

На правах рукописи



**Неганова Анастасия Юрьевна**

**Моделирование механизмов формирования  
пространственно-временных паттернов  
вазореактивности**

Специальность  
03.01.02 — «Биофизика»

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Саратов — 2017

Работа выполнена на кафедре оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель:

**Постнов Дмитрий Энгелевич,**

д. ф.-м. н., профессор кафедры оптики и биофотоники ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского»

Официальные оппоненты: **Постников Евгений Борисович,**

д. ф.-м. н. ,

ФГБОУ ВО «Курский государственный университет» (г. Курск),

профессор кафедры физики и нанотехнологий

**Лаврова Анастасия Игоревна,**

к. биол. н.,

ФГБУ "Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии" "(г. Санкт-Петербург),

научный сотрудник

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А.»

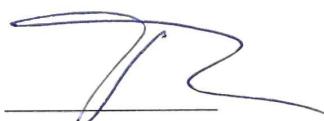
Зашита состоится 3 апреля 2017 г. в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета Д.212.243.05 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по адресу: г. Саратов, ул. Астраханская д.83.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Саратовского государственного университета.

Автореферат разослан “ ”

2017 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
Д.212.243.05, д.ф.-м.н.



Симоненко Г.В.

# Общая характеристика работы

## Актуальность темы.

Функционирование сосудистой системы опосредовано потоком крови по васкулярной сети, который, в свою очередь, формируют два основных фактора: (1) собственно поток крови, ее накачка сердцем и протекание по всем разделам сосудов, и (2) - текущие свойства этих сосудов, точнее - текущие изменения сосудистого тонуса, которые в значительной степени определяют физиологические реакции организма как на локальном, так и, через нейрогенный и гуморальный механизмы регуляции, на системном уровне (А. Камкин, 2004). Данное диссертационное исследование сфокусировано на втором факторе, а именно - на анализе и моделировании типичных динамических паттернов изменения состояния сосудистой стенки.

В локальном представлении, динамика состояния сосуда проявляет себя как изменение сосудистого тонуса, который играет роль универсального ответа на различные регуляторные факторы. В то же время, различия в механизмах активации и степени вовлеченности клеток двух основных "активных" клеточных слоев сосуда – эндотелия и гладкой мускулатуры – могут привести и приводят к различным пространственным картинам вазореактивности в ответ на различные вазоконстрикторные и вазодилатационные стимулы. Показательный пример - эффект функциональной гиперемии, когда локальная дилатация или констрикция могут распространяться на значительное расстояние вверх по потоку от вызвавшего их стимула (B.R. Duling, 1970).

По современным представлениям, изменение состояния сосудистой стенки есть результат кооперативного действия двух активных и одного пассивного слоев стенки сосуда, включая процессы внутри- и межслоевой синхронизации электрической активности. Известен эффект пространственной синхронизации активности клеток гладкой мускулатуры (КГМ) сосудов, как внутриклеточной, так и межклеточной (J.C. Brings Jacobsen, 2007; M. Bindschadler, 2001). Показано, что клетки эндотелия образуют электрический синтициум, обеспечивающий хорошее проведение электрического сигнала вдоль сосуда.

Важно отметить, что на уровне резистивных сосудов, имеющих относительно небольшие размеры, адекватным модельным представлением являются скорее дискретные массивы активных единиц, нежели непрерывная активная среда. Например, при длине отдельно взятой клетки эндотелиального слоя артериального сосуда порядка 100 микрон и коэффициента их перекрытия по длине около 50%, получаем всего лишь 20 клеток на 1 миллиметр

длины сосуда, то есть, от 3-4 до 30 клеток на одну артериолу, при ее длине от 0.25 до 1.5 мм (R. Steiner, 1992).

За последние десятилетия накоплено значительное количество экспериментальных данных по различным аспектам как внутриклеточной динамики в слоях сосудистой стенки, так и по взаимодействию между этими слоями. Показано, что связь между клетками гладкой мускулатуры и клетками эндотелия примерно в 600 раз сильнее, чем между собой. Выявлены эффекты кооперативной динамики (синхронизации) клеточной активности, формирующие реакцию сегмента сосуда как целого. Однако, комплексное понимание закономерностей функционирования такой системы как ансамбля взаимодействующих дискретных активных элементов, находится лишь в стадии формирования. В еще большей степени это относится к эффектам, вовлекающим значительные фрагменты васкулярного дерева.

Помимо экспериментального изучения сетей микроциркуляции, для выяснения всего комплекса взаимодействий механизмов внутри сосудистой стенки необходимы модельные исследования особенностей работы конкретных механизмов, влияющих на тонус сосудов. В последние десятилетия математическое моделирование стало мощным инструментом для достижения более глубокого понимания физиологических процессов, определяющих регуляцию кровотока в сосудистых сетях. Комбинированное описание механики сосудистой стенки и структуры сосудистой сети, делающее возможным последующее моделирование системы, позволяет выявить динамические свойства таких сетей, что гораздо более значимо, чем просто характеристика их равновесных состояний.

