



# Системная и биология физиология

Декабрь 2023 №2

"Системная биология и  
физиология": два года  
развития  
Пантелеев М.А.  
сс 3-5

О IV международной  
конференции

*Lorem ipsum*  
Моделирование  
биополимеров  
методом броуновской  
динамики  
Виноградов Д.С.  
сс 8-20

"Системная биология и  
системная физиология  
- 2023. Цитоскелет"  
Гудимчук Н.Б.  
сс 6-7

Влияние поперечно  
сшитых продуктов  
гиалуроновой кислоты  
на пролиферацию  
фибробластов кожи  
человека в культуре  
Ивановская Е.В. и  
соавторы  
сс 21-26

Реологические условия  
в системе  
кровообращения мозга  
при ишемическом  
инсульте  
Быков Г.А.  
сс 27-36

## Содержание

1. М.А. Пантелеев, "Системная биология и физиология": два года развития.....3
2. Н.Б. Гудимчук, О IV международной конференции "Системная биология и системная физиология - 2023. Цитоскелет".....6
3. Д.С. Виноградов, Моделирование биополимеров методом броуновской динамики.....8
4. Е.В. Ивановская, А.Е. Болдова, А.Н. Сидорина, Ю.А. Ивановская, З.И. Газитаева, А.Н. Свешникова, Влияние поперечно сшитых продуктов гиалуроновой кислоты на пролиферацию фибробластов кожи человека в культуре.....21
5. Г.А. Быков, Реологические условия в системе кровоснабжения мозга при ишемическом инсульте.....27

# ”Системная биология и физиология”: два года развития.

М. А. Пантелеев<sup>1,2,3</sup>.

1. ФГБУН центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, ул. Средняя Калитниковская 30, Москва, Россия, 109029
2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, ул. Саморы Машела, 1, Москва, Россия, 117997
3. Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

# Автор для переписки: [mapanteleev@yandex.ru](mailto:mapanteleev@yandex.ru)

Получено: 12.05.2023  
EDN: GARZRK

Принято к публикации: 28.06.2023

Опубликовано: 30.12.2023

В Дорогие коллеги, “Системная биология и физиология” появилась на свет в 2022 году. Будущие историки с большой вероятностью будут называть этот год поворотным в новейшей истории человечества (возможно, коронавирусный 2020-й сможет немного оспорить это звание). Геополитические катаклизмы не обошли стороной и развитие нашего журнала. Изначально мы задумывали русский журнал как брата-близнеца англоязычного журнала *Systems Biology and Physiology Reports*, который был запущен той же группой энтузиастов несколькими годами ранее. Однако, возникшие ограничения стали препятствием и к поддержанию англоязычной версии журнала в целом, и к участию представителей многих стран в его работе. Таким образом, “Системная биология и физиология” сразу же начала развиваться в ином направлении - как самостоятельный русскоязычный журнал при Центре теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН. В настоящий момент журнал стабильно выходит на платформе eLibrary и входит в систему индексации РИНЦ. Хотелось бы от всей души поблагодарить всех, благодаря кому все это стало возможным - и техническую команду, и редакторов, и авторов статей. Нашей следующей целью на горизонте двух-четырёх лет является вхождение журнала в число основных периодических изданий в своей области, которое сможет позволить авторам наших статей использовать их для отчетов по грантам, госзаданию и при защитах кандидатских и докторских диссертаций.

Что мы успели опубликовать за минувшие два года? Какие были самые интересные работы, появившиеся на наших страницах?

Первый номер русского журнала открывался работой коллектива из Беларуси (Кохан и соавт.), посвященной уникальной технологии использования метода локальной фиксации потенциала для исследования ионных токов в мембранах тромбоцита [1], позднее также развитая

в работе [2]. Также к методической категории относится работа Александровой и соавторов, посвященная проблеме правильного учета многоуровневой структуры биологических данных при статистическом анализе биологических экспериментов [3], работа Дмитрия Виноградова по методам моделирования биополимеров [4], равно как и работа Коробкиной с коллегами по моделированию ламеллиподий тромбоцитов [5]. Другие методические аспекты подсвечиваются в работе Сергея Обыденного по маркерам клеточной смерти [6], работе Реут и соавторов по детекции функциональной активности нейтрофилов [7], а также работе Николаевой и соавторов по методам исследования стабильности белков [8].

Работы Гарсона Дасгупты [9], Табачника [10], Болдовой и соавторов [11] посвящены разным фундаментальным аспектам внутриклеточной сигнализации, в то время как другие авторы сосредотачивались на клинически значимых эффектах внутриклеточных [12] и внеклеточных [13] процессов. В текущем номере выходит работа Екатерины Ивановской, сосредоточенная на регуляцию пролиферации фибробластов кожи поперечно сшитыми продуктами гиалуроновой кислоты [14]. Из “внеклеточных” работ можно отметить исследование Георгия Быкова, посвященное регуляции потоков крови в мозге в случае ишемического инсульта [15].

Кроме оригинальных статей, на протяжении всех лет мы активно печатали обзоры - по механизмам внутриклеточной сигнализации [16], методам моделирования тромбообразования [17], проблемам визуализации микротрубочек [18], проблемах везикуляции [19], структуре и кинетике мембранных взаимодействий аннексина V [20].

В 2022 и 2023 году наш журнал выступил рупором ежегодной конференции ЦТП ФХФ РАН по системной биологии: дополнительный выпуск 2022го года содержал многочисленные тезисы, а в 2023 году конференция была представлена

сообщение ее председателя Никиты Гудимчука о представленных на ней современных тенденциях в исследовании проблем клеточного цитоскелета [21].

Можно сделать несколько полезных наблюдений в связи с текущим статусом журнала. Во-первых, можно видеть, что методические работы находятся на первом месте по числу статей, в то время как обзоры и оригинальные исследования делят второе и третье места. Скорее всего, это закономерно отражает текущий статус журнала (его отсутствие в списках и системах индексации журналов, учитываемых ВАК и РНФ), но стоит приложить усилия к повышению сбалансированности его портфеля. Во-вторых, показатели цитирования указанных работ крайне низкие. Это может быть связано с техническими трудностями платформы, задержками выкладок и проблемами использования EDN-идентификаторов (я напомним, что идентификаторы DOI сейчас для российских журналов недоступны). Однако, любой прогресс в развитии журнала невозможен без преодоления этих проблем, и работа по улучшению прозрачности и облегчению цитирования журнала сейчас будет для нас первым приоритетом.

Еще раз всем спасибо и с наступающим 2024м годом!

### Список литературы

1. А.Ю. Кохан, С.О. Зданевич, И.И. Прокофьев, И.В. Горудко, Е.В. Шамова, Метод пэтч-клэмп для изучения ионных каналов активированных тромбоцитов, Системная биология и физиология 1 (2022) 5-13.
2. А.Ю. Кохан, И.И. Прокофьев, С.О. Зданевич, Л.М. Лукьяненко, Е.В. Шамова, Метод регистрации мембранного потенциала тромбоцитов с использованием пэтч-клампа в конфигурации перфорированная «целая клетка», Системная биология и физиология 2 (2023) 20-26.
3. В.В. Александрова, М.Н. Анисимов, И.А. Ельцов, А.П. Килина, Ю.Н. Лопанская, Л.Ю. Макарова, М.А. Вовченко, Н.Б. Гудимчук, Как избежать ошибок при статистическом анализе биологических экспериментов с помощью простого симулятора многоуровневых данных, Системная биология и физиология 1 (2022) 24-32.
4. Д.С. Виноградов, Моделирование биополимеров методом броуновской динамики, Системная биология и физиология 2 (2023) 00-00.
5. Ю.Д.Д. Коробкина, А.Н. Свешникова, Возможный подход к компьютерному моделированию формирования ламеллоподий тромбоцитов, Системная биология и физиология 1 (2022) 9-12.
6. С.И. Обыденный, Преимущество применения лактадгерина для оценки экспонирования фосфатидилсерина в тромбоцитах, Системная биология и физиология 2 (2023) 11-13.
7. В.Е. Реут, Д.В. Григорьева, А.В. Соколов, А.М. Панасенко, И.В. Горудко, Оценка функциональной активности нейтрофилов с применением красителей феноксазинового ряда, Системная биология и физиология 2 (2023) 14-19.
8. Е.И. Николаева, Н. Колчин, З. Нестеренко, Е. Кольцова, М.А. Пантелеев, К.Р. Бутов, Изучение стабильности белка с помощью проточной цитофлуорометрии и вестерн блота: сравнительное исследование, Системная биология и физиология 2 (2023) 27-31.
9. А.К. Гарсон Дасгупта, Прямое взаимодействие белков Стим1-Ораи1 не может управлять депо управляемым входом кальция в тромбоцитах, Системная биология и физиология 1 (2022) 33-38.
10. А.К. Табачник, Фосфотидилинозитол-содержащие везикулы необходимы для активации PLC  $\zeta$  в соответствии с предсказанием математической модели, Системная биология и физиология 1 (2022) 49-54.
11. А.Е. Болдова, В.Д. Василевская, А.Н. Свешникова, Математическая модель рецептора 3 типа к инозитол-3-фосфату (IP3R3), Системная биология и физиология 2 (2023) 3-10.
12. М.Г. Степанян, А.А. Мартьянов, О.И. Ан, А.Е. Болдова, С.А. Румянцев, А.Г. Румянцев, М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов, А.Н. Свешникова, Существует значимая корреляция между гиперактивацией тромбоцитов и их потреблением при COVID-19. Пилотное исследование на пациентах из больницы ЦКБ РАН (г. Троицк), Системная биология и физиология 1 (2022) 39-48.
13. И.М. Власова, А.А. Власов, Анализ уровня окислительного стресса по оценке повреждения белка плазмы сывороточного альбумина под действием окислительного агента, Системная биология и физиология 1 (2022) 3-8.
14. Е.В. Ивановская, Влияние поперечно сшитых продуктов гиалуриновой кислоты на пролиферацию фибробластов кожи человека в культуре, Системная биология и физиология 2 (2023) 20-25.
15. Г.А. Быков, Реологические условия в системе кровоснабжения мозга при ишемическом инсульте, Системная биология и физиология 2 (2023) 26-35.
16. М.А. Пантелеев, М.Г. Степанян, А.Н. Свешникова, Функциональные ответы тромбоцитов и внутриклеточная сигнализация: молекулярные связи. Часть 1: ответы, Системная биология и физиология 1 (2022) 14-23.
17. А.Е. Асадов, И.К. Чудинов, Д.Ю. Нечипуренко, Современные подходы к моделированию

- тромбоза и гемостаза in vitro, Системная биология и физиология 1 (2022) 55-65.
18. М.Н. Анисимов, Подходы к визуализации динамики микротрубочек in vitro, Системная биология и физиология 1 (2022) 66-81.
  19. Т.И. Кадыров, А.Н. Свешникова, М.А. Пантелеев, Репарация плазматической мембраны, блеббинг и микровезикуляция: параллели и взаимосвязи, Системная биология и физиология 1 (2022) 13-20.
  20. Т.А. Коваленко, Аннексин V: связывающийся с мембраной белок с широчайшим набором функций, Системная биология и физиология 1 (2022) 21-33.
  21. Н.Б. Гудимчук, О IV международной конференции “Системная биология и системная физиология - 2023. Цитоскелет”, Системная биология и физиология 2 (2023) 5-6



# О IV международной конференции “Системная биология и системная физиология - 2023. Цитоскелет”.

Н. Б. Гудимчук<sup>1</sup>

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30

# Автор для переписки: [nikita\\_gb@mail.ru](mailto:nikita_gb@mail.ru)

Получено: 29.03.2023  
EDN: NAXUYD

Принято к публикации: 01.04.2023

Опубликовано: 30.12.2023

Цитоскелет – это многофункциональная, динамичная внутриклеточная система, обеспечивающая структурную поддержку клетки, её механическую устойчивость, подвижность, способность к адгезии и делению. Традиционно в составе цитоскелета принято выделять три подсистемы: систему микротрубочек – полимеров тубулина, систему промежуточных филаментов и систему актиновых микрофиламентов. Эти три подсистемы тесно взаимодействуют друг с другом и естественным образом связаны с различными другими клеточными системами, как механически, так и биохимически. Сбои в работе цитоскелета могут вызывать разнообразные патологии, затрагивая многие жизненно важные внутриклеточные процессы. Поэтому неудивительно, что исследования различных аспектов работы цитоскелета пользуется широким интересом среди исследователей из различных областей биологии и медицины. Так, на III международной конференции Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской Академии Наук в 2022 году подсекция «Цитоскелет и механорецепция» вызвала особенно положительный отклик среди участников, подтолкнув нас, как организаторов, к тому, чтобы в 2023 году ежегодную конференцию “Системная биология и системная физиология” целиком посвятить передовым исследованиям в области системной биологии и системной физиологии с фокусом на изучении цитоскелета.

Это событие состоялось 25 ноября 2023 года на базе ЦТП ФХФ РАН в Москве. Конференция собрала ряд ведущих отечественных ученых-исследователей цитоскелета, а также коллег из других стран и институтов, представивших свои последние достижения в области изучения клеточной подвижности, мышечной физиологии и структуры тубулинового цитоскелета.

Открыл конференцию профессор Иван Андреевич Воробьев из Назарбаев Университета (Казахстан) с докладом о динамике

фокальных контактов, подчеркнув значимость исследований подвижности клеток для понимания метастазирования рака. Профессор Антонина Юрьевна Александрова продолжила тему, акцентировав внимание на пластичности миграции опухолевых клеток и неожиданной роли промежуточных филаментов в этом процессе. Кирилл Романович Бутов из НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева обсудил роль белка PSTPIP1 в регуляции подосом макрофагов. Анастасия Никитична Свешникова из ЦТП ФХФ РАН и НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева посвятила свой доклад роли перестройки цитоскелета тромбоцитов в норме и при патологии, обращая внимание на механизмы, лежащие в основе тромбообразования и воспаления. Сергей Иванович Обыденный завершил подсекцию рассказом о разработке новой методики по измерению кальциевой сигнализации в тромбоцитах при первых этапах адгезии.

В секции, посвященной мышцам, особое внимание было уделено роли сердечного миозин-связывающего белка-С в развитии гипертрофической миопатии (Анастасия Михайловна Кочурова) и участию тропомодулина в регуляции сокращения поперечно-полосатых мышц (Галина Васильевна Копылова). Наталья Алексеевна Кубасова рассказала об исследовании структуры толстой нити саркомера поперечно-полосатой мышцы в расслабленном состоянии методами математического моделирования и рентгеноструктурного анализа.

В секции “Тубулиновый цитоскелет” были представлены доклады, расширяющие представления о структуре и функции цитоскелета от молекулярного до клеточного уровней. Антон Владимирович Бураков из НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского обсудил влияние малой ГТФазы Arl4C на тубулиновый цитоскелет, обозначая новые перспективы для понимания механизмов организации клеточного пространства и

транспорта внутри клеток. Никита Борисович Гудимчук, сотрудник ЦТП ФХФ РАН и физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, представил результаты исследования механизмов сборки и разборки микротрубочек, сфокусировав внимание на последних экспериментальных и теоретических данных, которые выводят современные представления о работе микротрубочек за рамки традиционной модели ГТФ-шапки. Профессор Валерий Барсегов из Университета Массачусетса в Лоуэлле (США) продемонстрировал новую платформу для компьютерного моделирования митотического деления клеток, используя подходы стохастической динамики в реакционно-диффузионной системе. Эта работа представляет собой важный шаг в развитии инструментов для изучения клеточного деления и может способствовать построению количественных моделей митоза и мейоза.

Конференция завершилась дискуссией и кофе-брейком, во время которого участники имели возможность обсудить представленные исследования и обменяться опытом. Мероприятие подчеркнуло важность междисциплинарного подхода в исследовании цитоскелета для понимания сложных биологических и медицинских вопросов, открывая новые перспективы для будущих научных работ.

От лица организационного комитета конференции хотелось бы принести благодарность коллегам, принявшим участие в конференции и выразить надежду, что ежегодная конференция «Системная биология и системная физиология» станет регулярной площадкой для общения исследователей - специалистов в области цитоскелета, а также широкого круга учёных, интересующихся проблемами физиологии и патофизиологии процессов, связанных с этой удивительной внутриклеточной системой.

# Моделирование биополимеров методом броуновской динамики

Д.С. Виноградов<sup>1#</sup>

1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, 119191, Москва, Россия

# Автор для переписки: [ds.vinogradov@physics.msu.ru](mailto:ds.vinogradov@physics.msu.ru)

Получено: 25.06.2023

Принято к публикации: 29.06.2023

Опубликовано: 30.12.2023

EDN: YFEJTT

## Аннотация

В данном обзоре даётся теоретическое описание метода броуновской динамики как одного из важных подходов, применяемых при моделировании поведения биополимеров. Приводятся также разработанные вариации метода броуновской динамики, а также разбираются некоторые недавние примеры использования этого подхода для описания различных биополимеров, таких как тубулиновые микротрубочки, актиновые микрофиламенты, а также нуклеиновые кислоты.

## Список сокращений:

БД – броуновская динамика

БЧ – броуновская частица

МД – молекулярная динамика

МТ – микротрубочка

МФ – микрофиламенты

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

дАДФ - дезоксиаденозиндифосфат

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

БСД – быстрая стоковая динамика

## Введение

Биологические системы также как и остальная материя подчиняются законам физики. Одними из важных элементов биологических систем являются биополимеры, примерами которых являются нуклеиновые кислоты, микротрубочки, микрофиламенты и т.д. Моделирование этих систем позволяет нам исследовать,

например, их динамику, механические свойства, взаимодействие с окружающей средой, что имеет большое значение для различных научных и прикладных областей, включая биомедицину, фармацевтику и биотехнологии. Модель позволяет фиксировать условия окружающей среды, в которой находится система, что дает необходимые упрощения для достижения лучшего понимания изучаемых объектов. Зачастую, моделирование дает преимущество в детализации описания, то есть лучшее пространственно-временное разрешение 'наблюдения' биополимеров, чем это доступно с помощью современных экспериментальных методик.

Рассмотрим существующие подходы к моделированию биологических систем, и, в частности, биополимеров, чтобы понять их преимущества и ограничения. Это позволит нам определить, какой из перечисленных методов наилучшим образом подходит для моделирования биополимеров, характерные динамические процессы в которых обычно происходят на временах от миллисекунд до десятков секунд.

Биологические системы можно моделировать достаточно подробно, на уровне атомных ядер и электронов с помощью молекулярной квантовой механики [1], которую ещё называют квантовой химией [2]. Здесь пишется гамильтониан системы и с его помощью решается уравнение Шрёдингера. На сегодняшний момент этот метод моделирования наиболее точный, т.к. учитывает структуру молекул на уровне электронов и ядер атомов. За последние несколько десятилетий вычислительная техника совершила значительный прорыв в описании относительно больших (порядка 100 атомов) химических систем, а разработка методов молекулярной квантовой механики позволила создавать реалистичные модели и делать достаточно точные прогнозы, которые могут быть проверены экспериментально [3, 4, 5]. Это открывает большие перспективы для применения этого подхода в моделировании. Биологические системы можно моделировать на уровне атомов, задавая потенциалы взаимодействия между



ними. Это позволяет делать метод молекулярной динамики (МД). Расчет МД описывает движение набора атомов (химической системы) в течение определенного периода времени в соответствии с законами классической физики [6]. Время разбито на серию дискретных временных шагов. Временной шаг состоит из двух основных фаз. Говоря упрощенно, сначала вычисляется сила, действующая на каждую частицу в зависимости от положения других частиц в системе. Далее расчёт использует результирующую силу, действующую на каждую частицу, для обновления положения и скорости этой частицы. МД требует меньших вычислительных мощностей, чем молекулярная квантовая механика, но все же максимальное время моделирования, которое сегодня доступно для отдельных молекул белков — это порядка одной миллисекунды. Это возможно на специализированных суперкомпьютерах Anton 1 и Anton 2 [7, 8]. Существуют методы упрощения расчётов МД. Среди них это замена молекул растворителя на так называемый неявный растворитель [6] и крупнозернистая МД [6, 9]. В случае с неявным растворителем молекулы растворителя заменяются на эффективный потенциал, который имитирует присутствие растворителя. При этом подходе существенно уменьшается количество моделируемых частиц, т.к. метод не учитывает все молекулы растворителя. В крупнозернистой МД несколько атомов молекулы объединяются в одну частицу и рассматривается только взаимодействие этих частиц. Ускорение получается за счёт заметного уменьшения количества взаимодействующих частиц.

