

Aspectos Biofísicos da Ação Sináptica. Parte II

J. Procópio-Araújo¹

Procópio-Araújo J – Biophysical aspects of synaptic action. part II.

The main differences between the end-plate potential and the central excitatory synaptic potentials are discussed, among them, the smaller amplitude of the central potentials and their property of integration. Typical magnitudes of central synaptic potentials are calculated based upon experimental information on the single-channel conductances.

The temporal and spatial summation of the central synaptic potentials are discussed, with emphasis upon the associated synaptic currents. In order to explain temporal summation the nerve cell is compared to a charge reservoir. The electric cell charge reservoir is then compared with a hydraulic reservoir with a leak and the decay equation is derived and analyzed.

The concept of Reversal potential is defined and discussed and the effect of the synaptic action upon the overall membrane potential is discussed based upon the idea of reversal potential, The concepts of Ohmic and Difusional Polarizations are proposed as didactic tools for understanding the genesis of different types of membrane potentials.

Finally, the interaction between excitatory and inhibitory synaptic potentials in central synapses is discussed and its implications on the processing and integration of nervous information is suggested.

Key Words BIOPHYSICS; MEMBRANES: ionic channel; NEUROMUSCULAR JUNCTION; SYNAPSES: action potential

As sinapses representadas pela junção neuromuscular são atípicas por várias razões. Em primeiro lugar, a maior parte das células musculares recebe apenas uma terminação sináptica. Em segundo, todas as conexões sinápticas neuromusculares são do tipo excitatório, isto é, produzem intensa despolarização da placa terminal. Finalmente, os potenciais sinápticos gerados na placa terminal não são graduados e não são somados, em condições fisiológicas. A cada PA que chegue à terminação nervosa corresponde um PA na membrana da célula muscular. A sinapse da placa motora é, sob este aspecto, muito estereotipada, não sendo capaz de processar ou integrar a informação. Seu funcionamento segue o padrão tudo-ou-nada.

Potenciais sinápticos centrais

O papel dos potenciais sinápticos centrais torna-se aparente quando se analisa um arco reflexo simples, como o patelar, esquematizado na Figura 6. Quando o tendão da patela é percutido, receptores de estiramento localizados na massa muscular do quadríceps geram potenciais de ação que impingem fundamentalmente sobre dois tipos de neurônios medulares: uma parte destes PA atua sobre neurônios motores do corno anterior que inervam o músculo quadríceps femoral. Uma outra parte dos PA atinge interneurônios inibitórios que, ativados, liberam mediador químico inibitório que vai atuar sobre neurônios motores que inervam o músculo antagonista, o bíceps femoral. Desta forma, ao ser percutido o tendão da patela a extensão resultante da perna é facilitada pelo relaxamento do bíceps. Neste arco reflexo simples encontramos a ação de potenciais sinápticos excitatórios e inibitórios.

As sinapses do SNC, embora funcionem segundo os mesmos princípios gerais, diferem em muitos aspectos daquelas da junção neuromuscular. Primeiramente, um neurônio central típico recebe não

¹ Professor Assistente-Doutor do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

correspondência para Joaquim Procópio-Araújo
Caixa Postal 4365
01051 - São Paulo, SP

Recebido em 5 de fevereiro de 1988
Aceito para publicação em 31 de julho de 1988
© 1989, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

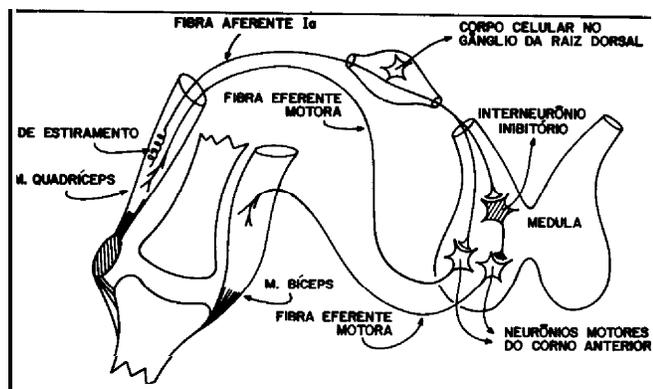


Fig. 1 Arco reflexo simples ilustrando a interação entre neurônios excitatórios e inibitórios. O processo inicia-se com a percussão do tendão da patela, estiramento de receptores e geração de potenciais de ação que se propagam pelas fibras aferentes la que são dendritos de neurônios localizados no gânglio da raiz dorsal. Aí os impulsos são parcialmente processados e redirecionados a neurônios do corno anterior da medula. Os ramos axonais do neurônio ganglionar são sempre excitatórios, mas incidem sobre dois tipos de neurônios do corno anterior: os motores que são estimulados e enviam impulsos eferentes para o quadríceps; e os inibitórios que produzem inibição da atividade elétrica dos neurônios motores que inervam o bíceps, antagonista.

apenas uma, mas centenas ou mesmo milhares de terminações sinápticas em seu corpo. Além disso, muitas destas terminações produzem potenciais inibitórios. Finalmente, a magnitude dos potenciais sinápticos centrais é muito menor do que na JNM. Como conseqüência, os potenciais sinápticos centrais jamais são suficientemente intensos para produzir, individualmente, potenciais de ação na membrana pós-sináptica. Para isso eles devem ser somados em grandes números, produzindo uma ação coletiva, e dotando as sinapses centrais de poder decisório.

Potenciais centrais excitatórios

Esses potenciais são pequenas despolarizações da membrana neuronal, de poucos mV, e gerados pela abertura de canais iônicos ativados por um mediador químico excitatório. Em muitos neurônios o mediador é a ACh, mas numa grande parte de neurônios centrais o mediador ainda não foi identificado.

O canal sináptico excitatório dos neurônios centrais tem vários aspectos em comum com o canal ativado por ACh da JNM. Como este último, os canais excitatórios centrais são igualmente permeáveis ao Na e ao K, e, portanto, não geram por si uma FEM. As correntes sinápticas unitárias produzidas durante a abertura destes canais não diferem de modo importante daquelas produzidas pelos canais sinápticos da placa terminal. São correntes da ordem de poucos picoampères, indicando que a condutância unitária destes canais é da mesma ordem da dos canais da placa terminal.

