

На правах рукописи



Литвиненко Елена Сергеевна

**Экспериментальные и модельные исследования
вклада эндотелий-опосредованного механизма
авторегуляции сосудистого тонуса в динамику
малых микроциркуляторных сетей**

Специальность 03.01.02 — биофизика

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Саратов — 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель: **Постнов Дмитрий Энгелевич**
доктор физико-математических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Ризниченко Галина Юрьевна**
доктор физико-математических наук, профессор
МГУ имени М.В. Ломоносова

Танканаг Арина Владимировна
кандидат биологических наук
в.н.с. ИБК РАН

Ведущая организация: Саратовский филиал
Института радиотехники и электроники
имени В.А. Котельникова РАН

Защита состоится 22 марта 2021 г. в 14.00 часов на заседании совета Д 212.243.18 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук при Саратовском национальном исследовательском государственном университете имени Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, X корпус СГУ, ауд. 511.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич СГУ и на сайте: <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/d-212-243-18/kandidatskaya-dissertaciya-litvinenko-eleny-sergeevny>

Автореферат разослан “ ” 2021 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор физ.-мат. наук, доцент



Генина Элина Алексеевна

Общая характеристика работы

Актуальность темы

К настоящему времени физиологам ясно, что сосудистая система человека и животных – это сложный орган с адаптивным поведением, централизованно управляемый системными механизмами и одновременно саморегулирующийся на локальном уровне¹. Накоплено значительное количество экспериментальных данных о механизмах, регулирующих кровоток посредством сокращения либо расслабления клеток гладкой мускулатуры (КГМ) резистивных сосудов и задающих его изменение в ответ на локальные и системные факторы².

Система регуляции сосудистого тонуса проста и сложна одновременно. Проста, потому что любые факторы, им управляющие, в конце концов приводят к универсальному ответу в виде изменения концентрации кальция внутри КГМ сосудов и их последующему сокращению либо расслаблению. Эта же система сложна, так как путей управления активностью КГМ – множество. Некоторые из этих путей изучены хорошо, особенно – локальные. Установлены основные типы ионных каналов, пути транспорта и превращений сигнальных молекул в клетках гладкой мускулатуры сосудистой стенки, которые отвечают за сократительную активность³. Исследованы основные типы (паттерны) реакции изолированного сосуда на изменение различных факторов⁴.

Другие механизмы регуляции сосудистого тонуса изучены лишь на уровне отдельных клеток либо на уровне изолированного сегмента сосуда, но не *in situ*, не в составе цельной и функционирующей кровеносной сети. В частности, явно недостаточно исследован вопрос, как механизмы авторегуляции сосудистого тонуса работают в условиях взаимного влияния сосудов в пределах микроциркуляторной сети.

Сказанное выше имеет прямое отношение к эндотелию сосудов, внутреннему слою толщиной в одну клетку эндотелия (КЭ). Широко известно, что здоровье сосудов в целом напрямую связано с состоянием и функциональностью КЭ. Гораздо менее известно то, что помимо разнообразных защитных функций и реакции на приносимые кровью вещества, КЭ играют собственную важную роль в управлении сосудистым тонусом. В частности, они обеспечивают реакцию сосуда на изменение скорости кровотока в нем,

¹Dzau V. J. et al. Vascular biology and medicine in the 1990s: scope, concepts, potentials, and perspectives // Circulation. – 1993. – Т. 87. – №. 3. – С. 705-719

²Крупаткин А. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. – 2005.

³Бауэр Х. и др. Фундаментальная и клиническая физиология. – 2004.

⁴Jensen L. J., Holstein-Rathlou N. H. The vascular conducted response in cerebral blood flow regulation // Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism. – 2013. – Т. 33. – №. 5. – С. 649-656.

а также способствуют пространственно-когерентному сокращению либо расслаблению КГМ, тем самым обеспечивая изменение состояния сосуда как целого.

В англоязычной литературе применяется целый ряд терминов, обозначающих эндотелий-управляемую вазодилатацию, которая выглядит как расслабление сосуда при увеличении линейной скорости потока в нем. Эти термины включают: FMD (flow-mediated dilation), FIV (flow-induced vasodilatation), FID (flow-induced dilatation) и применяются в медицинской диагностике.

