

XV конференция «Математические модели и численные методы в биологии и медицине»

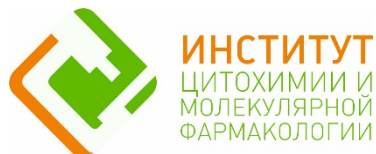
Москва, 1-3 ноября 2023 г.

Моделирование конвекционной диффузии нейромедиатора на примере 3D модели изолированного глутаматергического синапса

Загубная Ольга Анатольевна, Нарциссов Ярослав Рюрикович

НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, Москва, Россия

Группа биомедицинских исследований, БиДиФарма ГмбХ, Зик,
Германия

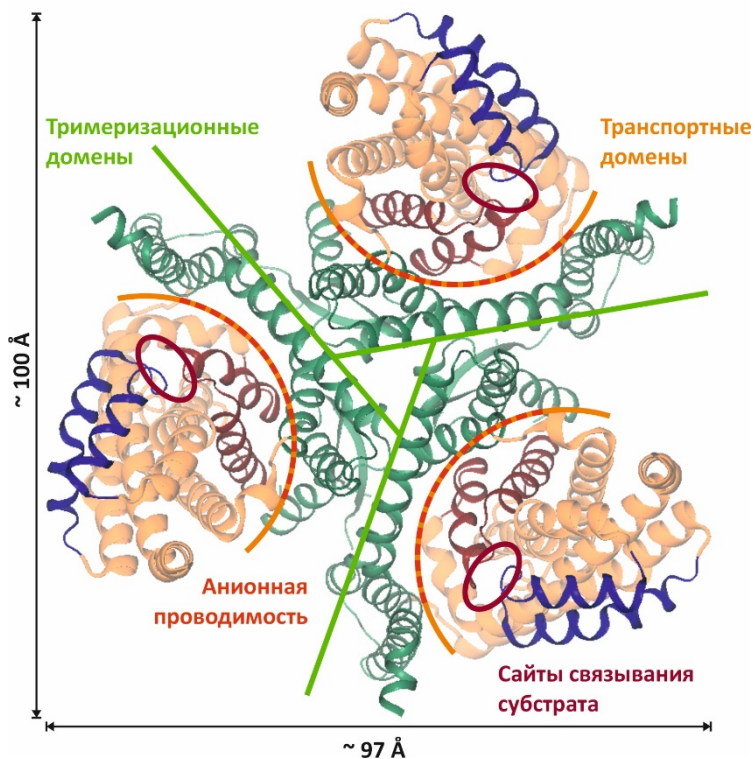
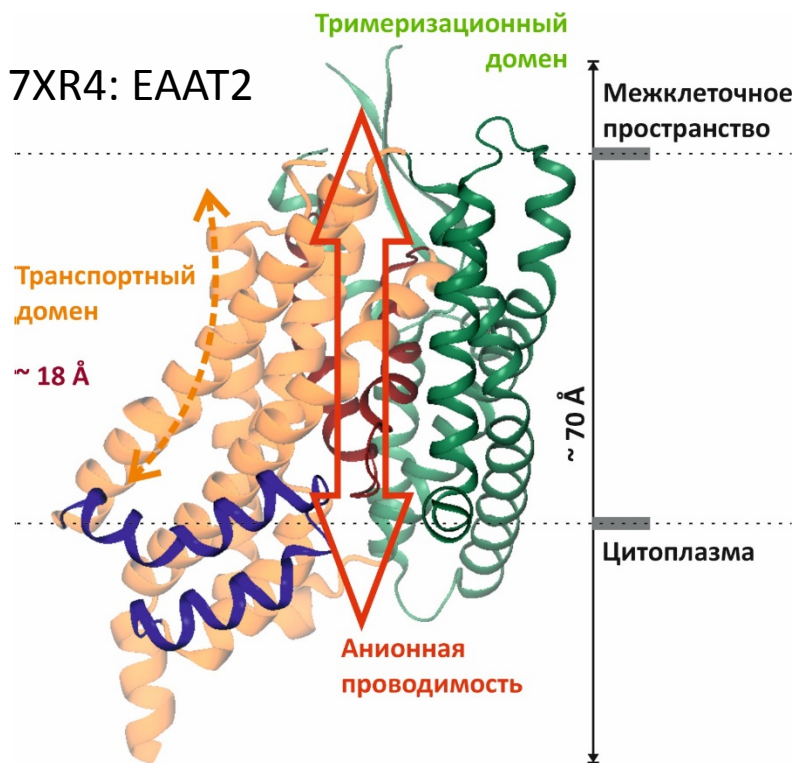




Глутамат

- L-глутаминовая кислота – **основной возбуждающий нейромедиатор ЦНС**
- Глутамат **не проникает через ГЭБ** и синтезируется *de novo* из α -кетоглутарата, участвует в регуляции клеточного дыхания и генерации АФК
- **Глутаматэргическая нейротрансмиссия** играет ключевую роль в формировании и обрезке синаптических контактов, клеточной миграции и дифференциации, а также в **синаптической пластичности** (сознание, память и обучение)
- **Повышенный уровень глутамата** приводит к чрезмерной активации глутаматных рецепторов и нейродегенерации, что определяет его эксайтотоксическое действие
- Эксайтотоксичность **связывают с нарушением способности астроцитов осуществлять обратный захват глутамата** и удерживать его физиологическую концентрацию в межклеточной среде
- Данное нарушение **является основной чертой многих нейродегенеративных заболеваний**, таких как инсульт/ишемия, эпилепсия, болезни Альцгеймера и Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, а также черепно-мозговых травм
- **Обратный захват глутамата осуществляют глутаматные переносчики**, которые носят номенклатурное название переносчики возбуждающей аминокислоты (**Excitatory Amino Acid Transporters**)
- Определено **5 типов глутаматных переносчиков (EAAT1-5)**, все они принадлежат к 1A семейству переносчиков растворимых веществ (Solute Carrier 1A family, SLC1A)