O modo pelo qual a ativação destes canais modifica o potencial elétrico dos neurônios centrais depende das características peculiares destes neurônios. Em um experimento hipotético, analisemos a influência da abertura de um único canal sináptico excitatório central, no potencial intracelular do neurônio. Vamos considerar que numa célula nervosa central, de polaridade igual a -60 mV, a abertura de cada canal excitatório produza uma corrente de intensidade igual a dois picoampères e duração média de 10 ms. A carga elétrica veiculada no interior da célula durante o período de ativação do canal é igual a:

$$Q = i \times \text{tempo} = (2 \times 10^{-12}) \times (10 \times 10^{-3}) = 2 \times 10^{-14} \text{C}$$

O efeito da entrada repentina desta carga no potencial elétrico intracelular vai depender do volume elétrico (ou capacitância) da célula. Supondo uma capacitância específica da membrana igual a 3 uF.cm^2 e uma área típica de membrana de $5 \times 10^4 \text{ cm}^2$, obtemos uma capacitância total de $C_m = 1,5 \times 10^9 \text{ F}$. A variação do potencial intracelular produzida durante a abertura do canal sináptico será, portanto:

$$dV = \frac{2 \times 10^{-14} \text{C}}{1,5 \times 10^9 \text{F}} = 13 \text{ uV}$$

Da mesma forma que na sinapse da JNM, damos a esta microdespolarização o nome de Potencial Sináptico Unitário (PSU).

Quando a terminação pré-sináptica de um neurônio central é estimulada por PAS ela libera na fenda sináptica milhares de moléculas de ACh, suficientes para ativar alguns milhares de canais da MPS. Neste caso, a corrente sináptica excitatória é igual ao produto da corrente sináptica unitária (CSU) pelo número de canais sinápticos abertos e, portanto, sua intensidade é milhares de vezes maior do que a CSU. A despolarização causada por esta nova corrente será proporcionalmente maior.

Imaginemos que cerca de 1.000 canais sinápticos são ativados, simultaneamente, na MPS de uma célula com as mesmas características elétricas daquela onde calculamos o valor do PSU. Agora, a corrente sináptica será 1.000 vezes maior do que a CSU, ou $CS(1000) = 1000 \times (2 \times 10^{-12}) = 2 \times 10^{-9} \text{ A}$. A despolarização resultante desta corrente pode ser igualmente calculada, sendo aproximadamente 1.000 vezes maior do que o PSU.

Da mesma forma que na JNM, os PEPS centrais podem ser divididos em fases arbitrárias, onde a interação entre correntes e elementos passivos da membrana nervosa se manifestam de diferentes formas. Na fase 1, ou de despolarização rápida, admitimos que praticamente toda a corrente sináptica é

armazenada no volume elétrico da célula. Na fase 2, ou pico, toda a corrente sináptica que entra na célula via canais sinápticos sai a certa distância, através das vias não sinápticas da membrana. Não há corrente capacitiva. Nesta fase a amplitude da despolarização é calculada multiplicando-se a corrente sináptica pela resistência R_m da membrana.

$$\text{PEPS}_{\text{pico}} = R_m \times \text{CEPS} = (8 \times 10^6) \times (2 \times 10^{-9}) = 1,6 \text{ mV}$$

Valores maiores, de até 15 mV, podem ser experimentalmente observados nos PEPS centrais, indicando que até 10.000 canais unitários podem ser recrutados durante estes eventos.

Atenuação espacial dos PEPS

Quando uma sinapse central é ativada, a corrente excitatória gerada pela abertura dos canais sinápticos despolariza a membrana nas adjacências do terminal sináptico. Depende de que a intensidade desta despolarização? Dois fatores que determinam esta amplitude já foram analisados: a intensidade da corrente sináptica e a resistência da membrana na zona de saída desta corrente. Um terceiro fator estava implícito: a distância entre a terminação sináptica e a região de saída da corrente. A corrente sináptica gerada pela ativação dos canais sinápticos em resposta a um PA depende do número de canais ativados pelo mediador químico. Esta corrente é a CEPS propriamente dita e entra na célula via canais sinápticos. No entanto, a corrente que produz o PEPS, em locais distantes do botão sináptico, é apenas uma fração da corrente sináptica total que sai da célula.

Como a corrente sináptica se espalha por uma região relativamente grande da membrana neuronal, o efeito despolarizante vai depender da densidade da corrente que sai em cada região da membrana, as regiões mais distantes do terminal recebendo frações progressivamente menores da CEPS total. No esquema da Figura 2 a membrana neuronal é dividida em regiões arbitrarias 1, 2, 3 e 4, na ordem de distância para o terminal sináptico. Vemos que a corrente que chega à região 2 é menor que aquela que saiu pela região 1, pois uma parte da corrente que chegou em 1 perdeu-se para o EC. Da mesma forma, a região 3 recebe uma fração de corrente menor que a região 2, e assim sucessivamente. Este efeito é denominado Atenuação Espacial da corrente sináptica e se traduz por uma diminuição da amplitude dos PEPS com a distância à origem.

Os PEPS das sinapses centrais são integrados ou somados em regiões especializadas do neurônio, as

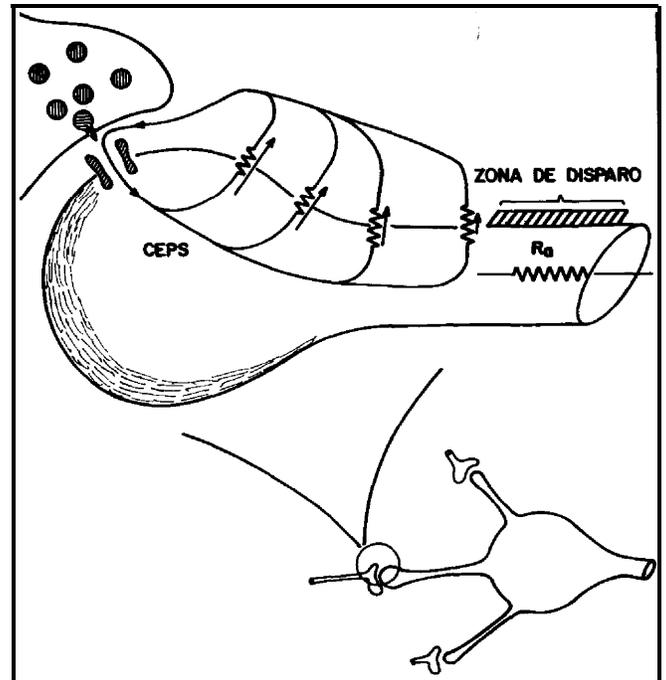


Fig. 2 *Atenuação espacial do potencial sináptico.* A corrente sináptica gerada nas imediações dos canais sinápticos do corpo do neurônio espalha-se por um espaço relativamente grande. A maior fração da corrente sai da célula nas regiões mais próximas da origem. Em cada bifurcação da malha imaginária a corrente divide-se em duas partes, uma saindo da célula e outra caminhando pelo axoplasma. Em cada bifurcação a corrente diminui de intensidade. Finalmente, a corrente que chega à zona de disparo, onde as várias influências elétricas são integradas, é uma pequena fração da corrente sináptica total. Esta fração é maior ou menor, dependendo da constante de espaço do neurônio, que por sua vez é função das características e elétricas da membrana e da geometria do dendrito.

