

POTENCIAL PRÉ-SINÁPTICO: MODELO MATEMÁTICO DA DINÂMICA IÔNICA EM CÉLULA NEURAL

J. T. Quinaud*, A. E. Costa* e L. T. Pinto*

*Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos/ Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

juliana.quinaud@yahoo.com.br

Abstract: This work proposes a mathematical model to describe the temporal dynamics of a presynaptic membrane potential, considering the electrodiffusion and the ionic concentrations in intracellular and extracellular media. In the model are included the effects of sodium-potassium pumps, passive channels and voltage-dependent channels for K^+ and Na^+ . The main advance presented is the achievement of a mathematical expression that represents the opening and closing of voltage-gated channels. The results obtained are consistent with the real phenomenon, reproducing the ion dynamics during a presynaptic potential.

Palavras-chave: Potencial pré-sináptico, dinâmica iônica, eletrodifusão.

Introdução

A transmissão sináptica entre células neurais inicia com a chegada de um potencial de ação nos terminais pré-sinápticos. O fenômeno, denominado potencial de ação, PA, tem início quando a membrana do terminal, inicialmente em repouso, é despolarizada até o limiar de excitação, provocando grande movimentação iônica.

A partir do início do século XX potenciais de ação foram investigados em uma grande variedade de animais. Nestes estudos observou-se uma série de características intrínsecas a este fenômeno, tais como [1]:

- É um evento do tipo tudo ou nada, isto é, só ocorre se a intensidade do estímulo atingir o limiar de excitação e, uma vez atingido o limiar, o potencial de ação ocorre com uma amplitude e duração fixas;
- É auto-propagável, fazendo com que a onda de despolarização viaje rapidamente ao longo da membrana da célula;
- É transiente, de modo que a excitabilidade da membrana é rapidamente restaurada.

Tais características do potencial de ação permitem uma transferência rápida de informações ao longo do sistema nervoso.

O Na^+ e o K^+ são os principais íons envolvidos na geração do potencial de ação [2]. O influxo de Na^+ , decorrente da abertura dos canais de Na^+ sensíveis à tensão, é responsável pela despolarização da membrana

e início do potencial pré-sináptico. Em seguida, a abertura dos canais de K^+ sensíveis à tensão permite o fluxo de K^+ e provoca a repolarização da membrana, restabelecendo assim a distribuição inicial de cargas [3,4]. Assim, o potencial pré-sináptico é gerado e propagado até os terminais pré-sinápticos, pelo transporte de íons nos canais sensíveis à tensão.

Os modelos matemáticos que visam reproduzir este fenômeno usualmente baseiam-se em circuitos elétricos análogos aos mecanismos de geração de correntes elétricas, potenciais e campos elétricos [2]. Estes são modelos empíricos, baseados na observância do comportamento do potencial de ação, em vista da dificuldade introduzida pela distribuição espacial dos canais iônicos. Apesar de levarem em conta o fluxo iônico, o que permite o cálculo das mudanças de concentração dos mesmos em ambos os lados da membrana [5], estes modelos não são preditivos e não possibilitam a análise da dinâmica iônica em diferentes situações. Para isto é necessário o uso de modelos fenomenológicos que descrevam corretamente os mecanismos de transporte envolvidos, tais como a ação das bombas de transporte ativo e a eletrodifusão. Este último mecanismo de transporte considera a influência do potencial elétrico e do gradiente de concentração. Assim, para que se possa representar um PA com modelos preditivos torna-se necessária uma descrição matemática precisa das dinâmicas iônicas envolvidas.

Neste contexto, o objetivo deste artigo é propor um modelo matemático do potencial de ação que leve em conta os principais fenômenos envolvidos, entre os quais a eletrodifusão e as dinâmicas de abertura e fechamento dos canais sensíveis a tensão. Para isto são incluídos no modelo os canais passivos e os canais sensíveis à tensão de K^+ e Na^+ , bem como a contribuição da bomba Na^+/K^+ , elementos essenciais para a manutenção do equilíbrio iônico do potencial de membrana de células neurais.