Установлено, что эндотелиальный слой играет определяющую роль в формировании пространственно - синхронизованных сосудистых реакций – так называемой распространяющейся вазореактивности^{5,6} или функциональной гиперемии, которая имеет место как при работе скелетной мускулатуры^{7,8}, так и при нормальном функционировании органов, таких как почки или мозг^{9,10}.

В свете вышесказанного, анализ кровотока в интактной сети требует учета как локальной, так и пространственной эндотелий-опосредованной регуляции сосудистого тонуса.

Следует отметить, что по своей сути такая задача относится более к области биофизики, нежели экспериментальной физиологии, так как предполагает разработку специальных методов воздействия на сосуды, анализ совместного действия разнородных процессов, математическое моделирование и исследование динамики сложных систем.

В области экспериментального исследования авторегуляции в интактной микроциркуляторной сети недостаточно разработаны методы тестового воздействия на состояние выбранного сосуда в составе сети, такого, которое не повреждало бы сеть и не нарушало существенно режимы функционирования соседних сосудов. Ощущается недостаточность существующих методов многоточечного мониторинга состояния сети.

⁵Gustafsson F., Holstein-Rathlou N. Conducted vasomotor responses in arterioles: characteristics, mechanisms and physiological significance //Acta physiologica scandinavica. – 1999. – Т. 167. – №. 1. – С. 11-21.

⁶Segal S. S., Damon D. N., Duling B. R. Propagation of vasomotor responses coordinates arteriolar resistances //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1989. – Т. 256. – №. 3. – С. H832-H837.

⁷Hong K. S., Kim K. Skeletal muscle contraction-induced vasodilation in the microcirculation //Journal of exercise rehabilitation. – 2017. – Т. 13. – №. 5. – С. 502.

⁸Sagach V. F., Kindybaljuk A. M., Kovalenko T. N. Functional hyperemia of skeletal muscle: role of endothelium //Journal of cardiovascular pharmacology. – 1992. – Т. 20. – С. S170-5.

⁹Chen B. R. et al. A critical role for the vascular endothelium in functional neurovascular coupling in the brain //Journal of the American Heart Association. – 2014. – Т. 3. – №. 3. – С. e000787.

¹⁰Cai C. et al. Stimulation-induced increases in cerebral blood flow and local capillary vasoconstriction depend on conducted vascular responses //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2018. – Т. 115. – №. 25. – С. E5796-E5804.

В области теоретического анализа, в последние десятилетия обособленно сосуществуют две различные и слабопересекающиеся области математического моделирования, одна из которых базируется на гидродинамическом подходе^{11,12}, где в целях “решаемости” уравнений степень упругости сосудистой стенки, как правило, считается постоянным параметром. В свою очередь, модели клеточных механизмов управления сосудистым тонусом не включают описание собственно регуляции потока крови^{13,14}. Автору известно относительно небольшое число работ по моделированию функций сосудистой системы^{15,16}, в которых динамика микроциркуляции анализировалась бы в условиях активной ее саморегуляции, опосредованной клетками сосудистой стенки.

Все вышесказанное убеждает в актуальности комплексного, как экспериментального, так и модельно-теоретического исследования, направленного на расширение существующих представлений о роли опосредованных эндотелием механизмов регуляции работы микроциркуляторной сети, как цельной взаимосвязанной структуры, управляемой как гидродинамическими (гемодинамическими) законами, так и клеточными механизмами, задающими текущую упругость сосудистой стенки. Такое исследование должно включать также разработку и совершенствование методов исследования, адекватных решаемым задачам.

Таким образом, целью данной работы является развитие представлений о вкладе эндотелий-опосредованных механизмов авторегуляции сосудистого тонуса в пространственно-временную динамику кровотока в интактной микроциркуляторной сети.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Выбор биологической модели для исследования, разработка методики эксперимента, включая способы регистрации и обработки данных;
2. Разработка адекватного метода активации сосудодвигательных реакций интактной микроциркуляторной сети;

¹¹Keener J. P., Sneyd J. Mathematical physiology. – New York : Springer, 1998. – Т. 1.

¹²Formaggia L., Quarteroni A., Veneziani A. (ed.). Cardiovascular Mathematics: Modeling and simulation of the circulatory system. – Springer Science Business Media, 2010. – Т. 1.

¹³Diep H. K. et al. Defining electrical communication in skeletal muscle resistance arteries: a computational approach //The Journal of physiology. – 2005. – Т. 568. – №. 1. – С. 267-281.

