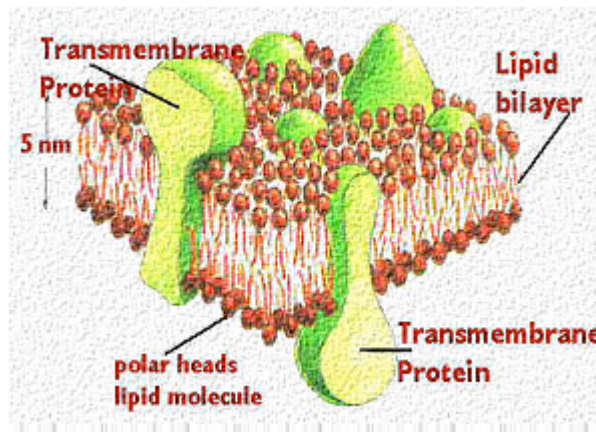
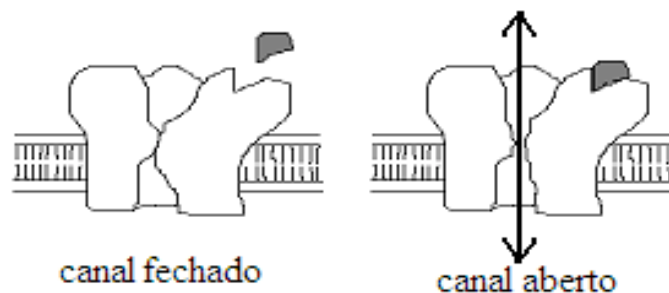


A Membrana Neuronal, o Potencial de Membrana e o Potencial de Ação

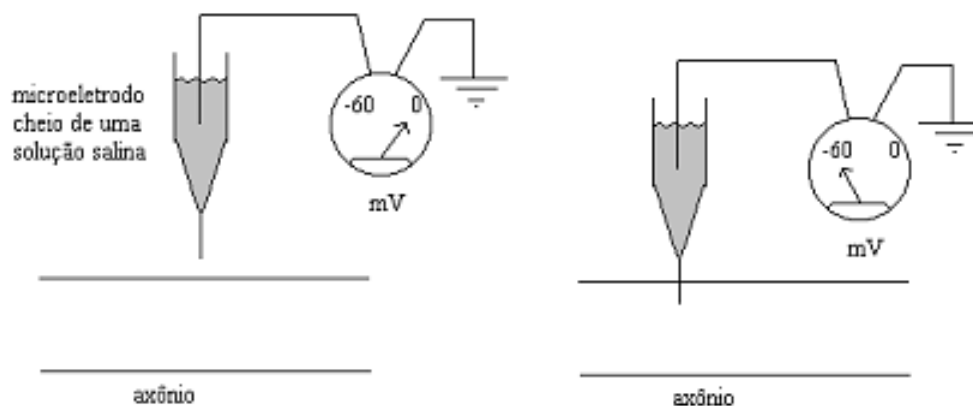
- Um neurônio é uma célula animal recoberta por uma fina membrana (60 a 70 Å de espessura) que a separa do meio intercelular, chamada de membrana neuronal.
- A membrana neuronal é formada basicamente por lipídeos e proteínas. Os lipídeos estão arranjados em uma camada dupla na qual as proteínas estão imersas. Algumas proteínas atravessam a membrana de um lado ao outro, formando canais ou poros.



- Alguns íons podem utilizar esses poros para passar através da membrana (para dentro ou para fora da célula).
- Os poros podem alterar sua conformação sob controle elétrico ou químico, de maneira que o fluxo iônico pode ser regulado: a permeabilidade de uma membrana a um dado íon é controlada pelas condições elétricas e químicas do ambiente no qual a célula está imersa.
- A figura abaixo ilustra o processo de abertura de um canal iônico provocado pela alteração conformacional de uma proteína por sua ligação com uma substância ligante.

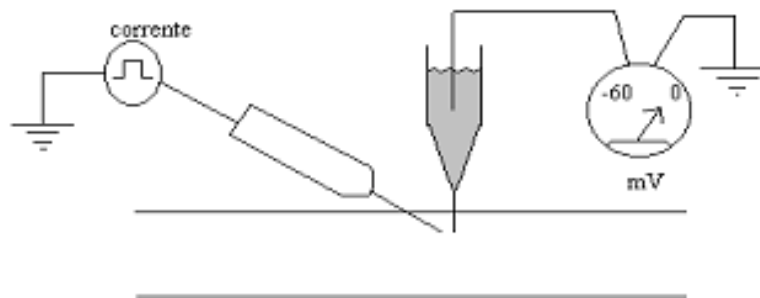


- Existe uma diferença de potencial elétrico entre o lado de fora e o lado de dentro da membrana neuronal. Definindo-se o zero de potencial no lado de fora da célula, o seu lado de dentro está, em geral, a um potencial entre -50 e -90 mV. Portanto, a face interior da membrana está a um potencial elétrico negativo em relação à face exterior.
- A figura abaixo esquematiza um experimento, chamado de registro intracelular, que permite medir o potencial de membrana de repouso de um axônio de uma célula nervosa.

