

УДК 57:51-76; 57.02.001.57; 517.958:57



## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИФфуЗИИ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРА ПРИ ФИКСИРОВАННЫХ УГЛАХ ОТКРЫТИЯ ВЕЗИКУЛЫ

А.И. Олейник

ХНУРЭ, г. Харьков, Украина, oleinick@kture.kharkov.ua

В статье решена задача диффузионного массопереноса нейротрансмиттера при везикулярном экзоцитозе. Предложена новая математическая модель для фиксированного угла открытия везикулы. Численное решение задачи было получено при помощи построенного квазиконформного отображения.

ВЕЗИКУЛА, ДИФфуЗИЯ, МОДЕЛИРОВАНИЕ, КВАЗИКОНФОРМНОЕ ОТОБРАЖЕНИЕ, ИСКУССТВЕННЫЙ СИНАПС

### Введение

Диффузия биологически активных веществ (нейротрансмиттеров, гормонов, протеинов) из везикул является чрезвычайно важным процессом и встречается в таких жизненно важных явлениях, как передача нервного возбуждения в синапсах, соединяющих нейроны или секреция гормонов; внутриклеточных процессах, связанных с доставкой активных веществ везикулой в необходимые участки клетки и других [1-4]. Патологии, связанные с поведением везикулы во время диффузии содержащегося в ней вещества, приводят к различным заболеваниям, например, болезни Альцгеймера, нарушению выделения адреналина и так далее.

Для изучения, а также диагностики этих процессов, как правило, используются спектроскопические и/или электрохимические методы [3, 4]. Последние являются особенно эффективными в случае использования для измерений микро- и наноэлектродов, так как позволяют получать точную количественную информацию о потоке активных веществ и его динамике [3, 4]. Однако упомянутая информация с достаточной точностью может быть получена из экспериментальных данных только при наличии соответствующей теории.

Целью данной работы являлось построение математической модели процесса диффузионного массопереноса вещества из везикулы при ее мгновенном раскрытии на фиксированный угол, а также численное решение поставленной задачи.

#### 1. Математическая модель

Везикулярный экзоцитоз происходит по одной и той же схеме независимо от типа клеток, в которых совершается эмиссия того или иного вещества, хотя молекулярные механизмы, приводящие к экзоцитозу, как правило, существенно отличаются [1, 2]. Исходным состоянием везикулы является ее свободное расположение в цитоплазме, с последующим креплением к мембране клетки при помощи SNARE протеинов [5]. При получении сигнала, передаваемого, как правило, при помощи активации соответствующего протеина (синаптоагмин в нейронах), мембрана везикулы сливается с мембраной клетки с образованием поры (рис. 1).

Вещество, содержащееся в везикуле, начинает диффундировать через пору во внеклеточное пространство. В случае нейронов нейротрансмиттер диффундирует через синаптическую щель и достигает рецепторов, расположенных в пост-синаптической области и реагирующих на его концентрацию. Радиус поры, сразу после ее образования, составляет порядка нескольких ангстрем и увеличивается с течением времени.

Для изучения данного процесса нейрон или секреторная клетка изолируются, и в непосредственной близости к мембране клетки помещается микроэлектрод. Потенциал последнего устанавливается на плато окислительно-восстановительной волны детектируемого вещества содержащегося в везикуле.

Диффундируя из везикулы через пору, вещество под действием градиента концентрации и в силу того, что близость электрода ограничивает пространство доступное для диффузии, попадает в окрестность поверхности электрода, где протекает реакция переноса электрона (РПЭ). Регистрируемый на микроэлектроде ток характеризует концентрацию вещества и интенсивность его потока, а, следовательно, степень раскрытия везикулы. Описанный экспериментальный метод называется методом искусственного синапса, так как по характерному расположению элементов системы напоминает нейронный синапс [3, 4].

