

Avaliação da Influência da Valinomicina via Bomba de Na^+/K^+ na Comunicação Molecular por Sinalização de Ca^{2+} em Astrócitos

Ittalo S. Silva, Kaique Rijkaard S. Oliveira, Ricardo S. Farias e Carlos Danilo M. Regis

Resumo— A Comunicação Molecular (MC) baseada em sinalização de Ca^{2+} consiste na propagação desses íons entre as células por meio da difusão, sofrendo influência de estruturas reguladoras presentes na membrana plasmática, como a bomba de Na^+/K^+ . A valinomicina é uma substância que atua por intermédio da bomba, facilitando o tráfego dessas moléculas através da membrana. Desse modo, este trabalho desenvolveu um sistema de MC, a fim de avaliar a influência da valinomicina na sinalização de Ca^{2+} em astrócitos. A atuação da valinomicina permitiu aumentar a propagação de Ca^{2+} no citosol em 9,4% e o ganho do sistema em cerca de 7,85 dB.

Palavras-Chave— Sinalização de Ca^{2+} , astrócitos, valinomicina, bomba de Na^+/K^+ .

Abstract— Ca^{2+} -Signaling-based Molecular Communication (MC) implies the propagation of Ca^{2+} ions through cells by diffusion, which is influenced by the presence of concentration regulative structures in the plasma membrane, as the Na^+/K^+ pump. The valinomycin is a substance that operates via Na^+/K^+ pump to facilitate the transportation of those molecules through the membrane. Thus, this paper implemented a MC system, in order to evaluate the influence of the valinomycin in the Ca^{2+} -signaling in astrocytes. The activity of the valinomycin led both the Ca^{2+} propagation in the cytosol and the gain of the system to increase 9.4% and about 7.85 dB, respectively.

Keywords— Ca^{2+} signaling, astrocytes, valinomycin, Na^+/K^+ pump.

I. INTRODUÇÃO

A transmissão intracelular de moléculas de cálcio, conhecida como sinalização de Ca^{2+} , possui um importante papel na excitabilidade elétrica das células do sistema nervoso central, tais como os astrócitos [1], que atuam nas transmissões sinápticas e no processamento de informações pelos circuitos neurais, mas não são capazes de gerar potenciais de ação por si mesmos [2]. Nos tecidos de astrócitos, os sinais de cálcio gerados nas células se propagam por difusão em forma de ondas intracelulares. Desse modo, as atividades sinápticas causadas pelo Ca^{2+} acontecem não apenas em diferentes regiões da mesma célula, mas também em células vizinhas, resultando na potencialização da propagação [1]. Essas e outras características apontam o Ca^{2+} como um dos íons mais importantes presentes nos tecidos neurais, fazendo com que os processos que regulam as concentrações desse íon nas células

ganhem considerável atenção no desenvolvimento de modelos computacionais [3].

A composição iônica interna da célula é preservada devido ao fato de que a membrana plasmática possui uma permeabilidade seletiva de pequenas moléculas. Muitas dessas moléculas não são capazes de transpassar a dupla camada fosfolipídica da membrana, visto que esta forma uma barreira que bloqueia a livre troca de moléculas entre o citoplasma e o ambiente externo da célula. Desse modo, proteínas específicas atuam como mediadoras no transporte seletivo desses íons através da membrana, permitindo que a célula controle o nível de concentração dessas moléculas no citosol [4].

Dentre as proteínas presentes na membrana plasmática, destacam-se o canal trocador de sódio e cálcio (NCX) e a bomba de sódio e potássio, que juntos correspondem a dois dos principais reguladores iônico-eletromecânicos das células [5]. O primeiro é um canal proteico que transmite íons de Ca^{2+} para dentro ou para fora da célula, trocando por moléculas de Na^+ e, portanto, atua diretamente no controle dos níveis de concentração citosólicas desses íons [6]. O segundo, por sua vez, é responsável pelo transporte ativo transmembranar de Na^+ e K^+ , utilizando a Adenosina Trifosfato (ATP) como fonte de energia primária para a permutação dessas moléculas. Além disso, a bomba de Na^+/K^+ assume um importante papel no balanço osmótico, no controle do volume da célula e, por intermédio do K^+ , no estabelecimento dos potenciais que formam a tensão de membrana [4], [7].