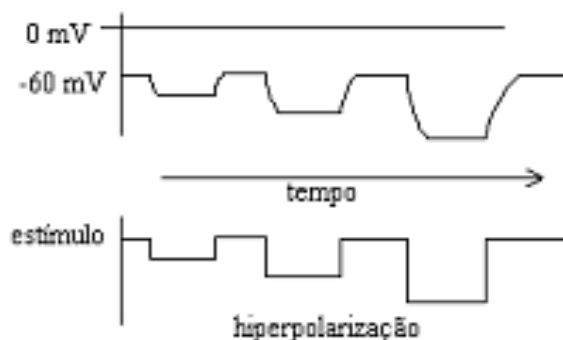


- Além da diferença de potencial elétrico, também existem diferenças nas concentrações de alguns íons entre os dois lados da membrana neuronal.
- A concentração do íon de sódio Na^+ é pelo menos dez vezes maior do lado de fora de um neurônio do que do lado de dentro; já a concentração do íon de potássio K^+ é maior do lado de dentro do que do lado de fora.
- Um neurônio concentra K^+ e expelle Na^+ . Um dos mecanismos que mantém este desequilíbrio é a chamada bomba de sódio-potássio, um complexo de moléculas protéicas grandes que, em troca de energia metabólica (hidrólise de ATP), transporta sódio para fora da célula e potássio para dentro dela (a cada três íons Na^+ levados para fora, dois íons K^+ são bombeados para dentro). Esta é uma das razões para o alto consumo energético das células nervosas.
- Enfiando-se um eletrodo em uma célula nervosa pode-se fazer passar corrente através da membrana. Como a membrana celular possui certa resistência à passagem de corrente elétrica, a injeção de corrente provoca, pela lei de Ohm ($V = RI$), uma variação no potencial elétrico através da membrana.

- A injeção de corrente em uma célula através de um eletrodo, portanto, permite que se controle o valor do potencial de membrana da célula, pelo menos nas vizinhanças do eletrodo.
- A figura abaixo ilustra uma maneira de se medir as variações no potencial de membrana causadas por injeção de corrente.

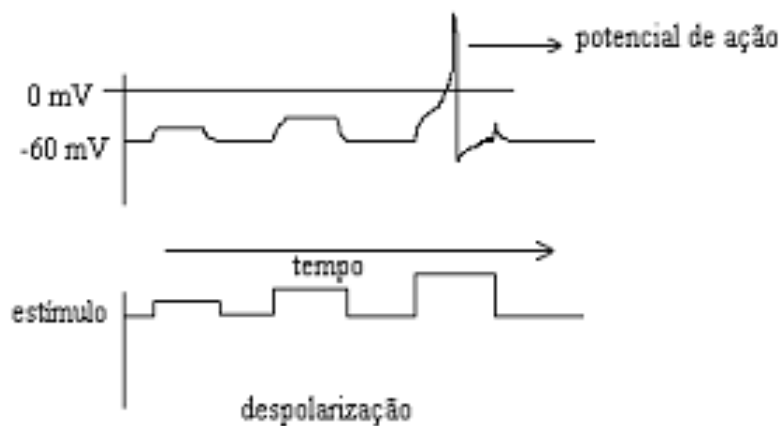


- Quando o potencial de membrana alterado pela injeção de corrente fica mais negativo do que o potencial de repouso, diz-se que a célula está hiperpolarizada. Quando o potencial de membrana fica menos negativo (mais próximo de zero), diz-se que a célula está despolarizada.
- Quando se injeta corrente numa célula de maneira a hiperpolarizá-la, o que se nota são respostas cujas formas se parecem muito com as dos pulsos de entrada (com as bordas arredondadas, pois a resposta da célula não é instantânea devido à capacitância da membrana). Isso está ilustrado na figura abaixo.

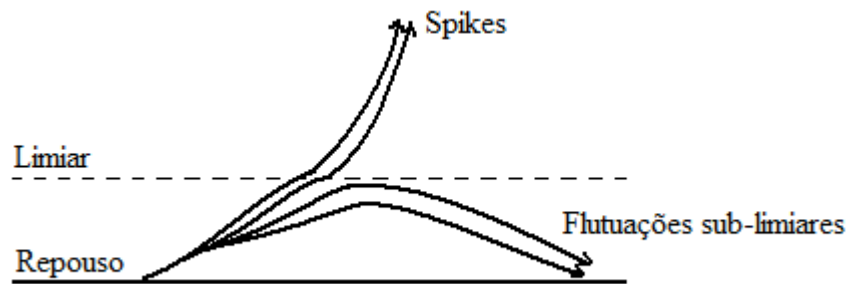


- Quando a corrente injetada provoca despolarização, o potencial de membrana segue outro tipo de comportamento.
- Inicialmente, à medida que os pulsos de corrente despolarizante aumentam de intensidade, a variação na voltagem aumenta gradualmente como no caso dos pulsos hiperpolarizantes.

