

**НАЦІОНАЛЬНО ТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Навчально-науковий фізико-технічний інститут
Кафедра прикладної фізики**

До захисту допущено:

Завідувач кафедри

_____ Геннадій МОНАСТИРСЬКИЙ

« ____ » _____ 2025 р.

Дипломна робота

на здобуття ступеня бакалавра

зі спеціальності: 105 Прикладна фізика та наноматеріали

на тему: «Моделювання гіпоксичних умов у багатокомпартментній
нейронній моделі за допомогою застосунку Neuron»

Виконав:

студент IV курсу, групи ФФ-11

Нерпій Адріан Сергійович _____

Керівники:

асист. каф.ПФ,

док.філос Ольховик Ілля Володимирович _____

Консультант:

Ст.н.с.,

к.б.н Яворський Володимир Антонович _____

Рецензент:

Пр.н.с.,

д.б.н. Шкриль В'ячеслав Михайлович _____

Засвідчую, що у цій дипломній
роботі немає запозичень з праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Студент: Нерпій А.С.

Київ 2025

ЗАВДАННЯ

**Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря
Сікорського» Навчально-науковий фізико-
технічний інститут
Кафедра прикладної фізики**

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Спеціальність – 105 «Прикладна фізика та наноматеріали»

Освітньо-професійна програма «Прикладна фізика»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. завідувача кафедри

_____Геннадій МОНАСТИРСЬКИЙ

«___»_____2025 р.

**Завдання
На дипломний проєкт студенту
Нерпій Адріан Сергійович**

1. Тема проєкту: «Моделювання гіпоксичних умов у багатокомпартментній нейронній моделі за допомогою застосунку Neuron», керівник проєкту Ольховик Ілля Володимирович, затверджені наказом по університету від «26» травня 2025 р. № 1761-с.
2. Термін подання студентом проєкту: 20.06.2025
3. Вихідні дані до проєкту: Моделювання було проведено в програмі Neuron Simulator.
4. Зміст дипломної роботи:
 - a. Визначити вплив гіпоксичних умов на компоненти за експериментальними даними.
 - b. Побудувати модель нейрона в застосунку Neuron Simulator.

- с. Отримати імпульсну активність нейрона при різних параметрах іонних провідностей, що імітують гіпоксичні умови.
5. Перелік графічного матеріалу :презентація- 14 аркушів А4
 6. Орієнтовний перелік публікацій: XXIII Всеукраїнська науково-практична конференція студентів, аспірантів та молодих вчених
 7. Дата видачі завдання *15.04.2025*

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання дипломного проєкту	Термін виконання етапів проєкту	Примітка
1	Огляд літератури за тематикою досліджень	12.01.2025 – 15.03.2025	Виконано
2	Вибір програмного пакету для моделювання	15.03.2025 – 20.03.2025	Виконано
3	Ознайомлення з Neuron Simulator	20.03.2025 – 01.04.2025	Виконано
4	Побудова геометрії та моделі	01.04.2025 – 13.05.2025	Виконано
5	Моделювання процесу та аналіз результатів	13.05.2025 – 01.06.2025	Виконано
6	Подання роботи на захист	20.06.2025	Виконано

Студент _____ Нерпій Адріан

Науковий керівник _____ Ольховик Ілля

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка дипломної роботи за обсягом становить 50 сторінок тексту, містить 12 ілюстрацій, 3 таблиці. Для дослідження було використано 27 бібліографічних найменування.

Метою роботи є розробка моделі нейрона з дендритами та моделювання впливу умов гіпоксії в застосунку Neuron Simulator , за яких відбуваються зміни параметрів системионних провідностей на сомі модельного нейрона. Аналіз збудливості нейронів досліджується щодо різних модифікацій провідностейрізних іонних каналів, часових параметрів активації динаміки внутрішньоклітинного кальцію. Вивчаєтьсявплив умов модельованої гіпоксії на механізми генерації потенціалу дії. Створена модель повинна бути здатна відтворювати основні властивості нейрона, що спостерігаються в практичних спостереженнях на ізольованих нейронах.

Ключові слова: *нейрони, імпульсна активність, мембранні потенціали, власні розряди, комп'ютерне моделювання, формалізм Ходжкіна-Хакслі.*

SUMMARY

The diploma work explanatory message includes 50 pages of the text, 12 illustrations, 3 tables. At the problem modern state analysis, overall 27 references were used.

The purpose of the work is to develop a model of a neuron with dendrites using the Neuron Simulator application and to investigate the conditions under which changes in system parameters occur. Analysis of neuronal excitability is investigated in relation to various modifications of the conductivity of various ion channels and the dynamics of intracellular calcium. To investigate the influence of hypoxia conditions on the mechanisms of action potential generation. The created model should be able to reproduce the basic properties of a neuron, such as multiple generation of action potentials.

Keywords: *neurons, impulse activity, membrane potentials, intrinsic discharges, computer simulation, HH model*

СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

АТФ– аденозинтрифосфорна кислота

ASICs кислотно-чутливих іонні канали

SK – Кальцій-залежні калієві канали малої провідності

IbTX– Іберіотоксин, селективний блокатор ВК каналів

TEA –Тетраетиламоній хлорид

TTX –Тетродотоксин

ЗМІСТ

Вступ.....	8
Завдання дипломної роботи	9
1. Явище гіпоксії та його значення.....	10
2. Програмне забезпечення для обрахунку та моделювання гіпоксичних умов.....	13
2.1. Застосунок Neuron Simulator	13
2.2. Інтерфейс користувача.....	14
2.3. Вікно налаштування Cellbuilder.....	16
2.4. Інструмент ChannelBuilder	18
2.5. Інструменти Network and Network Cell Builder.....	20
2.6. Моделювання та запис.....	21
2.7. Збереження даних та “сесій”	22
2.8. Висновок розділу.....	22
3. Вплив умов гіпоксії на різні типи іонних провідностей	23
3.1. Вплив гіпоксії на потенціал-залежні калієві струми	23
3.2. Вплив гіпоксії на кальцій-активовані калієві струми.....	25
3.3. Вплив гіпоксії на натрієві струми	26
3.4. Вплив гіпоксії на стійкі натрієві струми.....	27
3.5. Висновок розділу.....	28
4. Побудова та аналіз моделі.....	30
4.1. Формування впливу гіпоксії шляхом зміни параметрів різної провідності	31
4.2. Рівняння струмів та їх параметри.....	33
4.3. Висновки розділу	42
5. Результати та обговорення	44
6. Висновки	46
6.1. Перспективи продовження роботи із модельною системою	47
7. Список літератури.....	47

Вступ

На сьогоднішній день одним із найбільш актуальних напрямків досліджень у нейробіології є аналіз механізмів, що виникають у головному мозку при недостатньому забезпеченні киснем, іншими словами гіпоксії. Гіпоксичні стани є характерними для низки патологій, таких як інсульт, ішемія мозку, черепно-мозкові травми та нейродегенеративні захворювання. Моделювання цих процесів сприятиме розумінню основних принципів роботи нервової системи в екстремальних умовах.

Моделювання нервових систем на основі нейронних моделей є важливим інструментом у дослідженнях, які спрямовані на відтворення фізіологічних і патологічних процесів. Використання програмних середовищ, таких як Neuron Simulator, відкриває широкі можливості для створення багатокомпартментних нейронних моделей, які точно імітують електрофізіологічні характеристики окремих нейронів і їхніх мереж. Зокрема, такий підхід дозволяє досліджувати вплив гіпоксичних умов на поведінку нервових клітин і вивчати їхню реакцію на змінені фізіологічні параметри.

З іншого боку, актуальність дослідження обумовлена тим, що сучасні комп'ютерні методи дозволяють здійснювати деталізоване відтворення експериментальних умов без необхідності безпосереднього проникнення всередину біологічних об'єктів. Отримані результати можуть стати основою для подальших експериментальних та теоретичних досліджень у галузі нейробіології, побудови концептуальних моделей і їх перевірці в умовах експерименту.

У роботі розглядаються теоретичні аспекти гіпоксії, методологія побудови багатокомпартментних нейронних моделей, реалізація моделі гіпоксичних умов у середовищі Neuron Simulator та аналіз результатів моделювання.

Теоретичним ж значенням є моделювання гіпоксії із специфічним впливом на окремі іонні провідності на сомі модельного нейрону. Після вдалого відтворення обраної моделі ми порівнюємо та перевіряємо експериментальні дані із змодельованими та можемо зробити висновки, щодо їх співзначності та релевантності.

Завдання дипломної роботи

1. Побудувати модель нейрона в застосунку Neuron Simulator.
2. Визначити вплив гіпоксичних умов на компоненти за експериментальними даними.
3. Визначити імпульсну активність модельованого нейрона при змінених параметрах іонних провідностей, що імітують гіпоксичні умови.

1. Явище гіпоксії та його значення

Гіпоксія – це зниження рівня кисню, що надходить до органів і тканин організму. Викликаний цією недостатністю стан, сильно впливає зокрема на енергетичні потреби клітин, тканини і органи [1]. Вплив на функціонування нейронів відбувається через зниження АТФ, що спричиняє деполяризацію мембрани, дисбаланс іонів та неефективну роботу іонних каналів. Основними механізмами є активація іонних каналів і вивільнення позаклітинного АТФ до токсичних рівнів, що посилює пошкодження тканин.

Стартом досліджень у сфері гіпоксії вважатимуться період кінця 1960-х років ХХ століття, коли фізіологи розпочали уважного вивчення реакцій організму людини на підйом у гори. Зокрема, вплив високогір'я із низьким парціальним тиском досліджується в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, в відділах гіпоксії, клінічної фізіології сполучної тканини. Ці дослідження призвели до відкриття низки механізмів, які активуються у відповідь на дефіцит кисню. Значущість проблематики підкреслює Нобелівська премія 2019 року в галузі фізіології та медицини, яка була присуджена трьом вченим, які змогли з'ясувати, як клітини людини відчують та адаптуються до навколишнього середовища з різним рівнем кисню. Вільям Келін-молодший (Гарвард, Інститут онкології Дана - Фарбер), сер Пітер Реткліфф (Оксфорд, Інститут Френсіса Крику) і Грегг Семенза (Університет Джонса Хопкінса) не залежно один від одного отримали вирішення цієї проблеми.

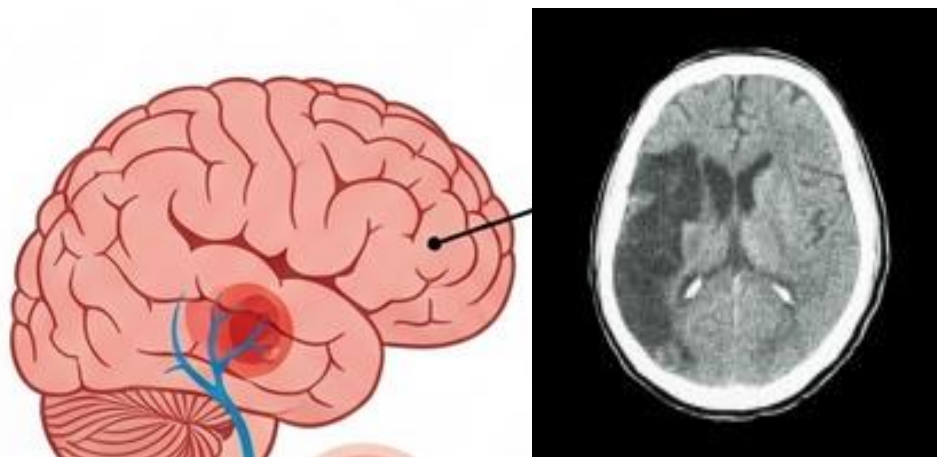


Рис. 1. Ушкоджуючий вплив нестачі кисню (гіпоксії) на нервову тканину. А) фокальне ураження мозку внаслідок інсульту при припиненні кровопостачання. Б) Томографічне зображення перерізу мозку із ураженням однієї півкулі.