Все высказанное обуславливает высокую актуальность научной задачи, заключающейся в разработке и исследовании вычислительных моделей, адекватно отражающих основные динамические характеристики функционирования локальных и системных механизмов управления сосудистым тонусом. Будучи максимально упрощенными, но при сохранении функционального соответствия физиологическим механизмам, такие модели призваны обеспечить базу для количественного моделирования относительно крупных сегментов сосудистой системы и обеспечить возможность предсказательного вычислительного эксперимента как «мостика», связывающего измеримые в эксперименте характеристики авторегуляции кровотока с одной стороны, и изменения в функционировании клеточных слоев стенки сосуда, с другой. В русле такого подхода и выполнено данное диссертационное исследование.

### **Разработанность темы**

Известно, что широкий диапазон факторов влияет на тонус сосудистой стенки. К числу этих факторов, относится вторичный мессенджер  $IP_3$ ,

рост концентрации которого ведет к сокращению клеток гладкой мускулатуры (J. Keener, 1998). Другим фактором, влияющим на тонус сосуда, согласно имеющимся экспериментальным данным, является циклический гуанозин монофосфат (цГМФ), который оказывает разнонаправленные действия на процессы происходящие в КГМ. Два основных результата его действия это: 1) понижение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  во внутриклеточной среде, 2) снижение чувствительности к  $\text{Ca}^{2+}$  сократительного механизма. Оба эти эффекта в конечном итоге приводят к расслаблению КГМ (J. Yang, 2005; J.A. Carvajal, 2000; T.M. Lincoln, 2001; K.A. Lucas, 2000). Наряду с экспериментальным изучением, взаимодействие внутриклеточных механизмов, оказывающих влияние на тонус сосудов, пытаются понять с помощью математического моделирования (J. Keener, 1998; G. Houart, 1999).

Вазомоция – ритмические изменения диаметра (и тонуса) небольших кровеносных сосудов, так же часто становится объектом исследований. Такой тип пространственной синхронизации кальциевых колебаний, ее природа и характеристики, неоднократно становились объектом экспериментальных (A. Colantuoni, 1984; K. Fujii, 1990; J.C. Jacobsen, 2007; H. Gustafsson, 1993; H. Peng, 2001) и теоретических работ (T. Hofer, 2001; J. Sneyd, 1995; M. Bindschadler, 2001; M. Koenigsberger, 2005; D. Parthimos, 2007; J.C. Jacobsen, 2007). Основные результаты исследования вазомоции были суммированы в обзорных статьях (C. Aalkaer 2005, 2011).

Известно, что большая часть процессов происходящих в КГМ, так или иначе связана с функционированием слоя клеток эндотелия, выстилающего сосудистую стенку изнутри. К числу таких процессов относится распространяющаяся вазодилатация (РВД) -изменения в диаметре кровеносного сосуда, которые распространяются как вверх, так и вниз по направлению тока крови, и могут достигать других сосудов (F. Gustafsson, 1999; P. Bagher, 2011; C.E. Hill, 2012; S.S. Segal, 1991; G.G. Emerson, 2001,2002; C. de Wit, 2000; X.F. Figueroa, 2003,2007; K.A. Dora, 2003). Первые наблюдения такого удаленного действия локальной стимуляции сосудов были сделаны около 90 лет назад, (A. Krogh, 1922), однако детальное изучение эффекта РВД началось значительно позднее, в 1970-х годах (B.R. Duling, 1970). РВД, как полагают, играет центральную роль в обеспечении эффективности локальной регуляции кровотока (P. Bagher, 2011). Результаты экспериментальных исследований указывают на электрический механизм явления РВД (G.G. Emerson, 2002; R.J. Stevens, 2000; T. Tsuchiya, 1990). Сам механизм РВД до сих пор остается не до конца изученным. Вопрос, касающийся возможных механизмов формирования РВД был затронут в ряде экспериментальных и обзорных работ (X.F. Figueroa, 2007; R.J. Rivers, 1997; G.J. Crane, 2004; C.E. Hill, 2012). Методы ма-

тематического моделирования также были неоднократно использованы для исследования возможных механизмов РВД (G.D. Hirst, 1978; G.J. Crane, 2004; Н.К. Diep, 2005; В.О. Hald, 2012). Однако, эти модельные исследования не дали к настоящему моменту ясного ответа на вопрос о возможных механизмах регенеративного характера РВД.

Для полноценного изучения результата взаимодействия сложного комплекса внутри- и межклеточных механизмов, необходим переход от экспериментальных и теоретических методов исследования клеток и небольших сегментов сосудов к исследованию целых сетей сосудов. Одним из наиболее привлекательных объектов исследования в данном случае становится сеть микроциркуляции сетчатки.

Лазерная спекл визуализация (laser speckle imaging, LSI) может быть успешно применена к множеству биомедицинских систем (D.A. Boas, 2010, D. Briers, 2013; K. Basak, 2012; T. Durduran, 2004; A.K. Dunn, 2005; A.R. Brazhe, 2014; D.D. Postnov, 2015). Этот метод имеет ярко выраженное преимущество перед другими техниками для мониторинга кровотока, т.к. этот метод является несканирующим, относится к классу методов полного поля, при этом обладает высоким пространственным и временными разрешением. С момента первого применения этого метода к изучению сетчатки (A.F. Fercher, 1981), были исследованы различные аспекты кровотока сетчатки и офтальмологические проблемы (A.I. Srienc, 2010; J. Flammer, 2002; G. Watanabe, 2008; T. Sugiyama, 2010).

