

Brayan Marcelo Paredes Goyes

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA DINÂMICA DO ÍON SÓDIO
E DO NEUROTRANSMISSOR GLUTAMATO EM UMA
SINAPSE TRIPARTITE DURANTE UM POTENCIAL DE AÇÃO**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-graduação em Engenharia Química
da Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
mestre em Engenharia Química
Orientador: Prof. Dr. Leonel Teixeira
Pinto

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Paredes Goyes, Brayan Marcelo
MODELAGEM MATEMÁTICA DA DINÂMICA DO ÍON SÓDIO E
DO NEUROTRANSMISSOR GLUTAMATO EM UMA SINAPSE
TRIPARTITE DURANTE UM POTENCIAL DE AÇÃO / Brayan
Marcelo Paredes Goyes ; orientador, Leonel Teixeira
Pinto, 2018.
149 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Engenharia Química. 3.
Sinapse Tripartite. 4. Glutamato. 5. Modelagem
matemática. I. Teixeira Pinto, Leonel. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Brayan Marcelo Paredes Goyes

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA DINÂMICA DO ÍON SÓDIO
E DO NEUROTRANSMISSOR GLUTAMATO EM UMA
SINAPSE TRIPARTITE DURANTE UM POTENCIAL DE AÇÃO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Engenharia Química” e aprovada em sua forma final pelo Programa Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 3 de abril de 2018.

Prof. Dr. Leonel Teixeira Pinto
Orientador

Prof.^a Dr.^a Cíntia Soares
Coordenadora

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luismar Marques Porto

Prof. Dr. Marcelo Henrique Romano Tragtenberg

Dr.^a Adriana Teixeira Mello

Este trabalho é dedicado à minha noiva,
à minha mãe e à minha avó.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me conduzir, independente do meu estado de ânimo, todo dia de uma forma tão amorosa e real.

À minha noiva, Palloma, pela sua parceria infinita, apoio, amor e respeito que me deram tanta força durante toda esta jornada.

À minha mãe, Lucy, pelos seus ensinamentos e pelo seu grande esforço que fez possível eu ter saído do país e chegar até aqui. Aos meus irmãos, David e Gaby, por ter me ensinado com alegria e muita humanidade o valioso de ter irmãos.

Ao Professor Leonel pela sua paciência e por nunca ter deixado de acreditar em mim, sem o qual eu não teria finalizado o presente trabalho. Também lhe agradeço por ter me ensinado muito de uma forma tão empolgante, divertida e inspiradora.

Ao Renato por ter me adotado como se eu fosse seu filho.

Aos meus grandes amigos Edgar, Raquel, Joffre, Marcelo, Luis e Dani que me acompanharam durante toda esta caminhada me dando folego e alegria.

A todos os irmãos da SIB por serem minha família.

Aos meus colegas e amigos Angelo, Julie, Sara e Thais por terem tornado agradáveis momentos críticos de estudo e pela sua amizade que foi além da faculdade.

Ao Professor Erasmo por ter colaborado com boa disposição para eu ter me encantado pela simulação computacional.

A todos meus colegas do Neurolab pelo apoio e discussões que enriqueceram este trabalho.

À ESSS pela compreensão e grande aprendizado que facilitaram a finalização desta etapa.

Aos Professores Dr. Luismar Marques Porto, Dr. Marcelo Henrique Romano Tragtenberg e à Dr.^a Adriana Teixeira Mello por aceitarem participar da banca examinadora do presente trabalho e, deste modo, contribuírem para que o mesmo seja aperfeiçoado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela sua contribuição para minha formação.

“Graças à vida, que me deu tanto,
me deu o coração que agita seu passo
quando olho o fruto do cérebro humano
quando vejo o bem tão longe do mal.”
(Violeta Parra)

RESUMO

A liberação de glutamato pelo astrócito é um dos mecanismos da sinapse tripartite pelo qual o astrócito modifica diretamente o sinal que chega nos terminais pós-sináptico e pré-sináptico durante um potencial de ação. Nesse local é realizada a modelagem matemática do glutamato proveniente do astrócito e do neurônio. A equação de Langevin é usada para representar a movimentação de glutamato na fenda, já que nas condições da fenda sináptica o glutamato não cumpre com a hipótese do contínuo. Também é modelado matematicamente o fluxo do íon sódio, principal responsável pela despolarização da membrana pós-sináptica. São realizadas várias simulações nas quais se observam que somente o glutamato astrocital é capaz de despolarizar a membrana pós-sináptica em 5mV. Dessa maneira, verifica-se a capacidade do astrócito de potencializar o sinal no neurônio pós-sináptico. A influência do astrócito no neurônio pré-sináptico é demonstrada pelo aumento na probabilidade da liberação do glutamato de vesículas ancoradas. Comprova-se que com a ação do astrócito esta probabilidade pode ser aumentada em até 60% devido à ação do astrócito. O tempo que o astrócito libera o glutamato e a distância relativa astrócito-neurônio é apresentado pela análise paramétrica das variáveis mais importantes do modelo, que são determinantes para a existência ou não da influência do astrócito na sinapse. Por fim, procura-se mostrar uma aplicação introdutória do modelo em alguns transtornos neuronais.

Palavras-chave: Sinapse tripartite. Gliotransmissores. Equação de Langevin.

ABSTRACT

The glutamate release by the astrocyte is one of the mechanisms of the tripartite synapse whereby the astrocyte directly modifies the signal arriving at the postsynaptic and presynaptic terminals during an action potential. In this work the mathematical modeling of astrocytal and neuronal glutamate is performed. The Langevin equation is used to represent the movement of glutamate in the cleft, since the continuum hypothesis doesn't apply to these conditions. The sodium ion is also mathematically modeled, because it's the main responsible for the depolarization of the postsynaptic membrane. Several simulations are performed in which it's observed that astrocytal glutamate is able to depolarize the post-synaptic membrane at 5mV. Thus, the astrocyte ability to potentiate the signal in the postsynaptic neuron is shown. The increase in the probability of glutamate release of anchored vesicles shows that the astrocyte also influences the signal on the presynaptic neuron. It's found that this probability can be increased by up to 60% due to the astrocyte action. A parametric analysis of the most important model variables is accomplished. It's shown that the glutamate liberation time from astrocyte and the relative distance astrocyte-neuron define whether or not there is influence of the astrocyte on the synapse. Finally, an introductory application of the model to study some neuronal disorders is shown.

Keywords: Tripartite synapse. Gliotransmitters. Langevin equation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sequência de passos da sinapse bipartite.	32
Figura 2: Sinapse tripartite. Esquema da comunicação bidirecional entre o astrócito e os neurônios.	34
Figura 3: Desenho esquemático do mecanismo de regulação glial na transmissão sináptica.	34
Figura 4: Ciclo do Glutamato na sinapse química.	36
Figura 5: Ciclo do cálcio no neurônio pré-sináptico.	39
Figura 6: Dinâmica da vesícula sináptica.	41
Figura 7: Proteínas presentes no terminal do botão pré-sináptico.	42
Figura 8: Modelos cinéticos para as ligações de Glutamato em receptores AMPA.	43
Figura 9: Ligação do glutamato no astrócito.	44
Figura 10: Liberação de D-serina pelos astrócitos.	45
Figura 11: Domínio de cálculo considerado por Holmes (1995).	47
Figura 12: Cinética de reação considerada por Holmes (1995) para os receptores a) NMDA e b) AMPA.	48
Figura 13: Domínio de cálculo considerado por Ventriglia e Di Maio (2013).	49
Figura 14: Esquema do modelo considerado por Nazari <i>et al.</i> (2015). .	50
Figura 15: Esquema do modelo considerado por Nazari <i>et al.</i> (2015). .	52
Figura 16: Vista superior da estrutura e elementos da sinapse tripartite no presente trabalho.	54
Figura 17: Domínio de cálculo considerado no modelo matemático desenvolvido neste trabalho.	56
Figura 18: Domínio de cálculo do sódio.	62
Figura 19: Estruturas da membrana pré-sináptica no modelo matemático.	66
Figura 20: Semiesfera formada após a fusão da vesícula com a membrana.	67
Figura 21: Reflexão do glutamato nas paredes da vesícula.	69
Figura 22: Estruturas da membrana pré-sináptica no modelo matemático.	76
Figura 23: Etapas da ligação entre o glutamato e canais AMPA e NMDA.	77
Figura 24: Etapas da ligação entre o glutamato e canais AMPA e NMDA no presente trabalho.	78
Figura 25: Probabilidade de uma molécula ficar ligada em função do seu tempo ligada; a) AMPA, b) NMDA.	79

Figura 26: Probabilidade de desbloqueio de Mg ²⁺ dos canais NMDA em função do potencial de membrana pós-sináptico.	80
Figura 27: Estruturas da membrana do astrócito no modelo matemático.	82
Figura 28: Meio extra-sináptico no modelo matemático.	87
Figura 29: Fluxograma do programa computacional	89
Figura 30: Concentração média de glutamato na fenda sináptica e seu desvio padrão	92
Figura 31: Concentração média de glutamato na fenda sináptica em um raio de 100nm.....	93
Figura 32: Concentração média de glutamato na fenda sináptica em diferentes posições da fenda sináptica.....	95
Figura 33: Concentração média de glutamato na fenda sináptica para diferentes posições de ancoragem da vesícula pré-sináptica.....	96
Figura 34: Potencial de membrana (mV) em função do tempo de liberação do glutamato astrocital (t_{ast}) em milissegundos.....	101
Figura 35: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico quando é liberado glutamato astrocital e neuronal simultaneamente	102
Figura 36: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico quando é liberado glutamato astrocital após 0.05 ms da liberação de glutamato neuronal.....	103
Figura 37: Perfil ao longo do tempo do aumento de probabilidade basal de liberação de vesículas ancoradas no terminal pré-sináptico devido ao glutamato astrocital.....	105
Figura 38: Fração transiente de receptores NMDA/NR2B, localizados na lateral do terminal pré-sináptico, ligados por glutamato astrocital para várias posições em z do centro da vesícula.....	106
Figura 39: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico para diferentes distancias radiais entre o astrócitos e os neurônios.....	108
Figura 40: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico na presença ou ausência de glutamato astrocital para um raio de astrócito de 220nm.....	109
Figura 41: Perfil da concentração de glutamato transiente para diferente número de transportadores de glutamato (EAAT) em funcionamento..	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dimensões e quantidade de estruturas que formam o domínio de cálculo.	57
Tabela 2: Concentrações iônicas constantes consideradas para o cálculo da diferença de potencial na membrana pós-sináptica.	64
Tabela 3: Comparação dos efeitos provocados pelo glutamato neuronal e astrocital nos neurônios pré-sináptico e pós-sináptico.....	98
Tabela 4: Diferença no número de receptores ativados para diferentes números de transportadores EAAT em funcionamento.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina Difosfato
AMPA	Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
ATP	Adenosina Trifosfato
ATPase	Adenosinatrifosfatases
EAAT	Transportador aminoácido excitatório
EDO	Equação diferencial ordinária
EPSP	Potencial pós-sináptico excitatório
Glu	Glutamato
H-H	Hodgkin-Huxley
LTP	Potencial de longa duração
mGLURs	Receptores metabotrópicos de glutamato
NMDA	N-metil-D-aspartato
PMCA	Bomba de cálcio da membrana plasmática
PSD	Densidade pós-sináptica

LISTA DE SÍMBOLOS

α_i	Constantes de velocidade do modelo H-H (s^{-1})
β_i	Constantes de velocidade do modelo H-H (s^{-1})
Γ	Quantidade de canais no terminal pré-sináptico ligados pelo glutamato astrocital (adimensional)
γ	Viscosidade dinâmica do meio extracelular (Pa s)
ε	Intensidade do ruído branco gaussiano da equação de Langevin (adimensional)
θ_s	Constante do modelo de Terman (2002) (mV s ⁻¹)
$\xi_i(t)$	Ruído branco gaussiano (adimensional)
σ_s	Constante do modelo de Terman (2002) (adimensional)
τ_m	Constante de tempo do neurônio (s)
Ω_n	Números randômicos seguindo uma distribuição normal (adimensional)
A	Concentração de glutamato na fenda no modelo de Holmes (1995) (mol m ⁻³)
A_{FME}	Área de transferência de massa do sódio com o meio externo no lado da fenda sináptica (m ²)
A_{NME}	Área de transferência de massa do sódio com o meio externo no lado do terminal pós-sináptico (m ²)
A_2	Estado aberto dos receptores AMPA e NMDA com 2 moléculas de glutamato ligadas (adimensional)
A_{OP}	Área aberta pelo glutamato que se liga nos receptores pós-sinápticos que permite a entrada do sódio (m ²)
B_0	Estado fechado dos receptores AMPA e NMDA (adimensional)
B_1	Estado fechado dos receptores AMPA e NMDA com 1 molécula de glutamato ligada (adimensional)
B_2	Estado fechado dos receptores AMPA e NMDA com 2 moléculas de glutamato ligadas (adimensional)
Ca_i	Concentração de cálcio no interior do neurônio (mol)
C_{F_j}	Concentração de ânions, íons potássio, cloro e cálcio na fenda sináptica (mol m ⁻³)

C_{FK}	Concentração de potássio na fenda sináptica (mol m^{-3})
C_{FNa}	Concentração de sódio na fenda sináptica (mol m^{-3})
C_{FNa}^{eq}	Concentração de sódio de equilíbrio no meio infinito da fenda sináptica (mol m^{-3})
C_m	Capacitância da membrana (F)
C_n	Constantes da solução numérica de Gillespie (adimensional)
C_{N_j}	Concentração de ânions, íons potássio, cloro e cálcio no terminal pós-sináptico (mol m^{-3})
$C_{N_{Na}}$	Concentração de sódio no terminal pós-sináptico (mol m^{-3})
$C_{N_{Na}}^{eq}$	Concentração de sódio de equilíbrio no meio infinito do terminal pós-sináptico (mol m^{-3})
D_{Na}	Difusividade do sódio na fenda sináptica ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$)
D_2	Estado desensitivado dos receptores AMPA e NMDA com 2 moléculas de glutamato ligadas (adimensional)
E_L	Potencial de repouso (mV)
$EPSP_{MAX_GLU_AST}$	Potencial excitatório pós-sináptico máximo provocado pelo glutamato astrocital (mV)
$EPSP_{MAX_GLU_NEU}$	Potencial excitatório pós-sináptico máximo provocado pelo glutamato neuronal (mV)
F	Constante de Faraday (C mol^{-1})
$F_{i_{ME}}$	Fluxos de sódio provenientes do meio externo ao volume de controle (mol s^{-1})
$\bar{g}_K n^4$	Condutância máxima do potássio (S)
g_L	Condutância de vazamento (S)
\bar{g}_{Na}	Condutância máxima do sódio (S)
Glu_Astro	Glutamato proveniente do astrócito (adimensional)
h	Varição da inativação dos íons sódio (adimensional)
h_F	Coefficiente de transferência de massa do sódio na fenda sináptica (m s^{-1})
h_i	coeficiente de transferência de massa do sódio e (m s^{-1})

h_N	Coeficiente de transferência de massa do sódio no terminal pós-sináptico ($m s^{-1}$)
h_{VC}	Altura do volume de controle do balanço do sódio (m)
I_e	Corrente de injeção (mA)
J_{PMCA}	Taxa de reação da bomba de cálcio ($mol s^{-1}$)
k_B	Constante de Boltzmann ($J K^{-1}$)
K_M	Constante de Michaelis Menten da bomba de cálcio ($mol m^{-3}$)
$L(t)$	Função de movimentação randômica das moléculas de glutamato (N)
m	Massa de cada molécula de glutamato(kg)
n	Varição da ativação dos íons potássio (adimensional)
P_B	Probabilidade de ligação de moléculas de glutamato nos receptores AMPA e NMDA pós-sinápticos (adimensional)
$P_c(x_c, y_c, z_c)$	Coordenadas da molécula de glutamato no ponto de colisão com alguma parede do domínio (nm)
P_D	Probabilidade de dessensitização de receptores AMPA e NMDA pós-sinápticos (adimensional)
$P_{O_{PRE}}$	Probabilidade de ligação de moléculas de glutamato nos receptores NMDA/NR2B localizados na região lateral da membrana pré-sináptica (adimensional)
$P_0(x_0, y_0, z_0)$	Coordenadas da molécula de glutamato antes da colisão com alguma parede do domínio (nm)
$P_1(x_1, y_1, z_1)$	Coordenadas da molécula de glutamato fora do domínio após a colisão com alguma parede (nm)
$P_2(x_2, y_2, z_2)$	Coordenadas da molécula de glutamato dentro do domínio após a colisão com alguma parede (nm)
P_u	Probabilidade de desbloqueio de Mg^{+2} nos receptores NMDA (adimensional)
R	Raio da vesícula sináptica (nm)
R_{astro}	Raio do astrócito (nm)
R_m	Resistencia da membrana (Ω)
R_{VC}	Raio do volume de controle do balanço do sódio (m)

$Sbkb$	Constante da bomba sódio potássio ($m^6 mol^{-2} s^{-1}$)
T	Temperatura da fenda sináptica (K)
$[T]$	Concentração de glutamato na fenda no modelo de Terman (2002) ($mol m^{-3}$)
t_{ast}	Tempo transcorrido entre a liberação de glutamato neuronal e a liberação de glutamato astrocital (s)
t_b	Tempo calculado que cada molécula de glutamato fica ligada nos receptores (s)
$\overline{t}_{b_{AMPA}}$	Tempo médio que cada molécula de glutamato fica ligada nos receptores AMPA (s)
$\overline{t}_{b_{NMDA}}$	Tempo médio que cada molécula de glutamato fica ligada nos receptores NMDA (s)
u	Taxa de recuperação da membrana ($mV s^{-1}$)
U_0	Probabilidade basal de liberação de uma vesícula ancorada (adimensional)
U_0^*	Probabilidade basal de liberação de uma vesícula ancorada na ausência de glutamato (adimensional)
U_{0MAX}	Probabilidade basal máxima atingida de liberação de vesículas ancoradas no terminal pré-sináptico (adimensional)
V	Potencial de membrana (mV)
v	Velocidade de cada molécula de glutamato ($m s^{-1}$)
V_K	Potencial de reversão do potássio (mV)
V_L	Potencial de vazamento mV)
V_{max}	Velocidade máxima da bomba de cálcio ($mol s^{-1}$)
V_{Na}	Potencial de reversão do sódio (mV)
V_{OT}	Diferencia de potencial da membrana pós-sináptica causada por aníons, íons potássio, cloro e cálcio (mV)
vol	Volume de controle do sódio (m^3)
z	Valencia do íon sódio (adimensional)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
1.1 OBJETIVO GERAL.....	30
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
2.1 CONCEITOS BÁSICOS.....	31
2.1.1 Sinapse química.....	31
2.1.2 Sinapse tripartite.....	32
2.1.3 Glutamato	35
2.2 PROCESSOS DA SINAPSE TRIPARTITE.....	37
2.2.1 Potencial de ação pré-sináptico	37
2.2.2 Dinâmica iônica pré-sináptica.....	38
2.2.3 Dinâmica vesicular e liberação do neurotransmissor	40
2.2.4 Recepção glutamato no neurônio pós-sináptico.....	42
2.2.5 Recepção de glutamato no astrócito	43
2.2.6 Liberação de glutamato, ATP e D-serina pelo astrócito	44
2.2.7 Recepção de ATP e D-serina no neurônio pós-sináptico.....	45
2.2.8 Recepção ADP no neurônio pré-sináptico.....	46
2.3 MODELOS MATEMÁTICOS	46
2.3.1 HOLMES, W. (1995).....	46
2.3.2 VENTRIGLIA, F; DI MAIO, V. (2013)	49
2.3.3 NAZARI, Z. ET AL. (2015).....	50
2.3.4 ALLAM, S. L. ET AL. (2012)	51
3 MODELAGEM MATEMÁTICA.....	53
3.1 DOMÍNIO	53
3.2 COMPOSTOS QUÍMICOS E ÍONS MODELADOS.....	58
3.3 FENDA SINÁPTICA.....	58
3.3.1 Composição.....	58
3.3.2 Dinâmica do glutamato.....	59
3.3.3 Dinâmica do sódio	61

3.4 MEMBRANA PRÉ-SINÁPTICA.....	66
3.4.1 Vesículas sinápticas.....	67
3.4.1.1 Vesícula na membrana pré-sináptica	67
3.4.1.2 Quantidade e distribuição espacial das vesículas.....	68
3.4.1.3 Posição inicial dos neurotransmissores dentro da vesícula	68
3.4.1.4 Movimentação do glutamato dentro da vesícula.....	68
3.4.1.5 Colisões do glutamato com as paredes da vesícula.....	69
3.4.1.5.1 Identificação do ponto de colisão	69
3.4.1.5.2 Cálculo do plano de reflexão	71
3.4.1.5.3 Cálculo da nova posição da molécula	72
3.4.2 Canais na membrana pre-sináptica	72
3.4.2.1 Transportadores de Glutamato.....	72
3.4.2.2 Receptores de Glutamato	73
3.4.3 Parede da membrana pré-sináptica	74
3.5 MEMBRANA PÓS – SINÁPTICA	75
3.5.1 Canais na membrana pós-sináptica.....	76
3.5.1.1 Receptores de Glutamato	76
3.5.1.2 Transportadores de Glutamato	81
3.5.2 Parede da membrana pós-sináptica	81
3.6 ASTRÓCITO	82
3.6.1 Vesícula do astrócito	82
3.6.2 Parede da membrana do astrócito.....	83
3.6.2.1 Identificação do ponto de colisão.....	84
3.6.2.2 Cálculo da reta de reflexão.....	85
3.6.2.3 Cálculo da nova posição da molécula	86
3.6.3 Canais no Astrócito.....	86
3.6.3.1 Transportadores de Glutamato	87
3.7 MEIO EXTRA-SINÁPTICO	87
3.8 PROGRAMA COMPUTACIONAL	87

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
4.1 VALIDAÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO.....	91
4.1.1 Validação da dinâmica do glutamato na fenda sináptica.....	92
4.1.2 Validação das respostas dos terminais neuronais causadas pelo glutamato astrocital e neuronal.....	96
4.2 AÇÃO DO ASTRÓCITO NA SINAPSE TRIPARTITE.....	99
4.2.1 Ação do astrócito no neurônio pós-sináptico.....	100
4.2.2 Ação do astrócito no neurônio pré-sináptico.....	104
4.3 ESTUDO DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS.....	107
4.3.1 Distância entre o astrócito e os neurônios.....	107
4.3.2 Quantidade de transportadores de Glutamato (EAAT).....	110
5 CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS	115
APÊNDICE A – CÓDIGO EM FORTRAN DO PROGRAMA COMPUTACIONAL	123

1 INTRODUÇÃO

Processos biológicos envolvem fenômenos como reação química, transporte de espécies, energia e quantidade de movimento, podendo assim ser abordados pela Engenharia Química. Neste contexto, o Laboratório de Neuroengenharia Computacional, NEUROLAB, pertencente ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, tem como foco o estudo dos processos cerebrais.

O cérebro possui um papel central no funcionamento do corpo humano, comandando uma diversidade de processos ao mesmo tempo complexos, rápidos e que exigem muita precisão. Todas as operações observadas a nível macro são resultado do acoplamento das unidades básicas de comunicação no cérebro, chamadas sinapses químicas.

Historicamente, se acreditava que a sinapse química tinha como protagonistas somente dois neurônios. Entretanto, desde o começo da década dos noventa, estudos mostram a participação ativa e importante de um terceiro componente, uma célula glial chamada astrócito, criando-se assim o conceito de sinapse tripartite (ARAQUE *et al.*,1999). A partir dessa descoberta, inúmeras pesquisas experimentais têm se dedicado para desvendar com exatidão a contribuição do astrócito. Mas, levando em conta as pequenas dimensões da região em que ocorre a sinapse (~20nm), ainda não é possível identificar com precisão todos os processos que fazem parte da sinapse tripartite. Assim, a modelagem matemática e simulação computacional aparentam serem técnicas úteis, para descrever e prever os fenômenos que compõem a sinapse tripartite.

A complexidade e o desconhecimento de vários mecanismos da sinapse tripartite não permitem ainda que se tenha um modelo matemático completo e preciso desta sinapse. Assim, é razoável tentar entender em detalhe alguns elementos da sinapse tripartite, que no futuro possibilitarão propor um modelo confiável global. Um elemento essencial da sinapse tripartite é o neurotransmissor, responsável pela comunicação do neurônio pré-sináptico, com o pós-sináptico e o astrócito na fenda sináptica. Entre os diversos tipos de neurotransmissores, o glutamato se destaca, por ser o neurotransmissor predominante nas sinapses excitatórias.

Vários modelos matemáticos existem na literatura que retratam a difusão de glutamato na fenda sináptica. Mas pouquíssimos consideram a difusão de glutamato proveniente do astrócito, que é um dos alicerces da sinapse tripartite. Além disso, a maioria dos modelos consideram uma abordagem contínua da matéria para a difusão de glutamato, a qual pode não ser a mais adequada. O pequeno número de moléculas de glutamato

(~4000) é o principal fato que contribue para que a hipótese do contínuo comece a apresentar problemas neste cenário.

Neste sentido, o presente trabalho almeja apresentar um modelo matemático discreto do glutamato neuronal e astrocital nas estruturas da fenda sináptica mais importantes para a sinapse tripartite. Complementarmente, um balanço de sódio na membrana pós-sináptica em conjunto com a dinâmica do glutamato permitirão calcular a variação do potencial de membrana pós-sináptica. Desta forma, possibilita-se analisar a influência destas moléculas e das estruturas da fenda na intensidade da sinapse tripartite, além de mostrar, neste mesmo contexto, a viabilidade do conceito de sinapse tripartite.

1.3 OBJETIVO GERAL

Construir um modelo matemático fenomenológico da movimentação discreta de glutamato e da dinâmica do sódio nas estruturas de uma sinapse tripartite.

