

MODELAGEM E SIMULAÇÃO DA DIFUSÃO DO NEUROTRANSMISSOR GLUTAMATO NA FENDA SINÁPTICA

A. A. GONZAGA, A. E. COSTA e L. T. PINTO

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos

E-mail para contato: leonel@enq.ufsc.br

RESUMO – Os neurotransmissores são mensageiros químicos essenciais para a transmissão sináptica. No interior do neurônio pré-sináptico, eles são transportados em pacotes denominados vesículas sinápticas, que podem se fundir com a membrana do neurônio, sendo então liberados no espaço externo, chamado fenda sináptica. Uma vez liberados, eles se difundem pela fenda para se ligarem a receptores específicos localizados na membrana do neurônio pós-sináptico. O entendimento dessa dinâmica é muito importante para o tratamento de doenças cerebrais como Alzheimer e Parkinson. Porém, faltam modelos fenomenológicos que representem este processo. Usando uma abordagem da engenharia química, neste trabalho é proposto um modelo matemático para descrever o processo de difusão do glutamato, que é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central, através da fenda sináptica. A liberação do glutamato ocorre em pontos aleatórios da membrana, segundo uma distribuição gaussiana na direção radial. Na fenda o transporte do glutamato ocorre por difusão, criando um perfil de concentração espaço-temporal radial, angular e normal à membrana pré-sináptica. Os resultados obtidos são consistentes com o fenômeno real, representando a dinâmica de difusão do glutamato através da fenda sináptica.

1. INTRODUÇÃO

No sistema nervoso central, a transmissão da informação é realizada majoritariamente por sinapses químicas. Neste tipo de sinapse não há continuidade estrutural entre os neurônios pré e pós-sináptico, estando estes separados por um pequeno espaço denominado fenda sináptica. Em consequência, a propagação da transmissão sináptica depende da liberação de substâncias químicas denominadas neurotransmissores (Kandel e Siegelbaum, 2003a).

No neurônio pré-sináptico, milhares de moléculas de um neurotransmissor específico são acondicionadas e transportadas em pacotes denominados vesículas sinápticas, que se agrupam em regiões da membrana especializadas na liberação do transmissor, chamadas zonas ativas. Durante a descarga de um potencial de ação pré-sináptico, o aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular leva as vesículas a se fundirem com a membrana pré-sináptica pelo processo de exocitose, liberando seu conteúdo de neurotransmissores na fenda. Os neurotransmissores então se difundem pela fenda sináptica (Kandel e Siegelbaum, 2003a).

O principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central é o glutamato. Como exemplo, Eccles *et al.* (1964) observaram que o potencial pós-sináptico excitatório em neurônios motores da medula espinhal resulta da abertura de canais de glutamato permeáveis ao Na^+ e ao K^+ , e que esses canais conduzem ambos os íons praticamente com a mesma permeabilidade. À medida que a força do estímulo extracelular aumenta, a despolarização produzida pelo potencial sináptico excitatório torna-se maior, até que seja intensa o suficiente para atingir o limiar de excitação, gerando um potencial de ação.

Um desequilíbrio de transmissores excitatórios, como o glutamato, pode gerar graves quadros de enfermidades neurológicas. Quantidades excessivas de glutamato são altamente tóxicas para os neurônios e, mesmo uma breve exposição a concentrações elevadas causa a morte de muitos neurônios, uma ação conhecida como excitotoxicidade por glutamato. Esta excitotoxicidade é resultado da superestimulação dos receptores de glutamato, ocasionando um influxo excessivo de Ca^{2+} , principalmente através de canais tipo NMDA. Altas concentrações de Ca^{2+} intracelular podem ativar proteases e fosfolipases dependentes de cálcio e produzir radicais livres tóxicos para a célula (Manev *et al.*, 1989; Dubinsky, 1993; Kandel e Siegelbaum, 2003b). A toxicidade por glutamato contribui para o dano celular após um derrame, para a morte celular em decorrência de crises epiléticas e para doenças degenerativas como Parkinson, Alzheimer e Doença de Huntington, entre outras (Meldrum, 1993; Kandel e Siegelbaum, 2003b).