Materiais e métodos

No modelo proposto, os meios intra e extracelular são considerados como regiões homogêneas separadas por uma membrana permeável. No estado de repouso, as concentrações iônicas ao redor da membrana pré-sináptica estão distribuídas conforme a Figura 1, onde

os diâmetros dos círculos são proporcionais as concentrações iônicas. Na figura, o círculo A⁻ representa os ânions orgânicos existentes no interior da célula, que contribuem para o seu potencial negativo.

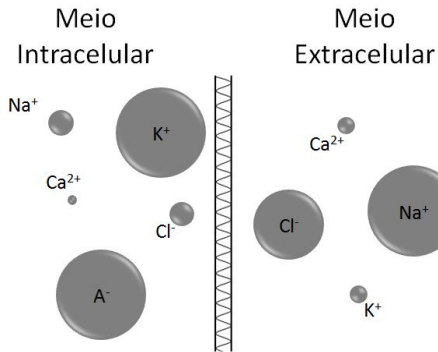


Figura 1: Esquema das concentrações iônicas na situação de repouso. Os círculos representam proporcionalmente as concentrações.

Notação:

$$C_{ij} = C(\text{fase, composto}) \rightarrow \begin{matrix} i = [1(\text{in}); 2(\text{out})] \\ j = [1(K^+); 2(Na^+) \\ 3(Ca^{2+}); 4(Cl^-)] \end{matrix}$$

Os fenômenos que possibilitam o fluxo iônico pela membrana são:

$$[\text{Acúmulo}] = \left[\begin{matrix} \text{Fluxo} \\ \text{Eletrodifusivo} \end{matrix} \right] + \left[\begin{matrix} \text{Fluxo} \\ \text{Bomba Na}^+/\text{K}^+ \end{matrix} \right] \quad (1)$$

O fluxo eletrodifusivo ocorre tanto nos canais passivos quanto nos canais sensíveis à tensão, sendo provocado pelo gradiente de concentração e pela diferença de potencial.

A seguinte notação é usada para representar as concentrações: C_{ij} é a concentração do íon j na região i ; $i=1$ refere-se ao meio interno e $i=2$ ao externo; $j=1$ ao íon potássio; $j=2$ ao íon sódio; $j=3$ ao íon cálcio e $j=4$ ao íon cloro. As mesmas notações são usadas para o fluxo.

Para uma dada área de sinapse, A_s , cada tipo de canal ocupa certa fração. Deste modo, S_j^a e S_j^v são, respectivamente, as frações de A_s ocupadas por canais para o composto j , constantemente abertos (a) ou sensíveis à tensão (v). Essas densidades são calculadas da seguinte forma:

$$S_j^n = \frac{\text{área superficial total ocupada pelos canais do tipo } n \text{ do íon } j}{\text{área superficial total da membrana}} \quad (2)$$

Sendo $n=a$ (canais passivos) ou v (canais sensíveis à tensão).

Verificou-se na literatura que os íons Ca^{2+} , Cl^- e A^- não influenciam a formação do potencial pré-sináptico, pois ânions orgânicos são principalmente aminoácidos e proteínas que permanecem no interior da célula e os transportadores dos íons Ca^{2+} e Cl^- são eletroneutros [6].

Assim, nesse modelo a membrana é considerada impermeável a esses íons.

Fluxo Eletrodifusivo (F_{ij}) – é dependente das seguintes variáveis:

$$F_{ij} = \left[\begin{matrix} \text{área de} \\ \text{escoamento} \end{matrix} \right] \cdot [\text{permeabilidade}] \cdot \left[\begin{matrix} \text{gradiente químico} \\ \text{e elétrico} \end{matrix} \right] \quad (3)$$

A área de escoamento é uma fração da área da membrana, A_s . A permeabilidade é diretamente proporcional ao coeficiente de difusão (D_j) e inversamente proporcional à espessura de membrana (τ), $\frac{D_j}{\tau}$. O sinal será determinado pelo gradiente. Sendo assim, considerando a concentração interna menos a concentração externa, teremos (-) para $i=1$ e (+) para $i=2$. O gradiente elétrico depende da diferença de potencial V entre os dois lados da membrana, que é função das concentrações iônicas:

$$V = \gamma \cdot F \cdot \sum_j z_j \cdot (C_{1j} - C_{2j})_j \quad (4)$$

Onde $\gamma = 4 \pi d^2 k o$, z_j é a valência, F é a constante de Faraday e $k o$ é a constante eletrostática.