Было показано, что миогенный ответ (P. Jeppesen, 2007) и вазомоция (A. Hessellund 2003, 2006) вовлечены в контроль кровотока в сетчатке. Множество работ подтвердили, что нарушение вазомоции играет особую роль в патогенезе различных заболеваний, таких как хроническая венозная недостаточность (M. Stücker, 2003), сахарный диабет (K.B. Stansberry, 1996), а также глазных заболеваний как диабетическая ретинопатия (T. Bek, 2013), а также макулопатия (A. Colantuoni, 1984). Насколько известно автору, на данный момент нет *in vivo* исследований спонтанной и индуцированной вазомоции цельной сосудистой сети сетчатки крысы.

Было опубликовано множество математических реализаций миогенного ответа (J. Yang, 2003; B.E. Carlson, 2005; J.C. Jacobsen, 2008) и его градиента в сосудистых сетях (A.J. Cornelissen, 2000). Тем не менее, насколько нам известно, динамическое поведение на коротких временах сосудистой сети сетчатки с градиентом миогенного ответа не становилось прежде объектом исследований.

Подводя итоги приведенного выше краткого обзора степени разработанности темы диссертационного исследования, к настоящему момен-

ту накоплено много важных экспериментальных фактов о локальных и пространственно-протяженных путях регуляции сосудистого тонуса, установлены основные закономерности. В то же время, налицо некоторое отставание в осмыслиении этой суммы знаний в плане типичных динамических закономерностей и их связи с физиологическими механизмами. Это – именно то, что могут дать модельные исследования различного уровня, от одиночных клеток до крупных фрагментов васкулярных сетей.

**Целью диссертационной работы** являлось теоретическое и модельное исследование динамических механизмов формирования пространственно-временных паттернов вазореактивности.

В контексте данной работы,

– под теоретическим исследованием понимается формулирование и верификация гипотез, объясняющих экспериментально обнаруженные (в т.ч. другими авторами) типы реакции сосудов на языке теории динамических систем (на основе понятий об обратных связях, автоколебаниях, синхронизации, возбудимой динамике и мультистабильности);

– под модельным исследованием понимается проведение вычислительных экспериментов с использованием разработанных математических моделей с целью проверки и уточнения гипотезы, на основе которой разрабатывалась модель.

Для достижения поставленной цели, в ходе диссертационного исследования решались следующие задачи:

1. Разработка и верификация функциональных математических моделей основных процессов, отвечающих за формирование пространственно-временных паттернов авторегуляции сосудистого тонуса.

2. Исследование динамических характеристик эффекта внутриклеточной и межклеточной пространственной синхронизации кальциевой динамики в клетках гладкой мускулатуры сосудистой стенки.

3. Исследование динамических характеристик и механизмов явления эндотелий-опосредованной распространяющейся вазодилатации.

4. Разработка экспериментальных и модельных методов анализа динамики регуляции кровотока в ретинальной сети микроциркуляции.

### **Методология работы**

Методология данного диссертационного исследования заключалась, главным образом, в разработке как функциональных, так и количественных математических моделей, с помощью которых, в ходе проведения различных вычислительных экспериментов, исследовались конкретные физиологические механизмы или явления, характерные для сетей кровеносных сосудов. Анализ полученных результатов и закономерностей выявил необходи-

мость изучения динамических свойств паттернов вазореактивности при помощи экспериментов на живых объектах, а также необходимость в расширении математических моделей отдельных клеток или небольших сегментов сосудов до модели сети сосудов.

Каждый этап диссертационного исследования, как и соответствующая ему глава диссертационной работы включали:

1) изучение доступной научной литературы в данной области и исследование степени изученности данного вопроса, постановка конкретной целей и задач; 2) разработку функциональной или количественной модели, соответствующей поставленным целям и задачам; 3) проведение вычислительных экспериментов, изучение динамического поведения моделей и анализ полученных результатов.

Для целенаправленного изучения динамических свойств паттернов вазореактивности в целой сосудистой сети живого объекта был проведен ряд физиологических экспериментов на сетчатке крысы. Таким образом, для проведения части диссертационного исследования, которому посвящена Глава 1 диссертационной работы, помимо пункта 1), были выполнены следующие этапы исследования:

2) Разработка протокола экспериментов, соответствующих поставленным задачам, непосредственное проведение серии экспериментов на животных. Изучение динамических свойств паттернов вазореактивности сосудистой сети *in vivo*.

3) разработка количественной математической модели сети сосудов, с целью дополнительной интерпретации экспериментально полученных данных. Изучение динамического поведения модели и анализ результатов, полученных при проведении вычислительных экспериментов.