Моделирование осуществляется и на уровне крупных молекул и молекулярных комплексов, например, субъединиц белков, что достижимо с помощью метода броуновской динамики (БД). Броуновское движение - беспорядочное движение микроскопических частиц, видимых в световой микроскоп, вызываемое тепловым движением молекул жидкости или газа, в которых находятся эти частицы [10]. Броуновскому движению также подвержены крупные молекулы, которые не видимы в световой микроскоп. Их тепловое движение значительно медленнее, чем у молекул растворителя, которые также оказывают влияние своими частыми ударами по этим крупным молекулам. Моделирование с помощью метода БД требует еще меньше вычислительных мощностей, чем МД. Время моделирования, которое, как правило, доступно методу БД — это порядка 1-10 с [11], но может сильно зависеть от параметров моделирования и сложности системы. В расчётах, основанных на модели БД, никогда не учитывается наличие молекул растворителя. Растворитель в этих

расчётах выступает в роли сплошной среды. Учёт его влияния сводится к учёту случайных ударов молекул растворителя по броуновской частице (БЧ). Это значительно снижает требование к вычислительным мощностям.

Существуют также кинетические модели [12], в которых учитываются только конкретные события (присоединение, отсоединение, конформационное изменение молекулы или некоторая реакция, например, фосфорилирование, гидролиз и т.п. и т.д.) и их вероятности. Самым весомым преимуществом кинетических моделей является минимальные требования к вычислительной мощности для расчёта длинных траекторий (минуты) жизни биополимеров и других сложных систем. Им доступно время моделирования до нескольких часов, но оно также зависит от сложности системы.

Существует метод моделирования с помощью клеточных автоматов. Клеточный автомат представляет собой пространство, включающее в себя множество прилегающих друг к другу клеток (ячеек), каждая из которых находится в одном из конечного числа состояний. Пространство может иметь любое конечное число измерений. Для каждой ячейки задаётся набор ячеек, называемый её окрестностью. В начальный момент времени ( $t = 0$ ) каждой ячейке присваивается некоторое состояние. На следующем временном шаге каждая ячейка приобретает новое состояние в соответствии с некоторым фиксированным правилом, которое было задано изначально. Это правило учитывает окрестность каждой ячейки и также применяется ко всем ячейкам одновременно [13, 14]. Клеточным автоматам также, как и кинетическим моделям доступно время моделирования до нескольких часов.

Какой из перечисленных методов наиболее пригоден для моделирования биополимеров, динамика которых обычно происходит на временах от миллисекунд до десятков секунд? Для метода МД доступно время моделирования, как правило, порядка 1 микросекунды, в исключительных случаях – до 1 миллисекунды для описания динамики одной молекулы белка, из-за чего этим методом описать динамику биополимера, содержащего тысячи мономеров, не представляется возможным. Сразу же очевидно, что и молекулярная квантовая механика также не подходит для описания динамики биополимеров. Кинетические модели и клеточные автоматы, хотя и способны описывать достаточно большие масштабы времени и пространства, не дают возможности детального описания механических явлений, которые играют важную роль при моделировании биополимеров. Поэтому именно метод БД наиболее пригоден

для довольно широкого круга задач, связанных с описанием динамики и механики биополимеров. В этом обзоре кратко приводятся теоретические сведения, лежащие в основе метода БД, и рассматривается ряд примеров применения этого метода для описания различных биополимеров.

Актуальность применения метода БД для моделирования биополимеров обусловлена тем, что этот метод хорошо подходит для описания именно тех типов процессов и явлений, которые наиболее часто представляются центральными именно для понимания свойств и функций биополимеров. Среди таких процессов можно выделить как минимум два класса: (1) механические процессы, например, развитие биополимерами сил или их динамика под внешними механическими нагрузками, что особенно актуально при моделировании филаментов цитоскелета; (2) процессы полимеризации-деполимеризации биополимеров и их регуляция в клетках. Метод БД, с одной стороны, позволяет напрямую оперировать силами и скоростями частиц, давая необходимую механистическую детализацию, в отличие, например, от методов Монте Карло, но при этом не требует столь подробного и вычислительно затратного описания объектов, как методы МД и квантовой механики.

## Результаты и Обсуждение

*Теоретическое описание броуновского движения.*

*Теория Эйнштейна*

Теоретическое описание броуновского движения началось с работы Эйнштейна [15]. В ней для описания броуновского движения была применена молекулярно-кинетическая теория. На основании этой теории и закона вязкого трения Стокса была выведена формула коэффициента диффузии для сферической БЧ:

$$D = \frac{\kappa_B T}{6\pi\eta r} \quad (1)$$

где  $\kappa_B$  - постоянная Больцмана,  $T$  - температура,  $\eta$  - вязкость жидкости, в которой находится частица,  $r$  - радиус частицы. Также была выведена формула среднеквадратичного смещения БЧ в зависимости от времени:

$$\overline{\Delta x^2} = 2Dt$$

где  $D$  - коэффициент диффузии,  $t$  - время движения БЧ. При выводе этой формулы предполагалось, что каждая БЧ подвергается случайным ударам молекул раствора, в котором БЧ находится.

Также допускалось, что она совершает движение, независимое от движения всех других БЧ. Движения одной и той же БЧ через разные промежутки времени рассматривались как независимые друг от друга случайные процессы, пока выбранные промежутки времени являются не слишком малыми. Был введён интервал времени  $\tau$ , который должен быть значительно меньше времени наблюдения за БЧ, но, тем не менее, достаточно большим, чтобы движения, совершаемые частицей за два последовательных интервала времени  $\tau$  можно было рассматривать как независимые события. Иначе говоря,  $\tau$  — это время, через которое пропадает корреляция после удара молекулы раствора по БЧ [15]. Для мономера белка тубулина массой 55 кДа и радиусом 2 нм это время равно  $3 \cdot 10^{-12}$  с [16].

*Теория броуновского движения на основе статистической физики*

Существует также описание броуновского движения с помощью функции плотности вероятности

$$W(\{\vec{r}_i\}, \{\vec{p}_i\}, t)$$

где  $\{\vec{r}_i\}$  - это координаты частиц,  $\{\vec{p}_i\}$  - импульсы частиц,  $t$  - время. Произведение

$$W(\{\vec{r}_i\}, \{\vec{p}_i\}, t) \left\{ d\vec{r}_i \right\} \left\{ d\vec{p}_i \right\} dt$$

позволяет вычислить вероятность нахождения частиц в фазовом объёме

$$\left( \{\vec{r}_i\}, \{\vec{r}_i\} + \{d\vec{r}_i\} \right) \times \left( \{\vec{p}_i\}, \{\vec{p}_i\} + \{d\vec{p}_i\} \right)$$

и в интервале времени  $(t, t+dt)$ . Эту теорию развивали Смолуховский [17], Фоккер [19] и Планк [19].

В данном обзоре мы не рассматриваем подробно статистический подход к описанию броуновского движения, т.к. при описании динамики биополимеров часто интерес представляют конкретные траектории движения биополимеров, и требуется анализ конкретных значений координат частиц в различные моменты времени.

*Движение одиночной броуновской частицы*

Ланжевэн развил свою теорию броуновского движения в работе [16].

Для описания этого движения он применил 2-й закон Ньютона (2):

$$m \frac{d^2 q}{dt^2} = -\gamma \frac{dq}{dt} + F(q, t) + F^B(t) \quad (2)$$

где  $q$  - обобщённая координата БЧ,  $\gamma$  - коэффициент вязкости БЧ,  $F$  - сила, действующая на БЧ,  $F^B$  - случайная броуновская сила, которая

возникает от ударов молекул раствора,  $-\gamma \frac{dq}{dt}$  - сила вязкого трения, действующая на БЧ.

Предполагается, что случайная сила обладает следующими свойствами:

$$1) \langle F^B(t) \rangle = 0;$$

2) Для временных интервалов, больших длительности столкновения, случайная сила не обладает корреляцией:

$$\langle F^B(t_1)F^B(t_2) \rangle = C\delta(t_1 - t_2)$$

где  $\delta(t_1 - t_2)$  - дельта-функция Дирака,  $C$  - некоторая константа.

Для упрощения численного решения уравнения (2) можно пренебречь второй производной по обобщённой координате. Это возможно сделать, если взять достаточно большой шаг по времени при численном решении. За этот шаг возмущение силы  $F$  в уравнении (2), действующей со стороны поля, значительно медленнее меняющегося, чем сила  $F^B$ , приводит к достижению частицей постоянной скорости, когда сила вязкого трения равна внешней силе, действующей на БЧ. Математически можно вычислить характерное время (время релаксации) за которое частица теряет свою скорость. Для решения уравнения (2) сначала находится общее решение однородного уравнения,

$$m \frac{d^2q}{dt^2} + \gamma \frac{dq}{dt} = 0$$

затем находится частное решение уравнения (2). Сумма общего решения однородного уравнения и частного решения уравнения (2) является общим решением уравнения (2). Решение однородного уравнения будет

$$\frac{dq}{dt} = \nu_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)$$

где  $\tau = \frac{m}{\gamma}$  - время релаксации.

Обычно при моделировании берётся шаг, который значительно больше, чем время релаксации и характерное время изменения внешней силы также много больше  $\tau$ . В результате при моделировании можно пренебречь второй производной в уравнении (2), что приводит к следующему уравнению:

$$\gamma \frac{dq}{dt} = F(q, t) + F^B(t) \quad (3)$$

Получившееся уравнение, которое называется ещё безынерционным уравнением Ланжевена, можно решать методом Эйлера [18]:

$$dq = \frac{dt}{\gamma} (F(q, t) + F^B(t)) = dq_1 + dq_2 \quad (4)$$

В уравнении (4)  $dq_1$  - смещение частицы под действием внешней «систематической» силы,  $dq_2$  - случайное смещение БЧ из-за ударов молекул среды. Случайное смещение подчиняется стандартному нормальному распределению  $N(0,1)$  с амплитудой  $\sqrt{\frac{2\kappa_B T \Delta t}{\gamma}}$ .

Численное решение уравнения (4) методом Эйлера имеет в результате вид:

$$q^i = q^{i-1} - \frac{\Delta t}{\gamma} \frac{\partial U}{\partial q^i} + \sqrt{\frac{2\kappa_B T \Delta t}{\gamma}} N(0,1) \quad (5)$$

### Описание броуновского движения множества частиц

Когда мы имеем множество БЧ, то поступательное и вращательное движения одной частицы влияет на поступательные и вращательные движения всех остальных частиц. Это происходит, потому что движение частицы вызывает дополнительные потоки в жидкости, которые и влияют на все остальные частицы. Поэтому описывать движение каждой из  $N$  БЧ уравнением Ланжевена строго говоря не верно, т.к. оно не учитывает возмущения жидкости вокруг конкретной частицы от движения других БЧ.

Движение  $N$  БЧ описывается  $N$ -частичным уравнением Ланжевена [19, 20]:

$$m \frac{dv}{dt} = F^H + F^D + F^B \quad (6)$$

где  $m$  - это тензор масс размерности  $6N \times 6N$ ,  $v$  - это вектор обобщённой скорости, размерности  $6N$ ,  $F^H$  - обобщенная гидродинамическая сила,  $F^D$  - обобщенная сила взаимодействия между БЧ (включает электростатику, Ван дер Вальсово взаимодействие, внешние поля и т.д.),  $F^B$  - обобщенная случайная броуновская сила, которая возникает от ударов молекул раствора. Все обобщённые силы - это векторы размерности  $6N$ . Размерность всех векторов равна  $6N$ , т.к. в общем случае моделируемые частицы являются абсолютно твёрдыми телами с 6-ю степенями свободы. Тензор масс при этом должен иметь размерность  $6N$  и будет выглядеть следующим образом

$$\begin{pmatrix} M & O \\ O & I \end{pmatrix}$$

где  $M$  - это диагональная матрица, на диагоналях которой стоят массы частиц,  $I$  - это матрица, на диагонали которой расположены тензоры инерции частиц,  $O$  - это матрица, содержащая только нулевые значения.

Для низких чисел Рейнольдса и без потока жидкости гидродинамические силы определяются выражением:

$$F^H = -R\nu = -\kappa_B T D^{-1} \nu (7)$$

Где  $D$  – тензор диффузии,  $R$  – тензор сопротивления, оба размерности  $6N \times 6N$ .

Аналогично предполагается, что обобщённая случайная сила обладает следующими свойствами:

$$1) \langle F^B(t) \rangle = 0 ;$$

2) Для временных интервалов, больших длительности столкновения, случайная сила не обладает корреляцией:

$$\langle F^B(t_1) F^B(t_2) \rangle = C \delta(t_1 - t_2)$$

где  $\delta(t_1 - t_2)$  – дельта-функция Дирака,  $C$  – некоторая константа.

Решение уравнения (6), данное в работе [19], для временных интервалов больших, чем время релаксации  $\tau = \frac{m}{\gamma}$

(здесь  $\mu$  – это характерная масса частицы):

$$q(t + \Delta t) = q(t) + \Delta t \nabla D(t) + \frac{D(t) F^D(t)}{\kappa_B T} \Delta t + Q(\Delta t) (8)$$

Здесь  $q$  – вектор обобщённых координат частиц, размерности  $6N$ ,  $Q(\Delta t)$  – случайное смещение из-за броуновского движения. Случайное смещение вычисляется согласно распределению Гаусса со следующими средним и ковариацией:

$$\langle Q(\Delta t) \rangle = 0; \langle Q(\Delta t) Q(\Delta t) \rangle = 2D \Delta t (9)$$

В формуле (5) для смещения одиночной БЧ 3 слагаемых, а в формуле (8) для смещения при множестве БЧ возникает 4-е слагаемое  $\Delta t \nabla D(t)$  – так называемый «броуновский дрейф».

Если  $z$  – это стандартный нормальный вектор, то

$$Q = \sqrt{2\Delta t} B z (10)$$

где  $B$  – это тензор, который удовлетворяет уравнению  $D = B B^T$ , т.е.  $B$  это корень из тензора диффузии  $D$ . Другие условия на  $B$  не накладываются, что даёт некоторую свободу в его выборе. Таким образом любое численное решение уравнения (6) требует существование квадратного корня или симметричного разложения тензора диффузии  $D$ . Простейший метод разложения тензора диффузии это разложение Холецкого [21] со сложностью  $O(N^3)$ . Альтернативный метод предложен Фиксманом [22], который использует полиномиальную аппроксимацию Чебышева. В работе [23] был разработан метод, использующий

методы подпространств Крылова, которые близки к методу Чебышева, но не требуют оценки собственных значений и имеют сложность  $O(N^2)$ . Ещё большего прогресса в уменьшении сложности алгоритма, до  $O(N)$ , добились в работе [24], но только для моделирования, где учитываются только далекодействующие гидродинамические взаимодействия.

### Гидродинамика броуновских частиц

Для тензора диффузии из формулы (7) или (8) пользуются различными приближениями.

Изначально начинали описывать разбавленные системы сферических частиц, потенциал взаимодействия которых зависит от расстояния между их центрами. В этом случае не учитывается их вращение и тензор диффузии приобретает размерность  $3N \times 3N$ . Первым приближением был тензор Озеена:

$$D_{ij} = \frac{\kappa_B T}{8\pi\eta r_{ij}} \left( I + \frac{(r_{ij}^{\vec{r}}, r_{ij}^{\vec{r}})}{r_{ij}^2} \right) (11)$$

Этот тензор упоминался в работе [25] ещё в 1949-м году. При выводе этого тензора пользовались формулами Озеена [26].

В качестве тензора диффузии  $D$  для пары частиц  $i$  и  $j$  часто используется тензор Ротне-Прагера-Ямакавы [27, 28] (12).

$$D_{ij} = \begin{cases} \frac{\kappa_B T}{8\pi\eta r_{ij}^3} \left( (I r_{ij}^2 + (r_{ij}^{\vec{r}}, r_{ij}^{\vec{r}})) + \frac{2a^2}{r_{ij}^2} \left( \frac{r_{ij}^2}{3} I - (r_{ij}^{\vec{r}}, r_{ij}^{\vec{r}}) \right) \right), & \text{if } r_{ij} > 2a \\ \frac{\kappa_B T}{6\pi\eta a} \left( \left( 1 - \frac{9r_{ij}}{32a} \right) I + \frac{3(r_{ij}^{\vec{r}}, r_{ij}^{\vec{r}})}{32a r_{ij}} \right), & \text{if } r_{ij} \leq 2a \end{cases}$$

где  $a$  – радиус частиц (все частицы сферические и одинакового радиуса),  $I$  – единичная матрица размера  $3 \times 3$ . Тензор Ротне-Прагера-Ямакавы хорош тем, что он положительно определён даже для частиц, которые взаимно проникли друг в друга [19, 29, 30] и  $\nabla D = 0$ .

Частицы при столкновении в реальном мире деформируют друг друга из-за чего возникает сила отталкивания. В модели же взаимодействие частиц описывается потенциалом, который учитывает притяжение и отталкивание, а включение в модель их деформаций потребует усложнения модели. Поэтому для описания отталкивания частиц иногда прибегают к допущению их взаимопроникновения, при котором они начинают отталкиваться. Тензор Ротне-Прагера-Ямакавы хорошо работает для разбавленных систем, где достаточно учитывать дальние гидродинамические взаимодействия. Однако, для концентрированных систем необходим учёт ближних гидродинамических взаимодействий [31, 32, 33]. Здесь тензор сопротивления  $R$  является суммой далекодействующих гидродинамических взаимодействий и близкодействующих



лубрикационных взаимодействий:

$$R = \frac{(D^\infty)^{-1}}{\kappa_B T} + R_{lub}(13).$$

Наиболее подробное и в то же время довольно эффективное с вычислительной точки зрения описание гидродинамических взаимодействий в рамках подхода БД предлагается в работах [24, 34, 35]. Авторы назвали данный метод «быстрой стоксовой динамикой» (БСД) [35]. БСД учитывает все гидродинамические взаимодействия между БД. БСД собрана в отдельный пакет PSE, который легко встраивается в HOOMD blue. HOOMD-blue — это набор инструментов для моделирования частиц общего назначения, реализующий МД и метод Монте-Карло для твердых частиц, оптимизированный для быстрого выполнения как на графических, так и на центральных процессорах [36].

### *Адаптивная броуновская динамика*

Существует ряд методов [37] для ускорения расчётов броуновского движения. Они заключаются в том, чтобы создать некие алгоритмы оценки ошибки расчётов на каждом шаге и на основании этой ошибки принять больший или меньший шаг расчётов.

Обычно для расчётов подбирается самый малый шаг по времени, чтобы численное решение отвечало необходимой точности. Однако, система в некоторых расчётах на каком-то временном интервале приобретает такую конфигурацию, при которой возможно увеличить шаг без потери точности. Примером, где такая конфигурация, очевидно, должна наблюдаться является расчёт константы ассоциации неких двух белков. В этом расчёте белки могут удалиться друг от друга достаточно далеко, где потенциал их взаимодействия будет слабо зависеть от координат, и на их смещение будет больше влиять случайная сила. В этом случае шаг расчёта можно брать больше.

Один из адаптивных методов для БД описан в этой работе [41]. В ней предлагается дополнить метод Эйлера-Маруямы [38] для решения задачи Коши методом Хойна – Эйлера [39]. Последний метод позволяет сформулировать критерии для подбора оптимального шага в расчётах. Уже в тестовых случаях для жидкостей с взаимодействием Леннарда-Джонса адаптивный метод ускоряет расчёты. Авторы ожидают, что представленный метод поможет ускорить моделирование сложных систем.