Глутаматные переносчики



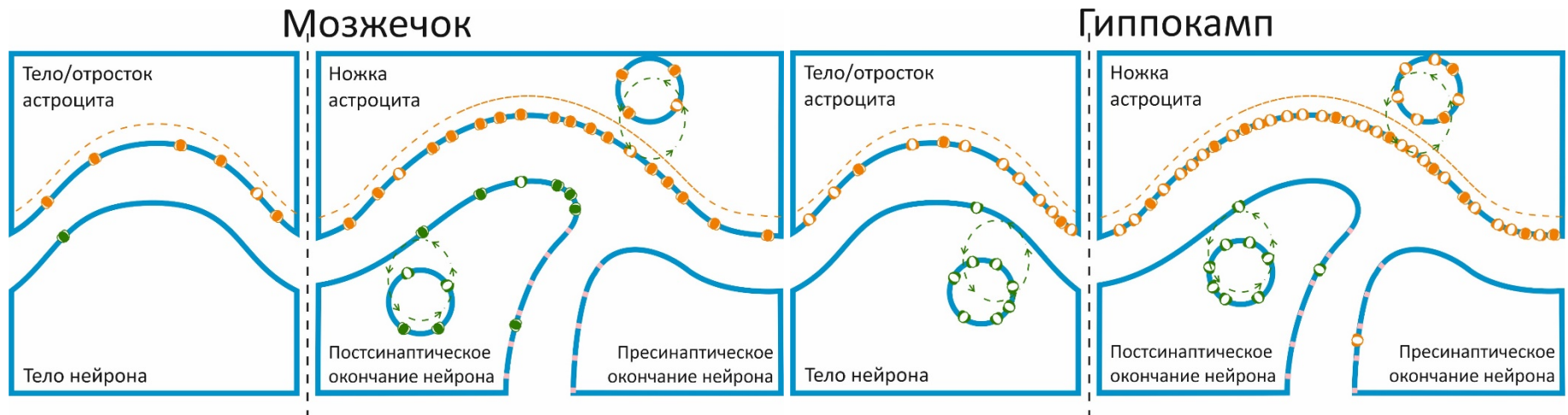
- Структура и функции EAAT описаны благодаря бактериальным гомологам из *Pyrococcus horikoshii* **Glt_{ph}** и *Thermococcus kodakarensis* **Glt_{tk}**, однако на данный момент успешно кристаллизованы EAAT1-3 человека
- Мономер EAAT состоит из **тримеризационного** и **транспортного** доменов и обладает воротными механизмами (шпильки **HP1** и **HP2**).
- EAAT1 и EAAT2 – гомотримеры, EAAT3 и EAAT4 – гомо- и гетеротримеры с EAAT4 и EAAT3, соответственно.
- Каждая субъединица тримера EAAT функционирует независимо от двух соседних субъединиц белка.
- Вторичный транспорт Glu⁻ связан с совместным переносом 3 ионов Na⁺ и H⁺, и обратным переносом K⁺.
- Анионная проводимость стехиометрически не связана с переносом субстрата. Минимальный размер пути 5,6 Å.

1. Zhang Z. et al. Structural basis of ligand binding modes of human EAAT2. Nat Commun. 2022.

2. Kovermann P et al. Cellular Physiology and Pathophysiology of EAAT Anion Channels. Frontiers in cellular neuroscience. 2022.



