



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
Instituto de Física Gleb Wataghin

---

Cristina Giolo  
**e-mail:** crisgiolo -at- gmail.com  
**Orientador:** Prof. Dr. Rickson C. Mesquita  
**contato:** <http://sites.ifi.unicamp.br/rickson>

---

## **Circuitos Elétricos: Simulação de uma Membrana Neuronal**

F609 – Tópicos de Ensino de Física I  
Professor José J. Lunazzi

Campinas, Junho de 2013



*“...todo comportamento é resultado da função neural. O que nós chamamos de mente é um conjunto de operações realizadas pelo sistema nervoso. As ações do sistema nervoso compreendem não apenas os comportamentos motores relativamente simples, como caminhar ou comer, mas todas as ações cognitivas complexas que acreditamos ser essencialmente humanas, como pensar, falar e criar obras de arte.”* **Eric R. Kandel**

## **Agradecimentos**

Primeiramente devo agradecer ao meu orientador por me acompanhar nesse projeto se mostrando muito interessado e disposto a ajudar todas as vezes que foi preciso, me fornecendo material, tirando minhas dúvidas e auxiliando nos problemas encontrados. Devo agradecer também ao professor David Mendez Soares, que me auxiliou na montagem do projeto e se mostrou muito disposto a ajudar, ao Eng. Antônio Carlos Costa e ao técnico de eletrônica Vladimir Gaal, que foram muito prestativos e atenciosos sempre que precisei utilizar o laboratório em diversos horários.

# Índice

<i>1.</i>	Resumo	4
<i>2.</i>	Introdução	4
<i>3.</i>	Descrição do trabalho	5
<i>4.</i>	Resultados obtidos	7
<i>5.</i>	Registros	8
<i>6.</i>	Justificativa – parte prática	10
<i>7.</i>	Dificuldades encontradas	11
<i>8.</i>	Referências e pesquisa	11
<i>9.</i>	Declaração do orientador	12
<i>10.</i>	Apêndice A	13

## 1. Resumo

O presente experimento tem por objetivo fixar o aprendizado de eletromagnetismo para alunos do Ensino Médio, através de um circuito simples que possui significado biológico: uma membrana neuronal. Nos estudos em sala de aula são abordados conteúdos como carga elétrica, corrente, resistores, capacitores, diferença de potencial, efeito Joule, Lei de Ohm, energia, geradores, dentre outros; logo o circuito RC aqui apresentado será utilizado para explicar tanto esses conceitos, quanto para visualizar o que acontece dentro do cérebro animal. Dessa forma, esperamos que o experimento seja capaz de mostrar a importância desses conceitos físicos, que estão ligados não apenas à tecnologia, mas também à vida como um todo.

## 2. Introdução

Existem diversos estudos voltados para a área de Neurociência, inclusive muitos deles trabalham com a representação do processo de sinapse e da membrana celular em circuitos elétricos e computacionais. Um dos trabalhos de simulação envolvendo ciência computacional e biologia foi do Bioquímico e Endocrinologista Molecular Martin Rodbell (Nobel de Fisiologia e Medicina – 1994), mostrando que a transmissão de informações e o processamento delas entre as células pode ser modelado por sistemas computacionais, com uma grande precisão, com os quais descobriu a existência da proteína-G, essencial para esse processo de recepção e transmissão entre as células; trabalho esse que lhe assegurou o Prêmio Nobel. Entretanto, apesar de muitos estudos nessa área, não há registros de uma representação voltada para o ensino em sala de aula, junto com os conceitos físicos, para alunos de Ensino Médio. Diante disto foi proposto essa representação a partir de elementos comuns: resistor, capacitor, pilhas, motor e multímetro.

Nesse trabalho os alunos serão capazes de compreender o funcionamento de um capacitor, um resistor, fontes de tensão e corrente, estudar a Lei de Ohm e o efeito Joule, assim como o funcionamento de um circuito elétrico completo. Além disso, ele será capaz de aplicar esse conhecimento na área da Biologia, mais especificamente na Neurofisiologia, para conhecer como os neurônios se comunicam.

Os capacitores, basicamente, são dispositivos que tem como função armazenar carga elétrica, ou seja, quando colocado em um circuito ele irá, se descarregado (sem carga), funcionar como uma abertura no mesmo, pois está armazenando a carga que chega nele; quando atingir o seu valor máximo de armazenamento, ou seja, chegar à mesma tensão da fonte, atingindo sua capacitância, ele irá permitir que a corrente do circuito passe por ele, funcionando como um fio.

Os resistores são componentes que tem por finalidade apresentar resistência à passagem de corrente elétrica do circuito, através do seu material, obedecendo a Lei de Ohm ( $U = RI$ ). A essa oposição damos o nome de resistência elétrica ou impedância, que possui como unidade de medida o Ohm. Causam uma queda de tensão em alguma parte de um circuito elétrico, porém jamais causam quedas de corrente elétrica, apesar de limitar a corrente. Isso significa que a corrente elétrica que entra em um terminal do resistor será exatamente a mesma que sai pelo outro terminal, apenas a tensão irá variar.

Fontes de tensão contínua (utilizada no projeto) são fontes de corrente elétrica, que transmitem ao sistema uma tensão contínua, por meio de processos químicos (como as baterias) ou por processos de transformação de tensão alternada em contínua, por meio de componentes eletrônicos internos (os diodos).

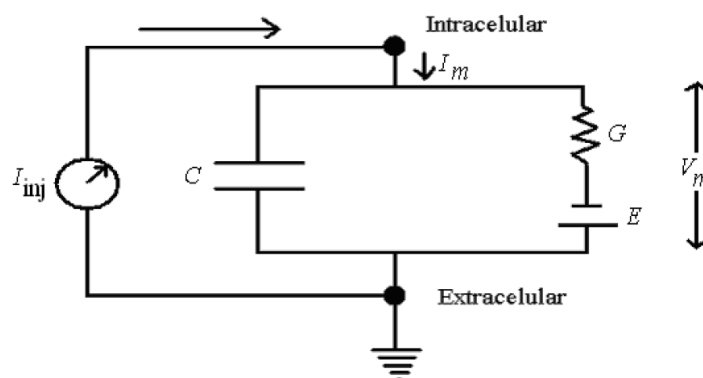
Fontes de corrente são fontes que mantêm a corrente constante entre seus terminais independente da tensão elétrica que tenha que impor entre os mesmos para estabelecer o

valor nominal de sua corrente. Nestes termos uma fonte de corrente é um dispositivo utópico visto que não há fontes de corrente ou tensões capazes de manter suas correntes ou tensões nominais de forma independente dos dispositivos a elas conectados, mas que ainda assim funcionam com uma grande precisão.

Mas qual sua conexão com a Biologia? Nosso circuito RC representará a membrana de uma das células mais importantes do nosso corpo, os neurônios. Os neurônios são células nervosas que transmitem as informações usando uma combinação de sinais elétricos e/ou químicos, que irão coordenar a performance responsável pela atividade de um animal. Suas membranas são eletricamente excitáveis, ou seja, os sinais são gerados e transmitidos por elas sem perda, como resultado do movimento de partículas carregadas (íons). As propriedades dos sinais elétricos permitem aos neurônios conduzir as informações rápida e precisamente para coordenar ações que envolvem muitas partes ou mesmo todo o corpo de um animal.

### 3. Descrição do Trabalho

Nesse trabalho foi montado um Circuito RC com uma fonte de tensão contínua e uma fonte de corrente contínua variável, conforme vemos na *Fig. 01*:



*Fig. 01 – Circuito simulando uma célula com injeção de corrente externa, onde  $C$  é o capacitor,  $G$  um resistor,  $E$  a fonte de tensão,  $I_{inj}$  a corrente injetada pela fonte de corrente e  $V_m$  a tensão entre o resistor e a fonte de tensão (conhecido como potencial de membrana).*

A conexão que fazemos com a Neurofisiologia é que o nosso circuito RC representa a membrana de uma célula. Uma vez que a membrana neuronal é formada por duas camadas de lipídeos que separam os meios condutores intra e extracelular por uma fina camada isolante, ela irá atuar como um capacitor; as proteínas que cruzam a membrana de um neurônio atuam como poros, ou canais iônicos, por onde corrente elétrica (íons) pode passar. Cada canal iônico (seletivo a uma dada espécie iônica) pode ser modelado por um resistor  $R$  colocado em paralelo com o capacitor que representa a membrana.

Se o canal estiver aberto, os íons para os quais o canal é seletivo passarão através dele. Por exemplo, se o canal for um canal de  $K^+$  haverá um fluxo de íons de Potássio de dentro da célula para fora. Se o canal for um canal de  $Na^+$  haverá um fluxo contrário, esse fluxo iônico irá gerar uma separação de cargas entre os dois lados da membrana que produzirá uma diferença de potencial elétrico através dela. No equilíbrio, o valor dessa diferença de potencial é dado pelo potencial de Nernst do íon, que vale aproximadamente  $-70mV$ . Pode-se modelar a existência desse potencial elétrico provocado pelo fluxo iônico através de um canal iônico colocando-se uma bateria em série com a resistência que representa o canal iônico. A voltagem da bateria (ou fonte de tensão contínua) é o potencial de Nernst para a espécie iônica à qual o canal é seletivo. O efeito combinado dos fluxos das várias espécies iônicas produz uma diferença de potencial através da

membrana, o potencial de membrana  $V_m$ . Vemos a representação da membrana na Fig. 02:

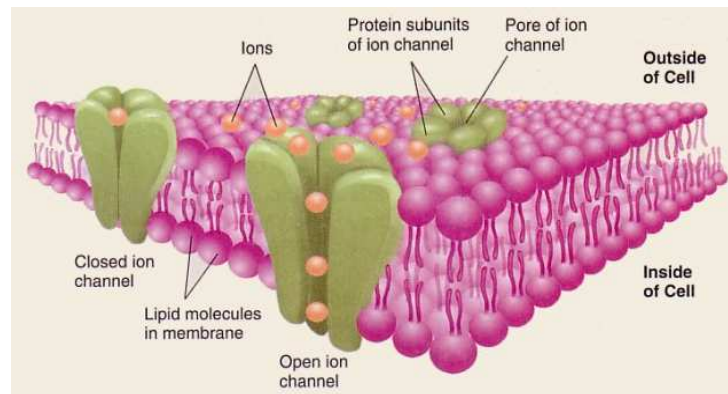


Fig. 02 - Representação de uma Membrana Neuronal

Se o potencial de membrana ( $V_m$ ) for maior que o potencial de Nernst ( $E$ ) do íon, isto irá implicar em uma corrente líquida do íon numa dada direção. Se o potencial de membrana for menor que o potencial de Nernst, haverá uma corrente líquida do íon cuja direção será oposta à do caso anterior. Desta forma, a direção da corrente do íon é invertida quando  $V_m$  passa por  $E$ .

Como nesse experimento os elementos do circuito não dependem da tensão que passa pela membrana, estamos modelando uma membrana passiva. Uma corrente  $I_{inj}$  positiva corresponde a uma corrente de membrana positiva,  $I_m > 0$ . Pela convenção adotada, uma corrente de membrana positiva indica corrente saindo da célula e isto só ocorre quando a membrana está despolarizada, isto é, o interior da célula está mais positivo do que no repouso. Isto está de acordo com o esperado, pois quando  $I_{inj} > 0$  há injeção de corrente diretamente no interior da célula, provocando um aumento de cargas positivas no interior e despolarizando a célula. Já uma  $I_{inj}$  negativa ( $I_m$  indo de fora para dentro da célula) corresponde a uma retirada de cargas positivas do interior da célula, hiperpolarizando a célula.

Esse processo será responsável pela transmissão do impulso nervoso ao longo do axônio da célula, como ilustra a Fig. 03:

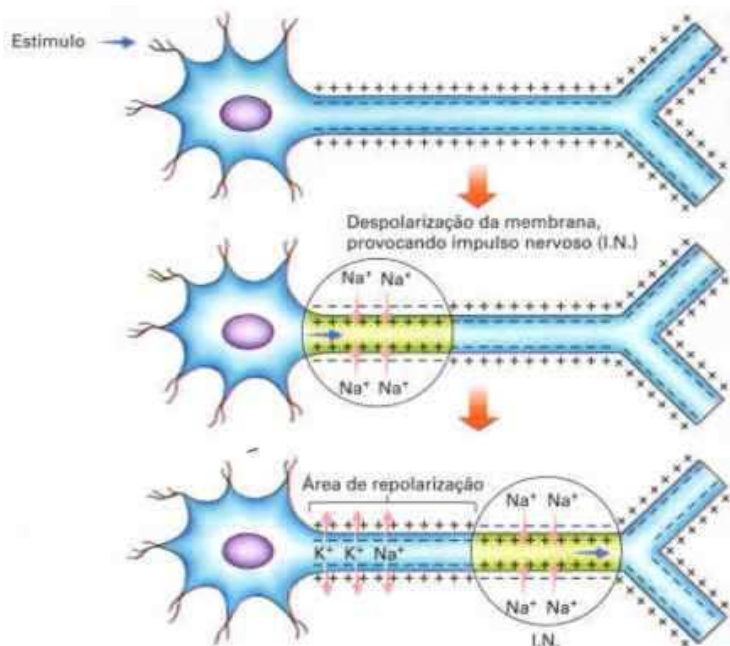


Fig. 03 – Célula neuronal representada com um impulso nervoso sendo transmitido ao longo de seu axônio.

Baseado nesse paralelo, montamos o circuito da *Fig. 01* e analisamos seu comportamento conforme a corrente  $I_{inj}$  era variada, medindo a diferença de potencial  $V_m$  (com o auxílio de um multímetro) para verificar a hiperpolarização ou despolarização da célula, de forma a mostrar o comportamento neuronal como estudado em Biologia no Ensino Médio.

#### 4. Resultados Obtidos

Durante o desenvolvimento do projeto optou-se por montar apenas um circuito, sendo ele a simulação da membrana de uma célula recebendo corrente, de forma a variar sua diferença de potencial, conforme foi descrito acima.

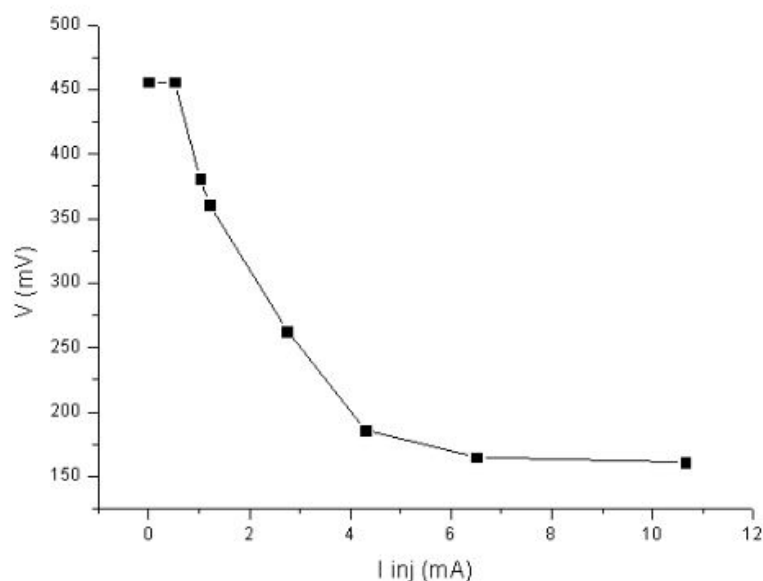
Inicialmente o experimento apresentou resultados um pouco fora do esperado, precisando sofrer ajustes ao longo do semestre, uma vez que os valores reais de diferença de potencial e corrente, em um neurônio, são baixos (em torno de 50 – 90mV e 5 – 20mA) dificultando as medidas com os aparelhos disponíveis no laboratório utilizado.

Novas modificações foram realizadas, trocando as fontes de tensão e corrente por pilhas e motores (conforme será apresentado em vídeo), de forma que o resultado foi satisfatório, apresentando valores e variações dentro do esperado.

*Tabela 1. Valores obtidos conforme variação da corrente:*

$I_{inj}$ (mA)	$V_m$ (mV)
0,00	456
0,51	456
1,02	381
1,20	361
2,75	263
4,30	186
6,50	165
10,65	161

Com esses dados encontramos o seguinte gráfico:



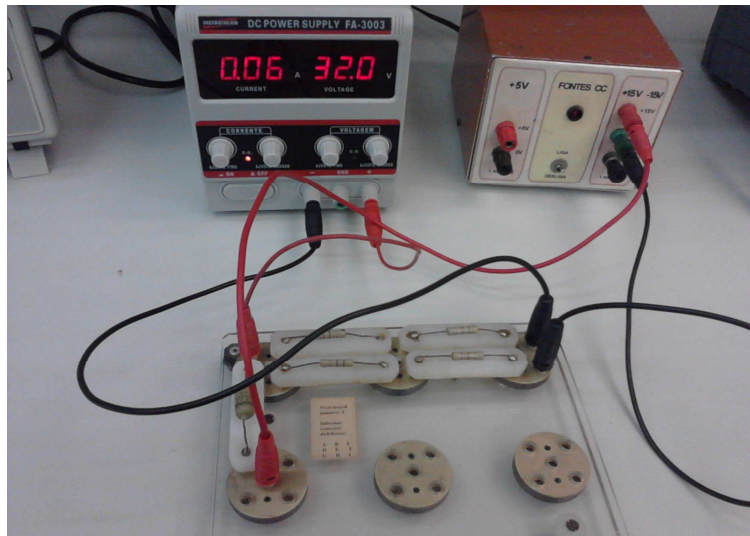
A partir dele notamos que há uma faixa em que a corrente injetada não varia o

potencial de Nernst da célula. Para um valor de corrente maior que certo limiar (0,51mA) o potencial passa a cair exponencialmente, mostrando que há uma injeção de cargas negativas no circuito, equivalente à hiperpolarização da membrana neuronal.

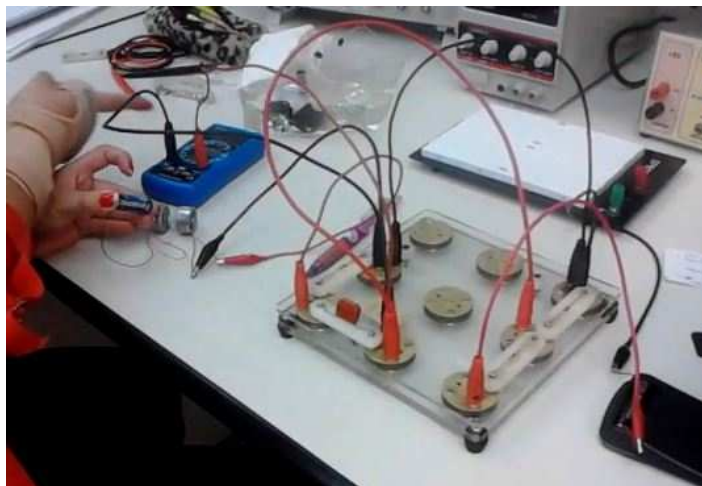
Após os ajustes finais, passamos para a montagem a ser apresentada.

## 5. Registros

A seguir são apresentados fotos e vídeos do experimento com uma breve descrição:



*Fig. 04* – Simulação de uma célula com corrente injetada. O circuito é formado por quatro resistores de  $470\Omega$ , um capacitor de  $0,1\mu\text{F}$ , uma fonte de tensão contínua de 15V e uma fonte de corrente regulável.



*Fig. 05* – Simulação com adaptações necessárias: um resistor de  $4,7\text{k}\Omega$ , um capacitor de  $1\mu\text{F}$ , uma fonte contínua de 1,5V (pilha) passando por um divisor de tensão e uma fonte de corrente formada por dois motores acoplados e uma pilha de 1,5V.

*Vídeo* *1:* Acessível em:  
[http://www.4shared.com/video/nAhjPg50/Projeto\\_2013\\_1.html](http://www.4shared.com/video/nAhjPg50/Projeto_2013_1.html)

Nesse vídeo é apresentada a injeção de corrente no circuito, mostrando o visor da fonte de corrente onde nota-se a variação da corrente injetada e sua respectiva



tensão.

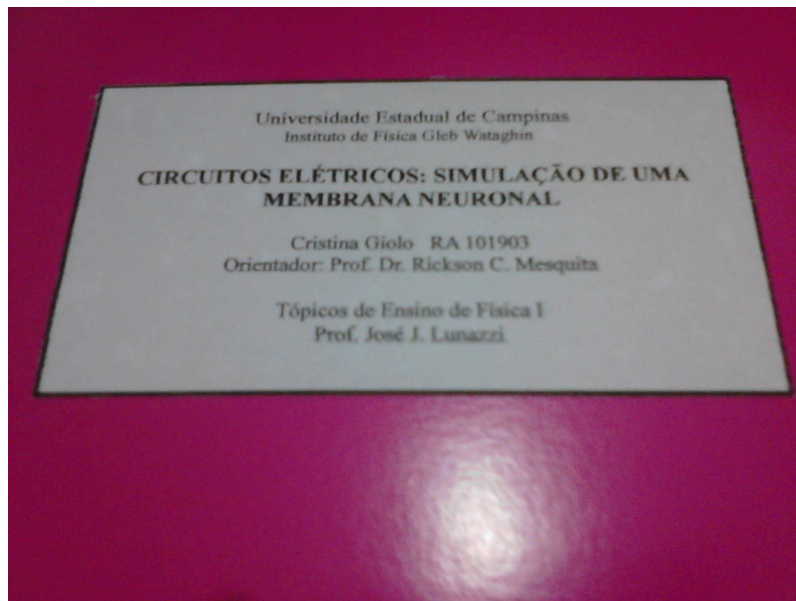
Vídeo 2: Acessível em:  
[http://www.4shared.com/video/y116Buvr/Projeto\\_2013\\_2.html](http://www.4shared.com/video/y116Buvr/Projeto_2013_2.html)

Esse é um vídeo mais completo, que apresenta o circuito, a injeção de corrente nele e a leitura de um multímetro mostrando a variação da tensão entre a fonte de tensão e os resistores.

Vídeo 3: Acessível em:  
[http://www.4shared.com/video/7qhqcSwk/projeto\\_final\\_1.html](http://www.4shared.com/video/7qhqcSwk/projeto_final_1.html)

Esse vídeo mostra a fase final de montagem, com os ajustes de dispositivos e valores mais próximos dos reais.

O projeto finalizado e entregue ao professor da disciplina em uma caixa, da seguinte forma:



*Fig. 06 – Visão superior da caixa entregue*



*Fig. 07 – Visão da caixa aberta contendo o experimento*

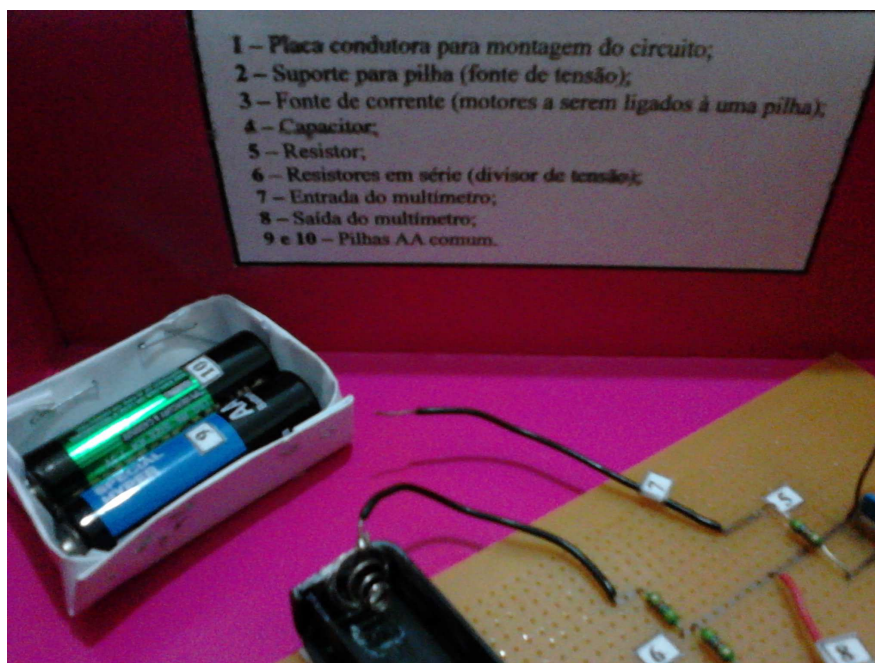


Fig. 08 – Descrição de cada componente enumerado, colada dentro da caixa

Como cada componente foi enumerado, dentro da caixa consta uma lista descrevendo o que é cada um deles. Vale destacar que nesta lista não consta o multímetro, uma vez que o aparelho foi emprestado do laboratório, porém pode ser comprado em lojas de elétrica facilmente. Segue a descrição:

- 1 – Placa condutora para montagem do circuito;
- 2 – Suporte para pilha (fonte de tensão);
- 3 – Fonte de corrente (motores a serem ligados à uma pilha);
- 4 – Capacitor;
- 5 – Resistor;
- 6 – Resistores em série (divisor de tensão);
- 7 – Entrada do multímetro;
- 8 – Saída do multímetro;
- 9 e 10 – Pilhas AA comum.

## 6. Justificativa – Parte prática

No início do projeto foram utilizados apenas materiais de laboratório, porém durante a finalização e até o que foi apresentado no RF1 e no painel de projetos, os componentes laboratoriais foram substituídos por elementos simples, fáceis de serem encontrados, como pilhas e motores de carrinho. O multímetro é um aparelho muito comum e interessante a ser apresentado e ensinado para os alunos. O que poderia gerar mais discussões seriam os resistores, o capacitor e a placa, porém todos são de fácil acesso, pois são encontrados em lojas de eletrônica pela cidade, que são elementos comuns aos alunos, uma vez que a maior parte das pessoas nessa faixa etária já teve curiosidade em abrir uma CPU ou qualquer outro aparelho com componentes eletrônicos (como um rádio), ou já tiveram algum outro tipo de contato com placas eletrônicas, por este fato optou-se por manter esses elementos. Não há dúvidas que o experimento proposto envolve instrumentação adequada para alunos do ensino médio, com componentes simples e de fácil acesso, e sua justificativa é relevante dentro de um contexto cada vez mais multidisciplinar de ensino.

## 7. Dificuldades encontradas

Durante a realização do projeto foram encontradas algumas dificuldades, isso se deve ao fato de tentarmos trazer algo microscópico para o campo macroscópico.

Experimentalmente as fontes, resistores e capacitores utilizados não são os mais ideais, pois seus valores/capacidades são bem diferentes do que buscávamos, gerando uma discrepância com o resultado esperado, entretanto ainda é possível aproximá-lo mais da teoria, o que foi feito na parte final o projeto.

## 8. Referências e Pesquisa

Palavras-chave: neurociência; neuroscience; circuitos biológicos; synaptic transmission; membranes; neural circuits; circuitos neurais;

Conforme apresentadas as referências (seção 1.4), seguem as devidas descrições:

5.1. Roque, A., ***Introdução à Neurociência Computacional***, USP. (Disponível no Apêndice A e em: <http://sisne.org/Disciplinas/PosGrad/IntrodNeuroComput/>);

- *Conjunto de aulas onde são apresentados conceitos importantes sobre o funcionamento neural (sinais, transmissão de sinais, funcionamento e importância biológica/química/física, funcionamento e potencial de membrana);*

5.2. Mesquita, R. C., ***A Mathematical Approach to Excitable Membranes***, 2007. (Disponível no Apêndice A);

- *Conjunto de slides que apresentam o funcionamento da membrana, seu potencial, suas equações, representação gráfica e a modelagem da membrana e seus canais em um circuito elétrico.*

5.3. Hodgkin, A. L., Huxley, A. F., ***Measurement of Current-Voltage Relations in the Membrane of the Giant Axon of Loligo***, Journal of Physiology – London, v. 116, p. 424-448, 1952. (Disponível no Apêndice A e em: <http://sisne.org/Disciplinas/PosGrad/IntrodNeuroComput/HodgkinHuxleyKatzJPhysiol116424-4481952.pdf>);

- *Parte do artigo escrito por Hodgkin, Huxley e Katz, para seus estudos realizados no Laboratório da Associação Biológica Marinha em Plymouth e no Laboratório de Fisiologia da Universidade de Cambridge, em 1951, onde apresentam os resultados para transmissão de informações pelo axônio da Lula, que são os responsáveis por levar os sinais elétricos do corpo celular até outras células neurais, pelo processo de sinapse.*

5.4. Virtual Amrita Laboratories Universalizing Education, ***Study of Synaptic Transmission (Remote Trigger)***. (Disponível no Apêndice A e em: <http://amrita.vlab.co.in/?sub=3&brch=43&sim=153&cnt=1>);

- *Apresenta um estudo sobre o processo de sinapse elétrica, mostrando sua importância na transmissão de informações entre células nervosas e como ocorrem.*

5.5. História de vida e pesquisas de Martin Rodbell. (Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Martin\\_Rodbell](http://pt.wikipedia.org/wiki/Martin_Rodbell));

- *Conteúdo apresentado pelo professor da disciplina (José J. Lunazzi), onde é apresentada a história de vida de Rodbell e suas pesquisas.*

## **9. Declaração do Orientador**

Meu orientador concorda com o expressado e realizou os seguintes comentários:

“Considero que o projeto realizado é elegante e adequado para introduzir o conceito multidisciplinar no Ensino Médio. A partir do conhecimento básico de componentes eletrônicos (circuito RC), a aluna conseguiu modelar e reproduzir o comportamento da membrana neuronal, que é estudado em Biologia no E.M – embora os valores utilizados sejam ligeiramente diferentes dos valores reais medidos nas membranas neuronais.”

Também foi sugerido ao aluno que acrescentasse no relatório uma justificativa sobre a parte experimental do projeto.

# *Apêndice A*

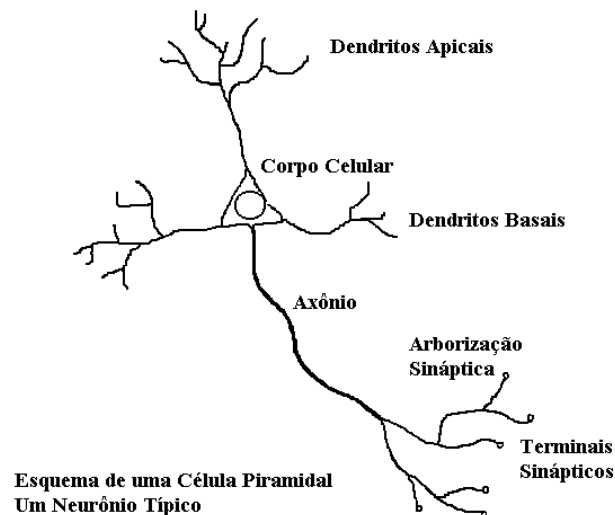
## *Referências bibliográficas*

1. Introdução à Neurociência Computacional 14
2. A Mathematical Approach to Excitable Membranes 57
3. Measurement of Current-Voltage Relations in the Membrane of  
the Giant Axon of Loligo 78
4. Study of Synaptic Transmission (Remote Trigger) 103
5. Estudo da Transmissão de Sinal em um Cabo Co-axial 109

*Pensamentos, emoções, percepções, atos ... todos são produtos da mente humana, dependendo do cérebro e da maneira como ele está organizado.*

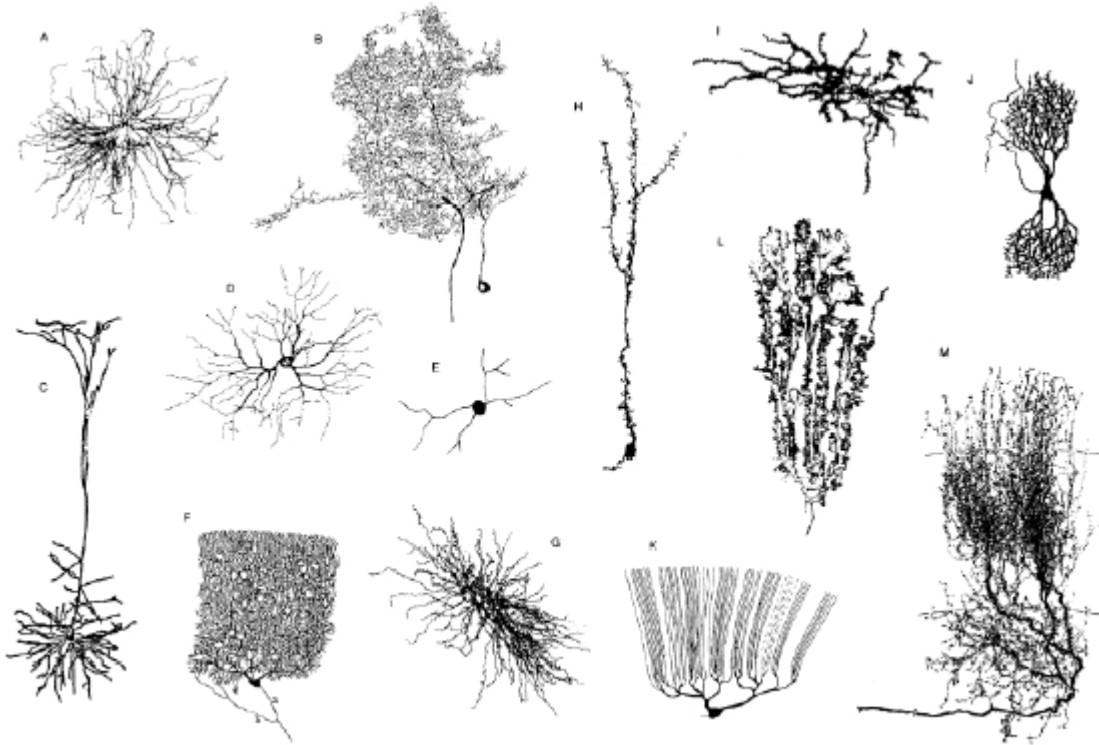
## Elementos de Neurobiologia

- **O Neurônio:**



- No Séc. XIX muitos neuroanatomistas pensavam que o tecido nervoso era um reticulado contínuo – mais ou menos como uma esponja – com suas partes interconectadas por inúmeros tubos.
- O neuroanatomista espanhol Santiago Ramon y Cajal (1852-1934) ofereceu uma alternativa à essa idéia, que ficou conhecida como **Doutrina do Neurônio**.
- Doutrina do Neurônio:
  - O cérebro é composto por células separadas – neurônios e outras células – que são estruturalmente, metabolicamente e funcionalmente independentes. Dessas, o neurônio é a **unidade funcional básica** do sistema nervoso.
- A informação é transmitida de neurônio para neurônio através de regiões de contato ou de proximidade entre neurônios, denominadas sinapses.
- O sistema nervoso humano contém aproximadamente 100 bilhões de neurônios e um pedaço de tecido cortical típico com  $1 \text{ mm}^3$  de volume contém em torno de 100 mil neurônios.

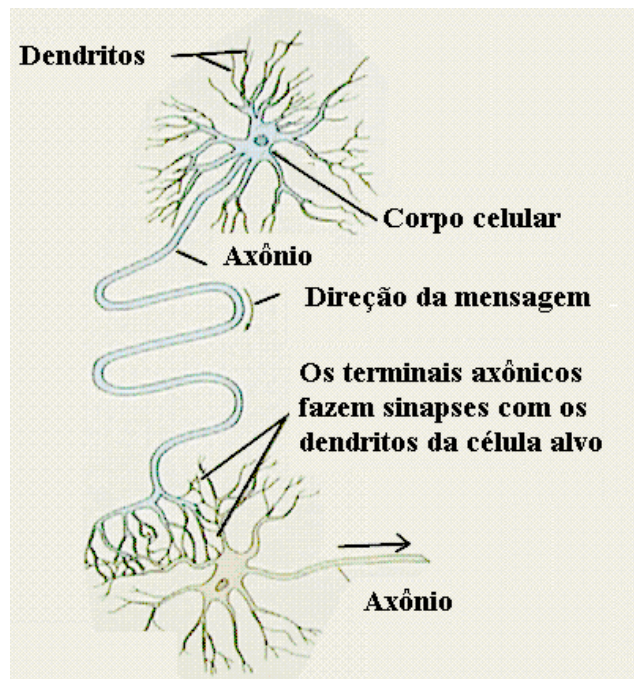
- Os neurônios são células como qualquer outra, com membrana celular e corpo celular (soma) contendo núcleo, mitocôndrias, ribossomos, etc.
- A principal característica que distingue os neurônios das demais células é que eles são especializados para **comunicação intercelular**.
- Existem milhares de tipos diferentes de neurônios (veja a figura a seguir).