### **Научная новизна**

Ряд результатов, полученных в ходе выполнения диссертационной работы, обладает существенной научной новизной. А именно:

1. Установлены динамические сценарии и типичные паттерны перехода к пространственно-синхронизованным внутриклеточным колебаниям концентрации кальция в присутствии и под воздействием флюктуаций, включая режимы спонтанных переключений паттернов и режим кластерной синхронизации.

2. Показано, что наличие градиента концентрации циклического гуанозинмонофосфата в многоклеточной плоскостной структуре клеток гладкой мускулатуры сосуда приводит к генерации супра-клеточных волновых структур при сохранении режима цельноклеточных осцилляций в каждой отдельной клетке.

3. Выдвинута и обоснована гипотеза о бистабильном механизме бездекрементной передачи электрического импульса по эндотелиальному слою сосудистой стенки, что открывает возможность разработки нового подхода к пониманию явления распространяющейся вазодилатации.

4. В задаче о прохождении вазоактивного сигнала через бифуркацию сосудов, показана возможность градиентной активации (суммирование вкладов сосудов) за счет анизотропии эндотелиального слоя.

5. Экспериментально исследованы динамические паттерны вазореактивности сетчатки анестезированной крысы *in vivo*, в частности, детектирована спонтанная и индуцированная препаратами SNAP и U-46619 вазомоция, изучена вариабельность индивидуальных реакций сосудов целой сети на системное введение таких препаратов как ангиотензин II, ацетилхолин и изменение уровня общей анестезии.

6. В модельном исследовании сети сосудов сетчатки продемонстрирована возможная защитная роль градиента миогенного ответа, выявлена роль асимметричности структуры сети сосудов в регуляции кровотока.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость выполненной работы заключается в том, что на основе модельной интерпретации экспериментальных фактов выдвинуты и обоснованы гипотезы о динамических механизмах основных процессов регуляции активности клеток гладкой мускулатуры и эндотелия артериальных сосудов, что обеспечивает связующее звено между детальными моделями клеточных механизмов регуляции с одной стороны, и генерализованными общеприменимыми моделями активных непрерывных и дискретных сред, с другой стороны. Как результат, облегчается "миграция" научных задач и методов исследования между указанными областями знания.

В целом, результаты диссертационного исследования вносят вклад в обоснование необходимости применения математических и экспериментальных методов к исследованию динамических паттернов в цельной микрососудистой сети, а не для изолированных сосудов, что, в частности, обусловлено установленной в ходе экспериментов вариабельностью как вазоактивных динамических паттернов присущих сосуду, так и реакции индивидуальных сосудов на системные стимулы.

Практическая значимость работы заключается в разработке набора вычислительно эффективных, физиологически адекватных математических моделей, облегчающих реализацию многомасштабного (от клетки к фрагментам микроциркуляторной сети) вычислительного эксперимента в целях предсказательного анализа клеточной динамики по данным оптических и иных методов регистрации параметров кровотока.

## **Положения и результаты, выносимые на защиту:**

### **Положение 1**

Модель возбудимой активной среды класса реакции-диффузии, дополненная глобальной переменной, обеспечивающей пространственную связь по типу среднего поля, адекватно воспроизводит определяющие характеристики явления перехода между режимом бегущих волн и режимом цельно-клеточных колебаний концентрации кальция в клетке гладкой мускулатуры сосудистой стенки. При этом, наличие флюктуаций окружения способно индуцировать новый режим частично-цельно-клеточной синхронизации и спонтанные переходы между этим режимом и режимом бегущих волн.

### **Результат 1**

Минимизированная математическая модель пространственной кальциевой динамики в одиночной клетке гладкой мускулатуры сосуда, воспроизводящая синхронизующий эффект ионных механизмов регуляции мембранныго потенциала.

### **Положение 2**

Гипотеза о бистабильном механизме передачи гиперполяризующего импульса по эндотелиальному слою сосудистой стенки адекватно объясняет пространственно-временные паттерны динамики, наблюдаемые при распространяющейся вазодилатации.

### **Результат 2**

Минимизированная количественная математическая модель электрической активности эндотелиального клеточного слоя, основанная на гипотезе об определяющей роли бистабильной динамики в механизме распространения вазодилатирующего стимула при функциональной гиперемии.

### **Положение 3**

Индивидуальные сосуды ретинальной микроциркуляторной сети, происходящие из одной точки ветвления могут показывать разные по силе и характеру реакции на одно и то же системное воздействие сосудосужающими и сосудорасширяющими веществами, а также демонстрировать осциллирующие изменения относительной скорости кровотока в сосудах на разных частотах.

### **Результат 3**

Математическая модель микрососудистой сети сетчатки, нацеленная на изучение роли градиента миогенного ответа в регулировании кровотока в микрососудистой сети сетчатки, включая генерацию топологии сети по экспериментальным данным, а также модельное описание механики сосудистой стенки.