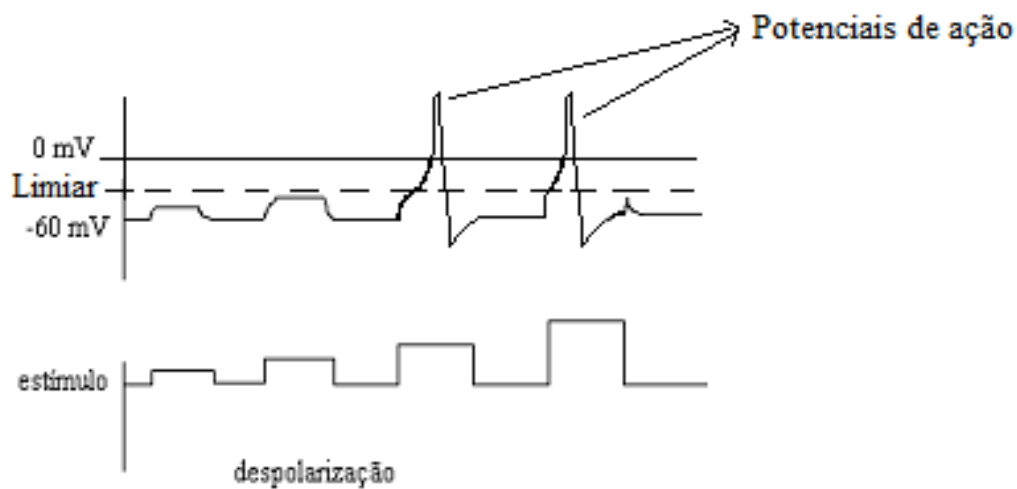
- Porém, quando um valor crítico ou limiar de corrente despolarizante injetada é atingido, ocorre uma grande e súbita variação na voltagem, levando o potencial de membrana a tornar-se positivo (algumas dezenas de milivolts acima do zero) por mais ou menos meio milissegundo, voltando a cair para valores negativos, próximos do potencial de repouso, em seguida.
- Este enorme e repentino aumento no potencial de membrana é denominado potencial de ação, também chamado de disparo ou *spike* (pois ele se propaga ao longo do axônio como um pulso solitário). Veja a ilustração abaixo.



- O valor do limiar de voltagem a partir do qual ocorre um potencial de ação varia de neurônio para neurônio, mas ele tende a estar na faixa entre 10 a 20 mV acima do potencial de repouso de um neurônio.
- Potenciais de ação são importantes para a comunicação entre neurônios porque são o único tipo de alteração no potencial de membrana que pode se propagar por grandes distâncias sem sofrer atenuação. Os outros tipos de pulsos de despolarização ou hiperpolarização são fortemente atenuados e não se propagam por distâncias acima de 1 mm.
- A existência de um limiar para a geração de um potencial de ação tem o papel de impedir que flutuações aleatórias do potencial de membrana de baixa amplitude produzam potenciais de ação. Apenas estímulos suficientemente significativos para provocar uma superação do limiar de voltagem são transmitidos como informação, codificada na forma de potenciais de ação, ao longo do axônio a outros neurônios (veja a figura a seguir).



- A forma de um potencial de ação é uma característica de cada neurônio, sendo sempre igual a cada novo disparo, não dependendo do valor da corrente despolarizante injetada.
- Esta propriedade de um potencial de ação é chamada de *lei do tudo ou nada*: Se um estímulo não for forte o suficiente para atingir o limiar, ele não produzirá nada; se ele for forte apenas para atingir o limiar, ou muito mais forte para superá-lo por qualquer quantidade, não importa, sempre será gerado um potencial de ação com a mesma forma e amplitude. Veja a ilustração abaixo.



- A lei do tudo ou nada implica que a amplitude do estímulo não é representada (codificada) pela amplitude do potencial de ação. Deve haver algum outro mecanismo para a representação da intensidade do estímulo pelos neurônios.
- O mecanismo de geração de um potencial de ação foi elucidado por Hodgkin e Huxley na década de 1950, em uma série de trabalhos com o axônio gigante da lula (um axônio particularmente grosso, com meio milímetro ou mais de diâmetro). Eles receberam o prêmio Nobel de medicina e fisiologia de 1963 por esse trabalho.

- O potencial de membrana para o qual os fluxos de um íon para dentro e para fora de uma célula, causados pelas diferenças de concentração e de potencial elétrico, se igualam, resultando num equilíbrio dinâmico, é dado pela equação de Nernst,

$$V = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[C]_{fora}}{[C]_{dentro}},$$

onde R é a constante dos gases (8,314 J/K.mol), T é a temperatura absoluta (K), z é a valência do íon (adimensional), F é a constante de Faraday (9,648x10⁴ C/mol) e $[C]$ é a concentração do íon.

- Por exemplo, se *apenas* o K⁺ pudesse passar através da membrana, o potencial de equilíbrio seria

$$V_{K^+} = \frac{0,0252}{z} \ln \frac{[C]_{fora}}{[C]_{dentro}} = 25,2 \times 10^{-3} \ln \frac{20}{400} = -75 \cdot 10^{-3} \text{ V} = -75 \text{ mV}.$$

- Já se apenas o Na⁺ pudesse passar através da membrana, o potencial de equilíbrio seria

$$V_{Na^+} = \frac{0,0252}{z} \ln \frac{[C]_{fora}}{[C]_{dentro}} = 25,2 \times 10^{-3} \ln \frac{440}{50} = 55 \cdot 10^{-3} \text{ V} = 55 \text{ mV}.$$

- Para estes dois cálculos, foram usados os valores da tabela abaixo.