Можемо бачити, що розвиток боротьби з цим захворюванням має свою історію, що відбувалась протягом тривалого часу, і важливим етапом стало застосування комп'ютерів й програмного забезпечення для обрахунку та моделювання гіпоксичних умов.

Використання додаткових інструментів у вигляді комп'ютерів є важливим і корисним з декількох причин. Важливою причиною є відтворення експерименту без ризику застосування на живих істотах, що дозволяє уникати проблеми з безпеки, етики та проведення в експериментальних умовах, що не є доступними в лабораторіях.

Також важливим аспектом є швидкість розрахунку, можливість проведення серії з симуляцій та виявлення впливу окремих компонентів та параметрів. Моделювання має величезне значення для освітнього процесу, дозволяючи студентам та дослідникам візуалізувати та інтерактивно вивчати динаміку нейронних процесів, що є невидимими для неозброєного ока. У

науковій діяльності, це прискорює тестування гіпотез та розробку нових препаратів, дозволяючи відсіяти неефективні варіанти на ранніх стадіях, перш ніж переходити до дорогих та трудомістких біологічних досліджень. Перелічені ознаки дають великі переваги в глибокому розумінні механізмів роботи моделей. Наразі, завдяки доступності потужних інструментів з відкритим вихідним кодом або вільним доступом, кожен охочий може займатись дослідженнями в цій сфері, а тому вибір правильного знаряддя має великий вплив на подальшу роботу.

2. Програмне забезпечення для обрахунку та моделювання гіпоксичних умов

2.1. Застосунок Neuron Simulator

Аналізуючи та симулюючи гіпоксичні умови, необхідно мати інструменти для реалізації певних процесів та систем. Для цього, було обрано застосунок Neuron Simulator, що є багатофункціональним та доступним. Ці характеристики дозволяють ефективно виконувати комплексні симуляції, відтворювати моделі та аналізувати результат за допомогою графіків та інших інструментів. Розрахунки в Neuron базуються на інтеграції чисельних методів та детального моделювання фізіологічних процесів. Ключова перевага Neuron полягає у можливості створення багатокомпаратментних моделей, створенні провідностей із заданими властивостями, що забезпечує більш реалістичне відображення електрофізіологічних явищ. Також є можливість динамічного відображення результатів комп'ютерного розрахунку на низці графіків, відеографіків.

Використовуючи застосунок Neuron Simulator [27], запуск якого виконується через бібліотеки мови програмування Python, ми можемо будувати та моделювати різноманітні елементарні структурно-функціональні одиниці, в тому числі і нейрон.

При побудові моделі також необхідно визначити зв'язки між клітинами, їх топологію та взаємодії в рамках конкретної мережі. Для кожної клітини важливо визначити її параметри активності та взаємодії з іншими клітинами, враховуючи електричні та хімічні сигнали. Для досягнення точного моделювання в мережевих системах слід врахувати тимчасову та просторову динаміку змін у кожному елементі мережі. Також необхідно оптимізувати обчислювальні ресурси, адже моделювання складних мереж потребує великих обчислювальних потужностей.

Neuron Simulator моделює окремі нейрони за допомогою секцій, які автоматично поділяються на окремі компартменти. Основною мовою програмування є hoc, але також доступний інтерфейс Python.

Neuron Simulator здатний обробляти моделі дифузійно-реакційних реакцій та інтегрувати функції дифузії в моделі синапсів та клітинних мереж. Властивості мембранних каналів нейрона моделюються за допомогою компільованих механізмів, написаних мовою NMODL, або за допомогою компільованих процедур, що працюють на внутрішніх структурах даних, налаштованих за допомогою Channel Builder. Порівнюючи застосунок з аналогічною програмною платформою GENESIS, Neuron Simulator є основою для навчання та моделювання в біофізиці на багатьох курсах та в лабораторіях по всьому світу.

2.2.Інтерфейс користувача

Neuron Simulator містить графічний інтерфейс користувача (GUI). Інтерфейс користувача в цьому застосунку містить просте для розуміння та ефективно робоче середовище для моделювання нейронних систем. Він складається з кількох основних інструментів, що взаємодіють між собою для створення цілісної системи та будуть розглянуті детальніше у подальших розділах

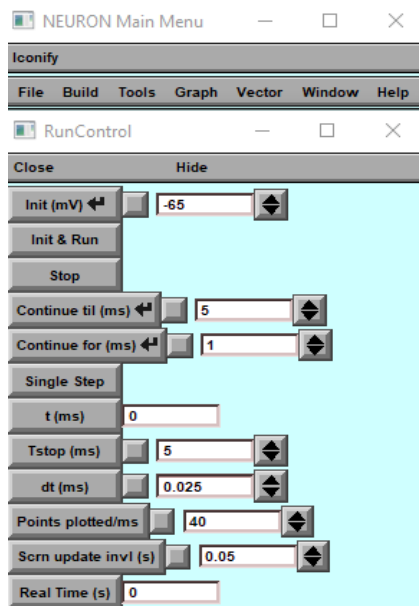


Рис. 2. Вікно користувацького інтерфейсу для ініціації моделі, її запуску, контролю параметрів розрахунку моделі.

GUI оснащений конструктором для одно та багатокомпартментних моделей, нейронних мережей, каналів та лінійних електричних кіл. Одно та багато компартментні моделі відрізняються тим, що багатокомпартментні мають кілька «секцій», кожна з яких має потенційно різні параметри для розмірів та кінетики. На веб-сайті Neuron Simulator доступні навчальні посібники, зокрема для отримання базових моделей з конструкторів клітин, каналів та мереж [27]. За допомогою цих інструментів користувач може сформувати основу всіх симуляцій та моделей.

2.3. Вікно налаштування Cellbuilder

В застосунку Neuron Simulator основним способом задання моделей є робота через вікно Cellbuilder, яке дозволяє створювати, керувати та редагувати різноманітні біофізичні властивості та геометрію нейронних моделей, а також інші параметри, що визначають динаміку окремих нейронів.

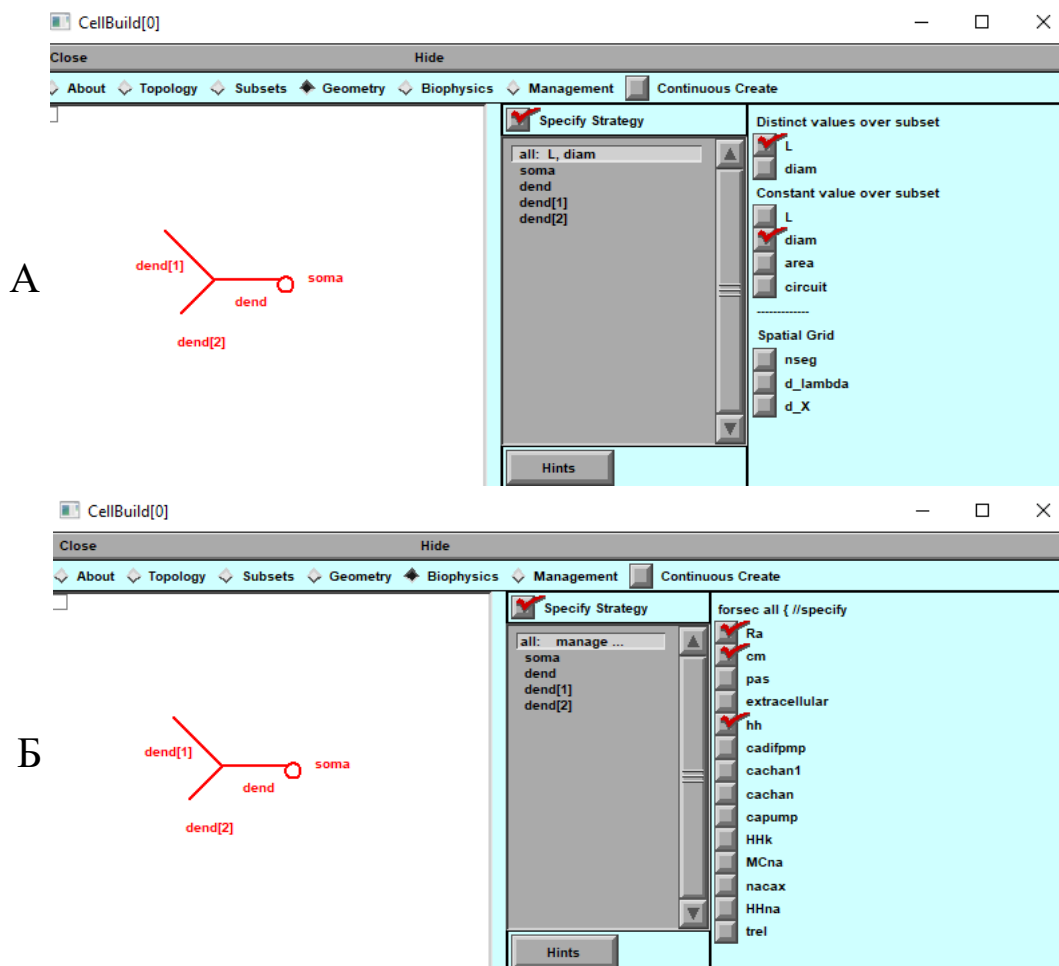


Рис. 3. Вікно інструменту Cell Builder в додатку Neuron Simulator, що слугує налаштуванню топології, геометрії, управління, біофізичних властивостей нейрона. А) Нейрон із сомою та трьома дендритами у правій частині список параметрів, які можна регулювати - опір, властивості, ємність мембрани, іонні провідності. Б) Візуалізація форми моделі нейрона, та список параметрів, які визначають геометрію нейрона: довжина та діаметр нейрона.

Cell Builder дозволяє користувачеві генерувати та змінювати структури клітин у формі фігур. Ці секції формують основу функціонально різних

областей нейрона та користувач може сам їх задати. Секції, що розгалужуються одна від одної, можна позначити як «дендрити», тоді як інша, окрема секція, що проектується з тієї ж центральної, може бути позначена як «аксон». Користувач може визначити параметри, вздовж яких певні значення змінюються як функція по всій секції.

Користувач може вибрати окремі секції або групи та встановити точні параметри довжини, діаметра, площі та довжини для цієї групи або секції. Будь-яке з цих значень може бути встановлено як функція довжини або якогось іншого параметра відповідної секції. Користувач може встановити кількість функціональних сегментів у секції, що є стратегією просторового розрізнення. Чим більша кількість сегментів, тим точніше Neuron Simulator може обробляти дані.

Користувачі можуть визначати кінетичні та електрофізіологічні функції як для підмножин, так і для секцій. Neuron Simulator оснащений ймовірнісною моделлю кінетики аксона гігантського кальмара за моделлю Ходжкіна-Хаксл, а також функцією моделювання кінетики пасивного каналу витоку. Обидві ці функції та характеристики, які вони описують, можна додати до мембрани сконструйованої клітини. Значення швидкості витоку, натрієвої та калієвої провідності можна встановити для моделювання. Канали стають доступними для реалізації в клітинній мембрані.

2.4. Інструмент ChannelBuilder

GUI Neuron Simulator надає комплексне робоче середовище, яке дозволяє дослідникам зосередитись на біологічних аспектах моделювання, а не на складнощах кодування. Він складається з низки основних інструментів, що гармонійно взаємодіють між собою, утворюючи цілісну систему для побудови, симуляції та аналізу нейронних моделей. Призначення ChannelBuilder полягає у створенні та налаштуванні властивостей іонних каналів.