Следует особо отметить тот факт, что внутренность везикулы заполнена полиэлектrolитным гелем, в котором содержится соответствующее биологически активное вещество. Коэффициент диффузии вещества в полиэлектrolитном геле ( $D$ ), как правило, на два-три порядка меньше соответствующего коэффициента во внеклеточной жидкости ( $D_{out}$ ). Когда радиус везикулы ( $r_{ves}$ ) сравним с расстоянием между мембраной и поверхностью электрода ( $l$ ), что имеет место в эксперименте, характеристическое время диффузии внутри везикулы  $\tau_1 = r_{ves}^2 / D$  будет намного большим характеристического времени диффузии вне везикулы  $\tau_2 = l^2 / D_{out}$ . Поэтому условие равенства нулю

концентрации на поверхности электрода (так как потенциал электрода соответствует плато окислительно-восстановительной волны) можно перенести на открытую часть везикулы. Следовательно, при описанных выше условиях для моделирования «отклика», регистрируемого микроэлектродом, достаточно рассмотреть диффузию вещества внутри везикулы с условиями равенства концентрации вещества нулю на открытой поверхности везикулы (сферическая форма границы будет сохраняться благодаря полиэлектролитному гелю) и равенства нулю потока вещества на остальной части границы. Также будем считать в дальнейшем, что раскрытие везикулы на угол  $\alpha_{op}$  (рис. 1) происходит в момент времени  $t = 0$  и угол открытия в дальнейшем не изменяется.

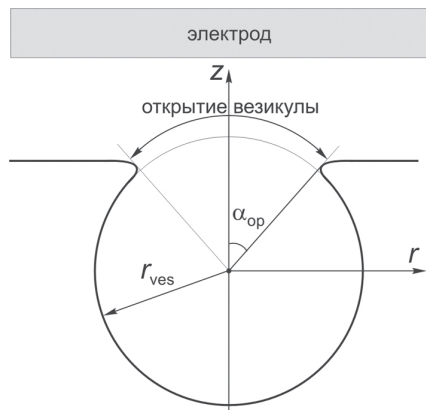


Рис. 1. Схематическое изображение открытой везикулы и расположения электрода

Используя осевую симметрию системы, запишем математическую модель в цилиндрических координатах. Для удобства вычислений, а также для того, чтобы полученные результаты имели большую общность, введем следующие безразмерные переменные:

$$R = \frac{r}{r_{ves}}, \quad Z = \frac{z}{r_{ves}}, \quad \tau = \frac{Dt}{r_{ves}^2}, \quad C = \frac{c}{c_0}, \quad (1)$$

где  $c_0$  — исходная концентрация вещества в закрытой везикуле.

Таким образом, уравнение диффузионного массопереноса вещества будет иметь следующий вид:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial R^2} + \frac{1}{R} \frac{\partial C}{\partial R} + \frac{\partial^2 C}{\partial Z^2}. \quad (2)$$

Начальные и граничные условия:

$$\tau = 0: \quad \forall R, Z: \quad R^2 + Z^2 \leq 1, \quad C = 1; \quad (3a)$$

$$\tau > 0: \quad R = 0, \quad -1 \leq Z \leq 1, \quad \frac{\partial C}{\partial R} = 0; \quad (3b)$$

$$R^2 + Z^2 = 1, \quad \alpha \leq \alpha_{op}, \quad C = 0; \quad (3в)$$

$$R^2 + Z^2 = 1, \quad \alpha > \alpha_{op}, \quad \frac{\partial C}{\partial \vec{\nu}} = 0, \quad (3г)$$

где  $\vec{\nu}$  — вектор единичной внутренней нормали.

Ток на микроэлектроде определяется интегралом от градиента концентрации по его поверхности [6]. Однако, учитывая вышесказанное, интеграл может быть записан по открытой поверхности везикулы ( $S_{op}$ ):

$$i(t) = nFD \int_{S_{op}} \frac{\partial c}{\partial \vec{\nu}} dS = nFDc_0 2\pi r_{ves} \int_{L_{op}} \frac{\partial C}{\partial R} R \sin \alpha dL, \quad (4)$$

где  $n$  — количество электронов участвующих в РПЭ от одной молекулы биологически активного вещества;  $F$  — константа Фарадея;  $L_{op}$  — дуга, соответствующая открытой части границы (рис. 1).