Zonas de Disparo (*trigger zones*). A contribuição que cada PEPS dá para a despolarização da zona de disparo depende fundamentalmente da amplitude da corrente excitatória na sua origem e da atenuação sofrida por esta corrente até chegar à zona de disparo. O parâmetro que define o grau desta atenuação é a Constante de Espaço da membrana nervosa. Quanto maior a resistência R_m da membrana, menor a fração de corrente que se “perde” antes de atingir a zona de disparo. Portanto, a constante de espaço aumenta com R_m . Se a corrente sináptica é originada em um dendrito longo, como mostra a Figura 3, então a propagação da corrente vai depender também da resistência longitudinal do axoplasma, R_a . Se R_a é grande, a corrente tem dificuldade em propagar-se longitudinalmente e se perde através da membrana. Ao contrário, se R_a é pequena, como num dendrito de grande calibre, a corrente sináptica caminha preferencialmente ao longo da fibra, perdendo-se relativamente menos através da membrana.

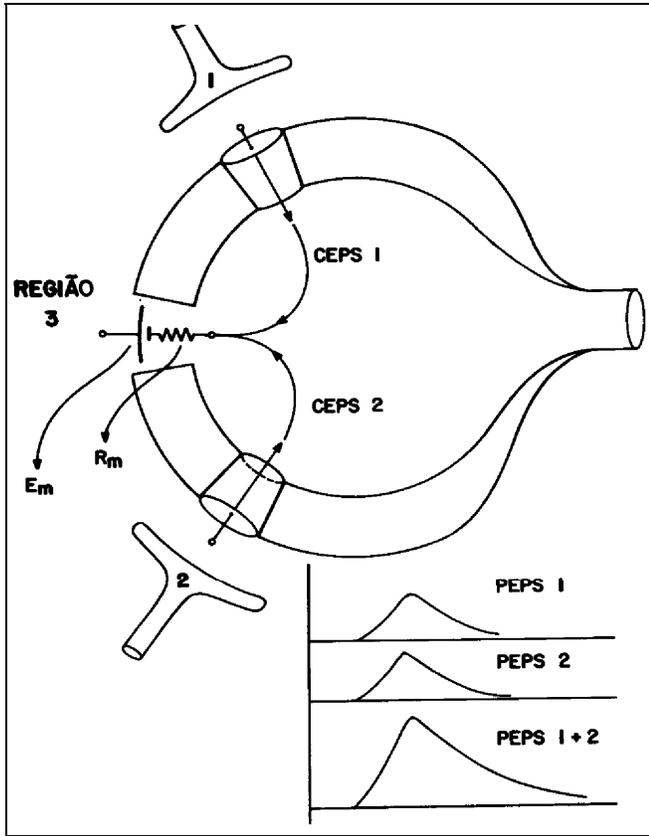


Fig. 3 *Somação espacial do PEPS.* Embora a somação fisiológica dos PEPS ocorra na zona de disparo, o esquema supõe que a somação ocorra em uma região 3, arbitrária, da membrana neuronal. As sinapses 1 e 2 disparam simultaneamente, gerando correntes CEPS 1 e CEPS 2 respectivamente, que se somam na região 3. A interação destas correntes com a resistência R_m produz uma despolarização igual ao dobro daquela produzida por cada corrente individual.

Somação espacial dos PEPS centrais

Os PEPS centrais têm pequenas amplitudes, normalmente insuficientes para levar a membrana neuronal até o limiar de disparo de potenciais de ação. Como um neurônio integra o efeito de centenas de PEPS que ocorram de forma mais ou menos simultânea na MPS? A Figura 8 representa, de forma simplificada, a chegada de duas terminações sinápticas ao corpo de um neurônio. Quando um PA chega à terminação sináptica 1 ocorre a ativação de centenas de canais sinápticos, produzindo-se a CEPS 1. Uma fração desta corrente, ao sair da célula na região 3, despolariza a membrana, gerando um potencial sináptico excitatório que designaremos por PEPS 1. Para facilitar os cálculos, vamos supor que a CEPS chegue integralmente à região 3 e, portanto, a amplitude do PEPS 1 é dada por: $PEPS\ 1 = R_m \times CEPS\ 1$. Da mesma forma, quando a terminação sináptica 2 é excitada, gera-se a CEPS 2,

que atinge a região 3, produzindo um potencial excitatório que designaremos por PEPS 2 e cuja amplitude é: $PEPS\ 2 = R_m \times CEPS\ 2$.

Quando as duas sinapses 1 e 2 disparam simultaneamente, a região 3 é invadida por duas correntes despolarizantes que se somam, gerando-se uma corrente total de maior intensidade:

$$CEPS\ total = CEPS\ 1 + CEPS\ 2$$

A despolarização resultante, ou PEPS total, será: $PEPS\ total = R_m \times (CEPS\ total)$. Percebemos que o PEPS total é maior, neste caso o dobro, de cada PEPS individual e, portanto, ocorreu uma somação de potenciais na MPS da região 3. A este efeito dá-se o nome de Somação Espacial dos PEPS. Na região de disparo do neurônio os PEPS de centenas ou mesmo de milhares de terminações sinápticas se somam, resultando numa intensa despolarização da membrana neste local. Na realidade, à região de disparo chega apenas uma fração de cada corrente sináptica gerada em um local distante. Entretanto, mesmo estas pequenas frações, quando somadas aos milhares, são suficientes para disparar potenciais de ação que se propagam ao axônio.

Somação temporal dos PEPS

A duração relativamente grande dos potenciais sinápticos centrais favorece a imbricação de dois ou mais destes eventos no tempo. O potencial sináptico central é um evento temporal assimétrico, onde a fase de declínio, ou repolarização, é muito mais lenta que a fase de despolarização. É a lentidão da fase de declínio que basicamente permite a somação no tempo de dois ou mais potenciais sinápticos. Por esta razão, é importante analisar os fatores que influenciam o decurso temporal do declínio do PEPS central. O parâmetro que expressa este decurso é a Constante de Tempo da membrana neuronal e depende de certas características elétricas passivas da célula nervosa. Para analisar quantitativamente este problema é útil esquecermos temporariamente que a célula tem uma polaridade de repouso: vamos considerar o evento sináptico excitatório como equivalente a uma rápida injeção de cargas positivas no meio intracelular, seguida de um vazamento mais lento destas cargas para o extracelular. Isto equivale, num modelo hidráulico, a encher rapidamente com água um reservatório cilíndrico dotado de um orifício de vazamento no seu fundo (Figura 4a). Portanto, o novo problema é determinar como o nível de água do reservatório decai com o tempo, após ter sido rapida-