**Степень достоверности и апробация результатов:** По результатам диссертационного исследования опубликованы 10 статей в российских и зарубежных журналах, в том числе 6 – в зарубежных научных журналах, индексируемых библиографическими базами данных "Web of Science" и/или "Scopus" из списка ВАК, зарегистрировано 4 результата интеллектуальной деятельности (Программы ЭВМ). Результаты исследований по теме диссертации использованы в ходе выполнения НИР "Эндотелий" (проект при поддержке Минобрнауки, НИР 3.1340.2014/К, конкурсная часть госзадания), а также были доложены в ходе ряда научных конференций в том числе: "Saratov Fall Meeting - SFM 2011, 2012, 2013, 2014" (г. Саратов), "Ежегодная всероссийская научная школа-семинар «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине - 2011, 2012» "BMI-day 2014, 2015" (Копенгаген, Дания), а также студенческих конференциях и семинарах СГУ.

**Личный вклад.** Структура диссертационной работы, цели, а также конкретные задачи были сформулированы и поставлены автором диссертационной работы совместно с научным руководителем. Разработка математических моделей и анализ полученных результатов проводились автором совместно с соавторами соответствующих главам публикаций. Вычислительные эксперименты были выполнены непосредственно автором диссертационной работы. Протоколы экспериментов на сетчатке крысы были разработаны автором диссертационной работы совместно с соавторами публикаций по Главе 1. Серия экспериментов, а также анализ результатов полученных при помощи лазерной спекл-визуализации проводились совместно с к. ф.-м. н. Постновым Д.Д.

**Объем и структура работы.** Диссертационная работа состоит из вводной части, четырех глав, заключения, списка сокращений и списка литературы. Объем работы составляет 146 страниц текста, включает 46 иллюстраций, 7 таблиц. В список литературы включено 153 источника.

## Содержание работы

Во **Введении** обоснована актуальность задач, решаемых в рамках диссертационного исследования, приведена оценка степени разработанности темы на основе публикаций в научной литературе по изучаемой проблеме, сформулированы задачи и цель работы, новизна, теоретическая и практическая значимость представляемой работы.

В **первой главе** приведена методика проведения эксперимента по визуализации динамики кровотока в сетчатке анестезированной крысы *in vivo* и последующего анализа данных, а также сами экспериментальныеproto-

колы, согласно которым проводились эксперименты. Описанный в данной главе подход использовался при получении значительной части результатов, приведенных в Главе 4. В рамках данной методики анализа ритмической активности был предложен конкретный подход для обработки данных, который может быть применен как к суррогатным данным, так и к экспериментально записанному сигналу.

Во второй главе диссертационного исследования представлены две математические модели клеток гладкой мускулатуры, учитывающие различные клеточные компоненты и направленные на изучение разных механизмов.

Первый раздел главы посвящен исследованию характеристик локальных механизмов регуляции сократительной активности клетки гладкой мускулатуры средствами компьютерного моделирования. В рамках данной модели, влияние эндотелия моделируется в виде роста концентрации оксида азота NO, который активирует производство циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ или cyclic guanosine monophosphate, cGMP). Последний влияет на баланс внутриклеточной концентрации кальция и, в конечном итоге, на сократительную активность клетки. Исследуется влияние cGMP-индуцированной активности  $Ca^{2+}$ -АТФазы, локализованной в мембране клетки (а) или в мембране саркоплазматического ретикулума (б) на характеристики кальциевых колебаний.

Как установлено на сегодняшний день, одно из следствий межклеточной коммуникации в сосудистой стенке – это появление синхронизированного поведения, когда много клеток действуют сообща. В результате, возникают новые динамические паттерны. В работе представлена простая функциональная модель вазомотории, основанная на идее двух-модового осциллятора с двойным взаимодействием: через относительно медленную диффузционную связь, что способствует волновой динамике, и через быстрые изменения мембранныго потенциала, которые распространяются практически мгновенно на значительные расстояния. Данная модель воспроизводит базовую кальциевую динамику КГМ сосуда: кальциевые волны, которые могут синхронизироваться в цельно-клеточные осцилляции в условиях усиленной активности цГМФ-чувствительных кальций-зависимых хлоридных каналов, и распространяться по большой популяции клеток. Мы показываем, как гетерогенность системы может породить новые паттерны.

Основные результаты главы следующие:

1. Предложены и протестированы две математические модели активности клеток гладкой мускулатуры: количественная математическая модель эндотелий-зависимой релаксации КГМ, объединяющая как модель кальциевой динамики в цитозоле, так и модель динамики внутриклеточной концен-