### *Валидация моделей с использованием экспериментальных данных*

Вначале построенная модель подвергается параметризации (калибровки) на известных

экспериментальных данных. Здесь подбираются её параметры. Затем модель с подобранными и фиксированными параметрами используется для описания известных экспериментальных данных. Если модель хорошо описывает экспериментальные данные, то далее она может быть применена для предсказания новых явлений, процессов и свойств присущих моделируемой системе. Предсказания модели далее проверяются с помощью эксперимента, что позволяет оценить достоверность и точность модели. Если предсказания модели согласуются с результатами новых экспериментов, это подтверждает адекватность модели и поддерживает её применимость для описания и предсказания поведения системы.

### *Примеры применения метода броуновской динамики*

Далее разберем некоторые конкретные примеры применения метода БД для моделирования биополимеров.

#### *Описание динамики актина*

Микрофиламенты (актиновые микрофиламенты, МФ) — биополимеры, состоящие из молекул глобулярного белка актина и присутствующие в цитоплазме всех эукариотических клеток. Актиновые филаменты представляют собой нити с диаметром 7 нм. Каждый филамент является спиралью, которая состоит из двух нитей, построенных из одинаковых и одинаково ориентированных глобулярных белков. Таким образом МФ обладают полярностью с плюс и минус концами [40].

Актиновые филаменты растут путём присоединения мономеров актина к обоим концам филамента, при этом скорость полимеризации на плюс конце выше, чем на минус конце. Каждый свободный мономер актина несёт прочно связанный аденозинтрифосфат (АТФ), который вскоре после присоединения к МФ гидролизует до аденозиндифосфата (АДФ). Гидролиз АТФ актина уменьшает силу связывания мономеров и нарушает стабильность полимера актина. Гидролиз нуклеотида способствует деполимеризации, помогая клетке в разборке филаментов [42].

В работах [43, 44] БД была применена для описания роли актина в опосредованном клатрином эндоцитоза в дрожжевых клетках. Во время клатрин-опосредованного эндоцитоза плоский участок мембраны клетки деформируется по направлению к цитоплазме с образованием везикулы. Полимеризация МФ и движение моторных белков не способны развить достаточной силы для образования везикулы. В этой статье была использована модель БД,



которая продемонстрировала, что сшивание множества неполимеризующихся МФ с помощью кросс-линкеров способно значительно увеличить силы, действующие на мембрану со стороны МФ.

В статьях [45, 46, 47] использовали моделирование БД для изучения актин-белковых взаимодействий и разработки многомасштабных моделей активации сердечных миофиламентов и сокращения саркомеров. Известно, что дезоксиаденозиндифосфат (дАДФ) увеличивает силу сокращения сердца. Пауэрс и др. [45] обнаружили, что продукт гидролиза дАДФ, реструктурирует миозин. Путем моделирования связывания миозина с димером актина, они предсказали более высокие скорости ассоциации для миозина, связанного с дАДФ, чем для миозина, связанного с АДФ.

Абоелькассем и др. [47], использовали БД для исследования того, как скорость связывания тропомиозиновых и актиновых нитей зависит от их относительной ориентации. Результаты атомистического моделирования были использованы для построения модели БД активации тропомиозина во время сокращения саркомера.

В работе [48] моделировали взаимодействие кросс-линкеров и МФ. Действие кросс-линкеров заключалось в том, что они приводили к сближению МФ и формирование из них плотно сшитых пучков, обладающих высокой устойчивостью к деформации. В модели МФ были представлены одномерными стержнями, форма, положение и ориентация которых меняются со временем под действием сети динамических кросс-линкеров. Кросс-линкеры моделировались как гармонические осцилляторы, которые соединяли два МФ, и они случайно появлялись и исчезали с заданными скоростями. Модель не учитывала кросс-линкеры как индивидуально диффундирующие объекты. В этой статье пренебрегали гидродинамическими взаимодействиями между отдельными МФ. Движение МФ описывалось безынерционным уравнением Ланжевена (3). В работе изучали, как броуновское движение влияет на скорость процесса образования пучков МФ, и оценивали, как длина и концентрация МФ, а также концентрация кросс-линкеров влияют на процесс образования пучков МФ. Для этого задавался набор некоторого количества МФ со случайными координатами и ориентациями, а затем, на каждом временном шаге моделирования с определённой вероятностью возникали кросс-линкеры, которые связывали ближайшие точки МФ и сближали эти точки друг с другом. В результате этого процесса МФ собирались в параллельные пучки. В одном случае моделирования МФ не были подвержены броуновскому движению, а в другом

- МФ совершали ко всему прочему броуновское движение. Оказалось, что при добавлении в модель броуновского движения МФ в 4 раза уменьшалось характерное время образования пучков МФ, с 16 до 4 секунд. Данная работа показала важную роль броуновского движения молекул и что живые организмы активно им пользуются.

### *Описание динамики микротрубочек*

Микротрубочка (МТ) представляет собой полый цилиндр, построенный из 13 параллельных стержней, называемых протофиламентами, каждый из которых состоит из гетеродимеров тубулина. Субъединица тубулина (гетеродимер) образована двумя близкородственными глобулярными белками, называемыми  $\alpha$ -тубулином и  $\beta$ -тубулином, тесно связанными друг с другом нековалентными связями [49].

Вдоль протофиламента МТ  $\beta$ -тубулин образует связь с  $\alpha$ -тубулином в соседнем гетеродимере с помощью так называемых лонгитудальных связей. Протофиламенты расположены в МТ параллельно друг другу и соприкасаются, образуя латеральные контакты. Основные латеральные контакты - между мономерами одного типа тубулина ( $\alpha$ - $\alpha$  и  $\beta$ - $\beta$ ). Все субъединицы в каждом протофиламенте в МТ направлены в одном направлении, а сами протофиламенты расположены параллельно. Следовательно, сама МТ имеет отчетливую структурную полярность:  $\alpha$ -тубулины открыты на одном конце (минус-конец) и  $\beta$ -тубулины на другом конце (плюс-конец).

МТ обладают динамической нестабильностью, что означает, что её фаза медленной полимеризации спонтанно переходит в фазу быстрой деполимеризации, обратный процесс также имеет место, причём эти переключения происходят при постоянных внешних условиях (температура, концентрация тубулина, pH среды и т.д.). Переход от фазы полимеризации к фазе деполимеризации называется катастрофой, а переход от фазы деполимеризации к фазе полимеризации называется спасением. Из экспериментально полученных *in vitro* зависимостей частоты катастроф от времени стало ясно, что вероятность перехода МТ от роста к разборке увеличивается со временем [50]. То есть более "молодые" МТ менее вероятно испытывают катастрофу, чем более "старые". Явление увеличения частоты катастроф со временем получило название "старение МТ". Молекулярные механизмы такого поведения МТ до конца не изучены.

С помощью метода БД в работе [51] была описана полимеризация, деполимеризация, механизм катастроф и старение МТ. В частности,

модель предсказывала линейную зависимость скорости роста МТ от концентрации тубулина, независимость скорости разборки МТ от концентрации тубулина и распределение времён жизни МТ до её катастрофы (старение).

В работе [11] также была описана полимеризация, деполимеризация, а также эксперименты с разбавлением тубулина, была вычислена частота колебаний протофиламента при его разных длинах, были описаны силы, развиваемые МТ, формы и длины протофиламентов на конце МТ, и неоднородность формы конца МТ. Модель показала роль барьеров, ям и формы эффективного потенциала взаимодействия между двумя тубулинами для описания различных свойств МТ. МТ моделировалась на уровне мономера тубулина. Мономеры, из которых состоит МТ, заданы в виде сфер с 4-мя точками взаимодействия, посредством которых эти сферы могут соединяться друг с другом. Для упрощения расчётов каждый протофиламент МТ мог колебаться в плоскости, вдоль которой проходят ось МТ и ось самого протофиламента. В этом случае положение мономера тубулина с номером  $i$  полностью определяется 3-мя координатами

$$\{x_i, y_i, \tau_i\}, \text{ где } \{x_i, y_i\} \text{ координаты центра}$$

мономера и  $\tau_i$  угол его ориентации. Свободные ГТФ-димеры тубулина присоединятся к концу протофиламента МТ лонгитудально из раствора. Важно, что модель не описывает движение и гидролиз ГТФ димеров в растворе и расчёты его движения начинаются после того, как ГТФ-тубулин присоединился к концу МТ. Для простоты полагается, что присоединение нового димера происходит с равной вероятностью к каждому концевому димеру независимо от его нуклеотидного содержания. Латеральное взаимодействие между парой примыкающих мономеров описывается потенциалом, который содержит потенциальную яму и отталкивающий барьер:

$$U^{lat}(r^{lat}) = A_{lat} \left( \frac{r^{lat}}{r_0^{lat}} \right)^2 \exp\left(-\frac{r^{lat}}{r_0^{lat}}\right) - b_{lat} \exp\left(-\left(\frac{r^{lat}}{r_0^{lat}}\right)^2\right)$$

где  $r^{lat}$  – расстояние между двумя точками латерального взаимодействия,  $A_{lat}$  – примерно двойная высота барьера,  $b_{lat}$  – глубина ямы,  $r_0^{lat}$  – ширина потенциала. В модели заложено 2 вида лонгитудальных взаимодействий для междимерного и внутридимерного взаимодействия. Лонгитудальное взаимодействие между соседними димерами описывается аналогично латеральному. Лонгитудальная связь внутри димеров неразрывна и описывается с помощью гармонического потенциала:

$$U^{intra}(r) = \frac{1}{2} \kappa r^2$$

где  $r$  – расстояние между двумя точками между мономерами внутри димера. Модель также учитывает энергию изгиба протофиламента. В модели изгиб происходит в точках лонгитудального взаимодействия. Энергия изгиба зависит от угла  $\chi$  между примыкающими мономерами в плоскости протофиламента:

$$U^{bending}(r) = \frac{B}{2} (\chi - \chi_0)^2$$

Положение мономеров тубулина в различные моменты времени описывалось безынерционным уравнением Ланжевена (3).

Работа [52] позволила показать, что свободно диффундирующий димер тубулина реже соединяется с отстающим протофиламентом МТ, чем с концом лидирующего протофиламента. Это связано с тем, что конец отстающего протофиламента окружён с двух сторон другими протофиламентами, а конец лидирующего протофиламента ничем не окружён. Структура МТ моделировалась как цилиндр, состоящий из 13 протофиламентов и шага спирали МТ из 1,5 димеров на виток. Отдельные субъединицы тубулина были смоделированы как суперэллипсоиды, полученные вращением вокруг оси ОУ в декартовых координатах кривой Ламе

$$\left| \frac{x}{a} \right|^n + \left| \frac{y}{b} \right|^n = 1$$

с параметрами  $a = 2$  нм,  $b = 4$  нм и  $n = 5$ . В результате димеры тубулина выглядели, как прямоугольные параллелепипеды, но со сглаженными углами. На торцах суперэллипсоида были помещены 3 точки лонгитудального взаимодействия с другими димерами. Минус конец тубулина, находящегося в растворе притягивался к плюсу концам протофиламентов МТ. Каждая из трёх его точек взаимодействия притягивалась к соответствующей точке тубулина, находящегося на конце протофиламента МТ. Также на боковой стороне суперэллипсоида были помещены 4 точки латерального взаимодействия с другими димерами. Когда тубулин из раствора соединялся с концом протофиламента МТ, то он мог также образовать латеральные связи с димерами из соседних протофиламентов. Взаимодействия между всеми точками на суперэллипсоиде задавались с помощью гармонического потенциала

$$U(r) = \frac{1}{2} \kappa r^2 + U_0$$

где  $r$  – это расстояние между точками взаимодействия. Этот потенциал обнулялся при достижении некоторого заданного расстояния и

был различен для лонгитудальных и латеральных взаимодействий. При симуляциях присутствовала МТ и один свободный димер тубулина, движение которого описывалось безынерционным уравнением Ланжевена (3). При моделировании одной движущейся частицы можно было не учитывать гидродинамические взаимодействия, что и было сделано авторами. Положение димера тубулина описывалось 6-ю координатами, как положение абсолютно твёрдого тела.

Авторы продолжили применение БД в работе [53]. Был использован тот же подход к моделированию, что и в прошлой работе [52], но для моделирования взаимодействия тубулина только с помощью латеральных связей. В этой модели также были возможны присоединения/отсоединения только с помощью латеральных связей. Потенциалы взаимодействия между тубулинами были предварительно вычислены с помощью МД. С помощью БД была вычислена свободная энергия Гиббса для связывания посредством латерального взаимодействия при различных нуклеотидных состояниях тубулина. Также был оценён энтропийный штраф этого связывания. Как утверждают авторы такие же вычисления с помощью МД были бы более энергозатратные. Было получено, что нуклеотидное состояние слабо влияет на латеральное взаимодействие тубулинов, что согласуется со структурами тубулина, полученными в работе [54]. С помощью БД также были вычислены константы присоединения/отсоединения тубулинов, что показало, что латеральные связи слабы. Из этого следовало, что для формирования устойчивой МТ необходимы сильные лонгитудальные связи между тубулинами. Последний вывод согласовывался с результатами предыдущей работы [52].

В работе [55] было показано, что БД может быть применима для предсказания форм полимера при его заморозке. В этой работе моделировался одиночный протофиламент МТ с целью объяснить наблюдаемый градиент кривизны протофиламентов МТ [56]. В изначальной конфигурации протофиламент был прямым. Один из димеров протофиламента имел фиксированные координаты, что отражало то, что он встроен в тело МТ. После начала расчёта протофиламент изгибался в своё изогнутое равновесное состояние и одновременно уменьшалась температура с заданной скоростью. При определённых параметрах скорости заморозки и жёсткости протофиламента наблюдался градиент кривизны у замороженных протофиламентов. В общем случае БД позволяет предсказывать неравновесные формы полимеров при их достаточно быстрой заморозке.

Полноценная трёхмерная модель БД

микротрубочки была описана в работе [57]. В ней также, как и в прошлых работах удалось описать рост и разборку МТ, а также силу, развиваемую МТ при деполимеризации и спасения. Для расчётов БД использовались графические ускорители.

В исследовании [58] представлена общая модель БД моторного белка, ходящего по гибкому биополимеру, такому как МТ или МФ. С помощью БД описывается как движение биополимера, так и моторного белка по нему. В работе определяли влияние размера груза и силы торможения на эффективность моторного белка. Было обнаружено, что эффективность моторного белка снижается с увеличением размера груза. Для относительно небольшого пузырька эффективность составляет около 35 %, однако это оказалось меньше, чем это наблюдается в природе. Также были проведены симуляции случая, когда один конец биополимера был закреплён на некой стенке, по этому полимеру шагал моторный белок, которой также был закреплён. С помощью этих симуляций вычисляли силу, которую необходимо приложить к моторному белку, чтобы остановить его.

#### Описание динамики ДНК

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — макромолекула, обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов. Основная роль ДНК в клетках — долговременное хранение информации о структуре РНК и белков.

ДНК представляет собой биополимер, мономером которого является нуклеотид. Каждый нуклеотид состоит из остатка фосфорной кислоты, присоединённого по 5'-положению к дезоксирибозе, к которой также через гликозидную связь (C—N) по 1'-положению присоединено одно из четырёх азотистых оснований (аденин, гуанин, тимин или цитозин) [42].

БД использовалась для исследования корреляции между связыванием белков самих с собой и их способностью правильно формировать двойную спираль ДНК при соединении двух сегментов ДНК [59]. В этом исследовании специальное силовое поле использовалось для воспроизведения формы ДНК при взаимодействии с белками. Из моделирования был сделан вывод, что без процесса связывания мономерных белков самих с собой было бы невозможно формирование правильной формы ДНК спирали.

Связывание ДНК с фактором фон Виллебранда, белком гемостаза, было недавно изучено с использованием БД, МД на уровне атомов и крупнозернистой МД для характеристики ключевых сайтов связывания. Важность электростатики для взаимодействия между ДНК



и фактором фон Виллебранда была показана с помощью БД путём увеличения ионной силы и наблюдением последующего ослабления связывания ДНК [60].

Динамика денатурации двухцепочечной ДНК была также исследована с использованием БД [61]. Авторы использовали крупнозернистую однонуклеотидную модель для двухцепочечной ДНК, которая учитывает структуру спирали. В работе сравнивали динамику денатурации свободной ДНК длиной 300 пар оснований с динамикой денатурации ДНК той же длины, но фиксированной с одного конца, имитируя ДНК, привязанную к субстрату. Было обнаружено, что свободная ДНК плавится быстрее, потому что прирост энтропии, связанный с денатурацией, больше. Кроме того, ДНК моделировалась в нанопорах разной ширины, чтобы изучить влияние ограниченного пространства на динамику её плавления.

БД была использована для описания растяжения и фрагментации ДНК в микрофлюидике [62]. Растяжение и последующая фрагментация ДНК могут быть вызваны при резком увеличении скорости течения раствора ДНК через микроканал при его резком и значительном сужении. Авторы ожидают, что их исследование может пролить новый свет на разработку будущих микрофлюидных чипов для фрагментации ДНК и интегрированных устройств для анализа ДНК.

В работе [63] утверждается, что броуновское движение в периодическом и ассиметричном потенциале, под действием внешних неравновесных флуктуаций, приводит к направленному движению БЧ. На основании этого, был предложен механизм броуновского храповика для направленного транспорта частиц нанометровых размеров вдоль ДНК. Его работоспособность была проверена на крупнозернистой броуновской модели одиночной длинной молекулы ДНК.

В статье [64] моделируется поведение ДНК и РНК в ситуациях, когда к ним приложено крутильное напряжение. Если представить себе, что один конец длинной цепи на подложке закреплен, а другой постоянно вращается, то такая ДНК или РНК будет перекручиваться и от это формировать петлю. Эксперименты [65, 66, 67, 68, 69] показали, что кинетика формирования таких петель на 2 порядка отличается для ДНК и РНК. Существование суперскрученных ДНК имеет физиологическую значимость, т.к. нечто похожее наблюдается в хроматине. Авторы решили промоделировать эти полимеры с помощью БД с целью объяснить эту разницу. На основе этой модели авторам удалось объяснить разницу в кинетики образования петель ДНК и РНК, и они

пришли к выводу что основная причина больших различий - в разной персистентной длине этих биополимеров, но могут быть и дополнительные причины, которые пока остаются непонятными, т.к. разница объяснена не полностью. При этом сам подход моделирования позволяет изучить процесс образования петель с большим разрешением, чем доступно в экспериментах, что очень ценно для понимания работы хроматина.

### **Заключение**

В этом обзоре были описаны теоретические основы метода БД с различными приближениями, а также было дано множество примеров использования моделирования БД для изучения динамики биополимеров. Из представленной информации видно, что БД успешно применяется для описания динамики различных биополимеров и их различных свойств. БД также является ценным инструментом для предоставления детальной интерпретации экспериментов на уровне движения молекул. Недавние методологические разработки, например, метод БСД и БД с адаптивным шагом, наряду с достижениями в области высокопроизводительных вычислений и экспериментальных методов, расширяют возможности применения метода БД.

Забегая вперед, мы можем увидеть множество возможностей для будущего применения метода БД. Во-первых, из-за его относительно высокой вычислительной эффективности по сравнению с другими методами моделирования, такими как МД и молекулярная квантовая механика, БД использовалась и будет использоваться для моделирования крупных молекулярных объектов, таких как биополимеры, а также других крупных биомолекулярных комплексов или даже целых вирусов, и можно ожидать, что её приложения будут распространяться на клеточные компартменты и целые клетки.

Метод БД уже принес много полезного, и ожидается, что в будущем он ещё даст множество новых описаний и предсказаний поведения живой материи, особенно с помощью новых, развивающихся алгоритмов, таких как БСД и адаптивная БД. БД как метод и инструмент для исследований продолжает процветать и развиваться, предоставляя ценные средства для решения широкого круга проблем в биологии, биоинженерии и биомедицине.