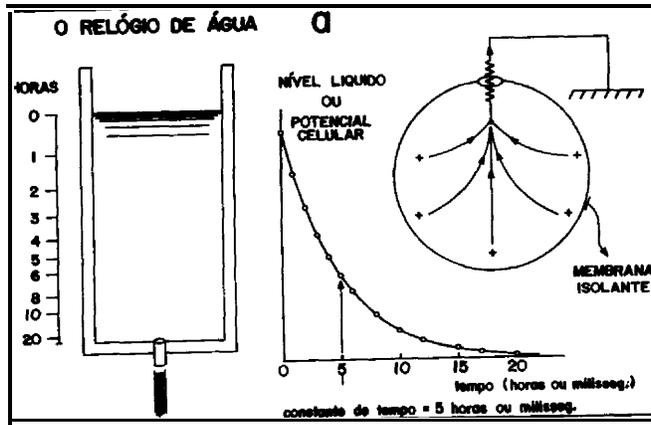


Fig. 4a O conceito da constante de tempo. O diagrama da esquerda representa um relógio de água, que consiste em um recipiente cilíndrico contendo no fundo um pequeno orifício. Uma vez cheio de água, o recipiente esvazia-se gradualmente, com um ritmo não constante. No início, quando é máxima a pressão no fundo do vaso, o ritmo de esvaziamento é grande. A medida que cai o nível líquido, a pressão torna-se cada vez menor e o fluxo proporcionalmente diminui. O ritmo de esvaziamento decai com o tempo, e o nível líquido decai logaritmicamente com o tempo. Para que este instrumento possa ser usado como relógio, as horas devem ser gravadas com espaçamentos diferentes, dependendo da altura. A constante de tempo corresponde, neste exemplo, ao número de horas necessárias para que o nível caia em 63% do seu valor inicial. O diagrama do meio mostra a evolução temporal do nível líquido do relógio de água. No diagrama da direita, uma célula nervosa foi inicialmente carregada com cargas positivas e deixada espontaneamente equilibrar-se com o extracelular através de uma via condutiva. A situação é análoga à do relógio de água, e o potencial elétrico da célula corresponde ao nível líquido do reservatório. A constante de tempo típica das células nervosas é medida em milissegundos.

mente enchido. Uma vez resolvido este problema, veremos que o seu equivalente elétrico na célula parecerá bem mais simples.

O ritmo de queda do nível de água no reservatório vai depender de três fatores: da pressão hidrostática no fundo do vaso (função do nível líquido, V), da área da base (C) e da resistência (H) do orifício de saída. O fluxo de vazamento (F) é diretamente Proporcional à pressão no fundo (nível líquido) e inversamente proporcional à resistência (R) do orifício: $F = V/R$. À medida que o nível líquido diminui, menor fica a pressão e menor o fluxo de saída. A taxa de queda do nível é:

$$-c \frac{dV}{dt} = \frac{v}{R} = \text{Fluxo de vazamento}$$

Resolvendo a equação diferencial, obtemos:

$$v(t) = V_0 e^{-t/RC}, \text{ onde } V_0 = \text{volume inicial}$$

A equação mostra que o nível de água do reservatório cai exponencialmente com o tempo: quanto menor o nível, menor sua taxa de queda.

O mesmo tipo de raciocínio aplica-se ao problema elétrico na célula nervosa, bastando, para isto, fazermos as analogias: a área da base (C) é a capacitância elétrica, o nível de água (V) é o potencial intracelular, e a resistência R do orifício é a resistência R_m da membrana. É fácil entender, no modelo hidráulico, que quanto maior o parâmetro RC , maior será o tempo de esvaziamento do reservatório. O mesmo aplica-se à carga elétrica da célula nervosa. O parâmetro RC recebe o nome de Constante de Tempo. Quanto maior a constante de tempo da célula nervosa, maior a duração da fase de declínio do PEPS.

Para entender como dois potenciais excitatórios centrais podem somar-se, consideremos o esquema da Figura 9b, onde uma dada região 3 da membrana pós-sináptica está, sob a influência das sinapses 1 e 2. Suponhamos que a sinapse 1 dispare 10 ms antes que a sinapse 2 seja ativada. As correntes sinápticas, cuja duração é muito curta, estarão defasadas em aproximadamente 10 ms. Como o PEPS gerado pela sinapse 1 dura mais de 10 ms, a região 3 ainda está parcialmente despolarizada quando nela se instala o PEPS gerado pela sinapse 2. Como consequência, a despolarização total da membrana no pico do PEPS 2 é maior do que aquela de um único PEPS. Este é um exemplo do fenômeno da somação temporal. Normalmente centenas ou milhares de terminações sinápticas disparam sobre um neurônio pós-sináptico, separadas por intervalos de tempo razoavelmente pequenos. O grau de somação temporal destes eventos vai depender dos intervalos entre os diferentes disparos sinápti-

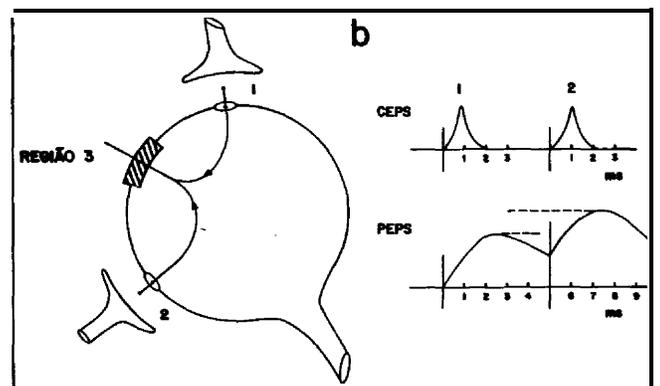


Fig. 4b A constante de tempo é a somação temporal do PEPS. As sinapses 1 e 2 disparam defasadas em cerca de 5 m. Suas correntes, que têm duração relativamente curta, não se imbricam. No entanto, os potenciais sinápticos, tendo constantes de tempo relativamente grandes, superpõem-se. A corrente sináptica produzida pela sinapse 2 encontra a região 3 já parcialmente despolarizada, e a interação de sua corrente com a resistência da membrana neste região provoca uma despolarização adicional que se soma à primeira.

cos e da constante de tempo da célula pós-sináptica.

Em condições fisiológicas, dificilmente podemos identificar isoladamente a somação temporal da somação espacial. Na prática, na maior parte dos casos estes dois fenômenos ocorrem simultaneamente, por isso dizemos que os potenciais sinápticos centrais somam-se temporo-espacialmente.

Potenciais sinápticos inibitórios

Em muitos tipos de neurônios centrais de mamíferos existem canais sinápticos cuja ativação produz uma inibição da excitabilidade da membrana pós-sináptica. Isto significa que na vigência da ativação destes canais a geração de potenciais de ação torna-se mais difícil. O estudo dos potenciais sinápticos inibitórios foi em grande parte feito por Eccles e cols., na membrana de neurônios motores de camundongos. Quando certas terminações sinápticas que convergem nestes neurônios são estimuladas por PA₃, elas liberam, na fenda sináptica, mediadores químicos que produzem uma inibição da membrana neuronal, tornando-a menos responsiva à ação das influências sinápticas excitatórias.