Desse modo, o entendimento da dinâmica de difusão do glutamato é muito importante para o tratamento de doenças degenerativas, mas são escassos os modelos fenomenológicos que representem este processo. Assim, neste trabalho é proposto um modelo matemático para descrever o processo de difusão do glutamato através da fenda sináptica. A liberação do transmissor ocorre em pontos aleatórios da membrana pré-sináptica, seguindo uma distribuição gaussiana, onde há maior probabilidade de ancoramento das vesículas próximo ao centro da membrana. Na fenda, o transporte do glutamato ocorre por difusão, criando um perfil de concentração espaço-temporal radial, angular e normal à membrana pré-sináptica.

2. MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática foi realizada considerando duas etapas da transmissão sináptica que estão associadas à ação do neurotransmissor glutamato: a) Ancoramento da vesícula junto à membrana pré-sináptica e liberação das moléculas de glutamato na fenda; b) difusão do glutamato através da fenda.

2.1 Ancoramento da Vesícula e Liberação do Glutamato na Fenda Sináptica

O processo de ancoramento de uma vesícula contendo moléculas de glutamato junto à membrana neuronal e sua fusão com a mesma está associado ao aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular, que por sua vez está condicionado à abertura de canais de Ca^{2+} dependentes do potencial de membrana, ou seja, voltagem-dependentes.

Em trabalho anterior realizado em nosso grupo de pesquisa (Neurolab, UFSC), foi proposta a modelagem e simulação da evolução do potencial pré-sináptico em célula neural

(Quinaud *et al.*, 2010), tendo-se conseguido resultados compatíveis com os dados experimentais obtidos por Naundorf *et al.* (2006). Na Figura 1 estes resultados são apresentados, com indicação do ponto de potencial máximo, no qual ocorre a abertura dos canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes (Siegelbaum *et al.*, 2003), iniciando o processo de ancoramento das vesículas junto à membrana do neurônio pré-sináptico.

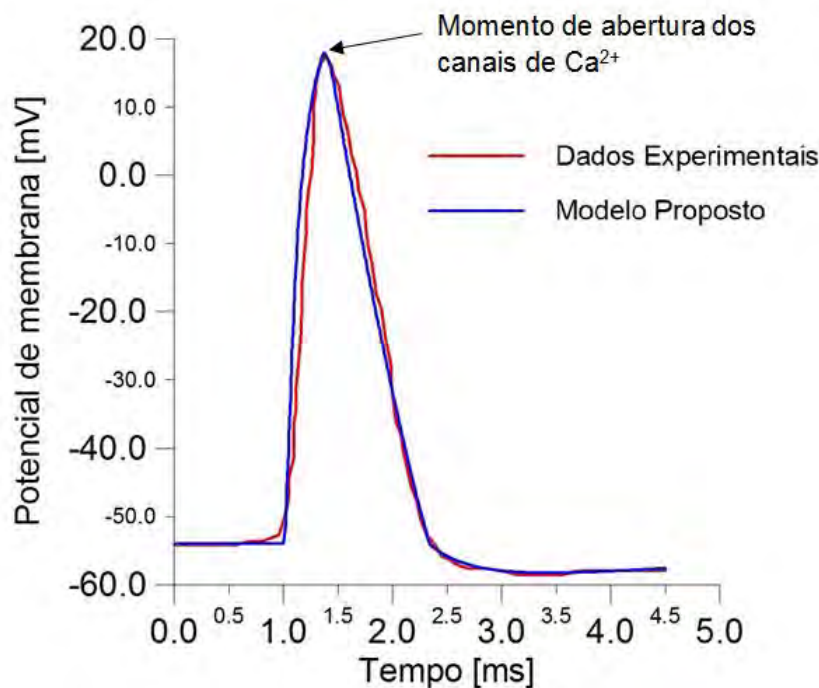


Figura 1 - Evolução do potencial pré-sináptico, com indicação do momento de abertura dos canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes (Quinaud *et al.*, 2010).