## 2. Квазиконформное отображение

Область моделирования является полукруг с чередующимися на полуокружности граничными условиями Дирихле и Неймана (см. уравнения (3)). В точке разрыва граничных условий поле концентраций будет иметь особенность, обусловленную сильными градиентами концентрации в окрестности этой точки. Эта особенность не проявляется лишь при очень малых временах, когда наблюдается планарная диффузия в области открытия везикулы. Указанное резкое изменение поля концентрации в окрестности точки, где меняется граничное условие, плохо поддается численному описанию и является источником ошибок. Поэтому для численного решения данной задачи необходимо использование неравномерных или адаптивных сеток. Для получения подходящей неравномерной сетки использовалось преобразование Шварца-Кристоффеля для круга [7]:

$$\omega^* = g(X) = K \int_0^X \prod_{i=1}^m \left( 1 - \frac{\zeta}{X_i} \right)^{\alpha_i - 1} d\zeta, \quad (5)$$

где  $X = R + iZ$ ;  $\omega^* = \xi^* + i\eta^*$ ;  $X_i$  — координаты вершин, расположенных на окружности (рис. 2а);  $\alpha_i$  — угол многоугольника в вершине  $\omega_i^*$  ( $\omega_i^* = g(X_i)$ );  $K$  — масштабный множитель;  $\zeta$  — переменная интегрирования. В нашем случае  $m = 4$  и все углы прямые.

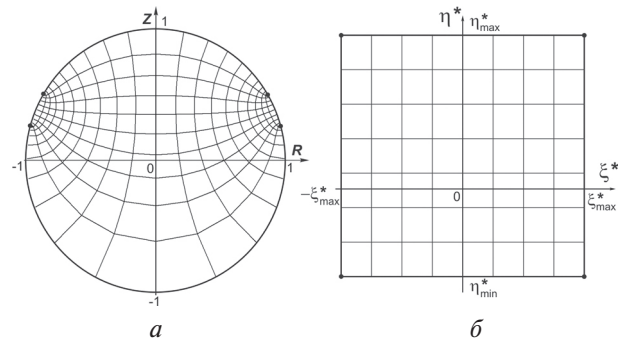


Рис. 2. Область моделирования в реальных и преобразованных координатах

В силу соображений симметрии будем рассматривать только правую половину области моделиро-

вания. Преобразование (5) конформно отображает правый полукруг единичного радиуса на прямоугольник  $[0; \xi_{\max}^*] \times [\eta_{\min}^*; \eta_{\max}^*]$  (рис. 2б), причем начало координат остается неподвижным.

Для удобства полученный прямоугольник масштабировался в единичный квадрат путем двух последовательных преобразований:

$$\tilde{\omega} = \tilde{\xi} + i\tilde{\eta} = \frac{1}{\xi_{\max}^*} [\xi^* + i\eta^*] \quad (6a)$$

в область моделирования  $[0; 1] \times [\tilde{\eta}_{\min}; \tilde{\eta}_{\max}]$  и посредством

$$\omega' = \xi' + i\eta' = \tilde{\xi} + i \frac{\tilde{\eta} - \tilde{\eta}_{\min}}{\tilde{\eta}_{\max} - \tilde{\eta}_{\min}} \quad (6б)$$

в область  $[0; 1] \times [0; 1]$ .

На рис. 3а изображена сетка в реальных координатах, соответствующая равномерной прямоугольной сетке в пространстве  $\omega'$  для угла открытия  $\alpha_{op} = 120^\circ$ . Большой угол открытия везикулы был выбран, чтобы продемонстрировать, что с увеличением угла открытия шаг сетки возле активной поверхности увеличивается. Соответственно, точность расчета потока вещества через эту поверхность ухудшается. Поэтому для углов открытия  $\alpha_{op} > \pi/2$  применялась дополнительная функция сжатия вдоль координаты  $\eta'$ , задаваемая кубическим сплайном Безье [8] в параметрической форме:

$$B_3(t) = P_0(1-t)^3 + 3P_1t(1-t)^2 + 3P_2t^2(1-t) + P_3t^3, \quad (7a)$$

$$\omega = \xi + i\eta = \xi' + iB_3[t(\eta')], \quad (7б)$$

где  $P_i = (\eta'; \eta)^T$  – векторы координат точек, задающих сплайн. Типичные значения точек  $P_i$  для углов больших  $\pi/3$  были следующими:  $P_0 = (0; 0)^T$ ,  $P_1 = (0,5; 0,75)^T$ ,  $P_2 = (0,5; 0,95)^T$ ,  $P_3 = (1; 1)^T$ .