A ordem das concentrações no termo gradiente químico faz com que a diferença de potencial seja vista a partir da região interna. Para uma diferença de potencial negativa, os íons positivos entram na célula.

Deste modo, um aspecto importante é que o gradiente elétrico é proporcional à concentração do íon, na fase da qual ela sai.

Reunindo todas as informações, a equação do fluxo eletrodifusivo generalizada para as diferentes regiões e íons é representada pela Equação 5:

$$F_{ij} = -(3 - 2i) (S_j^a + S_j^v) A_s \frac{D_j}{\tau} \cdot \left[(C_{1j} - C_{2j}) + \left(z_j \frac{FV}{RT} C_{kj} \right) \right] \quad (5)$$

O valor de k para os íons Na^+ e K^+ é obtido da seguinte forma:

- Para $V > 0 \rightarrow k=1$ e
- Para $V < 0 \rightarrow k=2$.

Fluxo através da Bomba Na^+/K^+ – A bomba Na^+/K^+ trabalha retirando 3 íons sódio do interior da célula e introduzindo 2 íons potássio. A ação dessa bomba 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^+ :

- a) Relação estequiométrica;
- b) 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;
- c) Dependência das concentrações iônicas;

d) 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 cinética para uma bomba Na^+/K^+ :

$$r = kb (C_{1\text{Na}})^2 C_{2\text{K}} \quad (6)$$

Assim, a equação geral para o fluxo da bomba Na^+/K^+ está representada na Equação 7:

$$Fb_{ij} = \underbrace{[(3-2i)(3-2j)]}_{\text{Determina o sinal}} (1+j) \cdot \underbrace{Sbkb}_{\text{Coeficiente Estequiométrico}} As (C_{12})^2 C_{21} \quad (7)$$

Onde $Sbkb$ é o produto formado pela fração de área ocupada pelas bombas Na^+/K^+ e o coeficiente cinético.

Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão – Os canais sensíveis à tensão possuem uma dinâmica de abertura e fechamento. Esta dinâmica é representada por funções com variação temporal, como pode ser observado nas tabelas 1.

As Equações 8 e 9 foram propostas para representar a abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão de sódio e potássio por apresentar um comportamento compatível com os dados experimentais de evolução do potencial pré-sináptico [7]. Através da comparação com esses dados obteve-se os parâmetros $\beta_{1\text{Na}}$, $\beta_{2\text{Na}}$, $\beta_{1\text{K}}$, $\beta_{2\text{K}}$, cujo os valores são respectivamente, 20, 10, 15 e 35.

Tabela 1 – Equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão.

| | |
|------------|--|
| Abertura | $S_j^v = Sv(1 - e^{-\beta_{1j} t_{1j}})$ (8) |
| Fechamento | $S_j^v = Sv(e^{-\beta_{2j} t_{2j}})$ (9) |

Nomenclatura usada nas Tabelas 1:

| | |
|--------------|--|
| Sv_j | Densidade máxima dos canais sensíveis à tensão do íon j (Na^+ ou K^+); |
| t_{1j} | Tempo de abertura do canal sensível à tensão do íon j ; |
| t_{2j} | Tempo de fechamento do canal sensível à tensão do íon j ; |
| β_{1j} | Parâmetro de abertura para os canais sensíveis à tensão para o íon j ; |
| β_{2j} | Parâmetro de fechamento para os canais sensíveis à tensão para o íon j . |

Equação global do Balanço de Massa – É apresentada na Equação 16, onde $vol = As \delta$, e δ é a espessura do meio intra e extracelular.