¹⁴Kapela A., Nagaraja S., Tsoukias N. M. A mathematical model of vasoreactivity in rat mesenteric arterioles. II. Conducted vasoreactivity //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2010. – Т. 298. – №. 1. – С. H52-H65.

¹⁵Neganova A. Dynamical characteristics of microvascular networks with a myogenic response gradient //Journal for Modeling in Ophthalmology. – 2017. – Т. 1. – №. 4. – С. 43-61.

¹⁶Yang J. et al. The myogenic response in isolated rat cerebrovascular arteries: smooth muscle cell model //Medical engineering physics. – 2003. – Т. 25. – №. 8. – С. 691-709.

3. Экспериментальное исследование *in situ* характеристик индуцированных сосудодвигательных реакций кровеносных и лимфатических сосудов;
4. Разработка математической модели функционального сегмента кровеносного сосуда, воспроизводящей динамику кровотока в условиях нелинейной и переменной во времени упругости сосудистой стенки при максимально упрощенном описании действия основных регуляторных механизмов, реализуемых клетками гладкой мускулатуры и эндотелия;
5. Разработка метода вычислительного исследования динамики кровотока и сосудодвигательных реакций в рандомизированных модельных сетях;
6. Вычислительное исследование паттернов перераспределения сетевого кровотока в результате действия эндотелий-опосредованных механизмов регуляции сосудистой стенки.

Методология и методы исследования Экспериментальная часть работы основана на исследовании динамики кровотока в микроциркуляторной сети хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона, а также лимфотока в лимфатических сосудах брыжейки крысы.

Для неразрушающего тестового воздействия на микроциркуляцию биомоделей использовалось сфокусированное лазерное излучение. Регистрация параметров кровотока и отслеживание реакции на тестовое воздействие выполнялись путем компьютерной обработки видеозаписей методом анемометрии по изображению частиц. Для этой цели была собрана рабочая установка, включающая оптический тракт, общий для каналов воздействия и визуализации.

Модельно-теоретическое исследование динамики микроциркуляции выполнялось методом разработки математических моделей и вычислительного эксперимента с использованием компьютерных программ, созданных в ходе исследования. Программы обеспечивали как генерацию топологии микроциркуляторной сети, так и расчет потоков в ней с учетом основных механизмов авторегуляции сосудистого тонуса.

Научная новизна результатов диссертационной работы определяется следующим:

1. Впервые предложено использовать сфокусированное лазерное воздействие на сосудистую стенку как неразрушающий бесконтактный способ локализованной активации сосудодвигательных реакций интактной микроциркуляторной сети.

2. Выявлена зависимость характера индуцированного сосудодвигательного ответа от длины волны лазерного излучения.
3. Предложен и реализован способ исследования сетевого кровотока путем имитационного рандомизированного моделирования структуры больших фрагментов васкулярной сети, отличающийся возможностью управлять статистическими характеристиками генерируемых структур посредством задания вероятностей событий при работе алгоритма.
4. Получены новые экспериментальные и теоретические (методом математического моделирования) результаты по вкладу эндотелий-опосредованных механизмов регуляции сосудистого тонуса в сетевые паттерны микроциркуляции *in situ*.

Теоретическая и практическая значимость работы

В целом, в **теоретическом плане** предложенный в диссертационном исследовании подход к вычислительному исследованию реакций микроциркуляторной сети предлагает конкретные рецепты построения больших структур, нацеленных на моделирование динамики авторегуляции кровотока в сосудистых сетях масштаба органа. Важной особенностью подхода является возможность использования экспериментальных данных для задания шаблона структуры, а также возможность управления статистическими характеристиками полученных в итоге структур.