Локализация и характеристики EAAT



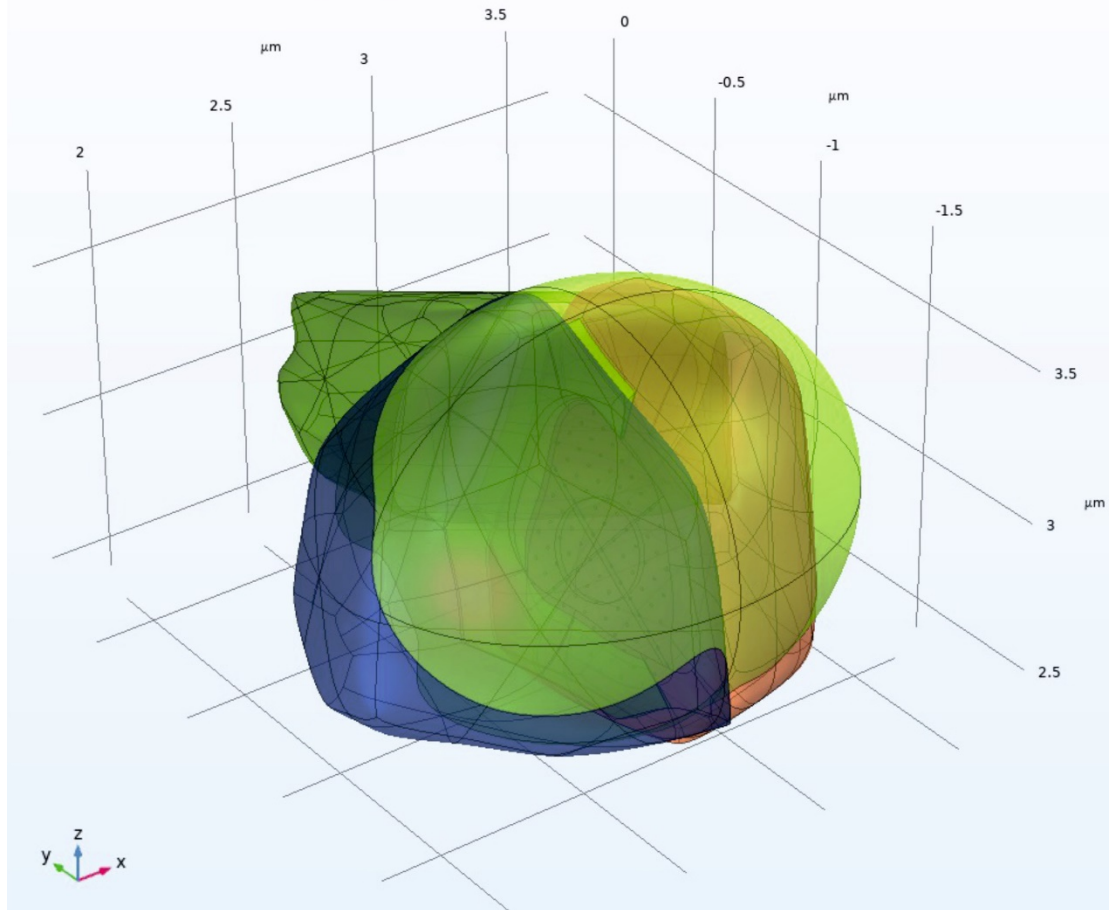
Белок	EAAT1 (SLC1A3)	EAAT2 (SLC1A2)	EAAT3 (SLC1A1)	EAAT4 (SLC1A6)	EAAT5 (SLC1A7)
Обозначение					
Локализация	<u>Астроциты</u> (CA1) мозжечка, гиппокампа и сетчатки. <u>Обнаружены</u> в обонятельных луковицах, коре, таламусе, внутреннем ухе, циркумвентрикулярных органах.	<u>Астроциты</u> гиппокампа и мозжечка. Пресинаптическая мембрана <u>нейронов</u> . <u>Обнаружены</u> в коре, таламусе, обонятельных луковицах, новой коре, полосатом теле, эпифизе.	<u>Нейроны</u> гиппокампа, мозжечка и сетчатки. <u>Обнаружены</u> в спинном мозге, голубом пятне, спинальных ганглиях, коре, желудочках, почках, эпителиальных клетках кишечника.	<u>Нейроны</u> (Пуркинье) мозжечка. <u>Обнаружены</u> в глиальных культурах переднего и спинного мозга.	<u>Сетчатка: нейроны</u> (фоторецепторы и биполярные клетки) и <u>глия</u> (клетки Мюллера).
Cl ⁻ -проводимость	Умеренная	Низкая	Умеренная	Высокая	Высокая
Кинетические параметры	K _m = 22÷48 μM Оборот белка = 62 мс	K _m = 12÷97 μM Оборот белка = 41 мс	K _m = 42÷62 μM Оборот белка = 10 мс	K _m = 2,5 μM Оборот белка > 166 мс	K _m = 61÷62 μM Оборот белка > 1000 мс

- Todd A.C. et al. The Regulation of Astrocytic Glutamate Transporters in Health and Neurodegenerative Diseases. Int J Mol Sci. 2020.
- Alleva C. et al. Molecular Basis of Coupled Transport and Anion Conduction in Excitatory Amino Acid Transporters. Neurochem Res. 2022.



Реконструкция фантома

- 3D диаграмма Вороного – объемный объект с определенными границами и гранями.
- Объекты объединяются друг с другом процедурами «loft» и серией Булевых операций и могут быть использованы в качестве виртуальной имитации паренхимы мозга [1].



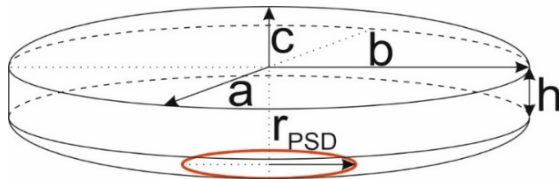
- Между смежными объектами в соответствии с литературными данными размещаются пространства синаптических щелей [2].
- К пространству синаптической щели с помощью описанных операций протягивается отросток астроцита [3].
- Вокруг сформированных частей нейронов, синаптического контакта и окружающего контакт отростка астроцита описывается эллиптическая область определяющая местоположение интерстициальной жидкости.
- Пространство синаптической щели и эллиптическая область в совокупности являются объектом моделирования конвекционной диффузии глутамата.

1. Nartsissov Y.R. A novel algorithm of the digital nervous tissue phantom creation based on 3D Voronoi diagram application. *J. Phys.* 2021.
2. Nartsissov Y.R., Zagubnaya O.A. A Digital 3D Reconstruction of A Synaptic Cleft Which Can Be Used for Further Modeling of Neuromediators Convекционаl Diffusion in A Nervous Tissue. *J. Phys.* 2023.
3. Nartsissov, Y.R.; Ivontsin, L.A. Mathematical Modelling of Physiological Effects Caused by a Glycine Receptors Post-Synaptic Density Spatial Polymorphism. *Mathematics.* 2023.



Глутаматергический синапс

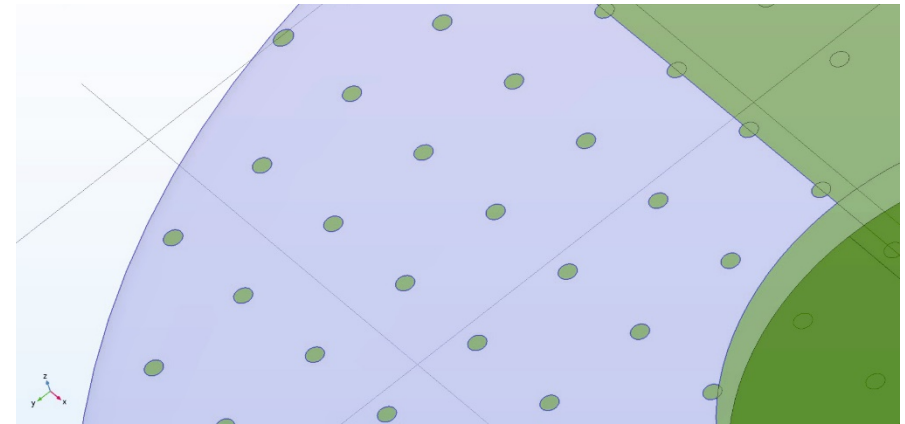
• 3D модель [1]:



