



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA**

**MODELO MATEMÁTICO DA DINÂMICA IÔNICA
DURANTE UM POTENCIAL PRÉ-SINÁPTICO EM CÉLULA
NEURAL**

JULIANA TEIXEIRA QUINAUD

**FLORIANÓPOLIS/SC
2011**

JULIANA TEIXEIRA QUINAUD

**MODELO MATEMÁTICO DA DINÂMICA IÔNICA
DURANTE UM POTENCIAL PRÉ-SINÁPTICO EM CÉLULA
NEURAL**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Química
da Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto

FLORIANÓPOLIS
2011

Modelo Matemático da Dinâmica Iônica Durante um Potencial Pré-Sináptico em Célula Neural

Por

Juliana Teixeira Quinaud

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de Concentração de **Desenvolvimento de processos Químicos e Biotecnológica**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto
Orientador

Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto
Coordenador do CPGENQ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto

Dr^a. Janaína Karine Andreazza

Prof. Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Prof. Dr. Amir A. M. Oliveira Jr.

Florianópolis, 24 de março de 2011

*Este trabalho foi desenvolvido no
Laboratório de Neuroengenharia
Computacional (NEUROLAB) do
Departamento de Engenharia Química e
Engenharia de Alimentos da Universidade
Federal de Santa Catarina -
Florianópolis, SC.*

Dedico este trabalho aos meus pais, Ronaldo e Cristina, ao meu marido e filha, Patrick e Laura, por estarem sempre ao meu lado. Sem o seu apoio e amor não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai e minha mãe, que sempre estiveram incondicionalmente ao meu lado e me ensinaram a seguir em frente durante esta caminhada minha eterna gratidão.

Ao meu marido, Patrick, pelo amor, carinho e cumplicidade, e a minha filha, Laura, que chegou para completar a minha felicidade.

Aos meus irmãos, Paula e Ricardo, pela presença e apoio.

Um especial agradecimento ao Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto, pela orientação, amizade, pela fé depositada, acreditando na minha capacidade de desenvolver o presente trabalho, e por estar presente nas horas que mais precisei.

Aos professores, Dr. Antônio Augusto Ulson de Souza, Dr. Arioaldo Bolzan, Dr. Amir A. M. Oliveira Jr., por gentilmente terem aceitado o convite para participar da banca examinadora.

A todos os integrantes e ex-integrantes do Neurolab, Adriana Elaine da Costa, Afonso A. F. de Oliveira, Alexandre Bach Trevisan, Ariane Audrei Gonzaga, Brayan Marcelo Paredes, Bruno Blanco Araújo, Caroline Françolie de Almeida, Caroline Leitão Riella, Cíntia Soares, Eduardo Callegari Basso, Elis Cristina Zanatta, Ivan Carlos Gerg, Janaína Karine Andrezza, José Vilmar de Melo Junior, Lucélia Serafim Inácio, pelo agradável convívio e amizade.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina por todo o suporte e estrutura acadêmica.

Ao colega da Coordenadoria de Pós-Graduação em Engenharia Química, Edevilson Silva, pelo apoio e dedicação.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para que este trabalho atingisse aos objetivos propostos.

A CAPES pelo apoio Financeiro.

"O valor de todo o conhecimento está no seu vínculo com as nossas necessidades, aspirações e ações; de outra forma, o conhecimento torna-se um simples lastro de memória, capaz apenas - como um navio que navega com demasiado peso - de diminuir a oscilação da vida quotidiana."

V. O. Kliutchevski

Resumo

Atividades neuronais são responsáveis por grandes movimentações iônicas em tecidos neuronais. O processamento e a passagem da informação sináptica entre duas células neurais iniciam-se com a chegada de um potencial de ação nos terminais pré-sinápticos. Este fenômeno causa a despolarização do potencial de membrana da célula neural gerando grandes movimentações iônicas através da membrana neural. Modelos matemáticos encontrados na literatura que reproduzem este fenômeno usualmente baseiam-se em circuitos elétricos análogos e, por não considerarem os efeitos da eletrodifusão, podem ser questionados. O presente trabalho tem como objetivo propor um modelo de eletrodifusão no qual a dinâmica temporal do potencial de membrana e as concentrações iônicas nos espaços intra e extracelular são consideradas durante a despolarização do terminal pré-sináptico. Neste modelo estão incluídos a participação dos trocadores, bombas e canais voltagem-dependentes das quatro espécies iônicas mais relevantes: Potássio (K^+), Sódio (Na^+), Cloro (Cl^-) e Cálcio (Ca^{2+}). Os resultados são consistentes com a literatura e reproduzem a dinâmica iônica durante a chegada de um sinal pré-sináptico. Este modelo pode ser de grande utilidade para futuros trabalhos que pretendem simular a liberação de neurotransmissores e a passagem da informação sináptica em células do sistema nervoso central (SNC).

PALAVRAS-CHAVE: Potencial pré-sináptico, dinâmica iônica, eletrodifusão

Abstract

The neuronal activities are responsible for high ionic movements in neuronal tissues. Processing and presentation of information between two synaptic neural cells begin with the arrival of an action potential in presynaptic terminals. This phenomenon causes the depolarization of the membrane potential of neural cell generating large ionic movements across the neuronal membrane. Mathematical models in the literature to reproduce this phenomenon are based on analog electrical circuits, and by not considering the effect of electrodiffusion, they may be questioned. This paper aims at proposing a model of electrodiffusion for which the temporal dynamics of membrane potential and ionic concentrations in the spaces within and outside the cell are considered during the depolarization of the presynaptic terminal. This model includes the participation of exchangers, pumps and voltage-gated channels of the four ionic most relevant species: Potassium (K^+), Sodium (Na^+), chlorine (Cl^-) and calcium (Ca^{2+}). The results are consistent and accurately reproduce the ion dynamics during the arrival of a presynaptic signal. This model may be useful for future studies that aim at simulating the release of neurotransmitters and synaptic passage of information in cells of the central nervous system (CNS).

KEYWORDS: presynaptic potential, ion dynamic, electrodiffusion

Sumário

1. Introdução.....	31
1.1 – Objetivo.....	32
1.1.1 – Objetivo geral.....	32
1.1.2 – Objetivos específicos.....	32
1.2 – Inovação.....	32
2. Revisão Bibliográfica.....	35
2.1 – Sistema nervoso.....	35
2.2 – Transportadores iônicos.....	38
2.3 – Canais iônicos.....	38
2.3.1 - Canais de sódio.....	39
2.3.2 - Canais de potássio.....	40
2.3.3 - Canais de cálcio.....	41
2.3.4 – Canais de cloro.....	41
2.4– Sinapse Químicas.....	42
2.5 – Potencial de membrana.....	44
2.6 – Potencial pré-sináptico.....	47
2.7 - Transmissão sináptica.....	47
2.8 – Modelos Matemáticos.....	52
2.8.1 - Modelo de Hodgkin-Huxley (Modelo H-H)	52
2.8.2 – Equação de Poisson-Boltzmann aplicada na membrana do neurônio.....	54
2.9 – Lei de Fick.....	56
2.10 – Eletrodifusão.....	58
3. Modelagem.....	61
3.1 – Fluxo difusivo ou químico ($F_{q_{ij}}$).....	62
3.2 – Fluxo elétrico ($F_{e_{ij}}$).....	63
3.3 – Fluxo através da bomba sódio e potássio.....	65
3.4 – Equação de Diferença de Potencial.....	68
3.5 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão.....	70
3.6 – Equação global do Balanço de Massa.....	72
3.7 – Repouso.....	73
3.8 – Cálculo das constantes de difusão.....	74
3.9 – Síntese do modelo matemático.....	75
3.10 – Fluxograma do programa computacional.....	75

4. Resultados e Discussões.....	77
4.1 – Dados iniciais.....	77
4.2 – Validação.....	82
5. Conclusão.....	91
6. Referências Bibliográficas.....	93

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 – Representação da interação neurônio e glia. 36
Imagem (modificada) retirada do site www.rienstraclinic.com.
- Figura 2.2 – Representação das partes do neurônio. 37
Figura retirada da referência Kandel, 2003.
- Figura 2.3 – Representação da membrana neuronal no 39
repouso. Figura retirada da referência Lent, 2001..
- Figura 2.4 – Representação do sentido mais frequente do 43
fluxo de informação. Imagem (modificada) retirada do site www.netxplica.com.
- Figura 2.5- Representação da leitura experimental do 46
potencial de membrana. Figura(modificada) retirada da referência Lent, 2001.
- Figura 2.6 – Representação da dinâmica iônica durante o 48
potencial de ação. Figura (modificada) retirada da referência Lent, 2001.
- Figura 2.7 – Representação artística da transmissão 50
sináptica. Figura (modificada) retirada da referência Lent, 2001.
- Figura 2.8 – Imagem microscópica da sinapse. Figura 51
retirada da referência Lent, 2001.
- Figura 2.9 – Representação da bicamada lipídica. Figura 55
retirada da referência Cortez-Maghelly *et al*, 1993.
- Figura 2.10 – Representação de uma membrana 57
permeável.
- Figura 3.1 – Representação dos meios intra e 61
extracelulares como dois tanques agitados. τ é a espessura da membrana e δ é a espessura do meio intra e extracelular.
- Figura 3.2 – A bomba Na^+/K^+ realiza transporte de íons 66
contra os gradientes. Na figura ‘in’ é a região intracelular e ‘out’ a região da fenda sináptica, ou extracelular.
- Figura 3.3 – Esquema do fluxo elétrico para a situação de 70

repouso, com o potencial de membrana negativo.

- Figura 3.4 - Fluxograma simplificado do programa 76
computacional.
- Figura 4.1 – Esquema das concentrações iônicas na 78
situação de repouso. Os círculos vermelhos representam
as maiores concentrações.
- Figura 4.2 – Representação gráfica do potencial pré- 80
sináptico calculado através do modelo proposto.
- Figura 4.3 – Representação gráfica da variação de 81
concentração dos íons sódio e potássio durante o
potencial pré-sináptico.
- Figura 4.4 – Curva de potencial *in vivo* de um neurônio 82
neocortical do córtex visual de gato. Figura retirada de
Naundorf *et al*, 2006.
- Figura 4.5 - Comparação do modelo proposto com a 83
curva experimental da referência Naundorf *et al*, 2006.
- Figura 4.6 – Fluxo iônico através dos canais sensíveis à 84
tensão. Os canais Sv(1) foram analisados pela fase
extracelular e os canais Sv(2) pela fase intracelular.
- Figura 4.7 – Fluxo iônico através dos canais passivos. Os 85
canais Sa(1) foram analisados pela fase extracelular e os
canais Sa(2) pela fase intracelular.
- Figura 4.8 – Fluxo elétrico. O fluxo de íons sódios foi 86
analisado pela fase intracelular e o fluxo de íons potássio
pela fase extracelular.
- Figura 4.9 – Fluxo químico. O fluxo de íons sódios foi 87
analisado pela fase intracelular e o fluxo de íons potássio
pela fase extracelular.
- Figura 4.10 – – Comparação qualitativa da curva de 88
condutância de Na⁺ descrita por Hodgkin Huxley
retirada da referência Purves, 2004, com a curva de fluxo
pelos canais Sv(2).
- Figura 4.11 – Comparação qualitativa da curva de 88
condutância de K⁺ descrita por Hodgkin Huxley retirada

da referência Purves, 2004, com a curva de fluxo pelos canais Sv(1).

- Figura 4.12 – Comparação entre: o modelo proposto, modelo desenvolvido por Destexhe, 1999 e a curva de dados experimentais. 89
- Figura 4.13 – Variação do valor da fração de densidade de canais voltagem-dependente dos íons Na⁺ (Sv(2)) e K⁺ (Sv(1)) durante o potencial pré-sináptico. 90

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1 – Resumo do Modelo H-H: 52
- Tabela 3.1 – Representação da direção do fluxo da bomba Na^+/K^+ . 67
- Tabela 3.2 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão do íon sódio. 71
- Tabela 3.3 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão do íon potássio. 71
- Tabela 3.4 – Parâmetros para o cálculo das constantes de difusão pela Equação 3.54 74
- Tabela 4.1 - Valores das concentrações iônicas no repouso necessário para a solução do modelo matemático: (a) Kandel et al, 2003. (b) Strehler et al, 1996. (c) Teixeira et al, 2001. 77
- Tabela 4.2 - Valores dos parâmetros necessários para solução do modelo matemático: (d) Karp, 2005. (e) Luscher et al, 1990 78
- Tabela 4.3 - Valores dos parâmetros livres obtidos através da otimização do modelo matemático 83
- Tabela 4.4 – Apresentação das variáveis e dos parâmetros utilizados para alimentar o programa computacional. 90

NOTAÇÃO

$[S]_i$	Concentração do soluto, $i=1$ – interior, $i=2$ – exterior (mol/m^3)
$[X]_i$	Concentração do íon X no meio interno (mol/m^3)
$[X]_o$	Concentração do íon X no meio externo (mol/m^3)
As	Área da membrana sináptica (m^2)
C_{ij}	Concentração do íon j na região i (mol/m^3)
C_m	Capacitância da membrana (F)
D_j	Coefficiente de difusão para o íon j (m^2/ms)
e	Carga elementar ($1,602 \cdot 10^{-19}\text{C}$)
$E_{\text{íon}}$	Potencial do íon (V)
E_x	Potencial do íon X (V)
F	Constante de Faraday (96485,34 C/mol)
F_{bji}	Fluxo da bomba Na^+/K^+ (mol/s)
$F_{e_{ij}}$	Fluxo elétrico do íon j na região i (mol/s)
f_p	Força sobre a partícula (N)
$F_{q_{ij}}$	Fluxo difusivo ou químico do íon j na região i (mol/s)
h	Variação de inativação do íon Na^+ (adimensional)
$I_{\text{íon}}$	Corrente que pode ser dos íons sódio, potássio e outros (I_{Na} , I_{K} , I_{vaz}) (A)
$I_{\text{iônica}}$	Corrente iônica (A)
I_m	Corrente na membrana (A)
J_s	Fluxo do soluto ($\text{mol/m}^2\text{s}$)
k_b	Constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23}\text{ J/K}$)
Ko	Coefficiente de condutividade ($9 \cdot 10^9\text{ N.m}^2/\text{C}^2$)
m	Variação de ativação do íon Na^+ (adimensional)
M_b	Massa molecular do solvente (g/mol)

n	Variação de ativação do íon K^+ (adimensional)
P_k, P_{Na}, P_{Cl}	Permeabilidade dos íons potássio, sódio e cloro respectivamente (cm/s)
q_{ij}	Carga do íon j na região i (C)
R	Constante dos gases (J/mol.K)
S_j^a ou $Sa(j)$	Fração de As ocupadas por canais passivos para o íon j (adimensional)
S_j^v ou $Sv(j)$	Fração de As ocupadas por canais voltagem dependentes para o íon j (adimensional)
S_{bkb}	Constante da bomba Na^+/K^+ (m^6/mol^2s)
Sv_{-j}	Densidade máxima de canais voltagem-dependente para os íons j (adimensional)
t	Tempo (s)
T	Temperatura (K)
V	Diferença de potencial (mV)
V_A	Volume molar (cm^3/mol)
V_{in}	Potencial no meio intracelular (V)
V_m	Potencial de membrana (V)
V_{out}	Potencial no meio extracelular (V)
z_j	Valência do íon j (adimensional)
z_x	Valência do íon x (adimensional)
$g_{íon}$	Condutância do íon Na^+ ou K^+ ou de vazamento (Ω^{-1})
I_{inj}	Corrente injetada (A)
x	Deslocamento (m)
N_A	Número de Avogrado ($6,02.10^{23} mol^{-1}$)
S_b	Densidade de Bombas Na^+/K^+ (adimensional)

r	Velocidade cinética ($\text{mol}/\text{m}^3 \cdot \text{s}$)
K_b	Constante cinética ($\text{m}^6/\text{mol}^2 \cdot \text{s}$)
d	Distância (m)
E	Campo elétrico (N/C)
$R_{\text{Na}}, R_{\text{K}}, R_{\text{L}}$	Resistências dos íons Na^+ , K^+ e de vazamento (Ω)
z	Valência (adimensional)
S_{V_Na}	Densidade máxima dos canais sensíveis à tensão do íon sódio (adimensional)
S_{V_K}	Densidade máxima dos canais sensíveis à tensão do íon potássio (adimensional)
$t_{\text{estímulo}}$	Tempo da chegada do estímulo na membrana (s)
$t_{V\text{máx}}$	Tempo quando o potencial de membrana é igual ao seu valor máximo, sendo esse valor dependente do tipo de neurônio (s)
t_{VNa}	Tempo quando o potencial de membrana é igual ao valor de início de processo de fechamento dos canais S_{Na}^v , sendo esse valor dependente do tipo de neurônio (s)
t_{VK}	Tempo quando o potencial de membrana é igual ao valor de início de processo de fechamento dos canais S_K^v , sendo esse valor dependente do tipo de neurônio (s)

LETRAS GREGAS

γ	Constante da equação de diferença de potencial (Nm^4/C^2)
ϵ_i	Permissividade na região i (F/m)
η_{ij}	Densidade iônica do íon j na região i ($\text{íon}/\text{m}^2$)
μ	Mobilidade mecânica (m/Ns)
μ_b	Viscosidade do solvente (cP)
v	Velocidade da partícula (m/s)

ρ_{fi}	Densidade de cargas fixas na região i (C/m^2)
ρ_i	Densidade de cargas na região i (C/m^2)
ρ_{mi}	Densidade de cargas móveis na região i (C/m^2)
σ	Densidade superficial de cargas (C/m^2)
τ	Espessura da membrana (m)
φ	Fator de associação do solvente
ϕ_i	Potencial (V)
δ	Espessura das camadas próximas a membrana (m)
α_m e β_m	Parâmetros determinados com base nos ajustes das curvas de condutividade por Hodgkin e Huxley
α_h e β_h	Parâmetros determinados com base nos ajustes das curvas de condutividade por Hodgkin e Huxley
α_n e β_n	Parâmetros determinados com base nos ajustes das curvas de condutividade por Hodgkin e Huxley
β_{1Na} , β_{1K}	Parâmetro de abertura para os canais S_{Na}^v e S_K^v respectivamente
B_{2Na} , β_{2K}	(adimensional) Parâmetro de fechamento para os canais S_{Na}^v e S_K^v respectivamente(adimensional)

1. Introdução

O sistema nervoso é um dos sistemas mais complexos existentes na natureza. Esta complexidade é o resultado não apenas da interação entre bilhões de neurônios que operam de maneira não linear e comunicam-se usando uma sofisticada arquitetura de sinapses, mas também da flexibilidade e plasticidade desses elementos. Além disso, a complexidade se revela em praticamente todos os níveis: mesmo as propriedades elétricas de um único neurônio, quando isolado da interação sináptica com outras células, emergem da interação de milhares de canais iônicos microscópicos que possuem regras não lineares de plasticidade e funcionamento (Malta *et al*, 2004).