Практическая значимость результатов обусловлена тем, что выполненные методические и программные разработки имеют самостоятельную ценность для экспериментальных и модельных исследований микроциркуляции. В частности: предложена методика экспериментального исследования функций интактной сети сосудов на основе бесконтактного неразрушающего воздействия сфокусированным лазерным пучком; получены экспериментальные данные по согласованному изменению параметров кровотока во фрагменте интактной микроциркуляторной сети в ответ на индуцированную констрикцию одного из участков сосудов; получены экспериментальные данные по стимулирующему действию лазерного излучения на сократительную активность лимфангиона лимфатического сосуда брыжейки крысы; разработан и официально зарегистрирован в качестве результата интеллектуальной деятельности программный продукт, реализующий генерацию больших васкулярных структур с заданной статистикой топологических характеристик, что дает возможность проведения вычислительного исследования приближенных к реальности модельных микроциркуляторных сетей.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Активация сосудодвигательных реакций участка интактной микроциркуляторной сети может быть вызвана локальным воздействием лазерного излучения на один из ее сегментов. При этом направленность локального сосудодвигательного ответа (дилатация либо констрикция) зависит от рабочей длины волны лазера. Индуцированный лазерным излучением локальный сосудодвигательный ответ сопровождается распространяющейся вазоконстрикцией, которая может охватывать более одного сегмента микроциркуляторной сети.
2. Сократительная активность лимфангиона лимфатического сосуда может быть стимулирована посредством локализованного лазерного воздействия. При этом, основные характеристики (амплитуда, скорость сокращения и расслабления) спонтанного и стимулированного лазером событий сокращения не различаются.
3. Действие опосредованного эндотелием механизма расширения сосуда при росте линейной скорости кровотока в нем имеет следствием разбалансировку потоков в точках бифуркации сосудов. Применительно к выборке реализаций модельной микроциркуляторной сети данный эффект приводит к увеличению степени ее гетерогенности.

Достоверность изложенных в работе экспериментальных результатов обеспечивается соответствием количественных оценок известным физиологическим данным, а также их воспроизводимостью в эксперименте. Достоверность данных вычислительного эксперимента обеспечивается использованием стандартных численных методов и алгоритмов, а также устойчивостью моделируемых режимов и эффектов по отношению к вариации управляющих параметров локальной модели.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы представлены на 14 международных и всероссийских научных конференциях: Ежегодная всероссийская научная школа-семинар “Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине” (Саратов, 2012, 2014, 2015); International Symposium “Optics and Biophotonics” “Saratov Fall Meeting” (Saratov, 2012, 2014-2018); VII съезд Российского фотобиологического общества (пос. Шепси, Краснодарский край, 2014); 19-я, 21-я, 22-я Международная Пушчинская школа-конференция молодых ученых (Пушино, 2015, 2017, 2018); V Съезд биофизиков России (Ростов-на-Дону, 2015).

Результаты исследований по теме диссертации использованы в ходе выполнения четырех НИР: Проектная часть госзадания в сфере научной деятельности №3.1340.2014/К при поддержке Минобрнауки РФ (2014-2016);

Грант РФФИ №16-15-10252 (2016-2018); Проектная часть госзадания в сфере научной деятельности №3.1586.2017/ПЧ при поддержке Минобрнауки РФ (2017-2019). Грант РФФИ №19-15-00201 (2019-2021).

Личный вклад автора состоит в следующем:

- Структура и задачи диссертационной работы формулировались автором совместно с научным руководителем.
- Основная часть экспериментальных результатов диссертации получена лично автором. Часть данных по сетевому кровотоку в ХАО куриного эмбриона получены совместно с Курочкиным М.А., данные по действию лазерного излучения на активность лимфососудов получены совместно с Львовым Н.И. (научная группа проф. Брилля Г.Е.).
- Разработка математических моделей и вычислительный эксперимент проводились совместно с научным руководителем.

Публикации. По основным результатам диссертационного исследования в изданиях, входящих в список ВАК и зарубежных журналах, индексируемых библиографическими базами “Web of Science”, “Scopus” опубликовано 7 статей. Создан и прошел государственную регистрацию 1 результат интеллектуальной деятельности (программа для ЭВМ).

Всего по теме диссертации автором опубликовано 20 работ.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из Введения, трех глав и Заключения. Полный объем диссертации **134** страницы текста с **40** рисунками и **5** таблицами. Список литературы содержит **223** наименования.

Содержание работы

Во **Введении** обосновывается актуальность исследований, проводимых в рамках данной диссертационной работы, приводится обзор научной литературы по изучаемой проблеме, формулируется цель, ставятся задачи работы, сформулированы научная новизна и практическая значимость представляемой работы.

Первая глава диссертации посвящена описанию объектов и методики экспериментальных исследований, а также методам и алгоритмам обработки данных.