O K^+ é um mineral essencial para o funcionamento elétrico da célula e, junto com o Na^+ , mantém o equilíbrio da água e do ácido-base no sangue e nos tecidos [8]. No entanto, a membrana celular possui uma diferença de permeabilidade entre o K^+ e o Na^+ , sendo o K^+ mais permeável no estado de repouso, existindo, portanto, uma propensão à perda ininterrupta desse íon para o meio extracelular [9]. Desse modo, uma das substâncias que favorecem o transporte do K^+ , mesmo sob essas circunstâncias, é a valinomicina, que é uma proteína transportadora encarregada de transferir os íons de potássio para dentro da célula devido à sua estrutura química, que tem a capacidade de formar um complexo firme com esses íons capturados dentro do seu anel molecular. Assim, os íons capturados pela valinomicina são liberados após reagir com o solvente do citosol [10].

Muitos trabalhos se propuseram a estudar e a desenvolver modelos computacionais, a fim de entender como os tecidos de astrócitos se comunicam e se regulam em um sistema baseado em sinalização de Ca^{2+} . Barros et al. [11] desenvolveram um

Ittalo S. Silva, e-mail: ittalosantoss@gmail.com; Kaique Rijkaard S. Oliveira, e-mail: kaique.rijkaard@academico.ifpb.edu.br; Ricardo S. Farias, e-mail: ricardofariasxyz@gmail.com; Carlos Danilo M. Regis, e-mail: regis.danilo@gmail.com; Departamento de Pós-graduação em Engenharia Elétrica, Instituto Federal da Paraíba (IFPB), João Pessoa-PB. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo IFPB (10.783.898/0001-75).

modelo que consiste na avaliação do impacto da doença de Alzheimer em diferentes topologias de uma rede de comunicação entre astrócitos. Brazhe et al. [6] propuseram outro modelo para investigar os efeitos dos transientes de Na^+ gerados pelo NCX na propagação de Ca^{2+} no citosol de astrócitos finos. No entanto, esses trabalhos não levaram em consideração os efeitos da bomba de Na^+/K^+ e as consequências da ação da valinomicina no transporte de K^+ . Portanto, este trabalho desenvolveu um sistema de comunicação molecular em um tecido de astrócitos, a fim de avaliar a influência indireta da atuação da valinomicina através da bomba de Na^+/K^+ no modelo de sinalização de Ca^{2+} proposto por Barros et al. [11].

II. A VALINOMICINA

A valinomicina é um ionóforo de cálcio que carrega o potássio (K^+) por entre as membranas biológicas com alta seletividade, oferecendo uma permeabilidade elevada ao íon [12]. Esse ionóforo pode ser considerado um antibiótico depsipeptídico que possui uma conexão local com o K^+ estabelecida por uma bolsa hidrofílica, bem como um exterior hidrofóbico que viabiliza a permeabilização da membrana celular [12]. O efeito da valinomicina é, portanto, um fator importante a ser considerado em sistemas de comunicação biológicos que envolvem sinalização de K^+ .

Como antibiótico, a valinomicina é comumente utilizada como um agente que induz a apoptose celular, ou seja, a morte programada das células, que é fundamental para o desenvolvimento dos sistemas biológicos animais [13]. Além disso, a adição da valinomicina ao sistema permite calibrar os experimentos que envolvem a dinâmica dos potenciais da membrana plasmática, possibilitando o cálculo da tensão de membrana (V_m) - que pode ser entendida como a diferença de potencial entre os gradientes dos íons presentes nos meios intracelular e extracelular - para a bomba de Na^+/K^+ por intermédio da equação de Nernst (Eq. 1) [14].

$$V_m = 2,3 \cdot \frac{RT}{mF} \cdot \log_{10} \left\{ \frac{C_o}{C_i} \right\} \quad (1)$$

Na qual, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura ambiente, em Kelvin, F é a constante de Faraday e m é a carga do cálcio ($m = 2$), que é considerado, por este trabalho, como o íon de referência da membrana. C_i e C_o são as concentrações intracelular e extracelular de Ca^{2+} , respectivamente.