Os mediadores inibitórios melhor estudados são o GABA e a glicina, sendo os seus mecanismos de ação menos conhecidos que o dos mediadores excitatórios. No entanto, alguns fatos já são bem estabelecidos. Sua ação inibitória processa-se segundo um princípio análogo ao dos mediadores excitatórios: eles promovem a abertura de canais iônicos na MPS. Ao contrário dos canais abertos por ACh que despolarizam a MPS, os canais ativados por GABA ou glicina produzem, em geral, uma hiperpolarização da MPS.

A base da ação hiperpolarizante dos canais inibitórios é uma corrente sináptica negativa que entra na célula pelos canais inibitórios: esta corrente veicula ao meio intracelular uma grande quantidade de cargas negativas, promovendo uma hiperpolarização da célula nervosa. Como é gerada esta corrente inibitória e que tipo de canal iônico e ativado pelo mediador inibitório que a produz?

As células motoras onde Eccles estudou os potenciais inibitórios tinham potencial de repouso típico de - 55 mV. Aqui, os canais iônicos ativados pela liberação do mediador inibitório diferem daqueles ativados por ACh em vários aspectos. Enquanto os canais ativados por ACh são seletivos do Na⁺ e K⁺, os canais ativados por GABA são, preferencialmente, seletivos ao K⁺ e ao Cl⁻. Além disso, dois tipos de canais inibitórios foram identificados, um deles seletivo ao K⁺ e outro

ao Cl⁻, sendo ambos ativados pelo mesmo mediador.

Consideremos o comportamento dos canais de Cl⁻ ativados por GABA, em neurônios motores de camundongo. Quando a membrana neuronal está em repouso a um potencial de - 55 mV, a abertura de um canal de Cl⁻ permite aos íons Cl⁻ movimentarem-se em busca de seu equilíbrio termodinâmico. O potencial de equilíbrio do Cl⁻ neste sistema é:

$$E_{Cl} = 0,026 \ln \frac{(Cl)_e}{(Cl)_i} = 0,026 \ln \frac{150 \text{ mM}}{10 \text{ mM}} = -70 \text{ mV}$$

Como o potencial elétrico no intracelular é - 55 mV, isto significa que os íons Cl⁻ no interior do canal recém-aberto vão sentir uma força movente (igual à diferença entre o potencial de membrana, V_m e o potencial de equilíbrio do Cl⁻ ou E_{Cl}) dada por:

$$\text{Força movente do Cl} = (V_m - E_{Cl}) = 55 - (-70) = 15 \text{ mV}$$

Qual o sentido desta força? Se o canal inibitório for considerado como um canal exclusivo para Cl⁻, o potencial de reversão (*) do processo inibitório será igual ao próprio potencial de equilíbrio do Cl⁻ (E_{Cl}). Portanto, se a membrana tiver sua voltagem fixada em - 70 mV, a abertura do canal inibitório de Cl⁻ não vai gerar qualquer corrente. Como o meio intracelular, a - 55 mV, está 15 mV mais positivo do que o potencial de equilíbrio do Cl⁻, estes íons tenderão a fluir para o meio intracelular, negativando ainda mais o interior da célula. Isto corresponde a uma hiperpolarização da membrana.

Um fluxo de íons Cl⁻ no sentido EC para IC equivale a uma corrente elétrica fluindo no sentido oposto. Com efeito, em experimentos de *Patch-clamp* de membranas neuronais a adição de quantidades micromolares de GABA ou glicina à membrana produz correntes iônicas discretas, cuja amplitude é da ordem de poucos picoampères. Quando estas correntes são registradas mantendo-se a voltagem fixa em torno do potencial de repouso, verifica-se que elas são efetivamente orientadas de dentro para fora da célula, correspondendo a correntes negativas orientadas em sentido contrário.

Da relação entre as amplitudes das correntes unitárias de Cl⁻ e as voltagens fixadas pode-se calcular a condutância unitária dos canais de Cl⁻ ativados por GABA. A condutância é a relação entre a variação de corrente unitária e a variação

* Potencial de reversão do evento inibitório é aquele potencial no qual a abertura dos canais inibitórios não se acompanha de corrente sináptica. Neste potencial os íons cuja movimentação gera a corrente inibitória encontram-se em equilíbrio.

da voltagem fixada: $g = di/dV$. Este tipo de análise permitiu estimar em 30 PS* a condutância unitária dos canais sinápticos de Cl ativados por GABA.

Consideremos uma célula nervosa que contenha canais inibitórios deste tipo, com uma distribuição de Cl^{tal} que $[Cl]_i = 10 \text{ mM}$ e $[Cl]_e = 150 \text{ mM}$. Supomos que o potencial de repouso da célula é igual a -55 mV (Figura 10). Quando um único canal inibitório se abre na membrana desta célula, a corrente de íons Cl penetrando na célula pode ser calculada:

$$I_{Cl} = g_{Cl} (V_m - E_{Cl}) = 30 \times 10^{-12} \times (0,055 - 0,070) = 4,5 \times 10^{-13} \text{ A}$$

A carga veiculada por esta corrente unitária é:

$$Q_{SU} = (4,5 \times 10^{-13} \text{ A}) \times (10 \times 10^{-3} \text{ s}) = 4,5 \times 10^{-15} \text{ C}$$

Para calcularmos o efeito desta injeção de carga no potencial elétrico do meio intracelular precisamos, como no caso do PEPS, conhecer o volume elétrico da célula, ou sua capacitância, $C_m = 1,5 \times 10^{-9} \text{ F}$. A variação de potencial intracelular será:

$$dV = \frac{Q}{C} = \frac{-4,5 \times 10^{-15}}{3,0 \times 10^{-9}} = -1,5 \times 10^{-6} \text{ V} \quad (1,5 \text{ uV})$$

Quando alguns milhares de canais inibitórios com o este se abrem, mais ou menos ao mesmo tempo, na membrana pós-sináptica a corrente negativa entrando na célula será proporcionalmente maior. A corrente inibitória, gerada pela estimulação de uma única terminação pré-sináptica, recebe o nome de Corrente Inibitória Pós-Sináptica (CIPS). Seu valor típico, no início do potencial sináptico, foi calculado a partir da taxa de variação do potencial intracelular e corresponde a $1,5 \times 10^{-8} \text{ A}$. Considerando que as cargas veiculadas pela corrente Sináptica são praticamente, todas armazenadas na célula durante a fase inicial do PIPS, o ritmo de variação do potencial intracelular pode ser calculado:

$$\frac{dV_m}{dt} = \frac{\text{Corrente sináptica}}{\text{Capacitância}} = \frac{1,5 \times 10^{-8}}{3,0 \times 10^{-9}} = 5 \text{ mV} \times \text{ms}^{-1}$$

Portanto nos três primeiros milissegundos do PIPS, o meio intracelular pode sofrer um aumento de até 15 mV na sua polaridade negativa. Na

realidade, a corrente sináptica decai rapidamente após atingir um pico, e, portanto, a amplitude do PIPS fica na dependência de outros fatores.