Приведено описание методики и особенностей работы с сосудистой сетью хориоаллантоисной оболочки (ХАО) куриного эмбриона как с биологической моделью полнофункциональной сети микроциркуляции, в частности

– при выращивании эмбриона *ex ovo*, вне скорлупы, см. рисунок 1. Описана созданная в ходе работы специализированная система прижизненной микроскопии, особенностью которой является возможность высоколокализованного неразрушающего лазерного воздействия на выбранный фрагмент кровеносного или лимфатического сосуда (см. рисунок 2) с одновременной регистрацией сетевого кровотока для его количественного анализа методом анемометрии по изображениям частиц. Показано применение способа выделения и анализа ритмических компонент по данным изменения скорости кровотока. Приведено описание разработанного алгоритма “VascuNet”, способного генерировать топологию имитационных моделей больших васкулярных сетей размером до 1000 сегментов.

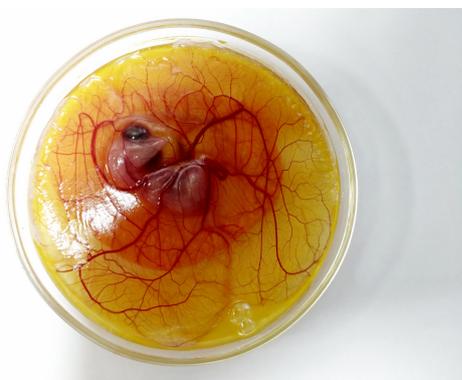


Рисунок 1: Сеть кровеносных сосудов куриного эмбриона, выращенного *ex ovo* в чашке Петри

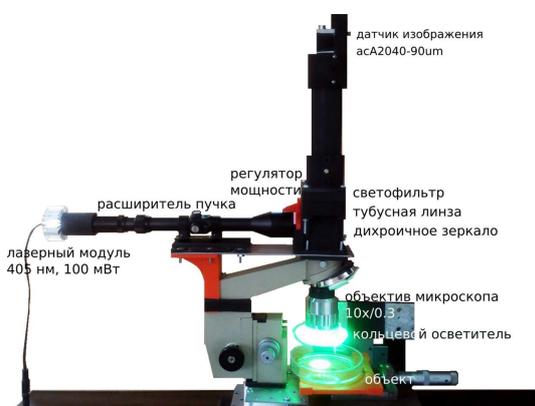


Рисунок 2: Общий вид и компоненты экспериментальной установки

Во Второй главе диссертации описаны результаты экспериментальных исследований, проведенных на кровеносных сосудах ХАО куриных эмбрионов и лимфатических сосудах брыжейки лабораторных крыс с целью оценки вклада эндотелий-опосредованного механизма в динамику сетевого кровотока и лимфотока.

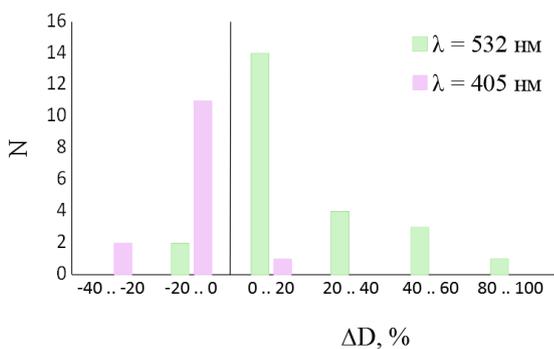
Воздействие на выбранный участок сосуда *in situ* осуществлялось точечным воздействием лазера с длиной волны 405 нм или 532 нм с выходным пучком 10-20 мкм в диаметре. В трех различных сериях экспериментов на ХАО куриных эмбрионов анализировалась реакция одиночного сосуда (объекта воздействия), трех сосудов, образующих Y-бифуркацию, а также 4-7 сегментов в поле зрения, образующих малую микроциркуляторную сеть.

Исследование лазер-индуцированной вазореактивности одиночного сосуда показало, что локальная реакция (дилатация либо констрикция) наблюдается в 100% случаев, при этом ее характер зависит от длины волны лазерного излучения: на длине волны 405 нм в 92% случаев наблюдается вазоконстрикция, а на длине волны 532 нм в 93% случаев – дилатация исследуемого

сосуда. Соответствующая гистограмма распределения по силе реакции показана на рисунке 3.