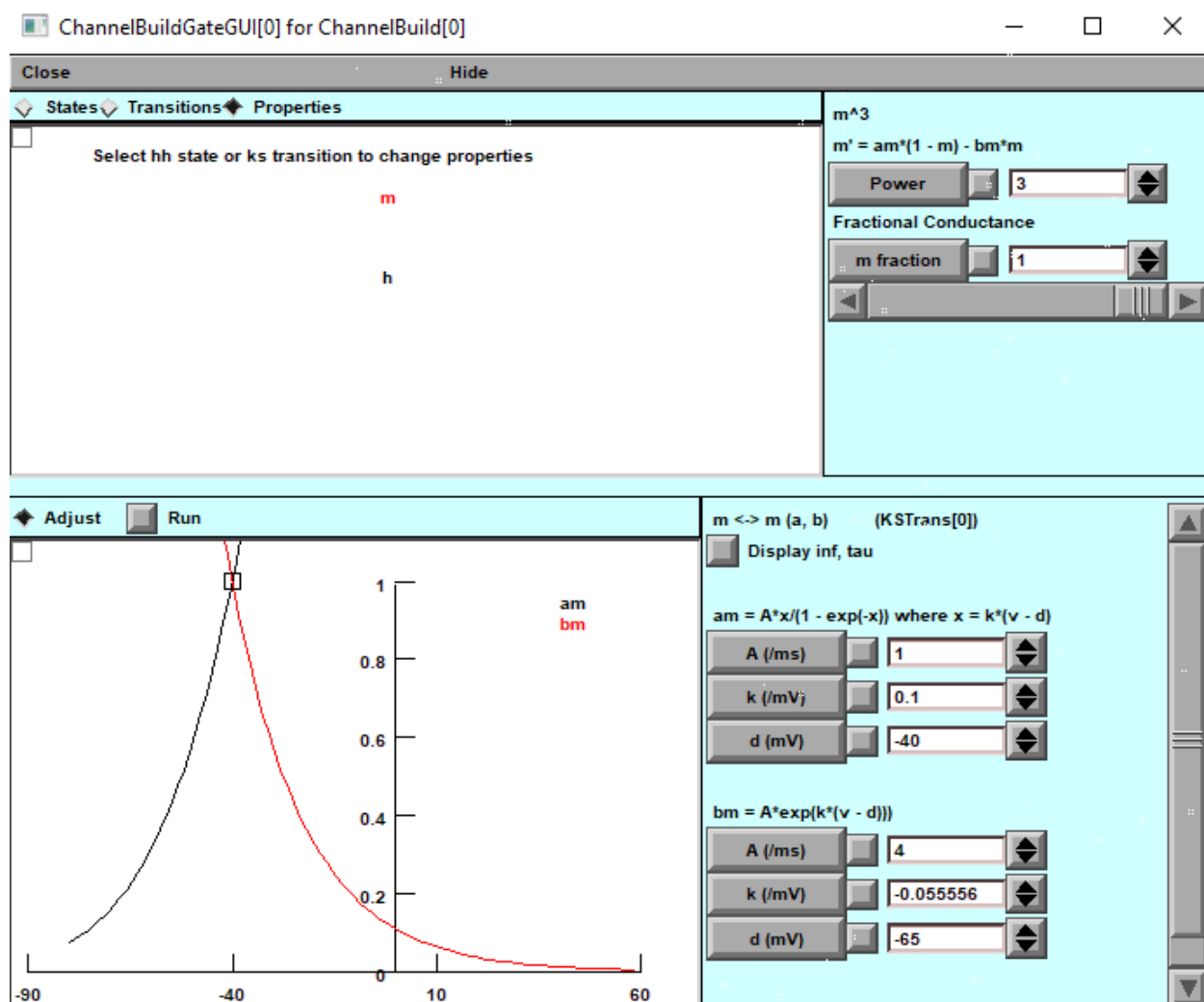


Рис. 4. Початкове вікно Channel Builder інструмент із графічним інтерфейсом для створення каналів, переходи станів яких описуються кінетичними схемами та/або диференціальними рівняннями.

На відміну від CellBuilder, який фокусується на загальній архітектурі та біофізиці цілої клітини, ChannelBuilder спеціалізується на деталізації окремих типів каналів.

Користувач може створювати як потенціал-, так і ліганд-залежні моделі каналів. Конструктор каналів підтримує локальні точкові канали, які зазвичай використовуються для окремих великих каналів, функція яких має бути змодельована, та загальні канали, щільність яких по всій клітині можна встановити. Також є можливість окреслити максимальну провідність, потенціал розвороту, чутливість лігандів, проникність іонів і точну динаміку перехідних станів з використанням змінних активації та інактивації, включаючи диференціальну провідність.

The screenshot shows the 'Channel Builder' parameter window. At the top, it says 'm <-> m (a, b) (KSTrans[5])'. Below this is a checkbox labeled 'Display inf, tau'. The first section is for the activation curve, labeled 'am = A*x/(1 - exp(-x)) where x = k*(v - d)'. It contains three input fields: 'A (/ms)' with a value of 1, 'k (/mV)' with a value of 0.1, and 'd (mV)' with a value of -40. The second section is for the inactivation curve, labeled 'bm = A*exp(k*(v - d))'. It also contains three input fields: 'A (/ms)' with a value of 4, 'k (/mV)' with a value of -0.055556, and 'd (mV)' with a value of -65. At the bottom, there is a label 'EquationType'.

Рис. 5. Вікно параметрів Channel Builder.
Приклад налаштування кінетичних диференційних рівнянь та параметрів до них.

2.5. Інструменти Network and Network Cell Builder

Network та Network CellBuilder використовують для моделювання мереж нейронів

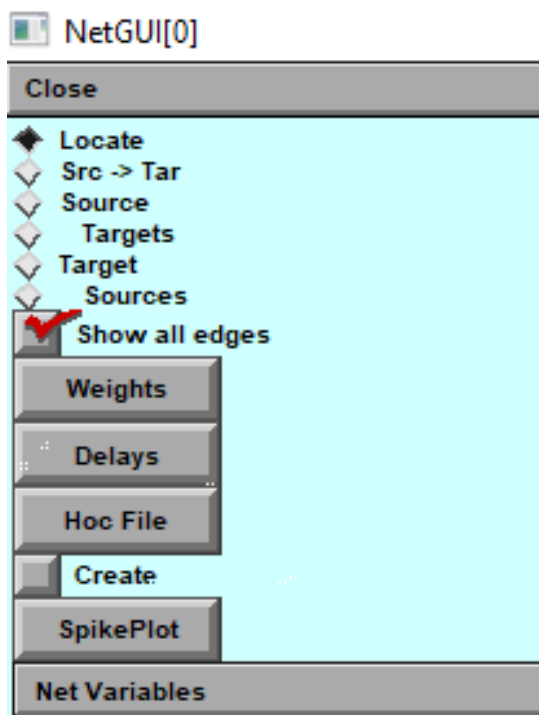


Рис. 6. Вікно Network and Network Cell Builder у застосунку Neuron Simulator, для створення, налаштування та модифікації мереж.

Neuron Simulator дозволяє створювати змішані моделі, заповнені як штучними клітинами, так і нейронами. Штучні клітини по суті функціонують як точкові процеси, реалізовані в мережі. Штучним клітинам потрібен лише точковий процес із визначеними параметрами. Користувач може створювати структуру та динаміку мережевих комірок. Користувач може створювати синапси, використовуючи змодельовані точкові процеси синапсів як архетипи. Параметри цих точкових процесів можна маніпулювати для імітації як гальмівних, так і збуджуючих реакцій. Синапси можна розміщувати на певних сегментах сконструйованої клітини, де вони, знову ж таки, поводитимуться як точкові відростки, за винятком того, що вони чутливі до активності пресинаптичного елемента. Користувач створює базову сітку мережевих комірок, беручи попередньо завершені мережеві комірки як архетипи. Зв'язки

можна визначити між вихідними клітинами та цільовими синапсами на інших клітинах.

2.6. Моделювання та запис

Neuron Simulator оснащений низкою інструментів моделювання, що half.nm можливість виводити різнопланові графіки. Найголовніше, що він включає кілька «точкових процесів», які є простими функціями в певному сегменті клітини. Точкові процеси включають моделювання напруги, патча, окремого електрода та струмових затискачів, а також кілька симульованих синапсів. Точкові процеси синапсів відрізняються своєю здатністю моделювати інтенсивність стимуляції, яка нелінійно змінюється з часом.

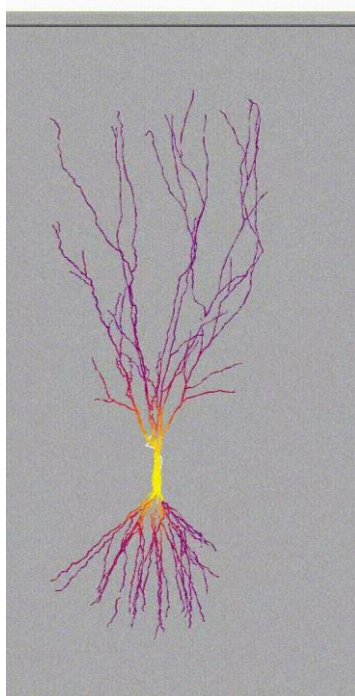


Рис. 7. Інструмент моделювання – динамічні відеографіки для перегляду моделювання нейрона в застосунку Neuron Simulator

Їх можна розмістити на будь-якому сегменті будь-якої секції побудованої комірки, окремої або мережевої, а їхні точні значення, включаючи амплітуду та тривалість стимуляції, час затримки активації в прогоні та параметри

часового спаду (для синапсів), можна визначити з модуля менеджера точкових процесів. При реалізації в мережі як синапси, параметри точкових процесів визначаються в конструкторі синапсів для конкретної комірки мережі. Графіки, що описують осі напруги, провідності та струму з плином часу, можна використовувати для опису змін електричного стану в місці розташування будь-якого сегмента комірки. Neuron Simulator дозволяє створювати графіки змін як в окремих точках з плином часу, так і по всьому прогону з плином часу. Можна встановити тривалість прогону

2.7.Збереження даних та “сесій”

Ефективне збереження та організація вашої роботи є фундаментом продуктивного моделювання в Neuron. Застосунок пропонує різні підходи, щоб ви могли зберігати як окремі компоненти моделі, так і все ваше робоче середовище. Зберегти файл можна вигляді ses-файлу - сесії або hoc-файлу, mod-файлу, який містить опис механізму окремих провідностей. Використовуючи GroupManager є можливість змінювати розташування обраних вами вікон, а також зберігати окремі частини «сесій».

2.8.Висновок розділу

Застосунок дозволяє інтегрувати експериментальні дані, що робить модель більш наближеною до реальних умов. Користувачі можуть створювати унікальні сценарії для симуляції складних явищ, таких як гіпоксія або ішемія. Інтерактивний аналіз із використанням графіків дозволяє дослідити залежності між іонними струмами, провідністю та генерацією потенціалів дії. Таким чином, Neuron Simulator виступає універсальним середовищем для моделювання і дослідження електрофізіологічної активності нейронів в умовах гіпоксії.

3. Вплив умов гіпоксії на різні типи іонних провідностей

3.1. Вплив гіпоксії на потенціал-залежні калієві струми

Із літературних джерел відомо експериментальні роботи та переважно приймається механізм, що гіпоксія значно знижує активність нейронів у зоні CA1 гіпокампу, але відновлюється при реоксигенації [2]. Зміни густини утримуваного ректифікаційного калієвого струму (I_{DR}), а також зміна в бік деполяризації інактивації струму А-типу (I_A), який повернувся до норми після реперфузії, пов'язані з цим ефектом. Відомо, що частина вхідного опору та збудливості нейронів залежать від функціонування потенціал-залежних K_V -каналів, а кінетика та щільність їх струму регулюються станом фосфорилування [3, 4]. Ці процеси тісно пов'язані зі зміненою активністю фосфатаз, які запускаються в умовах ішемії чи гіпоксії [5, 6]. Застосування блокаторів K_V -каналів, наприклад, тетраетиламонію (ТЕА) або донезепілу, може врятувати клітини від пошкодження клітин внаслідок гіпоксії-реперфузії [7].

