Математическая биология и биоинформатика
2018. Т. 13. № 2. С. 591–608. doi: 10.17537/2018.13.591

========== **МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ** ==========

УДК: 51-76

Математическая модель нарушения энергетического метаболизма в мозге при развитии нейродегенеративных заболеваний: новый предполагаемый механизм гибели клеток

Мысин И.Е.[*1], Попова И.Ю.[†1], Осипов А.А.[‡1,2]

[1]*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Московская область, Россия*
[2]*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии, Москва, Россия*

Аннотация. В работе проведено теоретическое исследование последствий нарушения энергетического метаболизма в нервной ткани на биофизической модели метаболического сопряжения между нейронами и астроцитами в условиях афферентной стимуляции, имитирующей выброс глутамата в пресинаптическую щель. Основным результатом представленного модельного исследования стало обнаружение феномена аденилатного коллапса, суть которого состоит в необратимом падении концентрации АТФ после достижения критического порогового значения. Данный эффект возникает в результате обращения реакции, катализируемой аденилаткиназой. При высоких значениях АТФ равновесие реакции смещено в сторону образования АДФ из АТФ и АМФ. При достижении порога равновесие смещается в противоположную сторону, т.е. происходит образование АМФ и АТФ из АДФ. Если данная ситуация сопровождается высоким расходом АТФ, то весь пул адениновых нуклеотидов переходит в АМФ. Однако АМФ не фосфорилируется, в отличие от АДФ в гликолизе и окислительном фосфорилировании, поэтому система быстро приходит к истощению АТФ. Последствием такого коллапса может являться избирательная гибель клеток в результате прекращения потребления глюкозы, кислорода и блокирования метаболизма. Таким образом, аденилатный коллапс может являться новым механизмом избирательной гибели клеток при развитии нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: *нейродегенерация, нейроны, астроциты, АТФ, АМФ, аденилаткиназа, аденилатный коллапс.*

ВВЕДЕНИЕ

Нейродегенеративные заболевания характеризуются прогрессирующей дисфункцией нервной системы и включают такие расстройства, как болезнь Альцгеймера, эпилепсию, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, хорея Хантингтона и многие другие [1–3]. Общей чертой многих нейродегенеративных заболеваний является гипометаболизм, характеризующийся сниженным потреблением глюкозы в мозге. Недостаточный метаболизм глюкозы может являться основным инициирующим фактором для этих заболеваний, а возникающая нейронная дисфункция дополнительно

[*]imysin@mail.ru
[†]I-Yu-Popova@yandex.ru
[‡]aosypov@gmail.com

способствует метаболическому дисбалансу, создавая эффективную петлю положительной обратной связи [4].

Гипогликемия, гипоксия, ишемия, дисфункция митохондрий, а также глутамат-зависимая эксайтотоксичность приводят к энергетическому истощению нервных клеток. Было показано, что острая ишемия приводит к значительному снижению концентрации нуклеозидтрифосфатов и увеличению концентрации АМФ и продуктов его катаболизма в переднем мозге [5]. От интактного клеточного энергетического метаболизма прямо зависит гомеостаз натрия и калия, поскольку Na/K-АТФаза потребляет около 50 % клеточного АТФ [6]. Дисрегуляция внутриклеточного натрия является неизбежным следствием снижения концентрации АТФ, приводя в свою очередь к нарушению вне- и внутриклеточного гомеостаза других ионов – в частности, калия, кальция и протонов – и тем самым стимулируя эксайтотоксичность [7]. Нарушение энергоснабжения, наблюдаемое во время фокальной ишемии, вызывает быстрое снижение АТФ как в нейронах, так и в астроцитах. Однако характеристики, клеточные механизмы и последствия избыточного притока натрия различаются между нейронами и астроцитами.

Нарушения гомеостаза головного мозга приводят к острым или хроническим изменениям, которые в конечном итоге приводят к гибели нейронов с последующим нарушением когнитивных функций. В настоящее время проводятся работы по исследованию причин, определяющих биологический путь гибели/выживаемости клеток в результате острого метаболического стресса [8, 9]. Исследование механизмов метаболической недостаточности и дифференциальных реакций нейронов и глиальных клеток, а также их метаболических взаимодействий, необходимо для полного понимания событий, вызывающих клеточные нарушения и клеточную гибель в результате энергетического истощения. Понимание механизмов этого нарушения необходимо и для разработки действенных форм лечения, и для более глубокого понимания фундаментальных основ функционирования нервной системы.

Цель настоящего исследования состояла в изучении механизмов нарушения энергетического метаболизма при нейродегенерациях при помощи методов математического моделирования. На основе литературных данных были сформулированы следующие обязательные условия для модели: 1. модель должна включать наряду с нейронами такие обязательные элементы, как глиальные клетки и сосуды; 2. модель должна учитывать основные пути энергетического метаболизма; 3. в модели должны быть отражены концентрации адениновых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), поскольку показано нарушение их баланса при патологиях нервной системы [5, 10].

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Архитектура модели

В нашей работе мы исследовали модель энергетического метаболизма в нейронах и астроцитах в ответ на возбуждающий вход. Данная модель является развитием модели, предложенной ранее [11, 12]. В модели представлены 4 компартмента: нейрон, астроцит, межклеточное пространство и кровеносный сосуд. Внутри нейронов и астроцитов моделируются два субкомпартмента: цитозоль и митохондрии (рис. 1). В нейронах и астроцитах моделируются основные пути энергометаболизма: гликолиз, цикл Кребса и окислительное фосфорилирование. Между капиллярами и клетками через межклеточное пространство происходит транспорт глюкозы, лактата и кислорода. В капилляре концентрации веществ меняются за счет оттока в клетки и поступления из общего кровотока, в котором концентрации глюкозы, кислорода и лактата полагаются неизменными. В нашей модели, в отличие от предыдущих работ,

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

учитывается внеклеточная концентрация калия. В модели учитываются пассивные токи натрия и калия через мембрану нейрона и астроцита. Дополнительно на мембране нейрона моделируются потенциал-зависимые натриевые, калиевые и кальций-зависимые калиевые (afterhyperpolarization, AHP) каналы с помощью формализма Ходжкина–Хаксли. Сопряжение между метаболизмом и динамикой ионов осуществляется путем моделирования Na/K-АТФазы, которая присутствует на мембране нейронов и астроцитов.

Уравнения ферментативной кинетики, токов и параметров к ним взяты из работ [11, 12], о некоторых исключениях мы скажем в описаниях этих уравнений.

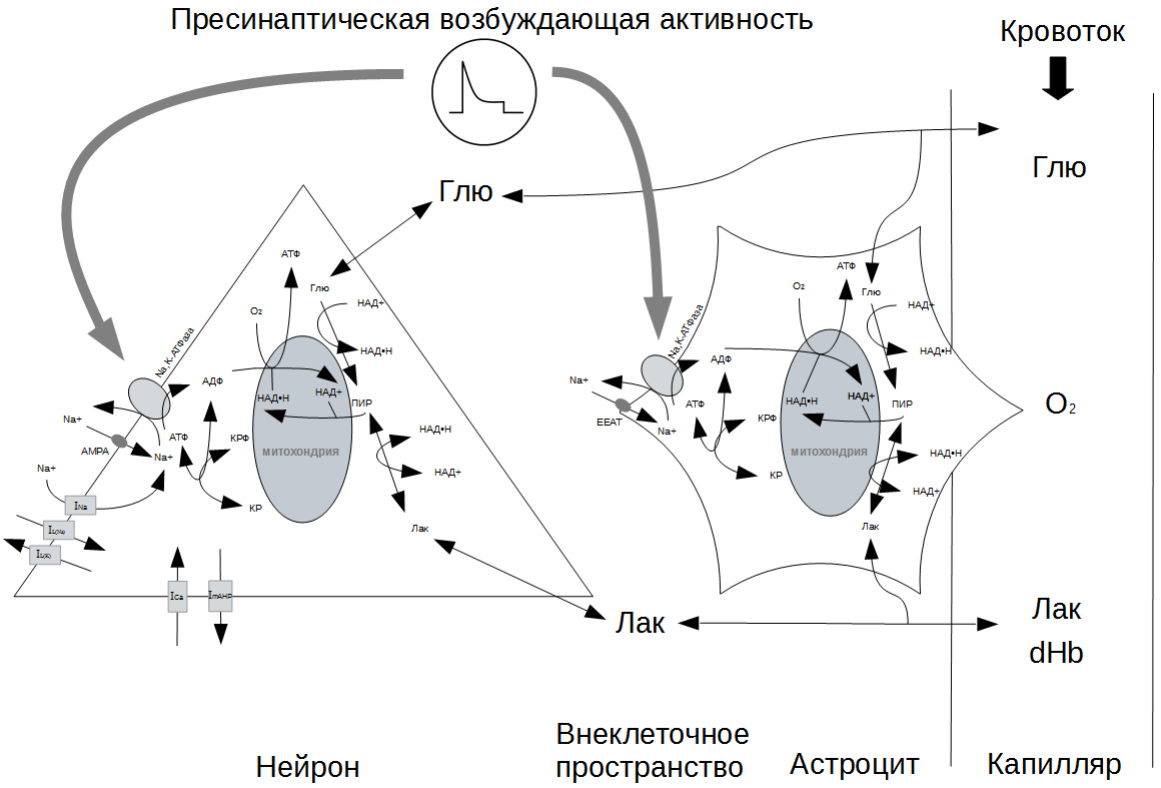

Рис. 1. Схема процессов, моделируемых в статье. Обозначения: Лак – лактат, Глю – глюкоза, dHb – дезоксигемоглобин, КР – креатин, КРФ – креатинфосфат, Пир – пируват, ЕААТ – астроцитарный транспортер глутамата, AMPA – AMPA-рецепторы, I_{Na} и I_K – натриевый и калиевый токи, ответственные за генерацию потенциала действия, $I_{l(Na)}$ и $I_{l(K)}$ – пассивные натриевый и калиевый токи, I_{Ca} – кальциевый ток, I_{AHP} – кальций-зависимый калиевый ток.