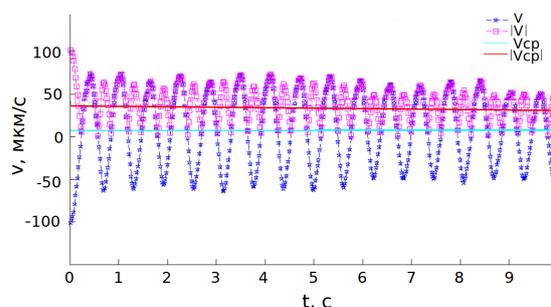
Установлено, что локальный сосудодвигательный ответ на лазерное излучение во многих случаях сопровождается распространяющейся вазоконстрикцией, охватывающей значительный (> 500 мкм) участок сосуда по/против направления кровотока, и может распространяться через точки бифуркации сосуда. Согласно современным представлениям, наблюдаемый эффект обусловлен передачей импульса деполяризации по межэндотелиальным щелевым контактам и, насколько известно автору, впервые наблюдался в результате лазерного воздействия, в отличие от ранее применяемой локальной электростимуляции.

Исследован сетевой кровоток при высоком уровне пульсаций, что характерно для микроциркуляторной сети ХАО. Выявлены ситуации, при которых средняя скорость кровотока (суммарное смещение, дрейф форменных элементов крови) существенно ниже, чем средняя абсолютная ее величина. Эта величина определяет величину сдвигового напряжения и, следовательно, реакцию клеток эндотелиального слоя, которая способствует запуску сосудодвигательных реакций, см. рисунок 4. Наблюдаемую ситуацию можно интерпретировать как сценарий сбоя эндотелиального механизма авторегуляции в ситуации, когда возникает фаза противотока крови в сосуде: и без того пониженная средняя скорость уменьшается еще больше за счет реакции КЭ на высокое сдвиговое напряжение, что способствует гипоксии.



ΔD — изменение диаметра в %, N — количество образцов. Вертикальная линия на 0% разделяет области дилатации и констрикции.

Рисунок 3: Реакция сосудов на лазерное воздействие с длиной волны 405 и 532 нм

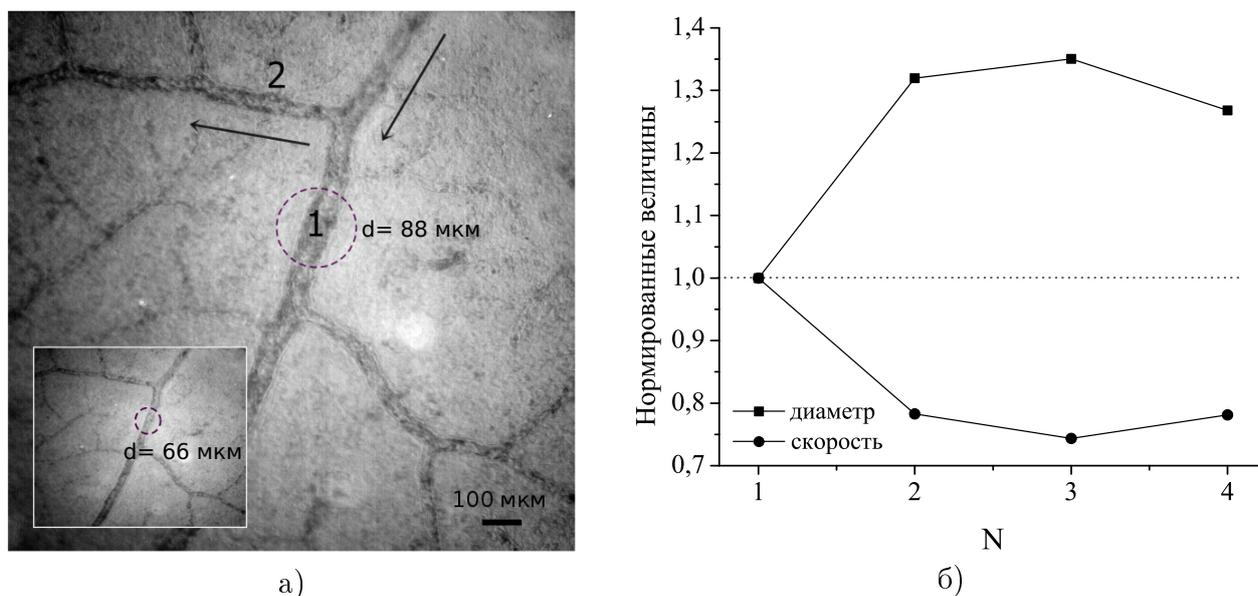


В случае знакопеременной скорости кровотока средняя скорость дрейфа V_{cp} мала, а средний модуль линейной скорости $|V_{cp}|$, а значит и сдвиговое напряжение, велики.