Dando seguimento ao estudo, neste trabalho, o conteúdo de neurotransmissores de uma vesícula de glutamato é liberado em um ponto $p(r, \theta)$ aleatório de uma membrana neuronal circular, com raio total (R) de 400 nm (Ventriglia, 2011), conforme ilustrado na Figura 2.

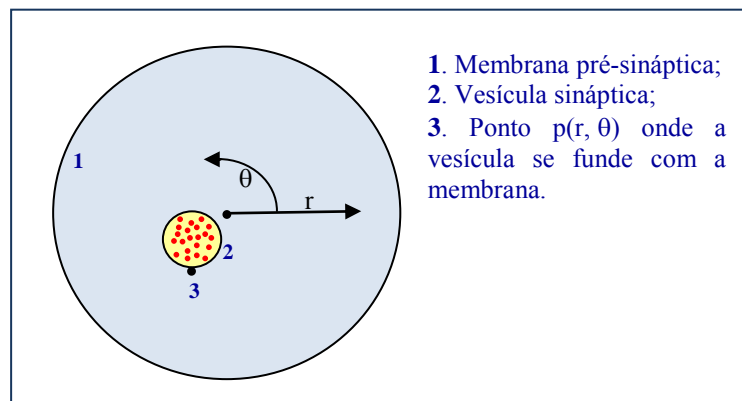


Figura 2 - Ancoramento de uma vesícula de glutamato junto à membrana neuronal.

Considerou-se que a liberação das vesículas obedece à distribuição gaussiana de probabilidades (Equação 1) na direção radial, de modo que há maior chance de ancoramento próximo ao centro da membrana. O ângulo θ é dado por uma função de probabilidade igualmente distribuída.

$$f(r) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{r^2}{2}} \quad (1)$$

2.2 Difusão do Glutamato na Fenda Sináptica

Após liberadas, as moléculas de glutamato se difundirão ao longo da fenda sináptica considerada cilíndrica que separa os neurônios pré-sináptico e pós-sináptico, nas direções radial (r), angular (θ) e longitudinal (z , altura da fenda), conforme ilustrado na Figura 3. A altura da fenda sináptica (H) é de 20 a 50 nm (Bear *et al.*, 2008). Uma vesícula sináptica contém entre 3000 e 5000 moléculas de glutamato (Savtchenko e Rusakov, 2004).

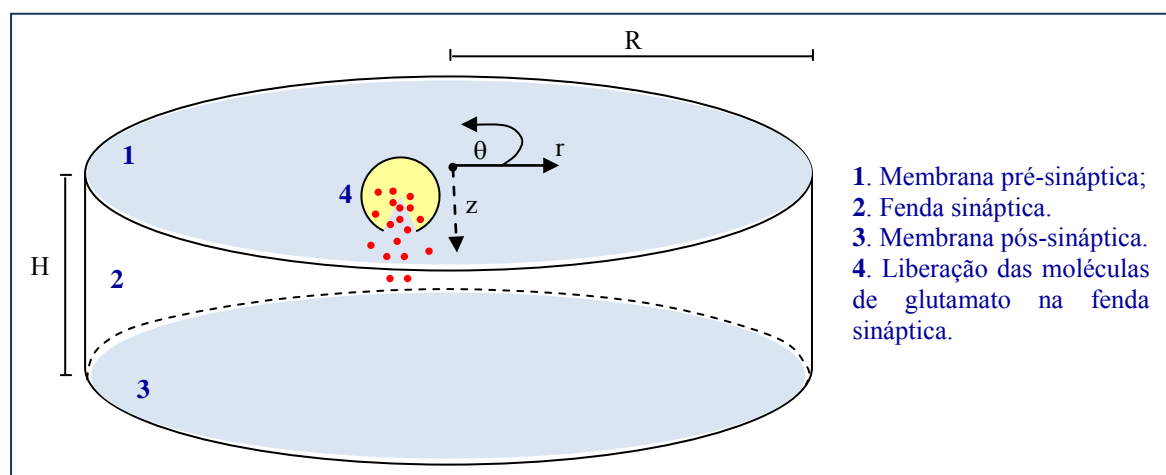


Figura 3 - Representação da fenda sináptica.