2.2. Уравнения баланса метаболитов и мембранного потенциала

Представленная модель описывается с помощью системы из 34 дифференциальных уравнений (таблицы 1–3). Уравнения с 1 по 19 относятся к скорости изменения концентрации метаболитов в различных компартментах. Они описывают баланс между скоростью притока и оттока метаболитов через ферментативные превращения и транспорт между компартментами. Уравнения с 20 по 23 описывают потенциал на мембране нейрона и электрические токи через мембрану нейрона. Потенциал на мембране астроцита мы полагали равным –70 мВ, он не менялся в ходе моделирования. Кинетика отдельных реакций и токов описана в следующем разделе.

В уравнениях ниже индексы *n, g, e, c* показывают отношение переменной к нейрону, астроциту (глии), экстраклеточному пространству или капилляру, если уравнение одинаковы для разных компартментов – они отмечаются индексом *x*. Постоянные значения концентрации глюкозы, лактата и кислорода отмечены индексом *a*.

Переменные, относящиеся к цитозолю или митохондриям, отмечены индексами *cyt* и *mit*, соответственно. Транспортеры отмечены двумя индексами, обозначающими компартменты, между которыми происходит транспорт.

Таблица 1. Уравнения, описывающие скорость изменения концентрации метаболитов и электрофизиологические параметры нейронов

№	Переменная	Уравнение
1	Внутриклеточный натрий	$\frac{d[\mathrm{Na}_n^+]}{dt} = J^{\mathrm{n}}_{l(\mathrm{Na})} + J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{Na}} - 3J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{pump}} + J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{stim}}$ $\frac{d[\mathrm{Na}_g^+]}{dt} = J^{\mathrm{g}}_{l(\mathrm{Na})} - 3J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{pump}} + J^{\mathrm{g}}_{\mathrm{stim}}$
2	Экстраклеточный калий	$\frac{d[\mathrm{K}_e^+]}{dt} = J^{\mathrm{n}}_{l(\mathrm{K})} + J^{\mathrm{g}}_{l(\mathrm{K})} - 2J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{pump}} - 2J^{\mathrm{g}}_{\mathrm{pump}} + J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{K}} + J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{AHP}}$
3	Внутриклеточная глюкоза	$\frac{d[\mathrm{GLC}_n]}{dt} = J^{\mathrm{en}}_{\mathrm{GLC}} - J_{\mathrm{HKPFK}}$ $\frac{d[GLC_g]}{dt} = J^{\mathrm{eg}}_{\mathrm{GLC}} + J^{\mathrm{cg}}_{\mathrm{GLC}} - J_{\mathrm{HKPFK}}$
4	Глицеральдегид-3-фосфат	$\frac{d[\mathrm{GAP}_x]}{dt} = 2J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{HKPFK}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PGK}}$
5	Фосфоенолпируват	$\frac{d[\mathrm{PEP}_x]}{dt} = J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PGK}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PK}}$
6	Пируват	$\frac{d[\mathrm{PYR}_x]}{dt} = J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PK}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{LDH}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{TCA}}$
7	Внутриклеточный лактат	$\frac{d[\mathrm{LAC}_n]}{dt} = J^{\mathrm{n}}_{\mathrm{LDH}} - J^{\mathrm{ne}}_{\mathrm{LAC}}$ $\frac{d[\mathrm{LAC}_g]}{dt} = J^{\mathrm{g}}_{\mathrm{LDH}} - J^{\mathrm{eg}}_{\mathrm{LAC}} - J^{\mathrm{cg}}_{\mathrm{LAC}}$
8	Цитозольный НАДН	$\frac{d[\mathrm{NADH}_x^{\mathrm{cyt}}]}{dt} = \frac{J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PGK}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{LDH}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{shuttle}}}{1-\xi}$ ξ - доля митохондриального объема в общем объеме клетки
9	Митохондриальный НАД	$\frac{d[\mathrm{NADH}_x^{\mathrm{mit}}]}{dt} = \frac{4J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{TCA}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{ETC}} + J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{shuttle}}}{\xi}$
10	АТФ	$\frac{d[\mathrm{ATP}_x]}{dt} = \frac{-2J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{HKPFK}} + J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{PGK}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{ATPcons}} - J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{pump}} + 3.6J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{ETC}} + J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{CK}}}{1 - \frac{d[\mathrm{AMP}]}{d[\mathrm{ATP}]}}$
11	Фосфокреатин	$\frac{d[\mathrm{PCr}_x]}{dt} = -J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{CK}}$
12	Внутриклеточный кислород	$\frac{d[\mathrm{O}_{2,x}]}{dt} = J^{\mathrm{cx}}_{\mathrm{O}_2} - 0.6J^{\mathrm{x}}_{\mathrm{ETC}}$
13	Капиллярный кислород	$\frac{d[\mathrm{O}_{2,c}]}{dt} = J^{\mathrm{c}}_{\mathrm{O}_2} - \frac{J^{\mathrm{cn}}_{\mathrm{O}_2}}{r_{\mathrm{cn}}} - \frac{J^{\mathrm{cg}}_{\mathrm{O}_2}}{r_{\mathrm{cg}}}$
14	Капиллярная глюкоза	$\frac{d[\mathrm{GLC}_c]}{dt} = J^{\mathrm{c}}_{\mathrm{GLC}} - \frac{J^{\mathrm{ce}}_{\mathrm{GLC}}}{r_{\mathrm{ce}}} - \frac{J^{\mathrm{cg}}_{\mathrm{GLC}}}{r_{\mathrm{cg}}}$
15	Капиллярный лактат	$\frac{d[\mathrm{LAC}_c]}{dt} = J^{\mathrm{c}}_{\mathrm{LAC}} - \frac{J^{\mathrm{ce}}_{\mathrm{LAC}}}{r_{\mathrm{ce}}} - \frac{J^{\mathrm{cg}}_{\mathrm{LAC}}}{r_{\mathrm{cg}}}$
16	Дезоксигемоглобин	$\frac{d[\mathrm{dHb}]}{dt} = F_{\mathrm{in}}(\mathrm{O}_{2a} - \mathrm{O}_{2c}) - F_{\mathrm{out}}\frac{[\mathrm{dHb}]}{V_v}$

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

Продолжение Таблицы 1

№	Переменная	Уравнение
17	Экстраклеточная глюкоза	$\frac{d[\mathrm{GLC_e}]}{dt} = J^{\mathrm{ce}}_{\mathrm{GLC}} - \frac{J^{\mathrm{eg}}_{\mathrm{GLC}}}{r_{\mathrm{eg}}} - \frac{J^{\mathrm{en}}_{\mathrm{GLC}}}{r_{\mathrm{en}}}$
18	Экстраклеточный лактат	$\frac{d[\mathrm{LAC_e}]}{dt} = J^{\mathrm{ce}}_{\mathrm{LAC}} - \frac{J^{\mathrm{eg}}_{\mathrm{LAC}}}{r_{\mathrm{eg}}} - \frac{J^{\mathrm{en}}_{\mathrm{LAC}}}{r_{\mathrm{en}}}$
19	Потенциал мембраны нейрона	$\frac{d\psi_{\mathrm{n}}}{dt} = \frac{-I_{l(\mathrm{Na})} - I_{l(\mathrm{K})} - I_{\mathrm{Na}} - I_{\mathrm{K}} - I_{\mathrm{Ca}} - I_{\mathrm{AHP}} - I_{\mathrm{pump}} + I_{\mathrm{syn}}(t)}{C_m}$
20	Воротная переменная h	$\frac{dh}{dt} = \frac{\varphi_n(h_\infty - h)}{\tau_h}$
21	Воротная переменная n	$\frac{dn}{dt} = \frac{\varphi_n(n_\infty - n)}{\tau_n}$
22	Нейрональный кальций	$\frac{d[\mathrm{Ca}^{2+}]}{dt} = -\frac{S_m V_n}{F} I_{\mathrm{Ca}} - \frac{[\mathrm{Ca}^{2+}] - \mathrm{Ca}_0}{\tau_{\mathrm{Ca}}}$