Por todos esses motivos, construir modelos matemáticos satisfatórios para a atividade elétrica do sistema nervoso ou mesmo de um único neurônio biológico não é uma tarefa fácil. Entretanto, a construção de modelos simplificados da atividade elétrica de neurônios é muito importante para a compreensão dos principais mecanismos de geração de sinais em redes neurais e quais os detalhes fisiológicos mais importantes para o seu funcionamento. Além disso, modelos simplificados podem ser usados para desenvolver dispositivos artificiais capazes de simular e até substituir neurônios ou pequenos circuitos neurais biológicos danificados. Dispositivos neurais artificiais também podem ser usados para reconfigurar redes biológicas e produzir circuitos híbridos com novas funções/capacidades ou ainda promover a troca de informação entre tecido neural vivo e um computador digital, abrindo todo um novo horizonte de aplicações.

A abordagem neurofisiológica de um sistema nervoso segue duas linhas de pesquisa. Enquanto uma abordagem biofísica ou de neurofisiologia celular procura obter uma compreensão detalhada dos mecanismos de canais iônicos, sua estrutura, e sua função na transmissão de sinais entre células, a abordagem sistêmica observa a resposta e as propriedades dessas células quando conectadas em redes neurais. Fazer a conexão entre os resultados obtidos com estas diferentes abordagens é frequentemente bastante difícil, em parte devido à abordagem sistêmica basear-se em medidas extracelulares dos potenciais de ação em um ou mais locais do sistema nervoso e, portanto medidas que podem apenas demonstrar indiretamente os mecanismos sinápticos e celulares que produzem os padrões elétricos observados e sua correlação. Neste sentido, o Laboratório de Neuroengenharia

Computacional (NeuroLab) do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) discute um modelo de abordagem biofísica para o potencial pré-sináptico, objetivando em futuros trabalhos a integração do modelo proposto em redes neurais e no desenvolvimento de um modelo que descreva toda a transmissão sináptica que já vem sendo estudado por outros integrantes do laboratório.

1.1 - Objetivo

1.1.1 – Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho é construir um modelo fenomenológico biologicamente realista do potencial pré-sináptico, para ser utilizado na construção de redes neuronais e posteriormente na modelagem completa da transmissão sináptica. A finalidade do modelo é permitir uma melhor compreensão dos mecanismos de transporte de massa envolvidos no aparecimento desse potencial.

1.1.2 – Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho consistem em:

- realizar um levantamento bibliográfico do assunto e dos modelos matemáticos correspondentes presentes na literatura;
- realizar balanços de massa para a região da membrana pré-sináptica;
- desenvolver o programa computacional;
- apresentar e discutir os resultados;
- validar os resultados obtidos.

1.2 – Inovação

O estudo e o desenvolvimento de modelos que descrevam o potencial pré-sináptico são feitos na sua maioria com base em modelos de circuitos elétricos análogos a membrana pré-sináptica. A ausência de

modelos matemáticos que considerem a eletrodifusão através dos canais iônicos e a ação da chamada bomba sódio-potássio, são os principais estímulos para o desenvolvimento do presente trabalho. A inclusão de ambos em um mesmo modelo matemático pode ser considerada uma inovação e será útil para outras pesquisas em andamento do laboratório.

2. Revisão Bibliográfica

Para entender as ações das drogas psicoativas, as causas dos transtornos mentais, e as bases do aprendizado e da memória é necessário entender a transmissão sináptica. Para o melhor entendimento, este capítulo apresentará uma revisão da literatura sobre os aspectos da transmissão sináptica.

2.1 – Sistema nervoso

O sistema nervoso é resultado de uma complexa rede formada pelos neurônios e células da glia que objetiva receber, processar e responder os mais diferentes tipos de estímulos. Sendo que este sistema tem duas funções principais: (1) de regular, na qualidade de restaurar alguma condição do organismo, após algum estímulo externo, e (2) a de agir para modificar uma condição preexistente substituindo-o ou modificando-o (Micheli-Tzanakou, 2000).

Podemos classificar o sistema nervoso em duas partes: sistema nervoso central, SNC – formado pelo encéfalo e pela medula espinhal, e sistema nervoso periférico, SNP – constituído pelos nervos cranianos, raquidianos, simpáticos e parassimpáticos, e os gânglios nervosos.

As células do sistema nervoso podem ser divididas em duas categorias: neurônios e células gliais, que estão representadas na **Figura 2.1**, esses dois tipos celulares são diferenciados com base na estrutura química e funcional. Mesmo que usualmente só se ouça falar dos neurônios como células nervosas, as células gliais são 10 vezes mais numerosas no encéfalo que os neurônios.

A palavra *glia* origina-se da palavra grega empregada para “cola”, sugerindo que a principal função destas células seria manter a coesão do tecido neural (Bear *et al*, 2001). Já é sabido que as células gliais desempenham a função de isolar, nutrir e sustentar os neurônios vizinhos, mas agora se sabe que elas também desempenham função importante na transmissão sináptica (Lent, 2001).

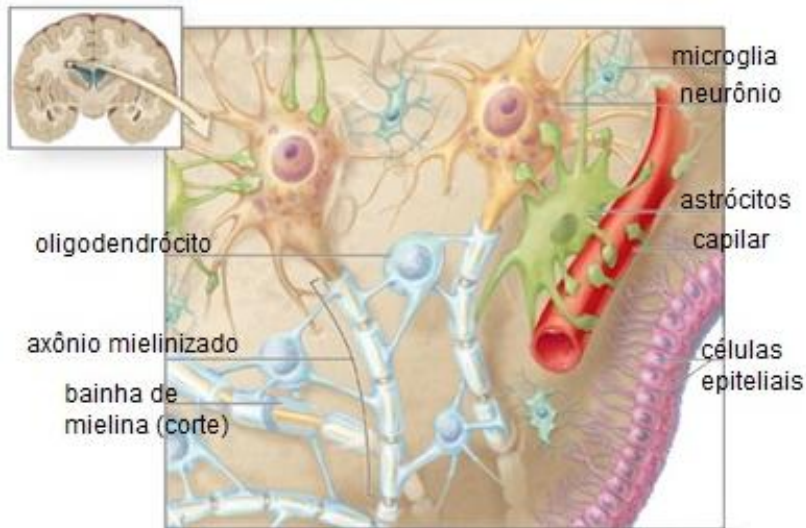


Figura 2.1 – Representação da interação neurônio e glia. Imagem (modificada) retirada do site www.rienstraclinic.com.

Os neurônios apresentam características que os distinguem de células de outros tecidos, por exemplo, eles são relativamente polarizados devidos principalmente a uma distribuição desigual de íons dentro e fora das células. Dos tipos de íons mais abundantes encontrados em ambos os lados da membrana, sódio, cloro e cálcio são encontrados em maior concentração no meio extracelular, enquanto que potássio e ânions orgânicos são encontrados em maior concentração no meio intracelular. A diferença iônica desses íons é mantida por mecanismos de transporte iônicos presentes na membrana celular. Esta membrana celular possui espessura que varia entre 7 a 10 nm (Karp, 2005).

O neurônio consiste de várias partes, como se pode observar na **Figura 2.2**: o soma, os dendritos e o axônio. O conteúdo interno de um neurônio é separado do meio externo por uma membrana limitante, a membrana neuronal, que recobre o neurônio.

Axônios geralmente terminam em outros neurônios por meio de terminais sinápticos e exercem a finalidade de transmissão de sinal. Após o término do axônio encontra-se um contato indireto com a próxima célula chamado sinapse, que será explicado posteriormente.

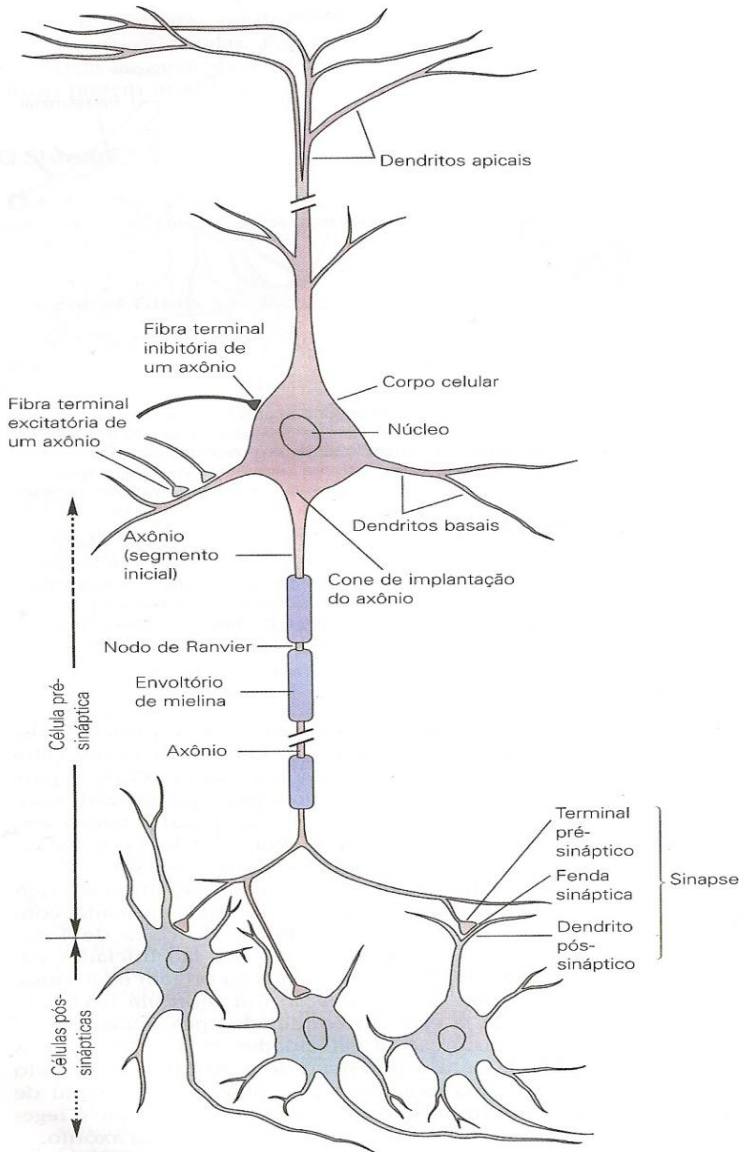


Figura 2.2 – Representação das partes do neurônio. Figura retirada da referência Kandel, 2003.

2.2 – Transportadores iônicos:

Como há corrente iônica mesmo durante o “repouso” é necessário algum mecanismo para manter as diferenças de concentração dos íons, evitando que elas se anulem. Esta tarefa é executada nos neurônios biológicos por um tipo especial de proteínas que existe na membrana, chamadas transportadores iônicos.

O nome “bomba” é uma terminologia de transporte reservada para denominar o mecanismo de transporte ativo primário. “Transporte ativo” refere-se aos processos de transporte que provocam a transferência líquida de um soluto de uma região de menor concentração para uma região de maior concentração.

A mais comum destas proteínas é a bomba de sódio-potássio. Esta proteína usa uma ATP para em um ciclo bombear dois íons *sódio* para fora do neurônio, ao mesmo tempo em que três íons *potássio* são bombeados para dentro.

Transporte ativo secundário refere-se ao processo que medeia os movimentos do soluto, mas não usa diretamente a energia metabólica; ao invés, a energia requerida é derivada do movimento de um ou mais solutos diferentes, para os quais existe uma favorável diferença de potencial eletroquímico (Geck and Heinz, 1989; Heinz *et al*, 1989). O termo trocador é usado quando a translocação do outro soluto que usa o mesmo carregador é na direção oposta. Quando a translocação dos solutos ocorre na mesma direção, através do mesmo carregador, o termo co-transportador é usado.

2.3 – Canais iônicos

Canais iônicos são uma classe de proteínas da membrana plasmática presente em todas as células do corpo. Os canais das células nervosas estão especificamente adaptados para o processamento rápido de informações (Kandel *et al*, 2003).

Os canais iônicos têm três importantes propriedades: eles conduzem íons; possibilitam a passagem de íons específicos; e se abrem e se fecham em resposta a sinais elétricos (canais dependentes de tensão que são regulados por alterações na diferença de potencial), mecânicos (canais controlados por estímulos mecânicos como pressão ou estiramento) ou químicos (canais dependentes de ligantes que são regulados por transmissores químicos).

Além dos canais regulados, existem os que não são modulados e que estão normalmente abertos, sendo sua principal função a manutenção do potencial de membrana no repouso. Esses canais são chamados de canais passivos.

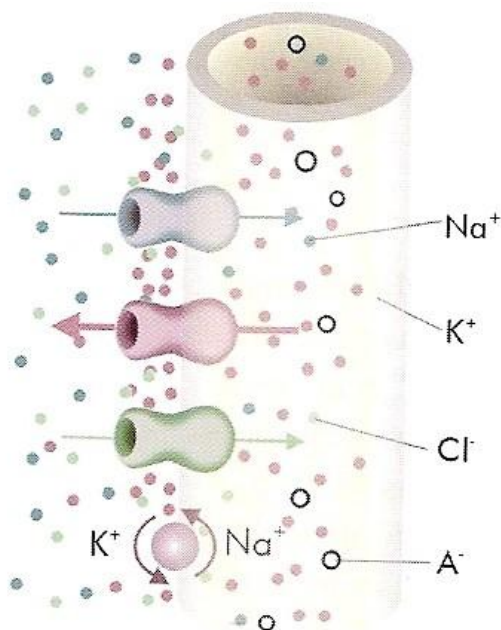


Figura 2.3 – Representação da membrana neuronal no repouso. Figura retirada da referência Lent, 2001.

2.3.1 - Canais de sódio

Tecidos excitáveis, tais como nervos, músculos esqueléticos e coração contêm canais de sódio sensíveis à tensão que medeiam a rápida ativação e inativação da corrente de Na^+ no potencial de ação.

A maior densidade desses canais foi encontrada nos nódulos de Ranvier de axônios mielinizados, apoiando a visão clássica da distribuição axonal dos canais de sódio e seu papel na propagação do potencial de ação (Magee, 2008).

Os canais sensíveis à tensão de sódio foram classificados inicialmente pela sua sensibilidade à tetrodotoxina (TTX). Os canais sensíveis a tetrodotoxina (TTXs) são os canais de sódio predominantes nos neurônios, já os canais resistentes a tetrodotoxina (TTXr) parecem ser encontrados principalmente durante desenvolvimento do sistema nervoso (Novakovic *et al.*, 2001).

Por imunocitoquímica a subunidade Nav1.2 parece exibir uma distribuição homogênea em axônios não mielinizados das células ganglionares da retina, enquanto que a subunidade Nav1.6 é mais encontrada nos nós de Ranvier e no cone axonal (Magee, 2008).

Esses tecidos também possuem canais passivos de sódios que possibilitam o influxo do íon, mas são encontrados poucos desses canais na membrana (Kandel *et al.*, 2003).

A concentração de sódio no meio intracelular é de 18 mM enquanto a concentração no meio extracelular é de 142 mM (Teixeira *et al.*, 2001).

2.3.2 - Canais de potássio

Os canais de K^+ sensíveis à tensão são concentrados em várias regiões neuronais, incluindo terminais pré-sinápticos, os nós de Ranvier, e dendritos, onde eles regulam a excitabilidade da membrana local (Fujita *et al.*, 2001).

Nos últimos 15 anos mais de 70 subunidades de canais de potássio foram identificadas, mas pouco se sabe sobre os canais sensíveis a tensão de potássio na região do terminal pré-sináptico (Dodson *et al.*, 2004).

Uma célula nervosa possui muitos canais passivos de potássio que permitem o respectivo íon a vaziar para fora da célula (Kandel *et al.*, 2003).

Funcionalmente, canais de potássio sensíveis à tensão podem ser divididos em três grupos baseados na sensibilidade a despolarização e suas propriedades de inativação. Os canais ativados por baixa tensão que começam a ativar em despolarizações modestas perto do potencial de repouso, enquanto que os canais ativados por alta tensão exigem uma despolarização substancial (0 mV) para alcançar ativação significativa e, portanto, participam apenas na ação de repolarização do potencial. O terceiro tipo de canal de potássio é ativado na despolarização e, em seguida, rapidamente sofre inativação (Dodson *et al.*, 2004).

No repouso a concentração de potássio encontrada na região intracelular é de 140 mM enquanto a concentração na região extracelular é de 4 mM (Teixeira *et al.*, 2001).

2.3.3 - Canais de cálcio:

A concentração livre de cálcio no citoplasma em células no repouso é geralmente na faixa de nano molar (aproximadamente 100 nM), e o meio extracelular aproximadamente 3mM (Bittar *et al.*, 1996). Essas concentrações são mantidas por transportadores de cálcio que podem ser divididos em 3 categorias: canais (que podem ser controlados pelo potencial de membrana ou por ligantes), trocadores e bombas (Bittar *et al.*, 1996).

O nível de cálcio intracelular aumenta rapidamente depois da despolarização no ponto $t = 0$ s, de valores basais ao nível máximo de 450-500 nM. Depois de alguns segundos o nível decresce lentamente em direção ao estado estacionário de aproximadamente 350 nM (Tareilus *et al.*, 1995). Mas, estudos supõem que as concentrações de cálcio não estão envolvidas na geração de sinais pré-sináptico (Tareilus *et al.*, 1995), portanto, o papel central dos canais pré-sinápticos sensíveis à tensão de cálcio é o desencadeamento da secreção de neurotransmissores no terminal pré-sináptico e não participam da construção do potencial pré-sináptico.

2.3.4 – Canais de cloro

É agora estabelecido que o cloro possui função vital na fisiologia das células em geral e, ao contrário do que era conhecido, não é distribuído em equilíbrio termodinâmico na maioria das células. O cloro é transportado ativamente e fortemente regulado em praticamente todas as células. A concentração intracelular de cloro em células no estado estacionário é determinada pela contribuição relativa de vários sistemas de transporte de ânions que incluem canais de cloro como também vários co-transportadores e transportadores, mas até onde sabemos, o transporte de cloro nas células animais é feita somente por mecanismo secundário de transporte ativo e não por bombas de cloro (Gerencser and Zhang, 2003).