Ao contrário do que acontece no PEPS, a variação de potencial intracelular durante a ação da sinapse inibitória é hiperpolarizante, ou seja, o potencial intracelular fica mais negativo do que no estado de repouso. Por esta razão esta alteração de potencial recebe o nome de Potencial Inibitório Pós-Sináptico, ou PIPS. Experimentalmente têm sido registrados PIPSs de até 15 mV, e o número de canais unitários recrutados na fase inicial deste evento pode ser estimado dividindo-se a corrente sináptica total, calculada a partir da taxa de variação do potencial intracelular, pela corrente sináptica unitária, medida em experimentos de *patch-clamp*:

$$\text{Número de canais inibitórios} \approx \frac{1,5 \times 10^{-8}}{3,5 \times 10^{-13}} = 42.000 \text{ canais}$$

O PIPS é praticamente uma imagem em espelho do PEPS, tendo amplitude e decurso temporal semelhantes, porém maior latência. Como no caso do PEPS, a distribuição da corrente sináptica entre o volume elétrico da célula e o vazamento através da membrana depende da fase do evento. Na fase de hiperpolarização rápida da célula, a maior parte das cargas negativas é acumulada no reservatório elétrico do intracelular, sendo pequena a fração da corrente negativa que vaza para fora através da membrana.

No pico do PIPS, a corrente negativa que entra na célula através dos canais sinápticos inibitórios é igual e oposta à corrente negativa que sai da célula através dos canais de cloreto não ativáveis por mediador. Portanto, nesta fase não há qualquer acúmulo de cargas no meio intracelular e a taxa de variação do potencial de membrana com o tempo é nula. Na fase de declínio do PIPS a corrente sináptica já praticamente não existe e a hiperpolarização da membrana nervosa, a diferentes distâncias da sinapse, é mantida às custas da interação ôhmica da corrente de vazamento com a resistência elétrica da membrana. Analogamente ao PEPS, o PIPS dura mais tempo do que a corrente inibitória que o gera.

Polarização ôhmica e polarização difusional⁷

O canal sináptico inibitório seletivo a cloreto constitui um sistema interessante para a análise da interação entre dois tipos de fenômenos geradores de voltagem na membrana nervosa. Na zona sináptica da membrana os íons Cl⁻ penetram na célula através dos canais de Cl⁻ ativados por

*(Siemens equivale a MHO, sendo uma unidade de uso mais geral na literatura biofísica⁶).

GABA, movidos por um gradiente de concentração Cl^- . Neste processo a força que move os íons Cl^- é gerada no interior do canal inibitório, uma vez que o gradiente de concentração só existe dentro do canal. Portanto, este canal funciona como um gerador de cargas negativas, polarizando negativamente o interior da célula. Como esta polarização resulta da difusão passiva do cloreto, damos a ela o nome de Polarização Difusional. Do mesmo tipo é a despolarização resultante da entrada de íons Na^+ na célula nervosa, durante a fase inicial do potencial de ação (Figura 5).

Na região não sináptica da membrana, a certa distância da terminação inibitória, as cargas negativas deixam o interior da célula, vazando para o extracelular, através dos canais não sinápticos. Nesta região ocorre uma interação entre o movimento das cargas e a resistência elétrica da membrana: as cargas negativas, saindo da célula, acumulam-se à montante da resistência (que é um obstáculo ao seu fluxo), polarizando-a e tornando o lado intracelular ainda mais negativo. Como esta polarização é o resultado da interação

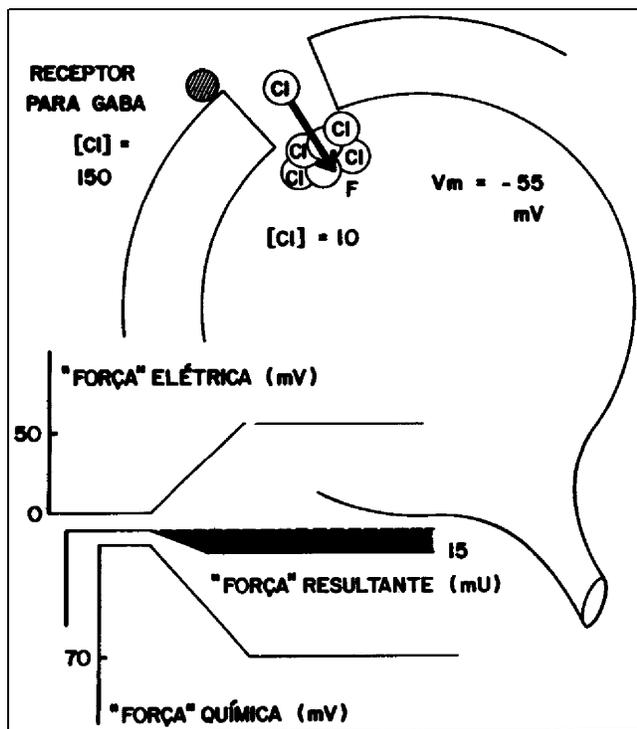


Fig. 5a *Balanço de forças em um canal inibitório, seletivo à Cl^- e ativável por GABA. O potencial intracelular é -55mV e as concentrações de Cl^- $r_{\text{Cl}} = 10\text{mM}$ e $r_{\text{Cl}}^o = 150\text{mM}$. A força elétrica é igual a 55mV e orientada para fora, enquanto a força química é 70mV e orientada para dentro. A força resultante é de 15mV , orientada para dentro da célula.*