- Alguns neurônios não possuem dendritos, mas outros possuem arborizações dendríticas extremamente complexas. Alguns neurônios não possuem axônios, mas outros possuem axônios que podem atingir até 1 m de extensão.
- Do ponto de vista anatômico, os neurônios podem ser diferenciados por **tamanho e forma**. As diferenças em tamanho e forma têm implicações sobre as maneiras como os neurônios processam e transmitem informação.
- Os neurônios não são apenas unidades retransmissoras, isto é, que transmitem a mesma informação que recebem. Pelo contrário, um neurônio típico coleta sinais de várias fontes, integra e transforma esses sinais gerando complexos sinais de saída que são enviados para muitos outros neurônios.

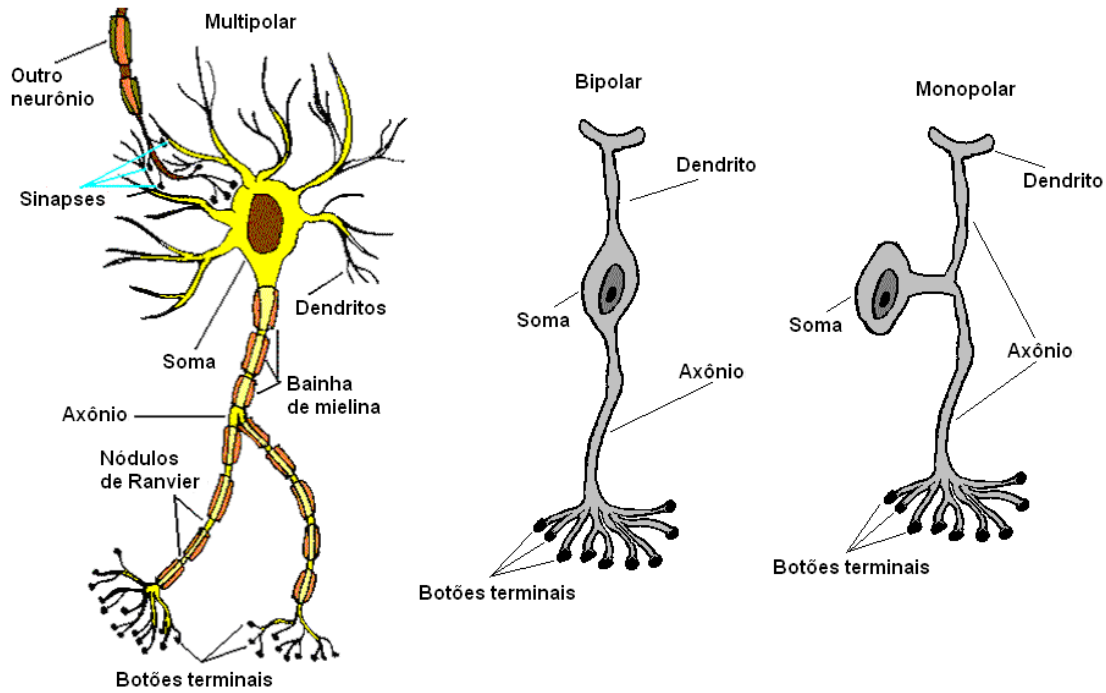
- **Visão clássica de um neurônio:**

Os dendritos recebem sinais de entrada vindos de outras células. Ocorre uma somação espaço-temporal desses sinais ao longo da arborização dendrítica até que eles chegam ao soma (corpo celular). O soma processa e integra esses sinais, gerando pulsos elétricos que se iniciam na região de contato do axônio com o soma (cone axônico); os sinais elétricos (informação) são transmitidos ao longo do axônio, atingindo outros neurônios ou órgãos efetores através de sinapses (veja figura a seguir).

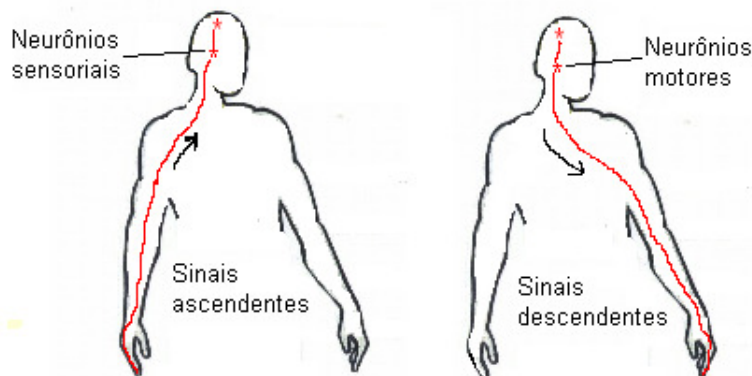


- Do ponto de vista anatômico, pode-se classificar os neurônios em três tipos (veja a figura a seguir):
  - Neurônios multipolares: têm muitos dendritos e um único axônio. A maioria dos neurônios dos cérebros de vertebrados é multipolar;
  - Neurônios bipolares: têm um único dendrito em um lado da célula e um único axônio do outro lado. Esse tipo de neurônio é encontrado em sistemas sensoriais, e.g., na retina e no bulbo olfativo;
  - Neurônios monopolares: têm um único ramo (em geral, chamado de axônio) que, após deixar o corpo celular, se estende em duas direções: uma que recebe as entradas e outra que fornece as saídas. Esse tipo de neurônio transmite informações táteis da superfície do corpo para o cordão espinhal.

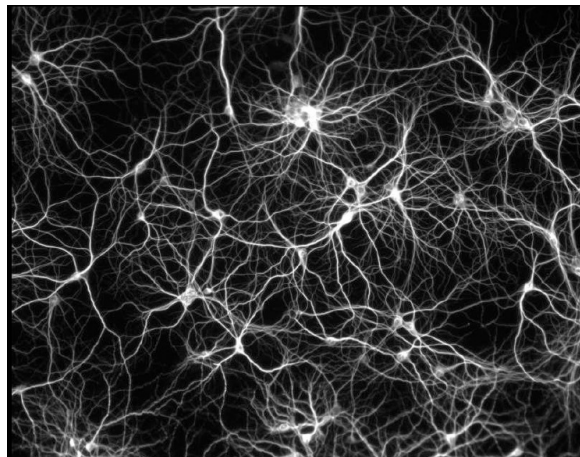




- Em todos esses três tipos de neurônios os dendritos são as estruturas por onde entra informação, mas nas células multipolares o corpo celular também recebe informação de entrada.
- Do ponto de vista funcional, pode-se classificar os neurônios em três tipos:
  - Neurônios sensoriais: tipicamente, têm dendritos longos e um axônio curto. Carregam mensagens dos receptores sensoriais para o sistema nervoso central;
  - Neurônios motores: têm um axônio comprido e dendritos curtos. Transmitem mensagens do sistema nervoso central para os músculos (ou glândulas);
  - Interneurônios: ocorrem apenas no sistema nervoso central e conectam os neurônios entre si.

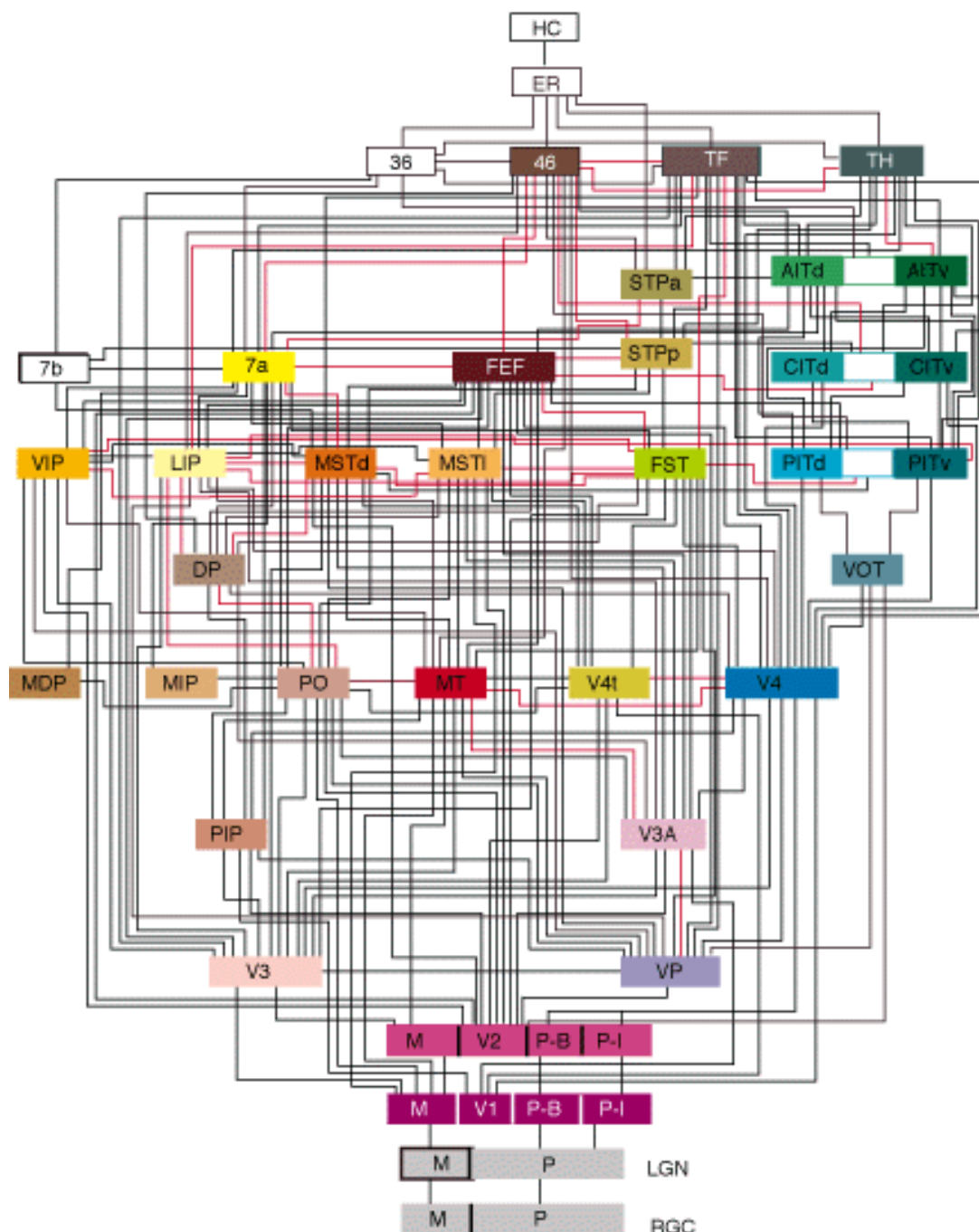


- Além dos neurônios, o cérebro possui outro tipo de células, chamadas de células gliais, ou glia. Existem três tipos de células gliais no cérebro: astrócitos, oligodendrócitos e microglia.
- Estima-se que o número de células gliais no cérebro seja aproximadamente três vezes maior do que o número de neurônios.
- Ainda se conhece pouco sobre o papel da glia no processamento de informação cerebral. Acredita-se que o principal papel da glia esteja relacionado à manutenção das concentrações iônicas no meio intercelular e à modulação da taxa de propagação de sinais nervosos e da ação sináptica.
- Como ainda se sabe muito pouco sobre o papel das células gliais no funcionamento do cérebro, é conveniente manter-se informado sobre as pesquisas relacionadas a essas células, pois elas podem trazer novidades no futuro.
- **Circuitos cerebrais:**



- Sistemas que processam informação podem ter sua arquitetura organizada de duas maneiras básicas: com processamento *feedforward* ou com processamento recorrente. A visão clássica do neurônio exemplifica o tipo de processamento *feedforward*: a informação entra por uma via (os dendritos) e segue um caminho de processamento sem retroalimentação (*feedback*) até uma via de saída (o axônio). Qualquer sistema que tenha *peelo menos* uma via de *feedback* ao longo do processo já é um sistema recorrente.

- O grau de interconectividade entre os neurônios cerebrais é enorme, o que torna os circuitos cerebrais altamente recorrentes (aliás, mesmo um único neurônio real é mais complicado do que o modelo clássico — podendo gerar pulsos elétricos nos seus dendritos — sendo também um elemento recorrente).
- A figura abaixo representa a hierarquia das áreas visuais no cérebro do macaco, conforme determinada por Felleman e Van Essen (Felleman, D.J. and Van Essen, D.C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb. Cortex* 1:1-4).



• **Sinapses:**

- Uma sinapse é uma região especializada em que o terminal axonal de uma célula (chamada de **célula pré-sináptica**) faz contato com outro neurônio ou célula glial (chamada de **célula pós-sináptica**). O tipo de contato sináptico entre duas células pode ser **químico** ou **elétrico**.
- A palavra *sinapse* foi cunhada pelo neurocientista inglês Sir Charles S. Sherrington em 1897. Ela é uma combinação das palavras gregas *syn* (junto) e *haptain* (apertar).
- A figura abaixo ilustra uma sinapse química. Observe que não é só ao nível dos circuitos neuronais que o cérebro exhibe complexos fenômenos recorrentes e não-lineares.

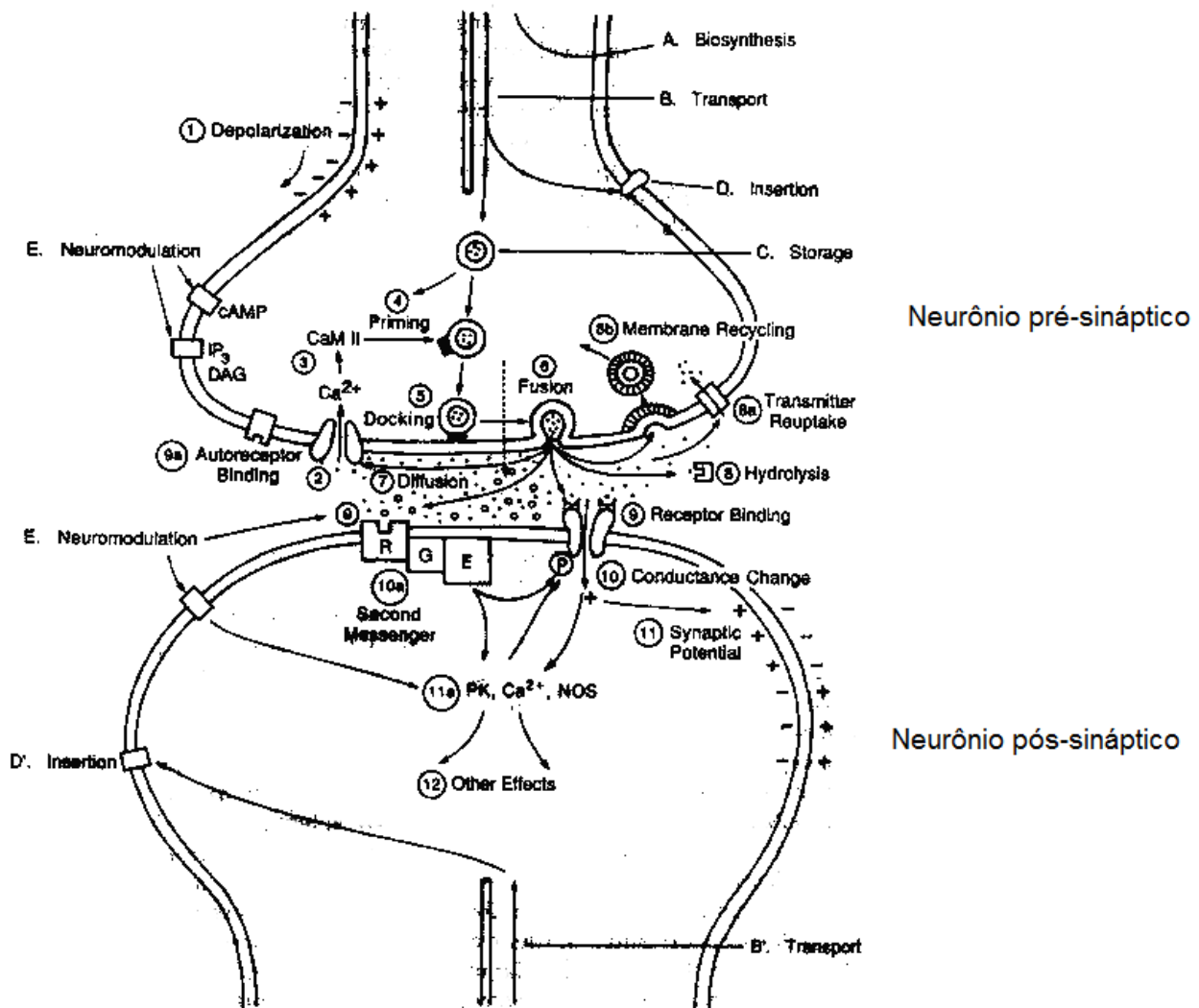


Figura adaptada de Shepherd, G., Neurobiology, Oxford University Press, 1988.

- A figura a seguir ilustra uma sinapse elétrica (a região de contato em uma sinapse elétrica é denominada junção comunicante, ou *gap junction*).

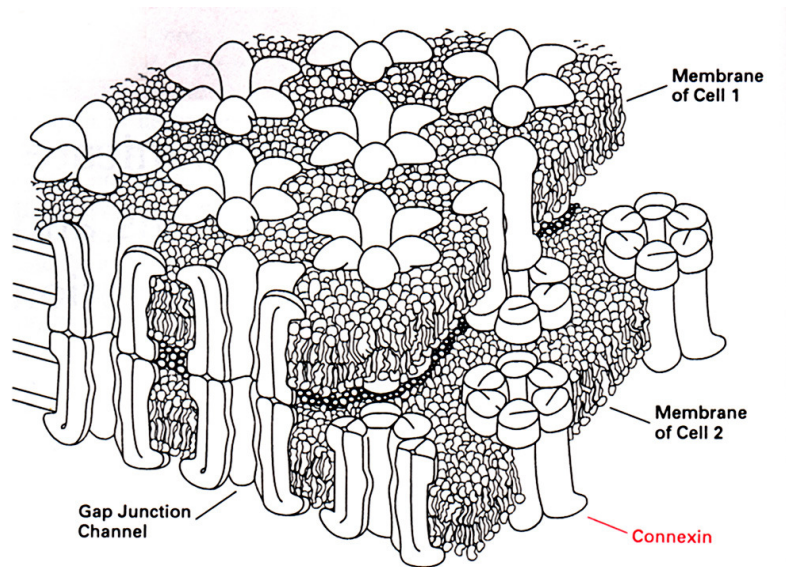


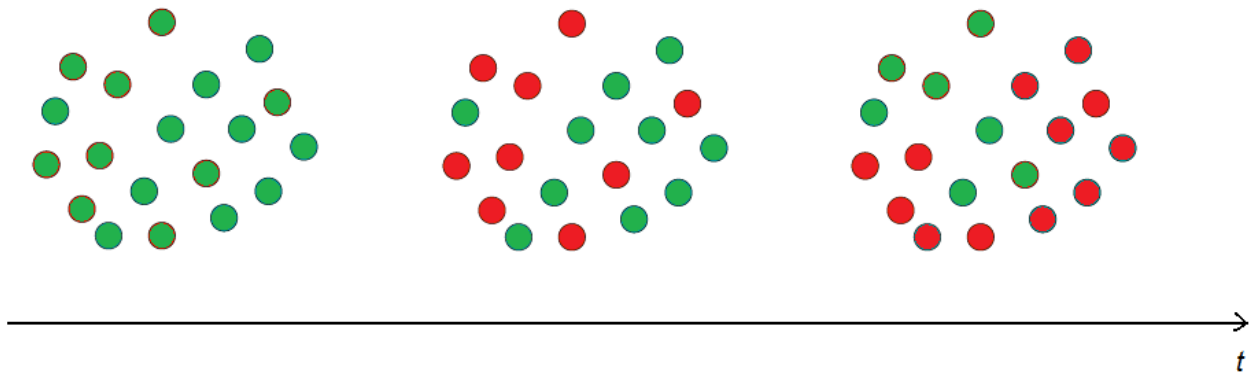
Figure 7-1. Gap junctions. Pores spanning two cell membranes are made of connexin proteins. This picture evolved from the X-ray diffraction work of Makowski et al. (1977).

- Além das sinapses químicas e elétricas, que são mediadas por especializações anatômicas nos neurônios, as células nervosas também podem interagir através dos campos elétricos extracelulares gerados por suas atividades elétricas<sup>1</sup>. Os efeitos dessas interações de campo, no entanto, são, em geral, desprezíveis em comparação com os efeitos das interações sinápticas.
- Uma hipótese central da neurociência teórica é a de que, durante a vida de um indivíduo, em função das suas experiências, certas conexões sinápticas entre grupos de neurônios tornam-se fortalecidas fazendo com que os circuitos formados por esses neurônios tornem-se por sua vez salientes, atuando como uma entidade única em meio ao vasto circuito neural cerebral (veja a figura a seguir).

---

<sup>1</sup> Essas interações elétricas a distância são chamadas em inglês de *ephapses* (termo cunhado do grego pela neurocientista francesa de ascendência grega Angélique Arvanitaki em 1942 para expressar uma conexão que não é tão próxima quanto uma sinapse). Esta palavra ainda não está dicionarizada em português, portanto recomenda-se que ela seja grafada em itálico na sua forma aportuguesada (*efapse*) ou em inglês *ephapse*.

Conjuntos neuronais (cell assemblies): grupos de células em vermelho



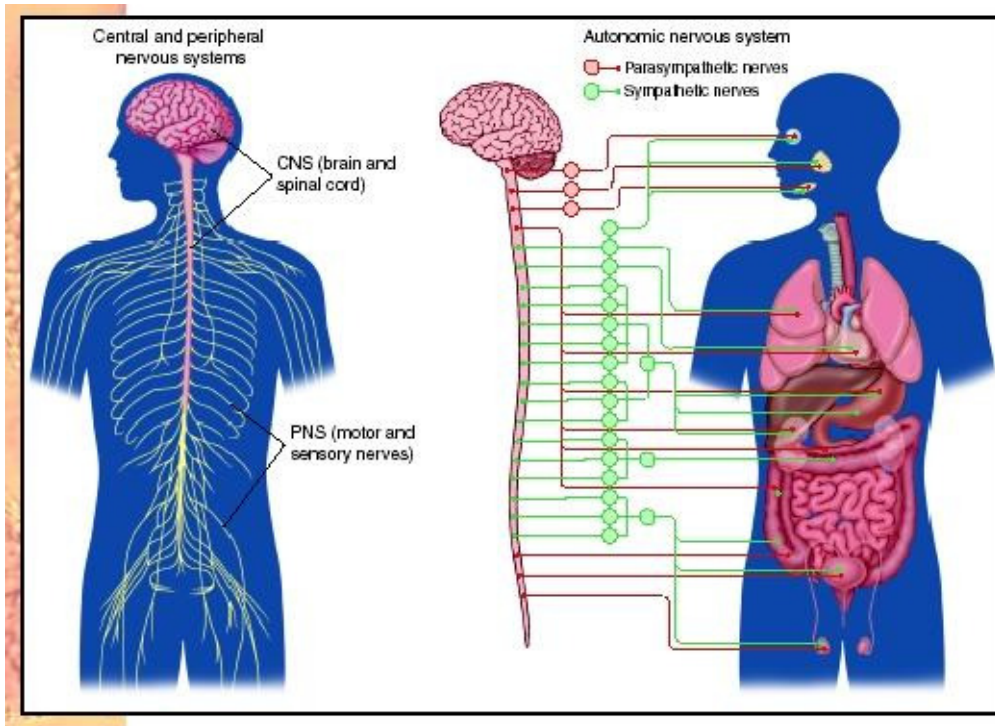
- Segundo muitos neurocientistas, esses circuitos neuronais – ou *conjuntos neuronais (cell assemblies)* como o autor da hipótese, o psicólogo canadense Donald Hebb (1949), os chamou – seriam as unidades *funcionais* básicas do cérebro.
- Na visão de Hebb, um conjunto neuronal seria um circuito complexo e reverberante capaz de sustentar atividade cerebral de maneira autônoma mesmo na ausência de estímulos externos. A hipótese dos conjuntos neuronais seria, portanto, uma maneira de explicar como as memórias humanas se formam e são mantidas por longos períodos de tempo.
- Nas palavras do próprio Hebb (1949):  
*"Let us assume then that the persistence or repetition of a reverberatory activity (or "trace") tends to induce lasting cellular changes that add to its stability. The assumption can be precisely stated as follows: When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased."*
- O nome genérico dado a qualquer tipo de modificação (fortalecimento ou enfraquecimento) na eficiência de uma sinapse é **plasticidade sináptica**.
- A plasticidade sináptica pode ser de **curta duração** (a modificação dura, no máximo, alguns minutos) ou de **longa-duração** (a modificação pode durar dias, anos e até a vida inteira).

- Atualmente se usa o termo **plasticidade hebbiana** para designar qualquer modificação sináptica de longa-duração que dependa das atividades dos dois neurônios envolvidos na sinapse (o pré- e o pós-sináptico).
- A modificação de uma sinapse química pode se expressar de diferentes maneiras. Usando o caso do fortalecimento sináptico como exemplo, as maneiras pelas quais uma sinapse química pode se fortalecer são as seguintes (use como referência a ilustração da página 7):
  1. Pelo aumento do número de neurotransmissores liberados pelo neurônio pré-sináptico;
  2. Pelo aumento do número de receptores no neurônio pós-sináptico;
  3. Pela ativação de tipos especiais de receptores pós-sinápticos que só se tornam ativos quando ocorre o fortalecimento sináptico;
  4. Pela redução no número de neurotransmissores absorvidos por outras células.
- A busca por mecanismos bioquímicos e biofísicos capazes de provocar esses tipos de modificações sinápticas tem sido um dos temas mais importantes da neurociência nos últimos 50 anos.
- Do ponto de vista teórico, a questão importante é como modelar os mecanismos de plasticidade sináptica e estudar seus possíveis efeitos em circuitos neuronais.

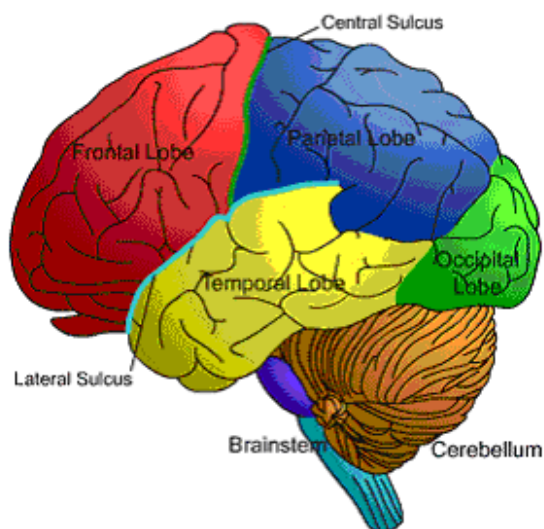
- **Pontos Básicos de Neuronatomia:**

- Componentes do Sistema Nervoso:

- Sistema Nervoso Central: Encéfalo (cérebro e outros componentes) e Medula Espinhal;
- Sistema Nervoso Periférico.



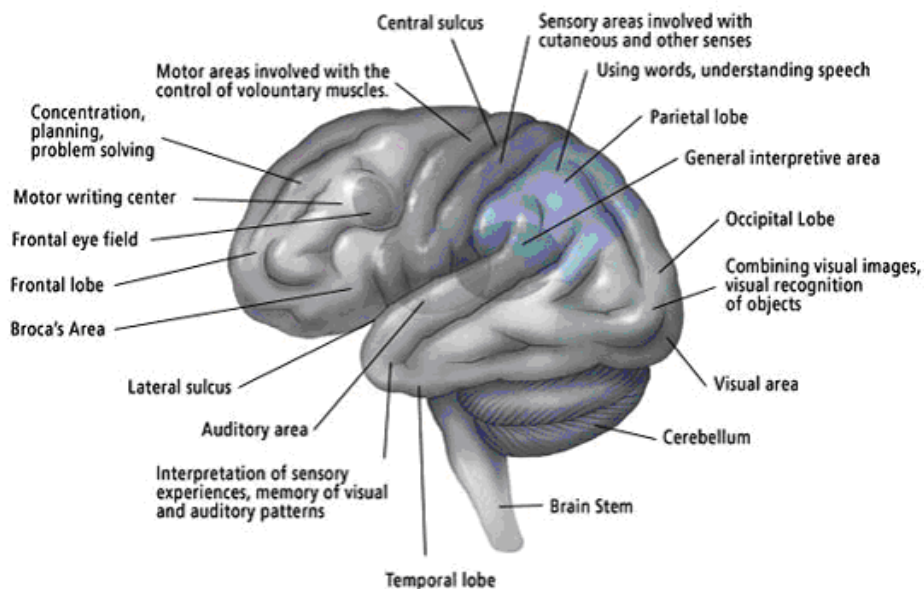
- O Cérebro:



- Dois hemisférios, interligados pelo corpo caloso;



- Córtex: fina camada de matéria cinzenta que recobre o cérebro e está dobrada, formando fissuras e sulcos, para caber na caixa craniana;
- Lobos: occipital, parietal, temporal e frontal;
- Áreas sensório-motoras:
  - Visual (lobo occipital);
  - Auditiva (lobo temporal);
  - Somestésica (lobo parietal);
  - Motora: (lobo frontal).
- Outras áreas: pré-frontal, Broca, Wernicke, etc.

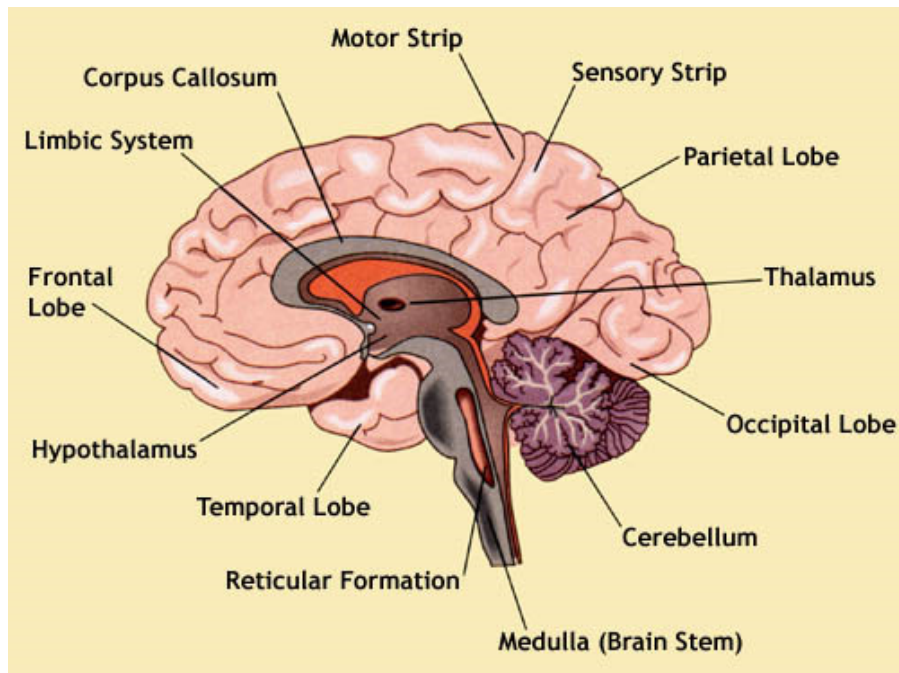


- Outras Componentes do Encéfalo:

- Gânglios (ou núcleos) da base: localizados na base do encéfalo e conectados com o córtex, o tálamo e outras áreas. Associados a várias funções, como controle motor e aprendizado.
- Diencefalo:
  - Tálamo: formado por vários núcleos, é a principal estação (bidirecional) transmissora de sinais sensoriais entre os receptores e o córtex;
  - Hipotálamo: controle de diversas funções internas do corpo, como temperatura, fome e sede, etc.

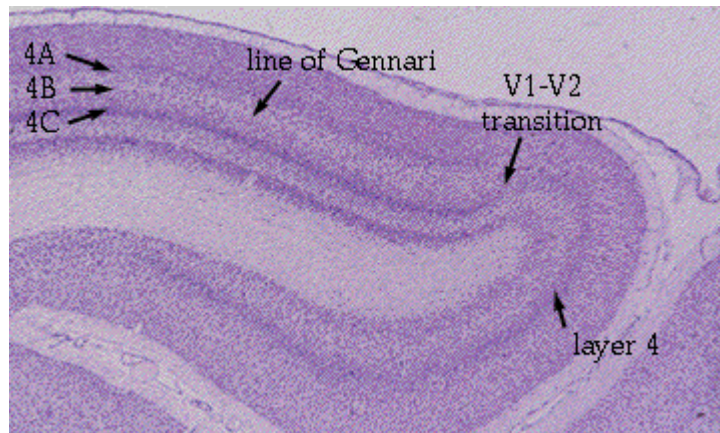
– Sistema Límbico

- Amígdala: emoções;
- Hipocampo: memória de curta duração;

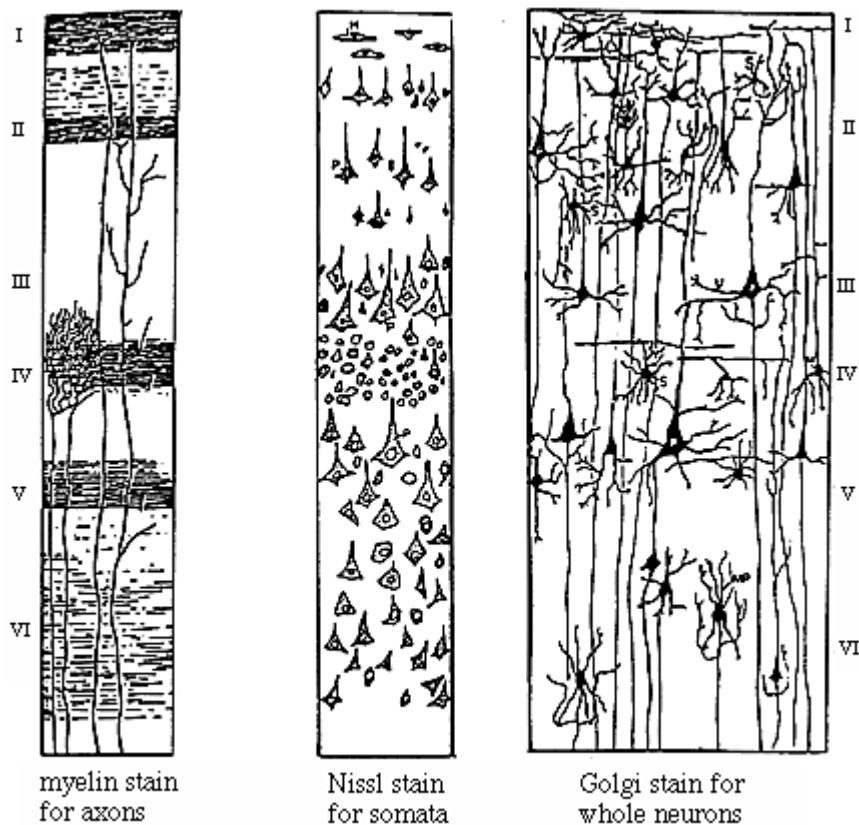


- Medula Espinhal:
  - Condutora das vias nervosas do e para o encéfalo;
  - Coordenação de algumas atividades reflexas.
- Sistema Nervoso Periférico:
  - Malha muito ramificada de fibras nervosas:
    - Aferentes: transmitem informação sensorial para a medula espinhal;
    - Eferentes: transmissão de sinais motores do sistema nervoso central para a periferia.

- **Estrutura em camadas do córtex:**
- Técnicas de coloração de células revelam que o córtex cerebral é organizado em camadas com espessura e densidade celular variáveis.