Внесок K_V калієвих каналів у регуляцію активності нейронів важко переоцінити. Наприклад, калієві канали А-типу (I_A), швидко інактивуючись, беруть участь у вхідно-мембранному опорі та збудливості шляхом тісного зчеплення з сімейством K_{V4} . З іншого боку, канали із затримкою випрямлення (I), які забезпечують тривалі струми, засновані переважно на підтипі K_{V2} .

Експерименти показали, що застосування гіпоксичного навколишнього середовища (8% O_2 , 5% CO_2 , 87% N_2 і 10 мкг/мл LPS) протягом 15 хвилин зменшило вхідний опір нейронів зі 137 ± 6 МОм до 107 ± 6 МОм. Одночасно частота генерації знизилася з 15-20 Гц до 5 Гц [2]. Густина струму I_A майже не змінився, але криві розпаду змістилися в бік деполяризації та повернулися до норми після реперфузії. Таким чином, напівпотенціал V_h змінювався від -55 ± 1 мВ до -48 ± 1 мВ протягом 10 хв гіпоксії. Густина струму I_A при -62 мВ зросла з 39 ± 3 пА/пФ до 48 ± 4 пА/пФ.

У випадку використання струму IDR при гіпоксії його густина зростала на 10% (із 170 ± 12 pA/pF до 198 ± 14 pA/pF), проте після реоксигенації зменшилася до 60% від початкового рівня (120 ± 13 pA/pF). Також було помітно, що активаційні криві IDR зміщувалися в деполяризаційний напрямок: V_h змінювався з 7.8 ± 1.8 мВ до 17 ± 2 мВ протягом перших 15 хв.

Отже, регулювання діяльності калієвих каналів K_v під час гіпоксії дублювало реперфузію, що, мабуть, є вирішальним у зміні збудливості нейронів, через зміни в кінетиці струмів і вході. Дослідження [8] підтверджувало, що канали K_v були чутливими до тиску кисню (PO_2) шляхом зміни ймовірності відкриття, під дією активних форм кисню, які є додатковими сигналами стресу для клітини. Зміни в гіпоксії: 27 мм рт. ст. змінювали потенціали дії, збудливість і провідність у нейронах молодих щурів DRG [9].

Більше того, гіпоксія погіршує калієвий струм, який призводить до деполяризації мембран і подальшої стабілізації потенціалу спокою біля -60 мВ. У цьому дослідженні задіяні канали типу $K_v1.5$, Shaker й $K_v2.1$ [10, 11]. У 77% нейронів зафіксували зменшення струму з 3.2 ± 0.2 нА до 2.4 ± 0.2 нА, тоді як у решти 23% підвищувався калієвий струм до 15% вразливий до α -dendrotoxin (50 nM), що впливає на канали $K_v1.1$, $K_v1.2$ і $K_v1.6$. Оскільки ТЕА блокує $K_v1.1$, $K_v1.6$, $K_v3.1-3.4$ і частково $K_v2.1$ і $K_v2.2$, $K_v2.1$ є імовірним кандидатом на роль чутливого до гіпоксії каналу.

Зменшений калієвий струм під час гіпоксії викликає деполяризацію з подальшим відкриттям каналу кальцієвого типу L, завантажуючи іони кальцію в клітину. При цьому спостерігається зменшення експресії генів $Kcna$, $Kcnj$ та $Kcnq$, що кодують канали, які відповідають за випрямлення струмів і підтримують мембранну реполяризацію, а отже, також впливають на діяльність нейронів [12].

3.2. Вплив гіпоксії на кальцій-активовані калієві струми

Деякі дослідники, припускаючи відсутність впливу гіпоксії на функцію maxi-K^+ каналів, припускають [13], що потенціал-залежні Kv -канали та maxi-K^+ канали не беруть центральної участі в індукованій гіпоксією деполяризації мембранного потенціалу, а скоріше діють проти деполяризації та запобігають надмірному відкриттю кальцієвих каналів. Це стосується чутливих до кисню клітин нервового гребеня (основних клітин або клітин типу I), розташованих у каротидному тілі. У той же час, встановлення мембранного потенціалу значною мірою залежить від фонових калієвих каналів низької провідності (SK-каналів), і їх блокування (наприклад, за допомогою 4-AP+TEA або Ibtx) може значно підвищити внутрішньоклітинні рівні кальцію.

Важливість SK-каналів підтверджується також відкриттям про те, що під час гострої гіпоксії (приблизно 25 мм рт. ст.) струм калію в хромафінних клітинах щурів зменшується більш ніж наполовину [14]. Апамін у концентрації 400 нМ був здатний усунути цей ефект, що вказує на критичну роль чутливого до апаміну компонента цього струму у відповіді, спричиненій гіпоксією. Було виявлено, що гіпоксія індукує деполяризацію мембранного потенціалу, і це також було заблоковано апаміном, який виявився залежним від кальцій-залежних струмів ISK у гіпоксичній деполяризації. Інші дослідження [15] показали, що канали SK2 впливають на поріг стимуляції для синаптичної пластичності в гіпокампі, модифікують збудливі постсинаптичні потенціали (EPSP), необхідні для індукції довготривалої потенціації (LTP). Показано, що підвищена активність каналів SK2 негативно впливає на навчання, викликає погіршення пам'яті та прискорює нейродегенеративні процеси.

Таким чином, серед різних типів калієвих каналів тільки кальцій-залежні канали SK з малою провідністю є високочутливими до гіпоксії. Вони можуть викликати локальну деполяризацію клітин та підвищення кількості клітинного кальцію.

3.3. Вплив гіпоксії на натрієві струми

Потенціал-залежні натрієві канали відіграють важливу роль у регулюванні патофізіологічних (наприклад, гіпоксичних) процесів [16, 17]. Гіпоксичне або ішемічне модифікування активності натрій-каналів є першою реакцією на гіпоксію на рівні нейронів CA1 гіпокампу. Це трапляється протягом перших 1–3 хвилин [16].

I_{Na} швидко підростає - воно є реакцією гіпоксії [18, 19] до розчеплення деполяризуючої мембрани, підвищення внутрішньоклітинного кальцію, мітохондріальної дисфункції, виснаження запасів АТФ між примноженням активної форми кисню і, в кінцевому підсумку, до смерті клітини [20]. Практично весь натрієвий струм в нейронах мозочка щурів (CGN) забезпечується $Na_v1.2$ каналами, у меншій мірі іншими ізоформами: $Na_v1.2 \gg Na_v1.6 \gg Na_v1.3$ та $Na_v1.1$ [21, 22]. Співвідношення струму $Na_v1.6$ становитиме приблизно 10% контрольних умов.

Пригнічення активності натрієвих каналів сприяє зниженню надходження іонів натрію в нейрони, що, у свою чергу, зменшує енергетичні витрати в умовах порушення вироблення енергії [16]. Це збільшує витривалість нейронів до низького рівня кисню, а інгібування I_{Na} розглядають як один із захисних механізмів клітини на ранніх стадіях гіпоксії [17]. Блокатори натрієвих каналів мають нейропротективний ефект при гіпоксії [23] і допомагають нейронам адаптуватись до кисневої недостатності, знижуючи енергетичні витрати на тлі порушення обміну речовин [24].

При цьому гіпоксія активує шлях модифікатора SUMO в гранулярних нейронах мозочка (CGN), що впливає на функціонування $Na_v1.2$ каналів і збільшує натрієвий струм [25]. Індуковане з'єднання SUMO1 з цими каналами відбувається протягом 40 секунд після гіпоксії. Загалом це визначає залежність активації від мембранної напруги в бік зменшення порогу їх відкриття. Наприклад, у контрольних умовах (21% O_2) I_{Na} становив -172 ± 20 пА/пФ при -20 мВ із середнім $V_{1/2} = -23 \pm 0,5$ мВ і порогом інактивації -67 ± 2

мВ. Після застосування розчину, що індукує гіпоксію (5% O₂), I_{Na} збільшився на 70% і досяг -294 ± 25 пА/пФ, а V_{1/2} було зміщено вліво на -11 ± 2 мВ, що призвело до підвищення реактивності нейронів на стимуляцію.

Довготривала гіпоксія ініціює зміни в експресії генів іонних каналів, що в кінцевому підсумку впливає на функціонування нейрона. Методи кПЛР виявили значне підвищення значень експресії генів натрієвих каналів в умовах гіпоксії [12]. Встановлено, що підвищення регуляції відбувається не лише в β -субодиниці натрієвих каналів, але й у калієвих каналах, що, у свою чергу, свідчить про патологічні процеси. Також виявлено кальцій-залежну регуляцію транскрипції, залучену до генів, пов'язаних із внутрішньоклітинним гомеостазом кальцію та натрію, таких як кальцієвий фактор реакції та ізоформа 1 натрій-кальцієвого обміну. Активність гена Scn7a, який кодує атипіві потенціал-залежні натрієві канали Nav2.x, помітно зростає, тоді як ген Scn4b, який кодує натрієвий канал модулятора β -субодиниці, проявляє знижену активність. Це зниження пов'язане із синдромом Драве, важким невиліковним епілептичним розладом у дітей.

3.4. Вплив гіпоксії на стійкі натрієві струми

Гостра і хронічна гіпоксія може істотно посилювати стійкі натрієві струми в різних типах нейронів. За звичайних умов ці струми складають лише 1–5% перехідних натрієвих струмів і впливають на підпороговий рівень мембранного потенціалу. Це відіграє важливу роль у деполяризації дендритів через повторний запуск потенціалів дії або посилення синаптичної передачі. Під час гіпоксії постійні струми натрію можуть бути посилені, знижуючи поріг для генерації потенціалу дії та призводячи до нейрогіперзбудливості. Таким чином, це може сприяти патологічним станам, аритмії та пошкодженню нервових клітин [26], а також незвичній мережевій активності нейронів.

Серед можливих механізмів дії гіпоксії виділено порушення внутрішньоклітинного рН та окислювально-відновного стану, які впливають

на властивості та латентність натрієвих каналів. Ще одним фактором є підвищена ймовірність відкриття NaP-каналів і зміни в експресії генів або посттрансляційна модифікація натрієвих каналів. Усе це може впливати окремо або в поєднанні на збільшення стаціонарної складової натрієвих струмів. Протягом приблизно 15 хвилин цей гострий вплив проявляється як збільшення амплітуди потенціалів дії та скорочення їх тривалості, особливо при 90% реполяризації.

Було встановлено, що гіпоксія викликає підвищення рівня внутрішньоклітинного кальцію в різних типах нейронів. Наприклад, у нейронах мозочка, гіпоксія спричинила підвищення базального рівня кальцію на 300%.

3.5. Висновок розділу

Гіпоксія суттєво впливає на роботу іонних каналів, які визначають збудливість і функціонування нейронів, зокрема потенціал-залежних калієвих, кальцій-активованих калієвих і натрієвих каналів.

Гіпоксія знижує активність нейронів через зміни густини калієвих струмів, таких як струм затримки випрямлення (IDR) і А-типу (IA). Ці зміни призводять до деполяризації мембрани та коригуються після реоксигенації. Основним механізмом є порушення кінетики та функціонування калієвих каналів ($K_v1.5$, $K_v2.1$ тощо), спричинених фосфорилуванням, активними формами кисню та зміною активності фосфатаз. Блокатори калієвих каналів можуть забезпечувати нейропротекцію в умовах гіпоксії.