Para descrever o processo de difusão das moléculas de glutamato através da fenda, empregou-se a lei de difusão de Fick, um modelo fenomenológico de grande aplicação na Engenharia Química (Equação 2).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C}{\partial r} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2 C}{\partial \theta^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right), \quad (2)$$

onde D ($\text{nm}^2/\mu\text{s}$) é o coeficiente de difusão do glutamato, a concentração C é expressa em milimolar (mM) e, o raio r e a altura z em nanômetros (nm).

Para a solução do modelo, são necessárias uma condição inicial e seis condições de contorno – duas para cada coordenada espacial. Como condição inicial ($t = 0$), temos que a quantidade de glutamato contida na vesícula é liberada de forma homogênea na região do ancoramento. Como a vesícula pode ancorar em pontos aleatórios da membrana pré-sináptica,

não existe simetria nas direções radial e angular, de modo que em $r = 0$, $\theta = 0^\circ$ e $\theta = 180^\circ$ são usadas condições de contorno de continuidade. Em $r = R$, $z = 0$ e $z = H$, temos condições de contorno de isolamento.

Resolvendo a Equação 2 com as condições de contorno e inicial indicadas, foram obtidos os perfis de concentração de glutamato no tempo e no espaço.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo apresentado na Equação 2 foi implementado usando o compilador Visual Fortran 6.6. Em cada simulação, uma concentração de glutamato de 300 mM foi liberada de uma única vesícula na fenda sináptica. Considerou-se uma fenda com raio de 400 nm (Ventriglia, 2011) e espessura de 20 nm (Bear *et al.*, 2008). O coeficiente de difusão do glutamato na fenda, de acordo com Aidoo (2006), é de $0,65 \text{ nm}^2/\text{ms}$. Os neurotransmissores são liberados instantaneamente na fenda sináptica.

O ponto da membrana pré-sináptica escolhido aleatoriamente pelo programa para a liberação do glutamato corresponde ao raio $r = 120 \text{ nm}$ e ao ângulo $\theta = 180^\circ$. Depois de liberados, os neurotransmissores tendem para a região pós-sináptica devido ao gradiente de concentração existente, ocorrendo um fluxo de glutamato através da fenda.

O perfil de concentração do glutamato foi avaliado em diversos tempos e pontos na fenda sináptica, como mostram as Figuras 4 e 5.