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os fenômenos mais importantes da sinapse tripartite desde o ponto de vista da dinâmica do glutamato e do sódio;
- Delimitar o domínio de cálculo desses fenômenos;
- Desenvolver um modelo matemático;
- Resolver numericamente o modelo matemático proposto;
- Validar o modelo matemático;
- Realizar um estudo da influência dos parâmetros mais importantes do modelo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONCEITOS BÁSICOS

2.1.1 Sinapse química

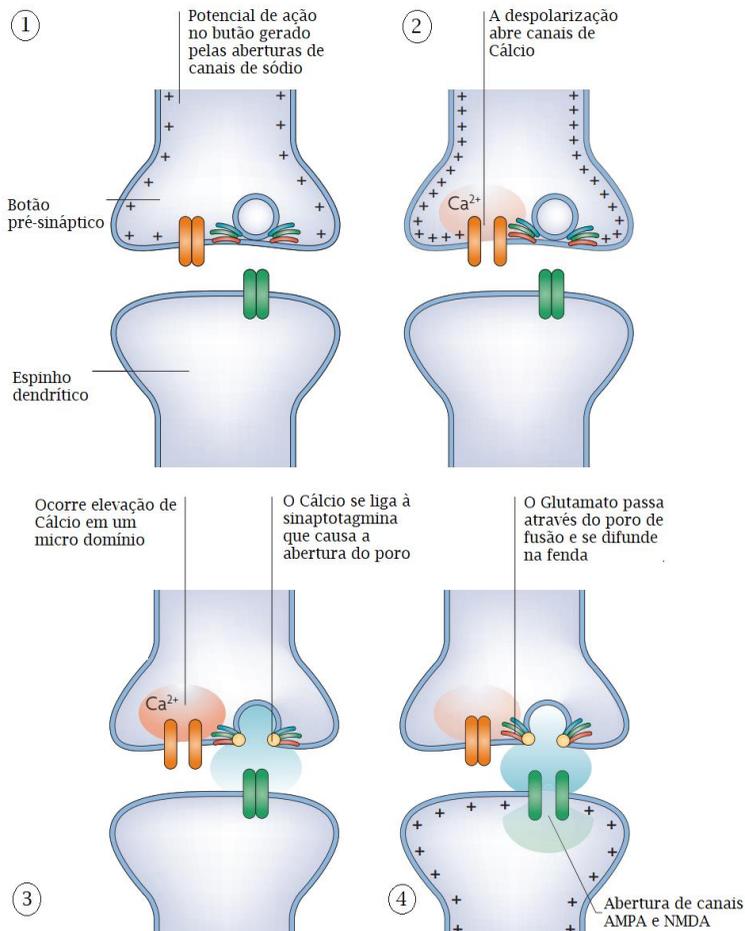
Todo processamento no sistema nervoso é realizado mediante comunicação entre neurônios. Esta comunicação, chamada de sinapse, pode ser elétrica ou química. A sinapse elétrica possui como característica uma membrana que junta dois neurônios. Por outro lado, a sinapse química apresenta um espaço extracelular, chamado de fenda sináptica, pelo qual atravessam os neurotransmissores para transmitir sinal para o próximo neurônio. No Sistema Nervoso Central, principalmente pelo caráter unidirecional, as sinapses químicas prevalecem. Assim, no presente trabalho, o objeto de estudo é o conjunto de processos que integram as sinapses químicas.

As sinapses químicas podem envolver diferentes estruturas do neurônio. A maior parte das sinapses excitatórias são axo-dendríticas, nas quais constam o botão do axônio do neurônio pré-sináptico e o espinho do dendrito do neurônio pós-sináptico. A sequência de processos das sinapses químicas está representada na Figura 1.

O processo se inicia com a chegada do potencial de ação ao terminal pré-sináptico, que causa uma mudança no potencial da membrana pré-sináptica e, por consequência, são abertos os canais de cálcio dependentes de voltagem.

Entretanto, existe uma concentração de cálcio no interior do neurônio menor do que no meio extracelular, assim, como os canais estão abertos, ocorre um fluxo de cálcio para dentro da célula pré-sináptica. A alta concentração intracelular promove a fusão das vesículas sinápticas – organelas que contêm os neurotransmissores, os quais são liberados a partir da fusão – na membrana pré-sináptica. Posteriormente, os neurotransmissores se difundem através da fenda sináptica, até atingir a membrana pós-sináptica ligando-se a diferentes receptores, provocando tanto abertura, como fechamento de vários canais iônicos. A entrada e saída de íons no neurônio pós-sináptico causa a mudança no potencial da membrana pós-sináptica. Como o dendrito do neurônio pós-sináptico realiza ao mesmo tempo muitas sinapses, o conjunto da contribuição de cada uma delas determinará a formação ou não de um potencial excitatório pós-sináptico (PURVES *et al.*, 2004).

Figura 1: Sequência de passos da sinapse bipartite.



Fonte: Adaptada de Lisman, Raghavachari e Tsien (2007).

2.1.2 Sinapse tripartite

As células da glia são células não neuronais do sistema nervoso. Este tipo de célula tem como função dar suporte às células “principais”, chamadas neurônios. Entre suas atribuições estão: a manutenção do meio iônico dos neurônios, modulação da taxa de propagação do sinal nervoso, modulação sináptica mediante a captação dos neurotransmissores

presentes na fenda sináptica e auxílio na recuperação de lesões neurais. Existem três tipos de células gliais, os astrócitos, oligodendrócitos e micróglia. Classicamente a principal função dos astrócitos é a manutenção de um ambiente químico apropriado para a transmissão de sinal neuronal (PURVES *et al.*, 2004).

A descrição supracitada corresponde à característica tradicional da sinapse, na qual os neurônios pré e pós-sináptico são os principais na comunicação cerebral. Por outro lado, desde o começo da década de noventa, surgiram muitas evidências indicando que o astrócito deve ser considerado o terceiro integrante das sinapses químicas, esta teoria é chamada de sinapse tripartite.

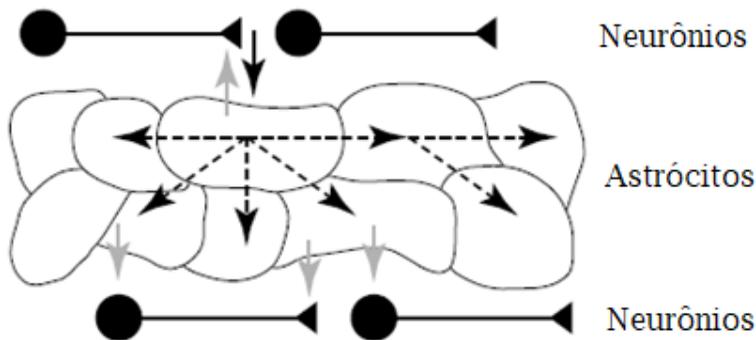
De acordo com Santello e Volterra (2009), as primeiras evidências vieram por duas observações: (1) a liberação de neurotransmissores durante a sinapse provoca a elevação do cálcio intracelular no astrócito, (2) o aumento de cálcio estimula a liberação de transmissores químicos desde o astrócito.

A primeira observação foi feita por Cornell-Bell *et al.* (1990). Seus estudos mostram que a ligação do glutamato aos receptores dos astrócitos promove o aumento de cálcio intracelular, que serve para a sinalização de longo alcance entre os astrócitos.

Em relação à segunda observação, há mais de quarenta anos sabe-se que as células glia podem liberar neurotransmissores (VILLEGAS, 1972), mas somente na década de noventa que foi provado, a partir de experimentos, que a liberação de neurotransmissores acontece devido ao aumento de cálcio intracelular (PARPURA *et al.*, 1994).

Após diversos estudos, em 1999, foi adotado, pela primeira vez, o nome de sinapse tripartite, e Araque *et al.* (1999) descreveram uma completa comunicação bidirecional entre os dois neurônios da sinapse e o astrócito envolvido. A Figura 2 representa esta nova concepção da sinapse. A seta preta contínua representa a sinalização neurônio–astrócito, dada pelo neurotransmissor que sai do neurônio e atinge receptores do astrócito que incrementarão seu cálcio intracelular. Este aumento de cálcio produzirá ondas de cálcio que se propagaram por outros astrócitos, formando a sinalização astrócito–astrócito (seta preta tracejada). Em resposta ao aumento de cálcio, os astrócitos podem liberar glutamato que ao atingir os neurônios, podem aumentar seu cálcio interno, sua atividade elétrica ou modular a transmissão sináptica, dando existência à sinalização astrócito–neurônio (seta cinza).

Figura 2: Sinapse tripartite. Esquema da comunicação bidirecional entre o astrócito e os neurônios.

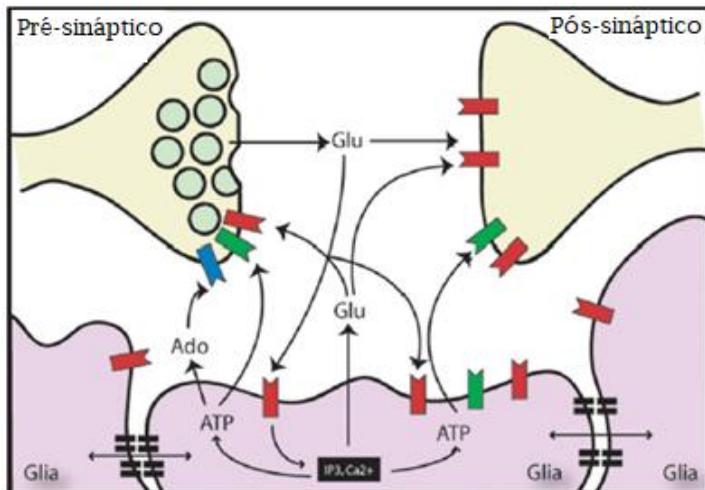


Fonte: Adaptado de Araque *et al.* (1999).

Mais de uma década depois, foram realizadas diversas descobertas acerca da sinapse tripartite. Entre as principais estão compostos químicos envolvidos, receptores participantes e novas função de modulação.

Uma nova perspectiva da sinapse tripartite é demonstrada na figura 3. Cada um dos processos será discutido nas seções seguintes.

Figura 3: Desenho esquemático do mecanismo de regulação glial na transmissão sináptica.



Fonte: Adaptada de Noori (2011).

2.1.3 Glutamato

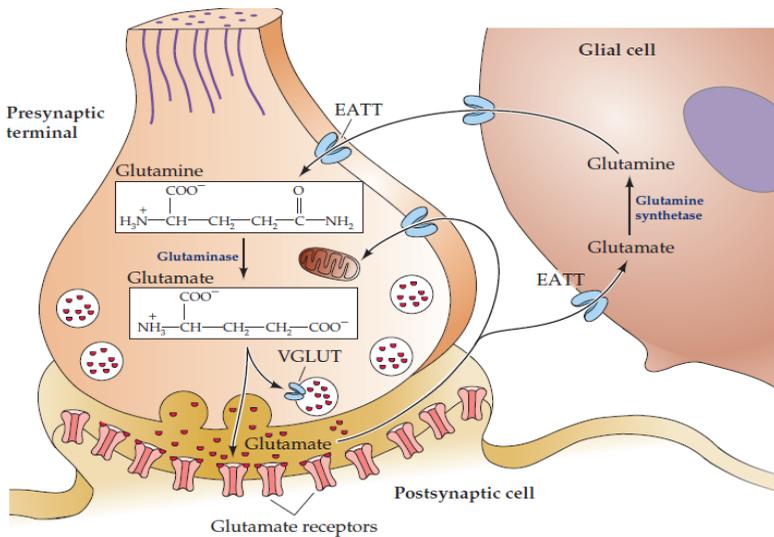
Os neurotransmissores são os mensageiros na sinapse química. Existem dezenas de neurotransmissores para cumprir as diversas funções, com dinâmicas temporais também diferentes. Estas moléculas têm as seguintes etapas durante a sinapse: síntese, empacotamento, liberação, difusão e recaptura ou degradação. Estes processos serão abordados nas próximas seções.

A dinâmica da sinapse química é definida principalmente por duas características dos processos envolvendo neurotransmissores. A primeira diz respeito à quantidade de mensageiros liberados, que é específica, ou seja, a vesícula transfere uma quantidade fixa de neurotransmissores. A segunda característica é que para um mesmo neurotransmissor existem diferentes receptores na membrana pós-sináptica, os quais possuem cinéticas mais rápidas ou mais lentas, resultando em divergências no sinal provocado no neurônio pós-sináptico.

Dentro das sinapses químicas, existem dois diferentes tipos: sinapses excitatórias e sinapses inibitórias. As excitatórias tendem a gerar um potencial de ação, enquanto as outras fazem o contrário. O objeto de estudo é as sinapses excitatórias envolvendo o neurotransmissor glutamato, por ser mais comum no sistema nervoso central.

O glutamato é um aminoácido não essencial que não atravessa a barreira hematoencefálica, obrigando desta forma a ser produzido no interior do neurônio. O maior precursor do glutamato é a glutamina, composto liberado pelo astrócito. Após a liberação, a glutamina se difunde no meio extracelular até entrar no neurônio pré-sináptico, onde é transformado em glutamato pela enzima glutamina sintetase. Uma porção do glutamato também é formada através da transaminação do 2-oxiglutarato, composto intermediário do ciclo do ácido carboxílico. O glutamato, na maioria das sinapses, é capturado por dois tipos de receptores ionotrópicos, NMDA e AMPA, e por várias classes de receptores metabotrópicos (mGLURs) (PURVES *et al.*, 2004). O ciclo completo do glutamato é apresentado na Figura 4.

Figura 4: Ciclo do Glutamato na sinapse química



Fonte: Purves *et al.* (2004).

Alguns valores importantes para a modelagem de glutamato podem ser encontrados na literatura. As sinapses glutamatérgicas liberam entre 1000 e 10000 moléculas de glutamato por cada vesícula na membrana pré-sináptica (VENTRIGLIA; DI MAIO, 2000). Outro parâmetro importante é a difusividade, que tem sido medida experimentalmente só em soluções aquosas, obtendo-se um valor de 760 nm^2/ms (LONGSWORTH, 1953). Como a fenda sináptica é formada por meio extracelular com mais compostos densos além de água, diversos pesquisadores têm considerado valores menores para a difusividade, chegando até 10 nm^2/ms (TROMMERSHAUSER, 2000). Para uma modelagem correta este valor precisa ser analisado, levando em conta a tortuosidade da fenda sináptica, assim como sua composição.

2.2 PROCESSOS DA SINAPSE TRIPARTITE

2.2.1 Potencial de ação pré-sináptico

O que desencadeia todos os acontecimentos da sinapse é a chegada do potencial de ação ao terminal do axônio pré-sináptico. Este é o processo da sinapse mais antigo em ser descoberto e também em ser modelado. Desde 1907 até a atualidade, podem ser encontradas várias modelagens com enfoque biológico que descrevem o comportamento da membrana pré-sináptica e de fluxos iônicos na chegada do potencial de ação. Todas estas abordagens tem um enfoque elétrico, tratando cada componente da sinapse como elementos de um circuito.

O modelo Integra-e-Dispara (*Integrate-and-Fire*), proposto por Lapicque, é a primeira aproximação para o fenômeno, considerando que há no sistema um capacitor e um resistor. Desta forma, é um modelo simples por desconsiderar explicitamente os influxos de íons, além de fazer com que o valor do potencial de membrana acima do limiar, uma vez atingido, seja rapidamente diminuído utilizando uma função degrau. A equação (1) do modelo Integra-e-Dispara é exibida abaixo (DAYAN; ABBOTT, 2000). τ_m é a constante de tempo do neurônio, V corresponde ao potencial de membrana, E_L representa o potencial de repouso, R_m é a resistência da membrana e I_e corresponde à corrente de injeção.

$$\tau_m \frac{dV}{dt} = E_L - V + R_m I_e \quad (1)$$

No ano de 1952, foi proposto o modelo mais conhecido que descreve o comportamento do potencial de ação no terminal pré-sináptico do neurônio. O modelo Hodgkin-Huxley (H-H) incorpora as condutâncias devido aos canais iônicos da membrana celular. Para contornar a dificuldade da distribuição espacial dos canais, os autores introduziram um fio axial no axônio, fixando assim o valor do potencial elétrico ao longo da membrana (QUINAUD, 2011). A equação deste modelo, que determina o potencial na membrana, assim como a variável de ativação do potássio e de ativação e desativação do sódio, são representadas a seguir pelo sistema de equações (2). C_m é a capacitância da membrana, g_L é a condutância de vazamento, V_L é o potencial de vazamento, \bar{g}_{Na} e \bar{g}_K são as condutâncias do sódio e do potássio respectivamente. A variação de ativação dos íons potássio, dos íons sódio e a variação de inativação dos íons sódio são valores adimensionais representados por n ,

m e h . V_{Na} e V_K correspondem aos potenciais de reversão de sódio e potássio respectivamente. Finalmente α_i e β_i são constantes de velocidade ajustadas para coincidir com dados experimentais.

$$\begin{aligned}
 C_m \frac{dV}{dt} &= -g_L(V - V_L) & (2) \\
 &\quad - \bar{g}_{Na}m^3h(V - V_{Na}) - \bar{g}_Kn^4(V - V_K) \\
 \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(V)(1 - m) - \beta_m(V)m \\
 \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(V)(1 - h) - \beta_h(V)h \\
 \frac{dn}{dt} &= \alpha_n(V)(1 - n) - \beta_n(V)n
 \end{aligned}$$

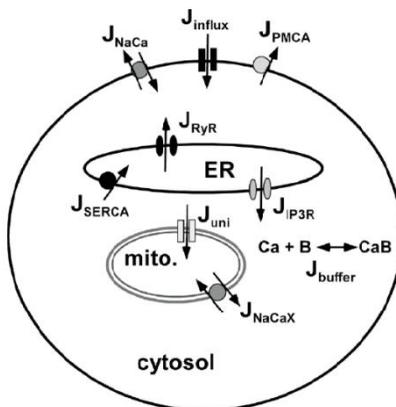
De acordo com Vieira (2013), o mais adequado é utilizar modelos que não sejam tão rigorosos como H-H, pelo elevado custo computacional, mas que incorporem mais dinâmicas no modelo Integre-Dispara.

2.2.2 Dinâmica iônica pré-sináptica

No neurônio pré-sináptico, ao longo da sinapse, ocorrem entrada e saída de íons cálcio, sódio, potássio e cloro. Esta movimentação acontece com o intuito de promover a liberação de neurotransmissores e, logo depois polarizar novamente a membrana pré-sináptica. Aqui foca-se na descrição e revisão da modelagem da movimentação do cálcio, principal responsável para a liberação de neurotransmissores. A modelagem dos outros íons pode ser feita por analogias a circuitos elétricos ou, considerando eletrodifusão, como no trabalho de Quinaud (2011).

O cálcio é um dos íons na célula mais importantes no processo de sinalização. A Figura 5 retrata o ciclo deste íon no neurônio pré-sináptico, entrando e saindo da fenda sináptica, assim como do retículo endoplasmático e da mitocôndria no interior da célula. É importante atentar-se aos processos que envolvem a fenda sináptica por ser o escopo da modelagem.

Figura 5: Ciclo do cálcio no neurônio pré-sináptico.



Fonte: Jafri e Yang (2004).

Segundo Jafri e Yang (2004), existem quatro tipos de canais de cálcio na membrana do neurônio: tipo L, tipo N, tipo P/Q e canais NMDA. Os três primeiros canais são dependentes de voltagem, enquanto o último é dependente de ligante, no caso, de glutamato. Os canais dependentes de voltagem se desativam com o tempo, além disso, os canais L e N também sofrem desativação em decorrência do próprio cálcio.

Os canais mencionados anteriormente permitem o fluxo de cálcio pela movimentação devido ao gradiente de concentração entre o meio intracelular e o extracelular. Por outro lado, quando o neurônio precisa se repolarizar, o cálcio tem que sair da célula, fluindo em direção contrária dos gradientes de concentração. Para isso existem as bombas de cálcio. A bomba mais importante é a PMCA, a qual hidrolisa ATP para permitir a saída de cálcio (JAFRI e YANG, 2004). O fluxo (J_{PMCA}) é calculado tipicamente pela equação (3), onde o parâmetro K_M é a concentração de cálcio, na qual a bomba trabalha com a metade de sua velocidade máxima (V_{max}).

$$J_{PMCA} = \frac{V_{max} [Ca_i]^2}{K_M^2 + [Ca_i]^2} \quad (3)$$

Smith (2001) propôs alguns modelos matemáticos para a difusão nos canais e reação no interior do neurônio. Cabe destacar que o modelo

de difusão é obtido utilizando a Segunda Lei de Fick, com a importante contribuição de demonstrar que o regime permanente é atingido rapidamente, menos de 1ms, focando-se assim nas soluções em estado estacionário.

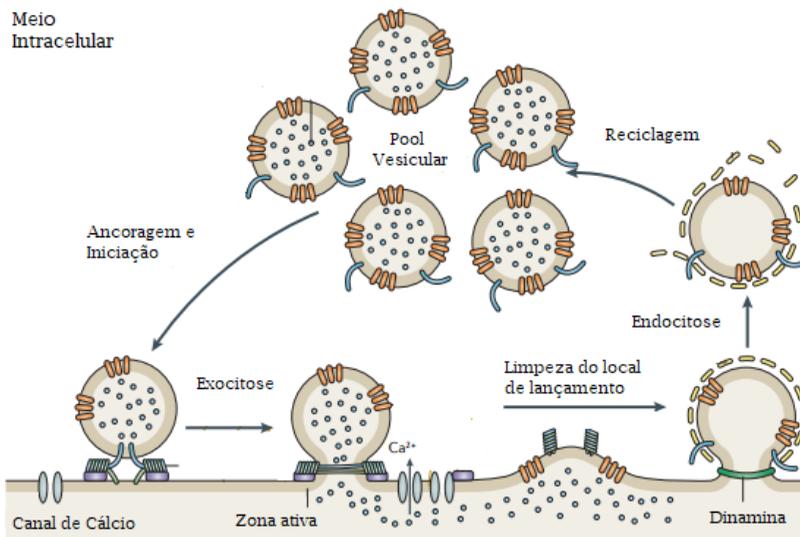
2.2.3 Dinâmica vesicular e liberação do neurotransmissor

A entrada de íons cálcio no neurônio pré-sináptico provoca a fusão das vesículas sinápticas na membrana, para a posterior liberação do neurotransmissor. Sobre o mecanismo e a dinâmica da fusão das vesículas pouco se conhece, tendo modelos aplicáveis só a uma etapa do processo ou para sinapses não pertencentes ao hipocampo.

O primeiro modelo foi proposto por Liley e North (1953), no qual se tinha um modelo simples, mas que funcionava como uma primeira aproximação. O modelo consistia em considerar que, cada potencial de ação consumia uma fração constante da reserva de vesículas prontas para se fundirem e, juntamente a uma taxa lenta, vesículas eram repostas no pool.

Um dos mecanismos mais recentes é proposto por Kaeser e Regehr (2014), em que primeiro se define a existência de três maneiras distintas de liberar o neurotransmissor, sendo elas, síncrono, assíncrono e espontâneo. O primeiro, já conhecido, se refere à liberação imediata pela chegada do potencial de ação. No Assíncrono, o mecanismo libera o neurotransmissor depois de um tempo da passagem do potencial de ação. Finalmente, o espontâneo, verificado que o neurotransmissor em poucos casos pode chegar à fenda sináptica sem necessidade potencial de ação. A figura 6 mostra o mecanismo proposto.

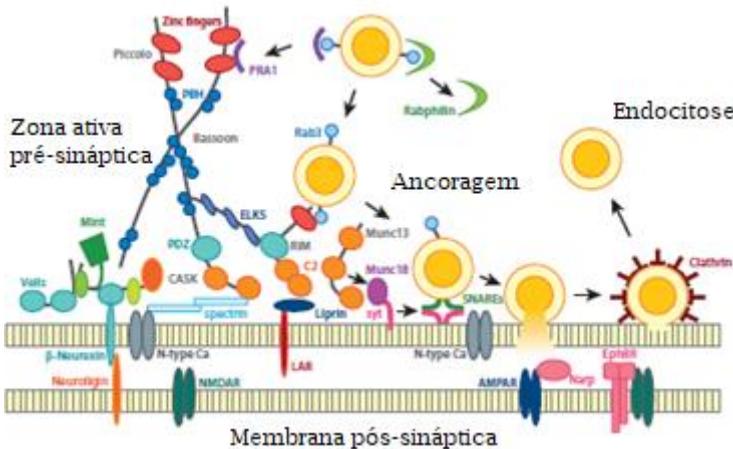
Figura 6: Dinâmica da vesícula sináptica.



Fonte: Adaptada de Haucke, Neher e Sigrist (2011).

A complexidade do mecanismo de caminho e fusão das vesículas pode ser entendido pelo grande número de proteínas participantes do processo. O esquema da figura 7 apresenta a possível configuração da região em que as vesículas se deslocam (JIN; GARNER, 2008). Pode-se observar principalmente a atuação de várias proteínas na etapa de ancoragem das vesículas, o qual pode tornar complexo sua modelagem.

Figura 7: Proteínas presentes no terminal do botão pré-sináptico.



Fonte: Adaptado de Jin e Garner (2008).

Em relação à liberação e difusão do neurotransmissor, modelos contínuos e discretos têm sido propostos na literatura. O primeiro tipo de modelos tem como base a Lei de Fick. Por outro lado, os modelos estocásticos que servem tanto para a liberação de neurotransmissor, como para a movimentação deste na fenda, são utilizados para mostrar a dependência dos resultados no tempo de liberação, de ligação na membrana pós-sináptica e na configuração espacial dos canais (TROMMERSHAUSER, 2000).

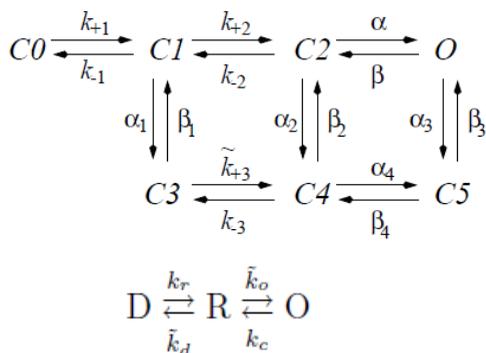
2.2.4 Recepção glutamato no neurônio pós-sináptico

Como mencionado na seção 2.1.3, o glutamato acopla-se a dois tipos de receptores, AMPA e NMDA, na membrana pós-sináptica. Segundo Spruston, Jonas e Sakmann (1993), em uma determinada região do hipocampo existem cerca de 60 a 70 receptores AMPA e 2 a 10 NMDA. De acordo com Buonomano e Merzenich (1998), os receptores AMPA servem para passar o sinal de imediato, enquanto que os outros estão relacionados às funções de longo prazo. Assim, devido tanto ao número de receptores, como à velocidade da sinapse, a maioria dos modelos são desenvolvidos para receptores AMPA.

Ainda nessa abordagem sobre a modelagem de receptores AMPA, são encontrados na literatura dois principais modelos cinéticos que descrevem a sua ligação com glutamato. O primeiro modelo, chamado de

modelo de sete estados, é o mais aceito e considera que o receptor precisa de duas moléculas de glutamato. Entretanto, o modelo cinético precisaria do conhecimento de 16 constantes de reação. Para simplificar, foi proposto o modelo de três estados (MARIENHAGEN; KELLER; ZIPPELIUS, 1997). Na figura 8 podem ser observados os mecanismos dos dois modelos. C0 representa o canal sem glutamato, C1 tem ligado uma molécula de glutamato, C2 tem duas moléculas, O representa o canal aberto, enquanto que os estados desensibilizados destes três últimos são representados respectivamente por C3, C4 e C5. No modelo de três estados, D representa o receptor desensibilizado, R o canal fechado sem glutamato e O é o receptor aberto.

Figura 8: Modelos cinéticos para as ligações de Glutamato em receptores AMPA.



Fonte: Trommershauser (2000).

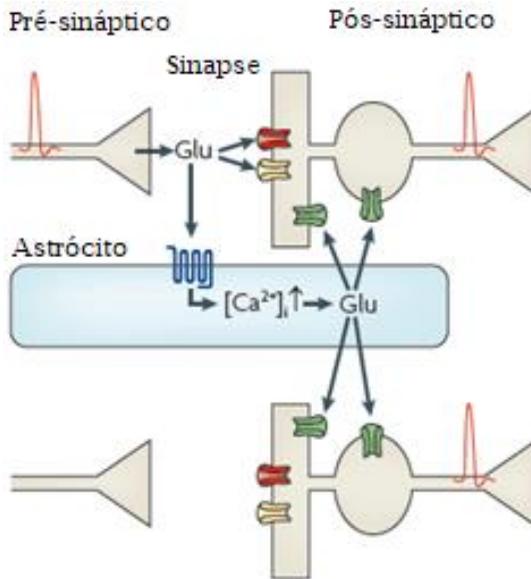
2.2.5 Recepção de glutamato no astrócito

Como já mencionado na seção 2.1.2, há muito tempo sabe-se que os astrócitos têm receptores para glutamato. Como observado por Corner-Bell (1990), e outros autores, a ligação de glutamato provoca o aumento de cálcio intracelular, o qual promoverá a transdução do sinal para outros processos intracelulares, conforme será discutido na próxima seção.