Esses transportes ativos mantêm no repouso a concentração de cloro interna de 16 mM e a externa de 103 mM (Teixeira *et al*, 2001).

Se o movimento do cloro ocorresse através de canais por eletrodifusão, ou por meio de um transportador eletrogênico, o potencial de membrana, E_m , deveria mudar tanto sobre o efluxo de cloro quanto sobre o influxo. No entanto, não é isso que ocorre. Desde que a membrana celular tem uma permeabilidade relativamente baixa ao cloro, os movimentos de cloro ocorrem em grande parte por meio de um mecanismo de transporte eletroneutro (como o próprio nome diz, não envolve movimentação de cargas através da membrana).

Dentre esses vários sistemas de transporte temos um transportador eletroneutro $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ que possui função central na regulação do pH intracelular e a família de co-transportadores eletros-neutros cátion-cloro: um co-transportador Na^+/Cl^- (NCC), dois co-transportadores $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ (NKCC1, NKCC2) e quatro co-transportadores K^+/Cl^- (KCC1, KCC2, KCC3, KCC4).

Por serem mecanismos de transporte eletricamente neutro, o fluxo líquido através desses transportadores não afeta e nem é afetado pelo potencial trans-membrânico, ou seja, o transporte não gera diretamente corrente elétrica que possa mudar o potencial trans-membrânico (Alvarez-Leefmans, 2001).

2.4– Sinapse Químicas

Sinapse química é um contato especializado indireto entre terminal axonal e outro neurônio ou tipo de célula. O sentido mais frequente do fluxo de informação (**Figura 2.4**) é da membrana pré-sináptica (que normalmente é o terminal axonal) a membrana pós-sináptica (que normalmente são os dendritos).

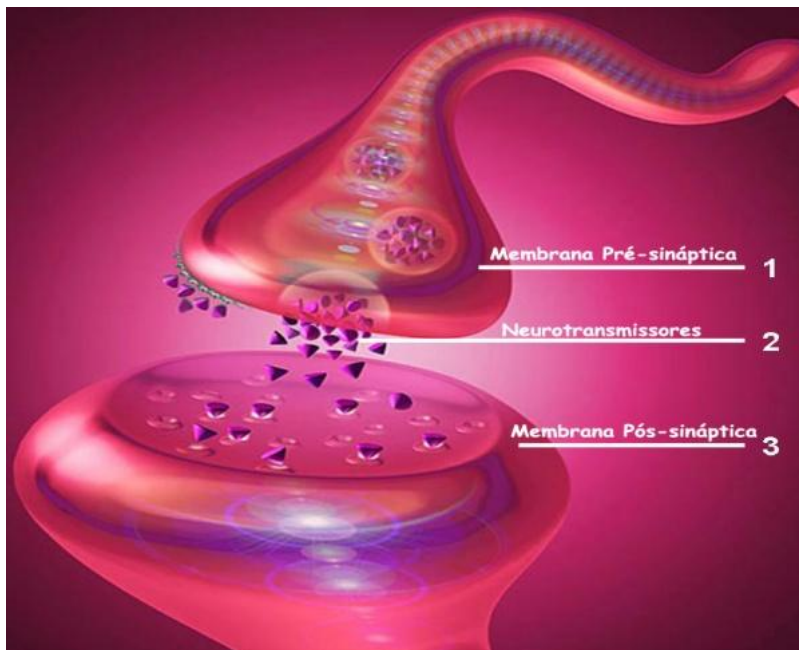


Figura 2.4 – Representação do sentido mais frequente do fluxo de informação. Imagem (modificada) retirada do site www.netxplica.com.

As membranas pré e pós-sináptica são separadas pela fenda sináptica, com largura de 20 a 50nm (Bear *et al*, 2001). A fenda é preenchida com uma matriz extracelular de proteínas fibrosas, sendo sua função manter a adesão entre as membranas pré e pós-sinápticas. Uma membrana pré-sináptica típica contém vesículas sinápticas, cada qual com um diâmetro aproximado de 50nm (Bear *et al*, 2001), sendo que o diâmetro do botão pré-sináptico (botão axonal) é de 4 a 5 μ m (Luscher *et al*, 1990). Estas vesículas armazenam neurotransmissores, substâncias químicas utilizadas na comunicação com os neurônios pós-sinápticos, que são liberados em quantidades quânticas.

Para que essas vesículas sejam liberadas é necessário que um potencial de ação se forme no soma e quando esse chegar à membrana pré-sináptica (potencial pré-sináptico) modifique a dinâmica iônica ali presente.

Os potenciais de ação podem se propagar sem decremento ao longo dos nervos porque a membrana axonal é excitável e tem canais de sódio e potássio sensíveis à voltagem. Para esta informação ser processada pelo restante do sistema nervoso, é necessário que tais sinais

sejam transmitidos a outros neurônios ou células não-nervosas. Esta transmissão chama-se *Transmissão Sináptica*.

Existem dois tipos de sinapses: excitatórias e inibitórias. Como os nomes implicam, elas aumentam a frequência de acendimento dos neurônios pós-sinápticos ou diminuem, respectivamente (Micheli-Tzanakou, 2000).

2.5 – Potencial de membrana

O potencial de membrana no repouso é dependente do tipo celular; sendo este marcado por uma diferença na distribuição de cargas entre o interior e o exterior dessas mesmas células, sendo o interior negativo relativamente ao exterior, o que está representado na **Figura 2.5A**. As bases iônicas deste potencial de repouso estão fundamentalmente relacionadas com dois aspectos: (1) as distribuições de sódio e potássio no meio intra e extracelular e (2) a permeabilidade seletiva de algum desses íons (Purves *et al*, 2004).

A diferença na distribuição de cargas que existe entre o interior e o exterior da célula é característica de cada tipo celular. Para exemplificar isso sabemos que o potencial de repouso de um neurônio é de aproximadamente -70mV, do músculo esquelético é de -90mV, e de várias células musculares lisas é de -60mV.

O potencial de membrana (V_m) é definido como (Kandel *et al*, 2003)

$$V_m = V_{in} - V_{out} \quad (2.1)$$

sendo V_{in} o potencial da parte interna da célula e V_{out} o potencial da parte externa.

Como, por convenção, atribui-se o valor zero para o potencial extracelular, o potencial de repouso é igual a V_{in} , como pode ser visto na **Figura 2.5B e 2.5C**.

São quatro os tipos iônicos mais encontrados em qualquer lado da membrana, o sódio, o cloro, o potássio e os ânions orgânicos, sendo que os dois primeiros possuem maior concentração no meio externo da célula e os dois últimos possuem maior concentração no meio intracelular. Os ânions orgânicos são principalmente aminoácidos e proteínas e permanecem no interior da célula. (Kandel *et al*, 2003).

Se considerássemos que uma célula possuísse apenas canais para um dos íons descritos acima, o potencial de repouso seria determinado apenas pelo gradiente de concentração do íon que seria calculado pela equação de Nernst (Purves *et al*, 2004),

$$E_x = \frac{RT}{z_x F} \ln \frac{[X]_o}{[X]_i} \quad (2.2)$$

na qual:

$[X]_i$	Concentração do íon x no meio interno (mol/l);
$[X]_o$	Concentração do íon x no meio externo (mol/l);
E_x	Potencial do íon x (V);
F	Constante de Faraday (96485,34C/mol);
R	Constante dos gases (8,314J/mol.K);
T	Temperatura (K);
z_x	Valência do íon x.

Os dois íons mais relevantes para o potencial de membrana são os íons sódio e potássio.

O sódio é mais concentrado fora da célula do que dentro. Portanto, ele tende a fluir para dentro da célula como resposta ao gradiente químico. Ao mesmo tempo é atraído para dentro da célula pela diferença de potencial elétrico negativo através da membrana. O influxo de cargas positivas (Na^+) despolariza a célula (Kandel *et al*, 2003).

Com esta despolarização o fluxo em direção ao meio extracelular de potássio através da membrana não está mais em estado estacionário. Quanto maior a despolarização do potencial de membrana, afastando-o do potencial de equilíbrio do potássio, maior a força eletroquímica para a saída do potássio da célula, e, portanto maior o efluxo de potássio (Kandel *et al*, 2003).

Por possuir relativamente poucos canais passivos de sódio (Kandel *et al*, 2003), o influxo deste íon é pequeno. Ao contrário a célula possui muitos canais passivos de potássio e, conseqüentemente, com um grande efluxo.

Para manter o potencial de membrana no estado estacionário, ou seja, manter constante a separação de cargas através da membrana, a bomba de sódio e potássio transporta esses íons contra seus gradientes eletroquímicos: ela transporta três sódios para fora da célula e dois potássios para dentro.

O potencial de membrana é determinado principalmente pelos fluxos de sódio e potássio em conjunto, os quais podem ser calculados

por meio da equação de Goldman (**Equação 2.3**). Esta equação leva em consideração não só as concentrações intra e extracelulares dos íons, mas também suas permeabilidades.

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o} \quad (2.3)$$

Onde P_K , P_{Na} e P_{Cl} são as permeabilidades dos íons potássio, sódio e cloro respectivamente.

Tal equação só é válida quando V_m está estável. Ela estabelece que quanto maior a concentração e a permeabilidade da membrana a uma determinada espécie iônica, maior sua participação na determinação do potencial de membrana (Kandel *et al*, 2003).

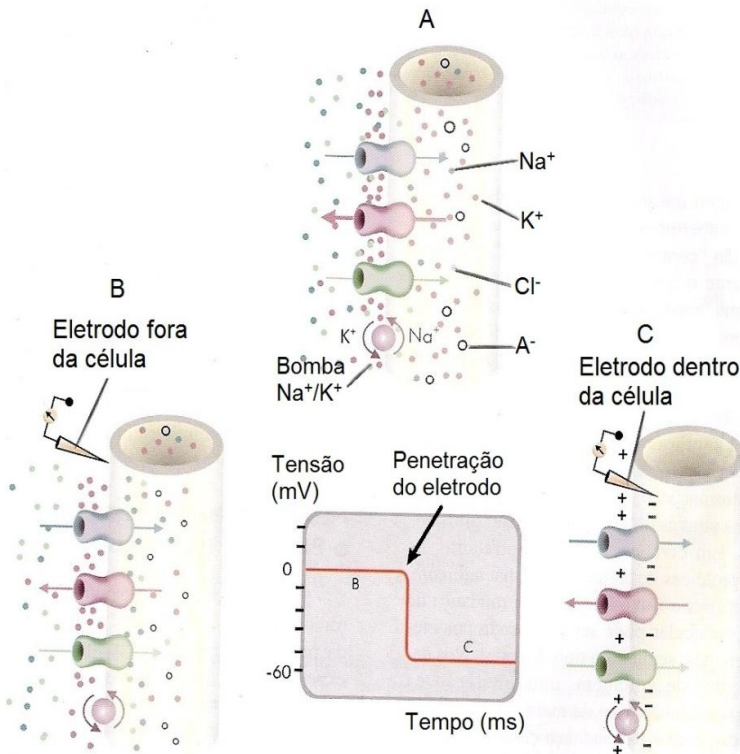


Figura 2.5- Representação da leitura experimental do potencial de membrana. Figura(modificada) retirada da referência Lent, 2001.

2.6 – Potencial pré-sináptico

O potencial pré-sináptico se inicia com a chegada do potencial de ação à membrana pré-sináptica. Antes da chegada do potencial de ação, a membrana pré-sináptica permanece em repouso (**Figura 2.6A**).

No início, os canais de sódio sensíveis à tensão tornam-se ativados, permitindo um aumento da condutância do sódio e fazendo com que os íons sódio sejam transportados por esses canais, aumentando a permeabilidade da membrana ao sódio. Após a abertura dos canais de sódio sensíveis à tensão começa um processo de fechamento que só ocorre alguns décimos de milésimos de segundo depois da sua abertura (fase de despolarização que pode ser observada na **Figura 2.6B**) (Kandel *et al*, 2003). O início do potencial pré-sináptico também leva à ativação, pela tensão, dos canais de potássio, fazendo-os abrir em fração de milisegundos após a abertura dos canais de sódio (fase de repolarização representada na **Figura 2.6C**). Ao término do potencial pré-sináptico, o retorno do potencial de membrana ao seu estado negativo faz com que os canais de potássio se fechem, voltando ao seu estado original, o que só ocorre após breve hiperpolarização (**Figura 2.6D**).

O agente necessário para a produção da despolarização e da repolarização da membrana, durante o potencial pré-sináptico, são os canais de sódio e potássio sensíveis à tensão. Esses dois canais sensíveis à tensão existem juntamente com a bomba de sódio-potássio e os canais passivos (canais que estão constantemente ativados) de sódio e potássio (Bear *et al*, 2001).

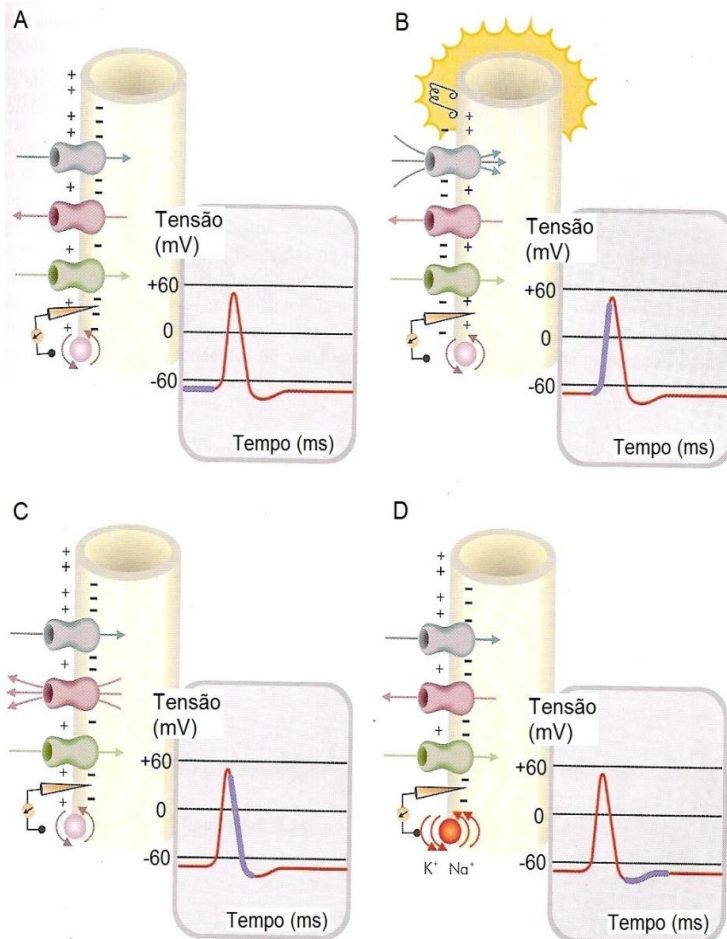


Figura 2.6 – Representação da dinâmica iônica durante o potencial de ação. Figura (modificada) retirada da referência Lent, 2001.

2.7 - Transmissão sináptica

A transmissão sináptica é o processo pelo qual informação gerada ou processada por um neurônio é transmitida a outro neurônio ou célula efetora. A **Figura 2.7** apresenta uma representação da transmissão sináptica.

Para que ocorra a transmissão sináptica é necessária a liberação de neurotransmissores que é desencadeada pela chegada de um potencial de ação ao terminal axonal (potencial pré-sináptico) como pode ser visto na **Figura 2.7A** e **2.7B**. A despolarização da membrana do terminal provoca a abertura de canais de cálcio sensíveis à tensão com consequente entrada de cálcio no citoplasma do terminal axonal (**Figura 2.7C**). A elevação da concentração de cálcio resultante é o sinal que causa a liberação dos neurotransmissores das vesículas sinápticas (**Figura 2.7D**).

A membrana da vesícula sináptica funde-se com a membrana pré-sináptica nas zonas ativas, permitindo que os conteúdos das vesículas sejam liberados na fenda sináptica, sendo que as moléculas de neurotransmissores sofrem difusão através da fenda (Ventriclia e Di Maio, 2000).

Neurotransmissores liberados dentro da fenda sináptica afetam os neurônios pós-sinápticos por se ligarem aos receptores que estão embutidos nas membranas pós-sinápticas.

Os receptores ativados por neurotransmissores são proteínas transmembrânicas, que juntas formam um poro entre elas. A ligação do neurotransmissor ao receptor é como inserir uma chave em uma fechadura: isto induz uma mudança conformacional na proteína e causa a abertura do poro.

Uma vez que os neurotransmissores liberados tenham interagido com receptores pós-sinápticos, eles devem ser removidos da fenda sináptica para permitir um novo ciclo de transmissão sináptica. Esta recaptação é feita pela ação de transportadores protéicos específicos para neurotransmissores presentes principalmente na membrana glial e também na membrana pré e pós-sináptica (Di Maio, 2008).

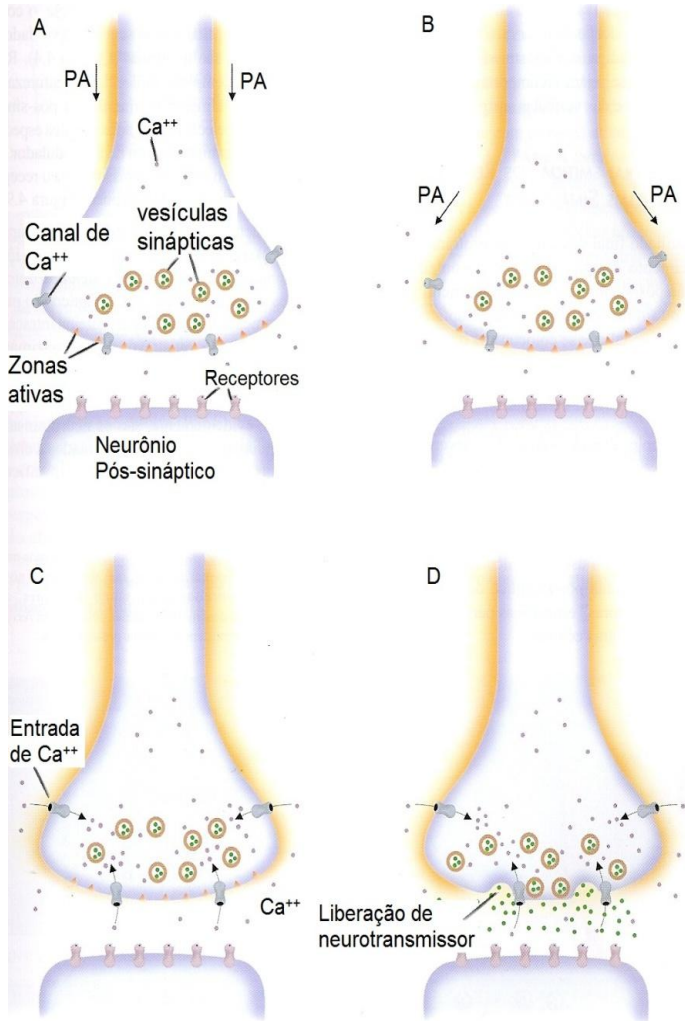


Figura 2.7 – Representação artística da transmissão sináptica. Figura (modificada) retirada da referência Lent, 2001.