Параметры синапса	Значения
a, b, c, h; нм	450, 450, 8, 9
H, нм V, $\mu\text{м}^3$	25 $12,5 \cdot 10^{-3}$

• Выброс нейромедиатора [2]:

- “Kiss-and-run”, пора ~ 2 нм
- “Partial release”, пора ≤ 9 нм
- “Full fusion”



• Параметры везикул [3]:

- $D_{\text{Ves}} = 47$ нм
- Длительность выброса ~ 10 мс
- Расстояние между везикулами 7 нм*

1. Nartsissov Y.R., Zagubnaya O.A. A Digital 3D Reconstruction of A Synaptic Cleft Which Can Be Used for Further Modeling of Neuromediators Convectonal Diffusion in A Nervous Tissue. *J. Phys.* 2023.
2. Borges R. et al. The dynamic nature of exocytosis from large secretory vesicles. A view from electrochemistry and imaging. *Cell Calcium* 110. 2023.
3. Wu Q. et al. Dynamin 1 Restrains Vesicular Release to a Subquantal Mode In Mammalian Adrenal Chromaffin Cells. *J. Neurosci.* 39(2) 2019



Постановка задачи

- Уравнение конвекции диффузии в общем виде:
 - В интерстиции нет потребления GS
 - В нейронах и астроците нет конвекции

$$\frac{\partial C_{Glu}(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{J}_{Glu} - \cancel{\vec{u} \cdot \nabla C_{Glu}(\vec{r}, t)} + \cancel{f_{consumption}(C_{Glu}(\vec{r}, t))}$$

$$\vec{J}_{Glu} = -D_{Glu} \nabla C_{Glu}(\vec{r}, t);$$

- Скорость конвекционного потока $u = 5 \cdot 10^{-7}$ м/с вдоль оси ординат
- $f_{consumption}$ – потребление глутамата глутаминсинтетазой (GS) в нейронах и в астроците

- Граничное условие 1 рода

$$C_{Glu}(\vec{r}, t)|_{\vec{r} \in \partial\Omega} = C_{Glu}^{in}$$

- Граничное условие 2 рода для потоков внутрь или наружу моделируемого тела

$$-\vec{n} \cdot \vec{J}_{Glu} = g_{flux}^i(C_{Glu}(\vec{r}, t));$$

- Условие открытой границы

$$-\vec{n} \cdot \vec{J}_{Glu}|_{\vec{r} \in \partial\Omega} = 0; \quad \vec{n} \cdot \vec{u} \geq 0;$$

$$C_{Glu}(\vec{r}, t)|_{\vec{r} \in \partial\Omega} = C_{Glu}^{\alpha}; \quad \vec{n} \cdot \vec{u} < 0;$$

