulos adequados. Para estímulos de pequena intensidade a célula responde com uma variação graduada de  $E_m$ , linear, denominada de resposta eletro-tônica. Este tipo de resposta linear, que se pode modelar razoavelmente bem por um circuito RC, não se propaga a longas distâncias. Aliás, poucos milímetros longe do ponto de estimulação a amplitude de  $E_m$  já decai substancialmente. Contudo, as informações no organismo trafegam na forma de biopotenciais por distâncias milhares de vezes maiores que alguns poucos milímetros (Weiss, 1996; Aidley, 1998).

Quando um estímulo adequado desloca  $E_m$  para valores suficientemente mais positivos, na direção do zero, uma resposta (variação de  $E_m$ ) não mais controlável pelo estímulo é deflagrada. A essa variação de  $E_m$  na direção do zero damos o nome de despolarização, porque em repouso a membrana está polarizada em valores negativos. Após a despolarização,  $E_m$  vai rapidamente para valores positivos retornando após alguns milissegundos (no caso do nervo) ao valor inicial de repouso. O ponto máximo atingido não mais depende da amplitude do estímulo, sendo este um fenômeno do tipo "tudo-ou-nada". Esta variação altamente não-linear é denominada de Potencial de Ação (PA). Este sim, é um sinal propagável pelos nervos e músculos por longas distâncias (Aidley, 1998; Weiss, 1996).

O PA possui várias propriedades intrínsecas. A teoria iônica explica os detalhes do processo de geração de um PA a partir de um estímulo (Weiss, 1996). No tecido nervoso, quando a célula é estimulada adequadamente, a variação de  $E_m$  provoca a abertura de canais sensíveis a tensão elétrica localizados na membrana. A abertura destes canais aumenta a condutância da membrana ao  $\text{Na}^+$  ( $g_{\text{Na}}$ ), possibilitando a entrada de  $\text{Na}^+$  a favor de seu gradiente eletroquímico e levando  $E_m$  a se aproximar do potencial de equilíbrio do  $\text{Na}^+$  ( $\sim +40$  mV). Em seguida  $g_{\text{Na}}$  é reduzida pela inativação dos canais de  $\text{Na}^+$  e a condutância ao  $\text{K}^+$  ( $g_{\text{K}}$ ) aumenta, pois canais de  $\text{K}^+$  são ativados em potenciais mais positivos. Agora, a saída do íon  $\text{K}^+$  a favor de seu gradiente eletroquímico provoca a mudança de  $E_m$  para valores mais negativos, próximos de  $E_{\text{K}}$ . Assim, de modo muito simplificado se mostra como  $E_m$  varia durante um PA.

## 2. Objetivos

Estudar os mecanismos envolvidos na geração do potencial de ação em neurônio, utilizando o software HHsim (Touretzky, 2003) baseado no modelo de Hodgkin e Huxley (Aidley, 1998).

## 3. Procedimento Experimental

3.1. A geração do potencial de ação (PA) neuronal depende do aumento rápido da condutância de membrana ao íon  $\text{Na}^+$  ( $g_{\text{Na}}$ ). Determine o potencial limiar de ativação dos canais de  $\text{Na}^+$  de membrana (i.e., o valor de  $E_m$  em que  $g_{\text{Na}}$  aumenta), com duração do pulso estimulatório de 1ms. Qual a direção do fluxo de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  durante um potencial de ação?

---

---

---

---

Pode-se observar uma “interrupção” da corrente de  $\text{Na}^+$  ( $I_{\text{Na}}$ ) em sua fase crescente. Explique esse fenômeno. Dica:  $I_{\text{Na}} = g_{\text{Na}}(E_m - E_{\text{Na}})$ .

---

---

---

---

3.2. Obtenha a curva intensidade x duração (i.e., Amplitude da corrente de estímulo X a duração do pulso estimulatório) para os valores de duração do pulso estimulatório na tabela abaixo. Ajuste a equação de Weiss-Lapicque ( $I = I_{rh} \left(1 + \frac{c_r}{d}\right)$ ) aos pontos e calcule a cronaxia e a reobase. Descreva com suas palavras o que a cronaxia e a reobase representam.

Intensidade (nA)	Duração (ms)	Intensidade (nA)	Duração (ms)
	0.1		1.0
	0.2		2.0
	0.3		3.0
	0.4		4.0
	0.5		5.0



COLE AQUI O GRÁFICO

Cronaxia: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Reobase: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

3.3. Com uma duração do pulso estimulatório de 1ms, varie sua amplitude de 1 à 10nA. Qual a variação do potencial transmembrana ( $\Delta E_m$ ) necessária para gerar um PA? Meça o tempo necessário para o PA atingir o valor de pico em cada pulso estimulatório (tempo entre o início do estímulo e o pico do PA). Explique o que aconteceu e comente.