Além dos receptores ativados por neurotransmissores, também existem os receptores sensíveis à tensão, que para se abrirem precisam da existência de uma diferença de potencial adequada, com consequente mudança de conformação e abertura do mesmo.

As transmissões sinápticas mais rápidas na maioria das sinapses do sistema nervoso central são mediadas pelos aminoácidos glutamato (Glu), gama-aminobutírico (GABA) e glicina (Gli) (Di Maio, 2008).

O papel da glia, particularmente dos astrócitos na captação e na reciclagem do glutamato, é absolutamente essencial (Di Maio, 2008). Na verdade, é a membrana pré e pós-sináptica que parece desempenhar uma função auxiliar nessa atividade.

A **Figura 2.8** apresenta uma imagem microscópica da sinapse.

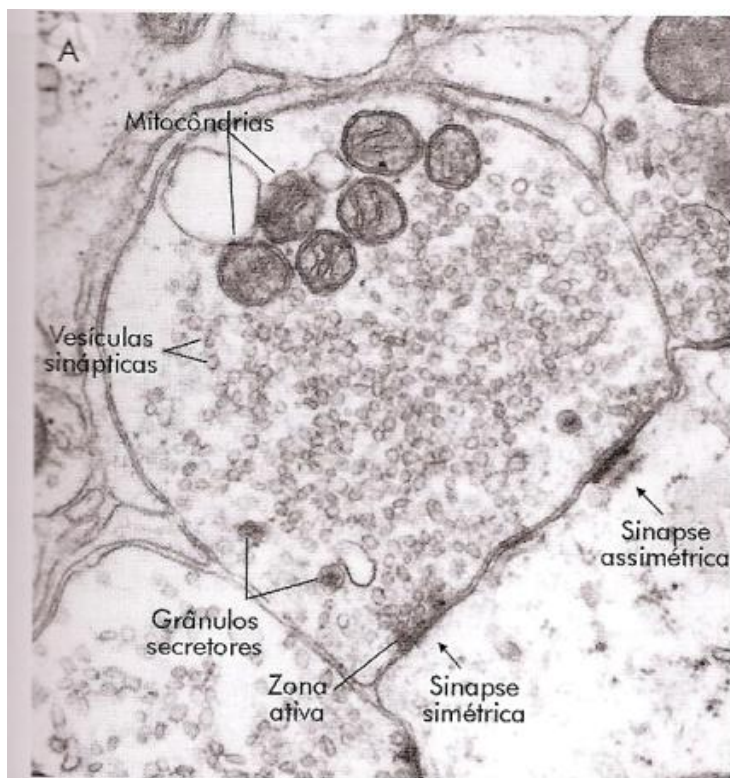


Figura 2.8 – Imagem microscópica da sinapse. Figura retirada da referência Lent, 2001.

2.8 – Modelos Matemáticos

2.8.1 - Modelo de Hodgkin-Huxley (Modelo H-H)

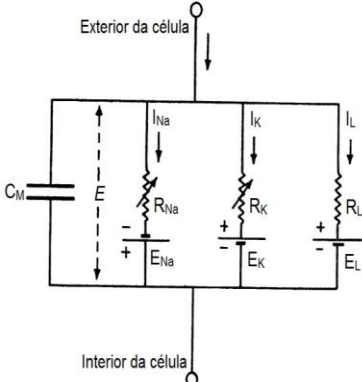
Os trabalhos de Hodgkin e Huxley (1952) esclareceram os mecanismos iônicos responsáveis pela geração de um potencial de ação com o axônio gigante da lula na primeira metade do Século XX.

Para eliminar a complexidade introduzida pela distribuição espacial dos canais iônicos, um fio axial condutor foi introduzido no axônio e utilizado para manter fixo o potencial elétrico através da membrana axonal. Essa técnica ficou conhecida como “space clamp”, pois elimina a dependência da posição onde é medido o potencial da membrana. Deste modo, o axônio se comporta como um capacitor, isopotencial em toda sua extensão. Estes mesmos autores também desenvolveram uma técnica que ficou conhecida como “voltage clamp”, em que a membrana do axônio é submetida a um potencial elétrico fixo e a corrente elétrica necessária para manter este potencial é medida. Desta forma, variando o potencial elétrico aplicado é possível construir uma curva de corrente elétrica versus potencial elétrico como é normalmente feito para descobrir as características de componentes elétricos.

Um circuito elétrico equivalente e um modelo fenomenológico foram desenvolvidos por Hodgkin e Huxley para explicar os eventos observados durante a ocorrência de um potencial de ação no axônio gigante da lula. Na **Tabela 2.1** resume-se o modelo:

Tabela 2.1 – Resumo do Modelo H-H:

$I_m(t) = I_{iônica}(t) + C_m \frac{dV_m(t)}{dt} \quad (2.4)$	<p>A corrente de membrana é dada pela soma da corrente capacitiva e de uma corrente iônica</p>
<p>C_m – capacitância da membrana (F);</p>	
<p>$I_{iônica}$ – corrente iônica (A);</p>	
<p>I_m – corrente de membrana (A);</p>	
<p>t – tempo (s).</p>	
<p>V_m – diferença de potencial da membrana (V);</p>	

$I_{\text{iônica}}(t) = I_{Na} + I_K + I_L \quad (2.5)$ <p> I_K – corrente provocada pelo íon K^+ (A); I_{Na} – corrente provocada pelo íon Na^+ (A); I_L – corrente de vazamento (A); </p>	<p>A corrente iônica é dada pela soma de correntes iônicas para íons específicos. Há três correntes iônicas responsáveis pela geração do potencial de ação: de sódio, de potássio e dos outros íons (cloro etc.). Esta última corrente é chamada de corrente de vazamento</p>
$I_{\text{ion}}(t) = g_{\text{ion}}(V_m(t), t)(V_m(t) - E_{\text{ion}}) \quad (2.6)$ <p> I_{ion} – corrente iônica do íon Na^+ (I_{Na}) ou K^+ (I_K) ou de vazamento (I_{vaz}); g_{ion} – condutância do íon Na^+ ou K^+ ou de vazamento (Ω^{-1}); E_{ion} – potencial do íon Na^+ ou K^+ ou de Vazamento (V); </p>	<p>A corrente iônica para um dado íon é modelada por uma resistência (variável com a diferença de potencial e com o tempo) em série com uma bateria cujo o potencial elétrico é dado pelo potencial de Nernst do íon</p>
<div style="text-align: center;">  </div> <p>(Retirada e modificada de HODGKIN; HUXLEY, 1952)</p> <p>R_{Na}, R_K, R_L – resistência dos íons Na^+, K^+ e de Vazamento (Ω).</p>	<p>O circuito elétrico equivalente ao modelo de Hodgkin-Huxley para a membrana do axônio gigante da lula</p>

$g_k(V, t) = \bar{g}_k n^4(V, t) \quad (2.7)$ $\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V) \quad (2.8)$ <p>n – variável de ativação do potássio; α_n e β_n – parâmetros determinados com base nos ajustes das curvas de condutividade por Hodgkin e Huxley.</p>	<p>Expressões empíricas que representa o comportamento da condutividade do potássio para cada valor de V</p>
$g_{Na}(V, t) = \bar{g}_{Na} m^3(V, t) h(V, t) \quad (2.9)$ $\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V) \quad (2.10)$ $\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V) \quad (2.11)$ <p>m – variável de ativação do sódio; h – variável de inativação do sódio; α_m, β_m, α_h e β_h – parâmetros determinados com base nos ajustes das curvas de condutividade por Hodgkin e Huxley.</p>	<p>Expressões empíricas que representa o Comportamento da condutividade do sódio para cada valor de V</p>
$C_m \frac{dV}{dt} = \bar{g}_{Na} m^3 h(V - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4(V - E_K) + g_L(V - E_L) + I_{inj} \quad (2.12)$ <p>I_{inj} – corrente injetada (A).</p>	<p>Variação do potencial elétrico do modelo de Hodgkin e Huxley</p>

2.8.2 – Equação de Poisson-Boltzmann aplicada na membrana do neurônio

Diferentemente do modelo H-H, o modelo que usa a equação de Poisson-Boltzmann para descrever o potencial de ação envolve a diferença de concentração dos dois lados da membrana neuronal.

Neste modelo a membrana é representada por um filme dielétrico com espessura h , que é limitado em cada lado por dois planos paralelos de superfícies infinitas. Estes planos separam o filme de duas fases aquosas de diferentes concentrações de eletrólitos (Cortez-Maghelly e Bisch, 1993).

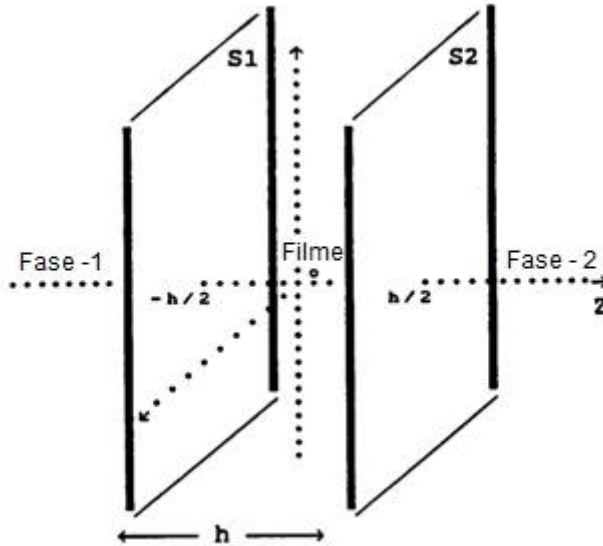


Figura 2.9 – Representação da bicamada lipídica. Figura(modificada) retirada da referência Cortez-Maghelly e Bisch, 1993.

Supondo que o meio seja homogêneo e isotrópico a equação de Poisson fornece:

$$\nabla^2 \phi_i = -\frac{\rho_i}{\varepsilon_i} \quad (2.13)$$

onde ϕ_i representa o potencial, ρ_i a densidade de cargas e ε_i a permissividade em cada região, onde $i = 1$ representa o meio extracelular, $i = 2$ a bicamada e $i = 3$ o meio intracelular.

O cálculo da densidade de cargas é feita pela soma das cargas fixas do meio, ρ_f e das cargas dissolvidas no solvente ou também chamadas de móveis, ρ_m . Em equilíbrio ρ_m é determinada pela equação de Boltzmann (Cruz *et al.*, 2000):

$$\rho_{mi} = \sum_j q_{ij} \eta_{ij} \exp \left[-\frac{q_{ij} \phi_i}{k_B T} \right] \quad (2.14)$$

Onde q_{ij} é a carga de cada íon j na região i , η_{ij} é a densidade de íons do tipo j por unidade de volume na região i , ϕ_i é o potencial eletrostático na região i , k_B é a constante de Boltzmann e T a temperatura absoluta.

Assim a equação que descreve a variação do potencial para as regiões intra e extracelulares seria a **Equação 2.15**, já que é considerado

que nessas regiões não possuem cargas fixas. Considerando para a região da bicamada que $\rho=0$, visto que a densidade de cargas elétricas positivas e negativas são iguais, a equação que descreve a variação do potencial seria a **Equação 2.16**.

$$\vec{\nabla}^2 \phi_i = -\frac{1}{\epsilon_i} \sum_j q_{ij} n_{ij} \exp\left[-\frac{q_{ij}\phi_i}{k_B T}\right] \text{ onde } i=1 \text{ ou } 3 \quad (2.15)$$

$$\vec{\nabla}^2 \phi_2 = 0 \quad (2.16)$$

2.9 – Lei de Fick

Entende-se por difusão o transporte de massa de moléculas individuais por uma barreira ou espaço livre, que ocorre segundo um processo estotástico, e que depende de um gradiente de concentração.

Difusão é a tendência que as moléculas apresentam de migrar de uma região de concentração elevada para outra região de concentração baixa e, é uma consequência direta do movimento browniano (movimento ao acaso). O movimento browniano das moléculas garante que o sistema passe de um estado inicial, certamente fora do equilíbrio, para um estado final de energia livre mínima e entropia máxima e, portanto, em equilíbrio.

O fisiologista Adolph Fick foi um dos primeiros a estudar o processo de difusão através de membranas biológicas. Considere o modelo da **Figura 2.10**: uma fina barreira permeável (membrana) separa dois reservatórios contendo uma solução neutra. A espessura da membrana é d e há uma diferença na concentração do soluto S de um lado para o outro da membrana,

$$\Delta[S] = [S]_1 - [S]_2 \quad (2.17)$$

onde 1 é o lado de dentro da célula e 2 é o lado de fora da célula.

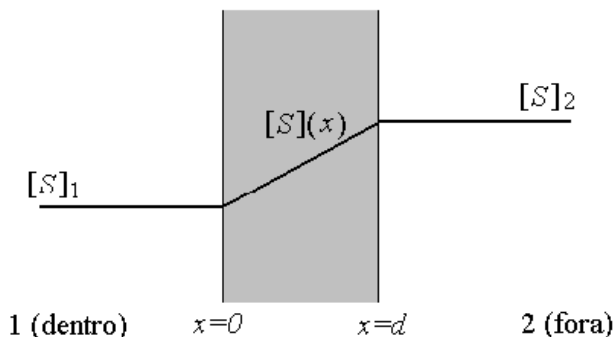


Figura 2.10 – Representação de uma membrana permeável.

Em analogia com o fluxo de calor entre dois corpos a temperaturas diferentes, Fick propôs que o fluxo J_s do soluto S é proporcional ao gradiente de concentração,

$$J_s = -D \frac{\partial [S]}{\partial x} \quad (2.18)$$

onde D é o coeficiente de difusão (suposto como independente de x).

As unidades de D são independentes das unidades usadas para quantidades de partículas (moles ou números de partículas), desde que sejam usadas unidades consistentes tanto para concentração como para o fluxo.

A **Equação 2.18** é conhecida como a primeira lei de Fick. Esta lei estabelece que o fluxo de massa é proporcional à diminuição da concentração e inversamente proporcional à distância.

O termo “fluxo” de alguma coisa representa a quantidade “dessa coisa” que passa através de uma superfície de área unitária por unidade de tempo. Segundo esta definição, o fluxo é um vetor. Porém, por simplicidade, vamos considerar aqui movimento apenas em uma direção (a direção x da **Figura 2.10**). Esta aproximação é válida quando não existir gradiente de concentração em uma direção paralela a membrana, que será o caso considerado aqui.

O sinal negativo na Lei de Fick indica que o fluxo se dá de uma região de alta concentração para uma de baixa concentração.

Uma característica da Lei de Fick deve ser notada: a lei implica uma independência de fluxos. O fluxo do soluto S é independente do

fluxo de outros solutos X e Y , ou seja, não existe acoplamento entre os fluxos.

Combinando a Lei de Fick com a lei de conservação da massa (**Equação 2.19**) obtém a equação de difusão (**Equação 2.20**),

$$\frac{\partial J_s(x,t)}{\partial x} = - \frac{\partial [S](x,t)}{\partial t} \quad (2.19)$$

$$\frac{\partial [S]}{\partial t} = D \frac{\partial^2 [S]}{\partial x^2} \quad (2.20)$$

Pode-se resolver a **Equação 2.20** para obter a concentração $[S](x,t)$ variando com o tempo no interior da membrana à medida que o transporte se processa, sendo a **Equação 2.20** chamada de segunda Lei de Fick.

A segunda Lei de Fick representa a velocidade de alteração da concentração de soluto em função do tempo e do deslocamento (Geankoplis, 1998).

2.10 – Eletrodifusão

Outro mecanismo de transporte de soluto ocorre quando as partículas estão sujeitas a um campo de força, como o campo gravitacional ou um campo elétrico, no caso em que as partículas têm carga. O movimento do soluto causado por um campo de força é chamado de migração ou arrasto. A componente do fluxo de soluto devida ao arrasto em um campo de força também pode ser escrita como o produto da velocidade de movimento das partículas devido à força pela concentração. A mobilidade mecânica de uma partícula, μ , é definida como a razão entre a velocidade da partícula (v) e a força sobre a partícula (f), $\mu \equiv v/f$.

Em termos da mobilidade mecânica, o fluxo de partículas de soluto na presença de difusão e arrasto devido a um campo de força pode ser escrito como (Atkins *et al*, 2002)

$$J_s = -D \frac{\partial [S]}{\partial x} + \mu [S] f \quad (2.21)$$

onde J_s é o fluxo do soluto, D é o coeficiente de difusão, $[S]$ é a concentração do soluto.

No caso em que houver uma diferença de concentração iônica entre os dois lados de uma membrana celular, o fluxo de íons através da membrana será afetado não apenas pelo gradiente de concentração, mas também pelo campo elétrico gerado através da membrana pela presença dos íons.

A ação do campo elétrico resulta numa força de arrasto sobre as partículas. Vamos supor que esta força esteja na direção positiva de x , implicando que entre duas colisões elas sejam aceleradas na direção x . Esta aceleração causa um incremento na velocidade na direção x durante o intervalo entre colisões. O fluxo de partículas devido a esse arrasto provocado pela força externa é

$$J_{s \text{ arrasto}} = [S]v = \mu[S]f \quad (2.22)$$

Considerando que as partículas são íons (portanto, com carga) de valência z e que a força f é causada por um campo elétrico com intensidade $E = -\partial V/\partial x$, onde V é o potencial elétrico, então, a força elétrica sobre uma partícula é,

$$f = qE = zeE = -ze \frac{\partial V}{\partial x} \quad (2.23)$$

onde q é a carga do íon, z é a valência do íon e “ e ” é a carga elementar ($1,602 \times 10^{-19}$ C). Combinando as duas últimas equações,

$$J_{s \text{ arrasto}} = -[S]\mu ze \frac{\partial V}{\partial x} \quad (2.24)$$

Esta equação é chamada de lei de Planck (Freedman *et al*, 2001).

A lei de Planck é análoga a Lei de Ohm ($J = \sigma E$) para o movimento de partículas carregadas em um meio viscoso. Note que ela implica que o movimento de cargas elétricas positivas ($z > 0$) ocorre no sentido oposto ao do gradiente do potencial elétrico $V(x)$.