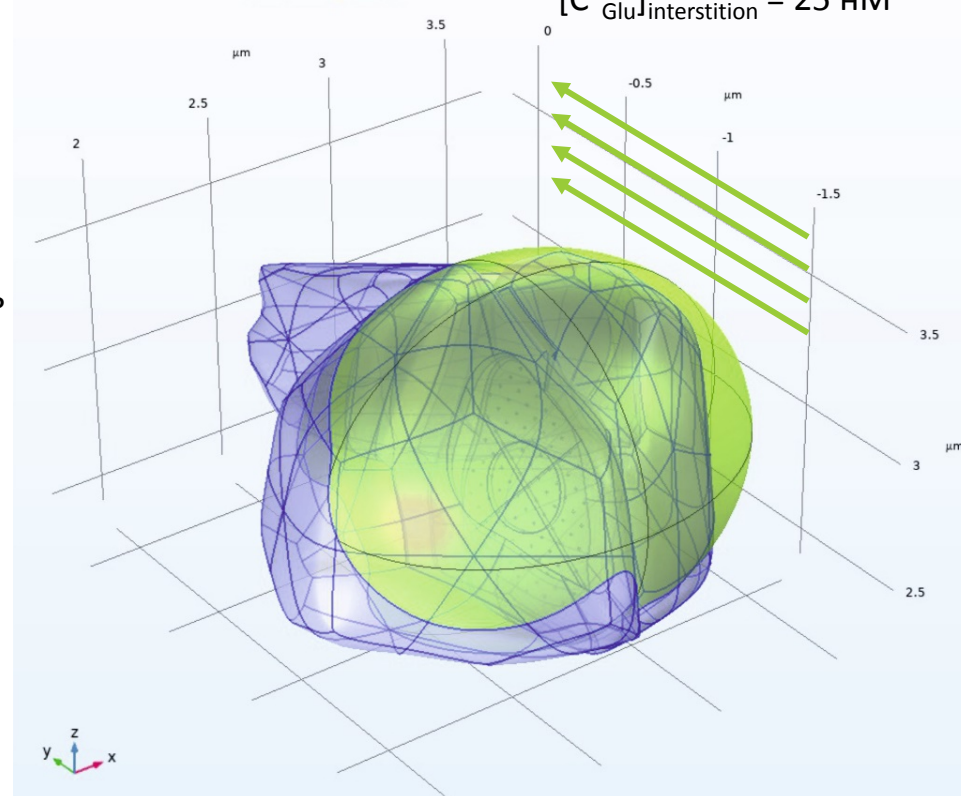
- Начальные условия

$$C_{Glu}(\vec{r}, t)|_{t=0} = C_{Glu}^0$$

$$[C_{Glu}^0]_{neuron} = 2 \text{ mM}$$

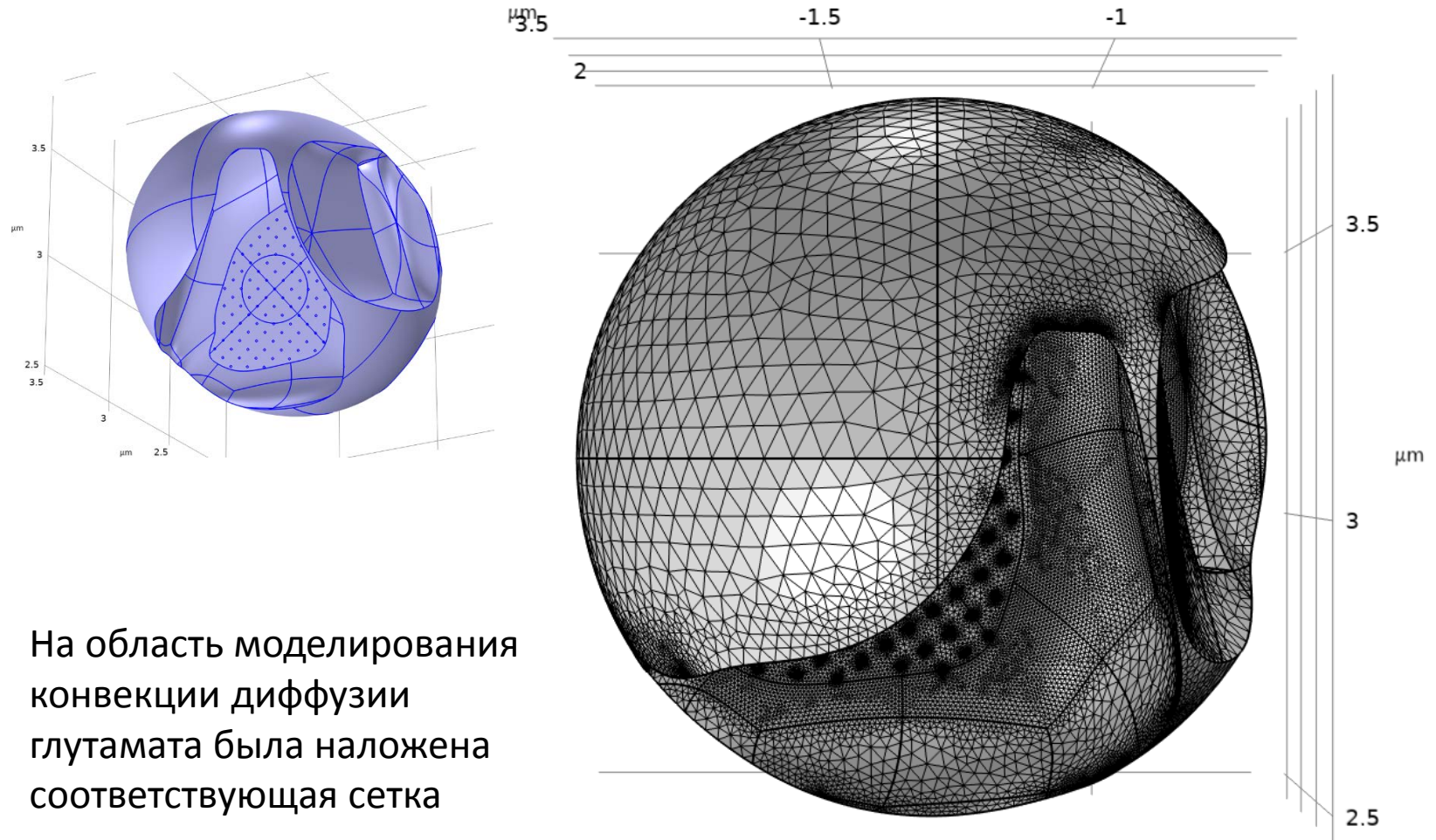
$$[C_{Glu}^0]_{astrocyte} = 0,1 \text{ mM}$$