$$vol \frac{dC_{ij}}{dt} = -(3-2i) (S_j^a + S_j^v) As \frac{D_j}{\tau} [(C_{1j} - C_{2j}) + (z_j \frac{F}{RT} C_{kj} V)] + [(3-2i)(3-2j)] (1+j) Sbkb (C_{12})^2 C_{21} \quad (10)$$

Período de repouso – Neste período os canais sensíveis à tensão estão fechados. A bomba de Na^+/K^+ é um mecanismo mais importante para a manutenção do repouso. A Tabela 2 mostra os valores das concentrações iônicas nesse período, as quais são distribuídas conforme apresentado na Figura 1.

Tabela 2 - Concentrações iônicas no repouso.

| Íons | Intracelular (mol/m ³) | Extracelular (mol/m ³) | Referência |
|------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------|
| Ânions | 140,0 | zero | [3] |
| K^+ | 140,0 | 4,0 | [8] |
| Na^+ | 18,0 | 142,0 | [4] |
| Cl^- | 16,0 | 103,0 | [8] |
| Ca^{2+} | 0,001 | 3,0 | [9] |

Como dito anteriormente o repouso é um estado de equilíbrio, e por isso não há variação da concentração com o tempo ($dC_{ij}/dt = 0$), sendo assim o balanço de massa para esse período é descrito nas Equações 11 e 12.

Para o íon potássio:

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

Para o íon sódio:

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

Como pode-se observar nas equações acima, a bomba Na^+/K^+ é dependente dos canais passivos de sódio e de potássio para que o repouso seja mantido, como também a dependência dos canais passivos de sódio com os canais passivos de potássio.

Isolando $Sbkb As (C_{12})^2 C_{21}$ das Equações 11 e 12 e as igualando, obtém-se:

$$D_1 \frac{S_1^a}{2} [C_{11} - C_{21} (1 - \frac{FV}{RT})] = -D_2 \frac{S_2^a}{3} [C_{12} - C_{22} (1 - \frac{FV}{RT})] \quad (13)$$

Através dessa igualdade, define-se:

$$A_1 = 1 - \frac{FV}{RT} \quad (14) \quad \text{e} \quad A_2 = \frac{C_{11} - C_{21} A_1}{C_{12} - C_{22} A_1} \quad (15)$$

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:

$$S_2^a = -\frac{3}{2} \frac{D_1}{D_2} A_2 S_1^a \quad (16)$$

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

$$Sbkb = \frac{1}{2} \frac{D_1}{\tau} A_3 S_1^a \quad (17)$$

$$\text{sendo } A_3 = \frac{c_{11} - c_{21} A_1}{(c_{12})^2 c_{21}} \quad (18).$$

Portanto, considerando a temperatura de 310K, o potencial de repouso de -54 mV e selecionando S_1^a igual a 0,0025, obtém os valores de $7,87 \times 10^{-4}$ para S_2^a e $3,29 \times 10^{-7} \text{ m}^4/\text{ms.mol}$ para Sbkb.

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 [10]:

$$D_{AB} = \frac{7,4 \cdot 10^{-8} (\varphi M_B)^{1/2} T}{\mu_B V_A^{0,6}} \quad (19)$$

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).

Resultados

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 espessura do meio intra e extracelular, δ ; a área da membrana sináptica, As ; 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^+ , $Sbkb$ 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} . As difusões foram calculadas pela Equação 19, a espessura da membrana e a área da membrana podem ser obtidas da literatura e a espessura do meio intra e extracelular é um valor imposto. Os valores desses parâmetros são apresentados na Tabela 3. S_{Na}^a e $Sbkb$ são calculados pelas Equações 16 e 17. Os valores dos parâmetros das equações de abertura e fechamento dos canais sensíveis à tensão são descritos anteriormente, restando dois parâmetros a serem determinados.