Existe uma relação, determinada por Einstein em seu trabalho sobre o movimento browniano de 1905, entre a mobilidade iônica μ e o coeficiente de difusão D , conhecida como relação de Einstein (Freedman *et al*, 2001):

$$D = \mu k_b T \quad (2.25)$$

onde k_b é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23}$ J/K) e T é a temperatura absoluta.

Graças a esta relação, quando os efeitos do gradiente de concentração e do gradiente de potencial elétrico são combinados para o cálculo do fluxo de partículas carregadas, obtemos a seguinte equação (chamada de Equação de Nernst-Planck) (Atkins *et al*, 2002):

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} - \mu q C \frac{\partial V}{\partial x} = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} + \frac{qC}{k_b T} \frac{\partial V}{\partial x} \right) \quad (2.26)$$

A equação de Nernst-Planck costuma ser escrita na literatura de diversas formas. Uma outra forma bastante comum pode ser obtida lembrando que

$$k_b = \frac{R}{N_A} \rightarrow \frac{k_b}{q} = \frac{R}{N_A q} = \frac{R}{N_A z e} = \frac{R}{zF} \quad (2.27)$$

onde R é a constante dos gases (1,98 cal/K.mol), N_A é o número de Avogrado ($6,02 \times 10^{23}$ mol⁻¹) e F é a constante de Faraday ($9,648 \times 10^4$ C/mol).

Substituindo $\frac{k_b}{q} = \frac{R}{zF}$ na **Equação 2.26** temos outra forma de escrever a equação de Nernst-Planck:

$$J = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} + \frac{zF}{RT} C \frac{\partial V}{\partial x} \right) \quad (2.28)$$

3. Modelagem

No balanço de massa para a membrana pré-sináptica foi considerado que os meios intra e extracelulares podem ser representados como dois tanques agitados separados por uma membrana permeável.

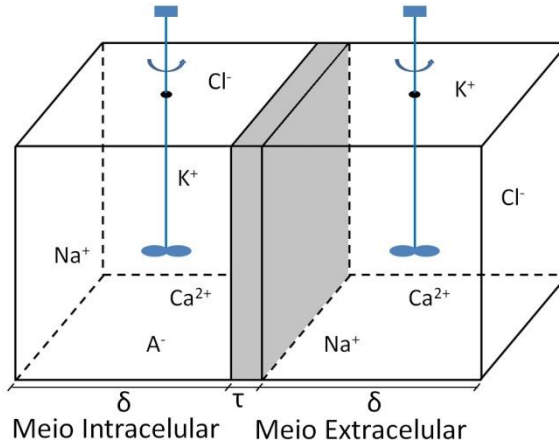


Figura 3.1 – Representação dos meios intra e extracelulares como dois tanques agitados. τ é a espessura da membrana e δ é a espessura do meio intra e extracelular.

Os fenômenos que possibilitam o fluxo iônico pela membrana são:

1. Fluxo provocado pelo gradiente de concentração (Fluxo Químico) que ocorre tanto nos canais passivos quanto nos canais sensíveis à tensão.
2. Fluxo provocado pela diferença de potencial (Fluxo Elétrico) que também ocorre nos dois tipos de canais citados a cima.
3. Fluxo provocado pela ação da bomba Na^+/K^+ .

$$[\text{Acúmulo}] = \left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Químico} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Elétrico} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Bomba } \text{Na}^+/\text{K}^+ \end{array} \right] \quad (3.1)$$

Observação: os íons Ca^{2+} , Cl^- e A^- não influenciam a formação do potencial pré-sináptico, pois como foram explicados no capítulo 2, os ânions orgânicos são principalmente aminoácidos e proteínas que permanecem no interior da célula e os transportadores dos íons Ca^{2+} e Cl^- são eletroneutros. Sendo assim a membrana é considerada impermeável a esses íons, logo o balanço será feito apenas para os íons Na^+ e K^+ .

A seguinte notação será usada para representar as concentrações: C_{ij} – concentração do íon j na região i , $i=1$ é referente ao meio interno, $i=2$ ao meio externo, $j=1$ ao íon potássio e $j=2$ ao íon sódio. Em algumas equações do trabalho, para facilitar a rápida identificação de algumas variáveis, para $j=1$ e $j=2$ serão usados, respectivamente, K^+ e Na^+ .

3.1 – Fluxo Difusivo Químico (F_{qij})

O fluxo químico será representado por um transporte de massa devido ao gradiente de concentração que atravessa uma área de membrana regida pela permeabilidade da membrana ao íon considerado.

$$\left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Químico} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{array} \right] \cdot [\text{permeabilidade}] \cdot \left[\begin{array}{c} \text{gradiente de} \\ \text{concentração} \end{array} \right] \quad (3.2)$$

A área de escoamento é dependente das densidades de canais passivos e sensíveis à tensão.

$$\left[\begin{array}{c} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{array} \right] = (S_j^a + S_j^v) A_s \quad (3.3)$$

Sendo A_s a área superficial total da membrana, S_j^a a densidade de canais passivos para o íon j e, S_j^v a densidade de canais sensíveis à tensão para o íon j . A densidade de canais é calculada da seguinte forma:

$$S_j^a = \frac{\text{área superficial total ocupada pelos canais passivos do íon } j}{\text{área superficial total da membrana}} \quad (3.4)$$

$$S_j^v = \frac{\text{área superficial total ocupada pelos canais sensíveis à tensão do íon } j}{\text{área superficial total da membrana}} \quad (3.5)$$

A permeabilidade é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão e inversamente proporcional a espessura de membrana:

$$[\text{permeabilidade}] = \frac{D_j}{\tau} \quad (3.6)$$

D_j é o coeficiente de difusão do íon j , e τ é a espessura da membrana.

Já o gradiente de concentração sob o ponto de vista da região interna é equacionado como:

$$\left[\begin{array}{l} \text{gradiente de} \\ \text{concentração} \end{array} \right] = -(C_{1j} - C_{2j}) \quad (3.7)$$

Mantida a definição do gradiente de concentração (**Equação 3.7**), o sinal que integra o cálculo da direção da equação do fluxo químico varia com a região calculada da forma descrita na **Equação 3.8**.

$$[\text{Sinal}] = (3 - 2i) \quad (3.8) \quad \left\{ \begin{array}{l} i = 1 \rightarrow [\text{Sinal}] = +1 \\ i = 2 \rightarrow [\text{Sinal}] = -1 \end{array} \right.$$

ou seja, no cálculo do fluxo químico para região interna, tendo a concentração iônica interna maior que a concentração externa, a determinação do sinal, juntamente com o gradiente de concentração, faria com que os íons saíssem do meio intracelular.

Exemplificando a equação do fluxo químico para o íon sódio:

$$Fq_{1Na} = -(S_{Na}^a + S_{Na}^v) As \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{1Na} - C_{2Na}) \quad (3.9)$$

Então a equação do fluxo químico generalizada para os íons sódio e potássio seria:

$$Fq_{ij} = -(3 - 2i) (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} (C_{1j} - C_{2j}) \quad (3.10)$$

3.2 – Fluxo Elétrico (Fe_{ij})

O fluxo elétrico será representado por um transporte de massa devido à diferença de potencial que atravessa uma área da membrana, regido pela permeabilidade da membrana e pela carga do íon considerado para o cálculo desse fluxo.

$$\left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Elétrico} \end{array} \right] = [\text{valência}] \left[\begin{array}{c} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{array} \right] \cdot [\text{permeabilidade}] \cdot \left[\begin{array}{c} \text{gradiente} \\ \text{elétrico} \end{array} \right] \quad (3.11)$$

Tanto a área de escoamento quanto a permeabilidade são iguais às determinadas para o fluxo químico. A valência é representada pelo valor da carga do íon j . $[\text{valência}] = z_j$, exemplo: Na^+ possui $z_2 = +1$.

O gradiente elétrico é equacionado a partir do termo da equação de eletrodifusão que determina a influência da diferença de potencial sobre o fluxo.

Relembrando a equação de eletrodifusão:

$$J = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} + \frac{zF}{RT} C \frac{\partial V}{\partial x} \right) \quad (2.28)$$

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} - D \frac{zF}{RT} C \frac{\partial V}{\partial x} \quad (3.12)$$

O primeiro termo da **Equação 3.12** está relacionado com o fluxo químico, sendo o segundo termo de interesse para o fluxo elétrico.

$$2^{\text{o}} \text{ termo} = -D \frac{zF}{RT} C \frac{\partial V}{\partial x} \quad (3.13)$$

Reordenando a **Equação 3.13**, onde z é a valência que já foi descrita e usando diferenças finitas na derivada $\frac{\partial V}{\partial x}$, obtém-se:

$$2^{\text{o}} \text{ termo} = -z D \frac{F}{RT} C \frac{V_{(i+1)} - V_{(i)}}{\Delta x} \quad (3.14)$$

Como foi explicado no **Capítulo 2.5**, o potencial de membrana (V) é definido como

$$V = V_{in} - V_{out} = V_{(i+1)} - V_{(i)} \quad (3.15)$$

e devido ao cálculo do potencial ser feito na membrana pré-sináptica, Δx é igual a espessura da membrana (τ). Rearranjando a **Equação 3.14**:

$$2^{\text{o}} \text{ termo} = -z D \frac{F}{RT} C \frac{V}{\tau} = -z \frac{D}{\tau} \frac{F}{RT} C V \quad (3.16)$$

Como [valência]=z e [permeabilidade] = $\frac{D}{\tau}$, o gradiente elétrico é:

$$\left[\begin{array}{c} \text{gradiente} \\ \text{elétrico} \end{array} \right] = - \left(\frac{F}{RT} C_{kj} V \right) \quad (3.17)$$

Onde V é a diferença de potencial, F a constante de Faraday, R a constante dos gases e T a temperatura absoluta.

O índice k determina a concentração que terá maior influência da diferença de potencial para o cálculo do fluxo elétrico, sendo que se V for negativo k=2 e se V for positivo k=1. Exemplo: o íon sódio possui carga positiva, se a diferença de potencial for negativa fará com que haja um fluxo de entrada dos íons externos e os íons internos permanecerão dentro da célula, logo a maior influência da diferença de potencial é sobre os íons externos. Então:

$$\text{para } V < 0 \rightarrow \left[\begin{array}{c} \text{gradiente} \\ \text{elétrico} \end{array} \right] = - \left(\frac{F}{RT} C_{2j} V \right)$$

$$\text{para } V > 0 \rightarrow \left[\begin{array}{c} \text{gradiente} \\ \text{elétrico} \end{array} \right] = - \left(\frac{F}{RT} C_{1j} V \right)$$

O cálculo da direção do fluxo elétrico depende do gradiente elétrico, da valência do íon e da região i onde o fluxo vai ser calculado. Sendo assim o sinal que integra o cálculo da direção da equação do fluxo elétrico é determinado do mesmo modo que foi descrito no fluxo químico (**Equação 3.8**).

A equação do fluxo elétrico generalizada para as diferentes regiões e íons está representada na **Equação 3.18**.

$$F e_{ij} = -(3 - 2i) z_j (S_j^a + S_j^v) A s \frac{D_j}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{kj} V \right) \quad (3.18)$$

3.3 – Fluxo através da Bomba Na⁺/K⁺

O Fluxo através da bomba Na⁺/K⁺ é representado por um transporte de massa provocado pela ação da mesma. Este transporte é descrito por uma cinética global e pela relação estequiométrica.

$$\left[\begin{array}{c} \text{Fluxo} \\ \text{Bomba Na}^+/\text{K}^+ \end{array} \right] = \left[\begin{array}{c} \text{relação} \\ \text{estequiométrica} \end{array} \right] \cdot \left[\begin{array}{c} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{array} \right] \cdot \left[\begin{array}{c} \text{cinética} \\ \text{global} \end{array} \right] \quad (3.19)$$

A área de escoamento da bomba Na^+/K^+ é dependente do número de bombas existentes na área superficial total da membrana.

$$\left[\begin{array}{c} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{array} \right] = S_b A_s \quad (3.20)$$

Sendo S_b a densidade de bombas Na^+/K^+ , calculada da seguinte forma:

$$S_b = \frac{\text{área superficial total ocupada pelas bombas Na}^+/\text{K}^+}{\text{área superficial total da membrana}} \quad (3.21)$$

A bomba Na^+/K^+ trabalha tirando o sódio do interior da célula e colocando potássio. Para cada 3 íons sódio retirados do meio intracelular, são introduzidos 2 íons potássio.

Isto é representado esquematicamente na **Figura 3.2**.

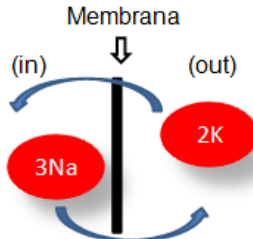


Figura 3.2 – a bomba Na^+/K^+ realiza transporte de íons contra os gradientes. Na figura ‘in’ é a região intracelular e ‘out’ a região da fenda sináptica, ou extracelular.

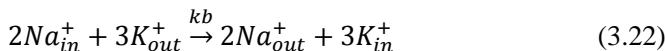
A ação da bomba Na^+/K^+ compensa os fluxos de Na^+ e K^+ através dos canais passivos, mantendo o potencial de repouso.

Considerações importantes para o desenvolvimento da equação cinética global da bomba Na^+/K^+ são:

- 1- Relação estequiométrica;
- 2- Funcionamento apenas na presença do número completo de íons, ou seja, apenas na presença de 3 íons sódio do meio intracelular e 2 íons potássio do meio extracelular;

- 3- Dependência das concentrações iônicas;
- 4- Trabalho mais intenso na etapa de repolarização, quando a concentração de potássio é maior no meio extracelular.

Levando em conta estas considerações, neste trabalho foi proposta a seguinte relação estequiométrica (**Equação 3.22**) e equação de velocidade de reação (**Equação 3.23**) para bomba Na^+/K^+ :



$$r = kb (C_{1\text{Na}})^2 C_{2\text{K}} \quad (3.23)$$

onde Na_{in}^+ representa os íons sódio na região interna e Na_{out}^+ na região externa, do mesmo modo K_{in}^+ representa os íons potássio na região interna e K_{out}^+ na região externa, kb representa a constante cinética da bomba Na^+/K^+ e r é a velocidade da reação. A Equação 3.23 permite que a bomba Na^+/K^+ trabalhe mais rápido com o aumento da concentração de potássio fora da célula. Os coeficientes estequiométricos representam os números de íons de sódio e potássio transportados pela bomba. De maneira genérica, eles podem ser representados pela Equação 3.24:

$$\left[\begin{array}{c} \text{coeficiente} \\ \text{estequiométrico} \end{array} \right] = (1 + j) \quad (3.24)$$

A direção é determinada sabendo-se que os íons sódio são retirados da região interna e o potássio da região externa. A direção do fluxo da bomba Na^+/K^+ é descrita na **Tabela 3.1**.

Tabela 3.1 – Representação da direção do fluxo da bomba Na^+/K^+ .

Íon \ Região	Intracelular	Extracelular
Na^+	-	+
K^+	+	-

A partir da **Tabela 3.1** é possível formular uma expressão matemática (**Equação 3.25**) que representasse o sinal do fluxo da bomba Na^+/K^+ .

$$[\text{sinal}] = (3 - 2i)(3 - 2j) \quad (3.25)$$

Apenas para exemplificar, considerando o íon Na^+ ($j=2$) na região interna ($i=1$), o sinal seria:

$$[\text{sinal}] = (3 - 2i)(3 - 2j) = (3 - 2.1)(3 - 2.2) = -1 \quad (3.25)$$

ou seja, o sinal indica que o íon Na^+ é retirado da região interna.

Em vista de que os parâmetros k_b e S_b formam um produto na equação e nunca aparecem separadamente, eles são relacionados e não podem ser determinados individualmente. A partir deste ponto eles serão considerados um único parâmetro:

$$S_b k_b = S_b \cdot k_b$$

Assim a equação geral para o fluxo da bomba Na^+/K^+ é:

$$F_{b_{ij}} = [(3 - 2i)(3 - 2j)](1 + j) S_b k_b A_s (C_{12})^2 C_{21} \quad (3.26)$$

3.4 – Equação de Diferença de Potencial

O fluxo elétrico depende da tensão ou diferença de potencial entre os dois lados da membrana, que é função das concentrações iônicas. Nele exercem importantes contribuições os ânions orgânicos que se encontram no interior das células e dela não saem.

O potencial elétrico (V') entre duas superfícies planas é:

$$V' = E d \quad (3.27)$$

(Halliday *et al*, 1984)

sendo E o campo elétrico e o d a distância entre as duas superfícies. Temos ainda que o campo elétrico seja dado por:

$$E = k_0 4 \pi \sigma \quad (3.28)$$

(Halliday *et al*, 1984)

onde ko é a constante eletrostática ($9.10^9 Nm^2/C^2$) e σ é a densidade superficial de cargas, que pode ser considerada como a mesma para as duas superfícies e igual a $\pm \sigma/2$, ou, uma superfície possuindo carga zero e a outra com carga igual a σ .

A densidade superficial de cargas é igual a:

$$\sigma = F \sum_j z_j \bar{C}_j \quad (3.29)$$

\bar{C}_j é a concentração superficial, z_j é a valência e F é a constante de Faraday.

Usando a concentração volumétrica obtém-se:

$$\sigma = F d \sum_j z_j C_j \quad (3.30)$$

Substituindo σ pela **Equação 3.30** na **Equação 3.28** obtém-se:

$$E = ko 4 \pi F d \sum_j z_j C_j \quad (3.31)$$

Do mesmo modo, substituindo o campo elétrico pela **Equação 3.31** na **Equação 3.27**, obtém-se uma nova equação para o cálculo do potencial elétrico (**Equação 3.32**).

$$V' = 4 \pi d^2 ko F \sum_j z_j \cdot C_j \quad (3.32)$$

Fazendo $\gamma = 4 \pi d^2 ko$, temos:

$$V' = \gamma F \sum_j z_j \cdot C_j \quad (3.33)$$

Neste modelo, foi usada a diferença de potencial elétrico ou tensão na membrana pré-sináptica (V):

$$V = V'_{in} - V'_{out} \quad (3.34)$$

$$V = \gamma F \sum_j z_j (C_{1j} - C_{2j}) \quad (3.35)$$

A ordem das concentrações no termo gradiente faz com que a diferença de potencial seja vista a partir da região interna. Para uma diferença de potencial negativo os íons positivos entram na célula, conforme mostrado na **Figura 3.3**.