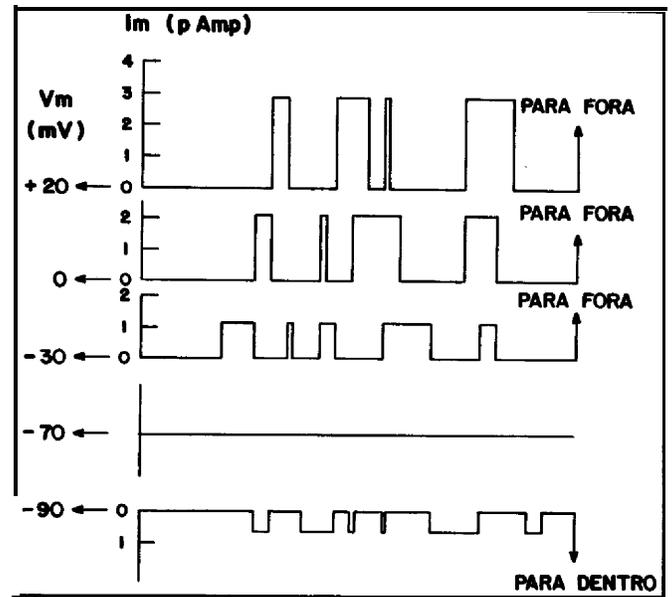


Fig. 5b *Registros hipotéticos de corrente unitária baseados em dados experimentais obtidos com patch-clamp em neurônios espinais. O potencial através da membrana celular é fixado em diferentes valores e as correntes unitárias são proporcionais à força movente do cloreto em cada condição. A relação entre corrente e voltagem é: $i_{\text{Cl}} = g_{\text{Cl}} (V_m - E_{\text{Cl}})$, onde $g_{\text{Cl}} = 30\text{ps}$ é a condutância unitária do canal, V_m é o potencial de membrana e E_{Cl} é o potencial de equilíbrio do cloreto e é igual a -70mV . A força movente do cloreto é definida como $FM(\text{Cl}) = (V_m - E_{\text{Cl}})$. Quando $V_m = E_{\text{Cl}} = -70\text{mV}$ a força movente anula-se e não há corrente. Este potencial é chamado de Potencial de Reversão do canal inibitório, porque neste valor de voltagem a corrente inverte seu sentido: abaixo de 70mV negativo a corrente unitária é orientada para fora da célula (correspondendo a um fluxo de íons Cl^- entrando na célula) e para valores de voltagem maiores que 90mV negativos a corrente é orientada para dentro da célula.*

entre uma corrente e a resistência da membrana, ela recebe a denominação de Polarização Ôhmica, sendo sua magnitude dada pela lei de Ohm: $dv = R_m \times i$ (Figura 6).

Interação entre PEPS e PIPS nas sinapses centrais

Os PEPS somam-se espacialmente na membrana pós-sináptica. Assim, o corpo de um neurônio motor da medula recebe tipicamente centenas de terminações sinápticas excitatórias e inibitórias. Cada trecho da membrana deste neurônio está submetido, simultaneamente, a influências excitatórias e inibitórias das terminações que a ele chegam.

Por um dado trecho da MPS passam correntes elétricas originadas de diferentes fontes, as terminações vizinhas. Se o trecho em questão está suficientemente perto de uma sinapse excitatória

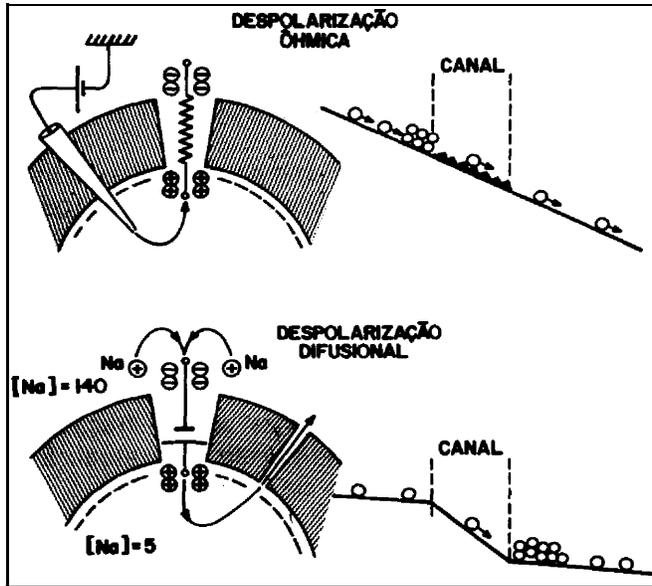


Fig. 6 *Despolarização ôhmica e despolarização difusional.* A despolarização ôhmica ocorre quando a força movente da corrente é gerada fora da via de passagem de corrente. Neste caso a via de passagem funciona como uma resistência à passagem das cargas e estas acumulam-se à montante (antes da resistência). A polarização ôhmica ocorre numa resistência elétrica convencional, por onde passa uma corrente. Num sistema biológico a despolarização ôhmica pode ser produzida artificialmente, passando-se corrente elétrica através da membrana celular, no sentido IC para EC. A despolarização ôhmica ocorre também, em condições fisiológicas, nos potenciais graduados e na propagação do potencial de ação. Um modelo mecânico da polarização ôhmica está representado à direita: um conjunto de esferas desliza por um plano-inclinado que contém no seu centro uma zona da grande atrito. As esferas acumulam-se acima da resistência e rarefazem-se abaixo. Neste caso o plano inclinado impõe a força movente. Na despolarização difusional a força movente do fluxo iônico é gerada no interior do canal e é produzida por um gradiente de potencial eletroquímico que se desenvolve apenas no interior do canal iônico. A figura representa um canal hipotético de sódio, ativado quimicamente: a diferença de concentração de Na^+ entre o extra e o intracelular gera, no interior do canal, um gradiente de concentração que age como um gerador de corrente. Os íons sódio acumulam-se no lado intracelular do canal. O modelo mecânico à direita é constituído por um conjunto de esferas sobre dois planos em desnível. Quando as esferas caem aleatoriamente na região inclinada elas são aceleradas e acumulam-se no lado inferior do plano. No lado superior ocorre uma rarefação da densidade de esferas.

ele receberá uma proporção grande da corrente excitatória gerada por aquela sinapse e sofrerá como resultado uma despolarização. Se a terminação vizinha for do tipo inibitório, a corrente terá sentido oposto, e a membrana sofrerá, como consequência, uma hiperpolarização. Se um mesmo trecho da MPS recebe simultaneamente as influências de uma sinapse excitatória e de uma inibitória, as duas correntes sinápticas correspondentes somam-se neste trecho. Uma dada região não sináptica da membrana neuronal detecta a influência excitatória ou inibitória da sinapse

vizinha através de uma fração da corrente sináptica total que emana da terminação e a atinge. A região não sináptica não é, em princípio, capaz de distinguir individualmente a origem destas correntes, sendo influenciada apenas pela sua somatória. Se a corrente total, atravessando a região, for orientada de dentro para fora da célula, o resultado será uma despolarização da membrana, que corresponde a uma excitação da mesma. Se a soma das correntes for orientada de fora para dentro da célula, o resultado será uma hiperpolarização e, portanto, a membrana sofrerá uma inibição.

Nem sempre a interação entre as correntes excitatória e inibitória é tão simples. Consideremos a situação da Figura 7, que representa um trecho da MPS sob a ação de diferentes terminais sinápticos: o trecho 1, que está sendo atingido diretamente pelo transmissor inibitório, tem uma resistência elétrica menor do que o restante da MPS que não é atingida pelo mediador. Isto ocorre porque o mediador químico inibitório age abrindo novos canais na MPS. Comparemos o comportamento do trecho 1 com aquele de um trecho 2, situado a igual distância de um terminal sináptico excitatório, mas fora da influência do mediador inibitório. Tanto a região 1 como a 2 recebem uma mesma densidade de corrente excitatória,