III. O MODELO DE COMUNICAÇÃO MOLECULAR

O modelo de comunicação molecular desenvolvido por este trabalho foi adaptado do sistema idealizado por [11], que simulou um tecido tridimensional de astrócitos onde são transmitidas moléculas de Ca^{2+} no meio intracelular [15], caracterizando-se, portanto, como um sistema puramente de sinalização de Ca^{2+} . A comunicação acontece por um processo de difusão baseado em junções comunicantes (*gap junctions*), que são canais estruturados na membrana celular de duas células adjacentes, por onde se propagam as informações em um regime estocástico que depende da probabilidade dos estados dessas junções (fechado ou aberto) [3].

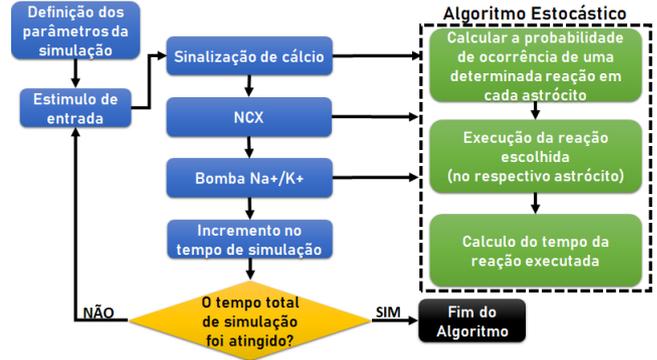


Fig. 1. Fluxograma do modelo de comunicação molecular implementado.

Foram adicionados a esse sistema, então, o canal trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) e a bomba Na^+/K^+ , que estão descritos nas Seções III-A e III-B, com o propósito de avaliar o efeito da valinomicina na sinalização de Ca^{2+} . O fluxograma do modelo desenvolvido por este trabalho está ilustrado na Fig. 1. O astrócito transmissor (T_x) recebe um sinal de estímulo, que são pulsos de C_i de amplitude A e frequência f , a fim de fomentar continuamente a difusão de Ca^{2+} no tecido. Esses parâmetros são definidos no início da simulação, juntamente com a topologia da rede de astrócitos [11], a distância (d) entre o receptor (R_x) e o T_x , em células, e o tempo total da simulação (T_t).

A variabilidade das reações químicas do sistema foi simulada pelo algoritmo estocástico de Gillespie [11], que oferece uma aproximação da dinâmica dos sistemas biológicos existentes, selecionando o astrócito da vez com base na probabilidade de ocorrência da reação, além de calcular o tempo de execução da mesma (τ), que é inversamente proporcional ao fluxo molecular da reação, ou seja, à quantidade de concentração movimentada naquele instante [3]. As reações de Ca^{2+} , do NCX e da bomba de Na^+/K^+ são executadas nessa sequência (Fig. 1) e, por fim, o maior τ retornado entre as três é incrementado no tempo de simulação atual (t_s) do sistema (Eq. 2), até atingir T_t . Para a simulação, a topologia utilizada foi a de grau regular, descrita em [11], T_t foi ajustado para 200 s e A , para $0,5 \mu\text{M}$, que corresponde à amplitude média de oscilação de C_i nos canais de IP_3 , segundo [16].

$$t_{s_i} = \sum_{i=0}^{\lfloor 1/f \rfloor} \tau_i \quad (2)$$

Para a análise do modelo, foi calculada a SNR (*Signal-to-Noise Ratio*), Eq. 3, definida como a relação entre a energia do sinal C_i (E_{C_i}), que é considerado o principal sinal do sistema, visto que a sinalização de Ca^{2+} é o modelo de referência, e a energia do sinal C_o (E_{C_o}), que é considerado como um ruído, para fins de análise.

$$SNR = 10 \times \log_{10} \left(\frac{E_{C_i}}{E_{C_o}} \right) \quad (3)$$

De modo que $E_{C_{\#}}$ pode ser calculada de acordo com a Eq. 4. Onde $C_{\#_{cel}}(t)$ é a concentração intracelular ou extracelular

ao longo do tempo da célula atual escolhida pelo algoritmo estocástico.