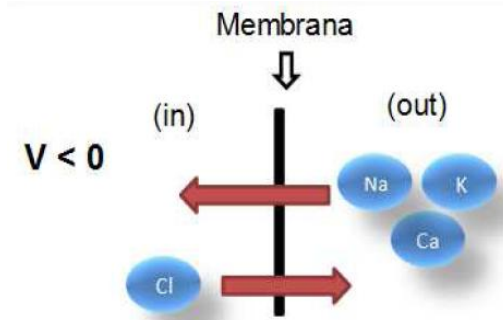


Figura 3.3 – Esquema do fluxo elétrico para a situação de repouso, com o potencial de membrana negativo.

Para o cálculo da diferença de potencial na membrana, é considerado os íons K^+ ($j=1$), Na^+ ($j=2$), Cl^- ($j=3$), Ca^{2+} ($j=4$) e os ânions orgânicos ($j=5$).

3.5 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão

Os canais de sódio sensíveis à tensão possuem uma dependência da chegada do potencial de ação no terminal pré-sináptico para começarem o processo de abertura e fechamento. Já os canais de potássio sensíveis à tensão dependem da abertura dos canais de sódio para começarem o processo de abertura e fechamento.

Por possuírem esta dinâmica os parâmetros S_{Na}^v e S_K^v são representados por uma função dependente do tempo e a dependência da tensão é introduzida pela imposição de um valor específico de tensão para o início do processo tanto de abertura quanto de fechamento, que é dependente do tipo celular.

As equações para a abertura e o fechamento dos canais sensíveis à tensão são apresentadas nas **tabelas 3.2 e 3.3**.

Tabela 3.2 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão do íon sódio.

Processo \ Íon	Na ⁺
Abertura	$S_{Na}^v = Sv_Na(1 - e^{-\beta_{1Na} t_{1Na}}) \quad (3.36)$ $t_{1Na} = \text{tempo-t_estímulo} \quad (3.37)$
Fechamento	$S_{Na}^v = Sv_Na(e^{-\beta_{2Na} t_{2Na}}) \quad (3.38)$ $t_{2Na} = \text{tempo-t}_{vNa} \quad (3.39)$

Tabela 3.3 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão do íon potássio.

Processo \ Íon	K ⁺
Abertura	$S_K^v = Sv_K(1 - e^{-\beta_{1K} t_{1K}}) \quad (3.40)$ $t_{1K} = \text{tempo-t}_{V\text{máx}} \quad (3.41)$
Fechamento	$S_K^v = Sv_K(e^{-\beta_{2K} t_{2K}}) \quad (3.42)$ $t_{2K} = \text{tempo-t}_{vK} \quad (3.43)$

Nomenclatura usada nas **Tabelas 3.2 e 3.3**:

- Sv_Na - Densidade máxima dos canais sensíveis à tensão do íon sódio;
Sv_K - Densidade máxima dos canais sensíveis à tensão do íon

- potássio;
- t_estímulo - Tempo da chegada do estímulo na membrana;
- t_Vmáx - Tempo quando o potencial de membrana é igual ao seu valor máximo, sendo esse valor dependente do tipo de neurônio;
- t_{VNa} - Tempo quando o potencial de membrana é igual ao valor de início de processo de fechamento dos canais S_{Na}^v , sendo esse valor dependente do tipo de neurônio;
- t_{VK} - Tempo quando o potencial de membrana é igual ao valor de início de processo de fechamento dos canais S_K^v , sendo esse valor dependente do tipo de neurônio;
- β_{1Na}, β_{1K} - Parâmetro de abertura para os canais S_{Na}^v e S_K^v respectivamente;
- B_{2Na}, β_{2K} - Parâmetro de fechamento para os canais S_{Na}^v e S_K^v respectivamente;

3.6 – Equação global do Balanço de Massa

Como já foi explicado no início desse capítulo, o balanço de massa depende dos fluxos químico, elétrico e da bomba Na^+/K^+ , respectivamente nas seções 3.1, 3.2, 3.3. Assim a equação global para o balanço de massa é apresentada na **Equação 3.44**.

$$\begin{aligned}
 vol \frac{dC_{ij}}{dt} = & -(3 - 2i) (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} (C_{1j} - C_{2j}) \\
 & -(3 - 2i) z_j (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{kj} V \right) \\
 & + [(3 - 2i)(3 - 2j)](1 + j) S_{bkb} As (C_{12})^2 C_{21}
 \end{aligned} \quad (3.44)$$

onde volume é igual a: $vol = As \delta$.

3.7 – Repouso

Os íons sódio e potássio são os principais responsáveis pelo comportamento da dinâmica iônica durante a passagem do potencial pré-sináptico e durante o repouso. Neste período os canais sensíveis à tensão estão fechados. Como no repouso não existe equilíbrio e sim um estado estacionário, sendo a bomba de Na^+/K^+ o mecanismo mais importante para sua manutenção.

Escrevendo a equação de balanço de massa em estado estacionário para estes dois íons,

Para o íon potássio:

$$0 = -S_1^a \text{As} \frac{D_1}{\tau} (C_{11} - C_{21}) - z_1 S_1^a \text{As} \frac{D_1}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{21} V \right) + 2 S b k b \text{As} (C_{12})^2 C_{21} \quad (3.45)$$

Para o íon sódio:

$$0 = -S_2^a \text{As} \frac{D_2}{\tau} (C_{12} - C_{22}) - z_2 S_2^a \text{As} \frac{D_2}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{22} V \right) - 3 S b k b \text{As} (C_{12})^2 C_{21} \quad (3.46)$$

Isolando $S b k b \text{As} (C_{12})^2 C_{21}$ das **equações 3.45 e 3.46**, obtém-se:

$$S b k b \text{As} (C_{12})^2 C_{21} = \frac{S_1^a \text{As} \frac{D_1}{\tau} (C_{11} - C_{21}) + z_1 S_1^a \text{As} \frac{D_1}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{21} V \right)}{2} \quad (3.47a)$$

$$S b k b \text{As} (C_{12})^2 C_{21} = \frac{-S_2^a \text{As} \frac{D_2}{\tau} (C_{12} - C_{22}) + z_2 S_2^a \text{As} \frac{D_2}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{22} V \right)}{3} \quad (3.47b)$$

Igualando as equações anteriores (**equações 3.47a e 3.47b**):

$$D_1 \frac{S_1^a}{2} \left[C_{11} - C_{21} \left(1 - \frac{FV}{RT} \right) \right] = -D_2 \frac{S_2^a}{2} \left[C_{12} - C_{22} \left(1 - \frac{FV}{RT} \right) \right] \quad (3.48)$$

Através dessa igualdade defini-se:

$$A_1 = 1 - \frac{FV}{RT} \quad (3.49) \quad \text{e} \quad A_2 = \frac{C_{11} - C_{21} A_1}{C_{12} - C_{22} A_1} \quad (3.50)$$

De onde se conclui que, conhecidos os coeficientes de difusão, D_1 e D_2 , e escolhendo arbitrariamente o valor de S_1^a , o repouso é satisfeito se:

$$S_1^a = -\frac{3 D_1}{2 D_2} A_2 S_2^a \quad (3.51)$$

A partir do balanço de massa no estado estacionário para o íon K, obtém-se a seguinte relação que também satisfaz o repouso:

$$S b k b = \frac{1 D_1}{2 \tau} A_3 S_1^a \quad (3.52)$$

sendo $A_3 = \frac{c_{11} - c_{21} A_1}{(c_{12})^2 c_{21}}$ (3.53).

3.8 – Cálculo das constantes de difusão

Neste trabalho não são conhecidos os valores de D_K e D_{Na} . Pode-se estimar D_K e D_{Na} pela equação de Wilke-Chang (Kirwan, 1987):

$$D_{AB} = \frac{7,4 \cdot 10^{-8} (\varphi M_B)^{1/2} T}{\mu_B V_A^{0,6}} \quad (3.54)$$

Onde MB é a massa molecular do solvente (g.mol⁻¹), T é a temperatura (K), VA é o volume molar do íon (cm³.mol⁻¹), φ é o fator de associação do solvente e μ_B é a viscosidade do solvente nas condições de temperatura e pressão do sistema (cP).

A **Tabela 3.4** descreve os parâmetros usados para os cálculos das constantes de difusão.

Tabela 3.4 – Parâmetros para o cálculo das constantes de difusão pela **Equação 3.54**

	Sódio	Potássio
μ_B	1cP	1cP
ϕ	2,26	2,26
MB	18g/mol	18g/mol
T	310K	310K
VA	23,7cm ³ /mol	45,3 cm ³ /mol

3.9 – Síntese do modelo matemático

O modelo matemático completo é apresentado no **Quadro 3.1**, mostrado abaixo:

$$Fq_{ij} = -(3 - 2i) (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} (C_{1j} - C_{2j}) \quad (3.10)$$

$$Fe_{ij} = -(3 - 2i) z_j (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{kj} V \right) \quad (3.18)$$

$$Fb_{ij} = [(3 - 2i)(3 - 2j)](1 + j) Sbkb As (C_{12})^2 C_{21} \quad (3.26)$$

$$V = \gamma F \sum_j z_j (C_{1j} - C_{2j}) \quad (3.35)$$

$$S_{Na}^v = Sv_{Na} (1 - e^{-\beta_{1Na} t_{1Na}}) \quad (3.36)$$

$$S_{Na}^v = Sv_{Na} (e^{-\beta_{2Na} t_{2Na}}) \quad (3.38)$$

$$S_K^v = Sv_K (1 - e^{-\beta_{1K} t_{1K}}) \quad (3.40)$$

$$S_K^v = Sv_K (e^{-\beta_{2K} t_{2K}}) \quad (3.42)$$

$$\begin{aligned} vol \frac{dC_{ij}}{dt} = & -(3 - 2i) (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} (C_{1j} - C_{2j}) \\ & - (3 - 2i) z_j (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{kj} V \right) \\ & + [(3 - 2i)(3 - 2j)](1 + j) Sbkb As (C_{12})^2 C_{21} \end{aligned} \quad (3.44)$$

$$S_1^a = -\frac{3 D_1}{2 D_2} A_2 S_2^a \quad (3.51)$$

$$Sbkb = \frac{1 D_1}{2 \tau} A_3 S_1^a \quad (3.52)$$

Quadro 3.1 – Síntese do modelo matemático.

3.10 – Fluxograma do programa computacional

O modelo possui apenas equações diferenciais ordinárias em vista do potencial variar apenas no tempo, sendo utilizado o método de Euler para a solução numérica. O fluxograma simplificado esta

representado na **Figura 3.4**. O compilador utilizado no programa computacional foi Visual Fortran 6.6.

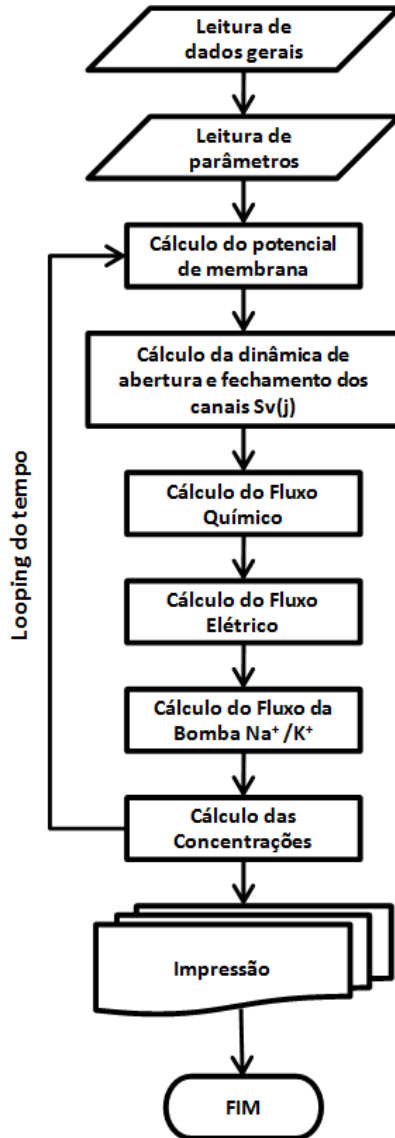


Figura 3.4 – Fluxograma simplificado do programa computacional.

4. Resultados e Discussões

Neste capítulo, apresenta-se os dados iniciais utilizados para solução do modelo matemático proposto, os perfis de concentração obtidos e a comparação dos resultados obtidos com os dados da literatura.

4.1 – Dados iniciais

Para encontrar-se as condições normais na membrana pré-sináptica selecionaram-se um conjunto de dados iniciais arbitrários apoiados na literatura.

A **Tabela 4.1** apresenta os valores de concentração de todos os íons no repouso necessários para a solução do modelo matemático.

Tabela 4.1 - Valores das concentrações iônicas no repouso necessário para a solução do modelo matemático: (a) Kandel et al, 2003. (b) Strehler et al, 1996. (c) Teixeira et al, 2001.

Concentrações em mol/m ³			
	Intracelular	Extracelular	Referência
K ⁺	140,0	4,0	(c)
Na ⁺	18,0	142,0	(c)
Cl ⁻	16,0	103,0	(c)
Ca ²⁺	0,001	3,0	(b)
Ânions	140,0	zero	(a)

O modelo possui um conjunto de parâmetros que precisam ser definidos a priori. São eles, os coeficientes de difusão, D_j , a espessura da membrana, τ , a área da membrana sináptica, A_s , as frações da superfície da membrana com canais passivos ou sensíveis à tensão, respectivamente S_j^a , S_j^v , a constante cinética da bomba Na^+/K^+ , S_{bkb} , e os parâmetros das equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão dos íons sódio e potássio, β_{1Na} , β_{2Na} , β_{1K} , β_{2K} . O sódio e o potássio são os dois íons principais no tocante a dinâmica do potencial pré-sináptico. As difusões foram calculadas pela **Equação 3.30**, a espessura e a área da membrana podem ser obtidas da literatura, **Tabela 4.2**, de modo que restam nove parâmetros a serem determinados.

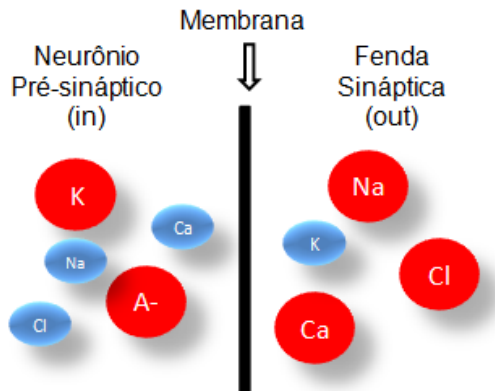


Figura 4.1 – Esquema das concentrações iônicas na situação de repouso. Os círculos vermelhos representam as maiores concentrações.

Tabela 4.2 - Valores dos parâmetros necessários para solução do modelo matemático: (d) Karp, 2005. (e) Luscher et al, 1990

	Valor	Unidade	Referência
D_k	$1,48 \times 10^{-12}$	m^2/ms	Calculado pela Equação 3.54
D_{Na}	$2,19 \times 10^{-12}$	m^2/ms	Calculado pela Equação 3.54
As	$1,0 \times 10^{-12}$	m^2	Calculado a partir da referência (e)
τ	$1,0 \times 10^{-8}$	m	(d)
δ	$1,0 \times 10^{-5}$	m	

A ausência na literatura de alguns dados necessários à modelagem impôs a otimização dos mesmos. Inicialmente, foi imposto um valor arbitrário para a fração de canais passivos de potássio (S_k^a), o que possibilitou o cálculo do valor de canais passivos de sódio (S_{Na}^a) e a constante da bomba de sódio e potássio para que estes três dados em conjunto pudessem manter o potencial de repouso da membrana pré-sináptica.

Através do balanço de massa no estado de repouso da membrana pré-sináptica demonstrado na **Equação 3.44** obteve-se uma relação entre o valor da fração de canais passivos de potássio, S_k^a ou $Sa(1)$, e o valor da fração de canais passivos de sódio, S_{Na}^a ou $Sa(2)$. Esta relação garante que para qualquer valor dado para o S_k^a terá um valor correspondente de S_{Na}^a que satisfaça as condições de estado de repouso

da membrana pré-sináptica. A equação que representa esta relação é a **Equação 3.51**.

$$S_1^a = -\frac{3D_1}{2D_2}A_2S_2^a \quad (3.51)$$

Da mesma maneira, através do balanço de massa no estado de repouso da membrana pré-sináptica para o íon potássio descrita pela **Equação 3.44**, obteve-se outra relação, mas agora entre o valor da fração de canais passivos de potássio, S_k^a ou $S_a(1)$, com o valor da constante da bomba Na^+/K^+ , S_{bkb} , sendo representada pela **Equação 3.52**. Esta relação também garante a manutenção do estado de repouso da membrana pré-sináptica.

$$S_{bkb} = \frac{1D_1}{2\tau}A_3S_1^a \quad (3.52)$$

O modelo proposto possibilitou que o programa computacional executasse a abertura e fechamento dos canais iônicos, bem como o fluxo de íons por esses canais e pela bomba Na^+/K^+ . Apenas lembrando que os canais de cálcio não são usados efetivamente, pois estudos recentes supõem que as concentrações intracelulares de cálcio não estão envolvidas na geração de sinais pré-sinápticos (Tareilus *et al.*, 1995); do mesmo modo não foram usados efetivamente os transportadores e co-transportadores de cloro, pois este transporte não gera diretamente corrente elétrica que possa mudar o potencial transmembrânico (Alvarez-Leefmans, 2001), uma vez que o objetivo deste trabalho é a geração do potencial pré-sináptico.

Foi estipulado que os canais sensíveis à tensão de sódio começariam seu processo de abertura a partir de um estímulo dado no tempo de 1.0ms, e seu consequente fechamento total quando o potencial de membrana fosse igual ao potencial de membrana máximo, dado retirado da literatura (Naundorf *et al.*, 2006). Do mesmo modo, foi estipulado que os canais sensíveis à tensão de potássio começariam seu processo de abertura logo após o fechamento total dos canais sensíveis à tensão de sódio ($S_v(2)$). Já o fechamento total dos canais sensíveis à tensão de potássio ($S_v(1)$) se daria quando o potencial de membrana fosse igual ao potencial de repouso.