Таблица 2. Равновесные значения переменных

Переменная	Значение в покое		Единицы измерения
	Нейроны	Астроциты	
Внутриклеточный натрий	2.35	1.67	мМ
Экстраклеточный калий	2.67		мМ
Внутриклеточная глюкоза	1.21	1.23	мМ
Глицеральдегид-3-фосфат	0.0006	0.0317	мМ
Фосфоенолпируват	0.018	0.068	мМ
Пируват	0.17	0.14	мМ
Внутриклеточный лактат	0.62	0.62	мМ
Цитозольный НАДН	0.0007	0.12	мМ
Митохондриальный НАД	0.12	0.13	мМ
АТФ	2.2	2.2	мМ
Фосфокреатин	5.15	7.48	мМ
Внутриклеточный кислород	0.03	0.03	мМ
Капиллярный кислород	7.02		мМ
Капиллярная глюкоза	4.5		мМ
Капилярный лактат	0.56		мМ
Дезоксигемоглобин	0.06		мМ
Экстраклеточная глюкоза	2.5		мМ
Экстраклеточный лактат	0.62		мМ
Потенциал мембраны нейрона (ψ_n)	–82.86		мВ
Воротная переменная *h*	1		
Воротная переменная *n*	0.01		
Нейрональный кальций	0.00005		мМ

Таблица 3. Уравнения для скорости ферментов, переносчиков и токов

№	Переменная	Уравнение
23	Утечка натрия	$I^{x}_{l(\mathrm{Na})} = g^{x}_{l(\mathrm{Na})}\left(\frac{RT}{F}\ln\left(\frac{[\mathrm{Na}^{+}_{e}]}{[\mathrm{Na}^{+}_{x}]} - \psi_{x}\right)\right)$ $J^{x}_{l(\mathrm{Na})} = \frac{S_m}{V_x F} I^{x}_{l(\mathrm{Na})}$
24	Утечка калия	$I^{x}_{l(\mathrm{K})} = g^{x}_{l(\mathrm{K})}\left(\frac{RT}{F}\ln\left(\frac{[\mathrm{K}^{+}_{e}]}{[\mathrm{K}^{+}_{x}]} - \psi_{x}\right)\right)$ $J^{x}_{l(\mathrm{K})} = \frac{S_m}{V_x F} I^{x}_{l(\mathrm{K})}$
25	Na/K-АТФаза	$J^{x}_{\mathrm{pump}} = \frac{T_{\mathrm{max,pump}}[\mathrm{K}^{+}_{e}]^2[\mathrm{Na}^{+}_{x}]^3[\mathrm{ATP}]}{(1+\mathrm{K}_{m,\mathrm{K}})^2(1+\mathrm{K}_{m,\mathrm{Na}})^3(1+\mathrm{K}_{m,\mathrm{ATP}})}$
26	Транспорт глюкозы	$J^{xy}_{\mathrm{GLC}} = T^{xy}_{\mathrm{max,GLC}}\left(\frac{[\mathrm{GLC}_x]}{[\mathrm{GLC}_x]+\mathrm{K}^{xy}_{m,\mathrm{GLC}}} - \frac{[\mathrm{GLC}_y]}{[\mathrm{GLC}_y]+\mathrm{K}^{xy}_{m,\mathrm{GLC}}}\right)$
27	Гексокиназа-фосфофруктокиназа	$J^{x}_{\mathrm{HKPFK}} = k^{x}_{\mathrm{HKPFK}}[\mathrm{ATP}_x]\left(\frac{[\mathrm{GLC}_x]}{[\mathrm{GLC}_x]+\mathrm{K}^{x}_{m,\mathrm{GLC}}}\right)\left(1+\left(\frac{[\mathrm{ATP}_x]}{\mathrm{K}^{x}_{i,\mathrm{ATP}}}\right)^{nH}\right)$
28	Фосфоглицерат-киназа	$J^{x}_{\mathrm{PGK}} = \frac{k^{x}_{\mathrm{PGK}}[\mathrm{GAP}_x][\mathrm{ADP}_x](\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}])}{[\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}]}$
29	Пируваткиназа	$J^{x}_{\mathrm{PK}} = k^{x}_{\mathrm{PK}}[\mathrm{PEP}_x][\mathrm{ADP}_x]$
30	Лактатдегидро-геназа	$J^{x}_{\mathrm{LDH}} = k^{x+}_{\mathrm{LDH}}[\mathrm{PYR}_x][\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}] - k^{x-}_{\mathrm{LDH}}[\mathrm{LAC}_x](\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}])$
31	Транспорт лактата	$J^{xy}_{\mathrm{LAC}} = T^{xy}_{\mathrm{max,LAC}}\left(\frac{[\mathrm{LAC}_x]}{[\mathrm{LAC}_x]+\mathrm{K}^{xy}_{m,\mathrm{LAC}}} - \frac{[\mathrm{LAC}_y]}{[\mathrm{LAC}_y]+\mathrm{K}^{xy}_{m,\mathrm{LAC}}}\right)$
32	Цикл Кребса	$J^{x}_{\mathrm{TCA}} = V^{x}_{\mathrm{max,TCA}}\left(\frac{[\mathrm{PYR}_x]}{[\mathrm{PYR}_x]+\mathrm{K}^{x}_{m,\mathrm{pyr}}}\right)\left(\frac{\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]}{\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]+\mathrm{K}^{x}_{m,\mathrm{NADH}}}\right)$
33	Электронтранспортная цепь	$J^{x}_{\mathrm{ETC}} = V^{x}_{\mathrm{max,ETC}}\left(\frac{[\mathrm{O}_{2,x}]}{[\mathrm{O}_{2,x}]+\mathrm{K}_{m,\mathrm{O}_2}}\right)\left(\frac{[\mathrm{ADP}_x]}{[\mathrm{ADP}_x]+\mathrm{K}_{m,\mathrm{ADP}}}\right)\left(\frac{[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]}{[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]+\mathrm{K}_{m,\mathrm{NADH}}}\right)$
34	Шаттл НАДН	$J^{x}_{\mathrm{shuttle}} = T^{x}_{\mathrm{max,shuttle}}\left(\frac{R^{-}_{x}}{R^{-}_{x}+M^{cyt}_{x}}\right)\left(\frac{R^{+}_{x}}{R^{+}_{x}+M^{cyt}_{x}}\right)$ $R^{-}_{x} = \frac{[\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}]}{\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{cyt}_{x}]} \quad R^{+}_{x} = \frac{\mathrm{N}-[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]}{[\mathrm{NADH}^{mit}_{x}]}$
35	Креатинкиназа	$J^{x}_{\mathrm{CK}} = k^{x+}_{\mathrm{CK}}[\mathrm{ADP}_x][\mathrm{PCr}_x] - k^{x-}_{\mathrm{CK}}[\mathrm{ATP}_x](\mathrm{C}-[\mathrm{PCr}_x])$
36	Потребление АТФ в немоделируемых процессах	$J^{x}_{\mathrm{ATPcons}} = \frac{V^{x}_{\mathrm{max,cons}}[\mathrm{ATP}_x]}{[\mathrm{ATP}_x]+\mathrm{K}_{m,\mathrm{ATP}}}$
37	Обмен кислорода	$J^{cx}_{\mathrm{O}_2 m} = \frac{\mathrm{PS}_{\mathrm{cap}}}{V_x}\left(\frac{\mathrm{K}_{\mathrm{O}_2}}{\left(\frac{\mathrm{Hb.OP}}{\mathrm{O}_{2,c}}-1\right)^{nh}} - \mathrm{O}_{2,x}\right)$
38	Капиллярный поток кислорода	$J^{c}_{\mathrm{o}_2} = \frac{2F_{\mathrm{in}}([\mathrm{O}_{2,a}]-[\mathrm{O}_{2,c}])}{V_{\mathrm{cap}}}$
39	Капиллярный поток глюкозы	$J^{c}_{\mathrm{GLC}} = \frac{2F_{\mathrm{in}}([\mathrm{GLC}_a]-[\mathrm{GLC}_c])}{V_{\mathrm{cap}}}$

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

Продолжение таблицы 3

№	Переменная	Уравнение
40	Капиллярный поток лактата	$J^{c}_{GLC} = \frac{2F_{in}([LAC_a]-[LAC_c])}{V_{cap}}$
41	Натриевый ток	$I_{Na} = g_{Na} m_{\infty}^{3} h\left(\psi_n - \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{[Na_e^+]}{[Na_n^+]}\right)\right) \quad J^{n}_{Na} = \frac{S_m}{V_n F} I_{Na}$
42	Калиевый ток выпрямления	$I_K = g_K n^4\left(\psi_n - \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{[K_e^+]}{[K_n^+]}\right)\right) \; J^{n}_{K} = \frac{S_m}{V_n F} I_K$
43	Кальциевый ток	$I_{Ca} = g_{Na} p_{\infty}^{2}(\psi_n - E_{Ca})$
44	Кальций-зависимый калиевый ток	$I_{AHP} = g_{AHP}\left(\frac{[Ca_n^{2+}]}{[Ca_n^{2+}]+K_D}\right)\left(\psi_n - \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{[K_e^+]}{[K_n^+]}\right)\right) \; J^{n}_{AHP} = \frac{S_m}{V_n F} I_{AHP}$
45	Уравнения для вычисления воротных переменных *m*, *h*, *n*, *p*	$m_{\infty} = \frac{\alpha_m}{\alpha_m+\beta_m} \quad h_{\infty} = \frac{\alpha_h}{\alpha_h+\beta_h} \quad n_{\infty} = \frac{\alpha_n}{\alpha_n+\beta_n}$ $\tau_h = \frac{1}{\alpha_h+\beta_h} \quad \tau_n = \frac{1}{\alpha_n+\beta_n}$
46		$\alpha_m = \frac{-0.1(\psi_n+33)}{\exp(-0.1(\psi_n+33))-1}$
47		$\beta_m = 4\exp\left(\frac{\psi_n+58}{-12}\right)$
48		$\alpha_h = 0.07\exp\left(\frac{\psi_n+50}{-10}\right)$
49		$\beta_h = \frac{1}{\exp\left(\frac{\psi_n+20}{-10}\right)+1}$
50		$\alpha_n = \frac{-0.01(\psi_n+34)}{\exp(-0.1(\psi_n+34))-1}$
51		$\beta_n = 0.125\exp\left(\frac{\psi_n+44}{-25}\right)$
52		$p_{\infty} = \frac{1}{\exp\left(\frac{\psi_n+20}{-9}\right)+1}$