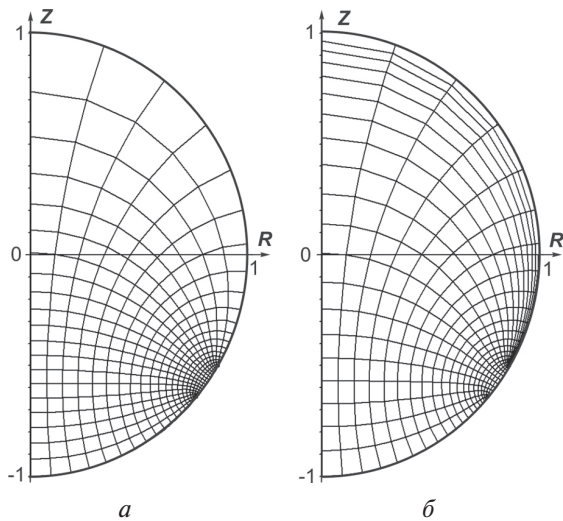


Рис. 3. Вычислительная сетка до (а) и после (б) применения дополнительного преобразования (6)

Сетка, изображенная на рис. 3б, соответствует указанному набору точек  $P_i$ . При этом четко вид-

но, что разрешение сетки в окрестности активной поверхности значительно улучшилось. Для малых углов открытия везикулы, то есть меньших  $\pi/3$ , использовался сплайн (7а), задаваемый точками  $P_0 = (0; 0)^T$ ,  $P_1 = (0,3; 0,05)^T$ ,  $P_2 = (0,4; 0,4)^T$ ,  $P_3 = (1; 1)^T$ .

Следует также отметить, что результирующее отображение (7б) является квазиконформным [9] (равно, как и промежуточное (6)) в силу дополнительного преобразования мнимой части.

### 3. Математическая модель в преобразованных координатах

Математическая модель в преобразованных координатах имеет следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C}{\partial \tau} = \det J^* & \left[ \frac{1}{\xi_{\max}^*} \frac{\partial^2 C}{\partial \xi^2} + \right. \\ & \left. + \frac{1}{(\tilde{\eta}_{\max} - \tilde{\eta}_{\min})^2} \left\{ \frac{1}{f'^2(\eta)} \frac{\partial^2 C}{\partial \eta^2} - \frac{f''(\eta)}{[f'(\eta)]^3} \frac{\partial C}{\partial \eta} \right\} \right] + \\ & + \frac{1}{R(\xi, \eta)} \left[ \frac{1}{\xi_{\max}^*} \frac{\partial C}{\partial \xi} \frac{\partial \xi^*}{\partial R} + \frac{1}{(\tilde{\eta}_{\max} - \tilde{\eta}_{\min}) f'(\eta)} \frac{\partial C}{\partial \eta} \frac{\partial \eta^*}{\partial R} \right], \end{aligned} \quad (8)$$

где для удобства записи мы обозначили

$$\eta' = f(\eta) = B_3^{-1}[t(\eta)],$$

а якобиан преобразования (5) и его частные производные вычислялись как:

$$\det J^* = |g'(X)|^2, \quad (9a)$$

$$\frac{\partial \xi^*}{\partial R} = \frac{\partial \eta^*}{\partial Z} = \operatorname{Re}[g'(X)], \quad (9б)$$

$$-\frac{\partial \xi^*}{\partial Z} = \frac{\partial \eta^*}{\partial R} = \operatorname{Im}[g'(X)]. \quad (9в)$$