$$E_{C\#} = \sum_{t=0}^{T_t} C_{\#_{cel}}^2(t) \quad (4)$$

Outra métrica de avaliação é o Ganho de C_i , Eq. 5, calculado como a relação entre a concentração média de Ca^{2+} no citosol do R_x (\bar{C}_{iR_x}) e do T_x (\bar{C}_{iT_x}).

$$Ganho = 10 \times \log_{10} \left(\frac{\bar{C}_{iR_x}}{\bar{C}_{iT_x}} \right) \quad (5)$$

A. Canal Trocador de Sódio e Cálcio

O Canal Trocador de Sódio e Cálcio, ou NCX (Na^+/Ca^{2+} Exchanger), é uma proteína presente na membrana plasmática de células animais que transporta os íons Na^+ e Ca^{2+} entre os meios intracelular e extracelular, realizando a troca de 3 moléculas do primeiro por 1 molécula do segundo [6].

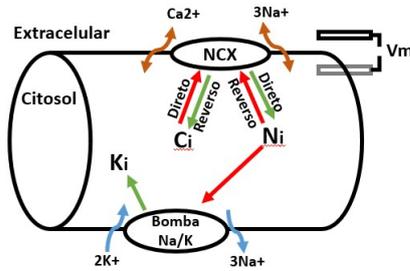


Fig. 2. Funcionamento básico do NCX (adaptado de [6]).

O princípio básico de funcionamento do NCX está ilustrado na Fig. 2. Como observado, ele pode operar no modo direto, no qual, há entrada de Na^+ e saída de Ca^{2+} , ou no modo reverso, em que acontece a saída de Na^+ e a entrada de Ca^{2+} , podendo permutar entre os modos através das alterações nas concentrações dos íons e na tensão de membrana [2]. Nesse trabalho, consideramos que a permutação deve ocorrer após N_i e C_i atingirem os limiares definidos em [2].

B. Bomba de Sódio e Potássio

A bomba de Na^+/K^+ é responsável pela geração e manutenção dos gradientes de Na^+ e K^+ na célula, realizando a troca de 3 moléculas do primeiro para o meio extracelular e 2 moléculas do segundo para o citosol através da membrana celular, em um processo que utiliza a energia derivada da hidrólise do ATP (Adenosina Trifosfato), a fim de vencer a força oposta do gradiente eletroquímico [7].

A Fig. 3 ilustra o princípio de funcionamento da bomba de Na^+/K^+ . Primeiramente, os íons de Na^+ do citosol se ligam aos espaços livres de alta afinidade presentes no canal da bomba, estimulando a hidrólise do ATP, que se transforma em ADP (Adenosina Difosfato) e induz a exposição do Na^+ ao meio externo da célula, diminuindo a afinidade da ligação com a parede da bomba. Assim, os íons de Na^+ são liberados para o meio extracelular ao mesmo tempo em que os íons de K^+ presentes nesse meio são expostos aos espaços livres

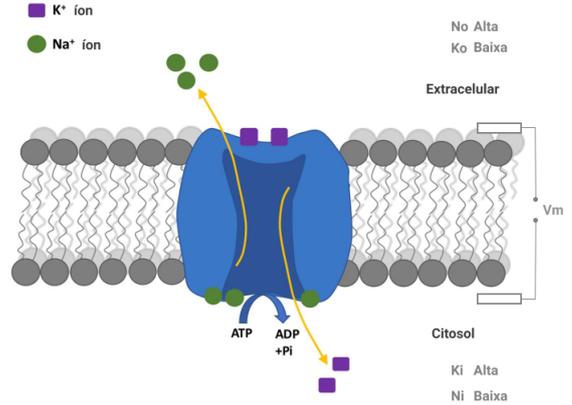


Fig. 3. Bomba de Sódio (Na^+) e Potássio (K^+) (adaptado de [9]).

da bomba, ligando-se a eles. Essa ligação, então, estimula a hidrólise do grupo de fosfato (Pi) presente no canal da bomba, que libera os íons de K^+ para o citosol da célula, em um processo semelhante ao anterior [4]. Nesse trabalho, a contribuição do ATP foi considerada meramente como uma condição externa para permitir o funcionamento da bomba de Na^+/K^+ , não sendo implementadas as implicações de sua hidrólise nas demais partes do sistema e a sua formação.