Таблица 4. Параметры для модели

Составляющие модели	Фиксированные параметры
Объемы и их соотношения	$V_e = 0.2$, $V_{cap} = 0.0055$, $V_g = 0.25$, $V_n = 0.45$, $\xi = 0.07$, $r_{en} = V_e/V_n$, $r_{eg} = V_e/V_g$, $r_{ce} = V_{cap}/V_e$, $r_{cg} = V_{cap}/V_g$, $r_{cn} = V_{cap}/V_n$
Отношение площади мембраны к объему клеток	$S_m/V_n = 2.5\ 10^4$ см$^{-1}$, $S_m/V_g = 2.5\ 10^4$ см$^{-1}$
Физические константы	$R = 8.31451$ Дж моль$^{-1}$ К$^{-1}$, $F = 9.64853\ 10^4$ Кл моль$^{-1}$
Глюкозные переносчики	K^{xy}_{GLC} =8 мМ, $T^{en}_{max,\,GLC} = 0.041$ мМ сек$^{-1}$, $T^{eg}_{max,\,GLC} = 0.147$ мМ сек$^{-1}$, $T^{ce}_{max,\,GLC} = 0.239$ мМ сек$^{-1}$, $T^{cg}_{max,\,GLC} = 0.0016$ мМ сек$^{-1}$

Продолжение таблицы 4

Составляющие модели	Фиксированные параметры
Переносчики лактата	K^{en}_{LAC} = 0.74 мМ, K^{ge}_{LAC} =3.5 мМ, K^{gc}_{LAC} =1 мМ, K^{ec}_{LAC} =1 мМ, $T^{en}_{max, LAC}$ = 24.3 мМ сек$^{-1}$, $T^{eg}_{max, LAC}$ = 106.1 мМ сек$^{-1}$, $T^{ce}_{max, LAC}$ = 0.25 мМ сек$^{-1}$, $T^{cg}_{max, LAC}$ = 0.00243 мМ сек$^{-1}$
Система гексокиназа-фосфофруктокиназа	$K_{I, ATP}$ = 1 мМ, nH = 4, $K_{m, GLC}$ = 0.05 мМ k^{n}_{HKPFK} = 0.0504 мМ сек$^{-1}$, k^{g}_{HKPFK} = 0.185 мМ сек$^{-1}$
Константы обмена кислорода	K_{O2} = 0.0361 мМ, $Hb.OP$ = 8.6 мМ, nh = 2.73, PS_{cap}/V_n = 1.66 сек$^{-1}$, PS_{cap}/V_g = 0.87 сек$^{-1}$
Окислительное фосфорилирование	K^{x}_{m, O_2} = 0.001 мМ, $K^{n}_{m, NADH}$ = 0.0444 мМ, $K^{g}_{m, NADH}$ = 0.0269 мМ, $K^{n}_{m, ADP}$ = 0.0034 мМ, $K^{g}_{m, ADP}$ = 0.000483 мМ, V^{n}_{max} = 0.164 мМ сек$^{-1}$, V^{g}_{max} =0.064 мМ сек$^{-1}$
Мембранный потенциал и ионная динамика	C_m = 10^{-3} мкФ см$^{-2}$, $g^{n}_{l(Na)}$ = 0.014 мСм см$^{-2}$, $g^{n}_{l(K)}$ = 0.21 мСм см$^{-2}$, $g^{g}_{l(Na)}$ = 0.0061 мСм см$^{-2}$, $g^{g}_{l(K)}$ = 0.02 мСм см$^{-2}$, g_{Na} = 40, g_K = 18 мСм см$^{-2}$, g_{Ca} = 0.02 мСм см$^{-2}$, g_{AHP} = 6.5 мСм см$^{-2}$, K_D = 30 10^{-3} мМ, τ_{Ca} = 150 10^{-3} сек, Ca_0 =0.5 10^{-4} мМ, E_{Ca} = 120 мВ, φ_n=4, ψ_g = –70 мВ
Вещества в общем кровотоке	$[O_{2,a}]$ = 8.35 мМ, $[GLC_a]$ = 4.75 мМ, $[LAC_a]$ = 0.506 мМ
Na/K-АТФаза	$T_{max, pump}$ = 0.8 мМ сек$^{-1}$ $K_{m, K}$ = 3.5 мМ, $K_{m, Na}$ = 10 мМ, $K_{m, ATP}$ = 170 мМ Параметры для модели Na/K-АТФазы взяты из [13]
Общий креатин и креатинфосфат	C = 10 мМ
Общая концентрация адениннуклеотидов	N = 0.212 мМ
Цикл Кребса	$K^{x}_{m, pyr}$ = 0.04 мМ, $V^{n}_{max, TCA}$ = 0.1303 мМ сек$^{-1}$, $V^{g}_{max, TCA}$ = 5.7 мМ сек$^{-1}$, $K^{n}_{m, NAD}$ = 0.409 мМ, $K^{g}_{m, NAD}$ = 40.3 мМ
Лактатдегидрогеназа	k^{n+}_{LDH} = 72.3 мМ сек$^{-1}$, k^{g+}_{LDH} = 1.59 мМ сек$^{-1}$, k^{n-}_{LDH} = 0.72 мМ сек$^{-1}$, k^{g-}_{LDH} = 0.071 мМ сек$^{-1}$
Челнок НАДН	M^{cyt}_{n} = 4.9 10^{-8} мМ, M^{cyt}_{g} = 2.5 10^{-4} мМ, M^{mit}_{n} = 3.93 10^{5} мМ, M^{mit}_{g} = 1.06 10^{4} мМ, T^{n}_{NADH} = 10330 мМ сек$^{-1}$, T^{g}_{NADH} = 150 мМ сек$^{-1}$
Окислительное фосфорилирование	$K^{n}_{m, ADP}$ = 3.41 10^{-3} мМ, $K^{g}_{m, ADP}$ = 0.483 10^{-3} мМ, $K^{n}_{m, NADH}$ = 4.41 10^{-2} мМ, $K^{g}_{m, NADH}$ = 2.69 10^{-2} мМ
Креатинкиназа	k^{n+}_{CK} = 0.0433 мМ сек$^{-1}$, k^{g+}_{CK} = 0.00135 мМ сек$^{-1}$, k^{n-}_{CK} = 0.00028 мМ сек$^{-1}$, k^{g-}_{CK} = 0.00001 мМ сек$^{-1}$
Фосфоглицераткиназа	k^{n}_{PGK} = 3.97 мМ сек$^{-1}$, k^{g}_{PGK} = 135.2 мМ сек$^{-1}$

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

Продолжение таблицы 4

Составляющие модели	Фиксированные параметры
Пируваткиназа	k^{n}_{PK} = 36.7 мМ сек$^{-1}$, k^{g}_{PK} = 401.7 мМ сек$^{-1}$
Потребление АТФ в немоделируемых процессах	$K^{x}_{m,\ ATP}$ = 1 мМ, $V^{n}_{max,\ cons}$ = 0.1695 мМ сек$^{-1}$, $V^{g}_{max,\ cons}$ = 0.1404 мМ сек$^{-1}$
Кровоток в капилляре	F_{in} = 0.012, F_{out} = 0.012, V_v = 0.021

2.3. Аппроксимация концентраций адениновых нуклеотидов

В модели учитываются все типы адениновых нуклеотидов в нейронах и астроцитах, при этом общий их пул полагается постоянным

$$A = [\mathrm{AMP_x}] + [\mathrm{ADP_x}] + [\mathrm{ATP_x}] = 2.212\ \mathrm{mM} \tag{45}$$

Уравнение баланса есть только для АТФ, концентрации остальных рассчитываются из предположения, что они быстро приходят в равновесие за счет активности аденилат-киназы. В частности, концентрация АДФ вычисляется из концентрации АТФ следующим образом:

$$[\mathrm{ADP_x}] = \frac{[\mathrm{ATP_x}]}{2}\left(-q_{\mathrm{AK}} + \sqrt{q_{\mathrm{AK}}^2 + 4q_{\mathrm{AK}}\left(\frac{A}{[\mathrm{ATP_x}]} - 1\right)}\right), \tag{46}$$

где q_{AK} – константа равновесия аденилат-киназы:

$$q_{\mathrm{AK}} = \frac{[\mathrm{ADP_x}]^2}{[\mathrm{AMP_x}][\mathrm{ATP_x}]} = 0.92\,. \tag{47}$$

Уравнение для АДФ возникает, если выразить [АДФ] из уравнений (45 и 46). Динамика АМФ относительно АТФ в уравнениях баланса для АТФ (11) аппроксимировалась следующим образом:

$$\frac{d[\mathrm{AMP_x}]}{d[\mathrm{ATP_x}]} = -1 + \frac{q_{\mathrm{AK}}}{2} - \frac{\sqrt{u_{\mathrm{x}}}}{2} + \frac{q_{\mathrm{AK}} A}{[\mathrm{ATP_x}]\sqrt{u_{\mathrm{x}}}}$$

$$u_{\mathrm{x}} = q_{\mathrm{AK}}^2 + 4q_{\mathrm{AK}}\left(\frac{A}{[\mathrm{ATP_x}]} - 1\right) \tag{48}$$

Данные уравнения возникают, если в уравнение (45) подставить выражение для АДФ (46) и продифференцировать по АТФ.