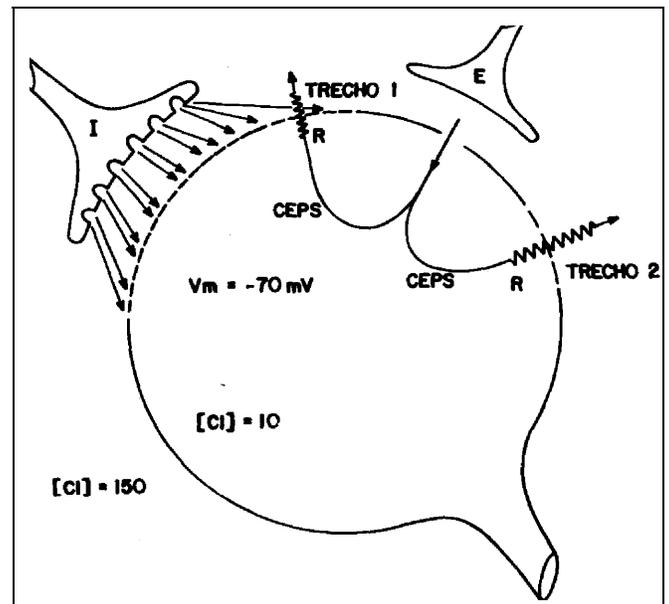


Fig. 7 *Ação de curto-circuito da inibição.* A figura representa um canal inibitório, seletivo a cloreto e ativado por GABA. O potencial intracelular (-70 mV) coincide com o potencial de equilíbrio do cloreto e a ativação do canal não se acompanha de corrente sináptica. A ação inibitória decorre de uma diminuição da resistência da membrana na zona atingida pelo mediador inibitório: a abertura de canais inibitórios de Cl^- diminui a resistência global da membrana.

pois estão situadas a igual distância do terminal excitatório. O efeito da corrente excitatória se manifesta através da sua interação com a resistência local da membrana, na região por onde a corrente emerge da célula. O efeito despolarizante da corrente é medido pelo produto $R_m \times i$. Na região 1, atingida pelo mediador inibitório, a resistência local da membrana é menor do que a da região 2, não atingida pelo mediador. Portanto, a despolarização da região 1 será proporcionalmente menor do que a da região 2. Este é um efeito inibitório que se processa na ausência de qualquer corrente ou potencial inibitórios, e recebe o nome de ação de Curto-Circuito da Inibição.

Muitas vezes o potencial intracelular é praticamente idêntico ao potencial de reversão do PIPS,

ProcópioAraújo J – Aspectos biofísicos da ação sináptica. Parte II.

O autor apresenta as principais diferenças entre o potencial da placa motora e os potenciais excitatórios das sinapses centrais, entre elas, as menores amplitudes dos potenciais centrais e sua propriedade de integração. O cálculo da magnitude típica de potenciais sinápticos centrais é feito com base em dados experimentais da condutância unitária destes canais.

São discutidos os fenômenos de somação espacial e temporal dos potenciais sinápticos centrais, com base na soma das correntes sinápticas a eles associadas. Para explicar o fenômeno da somação temporal a célula nervosa é comparada a um reservatório de cargas elétricas. O reservatório elétrico da célula é comparado a um reservatório hidráulico e a equação de decaimento é derivada e analisada.

O conceito de Potencial de Reversão é definido e discutido e o efeito da ação sináptica no potencial de membrana é analisado com base na idéia do potencial de reversão do evento sináptico. São propostos os conceitos de polarização Ôhmica e Polarização Difusional, como ferramentas didáticas para auxiliar no entendimento da gênese de potenciais elétricos em membranas.

Finalmente, é analisada a interação entre os potenciais excitatório e inibitório centrais e suas implicações no processamento e integração da informação nervosa.

Unitermos: BIOFÍSICA; JUNÇÃO NEUROMUSCULAR; MEMBRANA: canal iônico; SINAPSES: canal sináptico, potencial de ação

estando o íon cloreto praticamente em equilíbrio. A abertura dos canais inibitórios seletivos a Cl^- não gera qualquer corrente e o efeito inibitório do mediador processa-se através de sua ação de curto-circuito.

Um outro aspecto que emerge da análise acima relaciona-se à ação intrínseca dos PIPS. Em todas as situações que examinamos, a ação das correntes inibitórias estava associada ao seu efeito sobre um processo excitatório. Costuma-se, então, dizer que os potenciais inibitórios agem sobre um substrato de excitação que a célula recebe constantemente. A inibição retira seletivamente a influência excitatória basal, preservando apenas aquela fração da excitação adequada ao comportamento atual. É a chamada Ação Lapidadora da Inibição.

Procópio-Araújo J – Aspectos biofísicos de la acción sináptica. Parte II.

El autor presenta las principales diferencias entre el potencial de la placa motora y los potenciales excitativos de las sinápsis centrales, entre ellas, las menores amplitudes de los potenciales centrales y su propiedad de integración. El cálculo de la magnitud típica de potenciales sinápticos centrales es hecho con base en datos experimentales de conductancia unitaria de estos canales.

Se discuten los fenómenos de sumación espacial y temporal de los potenciales sinápticos centrales, con base en la suma de las corrientes sinápticas a ellos asociadas. Para explicar el fenómeno de sumación temporal, la célula nerviosa es comparada a un reservorio de cargas eléctricas. El reservorio eléctrico de la célula se compara a un reservorio hidráulico y la ecuación de decaimiento es derivada y analisada.

El concepto de Potencial de Reversion se define y se discute, y el efecto de la acción sináptica en el potencial de la membrana es analisado con base en la idea del potencial de reversión del evento sináptico. Se proponen los conceptos de Polarización Ôhmica y Polarización Difusional, como herramientas didacticas para auxiliar en el atendidamiento de la gênesis de potenciales eléctricos en membranas.

Finalmente se analiza la interación entre los potenciales excitativo e inhibitorio centrales y sus implicaciones en el procesamiento e integración de la información nerviosa.

REFERÊNCIAS

1. Eccles J C – The Physiology of Nerve Cells The John Hopkins Press, 1968.
2. Hamill O P, Marty A, Neher E, Sackmann B, Sigworth F G. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recordings from cell-free membrane patches, Pflugers Arch, 1981; 391:85-100.
3. Neher E, Sackmann B – Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibers. Nature, 1976; 260:799-802.
4. Bures J, Petran M, Zachar J – Electrophysiological Methods in Biological Research, Academic Press, 1967.
5. Kandel E R – Chemically gated ion channels at central synapses, In: E R Kandel, J H Schwartz (ads.), Principles of Neural Science, Amsterdam, Elsevier, 1986; 108-119.
6. Hamill O P, Bormann J, Sackmann B – Activation of multiple-conductance state chloride channels in spinal neurones by glycine and GABA. Nature, 1983; 305: 805-808.
7. Kandel E R, Siegelbaum S – Principles Underlying Electrical and Chemical Synaptic Transmission. In: E R Kandel, J H Schwartz (eds.) Principles of Neural Science, Amsterdam, Elsevier, 1986; 89-107.
8. Procópio-Araújo J - Os canais iônicos e o potencial Elétrico da Membrana Celular: Uma Visão Biofísica para Clínicos, Rev Ass MedBras1986;32:155-161.