A concentração intracelular de K^+ (K_i) é alta, enquanto que a concentração intracelular de Na^+ (N_i) é baixa em grande parte das células vivas, por outro lado, o oposto acontece no meio extracelular. Desse modo, entende-se que existe um gradiente de perda e outro de ganho para K_i e N_i , respectivamente. Este gradiente é preservado através da atuação de diversos canais e carregadores iônicos, mas majoritariamente por intermédio da atividade da bomba de sódio e potássio [17].

De acordo com [14], as taxas de variação em N_i e em K_i podem ser obtidas a partir da Eq. 6 e da Eq. 7, respectivamente.

$$\frac{dN_i}{dt} = -(J_N + J_{N_{pass}}) \quad (6)$$

$$\frac{dK_i}{dt} = -(J_K + J_{K_{pass}}) \quad (7)$$

De modo que J_N e J_K são os fluxos das moléculas de Na^+ e K^+ , respectivamente, transmitidas do citosol para o meio extracelular através da bomba, enquanto que $J_{N_{pass}}$ e $J_{K_{pass}}$ são os fluxos passivos para as mesmas moléculas, conhecidos como vazamento [14].

Se a bomba tem n espaços livres para o transporte de Na^+ e k espaços livres para o transporte de K^+ , e se, quando a troca está sendo realizada, sempre ocorre a ocupação de todos esses espaços, então J_N e J_K podem ser obtidos por intermédio da Eq. 8 e da Eq. 9, respectivamente.

$$J_N = -n \cdot p \cdot v \quad (8)$$

$$J_K = k \cdot p \cdot v \quad (9)$$

Em que p é o número de moléculas orientadas para o lado externo da membrana plasmática e v é a taxa de rotatividade

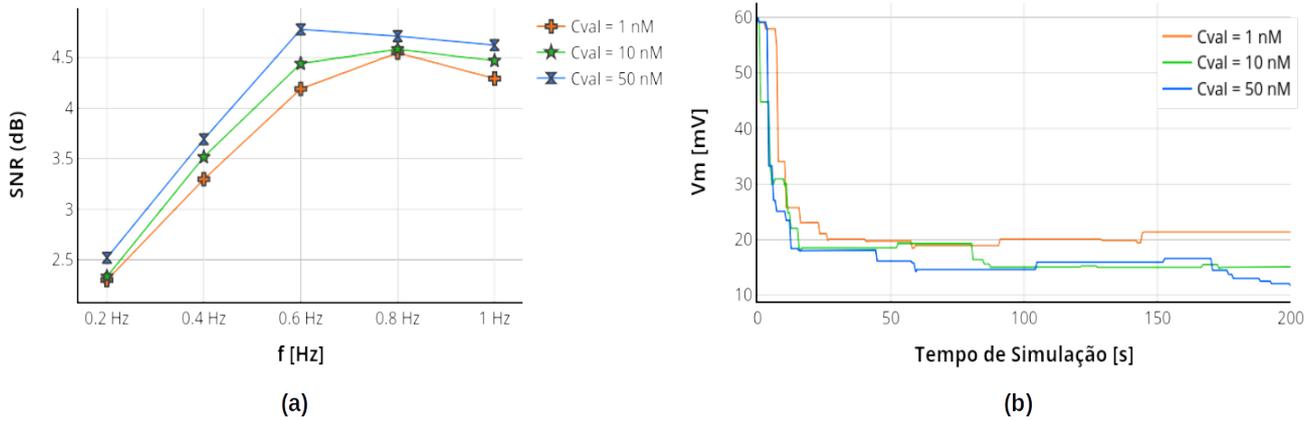


Fig. 4. Resultados para o modelo de comunicação molecular implementado. (a) Variação da SNR em relação à concentração de Valinomicina. (b) Comportamento da tensão de membrana por concentração de valinomicina.

da bomba [14], [18]. Já $J_{N_{pass}}$ e $J_{K_{pass}}$ podem ser calculados como descritos na Eq. 10 e na Eq. 11, respectivamente.