Inicialmente o potencial de membrana se mantém no repouso, apenas se alterando com a chegada do estímulo. Após o mesmo, começa o processo de abertura dos canais $S_v(2)$ possibilitando um aumento do influxo de sódio, este ocasiona uma fase ascendente muito rápida se

comparada com a fase descendente. O tempo de duração da fase ascendente é de aproximadamente 0,4ms. Após a fase ascendente começa a fase descendente que se inicia com o fechamento dos canais Sv(2) e abertura dos canais Sv(1). A abertura dos canais Sv(1) permite o aumento do efluxo de potássio. O tempo de duração da fase descendente é de aproximadamente 1,0ms. A explicação para que o tempo da fase descendente seja mais que o dobro do tempo da fase ascendente é a existência de uma grande concentração de íons sódio na parte intracelular, diminuindo a velocidade de retorno ao potencial de repouso. Depois do fechamento dos canais Sv(1), o potencial de membrana passa por uma fase de hiperpolarização, quando a bomba Na^+/K^+ trabalha, não só para manter o potencial de repouso, mas para fazer com que o potencial de membrana volte a ele.

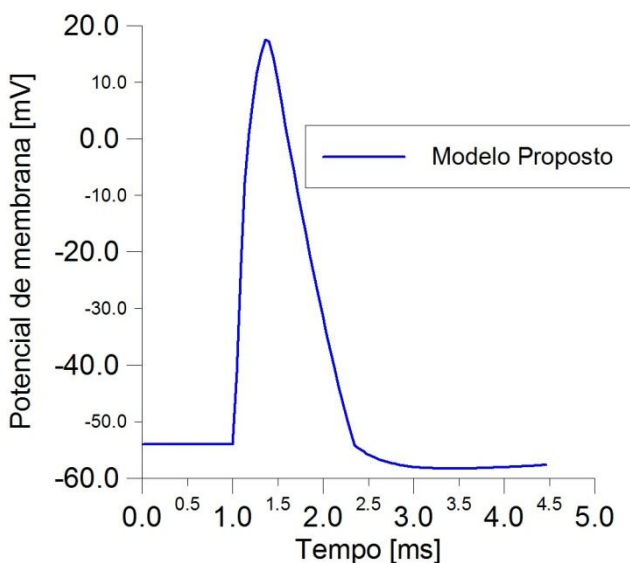


Figura 4.2 – Representação gráfica do potencial pré-sináptico calculado através do modelo proposto.

Através do cálculo dos fluxos químicos e elétricos e do fluxo da bomba Na^+/K^+ , foi possível observar a variação de concentração dos íons sódio e potássio ao longo do período de duração do potencial pré-sináptico.

Como era de se esperar antes da chegada do estímulo, no período de repouso, tanto as concentrações intra e extracelulares dos íons sódio e potássio se mantêm inalteradas. Este fato pode ser observado na **Figura 4.3** enquanto o tempo é menor que 1,0ms. Após o estímulo a variação de concentração dos íons sódio é grande e rápida até o tempo de aproximadamente 1,4ms quando os canais Sv(2) se fecham e termina a fase ascendente. Nesta mesma fase a variação de concentração dos íons potássio permanece praticamente inalterada, apenas tendo uma leve mudança a partir da abertura dos canais Sv(1) (fase descendente). Esta observação da pouca variação de concentração dos íons potássio só confirmam o funcionamento correto do modelo proposto como pode ser confirmado pela referência Malta *et al*, 2004: “O número total de íons K^+ necessário para estabelecer o potencial é muito pequeno quando comparado ao número de íons encontrado nos meios intra e extracelular, ou seja, o potencial de membrana é estabelecido sem provocar mudanças significativas no gradiente de concentração do íon K^+ ”. Já as concentrações intra e extracelulares dos íons sódio voltam lentamente às concentrações de repouso. A partir de aproximadamente 2,4ms há o fechamento dos canais Sv(1) e as concentrações intra e extracelulares dos íons potássio retornam às concentrações de repouso.

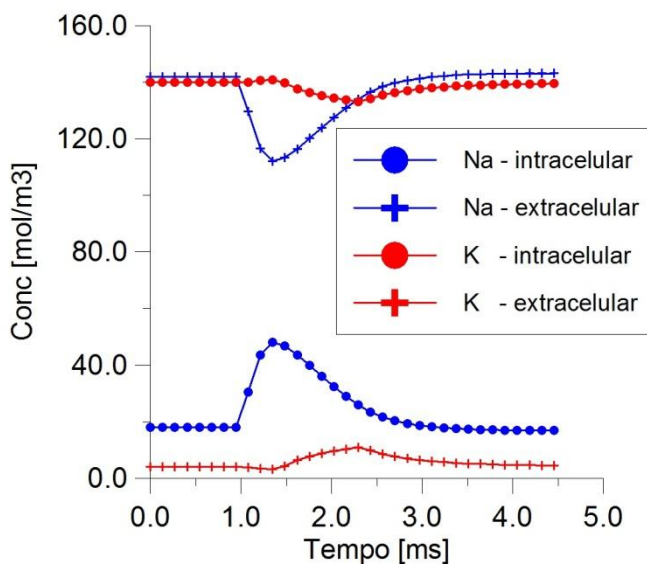


Figura 4.3 – Representação gráfica da variação de concentração dos íons sódio e potássio durante o potencial pré-sináptico.

4.2 - Validação

Em vista da impossibilidade de realizar experimentos próprios, o modelo será validado com dados experimentais coletados da literatura. A referência usada para comparação de resultados é a curva de potencial *in vivo* de um neurônio neocortical do córtex visual de gato apresentado em Naundorf *et al*, 2006 (**Figura 4.4**). Embora os dados experimentais sobre os neurônios não sejam obtidos em humanos podemos recorrer a eles, pois a organização estrutural é similar em todos os mamíferos (Grossberg, 2000).

No caso da referência utilizada para a validação, os neurônios neocorticais do córtex visual de gatos possui o valor do potencial de repouso aproximadamente de -54mV e seu valor de potencial de membrana máximo de aproximadamente 18mV .

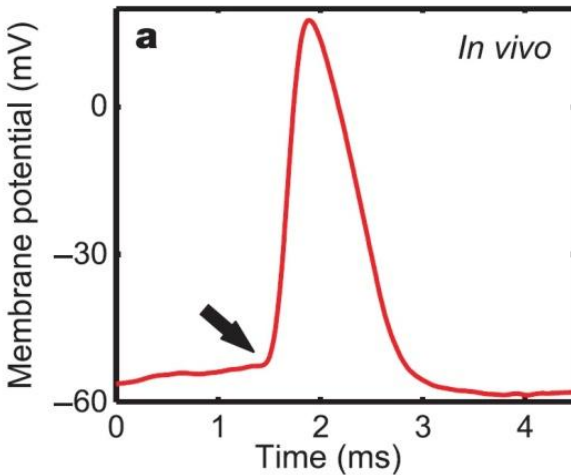


Figura 4.4 - Curva de potencial *in vivo* de um neurônio neocortical do córtex visual de gato. Figura retirada de Naundorf *et al*, 2006.

Após a otimização do modelo, pode-se obter os resultados para os parâmetros livres, sendo estes encontrados na **Tabela 4.3**.

Tabela 4.3 - Valores dos parâmetros livres obtidos através da otimização do modelo matemático.

Símbolo	Valor	Unidade	
S_k^a	0,0025		Imposto
S_{Na}^a	0,000787		Calculado
S_{v_Na}	0,047		Otimizado
S_{v_K}	0,013		Otimizado
S_{bkb}	$3,29 \times 10^{-7}$	$m^4/ms.Mol$	Calculado
$\beta_{1,Na}$	20		Otimizado
$\beta_{2,Na}$	10		Otimizado
$\beta_{1,K}$	15		Otimizado
$\beta_{2,K}$	35		Otimizado

A **Figura 4.5** trás a comparação entre o modelo proposto para o potencial pré-sináptico e a curva de dados experimentais retirada da referência Naundorf *et al*, 2006.

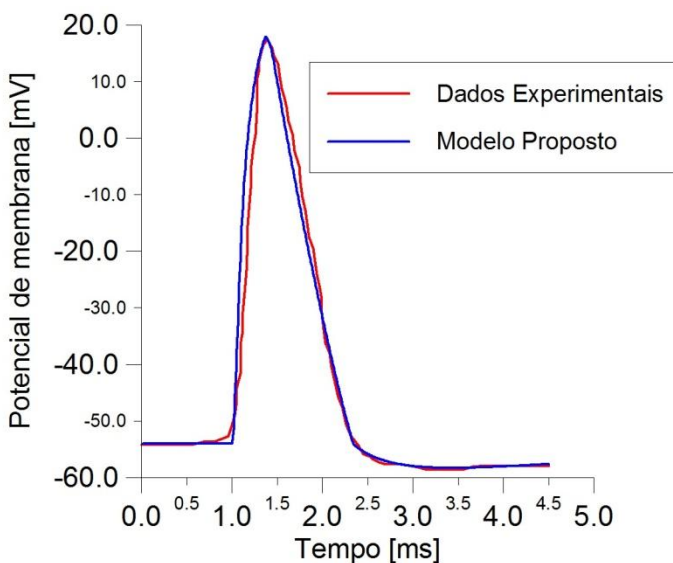


Figura 4.5 – Comparação do modelo proposto com a curva experimental da referência Naundorf *et al*, 2006.

A comparação entre as curvas do modelo proposto e dos dados experimentais foi pertinente à validação. O modelo validado será usado para análise de fluxos durante o potencial pré-sináptico em neurônios

corticais e posterior comparação com um modelo do tipo Hodgkin-Huxley para estes mesmos neurônios.

A Figura 4.6 trás os fluxos iônicos através dos canais sensíveis à tensão. Pode-se observar que o fluxo nos canais Sv(2) permanecem nulos antes do estímulo, uma vez que estão completamente fechados. Ao começar o processo de abertura desses canais, o influxo de íons sódio aumenta bruscamente durante um período de aproximadamente 0,05ms. A partir deste ponto, este influxo volta a diminuir e retorna a zero no fechamento total dos canais Sv(2). Igualmente como ocorre com o fluxo de sódio, o fluxo de potássio permanece nulo enquanto os canais Sv(1) permanecem fechados. Após sua abertura, há um aumento no efluxo de potássio durante o período de aproximadamente 0,1ms, sendo que depois desse tempo o efluxo começa a diminuir, retornando ao valor nulo com o fechamento total dos canais Sv(1) e consequente retorno ao potencial de repouso.

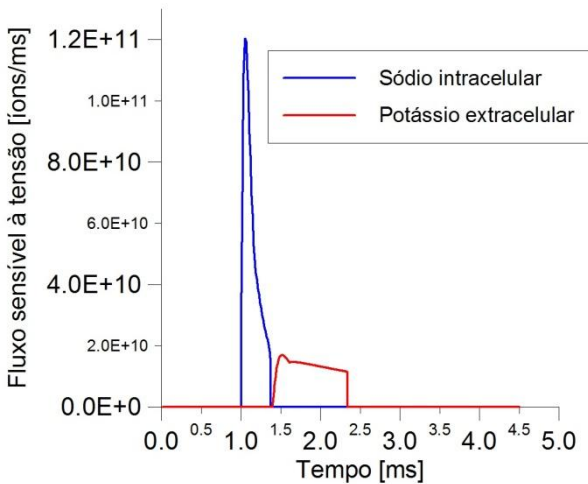


Figura 4.6 – Fluxo iônico através dos canais sensíveis à tensão. Os canais Sv(1) foram analisados pela fase extracelular e os canais Sv(2) pela fase intracelular.

Na **Figura 4.7** apresenta-se as curvas de fluxo iônico através dos canais passivos. Estas curvas nos informam que com a chegada do estímulo há uma diminuição do influxo de sódio através dos canais Sa(2), voltando a aumentar até chegar ao fluxo no repouso com o fechamento total dos canais Sv(2). Já no caso do fluxo através dos canais Sa(1), a chegada do estímulo provoca um aumento no efluxo

desse íon, voltando a diminuir com o fechamento total dos canais Sv(2) e começo do processo de abertura dos canais Sv(1). Após o fechamento dos canais Sv(1) o efluxo de potássio volta a aumentar, retornando ao fluxo de repouso.

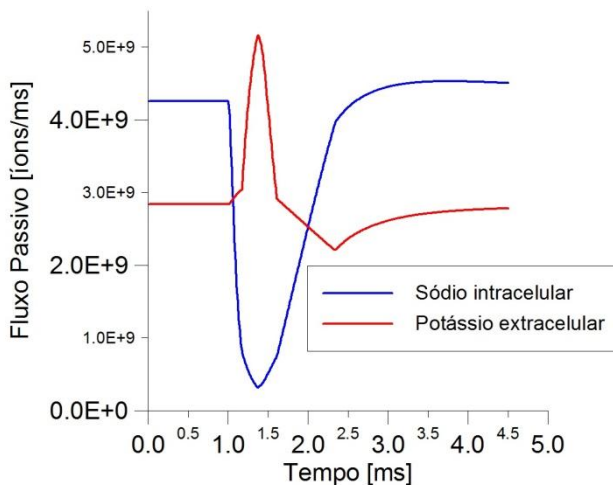


Figura 4.7 – Fluxo iônico através dos canais passivos. Os canais Sa(1) foram analisados pela fase extracelular e os canais Sa(2) pela fase intracelular.

Já o fluxo causado unicamente pela diferença de potencial (fluxo elétrico) está representado na **Figura 4.8**. Antes da chegada do estímulo o fluxo elétrico dos íons sódio e potássio não mudam. Na chegada do mesmo, existe um grande aumento no influxo elétrico do sódio, mas este aumento dura apenas 0,04ms, este acontecimento está relacionado ao rápido aumento do influxo de sódio através dos canais Sv(2) como pode ser observado na **Figura 4.6**. Logo após este tempo o influxo começa a diminuir até a mudança da polarização do potencial de membrana (quando o potencial de membrana passa de negativo para positivo no tempo de aproximadamente de 1,18ms). Esta mudança de polarização força a inversão do fluxo elétrico de sódio, passando os íons sódio a saírem da célula. O efluxo de sódio começa a diminuir com o início do processo de fechamento dos canais Sv(2), até a mudança novamente da polaridade do potencial de membrana (aproximadamente 1,6ms), quando ocorre uma nova inversão do fluxo elétrico de sódio. A partir deste ponto o influxo de sódio é lento, mas crescente até alcançar o fluxo elétrico no repouso. Observando a curva para o fluxo elétrico do

potássio podemos ver que com a chegada do estímulo existe uma diminuição do influxo de potássio até a mudança de polarização do potencial de membrana quando também há a inversão do fluxo desse íon. O efluxo de potássio aumenta bruscamente com a abertura dos canais Sv(1) (aproximadamente 1,4ms) e voltam a diminuir com o início do seu processo de fechamento do canal. Com a mudança novamente da polarização da membrana existe um aumento lento do influxo de potássio para o retorno ao fluxo elétrico de repouso.

Observou-se na **Figura 4.9** que antes das aberturas dos canais sensíveis à tensão de cada íons, seus respectivos fluxos químicos se mantêm constantes. Com a chegada do estímulo os canais Sv(2) se abrem forçando um grande aumento no influxo desse íon, que dura apenas aproximadamente 0,1ms. Após esse pico, o influxo de sódio diminui bruscamente até o fechamento total dos canais Sv(2), retornando lentamente ao fluxo químico de sódio no repouso. Já o efluxo de potássio aumenta com a abertura dos canais Sv(1), voltando a diminuir após 0,3ms da abertura desses canais. Com o fechamento total dos canais Sv(1), o fluxo de potássio volta ao fluxo no repouso.

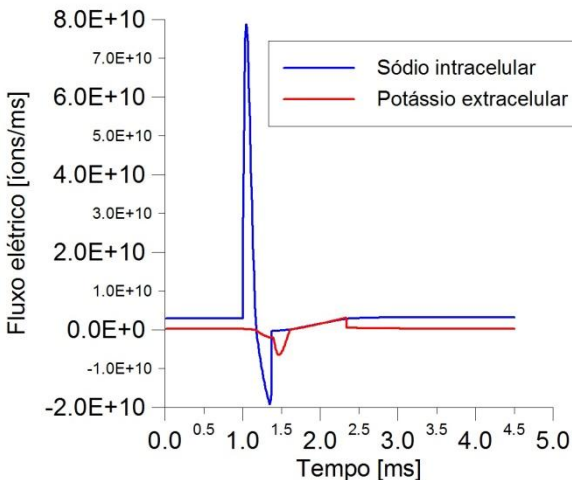


Figura 4.8 – Fluxo elétrico. O fluxo de íons sódios foi analisado pela fase intracelular e o fluxo de íons potássio pela fase extracelular.

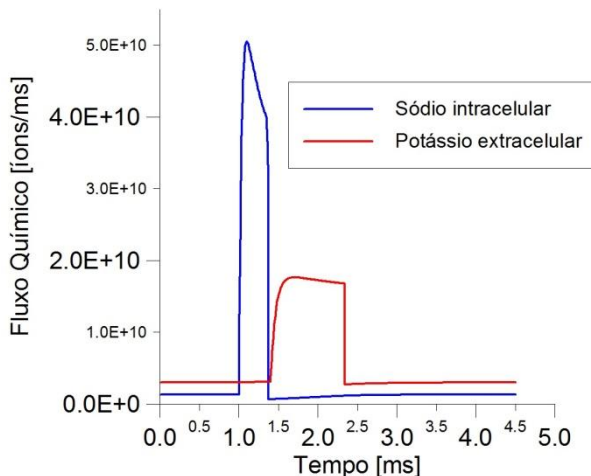


Figura 4.9 – Fluxo químico. O fluxo de íons sódios foi analisado pela fase intracelular e o fluxo de íons potássio pela fase extracelular.

O fluxo iônico no modelo de Hodgkin e Huxley é comandado pela condutância dos íons. Com isso pode-se comparar qualitativamente as curvas de condutância e as curvas de fluxo dos canais voltagem dependentes, uma vez que no modelo de Hodgkin e Huxley representa principalmente a dinâmica dos canais sensíveis à tensão. Esta comparação pode ser observada nas **Figuras 4.10** e **4.11**. Igualmente como ocorre na curva de condutância para o íon sódio, o fluxo desse íon pelos canais sensíveis à tensão possui um aumento abrupto e posterior diminuição um pouco mais lenta (**Figura 4.10**). Já a comparação da condutância para os íons potássio com o seu fluxo pelos canais sensíveis à tensão (**Figura 4.11**), pode-se observar que tanto a condutância quanto o fluxo são muito menores para o potássio que para o sódio, e o período de tempo entre o aumento da condutância e do fluxo e sua consequente diminuição são maiores para o potássio que para o sódio. Onde podemos concluir que tanto a condutância quanto o fluxo de potássio mostram que este íon possui uma abertura e fechamento de canais sensíveis à tensão mais lentos se comparados aos canais sensíveis à tensão de sódio.