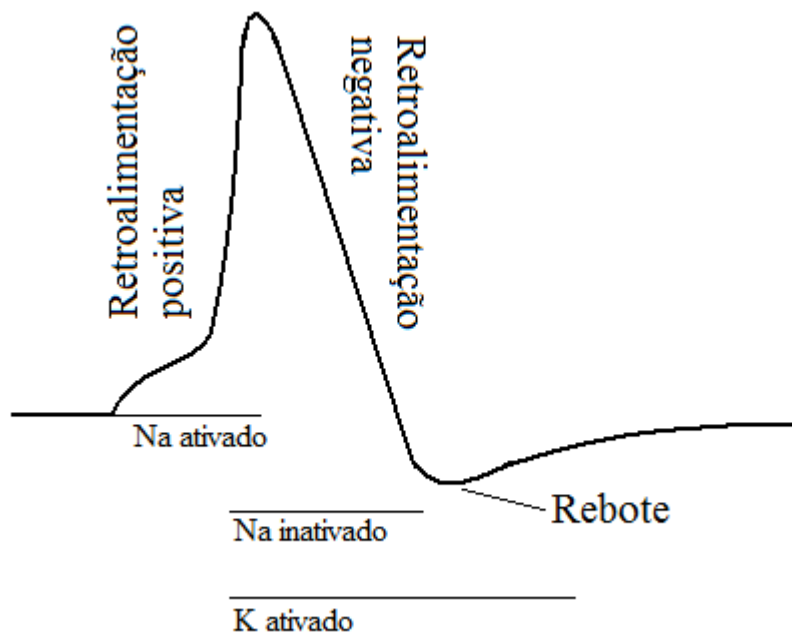
	Dentro (mM)	Fora (mM)	Potencial de Equilíbrio (Nernst)
K⁺	400	20	-75 mV
Na⁺	50	440	+55 mV
Cl⁻	40-150	560	-66 a -33 mV
Ca²⁺	10 ⁻⁴	10	+145 mV
A⁻ (íons orgânicos)	385	—	—

Concentrações iônicas de repouso para o axônio gigante da lula a 20°C.

- O potencial de membrana de repouso da célula é muito mais próximo do potencial de Nernst do K⁺ do que do potencial de Nernst do Na⁺. Isto ocorre porque a membrana neuronal, no repouso, é muito mais permeável ao K⁺ do que ao Na⁺. É como se apenas os íons K⁺ passassem pela membrana.

- No entanto, a condutância (o inverso da resistência) da membrana ao sódio é uma função crescente do potencial de membrana.
- Quando uma injeção de corrente provoca despolarização, a condutância da membrana ao sódio aumenta, fazendo com que entre Na^+ dentro da célula (pois há muito mais íons de sódio fora do que dentro da célula).
- A entrada de íons Na^+ causa uma despolarização ainda maior na membrana, aumentando ainda mais a sua condutância ao sódio e provocando a entrada de mais íons Na^+ no interior da célula, etc.
- Este processo de retroalimentação positiva leva rapidamente a um estado em que o fluxo de íons de sódio através da membrana domina sobre todos os demais, ou seja, efetivamente é como se apenas o sódio fluísse pela membrana.
- Neste estado, a permeabilidade da membrana ao Na^+ é muito maior do que a outros íons e o potencial que se estabelece através da membrana fica próximo do valor do potencial de Nernst do Na^+ (+55 mV). Isto corresponde a um potencial de ação, com a polaridade da membrana invertida em relação ao repouso.
- A partir de certo valor do potencial de membrana, porém, a condutância da membrana ao sódio muda de comportamento: quanto mais o potencial aumenta, mais a condutância da membrana ao sódio diminui. O que era uma retroalimentação positiva torna-se uma retroalimentação negativa.
- Ao mesmo tempo, a condutância da membrana ao potássio começa a aumentar.
- A combinação desses dois últimos efeitos faz com que, uma fração de milissegundo após o potencial de membrana ter atingido o pico, a membrana torne-se impermeável ao sódio e volte a ficar permeável ao potássio.
- Como o fluxo iônico através da membrana passa a ser dominado pelo potássio, o potencial de membrana decai bruscamente em direção ao potencial de Nernst do potássio.
- Nessa queda, o potencial de membrana ultrapassa o valor de repouso, pois o potencial de Nernst do K^+ está abaixo do potencial de repouso. Quando isso acontece, a membrana torna-se um pouco permeável ao Na^+ e o efeito disso é restaurar lentamente o potencial de membrana ao seu valor de repouso.

- O fenômeno de queda do potencial de membrana abaixo do valor de repouso seguido da lenta subida ao valor de repouso é chamado de *rebote* do potencial.