No entanto, existem alguns pontos de controvérsia. Alguns autores acreditam que são receptores NMDA, que abririam os canais de cálcio dependentes de ligante, permitindo o fluxo deste íon, desde a fenda até o interior do astrócito (KOH *et al.*, 1995). Por outro lado, entre outros autores, Hamilton e Attwell (2010) afirmam que o receptor é do tipo metabotrópico (mGLUR), e tendo um mecanismo diferente, pode

provocar tanto a entrada de cálcio do meio extracelular, como o aumento de cálcio dentro do astrócito, por causa da saída deste íon a partir do retículo endoplasmático. É importante ressaltar esta definição, pois isto determinará a dinâmica do cálcio dentro do astrócito e, portanto, a da sinapse. A figura 9 apresenta um esquema desse processo, onde se mostra um receptor metabotrópico no astrócito, que após receber glutamato da fenda, executa processos interno que desencadeará na liberação de glutamato astrocítico que pode afetar os terminais sinápticos da mesma sinapse ou de outras.

Figura 9: Ligação do glutamato no astrócito



Fonte: Adaptado de Hamilton e Attwell (2010).

2.2.6 Liberação de glutamato, ATP e D-serina pelo astrócito

O aumento de cálcio intracelular desencadeia uma série de reações no interior do astrócito. São gerados vários compostos, dos quais alguns permanecerão dentro do astrócito e outros sairão. Para estudar a influência do astrócito na sinapse química, faz-se importante o estudo da movimentação para o exterior do astrócito. Experimentalmente, tem-se

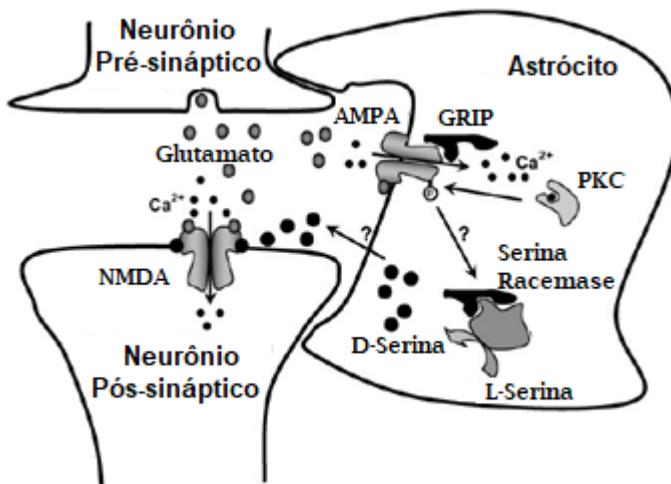
registrado que são três os principais compostos, sendo eles, glutamato, ATP e D-serina.

Quanto ao glutamato, sabe-se que o astrócito transforma no seu interior este composto em glutaminase, ou seja, é liberada glutaminase para o exterior. O destino deste composto é tanto o neurônio pós-sináptico, como o neurônio pré-sináptico. Desta forma, este processo causa o incremento do estímulo pós-sináptico, além de, fornecer glutamato de volta para o neurônio pré-sináptico.

O ATP gerado no astrócito tem a função atuar como um dos moduladores da sinapse química. Primeiro, o astrócito libera ATP para fenda sináptica, a enzima ATPase (presente na fenda sináptica) transforma ATP em ADP, que vai se ligar ao neurônio pré-sináptico. Por outro lado, o ATP é liberado em direção à membrana pós-sináptica.

A D-serina também é formada no interior do astrócito, que tem como destino a célula pós-sináptica. A figura 10 representa um esquema do transporte da D-serina.

Figura 10: Liberação de D-serina pelos astrócitos.



Fonte: Adaptado de Boehning e Snyder (2003).

2.2.7 Recepção de ATP e D-serina no neurônio pós-sináptico

Ambos compostos liberados pelo astrócito atuam na membrana pós-sináptica com o intuito de modular este neurônio na sinapse.

A D-serina se liga aos receptores NMDA, contribuindo desta forma à plasticidade. O ATP se liga aos receptores do tipo P2X, potencializando o sinal pós-sináptico.

2.2.8 Recepção de ADP no neurônio pré-sináptico

A transformação da molécula de ATP em ADP no meio extracelular é de vital importância para a regulação sináptica, pois, só assim podem ser ativados os receptores do tipo A1. Este tipo de receptores inibem o neurônio pré-sináptico após a liberação do neurotransmissor. Para cumprir este objetivo, se ligam às proteínas específicas que provocaram a entrada e saída de íons no terminal pré-sináptico, com o intuito de repolarizar esta célula.

Conforme Dunwiddie, Diao e Proctor (1997), uma importante informação que regula este processo é que o ATP, tem um tempo de vida de mais ou menos 200ms, assim, este tempo representa o atraso que vai ocorrer até começar a formar ADP. Além disso, estudos mostram que, embora possa ter ADP não astrocital, a parcela que vem desta célula glial é a mais representativa no momento de inibir o neurônio pré-sináptico.

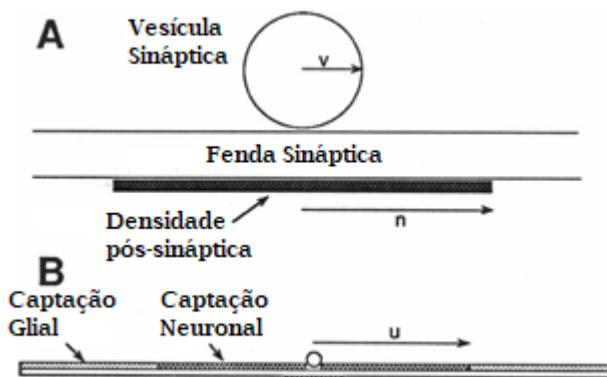
2.3 MODELOS MATEMÁTICOS

Os fenômenos desencadeados na sinapse tripartite são importantes neste trabalho. No entanto, a ênfase é nos fenômenos que acontecem na fenda sináptica, dos quais destacam-se a movimentação de glutamato e de alguns íons, que levarão em conta os efeitos da sinapse tripartite nas condições de contorno provenientes do terminal pré-sináptico, terminal pós-sináptico e do astrócito. Sendo assim, segue abaixo uma revisão dos principais modelos matemáticos que descrevem a movimentação do glutamato e dos fenômenos nas membranas dos dois neurônios e do astrócito.

2.3.1 Holmes (1995)

O movimento do glutamato na fenda sináptica por difusão é conhecido há muito tempo. Holmes (1995) além de incorporar esta ideia, considerou diferentes cinéticas para a ligação do glutamato com os canais no neurônio pós-sináptico. Além disso, este modelo leva em conta a captação do glutamato pelo astrócito e pelo próprio terminal pré-sináptico. Um esquema da geometria considerada é exibido na figura 11.

Figura 11: Domínio de cálculo considerado por Holmes (1995).



Fonte: Adaptado de Holmes (1995).

Movimentação do Glutamato

Como mencionado acima, a força motriz para a movimentação do glutamato em vários modelos é a diferença de concentração. Assim, o modelo desta dinâmica é representado pela Segunda Lei de Fick, em que a geometria da fenda é aproximada por um cilindro e desconsidera-se a variação da concentração do glutamato em θ . Este modelo é representado pela equação (4). A representa a concentração de glutamato na fenda, D é o coeficiente de difusão do glutamato. As variáveis independentes tempo, posição radial e posição axial são representadas por t , r e z .

$$\frac{\partial A}{\partial t} = D \left\{ \frac{1}{r} \frac{\partial A}{\partial r} + \frac{\partial^2 A}{\partial r^2} + \frac{\partial^2 A}{\partial z^2} \right\} \quad (4)$$

Captação do Glutamato no Terminal Pré-Sináptico e no Astrócito

O balanço de massa na membrana pré-sináptica leva em consideração a difusão do neurotransmissor e, também acrescenta um termo cinético para levar em conta a captura do glutamato pelos receptores desta membrana, conforme apresentado na equação (5). Este termo apresenta a mesma forma do modelo cinético explicado na equação (3).

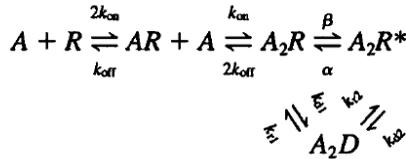
$$\frac{\partial A}{\partial t} = D \left\{ \frac{1}{r} \frac{\partial A}{\partial r} + \frac{\partial^2 A}{\partial r^2} + \frac{\partial^2 A}{\partial z^2} \right\} - \frac{V_{max}(i)A}{A + K_m(i)} \quad (5)$$

Ligação nos receptores NMDA

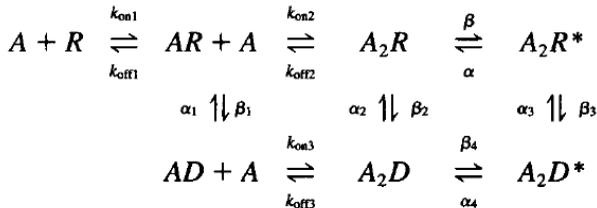
Existem vários modelos para representar a dinâmica da ligação do glutamato e seus receptores. O modelo considerado pelo autor é determinístico e guiado pelo conjunto de reações consideradas na figura 12a. Glutamato livre é representado por A , enquanto R corresponde ao receptor livre, ou seja, sem moléculas de glutamato. AR , A_2R , A_2D e A_2R^* representam os estados do receptor quando tem ligado uma molécula de glutamato, duas moléculas de glutamato, fechado desensitizado (inativo) com duas moléculas e aberto com duas moléculas de glutamato.

Figura 12: Cinética de reação considerada por Holmes (1995) para os receptores a) NMDA e b) AMPA.

a)



b)



Fonte: Holmes (1995).

Ligação nos receptores AMPA

Como é conhecido que cada tipo de receptor tem sua própria dinâmica, Holmes (1995) propõe uma cinética para os canais AMPA, figura 12b, diferente da dos canais NMDA. A cinética dos receptores AMPA tem sete etapas reversíveis a diferença das cinco etapas do modelo dos receptores NMDA. Estas duas etapas adicionais aparecem porque se considera que o receptor também pode estar inativo quando tem uma única molécula de glutamato (AD) e quando está aberto com duas moléculas de glutamato (A_2D^*).

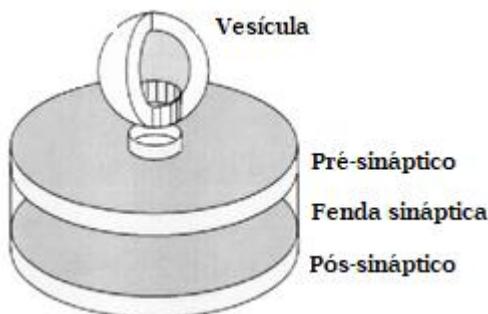
Ambas as cinéticas serão discutidas na seção 3.5.1.1 onde se discutirá o modelo cinético selecionado no presente estudo.

2.3.2 Ventriglia e Di Maio (2013)

Conforme mencionado anteriormente, a força motriz para o deslocamento do glutamato é a diferença de concentração, sendo assim, poderia ser utilizada a Segunda Lei de Fick como seu modelo matemático, porém, existe algo que impede esta aplicação, esse fator é o tamanho, bem reduzido, da fenda sináptica. A fenda tem como comprimento, na direção de movimentação do glutamato, aproximadamente 20nm, que equivalem a 200Å, o que demonstra estar chegando à escala atômica. Neste pequeno espaço se movimentam pouquíssimas moléculas de glutamato, não podendo mais ser consideradas como um meio contínuo, impedindo a aplicação da Lei de Fick.

Este trabalho é um dos primeiros a discutir um modelo diferente para a movimentação do glutamato. A geometria inclui além do cilindro da fenda sináptica, uma esfera representando uma vesícula, conforme figura 13 abaixo.

Figura 13: Domínio de cálculo considerado por Ventriglia e Di Maio (2013).



Fonte: Adaptado de Ventriglia e Di Maio (2013).

Movimentação do Glutamato na fenda sináptica

O autor usa o Movimento Browniano para explicar a dinâmica do glutamato. Este conceito é baseado na ideia de movimentação randômica das moléculas quando estão acima do zero absoluto, representado pela função $L(t)$. O modelo é complementado com o termo que descreve a resistência ao movimento imposto pelo meio, neste caso, o meio extracelular. Esta modelagem é descrita pela equação (6). Onde m é a massa de cada molécula de glutamato, v sua velocidade e γ a

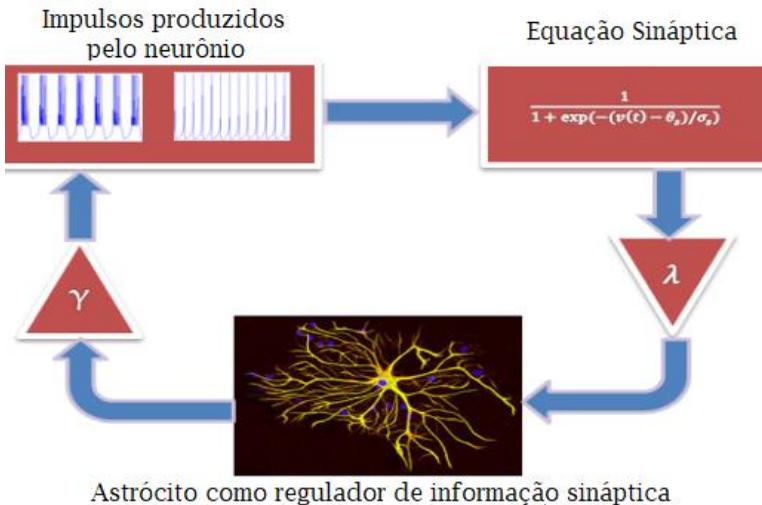
viscosidade do meio extracelular. Por ser um modelo que coincide com o escopo do presente trabalho, será discutido em mais detalhe no capítulo 3.

$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = -\gamma\vec{v} + L(t) \quad (6)$$

2.3.3 Nazari *et al.* (2015)

Na literatura existem também modelos elétricos para descrever o movimento do glutamato e dos fenômenos da sinapse tripartite. Esta abordagem é totalmente diferente do presente trabalho que tem base fenomenológica. De qualquer forma, é mostrado rapidamente um modelo deste tipo pela sua grande presença na literatura. O modelo de Nazari *et al.* (2015) é um dos mais completos do tipo. Nestes métodos há uma comparação da sinapse com circuitos elétricos. O esquema da figura 14 mostra os fenômenos considerados nesse trabalho.

Figura 14: Esquema do modelo considerado por Nazari *et al.* (2015).



Fonte: Nazari *et al.* (2015).

Dinâmica da liberação do glutamato no terminal pré-sináptico

O neurônio pré-sináptico é considerado puramente elétrico e é modelado pelo sistema de equações diferenciais proposto por Izhikevich (2003) indicado na equação (7).

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= 0.04V^2 + 5V + 140 - u + 1 \\ \frac{du}{dt} &= a(bV - u) \end{aligned} \quad (7)$$

Onde, V é a voltagem da membrana pré-sináptica, u contabiliza a taxa de recuperação da membrana, a é a taxa de decaimento e b representa a sensibilidade ao estímulo.

Movimentação do Glutamato na fenda sináptica

Pode-se observar que o modelo do glutamato depende inteiramente da voltagem provida do terminal pré-sináptico. Este modelo foi proposto por Terman *et al.* (2002) e mostrado na equação (8).

$$[T] = \frac{1}{1 + \exp(-(V(t) - \theta_s)/\sigma_s)} \quad (8)$$

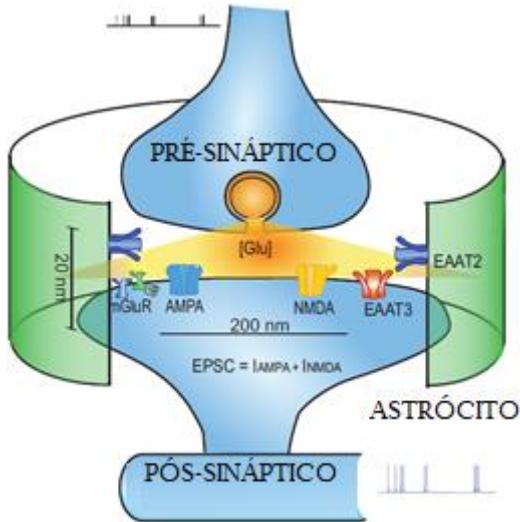
$[T]$ é a concentração de glutamato na fenda, V é a voltagem da membrana pré-sináptica, enquanto que θ_s e σ_s são constantes. Pode-se observar que, nos modelos que tem uma base elétrica, usa-se funções para aproximar fenômenos físicos, precisando de constantes que muitas vezes carecem de sentido físico. A limitação de usar funções vem pelo fato que as equações que descrevem os fenômenos nessas condições não têm solução analítica, não podendo ser representado por funções. Além disso, este tipo de modelos geralmente desconsideram a variação espacial, que como será mostrado neste trabalho, dada a geometria da fenda, a concentração de glutamato depende consideravelmente da posição.

2.3.4 Allam *et al.* (2012b)

Finalmente, o modelo de Allam *et al.* (2012b) é um dos modelos mais completos para descrever alguns dos processos mais importantes da sinapse tripartite. Além disso, apresenta modelos de natureza fenomenológica, dependendo pouco de dados empíricos. Também tem um enfoque computacional, gerando esquemas e gráficos que fornecem bastante informação das posições e quantidade de estruturas na sinapse

para o usuário. Um esquema das estruturas consideradas é apresentado na figura 15. O glutamato pré-sináptico liberado pode atingir os receptores pós-sinápticos ou os transportadores da membrana do astrócito. Embora seja um modelo mais completo, não foi considerado o glutamato proveniente do astrócito.

Figura 15: Esquema do modelo considerado por Nazari *et al.* (2015).



Fonte: Adaptado de Allam *et al.* (2012b).

3 MODELAGEM MATEMÁTICA

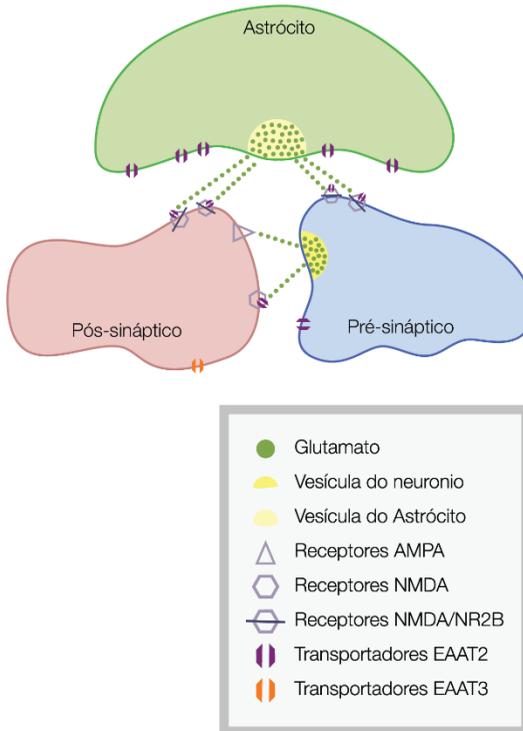
3.1 DOMÍNIO

Devido à grande quantidade de compostos, fenômenos e de estruturas que participam no processo da sinapse tripartite, no presente trabalho, tem-se como domínio de cálculo somente a fenda sináptica. Foi selecionada esta estrutura por ser o meio que comunica o terminal pré-sináptico, o terminal pós-sináptico e o astrócito, sendo assim, um lugar de vital importância para estudar a interação entre estes três principais componentes das sinapses tripartite. As interações destas estruturas com a fenda sináptica são realizadas através das condições de contorno.

A fenda sináptica fornece informações úteis sobre a dinâmica do glutamato, o qual, após a passagem pela fenda, vai desencadear processos da sinapse tripartite em outras estruturas sinápticas. Como observado no capítulo anterior, principalmente em trabalhos de bastante referência nesta área de simulação da dinâmica do glutamato, como nos trabalhos de Holmes (1995), Ventriglia e Di Maio (2000), Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016a), a forma da fenda sináptica é aproximada a de um cilindro. Comparando isso com observações experimentais, esta forma é muito adequada para representar a sinapse bipartite ou clássica, mas quando queremos observar os fenômenos da sinapse tripartite, estruturas além da região definida pelo cilindro, devem ser consideradas, conforme a figura 15 do trabalho de Allam *et al.* (2012b).

Antes de definir a geometria simplificada para o modelo matemático, segue a Figura 16, que representa um esquema mais próximo da estrutura real da sinapse tripartite, construída a partir das diferentes observações experimentais e abstrações discutidas na Revisão Bibliográfica. É importante salientar que a modelagem no presente estudo tem a relação de 1 neurônio pré-sináptico com 1 vesícula para 1 neurônio pós-sináptico para 1 astrócito com 1 vesícula.

Figura 16: Vista superior da estrutura e elementos da sinapse tripartite no presente trabalho.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

No terminal pré-sináptico as vesículas são consideradas as principais estruturas, por ser o local de estocagem do glutamato. Além disso, o tamanho considerável em relação à altura da fenda influencia a dinâmica na fenda (WAHL; POUZAT; STRATFORD, 1996). O segundo elemento deste terminal são os canais que recapturam o glutamato da fenda, sendo um mecanismo essencial para o ciclo desta molécula na sinapse (RIMMELE; ROSENBERG, 2016). Como resumido por vários autores, entre eles Bouvier *et al.* (2015) e Rodriguez-Moreno, Banerjee e Paulsen (2010), existem diversos receptores de glutamato do tipo NMDA nas laterais do terminal pré-sináptico, que por sua localização, recebem principalmente o glutamato proveniente do astrócito.

A membrana do terminal pós-sináptico do presente modelo possui canais AMPA e NMDA por serem os principais responsáveis pela geração do potencial neste local (ROUSSEAU, 2008). Os canais mencionados fazem parte dos canais ionotrópicos, mas os canais metabotrópicos também estão presentes na membrana pós-sináptica, só que não são considerados porque seu efeito é mais demorado, ficando fora da escala de tempo simulada neste trabalho. Os receptores não estão localizados em toda a membrana pós-sináptica, já que estão concentrados numa região circular no centro da membrana chamada de Densidade Pós-sináptica (PSD) (SCHIKORSKI; STEVENS, 1997).

Da mesma forma que no terminal pré-sináptico, nas laterais do pós-sináptico existem vários receptores de glutamato NMDA (DE PITTÀ; BRUNEL, 2016).

No astrócito, como discutido por Verkhratsky *et al.* (2016), depois de vários processos internos, observa-se a fusão de vesículas contendo glutamato. E, embora não se conheça o tempo destes processos internos, o glutamato será liberado na fenda sináptica, influenciando a dinâmica desta molécula na fenda, sendo assim, são consideradas estas vesículas no presente modelo. Transportadores EAAT2 são considerados uma forma importante de manter o ciclo do glutamato na sinapse (VANDENBERG; RYAN, 2013), pelo mesmo motivo também são considerados neste modelo.

Estruturas como canais de cálcio, bomba sódio potássio, retículo endoplasmático do astrócito, canais metabotrópicos e compostos como ATP e D-serina são fundamentais na sinapse tripartite, porém, não são consideradas no presente modelo por não exercerem uma influência direta na dinâmica do glutamato. Estas estruturas devem ser consideradas em trabalhos futuros onde será feita uma modelagem mais completa da sinapse tripartite.

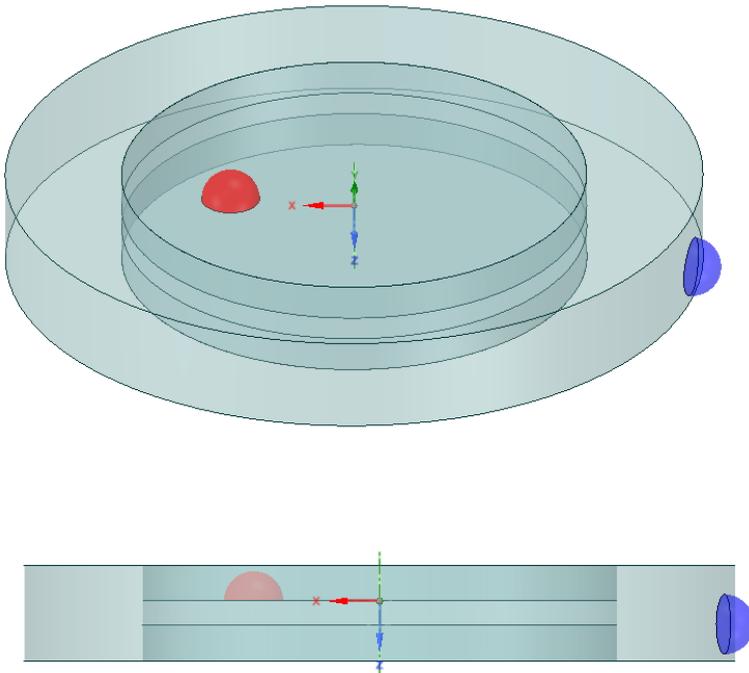
A partir destas descrições e justificativas, pode-se afirmar que a figura 16 é a base para extrair o domínio de cálculo no presente trabalho. A figura mostra a heterogeneidade da forma da fenda sináptica observada experimentalmente, mas este formato não pode ser diretamente considerado como o domínio de cálculo, já que dificultaria a solução do modelo matemático, além disso, não se ganharia em precisão, porque apesar de ser uma geometria complexa, continua sendo arbitrária, pois é muito grande a variedade de formas da fenda sináptica que podem ser observadas na realidade.

Por isto, é necessária uma simplificação do domínio. A partir dos trabalhos de Holmes (1995), Glavinovic (1998) e Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016a) pode-se assumir como um cilindro a região delimitada

entre o terminal pré-sináptico e o terminal pós-sináptico. Pelas observações experimentais e o trabalho de Allam (2012b), a região delimitada pelo astrócito pode ser considerada como um cilindro de diâmetro maior. A altura deste cilindro é maior do que a altura da fenda, já que objetiva-se levar em conta alguns canais localizados nas paredes laterais dos dois neurônios.

Assim, chega-se à figura 17, que representa o domínio de cálculo para o presente modelo matemático. As semiesferas vermelha e azul representam respectivamente a vesícula do neurônio pré-sináptico e a vesícula do astrócito. As dimensões, quantidades e suas respectivas referências são exibidas na Tabela 1.

Figura 17: Domínio de cálculo considerado no modelo matemático desenvolvido neste trabalho.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

Tabela 1: Dimensões e quantidade de estruturas que formam o domínio de cálculo.