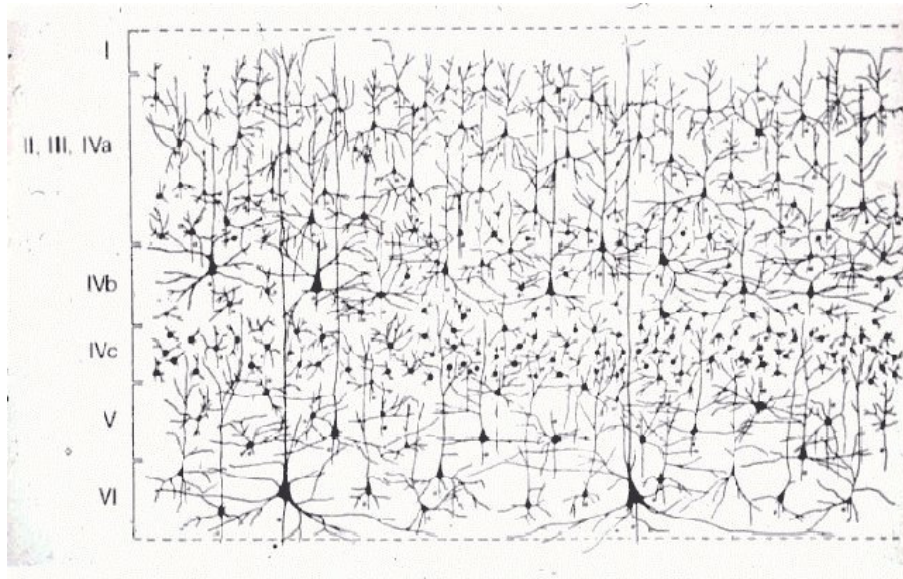
- O tipo de técnica de coloração usada revela diferentes elementos neurais.



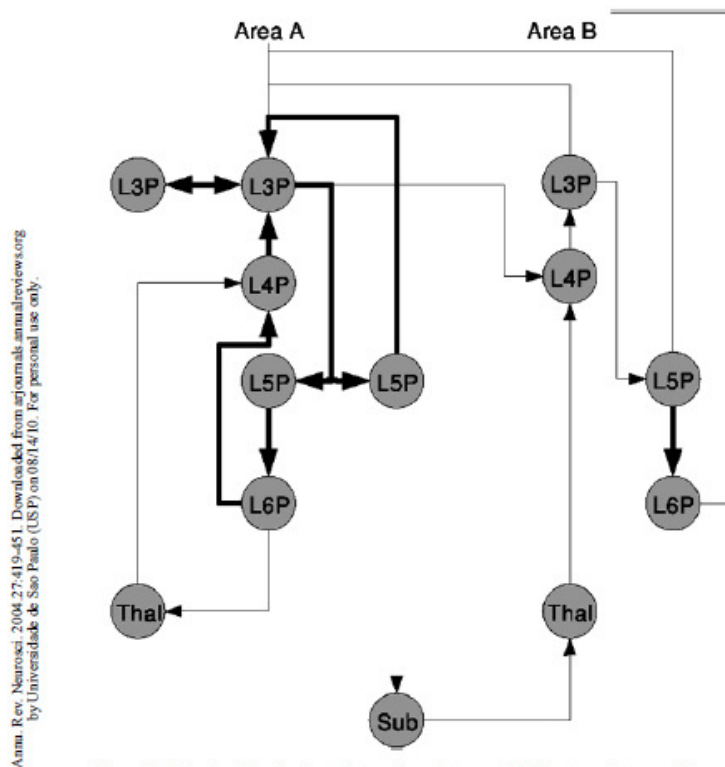
(Source: The Human Brain, J. Nolte, 2nd Ed. Mosby, 1988)

- As camadas são identificadas pelas seguintes características:
  - Tipos de células que contêm;
  - Seu padrão de conexões: de onde suas células recebem conexões sinápticas (aférentes) e para onde elas enviam axônios (eferentes);

- A estrutura organizacional das camadas (padrões de laminação e de conexões excitatórias e inibitórias entre as células) parece ser basicamente a mesma em todas as áreas corticais.



- A figura abaixo ilustra o padrão geral de conexões excitatórias entre camadas corticais.



Annu. Rev. Neurosci. 2004.27:419-451. Downloaded from arjournals.annualreviews.org by Universidade de Sao Paulo (USP) on 08/14/10. For personal use only.

**Figure 1** Graph of the dominant interactions between significant excitatory cell types in neocortex and their subcortical relations. The nodes of the graph are organized spatially; vertical corresponds to the layers of cortex and horizontal to its lateral extent. Directed edges (arrows) indicate the direction of excitatory action. Thick edges indicate the relations between excitatory neurons in a local patch of neocortex, which are essentially those described originally by Gilbert & Wiesel (Gilbert & Wiesel 1983, Gilbert 1983) for visual cortex. Thin edges indicate excitatory connections to and from subcortical structures and inter-areal connections. Each node is labeled for its cell type. For cortical cells, *LxP* refers to the layer in which its soma is located. *P* indicates that it is an excitatory neuron (generally of pyramidal morphology). *Thal* denotes the thalamus and *Sub* denotes other subcortical structures, such as the basal ganglia.

- A figura abaixo ilustra o padrão *temporal* de interações excitatórias entre as camadas corticais.

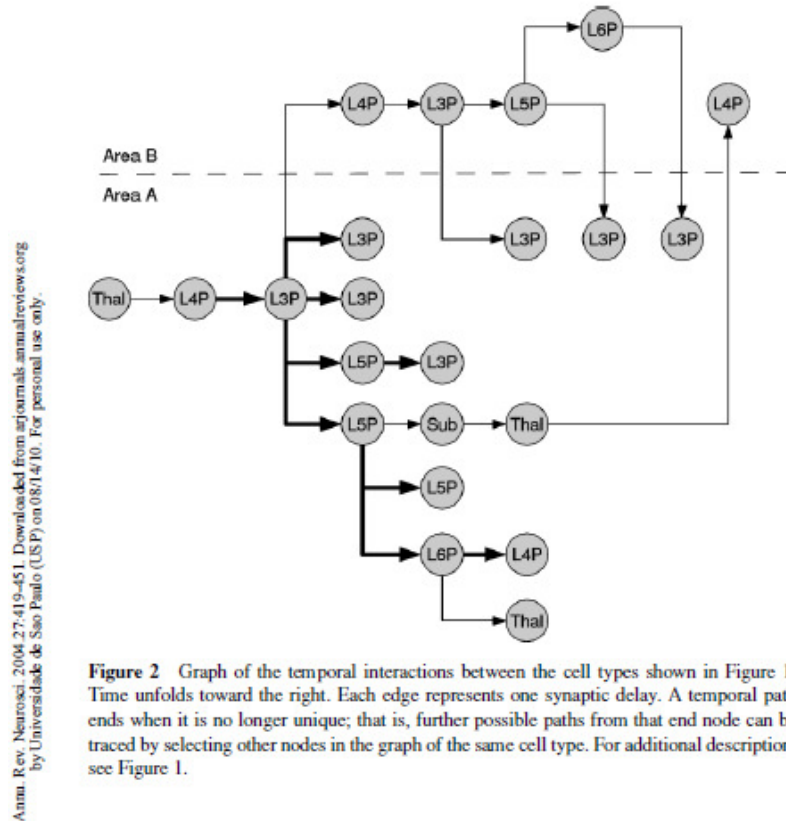
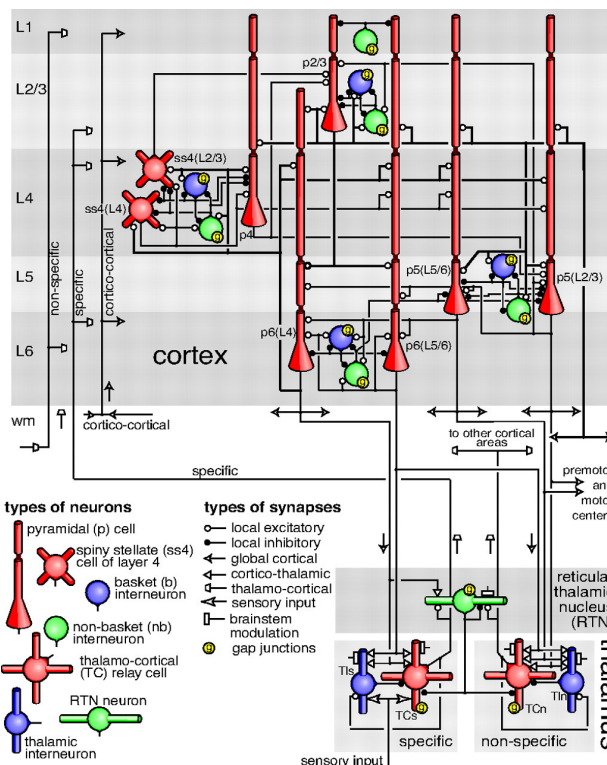


Figure 2 Graph of the temporal interactions between the cell types shown in Figure 1. Time unfolds toward the right. Each edge represents one synaptic delay. A temporal path ends when it is no longer unique; that is, further possible paths from that end node can be traced by selecting other nodes in the graph of the same cell type. For additional description, see Figure 1.

- A figura abaixo ilustra a estrutura das conexões de um modelo computacional para o córtex.



Izhikevich, E.M.; Edelman, G.M. (2008). *PNAS*, 105:3593-3598.

**Leitura recomendada:**

*Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso*, 2ª edição. M. F. Bear, B. W. Connors e M. A. Paradiso. Artmed Editora, Porto Alegre-RS, 2002; Parte I: Fundamentos (Capítulos 1 ao 7, páginas 2 a 201).

**Outras leituras:**

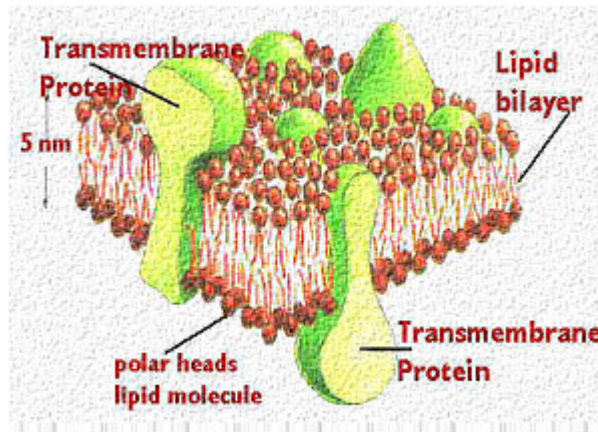
- *Princípios da Neurociência*, 1ª edição em português. E. R. Kandel, J. H. Schwartz e T. M. Jessell. Manole Editora, Barueri-SP, 2003.
- *Neurociências*, 2ª edição. D. Purves et al. (eds.). Artmed Editora, Porto Alegre-RS, 2005.
- *Cem Bilhões de Neurônios*. R. Lent. Editora Atheneu, São Paulo-SP, 2001.
- *Biological Psychology*, 2nd edition. M. R. Rosenzweig, A. L. Leiman and S. Marc Breedlove. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA, 1999.
- *Corticonics*. M. Abeles. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1991.

**Sites na Web:**

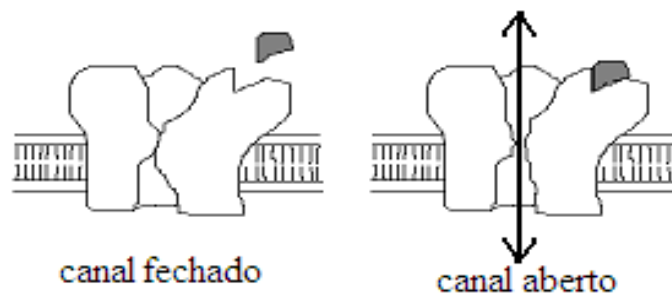
- *Neuroscience Links (página da IBRO)*  
[http://www.ibro.info/secondary/neuroscience\\_links/index.htm](http://www.ibro.info/secondary/neuroscience_links/index.htm)
- *Neuroscience for Kids*  
<http://faculty.washington.edu/chudler/neurok.html>
- *Brain Facts (página da SFN)*  
<http://web.sfn.org/content/Publications/BrainFacts/index.html>
- *Neurosciences on the Internet*  
<http://www.neuroguide.com/>
- *Neuroscience: a WWW Virtual Library*  
<http://neuro.med.cornell.edu/VL/>
- *The Digital Anatomist*  
<http://sig.biostr.washington.edu/projects/da/>
- *Animated Tutorials: Neurobiology/Biopsychology*  
<http://www.sumanasinc.com/webcontent/animations/neurobiology.html>

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

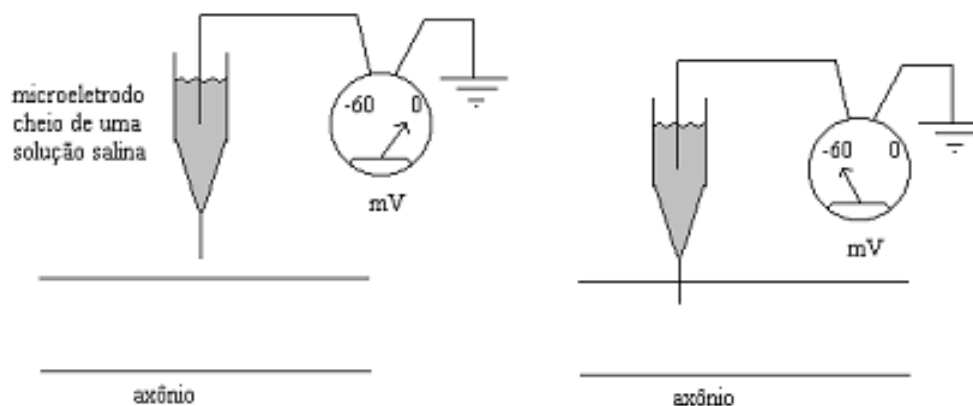
- Um neurônio de uma célula animal é recoberto por uma fina membrana (60 a 70 Å de espessura) que o separa do meio intercelular, chamada de membrana neuronal.
- A membrana neuronal é formada basicamente por lipídeos e proteínas. Os lipídeos estão arranjados em uma camada dupla na qual as proteínas estão 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.



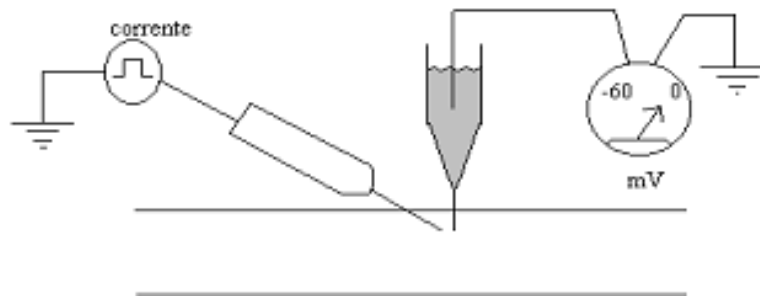
- Existe uma diferença de potencial elétrico entre o lado de fora e o lado de dentro da membrana neuronal. Definindo-se o zero de potencial no lado de fora da célula, o seu lado de dentro está, em geral, a um potencial entre  $-50$  e  $-90$  mV. Portanto, a face interior da membrana está a um potencial 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.



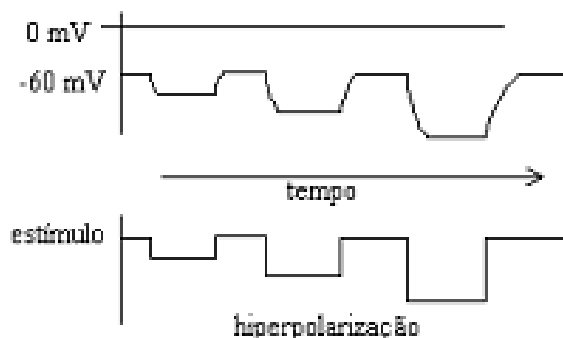
- Além da diferença de potencial elétrico, também existem diferenças nas concentrações de alguns íons entre os dois lados da membrana neuronal.
- A concentração do íon de sódio  $\text{Na}^+$  é pelo menos dez vezes maior do lado de fora de um neurônio do que do lado de dentro; já a concentração do íon de potássio  $\text{K}^+$  é maior do lado de dentro do que do lado de fora.
- Um neurônio concentra  $\text{K}^+$  e expelle  $\text{Na}^+$ . 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  $\text{Na}^+$  levados para fora, dois íons  $\text{K}^+$  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.

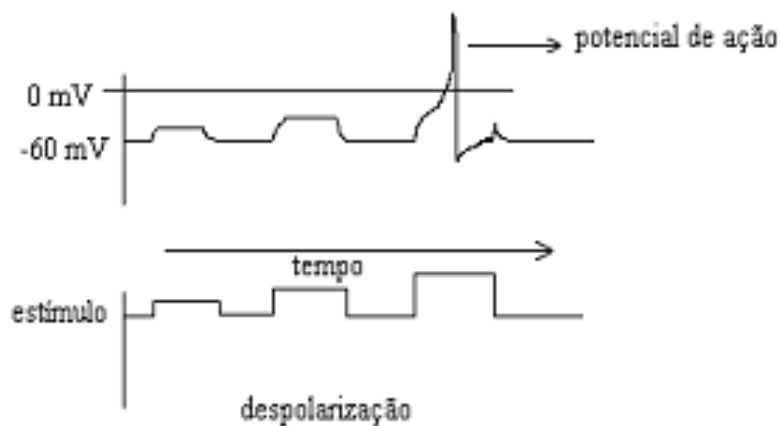


- Quando o potencial de membrana alterado pela injeção de corrente fica mais negativo do que o potencial de repouso, diz-se que a célula está hiperpolarizada. Quando o potencial de membrana fica menos negativo (mais próximo de zero), diz-se que a célula está despolarizada.
- Quando se injeta corrente 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.

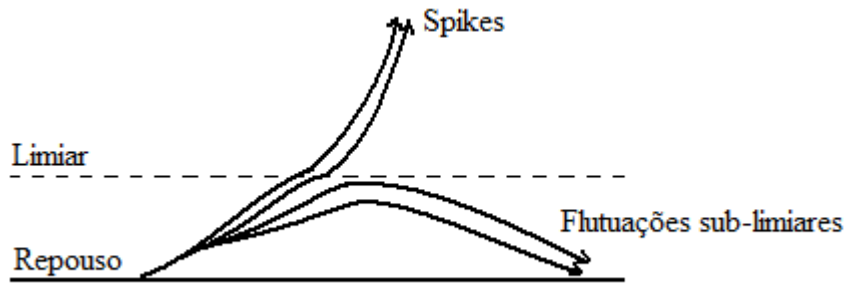


- Quando a corrente injetada provoca despolarização, o potencial de membrana segue outro tipo de comportamento.
- Inicialmente, à medida que os pulsos de corrente despolarizante aumentam de intensidade, a variação na voltagem aumenta gradualmente como no caso dos pulsos hiperpolarizantes.

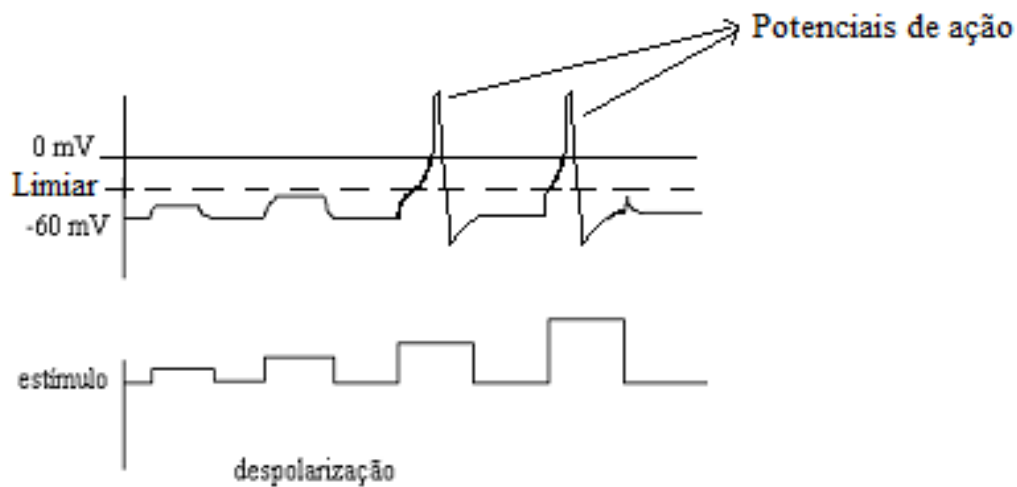
- Porém, quando um valor crítico ou limiar de corrente despolarizante injetada é atingido, ocorre uma grande e súbita variação na voltagem, levando o potencial de membrana a tornar-se positivo (algumas dezenas de milivolts acima do zero) por mais ou menos meio milissegundo, voltando a cair para valores 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 (9,648x10<sup>4</sup> 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.

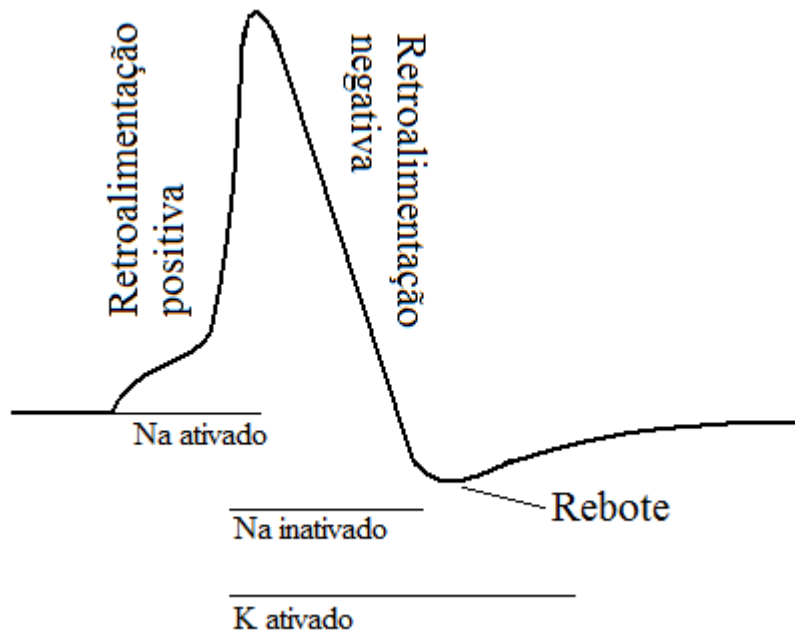
	Dentro (mM)	Fora (mM)	Potencial de Equilíbrio (Nernst)
<b>K<sup>+</sup></b>	400	20	-75 mV
<b>Na<sup>+</sup></b>	50	440	+55 mV
<b>Cl<sup>-</sup></b>	40-150	560	-66 a -33 mV
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	10 <sup>-4</sup>	10	+145 mV
<b>A<sup>-</sup> (íons orgânicos)</b>	385	—	—

*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  $\text{Na}^+$  dentro da célula (pois há muito mais íons de sódio fora do que dentro da célula).
- A entrada de íons  $\text{Na}^+$  causa uma despolarização ainda maior na membrana, aumentando ainda mais a sua condutância ao sódio e provocando a entrada de mais íons  $\text{Na}^+$  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  $\text{Na}^+$  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  $\text{Na}^+$  (+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  $\text{K}^+$  está abaixo do potencial de repouso. Quando isso acontece, a membrana torna-se um pouco permeável ao  $\text{Na}^+$  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.

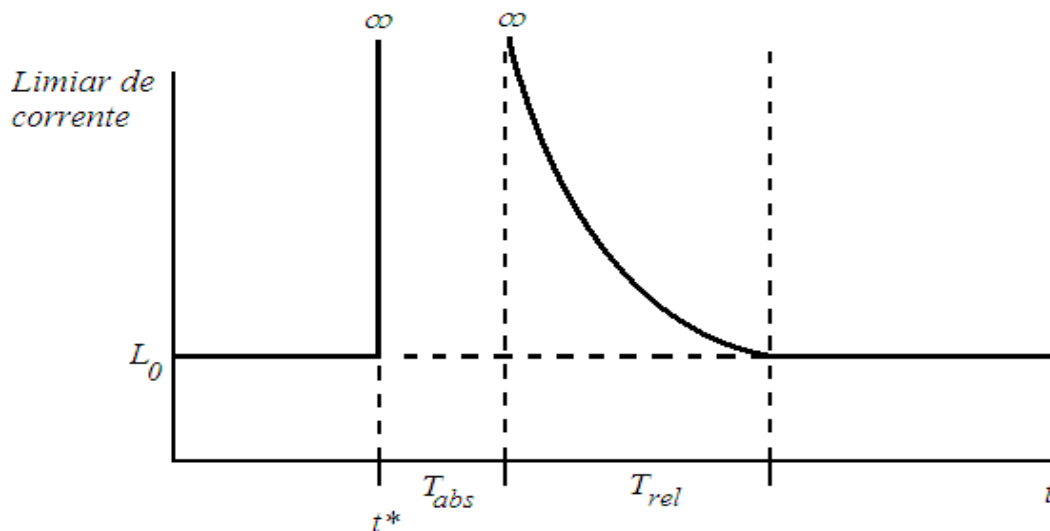


- A equação de Nernst descreve o potencial de equilíbrio para o caso em que apenas um íon pode passar através da membrana, ou seja, quando há apenas um tipo de canal iônico.
- Quando há mais íons presentes, com diferentes gradientes de concentração através da membrana e vários tipos de canais iônicos 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<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> 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<sup>+</sup>. Se  $P_{Na}$  e  $P_{Cl}$  fossem zero, teríamos a equação de Nernst para o K<sup>+</sup>.

- 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 milissegundos) 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 milissegundos) 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).

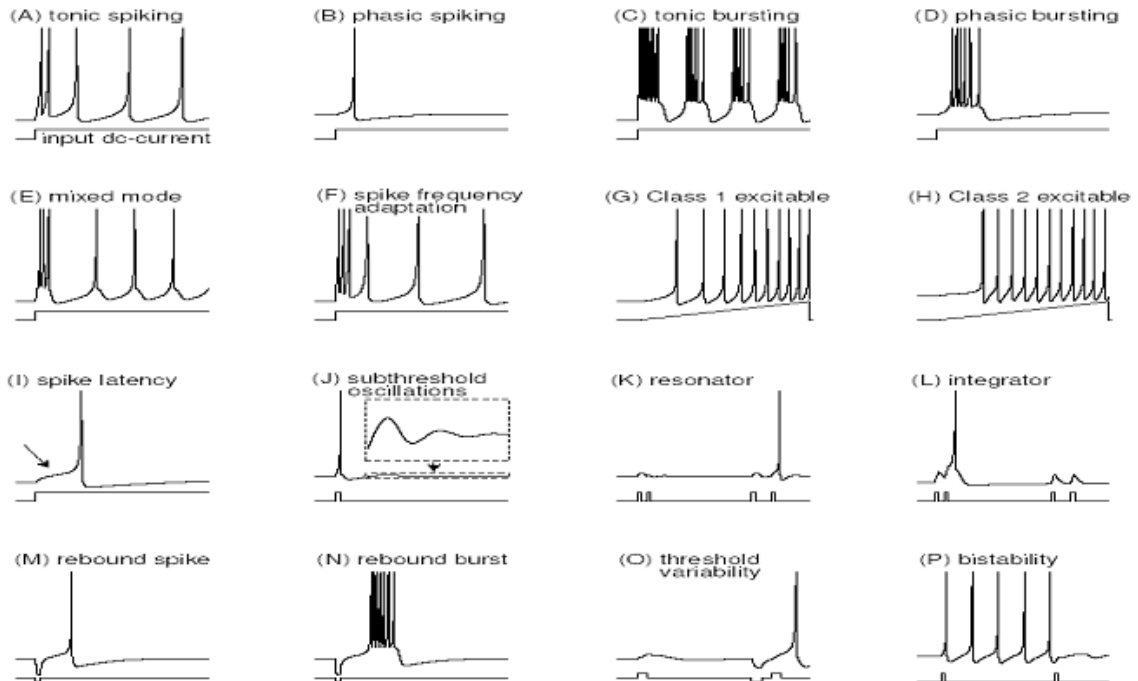
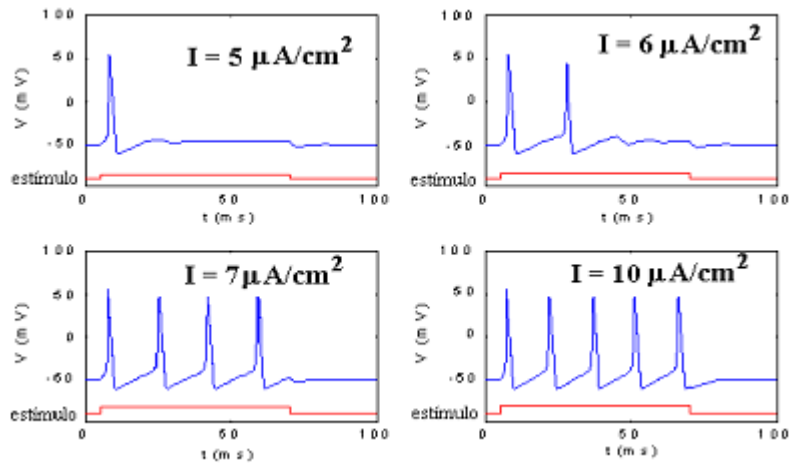


Fig. 1. Summary of the neuro-computational properties of biological spiking neurons. Shown are simulations of the same model, Eq. (1, 2), with different choices of parameters.

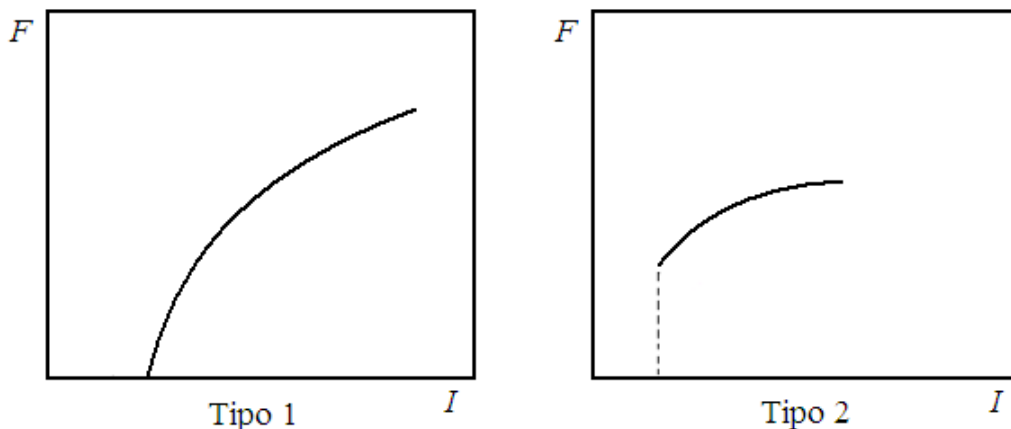
E. M. Izhikevich, 2003

- 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  $\Delta t$  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.



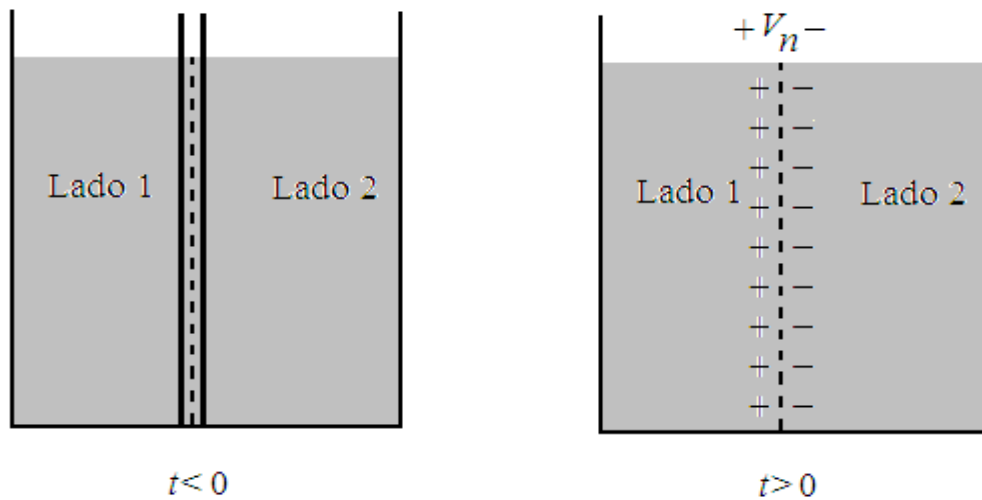


- Esta concepção sobre a codificação das propriedades de um estímulo feita por um neurônio em termos da sua frequência de disparos constitui uma das bases para os primeiros modelos *funcionais* de neurônios, que deram origem à área das **redes neurais artificiais**.
- Vários estudos experimentais com 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.
- **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.

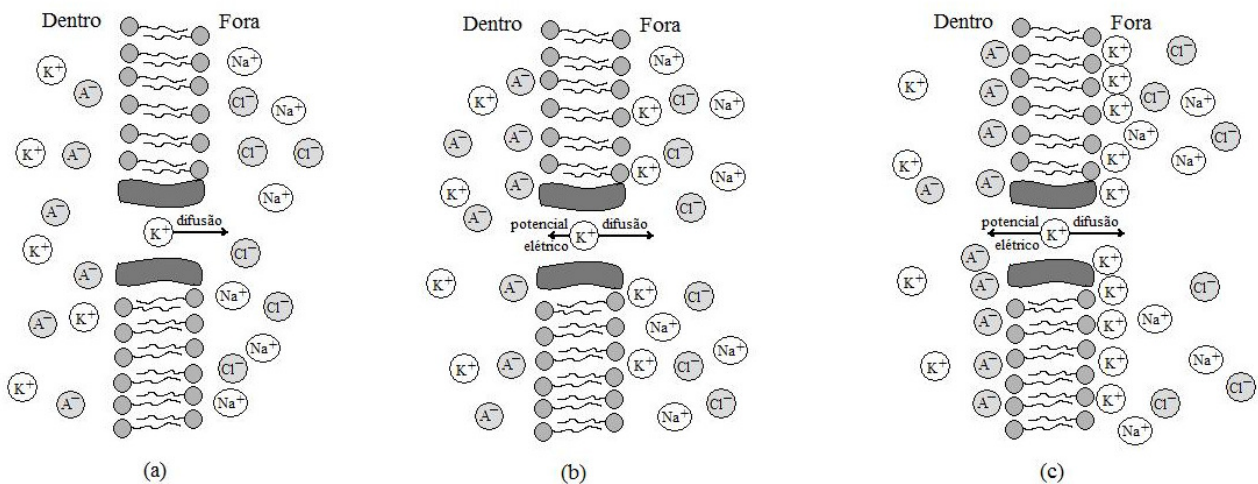
## Apêndice: o potencial de Nernst



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.

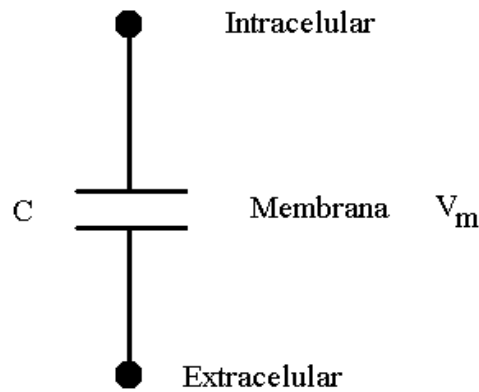


## A Equação da Membrana

Vamos considerar aqui uma aproximação em que a célula nervosa é isopotencial, ou seja, em que o seu potencial de membrana não varia ao longo da membrana. Neste caso, podemos desprezar a estrutura espacial da célula e tratá-la como um ponto.

- **A membrana como um capacitor:**

A membrana neuronal é formada por duas camadas de lipídeos que separam os meios condutores intra e extracelular por uma fina camada isolante. Portanto, a membrana neuronal atua como um capacitor.