$$J_{N_{pass}} = P_N \cdot A \cdot V_m \cdot \frac{c_{iN} \cdot e^{V_m} - c_{oN}}{e^{V_m} - 1} \quad (10)$$

$$J_{K_{pass}} = P_K \cdot A \cdot V_m \cdot \frac{c_{iK} \cdot e^{V_m} - c_{oK}}{e^{V_m} - 1} \quad (11)$$

O c_{iN} e c_{iK} são as concentrações molares de Na^+ e K^+ por unidade de volume intracelular (V_i), enquanto c_{oN} e c_{oK} são as concentrações por unidade de volume extracelular (V_o). A é a área da membrana plasmática, obtida em [14]. P_N e P_K são os coeficientes de permeabilidade dos íons da bomba e podem ser calculados a partir das Eqs. 12 e 13.

$$P_N = a_N \cdot c_{val} + b_N \quad (12)$$

$$P_K = a_K \cdot c_{val} + b_K \quad (13)$$

O c_{val} é o valor da concentração aquosa de valinomicina, b_N e b_K são responsáveis pela permeabilidade da membrana plasmática independente da valinomicina. A Tabela I mostra os valores das constantes utilizadas para a simulação, obtidos a partir de [14].

TABELA I
VALORES DAS CONSTANTES UTILIZADAS PARA A BOMBA DE Na^+/K^+ [14].

Variáveis	Valores
n	3
k	2
p	5
v	$121 \cdot s^{-1}$
a_K	$60 \cdot M^{-1} \cdot cm \cdot s^{-1}$
a_N	$8 \cdot e^{-10} \cdot M^{-1} \cdot cm \cdot s^{-1}$
b_K	$1 \cdot e^{-9} \cdot M^{-1} \cdot cm \cdot s^{-1}$
a_N	$8 \cdot e^{-10} M^{-1} \cdot cm \cdot s^{-1}$
c_{iK}	$25000 \mu M$
c_{oK}	$25000 \mu M$
c_{iN}	$125000 \mu M$
c_{oN}	$125000 \mu M$

IV. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A simulação realizada para o sistema de comunicação molecular desenvolvido foi executada considerando três valores de concentração de valinomicina ($C_{val} = 1 \text{ nM}$, $C_{val} = 10 \text{ nM}$ e $C_{val} = 50 \text{ nM}$) sugeridos por [14], cujos resultados estão apresentados na Fig. 4.

A Fig. 4 (a) mostra as curvas da SNR obtidas a partir da Eq. 3, ao variar a frequência do estímulo de entrada no T_x , sendo possível observar dois comportamentos distintos. Primeiro, a SNR cresce ao longo de parte da faixa de frequência selecionada, sugerindo que C_i cresce mais rapidamente do que C_o . A partir de 0,6 Hz, no entanto, as curvas mudam de comportamento, crescendo suavemente ou até decrescendo, quando C_o e C_i parecem sofrer uma variação semelhante. Isso acontece pois o NCX funciona inicialmente no modo reverso até atingir os limiares de concentração (Seção III-A), quando ocorre a permutação para o modo direto, tendendo a equilibrar os níveis de concentração extra e intracelular, pois enquanto o citosol recebe pulsos de Ca^{2+} oriundos do T_x , o NCX distribui uma parte dessas moléculas para o meio externo. Para as maiores frequências, essa permutação acontece mais rapidamente, visto que mais Ca^{2+} é introduzido no sistema no mesmo tempo, tornando o efeito em C_o e C_i mais nítido.

Esse comportamento também pode ser verificado na Fig. 4 (b), que mostra a variação da tensão de membrana ao longo do tempo de simulação para os três valores de C_{val} para a frequência de 0,6 Hz. Enquanto o NCX está no modo reverso, V_m decresce rapidamente, devido ao aumento em C_i . Após um tempo, a curva tende a se estabilizar, sugerindo um aumento em C_o , mediante o funcionamento do NCX no modo direto.