Parâmetro	Valor	Referência
Diâmetro do terminal do axônio (D1)	400 nm	Schikorsi e Stevens (1997)
Diâmetro do terminal do dendrito (D1)	400 nm	Schikorsi e Stevens (1997)
Diâmetro do PSD (D2)	220 nm	Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016b)
Diâmetro do astrócito (D3)	600 nm	Estimado pelo autor
Diâmetro da vesícula pré-sináptica (D4)	49 nm	Harris e Sultan (1995)
Diâmetro da vesícula do astrócito (D5)	50 nm	De Pittà <i>et al.</i> (2016)
Número de vesículas pré-sinápticas	1	Holmes (1995)
Número de vesículas do astrócito	1	De Pittà <i>et al.</i> (2011)
Número de canais pós - frontal	80 (AMPA)	Allam <i>et al.</i> (2016b)
	20 (NMDA)	Allam <i>et al.</i> (2016b)
Número de canais pós - lateral	15 (NMDA/NR2B)	Estimado pelo autor.
	42 (EAAT3)	Allam <i>et al.</i> (2016b)
Número de canais pré-frontal	94 (EAAT2)	Danbolt, Furness e Zhou (2016)
Número de canais pré -lateral	24 (NMDA/NR2B)	Estimado pelo autor.
Número de canais astrócito	1130 (EAAT2)	Danbolt, Furness e Zhou (2016)

3.2 COMPOSTOS QUÍMICOS E ÍONS MODELADOS

No presente trabalho são selecionados íons e compostos químicos que são fundamentais para representar a dinâmica do neurotransmissor durante uma sinapse tripartite.

Os neurotransmissores são os mensageiros das sinapses, e por ser o neurotransmissor mais representativo das sinapses excitatórias, o glutamato foi selecionado para ser objeto de estudo nesse trabalho.

Os íons e seus gradientes são os encarregados de iniciar e finalizar uma sinapse. Os receptores de glutamato que permitirão a despolarização da membrana são seletivos principalmente aos íons sódio, potássio e cálcio (ROUSSEAU, 2008). Mas o escopo deste trabalho foca no estudo da dinâmica do glutamato, sendo assim, todos estes íons não serão considerados no modelo. Como já discutido na Revisão Bibliográfica, a hipótese da sinapse tripartite compreende processos de vários compostos, em várias estruturas, no presente modelo focar-se-á nas consequências que a sinapse tripartite traz para o potencial pós-sináptico excitatório, ou seja, há o interesse em quantificar o sinal que chega ao neurônio pós-sináptico com o reforço do astrócito. Lembrando que o sódio é o principal elemento da fase de crescimento dos potenciais pós-sinápticos excitatórios nos sistemas nervosos centrais de mamíferos (CARTER; BEAN, 2010), portanto, este é o íon que vai ser utilizado no modelo.

Resumindo, as espécies químicas consideradas no modelo matemático proposto são: glutamato e sódio.

3.3 FENDA SINÁPTICA

3.3.1 Composição

A fenda sináptica é formada por várias proteínas. Para fins da modelagem matemática, a única informação relevante sobre a estrutura da fenda sináptica é a resistência deste meio à movimentação do glutamato e dos íons. Esta resistência pode ser considerada pela difusividade do glutamato ou pela viscosidade do meio extracelular que compõe a fenda sináptica.

A difusividade do glutamato na fenda sináptica foi selecionada para contabilizar sua influência no movimento do glutamato, por apresentar maior dados literários sobre seu valor e por ser a propriedade usada em outros modelos matemáticos da fenda sináptica. Como ainda existe na literatura uma divergência sobre o valor da difusividade do

glutamato na fenda, este vai ser um parâmetro na simulação para verificar a influência desta propriedade na dinâmica do glutamato.

3.3.2 Dinâmica do glutamato

Analisando os vários modelos matemáticos da movimentação do glutamato na fenda sináptica, observa-se que equações do mesmo tipo da equação (6), apresentada na Seção 2.3.2, são as mais apropriadas por descrever o movimento discreto do glutamato e também por ter uma natureza fenomenológica. Ventriglia e Di Maio (2013) usam especificamente a equação de Langevin, que está representada pela equação (9). Esta equação representa a força estocástica $L(t)$ da equação (6), por um ruído branco gaussiano $\xi_i(t)$ (*Gaussian White Noise*) com intensidade ε .

$$m \frac{d\vec{v}}{dt} = -\gamma\vec{v} + \sqrt{2\varepsilon\gamma} \vec{\xi}_i(t) \quad (9)$$

A expressão acima é uma equação diferencial ordinária estocástica. Existem vários métodos numéricos que podem ser aplicados para sua resolução. Por apresentar um termo randômico, alguns cuidados são necessários para resolver numericamente esta equação. A diferença do trabalho de Ventriglia e Di Maio (2000) e deste trabalho ocorre devido a independência do tamanho do passo do tempo, utilizando a solução numérica apresentada por Gillespie (1996), que é sintetizada pelas equações 10 e 11.

$$\vec{v}(t + \Delta t) = C_1\vec{v}(t) + C_2\vec{\Omega}_1 \quad (10)$$

$$\vec{r}(t + \Delta t) = C_3\vec{r}(t) + C_4\vec{v}(t) + C_5\vec{\Omega}_1 + C_6\vec{\Omega}_2 \quad (11)$$

Os coeficientes C_n são constantes dadas pelas expressões de (12a) a (12e), que dependem do passo de tempo, das propriedades físicas do glutamato e do meio extracelular. Ω_n representam vetores tridimensionais de números randômicos que seguem uma distribuição normal centrada no zero e com variância unitária.

$$C_1 = e^{-\frac{\Delta t}{\tau}} \quad (12a)$$

$$C_2 = \sqrt{\frac{c\tau}{2} \left(1 - e^{-\frac{2\Delta t}{\tau}}\right)} \quad (12b)$$

$$C_3 = 1 \quad (12c)$$

$$C_4 = \tau \left(1 - e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right) \quad (12d)$$

$$C_5 = \sqrt{c\tau^3 \frac{\left(1 - e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right)^3}{2 \left(1 + e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right)}} \quad (12e)$$

$$C_6 = \sqrt{c\tau^3 \left[\frac{\Delta t}{\tau} + \left(1 - e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right) \left(-2 + \frac{1}{2} \left(1 + e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right) - \frac{\left(1 - e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right)}{2 \left(1 + e^{-\frac{\Delta t}{\tau}}\right)} \right) \right]} \quad (12f)$$

As constantes c e τ são dadas pelas expressões 12g e 12h.

$$c = \frac{2k_B T \gamma}{m^2} \quad (12g)$$

$$\tau = \frac{m}{\gamma} \quad (12h)$$

Onde:

k_B é a constante de Boltzmann;

T é a temperatura da fenda sináptica (constante);

γ é a viscosidade do meio extracelular que compõe a fenda sináptica;

m é a massa de cada molécula de glutamato.

Assim, aplicando o conjunto de equações acima para cada molécula a cada instante de tempo, pode-se obter sua velocidade e posição iterativamente. Estas expressões são aplicadas enquanto a molécula estiver na fenda sináptica, nas próximas seções é explicada a dinâmica das moléculas quando estas se chocam com alguma estrutura da sinapse.

3.3.3 Dinâmica do sódio

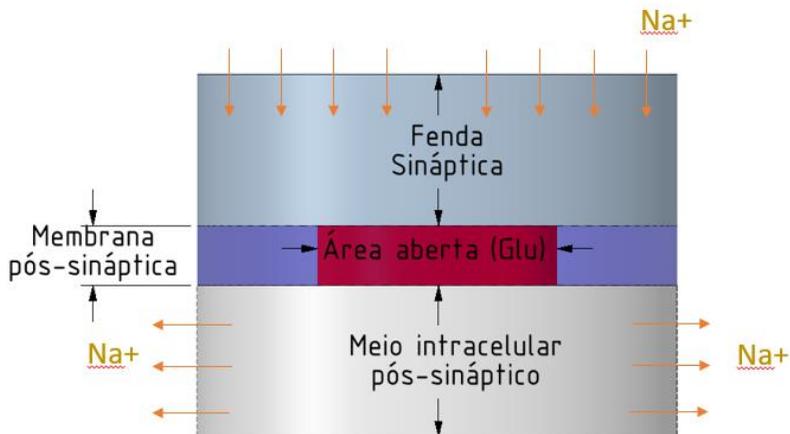
Como já visto anteriormente, diferentemente do glutamato, o íon sódio cumpre com a hipótese do contínuo. Dentro dos modelos encontrados na literatura, escolhe-se como base o modelo de Quinaud (2011) pela sua descrição fenomenológica, no qual cada um dos termos tem claramente sua justificativa física. Assim, a equação (13) servirá como base para o modelo matemático do sódio. Esta equação terá algumas alterações apresentadas nas explicações dos próximos parágrafos, com o intuito de aplicá-la ao domínio e fenômenos do presente trabalho.

Na equação (13) ($C_{N_{Na}}$) é a concentração de sódio no lado do neurônio e ($C_{F_{Na}}$) a concentração do sódio no lado da fenda. A_{OP} é a área pela qual o sódio vai entrar ou sair através da membrana. vol é o tamanho do volume de controle, τ é a espessura da membrana e D_{Na} o coeficiente de difusão do sódio no meio extracelular. T é a temperatura do meio, z corresponde à valência do íon e $Sbkb$ é a constante da bomba sódio/potássio. F é a constante de Faraday e R a constante universal dos gases.

$$vol \frac{dC_{N_{Na}}}{dt} = -A_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{N_{Na}} - C_{F_{Na}}) - zA_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{F_{Na}} V \right) - Sbkb(C_{N_{Na}})^2 C_{FK} \quad (13)$$

A primeira decisão importante é a escolha do domínio, como já foi justificado nas seções anteriores, o objetivo da modelagem do sódio é elucidar a influência do astrócito no sinal que chega ao terminal pós-sináptico. Assim, o domínio de cálculo do sódio deve estar focado na membrana pós-sináptica. Os fluxos da membrana citada dependem fortemente das concentrações dos íons em ambos os lados dela, ou seja, na fenda e no interior do terminal do dendrito, por isso uma porção destes elementos também é considerado no domínio de cálculo do sódio. Com isso, a figura 18 mostra o domínio em que o modelo matemático do sódio será resolvido.

Figura 18: Domínio de cálculo do sódio.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

Os três termos da direita da equação (13) representam o fluxo devido ao gradiente químico, elétrico e à ação das bombas sódio/potássio respectivamente. O termo da bomba sódio/potássio pode ser desconsiderado, porque é representativo na etapa de repolarização da membrana, enquanto que, no presente trabalho foca-se na etapa de despolarização, ou seja, quando o potencial pós-sináptico excitatório (EPSP) é gerado.

Outra modificação é necessária devido aos volumes de controle no trabalho de Quinaud (2011) para o terminal pré-sináptico serem muito maiores do que os considerados aqui para o terminal pós-sináptico. Volumes menores fazem com que o equilíbrio seja atingido mais rápido para um mesmo gradiente, mas na realidade não se chega ao equilíbrio, porque do lado da fenda sináptica, local de maior concentração de sódio, o meio extracelular sempre vai fornecer sódio para que não se atinja níveis críticos perto da membrana. Da mesma forma, no terminal pós-sináptico o sódio que entra vai se espalhar lateralmente para as outras regiões da membrana deste neurônio, fazendo com que o equilíbrio não seja atingido.

Para obter este comportamento observado, é necessário agregar um terceiro termo ao modelo do sódio deste trabalho. Levando em consideração que este termo deve suprir o sódio no volume de controle na fenda e tirar sódio do volume do neurônio dependendo de uma concentração de equilíbrio e da área, se escolhe um termo do tipo filme

para representar estes fluxos que vêm dos meios externos aos volumes de controle ($F_{i_{ME}}$), como mostrados nas equações (14a) e (14b). O único valor desconhecido é o coeficiente de transferência de massa (h_i) para cada volume de controle, o qual, por não ter valores na literatura, será um parâmetro ajustado para atingir valores de referência.

$$F_{N_{ME}} = A_{N_{ME}} h_N (C_{N_{Na}} - C_{N_{Na}}^{eq}) \quad (14a)$$

$$F_{F_{ME}} = A_{F_{ME}} h_F (C_{F_{Na}} - C_{F_{Na}}^{eq}) \quad (14b)$$

A área para cada volume de controle será diferente, pois no volume da fenda a área é dada pela área frontal do cilindro, região onde está localizado o meio extracelular. Por outro lado, no terminal pós-sináptico o fluxo segue a membrana do neurônio, ou seja, neste volume a área de troca é dada pela área lateral do cilindro. Desta forma, estas áreas são definidas pelas equações (15a) e (15b).

$$A_{N_{ME}} = 2 * \pi * R_{VC} * h_{VC} \quad (15a)$$

$$A_{F_{ME}} = \pi * R_{VC}^2 \quad (15b)$$

Com estas considerações e modificações, as equações de Quinaud (2011), aplicadas ao presente trabalho, são representadas nas equações (16a) e (16b) para encontrar ao redor da membrana pós-sináptica, os perfis ao longo do tempo da concentração de sódio no lado do neurônio ($C_{N_{Na}}$) e da concentração do sódio no lado da fenda ($C_{F_{Na}}$).

$$vol \frac{dC_{N_{Na}}}{dt} = -A_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{N_{Na}} - C_{F_{Na}}) - zA_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{F_{Na}} V \right) - A_{N_{ME}} h_N (C_{N_{Na}} - C_{N_{Na}}^{eq}) \quad (16a)$$

$$vol \frac{dC_{F_{Na}}}{dt} = -A_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{F_{Na}} - C_{N_{Na}}) + zA_{OP} \frac{D_{Na}}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{F_{Na}} V \right) - A_{F_{ME}} h_F (C_{F_{Na}} - C_{F_{Na}}^{eq}) \quad (16b)$$

Nas equações acima, desconsiderando o valor das constantes que se conhece o valor ou serão estimados, há três incógnitas, $C_{N_{Na}}$, $C_{F_{Na}}$ e V , que representa a diferença de potencial na membrana pós-sináptica. Assim, é necessária uma expressão para calcular a diferença de potencial, como foi visto no Capítulo 2. Quinaud (2011) propõe a equação (17) a seguir.

$$V = \gamma_{el} F \sum_j z_j (C_{N_j} - C_{F_j}) \quad (17)$$

O termo γ_{el} é uma constante igual a $4\pi d^2 k_0$, onde d é a distancia entre os dois lados da membrana e k_0 é a constante eletrostática. O índice j na equação acima representa cada um dos íons que se encontra na superfície da membrana pós-sináptica, seja do lado interno ou externo. Portanto, como esperado, a diferença de potencial na membrana é calculada a partir das concentrações dos íons que a rodeiam. Os íons que mais contribuem à diferença de potencial são os ânions orgânicos, potássio, sódio, cloro e cálcio (KANDEL *ET AL*, 2014). O intervalo de tempo que interessa apresenta variação significativa dos íons sódio, enquanto a variação dos outro é desprezível. Em vista disso, a concentração dos outros íons é constante, além de ser encontrada na literatura. Por isso, a partir da equação (17) se obtém a equação (18) que será a forma de calcular o potencial da membrana pós-sináptica no presente trabalho.

$$V = V_{OT} + \gamma_{el} F z_j (C_{N_{Na}} - C_{F_{Na}}) \quad (18)$$

Onde V_{OT} é a contribuição dos quatro íons, considerados com concentração constante, para a diferença de potencial, a qual é constante e vem dada pela equação (19) a partir dos valores da literatura da Tabela 2.

$$V_{OT} = \gamma_{el} F [z_{AN}(C_{N_{AN}} - C_{F_{AN}}) + z_K(C_{N_K} - C_{F_K}) + z_{Cl}(C_{N_{Cl}} - C_{F_{Cl}}) + z_{Ca}(C_{N_{Ca}} - C_{F_{Ca}})] \quad (19)$$

Tabela 2: Concentrações iônicas constantes consideradas para o cálculo da diferença de potencial na membrana pós-sináptica.

Íon	Concentração Intracelular (mol/m ³)	Concentração Extracelular (mol/m ³)	Referência
Ânions	140	0	Kandel <i>et al</i> , 2014
Potássio	140	4	Teixeira <i>et al</i> , 2001
Cloro	16	103	Teixeira <i>et al</i> , 2001
Cálcio	0,001	3	Strehler <i>et al</i> , 1996

Resolvendo simultaneamente as equações (16a), (16b) e (18), obtém-se a concentração ao longo do tempo, do sódio na membrana pós-sináptica no lado da fenda e no lado do neurônio. É necessário notar nas equações (16a) e (16b) o termo A_{OP} , que é a área pela qual o sódio vai entrar ou sair através da membrana. Esta área representa a área dos canais AMPA e NMDA abertos, quando as moléculas de glutamato conectam-se a esses canais. Ou seja, este termo é essencial, uma vez que relaciona a dinâmica do glutamato com a variação de concentração de sódio no terminal pós-sináptico.

Devido ao termo A_{OP} ser obtido iterativamente a partir de resolver numericamente as equações de Langevin para o glutamato, as equações do sódio (16a), (16b) e (18) não têm solução analítica. Portanto, para a resolução será utilizado o Método de Euler Simples, pela sua simplicidade. Não traz muita vantagem usar métodos numéricos mais robustos de EDO, como Runge-Kutta, por exemplo, que convergem em menos iterações, porque o passo de tempo já vem limitado pelo passo de tempo das equações do glutamato. O qual já é pequeno o suficiente para atingir boa precisão e garantir estabilidade do Método de Euler Simples, que é menos custoso computacionalmente.

A discretização das equações (16a), (16b) e (18) gera as equações (20a), (20b) e (20c) respectivamente, que permitem calcular a concentração de sódio interno, externo e a diferença de potencial na membrana pós-sináptica para cada passo de tempo. Este passo de tempo está sincronizado com a dinâmica do glutamato. Assim, no Capítulo 4 será possível verificar qual a influência do glutamato na dinâmica do sódio.

$$\begin{aligned}
 C_{Na}^{n+1} = C_{Na}^n & \quad (20a) \\
 & + \frac{\Delta t}{vol} \left[-A_{OP}^n \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{Na}^n \right. \\
 & \quad \left. - C_{FNa}^n) \right. \\
 & \quad \left. - zA_{OP}^n \frac{D_{Na}}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{FNa}^n V \right) \right. \\
 & \quad \left. - A_{NME} h_N (C_{Na}^n - C_{Na}^{eq}) \right]
 \end{aligned}$$

$$C_{FNa}^{n+1} = C_{FNa}^n \quad (20b)$$

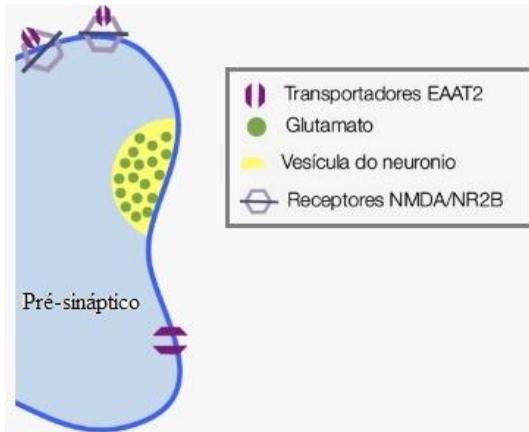
$$+ \frac{\Delta t}{vol} \left[-A_{OP}^n \frac{D_{Na}}{\tau} (C_{FNa}^n - C_{N_{Na}}^n) + zA_{OP}^n \frac{D_{Na}}{\tau} \left(\frac{F}{RT} C_{FNa}^n V \right) - A_{ME} h_F (C_{FNa}^n - C_{FNa}^{eq}) \right]$$

$$V = V_{OT} + \gamma_{el} F z_j (C_{N_{Na}}^n - C_{FNa}^n) \quad (20c)$$

3.4 MEMBRANA PRÉ-SINÁPTICA

São consideradas no modelo matemático três regiões da membrana pré-sináptica, que são mostradas na figura 19. A primeira é a vesícula sináptica sendo o local de armazenamento do neurotransmissor. A segunda região é representada pelos canais presentes nesta membrana que, como será explicado, são predominantemente transportadores de glutamato. A região restante da membrana é formada pela sua parede que faz refletir as moléculas de glutamato quando estas chocam contra ela. A seguir são detalhados os modelos matemáticos destas três estruturas considerados no presente trabalho.

Figura 19: Estruturas da membrana pré-sináptica no modelo matemático.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.4.1 Vesículas sinápticas

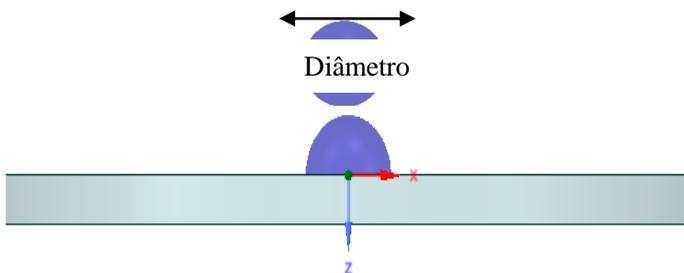
A chegada dos neurotransmissores na fenda sináptica ocorre a partir das vesículas sinápticas, local de armazenamento destes. Devido às vesículas serem a única fonte de glutamato, espera-se que influenciem consideravelmente a dinâmica do glutamato. Assim, a seguir são discutidos vários aspectos importantes para o modelo como: forma da vesícula, quantidade e posição, distribuição espacial dos neurotransmissores dentro dela e movimentação destes dentro da vesícula.

3.4.1.1 Vesícula na membrana pré-sináptica

Inicialmente as vesículas estão localizadas no terminal pré-sináptico separadas da membrana pré-sináptica. Após atingir as condições fisiológicas necessárias, a membrana da vesícula ficará ancorada na membrana do neurônio, através da fusão das duas.

O presente modelo matemático considera que a vesícula já está ancorada na membrana pré-sináptica e sem movimento relativo entre as duas membranas. Assume-se que após a fusão das membranas, a vesícula fica no formato de uma semiesfera. Sabe-se que a membrana da vesícula se funde com a membrana do neurônio (SUDHOF, 2013), sendo assim, o espaço real ocupado pelo glutamato é a semiesfera definida pelo diâmetro interno da vesícula. Na Figura 20 pode-se observar a estrutura da vesícula na membrana pré-sináptica considerada neste trabalho.

Figura 20: Semiesfera formada após a fusão da vesícula com a membrana.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.4.1.2 Quantidade e distribuição espacial das vesículas.

Os modelos de Allam *et al.* (2012b), Di Maio, Ventriglia, Santillo (2016a), entre outros autores, mostram que uma única vesícula liberada é capaz de despolarizar canais AMPA e NMDA, sendo suficiente para despolarizar a membrana pós-sináptica. Além disso, as moléculas de uma única vesícula são capazes de chegar ao astrócito, no espaço extra-sináptico, inclusive atingir outras sinapses (RUSAKOV, 1998). Com isto, no presente modelo é escolhida uma única vesícula no terminal pré-sináptico, que além das justificativas anteriores, fornecerá informações sobre a unidade básica de comunicação neuronal.

Existe uma zona ativa na membrana pré-sináptica, local onde a vesícula se fundona. Esta região tem uma forma aproximada a circular, com raio 110nm (DI MAIO; VENTRIGLIA; SANTILLO, 2016a). Sabe-se também que a posição de fusão da vesícula dentro desta zona ativa tem caráter estocástico (DI MAIO; VENTRIGLIA; SANTILLO, 2017). Logo, no presente modelo define-se a posição da vesícula de acordo a uma distribuição normal dentro da zona ativa.

3.4.1.3 Posição inicial dos neurotransmissores dentro da vesícula

Dentro da vesícula, se conhece que é aleatória a localização das moléculas de glutamato. Portanto, a posição inicial do glutamato é definida por uma distribuição normal tridimensional, com origem no centro da esfera, a qual representa a vesícula.

3.4.1.4 Movimentação do glutamato dentro da vesícula

Após a fusão da vesícula com a membrana pré-sináptica, a região interna da vesícula está em contato direto com a fenda sináptica. Podendo assim, a vesícula ser considerada com as mesmas propriedades da fenda. Desta forma, a movimentação do glutamato na vesícula também pode ser descrita pela equação de Langevin (21), já descrita anteriormente, que define a posição e a velocidade do glutamato na fenda sináptica.

$$m \frac{dv}{dt} = -\gamma v + \sqrt{2\varepsilon\gamma} \xi_i(t) \quad (21)$$

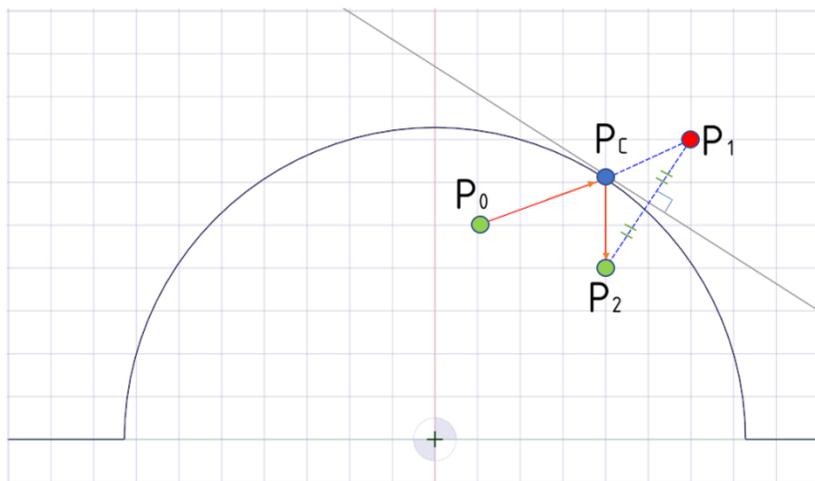
3.4.1.5 Colisões do glutamato com as paredes da vesícula

Como o movimento do glutamato dentro da vesícula não tem uma direção preferencial, várias vezes as moléculas irão colidir com as paredes da vesícula. Nas paredes da vesícula não existe nenhum tipo de receptor, então quando a molécula colidir, a única opção é ser refletida.

A reflexão em uma esfera é um problema que pode ser abordado por diferentes estratégias. Uma delas seria mediante o uso de transformações, utilizando matrizes de translação, rotação e suas inversas. Por ter um caráter mais didático, no presente modelo optou-se por uma metodologia baseada na Geometria Analítica. As etapas desta estratégia seguem abaixo e, são apresentadas na Figura 21.

1. Identificar o ponto de colisão na esfera.
2. Encontrar o plano tangente à esfera no ponto de colisão.
3. Reflexão da molécula em relação ao plano tangente.

Figura 21: Reflexão do glutamato nas paredes da vesícula.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.4.1.5.1 Identificação do ponto de colisão

Quando se identifica que uma molécula colidiu com a parede da vesícula, se conhecem as coordenadas da molécula dentro da vesícula $P_0(x_0, y_0, z_0)$, e as coordenadas da molécula fora da vesícula

$P_1(x_1, y_1, z_1)$. O primeiro passo é encontrar a equação da reta que junta os pontos P_0, P_1 . Um dos caminhos para realizar isto é mostrado abaixo.