Максі- K^+ і малі SK-канали є важливими в регуляції мембранного потенціалу під час гіпоксії. Найбільш чутливими є SK-канали, які можуть викликати локальну деполяризацію та підвищення рівня внутрішньоклітинного кальцію. Інгібіція цих каналів за допомогою блокаторів (4-AP, TEA, апаміну) впливає на потенціал нейронів, зменшуючи кальцієву проникність і стабілізуючи мембрану.

Натрієві канали реагують на гіпоксію шляхом збільшення амплітуди струмів, що веде до нейрональної деполяризації та підвищення кальцієвої концентрації. Це порушує гомеостаз клітин та може спричинити енергетичне виснаження. На ранніх стадіях гіпоксії блокатори натрієвих каналів діють як нейропротектори. Хронічна гіпоксія призводить до підвищення експресії генів, що кодують натрієві канали (наприклад, $Na_v1.2$), і підсилення стійких натрієвих струмів, підвищуючи збудливість і сприяючи нейрональним пошкодженням.

Гіпоксія суттєво змінює роботу калієвих і натрієвих каналів у нейронах, регулюючи їх кінетику, активність і експресію. Це призводить до деполяризації мембрани, порушення йонного гомеостазу та підвищеної вразливості до пошкоджень. Пошук способів корекції функціонування іонних каналів, зокрема шляхом блокаторів або генетичного регулювання, має великий потенціал для терапії, спрямованої на зниження наслідків гіпоксії.

4. Побудова та аналіз моделі

При побудові моделі необхідно визначити зв'язки між клітинами, їх топологію та взаємодії в рамках конкретної мережі. Для кожної клітини важливо визначити її параметри активності та взаємодії з іншими клітинами, враховуючи електричні та хімічні сигнали. Для досягнення точного моделювання в мережевих системах слід врахувати тимчасову та просторову динаміку змін у кожному елементі мережі. Необхідно оптимізувати обчислювальні ресурси, адже моделювання складних мереж потребує великих обчислювальних потужностей.

В нашій роботі ми змоделювали нейрон із формалізмом Ходжкіна - Хакслі. Для створення моделі застосовували багатокомпартментний підхід, що дозволяє поділити нейрон на окремі частини (сому, дендрити та аксони) з урахуванням специфіки їхньої морфології та функціональності. Отримані результати допомогли детально змоделювати поведінку нейронів у гіпоксичних умовах, а застосунок NEURON забезпечив гнучкість у налаштуванні параметрів та візуалізації результатів у вигляді часових залежностей мембранного потенціалу, іонних струмів і змін кальцієвої концентрації.

Сома	$G_{NaTTX} = 0.5$ $G_{NaP} = 0.0008$ $G_{CaN} = 0.013$ $G_{CaL} = 0.05$ $G_{fKDR} = 0.36$ $G_{Kv1.2} = 0.01$ $G_{KSK} = 0.01$ $G_{Leak} = 5.3e-5$
Дендрити	$G_{Leak} = 5.3e-5$

Таблиця 1. Максимальні парціальні питомі провідності в компартментах моделі (См/см²)

4.1. Формування впливу гіпоксії шляхом зміни параметрів різної провідності

Загальна форма модельних рівняння. Іонні струми у модельному мотонейроні описувалися рівняннями типу Ходжкіна-Хакслі в термінах густини струму i -го компонента на одиницю площі мембрани, J_i (мА/см²):

$$J_i = G_i \cdot m^x \cdot h^y \cdot (E - E_i),$$

де G_i – максимальна питома провідність (См/см²); m та h – кінетичні змінні активації та інактивації з порядками x та y , відповідно; E – мембранний потенціал (мВ), E_i – потенціал інверсії струму (мВ). Кінетичні змінні ($p = m, h$) підпорядковувались диференціальним рівнянням у вигляді

$$dp/dt = a_p(E) \cdot (1-p) - \beta_p(E) \cdot p \text{ або еквівалентному } dp/dt = (p_{\infty}(E) - p)/t_p(E),$$

де $p_{\infty}(E) = a_p(E)/(a_p(E) + \beta_p(E))$ і $t_p(E) = 1/(a_p(E) + \beta_p(E))$ є, відповідно, стаціонарне значення p і стала часу активації або інактивації; $a_p(E)$ і $\beta_p(E)$ – потенціал-залежні (або кальцій-залежні) константи прямої і зворотної швидкостей, відповідно. Для певних парціальних струмів p_{∞} та t_p визначалися наближаючими функціями, підігнаними до експериментальних даних (див. рівняння нижче).

Динаміка внутрішньоклітинної концентрації кальцію $[Ca^{2+}]_i$ описувалася у формі:

$$d[Ca^{2+}]_i/dt = -J_{Ca}/(2 \cdot F \cdot \delta) - ([Ca^{2+}]_i - [Ca^{2+}]_{i0})/\tau_r,$$

де J_{Ca} – густина загального кальцієвого струму; F – константа Фарадея; $\delta = 0.2$ мкм – товщина примембранного шару цитоплазми; $\tau_r = 2.82$ мс – стала часу релаксації $[Ca^{2+}]_i$ до свого базального рівня $[Ca^{2+}]_{i0} = 70$ нМ внаслідок об'єднаної дії насосів, буферів та дифузії углиб цитозолю.

У таблиці 2 представлено перелік компонентів моделі з параметрами та їх функціональними залежностями.

Компоненти системи нейронної динаміки (НН формалізм)	Параметри	Функції залежності (від напруги або кальцію)
Na-струм ТТХ-чутливий із інактивацією	$g_{Na0} = 140 \text{ mS/cm}^2$ $E_{Na} = 45 \text{ mV}$ $I_{Na} = g_{Na0} * m^3 * h * (E_{Na} - V)$	$\alpha_m(V) = \frac{2.5 - 0.1 * (V + 65)}{\exp(2.5 - (V + 65)/10) - 1}$ $\beta_m(V) = 4 * \exp(-(V + 65)/18)$ $\alpha_h(V) = 0.07 * \exp(-(V + 65)/20)$ $\beta_h(V) = \frac{1}{\exp(3.0 - (V + 65)/10) + 1}$
Na-струм ТТХ-чутливий без інактивації	$g_{NaP} = 0.2 \text{ mS/cm}^2$ $E_{Na} = 45 \text{ mV}$ $I_{NaP} = g_{NaP} * m_2^3 * (E_{Na} - V)$	$\alpha_{m2}(V) = \frac{0.011 * (V + 21.4)}{1 - \exp(-(V + 21.4)/5)}$ $\beta_{m2}(V) = \frac{0.00026 * (V + 25.7)}{\exp((V + 25.7)/5) - 1}$ $\tau_{m2}(V) = \frac{1}{\alpha_{m2} + \beta_{m2}}$ $m_{2stat}(V) = \frac{1}{\exp(-(V + 53.)/6) + 1}$
Кальцієвий струм N-типу (CaN)	$g_{CaN} = 3.25$ $E_{Ca} = 0.059/2 * \lg(2e-3/Ca)$ $I_{CaN} = g_{CaN} * c^2 * d * (E_{Ca} - V)$	$\alpha_c(V) = \frac{0.2642 * (V - 19.88)}{1 - \exp(-(V - 19.88)/10)}$ $\beta_c(V) = 0.064 * \exp(-V/20.73)$ $\alpha_d(V) = 2.225 * 1e - 4 * \exp(-V/48.4)$ $\beta_d(V) = \frac{1.39}{\exp(-(V - 39)/10) + 1}$
Кальцієвий струм L-типу (CaL)	$g_{CaL} = 12.5$ $I_{CaL} = g_{CaL} * e^2 * (E_{Ca} - V)$	$\alpha_e(V) = \frac{15.69 * (V - 81.5)}{1 - \exp(-(V - 81.5)/10)}$ $\beta_e(V) = 0.29 * \exp(-V/10.86)$
Швидкий калієвий струм затриманого випрямлення (I_{KDR})	$g_{fKDR} = 36 \text{ mS/cm}^2$ $E_K = -77 \text{ mV}$ $I_{fKDR} = g_{fKDR} * n^4 * (E_K - V)$	$\alpha_n(V) = \frac{0.1 - 0.01 * (V + 65)}{\exp(1 - (V + 65)/10) - 1}$ $\beta_n(V) = 0.125 * \exp(-(V + 65)/80)$
Калієвий струм швидкої активації і повільної інактивації ($K_{v1.2}$)	$g_{Kv1} = 2.5 \text{ mS/cm}^2$ $I_{Kv1.2} = g_{Kv1} * k^1 * l^4 * (E_K - V)$	$\tau_k(V) = 2.44$ $+ \frac{18.387}{\exp(-(V - 25.645)/21.633) + \exp((V + 4.42)/45.9)}$ $k_{stat}(V) = \frac{1}{\exp(-(V + 46)/6.9) + 1}$ $\tau_l(V) = \frac{3.737}{0.00015 * \exp(-(V + 13)/15) + 0.06/(1 + \exp(-(V + 68)/10))}$ $l_{stat}(V) = \frac{1}{\exp((V + 54)/7.1) + 1}$

Кальцій-залежний калієвий струм малої провідності типу SK (I_{sk})	$gK_{sk} = 2.5$ $I_{sk} = gK_{sk} \cdot q^2 \cdot (E_K - V)$	$\alpha_q(Ca) = \frac{0.00246}{\exp(-(12 \log_{10} Ca + 28.48)/4.5)}$ $\beta_q(Ca) = \frac{0.006}{\exp(-(12 \log_{10} Ca + 60.4)/35)}$
Внутрішня концентрація вільного кальцію	$Ca_0 = 70 \text{ nM}$ $\tau_{Ca} = 2.82 \text{ ms}$ $\sigma = 0.2 \mu\text{m}$	$\frac{dCa}{dt} = \frac{I_{CaN} + I_{CaL}}{2F\sigma} - \frac{(Ca - Ca_0)}{\tau_{Ca}}$
Струм пасивного витоку (I_L)	$gL_0 = 0.053 \text{ mS/cm}^2$ $EL = -70 \text{ mV}$ $I_L = gL_0 \cdot (EL - V)$	відсутня залежність
Початкові значення розрахункових змінних	$V_0 = -70.0$; $Ca_0 = 7e-5$; $m_0 = 0.2$; $m_\infty = 0.05$; $h_0 = 0.54$; $n_0 = 0.34$; $c_0 = 0.01$; $d_0 = 0.01$; $e_0 = 0.01$; $k_0 = 0.01$; $l_0 = 0.8$; $q_0 = 0.01$;	-

Таблиця 2. Компоненти штучної моделі нейрону, формалізм Ходжкіна-Хакслі

4.2. Рівняння струмів та їх параметри

У контрольних умовах модель демонструє ритмічну генерацію потенціалів дії (ПД) у відповідь на деполяризацію струмом 20 пА. Частота імпульсів є вищою на початку стимуляції та поступово знижується — досягаючи приблизно 30% від початкового значення при тривалому подразненні. Випробування різних амплітуд вхідного струму підтверджує прямий зв'язок між інтенсивністю стимулу та частотою ПД: чим більший струм, тим вища частота. Однак при подразненні в діапазоні 10–30 пА відзначається виражене зменшення частоти, тоді як сильніший струм забезпечує більш лінійний зв'язок. Активаційну функцію модельного нейрона оцінено за допомогою протоколу «ремп» — поступового нарощення вхідного струму. За цього підходу спостерігається поетапне збільшення кількості ПД, що свідчить про передбачувану реакцію нейрона на зростання стимулу.