É possível perceber também na Fig. 4 (a) que, ao elevar C_{val} , a SNR aumentou, variando cerca de 9,4%, em média, quando a valinomicina foi de 1 nM para 50 nM. Esse resultado indica que a presença do antibiótico permitiu maior transporte de K^+ para o citosol através da bomba de Na^+/K^+ e, conseqüentemente, maior tráfego de Na^+ para fora da célula, aumentando os fluxos moleculares $J_{N_{pass}}$ e $J_{K_{pass}}$, que diminuem o τ para a reação da bomba por serem inversamente proporcionais entre si (Seção III). Com um menor τ , mais

reações ocorrem para o mesmo T_i escolhido (Eq. 2), ocorrendo maior injeção de Ca^{2+} no sistema devido ao estímulo de entrada, que consequentemente aumenta C_i e, portanto, a SNR.

Uma vez observada a influência primária da valinomicina sobre o sistema de comunicação molecular implementado, pode ser realizada a análise do desempenho desse sistema em relação ao modelo baseado puramente em sinalização de Ca^{2+} desenvolvido por [11]. A Fig. 5 mostra a comparação dos resultados para o ganho de concentração intracelular de Ca^{2+} , calculado por intermédio da Eq. 5 ao variar a distância entre a célula transmissora e a célula receptora.

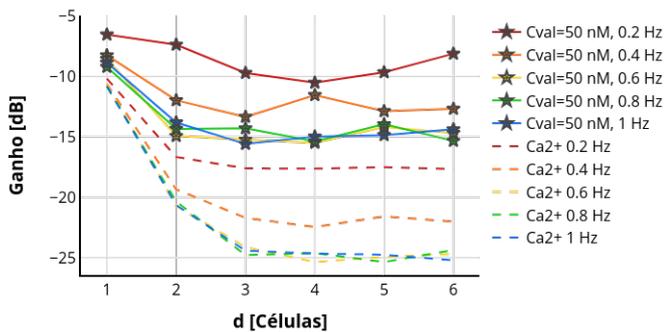


Fig. 5. Comparação do desempenho do sistema com a sinalização de Ca^{2+} pura.

A concentração de 50 nM de valinomicina foi escolhida para a análise do ganho, visto que retornou os maiores valores de SNR, com base nos resultados mostrados na Fig. 4.

Como esperado, para os dois sistemas, o ganho de C_i diminui exponencialmente à medida em que d aumenta, pois ocorre a atenuação do sinal, ou seja, menos moléculas de Ca^{2+} conseguem chegar ao R_x quando este está mais longe do T_x , devido ao fato de que a difusão é mais intensa na região próxima ao transmissor, onde há maior diferença de concentração molecular e maior variação do gradiente iônico [3].

Além disso, pode-se observar que quando f aumenta, o ganho diminui. Isso acontece porque o sinal de estímulo acrescenta cada vez mais moléculas de Ca^{2+} no citosol do T_x de forma desproporcional à quantidade de moléculas que R_x absorve, devido às características estocásticas do sistema.

Finalmente, a atuação da valinomicina no sistema, através das proteínas de transporte iônico transmembranar, permitiu que o ganho de C_i aumentasse consideravelmente, na ordem de 7,85 dB, em média, para cada valor de frequência. Ainda, é possível perceber que o declínio das curvas do ganho com a presença da valinomicina se tornou menos acentuado (curvas mais achatadas), mostrando que houve uma minimização da atenuação do sinal ao longo do percurso.

V. CONCLUSÕES

Esse trabalho permitiu observar a influência da valinomicina através da bomba de Na^+/K^+ no modelo de comunicação molecular baseado em sinalização de Ca^{2+} em um tecido de astrócitos. Ao facilitar o transporte do K^+ para o citosol através da bomba, a valinomicina estimula a saída do Na^+ e o consequente aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} .

Desse modo, a ação da valinomicina proporcionou o aumento da propagação de moléculas de Ca^{2+} no meio intracelular, melhorando o desempenho do sistema em termos de ganho de C_i , visto que permitiu que mais informações transmitidas pelo T_x chegassem ao R_x , ampliando, portanto, a precisão do modelo computacional.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós Graduação de Engenharia Elétrica (PPGEE) e ao Instituto Federal de Educação da Paraíba (IFPB).