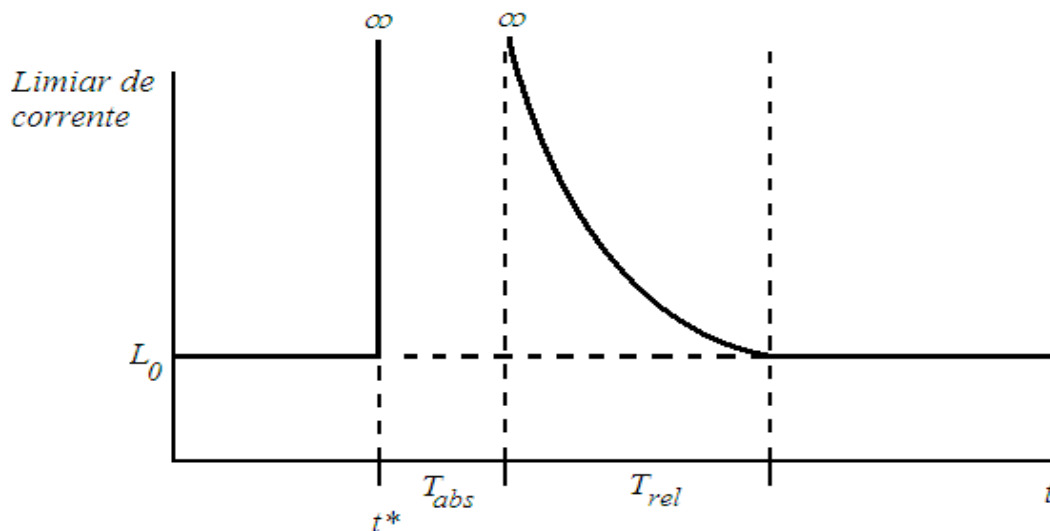


- A equação de Nernst descreve o potencial de equilíbrio para o caso em que apenas um íon pode passar através da membrana, ou seja, quando há apenas um tipo de canal iônico.
- Quando há mais íons presentes, com diferentes gradientes de concentração através da membrana e vários tipos de canais iônicos seletivos a esses íons, o potencial de equilíbrio depende das permeabilidades relativas da membrana a esses íons. Neste caso, o potencial de equilíbrio é dado pela equação de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK).
- Para uma célula permeável a K⁺, Na⁺ e Cl⁻ a equação de GHK nos dá

$$V = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{fora} + (P_{Na}/P_K)[Na^+]_{fora} + (P_{Cl}/P_K)[Cl^-]_{dentro}}{[K^+]_{dentro} + (P_{Na}/P_K)[Na^+]_{dentro} + (P_{Cl}/P_K)[Cl^-]_{fora}}$$

- Para o axônio gigante da lula no equilíbrio, a 20°C, os valores das permeabilidades relativas são $(P_{Na}/P_K) = 0,03$ e $(P_{Cl}/P_K) = 0,1$. Para estes valores, a equação de GHK nos dá $V_{rep} = -70$ mV.
- Este valor está de acordo com as medidas experimentais. Como P_K domina, o valor do potencial de membrana fica próximo do potencial de Nernst do K⁺. Se P_{Na} e P_{Cl} fossem zero, teríamos a equação de Nernst para o K⁺.

- Durante um potencial de ação, as razões das permeabilidades tornam-se (P_{Na}/P_K) = 15 e (P_{Cl}/P_K) = 0,1 e a equação de GHK nos dá $V_{rep} = 44$ mV.
- Por um breve período (da ordem de alguns milisegundos) após a geração de um potencial de ação não é possível gerar outro potencial de ação, independentemente do valor da corrente injetada; é como se o limiar de corrente para a geração de um potencial de ação fosse infinito. Este período é chamado de período refratário absoluto.
- Por um período um pouco mais longo (da ordem de algumas dezenas de milisegundos) já é possível gerar potenciais de ação, mas as correntes injetadas precisam ter valores maiores do que o inicial para que isso ocorra. Durante esse período, o limiar de corrente para geração de um potencial de ação fica acima do valor normal, indo de um valor muito grande no início do período até o valor normal no fim dele. Este período é chamado de período refratário relativo.
- O desenho a seguir ilustra o que acontece com o limiar de corrente durante os períodos refratários absoluto e relativo.



- Suponhamos que a célula seja estimulada por uma corrente injetada constante, com valor acima do limiar, que persista por um longo tempo. Quando o estímulo aparece, ele provoca a geração de um potencial de ação. Após o potencial de ação vem o período refratário absoluto e, depois, o relativo. Somente quando o limiar de corrente cair até o valor da corrente constante é que um outro potencial de ação será gerado.

- Se a corrente supralimiar for mantida constante por um longo tempo, um **trem de disparos** de potenciais de ação será gerado.
- Há diversos tipos de trens de disparos de potenciais de ação emitidos por neurônios diferentes em resposta a estímulos de corrente iguais (veja a figura abaixo).