Рисунок 4: Исследование пульсирующего кровотока.

Исследования реакции на воздействие сосудов, образующих Y-бифуркацию продемонстрировали их взаимозависимость. На рисунке 5 показано, как вызванное лазерным воздействием изменение диаметра сосуда 1

привело к изменению линейной скорости кровотока в сосуде 2, что, в свою очередь, создает условия для активации КЭ.



а) Исследуемая МЦС. Лазерное воздействие оказывалось на сосуд 1. Вставка показывает контрольное состояние сети. Стрелками обозначено направление потока. б) График изменения диаметра и скорости кровотока, измеренные по сосудам 1 и 2, соответственно. N=1 данные при контрольном состоянии, N=2,3 – после двух последовательных воздействий, N=4 – спустя 5 мин после последнего воздействия.

Рисунок 5: Взаимосвязанный отклик сосудов кровеносной сети

Исследование лазер-индуцированной вазореактивности интактного фрагмента микроциркуляторной сети (4-7 сосудов в области визуализации) ХАО куриного эмбриона показало, что паттерны изменения состояния (диаметров и линейной скорости кровотока) в сосудах, прилежащих к месту воздействия лазера, имеют сложный характер и существенно отличаются от тех, которые можно было бы ожидать при “гидродинамической” интерпретации реакций такой системы. В целом, полученные результаты подтверждают тезис о важном вкладе процессов авторегуляции сосудистого тонуса в формирование отклика микроциркуляторной сети на локальные воздействия или повреждения.

В рамках накопления данных о применимости и характере действия предложенного метода лазерной активации сосудодвигательных реакций проведена серия экспериментов по лазерному воздействию на лимфатические сосуды брыжейки крысы. Конкретной целью данных экспериментов было установить, может ли применяемое лазерное воздействие индуцировать сосудодвигательные реакции в отсутствие эритроцитов, которые, как известно, способны продуцировать выработку NO ¹⁷. По итогам серии получен по-

¹⁷Pawloski J. R., Hess D. T., Stamler J. S. Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity //Nature. – 2001. – Т. 409. – №. 6820. – С. 622-626.

ложительный результат – во всех случаях удавалось добиться усиления сократительной активности лимфатического сосуда (до 6 сокращений лимфангиона подряд) с его возвращением к нормальному функционированию при прекращении воздействия. Индуцированное сокращение распространялось в обе стороны от места воздействия (а не от места расположения пейсмейкера лимфангиона), что поддерживает гипотезу о запуске лазерным воздействием механизма деполяризации гладкомышечных клеток лимфососуда.

В целом, результаты проведенных экспериментальных исследований позволили выявить основные типы сосудистых реакций в исследованных микроциркуляторных сетях, тем самым создав базу для их модельно-теоретического анализа, которому посвящена третья глава диссертационной работы.

В Третьей главе диссертации описаны математические модели и результаты вычислительных экспериментов в рамках задач по теоретическому исследованию вклада эндотелий-опосредованных механизмов в авторегуляцию сосудистого тонуса сетей микроциркуляции.

При разработке и применении математических моделей кровотока, основным является вопрос, в какой степени могут и должны быть учтены физиологические механизмы, определяющие реакцию как одиночного сосуда, так и их группы, на изменение внешних условий либо на изменение состояния самой сети. Так, излишняя степень детализации может не повысить, а снизить практическую ценность модели, так как требование адекватно задать сотни параметров, из которых не все можно оценить с достаточной точностью, ставит под вопрос и ценность результатов. Кроме того, в отличие от большого количества работ по математическому моделированию кровотока, проведенное модельное исследование было сфокусировано не на получении информации о потоках и давлениях в узлах сети, а на управляющие ими изменения сосудистого тонуса.

В рамках данной диссертационной работы развит подход, который включает:

- 1) базовую модель сегмента сосуда как минимально возможный “модельный кирпичик”, который, однако, снабжен основными цепями регуляции диаметра и способен демонстрировать типичные реакции сосудистой стенки;
- 2) модели малых (от 3 до 14) фрагментов микроциркуляторной сети, построенные путем объединения набора моделей сегментов с различными значениями параметров в иерархические структуры, топология которых построена при помощи специально разработанной программы.