A diferença de potencial entre as placas do capacitor é a voltagem através da membrana,  $V_m = V_{\text{intra}} - V_{\text{extra}}$ . A relação entre a voltagem  $V_m$  estabelecida entre as placas de um capacitor quando uma quantidade de carga  $Q$  é distribuída ao longo de suas placas é dada pela capacitância  $C$ ,

$$Q = CV_m.$$

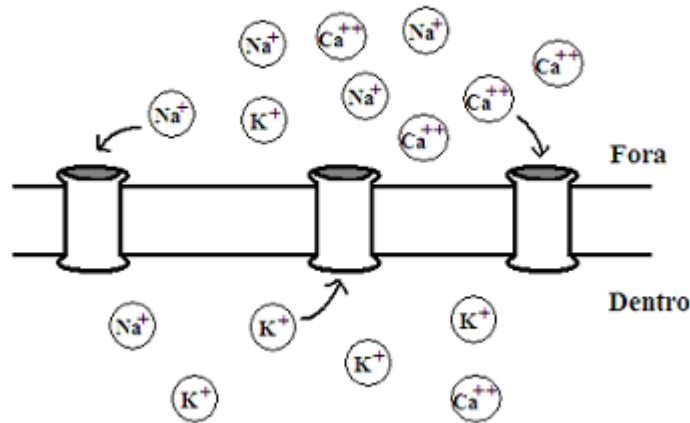
Quando a voltagem  $V_m$  muda no tempo, há uma variação na quantidade de carga  $Q$  que corresponde a uma corrente ( $I_C = dQ/dt$ ) que flui para/ou das placas do capacitor, carregando-o ou descarregando-o. Em termos da equação acima a corrente  $I_C$  é dada por:

$$I_C = C \frac{dV_m(t)}{dt}. \quad (1)$$

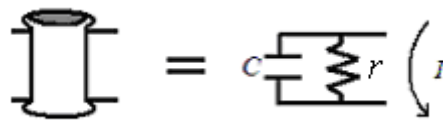
É importante notar que nunca existe um movimento de cargas através da membrana isolante. O que ocorre é uma redistribuição de cargas nos dois lados da membrana causada pela corrente  $I_C$  que flui pelo resto do circuito.

- **A Resistência da Membrana:**

As proteínas que cruzam a membrana de um neurônio atuam como poros, ou canais iônicos, por onde corrente elétrica (íons) pode passar (íons entrando ou saindo). Uma ilustração disso é dada na figura abaixo:



Cada canal iônico (seletivo a uma dada espécie iônica) pode ser modelado por um resistor  $r$  colocado em paralelo com o capacitor que representa a membrana (veja a figura abaixo).



Segundo esta representação, a corrente iônica através de um canal pode ser escrita em termos da lei de Ohm,

$$I = \frac{V}{r}.$$

Esta equação pode ser reescrita em termos da condutância  $g$  do canal, como é mais comum em neurofisiologia:

$$I = gV.$$

A condutância de um único canal iônico funciona como um elemento binário, tendo valor nulo ( $g = 0$ ) se o canal estiver fechado ou valor não nulo ( $= g$ ) se o canal estiver aberto.

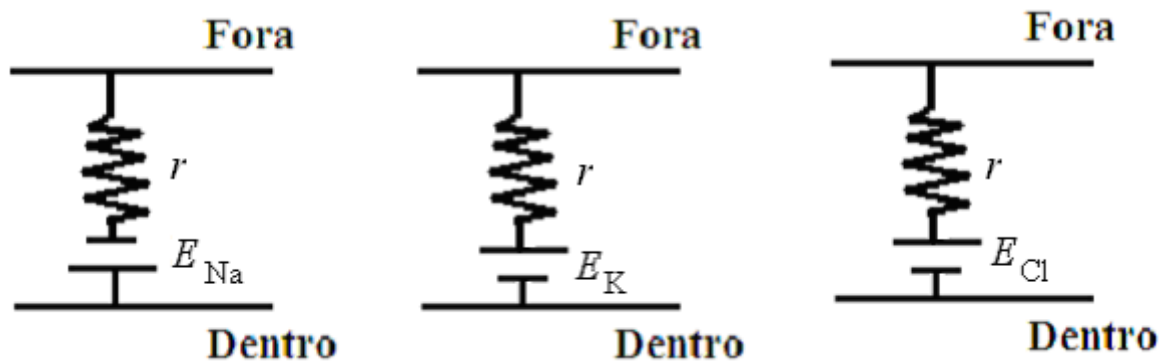
Se o canal estiver aberto, os íons para os quais o canal é seletivo passarão através dele. Por exemplo, se o canal for um canal de  $K^+$  haverá um fluxo de íons de potássio de dentro da célula para fora, pois há uma maior concentração de íons  $K^+$  dentro do que fora da célula.

Por outro lado, se o canal for um canal de  $\text{Na}^+$  haverá um fluxo de íons de sódio do exterior para o interior da célula, pois a concentração de íons de sódio é maior fora da célula do que dentro.

Como visto nas notas de aula sobre difusão e a equação de Nernst, esse fluxo iônico irá gerar uma separação de cargas entre os dois lados da membrana que produzirá uma diferença de potencial elétrico através da membrana. No equilíbrio, o valor dessa diferença de potencial é dado pelo potencial de Nernst do íon. Vamos passar a escrever esse potencial como  $E_{\text{íon}}$ , por exemplo, para o potássio temos  $E_{\text{K}}$ , para o sódio temos  $E_{\text{Na}}$  etc.

$$E_{\text{íon}} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[\text{Íon}]_{\text{fora}}}{[\text{Íon}]_{\text{dentro}}}.$$

Pode-se modelar a existência de um potencial elétrico trans-membrana provocado pelo fluxo iônico através de um canal iônico colocando-se uma bateria em série com a resistência que representa o canal iônico (veja a figura abaixo). A voltagem da bateria é o potencial de Nernst para a espécie iônica à qual o canal é seletivo.



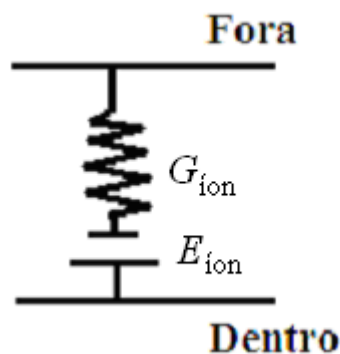
**Exercício:** Observe na figura que o posicionamento das placas da bateria depende do íon específico. Explique porque isso é assim e porque cada bateria mostrada está com o posicionamento das suas placas indicado pela figura.

As figuras acima representam um único canal iônico de um dado tipo (de sódio, potássio ou cloreto). Porém, a mesma representação pode ser usada para representar *todos* os canais iônicos de um dado tipo em uma célula isopotencial (por causa da lei da combinação de condutores em paralelo em um circuito elétrico).

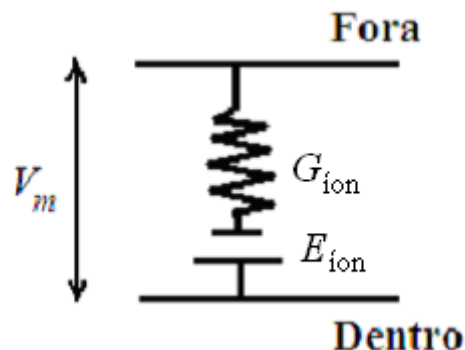
Se uma célula isopotencial tem  $N_{\text{íon}}$  canais iônicos para um dado tipo de íon e todos eles estão abertos ou fechados (numa outra aula analisaremos o caso em que uma parte desses canais pode estar aberta e a outra parte pode estar fechada), sua condutância aos íons desse tipo é dada por,

$$G_{\text{íon}} = N_{\text{íon}} g_{\text{íon}}.$$

Observando a expressão para o potencial de Nernst de um íon, vemos que ele depende apenas da valência do íon, da temperatura e das concentrações do íon dentro e fora da célula. Ele não depende do número  $N_{\text{íon}}$  de canais iônicos na célula. Isto implica que podemos representar o efeito combinado da passagem de corrente através dos  $N_{\text{íon}}$  canais iônicos da célula por um circuito equivalente igual ao mostrado na figura anterior, com o mesmo valor da voltagem da bateria,  $E_{\text{íon}}$ , mas com a resistência sendo igual a  $G_{\text{íon}}$ :



O efeito combinado dos fluxos das várias espécies iônicas produz uma diferença de potencial através da membrana, o potencial de membrana  $V_m$ . Podemos representar isso pela figura abaixo.



Só existe corrente líquida de uma dada espécie iônica cruzando a membrana se o potencial de membrana  $V_m$  for *diferente* do potencial de Nernst  $E_{\text{íon}}$  para essa espécie.



Se o potencial de membrana  $V_m$  for maior que o potencial de Nernst  $E_{\text{íon}}$  do íon, isto irá implicar em uma corrente líquida do íon numa dada direção (para dentro ou para fora da célula, dependendo da carga do íon). Se o potencial de membrana for menor que o potencial de Nernst, haverá uma corrente líquida do íon cuja direção será oposta à do caso anterior. Desta forma, a direção da corrente do íon é invertida quando  $V_m$  passa por  $E_{\text{íon}}$ . Por este motivo,  $E_{\text{íon}}$  também é chamado de potencial de reversão do íon.

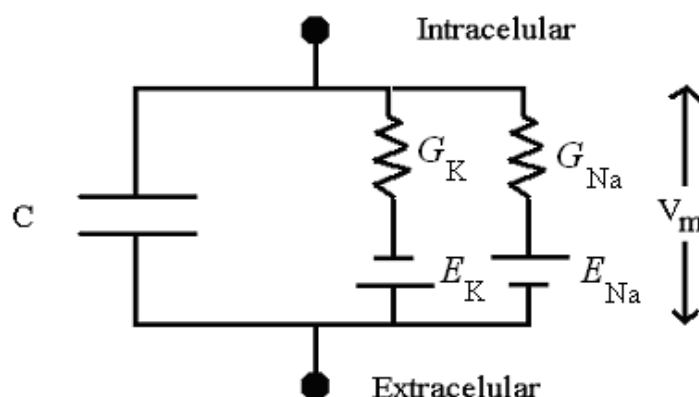
**Exercício:** Usando os valores de  $E_{\text{Na}}$ ,  $E_{\text{K}}$ ,  $E_{\text{Cl}}$  e  $E_{\text{Ca}}$  para o axônio gigante de lula a 20°C dados na aula 2, determine o sentido das correntes desses quatro íons quando  $V_m = -70$  mV,  $V_m = -80$  mV e  $V_m = +60$  mV. Assuma que a direção positiva de corrente é de dentro para fora da célula.

Baseado no modelo da figura anterior, quando corrente passa pela membrana (para dentro ou para fora) a variação de potencial sentida pelos íons responsáveis por ela tem duas componentes: uma é a variação ôhmica devida à resistência  $R$ ,  $RI$ , e a outra é a variação devida à bateria,  $E_{\text{íon}}$ . Pela 2ª lei de Kirchoff, a soma dessas variações de potencial tem que ser igual ao potencial de membrana:  $V_m = RI + E_{\text{íon}}$ . Isolando  $I$  nesta equação temos:

$$I_R = \frac{V_m - E_{\text{íon}}}{R_{\text{íon}}} = G_{\text{íon}} (V_m - E_{\text{íon}}) . \quad (2)$$

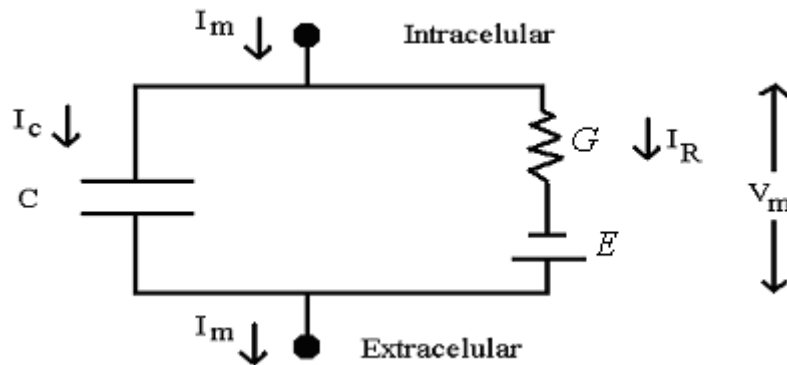
Note que para que não exista corrente passando pelo resistor (ou corrente líquida entrando ou saindo da célula) o potencial de membrana deve ser igual ao potencial de reversão.

Combinando os elementos de circuito vistos até agora em um único modelo de circuito elétrico para uma membrana neuronal, temos o circuito abaixo (no caso do desenho, considerou-se apenas os canais de sódio e potássio):



## • A Corrente de Membrana

Quando uma corrente  $I_m$  passa pela membrana, temos uma situação como a da figura abaixo (vamos definir o sentido positivo de corrente como sendo de dentro para fora da célula; vamos também considerar somente um canal iônico para não sobrecarregar a figura):



Aplicando a lei das correntes de Kirchoff ao nó superior dessa figura:

$$I_m = I_C + I_R = C \frac{dV_m(t)}{dt} + G(V_m(t) - E). \quad (3)$$

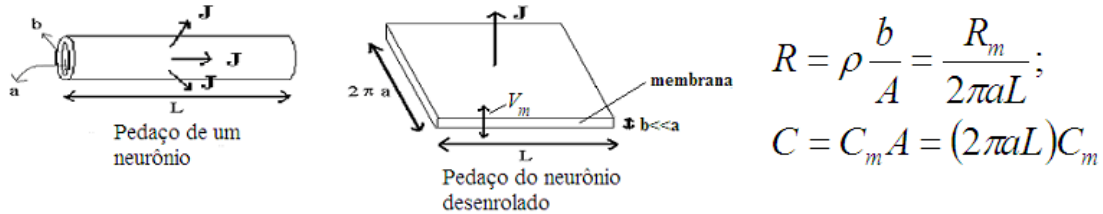
O modelo acima descreve uma membrana passiva, pois os elementos do circuito não dependem da voltagem através da membrana.

Sabe-se experimentalmente que existem canais iônicos cujas condutâncias dependem da voltagem através da membrana (e também de outros fatores como, por exemplo, da presença ou ausência de certos neurotransmissores nas proximidades da fenda sináptica e da concentração de cálcio no interior da célula),  $G = G(V, t, \dots)$ . Membranas com canais iônicos desse tipo são chamadas de ativas (por extensão, chama-se os canais desse tipo de canais ativos e suas respectivas condutâncias de condutâncias ativas). A maior parte das propriedades importantes dos neurônios – como os potenciais de ação, por exemplo – decorre dos efeitos não-lineares causados por tais canais ativos e veremos mais adiante como eles podem ser modelados.

Por ora, vamos nos restringir ao estudo das propriedades de uma membrana passiva.

Note que o modelo construído corresponde a um circuito  $RC$ . Podemos estimar o tempo característico desse circuito para um neurônio típico, como feito a seguir:

### Propriedades materiais da membrana:



$$R = \rho \frac{b}{A} = \frac{R_m}{2\pi a L};$$

$$C = C_m A = (2\pi a L) C_m$$

Desenrolando um pedaço de um neurônio cilíndrico de raio  $a$ , vemos que a sua membrana corresponde a um condutor de comprimento  $b$  e seção reta de área  $A = 2\pi a$ . A resistência

desse pedaço de membrana é então:  $R = \rho \frac{b}{A}$ , onde:

- $\rho$  é a resistividade elétrica do material (unidades:  $\Omega \cdot \text{cm}$ );
- $1/\rho$  é a condutividade elétrica  $\sigma$  (unidades:  $\text{S}/\text{cm}$ ).

Para uma dada membrana de espessura  $b$ , define-se a sua resistência específica  $R_m$  por

$$R_m = \rho b \text{ (unidades: } \Omega \cdot \text{cm}^2 \text{)}.$$

Desta forma, para se saber a resistência da membrana de uma célula de área  $A$  cuja membrana tem resistência específica  $R_m$  deve-se dividir  $R_m$  por  $A$ :

$$R = \frac{R_m}{A}.$$

Define-se a capacitância específica  $C_m$  de uma membrana como a capacitância de uma área unitária (unidades:  $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ ). Desta forma, para se saber a capacitância da membrana de uma célula de área  $A$  deve-se multiplicar  $C_m$  por  $A$ .

Alguns valores típicos para estas variáveis são:

- $C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ ;
- $R_m = 10 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$ ;
- $G_m = 1/R_m = 100 \mu\text{S}/\text{cm}^2$ ;
- $b = 0,1 - 10 \mu\text{m}$ .

**Exemplo:** Para uma célula esférica com diâmetro de 20 microns, a sua capacitância total é,

$$C = C_m \cdot A = C_m \cdot 4\pi r^2 = (1 \cdot 10^{-6} \text{ F/cm}^2) \cdot 4\pi \cdot (10 \times 10^{-4} \text{ cm})^2 = 12,6 \times 10^{-12} \text{ F} = 12,6 \text{ pF},$$

e a sua resistência total é,

$$R = R_m/A = (10 \times 10^3 \text{ } \Omega/\text{cm}^2)/(4\pi \cdot (10 \times 10^{-4} \text{ cm})^2) = 796 \times 10^6 \text{ } \Omega = 796 \text{ M}\Omega.$$

**Nota:** Cada membrana possui suas *propriedades materiais*, que são independentes da forma da célula. Porém, as propriedades elétricas de uma dada célula dependem da sua geometria.

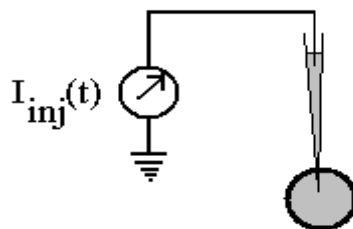
Com os valores de  $C_m$  e de  $R_m$  dados acima, podemos calcular a constante de tempo de uma membrana neuronal típica:

$$\tau_m = R_m C_m = RC = 10 \text{ ms} . \quad (4)$$

Note que a constante de tempo da membrana neuronal não depende do tamanho e da geometria da célula.

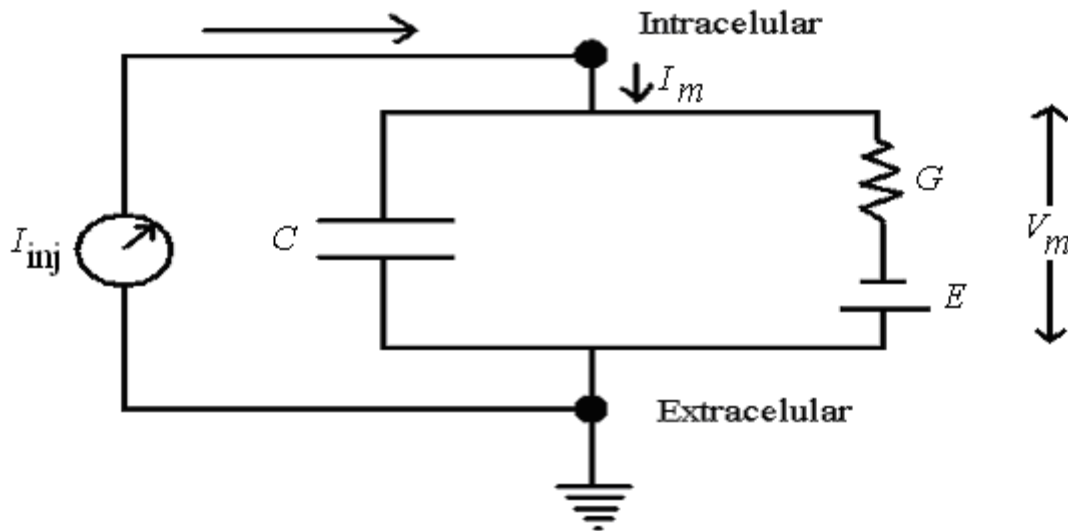
### • Injeção de Corrente Externa

Vamos supor que se injeta corrente  $I_{inj}$  através de um microeletrodo diretamente dentro da nossa pequena célula isopotencial, como na figura abaixo.



Como podemos descrever a dinâmica do potencial de membrana  $V_m(t)$  em resposta a essa corrente?

Usando o modelo de circuito elétrico construído, esta situação pode ser representada pela figura a seguir:



Por conservação de corrente, a corrente de membrana deve ser igual à corrente injetada:  $I_m = I_{inj}$ :

$$C \frac{dV_m(t)}{dt} + G(V_m(t) - E) = I_{inj}(t).$$

Multiplicando ambos os lados por  $R$  e usando  $\tau = RC$ :

$$\tau \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + E + RI_{inj}(t). \quad (5)$$

Esta equação é chamada de equação da membrana.

A equação da membrana é uma equação diferencial ordinária de primeira ordem com coeficientes constantes. Definindo-se uma condição inicial  $V_m(0)$ , a sua solução nos dará uma única curva para  $V_m$  versus  $t$ .

Se a corrente injetada for nula, a solução da equação da membrana é (mostre como exercício):

$$V_m(t) = E - (E - V_m(0)) e^{-t/\tau}. \quad (6)$$

Qualquer que seja a condição inicial, o potencial de membrana decai exponencialmente para  $E$  com o tempo. Por isso, podemos chamar  $E$  de potencial de membrana de repouso neste caso. Se  $V_m(0) = E$ , o potencial de membrana permanece no valor de repouso indefinidamente.

Vamos supor agora que a corrente injetada é do tipo degrau: em  $t = 0$  injeta-se um valor de corrente  $I_0$  que é mantido constante por um longo tempo. A teoria das equações diferenciais nos mostra que a solução mais geral da equação da membrana é do tipo:

$$V_m(t) = v_0 e^{-t/\tau} + v_1, \quad (7)$$

onde  $v_0$  e  $v_1$  dependem das condições iniciais. Substituindo esta forma geral de solução na equação da membrana obtemos a igualdade:

$$v_1 = E + RI_0.$$

Vamos impor a seguinte condição inicial:  $V_m(0) = E$ . Isto nos dá:

$$E = v_0 + v_1 \Rightarrow v_0 = -RI_0.$$

Substituindo  $v_0$  e  $v_1$  na solução geral (equação 7) temos:

$$V_m(t) = RI_0 \left(1 - e^{-t/\tau}\right) + E = V_\infty \left(1 - e^{-t/\tau}\right) + E, \quad (8)$$

onde se definiu  $V_\infty = RI_0$ .

Um longo tempo após a aplicação do degrau de corrente (e mantendo-se a corrente constante), o potencial de membrana atinge o valor  $V_\infty + E = RI_0 + V_m(0)$ .

É costume representar o potencial de membrana de uma célula em relação ao seu potencial de repouso  $V_{rep}$  (isto é, redefine-se o zero de potencial de maneira que ele coincida com o potencial de repouso da célula). Definindo-se uma nova variável,

$$V = V_m(t) - V_{rep}, \quad (9)$$

e notando que neste caso  $V_{rep} = E$ , a solução da equação da membrana para o degrau de corrente torna-se:

$$V = V_\infty \left(1 - e^{-t/\tau}\right). \quad (10)$$

A constante  $V_\infty = RI_0$  é chamada de potencial de estado estacionário, pois é o valor para o qual a diferença  $(V_m(t) - V_{rep})$  tende em resposta ao degrau de corrente.

Em geral, mede-se a corrente injetada em uma célula em termos da área da membrana que é estimulada, ou seja, mede-se a *densidade de corrente* (as unidades mais comuns são  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ).

Para uma membrana típica ( $R_m = 10 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$ ) estimulada com uma corrente de  $5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ , o potencial de estado estacionário vale:

$$V_\infty = RI_0 = (R_m/A)(J_0 \cdot A) = R_m J_0 = (10^4 \Omega \cdot \text{cm}^2) \cdot (5 \times 10^{-6} \text{ A}/\text{cm}^2) = 5 \times 10^{-2} \text{ V}.$$

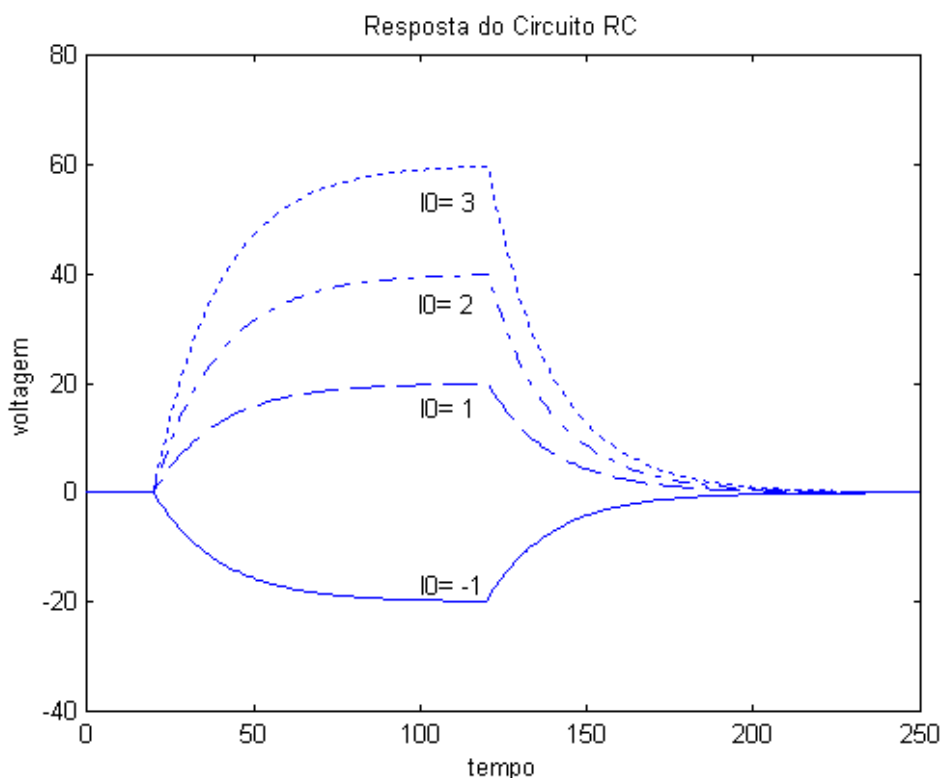
Para passar para milivolts (a unidade mais usada), deve-se multiplicar por  $10^3$ ,

$$V_\infty = 50 \text{ mV}.$$

Lembrando que  $V = V_m - V_{\text{rep}}$ , podemos agora escrever o valor do potencial de estado estacionário que a membrana atinge neste caso medido em relação ao potencial externo como (supondo, por exemplo, que  $V_{\text{rep}} = -70 \text{ mV}$ ):

$$V_m = V_\infty + V_{\text{rep}} = 50 \text{ mV} - 70 \text{ mV} = -20 \text{ mV}.$$

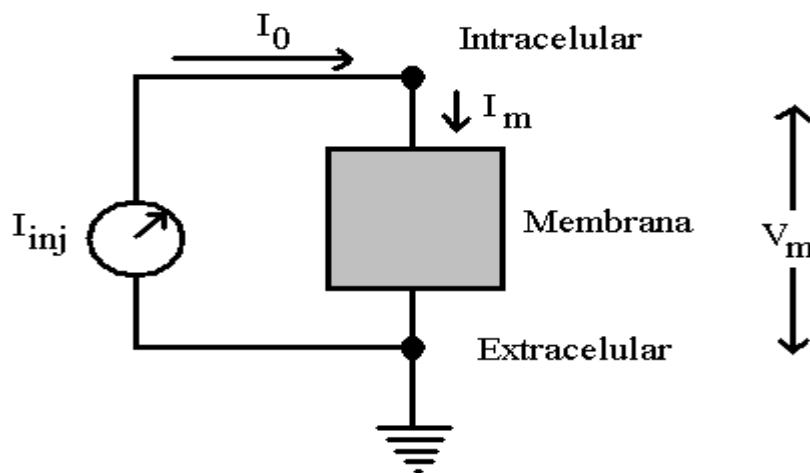
O gráfico abaixo mostra soluções numéricas da equação da membrana para diferentes valores do degrau de corrente injetado ( $R = 2 \text{ M}\Omega$ ).



O gráfico anterior mostra as respostas do modelo de membrana como um circuito  $RC$  para quatro diferentes valores de  $J_0$  (um negativo e três positivos). Na escala arbitrária de tempo usada, o estímulo degrau é aplicado em  $t = 20$  e “desligado” em  $t = 120$ .

Note que se  $I_0$  for positiva,  $V_\infty = RI_0$  será positivo. Isto quer dizer que a célula foi despolarizada ( $V_m > V_{rep}$ ). Já se  $I_0$  for negativa,  $V_\infty$  será negativo, implicando que a célula foi hiperpolarizada.

Para entender isso, vejamos o diagrama da membrana abaixo.



Uma  $I_0$  positiva corresponde a uma corrente de membrana positiva,  $I_m > 0$ . Pela convenção adotada, uma corrente de membrana positiva indica corrente saindo da célula e isto só ocorre quando a membrana está despolarizada, isto é, o interior da célula está mais positivo do que no repouso. Isto está de acordo com o esperado, pois quando  $I_0 > 0$  o microeletrodo injeta corrente diretamente no interior da célula, provocando um aumento de cargas positivas no interior e despolarizando a célula.

Já uma  $I_0$  negativa ( $I_m$  indo de fora para dentro da célula) corresponde a uma retirada de cargas positivas do interior da célula pelo microeletrodo, hiperpolarizando a célula.

A resistência  $R$  é chamada de resistência de entrada da célula. Quanto maior  $R$ , maior a variação na voltagem através da membrana para uma dada corrente constante. O valor da resistência de entrada do corpo celular de um neurônio varia de alguns megaohms para os neurônios motores da medula espinhal até centenas de megaohms para células corticais.



# A mathematical approach to excitable membranes

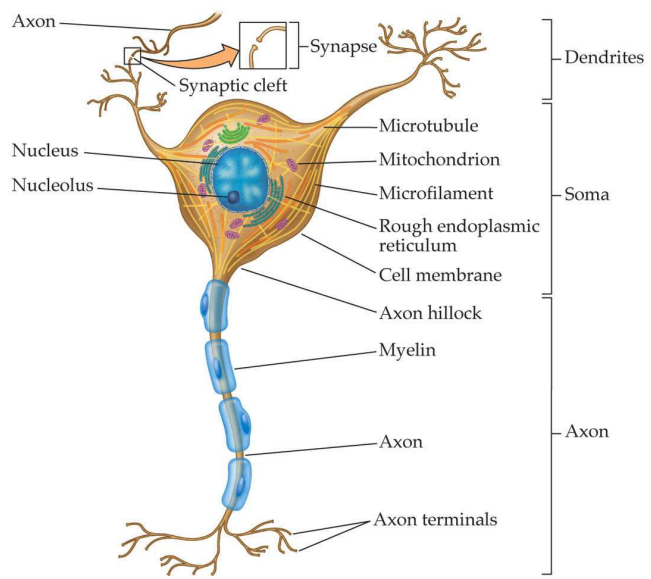
Rickson Mesquita

Charlestown, Oct 2<sup>nd</sup> 2007

# Neuronal membrane

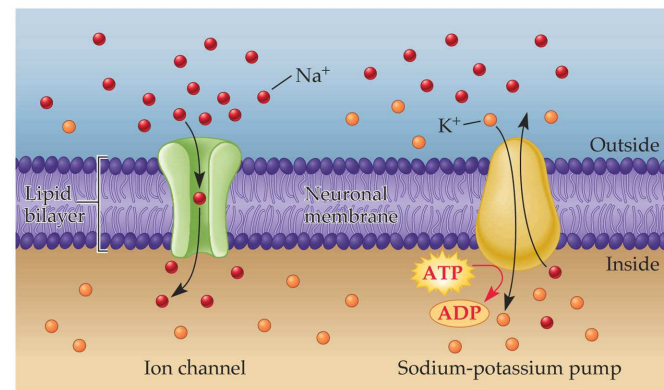
## Introduction

### Neuron



FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Figure 6.2 © 2004 Sinauer Associates, Inc.

thin membrane (20 – 70 Å thick)  
to isolate intercell medium

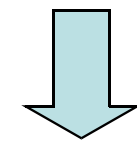


FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Figure 6.3 © 2004 Sinauer Associates, Inc.

Physics' language:  
  
ions = charges  
movement of ions = currents

different ion concentrations between outside and inside → ion transport through membrane (permeable) → **electric potential difference**

Contains ion channels and pumps which ions move through



Movement of ions through ions channels and pumps leads to excitation and electrical signaling in the nervous system

# Membrane potential

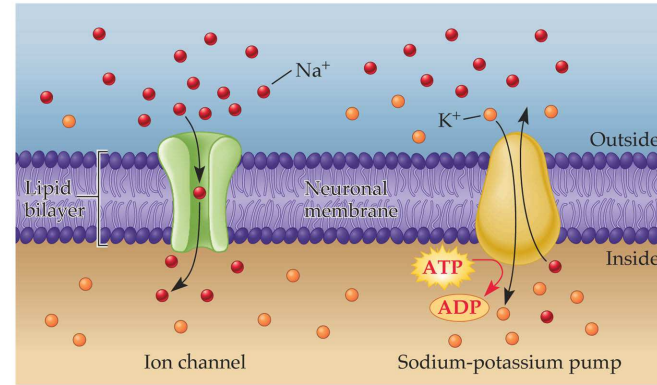
Introduction

Membrane potential

## Ion flow through membrane

$$J = -D \left( \frac{\partial c}{\partial x} + \frac{zF}{RT} c \frac{\partial V}{\partial x} \right)$$

due to concentration gradient      due to potential gradient



FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Figure 6.3 © 2004 Elsevier Associates, Inc.

## Rest (ion flow is zero)

$$V_m = V_i - V_o = \frac{RT}{zF} \ln \left( \frac{c_o}{c_i} \right)$$

**Nernst potential / equilibrium potential**

membrane potential for a situation which both inside and outside flows are equal, for **one** ionic species.

# Membrane potential

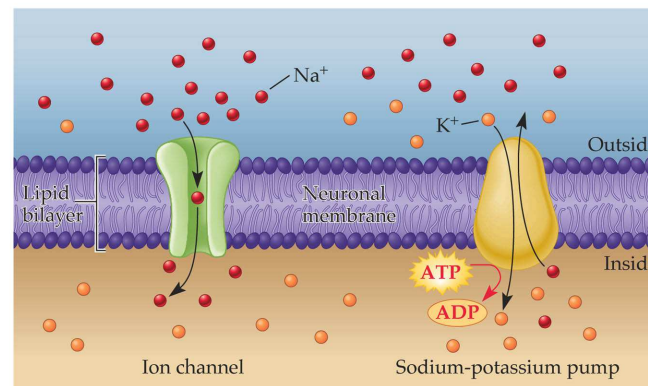
Introduction

Membrane potential

## Ion flow through membrane

$$J = -D \left( \frac{\partial c}{\partial x} + \frac{zF}{RT} c \frac{\partial V}{\partial x} \right)$$

due to concentration gradient due to potential gradient



FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Figure 6.3 © 2004 Elsevier Associates, Inc.

## Steady-state (ion flow is time independent)

Gauss' law:  $\frac{d^2V}{dx^2} = -\frac{\rho}{\epsilon}$   $\longrightarrow$   $n$ -ion flow in the steady-state

$$J_n = P_n \frac{z_n^2 F^2}{RT} V_m \left( \frac{c_n^i - c_n^o e^{-z_n FV/RT}}{1 - e^{-z_n FV/RT}} \right)$$

For more than 1 ion, we can find the potential whose the sum of all currents is zero: **Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) potential**

If we consider  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$  passing through the membrane,

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \left( \frac{P_{Cl} [Cl]_i + P_{Na} [Na]_o + P_K [K]_o}{P_{Cl} [Cl]_o + P_{Na} [Na]_i + P_K [K]_i} \right) \sim 67 \text{ mV}$$

# Membrane equation

Introduction

Membrane potential

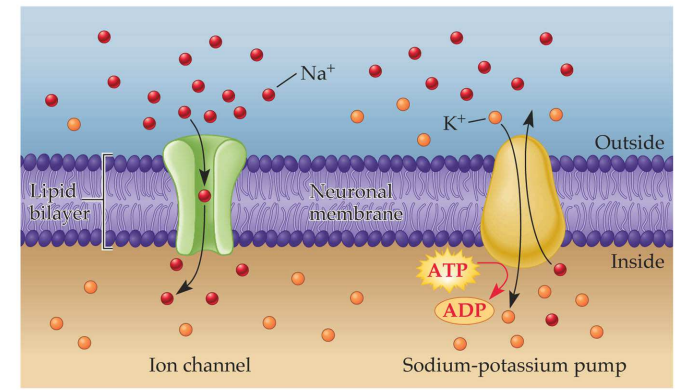
Time course variation

## Biological membrane

Lipid bilayer that separates internal and external conducting solutions by an extremely thin insulating layer

**CAPACITOR** ↩

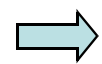
Capacitance  $C$ : capacity to store charges



FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING, Figure 6.3 © 2004 Elsevier Associates, Inc.