### **Список литературы**

1. Atkins PW, Friedman RS. Molecular Quantum Mechanics. Fifth Edition. Oxford: Oxford University Press; 2010.
2. Ганс Густав Адольф Гельман. Квантовая химия. БИНОМ. Лаборатория знаний; 2017.

3. Quesne MG, Borowski T, de Visser SP. Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Modeling of Enzymatic Processes: Caveats and Breakthroughs. *Chemistry – A European Journal* 2015;22:2562–81. <https://doi.org/10.1002/chem.201503802>.
4. Vidossich P, Magistrato A. QM/MM Molecular Dynamics Studies of Metal Binding Proteins. *Biomolecules* 2014;4:616–45. <https://doi.org/10.3390/biom4030616>.
5. van der Kamp MW, Mulholland AJ. Combined Quantum Mechanics/Molecular Mechanics (QM/MM) Methods in Computational Enzymology. *Biochemistry* 2013;52:2708–28. <https://doi.org/10.1021/bi400215w>.
6. Adcock SA, McCammon JA. Molecular dynamics: survey of methods for simulating the activity of proteins. *Chem Rev* 2006;106:1589–1615. <https://doi.org/10.1021/cr040426m>.
7. Shaw DE, Deneroff MM, Dror RO, Kuskin JS, Larson RH, Salmon JK, et al. Anton, a special-purpose machine for molecular dynamics simulation. *Commun ACM* 2008;51:91–7. <https://doi.org/10.1145/1364782.1364802>.
8. Shaw DE, Grossman JP, Bank JA, Batson B, Butts JA, Chao JC, et al. Anton 2: Raising the Bar for Performance and Programmability in a Special-Purpose Molecular Dynamics Supercomputer. *SC '14: Proceedings of the International Conference for High Performance Computing, Networking, Storage and Analysis*, 2014, p. 41–53. <https://doi.org/10.1109/SC.2014.9>.
9. Tozzini V. Coarse-grained models for proteins. *Current Opinion in Structural Biology* 2005;15:144–50. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.02.005>.
10. Brown R. XXVII. A brief account of microscopical observations made in the months of June, July and August 1827, on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies. *The Philosophical Magazine* 1828;4:161–73. <https://doi.org/10.1080/14786442808674769>.
11. Gudimchuk NB, Ulyanov EV, O'Toole E, Page CL, Vinogradov DS, Morgan G, et al. Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography. *Nat Commun* 2020;11:3765. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17553-2>.
12. Захаров ПН, Аржанник ВК, Ульянов ЕВ, Гудимчук НБ, Атауллаханов ФИ. Микротрубочка — динамически нестабильный биополимер со спонтанными переключениями между фазовыми состояниями. *Успехи физических наук* 2016;186:853–68.
13. Wolfram S. Statistical mechanics of cellular automata. *Rev Mod Phys* 1983;55:601–44. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.55.601>.
14. Dufort PA, Lumsden CJ. Cellular automaton model of the actin cytoskeleton. *Cell Motil Cytoskeleton* 1993;25:87–104. <https://doi.org/10.1002/cm.970250110>.
15. Einstein A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen Der Physik* 1905;322:549–60. <https://doi.org/10.1002/andp.19053220806>.
16. Lemons DS, Gythiel A. Paul Langevin's 1908 paper "On the Theory of Brownian Motion" ["Sur la théorie du mouvement brownien," *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 146, 530–533 (1908)]. *American Journal of Physics* 1997;65:1079–81. <https://doi.org/10.1119/1.18725>.
17. Smoluchowski MV. Über Brownsche Molekularbewegung unter Einwirkung äußerer Kräfte und deren Zusammenhang mit der verallgemeinerten Diffusionsgleichung. *Annalen Der Physik* 1916;353:1103–12. <https://doi.org/10.1002/andp.19163532408>.
18. Интегральное исчисление, Том 1, Эйлер Л., vol. 1. Гос.изд-во технико-технической литературы; 1956.
19. Ermak DL, McCammon JA. Brownian dynamics with hydrodynamic interactions. *The Journal of Chemical Physics* 1978;69:1352–60. <https://doi.org/10.1063/1.436761>.
20. Skolnick J. Perspective: On the importance of hydrodynamic interactions in the subcellular dynamics of macromolecules. *The Journal of Chemical Physics* 2016;145:100901. <https://doi.org/10.1063/1.4962258>.
21. Press WH, Flannery BP, Teukolsky SA, Vetterling WT. *Numerical Recipes in C book set: Numerical recipes in C. The art of scientific computing*. 2nd ed. Cambridge ; New York: Cambridge University Press; 1992.
22. Fixman M. Implicit algorithm for Brownian dynamics of polymers. *Macromolecules* 1986;19:1195–204. <https://doi.org/10.1021/ma00158a042>.
23. Ando T, Chow E, Saad Y, Skolnick J. Krylov subspace methods for computing hydrodynamic interactions in Brownian dynamics simulations. *The Journal of Chemical Physics* 2012;137:064106. <https://doi.org/10.1063/1.4742347>.
24. Fiore AM, Balboa Usabiaga F, Donev A, Swan JW. Rapid sampling of stochastic displacements in Brownian dynamics simulations. *The Journal of Chemical Physics* 2017;146:124116. <https://doi.org/10.1063/1.4978242>.
25. Kirkwood JG. The statistical mechanical theory of irreversible processes in solutions of flexible macromolecules. *Visco-elastic behavior. Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas* 1949;68:649–60. <https://doi.org/10.1002/recl.19490680708>.
26. Oseen CW. The theory of liquid crystals. *Trans Faraday Soc* 1933;29:883–99. <https://doi.org/10.1039/TF9332900883>.
27. Rotne J, Prager S. Variational Treatment of Hydrodynamic Interaction in Polymers. *The Journal of Chemical Physics* 2003;50:4831–7. <https://doi.org/10.1063/1.1670977>.
28. Yamakawa H. Transport Properties of Polymer Chains in Dilute Solution: Hydrodynamic Interaction. *The Journal of Chemical Physics* 2003;53:436–43. <https://doi.org/10.1063/1.1673799>.



29. Schlick T. *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide: An Interdisciplinary Guide*. 2nd ed. 2010 edition. New York: Springer; 2010.
30. Szymczak P, Cieplak M. Hydrodynamic effects in proteins. *J Phys: Condens Matter* 2010;23:033102. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/23/3/033102>.
31. Brady JF, Bossis G. Stokesian Dynamics. *Annual Review of Fluid Mechanics* 1988;20:111–57. <https://doi.org/10.1146/annurev.fl.20.010188.000551>.
32. Brady JF, Phillips RJ, Lester JC, Bossis G. Dynamic simulation of hydrodynamically interacting suspensions. *Journal of Fluid Mechanics* 1988;195:257–80. <https://doi.org/10.1017/S0022112088002411>.
33. Durlofsky L, Brady JF, Bossis G. Dynamic simulation of hydrodynamically interacting particles. *Journal of Fluid Mechanics* 1987;180:21–49. <https://doi.org/10.1017/S002211208700171X>.
34. Fiore AM, Swan JW. Rapid sampling of stochastic displacements in Brownian dynamics simulations with stresslet constraints. *J Chem Phys* 2018;148:044114. <https://doi.org/10.1063/1.5005887>.
35. Fiore AM, Swan JW. Fast Stokesian dynamics. *Journal of Fluid Mechanics* 2019;878:544–97. <https://doi.org/10.1017/jfm.2019.640>.
36. HOOMD-blue - Home n.d. <https://glotzerlab.engin.umich.edu/hoomd-blue/> (accessed June 15, 2023).
37. Press WH, Teukolsky SA, Vetterling WT, Flannery BP. *Numerical Recipes 3rd Edition: The Art of Scientific Computing*. 3rd edition. Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press; 2007.
38. Kloeden PE, Platen E. *Numerical Solution of Stochastic Differential Equations*. Berlin, Heidelberg: Springer; 1992. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-12616-5>.
39. Stuart A, Humphries AR. *Dynamical Systems and Numerical Analysis*. Cambridge ; New York: Cambridge University Press; 1996.
40. Lappalainen P, Kotila T, Jégou A, Romet-Lemonne G. Biochemical and mechanical regulation of actin dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2022;23:836–52. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00508-4>.
41. Sammüller F, Schmidt M. Adaptive Brownian Dynamics. *The Journal of Chemical Physics* 2021;155:134107. <https://doi.org/10.1063/5.0062396>.
42. Alberts B, Heald R, Johnson A, Morgan D, Raff M. *Molecular Biology of the Cell*. 7th edition. New York, NY London: Norton & Company; 2022.
43. Ma R, Berro J. Structural organization and energy storage in crosslinked actin assemblies. *PLOS Computational Biology* 2018;14:e1006150. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006150>.
44. Ma R, Berro J. Crosslinking actin networks produces compressive force. *Cytoskeleton* 2019;76:346–54. <https://doi.org/10.1002/cm.21552>.
45. Powers JD, Yuan C-C, McCabe KJ, Murray JD, Childers MC, Flint GV, et al. Cardiac myosin activation with 2-deoxy-ATP via increased electrostatic interactions with actin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019;116:11502–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1905028116>.
46. McCabe KJ, Aboelkassem Y, Teitgen AE, Huber GA, McCammon JA, Regnier M, et al. Predicting the effects of dATP on cardiac contraction using multiscale modeling of the sarcomere. *Arch Biochem Biophys* 2020;695:108582. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108582>.
47. Aboelkassem Y, McCabe KJ, Huber GA, Regnier M, McCammon JA, McCulloch AD. A Stochastic Multiscale Model of Cardiac Thin Filament Activation Using Brownian-Langevin Dynamics. *Biophys J* 2019;117:2255–72. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.08.003>.
48. Maxian O, Donev A, Mogilner A. Interplay between Brownian motion and cross-linking controls bundling dynamics in actin networks. *Biophysical Journal* 2022;121:1230–45. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2022.02.030>.
49. Gudimchuk NB, McIntosh JR. Regulation of microtubule dynamics, mechanics and function through the growing tip. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021;22:777–95.
50. Gardner MK, Zanic M, Gell C, Bormuth V, Howard J. Depolymerizing kinesins Kip3 and MCAK shape cellular microtubule architecture by differential control of catastrophe. *Cell* 2011;147:1092–103. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.10.037>.
51. Zakharov P, Gudimchuk N, Voevodin V, Tikhonravov A, Ataulkhanov FI, Grishchuk EL. Molecular and Mechanical Causes of Microtubule Catastrophe and Aging. *Biophys J* 2015;109:2574–91. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.10.048>.
52. Castle BT, Odde DJ. Brownian Dynamics of Subunit Addition-Loss Kinetics and Thermodynamics in Linear Polymer Self-Assembly. *Biophysical Journal* 2013;105:2528–40. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.10.009>.
53. Hemmat M, Castle BT, Sachs JN, Odde DJ. Multiscale Computational Modeling of Tubulin-Tubulin Lateral Interaction. *Biophys J* 2019;117:1234–49. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.08.011>.
54. Zhang R, Alushin GM, Brown A, Nogales E. Mechanistic Origin of Microtubule Dynamic Instability and Its Modulation by EB Proteins. *Cell* 2015;162:849–59. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.012>.
55. Ulyanov EV, Vinogradov DS, McIntosh JR, Gudimchuk NB. Brownian dynamics simulation of protofilament relaxation during rapid freezing. *PLOS ONE* 2021;16:e0247022. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247022>.
56. McIntosh JR, O'Toole E, Morgan G, Austin J, Ulyanov E, Ataulkhanov F, et al. Microtubules grow by the addition of bent guanosine triphosphate tubulin to the tips of curved protofilaments. *J Cell Biol* 2018;217:2691–708. <https://doi.org/10.1083/jcb.201802138>.
57. Kliuchnikov E, Klyshko E, Kelly MS, Zhmurov A, Dima RI, Marx KA, et al. Microtubule assembly and disassembly dynamics model: Exploring dynamic instability and identifying features of Microtubules'

- Growth, Catastrophe, Shortening, and Rescue. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 2022;20:953–74. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.01.028>.
58. Luettmer-Strathmann J, Adeli Koudehi M, Paudyal N. Five-Site Model for Brownian Dynamics Simulations of a Molecular Walker in Three Dimensions. *J Phys Chem B* 2021;125:4726–33. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c02114>.
  59. Joyeux M. Impact of Self-Association on the Architectural Properties of Bacterial Nucleoid Proteins. *Biophys J* 2021;120:370–8. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.12.006>.
  60. Sandoval-Pérez A, Berger RML, Garaizar A, Farr SE, Brehm MA, König G, et al. DNA binds to a specific site of the adhesive blood-protein von Willebrand factor guided by electrostatic interactions. *Nucleic Acids Res* 2020;48:7333–44. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa466>.
  61. Qanobi AA, Marenduzzo D, Ali I. Simulations of DNA denaturation dynamics under constrained conditions. *J Phys: Condens Matter* 2022;34:295101. <https://doi.org/10.1088/1361-648X/ac6d39>.
  62. Wu S, Li C, Zheng Q, Xu L. Modelling DNA extension and fragmentation in contractive microfluidic devices: a Brownian dynamics and computational fluid dynamics approach. *Soft Matter* 2018;14:8780–91. <https://doi.org/10.1039/C8SM00863A>.
  63. Oh I, Song J, Hyun HR, Lee SH, Kim JS. Brownian ratchet for directional nanoparticle transport by repetitive stretch-relaxation of DNA. *Phys Rev E* 2022;106:054117. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.106.054117>.
  64. Ott K, Martini L, Lipfert J, Gerland U. Dynamics of the Buckling Transition in Double-Stranded DNA and RNA. *Biophysical Journal* 2020;118:1690–701. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.01.049>.
  65. Forth S, Deufel C, Sheinin MY, Daniels B, Sethna JP, Wang MD. Abrupt Buckling Transition Observed during the Plectoneme Formation of Individual DNA Molecules. *Phys Rev Lett* 2008;100:148301. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.100.148301>.
  66. Daniels BC, Forth S, Sheinin MY, Wang MD, Sethna JP. Discontinuities at the DNA supercoiling transition. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2009;80:040901. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.80.040901>.
  67. Brutzer H, Luzzietti N, Klaue D, Seidel R. Energetics at the DNA Supercoiling Transition. *Biophys J* 2010;98:1267–76. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.12.4292>.
  68. Lipfert J, Skinner GM, Keegstra JM, Hensgens T, Jager T, Dulin D, et al. Double-stranded RNA under force and torque: similarities to and striking differences from double-stranded DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:15408–13. <https://doi.org/10.1073/pnas.1407197111>.
  69. Walker PU, Vanderlinden W, Lipfert J. Dynamics and energy landscape of DNA plectoneme nucleation. *Phys Rev E* 2018;98:042412. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.98.042412>.

# Влияние поперечно сшитых продуктов гиалуроновой кислоты на пролиферацию фибробластов кожи человека в культуре.

Е. В. Ивановская<sup>1,2#</sup>, А. Е. Болдова<sup>1,3</sup>, А. Н. Сидорина<sup>4</sup>, Ю. А. Ивановская<sup>4</sup>, З. И. Газитаева<sup>4</sup>, А. Н. Свешникова<sup>1,3</sup>.

1. ФГБУН центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, ул. Средняя Калитниковская 30, Москва, Россия, 109029
2. Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Миусская площадь, 9, Москва, Россия, 125047
3. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, ул. Саморы Машела, 1, Москва, Россия, 117997
4. ООО «Медицинские биоинженерные системы», Ленинградский проспект, 80, Москва, Россия, 125315

# Автор для переписки: [kivanovskaia27@gmail.com](mailto:kivanovskaia27@gmail.com)

Получено: 12.05.2023

Принято к публикации: 28.06.2023

Опубликовано: 30.12.2023

EDN: TQCYEA

## Аннотация

В настоящее время в эстетической медицине широко используются препараты на основе гиалуроновой кислоты (ГК). Это связано с уникальной особенностью ГК поддерживать структуру межклеточного матрикса и влиять на функционирование стромальных клеток, которые захватывают ГК специфическими рецепторами, в первую очередь CD44, и далее в лизосомах она подвергается разложению гиалуронидазами. Для задержки ГК в матриксе и создания эффектов лифтинга и филлинга в эстетической медицине используют ГК с поперечными связями (кросс-сшиты). Несмотря на то, что основные механизмы синтеза и биодegradации ГК в организме известны, до сих пор остается неисследованным, как продукты на основе ГК с поперечными сшивками деградируют, захватываются клетками и влияют на их пролиферацию и жизнеспособность.

В настоящей работе мы исследовали влияние продукта на основе ГК, сшитой дивинилсульфоном, на пролиферацию фибробластов кожи человека. Первичные фибробласты (3-6 пассаж) культивировали согласно стандартным протоколам в присутствии поперечно-сшитого продукта ГК в объемном соотношении 1:5 в среде ДМЕМ с 10% фетальной бычьей сывороткой. Оценка состояния клеток проводилась с помощью световой и флуоресцентной конфокальной микроскопии.

В результате проведенных исследований, были получены данные о влиянии продуктов на пролиферацию фибробластов, их морфологию, а также продемонстрировано накопление молекул ГК клетками. Захват молекул ГК фибробластами был продемонстрирован методом конфокальной микроскопии с окраской на миозин и ГК. Методом световой микроскопии мы выяснили,

что в присутствии ГК наблюдается ускоренная пролиферация фибробластов. Морфология фибробластов в присутствии ГК изменялась в сторону увеличения их адгезии к субстрату.

Таким образом, поперечно-сшитые продукты на основе ГК активно захватываются фибробластами кожи человека в культуре, предположительно эндоцитозом, что обеспечивает влияние данных продуктов на ускорение пролиферации фибробластов и их морфологию.

**Ключевые слова:** Гиалуроновая кислота, Дивинилсульфон, Фибробласты

## Введение

В современном мире одним из наиболее широко используемых полимеров медико-биологического назначения является гиалуроновая кислота (гиалуронан - ГК). Полимер представляет собой несulfатированный линейный гликозаминогликан с отрицательным зарядом, содержащий повторяющиеся единицы дисахарида  $\beta$ -1,4-D-глюкуроновая кислота- $\beta$  1,3-D-N-ацетилглюкозамин- $\beta$ -1,4[1]. Популярность данного соединения связана с его безопасностью, биосовместимостью и уникальной способностью поддерживать структуру межклеточного матрикса и влиять на функционирование стромальных клеток.

В организме гиалуронан играет важную роль, поскольку принимает активное участие в таких процессах, как адгезия, регенерация, пролиферация, миграция клеток и воспаление [2,3]. ГК в избытке содержится во внеклеточном матриксе клеток, с наибольшим распределением вокруг клеток кожи, в соединительной ткани, суставной ткани и стекловидном теле. На клеточном уровне ГК активно взаимодействует

с различными специфичными рецепторами, запуская сигнальные пути [4]. Одним из важнейших мембранных рецепторов ГК является интегральный гликопептид CD44, который повсеместно экспрессируется и участвует в связывании свободных молекул внеклеточной ГК [5]. ГК может связываться с данным рецептором в двух основных формах: высоко- и низкомолекулярной. Взаимодействие с высокомолекулярной ГК способствует образованию гликокаликса, защищающего клетку от цитотоксических факторов [6]. При этом высокомолекулярная ГК не проникает непосредственно в клетку. Противоположная картина наблюдается при взаимодействии низкомолекулярной ГК и CD44. ГК в данной форме при взаимодействии с CD44 способна проникать внутрь клетки [8].

В межклеточном матриксе гиалуроновая кислота постоянно обновляется благодаря непрерывным процессам синтеза и деградации. В основном гликозаминогликаны, строительные блоки ГК, синтезируются в аппарате Гольджи, а конечный продукт в виде гиалуронана производится на поверхности клеточной мембраны гиалуронансинтазами [2]. Гиалуронансинтазы – это белки, интегрированные в плазматическую мембрану фибробластов, макрофагов соединительной ткани, эндотелиоцитов и кератиноцитов эпидермиса. Таким образом происходит синтез ГК и насыщение ей внеклеточного матрикса.