Подальше дослідження проводилось на основі параметрів, перелічених у таблиці 2, де згруповано експериментально підтверджені механізми дії гіпоксії на струми та властивості каналів. У розділах нижче розглянуто окремий та

комбінований вплив гіпоксії на функціональні компоненти моделі.

Компонент системи нейронної динаміки	Характеристика параметру	Параметр	Значення параметру в «контрольних» умовах	Значення параметру в «гіпоксичних» умовах
ТТХ-чутливий інактивуючий натрієвий струм I_{NaT}	Максимальна густина провідності	g_{Na0} , [mS/cm ²]	140	100
Na_v 1.2 канали	Половинна напруга активації каналу	V , mV	$-23 \pm 0,5$ mV	-11 ± 2 mV
NaP канали	Максимальна густина провідності	g_{NaP} , [mS/cm ²]	0.2	0.4
Калієвий струм затриманого випрямлення (I_{DR})	Збільшення густини струму	g_{fKDR} , [mS/cm ²]	36	25.2
Калієвий струм затриманого випрямлення (I_{DR})	Зміщення половинної активації V_h в сторону деполяризації	V_h	V , mV	$(V-9)$, mV
Калієвий транзйентний струм через K_v4 (I_A)	половинний потенціал V_h потенціал-залежної інактивації	V_h	-54.6 ± 1.1 mV	-48.2 ± 1.1 mV
Калієвий струм $K_v1.2$	Зменшення густини струму	g_{Kv1} [mS/cm ²]	2.5	1.88 (-25%)
I_{SK} , кальцій-залежний калієвий струм малої провідності	Зменшення густини струму,	g_{Ksk}	2.5	1
Кальцієвий струм L-типу	Збільшення густини струму,	g_{CaL}	12.5	25.25 (210%)
Кальцієвий струм N-типу	Потенціал половинної інактивації	$V_{1/2}$	-35 ± 1 mV	-46.6 ± 0.6 mV (V-9)
Кальцієвий струм N-типу	Збільшення струмів,	g_{CaN}	3.25	5.2 (160%)
Внутрішнь-клітинний кальцій	Підвищення базового рівня	Ca_0	$7e-5$	$1e-4$ (150%)
Внутрішнь-клітинний кальцій	Подовження часу релаксації кальцію	τ_{Ca}	2.82	11.28 (400%)

Таблиця 3. Зміни значень параметрів струмів в моделі гіпоксичного впливу

За результатами флуоресцентних досліджень, гіпоксія спричиняє помітне підвищення амплітуди кальцієвих транз'єнтів та зростання базового рівня вільного внутрішньоклітинного кальцію. Це супроводжується збільшенням кальцієвих струмів — в середньому вдвічі — і сповільненням їхнього спадання, що, ймовірно, пов'язане з енергетичним дефіцитом у клітині (менше АТФ — гірше працює кальцієвий насос).

У моделі ці зміни реалізовано як підвищення щільності L-типу кальцієвого струму з 12.5 до 26.25 mS/cm². N-тип струму також збільшено — на 60% (з 3.25 до 5.2 mS/cm²), із зсувом потенціалу половинної інактивації на -11 мВ. Відповідно до даних щодо зміни динаміки кальцію, час релаксації внутрішньоклітинного кальцію (τ_{Ca}) збільшено з 2.82 до 11.28 мс, а базову концентрацію — зі 70 до 100 нМ.

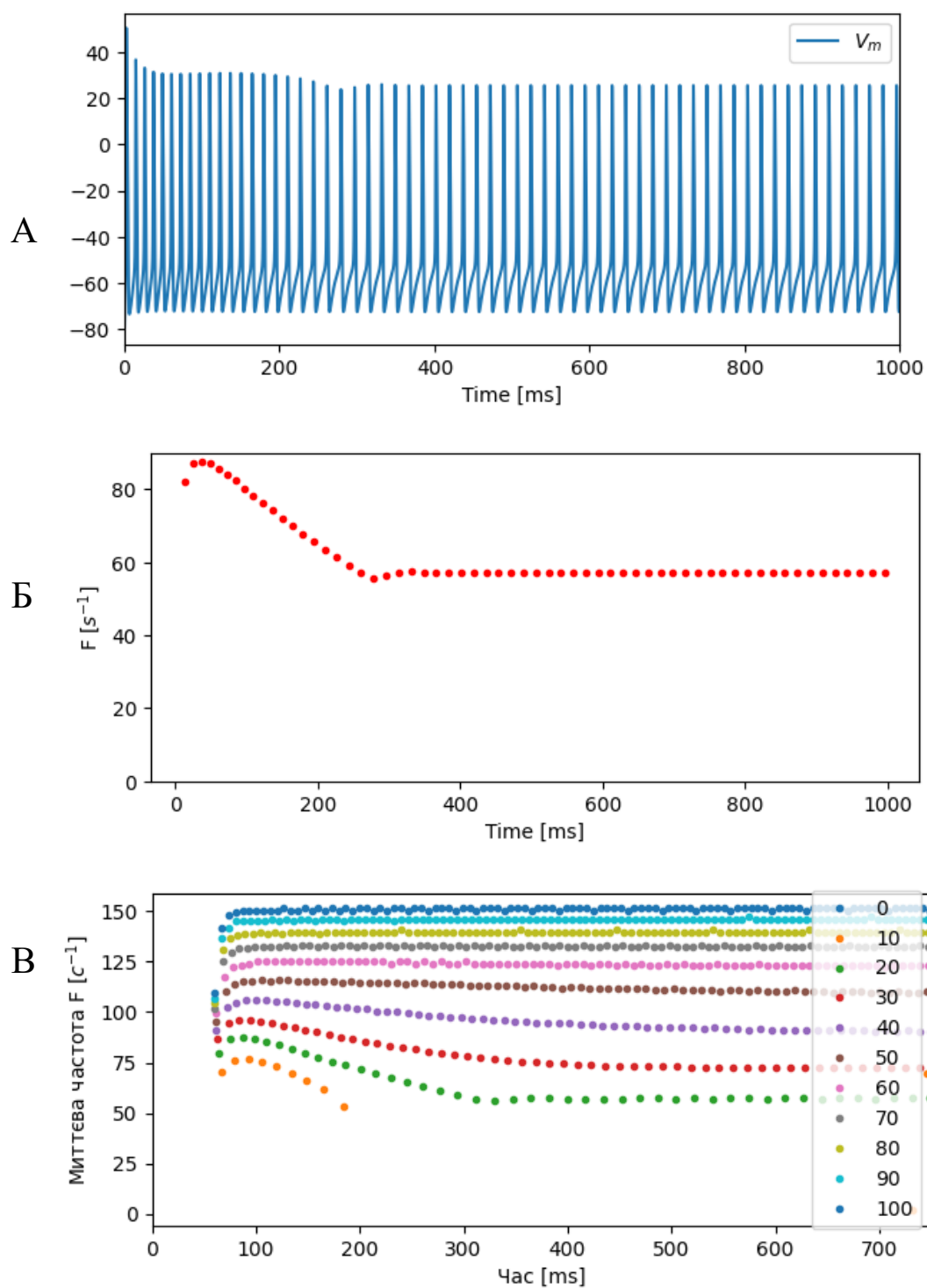


Рис. 8. Імпульсна генерація модельного нейрона в контролі. А) Мембранний потенціал модельного нейрона, із значеннями параметрів згідно контрольних умов. Б) Зміни частоти імпульсної генерації ПД при тривалому подразненні ($I_{in} = 20$ пА, час симуляції 1 с). В) Послідовності значень миттєвих частот генерації ПД при різних амплітудах подразнення, від 0 пА до 100 пА (при 0 пА генерація відсутня).

Згідно з експериментальними даними, гіпоксія зменшує калієві струми. У моделі це враховано через зменшення g_{fKDR} на 30% (з 36 до 25.2 mS/cm²) зі зсувом активаційного порогу на +9 мВ. Провідність через KV1.2 канали зменшено на 25% (з 2.5 до 1.88 mS/cm²).

Модельний нейрон за таких умов демонструє підвищену активність навіть без зовнішнього струму: виникають пачки ПД. При стимулі 30 пА частота ПД зростає з 90 до 100 Гц, і амплітуда піків стає вищою. Однак при струмах понад 70 пА осциляції швидко згасають — розвивається акомодация, і мембранний потенціал стабілізується на рівні близько -35 мВ.

Окрема модифікація кальцій-залежного калієвого струму (зниження g_{SK} з 2.5 до 1 mS/cm²) покращує ритмічність та стабільність генерації при слабкому стимулі. Нейрон здатен підтримувати активність, яка в контрольних умовах зупинялась.

Узагальнення всіх змін калієвих каналів ($fKDR$, KV1.2, SK) демонструє загальне зниження порогу збудження, зростання частоти генерації, але й посилення акомодации при сильному стимулюванні. Тобто, за умов гіпоксії модельний нейрон проявляє зростання збудливості при слабкому подразненні, але гірше підтримує активність при інтенсивному.

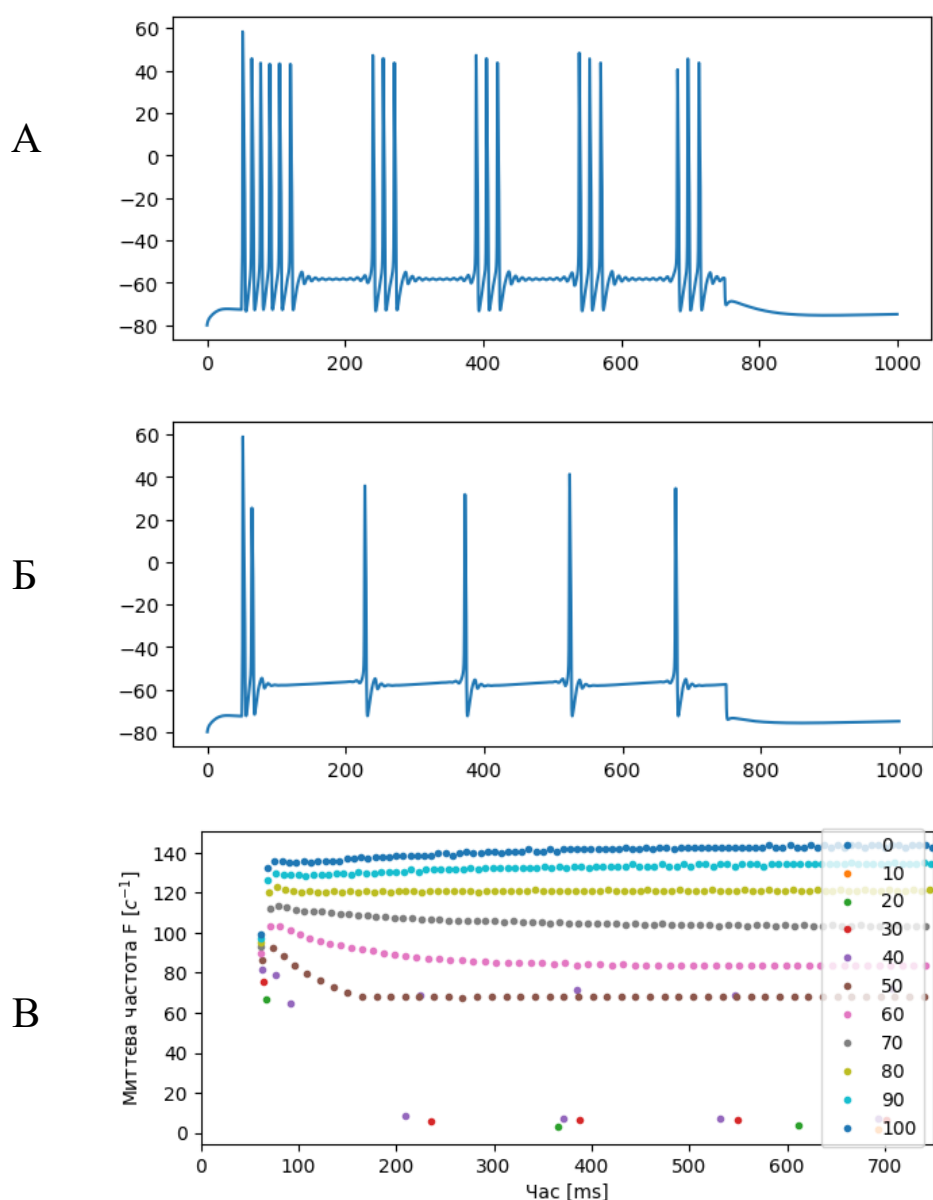


Рис. 9. Генерація ПД модельним нейроном у відповідь на подразнення у протоколі «сходінки» вхідного струму. А) Мембранний потенціал нейрона при вхідному струмі 20 пА, збільшений кальцієвий струм. Б) Мембранний потенціал нейрона при вхідному струмі 20 пА, модифіковано кальцієвий струм та релаксація внутрішнього кальцію до «дії гіпоксії». В) Обрахунок миттєвої частоти генерації ПД в серії подразнень «сходінкою» струму амплітуди від 0 пА до 100 пА.