Seja (m) a equação simétrica de qualquer reta em 3D:

$$\frac{x - x_0}{a} = \frac{y - y_0}{b} = \frac{z - z_0}{c} \quad (22)$$

Onde as constantes a, b e c são definidas por:

$$a = x - x_0; b = y - y_0; c = z - z_0 \quad (23)$$

A reta pode ser representada pelas equações abaixo:

$$\left\{ \begin{array}{l} y = \frac{b}{a}(x - x_0) + y_0 \\ z = \frac{c}{a}(x - x_0) + z_0 \end{array} \right. \quad (24)$$

A vesícula tem o formato de uma semiesfera, assim a superfície pode ser representada pela equação da esfera, que é válida para a semiesfera, se somente são considerados os valores de z negativos. São considerados os valores negativos de z , já que nessa direção se encontra a vesícula segundo o sistema de coordenadas adotado. Assim a superfície da vesícula de raio R é dada por:

$$x^2 + y^2 + z^2 = R^2 \quad z \in \mathbb{R}^- \quad (25)$$

Com as equações (24) e (25) é possível encontrar o ponto de intersecção entre a reta e a esfera, o qual representa o ponto de colisão da molécula de glutamato. Após algumas operações algébricas, obtém-se as expressões (26a), (26b) e (26c), que representam as coordenadas do ponto de colisão $P_c(x_c, y_c, z_c)$.

$$x_c = \frac{-aby_0 - acy_0 + b^2x_0 + c^2x_0 \pm a\sqrt{R^2(a^2 + b^2 + c^2) - (az_0 - cx_0)^2 - (ay_0 - cb)^2 - (bz_0 - cy_0)^2}}{a^2 + b^2 + c^2}$$

(26a)

$$y_c = \frac{b}{a}(x_c - x_0) + y_0 \quad (26b)$$

$$z_c = \frac{c}{a}(x_c - x_0) + z_0 \quad (26c)$$

Observa-se na equação (26a) que dependendo do sinal da raiz, x_c pode ter dois valores. A escolha do x_c correto é feita verificando a condição de que x_c deve estar contido entre x_0 e x_1 .

3.4.1.5.2 Cálculo do plano de reflexão

Quando a molécula colide com a parede, ela é refletida pelo contato com a superfície esférica da vesícula. O plano que passa pelo ponto de colisão e seja tangente à esfera, representa de forma equivalente a colisão com a esfera.

A equação geral do plano em coordenadas cartesianas é:

$$dx + ey + fz + g = 0 \quad (27)$$

Sendo o vetor $(\overrightarrow{OP_c})$, o vetor que sai da origem do sistema de coordenadas e vai até o ponto de colisão:

$$\begin{aligned} \overrightarrow{OP_c} &= P_c(x, y, z) - O(x, y, z) \\ \overrightarrow{OP_c} &= (x_c, y_c, z_c) - (0, 0, 0) \\ \overrightarrow{OP_0} &= (x_c, y_c, z_c) \end{aligned} \quad (28)$$

Da Geometria Analítica sabe-se que os valores d, e, f representam a direção do vetor ortogonal ao plano. Como o vetor $\overrightarrow{OP_c}$ é perpendicular ao plano e é conhecido, podem ser calculados os coeficientes do plano d, e, f .

$$d = \overrightarrow{OP_{c_x}} = x_c \quad (29a)$$

$$e = \overrightarrow{OP_{c_y}} = y_c \quad (29b)$$

$$f = \overrightarrow{OP_{c_z}} = z_c \quad (29c30)$$

Para encontrar o valor do coeficiente g é necessário substituir, na equação do plano, os valores encontrados d, e, f e as coordenadas de algum ponto que pertença ao espaço. Lembrando-se que o ponto de colisão $P_c(x_c, y_c, z_c)$ pertence ao plano. Assim a equação (t) fica:

$$x_c \cdot x_c + y_c \cdot y_c + z_c \cdot z_c + g = 0 \quad (31)$$

Agora a única incógnita é g , que vai ser calculada por:

$$g = -x_c^2 - y_c^2 - z_c^2 \quad (32)$$

Assim, com todas as constantes conhecidas, o plano de reflexão é definido por:

$$x_c x + y_c y + z_c z - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2 = 0 \quad (33)$$

3.4.1.5.3 Cálculo da nova posição da molécula

Após ter calculado a posição da colisão da molécula (P_1) e o plano no qual será refletida, tem-se condições para encontrar a nova posição da molécula. Usando conceitos de Geometria Analítica, o cálculo da nova posição da molécula, $P_2(x_2, y_2, z_2)$, se reduz à reflexão do ponto P_1 em relação ao plano de reflexão.

As equações 34a, 34b, 35c definem a nova posição da molécula.

$$x_2 \quad (34a)$$

$$= x_1 - \frac{2x_c(x_c x_1 + y_c y_1 + z_c z_1 - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2)}{a^2 + b^2 + c^2}$$

$$y_2 = y_1 - \frac{2y_c(x_c x_1 + y_c y_1 + z_c z_1 - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2)}{a^2 + b^2 + c^2} \quad (34b)$$

$$z_2 = z_1 - \frac{2z_c(x_c x_1 + y_c y_1 + z_c z_1 - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2)}{a^2 + b^2 + c^2} \quad (34c)$$

O novo ponto P_2 ainda pode estar fora da vesícula. Caso isto aconteça, as três etapas de cálculo são repetidas. A única mudança é, que desta vez, as coordenadas do ponto P_1 serão substituídas pelas coordenadas do novo ponto fora da vesícula P_2 .

3.4.2 Canais na membrana pré-sináptica

3.4.2.1 Transportadores de Glutamato

No capítulo 2 pode-se observar que só Ventriglia e Di Maio (2000) consideram transportadores de glutamato na membrana pré-sináptica, embora seja com uma probabilidade muito baixa de 10^{-4} . Apesar disto, diversos trabalhos mostram a importância destes transportadores tanto para a recaptção do glutamato da fenda sináptica

evitando excitotoxicidade, como também para o ciclo do glutamato (DANBOLT; FURNESS; ZHOU, 2016), (ROSE *et al.*, 2016), (VANDENBERG; RYAN, 2013).

O transportador mais encontrado na membrana pré-sináptica é o transportador de aminoácido excitatório 2 (EAAT2) (ROSE *et al.*, 2016). O EAAT2 é historicamente conhecido por ser o principal transportador de glutamato no astrócito, mas na última década, tem-se mostrado que do total de EAAT2 na sinapse, pelo menos 10% encontra-se na membrana pré-sináptica (DANBOLT; FURNESS; ZHOU, 2016).

Portanto, no presente modelo matemático considera-se que 50 canais EAAT2 (DANBOLT; FURNESS; ZHOU, 2016) estão alocados na parte frontal da membrana pré-sináptica. Os transportadores não influenciam diretamente na quantidade de sódio que entra no terminal pós-sináptico. Logo, durante o cálculo só se leva em consideração a quantidade de transportadores ocupados e livres, sem detalhes sobre seu posicionamento. A outra simplificação se dá em relação à sua cinética, considerando apenas a informação que 41 moléculas de glutamato são transferidas a cada segundo para o interior do neurônio (BERGLES; JAHR, 1997). Esta informação é suficiente para os fins do modelo deste transportador no presente estudo. Apesar de ser uma taxa de transferência baixa, um número maior de moléculas é retido no glutamato em poucos milissegundos, já que a afinidade de se ligar ao glutamato é alta (ROSE *et al.*, 20016). Por isto, é considerado no modelo que quando uma molécula de glutamato colide com a superfície do transportador, esta liga automaticamente.

3.4.2.2 Receptores de Glutamato

O terminal pré-sináptico não é conhecido por possuir na sua membrana receptores de glutamato. Mas nos últimos anos, observações anatômicas e fisiológicas têm demonstrado que existe receptores ionotrópicos de glutamato na lateral deste terminal (BOUVIER *et al.*, 2015). Especificamente receptores N-metil-D-aspartato com subunidade NR2B (NMDA/NR2B).

Além disso, principalmente com o trabalho de De Pittà *et al.* (2011) mostra-se que estes canais são parte importante da sinapse tripartite. Já que estão localizados na superfície lateral da membrana pré-sináptica, perto da região do astrócito, onde é liberado glutamato. Ou seja, recebem diretamente e em poucos milissegundos o glutamato proveniente do astrócito, evidenciando a importância desta célula glial para a sinapse. Após esta ligação acontecer, ainda não se conhecem os mecanismos, mas

sabe-se que a consequência é o aumento da quantidade de neurotransmissor liberado pelo terminal pré-sináptico. De Pittà *et al.* (2011) apresenta uma das explicações mais simples e biologicamente plausíveis para este fenômeno. A ideia dele é relacionar a fração de canais no pré-sináptico ligados pelo glutamato astrocital (Γ) com a probabilidade basal de liberação de uma vesícula ancorada (U_0). Esta relação é dada pela equação (35).

$$U_0(\Gamma) = (1 - \Gamma)U_0^* + \alpha\Gamma \quad (35)$$

O parâmetro U_0^* representa a probabilidade U_0 na ausência de glutamato, o autor usa o valor de 0.5. Por outro lado, α é o parâmetro que aglomera a influência do astrócito na liberação pré-sináptica, cujo valor é 1 quando a sinapse é potencializada, como no presente modelo.

A dinâmica do glutamato na fenda sináptica proposta em seções anteriores mostra, como um dos seus resultados, o tempo em que uma molécula do glutamato proveniente do astrócito atinge um terminal NMDA pré-sináptico. Quando acontece esta colisão, uma probabilidade $P_{O_{PRE}}$, parâmetro do modelo, determina se a molécula se liga ou não ao canal. E com isto, pode-se calcular a fração Γ , com o qual se consegue no presente modelo relacionar o glutamato astrocital com a liberação pré-sináptica.

3.4.3 Parede da membrana pré-sináptica

Quando as moléculas de glutamato se chocam com a membrana pré-sináptica e não se ligam a nenhum dos canais recentemente descritos, elas são refletidas. A membrana pré-sináptica está formada pela face frontal e sua face lateral.

Como mostrado na seção 3.1, a parede frontal da membrana pré-sináptica é representada pela face plana de um cilindro. Assim, este choque se resume à reflexão de uma trajetória reta em relação a um plano, onde as coordenadas da molécula dentro da fenda são $P_0(x_0, y_0, z_0)$, as coordenadas da molécula fora da fenda sináptica são $P_1(x_1, y_1, z_1)$ e as coordenadas da nova posição estão representadas por $P_2(x_2, y_2, z_2)$.

Pode-se observar que a membrana pré-sináptica é paralela ao plano de coordenadas XY. Desta forma, as coordenadas das moléculas em x e em y podem ser mantidas, precisando só modificar a coordenada em z. Por ser um choque completamente elástico, a distância em z entre a membrana e o ponto P_1 é igual à distância entre o ponto P_2 e a membrana.

Além disso, a membrana está localizada no plano $z=0$, por isso a nova coordenada em z (z_2) tem simplesmente o valor negativo da coordenada z_1 . Assim, as coordenadas $P_2(x_2, y_2, z_2)$ da nova localização da molécula, que agora está dentro da fenda sináptica, são dadas pelas expressões 36a, 36b e 36c.

$$x_2 = x_1 \quad (36a)$$

$$y_2 = y_1 \quad (36b)$$

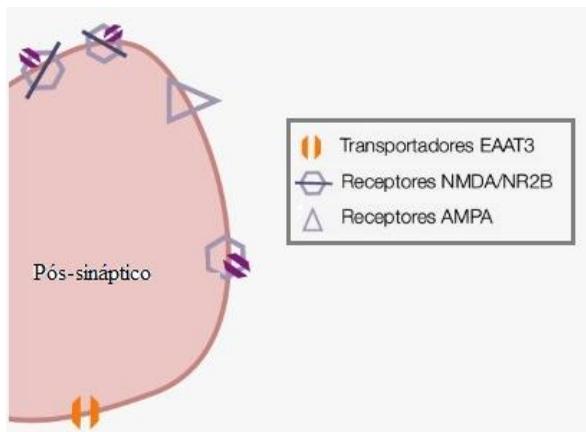
$$z_2 = -z_1 \quad (36c)$$

Por outro lado, a região lateral da membrana pré-sináptica, corresponde à face lateral do cilindro. Assim, a colisão de uma molécula com esta parede se resume à reflexão de uma trajetória reta em relação a uma circunferência. Esta reflexão é idêntica à reflexão com faces cilíndricas do astrócito, que será explicada em detalhe na seção 3.6.2.

3.5 MEMBRANA PÓS – SINÁPTICA

Conforme explicado na revisão bibliográfica, na membrana pós-sináptica duas grandes regiões são fundamentais para uma correta modelagem desta membrana. A primeira é formada por todos os canais responsáveis pela entrada e saída dos íons sódio e potássio durante o processo sináptico. A outra região que precisa ser considerada na membrana é sua parede, já que devido à razão pequena entre altura e diâmetro da fenda, são repetitivos os choques entre as moléculas e a parede, a qual vai fazer com que o glutamato seja refletido. A seguir são descritos os modelos matemáticos destas duas estruturas da membrana pós-sináptica considerados no presente trabalho e mostrados na Figura 22.

Figura 22: Estruturas da membrana pré-sináptica no modelo matemático.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.5.1 Canais na membrana pós-sináptica

A membrana pós-sináptica é muito rica em canais e transportadores, os quais tem o objetivo de modular em tempos e formas diferentes o sinal que chega ao terminal pós-sináptico. Com isto, a composição da membrana pós-sináptica depende da sua localização e da sua função. Nesse trabalho há o interesse nas sinapses excitatórias, no qual o glutamato é o neurotransmissor. Sendo assim, a seguir serão discutidos os principais canais e transportadores encontrados na membrana pós-sináptica em sinapses excitatórias, que estejam diretamente relacionados com a ação do glutamato.

3.5.1.1 Receptores de Glutamato

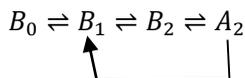
Nas sinapses excitatórias a informação é transmitida mediante a despolarização da membrana do neurônio pós-sináptico, como fora mencionado. Esta despolarização é conseguida quando o neurotransmissor se liga a seus respectivos receptores, causando a abertura destes, permitindo desta forma a entrada e saída de íons que causarão a despolarização. Este fato relembra a grande importância dos receptores, em que é necessário realizar uma modelagem matemática mais precisa destes elementos.

Quase todos os autores citados anteriormente consideram dois tipos de receptores de glutamato na membrana pós-sináptica: AMPA e NMDA. Estes canais são complementares e, seus efeitos cooperativos têm sido demonstrados, por exemplo, nos trabalhos de Allam *et al.* (2012a) e de Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016b). Observa-se que os canais AMPA apresentam uma cinética mais rápida e importante no início da despolarização. Por outro lado, os canais NMDA mostram uma cinética mais lenta, importantíssima para os efeitos de longa duração como o LTP (*Long Term Potentiation*), um dos fenômenos que contribui para a plasticidade sináptica. Sendo assim, no presente modelo matemático também são considerados os receptores AMPA e NMDA na membrana pós-sináptica.

Sabe-se que a interação entre a molécula de glutamato e o receptor se dá por forças intermoleculares. Ou seja, de fato acontece uma ligação, por isso esta interação é modelada geralmente como sendo uma reação química tendo uma dada cinética. Na literatura foi visto que se propõem diferentes mecanismos para a ligação do glutamato com seu receptor. Indo de mecanismos mais simples de duas etapas, como o de Patneau e Mayer (1990), até mecanismos de 16 etapas, como o de Robert e Howe (2003).

Quando se utiliza estes mecanismos em um modelo matemático, geralmente os autores consideram uma abordagem contínua. Sendo consideradas uma concentração de glutamato e uma concentração de receptor, como no modelo bastante utilizado de Allam *et al.* (2012b). Mas isto é uma aproximação, pois a ligação acontece de 1, 2, 3, ou 4 moléculas de glutamato com um único receptor. Assim, uma abordagem que considere a molécula em si e não uma concentração se aproximaria mais da realidade. Um desses trabalhos é o de Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016a), onde o mecanismo para a ligação entre o glutamato e qualquer um dos dois receptores está de acordo com o mostrado na Figura 23.

Figura 23: Etapas da ligação entre o glutamato e canais AMPA e NMDA.



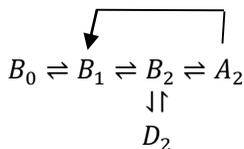
Fonte: Desenvolvida pelo autor

Onde B_0 , B_1 , B_2 representam os estados nos quais o canal está fechado e, ligado com 0, 1 e 2 moléculas de glutamato respectivamente. A_2 representa o canal ativo, ou seja, aberto com 2 moléculas de glutamato.

Este modelo contém a informação fisiológica já conhecida, em que são necessárias pelo menos duas moléculas de glutamato para ativar o canal. Além disso, permite que com duas moléculas ligadas, o canal possa estar ligado ou desligado, correspondendo ao comportamento observado experimentalmente. Por isto e por sua simplicidade, este modelo será considerado a base para descrição da interação do glutamato com os canais AMPA e NMDA no presente estudo.

A única modificação proposta nas etapas de reações apresentadas na figura 23 tem por objetivo levar em conta o fenômeno fisiológico chamado de desensitização do receptor. Este é um estado inativo do canal após ter estado ativo. É considerado no presente modelo para ter uma descrição mais precisa da dinâmica do receptor. Holmes (1995) propõe que o estado de desensitização pode ser atingido tanto a partir do estado B_2 quanto do estado A_2 . Mas observa-se pelos dados cinéticos, que a transição a partir do estado A_2 pode ser desprezível. Assim, considera-se o modelo de desensitização proposto por Lester e Jahr (1992), com o qual se chega ao modelo de reação considerado no presente trabalho e apresentado na figura 24.

Figura 24: Etapas da ligação entre o glutamato e canais AMPA e NMDA no presente trabalho.



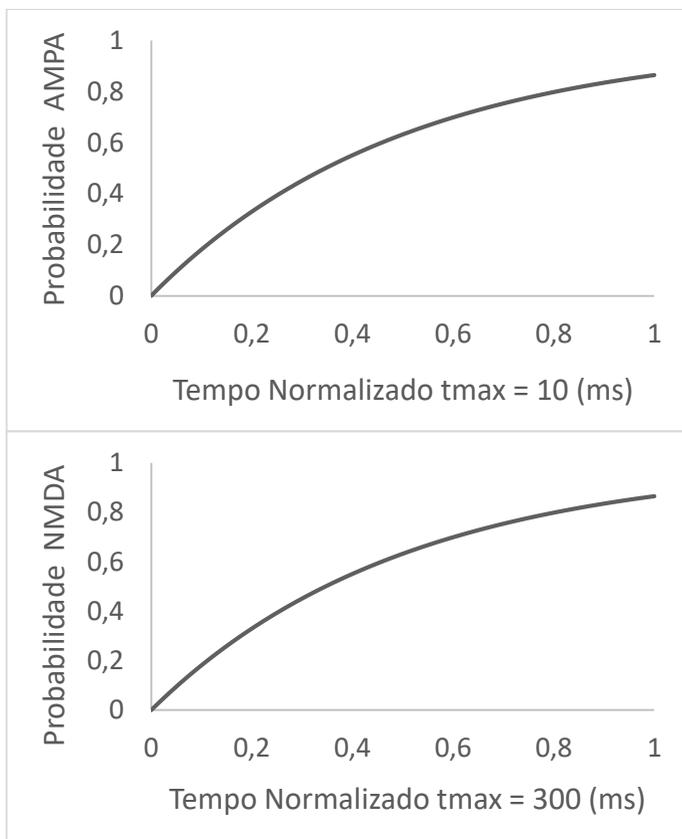
Fonte: Desenvolvida pelo autor

Como já foi explicado, não será considerada a taxa de reação comumente definida, por ter uma abordagem continua. Então se mantém a abordagem discreta do presente trabalho e esta etapa da reação se baseia no trabalho de Di Maio, Ventriglia e Santillo (2106a). Uma molécula, que está na fenda sináptica e colide com algum receptor, tem uma probabilidade P_B conhecida de ficar ligada ao receptor, já que vai depender se a colisão aconteceu no grupo funcional da molécula e na posição do receptor que permita a ligação. Esta consideração define o modelo para ir do estado B_0 para o estado B_1 , o qual também se deve cumprir para chegar ao estado B_2 .

Quando um canal tem duas moléculas, estado B_2 , o canal pode abrir ou ir para o estado desensitizado, dependendo das probabilidades P_O e P_D respectivamente. O receptor com as duas moléculas de glutamato

ficará transitando entre estes três estados até uma das moléculas se desligar. O tempo que transcorre entre a molécula se ligar e desligar (t_b) pode ser modelado como um Processo de Poisson e por tanto, segue uma distribuição exponencial (VENTRIGLIA; DI MAIO, 2013). A distribuição exponencial é definida por um único parâmetro, o tempo médio que uma molécula fica ligada (\bar{t}_b). Por ter afinidades diferentes com a molécula de glutamato, cada receptor terá seu próprio tempo médio ($\bar{t}_{b_{AMPA}}$ e $\bar{t}_{b_{NMDA}}$). Na figura 25 mostra é exibida como fica a função de distribuição acumulada para cada canal.

Figura 25: Probabilidade de uma molécula ficar ligada em função do seu tempo ligada; a) AMPA, b) NMDA.

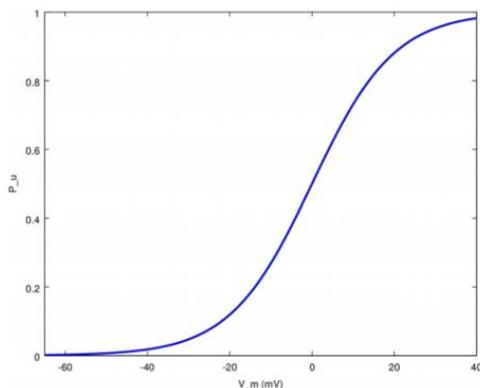


Fonte: Desenvolvida pelo autor.

A última consideração que falta para realizar uma modelagem correta dos receptores é lembrar que os receptores NMDA são bloqueados por moléculas de Mg^{2+} quando se está no potencial de repouso da membrana. Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016a) afirmam que o desbloqueio vai acontecendo à medida que a membrana vai sendo despolarizada. Estes autores propõem a função de probabilidade de desbloqueio de Mg^{2+} (P_u) descrita pela equação (37) e mostrada na figura 26. É proposta uma função sigmoide, baseado nas observações experimentais de Jahr e Stevens (1990). Esta expressão depende do potencial de membrana pós-sináptico (V), que é calculado como se propôs no presente trabalho pela equação (18).

$$P_u = \frac{1}{1 + e^{-0.1V}} \quad (37)$$

Figura 26: Probabilidade de desbloqueio de Mg^{2+} dos canais NMDA em função do potencial de membrana pós-sináptico.



Fonte: Di Maio, Ventriglia e Santillo (2016a).

Assim, para os receptores de NMDA se aplica primeiro a probabilidade P_u e depois as probabilidades da cinética da figura 24, já explicadas. Para os canais AMPA, por não possuírem nenhuma molécula que bloqueie seu funcionamento, se procede diretamente com a aplicação da cinética com as probabilidades.

Além dos receptores NMDA localizados na região frontal do terminal pós-sináptico, no modelo serão colocados um subtipo destes receptores, NMDA/NR2B, na região lateral deste terminal como proposto

por De Pittà *et al.* (2016). Estes receptores mostram-se como elementos da sinapse tripartite para potencializar o sinal no terminal pós-sináptico, já que, pela sua proximidade com o astrócito, estes receptores são um bom alvo para o glutamato astrocítico. Desta forma será avaliada a influência do astrócito no terminal pós-sináptico, além da influência no terminal pré-sináptico como foi mencionado na seção 3.4.2.2.

3.5.1.2 Transportadores de Glutamato

Transportadores de glutamato do tipo EAAT3 são observados nas regiões laterais dos terminais sinápticos (ROSE *et al.*, 2016) (DANBOLT; FURNESS; ZHOU, 2016). Além disso, já tem sido mostrada sua importância em modelos da sinapse tripartite, como no modelo matemático de Allam *et al.* (2012b). Assim, no presente trabalho também são considerados estes transportadores na região lateral da membrana pós-sináptica com os dados estruturais provenientes de Allam *et al.* (2012b) e Danbolt, Furness e Zhou (2016). Da mesma forma que foi feita a simplificação para os transportadores da membrana pré-sináptica, aqui só é considerado o tempo em que o transportador demora a levar para dentro o glutamato, sem levar em conta as etapas cinéticas.

3.5.2 Parede da membrana pós-sináptica

Na membrana pós-sináptica, além da possibilidade de se ligar a um canal, as moléculas de glutamato podem bater nas paredes da membrana pós-sináptica e serem refletidas. Esta colisão pode acontecer tanto com a região frontal da membrana, quanto com a região lateral cilíndrica desta.

Como a região plana da membrana pós-sináptica tem uma estrutura igual à membrana pré-sináptica e é paralela a esta, a reflexão segue o mecanismo de choque descrito na seção 3.4.3. A única diferença é que a membrana pós-sináptica está localizada no plano $z=20\text{nm}$. Levando em conta isto e, definindo que as coordenadas da molécula dentro da fenda são $P_0(x_0, y_0, z_0)$ e que as coordenadas da molécula fora da fenda sináptica estão representadas por $P_1(x_1, y_1, z_1)$, as coordenadas da nova posição $P_2(x_2, y_2, z_2)$ são dadas pela expressões (38a), (38b) e (38c).

$$x_2 = x_1 \quad (38a)$$

$$y_2 = y_1 \quad (38b)$$

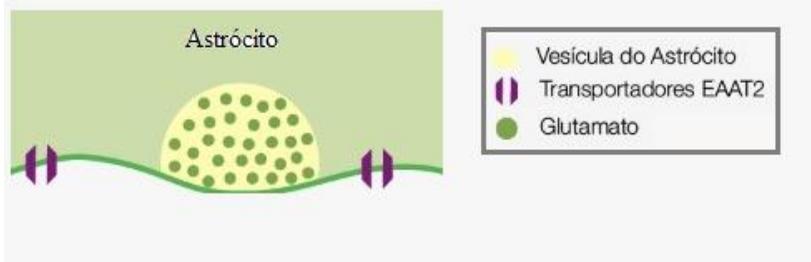
$$z_2 = 20 - (z_1 - 20) \quad (38c)$$

Da mesma forma, a região cilíndrica lateral da membrana pós-sináptica tem a mesma topologia das regiões cilíndricas da membrana pré-sináptica e do astrócito. Assim, esta colisão segue a mesma física, a qual será explicada em detalhe na seção 3.6.2.

3.6 ASTRÓCITO

Na maior parte dos modelos matemáticos de sinapses químicas que consideram o astrócito, geralmente só o colocam com o papel de capturar o glutamato da fenda. Como já foi comentado nos objetivos do trabalho, o modelo matemático proposto visa estudar a influência ativa e direta do astrócito na sinapse. Assim, serão consideradas as estruturas que ajudem a elucidar esse comportamento. Os elementos do astrócito considerados são as vesículas, transportadores e a parede da membrana, que podem ser vistos na figura 27.

Figura 27: Estruturas da membrana do astrócito no modelo matemático.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.6.1 Vesícula do astrócito

Sabe-se que a forma mais provável para a liberação de glutamato por parte do astrócito é mediante vesículas, de forma bem similar à liberação no terminal pré-sináptico (ZOREC *et al.*, 2016). Entre os principais trabalhos sobre sinapse tripartite, poucos consideram a liberação de glutamato astrocítico. Um dos que considera é o modelo de De Pittà *et al.* (2016), do qual serão extraídos alguns parâmetros para o modelo e também servirá para uma etapa da validação do modelo proposto no presente estudo.