## Ion channels

Macromolecular pores in cell membranes by which ions move from inside to outside and vice-versa

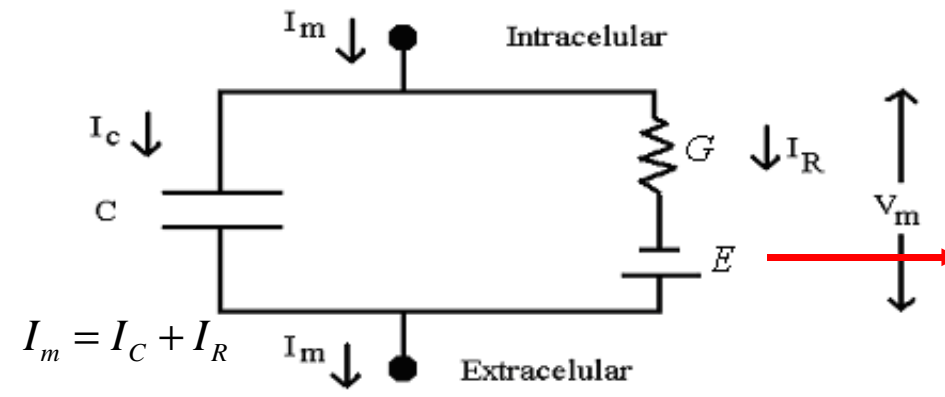


**CONDUCTING CHANNELS**

Conductance  $g$ : ability to allow ions to move

## Circuit representation of membranes and channels

Isopotential hypothesis: it does not vary along the membrane



current in the pore goes to zero at  $E_k$ , not at 0 mV

$E_k$  = Nernst potential

# Membrane equation

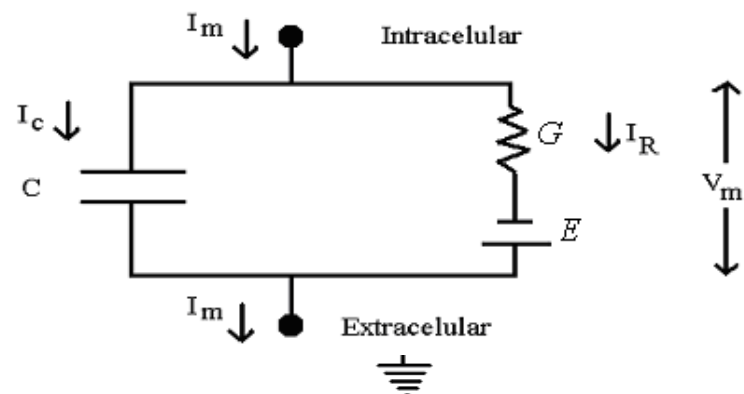
## Membrane material properties

Capacitance:  $C = \frac{\epsilon\epsilon_0}{d} \sim 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$

Resistance:  $R = \rho d \sim 10 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^2$

Conductance:  $G = 1/R \sim 100 \mu\text{S}/\text{cm}^2$

$$\tau = RC = 10\text{ms}$$



## External current

$$I_{inj} = I_C + I_R$$

$$I_{inj}(t) = C \frac{dV_m(t)}{dt} + G[V_m(t) - E]$$

$$\tau \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + E + RI_{inj}(t)$$

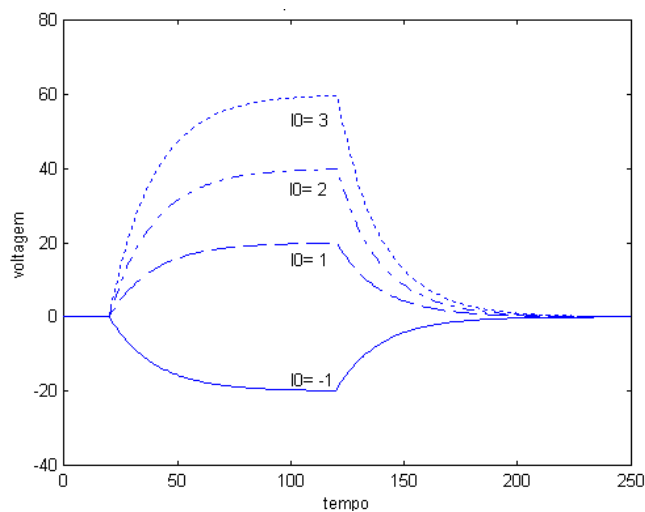
**Membrane equation**

**Solution** (for constant  $I_{inj}=I_0$ )

$$V_m(t) = RI_0 (1 - e^{-t/\tau}) + E$$

Common in literature:

$$V(t) = V_m(t) - V_{rest}$$

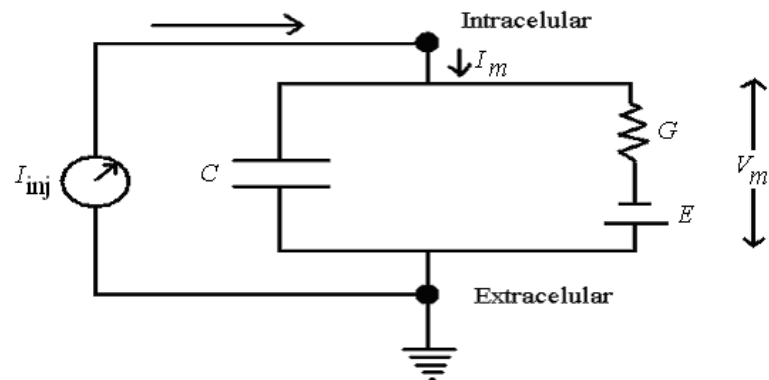


# Membrane equation

Introduction

Membrane potential

Time course variation



## External current

$$I_{inj}(t) = C \frac{dV_m(t)}{dt} + G[V_m(t) - E]$$

### Some notes:

$$\tau \frac{dV_m(t)}{dt} = -V_m(t) + E + RI_{inj}(t)$$

- Positive current  $\rightarrow$  depolarization

### Membrane equation

- Negative current  $\rightarrow$  hyperpolarization

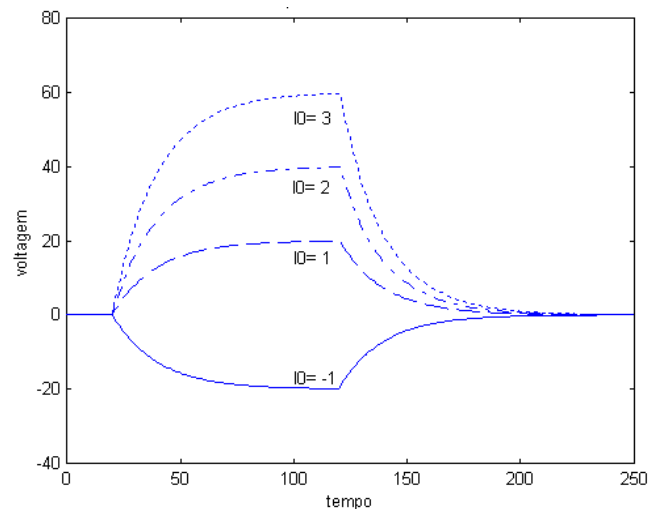
**Solution** (for constant  $I_{inj} = I_o$ )

- We considered C/R passive (voltage independent)

- Membrane potential DOES respond as a RC circuit, ...

Common in literature:

$$V(t) = V_m(t) - V_{rest}$$

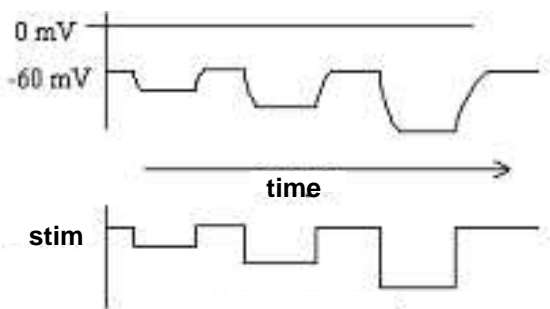


# Action potential

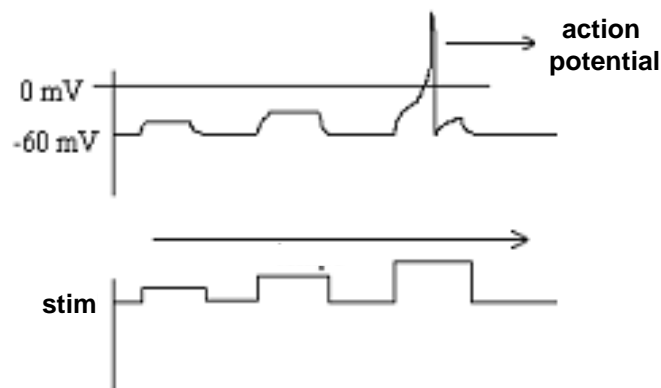
## Potential response due to external current

... however, when a threshold depolarized current is injected there is a big voltage change

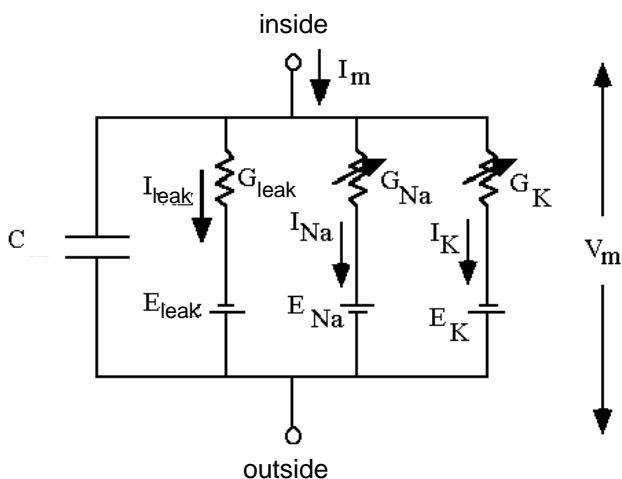
### hyperpolarization current



### depolarization current



**Hodgkin n Huxley (1952): action potential generation mechanism by studying the squid giant axon**



- 3 ion channels: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and leakage
- 2 active conductances:  $G = G(t, V_m(t))$
- 1 passive conductance:  $G = G$

Introduction

Membrane potential

Time course variation

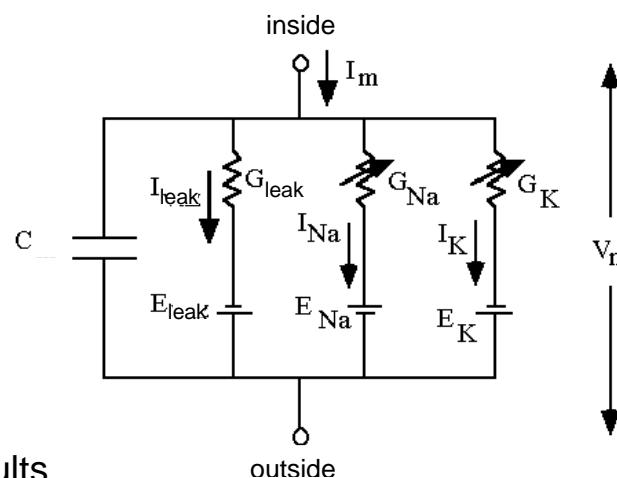
Action potentials



# Hodgkin-Huxley model

## Circuit equation

$$C \frac{dV_m(t)}{dt} = G_{leak} \cdot [V_m(t) - E_j] + \sum_{j=1}^2 G_j(V, t) \cdot [V_m(t) - E_j] + I_{inj}$$



## Active conductances

Originally proposed by looking at experimental results

$$G_k(V, t) = \bar{g}_k \left[ n_\infty(V) - (1 - e^{-t/\tau}) \right]^4 = \bar{g}_k \cdot n^4$$

$$G_{Na}(V, t) = \bar{g}_{Na} \cdot m^3(V, t) \cdot h(V, t)$$

$n, m$  and  $h$  are solutions from the differential equation

$$\frac{dk}{dt} = \alpha_k(1-k) - \beta_k k \quad , \quad k = m, n, h$$

where  $\alpha_k$  and  $\beta_k$  were determined empirically

$$\alpha_n = \frac{10 - V}{100(e^{(10-V)/10} - 1)}$$

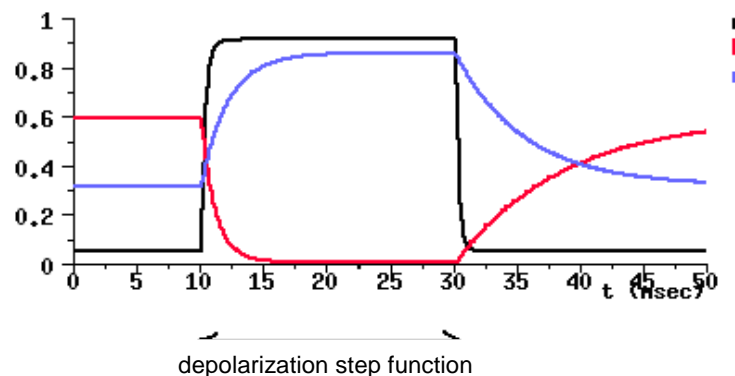
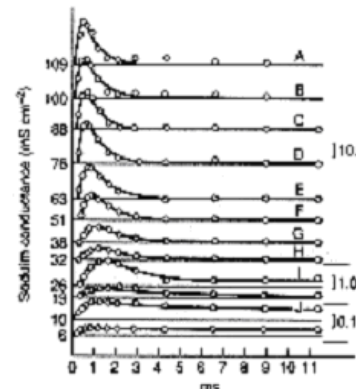
$$\beta_n = 0.125e^{-V/80}$$

$$\alpha_m = \frac{25 - V}{10(e^{(25-V)/10} - 1)}$$

$$\beta_m = 4e^{-V/18}$$

$$\beta_h = \frac{1}{e^{(30-V)/10} + 1}$$

$$\alpha_h = 0.07e^{-V/20}$$



Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials



# Active conductances

$$G_k(V, t) = \bar{g}_k \cdot n^4$$

$$G_{Na}(V, t) = \bar{g}_{Na} \cdot m^3(V, t) \cdot h(V, t)$$

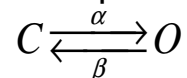
$$\frac{dk}{dt} = \alpha_k(1-k) - \beta_k k$$

$k = m, n, h$

Introduction

## Ionic channels

Gate between 2 possible states: open and closed, dynamically changing



Membrane potential

Transition rate from C state to O state given by mass action's law

$$J_+ = \alpha[C] \quad , \quad [C] = c_c = \frac{N_c}{N}$$

Time course variation

Applying conservation law, we can write

$$\frac{dc_o}{dt} = J_+ - J_- = \alpha(1-c_o) - \beta c_o$$

Action potentials

Once we have only two states, and they are voltage-gated,  $(1-p) \xrightleftharpoons[\beta(V)]{\alpha(V)} p$

which means

$$\frac{dp}{dt} = \alpha(V)[1-p] - \beta(V)p$$

← each gate follow this dynamics

One ionic channel can have more than one gate; for an ionic channel,  $\prod p_i$



# Active conductances

$$G_k(V, t) = \overline{g_k} \cdot n^4$$

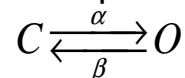
$$G_{Na}(V, t) = \overline{g_{Na}} \cdot m^3(V, t) \cdot h(V, t)$$

$$\frac{dk}{dt} = \alpha_k(1-k) - \beta_k k$$

$k = m, n, h$

## Ionic channels

Gate between 2 possible states: open and closed, dynamically changing



Transition rate from C state to O state given by mass action's law

$$J_+ = \alpha[C] \quad , \quad [C] = c_c = \frac{N_c}{N}$$

Applying conservation law, we can write

$$\frac{dc_o}{dt} = J_+ - J_- = \alpha(1-c_o) - \beta c_o$$

Once we have only two states, and they are voltage-gated,  $(1-p) \xrightleftharpoons[\beta(V)]{\alpha(V)} p$

In Hodgkin-Huxley model

which means

$$\frac{dp}{dt} = \alpha(V)[1-p] - \beta(V)p$$

← each gate follow this dynamics

Sodium channel has 3 m-type gates and 1 h-type gate  
 One ionic channel can have more than one gate; for an ionic channel,  $\prod P_i$

Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials



# Active conductances

Introduction

## Ionic channels

We can model many ionic channels using this approach, and find 4 ionic channel classes

1. Passive  $I = \bar{g}(V - E)$
2. Persistent  $I = \bar{g}.m^r(V - E)$
3. Transient  $I = \bar{g}.m^r.h^s(V - E)$
4. Activated by hyperpolarization  $I = \bar{g}.h^s(V - E)$

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

---

Calcium channels are more complicated: very low  $[Ca^{+2}]$  inside the cell makes I-V relationship as a rectifier (nonlinear)

$$I_{Ca} = \bar{P}_{Ca}.m^r.h^s \frac{4F^2}{RT} V_m \left( \frac{[Ca]_i e^{2FV_m/RT} - [Ca]_o}{e^{2FV_m/RT} - 1} \right)$$

# Hodgkin-Huxley model

Introduction

$$C_m \frac{dV}{dt} = -\bar{g}_K n^4 (V - E_K) - \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) - \bar{g}_V (V - E_V) + J_{inj},$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n,$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m,$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h.$$

Membrane potential

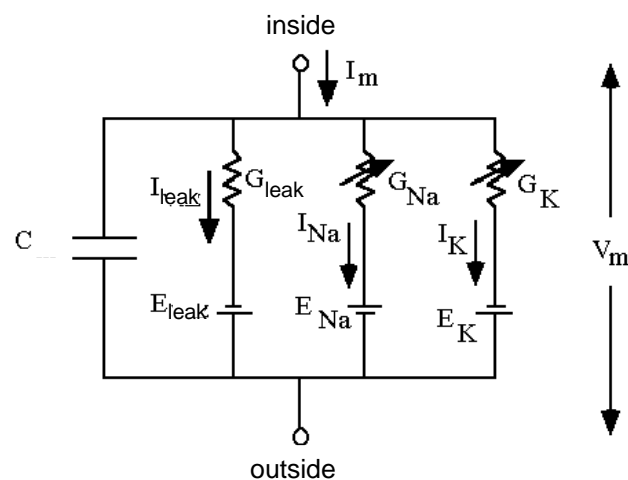
Time course variation

$$\alpha_n(V) = 0,01 \frac{10 - V}{e^{(10-V)/10} - 1} \quad \beta_n(V) = 0,125 e^{-V/80},$$

$$\alpha_m(V) = 0,1 \frac{25 - V}{e^{(25-V)/10} - 1} \quad \beta_m(V) = 4 e^{-V/18},$$

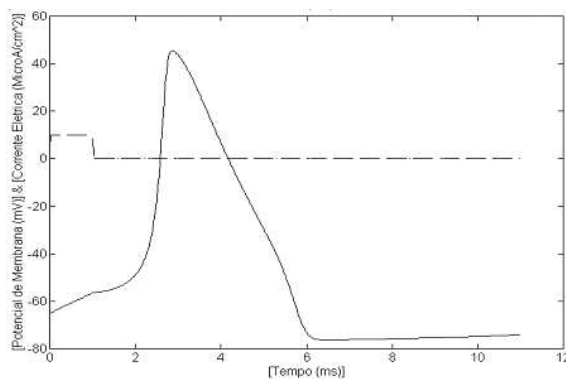
$$\alpha_h(V) = 0,07 e^{-V/20} \quad \beta_h(V) = \frac{1}{e^{(30-V)/10} + 1}.$$

Action potentials



$$\bar{g}_{Na} = 120, \quad \bar{g}_K = 36, \quad \bar{g}_V = 0,3$$

$$E_{Na} = 115, \quad E_K = -12, \quad E_V = 10,6$$



# Hodgkin-Huxley model

Introduction

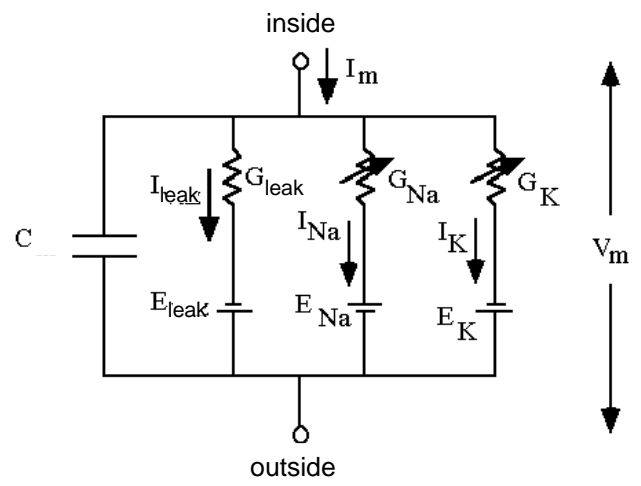
$$C_m \frac{dV}{dt} = -\bar{g}_K n^4 (V - E_K) - \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) - \bar{g}_V (V - E_V) + J_{inj},$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n,$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m,$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h.$$

Membrane potential



Time course variation

$$\alpha_n(V) = 0,01 \frac{10 - V}{e^{(10-V)/10} - 1} \quad \beta_n(V) = 0,125 e^{-V/80},$$

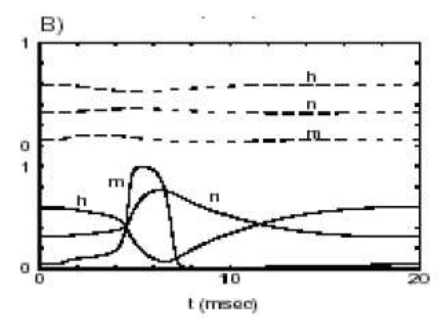
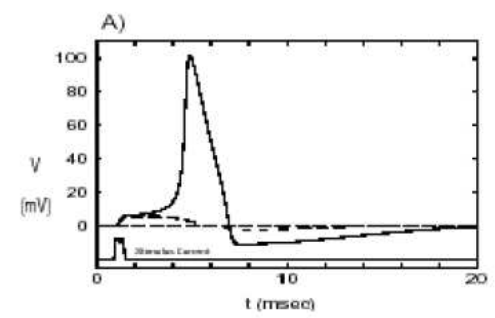
$$\alpha_m(V) = 0,1 \frac{25 - V}{e^{(25-V)/10} - 1} \quad \beta_m(V) = 4 e^{-V/18},$$

$$\alpha_h(V) = 0,07 e^{-V/20} \quad \beta_h(V) = \frac{1}{e^{(30-V)/10} + 1}.$$

$$\bar{g}_{Na} = 120, \quad \bar{g}_K = 36, \quad \bar{g}_V = 0,3$$

$$E_{Na} = 115, \quad E_K = -12, \quad E_V = 10,6$$

Action potentials



# Hodgkin-Huxley model

Introduction

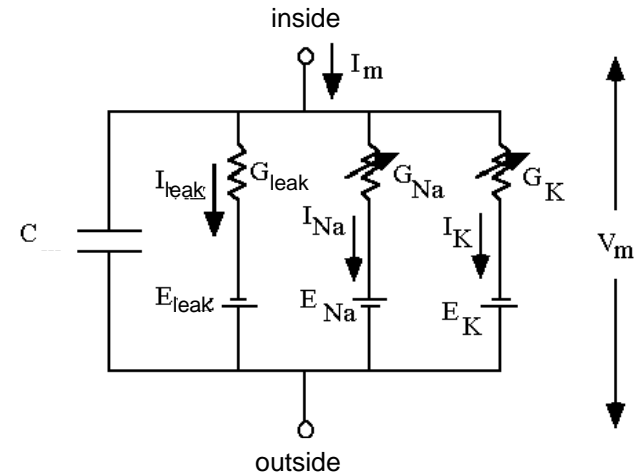
$$C_m \frac{dV}{dt} = -\bar{g}_K n^4 (V - E_K) - \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) - \bar{g}_V (V - E_V) + J_{inj},$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n,$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m,$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h.$$

Membrane potential



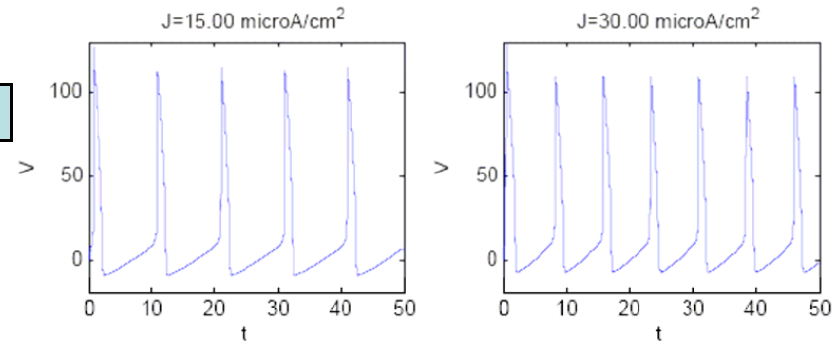
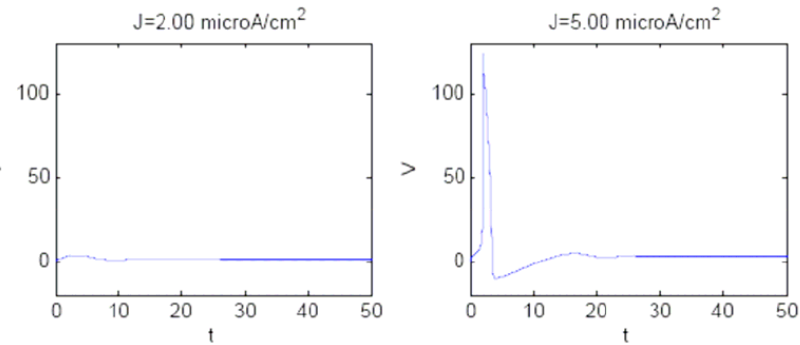
Time course variation

$$\alpha_n(V) = 0,01 \frac{10 - V}{e^{(10 - V)/10} - 1} \quad \text{e} \quad \beta_n = 0,125 e^{-V/80},$$

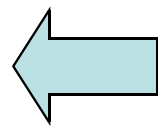
$$\alpha_m(V) = 0,1 \frac{25 - V}{e^{(25 - V)/10} - 1} \quad \text{e} \quad \beta_m(V) = 4 e^{-V/18},$$

$$\alpha_h(V) = 0,07 e^{-V/20} \quad \text{e} \quad \beta_h = \frac{1}{e^{(30 - V)/10} + 1}.$$

Action potentials



**Neuron acts as a current  
converter to frequency**



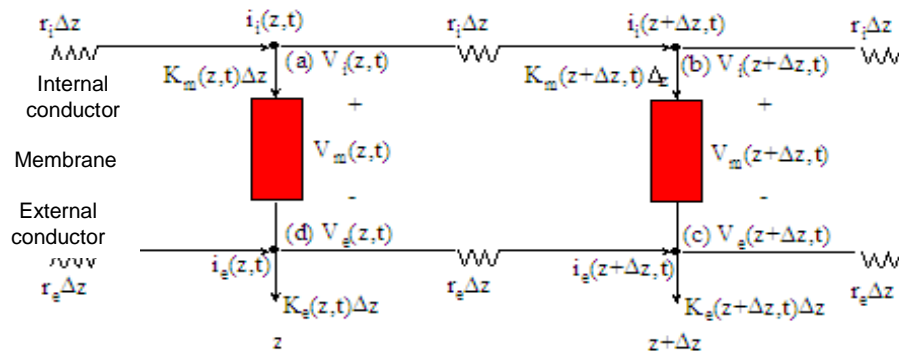
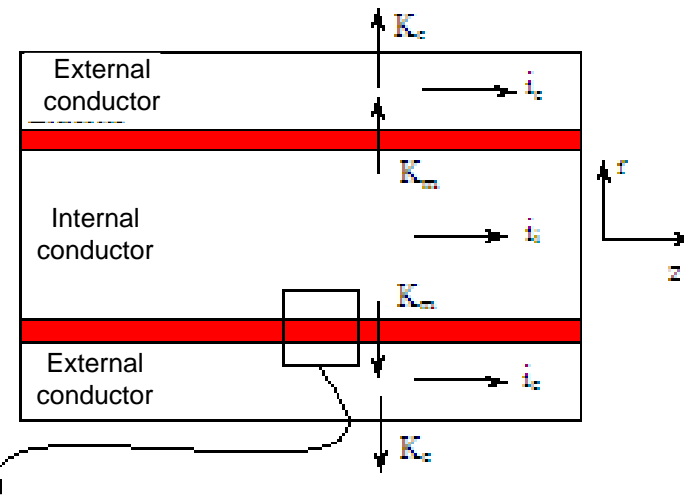
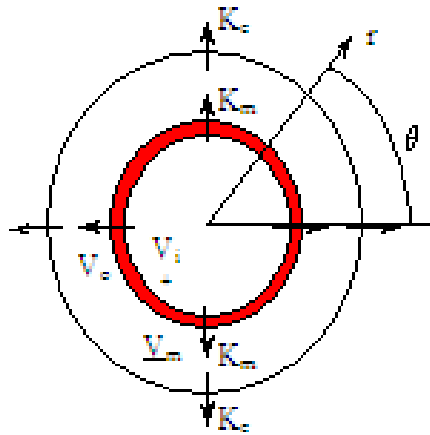
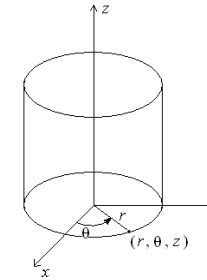
A stimulus is codified by one  
frequency

# Core conductor model

## Spatial extension

Membrane potential varies along the cell; it's not an isopotential structure!

Matteucci n Herman, beginning 20<sup>th</sup> century: "We can imagine a cell like cylindrical cables with an isolant membrane"



Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

Spatial dependence



# Core conductor model

## Spatial extension

(a)

$$i_i(z, t) = i_i(z + \Delta z, t) + K_m(z, t)\Delta z$$

(d)

$$i_e(z, t) + K_m(z, t)\Delta z = i_e(z + \Delta z, t) + K_e(z, t)\Delta z$$

Ohm's law

$$V_i(z, t) - V_i(z + \Delta z, t) = R_i i_i(z + \Delta z, t) = r_i \Delta z i_i(z + \Delta z, t)$$

$$V_e(z, t) - V_e(z + \Delta z, t) = R_e i_e(z + \Delta z, t) = r_e \Delta z i_e(z + \Delta z, t)$$

In the limit  $\Delta z \rightarrow 0$ ,

$$\frac{\partial i_i(z, t)}{\partial z} = -K_m(z, t) \qquad \frac{\partial i_e(z, t)}{\partial z} = K_m(z, t) - K_e(z, t)$$

$$\frac{\partial V_i(z, t)}{\partial z} = -r_i i_i(z, t) \qquad \frac{\partial V_e(z, t)}{\partial z} = -r_e i_e(z, t)$$

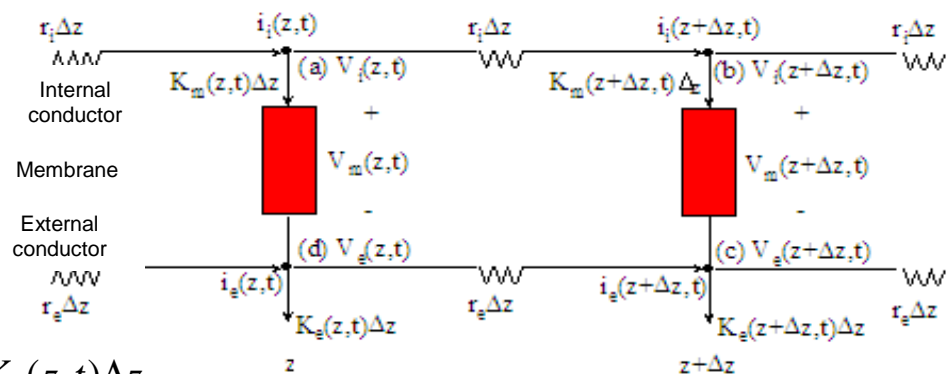
Membrane potential

$$V_m(z, t) = V_i(z, t) - V_e(z, t)$$



**Core conductor equation**

$$\frac{\partial V_m(z, t)}{\partial z} = -r_i i_i(z, t) + r_e i_e(z, t) \Leftrightarrow \boxed{\frac{\partial^2 V_m(z, t)}{\partial z^2} = (r_e + r_i)K_m(z, t) - r_e K_e(z, t)}$$



Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

Spatial dependence

# Core conductor model

## Action potential propagation

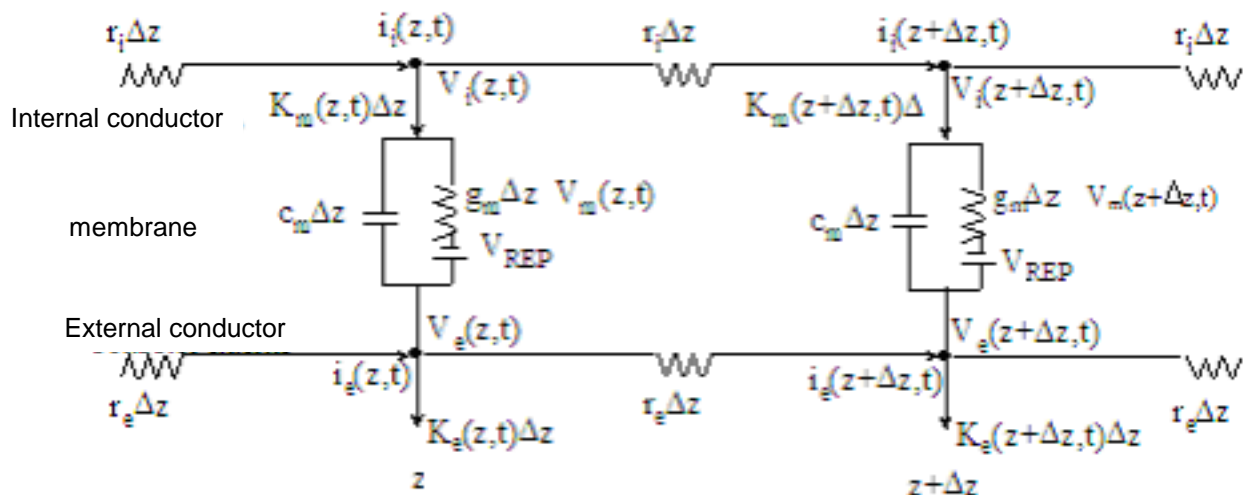
$$\frac{\partial^2 V_m(z,t)}{\partial z^2} = (r_e + r_i)K_m(z,t) - r_e K_e(z,t)$$

$$\frac{\partial^2 V_m(z,t)}{\partial z^2} = (r_e + r_i) \left[ c\Delta z \frac{\partial V_m(z,t)}{\partial t} + g\Delta z (V_m(z,t) - V_{rest}) \right] - r_e K_e(z,t)$$

Approximation:  $r_e \ll r_i$

Using Hodgkin-Huxley model:

$$\frac{1}{2\pi a r_i} \frac{\partial^2 V_m}{\partial z^2} = c \frac{\partial V_m}{\partial t} + \bar{g}_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V_m - E_K) + \bar{g}_{leak} (V_m - E_{leak})$$



Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

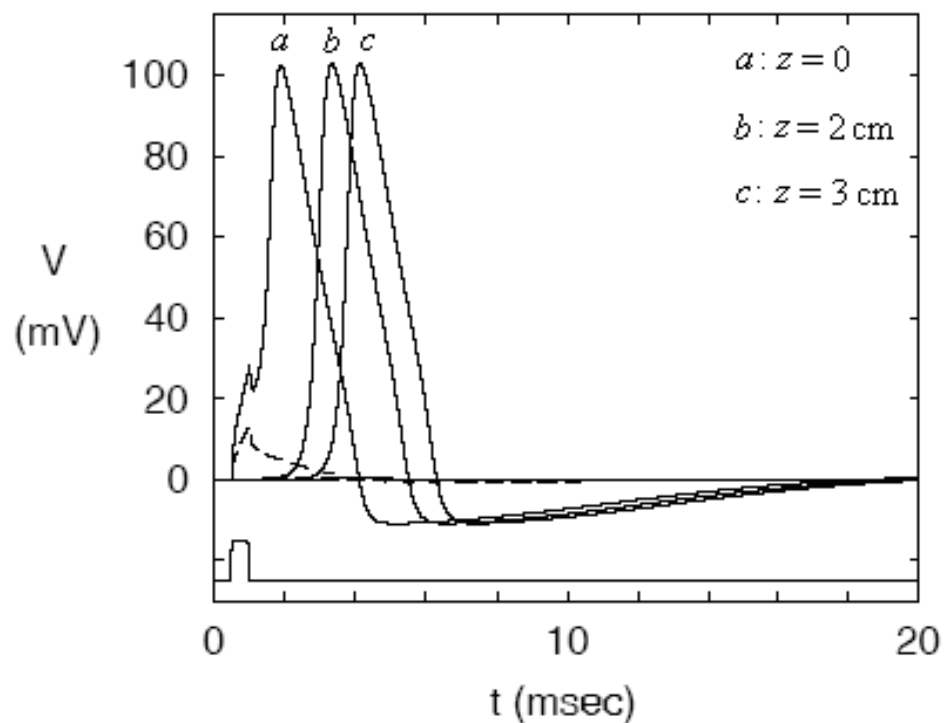
Spatial dependence

# Core conductor model

## Action potential propagation

$$\frac{1}{2\pi a r_i} \frac{\partial^2 V_m}{\partial z^2} = c \frac{\partial V_m}{\partial t} + \bar{g}_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V_m - E_K) + \bar{g}_{leak} (V_m - E_{leak})$$

Solution (Cooley, Dodge, Cohen, 1965):



Introduction

Membrane potential

Time course variation

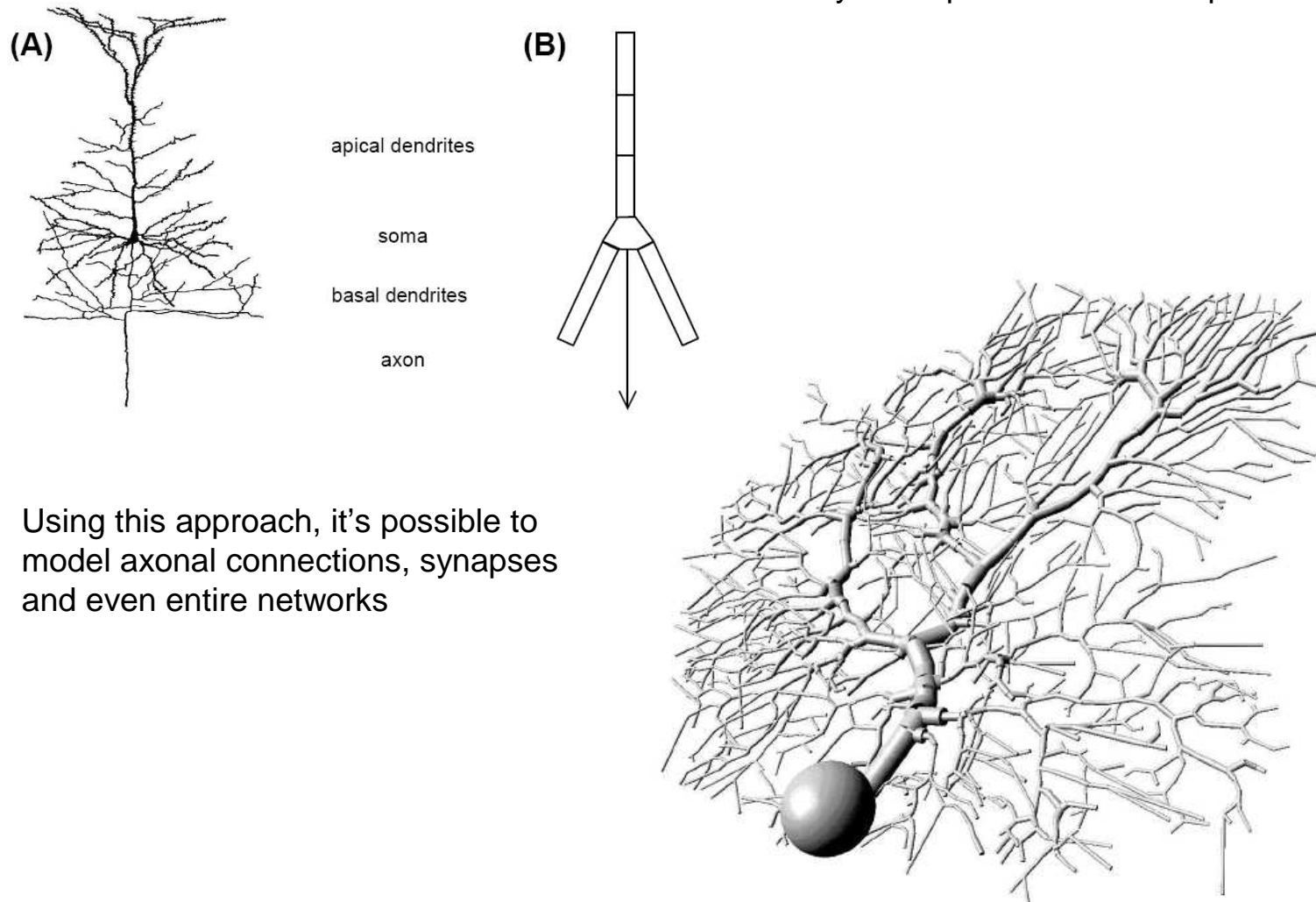
Action potentials

Spatial dependence

# Core conductor model

## Compartmental model

W. Rall (1960's – 70's): a continuous system can be divided into  $N$  compartments and described by  $N$  coupled differential equations



Using this approach, it's possible to model axonal connections, synapses and even entire networks

Introduction

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

Spatial dependence



# References

Introduction

## Hodgkin-Huxley equations / Ionic channels

- C. Koch and I. Segev, *Methods in neuronal modeling: from ions to networks*, 2<sup>nd</sup> ed., MIT press, Cambridge, MA, 1998
- B. Hille, *Ion channels of excitable membranes*, 3<sup>rd</sup> ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA, 2001
- Joe's class notes (very good!)
- A. L. Hodgkin and A.F. Huxley, *A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve*, J. Physiol. **117**, 500-544 (1952)

Membrane potential

Time course variation

Action potentials

## Core conductor / Compartmental modeling

- C. Koch and I. Segev, *Methods in neuronal modeling: from ions to networks*, 2<sup>nd</sup> ed., MIT press, Cambridge, MA, 1998
- J.M. Bower and D. Beeman, *The book of GENESIS: exploring realistic neural models with the GEneral NEural Simulation System*, 2<sup>nd</sup> ed., Telos, New York, 1997
- N.T. Carnevale and M.L. Hines, *The NEURON book*, Cambridge University Press, Cambridge, 2006

Spatial dependence

J. Physiol. (1952) 116, 424-448

## MEASUREMENT OF CURRENT-VOLTAGE RELATIONS IN THE MEMBRANE OF THE GIANT AXON OF *LOLIGO*

BY A. L. HODGKIN, A. F. HUXLEY AND B. KATZ

*From the Laboratory of the Marine Biological Association, Plymouth,  
and the Physiological Laboratory, University of Cambridge*

(Received 24 October 1951)

The importance of ionic movements in excitable tissues has been emphasized by a number of recent experiments. On the one hand, there is the finding that the nervous impulse is associated with an inflow of sodium and an outflow of potassium (e.g. Rothenberg, 1950; Keynes & Lewis, 1951). On the other, there are experiments which show that the rate of rise and amplitude of the action potential are determined by the concentration of sodium in the external medium (e.g. Hodgkin & Katz, 1949*a*; Huxley & Stämpfli, 1951). Both groups of experiments are consistent with the theory that nervous conduction depends on a specific increase in permeability which allows sodium ions to move from the more concentrated solution outside a nerve fibre to the more dilute solution inside it. This movement of charge makes the inside of the fibre positive and provides a satisfactory explanation for the rising phase of the spike. Repolarization during the falling phase probably depends on an outflow of potassium ions and may be accelerated by a process which increases the potassium permeability after the action potential has reached its crest (Hodgkin, Huxley & Katz, 1949).

### *Outline of experiments*

The general aim of this series of papers is to determine the laws which govern movements of ions during electrical activity. The experimental method was based on that of Cole (1949) and Marmont (1949), and consisted in measuring the flow of current through a definite area of the membrane of a giant axon from *Loligo*, when the membrane potential was kept uniform over this area and was changed in a stepwise manner by a feed-back amplifier. Two internal electrodes consisting of fine silver wires were thrust down the axis of the fibre for a distance of about 30 mm. One of these electrodes recorded the membrane potential, and the feed-back amplifier regulated the current entering the other electrode in such a way as to change the membrane potential suddenly and

hold it at the new level. Under these conditions it was found that the membrane current consisted of a nearly instantaneous surge of capacity current, associated with the sudden change of potential, and an ionic current during the period of maintained potential. The ionic current could be resolved into a transient component associated with movement of sodium ions, and a prolonged phase of 'potassium current'. Both currents varied with the permeability of the membrane to sodium or potassium and with the electrical and osmotic driving force. They could be distinguished by studying the effect of changing the concentration of sodium in the external medium.

The first paper of this series deals with the experimental method and with the behaviour of the membrane in a normal ionic environment. The second (Hodgkin & Huxley, 1952*a*) is concerned with the effect of changes in sodium concentration and with a resolution of the ionic current into sodium and potassium currents. Permeability to these ions may conveniently be expressed in units of ionic conductance. The third paper (Hodgkin & Huxley, 1952*b*) describes the effect of sudden changes in potential on the time course of the ionic conductances, while the fourth (Hodgkin & Huxley, 1952*c*) deals with the inactivation process which reduces sodium permeability during the falling phase of the spike. The fifth paper (Hodgkin & Huxley, 1952*d*) concludes the series and shows that the form and velocity of the action potential may be calculated from the results described previously.

A report of preliminary experiments of the type described here was given at the symposium on electrophysiology in Paris (Hodgkin *et al.* 1949).

#### *Nomenclature*

In this series of papers we shall regard the resting potential as a positive quantity and the action potential as a negative variation.  $V$  is used to denote displacements of the membrane potential from its resting value. Thus

$$V = E - E_r,$$

where  $E$  is the absolute value of the membrane potential and  $E_r$  is the absolute value of the resting potential, with signs taken in the sense outside potential minus inside potential. With this choice of signs it is logical to take  $+I$  for inward current density through the membrane. These definitions make membrane current positive under an external anode and agree with the accepted use of the terms negative and positive after-potential. They conflict with the common practice of showing action potentials as an upward deflexion and are inconvenient in experiments in which an internal electrode measures potentials with respect to an external earth. Lower-case symbols ( $v_n$ ) are employed when it is necessary to give potentials with respect to earth, but no confusion should arise since this usage is confined to the sections dealing with the experimental method.

### Theory

Although the results described in this paper do not depend on any particular assumption about the electrical properties of the surface membrane, it may be helpful to begin by stating the theoretical assumption which determined the design and analysis of the experiments. This is that the membrane current may be divided into a capacity current which involves a change in ion density at the outer and inner surfaces of the membrane, and an ionic current which depends on the movement of charged particles through the membrane. Equation 1 applies to such a system, provided that the behaviour of the membrane capacity is reasonably close to that of a perfect condenser:

$$I = C_M \frac{\partial V}{\partial t} + I_i, \quad (1)$$

where  $I$  is the total current density through the membrane,  $I_i$  is the ionic current density,  $C_M$  is the membrane capacity per unit area, and  $t$  is time. In most of our experiments  $\partial V/\partial t = 0$ , so that the ionic current can be obtained directly from the experimental records. This is the most obvious reason for using electronic feed-back to keep the membrane potential constant. Other advantages will appear as the experimental results are described.

### EXPERIMENTAL METHOD

The essential features of the electrode system are illustrated by Fig. 1. Two long silver wires, each  $20 \mu$ . in diameter, were thrust down the axis of a giant axon for a distance of 20–30 mm. The greater part of these wires was insulated but the terminal portions were exposed in the manner shown in Fig. 1. The axon was surrounded by a 'guard ring' system which contained the external electrodes. Current was applied between the current wire ( $a$ ) and an earth ( $e$ ), while the potential difference across the membrane could be recorded from the voltage wire ( $b$ ) and an external electrode ( $c$ ). The advantage of using two wires inside the nerve is that polarization of the current wires does not affect the potential recorded by the voltage wire. The current wire was exposed for a length which corresponded to the total height of the guard-system, while the voltage wire was exposed only for the height of the central channel. The guard system ensured that the current crossing the membrane between the partitions  $A_1$  and  $A_2$  flowed down the channel  $C$ . This component of the current was determined by recording the potential difference between the external electrodes  $c$  and  $d$ .

#### Internal electrode assembly

In practice it would be difficult to introduce two silver wires into an axon without using some form of support. Another requirement is that the electrode must be compact, since previous experience showed that axons do not survive well unless the width of an internal electrode is less than  $150 \mu$ . (Hodgkin & Huxley, 1945). After numerous trials the design shown in Fig. 4 was adopted. The first operation in making such an electrode was to push a length of the voltage wire through a  $70 \mu$ . glass capillary and twist it round the capillary in a spiral which started at the tip and proceeded toward the shank of the capillary. The spiral was wound by rotating the shank of the capillary in a small chuck attached to a long screw. During this process the free end of the wire was pulled taut by a weight while the capillary was supported, against the pull of the wire, by a fine glass hook. A second hook controlled the angle at which the wire left the capillary. When sufficient wire had been wound it was attached to the capillary by application of shellac solution,



cut close to the capillary and insulated with shellac in the appropriate regions (Fig. 4). The next operation was to wind on the current wire, starting from the shank and proceeding to the tip. Correct spacing of current and voltage wires was maintained by making small adjustments in the position of the second glass hook. When the current wire had been wound to the tip it was attached to the capillary, cut short and insulated as before. The whole operation was carried out under a binocular microscope. Shellac was applied as an alcoholic solution and was dried and hardened

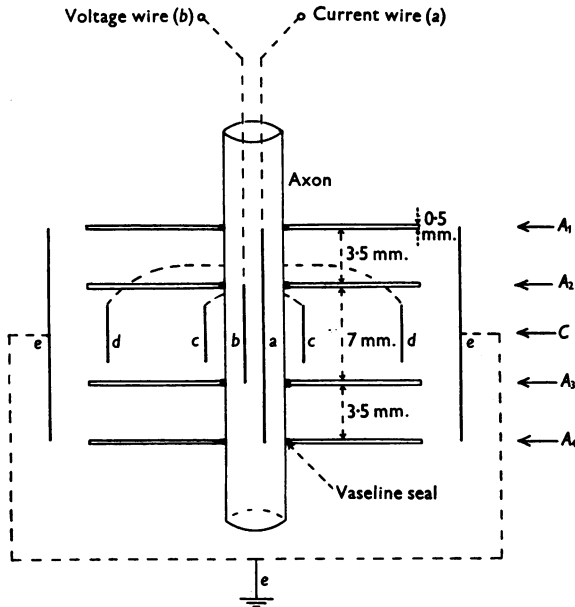


Fig. 1. Diagram illustrating arrangement of internal and external electrodes.  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  and  $A_4$  are Perspex partitions.  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  and  $e$  are electrodes. Insulated wires are shown by dotted lines. For sections through  $A$  and  $C$ , see Figs. 2 and 3.

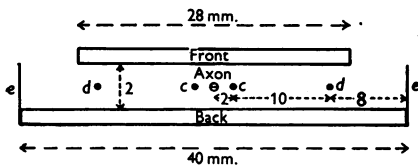


Fig. 2.

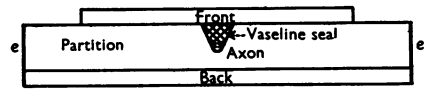


Fig. 3.

Fig. 2. Central channel of guard system. Section through  $C$ , Fig. 1.  $c$  and  $d$  are silver wires,  $e$  is a silver sheet. All dimensions are in mm.

Fig. 3. Partition of guard system. Section through  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  or  $A_4$ , Fig. 1.

by baking for several hours under a lamp. Insulation between wires and across the shellac was tested so as to ensure that the film of shellac was complete and that the wires did not touch at any point. The exposed portion of the wires was then coated electrolytically with chloride. The electrode was first made an anode in order to deposit chloride and was then made a cathode in order to reduce some of the chloride and obtain a large surface of silver. This process was repeated a number of times ending with an application of current in the direction to deposit chloride. In this way an electrode of low polarization resistance was obtained.

In order to test the performance of the electrode it was immersed in salt solution and the current wire polarized by application of an electric current. In theory this should have caused no change in the potential difference between the voltage wire and the solution in which it was immersed. In practice we observed a very small change in potential which will be called 'mutual polarization'. Leakage between wires was a possible cause of this effect, but other explanations cannot be excluded.

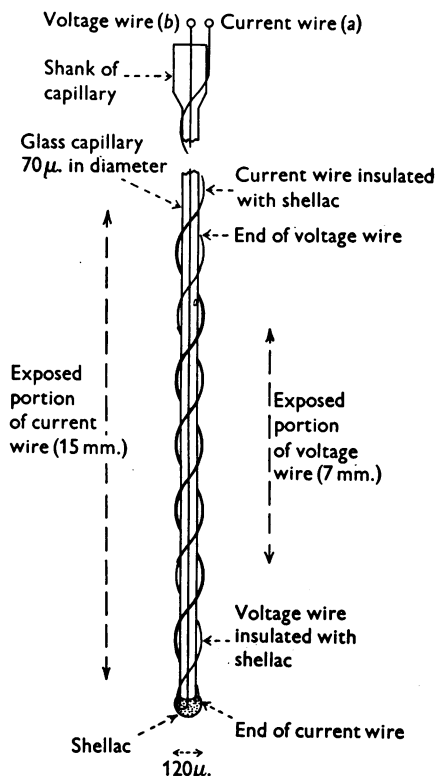


Fig. 4. Diagram of internal electrode (not to scale). The pitch of each spiral was 0.5 mm. The exposed portions of the wires are shown by heavy lines.

The general appearance of the electrode inside a giant axon is illustrated by Fig. 5. These photographs were obtained at an early stage of the investigation, and the axon was cleaned less carefully than in later experiments. The internal electrode differed from those finally employed in that both wires were wound from the shank of the electrode and that the pitch was somewhat greater.

#### Guard system

The general form of the guard system is shown in Figs. 1-3. It consisted of a flat box made out of Perspex which was divided into three compartments by two partitions  $A_1$  and  $A_2$  and closed with walls  $A_3$  and  $A_4$ . The front of the box was removable and was made from a thin sheet of Perspex which could be sealed into position with vaseline. V-shaped notches were made in the two end walls and in the partitions. The partitions were greased and the notches filled with an oil-vaseline mixture in order to prevent leakage between compartments (Figs. 1 and 3). The guard ring assembly was mounted on a micromanipulator so that it could be manoeuvred into position after the electrode had been inserted. The outer electrode (e) was made from silver sheet while the

inner electrodes (*c*) and (*d*) were made from 0.5 mm. silver wire. Exposed portions of the electrodes were coated electrolytically with chloride and the wires connecting the electrodes with external terminals were insulated with shellac.

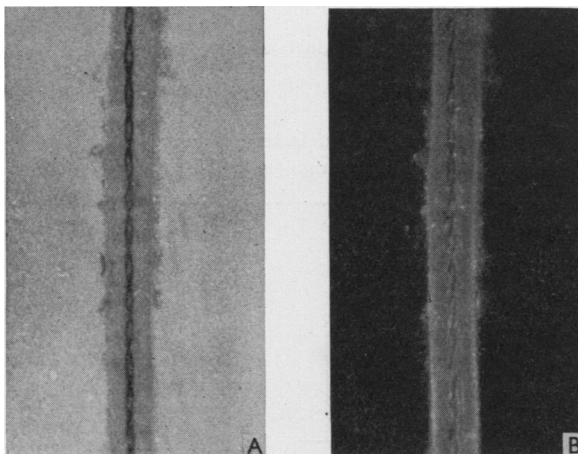


Fig. 5. Photomicrographs of giant axon and internal electrode. A, transmitted light; B, dark ground. The axon diameter was about  $600\ \mu$ . The glass rod supporting the wires is not clearly seen.

#### *Feed-back amplifier*

A simplified diagram of the feed-back amplifier is shown in Fig. 6. It consisted of a differential d.c. amplifier with cathode follower input and output. The output of the amplifier was coupled to the input in such a way that negative feed-back was employed. This meant that any spontaneous change in membrane potential caused an output current to flow in a direction which restored the membrane potential to its original value. The level at which the potential was held constant was determined by the bias voltage  $v_3$  and the control voltage  $v_4$ .  $v_3$  was set so that no current passed through the nerve in the resting condition. This preliminary operation was carried out with the protective resistance  $R_p$  at its maximum value. This was important since an incorrect setting would otherwise have caused a large current to flow through the membrane.  $R_p$  was gradually reduced to zero; at the same time  $v_3$  was adjusted to keep the membrane current zero. In order to change the membrane potential a rectangular pulse  $\pm v_4$  was fed into the second stage of the amplifier. A large current then flowed into the membrane and changed its potential abruptly to a new level determined by

$$v_1 - v_2 = \beta v_4, \quad (2)$$

where  $v_1$  and  $v_2$  are the two input voltages and  $v_4$  is the control voltage;  $\beta$  is a constant determined by resistance values and valve characteristics. Its value was of the order of 0.001. Any tendency to depart from Equation 2 was neutralized by a large output current which promptly restored the equilibrium condition defined by this relation.

In the majority of the experiments the slider of the potentiometer  $P$  was set to zero. Under these conditions the potential difference between the internal and external recording electrodes ( $v_b - v_c$ ) was directly proportional to  $(v_1 - v_2)$ . If  $\alpha$  is the voltage gain of the cathode followers (about 0.9), then

$$v_b - v_c = \frac{2}{\alpha} (v_1 - v_2) = \frac{2\beta v_4}{\alpha}. \quad (3)$$

The performance of the feed-back amplifier was tested in each experiment by recording the time course of the potential difference between the internal and external electrodes. This showed that the recorded potential followed the control voltage with a time lag of about  $1\ \mu\text{sec}$ . and an

accuracy of 1–2%. It is therefore unnecessary to discuss the numerous approximations which have to be made in order to derive Equation 2.

The voltage gain of the feed-back amplifier and cathode followers was about 400 in the steady state. At high frequencies the gain was about 1200, since the condenser  $C_1$  increased the gain under transient conditions. The mutual conductance of the feed-back system  $\left[ \frac{\partial i}{\partial (v_b - v_o)} \right]$  was about 1 mho in the steady state and 3 mhos at high frequencies. The maximum current that the amplifier could deliver was about 5 mA.

The method described would be entirely satisfactory if there were no resistance, apart from that of the membrane, between internal and external electrodes. In practice there was a small series

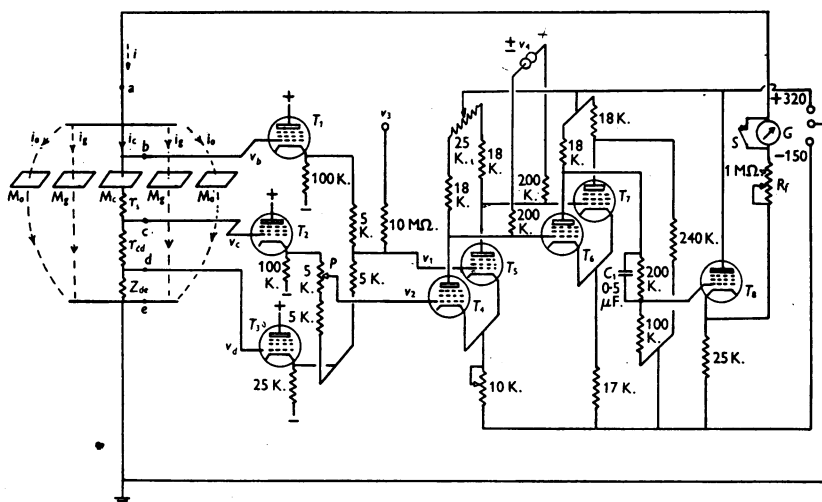


Fig. 6. Schematic diagram of feed-back amplifier. Screen resistances, grid stoppers and other minor circuit elements have been omitted.  $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  and  $T_4$  are cathode followers;  $T_4$ ,  $T_5$ ,  $T_6$  and  $T_7$  are d.c. amplifiers. All valves were 6AK5 except  $T_1$  and  $T_2$  which were 1223.  $G$  is a microammeter used in setting-up.  $S$  is a switch for short-circuiting  $G$ .  $M_c$  is the membrane in the central section of the guard system.  $M_g$ , membrane in guard channels.  $M_o$ , membrane outside guard system.  $i_c$ ,  $i_g$  and  $i_o$  are currents through these elements.  $r_{cd}$ , fluid-resistance used to measure current ( $74 \Omega$ . at  $20^\circ \text{C}$ ).  $r_s$ , resistance in series with membrane (about  $52 \Omega$ . at  $20^\circ \text{C}$ ).  $z_{de}$ , impedance of large earthed electrode and sea water between  $d$  and  $e$ . Potentials are given with respect to earth.

resistance, represented by  $r_s$  in Fig. 6 and discussed further on p. 444. This meant that the true membrane potential was in error by the quantity  $r_s i_c$ . Thus

$$v_i - v_o = v_b - v_o - r_s i_c = 2\beta v_d / \alpha - r_s i_c, \quad (4)$$

where  $v_i - v_o$  is the potential difference between the inner and outer surfaces of the membrane,  $r_s$  is the resistance in series with the membrane and  $i_c$  is the current flowing through the central area of membrane.

In principle the error introduced by  $r_s$  can be abolished by setting the potentiometer  $P$  to an appropriate value. All three cathode followers ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$ ) had the same gain so that  $v_1$  and  $v_2$  were determined by the following equations:

$$v_1 = \frac{1}{2} \alpha (v_b + v_d), \quad (5)$$

$$v_2 = \frac{1}{2} \alpha [v_c + v_d + p (v_c - v_d)], \quad (6)$$

and

$$v_1 - v_2 = \frac{1}{2} \alpha [v_b - v_c - p (v_c - v_d)], \quad (7)$$

where  $p$  is proportional to the setting of the potentiometer  $P$  and varied between extremes of 0 and 1 and  $v_d$  is the potential of electrode  $d$ .

From Ohm's law

$$v_c - v_d = r_{cd} i_c, \quad (8)$$

where  $r_{cd}$  is the resistance of the central channel between electrodes  $c$  and  $d$ .

From Equations 4, 7 and 8

$$v_1 - v_2 = \frac{1}{2} \alpha [v_i - v_o + i_c (r_s - p r_{cd})]. \quad (9)$$

If  $p = r_s / r_{cd}$

$$v_i - v_o = \frac{2}{\alpha} (v_1 - v_2) = \frac{2\beta v_4}{\alpha}. \quad (10)$$

The ratio  $r_s / r_{cd}$  was found to be about 0.7 and subsequent trials showed that a setting of  $p = 0.6$  could be used with safety. This procedure, which will be called compensated feed-back, was used successfully in seven of the later experiments. It had to be employed with considerable caution since a system of this type is liable to oscillate. Another difficulty is that if  $p$  is inadvertently made greater than  $r_s / r_{cd}$  the overall feed-back becomes positive and there is a strong probability that the membrane will be destroyed by the very large currents which the amplifier is capable of producing.

#### Auxiliary equipment

In addition to the feed-back amplifier we employed the following additional units: (1) A d.c. amplifier and cathode-ray oscillograph for recording membrane current and potential. (2) A voltage calibrator, with a built-in standard cell, giving  $\pm 110$  mV. in steps of 1 mV. (3) A time calibrator consisting either of an electrically maintained 1 kcyc./sec. tuning fork, or a 4 kcyc./sec. fork with circuits to give pulses at 4, 2, 1 or 0.5 kcyc./sec. (4) Two units for producing rectangular pulses. These pulses were of variable amplitude (0–100 V.) and the circuits were arranged in such

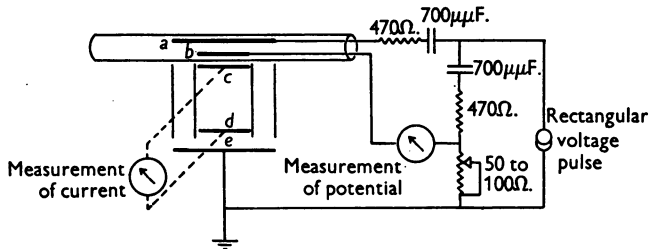


Fig. 7. Diagram of arrangement for recording response of membrane to short shock.

a way that the outputs of each generator were symmetrical with respect to earth. A single pulse generator was used in the early experiments, and its output was applied to the feed-back amplifier in the manner shown in Fig. 6. When required, the output of a second pulse generator was applied in parallel through a second pair of resistances. (5) An electrically operated refrigerator unit for cooling the preparation. All these items were of conventional design and need no detailed description.

#### Stimulation with brief currents

In the early stages of the work it was important to prove that the membrane was capable of giving an action potential of normal size. For this purpose we disconnected the feed-back amplifier and employed the arrangement shown in Fig. 7. A rectangular voltage step  $v_4$  was applied to one internal electrode through a  $700 \mu\text{F}$ . condenser. The total area of membrane exposed to current flow from the electrode was about  $0.3 \text{ cm.}^2$  ( $1.5 \text{ cm.} \times 0.06 \text{ cm.}$ ). It therefore had a capacity of about  $0.3 \mu\text{F}$ . When  $v_4$  was suddenly changed by 10 V. the membrane potential was displaced by about 23 mV. ( $10 \text{ V.} \times 700/300,000$ ). With this arrangement the membrane current consisted of very brief currents at the beginning and end of the voltage step. The size of the current could be varied by altering the size of the step, while the membrane current in the central channel of the guard-system could be measured by recording the potential difference

between electrodes *c* and *d*. The potential difference between the voltage wire (*b*) and the external electrode (*c*) was equal to the sum of the membrane potential and the potential difference across the ohmic resistance in series with the membrane. The second component was eliminated by the bridge circuit illustrated in Fig. 7.

#### *Experimental procedure*

Giant axons with a diameter of 400–800  $\mu$ , were obtained from the hindmost stellar nerve of *Loligo forbesi* and freed from all adherent tissue. Careful cleaning was important since the guard system did not operate satisfactorily if the axon was left with small nerve fibres attached to it. A further advantage in using cleaned axons was that the time required for equilibration in a test solution was greatly reduced by removing adherent tissue.

The axon was cannulated and mounted in the same type of cell as that described by Hodgkin & Huxley (1945) and Hodgkin & Katz (1949*a*). A conventional type of internal electrode, consisting of a long glass capillary, was thrust down the axon for a distance of 25–30 mm. This was then removed and the double wire electrode inserted in its place. Action potentials and resting potentials were recorded from the first electrode and the axon was rejected if these were not reasonably uniform over a distance of 20 mm. Another reason for starting with a conventional type of electrode was that the double wire electrode, in spite of the rigidity of its glass support, could not be inserted without buckling unless the axon had first been drilled with the glass capillary.

When the wire electrode was in position the guard system was brought into place by means of a micromanipulator. This operation was observed through a binocular microscope and care was taken to ensure that the central channel coincided exactly with the exposed portion of the internal voltage wire. The front of the guard-ring box was gently pressed into position and finally sealed by firm pressure with a pair of forceps. Before applying the front, spots of a vaseline-oil mixture were placed in such a position that they completed the seal round the axon when the front was pressed home (Figs. 1 and 3).

After the axon was sealed into position cold sea water (3–11° C.) was run into the cell and this temperature was maintained by means of a cooling coil which dipped into the cell. Air was bubbled through the cell in order to stir the contents and obtain a uniform temperature.

Before proceeding to study the behaviour of the axon under conditions of constant voltage its response to a short shock was observed. The experiment was discontinued if the action potential recorded in this way was less than about 85 mV. If the axon passed this test it was connected to the feed-back amplifier in the manner described previously.

Solutions were changed by running all the fluid from the cell and removing it from the guarding assembly with the aid of a curved capillary attached to a suction pump. A new solution was then run into the cell and was drawn into the guard rings by applying suction at appropriate places.

#### *Calibration*

The amplifier was calibrated at the end of each experiment, and all photographic records were analysed by projecting them on to a calibration grid. The readings obtained in this way were converted into current by dividing the potential difference between the two external electrodes *c* and *d* by the resistance between these electrodes ( $r_{cd}$ ). This resistance was determined by blocking up the outer compartments of the guard-ring assembly and filling the central channel with sea water or with one of the standard test fluids. A silver wire was coated with silver chloride and inserted into the position normally occupied by the axon (Fig. 1). A known current was applied between the central wire and the outer electrode (*e*). The resistance between the two external electrodes *c* and *d* could then be obtained by measuring the change in potential difference resulting from a given application of current. It was found that the resistance between these electrodes was 74  $\Omega$ , when the central chamber was filled with sea water at 20° C. This value was close to that calculated from the dimensions of the system.

Membrane currents were converted to current densities by dividing them by the area of membrane exposed to current flow in the central compartment. The area was calculated from the measured axon diameter and the distance between the partitions  $A_2$  and  $A_3$  (Fig. 1).

## RESULTS

*Stimulation with brief currents*

Before investigating the effect of a constant voltage it was important to establish that the membranes studied were capable of giving normal action potentials. This was done by applying a brief shock to one internal electrode and recording changes in membrane potential with the other. Details of the method are given on p. 431; typical results are shown in Fig. 8 (23° C.) and Fig. 9 (6° C.).

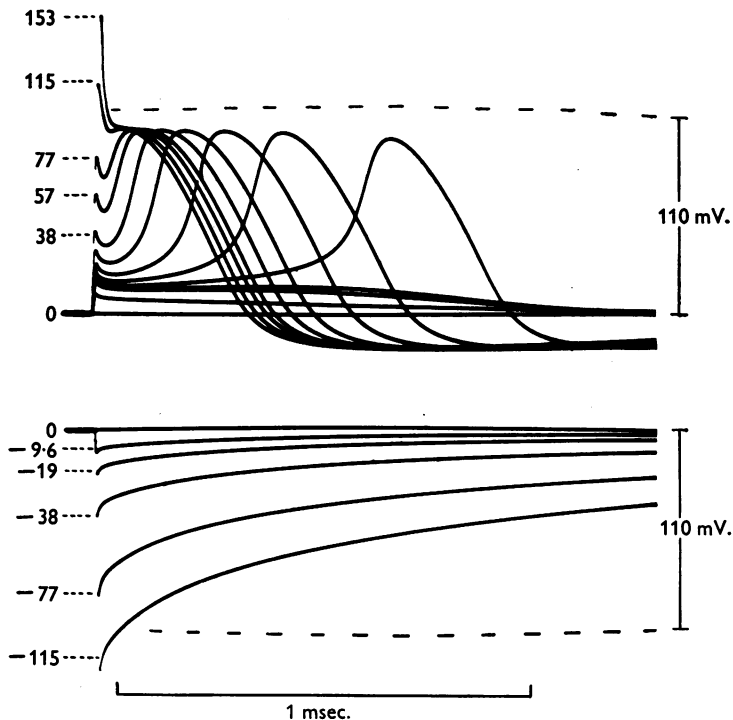


Fig. 8. Time course of membrane potential following a short shock at 23° C. Depolarizations shown upwards. Axon 18. The numbers attached to the curves give the strength of shock in  $\mu\text{coulomb}/\text{cm}^2$ . Shock strengths for unlabelled curves are 29, 23, 19.2, 17.3, 16.7, 15.3, 9.6.

The shock used to displace the membrane potential was calibrated by recording the membrane current in the central channel (Fig. 7). This test showed that the current pulse consisted of a brief surge which was 95% complete in about  $8\mu\text{sec}$ . and reached a peak amplitude of about  $50\text{ mA./cm}^2$  at the highest strengths. The total quantity of current passing through the central channel was evaluated by integrating the current record and was used to define the strength of the shock. The numbers attached to the records in Figs. 8 and 9 give the charge applied per unit area in  $\mu\text{coulomb}/\text{cm}^2$ . It

will be seen that the initial displacement of membrane potential was proportional to the charge applied and that it corresponded to a membrane capacity of about  $0.9 \mu\text{F./cm.}^2$ . Values obtained by this method are given in Table 1.