Одночасне моделювання впливу гіпоксії шляхом зміни параметрів трьох основних іонних струмів – натрієвого, калієвого та кальцієвого – дало змогу виявити комплексні зміни у здатності модельного нейрона до імпульсної генерації. Таке поєднання змін імітує ситуацію, наближену до умов тривалого кисневого голодування, за яких порушується функціонування одразу кількох типів іонних каналів.

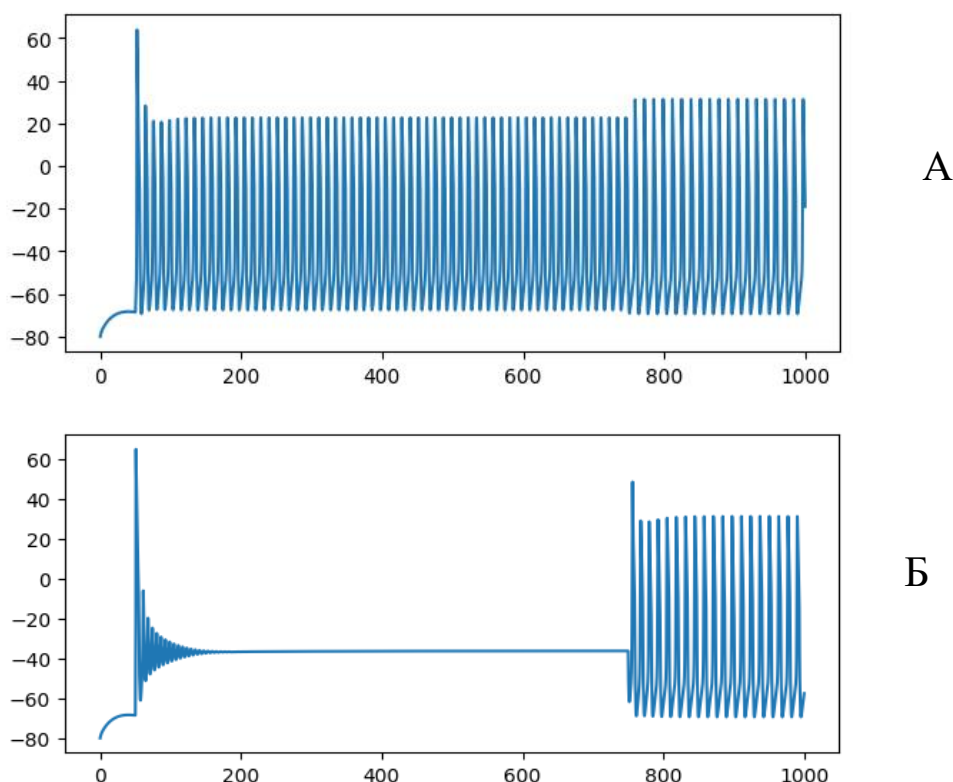


Рис. 10. Генераційна активність модельного нейрона при «гіпоксичній» модифікації натрієвої, кальцієвої та калієвої компонент обчислювальної моделі. А) Миттєва частота генерації ПД у серії подразнень при I_{in} від 0 до 100 пА; Б) генерація ПД при «гіпоксичній» модифікації параметрів в умовах подразнення 20 пА;

У порівнянні з контрольними умовами, виявлено зміну діапазону інтенсивності подразнення, в якому нейрон зберігає здатність до регулярної генерації потенціалів дії (ПД), а також зміну структури імпульсної відповіді на зовнішнє стимулювання. Зокрема, за умов мінімального струмового подразнення (низькі значення вхідного струму) спостерігається несподіване

підвищення ритмічності генерації — нейрон відповідає не одиничним, а серіями повторних розрядів, що вказує на полегшену генерацію ПД.

Такий ефект свідчить про зменшення порогу збудження або активацію додаткових внутрішньоклітинних механізмів, які сприяють підвищеній збудливості. Зокрема, зменшення натрієвої провідності (особливо g_{NaT}) призводить до зникнення повторної генерації ПД після короткого періоду активності, що є критичним для підтримання передачі сигналів у ЦНС. Подальше зниження g_{Na} , як показують експерименти, повністю блокує генерацію ПД. З іншого боку, при невеликих подразненнях, саме зменшення калієвого струму (особливо KDR) підвищує тривалість ПД і спрощує його запуск. Це свідчить про можливу компенсаторну функцію таких змін при гіпоксії, які на ранніх етапах сприяють підтримці нейронної збудливості.

Однак, при подальшому зростанні сили стимулу (вхідного струму) до середніх та високих значень (понад 50 пА), картина змінюється радикально: натрієві піки ПД демонструють прогресуючу акомодацию, амплітуда потенціалів зменшується, а їх частота поступово згасає. Врешті-решт, нейрон входить у стан функціонального “перенавантаження”, коли мембранний потенціал стабілізується на деполяризованому рівні без подальшої генерації ПД. Таким чином, область вхідних струмів, у якій модель зберігає активність, різко звужується — з широкого діапазону [6 пА .. >90 пА] до обмеженого вікна [3 пА .. 45 пА]. Це свідчить про втрату здатності нейрона підтримувати активність за сильного збудження, що потенційно може призводити до порушення інформаційного кодування в нейронних мережах .

Натомість, внутрішньоклітинний кальцій при гіпоксії з одного боку, активує калієві струми, які викликають гіперполяризацію та зниження збудливості; з іншого — його накопичення блокує імпульсну активність при тривалому впливі, формуючи деполяризаційний блок. Збільшення кальцієвого входу (через L- та N-тип канали) у поєднанні зі зменшенням SK-компоненти моделює ситуацію, за якої імпульсна генерація стає нерегулярною, з пачками ПД, одиничними розрядами або аперіодичною активністю.

Водночас, за умови істотного зниження K_{SK} струму модель демонструє зростання ритмічності генерації, навіть за сильних подразнень, що може свідчити про існування еволюційно сформованих захисних механізмів, спрямованих на збереження здатності до сигналізації за умов кисневого голодування. Така пластичність електрофізіологічних властивостей мембрани може бути ключовою для виживання нейронів у гіпоксичних середовищах, наприклад, у зонах ішемії або хронічного запалення.

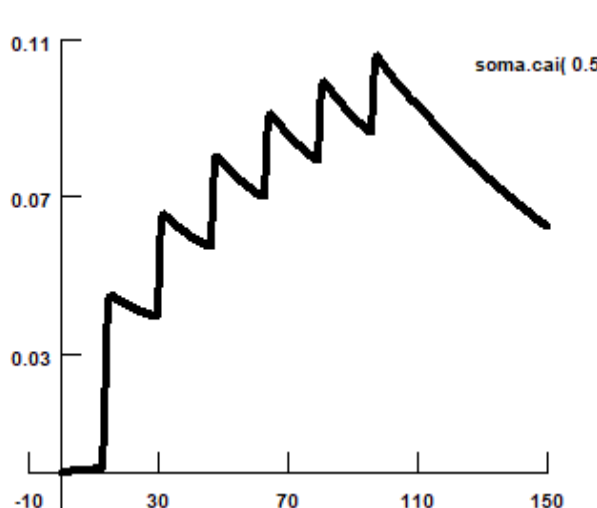


Рис. 11. Ефект накопичення внутрішньоклітинного кальцію при тривалій генерації. Вісь Ox – час, вісь Oy – кількість внутрішньоклітинного кальцію, мМ.

У разі глибших гіпоксичних змін у модельному нейроні було виявлено особливі режими генерації, які не підпадають під класичну ритмічну імпульсну активність. Замість стабільного спайкового потоку спостерігалися пачкові режими генерації — серії ПД чергуються з періодами «мовчання» (бездіяльності). Така поведінка є типовим проявом нейронної нестабільності та може свідчити про переходи до хаотичної динаміки або до часткового блокування імпульсної активності.

Ці ефекти особливо чітко виражені при моделюванні умов, за яких зменшується здатність клітини буферизувати внутрішньоклітинний кальцій або блокується частина SK-компоненти кальцій-залежного калієвого струму. За таких умов надлишкове накопичення вільного кальцію в цитоплазмі активує калієві канали, що призводить до різкої гіперполяризації і пригнічення збудливості. Як наслідок — імпульсна активність стає нестійкою, з поодинокими спайками або пачками, що розділені тривалими бездіяльними періодами.

4.3. Висновки розділу

Для моделювання нейрона було використано мову програмування Python та застосунок Neuron. Було додано та враховано багатокмартментну структуру. В спрощеній моделі нейрон подається як сома з однорідною поверхнею, що проводить різноманітні струми:

- **два види натрієвих струмів (ТТХ-чутливих):** транзйєнтний і без інактивації,
- **два типи кальційєвих струмів:** N-типу та L-типу,
- **три типи калієвих струмів:** із затриманим випрямленням (I_{KDR}), повільною інактивацією ($Kv1.2$), та кальцій-залежний калієвий струм малої провідності (Ksk),
- пасивний струм витоку (I_L).

Моделювання демонструє, що критичне зменшення натрієвої провідності істотно впливає на динаміку потенціалів дії (ПД). Це призводить до значної акомодатії, коли ритмічна осциляція ПД зникає, а їхня повторна генерація припиняється вже після кількох початкових піків. Ці порушення спостерігаються навіть при зменшенні натрієвої провідності ($gNaT$) лише на

30%, що менше, ніж 50% зниження струму, характерного для гіпоксії за експериментальними даними. Це може вказувати на те, що недостатня кількість натрієвих каналів критично впливає на збудливість нейронів, викликаючи їх "перевантаження" при сильних стимулах. Відповідно, підвищення експресії натрієвих каналів може слугувати захисним механізмом, який допомагає компенсувати хронічний вплив гіпоксії та підтримувати необхідну імпульсну активність, наприклад, у мотонейронів.

5. Результати та обговорення

Збудження нейрона моделювалося за протоколом експерименту у вигляді фонового постійного струму або сходинки струму. У таблиці 3 представлено перелік компонентів моделі з параметрами та їх функціональними залежностями.

Симуляція з урахуванням цих змін показала радикальну перебудову генераційної активності: модельний нейрон переходив від ритмічної генерації до формування коротких пачок (по 3–5 ПД) з паузами близько 100 мс між ними. Подальше підвищення внутрішнього кальцію до 100 нМ та уповільнення його виведення призводили до появи лише поодиноких ПД. Таку активність — одиничні ПД або генерація пачками — спостерігають і в реальних нейронах *in vitro*, що підтверджує валідність моделі. При стимулюванні струмом менш ніж 40 пА активність ставала хаотичною, тоді як при 50 пА і вище відновлювалася ритмічність. При використанні протоколу «ремп» генерація ПД мала аперіодичний характер до досягнення сили стимулу понад 50 пА, після чого встановлювалася регулярна ритміка.