Os canais de sódio sensíveis à tensão (S_{Na}^v) iniciam o processo de abertura a partir de um estímulo dado no tempo de 1,0 ms, e o fechamento total ocorre quando o potencial de membrana atinge seu valor máximo [7]. Na sequência, os canais de potássio sensíveis à tensão (S_K^v) iniciam o processo de abertura logo após o fechamento

dos canais sensíveis à tensão de sódio, e seu fechamento total ocorre quando o potencial de membrana retorna ao valor de repouso.

Tabela 3 - Parâmetros utilizados na solução do modelo matemático.

| Parâmetro | Valor | Referência |
|-------------------------------|------------------------|------------|
| D_k (m ² /ms) | $1,48 \times 10^{-12}$ | Calculado |
| D_{Na} (m ² /ms) | $2,19 \times 10^{-12}$ | Calculado |
| τ (m) | $1,0 \times 10^{-8}$ | [11] |
| As (m ²) | $1,0 \times 10^{-12}$ | [12] |
| δ (m) | $1,0 \times 10^{-5}$ | Imposto |

O modelo matemático foi validado por meio de comparação com dados experimentais *in vivo* de neurônios neocorticais, obtidos por Naundorf *et al.* (2006). Após a otimização foram obtidos os resultados para os parâmetros livres, apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores dos parâmetros livres obtidos através da otimização do modelo matemático.

| Parâmetro | Valor | Obtenção |
|-------------|-------|-----------|
| S_{v_Na} | 0,047 | Otimizado |
| S_{v_K} | 0,013 | Otimizado |

Usando o modelo proposto, foi obtido um tempo de duração de 0,4 ms para a fase ascendente e de 1,0 ms para a fase descendente do potencial pré-sináptico. Os resultados são apresentados nas Figuras 2 e 3.

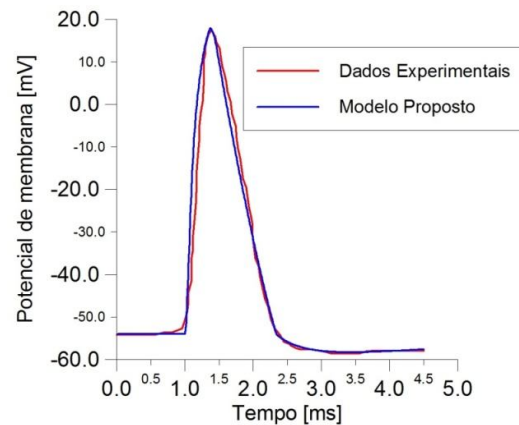


Figura 2 – Evolução do potencial pré-sináptico. Comparação do modelo proposto com a curva experimental de Naundorf *et al.*, 2006.

Na Figura 3 é apresentado a variação de concentração dos íons sódio e potássio durante um PA. As concentrações encontradas pelo modelo para o íons sódio satisfazem a variação de concentração necessária para alcançar o ponto de máxima despolarização, as quais podem ser calculadas pela equação de equilíbrio de Nernst. Já para o íon potássio ocorre pouca variação

de concentração, o que é confirmado pela referência Malta *et al*, 2004.

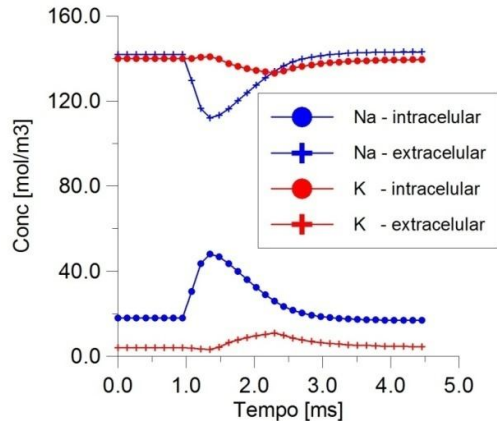


Figura 3 – Variação de concentração dos íons sódio e potássio durante o potencial pré-sináptico.