$\Delta E_{m\text{-limiar}}$ : \_\_\_\_\_ mV

Intensidade (nA)	Tempo pico (ms)	Intensidade (nA)	Tempo pico (ms)
1.0		6.0	
2.0		7.0	
3.0		8.0	
4.0		9.0	
5.0		10.0	

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

3.4. Determine o valor de pico do PA com amplitudes de estímulos de 10nA, 20nA, e 30nA. O que ocorre com o valor de pico do PA? Do que depende o pico do PA? Comente.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

3.5. O período refratário é um parâmetro muito importante tanto do ponto de vista fisiológico quanto do ponto de vista de desenvolvimento de equipamentos que fazem estimulação neuronal. Levante a curva do período refratário (Amplitude do 2º pulso X Intervalo entre pulsos) para os valores de intervalo entre estímulos da tabela abaixo. Identifique na curva a faixa de refratariedade absoluta e relativa. Comente sobre os mecanismos envolvidos neste fenômeno. OS.: Você deverá determinar a amplitude da corrente do segundo pulso para que ocorra o disparo de um segundo PA.

Intervalo entre estímulos (ms)	Intensidade do 2º pulso (nA)	Intervalo entre estímulos (ms)	Intensidade do 2º pulso (nA)
1.0		6.0	
2.0		7.0	
3.0		8.0	
4.0		9.0	
5.0		10.0	



---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

3.6. Até aqui as simulações foram realizadas com  $T=6,3^{\circ}\text{C}$ . Aumente a temperatura para  $20^{\circ}\text{C}$  e refaça a simulação ( $d=1\text{ms}$  e  $I=10\text{nA}$ ). O que aconteceu com a amplitude e duração do PA? Em quais mecanismos a temperatura pode estar influenciando, já que os potenciais de equilíbrio dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  não são afetados significativamente?

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

3.7. O curso temporal do PA depende da  $I_{Na}$  e  $I_K$ . Portanto, variações da concentração dos íons  $Na^+$  e  $K^+$  podem alterar o formato do PA. Reduza  $[Na^+]_o$  para 220mM e compare o PA com o PA na condição controle ( $[Na^+]_o = 440mM$ ). Apesar da variação da  $[Na^+]_o$  ter sido de 50%, o potencial de membrana no repouso não variou significativamente. Explique o ocorrido.

---

---

---

3.8. Execute o protocolo de *voltage clamp* do HHsim. Clique em “Run”. A corrente apresentada na figura corresponde à corrente total de membrana ( $I_m$ ), sendo que correntes negativas indicam corrente de entrada e correntes positivas indicam corrente de saída. Explique o aparecimento de uma corrente positiva (muito rápida) que corresponde ao início do pulso estimulatório.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

3.9. Altere o protocolo *Voltage clamp* para que *step 1* seja +40mV. O que acontece com a componente negativa da  $I_m$ ? Explique.

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---





#### 4. Referências bibliográficas

1. AIDLEY, J.D., 1989. The Physiology of Excitable Cells. Cambridge University Press, 3rd ed., Cambridge.

2. WEISS, T. F. Cellular Biophysics. The MIT Press, USA, 1996.

Páginas úteis:

<http://www.cs.cmu.edu/~dst/HHsim/>

Erro comum na instalação do HHsim no Windows: programa não encontra o arquivo mclmcr77.dll

A solução mais simples para este problema é:

- 1) Execute o arquivo MCRInstaller.
- 2) Vá ao diretório em que você fez a instalação e siga para a pasta "win32". Geralmente você irá encontra-la em: "C:\Program Files (ou Program Files (x86))\MATLAB\MATLAB Component Runtime\v77\runtime\win32"
- 3) Copie os arquivos hhsim.exe, hhsim.ctf e a pasta code (todos estes você baixou com o pacote do HHsim) para a pasta win32 descrita acima.
- 4) Tente executar o arquivo hhsim.exe. Se funcionou, ok! Caso não funcione prossiga.
- 5) Clique com o botão direito sobre o arquivo hhsim.exe e selecione Propriedades. Na janela de propriedades clique na aba Compatibilidade. Marque: "Executar este programa em modo de compatibilidade" e selecione a opção Windows XP (Service Pack 3). Por fim, marque a opção "Executar este programa como administrador". Clique em aplicar.
- 6) Execute o arquivo hhsim.exe.
- 7) Em caso de dúvidas entre em contato com o PED (Jair): [jtgoulart@ceb.unicamp.br](mailto:jtgoulart@ceb.unicamp.br)