Помимо механизмов синтеза ГК, известны и механизмы её деградации. В этом процессе важную роль играют ферменты семейства эндогликозидаз, состоящих из гомологичных белков, называемых гиалуронидазами (HYAL). Этот тип ферментов специфически гидролизуют связь  $\beta$ -1,4 преимущественно в молекулах ГК. На сегодняшний день известны механизмы биodeградации ГК, катализируемые только двумя типами ферментов: HYAL1 и HYAL2. HYAL2 инициирует деградацию цепи низкомолекулярной ГК на фрагменты до 20 кДа (примерно 50–60 дисахаридных единиц) во внеклеточном матриксе. Данный фермент присутствует и на клеточной мембране, взаимодействуя с рецептором CD44, HYAL2 инициирует захват молекул ГК, формируя эндосомы, которые затем транспортируются в лизосомы [7]. В лизосомах содержится фермент HYAL1 и уже под его действием молекулы ГК разлагаются до тетрасахаридов массой 800 Да, которые являются преобладающим конечным продуктом деградации [4]. Затем данные продукты используются для построения новых молекул ГК.

Несмотря на то, что в межклеточном матриксе происходит непрерывный синтез ГК, с возрастом количество данного соединения уменьшается,

что приводит к появлению различных признаков старения. Поэтому ГК нашла широкое применение в эстетической и хирургической медицине. Однако, гель на основе чистой ГК не обладает достаточной вязкостью и после введения в организм биодеградирует в течение нескольких суток, не обеспечивая необходимые лифтинг- и филлинг-эффекты [9,10].

Для обеспечения данных эффектов и пролонгированного срока нахождения препаратов в организме в косметологии активно разрабатываются модифицированные вещества на основе ГК [11]. Наиболее распространенной модификацией является поперечное сшивание отдельных молекул ГК с образованием гидрогеля [12]. В настоящее время одним из самых применяемых сшивающих агентов является дивинилсульфон (ДВС). В чистом виде ДВС является токсичным веществом, однако после реакции сшивания с ГК он становится безопасным.

Несмотря на популярность и активное применение препаратов на основе поперечно-сшитой ГК, в эстетической медицине на сегодняшний день существует очень мало данных о том, как подобные молекулы поперечно-сшитой ГК воздействуют непосредственно на клетки кожи человека. В настоящей работе мы исследовали действие одного из таких гелей на основе высокомолекулярной ГК, сшитой ДВС, на пролиферацию и морфологию фибробластов кожи человека.

## **Материалы и Методы**

### **Культивирование фибробластов кожи человека**

Первичную культуру фибробластов кожи человека (ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 2-3 пассаж) культивировали в культуральных флаконах 25 см<sup>2</sup> (SPL Lifesciences, Южная Корея) в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы (Servicebio, Китай), содержащей 10% (v/v) фетальной бычьей сыворотки – ФБС (HiMedia, Индия), 1% L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептавидина (Termo FS, США). При достижении 80% монослоя клетки пассировали с использованием раствора Версена (ПанЭко, Россия) и 0,05% трипсина (ПанЭко, Россия). Доля живых клеток оценивали с помощью камеры Горяева.

### **Исследование захвата гиалуроновой кислоты из поперечно-сшитого геля фибробластами**

Исследуемым образцом являлся гель на основе высокомолекулярной ГК, сшитый ДВС (степень поперечного сшивания 27,4%). Для исследования проникновения образца ГК внутрь фибробластов были получены снимки методом



конфокальной микроскопии. При достижении конfluence 80%, полную культуральную среду заменяли средой, содержащей 20% (v/v) исследуемого образца на основе ГК. Инкубация проводилась в течение 3 часов при температуре 37°C. При дальнейших манипуляциях между стадиями клетки промывались раствором фосфатно-солевого буфера (PBS, Termo FS, США) 3 раза по 5 мин. Фиксация проводилась согласно протоколу [13]. Вкратце, для фиксации использовался раствор параформальдегида (ПФА) в этаноле и безводной уксусной кислоте, для визуализации ГК клетки инкубировали с конъюгированным с биотином гиалурон-связывающим белком (hyaluronic acid binding protein – HАВР, Sigma-Aldrich, США) и антителами к немышечному миозину II типа (NMII, Sigma-Aldrich, США) в течение 90 мин при 25°C. Далее проводили инкубацию с вторичными антителами (anti-IGG (rabbit)-Alexa-567), стрептавидином-FITC (Имтек, Россия) и красителем Hoechst – 33342 (Invitrogen, США) в течение 60 мин при 25°C. Последовательная съемка срезов проводилась с шагом по оси z порядка 0.5 мкм. Для определения средней фоновой интенсивности флуоресценции на каждом срезе выбиралось произвольное поле без клеток. Далее рассчитывалась средняя интенсивность флуоресценции области клетки произвольной формы, содержащая не менее половины цитозольного пространства, но не включающая ядро. Из значений для средней флуоресценции клетки на срезе вычитали средняя флуоресценция фона, после чего полученные данные усредняли по количеству срезов.

#### *Влияние поперечно-сшитого геля на основе гиалуроновой кислоты на пролиферацию фибробластов*

Исследуемым образцом являлся гель на основе высокомолекулярной ГК, сшитый ДВС (степень поперечного сшивания 27,4%). Для наблюдения влияния геля на деление одиночных клеток, фибробласты локализовались на покровном стекле при помощи капли поли-L-лизина (Sigma-Aldrich, США). Съемка клеток проводилась с помощью инвертированного микроскопа Zeiss Axio Observer Z1 (Zeiss, Германия) через 8 часов после посадки клетки и длилась в течение 12 часов. В течение эксперимента клетки поддерживались при температуре 37°C и содержании CO<sub>2</sub> 5%. Обработка результатов проводилась с помощью программного обеспечения ImageJ. Подсчет клеток проводили вручную по фотографии фибробластов в проходящем свете.

## **Результаты**

### *Захват гиалуроновой кислоты из поперечно-сшитых гелей фибробластами кожи человека*

В настоящее время известно, что чистая гиалуроновая кислота, во внеклеточном матриксе непрерывно подвергается процессам синтеза и деградации. В рамках данной работы мы хотели выяснить, проникают ли молекулы ГК из гидрогелей с поперечными сшивками в клетки кожи человека. Для данного эксперимента на покровных стеклах были выращены фибробласты кожи человека (4 пассаж). Клетки выращивали по стандартному протоколу в питательной среде, содержащей 10% FBS. После достижения клетками конfluence 70%, часть покровных стекол с клетками использовали в качестве контроля и не подвергали дальнейшим воздействиям, а часть была проинкубирована в течение 3 часов с добавлением в среду 20% гидрогеля на основе ГК, сшитой ДВС. Затем клетки были фиксированы и окрашены биотином гиалурон-связывающим белком, антителами к немышечному миозину II типа. Далее проводили инкубацию со вторичными антителами (anti-IGG (rabbit)-Alexa-567), стрептавидином-FITC и красителем Hoechst. На снимках, полученных методом флуоресцентной конфокальной микроскопии, было обнаружено, что в цитозоле клеток, предварительно проинкубированных в течение 3 часов с исследуемым образцом, присутствуют включения ГК размером 1-6 мкм (рис. 1). Оценка производилась путем измерения уровня флуоресценции HАВР. При анализе контрольной группы распределение интенсивности флуоресценции в клетках было однородным. Средний уровень флуоресценции HАВР на клетку для контрольной группы был статистически значимо ниже, чем для клеток, проинкубированных с исследуемым образцом ГК (рис. 2).

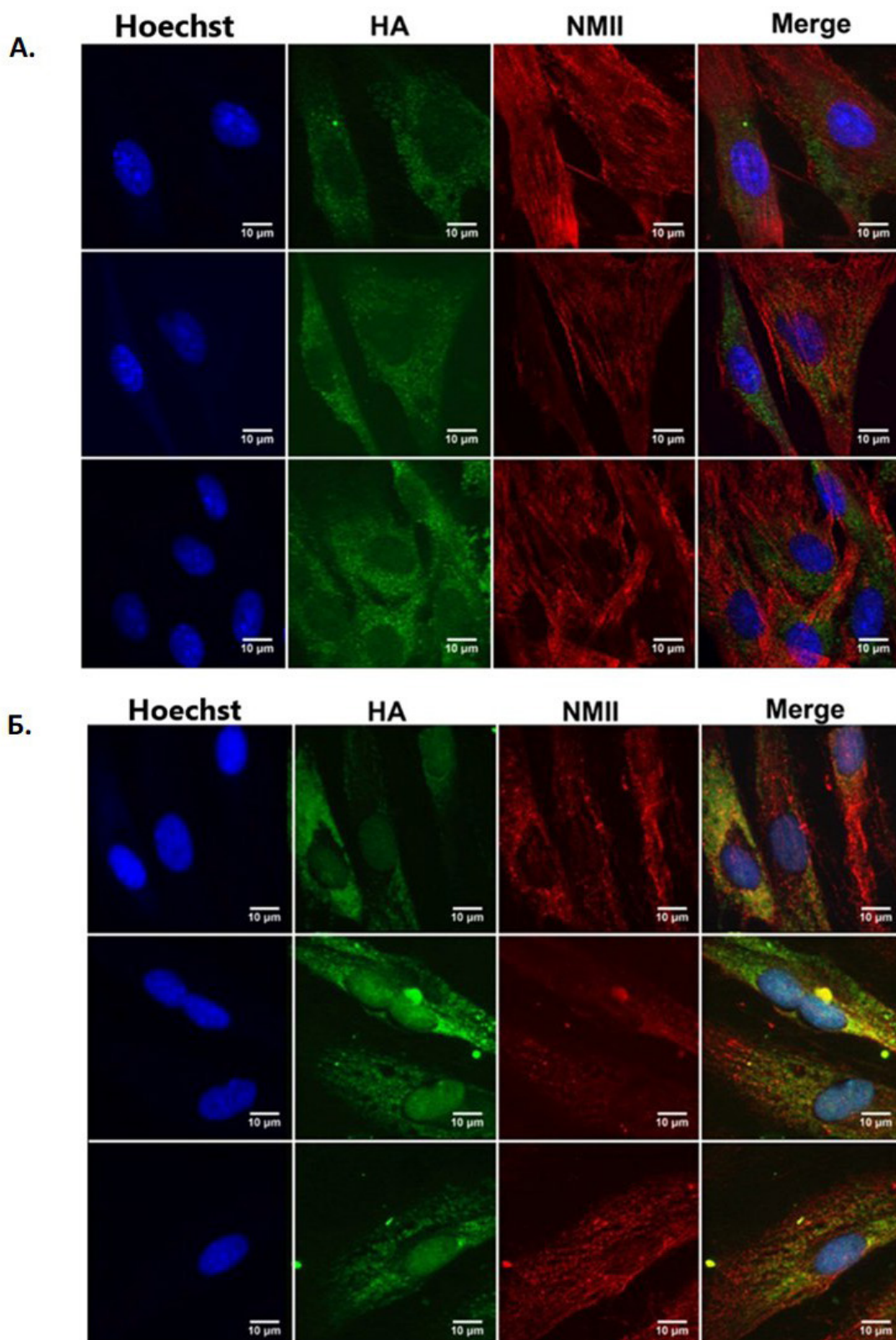
### *Влияние геля на основе гиалуроновой кислоты на пролиферацию фибробластов*

После подтверждения захвата молекул гиалуроновой кислоты из поперечно-сшитого геля фибробластами кожи человека было исследовано влияние геля на пролиферацию и морфологию клеток. Для этого иммобилизованные одиночные клетки инкубировали в течение 20 часов в присутствии 20% (v/v) исследуемого вещества в полной среде. В качестве контроля к клеткам добавляли полную среду с добавлением HBSS (20% v/v). Методом световой микроскопии были получены снимки фибробластов кожи человека через 8, 13, 16 и 19 часов инкубации. В каждый промежуток времени был произведен подсчет клеток и построен график скорости пролиферации фибробластов в контрольных образцах и с добавлением продуктов на основе ГК (рис. 3А). Было обнаружено, что статистически значимые различия в количестве клеток наблюдаются уже через 13 часов после инкубации с исследуемым

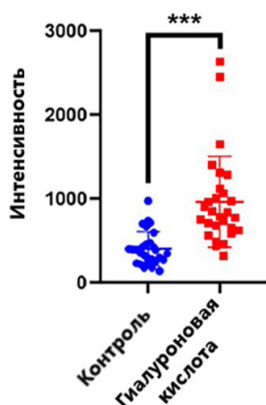


образцом ГК по сравнению с контрольными образцами. За 19 часов среднее количество клеток, подверженных действию геля на основе ГК, увеличилось более чем в 2 раза, в то время как число клеток в контрольном образце значимо не изменилось. Также методом световой микроскопии оценивали влияние гиалуроновой кислоты, сшитой ДВС, на морфологию фибробластов кожи

человека (рис. 3Б). Через 19 часов мы видим значительные изменения между морфологией контрольных образцов и инкубированных с 20% гелем на основе ГК. Фибробласты во второй группе выглядят более распластанными и практически образуют монослой, в отличие от клеток в контроле.

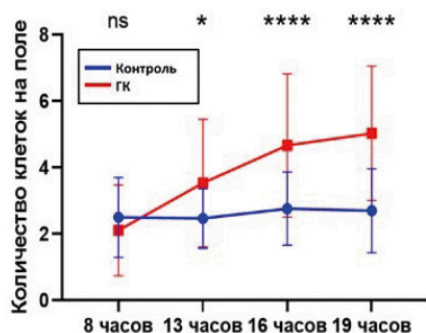


**Рисунок 1. Конфокальная микроскопия.** Синим Hoechst окрашено ядро, зеленым HA-гиалуроновая кислота, красным NM-миозин, Merge- объединенное. А. Контрольная группа фибробластов. Б. Группа фибробластов, с инкубацией в среде, содержащей 20% (v/v) исследуемого образца ГК (разные поля зрения одного образца).

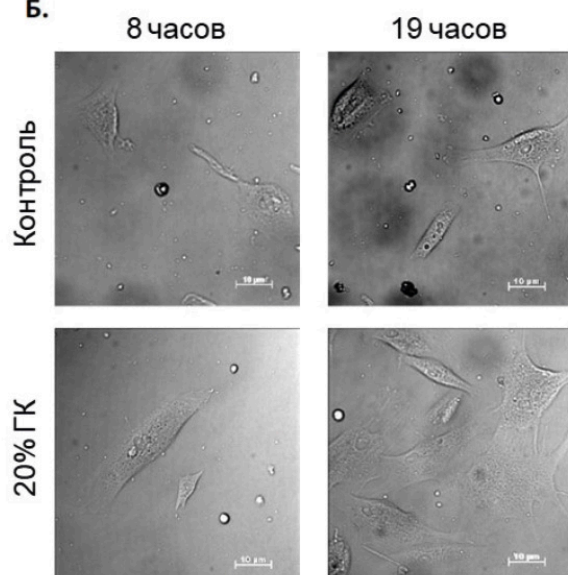


**Рисунок 2. Численный анализ флуоресценции гиалурон-связывающего белка в клетках неинкубированных (синий) и проинкубированных (красный) с высокомолекулярной ГК, сшитой ДВС.** Статистическая значимость различий оценивалась по критерию Манна-Уитни (\*\*\*) соответствуют  $p$ -value  $< 0.001$ ).

**А.**



**Б.**



**Рисунок 3. Наблюдение пролиферации фибробластов человека в присутствии ГК.** (А) График зависимости среднего количества фибробластов от времени. Синим обозначен контрольный образец, красным – образец, инкубируемый в присутствии исследуемого геля ГК. Сколько полей зрения было проанализировано для каждого времени инкубации? Статистическая значимость различий оценивалась по критерию Манна-Уитни при  $n = 10$  (\* соответствуют  $p$ -value  $< 0.05$ , \*\*\*\* соответствуют  $p$ -value  $< 0.001$ ). (Б) Приведены типичные фотографии

фибробластов кожи человека: контрольный образец через 8 часов и 19 часов после начала инкубации. И образец, инкубируемый с 20% высокомолекулярной ГК, сшитой ДВС, через 8 часов и 19 часов после начала инкубации.

## Заключение

В настоящее время в эстетической медицине активно применяются продукты на основе ГК для предотвращения возникающих признаков старения и устранения эстетических дефектов. Несмотря на это, в отличие от чистой ГК, влияние поперечно-сшитых продуктов на её основе на клетки остается неисследованным [14, 15]. В работе были проведены исследования, направленные на изучение влияния гидрогеля на основе высокомолекулярной гиалуроновой кислоты, сшитой ДВС, на проникновение молекул ГК внутрь фибробластов, их пролиферацию и морфологию.

Сначала методом флуоресцентной микроскопии было продемонстрировано, что ГК из поперечно-сшитых продуктов действительно захватывается фибробластами кожи человека. На снимках были зафиксированы отдельные гранулы размером 1-6 мкм, которые окрашивались с помощью специфического гиалурон-связывающим белка и предположительно соответствуют областям локализации, проникнувшей в клетки сшитой ГК. Предположительно, процесс захвата ГК осуществляется путем эндоцитоза или фагоцитоза [5].

После подтверждения захвата сшитой ГК фибробластами методом световой микроскопией нами было проведено исследование влияния поперечно-сшитого продукта ГК на пролиферацию и морфологию клеток. Выяснилось, что добавление в питательную среду исследуемого геля ГК привело к ускорению пролиферации фибробластов в течении первых 13 часов. Через 19 часов количество клеток по сравнению с контрольными образцами увеличивалось примерно вдвое. Эти результаты соотносятся с данными из литературных источников, которые также подтверждают ускорение пролиферации клеток под действием ГК и описывают нескольких механизмов, за счет которых это происходит [14,15]. Авторы объясняют ускорение пролиферации тем, что ГК участвует в регуляции активности факторов роста, таких как фактор роста фибробластов (FGF) и эпидермальный фактор роста (EGF). ГК может связываться с этими факторами роста и увеличивать их стабильность, что приводит к длительному воздействию этих факторов роста на клетки и, за счет этого, стимуляции их пролиферации. Также гиалуронан влияет непосредственно на адгезию клеток, что ускоряет сам процесс клеточного роста и деления [14,15].

Помимо влияния геля ГК на пролиферацию фибробластов в работе методом световой микроскопии было продемонстрировано влияние поперечно-сшитой ГК на морфологию клеток. Через 19 часов, по сравнению со снимками контрольного образца, фибробласты кожи человека, инкубированные с гелем, выглядят более распластанными и практически образуют монослой. Это может быть обусловлено, либо влиянием самой ГК на адгезию клеток, о чем свидетельствуют некоторые литературные источники [13], либо влиянием вязкого геля, создающего имитацию внеклеточного матрикса.

Недостатками настоящего исследования являются низкая статистика результатов, использование культуры фибробластов от единственного донора и нехватка сравнительных исследований о влиянии чистой не сшитой ГК. В дальнейших исследованиях планируется более подробное изучение механизмов поглощения молекул ГК клетками, влияние вязкости и других характеристик поперечно-сшитых гидрогелей на жизненный цикл клеток и повторение экспериментов с дополнительным контролем в виде чистой не сшитой ГК.

### **Конфликт интересов**

Работа была проведена при финансовой поддержке ООО «МЕДБИОСИСТЕМ».

### **Финансирование**

Исследование проведено в рамках договора на НИР между ЦТГП ФХФ РАН и ООО «МЕДБИОСИСТЕМ».