Начальные и граничные условия имеют вид:

$$\tau = 0: \quad 0 \leq \xi \leq 1, \quad 0 \leq \eta \leq 1, \quad C = 1; \quad (10a)$$

$$\tau > 0: \quad \xi = 0, \quad 0 \leq \eta \leq 1, \quad \frac{\partial C}{\partial \xi} = 0; \quad (10б)$$

$$0 \leq \xi \leq 1, \quad \eta = 0, \quad \frac{\partial C}{\partial \eta} = 0; \quad (10в)$$

$$\xi = 1, \quad 0 \leq \eta \leq 1, \quad \frac{\partial C}{\partial \xi} = 0; \quad (10г)$$

$$0 \leq \xi \leq 1, \quad \eta = 1, \quad C = 0. \quad (10д)$$

Выражение для тока, регистрируемого микроэлектродом, (4) в преобразованных координатах будет иметь вид:

$$i(t) = 2\pi n F D c_0 r_{ves} \frac{\xi_{\max}^*}{(\eta_{\max}^* - \eta_{\min}^*) f'(1)} \int_0^1 \frac{\partial C}{\partial \eta} R(\xi, \eta) d\xi. \quad (11)$$

### 4. Результаты и обсуждение

Проверка правильности численных результатов была проведена при помощи сравнения их с некоторыми предельными случаями и известными аналитическими результатами.

Так, рассмотренная система является эквивалентной электрохимической системе с поверхностью электрода, соответствующей открытию везикулы, и РПЭ, протекающей на этой поверхности в условиях хроноамперометрического эксперимента. Поэтому в окрестности точки  $t = 0$  наблюдается планарная диффузия и отклик системы описывается уравнением Коттреля [6]:

$$i(t) = nFS c_0 \sqrt{\frac{D}{\pi t}} = nF2\pi r_{ves}^2 (1 - \cos \alpha_{op}) c_0 \sqrt{\frac{D}{\pi t}} \quad (12)$$

где  $S = 2\pi r_{ves}^2 (1 - \cos \alpha_{op})$  – площадь сферического сегмента, открытого во внеклеточное пространство.

Известно, что нагретые тела конечных размеров после некоторого начального периода остывают по экспоненциальному закону [10]. В силу эквивалентности уравнений теплопроводности и диффузии, аналогичное поведение должно наблюдаться и для рассмотренной системы, то есть в заключительной фазе эксперимента (когда значительная часть содержащегося в везикуле вещества уже эмитирована) ток на электроде будет убывать экспоненциально.

Другим предельным случаем является ситуация полного открытия везикулы, то есть когда  $\alpha_{op} = \pi$  и математическая модель может быть записана с использованием одного пространственного измерения. Решение этой (нестационарной) задачи известно в аналитическом виде [11] и модифицированное для нашей конкретной ситуации запишется в следующем виде:

$$i(t) = -nFD4\pi r_{ves}^2 \left. \frac{\partial c}{\partial r} \right|_{r=r_{ves}} = nFDc_0 8\pi r_{ves} \sum_{k=1}^{\infty} \exp\left[-\frac{\pi^2 k^2 Dt}{r_{ves}^2}\right] \quad (13)$$

На рис. 4 приведены вычисленные зависимости тока от времени в двойном логарифмическом масштабе для трех характерных ситуаций, когда угол открытия составляет  $\pi/6$ ,  $\pi/2$  и  $5\pi/6$  (кривые 1-3 соответственно). Как и ожидалось, амплитуда тока при малых временах тем больше, чем больше угол открытия, так как ток при этих условиях пропорционален площади открытия везикулы. Серыми штриховыми линиями показаны коттрелевские токи, полученные из уравнения (12). В двойном логарифмическом масштабе данные зависимости представляют собой прямые с угловым коэффициентом равным  $(-1/2)$ , так как  $i(t) \sim 1/\sqrt{t}$ . Вычисленные токи хорошо согласуются с предельными коттрелевскими токами.

В силу того, что везикула содержит конечное количество вещества, большие токи в начале эксперимента компенсируются более резким спадом с увеличением времени. Штрихпунктирной ли-

нией (кривая 4 на рис. 4) показано аналитическое решение (13) для полного открытия везикулы, которая демонстрирует правильность поведения численных результатов с увеличением угла открытия везикулы. Характерные плато, которые видны на рис. 4 (кривые 2 и 3), обусловлены конечной точностью представления вещественных чисел, которая составляла 16-17 значащих цифр.