Использованная методика для аппроксимации концентраций адениновых нуклеотидов была предложена в работе [14] и использована во множестве других работ, моделирующих метаболизм, в том числе в нервной ткани [11, 12, 15, 16].

2.4. Моделирование внешних входов

В нашей модели предполагается, что нейрон получает глутаматергический вход от других нейронов. При стимуляции происходит выброс глутамата в межклеточное пространство. Сама экстраклеточная концентрация глутамата явно не моделируется, однако она учитывается влиянием на нейрон и на астроцит. На нейроне глутамат возбуждает AMPA-рецепторы, в результате возникает синаптический ток

$$I_{\text{syn}}(t) = g_{\text{exc}}(t)\left(\psi_n - E_{\text{AMPA}}\right)$$

$$g_{\text{exc}}(t) = g_{\text{max,exc}} N_{\text{exc}} f_{\text{exc}}(t)$$

$$f_{\text{exc}}(t) = \begin{cases} 0 & \text{если } t < t_{\text{start}} \\ \exp\dfrac{-(t - t_{\text{start}})}{\tau_{\text{stim}}}, & \text{если } t > t_{\text{start}} \text{ и } t < t_{\text{end}} \\ 0 & \text{если } t > t_{\text{end}} \end{cases}$$

где g_{exc} – возбуждающая проводимость, $g_{\text{max,exc}}$ – максимальная возбуждающая проводимость, N_{exc} = 1500 – число пресинаптических нейронов, $f_{\text{exc}}(t)$ – функция, моделирующая частоту разрядов пресинаптических нейронов, t_{start} и t_{end} – время начала и конца стимуляции соответственно, τ_{stim} = 10 сек.
Вход натрия в нейрон за счет синаптического тока

$$J^{n}_{\text{stim}} = \frac{2}{3}\frac{S_m V_n}{F} I_{\text{syn}}$$

При выбросе глутамата астроцит поглощает его за счет EAAT-транспортеров, которые переносят глутамат в клетку в ко-транспорте с натрием. В результате в астроцит входит натрий:

$$J^{g}_{\text{stim}} = 3\Delta_{\text{glut}} N_{\text{exc}} f_{\text{exc}}(t)$$

где $\Delta_{\text{glut}} = 2.25 \cdot 10^{-5}$ мМ – величина, равная выбросу глутамата в синаптическую щель при приходе одного импульса, умноженная на соотношение объемов синаптической щели и астроцитов.

2.5. Численные методы

Для численных расчетов мы использовали Python с библиотеками для научных вычислений (NumPy, SciPy, SymPy). Для численного интегрирования системы дифференциальных уравнений мы использовали метод LSODA [17, 18] с помощью интерфейса, реализованного в библиотеке SciPy. Матрица Якоби для системы уравнений баланса и переменных модели находилась с помощью библиотеки символьных вычислений SymPy. Шаг интегрирования определялся автоматически методом интегрирования, исходя из жесткости функций на данном временном участке и погрешности вычислений (входные параметры для погрешности: относительная погрешность не более 10^{-6}, абсолютная погрешность не более 10^{-9}).

Уравнения процессов и численные значения констант и параметров содержатся в разрабатываемой комплексной информационной системе.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Поведение модели при физиологической стимуляции

На первом этапе нашей работы мы исследовали поведение модели при стандартном наборе параметров и стимуляции. Стимуляция имитирует выброс глутамата, который активирует AMPA-рецепторы на нейронах и EAAT-транспортеры на астроцитах. При активации AMPA-рецепторов в нейрон входит натрий, вызывая деполяризацию и генерацию потенциалов действия. При генерации импульсов натрий входит в нейроны также через потенциал-зависимые натриевые каналы. В астроциты натрий входит за счет глутаматных транспортеров (EAAT), которые используют ко-транспорт с натрием для активного поглощения глутамата из межклеточного пространства. Также, при генерации потенциалов действия нейроном происходит выход калия через калиевые каналы, в результате внеклеточная концентрация калия повышается. Изменение

концентрации ионов приводит к активации Na/K-АТФазы, которая восстанавливает равновесие за счет расходования АТФ внутри нейронов и астроцитов. В свою очередь потребление АТФ внутри клеток приводит к активации механизмов его продукции за счет потребления глюкозы.

На рисунке 2 показано изменение потенциала нейрона и концентрации ионов при стимуляции. В начале стимуляции нейрон дает пачку импульсов, и в дальнейшем его активность затухает. Это связано с наличием в модели кальциевых каналов и AHP-каналов. При деполяризации кальций входит в нейрон и активирует AHP-каналы, за счет возникающего калиевого тока происходит гиперполяризация и прекращение импульсной активности.

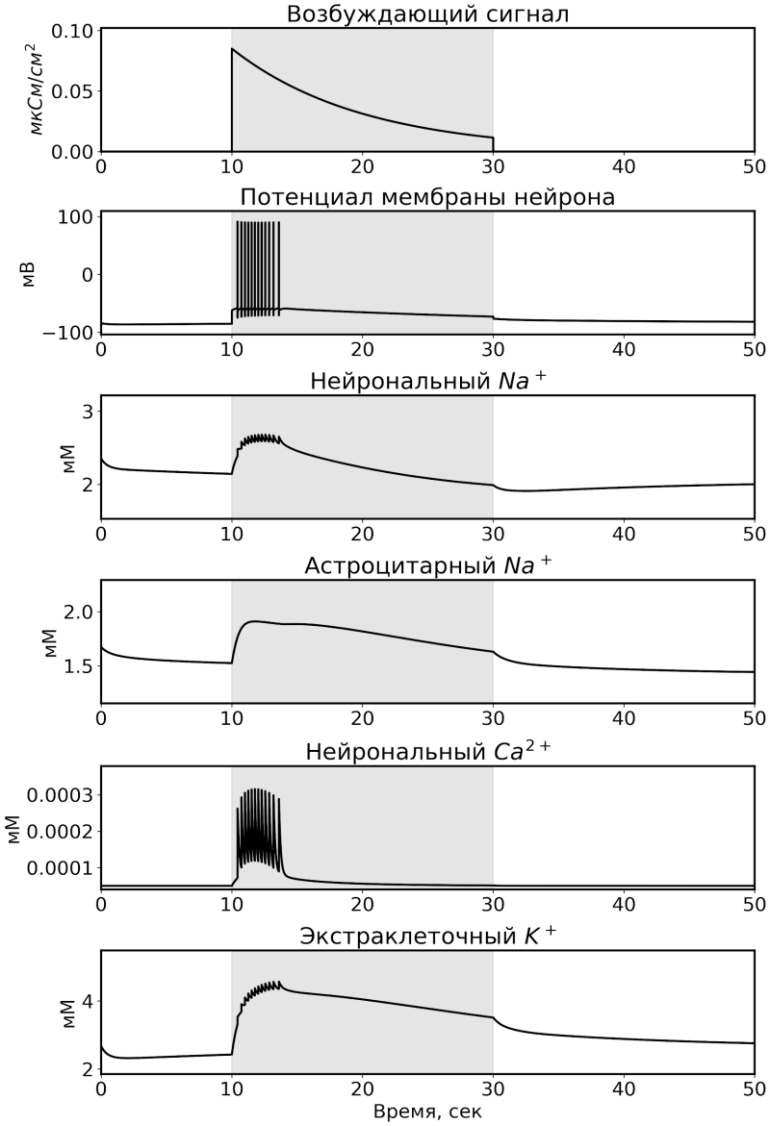

Рис. 2. Динамика потенциала нейрона и концентраций ионов в ответ на одиночный стимул. Форма стимула приведена на верхнем рисунке. Цветом на всех рисунках выделен период стимуляции.

На рисунке 3 показана динамика концентрации наиболее важных энергетических метаболитов в нейронах и астроцитах при стимуляции. На верхних графиках мы видим уменьшение концентрации глюкозы внутри клетки. Это происходит за счет активации гексокиназы. В состоянии покоя гексокиназа заторможена АТФ, при понижении концентрации АТФ за счет его потребления Na/K-АТФазой блокада снимается, и происходит активация потребления глюкозы клетками. На нижних графиках показано изменение концентрации АТФ и АДФ в клетках. Динамика АТФ соответствует наблюдаемой в экспериментах на отдельных нейронах [19].