### **Список литературы**

1. Bukhari SNA, Roswandi NL, Waqas M, Habib H, Hussain F, Khan S, et al. Hyaluronic acid, a promising skin rejuvenating biomedicine: A review of recent updates and pre-clinical and clinical investigations on cosmetic and nutricosmetic effects. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018;120:1682–95.
2. Tammi RH, Passi AG, Rilla K, Karousou E, Vigetti D, Makkonen K, et al. Transcriptional and post-translational regulation of hyaluronan synthesis. *The FEBS Journal* 2011;278:1419–28.
3. Dovedytis M., Liu Z. J., Bartlett S. (2020). Hyaluronic Acid and its Biomedical Applications: A Review. *Eng. Regen.* 1, 102–113. 10.1016/j.engreg.2020.10.001
4. Vigetti D, Karousou E, Viola M, Deleonibus S, De Luca G, Passi A. Hyaluronan: Biosynthesis and signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 2014;1840:2452–9.
5. Misra S, Hascall VC, Markwald RR, Ghatak S. Interactions between Hyaluronan and Its Receptors (CD44, RHAMM) Regulate the Activities of Inflammation and Cancer. *Frontiers in Immunology* 2015;6.
6. J. M. Tarbell, L. M. Cancel. The glycocalyx and its significance in human medicine. (Review). *J Intern Med* 2016; 280: 97–113.
7. Lepperdinger G, Strobl B, Kreil G. HYAL2, a Human Gene Expressed in Many Cells, Encodes a Lysosomal Hyaluronidase with a Novel Type of Specificity \*. *Journal of Biological Chemistry* 1998;273:22466–70.
8. Chiesa E, Greco A, Riva F, Dorati R, Conti B, Modena T, Genta I. CD44-Targeted Carriers: The Role of Molecular Weight of Hyaluronic Acid in the Uptake of Hyaluronic Acid-Based Nanoparticles. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 Jan 17;15(1):103.
9. Цепилов ПН, Белодед АВ. Гиалуриновая кислота – «старая» молекула с «новыми» функциями: биосинтез и деполимеризация гиалуриновой кислоты у бактерий и в тканях позвоночных, в том числе в процессах канцерогенеза. *Биохимия* 2015;80:1315–33.
10. Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: An information-rich system. *European Journal of Cell Biology* 2006;85:699–715.
11. Borzacchiello A, Russo L, Malle BM, Schwach-Abdellaoui K, Ambrosio L. Hyaluronic Acid Based Hydrogels for Regenerative Medicine Applications. *BioMed Research International* 2015;2015:e871218.
12. Mondal S., Haridas N., Letha S. S., Vijith V., Rajmohan G., Rosemary M. J. (2016). Development of Injectable High Molecular Weight Hyaluronic Acid Hydrogels for Cartilage Regeneration. *J. Macromol. Sci. Part A* 53 (8), 507–514.
13. C. A. de la Motte and J. A. Drazba, 'Viewing Hyaluronan', *J Histochem Cytochem*, vol. 59, no. 3, pp. 252–257, Mar. 2011,
14. Greco RM, Iocono JA, Ehrlich HP. Hyaluronic acid stimulates human fibroblast proliferation within a collagen matrix. *J Cell Physiol* 1998;177:465e73.
15. Mast BA, Diegelmann RF, Krummel TM, et al. Hyaluronic acid modulates proliferation, collagen and protein synthesis of cultured fetal fibroblasts. *Matrix* 1993;13:441e6.



# Реологические условия в системе кровоснабжения мозга при ишемическом инсульте.

Г. А. Быков<sup>1,2#</sup>.

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, ул. Средняя Калитниковская, д. 30, Москва, Россия, 109029

2. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы 1-2, Москва, Россия, 119991

# Автор для переписки: [bygeoall@yahoo.com](mailto:bygeoall@yahoo.com)

Получено: 15.05.2023

Принято к публикации: 26.06.2023

Опубликовано: 30.12.2023

EDN: WLXVGS

## Аннотация

При тромбозах кровяные сгустки блокируют доступ крови к тканям. Инфузия активаторов пламиногена является распространённой практикой для растворения кровяных сгустков. Эффективность данной процедуры зависит от граничных условий, определяющих скорость прокачки лекарства через тромб.

Целью данной работы была разработка компьютерной модели, для проведения грубой оценки перераспределения средних (по характерному времени лизиса тромба, часы) объёмных расходов крови в мозгу при перекрытии тромбом любого сосуда из числа предрасположенных к ишемическому инсульту.

Математическая модель кровеносной системы мозга представляет собой систему линейных алгебраических уравнений вида

$\Delta p = Q * R$ , где  $\Delta p$  - разность давлений на концах сосуда, Па,  $R$  - сопротивление сосуда, рассчитываемое как

$R = \frac{8\eta * l}{\pi * r^4}$ , где Па\*с/мл,  $Q$  – объёмный расход крови через сосуд, мл/мин.

При окклюзии сосуда тромбом удельный перепад давления на единицу длины тромба составляет 9-20 мм рт. ст./см. При окклюзии сосуда тромбом в соседних сосудах происходит перераспределение потоков крови, приводящее как увеличению, так и к уменьшению объёмных расходов крови через них. Из-за возникновения тромба во внутренней сонной артерии пристеночная скорость сдвига в передней и задних соединительных артериях может достигать значений порядка  $5000 \text{ c}^{-1}$ , превышающих скорости в области тромба, что создаёт риск возникновения глубоко в мозгу сгустков, не являющихся частями первоначального тромба. До и после области окклюзии с высокими скоростями сдвига создаются области с пониженными скоростями сдвига.

**Ключевые слова:** Реология, Ишемический инсульт, Математическая модель, In silico

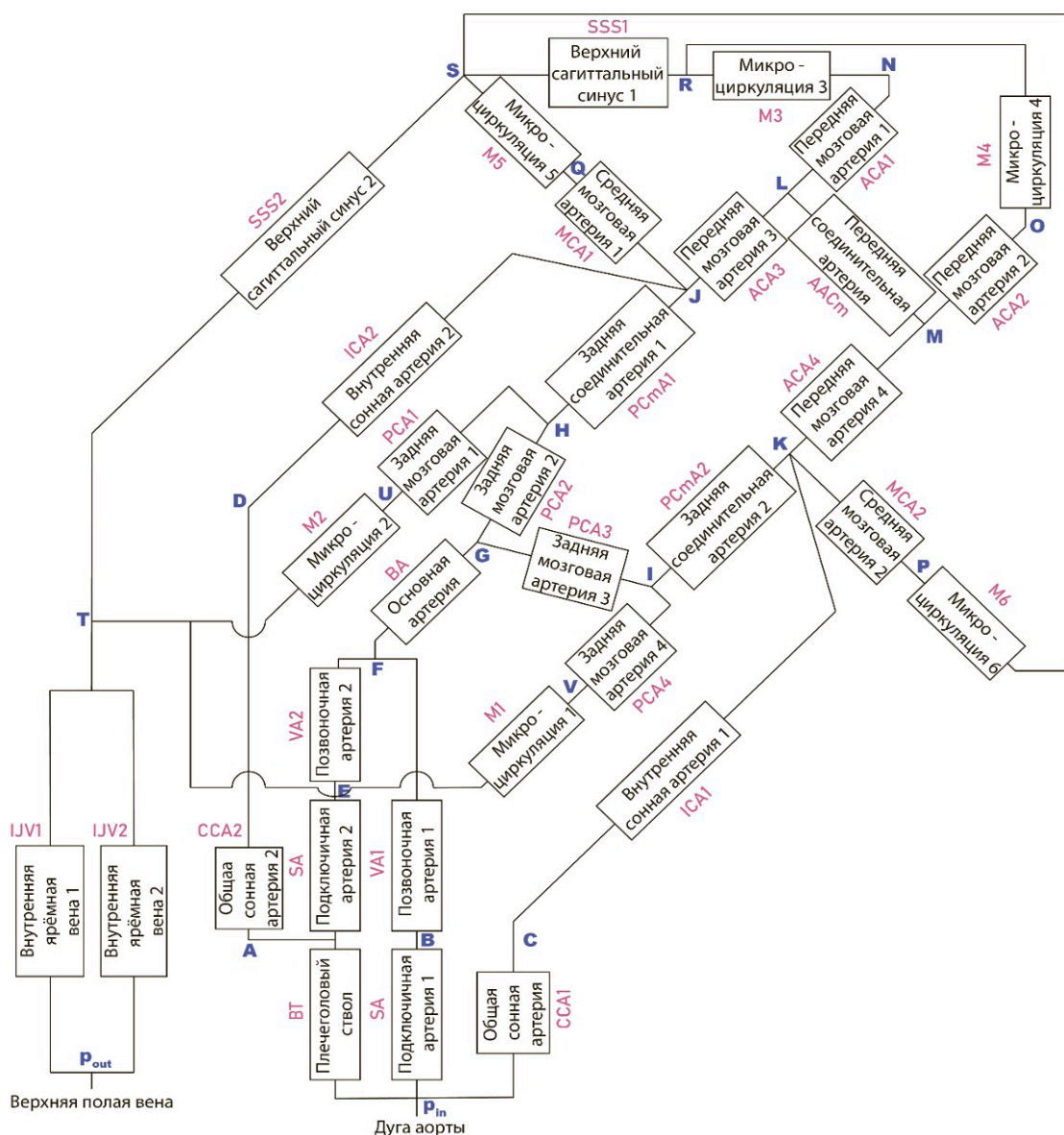
## Введение

Сердечно-сосудистые заболевания являются первой по распространённости причиной смерти людей по данным ВОЗ за 2019 год (1). Наиболее часто эти заболевания выражаются в тромбозах, при которых кровяные сгустки блокируют доступ крови к тканям. Задачей системы фибринолиза является разрушение нежелательного или выполнившего свою задачу фибринового сгустка (2). Эту систему можно запустить путём инфузии активаторов пламиногена, что является распространённой практикой для растворения кровяных сгустков (3). Однако, в случае ишемического инсульта такое лечение помогает менее чем 50% пациентов (4). Возможная причина низкой эффективности данной терапии заключается в локальных гемодинамических условиях в области тромба, так как они определяют конвективный или диффузионный режим транспорта активаторов пламиногена через тромб. Только конвективный режим транспорта может обеспечить концентрацию активаторов пламиногена внутри тромба, достаточную для быстрого разрушения тромба (5). При диффузии время растворения тромба составит часы или дни (5). Высокие перепады давления могут приводить к образованию областей рециркуляции дистальнее тромба и ускорять лизис (6). Но наличие сосуда, шунтирующего тромб, уменьшает количество активатора пламиногена, проходящего через тромб, что замедляет его лизис (7).

Локальная гемодинамика не менее важна при формировании тромба. Формирование окклюзивного или неокклюзивного тромба определяется размером повреждения эндотелия сосуда и концентрация тканевого фактора на нём. В предыдущих экспериментальных и теоретических моделях предполагается, что формирование тромба происходит при постоянном

перепаде давлений (8,9) или при наличии одного шунта, имитирующего сложную сеть сосудов и дублирующего данный сосуд (10). Однако, тромб меняет и граничные условия в области своего роста, и гемодинамику в окружающей сети сосудов. Поэтому для предсказания граничных условий, зависящих от состояния тромба, и эффектов, оказываемых тромбом на окружающие сосуды, в данной работе построена модель системы сосудов, дающих информацию об усреднённой во времени гемодинамике одновременно на локальном уровне тромба и на уровне органа, в котором локализована патология, а именно в мозге. Существуют модели систем кровоснабжения органов или целого человека, описывающие временные зависимости гемодинамических характеристик в различных компартаментах. Эти модели могут сочетать трёхмерные области с интересующей патологией и одномерные или нульмерные части, задающие близкие к физиологическим граничные условия

(11,12). Или же быть полностью одномерными (13–15). Более сложные модели могут включать в себя системы регуляции, управляющие тонусом сосудов и частотой сердечных сокращений (16,17). Так как целью данного исследования были грубые оценки средних гемодинамических характеристик потока с характерными временами порядка часов, подходы, рассматривающие движения пульсовых волн и сочетающие несколько пространственных масштабов избыточны. Кроме уменьшения числа параметров модели, преимуществом созданной в данной работе модели является возможность аналитического анализа модели и вычислительная простота. При дальнейшем включении в данную модель системы фибринолиза она позволит определить, является ли низкая эффективность данной терапии следствием эффектов гемодинамики или в стабилизации сгустка участвуют иные механизмы.



**Рисунок 1. Схема модели кровоснабжения мозга.** Прямоугольниками обозначены сосуды системы. Названия сосудов написаны внутри прямоугольников. Вычисляется проходящий через них объёмный расход крови. Синими буквами обозначены узлы системы. В них вычисляются давления. Красным шрифтом написаны аббревиатуры сосудов.



## Материалы и Методы

Была разработана математическая модель кровеносной системы мозга.

Данные о структуре дерева сосудов взяты из анатомического атласа (18). В модели не рассматриваются внешние сонные артерии, внешние яремные вены и вся система сосудов между ними. Внешние артерии и вены, и питаемые ими бассейны идут параллельно соответствующим внутренним венам и артериям, поэтому предсказания о давлениях, важнейшей характеристике потоков для людей, строящих модели, не теряют истинности. Калибровка модели производилась по объёму крови, проходящему только через мозг, поэтому оценки объёмных расходов крови внутри мозга верны и согласуются с литературными данными (19). Данное приближение используется и в иных моделях кровоснабжения мозга (14). Представленная в статье новая модель позволяет произвести грубую оценку изменений объёмных расходов крови, давлений и пристеночных скоростей сдвига внутри мозга при тромбообразовании. Модель оперирует средними значениями этих величин, так как характерное времени лизиса тромба составляет часы (4), а частота сердечных сокращений – десятки ударов в секунду. К тому же эта модель вычислительно проста и позволяет анализировать себя аналитически.

### Приближения модели

Для реализации модели в соответствие с целью исследования необходимы следующие допущения:

1. Кровь – вязкая ньютоновская жидкость (применимо для скоростей сдвига более 100 с<sup>-1</sup> на основании данных из (20,21)).

2. Течение крови ламинарное и не зависит от времени, так как в рассматриваемых нами временных масштабах (часы) нас интересуют только средние значения гемодинамических величин.

3. Отклонения профилей скоростей в местах бифуркаций и слияний сосудов от параболического не рассматриваются.

4. Сосуды представляют собой жёсткие цилиндрические трубки, так как мы не рассматриваем ауторегуляцию и движение пульсовой волны.

### Система уравнений

Модель представляет собой систему линейных алгебраических уравнений (СЛАУ) вида

$\Delta p = Q * R$ , где  $\Delta p$  - разность давлений на концах сосуда,  $R$  - сопротивление сосуда, рассчитываемое как  $R = \frac{8\eta * l}{\pi * r^4}$ ,  $Q$  - объёмный

расход крови через сосуд. Для записи системы уравнений была использована аналогия между

законами Ома и Пуазейля, где сила тока выступает аналогом объёмного расхода крови, проходящей через сосуд  $Q$ , разность потенциалов на конце проводника аналогична разности давлений на концах сосуда  $\Delta p$ , а аналогом электрического сопротивления выступает гидродинамическое сопротивление. Это позволяет записать СЛАУ (1-22) с помощью метода узловых потенциалов. Аббревиатуры сосудов обозначают соответствующие импедансы ( $G$ ), например

$$BT = G_{BT} = \frac{1}{R_{BT}}.$$

Параметры сосудов и расшифровки их названий, приведены в Таблицах 1 и 2. Параметры сосудов взяты из литературы (14,19). Для расчётов использовалось значение вязкости крови  $\eta=0,00327$  Па\*с.

$$\begin{aligned} p_A(BT + SA2 + CCA2) &= p_{in}BT + p_E SA2 + p_D CCA2 & (1) \\ p_B(SA1 + VA1) &= p_{in}SA1 + p_F VA1 & (2) \\ p_C(CCA1 + ICA1) &= p_{in}CCA1 + p_K ICA1 & (3) \\ p_D(CCA2 + ICA2) &= p_A CCA2 + p_J ICA2 & (4) \\ p_E(SA2 + VA2) &= p_A SA2 + p_F VA2 & (5) \\ p_F(VA2 + VA1 + BA) &= p_G BA + p_E VA2 + p_B VA1 & (6) \\ p_G(BA + PCA2 + PCA3) &= p_F BA + p_H PCA2 + p_I PCA3 & (7) \\ p_H(PCA1 + PCA2 + PCMA1) &= p_G PCA2 + p_U PCA1 + p_J PCMA1 & (8) \\ p_I(PCA3 + PCMA2 + PCA4) &= p_G PCA3 + p_K PCMA2 + p_V PCA4 & (9) \\ p_J(PCMA1 + ACA3 + MCA1 + ICA2) &= p_H PCMA1 + p_D ICA2 + p_Q MCA1 + p_L ACA3 & (10) \\ p_K(PCMA2 + ICA1 + MCA2 + ACA4) &= p_I PCMA2 + p_C ICA1 + p_P MCA2 + p_M ACA4 & (11) \\ p_L(ACA1 + ACA3 + AACM) &= p_N ACA1 + p_J ACA3 + p_M AACM & (12) \\ p_M(ACA4 + ACA2 + AACM) &= p_K ACA4 + p_O ACA2 + p_L AACM & (13) \\ p_N(ACA1 + M3) &= p_L ACA1 + p_R M3 & (14) \\ p_O(ACA2 + M4) &= p_M ACA2 + p_R M4 & (15) \\ p_P(MCA2 + M6) &= p_K MCA2 + p_S M6 & (16) \\ p_Q(MCA1 + M5) &= p_J MCA1 + p_S M5 & (17) \\ p_R(SSS2 + M3 + M4) &= p_S SSS2 + p_N M3 + p_O M4 & (18) \\ p_S(SSS1 + SSS2 + M5 + M6) &= p_T SSS1 + p_R SSS2 + p_Q M5 + p_P M6 & (19) \\ p_T(SSS1 + M2 + M1 + IJV1 + IJV2) &= p_S SSS1 + p_U M2 + p_V M1 + p_{out} IJV1 + p_{out} IJV2 & (20) \\ p_U(PC A1 + M2) &= p_H PC A1 + p_T M2 & (21) \\ p_V(PC A4 + M1) &= p_I PC A4 + p_T M1 & (22) \end{aligned}$$

### Модель микроциркуляции

На основании литературных данных (22) были определены сосуды, наиболее подверженные риску закупорки (передняя, средняя и задняя мозговая артерии, внутренние сонные артерии). От первых трёх отходят соответственно 12, 15 и 8 артерий, которые ветвятся до артериол и капилляров. Далекапилляры сливаются в вены, вены и синусы. В модели участки сосудистой сети между передней, средней и задней артериями и венозными синусами (Таблица 1) представлены фрактальным деревом (из материнского сосуда берут начало два дочерних сосуда, из каждого дочернего сосуда берут начало ещё два сосуда и так далее до достижения минимального радиуса сосуда) (23). Параметры фрактального дерева приведены в Таблице 2. Такой подход выбран исходя из необходимости рассмотрения сосудов с характерным размером, близким к

Номер	Название сосуда	Аббревиатура	l, см	2*r, мм	R, Па*с/мл
1	Плечеголовной ствол	BT	8,3	11,29	0,7
2	Подключичная артерия	SA1,2	20	10,7	2
3	Общая сонная артерия 1	CCA1	8,3	6	9
4	Общая сонная артерия 2	CCA2	17	6	17
5	Позвоночная артерия	VA1,2	25	2,5	900
6	Внутренняя сонная артерия	ICA1,2	25	4,5	80
7	Базиллярная (основная) артерия	BA	4	4,4	14
8	Задняя мозговая артерия	PCA1,2,3,4	25	2,6	400
9	Задняя соединительная артерия	PCmA1,2	2	1,6	400
10	Передняя мозговая артерия	ACA1,2,3,4	25	2,5	400
11	Передняя соединительная артерия	AACm	2	1,5	500
12	Средняя мозговая артерия	MCA1,2	35	2,75	800
13	Внутренняя яремная вена	IJV1,2	15	13,5	0,6
14	Верхний сагиттальный синус	SSS1,2	44	13,5	0,9

**Таблица 1. Размеры и сопротивления сосудов модели.** \* BT - Brachiocephalic Trunk – плечеголовной ствол, SA1,2 – Subclavian Artery - Подключичная артерия, VA1,2 - Vertebral Artery - Позвоночная артерия, CCA1,2 - Common Carotid Artery - Общая сонная артерия, ICA1,2 - Internal Carotid Artery - Внутренняя сонная артерия, BA - Basilar Artery - Базиллярная (основная) артерия, PCA1,2,3,4 - Posterior Cerebral Artery - Задняя мозговая артерия, PCmA1,2 - Posterior Communicating Artery - Задняя соединительная артерия, ACA1,2,3,4 - Anterior Cerebral Artery - Передняя мозговая артерия, AACm - Anterior Communicating Artery - Передняя соединительная артерия, MCA1,2 - Middle Cerebral Artery - Средняя мозговая артерия, IJV1,2 - Internal Jugular Vein - Внутренняя яремная вена, SSS1,2 - Superior Sagittal Sinus - Верхний сагиттальный синус.