$$[C_{Glu}^0]_{interstition} = 25 \text{ nM}$$





Процесс моделирования

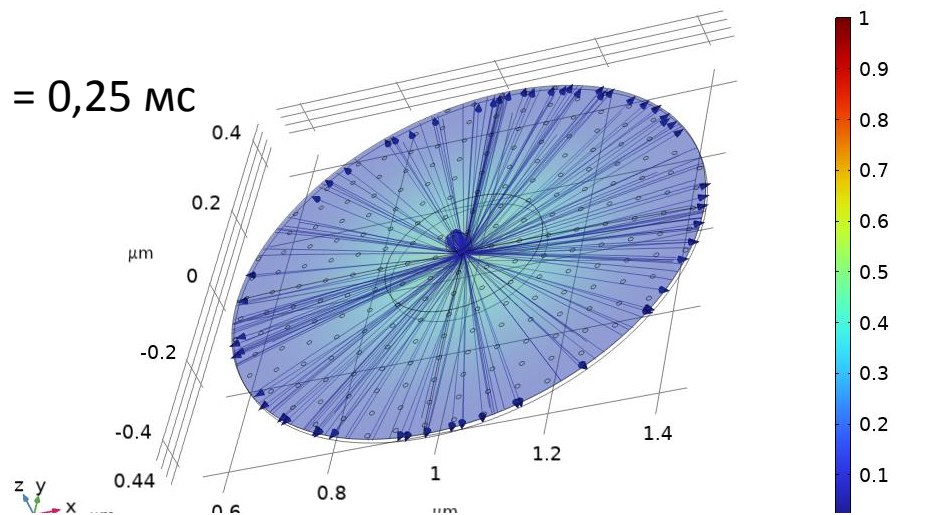




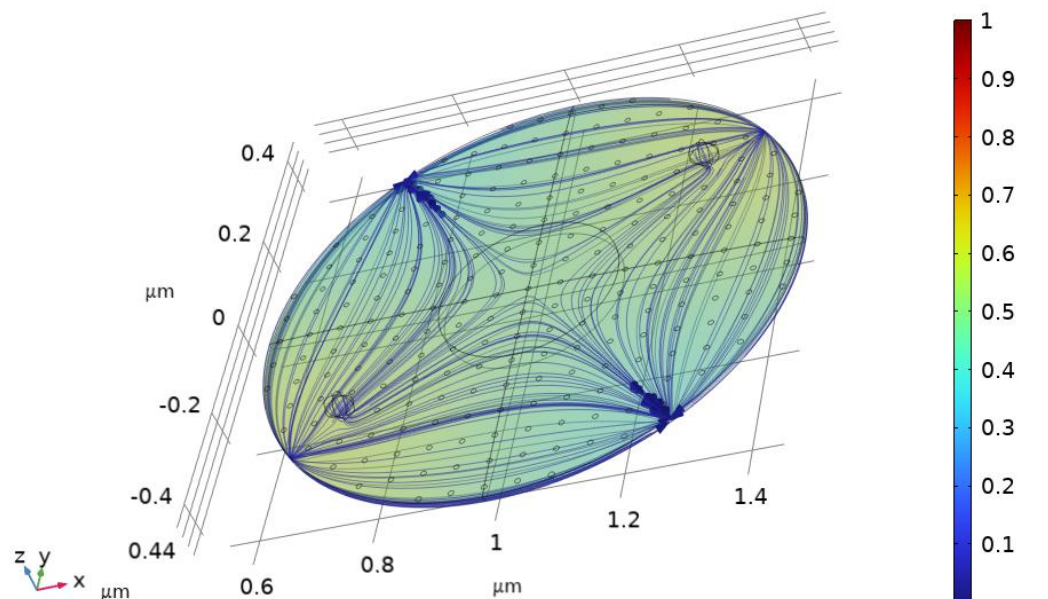
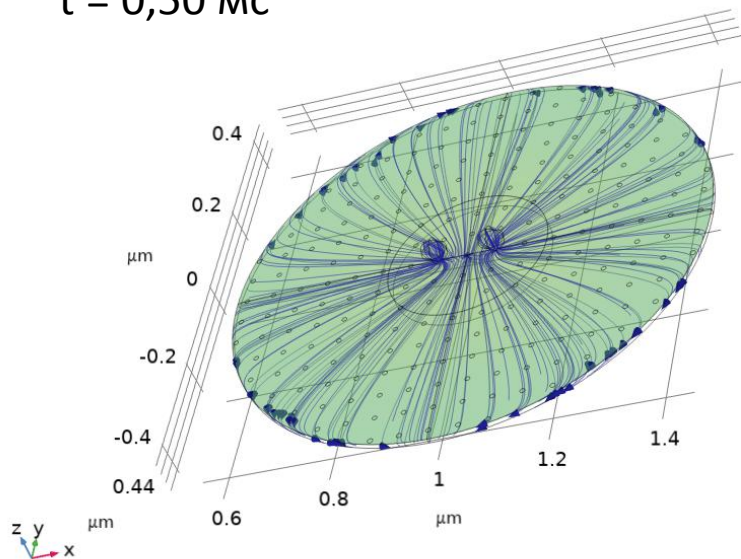
Частичное высвобождение глутамата

- Локальный частичный выброс глутамата из пресинаптической везикулы, $C_{\text{Glu_Ves}} = 60 \text{ mM}$
- Совместный выброс из двух близких к центральной части синапса
- Совместный выброс из двух отдаленных от центральной части синапса

$t = 0,25 \text{ мс}$



$t = 0,50 \text{ мс}$





Выброс глутамата

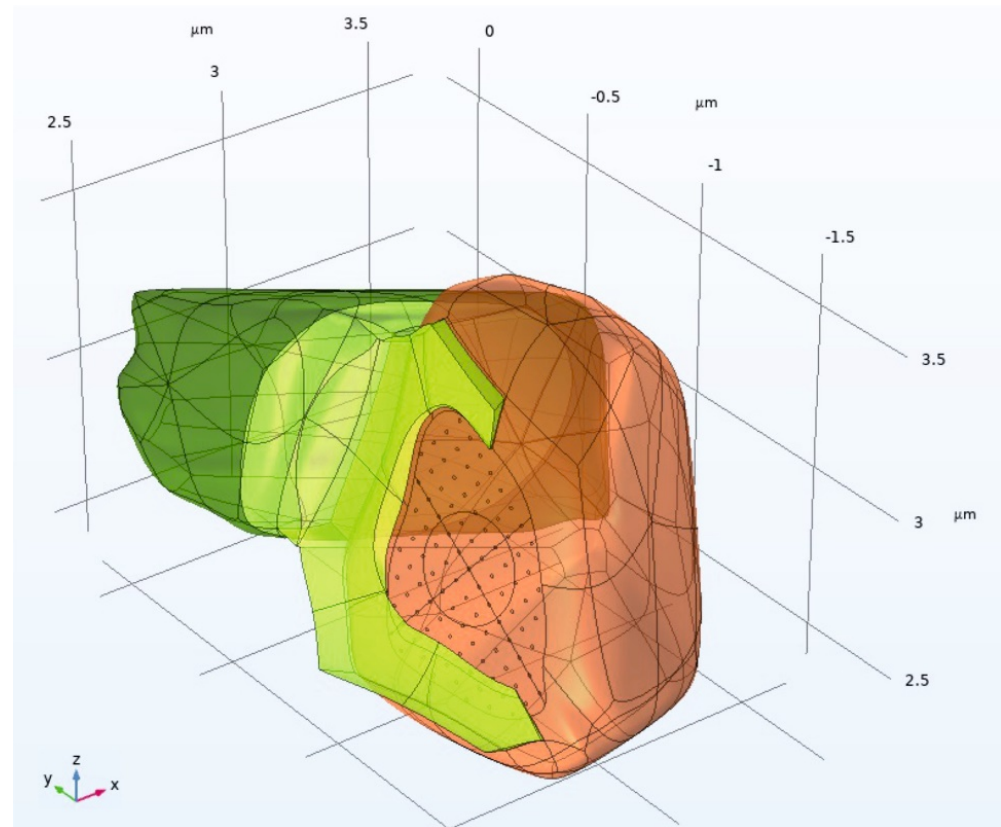
- Спайк

$$C_{Glu}(\vec{r}, t) \Big|_{\vec{r} \in \partial\Omega_{spike}} = C_{Glu}^{in} + (C_{Glu}^{spike} - C_{Glu}^{in}) \cdot \omega(t)$$