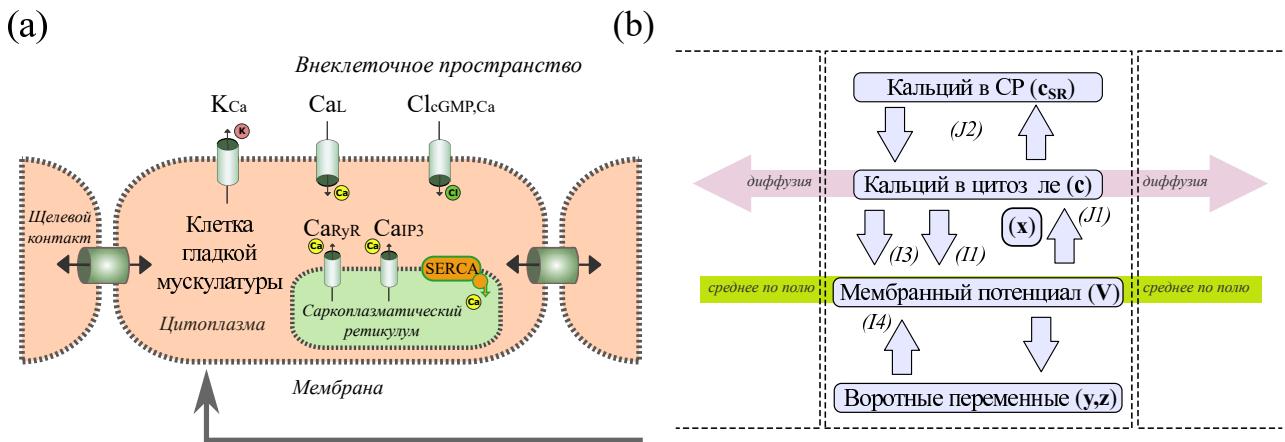


Рис. 1: Схематическое представление математической модели клетки гладкой мускулатуры, воспроизводящей явление перехода от бегущих волн к вазомоции. (а) Основные сигнальные пути вовлеченные в электро-химическую активность клетки гладкой мускулатуры. (б) Схематическое представление основных компонентов, включенных в функциональную модель. Стрелки обозначают взаимодействие между динамическими переменными.

трации цГМФ, а также упрощенная функциональная модель КГМ, которая, тем не менее, учитывает основные механизмы взаимодействия.

2. Получены результаты по тому, как изменение концентрации вазорелаксанта, оксида азота NO, сказывается на изменении концентрации cGMP, и в итоге воздействует на динамику внутриклеточной концентрации кальция. Было найдено, что оба пути воздействия NO приводят к угнетению кальциевых колебаний (что отражает их вазорелаксирующее действие), однако конкретные проявления этого действия, как оказалось, существенно различны.

3. Исследованы несколько принципиально разных режимов кальциевой динамики, также зависящие от внутриклеточного цГМФ.

4. Показано, что потенциал-зависимая регуляция локальной динамики  $\text{Ca}^{2+}$ , которая реализована в форме цГМФ-чувствительного хлоридного канала приводит к переходу от внутриклеточных несинхронизированных волн к цельно-клеточной синхронизации, что соответствует экспериментальным данным.

5. Продемонстрировано, что различные волновые паттерны вызванные шумом могут служить как различные начальные условия для перехода к цельно-клеточной синхронизации. Мы обнаружили индуцированные шумом синхронные осцилляции  $\text{Ca}^{2+}$  с половинной частотой (по сравнению с частотой цельно-клеточных осцилляций) из-за последующего вклада двух кластеров осциллирующих в противофазе.

6. Градиент циклического гуанозинмонофосфата не влияет на внутреклеточную динамику, однако значительно изменяет поведение сосудистого русла. Такое поведение может быть связано с межклеточным соединением посредством эндотелиальных клеток.

В рамках **третьей главы** диссертационной работы был выработан подход к оценке реакции группы сосудов на основе динамических механизмов быстрого распространения вазодилатирующего сигнала по слою эндотелиальных клеток. В частности, средствами модельного исследования дана оценка реализуемости альтернативного механизма распространяющейся вазодилатации, предложенного в работах Figueroa с соавторами.

В ходе модельного исследования изначально выбирались ионные токи (типы каналов), которые наверняка присутствуют в клетках эндотелия (КЭ) и вносят существенных вклад в формирование мембранныго потенциала. Далее выяснялось, какой минимальный набор этих токов способен обеспечить свойство бистабильности электрической активности клетки. Соответствующая математическая модель исследовалась аналитически и численно, в том числе - на предмет ее способности воспроизвести эффекта пространственного распространения вазодилатации. По итогам тестирования была предложена скорректированная модель и уточненная гипотеза о механизме.

Основные результаты данной главы следующие:

1. Была высказана гипотеза о возможном механизме передачи вазодилатирующего импульса гиперполяризации на основе свойств бистабильности. Это новый результат, объясняющий странные, с точки зрения существующих представлений о физиологии клеток, например, работы Zhang и соавторов, где длительная, в течение 2 минут, электрическая стимуляция вызывает столь же длительное повышение кальциевой активности на значительном расстоянии от места стимуляции, которое, однако, прекращается после прекращения действия стимула. С динамической точки зрения, такое поведение не должно иметь место при возбудимой динамике связанных элементов, однако легко получает свое объяснение, если предположить наличие у КЭ бистабильных свойств.

2. Было показано, что вероятным путем "запуска" гиперполяризующего калиевого тока  $I_{K_{ir}}$  может быть другой тип калиевого тока,  $I_{K_{Ca}}$ , управляемый концентрацией кальция. Он, в свою очередь, запускается при деполяризации клетки эндотелия. Таким образом, спорный деполяризационный механизм может быть не столь выраженным и самодостаточным, как это предполагается Figueroa и соавторами, но тем не менее необходимым для реализации сценария, основанного на гиперполяризации, который описан в работе Crane (2004).