Although the initial charging process was linear, the subsequent behaviour of the membrane potential varied with the strength of shock in a characteristic

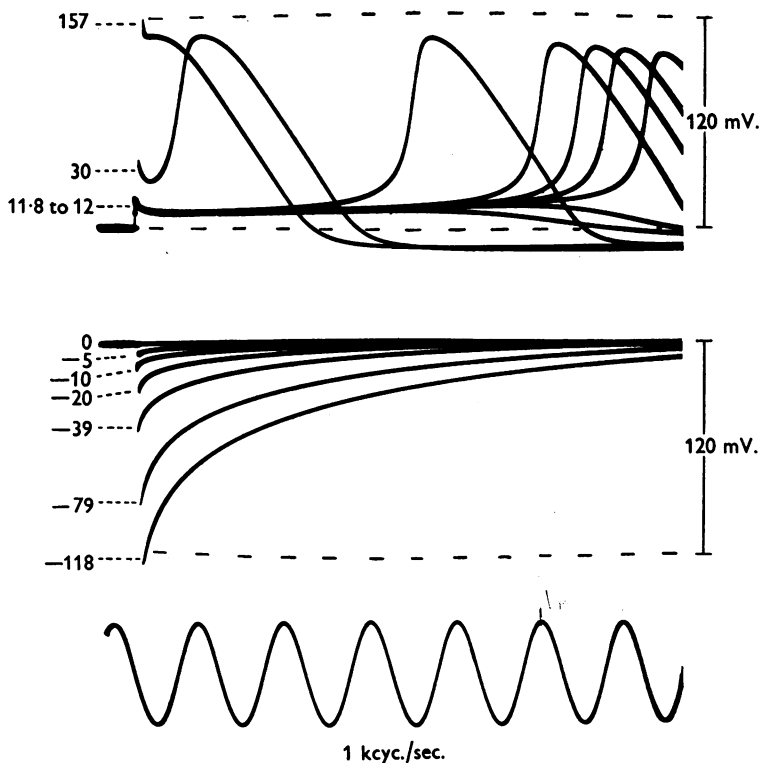


Fig. 9. Time course of membrane potential following a short shock at  $6^\circ\text{C}$ . Depolarization shown upwards. Axon 17. The numbers attached to the curves give the strength of shock in  $\mu\mu\text{coulomb/cm.}^2$ . The initial displacement in the case of the uppermost curve cannot be seen; its value was about 200 mV.

manner. All the anodal records had the same general shape, but depolarizations of more than a few millivolts gave non-linear responses. If the depolarization was more than 15 mV. (Fig. 8) or 12 mV. (Fig. 9) the response became regenerative and produced an action potential of about 100 mV. If it was less than 12 or 15 mV. it was followed by a subthreshold response similar to that seen in most excitable tissues. If the potential was displaced to the threshold level it might remain in a state of unstable equilibrium for considerable periods of time. This is illustrated by Fig. 9 which shows the effect of a small variation of shock strength in the region of threshold.



Records such as those in Fig. 9 may be used to estimate the relation between membrane potential and ionic current. The total membrane current density ( $I$ ) is negligible at times greater than 200  $\mu$ sec. after application of the short

TABLE 1. Membrane capacities

Axon no.	Diameter ( $\mu$ .)	Temperature ( $^{\circ}$ C.)	Change in potential (mV.)	Membrane capacity ( $\mu$ F./cm. <sup>2</sup> )		$R_s$ ( $\Omega$ .cm. <sup>2</sup> )	$r_s$ ( $\Omega$ .)	$r_s/r_{ca}$
				Anodic	Cathodic			
A. Voltage clamp								
13	520	9	{ +36 - 36 +56 - 56 +98 - 98	0.76 0.83 0.83	0.83 0.90 0.96	8.2	72	0.77
14	430	9	+36 - 34	0.81	0.83	5.8	61	0.65
17	588	7	+31 - 32	0.72	0.76	8.3	64	0.65
18	605	21	+30 - 31	0.92	0.91	5.5	41	0.57
19	515	8	+43 - 45	0.93	0.90	7.8	69	0.73
20	545	6	+42 - 43	0.88	0.86	9.1	76	0.77
21	533	9	+42 - 44	0.98	1.01	9.1	78	0.84
22	542	23	+40 - 41	1.01	1.03	4.0	34	0.50
25	603	8	+39 - 41	0.88	0.86	7.0	53	0.57
25*	603	7	+39 - 41	0.84*	0.82*	8.8*	66*	0.55*
26	675	20	+40 - 42	0.97	0.93	7.7	52	0.70
Average	—	—	—	0.88	0.90	7.3	60	0.68
				0.89				
B. Short shock								
13	520	9	+58 - 50	1.07	1.11	—	—	—
17†	588	6	—	0.79†	0.74†	—	—	—
18†	605	23	—	0.85†	0.88†	—	—	—
Average	—	—	—	0.90	0.91	—	—	—
				0.91				
C. Constant current								
29	540	21	—	—	1.49	6.4	42	0.57
41	585	4	—	—	0.78	11.9	92	0.88
Average	—	—	—	—	1.13	9.2	67	0.73
				1.13				
Average by all methods	—	—	—	0.91	—	7.6	61	0.68

\* In this experiment choline was substituted for sodium in the external solution. The values obtained are excluded from the averages.

† In these experiments the shock strength was not measured directly but was obtained from the calibration for axon 13. The values for  $C_M$  are means obtained from a wide range of shock strengths.

shock. This means that the ionic current density ( $I_i$ ) must be equal to the product of the membrane capacity per unit area ( $C_M$ ) and the rate of depolarization. Thus if  $I = 0$ , Equation 1 becomes

$$I_i = -C_M \frac{\partial V}{\partial t}. \quad (11)$$

Fig. 10 illustrates the relation between membrane potential and ionic current at a fixed time (290  $\mu$ sec.) after application of the stimulus. It shows that

ionic current and membrane potential are related by a continuous curve which crosses the zero current axis at  $V=0$ ,  $V=-12$  mV. and  $V=-110$  mV. Ionic current is inward over the regions  $-110$  mV.  $< V < -12$  mV. and  $V > 0$ , and is outward for  $V < -110$  mV. and  $-12$  mV.  $< V < 0$ .  $\partial I_i / \partial V$  is negative for  $-76$  mV.  $< V < -6$  mV. and is positive elsewhere.

A curve of this type can be used to describe most of the initial effects seen in Figs. 8 and 9. When the membrane potential is increased by anodal shocks the ionic current associated with the change in potential is in the inward direction. This means that the original membrane potential must be restored by an inward transfer of positive charge through the membrane. If the

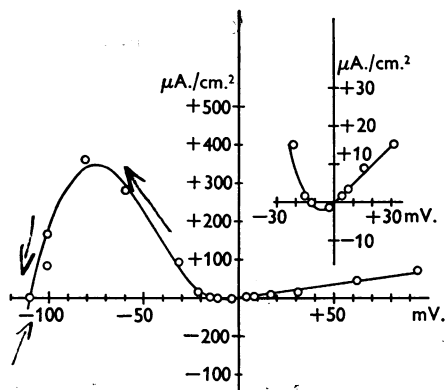


Fig. 10. Relation between ionic current density ( $I_i$ ) and displacement of membrane potential ( $V$ ). Abscissa: displacement of membrane potential from its resting value (anodal displacement shown positive). Ordinate: ionic current density obtained from  $-C_M \frac{dV}{dt}$  (inward current shown positive). Inset: curve in region of origin drawn with tenfold increase in vertical scale. Axon 17;  $C_M=0.74 \mu\text{F./cm.}^2$ ; temperature  $6.3^\circ\text{C}$ . Measurements made 0.29 msec. after application of shock.

membrane potential is depolarized by less than 12 mV., ionic current is outward and again restores the resting condition by repolarizing the membrane capacity. At  $V=-12$  mV.,  $I_i$  is zero so that the membrane potential can remain in a state of unstable equilibrium. Between  $V=-110$  mV. and  $V=-12$  mV.,  $I_i$  is inward so that the membrane continues to depolarize until it reaches  $V=-110$  mV. If the initial depolarization is greater than 110 mV.  $I_i$  is outward which means that it will repolarize the membrane towards  $V=-110$  mV. These effects are clearly seen in Figs. 8 and 9.

### *Membrane current under conditions of controlled potential*

#### *General description*

The behaviour of the membrane under a 'voltage clamp' is illustrated by the pair of records in Fig. 11. These show the membrane current which flowed as a result of a sudden displacement of the potential from its resting value to

a new level at which it was held constant by electronic feed-back. In the upper record the membrane potential was increased by 65 mV.; in the lower record it was decreased by the same amount. The amplification was the same in both cases.

The first event in both records is a slight gap, caused by the surge of 'capacity current' which flowed when the membrane potential was altered suddenly. The surge was too rapid to be visible on these records, but was examined in other experiments in which low gain and high time base speed were employed (see p. 442). The ionic current during the period of constant potential was small when the membrane potential was displaced in the anodal direction, and is barely visible with the amplification used in Fig. 11. The top record in Fig. 12 gives the same current at higher amplification and shows

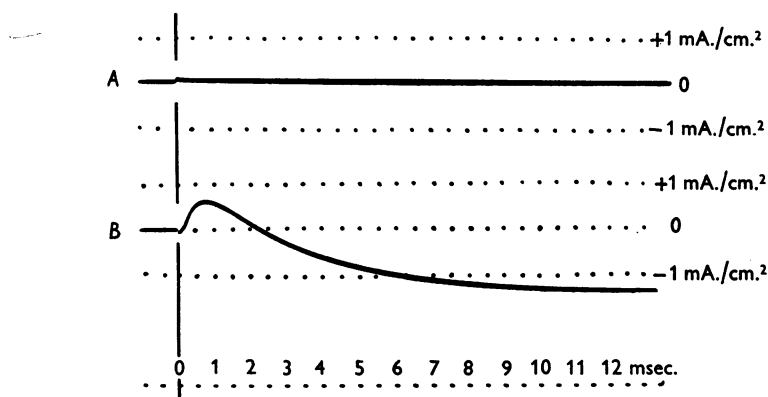


Fig. 11. Records of membrane current under a voltage clamp. At zero time the membrane potential was increased by 65 mV. (record *A*) or decreased by 65 mV. (record *B*); this level was then maintained constant throughout the record. Inward current is shown as an upward deflexion. Axon 41; diameter 585  $\mu$ . Temperature 3.8° C. Compensated feed-back.

that an increase of 65 mV. in the membrane potential was associated with an inward ionic current of about 30  $\mu$ A./cm.<sup>2</sup> which did not vary markedly with time. The sequence of events was entirely different when the membrane potential was reduced by 65 mV. (Fig. 11*B*). In this case the current changed sign during the course of the record and reached maximum amplitudes of +600 and -1300  $\mu$ A./cm.<sup>2</sup>. The initial phase of ionic current was inward and was therefore in the opposite direction to that expected in a stable system. If it had not been drawn off by the feed-back amplifier it would have continued to depolarize the membrane at a rate given by Equation 11. In this experiment  $C_M$  was 0.8  $\mu$ F./cm.<sup>2</sup> and  $I_i$  had a maximum value of 600  $\mu$ A./cm.<sup>2</sup>. The rate of depolarization in the absence of feed-back would therefore have been 750 V./sec., which is of the same general order as the maximum rate of rise of the spike (Hodgkin & Katz, 1949*a, b*). The phase of inward current was not maintained but changed fairly rapidly into a prolonged period of outward

current. In the absence of feed-back this current would have repolarized the membrane at a rate substantially greater than that observed during the falling phase of the spike. The outward current appeared to be maintained for an indefinite period if the membrane was not depolarized by more than 30 mV. With greater depolarization it declined slowly as a result of a polarization effect discussed on p. 445.

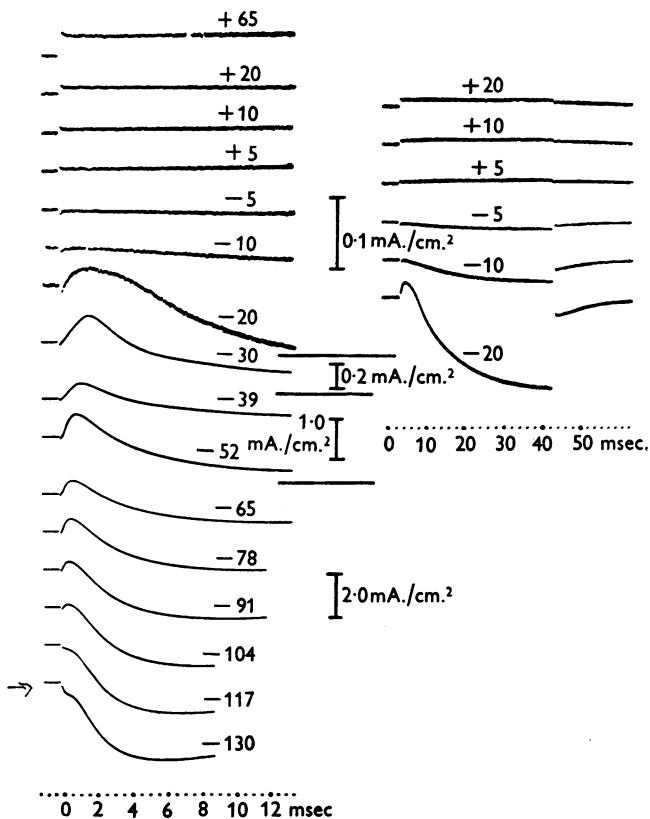


Fig. 12. Records of membrane current under a voltage clamp. The displacement of membrane potential ( $V$ ) is given in millivolts by the number attached to each record. Inward current is shown as an upward deflexion. Six records at a lower time base speed are given in the right-hand column. Experimental details as in Fig. 11.

The features illustrated in Fig. 11 *B* were found over a wide range of voltages as may be seen from the complete family of curves in Fig. 12. An initial phase of inward current was conspicuous with depolarizations of 20–100 mV., while the delayed rise in outward current was present in all cathodal records. A convenient way of examining these curves is to plot ionic current density against membrane potential. This has been done in Fig. 13, in which the abscissa gives the displacement of membrane potential and the ordinate gives

the ionic current density at a short time (curve *A*) and in the 'steady state' (curve *B*). It will be seen that there is a continuous relation over the whole range, but that small changes in membrane potential are associated with large changes in current. At short times the relation between ionic current density

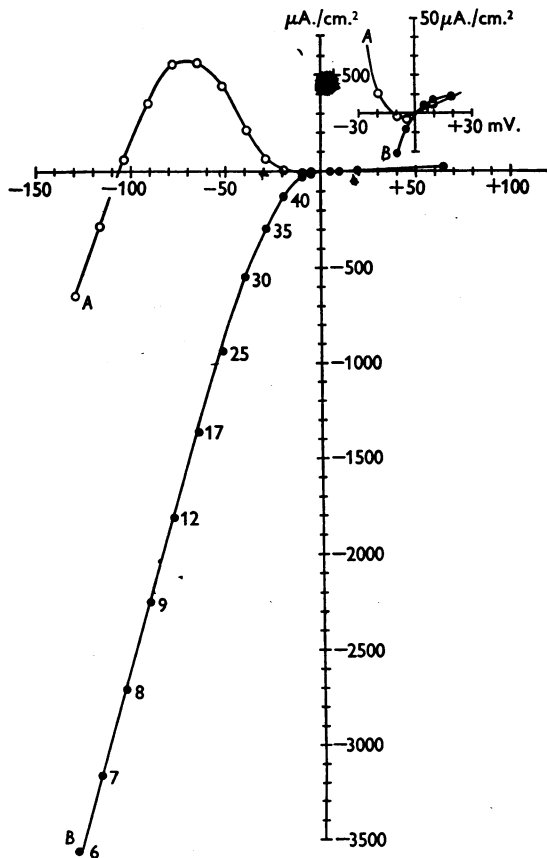


Fig. 13. Relation between membrane current density and membrane potential. Abscissa: displacement of membrane potential from its resting value in mV. Ordinate: membrane current density at 0.63 msec. after beginning of voltage step (curve *A*) and in 'steady state' (curve *B*). The numbers attached to curve *B* indicate the times in msec. at which the measurements were made. Inset: curves in region of origin drawn with a tenfold increase in the vertical scale. Inward current density is taken as positive and the membrane potential is given in the sense external potential minus the internal potential. Measurements were made from the records reproduced in Fig. 12 (3.8° C.).

and membrane potential is qualitatively similar to that obtained indirectly in Fig. 10. Ionic current is inward over the region  $-106 \text{ mV.} < V < -12 \text{ mV.}$  and for  $V > 0$ ; it is outward for  $V < -106 \text{ mV.}$  and for  $-12 \text{ mV.} < V < 0$ .  $\partial I_i / \partial V$  is negative for  $-70 \text{ mV.} < V < -7 \text{ mV.}$  and is positive elsewhere. More

quantitative comparisons are invalidated by the fact that the ionic current is a function of time as well as of membrane potential. At long times depolarization is invariably associated with an outward current and  $\partial I_i/\partial V$  is always positive.

The electrical resistance of the membrane varied markedly with membrane potential. In Fig. 13,  $\partial V/\partial I_i$  is about  $2500 \Omega \cdot \text{cm.}^2$  for  $V > 30 \text{ mV}$ . For  $V = -110 \text{ mV}$ , it is  $35 \Omega \cdot \text{cm.}^2$  (curve *A*) or  $30 \Omega \cdot \text{cm.}^2$  (curve *B*). At  $V = 0$ ,  $\partial V/\partial I_i$  is  $2300 \Omega \cdot \text{cm.}^2$  at short times and  $650 \Omega \cdot \text{cm.}^2$  in the steady state. These results are comparable with those obtained by other methods (Cole & Curtis, 1939; Cole & Hodgkin, 1939).

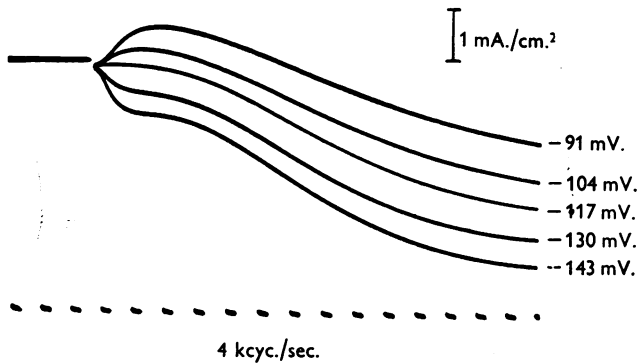


Fig. 14. Time course of membrane current during large depolarizations. Abscissa: time. Ordinate: inward current density. The numbers attached to the records give the displacement of membrane potential from its resting value. Axon 41; temperature  $3.5^\circ \text{C}$ . Compensated feed-back.

Fig. 14 illustrates the initial phase of ionic current at large depolarizations in greater detail. These records were obtained from the same axon as Fig. 12 but at an earlier stage of the experiment. They show that the initial 'hump' of ionic current changed sign at a potential of  $-117 \text{ mV}$ . At  $-130 \text{ mV}$ , the initial hump consists of outward current while it is plainly inward at  $-104 \text{ mV}$ . The curve at  $-117 \text{ mV}$ , satisfies the condition that  $\partial I_i/\partial t = 0$  at short times and has no sign of the initial hump seen in the other records. It will be shown later that this potential probably corresponds to the equilibrium potential for sodium and that it varies with the concentration of sodium in the external medium (Hodgkin & Huxley, 1952*a*).

#### *The effect of temperature*

The influence of temperature on the ionic currents under a voltage clamp is illustrated by the records in Fig. 15. These were obtained from a pair of axons from the same squid. The first axon isolated was examined at  $6^\circ \text{C}$ , and gave the series of records shown in the left-hand column. About 5 hr. later the second axon, which had been kept at  $5^\circ \text{C}$ , in order to retard deterioration, was

examined in a similar manner at 22° C. Its physiological condition is likely to have been less normal than that of the first but the difference is not thought to be large since the two axons gave propagated action potentials of amplitude 107 and 103 mV. respectively, both measured at 22° C. The resting potentials were 55 mV. in both cases. The results obtained with the second axon are given in the right-hand column of Fig. 15. It will be seen that the general form and

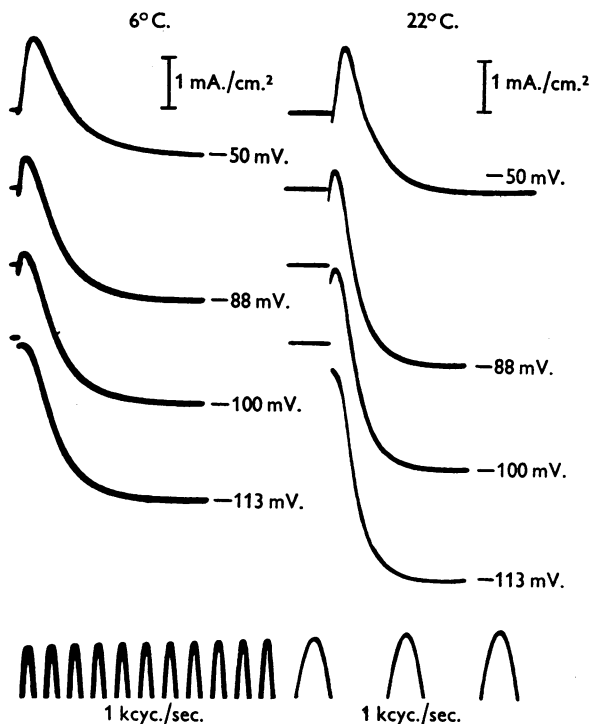


Fig. 15. Membrane currents at different temperatures. Axons 17 (6° C.) and 18 (22° C.), from the same squid. Inward current is shown as an upward deflexion. The numbers attached to each curve give the displacement of membrane potential. Uncompensated feed-back was employed.

amplitude of the two sets of records are similar but that the rate at which the ionic current changes with time was increased about sixfold by the rise in temperature of 16° C. It was found that the two families could be roughly superposed by assuming a  $Q_{10}$  of 3 for the rate at which ionic current changes with time. Values between 2.7 and 3.5 were found by analysing a number of experimental records obtained under similar conditions, but with different axons at different temperatures. In the absence of more precise information we shall use a temperature coefficient of 3 when it is necessary to compare rates measured at different temperatures.

The absolute magnitude of the current attained at any voltage probably varies with temperature, but much less than the time scale. In the experiment of Fig. 15 a rise of 16° C. increased the outward current about 1.5-fold, while the inward current at -50 mV. was approximately the same in the two records. Since the initial phase of inward current declined relatively rapidly as the axon deteriorated it is possible that a temperature coefficient of about 1.3 per 10° C. applies to both components of the current. Temperature coefficients of the order of 1.0-1.5 were also obtained by examining a number of results obtained with other axons.

### The capacity current

The surge of current associated with the sudden change in membrane potential was examined by taking records at high time-base speed and low amplification. Tracings of a typical result are shown in Fig. 16. It will be seen

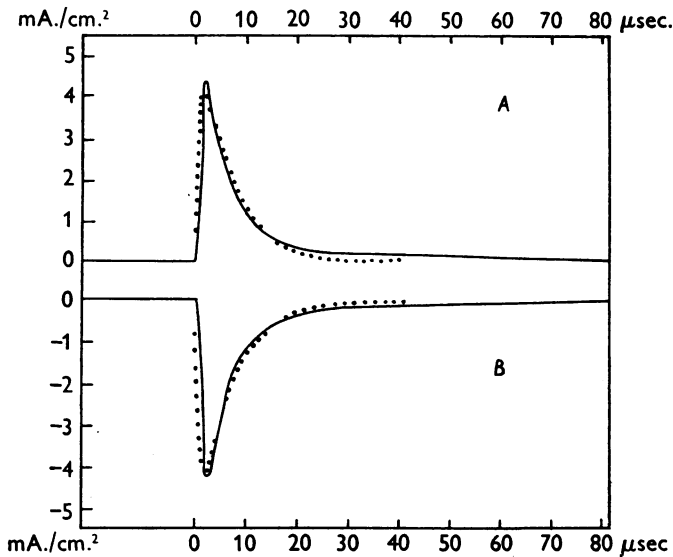


Fig. 16. Current through capacitative element of membrane during a voltage clamp. Abscissa: time in  $\mu\text{sec}$ . Ordinate: membrane current density ( $\text{mA./cm.}^2$ ) with inward current taken as positive. At  $t=0$  the potential difference between external and internal electrodes was displaced +40 mV. in curve A or -40 mV. in curve B. The continuous curves were traced from experimental records. The dotted curves were calculated according to the equation

$$I^* = 6.8 [\exp(-0.159t) - \exp(-t)],$$

where  $I^*$  is the current in  $\text{mA./cm.}^2$  and  $t$  is time in  $\mu\text{sec}$ . This follows from the assumptions given in the text. Axon 25; temperature 8° C.

that the current records for anodal and cathodal changes are almost symmetrical and that the charging process is virtually complete in 50  $\mu\text{sec}$ . In the anodal record the observed current declined from a peak of 4.5  $\text{mA./cm.}^2$  to a steady level of about 0.04  $\text{mA./cm.}^2$ . The steady current is barely visible in the tracing



but could be seen more clearly at higher amplification and lower time-base speed; records taken under these conditions were similar to those in Fig. 12.

The membrane capacity was obtained from the change in potential and the area under the curves. A small correction was made for ionic current but the resting membrane conductance was sufficiently low for uncertainties here to be unimportant. In the experiment illustrated by Fig. 16*A* the charge entering the membrane capacity in  $60\mu\text{sec.}$  was  $35\text{ m}\mu\text{coulomb/cm.}^2$ , while the change in potential was  $40\text{ mV.}$  Hence the membrane capacity per unit area was about  $0.9\mu\text{F./cm.}^2$ . Table 1 (p. 435) gives the results of other experiments of this kind. It also shows that replacement of all the sodium in sea water by choline had little effect on the membrane capacity and that there was no large change of capacity with temperature.

If a perfect condenser is short-circuited through zero resistance it loses its charge instantaneously. Fig. 16 suggests that the nerve capacity charged or discharged with a time constant of about  $6\mu\text{sec.}$  under a 'voltage clamp'. This raises the question whether the finite time of discharge was due to an imperfection in the membrane capacity or whether it arose from an imperfection in the method of holding the membrane potential constant. The records in Fig. 16 were obtained with uncompensated feed-back, which means that there was a small resistance in series with the capacitative element of the membrane. This clearly reduces the rate at which the membrane capacity can be discharged, and must be allowed for. It is also necessary to take account of the finite time constant of the recording amplifier (about  $1\mu\text{sec.}$  at this gain). Both effects have been considered in calculating the dotted lines in Fig. 16. These were drawn on the assumption that a  $0.9\mu\text{F.}$  condenser was charged to  $\pm 40\text{ mV.}$  through a resistance of  $7\ \Omega$ . and that the resulting pulses of current were recorded by an amplifier with an exponential time lag of  $1\mu\text{sec.}$  It will be seen that there is good agreement between the amplitude and general form of the two pairs of curves. Deviations at short times are not considered important since there was some uncertainty in the correction for amplifier delay.

At relatively long times ( $> 25\mu\text{sec.}$ ) the current record shows a 'tail' which is not explained by the presence of a series resistance. This effect was present in all records and was larger at higher temperatures. It can be explained by supposing that the membrane capacity was not perfect but behaved in the manner described by Curtis & Cole (1938). The records in Fig. 16 are roughly consistent with a constant phase angle of  $80^\circ$ , while those at higher temperatures require somewhat lower values. These statements must be regarded as tentative since our experiments were not designed to measure the phase angle and do not give good data for quantitative analysis. For the time being the principal point to be emphasized is that the surge associated with a sudden

change in potential is adequately described by assuming that the membrane has a capacity of about  $1 \mu\text{F./cm.}^2$  and a series resistance of about  $7 \Omega \cdot \text{cm.}^2$ .

The surge of capacity current was larger in amplitude and occupied a shorter time when compensated feed-back was employed. These experiments were not suitable for analysis, since the charging current was oscillatory and could not be adequately recorded by the camera employed. All that could be seen in records of ionic current is a gap, as in Fig. 14.

Our values for the membrane capacity are in reasonable agreement with those obtained previously. Using transverse electrodes 5.6 mm. in length, Curtis & Cole (1938) obtained the following values in twenty-two experiments: average membrane capacity at 1 kcyc./sec.,  $1.1 \mu\text{F./cm.}^2$ , range  $0.66 \mu\text{F./cm.}^2$  to  $1.60 \mu\text{F./cm.}^2$ ; average phase angle,  $76^\circ$ , range  $64-85^\circ$ .

The values for membrane capacity in the upper part of Table 1 were obtained by integrating the initial surge of current over a total time of about  $50 \mu\text{sec.}$  If the phase angle is assumed to be  $76^\circ$  at all frequencies the average value of  $0.89 \mu\text{F./cm.}^2$  obtained by this method is equivalent to one of  $1.03 \mu\text{F./cm.}^2$  at 1 kcyc./sec. This is clearly in good agreement with the figures given by Curtis & Cole (1938), but is substantially less than the value of  $1.8 \mu\text{F./cm.}^2$  mentioned in a later paper (Cole & Curtis, 1939). However, as Cole & Curtis point out, the second measurement is likely to be too large since the electrode length was only 0.57 mm. and no allowance was made for end-effects.

#### *The series resistance*

Between the internal and external electrodes there is a membrane with a resting resistance of about  $1000 \Omega \cdot \text{cm.}^2$ . This resistance is shunted by a condenser with a capacity of about  $1 \mu\text{F./cm.}^2$ . In series with the condenser, and presumably in series with the membrane as a whole, there is a small resistance which, in the experiment illustrated by Fig. 16, had an approximate value of  $7 \Omega \cdot \text{cm.}^2$ . This 'series resistance' can be estimated without fitting the complete theoretical curve shown in that figure. A satisfactory approximation is to divide the time constant determining the decline of the capacitative curve by the measured value of the membrane capacity. This procedure was followed in calculating the values for the series resistance given in the upper part of Table 1. The symbol  $r_s$  gives the actual resistance in series with the central area of membrane, while  $R_s$  is the same quantity multiplied by the area of membrane exposed to current flow in the central channel of the guard system. The last column gives the ratio of  $r_s$  to the resistance ( $r_{cd}$ ) between the current measuring electrodes,  $c$  and  $d$ . This ratio is of interest since it determined the potentiometer setting required to give fully compensated feed-back (pp. 430-1).

Another method of measuring the series resistance was to apply a rectangular pulse of current to the nerve and to record the potential difference ( $v_{bc}$ ) between the internal electrode  $b$  and the external electrode  $c$  as a function of time. The current in the central channel of the guard system was also obtained by recording the potential difference ( $v_{cd}$ ) between the external electrodes  $c$  and  $d$ . The two records were rounded to the same extent by amplifier delay so that the series resistance and the membrane capacity could be determined by fitting the record obtained from the internal electrode by the following equation

$$v_{bc} = \frac{r_s}{r_{cd}} v_{cd} + \frac{1}{r_{cd}c} \int_0^t v_{cd} dt,$$

where  $c$  is the capacity of the area of membrane exposed to current flow in the central channel.

This analysis was made with two axons and gave satisfactory agreement between observed and calculated values of  $v_{bc}$ , with values of  $r_s/r_{cd}$  and  $C_M$  which were similar to those obtained by the voltage clamp method (see Table 1).

The observed value of the series resistance ( $r_s = 61 \Omega$ ) cannot be explained solely by convergence of current between the electrodes used to measure membrane potential. Only about 30% was due to convergence of current between electrode  $c$  and the surface of the nerve, while convergence between the membrane and the internal electrode should not account for more than 25%, unless the specific resistance of axoplasm was much greater than that found by Cole & Hodgkin (1939). The axons used in the present work were surrounded by a dense layer of connective tissue, 5–20  $\mu$ , in thickness, which adheres tightly and cannot easily be removed by dissection. According to Bear, Schmitt & Young (1937) the inner layer of this sheath has special optical properties and may be lipoid in nature. It seems reasonable to suppose that one or other of these external sheaths may have sufficient resistance to account for 45% of the series resistance. There was, in fact, some evidence that the greater part of the series resistance was external to the main barrier to ionic movement. Substitution of choline sea water for normal sea water increased  $r_{cd}$  by 23%, but it reduced  $r_s/r_{cd}$  by only 3.5% (Table 1, axon 25). This suggests that about 80% of  $r_s$  varied directly with the specific resistance of the external medium. Since the composition of axoplasm probably does not change when choline is substituted for sodium (Keynes & Lewis, 1951) it seems likely that most of the series resistance is located outside the main barrier to ionic movement. Further experiments are needed to establish this point and also to determine whether the resistive layer has any measurable capacity.

#### *Accuracy of method*

*The effect of the series resistance.* The error introduced by the series resistance ( $r_s$ ) was discussed on p. 430. Its magnitude was assessed by comparing records obtained with uncompensated feed-back ( $p=0$ ) with those obtained with compensated feed-back ( $p=0.6$ ). The effect of compensation was most conspicuous with a depolarization of about 30 mV. Fig. 17 shows typical curves in this region.  $A$ ,  $B$  and  $C$  were obtained with uncompensated feed-back;  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  with compensated feed-back.  $A$  gives the potential difference between external and internal electrodes.  $B$  is the potential difference between the external electrodes used to measure current and is equal to the product of the membrane current and the resistance  $r_{cd}$ . The true membrane potential differs from  $A$  by the voltage drop across  $r_s$  which is equal to  $(r_s/r_{cd})B$ .  $C$  shows the membrane potential calculated on the assumption that  $r_s/r_{cd}$  had its average value of 0.68.  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  were obtained in exactly the same manner as  $A$ ,  $B$  and  $C$ , except that the potentiometer setting ( $p$ ) was increased from 0 to 0.6. It will be seen that this altered the form of the upper record in a manner which compensates for the effect of current flow. The error in  $C$  is about 20%, while  $\gamma$  deviates by only about 2.5%. Hence any error present in  $\beta$  is likely to be increased eightfold in  $B$ . Since the two records are not grossly different,  $\beta$  may be taken as a reasonably faithful record of membrane current under a voltage clamp.

Experiments of this type indicated that use of uncompensated feed-back introduced errors but that it did not alter the general form of the current record. Since the method of compensated feed-back was liable to damage axons it was not employed in experiments in which the preparation had to be kept in good condition for long periods of time.

*Polarization effects.* The outward current associated with a large and prolonged reduction of membrane potential was not maintained, but declined slowly as a result of a 'polarization effect'. The beginning of this decline can be seen in the lower records in Fig. 12. It occurred under conditions which had little physiological significance, for an axon does not normally remain with a membrane potential of  $-100$  mV. for more than 1 msec. Nor does the total current through the membrane approach that in Fig. 12.

In order to explain the effect it may be supposed either: (1) that 'mutual polarization' of the electrode (p. 428) is substantially greater inside the axon than in sea water; (2) that currents may cause appreciable changes in ionic concentration near the membrane; (3) that some structure in series with the membrane may undergo a slow polarization. We were unable to distinguish

between these suggestions, but it was clear that the 'polarization effect' had little to do with the active changes, since it was also present in moribund axons and was little affected by temperature.