REFERÊNCIAS

- [1] J. Lallouette, M. De Pittà, and H. Berry, "Astrocyte networks and intercellular calcium propagation," in *Computational Glioscience*. Springer, 2019, pp. 177–210.
- [2] S. Kirischuk, V. Parpura, and A. Verkhratsky, "Sodium dynamics: another key to astroglial excitability?" *Trends in neurosciences*, vol. 35, no. 8, pp. 497–506, 2012.
- [3] M. T. Barros, S. Balasubramaniam, and B. Jennings, "Comparative end-to-end analysis of Ca^{2+} -signaling-based molecular communication in biological tissues," *IEEE Transactions on Communications*, vol. 63, no. 12, pp. 5128–5142, 2015.
- [4] G. M. Cooper, "The cell: a molecular approach 2nd edition," 2000.
- [5] M. J. Shattock, M. Ottolia, D. M. Bers, M. P. Blaustein, A. Boguslavskiy, J. Bossuyt, J. H. Bridge, Y. Chen-Izu, C. E. Clancy, A. Edwards *et al.*, "Na⁺/Ca²⁺ exchange and Na⁺/K⁺-ATPase in the heart," *The Journal of physiology*, vol. 593, no. 6, pp. 1361–1382, 2015.
- [6] A. R. Brazhe, A. Y. Verisokin, D. V. Vervevko, and D. E. Postnov, "Sodium-calcium exchanger can account for regenerative Ca^{2+} entry in thin astrocyte processes," *Frontiers in cellular neuroscience*, vol. 12, p. 250, 2018.
- [7] J. P. Castillo, H. Rui, D. Basilio, A. Das, B. Roux, R. Latorre, F. Bezanilla, and M. Holmgren, "Mechanism of potassium ion uptake by the Na⁺/K⁺-ATPase," *Nature Communications*, vol. 6, p. 7622, 2015.
- [8] P. R. Kowey, "The role of potassium," in *Women's Health and Menopause*. Springer, 2002, pp. 151–157.
- [9] A. S. Pivovarov, F. Calahorra, and R. J. Walker, "Na⁺/K⁺-pump and neurotransmitter membrane receptors," *Invertebrate Neuroscience*, vol. 19, no. 1, p. 1, 2019.
- [10] K. Kholmurodov, M. Abasheva, K. Yasuoka *et al.*, "Molecular dynamics simulations of valinomycin interactions with potassium and sodium ions in water solvent," *Advances in Bioscience and Biotechnology*, vol. 1, no. 3, pp. 145–240, 2010.
- [11] M. T. Barros, W. Silva, and C. D. M. Regis, "The multi-scale impact of the Alzheimer's disease on the topology diversity of astrocytes molecular communications nanonetworks," *IEEE Access*, vol. 6, pp. 78 904–78 917, 2018.
- [12] M.-F. Jacobs, "Effects of aquatic acidification on calcium uptake in white river shrimp *Litopenaeus setiferus* gills," 2019.
- [13] I. J. Furlong, C. L. Mediavilla, R. Ascaso, A. L. Rivas, and M. K. Collins, "Induction of apoptosis by valinomycin: mitochondrial permeability transition causes intracellular acidification," *Cell Death & Differentiation*, vol. 5, no. 3, pp. 214–221, 1998.
- [14] R. Clarke, H.-J. Apell, and P. Lauger, "Pump current and Na⁺/K⁺ coupling ratio of Na⁺/K⁺-ATPase in reconstituted lipid vesicles," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, vol. 981, no. 2, pp. 326–336, 1989.
- [15] M. T. Barros and S. Dey, "Feed-forward and feedback control in astrocytes for Ca^{2+} -based molecular communications nanonetworks," *bioRxiv*, p. 177154, August 2017.
- [16] —, "Set point regulation of astrocyte intracellular Ca^{2+} signalling," in *2017 IEEE 17th International Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO)*. IEEE, 2017, pp. 315–320.
- [17] S. M. Na, "K⁺-ATPase: ubiquitous multifunctional transmembrane protein and its relevance to various pathophysiological conditions," *J Clin Med Res*, vol. 2, no. 1, pp. 1–17, 2010.
- [18] L. Hertz, J. Xu, D. Song, E. Yan, L. Gu, and L. Peng, "Astrocytic and neuronal accumulation of elevated extracellular K⁺ with a 2/3 K⁺/Na⁺ flux ratio—consequences for energy metabolism, osmolarity and higher brain function," *Frontiers in computational neuroscience*, vol. 7, p. 114, 2013.