Название дерева	$r_0$ , мм	$l_0$ , мм	$R_0$ , Па*с/мл	$N_{min}$	$N_{  }$	$R_{total}$ , Па*с/мл
M1,2	1,0444	125	875	23	8	5200
M3,4	1	125	1041	22	12	3990
M5,6	1,1	350	1991	23	15	6400

**Таблица 2. Параметры микроциркуляторных деревьев.**

размеру сосудов с патологией, поэтому сосуды значительно меньшего характерного размера объединены в несколько компартментов-деревьев под названием «Микроциркуляция». В данной модели из конца передне-, средне- и заднемозговой артерии выходит соответственно  $N_{||}=12, 15$  и  $8$  параллельных деревьев. Они начинаются с одного родительского сосуда, длина  $l_0$ , радиус  $r_0$  и сопротивление  $R_0$  которого представлены в Таблице 2. Далее он претерпевает бифуркацию на своём конце, раздваиваясь на дочерние сосуды равных радиусов  $r_1$ . Эти радиусы связаны между собой законом Мюррея с показателем степени 3:  $r_0^3=2r_1^3$  (24,25). Равенство радиусов и показатель степени закона Мюррея были выбраны для соблюдения принципа «минимальной диссипации энергии» Мюррея (23,24), выводимого из физических законов (25). Эти приближения позволяют сделать оценку средних гемодинамических характеристик по микроциркуляторному руслу (не выделяются артериолы, капилляры и венулы), в то время как модель будет представлять разумную физическую аппроксимацию реальной системы, используемую в работах (23,26–28). Для всех сосудов данного дерева справедливо соотношение  $r_1/l_1=r_0/l_0=const$ . При такой конструкции дерева скорость сдвига в каждом составляющем его сосуде постоянна и равна  $\gamma = \frac{\Delta p r_0}{2\eta l_0}$ . Эта же формула применяется

для расчёта скорости сдвига в остальных сосудах модели. Наконец, на основании литературных данных (19) устанавливается минимальный радиус капилляра, далее которого бифуркаций не происходит  $r_{min} = 5$  мкм. Исходя из этого можно получить формулу для числа уровней дерева – количество бифуркаций  $N = 3 \log_2 \frac{r_0}{r_{min}}$ . Сопротивление такого дерева составит  $R_{tree} = (1 + N) * R_0$ . Учтём, что дерево прокладывает путь крови от артерий до капилляров. Будем считать, что от артериальных деревьев зеркально симметрично начинаются венозные деревья от капилляров через венулы к венам. Значит следует умножить сопротивление дерева на 2:  $R_{microcirculation} = 2 * R_{tree}$ . При этом все параллельные деревья, начавшиеся из одной артерии, приходят в одну и ту же точку в венозном русле. Значит, для получения окончательного сопротивления микроциркуляции необходимо разделить  $R_{microcirculation}$  на соответствующее количество параллельных деревьев, получив значение сопротивления  $R_{total}$  для M1,2,3,4,5,6.

#### Граничные условия

Для того чтобы произвести расчёты, необходимо поставить граничные условия на модель кровообращения. В нашем случае давление на входе в систему — это усреднённое по формуле  $MAP = DAP + PP/3$ , где MAP – среднее

давление в аорте, DAP - диастолическое давление в аорте, PP – пульсовая волна, давления в дуге аорты  $p_{in} = 100 \text{ мм рт ст} = 13300 \text{ Па}$  (29,30). Давление на выходе из системы  $p_{out} = 5 \text{ мм рт ст} = 665 \text{ Па}$  взято из эксперимента и другой опубликованной модели мозгового кровообращения (14,31).

### Калибровка модели

Калибровка модели производилась путём подбора такого радиуса первого родительского сосуда дерева, чтобы объём крови, проходящей через весь здоровый мозг за минуту равнялся 750 мл/мин (19). Результаты подбора параметров представлены в таблице 2.

### Скорость сдвига в закупоренном сосуде

Закупоренный сосуд (разберем на примере ACA1) в аналогии с электрическими цепями представляет собой последовательность трёх резисторов с сопротивлениями  $R_1$ ,  $R_x$  и  $R_3$ . При этом  $R_1 + R_x + R_3 = R_{ACA1}$ .

Везде, где в дальнейшем говорится об изменении сопротивления какого-либо сосуда, подразумевается изменение сопротивления его закупоренной части  $R_x$  за счёт изменения её радиуса  $r_x$ :  $R_x = \frac{8\eta l_x}{\pi r_x^4}$  (23).

Параметры частей ACA1 выбираются следующим образом:  $l_1 = l_x = l_3 = l_{ACA1}/3$ ,  $r_1 = r_3 = r_{ACA1}$ ,  $r_x$  уменьшается в расчётах, начиная от  $r_1$ . Пристеночная скорость сдвига в любом участке сосуда равна  $\gamma = \frac{\Delta p r}{2\eta l}$  (24). При этом  $\Delta p = QR$  (25).

Подставим в формулу 24 выражение 25 для  $\Delta p$ , выразим из выражения для сопротивления сосуда 23 радиус сосуда в области тромба  $r_x$  и подставим в 24. Приводим подобные члены выражения и получаем формулу 26. Таким образом из формул 23-25 следует оценка пристеночной скорости сдвига в закупоренном участке сосуда, выраженная через его сопротивление и объёмный расход крови через него

$$\gamma_x = \frac{Q}{\sqrt[4]{2\pi}} \left( \frac{R_x}{\eta l_x} \right)^{3/4} \quad (26)$$

Так как параметры частей ACA1  $R_1$  и  $R_3$  не меняются, и по построению  $R_1 = R_3 = R_{ACA1}/3$  скорость сдвига в них рассчитывается по формуле

$$\gamma_{1,2} = \frac{QR_{ACA1} r_{ACA1}}{6\eta l_{ACA1}} \quad (27)$$

### Результаты

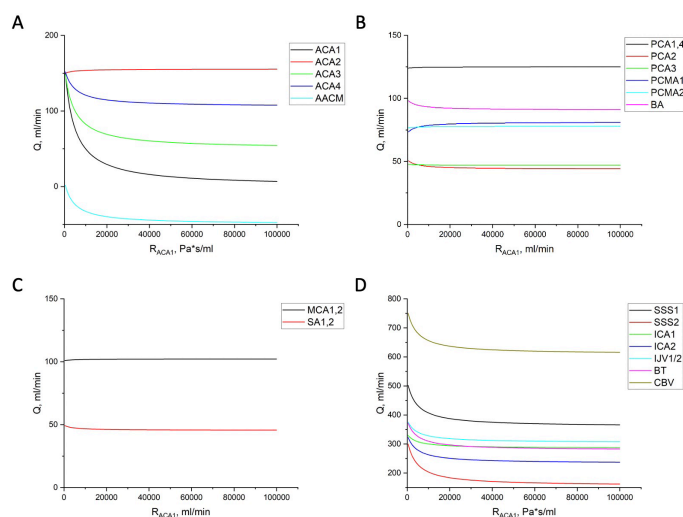
Для того, чтобы определить, как закупорка сосуда различной степени повлияет на кровоснабжение мозга, было увеличено значение сопротивления передних, средних, задних мозговых артерий и внутренних сонных артерий, начиная с их сопротивления в здоровом мозге до 100 000 Па\*с/мл. По построению модели объёмные расходы крови через следующие пары сосудов одинаковы,

поэтому в описании перераспределения объёмных расходов описывается, как правило, только первый сосуд из пары:  $I_{JV1} = I_{JV2} = I_{JV1}/2$ ;  $SA1 = VA1$ ;  $SA2 = VA2$ ;  $CCA1 = ICA1$ ;  $CCA2 = ICA2$ ;  $PCA4 = M1$ ;  $PCA1 = M2$ ;  $MCA2 = M6$ ;  $MCA1 = M5$ ;  $ACA2 = M4$ ;  $ACA1 = M3$ .

### Объёмные расходы крови

На рисунках 2-5 представлены графики зависимости объёмного расхода крови через сосуда мозга от сопротивления соответственно передней ACA1, средней MCA1 и задней PCA1 мозговых артерий, а также внутренней сонной артерии ICA1.

При увеличении сопротивления перднемозговой артерии ACA1 (Рис. 2А) уменьшаются объёмные расходы крови через неё, через питаемое ей микроциркуляторное дерево M5 и через подводящий сосуд в Виллизиевом круге ACA3. При этом поток крови через анастомоз AACm изменяет своё направление. Объёмный расход крови через AACm (в здоровом мозге близок к нулю) возрастает, и кровь перенаправляется в переднемозговую артерию второго полушария ACA2. В случае закупорки артерии ACA2 разворота потока в шунте AACm не происходит, он возрастает начиная со «здорового» значения. Возвращаясь к закупорке ACA1, объёмный расход крови в ACA2 незначительно увеличивается, а в подводящей к ней артерии в Виллизиевом круге ACA4 уменьшается. При этом в бассейнах средне- (Рис. 2В) и заднемозговой (Рис. 2С) артерий значительных изменений в объёмных расходах не наблюдается. По зависимостям на Рис. 2D можно видеть, что общий объёмный расход крови, проходящий через весь мозг, уменьшается. При этом объёмный расход через подключичные SA1,2 и позвоночные VA1,2 артерии практически не меняется (Рис. 2С), а через внутреннюю сонную артерию ICA2 со стороны закупоренного сосуда падает сильнее, чем через дублирующую внутреннюю сонную артерию ICA1.





**Рисунок 2.** Распределение объёмных расходов крови в системе сосудов мозга при увеличении сопротивления (окклюзии) ACA1 в бассейне:

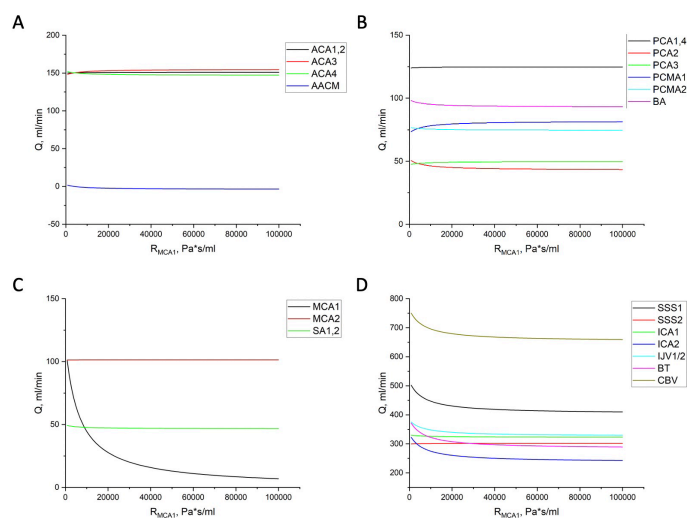
A: переднемозговых артерий

B: заднемозговых артерий и основной артерии (BA)

C: среднемозговых артерий и подключичных артерий (SA1,2)

D: рассматриваемых вен, венозных синусов, некоторых артерий и общий объём крови, прокачиваемый через мозг Cerebral Blood Volume (CBV).

При увеличении сопротивления среднемозговой артерии MCA1 (Рис. 3C) объёмный расход крови через неё и снабжаемую ею микроциркуляцию M5 падает. Объёмный расход крови в дублирующей артерии MCA2 не меняется. Заметных изменений в бассейнах передне- и заднемозговой артерии нет (Рис. 3A, B). Объём крови, проходящей через мозг CBV (Рис. 3D), уменьшается. Объёмный расход крови через внутреннюю сонную артерию ICA2 (и плечеголовной ствол BT) с той же стороны тела, что и закупоренная среднемозговая, уменьшается. В дублирующей внутренней сонной артерии ICA1 объёмный расход почти не изменяется в отличие от ситуации с закупоркой переднемозговой артерии. Отличие есть и в объёмный расход крови через SSS2: он почти не изменяется.



**Рисунок 3.** Распределение объёмных расходов крови в системе сосудов мозга при увеличении сопротивления (окклюзии) MCA1 в бассейне:

A: переднемозговых артерий

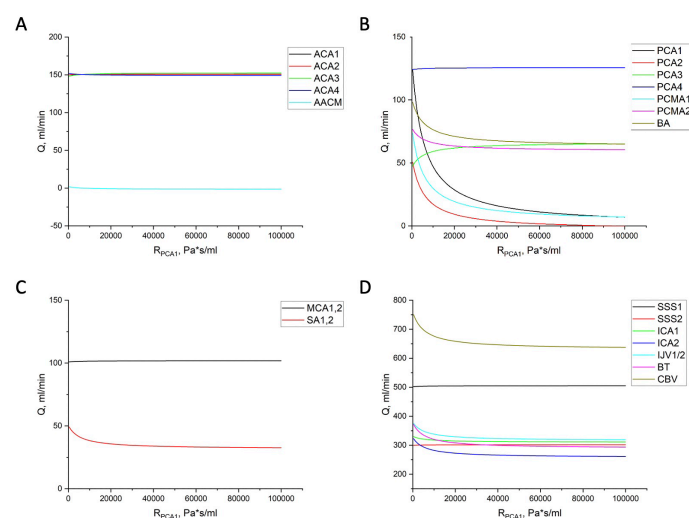
B: заднемозговых артерий и основной артерии (BA)

C: среднемозговых артерий и подключичных артерий (SA1,2)

D: рассматриваемых вен, венозных синусов, некоторых артерий и CBV.

При увеличении сопротивления заднемозговой артерии PCA1 (Рис. 4B) объёмный расход крови через неё и снабжаемую ею микроциркуляцию M2 падает. Объёмный расход через дублирующий сосуд PCA1 почти не меняется. Объёмный расход крови отводящего сосуда PCMA1 падает, при этом падает и объёмный расход в зеркальном отводящем сосуде PCMA2, но меньше чем в PCMA1. Перекрывается поток через подводящий сосуд PCA2, падает объёмный расход в

подводящем основном сосуде BA и растёт объёмный расход через подводящий сосуд PCA3 дублирующей заднемозговой артерии PCA4 (при том, что объёмный расход через неё почти постоянный). Общий объёмный расход крови через мозг CBV падает (Рис. 4D), падают объёмные расходы через подключичные артерии SA1,2 и позвоночные вены VA1,2. Объёмные расходы через внутренние сонные артерии также падают, но в артерии со сторон закупорки ICA2 объёмный расход падает сильнее. В бассейнах других артерий изменения не заметны (Рис. 4A, C). Нет их и на уровне SSS2. Для вен они становятся видны на уровне внутренней яремной вены IJV1/2.



**Рисунок 4.** Распределение объёмных расходов крови в системе сосудов мозга при увеличении сопротивления (окклюзии) PCA1 в бассейне:

A: переднемозговых артерий

B: заднемозговых артерий и основной артерии (BA)

C: среднемозговых артерий и подключичных артерий (SA1,2)

D: рассматриваемых вен, венозных синусов, некоторых артерий и CBV.

Для симметричных сосудов (ACA2, MCA2, PCA4) результаты аналогичны и могут быть найдены в дополнительном материале (Рис. Д1, Д2, Д3, соответственно).

Закупорка переднемозговой артерии приводит к наиболее сильному падению общего объёмного расхода крови через мозг. Далее по амплитуде идут заднемозговая и среднемозговая артерии.

При увеличении сопротивления внутренней сонной артерии ICA1 падает объёмный расход крови через снабжаемую ею часть переднемозговой артерии ACA4 в Виллизиевом круге (Рис. 5A). При этом растёт объёмный расход крови через симметричную часть круга ACA3. Поток через шунт AACM разворачивается, и объёмный расход крови возрастает (в случае закупорки симметричной артерии разворота потока не происходит, объёмный расход возрастает начиная со «здорового» значения).

Уменьшение объёмного расхода через саму закупоренную артерию ICA1 (Рис. 5D)



компенсирует шунт РСМА2 (Рис. 5В), поток крови в котором меняет своё направление. Растёт объёмный расход и в других сосудах со стороны закупоренной артерии: в РСА3, основной артерии ВА, в подводящих сосудах: подключичная артерия SA1,2 и ВТ. Объёмный расход крови падает в сосуде РСА2, уменьшая передачу крови на здоровую сторону мозга. Ухудшается кровоснабжение через среднюю мозговую артерию МСА 1,2 (Рис 5С). Симметричная внутренняя сонная артерия пытается компенсировать кровопотерю (Рис. 5D). Закупорка внутренней сонной артерии приводит к наиболее слабому падению объёмного расхода крови через мозг среди всех перечисленных сосудов.

Для симметричного сосуда (ICA2) результаты аналогичны и могут быть найдены в Дополнительном материале (Рис. Д4).

### Давление

При увеличении сопротивления перднемозговой артерии АСА1 (Рис. 6А, В) давление на выходе из сосуда N уменьшается, двигаясь в сторону характерного давления в венах, а давление на входе в сосуд L повышается, двигаясь в сторону характерного давления для артерий. Вслед за L вырастает давление М – точки, соединяемые передней сообщающей артерией ААСм. В остальных точках соединения сосудов давления меняются заметно меньше, чем в перечисленных выше.

При увеличении сопротивления среднемозговой артерии МСА1 (Рис. 7А, В) давление на выходе из этого сосуда Q понижается до характерного венозного давления. Давление на входе в сосуд J растёт незначительно. В остальных точках соединения сосудов давления меняются заметно меньше, чем в перечисленных выше.

При увеличении сопротивления заднемозговой артерии РСА1 (Рис. 8А, В) давления на входе в основную артерию F, на выходе из основной артерии G и входе РСА1 H повышаются. Давление U на выходе из перекрываемого сосуда понижается. В остальных точках системы значительных изменений не происходит.

Закупорка такого большого подводящего сосуда, как внутренняя сонная артерия ICA1 отражается на всей системе кровоснабжения мозга. Давления падают во всех точках, лежащих выше ICA1 по течению крови (Рис 9 А, В).

Для симметричных сосудов (АСА2, МСА2, РСА4, ICA2) результаты аналогичны и могут быть найдены в дополнительном материале (Рис. Д5, Д6, Д7, Д8 соответственно).

При окклюзии сосуда тромбом удельный перепад давления на единицу длины тромба составляет: для АСА и РСА 2700 Па/см (20 мм.рт.

ст./см), для МСА 1970 Па/см (14,8 мм.рт.ст./см) и для ICA 1188 Па/см (9 мм.рт.ст./см).

### Пристеночные скорости сдвига

При увеличении сопротивления перднемозговой артерии АСА1 (Рис. 6 С, D) скорость сдвига в снабжаемом ею бассейне М3 падает на порядок (с  $265 \text{ с}^{-1}$  до  $12 \text{ с}^{-1}$ ). При этом скорость сдвига возрастает на порядок в области окклюзии (Occlusion) питающей бассейн артерии АСА1 (с  $1\ 600 \text{ с}^{-1}$  до  $13\ 000 \text{ с}^{-1}$ ) при уменьшении просвета сосуда с 1,25 мм до 0,52 мм (и роста его сопротивления с  $426 \text{ Па} \cdot \text{с}/\text{мл}$  до  $14\ 426 \text{ Па} \cdot \text{с}/\text{мл}$ ). При дальнейшем уменьшении радиуса скорость сдвига в области окклюзии уменьшается до  $10\ 000 \text{ с}^{-1}$ . Скорость сдвига в том же сосуде на участках без тромба АСА1 монотонно уменьшается на 2 порядка от  $1600$  до  $70 \text{ с}^{-1}$ . Растет скорость сдвига на стенке передней сообщающей артерии ААСМ (от  $80 \text{ с}^{-1}$  до  $2\ 390 \text{ с}^{-1}$ ). Пристеночные скорости сдвига падают во внутренних сонных артериях ICA1,2, причём в артерии со стороны перекрываемого сосуда ICA2 (с  $600 \text{ с}^{-1}$  до  $400 \text{ с}^{-1}$ ). Скорость сдвига на стенке падает сильнее, чем в дублирующем сосуде ICA1 (с  $600 \text{ с}^{-1}$  до  $500 \text{ с}^{-1}$ ).