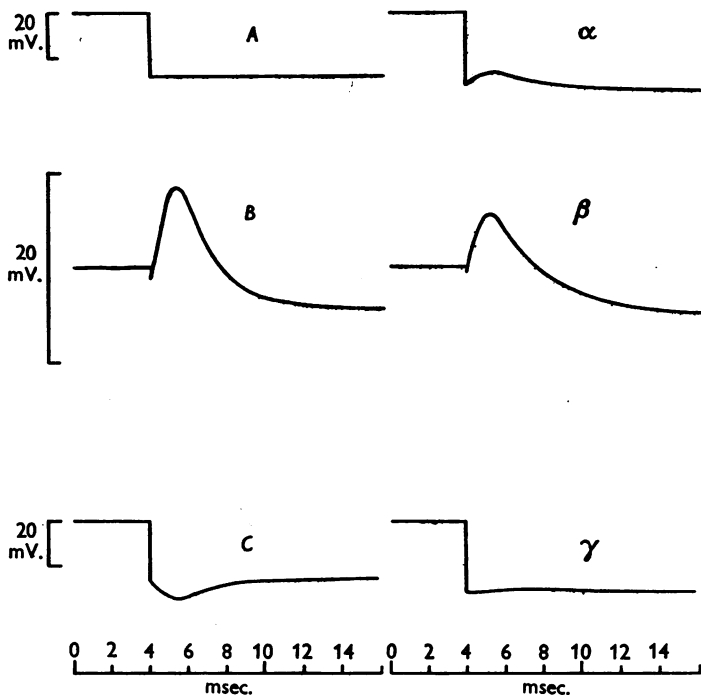


Fig. 17. Comparison of results obtained with uncompensated feed-back ( $A, B, C$ ) and compensated feed-back ( $\alpha, \beta, \gamma$ ).  $A, \alpha$ : potential difference between external and internal electrodes ( $v_e - v_i$ ).  $B, \beta$ : potential difference between current measuring electrodes ( $v_d - v_e$ ).  $C, \gamma$ : membrane potential calculated as  $C = A - 0.68B$ , or  $\gamma = \alpha - 0.68\beta$ . Records  $B$  and  $\beta$  may be converted into membrane current density by dividing by  $11.9 \Omega \cdot \text{cm}^2$ . Temperature  $4^\circ \text{C}$ . Axon 34.

#### SUMMARY

1. An experimental method for controlling membrane potential in the giant axon of *Loligo* is described. This depended on the use of an internal electrode consisting of two silver wires, a guard system for measuring membrane current and a 'feed-back' amplifier for clamping the membrane potential at any desired level.

2. Axons impaled with the double electrode gave 'all-or-nothing' action potentials of about 100 mV. when stimulated with a brief shock. The action potential had a well-defined threshold at a critical depolarization of about 15 mV. Depolarizations less than 10–15 mV. gave graded responses similar to those seen in other excitable tissues.

3. The feed-back amplifier was arranged to make the membrane potential undergo a sudden displacement to a new level at which it was held constant for

10–50 msec. Under these conditions the membrane current consisted of a brief surge of capacity current, associated with the sudden change in potential, and an ionic current during the period of maintained potential. The brief surge was proportional to the displacement of membrane potential and corresponded to the charging of a membrane with an average capacity of  $0.9 \mu\text{F./cm.}^2$ . The sign and time course of the ionic current varied markedly with the membrane potential. Anodal displacements gave small currents which were always inward in direction. Depolarizations of less than 15 mV. gave outward currents which were small initially but increased markedly with time. Depolarizations of 15–110 mV. gave an initial phase of inward current which changed fairly rapidly into a large and prolonged outward current. The phase of inward current disappeared at about 110 mV. and was replaced by one of outward current. There was a continuous relation between ionic current and membrane potential. At short times this relation was similar to that derived from the rising phase of the action potential.

4. The maximum inward and outward ionic currents were little altered by temperature, but the rate at which the ionic current changed with time was increased about threefold for a rise of  $10^\circ \text{C}$ .

5. There was evidence of a small resistance in series with the capacitative element of the membrane. Errors introduced by this resistance were reduced by the use of compensated feed-back.

We wish to thank the Rockefeller Foundation for financial aid and the Director and staff of the Marine Biological Association for assistance at all stages of the experimental work.

#### REFERENCES

- BEAR, R. S., SCHMITT, F. O. & YOUNG, J. Z. (1937). The sheath components of the giant nerve fibres of the squid. *Proc. Roy. Soc. B*, **123**, 496–529.
- COLE, K. S. (1949). Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane. *Arch. Sci. physiol.* **3**, 253–258.
- COLE, K. S. & CURTIS, H. J. (1939). Electric impedance of the squid giant axon during activity. *J. gen. Physiol.* **22**, 649–670.
- COLE, K. S. & HODGKIN, A. L. (1939). Membrane and protoplasm resistance in the squid giant axon. *J. gen. Physiol.* **22**, 671–687.
- CURTIS, H. J. & COLE, K. S. (1938). Transverse electric impedance of the squid giant axon. *J. gen. Physiol.* **21**, 757–765.
- HODGKIN, A. L. & HUXLEY, A. F. (1945). Resting and action potentials in single nerve fibres. *J. Physiol.* **104**, 176–195.
- HODGKIN, A. L. & HUXLEY, A. F. (1952*a*). Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**, 449–472.
- HODGKIN, A. L. & HUXLEY, A. F. (1952*b*). The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**, 473–496.
- HODGKIN, A. L. & HUXLEY, A. F. (1952*c*). The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**, 497–506.
- HODGKIN, A. L. & HUXLEY, A. F. (1952*d*). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* (in the press).
- HODGKIN, A. L., HUXLEY, A. F. & KATZ, B. (1949). Ionic currents underlying activity in the giant axon of the squid. *Arch. Sci. physiol.* **3**, 129–150.
- HODGKIN, A. L. & KATZ, B. (1949*a*). The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* **108**, 37–77.

- HODGKIN, A. L. & KATZ, B. (1949*b*). The effect of temperature on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* **109**, 240-249.
- HUXLEY, A. F. & STÄMPFLI, R. (1951). Effect of potassium and sodium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres. *J. Physiol.* **112**, 496-508.
- KEYNES, R. D. & LEWIS, P. R. (1951). The sodium and potassium content of cephalod nerve fibres. *J. Physiol.* **114**, 151-182.
- MARMONT, G. (1949). Studies on the axon membrane. *J. cell. comp. Physiol.* **34**, 351-382.
- ROTHENBERG, M. A. (1950). Studies on permeability in relation to nerve function. II. Ionic movements across axonal membranes. *Biochim. biophys. acta*, **4**, 96-114.

## **Study of Synaptic Transmission (Remote trigger)**

### **Objective**

The goal of this lab exercise is to study the synapse and understand its importance in transmission of a signal from one nerve cell to its neighboring cell. By varying the stimuli and membrane resistance, an action potential can be elicited. In the same way we are trying to explain synapse and synaptic conditions.

Here we are studying how an electrical synapse transmits signal from pre to post synaptic cell, by modeling an analog synapse, by modifying the synaptic weight and release probability modeled as synaptic gain (change in bias potential). This analog synapse is connected to a pre and post analog neuron, which we modeled in RC-experiment.

### **Theory**

Nerve cells have a special ability to communicate with another cell, rapidly, over a great distance with tremendous precision. We have studied how a signal is propagated in a single neuron and for a different input signal how an analog neuron will respond (see exp - 1). In this exercise we will be studying how a neuron transmits a signal from one cell to the next through synapse. The process of transmission for a signal from one neuron to the next is called synaptic transmission. This property of nerve cells is the basic fundamental for many properties in the brain, such as perception, voluntary movement, and learning.

A neuron forms an average of 1000 synaptic connections and receives even a higher number of connections. The Purkinje cell of the cerebellum receives up to 100,000 inputs. These large numbers of synapse and its transmission belongs to either chemical or electrical. Cellular activity can enhance or diminish in both forms of synaptic transmission; this property of brain is called plasticity. Plasticity is property of a synapse to adjust its weight according to the input signal in the presynaptic terminal. This plasticity in nerve cells is very crucial to memory and other higher functions in the brain.

In the nervous system, a synapse is a junction that permits a neuron to pass an electrical or chemical signal from one cell to another (see fig.1). Neurons are cells that are specialized to transmit signals from source cell to target cell and synapses are the key role component to connect these electrically excitable cells. Synapses are classified in two categories- electrical and chemical, which depend upon the mechanism involved in the transmission of signal from presynaptic terminal to post synaptic terminal. Synaptic transmissions through electrical synapse are very rapid. Those synapses' primary role is to send depolarizing signals, they do not have any role in any changes in the basic property of a synapse and in the electrical properties of postsynaptic cells. Signal transmission through chemical synapse is very complex and this type of synapse is responsible for plasticity in neurons and they have an important role in changes in electrical properties of postsynaptic cells.

A synapse mainly consists of three components,

^ Presynaptic terminal, which is the end of an axon (of the first neuron), contains tiny vesicles consisting

of neurotransmitters - the small molecules which carry the nerve impulse from the sending neuron to the receiving neuron.

^Synaptic cleft, a gap between the two neurons across which the neurotransmitters migrate.

^Postsynaptic terminal, usually in the dendrites of receiving neurons (the second neuron). This contains receiving sites for the neurotransmitters.

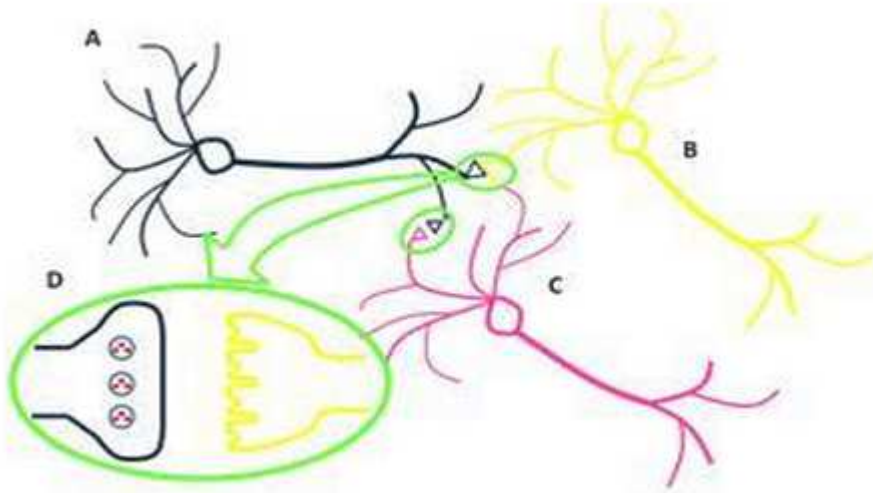
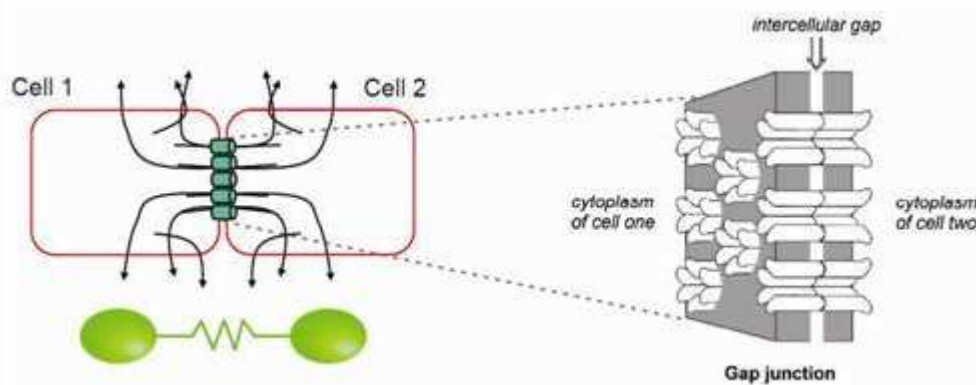


Figure 1. Schematic representation of a presynaptic neuron(A) , synapse(D) and post synaptic neuron(B,C).

## Electrical synapse

In electrical synapse pre- and postsynaptic cells communicate through special channels called gap-junction channels (see fig 2), through ions are passed to post synaptic cell at the time of synaptic transmission.

Gap-channels/Gap-junction connects pre and postsynaptic cells by providing low-resistance (high conductance) pathway for electrical current to flow between the two cells. The current injected in the presynaptic cell flows through these gap-junctions into post synaptic cell. This current deposits a positive charge on the inside of the membrane of the postsynaptic cell and depolarizes it. These current transmitted after the effect flows to extracellular medium through resting ion channels. If the depolarization exceeds threshold, voltage-gated ion channels in the postsynaptic cell will open and generate an action potential.





*Adapted from White & Paul, Annual Review Physiol 1999.*

Figure 2. Schematic representation of an electrical synapse

An action potential reaches to presynaptic terminal result for a depolarization in postsynaptic terminal that is often large enough to discharge an action potential. The conduction of current from pre to post synaptic terminal as ions, are in the speed of nano second (since there is no chemical reaction involved in this process), this remarkably short the latency—the time between the presynaptic spike and the postsynaptic potential. This unique property of electrical synapse makes the transmit signal faster.

## **Modeling biological synapse as analog synapse**

We have modeled a synapse using basic electronic components; such as Resistors, Transistors, and Capacitors for imitating the electrical property of biological neuron.

^Resistance represents the difficulty a particle experiences while moving in a medium. It is measured in ohms. The inverse of resistance is conductance, the ease at which a particle can move through a medium and it is measured in Siemens. Since they are inversely related, high conductance is correlated to low resistance, and vice versa. It is important to note that, generally speaking, resistance and conduction in the neuron are dealing with the ability of ions to cross the membrane. Thus it often referred to as membrane resistance or membrane conductance. As such, when the majority of ion channels are closed, few ions cross the membrane, and membrane resistance is said to be high.

^The capacitor is a passive electronic components consisting of pair of conductors separated by an insulator. The cell membrane has capacitance property. A capacitor consists of two conducting regions separated by an insulator. A capacitor works by accumulating a charge on one of the conducting surfaces. As this charge builds, it creates an electric field that pushes like charges on the other side of the insulator away. This causes an induced current known as a capacitive current. It is important to realize that there is no current between the conducting surfaces of the capacitor. Capacitance may be defined two ways: 1) an ability to store and separate charge, or 2) as the quantity of charge required to create a given potential difference between two conductors. Thus given a set number of charges on each side of the membrane, a higher capacitance results in a lower potential difference. In a cellular sense, increased capacitance requires a greater ion concentration difference across the membrane.

^Transistor is an active semiconductor device commonly used to amplify (strengthen) or switch electronic signal. Here we are using 3 transistors, two NPN and one PNP transistor. Transistor has mainly three terminals. Emitter (E), Base (B) and Collector(C). Transistor T1 and T3 are NPN transistor and T2 is a PNP transistor. For an NPN transistor collector voltage is more positive than emitter. So current flows from collector to emitter. For a PNP transistor emitter voltage is more positive than collector. So current flows from emitter to collector.

Here we modeled an electronic circuit which mimics an electrical synapse. For studying information transmission, we connect two neurons using synapse circuit. Then we give square waveform as input stimuli to the first neuron.

Before going through the synapse circuits, let us rewind the analog neuron circuit (Figure 3). Here we give an input excitation to the cell membrane as square wave form of amplitude 2Volt peak to peak (Vpp), since we want to obtain the output as pulse wave form. A square wave resembles to an impulse wave form in shape when pulse width is low. Here R1 represent a variable resistor which represent the membrane resistance and is inversely proportional to membrane conductance. By varying this R1 membrane, conductance can be changed considerably i.e., when membrane resistance (R1) decreases the membrane conductance increases, making flow of signals easier.

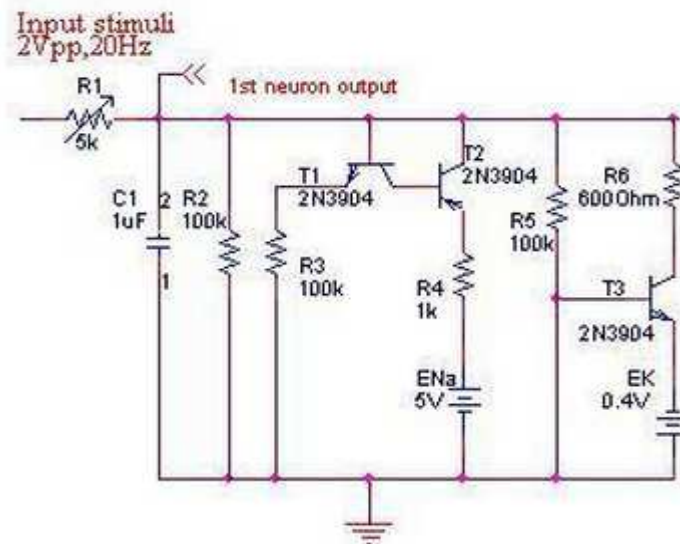


Figure 3.

$C_m$  is the membrane capacitance. In all electrically excitable cells' membrane causes a charge separation across the membrane. The separation of charge by an insulator causes a capacitive effect on the cell. This property is modeled as membrane capacitance. If there is only the resistor when the input voltage is applied, then voltage will be changed to steady state value, hence we are using a capacitor  $C_m$  along with it to resist this change.

When the applied input signal makes the membrane potential to cross a threshold value, then only neurons fired. The membrane potential is measured with respect to ground. When the input excitation is given the membrane capacitance  $C_m$  begins to charge, when the voltage across the capacitor reaches more than cut in voltage of transistor T1, the transistor turns on and the current flows from collector to emitter. Then the base voltage of transistor T2 becomes less and T2 also turns on and current flows from emitter to collector.

When the voltage across the capacitor C1 reaches more than cut in voltage of transistor T3, the transistor turns on and the potassium current flows from collector. By this time membrane capacitor  $C_m$  becomes fully charged and begins to discharge i.e., when the capacitor voltage drops transistor T1 turn off, consequently with T2. Then sodium current stops its flow (i.e., sodium channel closes). As a result capacitor C1 begins to discharge and transistor T3 turn off. Thus the repolarising phase of an action potential.

Now we can connect two neurons using a synapse circuit and find out how information is transmitted across neurons. Here we modeled a circuit to study the different aspects of synapse. By this synaptic model we can study how neurons communicate each other.



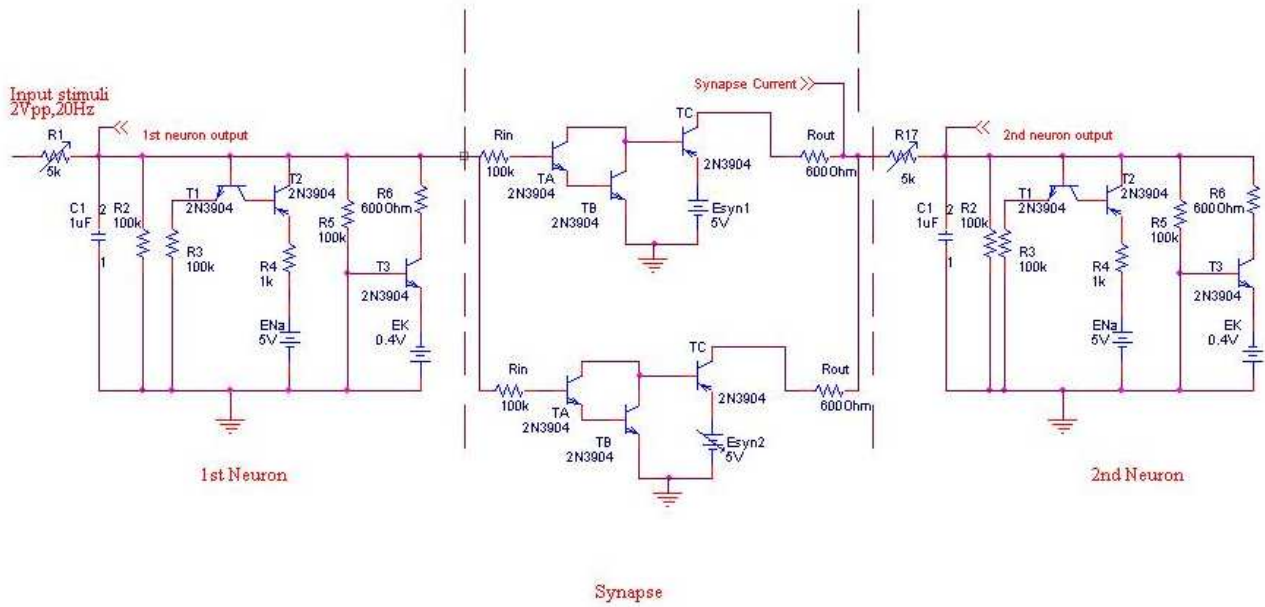


Figure 5

In this RT experiments, one can generate both EPSP and action potential by varying  $E_{syn2}$ .

# Relatório final de Instrumentação de Ensino F-809

22/11/2002

*Wellington Akira Iwamoto*  
*Orientador: Richard Landers*  
*Instituto de Física Gleb Wataghin, Unicamp*

## Estudo da Transmissão de Sinal em um Cabo co-axial

### OBJETIVO

Atualmente as frequências usadas na transmissão de sinais estão cada vez mais altas, levando a perdas importantes nos sinais. Isto faz com que o conhecimento da física básica envolvida seja muito importante, especialmente, para físicos experimentais.

Para entendermos a idéia de como sinais de alta frequência interferem em circuitos elétricos devemos considerar o fato que os sinais elétricos se propagam de um ponto a outro de um circuito à velocidade da luz. Um sinal elétrico a uma frequência(angular)  $\omega$  tem associado a ele um comprimento de onda  $\lambda = 2\pi c/\omega$ , onde  $c$  é a velocidade da luz no meio. Se as dimensões físicas do circuito são maiores ou comparáveis a  $\lambda$ , então o potencial instantâneo em dois pontos de um mesmo condutor podem ser diferentes. Por exemplo, para sinais de 60 Hz o comprimento de onda é de aproximadamente 5000 Km, logo todos os pontos da fiação da rede de energia elétrica de uma cidade estão instantaneamente no mesmo potencial. Mas para uma frequência de 300 MHz, temos um comprimento de onda

1m, e neste caso temos uma diferença de potencial entre dois pontos apreciável se a diferença entre eles for de apenas alguns centímetros.[3]

Esses são casos de computadores que operam na faixa de MHz e em laboratórios que trabalham em alta frequência. Tendo em vista que as redes podem ser ligadas com cabos co-axiais com mais de 100 m, torna-se importante os efeitos de propagação.

## Teoria

Um cabo co-axial é uma linha de transmissão que consiste de um centro condutor, um espaçamento dielétrico e um condutor concêntrico, como na figura 1.

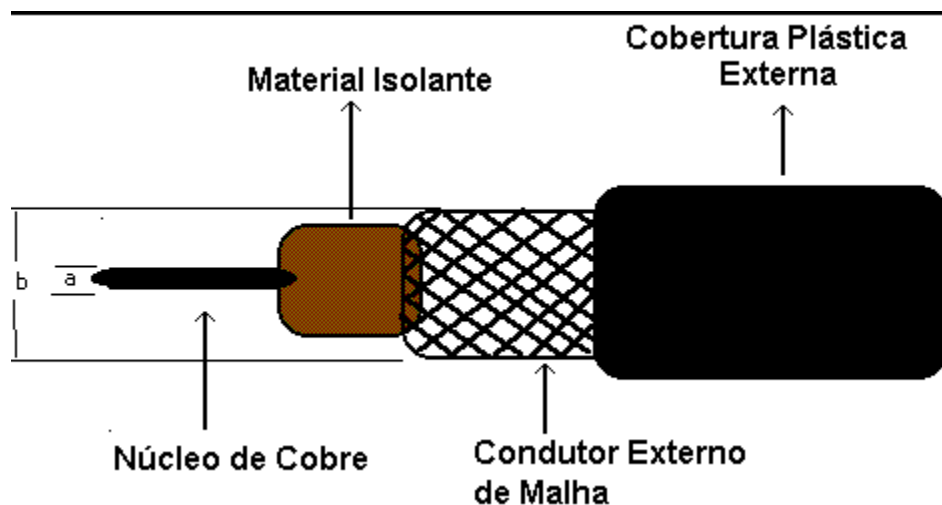


Figura1. Esquema de um Cabo Coaxial.

A capacitância e a indutância em unidades de comprimento[2] são dadas por

$$C = \frac{2\pi\epsilon}{\ln(b/a)} \quad (1)$$

$$L = \frac{\mu}{2\pi} \ln\left(\frac{b}{a}\right) \quad (2)$$

$$G = \frac{\sigma}{\varepsilon} C = \frac{2\pi\sigma}{\ln(b/a)} \quad (3)$$

Para as resistências e indutâncias, todas as seções do cabo estão em série e para a capacitância e condutância, todas as seções estão em paralelo. Como  $C$ ,  $L$ ,  $G$  estão em unidades de comprimento, multiplicando-os pela seção do comprimento do fio  $\Delta z$ , temos o seu valor total. Diante disso podemos supor um circuito equivalente para a linha, figura 2.

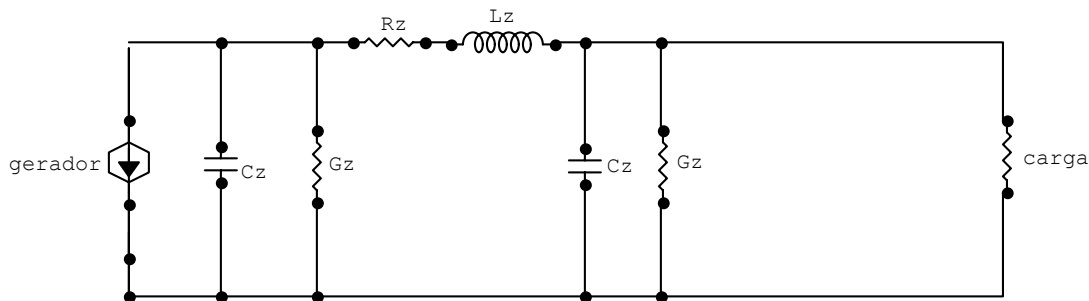


Figura 2. circuito equivalente de um cabo co-axial.

Aplicando lei das malhas, fazendo as devidas substituições e tomando o limite  $\Delta z \rightarrow 0$ , obtemos

$$\frac{\partial^2 V}{\partial z^2} = RGV + (RC + LG) \frac{\partial V}{\partial T} + LC \frac{\partial^2 V}{\partial t^2} \quad (4)$$

Uma solução para a equação 1, no caso da onda variar harmonicamente com o tempo, é dado por

$$V(z,t) = V(z) e^{i\omega t} \quad (5)$$

Com um pouco de álgebra obtemos

$$V(z,t) = V_1 e^{\alpha z} e^{j(\omega t + \beta z)} + V_2 e^{-\alpha z} e^{j(\omega t - \beta z)}$$

$$V(z,t) = V_i(z,t) + V_r(z,t) \quad (6)$$

O termo envolvendo  $\alpha z + \beta z$  representa a onda refletida  $V_r(z,t)$  que se propaga na direção negativa de  $z$  ao longo do cabo. O fator  $e^{-\alpha z}$  indica que esta onda diminui em módulo enquanto a onda se propaga na direção negativa de  $z$ . Já termo envolvendo  $\alpha z - \beta z$  representa a onda incidente que se propaga na direção positiva de  $z$ , sendo o fator  $e^{\alpha z}$  indica que esta onda diminui em módulo na medida que caminha em direção positiva de  $z$ . O valor total da onda é a superposição dessas ondas.

Numa maneira semelhante pode se mostrar que

$$i(z,t) = -\frac{V_1}{(Z/Y)^{1/2}} e^{\alpha z} e^{j(\omega t + \beta z)} + \frac{V_2}{(Z/Y)^{1/2}} e^{-\alpha z} e^{j(\omega t - \beta z)}$$

$$i(z,t) = i_i(z,t) + i_r(z,t) \quad (7)$$

Aqui  $Z=R+j\omega L$  é a impedância série,  $Y=G+j\omega C$  é a admitância e

$$\gamma = \sqrt{ZY} = \sqrt{(R + j\omega L)(G + j\omega C)} \quad (\text{m}^{-1}) \quad (8)$$

$$\gamma = \sqrt{(RG - \omega^2 LC) + j\omega(LG + RC)} \quad (9)$$

é a constante de propagação complexa, onde a parte real  $\alpha$  é a constante de atenuação e a parte imaginária  $\beta$  é constante de fase.[1]

Para  $R$  e  $G$  muito pequeno ou frequência muito alta tal que  $\omega L \gg R$  e  $\omega C \gg G$ , temos

$$\alpha \cong \text{Re}(\gamma) = \frac{R}{Z_0} + GZ_0 \quad \text{na maioria dos casos } G \text{ pode ser desprezada, logo, temos}$$



$$\alpha = R/Z_0 \quad \text{e} \quad \beta = \text{Im}(\gamma) = \omega\sqrt{LC} \quad (10)$$

Aqui, R aumenta aproximadamente em forma proporcional a raiz quadrada da frequência devido ao efeito pelicular[4].

e a velocidade é dada por

$$v = \frac{\omega}{\beta} = \frac{1}{(LC)^{1/2}} = \frac{1}{(\mu\epsilon)^{1/2}} \quad (11)$$

Lembrando-se que estamos tratando de cabos que são utilizados para transportar corrente a alta frequência, devemos considerar os parâmetros distribuídos (principalmente a indutância e a capacitância), logo, associamos a esses parâmetros uma impedância característica dada por

$$Z_c = \frac{V_i}{I_i} = \sqrt{\frac{Z}{Y}} = \sqrt{\frac{R + j\omega L}{G + j\omega C}} \quad (12)$$

para R e G muito pequeno de modo que podemos desprezá-los

$$Z_c = \sqrt{\frac{L}{C}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\mu}{\epsilon}} \ln\left(\frac{b}{a}\right) \quad (13)$$

## Experimento

Na primeira parte do experimento, a fim de medirmos a velocidade de propagação de um pulso, montamos um circuito como a figura 3.

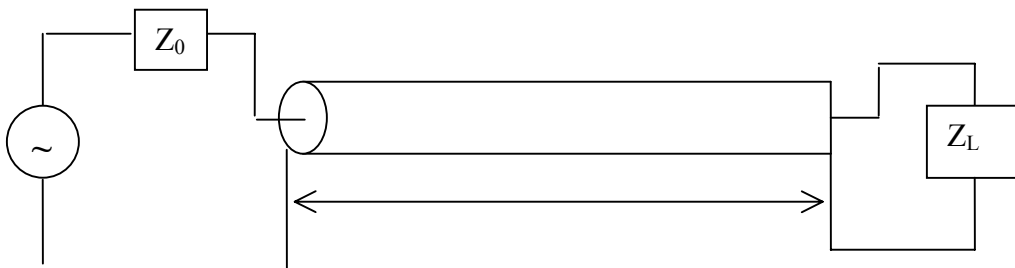


Figura 3. fonte geradora de onda com impedância  $Z_0$  conectada ao cabo de comprimento  $l$  de impedância  $Z_c$  com o terminal ligada a impedância de carga  $Z_L$

Neste caso podemos considerar a impedância  $Z_0$  do gerador, a impedância  $Z_c$  do cabo e uma impedância  $Z_L$  que será infinita (circuito aberto) ou nula (curto-circuito). O cabo co-axial utilizado foi RG 58U. Este cabo tem as seguintes características:  $a=0,9\text{mm}$ ,  $b=2,9\text{mm}$ ; o isolante de polietileno de constante dielétrica  $\epsilon/\epsilon_0 = 2,1$ , que os substituindo nas equação 1 e 2 obteremos aproximadamente  $L=250\text{nH/m}$  e  $C=100\text{pF/m}$ , respectivamente[3].

Com essa montagem notamos que quando deixamos o circuito aberto, ou seja  $Z_L=\text{infinito}$ , a voltagem do pulso refletido não inverte o sinal ( no caso  $V$  incidente é positivo e  $V$  refletido também é). E, quando colocamos em curto circuito, isto é,  $Z_L=0$ , a voltagem do pulso refletido inverte o sinal(  $V$  incidente é positivo e  $V$  refletido é negativo).

Isto está de acordo com a teoria, pois a voltagem está relacionado com o coeficiente de reflexão da seguinte maneira

$$\rho_L = \frac{Z_L - Z_c}{Z_L + Z_c} = \frac{V_r}{V_i} \quad (14)$$

ou seja, se  $Z_L=\text{infinito}$   $V_r/V_i = 1$ , então  $V_r = V_i$ , mas para  $Z_L = 0$ , temos  $V_r/V_i = -1$ , resultando  $V_r = -V_i$ .

Observando o pulso incidente e o pulso refletido com  $Z_L = \text{infinito}$  (circuito aberto) medimos o tempo( $t$ ) entre o pulso refletido e o pulso incidente para outros comprimentos,

lembrando que a distância percorrida pelo pulso é  $2d$ . Assim, a velocidade é  $v = d/\tau$ , onde  $d$  é o comprimento do cabo e  $\tau = t/2$  (dividimos o tempo por 2 ao invés de dobrarmos a distância). Foi medido também a amplitude do pulso incidente e do pulso refletido representado na tabela, figura 4, abaixo.

Tabela 1.  $d$ , comprimento do cabo;  $\tau$ , tempo entre o pulso incidente e o refletido;  $V_i$  e  $V_r$ , amplitude do pulso incidente e refletido, respectivamente.

$d(m)$	$\Delta d(m)$	$\tau (\mu s)$	$\Delta \tau(\mu s)$	$v(10^8 m/s)$	$\Delta v(10^8 m/s)$	$V_i(V)$	$\Delta V_{r,i}(V)$	$V_r(V)$
8,0	0,1	0,040	0,008	2,0	0,2	1,2	0,1	1,1
20,6	0,1	0,100	0,008	2,1	0,2	1,2	0,1	0,9
25,2	0,1	0,120	0,008	2,1	0,3	1,2	0,1	0,9
36,2	0,1	0,168	0,008	2,2	0,3	1,2	0,1	0,8

Figura 1. tabela de dados experimentais.

Segundo a tabela, notamos que as velocidades estão com valores muito próximos um do outro. Isso já era esperado uma vez que para pequenos comprimentos ou frequências baixas o valor teórico é de  $2,07 \times 10^8$  m/s. Esse valor é calculado usando-se a equação 11 onde  $\mu$  é aproximadamente  $\mu_0$  e  $\epsilon = 2,1\epsilon_0$ . Note que conforme comprimento aumenta ( $36,2 \pm 0,1$  m) a velocidade fica mais longe do valor esperado.

Uma outra grandeza que é comprometida com o aumento da frequência ou aumento da distância são as amplitudes dos pulsos incidentes e refletidos, no caso em questão, para ( $36,2 \pm 0,5$ ) m, temos uma perda de aproximadamente ( $0,5 \pm 0,2$ ) V.

Tendo em vista essa dependência da frequência e da distância, calculamos a partir dos valores da figura 4 a atenuação  $\alpha$ , que estão representadas na figura 5. Para o cálculo da atenuação usamos a equação 10. Nesta equação  $R = \rho/l/S$ , onde  $\rho = 1,8 \times 10^{-8} \Omega.m$  é a

resistividade do metal,  $l$  é o comprimento do cabo e  $S$  é a área da seção que efetivamente passa corrente. Para altas frequências  $S=2\pi(a/2)\delta$ , onde  $a=0,45\text{mm}$  é o raio da seção e  $\delta=(2\rho/\mu\omega)^{1/2}$  é a distância dentro do condutor para a qual a densidade de corrente vale  $1/e$  do valor da superfície.

Tabela 2.

d(m)	$\Delta d$ (m)	Frequência(MHz)	$\Delta f$ (MHz)	Atenuação $\alpha(10^{-1})$	$\Delta\alpha(10^{-1})$
8,02	0,1	12,5	0,2	0,5	0,2
20,61	0,1	5,0	0,2	0,8	0,2
25,17	0,1	4,2	0,3	0,9	0,1
36,20	0,1	3,0	0,3	1,2	0,2

Figura 5. Tabela de dados experimentais com a atenuação calculada.

Segundo a figura 5 percebemos que quanto maior a distância maior é atenuação. Isso, como foi visto antes, pronuncia-se na amplitude do pulso.

## Conclusão.

Neste experimento, mostramos de uma forma simples a propagação de um sinal elétrico no cabo coaxial. Obtemos a velocidade para distâncias diferentes, e concluímos, experimentalmente, que a velocidade é perturbada, se distanciando cada vez mais da velocidade teórica.

Embora haja algumas passagens complicadas na dedução de certas fórmulas quando estas são estudadas com maior profundidade, este experimento ainda pode ser aplicado a laboratórios de física básica, e até mesmo ao ensino médio, se for tratado com menos detalhes.

## REFERÊNCIAS

[1] – Daryl W. Preston and Eric R. Dietz, *The Art of Experimental Physics*, Wiley, New York, 1991.

[2] – Reitz, Milford e Christy, *Fundamentos da Teoria Eletromagnética*, Campus, Rio de Janeiro, 1982.

[3] - Apostila sobre circuitos de corrente alternada, Hugo J. Fragnito, Unicamp, setembro de 2002.