Uma das principais variáveis da modelagem do astrócito é o tempo em que vai liberar glutamato. De Pittà *et al.* (2016) demonstra que, só após vários segundos da chegada do potencial de ação no terminal pré-

sináptico, o glutamato será liberado pelo astrócito. Isto ocorre porque são necessários cumprir vários processos internos do astrócito para atingir a liberação de glutamato astrocital, mesmo que em milissegundos o glutamato pré-sináptico chegue no astrócito. Pelo escopo do presente trabalho, não se tem um modelo para representar os mecanismos internos do astrócito que causam a liberação do glutamato. Além disso, sabe-se que o astrócito pode liberar glutamato pelos impulsos recebidos em sinapses anteriores ou inclusive de outras sinapses (ARAQUE *et al.*, 2014). Ou seja, não se conhece com exatidão o tempo no qual o astrócito liberará glutamato. Por esse motivo, no presente trabalho, o tempo de liberação será um parâmetro livre do programa computacional. Dessa forma, admite-se que a liberação do glutamato possa ter exibido diferentes fontes, e assim permitir entender a influência do glutamato astrocital em função do tempo de liberação.

JOURDAIN *et al.* (2007) verificou que a vesícula do astrócito está localizada perto dos receptores NMDA7NR2B das paredes laterais dos neurônios. Por outro lado, De Pittà *et al.* (2016) relembra que o glutamato astrocital pode rapidamente atingir os receptores NMDA da parede frontal do terminal pós-sináptico. Assim, para representar estes dois cenários, a posição da vesícula do astrócito será um parâmetro no presente modelo.

O diâmetro da vesícula astrocital e a quantidade de glutamato que possui são um pouco diferentes aos da vesícula neuronal (CRIPPA *et al.*, 2006). Portanto, no programa computacional a vesícula do astrócito terá um valor próprio, de diâmetro e número de moléculas. Por causa da similaridade de mecanismos já mencionada, a sua dinâmica será equivalente à mostrada para a vesícula neuronal na Seção 3.4.1.

3.6.2 Parede da membrana do astrócito

Da mesma forma que aconteceu nas paredes das membranas pré-sináptica e pós-sináptica, as moléculas que não se ligam na membrana do astrócito, serão refletidas por esta. A parede do astrócito é atingida quando as coordenadas x ou y da molécula atingem o valor dado pelo raio da fenda. Ou seja, a coordenada em z pode ser mantida já que não é a causante do choque, assim o problema se torna 2D. Conclui-se que o problema se reduz ao cálculo da reflexão em relação a uma circunferência. Pelas mesmas motivações elencadas na reflexão em uma esfera durante o choque da molécula com a vesícula, usam-se os conceitos de Geometria Analítica para desenvolver e calcular a nova posição da molécula após o choque com a parede do astrócito.

As etapas envolvidas no cálculo da nova posição da molécula de glutamato dentro da fenda são descritas abaixo.

1. Identificar o ponto de colisão na circunferência.
2. Encontrar a reta tangente à circunferência no ponto de colisão.
3. Reflexão da molécula em relação à reta tangente.

3.6.2.1 Identificação do ponto de colisão

Após a colisão de uma molécula com a parede do astrócito, se conhecem as coordenadas da molécula dentro da fenda $P_0(x_0, y_0, z_0)$ e as coordenadas da molécula fora da fenda $P_1(x_1, y_1, z_1)$. O primeiro passo é encontrar a equação da reta que junta os pontos P_0, P_1 . Um dos caminhos para isto é apresentado abaixo.

A coordenada em z da posição após o choque não precisa ser calculada, é dada pela expressão (39).

$$z_2 = z_1 \quad (39)$$

Para encontrar o valor de x_2 e de y_2 começa-se pela definição da equação de qualquer reta em 2D:

$$y = ax + b \quad (40)$$

Onde as constantes a e b podem ser calculadas por:

$$a = \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} \quad (41a)$$

$$b = y_1 - ax_1 \quad (41b)$$

Assim, a equação da reta é encontrada e é dada por:

$$y = \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} x + \left(y_1 - \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} x_1 \right) \quad (42)$$

A equação da circunferência em coordenadas cartesianas é dada por:

$$x^2 + y^2 = R^2 \quad (43)$$

Com a equação (42) e a equação (43) é possível encontrar o ponto de intersecção entre a reta e a circunferência, que representa o ponto de colisão da molécula de glutamato. Após algumas operações algébricas, obtém-se as expressões (44) e (45), que representam as coordenadas do ponto de colisão $P_c(x_c, y_c)$.

$$x_c = \frac{a(ax_1 - y_1) \pm a\sqrt{R^2(a^2 + 1) - (ax_1 - y_1)^2}}{a^2 + 1} \quad (44)$$

$$y_c = \frac{b}{a}(x_c - x_0) + y_0 \quad (45)$$

Observa-se na equação (44) que dependendo do sinal da raiz, x_c pode ter dois valores. A escolha do x_c correto é feita verificando a condição em que x_c deve estar contido entre x_0 e x_1 .

3.6.2.2 Cálculo da reta de reflexão

No momento em que a molécula colide com a parede, esta é refletida pelo contato com a superfície circular do astrórcito. A reta que passa pelo ponto de colisão e seja tangente à circunferência, representa de forma equivalente a colisão com o cilindro.

A reta tangente pode ser definida pela equação geral da reta em 2D:

$$y = ax + b \quad (46)$$

Sendo o vetor $(\overrightarrow{OP_c})$, o vetor que sai da origem do sistema de coordenadas e vai até o ponto de colisão:

$$\begin{aligned} \overrightarrow{OP_c} &= P_c(x, y) - O(x, y) \\ \overrightarrow{OP_c} &= (x_c, y_c) - (0, 0) \\ \overrightarrow{OP_c} &= (x_c, y_c) \end{aligned}$$

Assim, o coeficiente angular da reta que passa por este vetor é dado por:

$$m_c = \frac{y_c}{x_c} \quad (47)$$

Os conceitos de Geometria Analítica permitem calcular o coeficiente angular de uma reta a partir do coeficiente angular de uma reta perpendicular a esta. A partir disto, o coeficiente angular a da reta tangente é dado por:

$$a = -\frac{1}{m_c} \quad (48)$$

A partir da equação (46) aplicada no ponto de colisão que também é um ponto pertencente à reta tangente, pode-se calcular o coeficiente b .

$$b = y_c - ax_c \quad (49)$$

Agora é possível escrever a equação da reta tangente:

$$y = -\frac{x_c}{y_c}x + \left(y_c + \frac{x_c}{y_c}x_c\right) \quad (50)$$

3.6.2.3 Cálculo da nova posição da molécula

Uma vez que já foi calculada a posição da colisão da molécula (P_c) e a reta na qual será refletida, pode-se encontrar a nova posição da molécula. Os conceitos de Geometria Analítica fornecem que o cálculo da nova posição da molécula, $P_2(x_2, y_2)$, se reduz à reflexão do ponto P_1 em relação à reta tangente.

As equações (51) e (52) definem a nova posição da molécula.

$$x_2 = x_1 - \frac{2x_c(x_c x_1 + y_c y_1 + z_c z_1 - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2)}{a^2 + b^2 + c^2} \quad (51)$$

$$y_2 = y_1 - \frac{2y_c(x_c x_1 + y_c y_1 + z_c z_1 - x_c^2 - y_c^2 - z_c^2)}{a^2 + b^2 + c^2} \quad (52)$$

O novo ponto P_2 ainda pode estar fora da fenda sináptica. Neste caso, é necessário repetir as três etapas de cálculo até obter uma posição localizada dentro da fenda. A única mudança é que agora as coordenadas do ponto P_1 serão substituídas pelas coordenadas do novo ponto fora da fenda P_2 , calculadas na primeira iteração.

3.6.3 Canais no Astrócito

De acordo com a literatura, a membrana astrocital é rica principalmente em receptores de glutamato. Canais metabotrópicos também podem ser encontrados, mas a sua função foge do escopo do

presente trabalho. Assim, só serão considerados transportadores de glutamato no presente estudo.

3.6.3.1 Transportadores de Glutamato

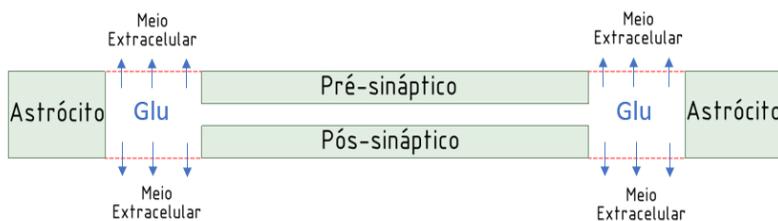
A maior quantidade de glutamato da fenda sináptica é recuperada pelos transportadores EAAT2 do astrócito (DANBOLT; FURNESS; ZHOU, 2016). Isso foi considerado no trabalho de Allam *et al.* (2012b) e também será considerado no presente trabalho. Da mesma forma, para os transportadores dos neurônios se simplifica sua cinética, só será considerado o tempo que o transportador demora em levar glutamato ao interior da célula.

Pela sua importância na regulação do glutamato, no próximo capítulo se realizará, com base ao modelo matemático proposto, um estudo do comportamento destes transportadores em algumas situações anômalas das estruturas sinápticas.

3.7 MEIO EXTRA-SINÁPTICO

A figura 28 mostra o meio extra-sináptico, o qual ainda não foi definido no modelo proposto. Este meio pode levar à outras sinapses ou inclusive ao fluxo sanguíneo. Como interessa-se estudar uma única sinapse e também, conforme informado nos modelos matemáticos da literatura, essas moléculas que chegam a esta região sumirão, não tendo mais participação nessa sinapse.

Figura 28: Meio extra-sináptico no modelo matemático.



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

3.8 PROGRAMA COMPUTACIONAL

As equações do modelo e suas respectivas soluções, apresentadas neste capítulo, foram implementadas em um programa computacional, no

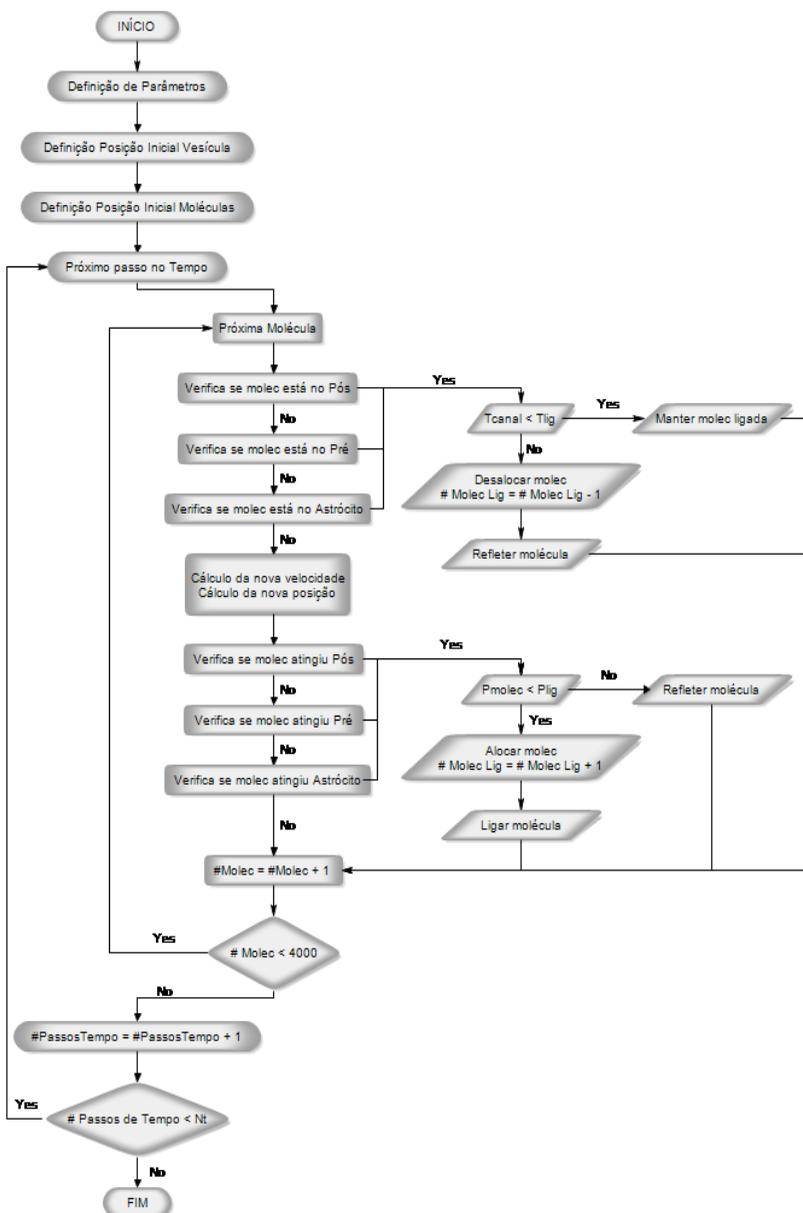
qual permite o cálculo e a posterior visualização da dinâmica dos compostos simulados.

Existem vários softwares comerciais que resolvem com facilidade as equações de difusão dos íons. Mas a movimentação do glutamato modelada, usando movimento browniano, não é possível realizá-la diretamente nestes softwares, precisando de uma implementação adicional por parte do usuário.

Após vários testes foi constatado que esta implementação adicional seria inviável pela sua complexidade. Assim, o programa computacional foi implementado utilizando a linguagem de programação FORTRAN®. Esta linguagem foi escolhida por apresentar, para a presente aplicação, um tempo de execução muito mais rápido, quando comparado a outras linguagens disponíveis.

O fluxograma da figura 29 mostra as etapas do programa computacional que contém os modelos matemáticos e as operações já discutidas no presente capítulo.

Figura 29: Fluxograma do programa computacional



Fonte: Desenvolvida pelo autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo matemático proposto no Capítulo 3, que descreve a dinâmica do glutamato e do sódio durante a sinapse tripartite, é resolvido numericamente. O presente capítulo expõe os principais resultados, analisando a influência dos parâmetros mais importantes. Também neste capítulo é realizada a validação do modelo matemático.

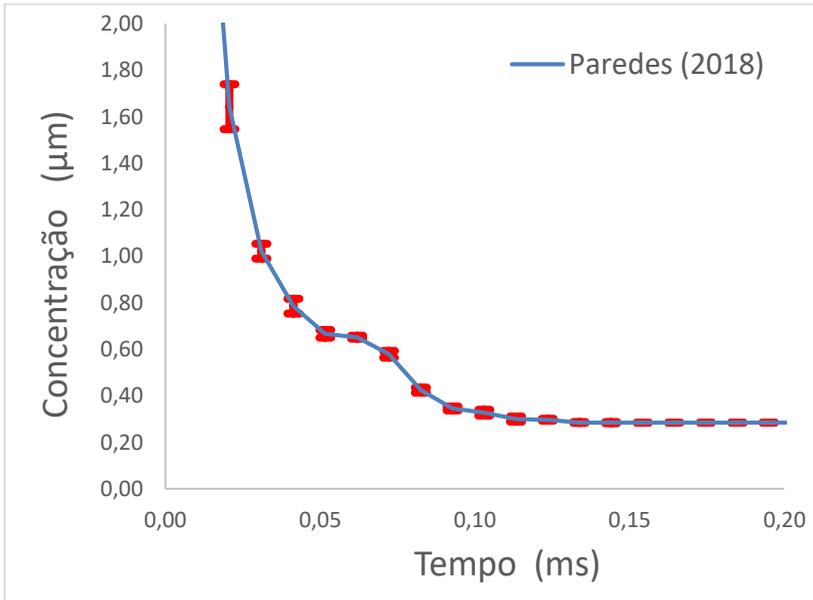
4.1 VALIDAÇÃO DO MODELO MATEMÁTICO

Todo modelo matemático deve ser validado experimentalmente para que seus resultados sejam confiáveis e possam ser usados para formular conclusões fisicamente coerentes. Ao analisar uma determinada sinapse com uma única vesícula, verifica-se que há muitas limitações experimentais. Com isso, na literatura não se encontram dados experimentais para realizar a verificação. Por este motivo, os resultados obtidos no presente trabalho são comparados a outros modelos matemáticos da literatura que possuem uma considerável aceitação. Com o intuito de obter maior confiabilidade dos resultados, estes também são confrontados com dados experimentais de cenários parcialmente similares.

Como foi discutido anteriormente, não existem na literatura modelos matemáticos que contenham os fenômenos, compostos e domínios que são considerados neste estudo. Assim, cada um dos principais componentes do modelo será comparado isoladamente. Devido à importância na sinapse tripartite, são considerados na comparação: a dinâmica do glutamato na fenda sináptica e os efeitos provocados pelo glutamato neuronal e astrocital nos terminais pré-sináptico e pós-sináptico.

É fundamental mencionar que as equações (10) e (11) têm um termo randômico e descrevem a dinâmica do glutamato. Por isto, antes de analisar os resultados é fundamental entender a influência de diferentes sementes de números randômicos nos resultados de interesse. Para isto, foram rodadas simulações com diferentes sementes de números randômicos e calculados a média e o desvio padrão da concentração ao longo do tempo do glutamato na fenda, mostrados na figura 30.

Figura 30: Concentração média de glutamato na fenda sináptica e seu desvio padrão.



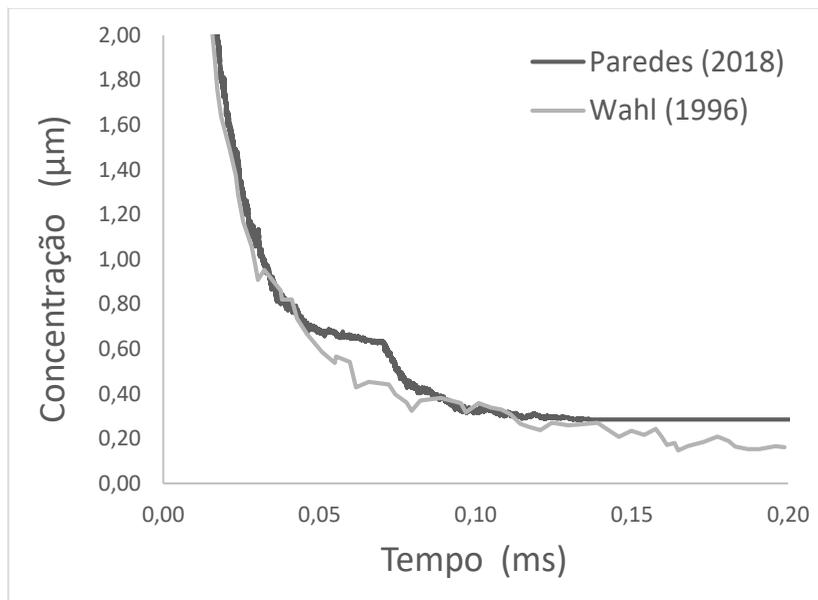
Na figura 30 pode-se observar que nos primeiros instantes existe um desvio padrão maior, que ao longo do tempo vai diminuindo. Além disso, mesmo nos períodos de tempo com desvio padrão maior, verifica-se que as trajetórias e concentrações das moléculas de glutamato são praticamente as mesmas. Por tudo isto, podemos dizer que a variabilidade das diferentes sementes de números randômicos não afeta significativamente os resultados. Assim, nos resultados apresentados a seguir são realizadas simulações com uma única semente randômica.

4.1.1 Validação da dinâmica do glutamato na fenda sináptica

A comparação da dinâmica do glutamato ajudará na validação dos fenômenos considerados na sua movimentação na fenda e também na verificação dos parâmetros e fenômenos envolvidos na ligação com os receptores. Wahl, Pouzat e Stratford (1996) possuem um dos modelos matemáticos referência na literatura para a difusão de glutamato na fenda sináptica. Este modelo matemático obteve resultados coerentes aos

conhecimentos teóricos plenamente aceitos sobre difusão de neurotransmissores na fenda sináptica, inclusive, apresenta validações com resultados analíticos. A concentração média de glutamato na fenda ao longo do tempo calculada por estes autores é apresentada na figura 31, juntamente com os resultados obtidos no presente trabalho.

Figura 31: Concentração média de glutamato na fenda sináptica em um raio de 100nm.



Para entender melhor estes resultados, é pertinente mencionar que Wahl, Pouzat e Stratford (1996) utilizaram o método de Monte Carlo para descrever a movimentação de glutamato na fenda sináptica. Ou seja, também é uma abordagem discreta e estocástica, só não apresenta explicitamente um termo para contabilizar a resistência ao movimento imposta pelo meio extracelular como é feito pela equação de Langevin. Pode-se observar que no trabalho de referência (linha vermelha), a concentração da fenda começa com um valor diferente de zero, isto acontece pois os autores consideraram uma liberação instantânea e pontual de glutamato na fenda no tempo $t=0s$. Como no presente trabalho leva-se em conta a difusão das moléculas de glutamato na vesícula sináptica antes de sair para a fenda, a concentração calculada (linha azul) considera o glutamato na fenda em um raio de 100nm e o glutamato na

vesícula para que estes resultados sejam comparáveis aos resultados de Wahl, Pouzat e Stratford (1996).

A primeira diferença perceptível na figura 31 se dá no primeiro 0.1 ms, em que a velocidade de difusão do presente estudo é um pouco menor, embora seja usado em ambos os trabalhos o mesmo coeficiente de difusão ($7.6 \times 10^{-10} m^2 s^{-1}$). A principal causa plausível para esta diferença está em, como Wahl, Pouzat e Stratford (1996) não consideram a geometria da vesícula, as moléculas de glutamato já estão na fenda desde o primeiro instante, levado assim menos tempo para atingir o meio extra-sináptico. No entanto, o resultado do presente trabalho está mais coerente com observações que mostram a importância de considerar a difusão inicial das moléculas na própria vesícula, inclusive no poro de fusão (VENTRIGLIA; DI MAIO, 2000), (RABIE; RONG; GLAVINOVIC, 2006).

Outra causa possível para a existência da diferença na velocidade de difusão é a forma na qual é modelada a resistência que o meio extracelular impõe à movimentação de glutamato. No presente estudo a resistência é descrita por um termo específico na equação de Langevin baseado na viscosidade do meio, enquanto que no trabalho de Wahl, Pouzat e Stratford (1996) a resistência está incluída implicitamente no desvio padrão, base da simulação de Monte Carlo. De qualquer forma, esta diferença na velocidade de difusão não é considerável, já que se observa na figura 31 que em 0.1 ms as duas concentrações voltam a ser iguais.

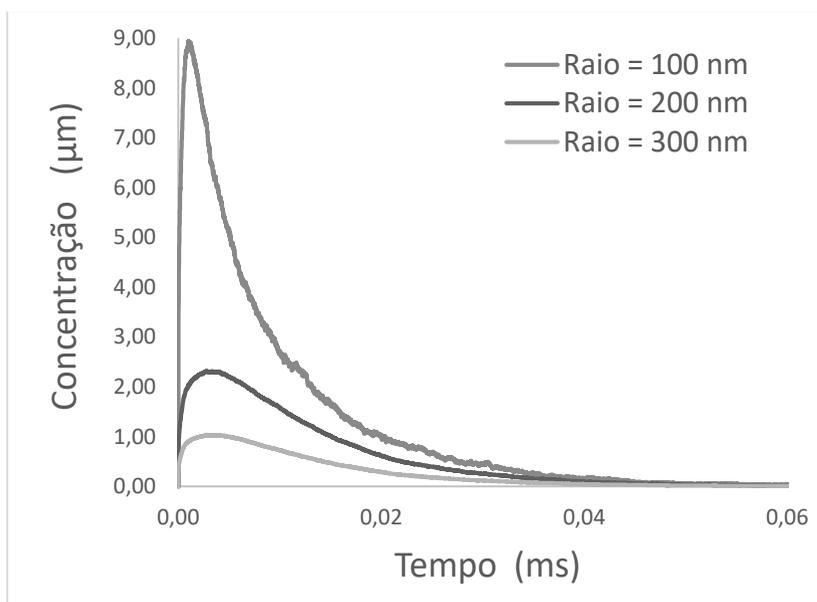
Por outro lado, ressalta-se na figura 31 uma segunda diferença entre as duas curvas, neste caso, referente ao valor de concentração final de glutamato na fenda. Isso acontece pois, no presente estudo são considerados receptores AMPA e NMDA, enquanto que no trabalho de Wahl, Pouzat e Stratford (1996) só receptores AMPA fazem parte do modelo. Conforme explicado no Capítulo 3, o tempo de ligação do glutamato nos canais NMDA é maior do que nos receptores AMPA. Além disso, os canais NMDA estão localizados dentro do raio de 100nm que está sendo considerado para calcular a concentração da figura 31. Sendo assim, é válido e preciso afirmar que a concentração maior, no presente estudo, é devido à ligação do glutamato aos canais NMDA. A necessidade de levar em conta os canais NMDA está apoiada na sua importância, já conhecida e aceita na literatura, como resume Rousseaux (2008), e é verificada matematicamente em alguns trabalhos, por exemplo, em Allam *et al* (2012a) e em Di Maio, Ventriglia, Santillo (2016).

Assim, as diferenças nos resultados entre o presente modelo matemático e o modelo de Wahl, Pouzat e Stratford (1996) foram

explicadas fenomenologicamente. Além disso, pode-se observar na figura 31 que a magnitude dos valores da concentração e também o perfil médio das concentrações são praticamente iguais. Por isso, pode-se confiar na dinâmica de glutamato implementada no presente trabalho. Nisto inclui a equação de Langevin, os parâmetros de difusão e os parâmetros envolvidos na ligação com os receptores e transportadores de glutamato.

Para estender mais o alcance dos resultados da figura 31, são plotados na figura 32 as concentrações para diferentes raios do domínio obtidas com modelo proposto no presente trabalho.

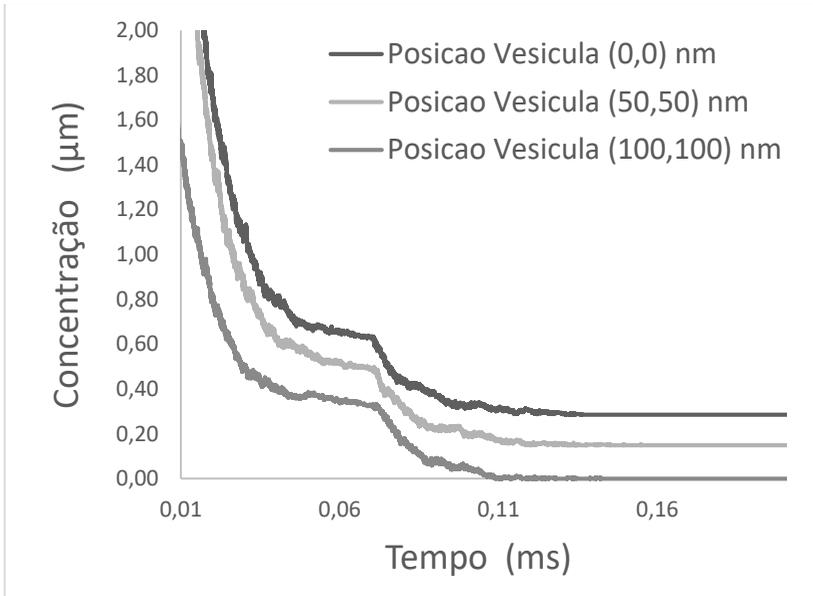
Figura 32: Concentração média de glutamato na fenda sináptica em diferentes posições da fenda sináptica.