- $\omega(t)$ – сглаженная П-образная функция длительностью 10 мс

- Концентрация глутамата в спайке при выбросе из одной везикулы, полученная в ходе моделирования, равна 0,25 мМ

- При описании одновременного выброса из двух везикул в каждой соответствующей выбросу области задавалась аналогичная концентрация

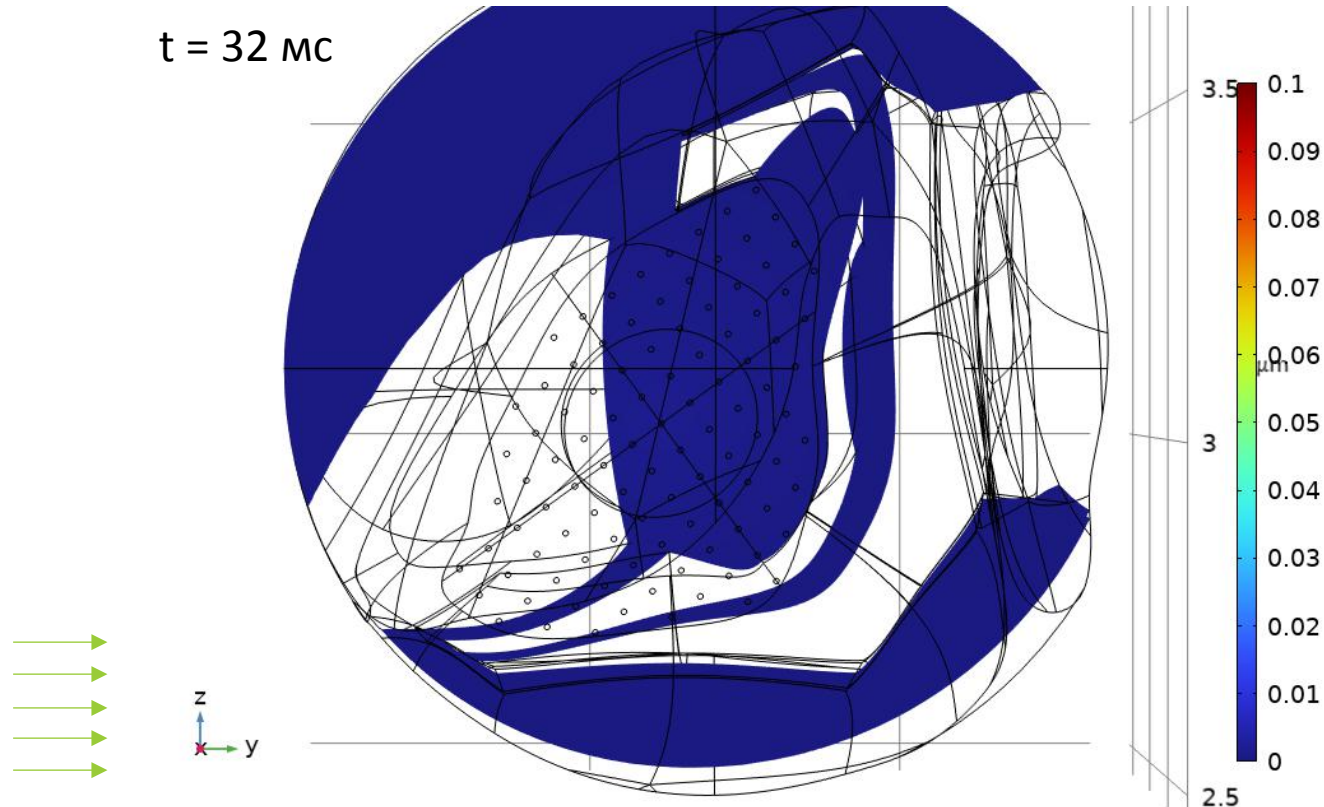




Конвекция диффузия глутамата

Единичный выброс в центре

$t = 32 \text{ мс}$



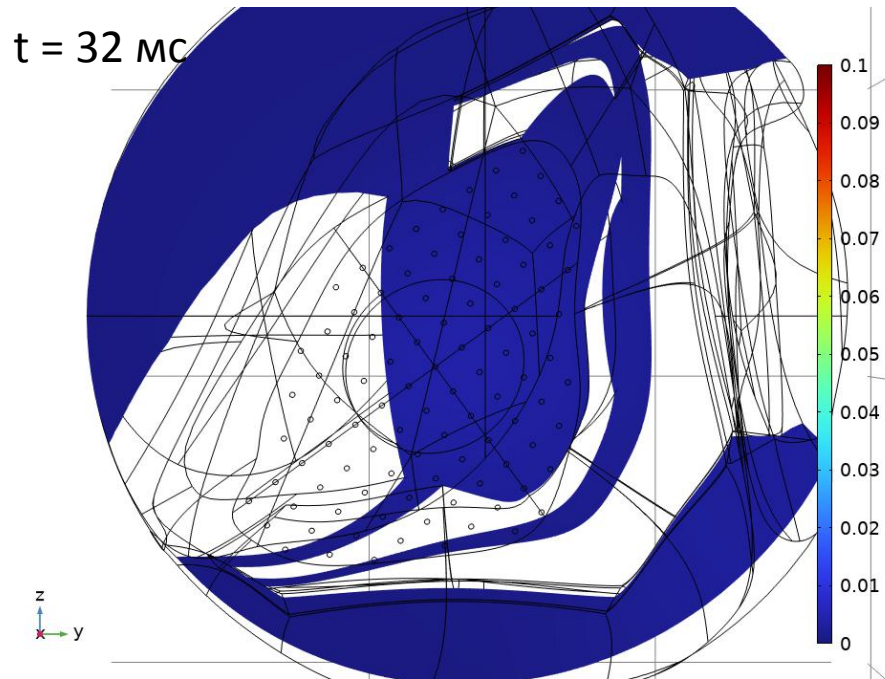
- Поток глутамата в интерстиции при концентрации EAAT2 равной 7500 штук в $1 \mu\text{м}^2$ на мембране астроцита и 750 штук в $1 \mu\text{м}^2$ на мембране нейрона
- Моделирование конвекционной диффузии глутамата проводилось при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Кинетические параметры модели:
- EAAT2: $K_M = 12 \mu\text{M}$, оборот белка 41 с^{-1}
- Глутаминсинтетаза: $K_M = 1,67 \text{ mM}$, $V_{\text{max}} = 15,9 \text{ M}^* \text{с}^{-1}$; $[C_{\text{GS}}]_{\text{neuron}} = 0,01 \text{ кг/м}^3$, $[C_{\text{GS}}]_{\text{astrocyte}} = 0,1 \text{ кг/м}^3$