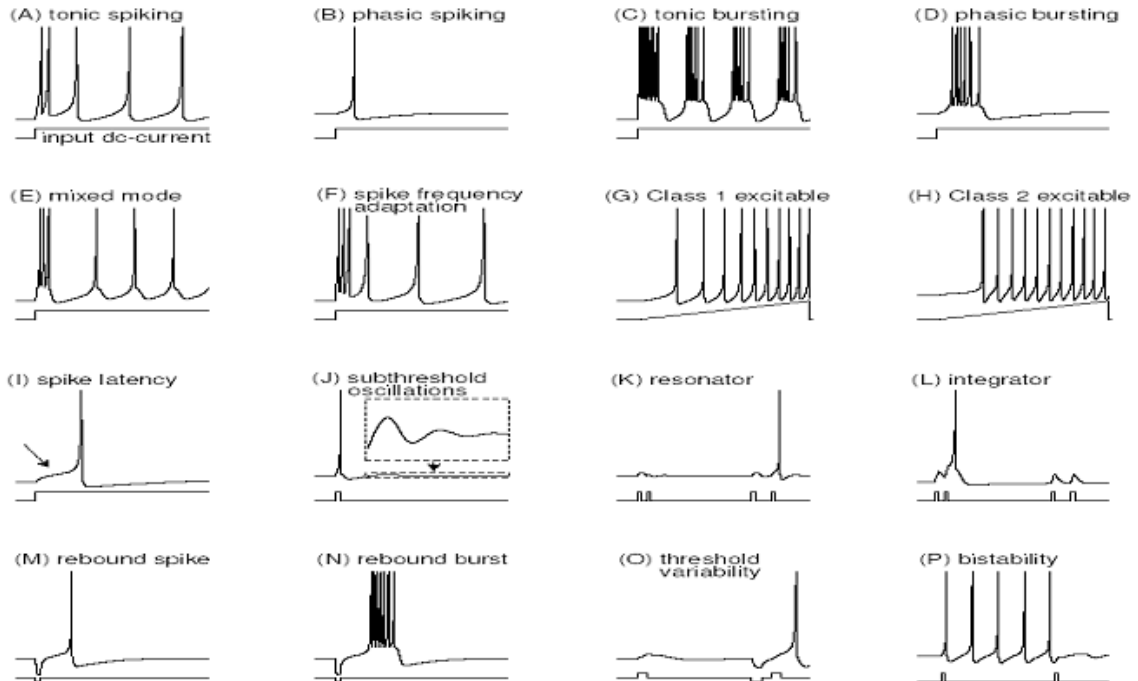
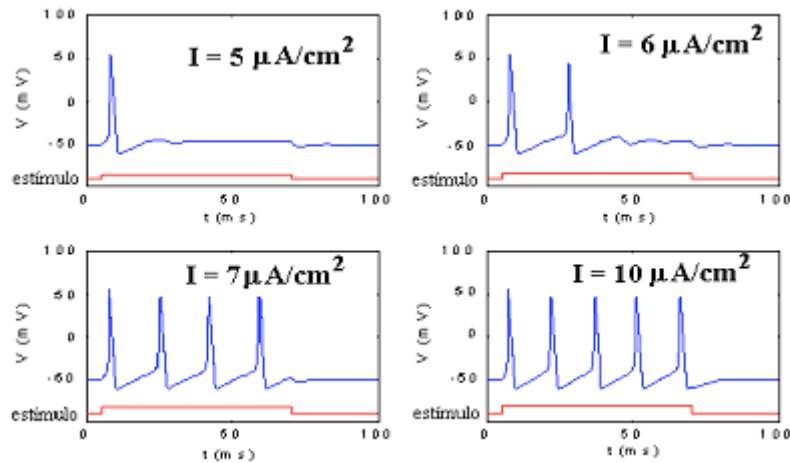


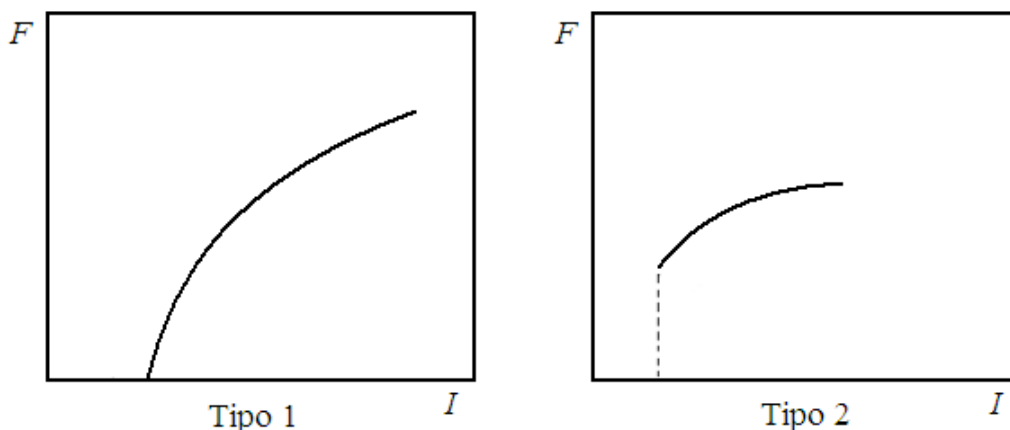
Fig. 1. Summary of the neuro-computational properties of biological spiking neurons. Shown are simulations of the same model, Eq. (1, 2), with different choices of parameters.

E. M. Izhikevich, 2003

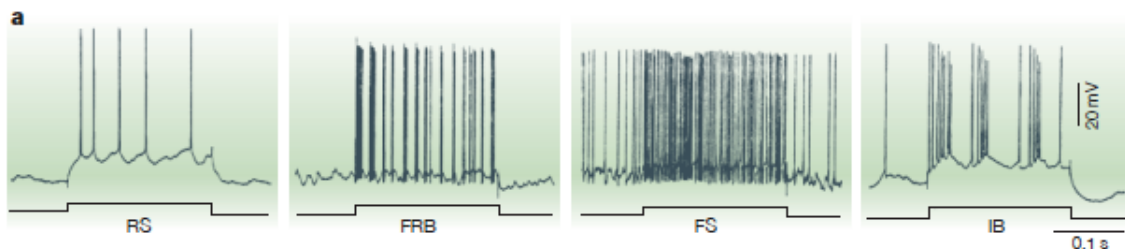
- Desprezando efeitos como adaptação ou *bursting* (que podem ocorrer dependendo do tipo de neurônio, como mostra a figura anterior), cada valor de corrente supralimiar define um intervalo de tempo Δt durante o qual não se pode gerar outro potencial de ação.
- Portanto, para cada valor de corrente injetada haverá uma frequência única e constante de disparos de potenciais de ação dada por $1/\Delta t$.
- Isto sugere que um neurônio atua como um conversor de corrente (ou voltagem, pela lei de Ohm) em frequência. Ele codifica um estímulo por uma frequência.
- A figura abaixo, obtida com uma simulação do modelo de Hodgkin-Huxley para o axônio gigante de lula, ilustra esta idéia. Note que o número de disparos emitidos durante um tempo fixo (por exemplo, o tempo de duração do estímulo) aumenta com a amplitude do degrau de corrente injetada.