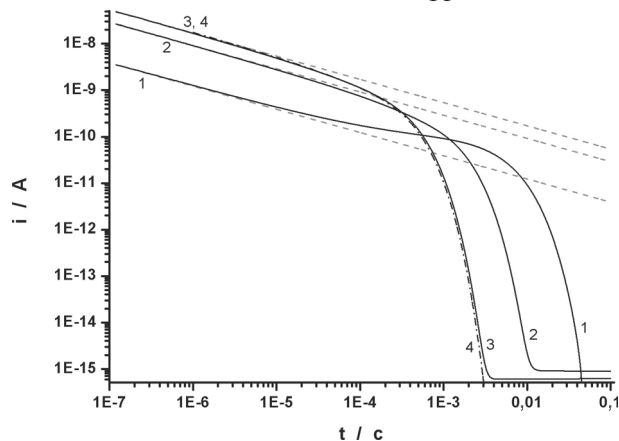


Рис. 4. Зависимость тока от времени в двойном логарифмическом масштабе:  
1 –  $\alpha_{op} = \pi/6$ ; 2 –  $\alpha_{op} = \pi/2$ ; 3 –  $\alpha_{op} = 5\pi/6$ ;  
4 –  $\alpha_{op} = \pi$ . Штриховые линии – коттрелевские токи (уравнение (12)), штрихпунктирная – ток, вычисленный по уравнению (13)

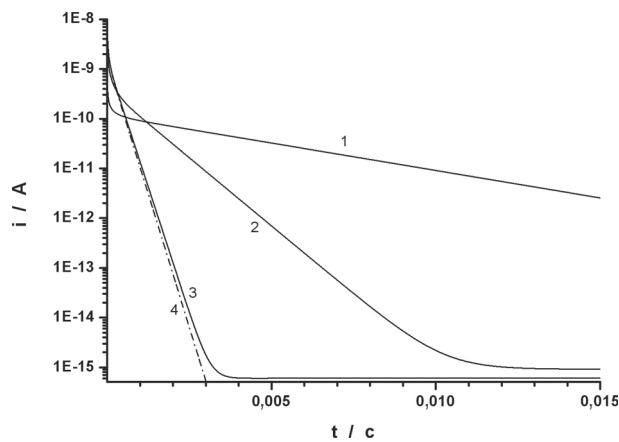


Рис. 5. Зависимость тока от времени в логарифмическом масштабе по току:  
1 –  $\alpha_{op} = \pi/6$ ; 2 –  $\alpha_{op} = \pi/2$ ;  
3 –  $\alpha_{op} = 5\pi/6$ ; 4 –  $\alpha_{op} = \pi$

Рис. 5 содержит те же численные результаты, что представлены на рис. 4 вместе с аналитическим решением (13), но с логарифмическим масштабом только по оси токов. Как было сказано выше, после прохождения начальной фазы эксперимента, токи убывают экспоненциально, о чем и свидетельствуют прямолинейные участки (в логарифмическом масштабе) показанных зависимостей на рис. 5.

Численные результаты также должны удовлетворять закону сохранения заряда. В силу того, что общее количество заряда, содержащееся в везикуле, может быть вычислено по формуле

$Q = (4/3)\pi r_{ves}^3 n F c_0$ , а также дается интегралом тока [6]

$$Q = \int_0^{T_e} i(t) dt, \quad (14)$$

где  $T_e$  — общая длительность эксперимента, в течение которой везикула полностью опустошается. Результаты проверки показали, что закон сохранения выполняется и относительная ошибка в значении количества заряда, найденного по вычисленным токам с использованием уравнения (14), не превышает 0,25%.

### Выводы

В работе предложена новая математическая модель диффузионного переноса биологически активного вещества из везикулы при ее открытии на фиксированный угол. Для численного решения данной задачи был предложен гибкий подход, основанный на применении квазиконформного отображения, позволяющего получать точные результаты для произвольного угла открытия везикулы. Сравнение полученных численных результатов с предельными случаями и аналитическими решениями подтверждают высокую точность результатов. Полученные результаты являются важными и необходимыми для решения следующей, более сложной задачи, а именно, когда открытие везикулы является динамическим процессом, зависящим от времени.