O gráfico da Figura 32 apresenta o padrão de difusão das moléculas de glutamato na fenda sináptica. Como as moléculas estão sendo liberadas desde uma região fora do domínio (vesículas) e numa quantidade limitada de moléculas, já era esperado um aumento da concentração na fenda e depois um espalhamento para outras regiões do domínio, diminuindo assim sua concentração. É observado que a concentração máxima é atingida nos primeiros milissegundos, o qual é importante para que o glutamato atinja rapidamente o terminal pós-sináptico, transmitindo assim rapidamente o sinal.

Outro parâmetro que pode modificar a concentração de glutamato na fenda sináptica é a posição de liberação das moléculas de glutamato a qual é definida pela posição de ancoragem da vesícula pré-sináptica. Estas concentrações são mostradas na figura 33.

Figura 33: Concentração média de glutamato na fenda sináptica para diferentes posições de ancoragem da vesícula pré-sináptica.



Verifica-se que a maior concentração de glutamato na fenda sináptica é obtida quando a vesícula está localizada no centro do terminal pré-sináptico. Como é uma sinapse excitatória, se deseja que a maior quantidade de receptores seja ligada e aberta por moléculas de glutamato, então quem favorece este cenário é a vesícula localizada no centro (0,0) da membrana pré-sináptica.

4.1.2 Validação das respostas dos terminais neuronais causadas pelo glutamato astrocital e neuronal

Uma vez que foi verificada a dinâmica do glutamato na fenda sináptica, falta validar as respostas obtidas nos dois neurônios, como resultado de todos os fenômenos considerados neste estudo. Esta etapa é relevante já que uma validação satisfatória implicaria numa modelagem

correta da dinâmica do sódio, da liberação do glutamato astrocital e, principalmente, da influência do astrócito nos dois neurônios.

Como foi discutido na Revisão Bibliográfica, os trabalhos de De Pittà *et al.* (2011) e de De Pittà e Brunel (2016) são os modelos que discutem com mais profundidade os efeitos do glutamato astrocital nos neurônios pré-sináptico e pós-sináptico. Devido às limitações experimentais, estes autores não dispõem de resultados experimentais quantitativos para comparar, mas seus modelos matemáticos estão de acordo com observações experimentais qualitativas. Sendo assim, estes trabalhos mostram-se como uma adequada referência para validar os resultados do presente estudo.

Por outro lado, os dois artigos supracitados estão focados no estudo de fenômenos que acontecem aproximadamente de 0.5 até 180 segundos. Em contrapartida, o presente trabalho tem 0.5ms como tempo máximo de análise. Ou seja, as escalas do tempo são totalmente diferentes, razão pela qual não é viável realizar uma comparação de perfis ao longo do tempo das variáveis de interesse. Mas, comparando os valores máximos das principais variáveis resultantes, ainda se poderá validar a ordem de magnitude com a qual o glutamato astrocital e neuronal estimulam os neurônios pré-sináptico e pós-sináptico. E desta forma, pode-se ter fiabilidade na intensidade da influência do astrócito nos neurônios posteriormente explicada.

Há três principais efeitos consideráveis provocados pelo glutamato neuronal e astrocital nos terminais neuronais. O primeiro fenômeno é a despolarização da membrana pós-sináptica causada somente pelo glutamato proveniente do neurônio, por ser um dado conhecido e essencial, inclusive fora da teoria da sinapse tripartite. O segundo é a despolarização da membrana pós-sináptico provocada exclusivamente pelo glutamato astrocital. Finalmente, o último efeito importante da sinapse tripartite se refere à influência do glutamato astrocital e neuronal no neurônio pré-sináptico. A tabela 3 mostra os valores máximos das variáveis que representam os três efeitos mencionados.

Tabela 3: Comparação dos efeitos provocados pelo glutamato neuronal e astrocital nos neurônios pré-sináptico e pós-sináptico.

Autor	$U_{0\ MAX}$	$EPSP_{MAX_GLU_NEU}$	$EPSP_{MAX_GLU_AST}$
Paredes (2018)	0.52-0.90	-40 mV	-55 mV
De Pittà <i>et al.</i> (2011)	0.85	-	-
De Pittà, Brunel (2016)	-	-45 mV	-56 mV

$U_{0\ MAX}$: Probabilidade basal máxima de liberação de vesículas no terminal pré-sináptico; $EPSP_{MAX_GLU_NEU}$: Potencial excitatório pós-sináptico máximo provocado pelo glutamato neuronal; $EPSP_{MAX_GLU_AST}$: Potencial excitatório pós-sináptico máximo provocado pelo glutamato astrocital.

Considerando o principal objetivo deste trabalho, o parâmetro $EPSP_{MAX_GLU_AST}$ é o mais importante da Tabela 3, porque expressa de forma direta a influência do astrócito na despolarização do terminal pós-sináptico. Nas próximas seções será discutido em detalhe as implicações do valor obtido neste trabalho, por enquanto pode-se dizer que está de acordo com o valor obtido por De Pittà, Brunel (2016), já que a diferença é de apenas 1mV.

Ainda em relação a tabela 3, observa-se, pelo parâmetro $EPSP_{MAX_GLU_NEU}$, que o glutamato neuronal no presente estudo gerou 5 mV a mais na despolarização da membrana pós-sináptica. Esta diferença poderia ser causada pela dinâmica de glutamato, encarregada de abrir os canais, ou pela dinâmica do sódio, cuja entrada e saída modifica diretamente o potencial de membrana. Na seção 4.1.1 foi validada a dinâmica do glutamato, assim o modelo matemático do sódio é a causa mais provável para ter obtido um potencial de membrana maior do que o esperado. Dentro do modelo do sódio existem duas grandes simplificações: não ter considerado variação espacial e nem os outros íons que contribuem para a variação de potencial da membrana pós-sináptica. De qualquer forma, considerando a ordem de grandeza do potencial de membrana e a variabilidade das sinapses, o valor obtido pode ser considerado aceitável. Além disso, é importante enfatizar que o potencial de membrana calculado foi atingido em, aproximadamente, 0.1 ms, ou seja, em um intervalo de tempo propício para que existam mais pequenas

despolarizações e possa se alcançar um potencial de ação em 1 ou 2 ms, como é conhecido na literatura.

Finalmente, a tabela 3 traz o valor da probabilidade basal de liberação de vesículas no terminal pré-sináptico ($U_{0\ MAX}$), que será modificado pela atuação do glutamato astrocital segundo a hipótese da sinapse tripartite. Conforme mencionado no capítulo 3, a variável U_0 é uma forma simplificada de quantificar a influência do astrócito no terminal pré-sináptico, já que se sabe, experimentalmente, que existe essa influência, mas não se conhecem os mecanismos. Ou seja, existe incerteza sobre quais variáveis influenciam U_0 e de que forma. Por isto foi evidenciado, durante o presente trabalho, uma apreciável variabilidade de U_0 , dentro do intervalo 0.52 – 0.90. Foi identificado durante as simulações que a variável que mais afeta U_0 é a distância percorrida pela molécula de glutamato desde a vesícula do astrócito até a membrana do terminal pré-sináptico.

E esta distância é crucial, porque, caso seja excessiva, o glutamato pode preferir outros caminhos, como escapar dessa sinapse, ou também pode encontrar receptores pré-sinápticos já ocupados por glutamato proveniente do próprio neurônio. Como o range calculado neste trabalho contém o valor estimado por De Pittà *et al* (2011), pode-se usar este último para estimar a distância ideal entre a vesícula do astrócito e a membrana pré-sináptica.

Assim, pelos resultados bastante razoáveis apresentados na tabela 3 e, considerando as observações mencionadas, pode-se dizer que o glutamato astrocital e neuronal influenciam os dois neurônios dentro das margens previstas pela literatura. Na próxima seção se discutirá em detalhes a influência do astrócito na sinapse.

4.2 AÇÃO DO ASTRÓCITO NA SINAPSE TRIPARTITE

Esta seção tem como objetivo apresentar alguns resultados da influência direta do astrócito durante uma sinapse química. Como discutido consistentemente por De Pittà e Brunel (2016), o astrócito pode influenciar tanto o neurônio pós-sináptico quanto o pré-sináptico. Estes autores também demonstram que não é provável que na mesma sinapse o astrócito influencie diretamente ambos os neurônios. Ou seja, existem estruturas especializadas para que o astrócito atue no neurônio pré-sináptico e outras nas quais o neurônio pós-sináptico é o alvo do astrócito. Assim, no modelo matemático foram escolhidas condições que facilitassem um objetivo ou o outro. O principal parâmetro encarregado

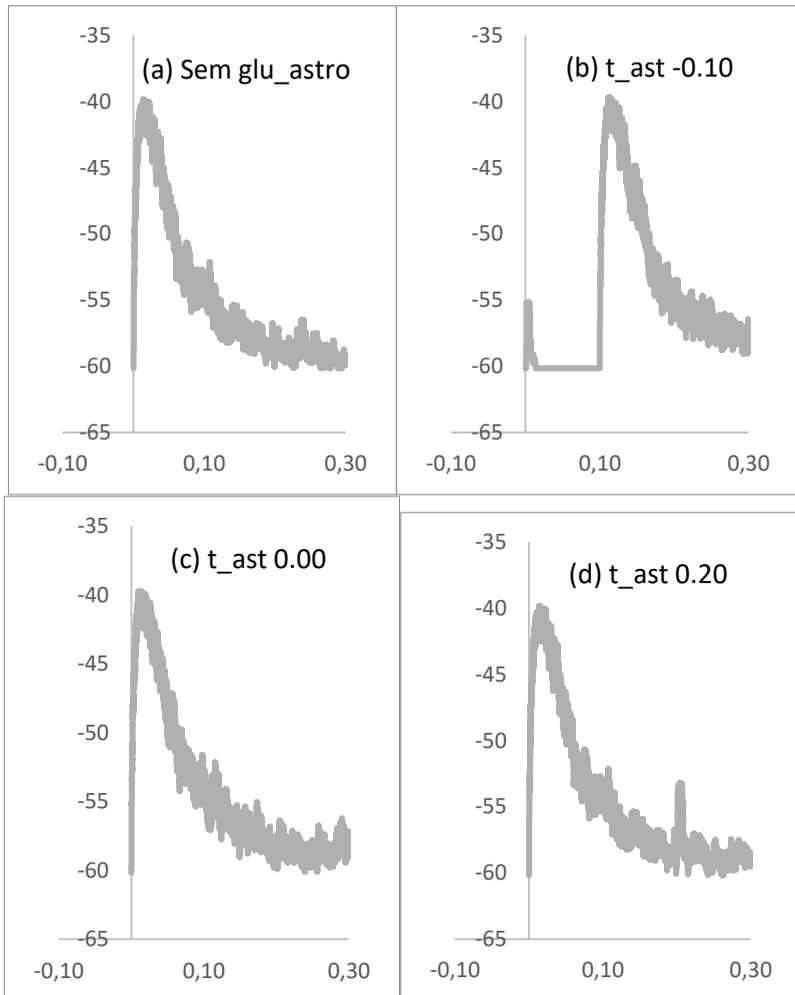
disto é a posição de ancoragem da vesícula do astrócito, que estará mais próxima do terminal pós-sináptico em um caso ou mais perto do terminal pré-sináptico no outro.

4.2.1 Ação do astrócito no neurônio pós-sináptico

A resolução do modelo matemático proposto demonstra que o astrócito pode agir no neurônio pós-sináptico de diferentes formas por ter alguns parâmetros livres. O principal parâmetro surge devido a que no presente trabalho não estão sendo modelados os processos internos do astrócito que dão origem à liberação de glutamato. Assim, é necessário definir um tempo no qual as vesículas do astrócito liberam o glutamato. Este tempo é contabilizado a partir do instante em que é liberado glutamato por parte do terminal pré-sináptico. O valor desse tempo será variado a partir de -0.10 ms, considerando a liberação antecipada de glutamato astrocital até 0.20 ms após a liberação da vesícula neuronal.

A figura 34 mostra o perfil do potencial de membrana pós-sináptico para quatro diferentes cenários de tempo de liberação do glutamato do astrócito. O cenário (a) vai servir de referência para verificar a possível influência do astrócito, já que mostra a variação de potencial quando só se tem glutamato proveniente do neurônio. Na figura 34 (b) a vesícula do astrócito é liberada 0.10 ms antes da vesícula do neurônio. Pode-se ver claramente como uma única vesícula astrocital causou a despolarização da membrana pós-sináptica de -60 mV a -55 mV, o qual está de acordo com os resultados mostrados por De Pittà e Brunel (2016) discutidos na seção de validação. O mesmo efeito pode ser observado quando a vesícula do astrócito é liberada após um certo tempo da liberação da vesícula neuronal. Um exemplo deste caso pode ser visualizado na figura (d), que observa-se a mesma forma, aproximadamente 5 mV de aumento do potencial da membrana pós-sináptica. Por fim, a figura 34 (c) apresenta a dinâmica do potencial quando ocorre a liberação simultânea de glutamato astrocital e neuronal que será discutida em detalhe a partir da figura 35.

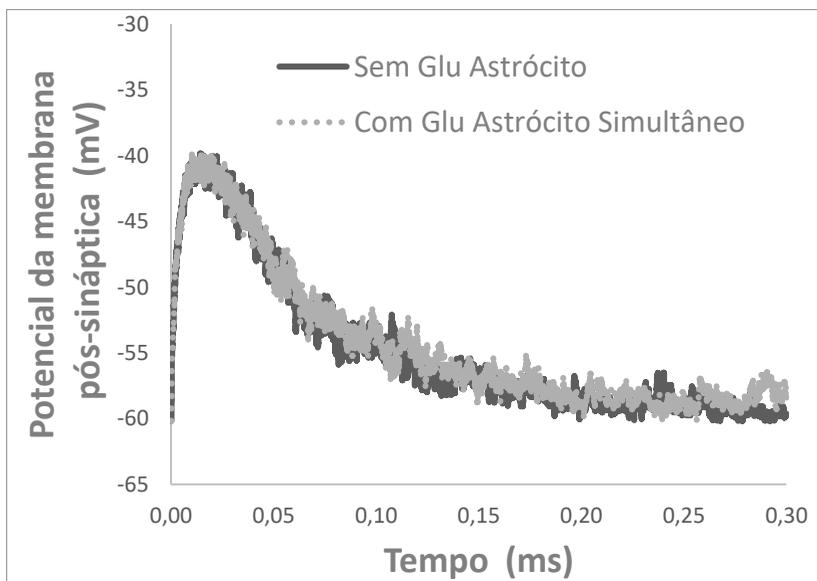
Figura 34: Potencial de membrana (mV) em função do tempo de liberação do glutamato astrocital (t_{ast}) em milissegundos.



A figura 35 apresenta a variação do potencial de membrana pós-sináptica somente causada por glutamato neuronal (linha azul) e também mostra o potencial causado quando liberados ao mesmo tempo o neurotransmissor proveniente do neurônio e o do astrócito (linha vermelha). Pode-se observar que o glutamato astrocital praticamente não apresentou nenhum ganho significativo. Isto é uma evidencia da

existência de uma saturação, provavelmente do número de receptores de glutamato disponíveis. Idêntico comportamento é observado quando o astrócito libera glutamato pequenos instantes antes ou depois do glutamato do terminal pré-sináptico. A figura 32 mostra a capacidade de uma única vesícula do astrócito de despolarizar a membrana pós-sináptica, mas são necessários estudos futuros para encontrar um conjunto de parâmetro do modelo que não atinjam dita saturação. Isto faria possível a inclusão no presente modelo de mais vesículas tanto neuronais quanto astrocíticas, que permitiriam modelar a despolarização completa da membrana até atingir um potencial de ação (valores positivos do potencial na membrana).

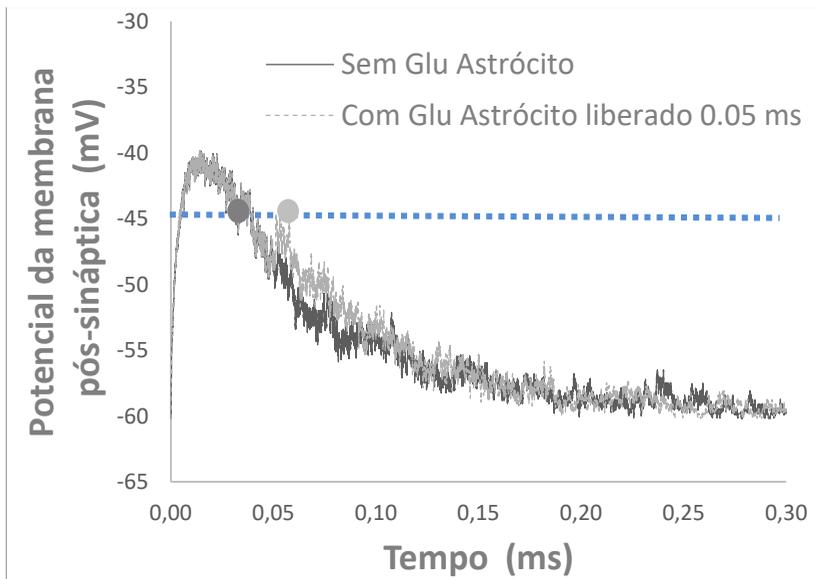
Figura 35: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico quando é liberado glutamato astrocítico e neuronal simultaneamente.



Para entender o alcance da dita saturação, é plotada na figura 36 o potencial de membrana originado quando o glutamato astrocítico é lançado à fenda apenas 0,05 ms após a liberação do glutamato do neurônio. Pode-se observar em 0,05 ms que o astrócito não aportou com os 5 mV, mas já é perceptível sua contribuição. Fixando um valor de potencial, por exemplo de -45 mV, é evidente na figura 36 que o astrócito ampliou o intervalo de tempo no qual se atinge este valor (circunferência vermelha),

quando comparado com o perfil do potencial sem glutamato astrocital (circunferência azul). Este comportamento pode ser útil quando se lembra que para atingir um potencial de ação são necessárias várias despolarizações, então manter um valor de potencial alto por mais tempo pode ser um melhor ponto de partida para a próxima despolarização, tendo assim mais probabilidade de chegar a um potencial de ação.

Figura 36: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico quando é liberado glutamato astrocital após 0.05 ms da liberação de glutamato neuronal.



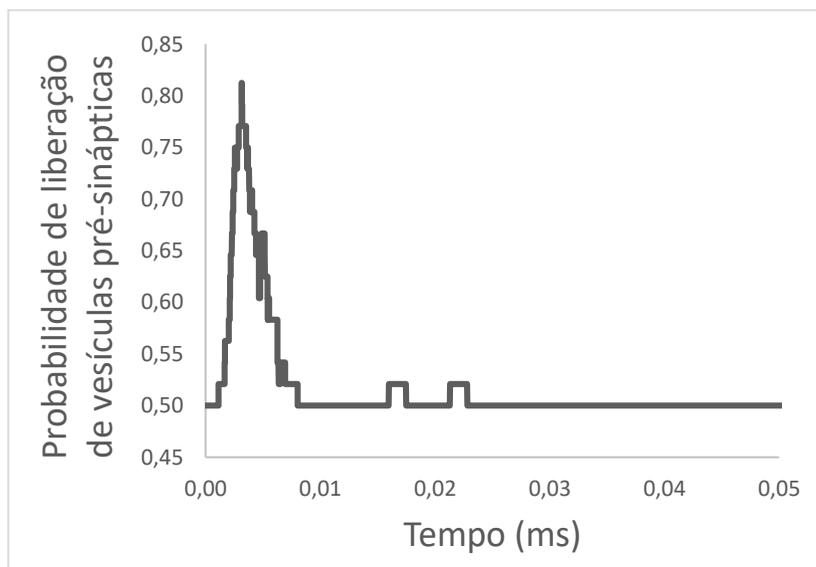
Assim, pode-se afirmar que, mediante despolarizações causadas pelo glutamato da sua vesícula, em tempos devidamente sincronizados, o astrócito pode potencializar o sinal que chega ao terminal pós-sináptico. É importante salientar que para que isto aconteça é vital a existência de algum tipo de receptor de glutamato nas laterais do terminal pós-sináptico. Foi verificado nas simulações que glutamato astrocital não tem efeitos consideráveis quando só tem disponível os receptores da fenda, devido à distância até eles. A respectiva distância também é um fator importante para o terminal pré-sináptico, por isso será ampliada esta discussão na próxima seção.

4.2.2 Ação do astrócito no neurônio pré-sináptico

Como discutido na Revisão Bibliográfica, quase nenhum modelo explica o mecanismo de como o astrócito influencia os processos do neurônio pré-sináptico. Foi comentado também que De Pittà *et al.* (2011) trazem um raciocínio que pode ajudar a encontrar o mecanismo da relação entre o astrócito e o terminal pré-sináptico. Estes autores propõem que o glutamato astrocital atinge a membrana pré-sináptica, e por mecanismos desconhecidos até agora, aumentam a probabilidade basal de liberação de vesículas pré-sinápticas. Ou seja, aumentar as chances, na ausência de potencial de ação, de que vesículas que estejam ancoradas liberem neurotransmissor. De Pittà *et al.* (2011) estimam que o valor inicial desta probabilidade é de 0.5 e que o glutamato astrocital poderia aumentar dito valor.

A figura 37 mostra um perfil da probabilidade basal, ao longo do tempo, calculado com o modelo proposto no capítulo 3. Como foi discutida na etapa de validação, neste momento o valor máximo atingido é o mais importante. Pode-se ver que o valor é de aproximadamente 0.81, muito próxima à calculada por De Pittà *et al.* (2011) que é de 0.85. Ou seja, foi aumentado em mais de 50% a probabilidade que uma vesícula no terminal pré-sináptico libere glutamato. Mas observa-se que isto acontece em um pequeno intervalo de tempo. Assim, para que de fato o astrócito cause a liberação de neurotransmissor pré-sináptico, sua ação deve coincidir com processos internos do neurônio que também influencia a dinâmica das vesículas.

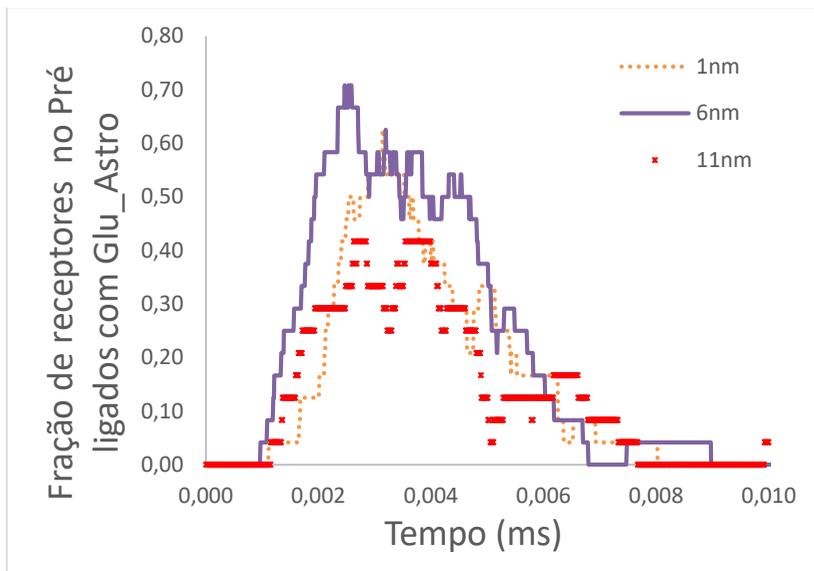
Figura 37: Perfil do aumento de probabilidade basal, ao longo do tempo, de liberação de vesículas ancoradas no terminal pré-sináptico devido ao glutamato astrocital



Também se observasse na figura 37 que em tempos posteriores ainda existem pequenos aumentos de probabilidade, que poderiam ser amplificados por mais glutamato chegando ao pré-sináptico. Este glutamato poderia vir de mais vesículas do astrócito, como explicado por De Pittà *et al.* (2011).

Para entender melhor como poderia ser amplificada a ação do astrócito no terminal pré-sináptico, lembramos que a probabilidade basal depende principalmente da fração de receptores pré-sinápticos NMDA/NR2B que são ligados pelo glutamato astrocital. Esta fração vai depender de quão rápido as moléculas de glutamato provenientes do astrócito atinjam a membrana pré-sináptica. Para elucidar isto, a figura 38 mostra o perfil da referida fração para diferentes posições iniciais da vesícula astrocital ao longo do tempo. Neste momento o astrócito é mantido fixo, ou seja, a distância radial entre o astrócito e os neurônios não muda. O único parâmetro livre é a altura (posição em z) do centro da vesícula do astrócito. Esta altura é considerada a partir do sistema de referência global que está localizado na superfície frontal do terminal pré-sináptico. Pela escolha da orientação do sistema de referências, valores positivos de z estão na direção do terminal pós-sináptico.

Figura 38: Fração transiente de receptores NMDA/NR2B, localizados na lateral do terminal pré-sináptico, ligados por glutamato astrocital para várias posições em z do centro da vesícula.



Assim, valores negativos da altura correspondem às geometrias onde a vesícula está frente a frente às laterais do terminal pré-sináptico e que, a priori, se pensaria que são localizações que vão favorecer a comunicação astrócito–neurônio pré-sináptico. Mas os resultados da simulação mostraram que estas posições não são as mais favoráveis, porque apesar de estar frente a frente ao neurônio pré-sináptico, estão mais próximas das regiões extrasinápticas, no qual o glutamato escapa. Assim, na figura 38 pode-se observar que existe uma posição de equilíbrio, que não está tão perto das regiões de escapamento e que não está tão longe do neurônio pré-sináptico. Esta posição é de aproximadamente 6nm abaixo da face frontal do terminal pré-sináptico (linha roxa). A linha amarela (1nm) é um exemplo de posição que está mais perto do pré-sináptico, mas que pela sua maior proximidade às regiões extrasinápticas, o glutamato tenderia a escapar da fenda. Por outro lado, a linha vermelha (11nm) está mais perto do neurônio pós-sináptico, pelo qual a sua influência no terminal pré-sináptico é reduzida. Resumindo o resultado da figura 35, o glutamato proveniente do astrócito pode se ligar em até 70% dos receptores de glutamato do neurônio pré-

sináptico. Assim, pode-se dizer que é bem factível a existência de uma influência do astrócito no neurônio pré-sináptico.

4.3 ESTUDO DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS

O presente modelo matemático é constituído por vários parâmetros. Devido a dificuldades experimentais, não se conhece com exatidão o valor de vários deles. Assim, na presente seção será realizada uma análise dos valores de dois parâmetros fundamentais para o escopo do presente trabalho. O primeiro é a distância radial entre o astrócito e os dois neurônios, a qual influencia diretamente o tempo de comunicação entre as três células. Então, esta análise fornecerá algumas respostas sobre a ordem de grandeza do tempo para uma comunicação mais eficiente. O segundo parâmetro não está diretamente associado à sinapse tripartite, porque também poderia ser aplicado a uma sinapse bipartite. Mas elucidará as vantagens de ter um modelo fenomenológico da sinapse, neste caso, incluindo os efeitos do astrócito para resolver questões e problemas do mundo real. Este parâmetro é o número de transportadores de glutamato (EAAT2 e EAAT3), que está diretamente relacionado com a excitotoxicidade, um processo patológico neuronal, mecanismo de várias doenças neuronais.