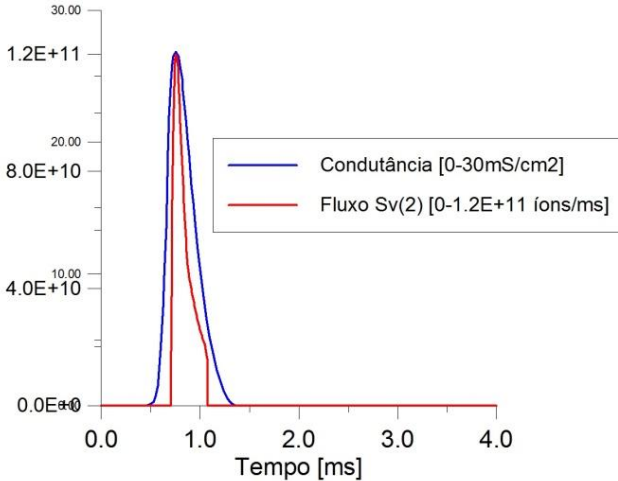


Figura 4.10 – Comparação qualitativa da curva de condutância de Na^+ descrita por Hodgkin Huxley retirada da referência Purves, 2004, com a curva de fluxo pelos canais $\text{Sv}(2)$.

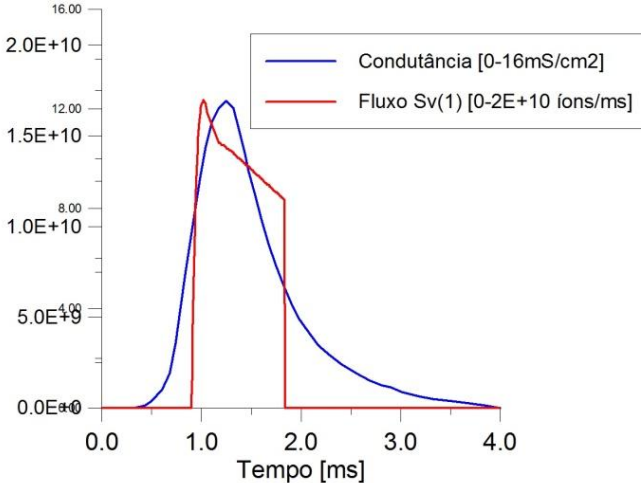


Figura 4.11 – Comparação qualitativa da curva de condutância de K^+ descrita por Hodgkin Huxley retirada da referência Purves, 2004, com a curva de fluxo pelos canais $\text{Sv}(1)$.

Como foi dito anteriormente, o modelo proposto por este trabalho é comparado com um modelo do tipo Hodgkin-Huxley desenvolvido por Destexhe, 1999. Esta comparação está representada na **Figura 4.12**. Duas características principais tornam os potenciais de ação registrados *in vivo* em neurônios corticais distintamente diferentes dos potenciais de ação simulados usando os modelos do tipo Hodgkin-Huxley. A primeira característica é que a fase inicial do potencial pré-sináptico real é de aproximadamente dez vezes mais rápido e a segunda, o retorno ao potencial de repouso também é muito mais rápido em comparação com modelos baseados na condutância.

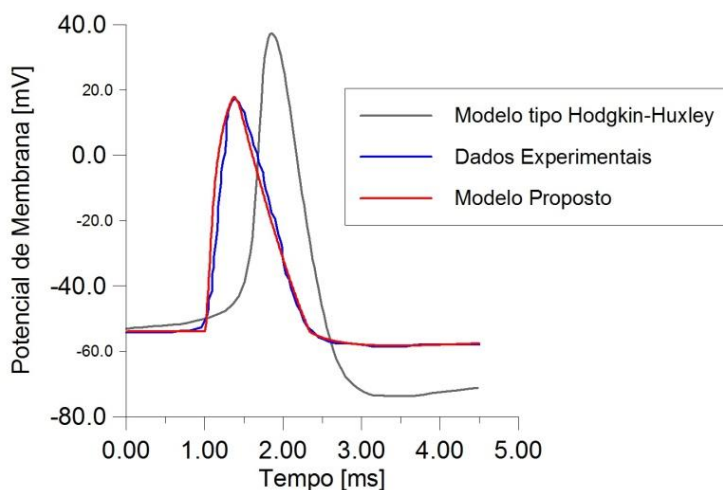


Figura 4.12 – Comparação entre: o modelo proposto, modelo desenvolvido por Destexhe, 1999 e a curva de dados experimentais.

De fato, o rápido início do potencial de pré-sináptico sugere que os muitos canais de sódio abrem quase simultaneamente e o rápido retorno ao potencial de repouso indica o fechamento igualmente simultâneo. Fatos que foram considerados no modelo proposto, como podem ser visto na **Figura 4.13**.

A consideração da rápida abertura dos canais sensíveis à tensão de sódio para este tipo de neurônio e o rápido fechamento dos canais sensíveis à tensão de potássio faz com que o modelo proposto seja muito mais realista que os modelos baseados na condutância.

A **Tabela 4.4** apresenta resumidamente as variáveis e os parâmetros utilizados para alimentar o programa computacional.

Tabela 4.4 – Apresentação das variáveis e dos parâmetros utilizados para alimentar o programa computacional.

Símbolo	Valor	Unidade
C_{11}	140,0	Mol/m ³
C_{21}	4,0	Mol/m ³
C_{12}	18,0	Mol/m ³
C_{22}	142,0	Mol/m ³
C_{13}	16,0	Mol/m ³
C_{23}	103,0	Mol/m ³
C_{14}	0,001	Mol/m ³
C_{24}	3,0	Mol/m ³
C_{15}	140,0	Mol/m ³
C_{25}	zero	Mol/m ³
D(1)	$1,48 \times 10^{-12}$	m ² /ms
D(2)	$2,19 \times 10^{-12}$	m ² /ms
As	$1,0 \times 10^{-10}$	m ²
τ	$1,0 \times 10^{-8}$	m
δ	$1,0 \times 10^{-5}$	m
Sa(1)	0,0025	-
Sa(2)	0,000787	-
S_v_Na	0,047	-
S_v_K	0,013	-

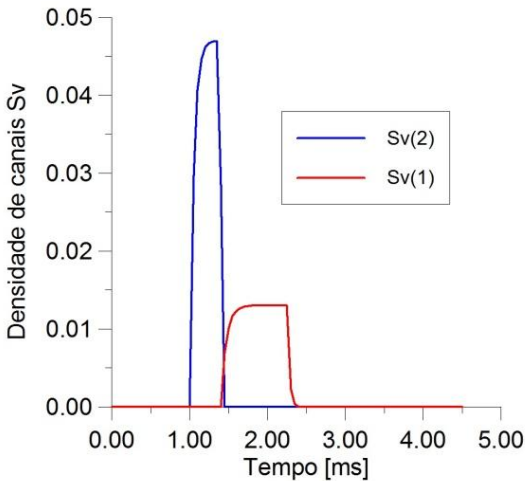


Figura 4.13 – Variação do valor da fração de densidade de canais voltagem-dependente dos íons Na⁺ (Sv(2)) e K⁺ (Sv(1)) durante o potencial pré-sináptico.

5. Conclusão

As vantagens de se desenvolver um modelo matemático fenomenológico de um sistema é que ele permite uma melhor compreensão da sua dinâmica. Deste modo podem ser excluídos fatores menos importantes e se chegar ao núcleo do problema, ou seja, fazer hipóteses simplificadoras razoáveis sem perder a essência do problema.

Através do balanço de massa na região da membrana pré-sináptica obteve-se o modelo idealizado por este trabalho. Sendo que este é uma somatória dos fluxos puramente difusivos, dos fluxos elétricos e do fluxo através da bomba Na^+/K^+ , não esquecendo que os dois primeiros fluxos passam pelos canais passivos e sensíveis à tensão.

Um dos resultados foi a obtenção de duas relações importantes, primeiro uma relação entre os canais passivos de potássio e os canais passivos de sódio e segundo uma relação entre os canais passivos de potássio e a constante da bomba Na^+/K^+ . Estas duas relações garantem que para qualquer valor imposto de densidade de canais passivos de potássio sempre haverá um valor de densidade de canais passivos de sódio e um valor da constante da bomba Na^+/K^+ que permitem a manutenção do potencial de repouso.

O modelo matemático foi validado por meio da comparação dos resultados obtidos com dados experimentais. O modelo apresentado neste trabalho comportou-se de modo semelhante ao seu equivalente biológico. A validação do modelo proposto permite uma análise dos fluxos pelos canais passivos e sensíveis à tensão, bem como dos fluxos químicos e elétricos individualmente. Esta análise explicitou a variação iônica através da membrana trazendo um melhor entendimento sobre os mecanismos difusivo e eletrodifusivo dos íons sódio e potássio. Esse entendimento auxilia no conhecimento mais apurado dos reais fenômenos que ocorrem durante o potencial pré-sináptico em comparação aos modelos baseados na condutância.

Os trabalhos de Hodgkin e Huxley discutiram os mecanismos iônicos responsáveis pela geração de um potencial de ação utilizando um circuito elétrico equivalente, o qual desconsiderava os fluxos difusivos e eletrodifusivos, sendo por esta razão incapaz de descrever corretamente os fenômenos envolvidos. Para visualizar melhor as diferenças entre o modelo de Hodgkin e Huxley com o modelo proposto neste trabalho, os resultados obtidos por ambos foram comparados. Foi

possível observar que o modelo baseado na condutância possui um potencial inicial muito mais lento que o potencial real, pois não leva em consideração a abertura quase simultânea dos canais sensíveis à tensão de sódio, fato que é considerado no modelo proposto, tornando este muito mais realista.

Como os resultados do modelo mostraram-se biologicamente plausíveis, ele pode ser integrado a modelos de redes neuronais e ser utilizado na modelagem da transmissão sináptica. Os principais avanços apresentados neste trabalho são a introdução da eletrodifusão através dos canais iônicos e a ação da bomba sódio-potássio.

Para finalizar gostaria de sugerir alguns estudos para aprimorar este trabalho e futuros trabalhos na área, que seria um estudo mais apurado da dinâmica de abertura e fechamento dos canais voltagem-dependente, da cinética da bomba Na^+/K^+ , dos valores de densidade de canais ($S_a(j)$ e $S_v(j)$) e da espessura do meio intra e extracelular (δ).

6. Referências Bibliográficas:

- Alvarez-Leefmans, F.J. Cell Physiology Sourcebook: A molecular Approach. 3 ed. [S.l.]: Academic Press, 2001, p.301-318.
- Alvarez-Leefmans, F.J.; Delpire, E. Physiology and Pathology of Chloride Transporters and Channels in the Nervous System: From molecules to Diseases. 1 ed. San Diego: Elsevier, 2009
- Atkins, P., and de Paula, J. Physical Chemistry. 7th ed. W. H. Freeman, New York, 2002.
- Barroso, L.C. et al; Cálculo Numérico com Aplicações; -2^a edição, editora Harbra Ltda. - São Paulo, 1987
- Bear, Mark F; Connors, Barry W; Paradiso, Michael A. Neuroscience: exploring the brain. 2nd ed. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Bird, R. Byron; Stewart, Warren E.; Lightfoot, Edwin N.. **Fenómenos de transporte**. Barcelona: Repla, 1992. Cap. 16, p. 544-554.
- Cortez-Maghelly, C.; Bisch, P. M.. The effect of ionic strength and outer surface charge on the membrane electric potential profile: a simple model for erythrocyte membrane. **Bioelectrochemistry And Bioenergetics**, Rio de Janeiro, vol. 32, p.305-315, 30 mar. 1993.
- Cruz, Frederico A. O., Vilhena, Fernando S. D. S. and Cortez, Célia M. Solution of non-linear Poisson-Boltzmann equation for erythrocyte membrane. *Braz. J. Phys.*, vol.30, no.2, p.403-409, June 2000.
- Destexhe, A. & Pare´, D. Impact of network activity on the integrative properties of neocortical pyramidal neurons in vivo. *J. Neurophysiol.* 81, 1531–1547 (1999).

- Di Maio, V. Regulation of information passing by synaptic transmission: A short review. **Brain Research**, Pozzuoli, n. , p.26-38, 14 jun. 2008.
- Dodson, Paul D.; Forsythe, Ian D.. Presynaptic K⁺ channels: electrifying regulators of synaptic terminal excitability. **Trends In Neurosciences**, Leicester, v. 27, n. 4, p.210-217, 4 abr. 2004.
- Freedman, J.C.; Sperelakis, N. Cell Physiology Sourcebook: A molecular Approach. 3 ed. [S.l.]: Academic Press, 2001, p.209-218.
- Fujita, A.; Hibino, H.; Kurachi, Y. Cell Physiology Sourcebook: A molecular Approach. 3 ed. [S.l.]: Academic Press, 2001, p.601-622.
- Gamba, G., Miyanoshita, A., Lombardi, M., Lytton, J., Lee, W-S, Hediger, M. A., and Hebert, S. C. (1994). Molecular cloning, primary structure, and characterization of two members of the mammalian electroneutral sodium-(potassium)-chloride cotransporter family expressed in kidney. *J. Biol. Chem.* 269, 17 713-17 722.
- Gamba, G., Salzberg, S. N., Lombardi, M., Miyanoshita, A., Lytton, J., Hediger, M. A., Brenner, B. M., and Hebert, S. C. (1993). Primary structural and functional expression of a cDNA encoding the thiazidesensitive, electroneutral sodium-chloride cotransporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 274%2753.
- Geankoplis, Christie J.. Principios fundamentales de procesos de transporte de momento lineal de calor y de masa. In: GEANKOPLIS, Christie J.. **Procesos de transporte y operaciones unitarias**. 3. ed. México: Cecsca, 1998. Cap. 1, p. 13-18.
- Geck, P. and Heinz, E. (1989). Secondary active transport: introductory remarks. *Kidney Int.* 36, 334–341.
- Gerencser, G.A. and Zhang, J. (2003). Existence and nature of the chloride pump. *Biochim. Biophys. Acta* 1618, 133–139.

- Gibb, A. J. NMDA receptor subunit gating uncovered. *Trends Neurosci*, v.27, p.7-10, 2004.
- Grossberg, Stephen. The complementary brain: unifying brain dynamics and modularity. **Trends Cognitive Sciences**, Boston, v. 4, n. 6, p.233-246, 1 jun. 2000.
- Hodgkin, A. L.; Huxley, A. F.. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. **Physiol.**, Cambridge, p. 500-544. 10 mar. 1952.
- Huettner, J. E. Kainate receptors and synaptic transmission. *Prog Neurobiol* , v.70, p.387-407, 2003.
- Halliday, D.; Resnick, R.; Walker, J. **Fundamentos da Física 3**. 4. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.a., 1984, p. 17-90.
- Kandel, Eric R.; et al. Princípios da Neurociência. 4. ed. New York: Mcgraw-hill, 2003, p. 5-186.
- Karp, Gerald. Biologia celular e molecular: conceitos e experimentos; [tradução de Maria Dalva Cesario, et al.]. Barueri, SP: Manole, 2005. Cap. 4, p.122-182.
- Kirwan, Donald J.. Mass Transfer Principles. In: Rousseau, Ronald W.. **Handbook of separation process technology**. Usa: John Wiley And Sons, Inc, 1987. Cap. 2, p. 60-128.
- Kreyszig, E.; *Advanced Engineering Mathematics*; John Wiley & Sons, Inc. 7ª edição - 1993.
- Lent, Roberto. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Atheneu, 2001. 698 p.
- Luscher, H.-R.; Shiner, J. S.. Computation of action potential propagation and presynaptic bouton activation in terminal arborizations of different geometries. **Biophysical Journal**, Bern/Suíça, p. 1377-1388. Dez. 1990.

- Magee, Jeffrey C.. Dendritic voltage-gated ion channels. In: Stuart, Greg; Spruston, Nelson; Hausser, Michael. **Dendrites**. 2. ed. New York: Oxford, 2008. Cap. 9, p. 225-250.
- Malta, Coraci et al. **Modelagem em Biomatemática**. São Carlos, Sp: Sbmec, 2004. Cap. 1, 79 p.
- Meldrum, B.S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain. Review of Physiology and Pathology. *J. Nutr.* 130:1007S-15S; 2000.
- Micheli-Tzanakou, Evangelia. Nervous System. In: Bronzino, Joseph D.. **The Biomedical Engineering Handbook**. 2. ed. Boca Raton: Crc Press Llc, 2000. Cap. 3, p. 216-228.
- Naundorf, Bjorn; Wolf, Fred; Volgushev, Maxim. Unique features of action potential initiation in cortical neurons. **Nature**, Germany, v. 440, n. , p.1060-1063, 20 abr. 2006. LETTERS.
- Novakovic, Sanja D.; Eglén, Richard M.; Hunter, John C.. Regulation of Na⁺ channel distribution in the nervous system: Review. **Trends In Neurosciences**, Califórnia, v. 24, n. 8, p.473-478, ago. 2001.
- Popescu, G.; Auerbach, A. The NMDA Receptor Gating Machine: Lessons from Single Channels. *Neuroscientist*, v.10, p.192-198, 2004.
- Purves, Dale et al. **Neuroscience**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 2004. Cap. 2, p. 31-46.
- Russell, J. M. (2000). Sodium-potassium-chloride cotransport. *Physiol. Rev.* 80, 211-276.
- Strehler, Emanuel E.. Sodium-Calcium Exchangers and Calcium Pumps. In: BITTAR, E. Edward; BITTAR, Neville. **Cell Chemistry and Physiology**. England: Jai Press Inc, 1996. Cap. 4, p.125-150.
- Tareilus E. and Breer H (1995). Presynaptic calcium channels: Pharmacology and regulation. *Neurochem. Int*, 26, No. 6, 539-558.

- Teixeira, H. Z. et al. Descrição matemática da dinâmica iônica em tecidos neuronais. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p.85-96, 18 ago. 2001.
- Ventriglia, F., Di Maio, V. A Brownian model of glutamate diffusion in excitatory synapses of hippocampus. *Biosystems* 58, 67-74, 2000.
- Waxman, E. A.; Lynch, D. R. N-methyl-D-aspartate Receptor Subtypes: Multiple Roles in Excitotoxicity and Neurological Disease. *Neuroscientist*, v.11, p.37-49, 2005.
- Williams, J. R., Sharp, J. W., Kumari, V. G., Wilson, M., and Payne, J. A. (1999). The neuron-specific K-C1 cotransporter, KCC2. *J. Biol. Chem.* 274, 12 656-12 664.