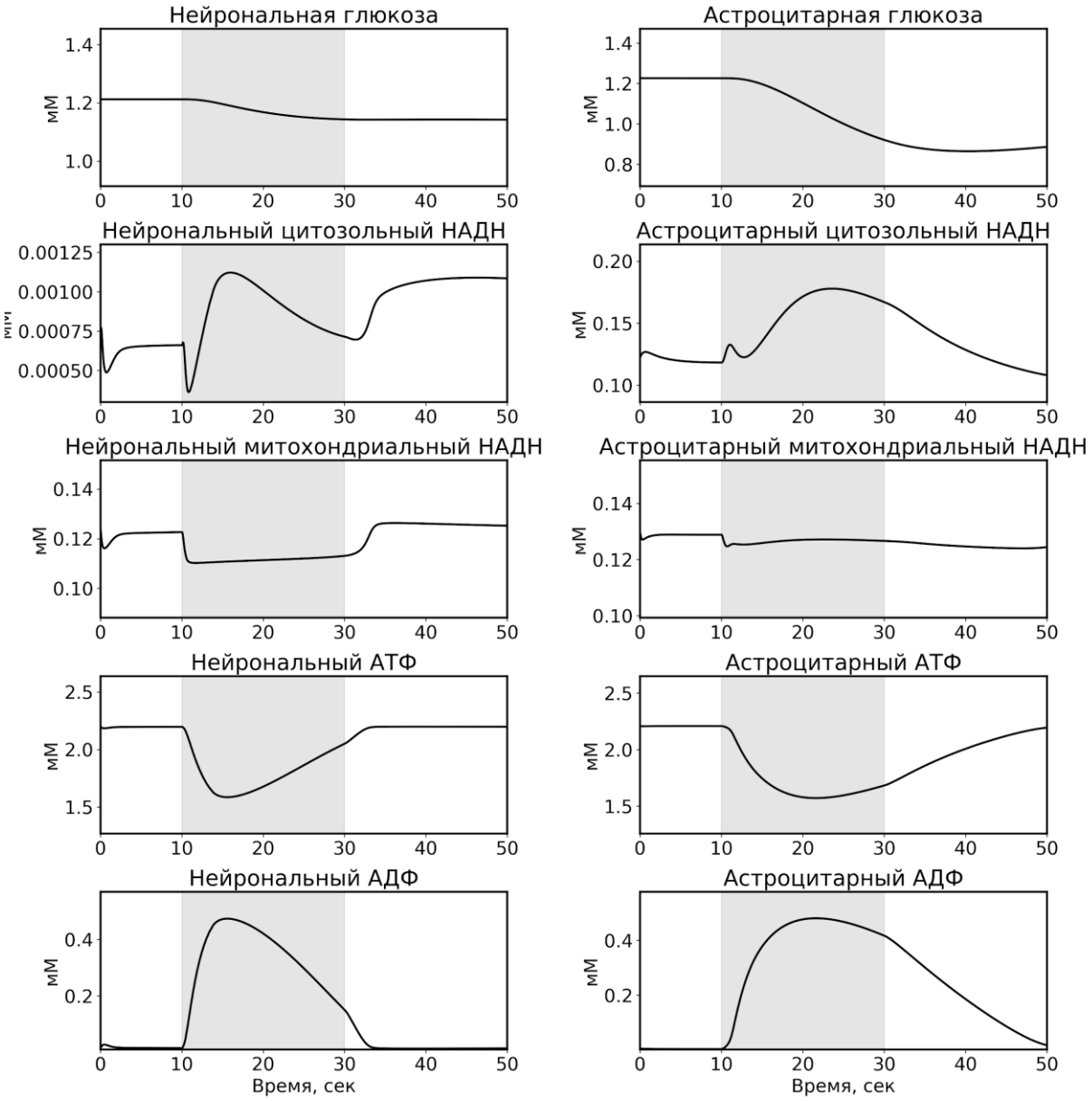

Рис. 3. Метаболический ответ на электрическую стимуляцию. Показаны основные компоненты энергетического метаболизма и их изменения в ответ на стимуляцию как на рисунке 2. Цветом на всех рисунках выделен период стимуляции.

На средних графиках рисунка 3 показана динамика НАДН в нейронах и астроцитах в цитозоле и в митохондриях. При стимуляции в цитозоле наблюдается рост НАДН, что происходит вследствие активации гликолиза и пируваткиназы в частности. В митохондриях, наоборот, наблюдается падение уровня восстановленного НАДН вследствие увеличения его потребления в окислительном фосфорилировании. Следует отметить, что динамика НАДН соответствует регистрируемой в экспериментах [20].

Таким образом, используемая модель хорошо воспроизводит наиболее важные экспериментальные данные.

3.2. Поведение модели при метаболической нагрузке

Для исследования эффекта недостаточного метаболизма глюкозы в мозге мы имитировали подавление энергетического метаболизма путем уменьшения скорости фосфофруктокиназы на 30 % (коэффициент для нейронов k^{n}_{HKPFK} = 0.03528 мМ сек$^{-1}$, для астроцитов k^{g}_{HKPFK} = 0.1295 мМ сек$^{-1}$). Данный подход был выбран по двум причинам.

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

Во-первых, множество данных свидетельствует о нарушении гликолиза при нейродегенерации [4]. Во-вторых, в предыдущих работах нами было показано, что хроническое подавление гликолиза *in vivo* приводит к развитию нейродегенерации [21]. Это подавление обеспечивалось хроническим введением 2-дезокси-D-глюкозы (2-ДГ).

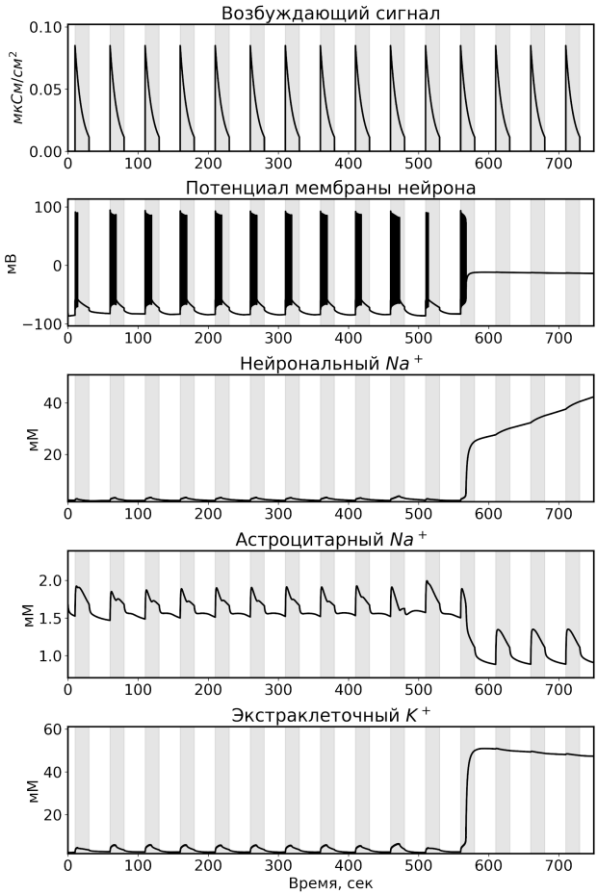

Рис. 4. Эффект множественной стимуляции на мембранный потенциал и ионный гомеостаз системы при подавленном на 30 % гликолизе.

При уменьшении возможности системы продуцировать АТФ и увеличении потребления АТФ мы наблюдали форму метаболического коллапса, названную нами *аденилатным коллапсом* (рисунки 4 и 5). Этот коллапс характеризуется падением уровня АТФ в клетках практически до нуля. Его характерным признаком является сопутствующее падение уровня АДФ, т.е. переход всего пула адениновых нуклеотидов в АМФ. При наступлении коллапса в клетках наблюдается повышение концентрации глюкозы и НАДН. Это явление объясняется тем, что при нулевой концентрации АТФ не происходит фосфорилирование глюкозы гексокиназой, в результате глюкоза перестает расходоваться в метаболизме. Повышение уровня митохондриального НАДН также происходит вследствие прекращения его потребления в дыхательной цепи. Данный эффект происходит из-за недостатка АДФ, который требуется для фосфорилирования. Причины возникновения коллапса мы проанализируем в следующем разделе, здесь же следует отметить, что возникновение аденилатного коллапса носит пороговый характер, т.е. он возникает при падении уровня АТФ ниже определенного уровня. В нашем исследовании при подавлении гликолиза на меньшую величину отличия в динамике АТФ были незначительные. С другой стороны, причина снижения уровня АТФ ниже критического порога оказывается не важна, подавление других частей энергетического метаболизма или более сильная и длительная стимуляция приводит к аналогичной картине аденилатного коллапса.