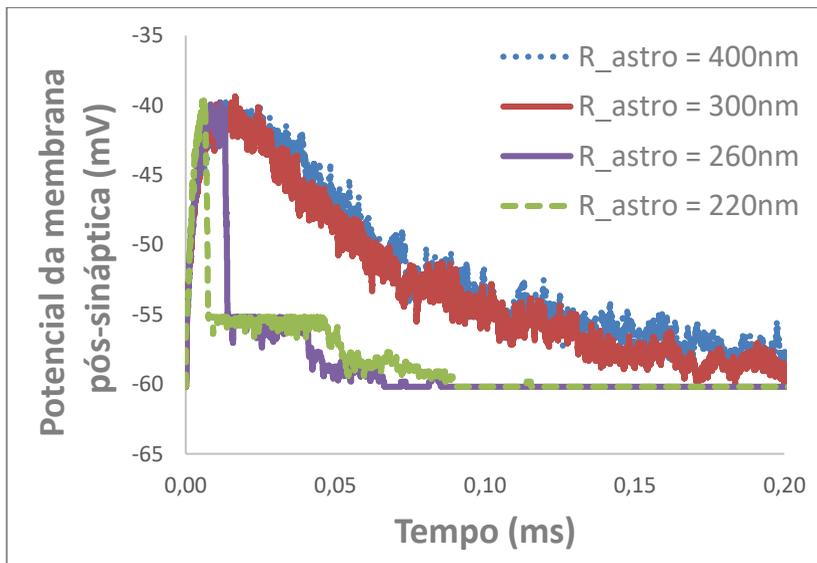
4.3.1 Distância entre o astrócito e os neurônios

Além da afinidade com receptores e transportadores, a dinâmica do glutamato na sinapse depende grandemente da sua difusão na fenda. O tempo necessário para se difundir de um local a outro está relacionado diretamente, entre outros fatores, à distância a ser percorrida. Assim, nesta seção será apresentado um estudo para mostrar as diferentes distancias que o glutamato do astrócito poderia percorrer e as suas implicações. A distância entre o astrócito e neurônio é o principal deslocamento a ser percorrido pelas moléculas de glutamato que saem do astrócito. Além disso, pela heterogeneidade geométrica das sinapses, não se conhece um valor médio desta distância. Sendo assim, escolhe-se esta distância como um parâmetro livre, no presente estudo.

Pela natureza do domínio considerado neste trabalho, a distância entre os neurônios e o astrócito é dada pelo raio do astrócito. O único valor que se encontrou na literatura é 400 nm, no trabalho de Allam *et al.* (2012b). Este valor não tem uma base experimental, mas já serve como referência. Em relação a experimentos qualitativos, sabe-se que a distância entre o astrócito e o neurônio geralmente é maior que a fenda

sináptica. Então neste estudo, toma-se 20 nm como valor mínimo de separação entre o astrócito e o neurônio, que corresponde a um raio do astrócito de 220 nm.

Figura 39: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico para diferentes distâncias radiais entre o astrócitos e os neurônios

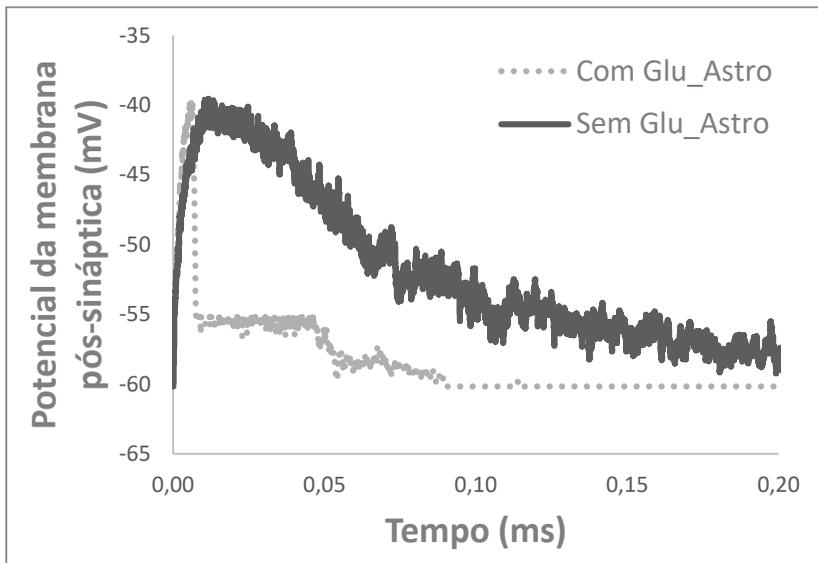


A figura 39 exibe o perfil do potencial de membrana pós-sináptico para raios do astrócito, ao longo do tempo, variando entre 220 e 400 nm. Em todos estes casos, o glutamato do astrócito é liberado simultaneamente com o glutamato do neurônio pré-sináptico no tempo $t=0$ ms. Imediatamente, observa-se que para raios menores a 260 nm, o perfil do potencial muda completamente. Estes dois casos atingem o valor máximo alguns microssegundos antes, comparado com os raios do astrócito maiores. Mas por outro lado, seu tempo de decaimento é muito maior. A explicação mais adequada é que, como a distância do astrócito até o neurônio é praticamente igual à distância da fenda, o glutamato do astrócito e do neurônio demoram tempos parecidos até chegarem nos receptores. E como também foi visto na figura 32, para o número usado de receptores no presente trabalho (base experimental), existe uma saturação dos mesmos, não incrementando assim o valor da

despolarização. Além disso, por ter tempos parecidos, os dois grupos se afastam simultaneamente da fenda, não ficando moléculas disponíveis para se ligar nos instantes posteriores, portanto resulta num tempo de decaimento muito rápido.

Para ter certeza de quem originou esse tempo de decaimento extremamente rápido foi o glutamato do astrócito, na figura 40 é apresentado esse perfil para o raio menor de 220 nm. A linha laranja representa a comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico na ausência de glutamato astrocital e a linha azul na presença de glutamato astrocital. Visualiza-se o mesmo comportamento da figura 37, então pode afirmar-se que o glutamato astrocital causou essa grande mudança de dinâmica.

Figura 40: Comparação do perfil ao longo do tempo do potencial de membrana pós-sináptico na presença ou ausência de glutamato astrocital para um raio de astrócito de 220nm.



Pode ser que, em algum determinado cenário, seja útil ter raios de astrócito pequenos para que se chegue um pouco mais rápido no valor máximo de potencial, como se vê na figura 40, mas esta diferença de tempo é bem pequena. Além disso, sabe-se que pela soma de despolarizações vai ser gerado o potencial de ação, então faz mais sentido ter um comportamento como o da linha laranja, na qual em intervalos de

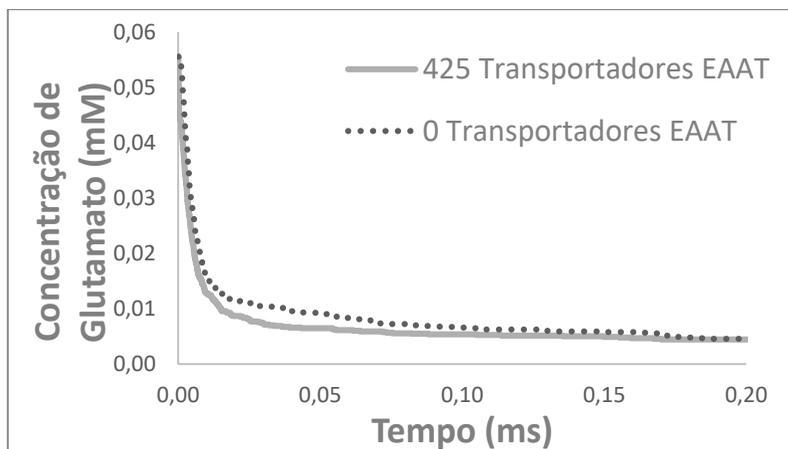
maior duração a membrana está despolarizada. Com isto também se pode concluir que a sinapse tripartite tem elementos com características complementares, onde a fenda é bem pequena para permitir o rápido início de despolarização, mas que tem mecanismos de longa duração, como o astrócito, para reforçar o sinal.

4.3.2 Quantidade de transportadores de Glutamato (EAAT)

A excitotoxicidade tem como principal causa a ativação excessiva dos receptores de glutamato NMDA. A principal causa se dá devido a concentrações muito acima do normal na fenda sináptica. Além disso, sabe-se que o principal mecanismo para retirar o glutamato da fenda são os transportadores de glutamato EAAT2 e EAAT3. Assim, no presente estudo são analisados dois casos opostos, um caso normal onde todos os transportadores estão funcionando e outro que nenhum transportador funciona. Esta falta de funcionamento pode ser tanto por algum problema estrutural dos receptores, quanto pela inexistência de receptores na membrana.

A figura 41 mostra o perfil de concentração de glutamato na fenda, ao longo do tempo, para os dois casos estudados. Pode-se verificar, como esperado, um aumento na concentração quando não funcionam ou não se tem transportadores. Mas não é possível concluir se esse aumento de concentração é considerável ou não.

Figura 41: Perfil da concentração de glutamato transiente para diferente número de transportadores de glutamato (EAAT) em funcionamento.



Uma das consequências do aumento considerável da concentração de glutamato na fenda sináptica é a ativação excessiva dos receptores, o qual pode levar ao mal funcionamento destes e por consequência dos neurônios envolvidos. A tabela 4 mostra a quantidade de canais ativados nos dois cenários de estudo.

Tabela 4: Diferença no número de receptores ativados para diferentes números de transportadores EAAT em funcionamento.

# Transportadores funcionando	Receptores ativados (# de vezes)	Diferença Percentual
425	2295	23%
0	2987	

Pode se observar na tabela 4 que a diferença percentual é considerável. No entanto, seria necessário um acompanhamento dessa sinapse com mais tempo, para descobrir com exatidão em qual marca de tempo começaria a ser representativa a excitotoxicidade.

Finalmente é importante mencionar outro transtorno neurológico relacionado com o tópico desta seção. Tanaka *et al* (1997) mostram que em ratos, uma diminuição de 5% de transportadores de glutamato causam epilepsia em semanas e finalmente a morte. Por isso como já comentado, este fenômeno deve ser estudado com um modelo matemático que obtenha as diferentes variáveis ao longo do tempo em uma escala de semanas ou meses. Mas com o presente estudo já se conseguiu fazer uma breve introdução a este tipo de análises.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi proposto e resolvido numericamente um modelo matemático da dinâmica do glutamato e da dinâmica do sódio nas principais estruturas da sinapse tripartite. Com isso, houve uma modelagem discreta do glutamato que permitiu uma abordagem mais realística, já que os principais fenômenos do glutamato na fenda sináptica estão longe de ser contínuos pela escala do domínio e pela quantidade de moléculas. E foi a partir de um balanço fenomenológico de sódio na membrana pós-sináptica que foi possível descrever com precisão a despolarização causada pelo conteúdo de glutamato de uma única vesícula. O programa computacional desenvolvido poderia ser adaptado para usá-lo em outras aplicações e domínios onde se queira estudar o movimento browniano de partículas numa geometria regular.

Representou-se a participação ativa do astrócito através da liberação de glutamato a partir de vesículas localizadas na membrana do astrócito. Foram analisados parâmetros como tempo de liberação, posição da vesícula, raio do astrócito. Conclui-se que, a presença de receptores do tipo NMDA nas laterais dos terminais sinápticos é um fator essencial para a comunicação astrócito-neurônio. No entanto, ficaram em aberto questões da comunicação entre o astrócito e o neurônio pré-sináptico. Contudo, mostrou-se que para várias combinações destes parâmetros, o astrócito exerce uma influência considerável e direta nos neurônios pós-sináptico e pré-sináptico. A influência do astrócito no neurônio pré-sináptico é contabilizada pelo aumento na probabilidade de liberação de glutamato de vesículas já ancoradas. Por outro lado, o conteúdo de uma única vesícula do astrócito foi capaz de despolarizar a membrana em 5mV, gerando os potenciais excitatórios pós-sinápticos miniatura, como são conhecidos na literatura. Ou seja, o glutamato proveniente do astrócito pode potencializar o sinal no neurônio pós-sináptico mediante o aumento da despolarização da membrana ou pela manutenção por mais tempo em um dado limiar de potencial. Devido ao número de parâmetros e incerteza dos valores possíveis, é preciso, no futuro, realizar um estudo de otimização para verificar em quais cenários exatamente e em que magnitude o astrócito reforça o sinal transmitido em ambos os neurônios. Estes parâmetros são principalmente o tempo no qual o astrócito libera glutamato e a distância relativa astrócito-neurônio.

Durante o estudo foi verificado que com os parâmetros utilizados, em um dado momento existe uma saturação de receptores. Esta observação precisa ser corrigida para futuros trabalhos nos quais se deseje modelar mais de uma vesícula, de esta forma poderá ser possível

atingir potencial de membrana maior a -40mV , que foi o máximo conseguido nas condições atuais. As variáveis que poderiam contribuir mais para a saturação são: número de receptores e a cinética dos receptores.

Com a ausência de experimentos específicos, o modelo foi validado com resultados experimentais qualitativos e com outros modelos matemáticos biologicamente coerentes e aceitos na literatura.

O modelo matemático validado permitiu o estudo de diferentes cenários possíveis. Por exemplo, permitiu ter uma ideia básica de possíveis comportamentos anômalos nos transportadores de glutamato, relacionados com excitotoxicidade. Embora este tipo de análises seja feito há algum tempo em sinapses bipartites, considerar o glutamato astrocital, base do conceito de sinapse tripartite, permite ter análises ainda mais próximas da realidade.

Ainda há incertezas nos tempos em que acontece a comunicação entre o astrócito e neurônios, por isso, será necessário, no futuro, incluir os fenômenos internos do astrócito que contribuem para a sinapse tripartite. As conclusões deste estudo seriam mais abrangentes se fossem analisados alguns outros aspectos como tempos mais amplos de cálculos, entre outros. No entanto pôde-se ter resultados satisfatórios e foi de grande importância o acréscimo das informações obtidas através desse estudo.

REFERÊNCIAS

- ALLAM, S. L. *et al.* Influence of Ionotropic Receptor Location on their Dynamics at Glutamatergic Synapses. **Annual International Conference of the IEEE**, California, p. 1374–1377, 2012^a.
- ALLAM, S. L. *et al.* A computational model to investigate astrocytic glutamate uptake influence on synaptic transmission and neuronal spiking. **Frontiers in Computational Neuroscience**, v. 6, n. October, p. 1–16, 2012b.
- ARAQUE, A. *et al.* Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. **Trends Neuroscience**, v. 22, n. 5, p. 208-215, 1999.
- BERGLES, D. E.; JAHR, C. E. Synaptic activation of glutamate transporters in hippocampal astrocytes. **Neuron**, v. 19, n. 6, p. 1297–1308, 1997.
- BOEHNING, D.; SNYDER, S. H. Novel neural modulators. **Annual Reviews**, v. 26, p 105-131, 2003.
- BOUVIER, G. *et al.* Presynaptic nmda receptors : roles and rules. **Neuroscience forefront review**, v. 311, p. 322–340, 2015.
- BUONOMANO, D. V; MERZENICH, M. M. Cortical plasticity : From Synapses to Maps. **Annual Reviews Neuroscience**, California, v. 21, p. 149 - 186,1998.
- CARTER, B. C.; BEAN, B. P. Sodium entry during action potentials of mammalian central neurons: incomplete inactivation and reduced metabolic efficiency in fast-spiking neurons. **Neuron**. v. 64, n. 6, p. 898–909, 2010.
- CORNER-BELL, A. *et al.* Glutamate Induces Calcium Waves in Cultured Astrocytes: Long-Range Glial Signaling. **Science**, v. 246, p. 470-473, 1990.
- CRIPPA, D. *et al.* Synaptobrevin2-expressing vesicles in rat astrocytes: Insights into molecular characterization, dynamics and exocytosis. **Journal of Physiology**, v. 570, n. 3, p. 567–582, 2006.

DANBOLT, N. C.; FURNESS, D. N.; ZHOU, Y. Neuronal vs glial glutamate uptake: Resolving the conundrum. **Neurochemistry International**, v. 98, p. 29 - 45, 2016.

DAYAN, P.; ABBOTT, L. F. **Theoretical Neuroscience**. In: DAYAN, P. (Ed.). *Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems*, 2000, p. 447.

DE PITTÀ, M. *et al.* Modulation of Synaptic Plasticity by Glutamatergic Gliotransmission: A Modeling Study. **Neural Plasticity**, v. 2016, 2016.

DI MAIO, V.; FRANCESCO, M.; SILVIA, V. AMPA / NMDA cooperativity and integration during a single synaptic event. **Journal of Computational Neuroscience**, v. 41, p. 127–142, 2016.

DI MAIO, V.; VENTRIGLIA, F.; SANTILLO, S. A model of cooperative effect of AMPA and NMDA receptors in glutamatergic synapses. **Cognitive Neurodynamics**, v. 10, n. 4, p. 315–325, 2016.

DI MAIO, V.; VENTRIGLIA, F.; SANTILLO, S. Stochastic, structural and functional factors influencing AMPA and NMDA synaptic response variability: a review. **Neuronal Signaling**, v. 1, n. 3, 2017.

DUNWIDDIE, T. V; DIAO, L.; PROCTOR, W. R. Adenine Nucleotides Undergo Rapid, Quantitative Conversion to Adenosine in the Extracellular Space in Rat Hippocampus. **The journal of neuroscience**, v. 17, n. 20, p. 7673–7682, 1997.

GILLESPIE, D. T. Exact numerical simulation of the Ornstein-Uhlenbeck process and its integral. **Physical Review E**, v. 54, n. 2, p. 2084–2091, 1996.

GLAVINOVIĆ, M. I. Monte Carlo simulation of vesicular release, spatiotemporal distribution of glutamate in synaptic cleft and generation of postsynaptic currents. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 437, n. 3, p. 462–470, 1999.

HALASSA, M. M.; FELLIN, T.; HAYDON, P.G. The Tripartite Synapse: roles for gliotransmission in health and disease. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, n. 2, p. 54–63, 2007.

HAMILTON, N. B.; ATTWELL, D. Do astrocytes really exocytose neurotransmitters ? **Nature Reviews Neuroscience**, v. 11 , p. 227 - 238, 2010.

HARRIS, K. M.; SULTAN, P. Variation in the Number , Location and Size of Synaptic Vesicles Provides an Anatomical Basis for the Nonuniform Probability of Release at Hippocampal CA1 Synapses. **Neuropharmacology**, v. 34, n. 11, p. 1387–1395, 1995.

HAUCKE, V.; NEHER, E.; SIGRIST, S. J. Protein scaffolds in the coupling of synaptic exocytosis and endocytosis. **Nature Reviews Neuroscience**, v.12, p. 127–138 v. 12, n. March, 2011.

HOLMES, W. R. Modeling the Effect of Glutamate Diffusion and Uptake Non-NMDA Receptor Saturation. **Biophysical Journal**, v. 69, n. 5, p. 1734–1747, 1995.

IWASAKI, Y.; IKEDA, K.; KINOSHITA, M. Plasma amino acid levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 107, p. 219–222, 1991.

IZHIKEVICH, E. M. Simple Model of Spiking Neurons. **IEEE transactions on neural networks**, v. 14, no. 6, 2003 v. 14, n. 6, p. 1569–1572, 2003.

JIN, Y.; GARNER, C. C. Molecular Mechanisms of Presynaptic Differentiation. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 24, p. 237 -262, 2008.

JAHR, C.; STEVENS, C. Voltage dependence of NMDA - Activated macroscopic conductances predicted by single-channel kinetics. **The Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 3178-3182, 1990.

JAFRI, S.M; YANG, K.H. Modelling Neuronal Calcium Dynamics. In: FENG, J. **Computational neuroscience a comprehensive approach**. Florida: CRC, 2004.

JOURDAIN, P. *et al.* Glutamate exocytosis from astrocytes controls synaptic strength. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 3, p. 331–339, 2007.

KAESER, P. S.; REGEHR, W. G. Molecular Mechanisms for

Synchronous , Asynchronous , and Spontaneous Neurotransmitter Release. **Annual Review of Physiology**, v. 76, p. 333-363, 2014.

KANDEL, E.R. *et al.* **Principio de Neurociências**. 5. ed. Porto Alegre:2014.

KOH, D.-S.; GEIGER, J. R. P.; JONAS, P.; SAKMANN, B. Ca²⁺ permeable MPA and NMDA receptor channels in basket cells of rat hippocampal dentate gyrus. **Journal of Physiology**, v. 485, n. 2, p. 383-402, 1995.

LESTER, R. A. J.; JAHR, C. E. NMDA Channel Behavior Depends on Agonist Affinity. **Journal of Neuroscience**, v. 12, n. 2, p. 635-643, 1992.

LISMAN, J. E.; RAGHAVACHARI, S.; TSIEN, R. W. The sequence of events that underlie quantal transmission at central glutamatergic synapses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, p. 597-609, 2007.

LILEY, A.W.; NORTH, K.A.K. An electrical investigation of effects of repetitive stimulation on mammalian neuromuscular junction. **Journal of neurophysiology**, v. 16, n. 5, p. 509 – 527, 1953.

LONGSWORTH, L.G. Diffusion measurements at 25° of aqueous solutions of amino acids, peptides and sugars. **Journal of the American Chemical Society**, v. 75, n. 22, p. 5705 – 5709, 1953.

MARIENHAGEN, J.; KELLER, B. U.; ZIPPELIUS, A. Kinetic model of excitatory synaptic transmission to cerebellar purkinje cells. **Journal of Theoretical Biology**, v. 188, p. 227-240, 1997.

NAZARI, S. *et al.* A Digital Implementation of Neuron-Astrocyte Interaction for Neuromorphic Applications. **Neural Networks**, v. 66, p. 79 - 90, 2015.

NOORI, H. R. Substantial changes in synaptic firing frequencies induced by glial ATP hysteresis. **BioSystems**, v. 105, n. 3, p. 238–242, 2011.

PARPURA, V. *et al.* Glutamate-mediated astrocyte–neuron signalling. **Nature International journal of sciencen**, p 744-747, maio de 2012.

PATNEAU, K.; MAYER, L. Structure-Activity Relationships for Amino

Acid Transmitter Candidates Acting at N-Methyl-D-Aspartate and Quisqualate Receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 7, p. 2385–2399, 1990.

PEREA, G.; ARAQUE, A. Astrocytes Potentiate Transmitter Release at Single Hippocampal Synapses. **Science**, v. 317, p 1083 – 1086, agosto 2007.

PURVES *et al.* Neuroscience. 3ed. Sunderland: **Sinauer Associates**, 2004. p. 832.

QUINAUD, J. **Modelo matemático da dinâmica iônica durante um potencial pré-sináptico em célula neural**. 2011. Dissertação (Engenharia Química) - Programa de Pós - graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ROBERT, A.; HOWE, J. R. How AMPA Receptor Desensitization Depends on Receptor Occupancy. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 3, p. 847–858, 2003.

RODRIGUES-MORENO, A. ; BANERJEE, A.; PAULSEN, O. Presynaptic NMDA receptor and spike timing-dependent depression at cortical synapses. **Frontiers in Synaptic Neuroscience**, v. 2, 2010.

ROSE, C. R. *et al.* Molecular and cellular physiology of sodium-dependent glutamate transporters. **Brain Research Bulletin**, p. 1–14, 2017.

RUSAKOV, D. A.; KULLMANN, D. M. Extrasynaptic Glutamate Diffusion in the Hippocampus: Ultrastructural Constraints , Uptake , and Receptor Activation. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 9, p. 3158–3170, 1998.

SANTELLO, M.; VOLTERRA, A. Synaptic modulation by astrocytes via Ca^{2+} -dependent glutamate release. **Neuroscience**, v. 158, n. 1, p. 253–259, 2009.

SCHIKORSKI, T.; STEVENS, C. F. Quantitative Ultrastructural Analysis of Hippocampal Excitatory Synapses, **The Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 15, p. 5858–5867, 1997.

SMITH, G. Modeling Local and Global Calcium Signals Using Reaction-Diffusion Equations. In: DE SCHUTTER, E. (Ed.). **Computational neuroscience realistic modeling for experimentalists**. Florida: CRC, 2001. Capítulo 3.

SPRUSTON, N. *et al.* Dendritic Glutamate Receptor Channels in Rat Hippocampal CA3 and CA1 Pyramidal Neurons. **The Journal of Physiology**, v. 482, n. 2, p. 325–352, 1995.

STREHLER, E. E. Principles of Medical Biology. In: STREHLER, E. E. (Ed.) **Sodium-Calcium Exchangers and Calcium Pumps**, v. 4, p. 125–150, 1996.

SUDHOF, T.C. Neurotransmitter release: the last millisecond in the life of a synaptic vesicle. **Cell press open access**, Stanford, p. 675 – 690, outubro 2013.

TANAKA, K. *et al.* Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1. **Science**, v. 276, p. 1699–1702, 1997.

TEIXEIRA, H. Z. Descrição matemática da dinâmica iônica em tecidos neuronais Mathematical description of the ionic. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 17, n. 2, p. 85-96, 2001.

TERMAN, D. *et al.* Activity Patterns in a Model for the Subthalamopallidal Network of the Basal Ganglia. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 7, p. 2963–2976, 2002.

TROMMERSHAUSER, J. **A semi-microscopic model of synaptic transmission and plasticity**. 2000. Dissertação (Mestrado Matemática), Universidade de Gottingen, Frankfurt.

VANDEMBERG, R. J.; RYAN, M. R. Mechanisms of Glutamate Transport. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 4, p. 1621–1657, 2013.

VENTRIGLIA, F.; MAIO, V. DI. A Brownian simulation model of glutamate synaptic diffusion in the femtosecond time scale. **Biological Cybernetics**, v. 83, n. 2, p. 93–109, 2000.

VENTRIGLIA, F.; MAIO, V. DI. Glutamate – AMPAR interaction in a

model of synaptic transmission. **Brain Research**, v. 1536, p. 168–176, 2013.

VERKHRATSKY, A. *et al.* Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. **The EMBO Journal**, v. 35, n. 3, p. 237–370, 2016.

VIEIRA, D.P.C.V. **Estudo sobre atividades auto sustentadas em modelos de redes neurais corticais**.2013. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Física, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

VILLEGAS, J. Axon-schwann cell interaction in the squid nerve fibre. **The Journal Physiology**, Venezuela, p. 275-296, setembro,1972.

WAHL, L. M.; POUZAT, C.; STRATFORD, K. J. Monte Carlo Simulation of Fast Excitatory Synaptic Transmission at a Hippocampal Synapse.**Journal of Neurophysiology**. v. 75, n. 2, 1996.

ZOREC, R.; VERKHRATSKY, A.; PARPURA, V. Astrocytic vesicles and gliotransmitters : slowness of vesicular release and synaptobrevin2-laden vesicle nanoarchitecture. **Neuroscience**, v. 323, p. 67–75, 2016.

APÊNDICE A – CÓDIGO EM FORTRAN DO PROGRAMA COMPUTACIONAL

A rotina computacional completa, pode ser encontrada na cópia disponível desta dissertação na Bilbioteca Universitária.