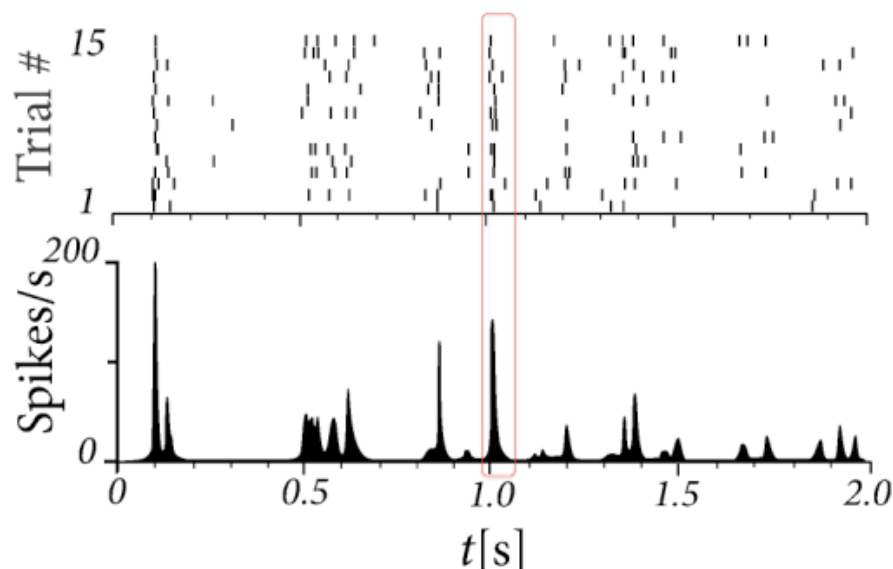
- Esta concepção sobre a codificação das propriedades de um estímulo feita por um neurônio em termos da sua frequência de disparos constitui uma das bases para os primeiros modelos *funcionais* de neurônios, que deram origem à área das **redes neurais artificiais**.
- Vários estudos experimentais com células nervosas se dedicam à determinação da chamada curva F-I da célula, que dá a frequência de disparos (F) de um neurônio em função da intensidade de uma corrente injetada (I). A função F-I pode ser vista como a função de transferência ou de ganho do neurônio, que descreve a sua relação entrada-saída.
- Em geral, as curvas F-I de neurônios são funções não-lineares com saturação (pois um neurônio não pode ter uma frequência de disparos infinita).
- Em 1948, Hodgkin estimulou vários tipos diferentes de neurônios com correntes de intensidade crescente. Ele observou que os neurônios podem ser classificados em dois tipos básicos quanto à forma das suas curvas F-I, que ele chamou de tipos 1 e 2 (veja a figura a seguir).



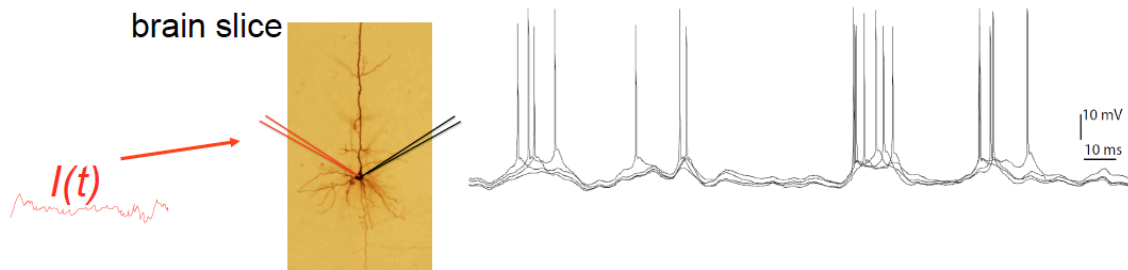
- Nos neurônios de tipo 1, pode-se gerar potenciais de ação com frequências arbitrariamente baixas. Já nos neurônios de tipo 2 só se consegue gerar potenciais de ação dentro de uma faixa relativamente limitada de frequências.
- Atualmente, costuma-se caracterizar um neurônio não somente com base na sua morfologia e na região do cérebro onde ele se encontra, mas também por sua curva F-I (em geral, obtida com estudos de injeção de corrente intracelular *in vitro*) e pelo tipo de trem de disparos de potenciais de ação que ele gera quando estimulado.
- Com base no padrão de resposta a injeção de corrente neurônios podem ser agrupados em **classes eletrofisiológicas**.



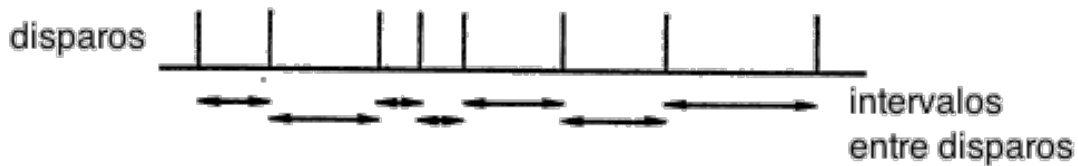
- As respostas dos neurônios a um mesmo estímulo não são sempre iguais, mas variáveis. Se apresentarmos o mesmo estímulo a um neurônio repetidas vezes, a cada vez teremos uma resposta diferente.
- A cada repetição, os instantes de ocorrência dos potenciais de ação serão diferentes e o número total de disparos pelo tempo total da repetição também será diferente.