**Список литературы:** 1. Lehninger, A. Principles of Biochemistry [Текст] / A. Lehninger. — W.H. Freeman & Co, 2004. — 1110 p. 2. Люин, Б. Гены [Текст] / Б. Люин. — М.: Мир, 1987. — 544 с. 3. Amatore, C. Ultramicroelectrodes: Their Basic Properties and their Use in Semi-Artificial Synapses [Текст] / C. Amatore // C.R. Acad. Sci. Ser. Iib. — 1996. — V. 323. — P. 757-771. 4. Amatore, C. Time-resolved dynamics of the vesicle membrane during individual exocytotic secretion events, as extracted from amperometric monitoring of adrenaline exocytosis from chromaffin cells [Текст] / C. Amatore, Y. Bouret, L. Midrier // Chem. Eur. J. — 1999. — V. 5(7). — P. 2151 — 2162. 5. Zenisek, D. Transport, capture and exocytosis of single synaptic vesicles at active zones [Текст] / D. Zenisek, J. A. Steyer, W. Almers // Nature. — 2000. — V. 406. — P. 849 — 854. 6. Bard, A. Electrochemical methods: Foundations and Applications [Текст] / A. Bard, L. Faulkner. — John Wiley &

Sons, Inc., 2001. — 834 p. 7. Driscoll, T.A. Schwarz-Christoffel mapping [Текст] / T.A. Driscoll, L.N. Trefethen. — Cambridge University Press, 2002. — 132 p. 8. Хилл, Ф. OpenGL. Программирование компьютерной графики [Текст] / Ф. Хилл. — СПб.: Питер, 2002. — 1088 с. 9. Лаврентьев, М.А. Методы теории функций комплексного переменного [Текст] / М.А. Лаврентьев, Б.В. Шабат. — М.: Наука, 1973. — 736 с. 10. Тихонов, А.Н. Уравнения математической физики [Текст] / А.Н. Тихонов, А.А. Самарский — М.: Наука, 1966. — 724 с. 11. Полянин, А.Д. Справочник по точным решениям уравнений тепло- и массопереноса [Текст] / А.Д. Полянин, А.В. Вязьмин, А.И. Журов, Д.А. Казенин. — М.: Факториал, 1998. — 368с.

Надійшла до редколегії 21.10.2009

УДК 57:51-76; 57.02.001.57; 517.958:57

**Математичне моделювання дифузії нейротрансмітера у разі фіксованих кутів відкриття везикули** / О.І. Олійник // Біоніка інтелекту: наук.-техн. журнал. — 2009. — № 2 (71). — С. 106-110.

У статті запропонована математична модель дифузії нейротрансмітера у нейтронному синапсі в процесі везикулярного екзоцитозу. Наведено модельне уявлення для електрохімічного штучного синапсу — широківживаний метод дослідження емісії/секреції біологічно активних речовин клітинами — що дозволяє обчислювати струми для порівняння з даними, отриманими експериментальним шляхом. Дану задачу було розв'язано чисельно за допомогою квазиконформного відображення. Вірність чисельного розв'язку було доведено порівнянням з відомими розв'язками для деяких граничних випадків та перевіркою виконання закону збереження заряду.

Л. 5. Бібліогр.: 11 найм.

UDK 57:51-76; 57.02.001.57; 517.958:57

**Mathematical modelling of neurotransmitter diffusion from a vesicle at fixed opening angles** / A.I. Oleinick // Bionics of Intelligence: Sci. Mag. — 2009. — № 2 (71). — P. 106-110.

A mathematical model of neurotransmitter diffusion within a neuronal synapse during vesicular exocytosis is proposed. The model view for the electrochemical artificial synapse, which is a widespread method for studying cell emission/secretion of biologically active species, is given. This allows the computation of current for comparison with experimental data. The problem was solved numerically via the application of the proposed in this work quasiconformal mapping. The validity of the numerical solution was proven by its comparison with known analytical solutions for limiting cases and by ensuring the fulfilment of the charge conservation law.

Fig. 5. Ref.: 11 items.