При увеличении сопротивления среднемозговой артерии МСА1 (Рис. 7 С, D) пристеночная скорость сдвига в снабжаемом ею бассейне М5 падает на порядок (со  $107 \text{ с}^{-1}$  до  $7 \text{ с}^{-1}$ ). При этом скорость сдвига растёт возрастает на порядок в области тромба (Occlusion) в артерии МСА1 (от  $800 \text{ с}^{-1}$  до  $5\ 600 \text{ с}^{-1}$ ) при уменьшении радиуса (увеличении сопротивления) с 1,375 мм до 0,6 мм (от  $815 \text{ Па} \cdot \text{с}/\text{мл}$  до  $21\ 815 \text{ Па} \cdot \text{с}/\text{мл}$ ). При дальнейшем уменьшении радиуса скорость сдвига в области окклюзии уменьшается до  $4\ 700 \text{ с}^{-1}$ . Скорость сдвига в том же сосуде на участках без тромба МСА1 монотонно уменьшается на порядок от  $800$  до  $60 \text{ с}^{-1}$ . Так как поток в передней сообщающей артерии ААСМ меняет своё направление, скорость сдвига в нём сначала падает (с  $83 \text{ с}^{-1}$  до  $0 \text{ с}^{-1}$ ), затем начинает опять расти и достигает значений, превышающих изначальные ( $174 \text{ с}^{-1}$ ). При рассмотрении аналогичной ситуации в случае закупорки симметричного сосуда МСА2 поток в ААСМ не меняет направление, и объёмный расход увеличивается, поэтому скорость сдвига растёт при любом положительном изменении значения сопротивления МСА2 (Рис. Д7D), поэтому скорость сдвига на стенке ААСМ в случае закупорки МСА1 ( $174 \text{ с}^{-1}$ ) меньше, чем при закупорке МСА2 ( $320 \text{ с}^{-1}$ ). Скорость сдвига падает во внутренней сонной артерии ICA2 с той же стороны, что и закупоренный сосуд (с  $600 \text{ с}^{-1}$  до  $450 \text{ с}^{-1}$ ). В симметричной артерии ICA1 скорость сдвига почти не меняется ( $600 \text{ с}^{-1}$ ). Значимых изменений в скоростях сдвига в иных сосудах не происходит.

При увеличении сопротивления заднемозговой

артерии PCA1 (Рис. 8 С, D, E) пристеночная скорость сдвига в снабжаемом ею бассейне M2 падает на порядок (от 288 с<sup>-1</sup> до 16 с<sup>-1</sup>). При этом скорость сдвига возрастает на порядок в области окклюзии (Occlusion) артерии PCA1 (от 1200 с<sup>-1</sup> до 12 600 с<sup>-1</sup>) при уменьшении радиуса сосуда (увеличении сопротивления сосуда) от 1,3 мм до 0,49 мм (от 364 Па\*с/мл до 17 364 Па\*с/мл). При дальнейшем уменьшении радиуса скорость сдвига в области окклюзии уменьшается до 10 000 с<sup>-1</sup>. Скорость сдвига в том же сосуде на участках без тромба PCA1 монотонно уменьшается на порядок от 1 200 до 70 с<sup>-1</sup>. Повторяется ситуация со скоростями сдвига в ААСМ: при увеличении сопротивления PCA4 (Рис. Д8 D) скорость сдвига растёт (максимальное расчётное значение 219 с<sup>-1</sup>) и для любого положительного изменения PCA4 она выше, чем в ситуации с закупоркой PCA1, при которой скорость сдвига в ААСМ падает (с 84 с<sup>-1</sup> до 0 с<sup>-1</sup>, прежде чем начать вновь расти (до 73 с<sup>-1</sup>). В случае закупорки PCA1 скорость сдвига в задних сообщающихся артериях PCMA падает (3100-2500 с<sup>-1</sup> и 3000-300 с<sup>-1</sup>), но в артерии, питающей закупоренный сосуд PCA1, она падает сильнее (с 3000 с<sup>-1</sup> до 300 с<sup>-1</sup> против падения в симметричной артерии с 3100 с<sup>-1</sup> до 2500 с<sup>-1</sup>). Аналогично в подводящих внутренних сонных артериях скорость сдвига падает, но больше падает в той ICA2 (с 600 с<sup>-1</sup> до 490 с<sup>-1</sup>), что питает PCA1. Падает скорость сдвига и в других подводящих сосудах: основная артерия мозга BA (с 200 с<sup>-1</sup> до 130 с<sup>-1</sup>), позвоночные артерии VA1,2 (с 530 с<sup>-1</sup> до 350 с<sup>-1</sup>).

При закупорке внутренней сонной артерии ICA1 изменяется профиль скоростей сдвига во всём кровотоке мозга (рис. 9С, D, E). В шунтирующем сосуде ААСМ, объёмный расход крови через который в норме минимален (80 с<sup>-1</sup>), скорость сдвига возрастает на два порядка, достигая 5400 с<sup>-1</sup>. Скорость сдвига в PCMA1,2 изменяются в пределах от 3000 с<sup>-1</sup> до 4700 с<sup>-1</sup>. При этом скорость сдвига возрастает на порядок в области окклюзии (Occlusion) артерии ICA1 (от 600 с<sup>-1</sup> до 3 600 с<sup>-1</sup>) при уменьшении радиуса сосуда (увеличении сопротивления сосуда) от 2,25 мм до 1 мм (от 81 Па\*с/мл до 2 081 Па\*с/мл). При дальнейшем уменьшении радиуса скорость сдвига в области окклюзии уменьшается до 1 800 с<sup>-1</sup>. Скорость сдвига в том же сосуде на участках без тромба ICA1 монотонно уменьшается на два порядка от 600 до 4 с<sup>-1</sup>. Скорость сдвига значительно падает в общей сонной артерии (CCA1; от 260 с<sup>-1</sup> до 2 с<sup>-1</sup>), снабжающей закупоренную внутреннюю артерию (ICA1), но столь же сильно и возрастает в общей сонной артерии (CCA2; от 250 с<sup>-1</sup> до 350 с<sup>-1</sup>), снабжающей вторую внутреннюю сонную (ICA2; от 600 с<sup>-1</sup> до 850 с<sup>-1</sup>), пытающуюся компенсировать недостаток крови. Скорость сдвига падает во всём

микроциркуляторном русле вне зависимости от питающей артерии, но это падение незначительно (скорость сдвига сохраняет порядок величины 100 с<sup>-1</sup>). В переднемозговой артерии АСА3 скорость сдвига растёт (от 1 600 с<sup>-1</sup> до 2 600 с<sup>-1</sup>), в АСА1,2 – падает с 1 600 с<sup>-1</sup> до 1 400 с<sup>-1</sup>, в АСА4 от 1 600 с<sup>-1</sup> до 180 с<sup>-1</sup>. Скорость сдвига растёт и в позвоночных артериях, которые также восполняют недостаток крови VA1,2 (от 530 с<sup>-1</sup> до 1 100 с<sup>-1</sup>). По той же причине растёт скорость сдвига в BA (от 200 с<sup>-1</sup> до 400 с<sup>-1</sup>), PCA3 (от 460 с<sup>-1</sup> до 1 900 с<sup>-1</sup>) и ICA2.

Для симметричных сосудов (ACA2, MCA2, PCA4, ICA2) результаты аналогичны и могут быть найдены в дополнительном материале (Рис. Д5, Д6, Д7, Д8 соответственно).

### **Заключение**

Предсказанные моделью объёмные расходы крови через внутреннюю сонную артерию (около 325 мл/мин) согласуются с литературными данными (286-494 мл/мин (19), 306 мл/мин (32)); базилярная артерия (100 мл/мин, 114 мл/мин по (33)); позвоночная артерия (50 мл/мин, 72 мл/мин по (33)); заднемозговая артерия (125 мл/мин, 124,8 мл/мин по (34)); среднемозговая артерия (100 мл/мин, 108 мл/мин по (35)).

При окклюзии сосуда тромбом удельный перепад давления на единицу длины тромба составляет: для АСА и PCA 2700 Па/см (20 мм.рт.ст./см), для MCA 1970 Па/см (14,8 мм.рт.ст./см) и для ICA 1188 Па/см (9 мм.рт.ст./см). Насколько известно автору, эти оценки удельных перепадов давления на тромбированном сосуде являются новыми. Эти оценки согласуются с литературными данными о перепадах давлений между концами стеноза внутренней сонной, среднемозговой, позвоночной и базилярной артерий от 9 до 43,3 мм рт. ст. (использованы данные для стенозов, закрывающих более 70% сосуда) (36). Характерные размеры стенозов на примере среднемозговой артерии составляют от 2,63 см до 14,53 см (37), следовательно литературные оценки удельных значений величины падения давления составляют 3 – 16 мм рт. ст./см.

При окклюзии сосуд делится на две части, выполнявшие относительно своего истока отводящую функцию (через отводящую часть кровь поступала в сосуд из истока), и относительно устья подводящую функцию (через подводящую часть кровь выходила из сосуда в устье).

1. При окклюзии объёмный расход крови в сосудах, подводящих кровь к истоку закупоренного сосуда, уменьшается, а в сосудах, отводящих кровь от истока – увеличивается.

2. При окклюзии объёмный расход крови в сосудах, подводящих кровь к устью закупоренного сосуда, увеличивается, а в сосудах, отводящих кровь от устья – уменьшается.

До и после области окклюзии с высокими пристеночными скоростями сдвига создаются области с пониженными скоростями сдвига. В случае окклюзии ИСА пристеночные скорости сдвига в шунтирующих сосудах ААСМ ( $5500 \text{ с}^{-1}$ ) и РСМА ( $3800 - 4800 \text{ с}^{-1}$ ) превышают скорости сдвига в области окклюзии ( $3\ 650 \text{ с}^{-1}$ ). Это создаёт риск возникновения глубоко в мозгу сгустков, не являющихся частями первоначального тромба в ИСА, так как скорости сдвига более  $5000 \text{ с}^{-1}$  достаточно для разворачивания фактора Виллебранда (38). В случае окклюзии АСА, МСА и РСА пристеночные скорости сдвига в области патологии ( $13000 \text{ с}^{-1}$  для РСА и АСА,  $5600 \text{ с}^{-1}$  для МСА) выше, чем скорости сдвига в шунтах ( $200 - 3400 \text{ с}^{-1}$ ).

Согласно (39) тромбы, образовавшиеся при различных постоянных скоростях сдвига, будут иметь различную восприимчивость к активатору плазминогена. Так как тромб в процессе своего роста (увеличение значения сопротивления) изменяет условия, в которых он растёт (Рис. 6, 7, 8, 9С, Occlusion), его структура может быть неоднородной, что может усложнять лизис активаторами плазминогена. Дальнейшее развитие данной модели до уровня включения в неё системы гемостаза и фибринолиза позволит ответить на вопрос, является ли низкая эффективность терапии ишемии активаторами плазминогена следствием эффектов гемодинамики или в стабилизации сгустка участвуют иные механизмы. Полученные результаты могут быть использованы и в иных существующих моделях роста тромба или разрушения сгустка.

### Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

### Благодарности

Автор выражает благодарность Алексею Михайловичу Шибекко за помощь в подготовке рукописи.

### Список литературы

1. The top 10 causes of death [Internet]. [cited 2024 Feb 5]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost JTH*. 2015 Jun;13 Suppl 1:S98-105.
3. Fisher M, Stroke Therapy Academic Industry Roundtable. Recommendations for advancing development of acute stroke therapies: Stroke Therapy Academic Industry Roundtable 3. *Stroke*. 2003 Jun;34(6):1539-46.
4. Coutts SB, Berge E, Campbell BC, Muir KW, Parsons MW. Tenecteplase for the treatment of acute ischemic stroke: A review of completed and ongoing

randomized controlled trials. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc*. 2018 Dec;13(9):885-92.

5. Diamond SL, Anand S. Inner clot diffusion and permeation during fibrinolysis. *Biophys J*. 1993 Dec;65(6):2622-43.

6. Piebalgs A, Xu XY. Towards a multi-physics modelling framework for thrombolysis under the influence of blood flow. *J R Soc Interface*. 2015 Dec 6;12(113):20150949.

7. Shibeko AM, Chopard B, Hoekstra AG, Panteleev MA. Redistribution of TPA Fluxes in the Presence of PAI-1 Regulates Spatial Thrombolysis. *Biophys J*. 2020 Aug 4;119(3):638-51.

8. Govindarajan V, Zhu S, Li R, Lu Y, Diamond SL, Reifman J, et al. Impact of Tissue Factor Localization on Blood Clot Structure and Resistance under Venous Shear. *Biophys J*. 2018 Feb 27;114(4):978-91.

9. Bouchnita A, Galochkina T, Kurbatova P, Nony P, Volpert V. Conditions of microvessel occlusion for blood coagulation in flow. *Int J Numer Methods Biomed Eng*. 2017 Sep;33(9).

10. Belyaev AV, Panteleev MA, Ataullakhanov FI. Threshold of Microvascular Occlusion: Injury Size Defines the Thrombosis Scenario. *Biophys J*. 2015 Jul 21;109(2):450-6.

11. Grinberg L, Anor T, Cheever E, Madsen JR, Karniadakis GE. Simulation of the human intracranial arterial tree. *Philos Trans R Soc Math Phys Eng Sci*. 2009 Jun 13;367(1896):2371-86.

12. Fritz M, Köppl T, Oden JT, Wagner A, Wohlmuth B, Wu C. A 1D-0D-3D coupled model for simulating blood flow and transport processes in breast tissue. *Int J Numer Methods Biomed Eng*. 2022;38(7):e3612.

13. Simakov S, Gamilov TM, Liang F, Gognieva D, Gappoeva M, Kopylov P. Numerical evaluation of the effectiveness of coronary revascularization. *Russ J Numer Anal Math Model*. 2021 Nov 1;36:303-12.

14. Zagzoule M, Marc-Vergnes JP. A global mathematical model of the cerebral circulation in man. *J Biomech*. 1986;19(12):1015-22.

15. He Y, Liu H, Himeno R. A one-dimensional thermo-fluid model of blood circulation in the human upper limb. *Int J Heat Mass Transf*. 2004 Jun 1;47(12):2735-45.

16. Canuto D, Chong K, Bowles C, Dutson EP, Eldredge JD, Benharash P. A regulated multiscale closed-loop cardiovascular model, with applications to hemorrhage and hypertension. *Int J Numer Methods Biomed Eng*. 2018 Jun;34(6):e2975.

17. Ursino M, Antonucci M, Belardinelli E. Role of active changes in venous capacity by the carotid baroreflex: analysis with a mathematical model. *Am J Physiol*. 1994 Dec;267(6 Pt 2):H2531-2546.

18. Uflacker R. Atlas of Vascular Anatomy: An Angiographic Approach. Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 934 p.

19. Блинков СМ, Глезер ИИ. Мозг человека в цифрах и таблицах [Internet]. Ленинград: Медицина. Ленингр. отд-ние; 1964 [cited 2023 Dec 8]. 471 p. Available from: <https://search.rsl.ru/ru/record/01005975682>

20. Fung YC. Biomechanics [Internet]. New York, NY: Springer; 1993 [cited 2024 Jun 5]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4757-2257-4>



21. Caro CG, Pedley TJ, Schroter RC, Seed WA. The Mechanics of the Circulation [Internet]. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2011 [cited 2024 Jun 5]. Available from: <https://www.cambridge.org/core/books/mechanics-of-the-circulation/6E71C34E5CB3A587F3CBB8CAE23E4B9D>
22. Бакулев АН, editor. Большая медицинская энциклопедия [Internet]. 2nd-е изд ed. Москва: Медгиз; 1956 [cited 2023 Dec 8]. Available from: <https://search.rsl.ru/ru/record/01005582928>
23. Yang J, Wang Y. Design of vascular networks: a mathematical model approach. *Int J Numer Methods Biomed Eng.* 2013 Apr;29(4):515–29.
24. Murray CD. The Physiological Principle of Minimum Work. *Proc Natl Acad Sci.* 1926 Mar;12(3):207–14.
25. Sherman TF. On connecting large vessels to small. The meaning of Murray's law. *J Gen Physiol.* 1981 Oct 1;78(4):431–53.
26. Marxen M, Henkelman RM. Branching tree model with fractal vascular resistance explains fractal perfusion heterogeneity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 May;284(5):H1848-1857.
27. Iversen PO, Nicolaysen G. Fractals describe blood flow heterogeneity within skeletal muscle and within myocardium. *Am J Physiol.* 1995 Jan;268(1 Pt 2):H112-116.
28. Emek S. Generation of Fractal Vessel Structure Functions by Using the Lindenmayer System. *J Appl Math Comput [Internet].* 2018 Jan 31 [cited 2024 Jun 8];2(1). Available from: <http://www.hillpublisher.com/journals/JAMC/2018/1/45.html>
29. Chemla D, Nitenberg A. A call for improving mean aortic pressure estimation. *Am J Hypertens.* 2005 Jun;18(6):891.
30. Nash IS. Reassessing normal blood pressure. *BMJ.* 2007 Sep 1;335(7617):408–9.
31. K. M. CENTRAL VENOUS PRESSURE AND PULMONARY CAPILLARY WEDGE PRESSURE MONITORING. *Indian J Anaesth.* 2002 Aug;46(4):298–303.
32. Buijs PC, Krabbe-Hartkamp MJ, Bakker CJ, de Lange EE, Ramos LM, Breteler MM, et al. Effect of age on cerebral blood flow: measurement with ungated two-dimensional phase-contrast MR angiography in 250 adults. *Radiology.* 1998 Dec;209(3):667–74.
33. Reymond P, Merenda F, Perren F, Rüfenacht D, Stergiopoulos N. Validation of a one-dimensional model of the systemic arterial tree. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Jul;297(1):H208-222.
34. Hillen B, Hoogstraten HW, Post L. A mathematical model of the flow in the circle of Willis. *J Biomech.* 1986;19(3):187–94.
35. Enzmann DR, Ross MR, Marks MP, Pelc NJ. Blood flow in major cerebral arteries measured by phase-contrast cine MR. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1994 Jan;15(1):123–9.
36. Liu J, Yan Z, Pu Y, Shiu WS, Wu J, Chen R, et al. Functional assessment of cerebral artery stenosis: A pilot study based on computational fluid dynamics. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 2017 Jul;37(7):2567–76.
37. Wang J, Wang Y, Chai Z, Xin Y, Wang J, Qiu J. Stenosis length of middle cerebral artery and branch atheromatous disease associated infarct. *Int J Neurosci.* 2018 Feb;128(2):133–9.
38. Belyaev AV. Catching platelets from the bloodflow: the role of the conformation of von Willebrand factor. *Math Model Nat Phenom.* 2018;13(5):44.
39. Whyte CS, Mostefai HAhmed, Baeten KM, Lucking AJ, Newby DE, Booth NA, et al. Role of Shear Stress and tPA Concentration in the Fibrinolytic Potential of Thrombi. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 20;22(4):2115.
40. White HJ, Soos MP. Anatomy, Thorax, Superior Vena Cava. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cited 2023 Nov 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545255/>
41. Zagzoule M, Marc-Vergnes JP. A global mathematical model of the cerebral circulation in man. *J Biomech.* 1986;19(12):1015–22.