- A figura acima mostra respostas do mesmo neurônio (*in vivo*) a 15 repetições do mesmo estímulo visual (um padrão aleatório de pontos em movimento).
- A figura abaixo mostra respostas do mesmo neurônio (*in vitro*) a 4 repetições idênticas do mesmo estímulo dependente do tempo: uma corrente injetada $I(t)$.

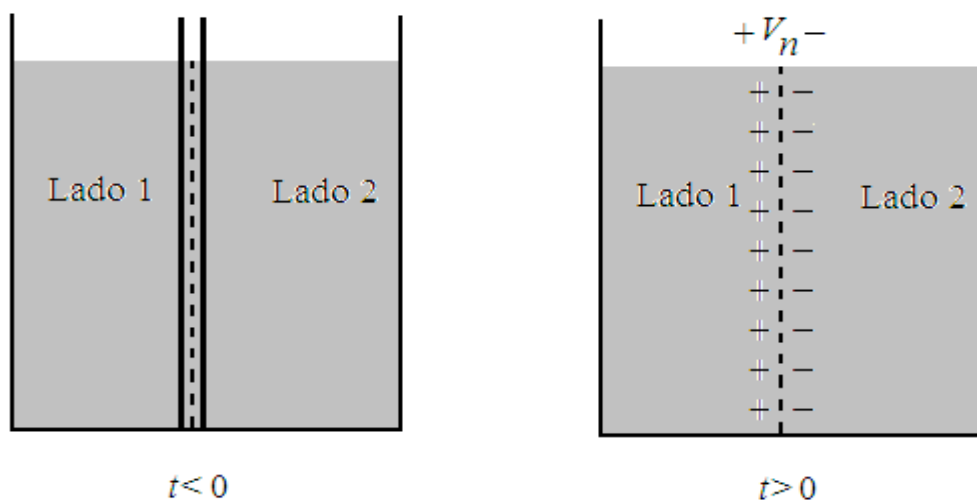


- Outra maneira de quantificar a resposta e a variabilidade neuronal é pelo histograma dos intervalos entre disparos
- O intervalo entre dois disparos é indicado pela sigla ISI, do inglês para *interspike interval* (veja a figura abaixo).



- **Leituras sugeridas sobre os padrões de trens de disparo de neurônios:**
 - McCormick, D. A., Connors, B. W., Lighthall, J. W. and Prince, D. A. Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *Journal of Neurophysiology*, 54:782-806, 1985;
 - Connors, B. W. and Gutnick, M. J. Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends in Neuroscience*, 13:99-104, 1990;
 - Contreras, D. Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Networks*, 17:633-646, 2004;
 - Steriade, M. Neocortical cell classes are flexible entities. *Nature Reviews Neuroscience*, 5:121-134, 2004.

Apêndice: o potencial de Nernst



Para entendermos como o potencial de equilíbrio de Nernst pode ser gerado, vamos considerar uma situação como a mostrada na figura acima. Imaginemos uma cuba contendo uma solução eletrolítica separada em dois compartimentos por uma membrana permeável apenas ao íon n . Por simplicidade, vamos assumir que o íon n tem valência positiva. Vamos supor que a concentração deste íon é maior do lado 2 do que do lado 1. Em $t < 0$, a membrana está envolvida por uma partição impermeável que não deixa passar o íon n . Em $t = 0$, retira-se essa partição e a solução dos dois lados fica em contato com a membrana. Porém, apenas os íons n podem fluir pela membrana (existem outras espécies iônicas, que não podem passar pela membrana, mas que fazem com que a carga líquida dos dois lados da membrana seja nula). Como existem mais íons do tipo n do lado 2 da membrana, inicialmente haverá um fluxo iônico difusivo do lado 2 para o lado 1. Já que os íons passando pela membrana têm carga positiva e, em $t = 0$, as duas soluções estão neutras, este fluxo inicial irá levar a um acúmulo de cargas positivas do lado 1 e deixará um excesso equivalente de cargas negativas do lado 2. Como, supostamente, as soluções dos dois lados da membrana são boas condutoras elétricas, esses excessos de carga irão rapidamente se distribuir ao longo dos dois lados da membrana, gerando uma configuração como a mostrada na figura para $t > 0$. A separação de cargas entre os dois lados da membrana gerará um potencial elétrico através dela, com o lado 1 estando a um potencial positivo em relação ao lado 2.

Uma vez gerado, este potencial elétrico irá dificultar o fluxo dos íons positivos do lado 2 para o lado 1. Porém, ainda assim continuará a haver fluxo líquido de íons do tipo n do lado 2 para o 1. Este fluxo só será zero quando o acúmulo de cargas positivas do lado 1 (e o acúmulo equivalente de cargas negativas do lado 2) for tal que o valor do potencial gerado impeça um deslocamento líquido de partículas. Este valor particular do potencial através da membrana é o potencial de Nernst para o íon n .

Este exemplo nos diz que, para íons de valência positiva, como é o caso do exemplo, o potencial de Nernst gerado é tal que o lado com menor concentração do íon fica a um potencial mais elevado do que o lado com maior concentração do íon. Por outro lado, para íons de valência negativa, o lado com maior concentração do íon deve ficar a um potencial mais elevado. A figura abaixo ilustra isso, usando o íon de potássio e as suas concentrações dos dois lados da membrana neuronal como exemplo.