Discussão

Através do balanço de massa na região da membrana pré-sináptica obteve-se o modelo matemático fenomenológico para a simulação da dinâmica iônica durante o potencial de ação. Neste modelo, foram considerados os fluxos iônicos resultantes da eletrodifusão, da ação da bomba Na^+/K^+ e da presença de canais iônicos passivos e sensíveis à tensão na membrana neuronal. Paralelamente, propuseram-se duas equações matemáticas (Equação 8 e 9) para representar a abertura e o fechamento de canais sensíveis à tensão.

Os resultados obtidos com o modelo proposto (Equação 10) foram consistentes com o fenômeno real (Figura 3), reproduzindo a dinâmica de íons durante um potencial pré-sináptico. Assim, como os resultados do modelo mostraram-se biologicamente plausíveis, este pode ser integrado a modelos de redes neuronais e utilizado na modelagem da transmissão sináptica.

O principal avanço apresentado neste trabalho foi a inclusão dos efeitos da eletrodifusão e da ação da bomba sódio-potássio. Deste modo, os objetivos do trabalho foram alcançados, com a obtenção de um modelo matemático fenomenológico que representou adequadamente a dinâmica temporal do potencial de ação pré-sináptico, do momento da despolarização até a repolarização da membrana neuronal.

Agradecimentos

O presente trabalho teve o apoio do CNPq e da Capes – Brasil.

Referências

[1] Fletcher, A. Action potential: generation and propagation. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, v. 12, n. 6, 2011, p. 258-262.

- [2] Hodgkin, A. L.; Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *Physiol.*, Cambridge, p. 500-544. 10 mar.
- [3] Kandel, E. R.; Schwartz, J. H.; Jessell, T. M. (2003). *Princípios da Neurociência*. 4. ed. New York: Mcgraw-hill, p. 5-186.
- [4] Kress, G.J., Mennerick, S. (2009). Action potential initiation and propagation: Upstream influences on neurotransmission. *Neuroscience*, v. 158, n. 1, p. 211-222.
- [5] Hodgkin, A.L., Huxley, A.F. e Katz, B. (1952). Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *LOLIGO*, *J. Physiol.*, V. 116, p. 424-448.
- [6] Alvarez-Leefmans, F.J.; Delpire, E. (2009). *Physiology and Pathology of Chloride Transporters and Channels in the Nervous System: From molecules to Diseases*. 1 ed. San Diego: Elsevier.
- [7] 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.
- [8] Teixeira, H. Z.; Almeida, A. C. G.; Infantosi, A. F. C.; Rodrigues, A. M.; Duarte, M. A. (2001). 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.
- [9] Strehler, E. E. (1996). Sodium-Calcium Exchangers and Calcium Pumps. In: BITTAR, E. Edward; BITTAR, Neville. *Cell Chemistry and Physiology*. England: Jai Press Inc. Cap. 4, p.125-150.
- [10] Kirwan, D. J. (1987). Mass Transfer Principles. In: Rousseau, Ronald W.. *Handbook of separation process technology*. Usa: John Wiley And Sons, Inc. Cap. 2, p. 60-128.
- [11] Karp, G. (2005). *Biologia celular e molecular: conceitos e experimentos*; [tradução de Maria Dalva Cesario, et al.]. Barueri, SP: Manole. Cap. 4, p.122-182.
- [12] Lüscher, H.-R.; Shiner, J. S. (1990). Computation of action potential propagation and presynaptic bouton activation in terminal arborizations of different geometries. *Biophysical Journal*, Bern/Suíça, p. 1377-1388. Dez.
- [13] Malta, Coraci et al. *Modelagem em Biomatemática*. São Carlos, Sp: Sbm, 2004. Cap. 1, p. 1-27.
- [14] Bear, M. F; Connors, B. W; Paradiso, M. A. (2001). *Neuroscience: exploring the brain*. 2nd ed. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins.
- [15] Lent, R. (2001). *Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência*. São Paulo: Atheneu, p. 698.
- [16] Quinaud, J. T.; Araújo, B. B.; Pinto, L. T. (2010). Modelo matemático da dinâmica iônica durante um potencial pré-sináptico em célula neural. XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Foz do Iguaçu, p. 1604-1612.