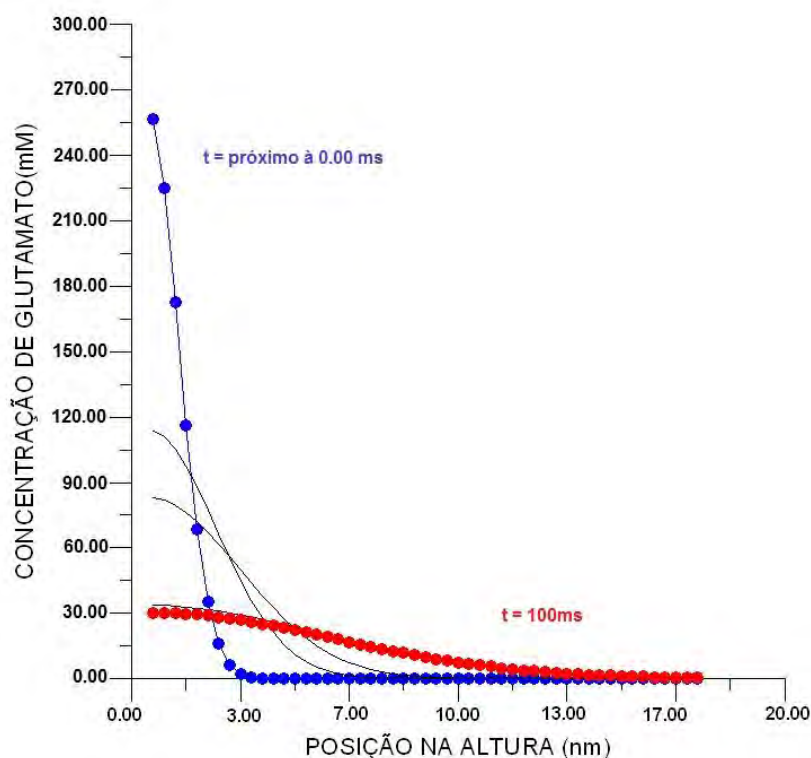


Figura 4 – Perfil de concentração de glutamato em relação à altura da fenda.

Pode se observar na Figura 4 que, em um tempo próximo do inicial (em azul), o perfil de concentração de glutamato apresenta uma inclinação maior no início da fenda, já que nesse tempo não há neurotransmissores na membrana pós-sináptica, visto que as moléculas foram recém liberadas. Com o passar do tempo, a concentração de glutamato tende a se homogeneizar na fenda, e observa-se uma acentuação menor das curvas intermediárias, até se alcançar uma concentração média, como indica a linha vermelha, que representa o tempo final de 100 ms.

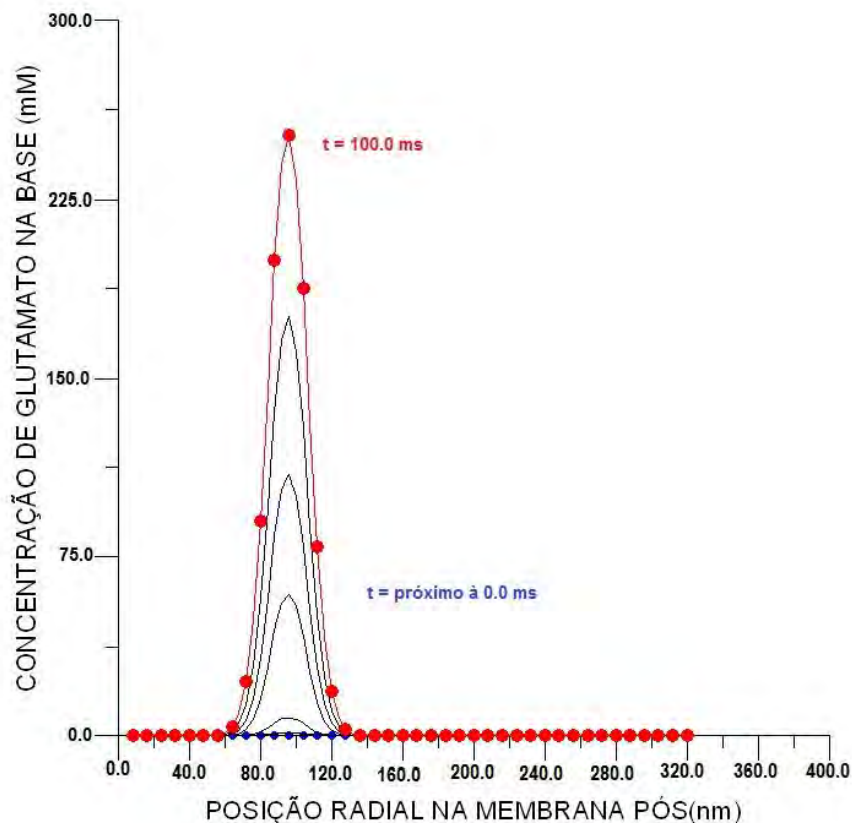


Figura 5 – Perfil de concentração de glutamato na membrana pós-sináptica em relação à posição radial da fenda.