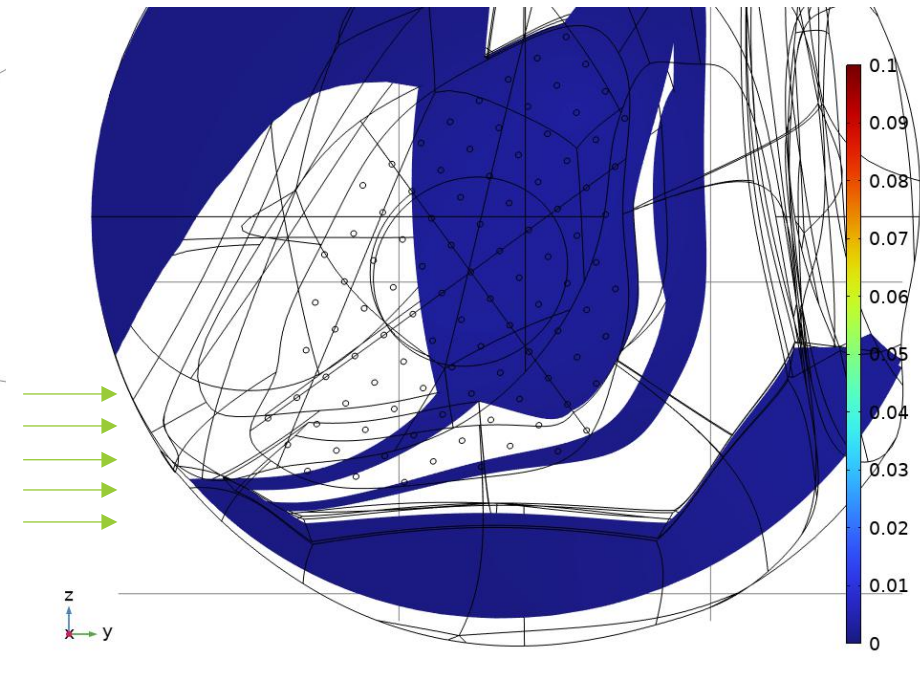
Конвекция диффузия глутамата

Одновременный выброс двух везикул

В центре



Периферийно



- Поток глутамата в интерстиции при концентрации EAAT2 равной 7500 штук в $1 \mu\text{m}^2$ на мембране астроцита и 750 штук в $1 \mu\text{m}^2$ на мембране нейрона
- Моделирование конвекционной диффузии глутамата проводилось при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Кинетические параметры модели:
- EAAT2: $K_M = 12 \mu\text{M}$, оборот белка 41 с^{-1}
- Глутаминсинтетаза: $K_M = 1,67 \text{ mM}$, $V_{\text{max}} = 15,9 \text{ M} \cdot \text{с}^{-1}$; $[C_{\text{GS}}]_{\text{neuron}} = 0,01 \text{ кг/м}^3$, $[C_{\text{GS}}]_{\text{astrocyte}} = 0,1 \text{ кг/м}^3$

Выводы



- На основе экспериментальных структурных данных о размере пре-синаптических везикул, а также данных об их взаимодействии с мембраной нейронов, построена модель синаптического пространства, в которой пре-синаптическое окончание нейрона обладает геометрически выверенной системой локализации везикул на мембране с вероятными местами выброса нейромедиатора
- Полученное пространственное распределение локализаций выброса включено в структуру виртуального фантома изолированного глутаматергического синапса
- С помощью модели синаптического пространства с присоединением одной или двух везикул в различной локализации получена динамика изменения концентрации глутамата в синапсе для предельного случая непроницаемых поверхностей выбранного пространства
- В модели изолированного синапса показано, что периферический выброс глутамата из везикул формирует существенно меньшую амплитуду концентрации нейромедиатора в области локализации рецепторов (области постсинаптической плотности, PSD), по сравнению с центральной локализацией выброса. Для достижения таких же концентраций необходимо присоединение дополнительных везикул, что потенциально увеличивает возможность возрастания концентрации глутамата в интерстициальной жидкости и развития эксайтотоксичности



Благодарность



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

čiberehd isciü

- Marta Cascante

- Виталий Александрович
Селиванов



Благодарность

Нарциссов Ярослав Рюрикович,
к.ф.-м.н., доцент,
Заведующий сектором
математического моделирования
и статистической обработки
результатов
НИИ цитохимии и молекулярной
фармакологии

**XV конференция «Математические модели
и численные методы в биологии и медицине»**

Спасибо за внимание!



ИНСТИТУТ
ЦИТОХИМИИ И
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ФАРМАКОЛОГИИ

Загубная О.А., Нарциссов Я.Р., Москва, 2023