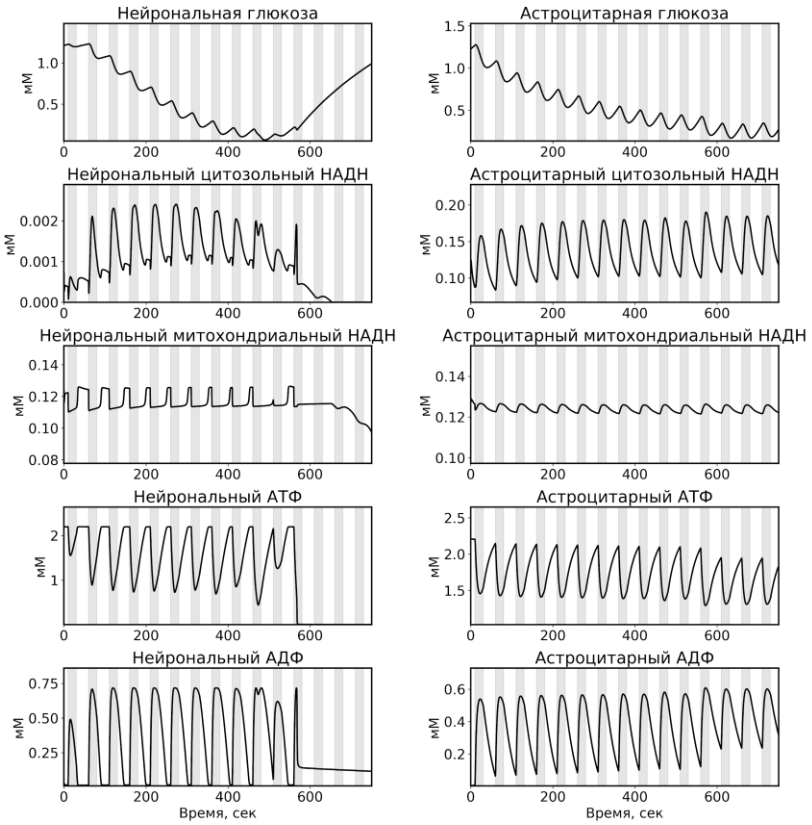

Рис. 5. Метаболический ответ на множественную стимуляцию при снижении гликолиза на 30 %.

3.3. Механизм возникновения аденилатного коллапса

С математической точки зрения возникновение коллапса обусловлено балансом адениновых нуклеотидов, который определяется уравнениями (11, 46 и 48 см. раздел Методы), графики зависимостей (46) и (48) показаны на рисунке 6. Наибольшее значение имеет вид зависимости концентрации АДФ от концентрации АТФ (46), показанной на рисунке 6 справа. Функция АДФ достигает максимума при концентрации АТФ равной 0.73 мМ. Это значение можно считать порогом для возникновения аденилатного коллапса. В зависимости от того, справа или слева находится система, её поведение радикально отличается. В физиологических условиях (правое плечо графика) при понижении концентрации АТФ концентрация АДФ увеличивается, что увеличивает скорость генерации АТФ, поскольку АДФ является субстратом фосфорилирования. Существует отрицательная обратная связь, которая стремится вернуть систему к равновесной концентрации АТФ. В противоположность этому, в ситуации в левой части графика наблюдается положительная обратная связь между концентрациями АТФ и АДФ. При уменьшении концентрации АТФ концентрация АДФ также уменьшается, что приводит к уменьшению скорости продукции АТФ.

Другой причиной коллапса является зависимость, показанная на рисунке 6 слева. Данная функция используется для нормировки в уравнении баланса для АТФ (см. уравнения 11 и 48). Из графика мы видим, что при уменьшении концентрации АТФ нормировочный коэффициент для скорости возрастает, что приводит к уменьшению скорости изменения АТФ. Этот факт также способствует сохранению концентрации АТФ на низком уровне.

В силу указанных причин при достижении порога уровень АТФ падает очень резко и не восстанавливается.

Математическая биология и биоинформатика. 2018. Т. 13. № 2. doi: 10.17537/2018.13.591

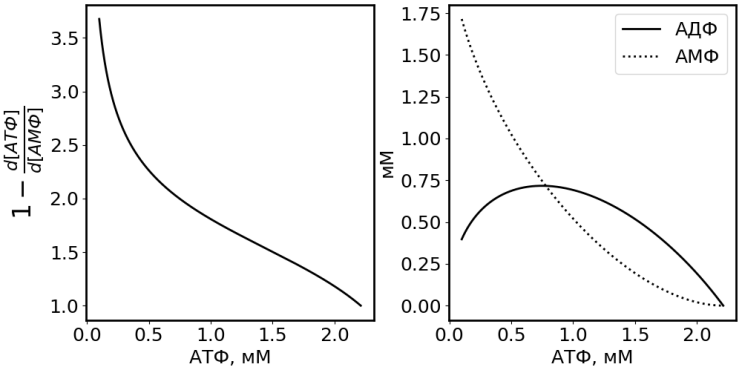

Рис. 6. График функций, использующихся для аппроксимации концентрации адениновых нуклеотидов.

Биохимическая интерпретация вышеописанных математических уравнений состоит в следующем. При концентрации АТФ выше пороговой равновесие реакции, катализилируемой аденилаткиназой, сдвинуто в сторону образования АДФ из АМФ и АТФ. Это приводит к тому, что концентрация АМФ поддерживается на низком уровне. При падении АТФ ниже порога равновесие смещается в противоположную сторону, т.е. происходит образование АТФ и АМФ из АДФ, однако АТФ расходуется клеткой, превращаясь в АДФ, который снова вступает в указанную реакцию. Результатом этого процесса является переход всего аденинового пула в АМФ. Однако АМФ не может быть фосфорилирована реакциями, в которых фосфорилируется АДФ в гликолизе или при окислительном фосфорилировании. В результате система оказывается в ловушке, поскольку у неё нет ни АТФ для покрытия энергетических затрат, ни АДФ для его синтеза.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе исследована подробная биофизическая модель, включающая в себя четыре элемента: нейрон, астроцит, межклеточное пространство и кровеносный сосуд. Модель была построена на основе[11, 12] и улучшена по сравнению с предыдущими исследованиями. В нашей модели были введены: учет внеклеточной концентрации калия и расходование АТФ не только на работу Na/K-АТФазы, но и на другие внутриклеточные процессы со скоростью, зависящей от концентраций АТФ, то есть с кинетикой, более приближенной к реальной. Верификация модели показала, что она хорошо воспроизводит наиболее важные экспериментальные данные при нормальных физиологических условиях.

В работе было проведено теоретическое исследование последствий нарушения гликолиза в нервной ткани на модели метаболического сопряжения между нейронами и астроцитами в условиях афферентной стимуляции, имитирующей выброс глутамата в пресинаптическую щель. Для исследования эффекта недостаточного метаболизма глюкозы в мозге мы моделировали уменьшение скорости фосфофруктокиназы на 30 %. Эффективность такого подхода была нами продемонстрирована в экспериментах *in vitro* и *in vivo* с хроническим введением 2-ДГ, показавших, что недостаточная утилизация глюкозы в мозге может являться триггерным механизмом при формировании нейропатологии [21]. 2-ДГ – это конкурентный аналог глюкозы, который утилизируется клетками через глюкозные транспортные механизмы [22–24]. На первой стадии гликолиза гексокиназа преобразует 2-ДГ в 2-ДГ-6-фосфат, приводя к ингибированию фосфоглюкоизомеразы на второй стадии гликолиза и блокируя образование фруктозо-6-фосфата [23, 25–28].

Основным результатом нашего модельного исследования стало обнаружение феномена аденилатного коллапса, суть которого состоит в самоусиливающемся

уменьшении концентрации АТФ при достижении некоторого порогового уровня. Аденилатный коллапс может являться новым механизмом избирательной гибели клеток при развитии нейродегенеративных заболеваний. Косвенным свидетельством существования такого феномена в мозге является повышение уровня АМФ и аденозина при нейродегенерациях [5].

Предсказанием нашей модели является то, что клетки, попавшие в аденилатный коллапс, должны прекращать потребление глюкозы и кислорода, что в свою очередь может привести к их гибели. Действительно, в экспериментах *in vivo* с хроническим введением 2-ДГ в дозе, ингибирующей гликолиз мозга на 14 %, наблюдали гибель порядка 20 % нейронов в поле CA1 гиппокампа и зубчатой фасции [29].

Существуют экспериментальные данные, показавшие, что клетки после сочетания метаболического стресса и функциональной нагрузки резко снижают потребление глюкозы из межклеточного пространства [30]. В отличие от модели, в реальных клетках может не наблюдаться снижения потребления кислорода. Это может объясняться тем, что кислород в клетках расходуется не только на окислительное фосфорилирование, но и на другие процессы.

Теоретически, в аденилатный коллапс могут попадать как нейроны, так и глиальные клетки. Однако экспериментальные данные указывают на то, что глиальные клетки намного более устойчивы в связи с более низкой метаболической нагрузкой: они не имеют потенциал-зависимых каналов, в них имеется запас гликогена [31], они соединены между собой щелевыми контактами, что делает возможным диффузию нуклеотидов между соседними астроцитами [32, 33].