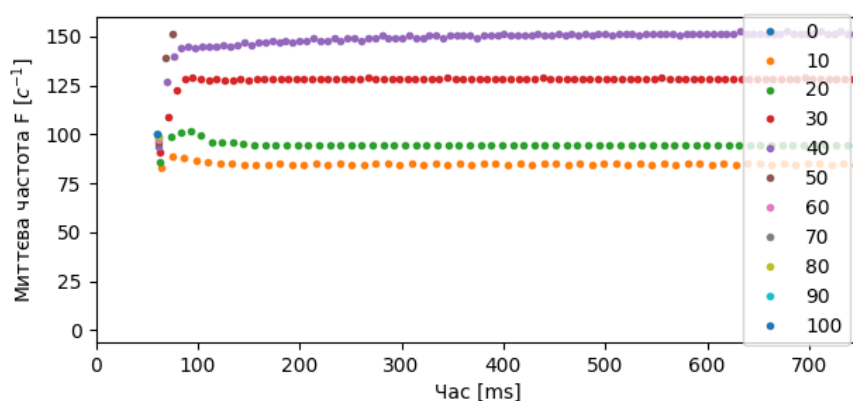


Рис. 12. Генерації ПД при «гіпоксичній» модифікації параметрів при деполяризації струмом 60 пА.

Дані літератури свідчать про двобічну дію гіпоксії: зниження амплітуди транзйєнтного натрієвого струму до 40% та одночасне збільшення стійкого

(persistent) натрієвого струму вдвічі. В моделі це реалізовано як зменшення g_{NaT} з 130 до 90 mS/cm^2 та підвищення g_{NaP} з 0.3 до 0.5 mS/cm^2 .

Гіпоксичні стани чинять комплексний вплив на нейронну активність, змінюючи властивості мембранних каналів, а також внутрішньоклітинну сигналізацію. В умовах моделювання гіпоксії було показано, що окремі зміни в натрієвій, кальцієвій або калієвій компонентах по-різному впливають на збудливість, а їхня сукупна дія може призводити до нових динамічних режимів, нехарактерних для нормооксичних умов.

Внутрішньоклітинний кальцій, через активацію кальцій-залежного калієвого вихідного струму, є ще одним чинником, що послаблює або повністю блокує імпульсну генерацію нейронів. Моделювання показує, що тривале та значне підвищення рівня вільного внутрішньоклітинного кальцію, яке посилюється при довготривалій гіпоксії, призводить до повного пригнічення генерації потенціалів дії.

Дослідження показали, що при слабкій стимуляції гіпоксичні зміни калієвої провідності викликають активність нейронів, але при сильній стимуляції такі зміни можуть призвести до зниження генерації імпульсів [16]. Зниження струмів калію внаслідок гіпоксії викликає підвищену збудливість нейрона, оскільки струм калію зазвичай реполяризує мембрану, а його відсутність може призвести до посилення активації нейронів. Крім того, збільшення натрієвих струмів також підтримує кращу генерацію потенціалу дії через натрієвий струм без інактивації, що призводить до деполяризації мембрани та зниження порогу активації для потенціалів дії. Модель показує, що нейрон може бути здатний до генерації залежно від зменшення натрієвого струму з більшим вхідним струмом, що також спостерігалось в деяких експериментах, коли генерація ПД припинялася після сильної акомодатії.

6. Висновки

1. В застосунку Neuron Simulator створена багатокомпартментна модель ізольованого нейрона із набором іонних провідностей, яка імітує основні канали в пірамідних нейронах гіпокампу щурів. Перевірена функціональність моделі та здатність до генерації серії ПД в умовах подразнення різної інтенсивності. Модель демонструє типові характеристики активності біологічних нейронів: нерегулярне генерування потенціалу дії, зниження порогу їх активації, припинення активності нейрона при перевантаженням вхідним струмом значної інтенсивності.
2. На основі літературних даних побудована модель гіпоксичних впливів на модель нейрону. Створена модель враховує експериментальні дані про вплив гіпоксії на натрієву, калієву та кальцієву провідність і динаміку внутрішньоклітинного кальцію. Отримані зміни збудливості нейрона у відповідь на модель гіпоксії.
3. Здатність нейрона генерувати потенціали дії критично залежить від зменшення транз'єнтної густини натрієвої провідності під час сильної стимуляції. Гіпоксичні зміни калієвої провідності були стимулюючими при низькій силі стимулу, але викликали пригнічення генерації при високій силі стимулу.
4. Було виявлено, що виникає періодична поведінка генерації ПД нейроном при гіпоксичній зміні характеристик кальцієвої динаміки та збільшеному кальцієвому струмі. Нові дані свідчать, що взаємодія кальцієвих та кальцій-залежних калієвих (SK) каналів у моделі впливає на ритмічність генерації спайків. Це призводить до переходу від ритмічної активності до пачкової або поодинокій генерації потенціалів дії, що може бути ознакою патологічних змін у роботі нейрона, які проявляються деградацією його імпульсної активності.

6.1. Перспективи продовження роботи із модельною системою

Планується перевести весь код у python, для використання Neuron Simulator у вигляді бібліотеки python та можливості запуску в сервісі Google Colaboratory, із перевагами:

1. Швидке отримання результатів без застосування графічного інтерфейсу, на сторонньому потужному сервері, а відповідно ефективніших розрахунків.
2. Спільне використання коду при командній роботі, із легким поширенням коду і результатів моделювання між учасниками проєктів, гарної наочності коду python.
3. Запуск симуляцій без потреби у графічному інтерфейсі (GUI) Neuron Simulator, дозволяє значно пришвидшити обчислення. GUI, хоч і зручний для користування та моделювання, може споживати додаткові ресурси. Коли Neuron використовується як бібліотека, ви взаємодієте з його "рушієм" безпосередньо, що є ефективнішим для пакетних запусків та великих симуляцій.

7. Список літератури

1. What is Hypoxia? A First Aid Guide.
2. Yang Y-S, Choi JH, Rah J-C (2021) Hypoxia with inflammation and reperfusion alters membrane resistance by dynamically regulating voltage-gated potassium channels in hippocampal CA1 neurons. Mol Brain 14:147
3. Cerda O, Trimmer JS (2010) Analysis and functional implications of phosphorylation of neuronal voltage-gated potassium channels. Neurosci Lett 486:60–67

4. Qiu M-H, Zhang R, Sun F-Y (2003) Enhancement of ischemia-induced tyrosine phosphorylation of Kv1.2 by vascular endothelial growth factor via activation of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Neurochem* 87:1509–1517
5. Tanaka K (2001) Alteration of second messengers during acute cerebral ischemia - adenylate cyclase, cyclic AMP-dependent protein kinase, and cyclic AMP response element binding protein. *Prog Neurobiol* 65:173–207
6. Gozal E, Metz CJ, Dematteis M, Sachleben LR, Schurr A, Rane MJ (2017) PKA activity exacerbates hypoxia-induced ROS formation and hypoxic injury in PC-12 cells. *Toxicol Lett* 279:107–114
7. Yuan H, Wang W-P, Feng N, Wang L, Wang X-L (2011) Donepezil attenuated oxygen-glucose deprivation insult by blocking Kv2.1 potassium channels. *Eur J Pharmacol* 657:76–83
8. Lopez-Barneo J, Pardal R, Ortega-Sáenz P (2001) Cellular mechanism of oxygen sensing. *Annu Rev Physiol* 63:259–287
9. Gruss M, Ettorre G, Stehr AJ, Henrich M, Hempelmann G, Scholz A (2006) Moderate hypoxia influences excitability and blocks dendrotoxin sensitive K⁺ currents in rat primary sensory neurones. *Mol Pain* 2:12
10. Archer SL, London B, Hampl V, Wu X, Nsair A, Puttagunta L, Hashimoto K, Waite RE, Michelakis ED (2001) Impairment of hypoxic pulmonary vasoconstriction in mice lacking the voltage-gated potassium channel Kv1.5. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 15:1801–1803
11. Firth AL, Remillard CV, Platoshyn O, Fantozzi I, Ko EA, Yuan JX-J (2011) Functional ion channels in human pulmonary artery smooth muscle cells: Voltage-dependent cation channels. *Pulm Circ* 1:48–71

12. Tai Y-S, Yang S-C, Hsieh Y-C, Huang Y-B, Wu P-C, Tsai M-J, Tsai Y-H, Lin M-W (2019) A Novel Model for Studying Voltage-Gated Ion Channel Gene Expression during Reversible Ischemic Stroke. *Int J Med Sci* 16:60–67
13. Wang J, Kim D (2018) Activation of voltage-dependent K⁺ channels strongly limits hypoxia-induced elevation of [Ca²⁺]_i in rat carotid body glomus cells. *J Physiol* 596:3119–3136
14. Lee J, Lim W, Eun SY, Kim SJ, Kim J (2000) Inhibition of apamin-sensitive K⁺ current by hypoxia in adult rat adrenal chromaffin cells. *Pflugers Arch* 439:700–704
15. Kushwah N, Jain V, Kadam M, Kumar R, Dheer A, Prasad D, Kumar B, Khan N (2021) Ginkgo biloba L. Prevents Hypobaric Hypoxia-Induced Spatial Memory Deficit Through Small Conductance Calcium-Activated Potassium Channel Inhibition: The Role of ERK/CaMKII/CREB Signaling. *Front Pharmacol* 12:669701
16. O'Reilly JP, Cummins TR, Haddad GG (1997) Oxygen deprivation inhibits Na⁺ current in rat hippocampal neurones via protein kinase C. *J Physiol* 503 (Pt 3):479–488
17. Dong X-P, Xu T-L (2002) Radix paeoniae rubra suppression of sodium current in acutely dissociated rat hippocampal CA1 neurons. *Brain Res* 940:1–9
18. Boening JA, Kass IS, Cottrell JE, Chambers G (1989) The effect of blocking sodium influx on anoxic damage in the rat hippocampal slice. *Neuroscience* 33:263–268
19. Stys PK, Waxman SG, Ransom BR (1992) Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: role of Na⁺ channels and Na⁽⁺⁾-Ca²⁺ exchanger. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 12:430–439

20. Choi DW (1990) Cerebral hypoxia: some new approaches and unanswered questions. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 10:2493–2501
21. Schaller KL, Caldwell JH (2003) Expression and distribution of voltage-gated sodium channels in the cerebellum. *Cerebellum Lond Engl* 2:2–9
22. Shah BS, Stevens EB, Pinnock RD, Dixon AK, Lee K (2001) Developmental expression of the novel voltage-gated sodium channel auxiliary subunit beta3, in rat CNS. *J Physiol* 534:763–776
23. Docherty RJ, Farmer CE (2009) The pharmacology of voltage-gated sodium channels in sensory neurones. *Handb Exp Pharmacol* 519–561
24. Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1995) On the mechanisms underlying hypoxia-induced membrane depolarization in striatal neurons. *Brain J Neurol* 118 (Pt 4):1027–1038
25. Plant LD, Marks JD, Goldstein SA (2023) SUMOylation of NaV1.2 channels mediates the early response to acute hypoxia in central neurons. *eLife* 5:e20054
26. Hammarström AKM, Gage PW (2002) Hypoxia and persistent sodium current. *Eur Biophys J EBJ* 31:323–330
27. Hines ML, Carnevale NT (1997) The NEURON Simulation Environment. *Neural Comput* 9:1179–1209