Na Figura 5, observa-se que com o passar do tempo a frente de concentração de glutamato vai se aproximando da membrana pós-sináptica, como esperado.

Neste trabalho, que apresenta uma abordagem fenomenológica, encontrou-se um tempo aproximado de difusão do glutamato de 100 ms. Este tempo é similar ao verificado por Savtchenko e Rusakov (2004), que empregaram o método estatístico de Monte Carlo para simular a difusão do glutamato em uma fenda sináptica tortuosa.

De modo geral, observa-se que o modelo proposto neste estudo representa adequadamente o perfil de concentração de glutamato através da fenda sináptica.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, a liberação e a difusão do neurotransmissor glutamato através de uma fenda sináptica cilíndrica foram modeladas e simuladas. O modelo proposto – a lei de difusão de Fick – foi implementado, sendo obtidos os perfis de concentração de glutamato espaço-temporal radial, angular e longitudinal através da fenda.

Os objetivos do trabalho foram alcançados. O modelo fenomenológico proposto representa adequadamente a dinâmica de difusão de neurotransmissores em um uma sinapse glutamatérgica, fornecendo um maior entendimento sobre este processo, o que é muito importante para o tratamento de doenças degenerativas.

5. AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio prestado ao desenvolvimento deste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- AIDOO, A. Y.; WARD, K. Spatio-temporal concentration of acetylcholine in vertebrate synaptic cleft. *Mathematical and Computer Modeling*, v.44, p. 952-962, 2006.
- BEAR, M.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. Porto Alegre: ARTMED, 3ª Ed., 2008.
- DUBINSKY, J.M. Intracellular calcium levels during the period of delayed excitotoxicity. *J. Neurosci.*, v. 13, n. 2, p. 623-631, 1993.
- ECLES, J.C. *The physiology of Synapses*. New York: Academic press, 1964.
- KANDEL, E.R.; SIEGELBAUM, S.A. Aspectos gerais da transmissão sináptica. *Princípios da Neurociência*, cap. 10, p. 175-186. Barueri: Editora Manole, 2003a.
- KANDEL, E.R.; SIEGELBAUM, S.A. Integração sináptica. *Princípios da Neurociência*, cap.12, p. 207-228. Barueri: Editora Manole, 2003b.
- MANEV, H.; FAVARON, M.; GUIDOTTI, A.; COSTA, E. Delayed increase of Ca²⁺ influx elicited by glutamate: role in neuronal death. *Mol. Pharmacol.*, v. 36, n.1, p.106-112, 1989.
- MELDRUM, B. Amino acids as dietary excitotoxins: a contribution to understanding neurodegenerative disorders. *Brain Res. Rev.*, v. 18, n.3, p. 293-314, 1983.
- NAUNDORF, B.; WOLF, F.; WOLGUSHEV, M. Unique Features of Action Potential Initiation in Cortical Neurons. *Nature*, v. 440, p. 1060-1063, 2006.
- QUINAUD, J.T.; ARAÚJO, B.B.; PINTO, L.T. Modelo matemático da dinâmica iônica durante um potencial pré-sináptico em célula neural. *XVIII COBEQ*, 2010.
- SAVTCHENKO, L.P.; RUSAKOV, D.A. Glutamate escape from a tortuous synaptic cleft of the hippocampal mossy fibre synapse. *Neurochem. Int.*, v. 45, p. 479-484, 2004.
- SCHWARTZ, J.H. Neurotransmissores. *Princípios da Neurociência*, cap. 15, p. 280-297. Barueri: Editora Manole, 2003.
- SIEGELBAUM, S.A.; SCHWARTZ, J.H.; KANDEL, E.R. Modulação da transmissão sináptica: segundos mensageiros. *Princípios da Neurociência*, cap. 13, p. 229-252. Barueri: Editora Manole, 2003.
- VENTRIGLIA, F. Effect of filaments within the synaptic cleft on the response of excitatory synapses simulated by computer experiments. *Biosystems*, v. 104, p. 14-22, 2011.