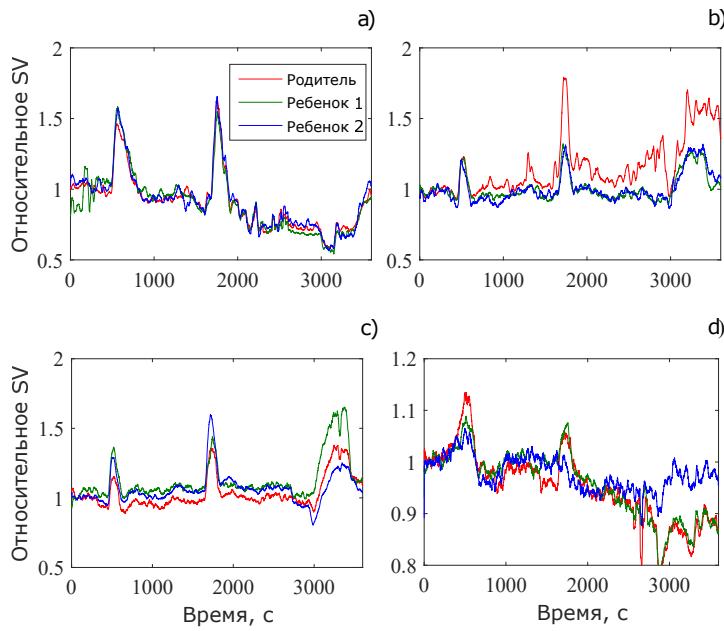


Рис. 2: Примеры ответов групп "родительских" и "дочерних" сосудов сосудистой сети сетчатки крысы.(а) Родительский сосуд и его дочерние сосуды демонстрируют практически одинаковую динамику. (б) Родительский сосуд демонстрирует гораздо более сильную реакцию на вторую инъекцию AngII и инфузию ACh; (с) Первый дочерний сосуд показывает более слабую реакцию на вторую инъекцию AngII, но более сильную реакцию на инфузию ACh, в то время как, второй дочерний сосуд демонстрирует обратную динамику, похожую на динамику родительского сосуда, чья реакция, тем не менее, слабее; (д) Первый дочерний сосуд демонстрирует реакцию на обе инъекции AngII, в то время как второй сосуд не показывает увеличения  $SV$  в ответ на вторую инъекцию.

Главный итог проведенной работы по теоретико-модельному обоснованию динамических механизмов распространяющейся вазодилатации состоит в создании надежной основы для создания объединенной функциональной модели реакции фрагментов сетей микроциркуляции, пригодной для решения обратной задачи - оценки пространственного паттерна изменения тонуса сосуда по вызванным этим изменениями перераспределения кровотока.

**В четвертой главе** диссертационного исследования были разработаны экспериментальные и модельные методы анализа динамики кровотока в сосудистой сети сетчатки.

В рамках данной главы получены следующие основные результаты:

1. Инъекция AngII приводит к незамедлительному росту среднего артериального давления с последующей общей вазоконстрикцией. Увеличенное среднее артериальное давление приводит к увеличению скорости эритроцитов также в случае если диаметр сосуда локально в сетчатке остается неизменным.

2. Практически все сосуды в рамках экспериментального исследования продемонстрировали двухфазный ответ на системное введение ACh: начальное снижение относительной скорости по спектрам  $SV$ , коррелирующее с падением среднего артериального давления, сменяется медленным возрастанием  $SV$  которое начинается либо в течении инфузии, либо же сразу после нее и длится 6-7 минут. Эта фаза, возможно, вызывается сложной системной реакцией и связана с медленным возвращением среднего артериального давления к нормальному уровню.

3. Была выявлена значительная спонтанная активность (по крайней мере, на 10% превышающая шумовое плато) 8 сосудов из 81 в диапазоне частот 0.1 – 0.3 Гц (вазомотория) и 24 сосудов в диапазоне частот 0.3 – 0.7 Гц (волны Майера). Более того, анализ индуцированной вазомотории показал, что как введение U-46619, так и SNAP инициирует активность на частотах 0.17 Гц и 0.45 – 0.46 Гц, соответственно. Интересно, что осцилляции на частотах 0.45 – 0.46 Гц в  $SV$  данных появляются и становятся более выраженнымми после введения SNAP, и в меньшей степени после введения U-46619..

4. Предложена количественная математическая модель сети сосудов сетчатки, описывающая стенки сосуда, и учитывающая реалистичное распределение относительных толщин стенок в сети, а также градиент миогенного ответа.

5. Было найдено, что сосудистые сети с реалистичным распределением относительной толщины сосудистой стенки, реагируют физиологически неадекватно на изменения перфузионного давления в том случае, если все сосуды имеют одинаковую "чувствительность" к стрессу сосудистой стенки и реагируют с одинаковым развитием усилия (модель без градиента миогенного ответа).