В заключение, мы хотим отметить, что сейчас в литературе обсуждаются и другие механизмы нарушения метаболизма, например активация поли(АДФ-рибоза)-полимеразы-1 (PARP-1), что приводит к истощению пула адениннуклеотидов [34]. Однако обнаруженный феномен не противоречит имеющимся данным и позволяет предположить еще один возможный путь терапии нейродегенеративных заболеваний на ранней стадии путем блокады аденилатного коллапса с целью предотвращения гибели клеточных популяций.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная нами модель сопряжения энергометаболизма и электрической активности в нервной ткани с учетом взаимодействия нейронов, глии и межклеточного пространства позволила выявить существование критического режима, при переходе к которому клетка резко снижает энергетический потенциал, что приводит к угасанию метаболизма и может спровоцировать избирательную клеточную гибель. Приводящие к этому состоянию перегрузки возбуждения электрической активности на фоне ослабления энергометаболизма соответствуют наблюдаемым в экспериментах процессам при различных моделях эпилептогенеза. Результатом этих процессов является повреждение клеток под действием эксайтотоксичности по механизму метаболического коллапса, названного нами аденилатным, что в свою очередь приводит к избирательной клеточной гибели и формированию патологической гистоморфологии и абнормальной сетевой электрической активности.

Работа была выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» 2018г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kudin A.P., Zsurka G., Elger C.E., Kunz W.S. Mitochondrial involvement in temporal lobe epilepsy. *Exp. Neurol*. 2009. V. 218. № 2. P. 326–332. doi: 10.1016/j.expneurol.2009.02.014

2. Jeon S.Y., Yi D., Byun M.S., Choi H.J., Kim H.J., Lee J.H., Baek H., Choe Y.M., Lee Y., Woo J.I., Lee D.Y. Differential patterns of regional cerebral hypometabolism according to the level of cerebral amyloid deposition in patients with amnestic mild cognitive impairment. *Neurosci. Lett*. 2016. V. 632. P. 104–108. doi: 10.1016/j.neulet.2016.08.045
3. Pan J.W. Williamson A., Cavus I., Hetherington H.P., Zaveri H., Petroff O.A., Spencer D.D. Neurometabolism in human epilepsy. *Epilepsia*. 2008. V. 49. № 3. P. 31–41. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01508.x
4. Zilberter Y., Zilberter M. The vicious circle of hypometabolism in neurodegenerative diseases: Ways and mechanisms of metabolic correction. *J. Neurosci. Res*. 2017. V. 95. № 11. P. 2217–2235. doi: 10.1002/jnr.24064
5. Onodera H., Iijima K., Kogure K. Mononucleotide metabolism in the rat brain after transient ischemia. *J. Neurochem*. 1986. V. 46. № 6. P. 1704–1710.
6. Erecińska M., Silver I.A. Ions and energy in mammalian brain. *Prog. Neurobiol*. 1994. V. 43. № 1. P. 37–71.
7. Gerkau N.J., Rakers C., Petzold G.C., Rose C.R. Differential effects of energy deprivation on intracellular sodium homeostasis in neurons and astrocytes. *J. Neurosci. Res*. 2017. V. 95. № 11. P. 2275–2285. doi: 10.1002/jnr.23995
8. Tovar-y-Romo L.B., Penagos-Puig A., Ramírez-Jarquín J.O. Endogenous recovery after brain damage: molecular mechanisms that balance neuronal life/death fate. *J. Neurochem*. 2016. V. 136. № 1. P. 13–27. doi: 10.1111/jnc.13362
9. Connolly N.M.C., D'Orsi B., Monsefi N., Huber H.J., Prehn J.H. Computational analysis of AMPK-mediated neuroprotection suggests acute excitotoxic bioenergetics and glucose dynamics are regulated by a minimal set of critical reactions. *PLoS ONE*. 2016. V. 11. № 2. Article No. e0148326. doi: 10.1371/journal.pone.0148326
10. Connolly N.M.C., Prehn J.H.M. The metabolic response to excitotoxicity - lessons from single-cell imaging. *J. Bioenerg. Biomembr*. 2015. V. 47. № 1–2. P. 75–88. doi: 10.1007/s10863-014-9578-4
11. Jolivet R., Coggan J.S., Allaman I., Magistretti P.J. Multi-timescale modeling of activity-dependent metabolic coupling in the neuron-glia-vasculature ensemble. *PLoS Comput. Biol*. 2015. V. 11. № 2. Article No. e1004036. doi: 10.1371/journal.pcbi.1004036
12. Aubert A., Costalat R. Interaction between astrocytes and neurons studied using a mathematical model of compartmentalized energy metabolism. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2005. V. 25. № 11. P. 1476–1490. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600144
13. Chander B.S., Chakravarthy V.S. A computational model of neuro-glio-vascular loop interactions. *PLoS ONE*. 2012. V. 7. № 11. Article No. e48802. doi: 10.1371/journal.pone.0048802
14. Heinrich R., Schuster S. *The regulation of cellular systems*. Boston, MA: Springer US, 1996. 291 p.
15. Aubert A., Costalat R., Valabrègue R. Modelling of the coupling between brain electrical activity and metabolism. *Acta Biotheor*. 2001. V. 49. № 4. P. 301–326.
16. Aubert A., Costalat R. A model of the coupling between brain electrical activity, metabolism, and hemodynamics: application to the interpretation of functional neuroimaging. *Neuroimage*. 2002. V. 17. № 3. P. 1162–1181.
17. Petzold L. Automatic selection of methods for solving stiff and nonstiff systems of ordinary differential equations. *SIAM J. Sci. and Stat. Comput*. 1983. V. 4. № 1. P. 136–148.
18. Hindmarsh A.C. ODEPACK, A Systematized Collection of ODE Solvers. *IMACS Transactions on Scientific Computation*. 1983. V. 1. P. 55–64.
19. Connolly N.M.C., Düssmann H., Anilkumar U., Huber H.J., Prehn J.H. Single-cell

imaging of bioenergetic responses to neuronal excitotoxicity and oxygen and glucose deprivation. *J. Neurosci.* 2014. V. 34. № 31. P. 10192–10205. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3127-13.2014

20. Kasischke K.A., Vishwasrao H.D., Fisher P.J., Zipfel W.R., Webb W.W. Neural activity triggers neuronal oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis. *Science*. 2004. V. 305. № 5680. P. 99–103. doi: 10.1126/science.1096485
21. Samokhina E., Popova I., Malkov A., Ivanov A.I., Papadia D., Osypov A., Molchanov M., Paskevich S., Fisahn A., Zilberter M., Zilberter Y. Chronic inhibition of brain glycolysis initiates epileptogenesis. *J. Neurosci. Res.* 2017. V. 95. № 11. P. 2195–2206. doi: 10.1002/jnr.24019
22. Bidder T.G. Hexose translocation across the blood-brain interface: configurational aspects. *J. Neurochem*. 1968. V. 15. № 8. P. 867–874.
23. Bachelard H.S., Clark A.G., Thompson M.F. Cerebral-cortex hexokinase. Elucidation of reaction mechanisms by substrate and dead-end inhibitor kinetic analysis. *Biochem. J.* 1971. V. 123. № 5. P. 707–715.
24. Oldendorf W.H. Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines, and hexoses after arterial injection. *Am. J. Physiol.* 1971. V. 221. № 6. P. 1629–1639.
25. Crane R.K., Sols A. The non-competitive inhibition of brain hexokinase by glucose-6-phosphate and related compounds. *J. Biol. Chem.* 1954. V. 210. № 2. P. 597–606.
26. Wick A.N., Drury D.R., Morita T.N. 2-Deoxyglucose; a metabolic block for glucose. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1955. V. 89. № 4. P. 579–582.
27. Brown J. Effects of 2-deoxyglucose on carbohydrate metablism: review of the literature and studies in the rat. *Metab. Clin. Exp.* 1962. V. 11. P. 1098–1112.
28. Stafstrom C.E., Roopra A., Sutula T.P. Seizure suppression via glycolysis inhibition with 2-deoxy-D-glucose (2DG). *Epilepsia*. 2008. V. 49. Suppl 8. P. 97–100. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01848.x
29. Samokhina E., Malkov A., Samokhin A., Popova I. Selective hippocampal cell damage and mossy fiber sprouting induced by chronic impairment of cerebral glucose metabolism (in press).
30. Malkov A., Ivanov A.I., Buldakova S., Waseem T., Popova I., Zilberter M., Zilberter Y. Seizure-induced reduction in glucose utilization promotes brain hypometabolism during epileptogenesis. *Neurobiol. Dis.* 2018. V. 116. P. 28–38. doi: 10.1016/j.nbd.2018.04.016
31. Öz G., DiNuzzo M., Kumar A., Moheet A., Seaquist E.R. Revisiting glycogen content in the human brain. *Neurochem. Res*. 2015. V. 40. № 12. P. 2473–2481. doi: 10.1007/s11064-015-1664-4
32. Langer J., Gerkau N.J., Derouiche A., Kleinhans C., Moshrefi-Ravasdjani B., Fredrich M., Kafitz K.W., Seifert G., Steinhäuser C., Rose C.R. Rapid sodium signaling couples glutamate uptake to breakdown of ATP in perivascular astrocyte endfeet. *Glia*. 2017. V. 65. № 2. P. 293–308. doi: 10.1002/glia.23092
33. Shinotsuka T., Yasui M., Nuriya M. Astrocytic gap junctional networks suppress cellular damage in an *in vitro* model of ischemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2014. V. 444. № 2. P. 171–176. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.01.035
34. Fan J., Dawson T.M., Dawson V.L. Cell death mechanisms of neurodegeneration. *Adv. Neurobiol*. 2017. V. 15. P. 403–425. doi: 10.1007/978-3-319-57193-5_16

Рукопись поступила в редакцию 12.12.2018.
Дата опубликования 27.12.2018.