6. Градиент миогенного ответа позволяет более крупным сосудам вверх по течению реагировать менее выраженно, но в пределах большего диапазона давлений, по сравнению с сосудами меньшего диаметра, расположеными вниз по течению, что представляется физиологически более реалистичным поведением, при котором сосуды артериальной части сосудистой сети реагируют сообща на изменение давления.

В **Заключении** приводится обобщение результатов, полученных во второй, третьей и четвертой главах.

## Публикации автора по теме диссертации

*Статьи в реферируемых журналах (индексация Web of Science, Scopus, список ВАК для изданий РФ):*

1. A.Y Neganova , D.D. Postnov, J.C.B. Jacobsen, O. Sosnovtseva, Laser speckle analysis of retinal vascular dynamics, Biomedical Optics Express, Vol. 7, Issue 4, 13751384 (2016).
2. D.E. Postnov, A.Y. Neganova , O.V. Sosnovtseva, N.H. HolsteinRathlou, J.C. Brings Jacobsen, Conducted vasoreactivity: The dynamical point of view, Bulletin of Mathematical Biology, vol. 77, No 1, 230249 (2015).
3. D.E Postnov, A.Y Neganova , D.D. Postnov, A.R. Brazhe, Monitoring of rhythms in laser speckle data, Journal of Innovative Optical Health Sciences, vol.7, No 3, 14500151 - 145001510 (2014).
4. D.E. Postnov, A.Y. Neganova , J.C. Brings Jacobsen, N.H. Holstein-Rathlou, O.Sosnovtseva, From excitability to oscillations: A case study in vasomotion, European Physical Journal Special Topics (Eur. Phys. J. Special Topics) "Nonlinear Dynamics of Deterministic and Stochastic Systems: Unraveling complexity 222, 2667–2676 (2013) (Impact factor: 1.399).
5. А.Ю. Неганова , Д.Э. Постнов, «Математическое моделирование эндотелий-зависимой релаксации клетки гладкой мускулатуры», Известия Саратовского Университета «Серия Физика», т. 12, Выпуск 1, 37–42 (2012).
6. A.Y. Neganova, E.S.Stiukhina, D.E. Postnov, "Mathematical model of depolarization mechanism of conducted vasoreactivity" Proc. SPIE 9448, Saratov Fall Meeting 2014: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVI; Laser Physics and Photonics XVI; and Computational Biophysics, 94481J (2015); doi:10.1117/12.2179584 (индексируется Web of Science, Scopus)

*Результаты интеллектуальной деятельности:*

1. Постнов Д.Д., Неганова А.Ю., Постнов Д.Э."Количественное математическое моделирование электрофизиологии клеточной мембраны и динамики клетки эндотелия кровеносных сосудов "EndoSilva10-20". Программа для ЭВМ, свидетельство № 2013617712 от 22.08.2013
2. Постнов Д.Д., Неганова А.Ю., Постнов Д.Э. "Количественное моделирование динамики кровотока и режимов взаимодействия в системе из двух связанных нефронов почки млекопитающего "CoupledNephrons" ". Программа для ЭВМ, свидетельство № 2013617714 от 22.08.2013.

3. Постнов Д.Д., Неганова А.Ю., Постнов Д.Э."Количественное моделирование электрической активности и кальциевой динамики клетки гладкой мускулатуры кровеносного сосуда "SMCell27" ". Программа для ЭВМ, свидетельство № 2013617715 от 22.08.2013.

4. Постнов Д.Д., Постнов Д.Э., Неганова А.Ю., "Количественное моделирование основных свойств генерации потенциалов действия в нейронах "Neuron-60" ". Программа для ЭВМ, свидетельство 2013617717 от 22.08.2013.

*Статьи в других изданиях:*

1. А.Ю. Неганова , Д.Э. Постнов, «Количественное моделирование стимулируированного отклика клетки эндотелия сосудистой стенки», материалы Всероссийской молодежной конференции «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2012 », Саратов, Издательство Саратовского Университета, 2426 (2012)

2. Е.С. Стюхина, А.Ю. Неганова , Д.Э. Постнов, «Исследование механизма регенеративной передачи импульса клетками эндотелия сосудистой стенки», материалы Всероссийской молодежной конференции «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2012», Саратов, Издательство Саратовского Университета, 4244 (2012)

3. А.Ю. Неганова , Д.Э. Постнов, «Математическое моделирование механизмов эндотелий зависимой распространяющейся вазодилатации», сборник трудов I международной Интернет-конференции «Математическое и компьютерное моделирование в биологии и химии. Перспективы развития», Казань, Издательство «Казанский университет», 113114 (2012).

4. А.Ю. Неганова , Д.Э. Постнов, «Модель NO-сGMP управляемой кальциевой динамики в клетке гладкой мускулатуры», материалы ежегодной Всероссийской научной школы-семинара «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине 2011 », Саратов, Издательство Саратовского Университета, 215217 (2011).

Неганова Анастасия Юрьевна

Моделирование механизмов формирования  
пространственно-временных паттернов взаимоактивности

Автореферат

---

Подписано к печати \_\_\_\_\_ 2017. Усл. печ. л. \_\_\_\_\_ (1.25). Тираж 100 экз.

---

Отпечатано с готового оригинал-макета

---