Особенностью и элементом новизны предлагаемой модели является совмещение как гемодинамических аспектов реакции сосуда (описание пото-

ков, изменение его радиуса в зависимости от трансмурального давления), так и двух основных клеточных механизмов, управляющих изменением упругости сосудистой стенки: миогенного (реакция клеток гладкой мускулатуры на трансмуральное давление) и эндотелиального (реакция клеток эндотелия на изменение линейной скорости кровотока). Предложенная модель элементарного сегмента сосуда содержит четыре динамические переменные, описывающие динамику давления в сегменте, его радиуса, степени активации клеток эндотелия и клеток гладкой мускулатуры (КГМ). На рисунке 6 представлена диаграмма взаимосвязи переменных и вспомогательных величин модели. Как можно видеть, включенные в модель цепи регуляции реализуют данное действие через модуляцию степени эластичности сосудистой стенки (сила упругости F на диаграмме). Два серых прямоугольника выделяют функциональные элементы, соответствующие КЭ и КГМ моделируемого сегмента сосуда. Тем не менее, разработанная модель успешно воспроизводит характерные реакции радиуса сосуда на изменение трансмурального давления (констрикция при росте давления, опосредованная КГМ) и на линейную скорость кровотока (дилатация при росте сдвигового напряжения, опосредованная КЭ).

В материалах главы описаны два варианта (размерный и безразмерный) математической модели авторегуляции кровотока в функциональном сегменте сосуда. Исследование редуцированной версии модели (уравнение для давления p в адиабатическом приближении было исключено) показало, что в широком диапазоне начальных условий и управляющих параметров имеется единственное состояние равновесия – устойчивый узел, что гарантирует адекватность поведения сегмента в составе сети. На рисунке 7 показан типичный фазовый портрет в пространстве трех переменных.

Далее, в главе описаны результаты вычислительных экспериментов для ряда выбранных случаев последовательно усложняющейся конфигурации сосудистой сети, включая:

1. Реакцию одиночного сегмента на тестовый сигнал. Была представлена верификация модели путем проверки качественного соответствия ее реакций на рост давления и скорости кровотока относительно литературных данных по физиологии. А именно, была показана работа миогенного механизма, стремящегося уменьшить радиус сосуда в ответ на рост трансмурального давления². При комбинированном отклике на трансмуральное давление и линейную скорость кровотока, изменение радиуса в разные интервалы времени определялось сначала миогенным, а затем – и эндотелиальным механизмами, так как последний значительно медленнее миогенного. В итоге, общее время установления нового режима сосуда на изменение давления составляло 1-1.5 минуты, что соответствует физиологическим данным по эффекту FMD

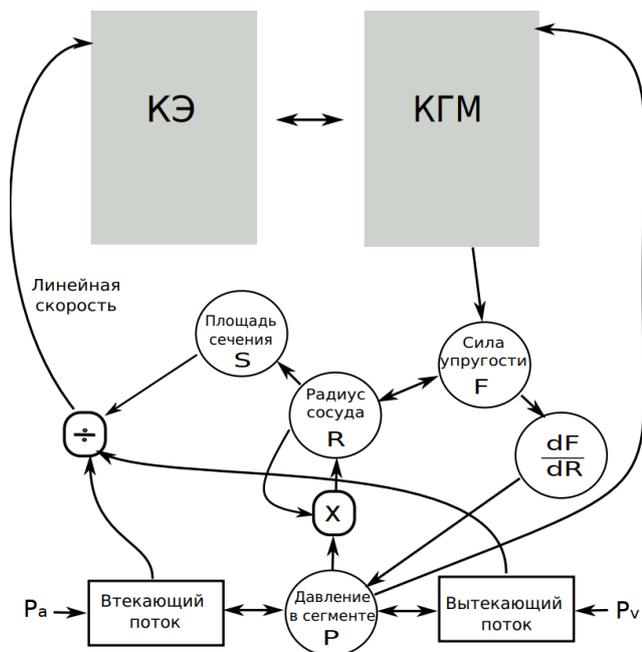


Рисунок 6: Причинно-следственные связи и переменные модели сегмента сосуда

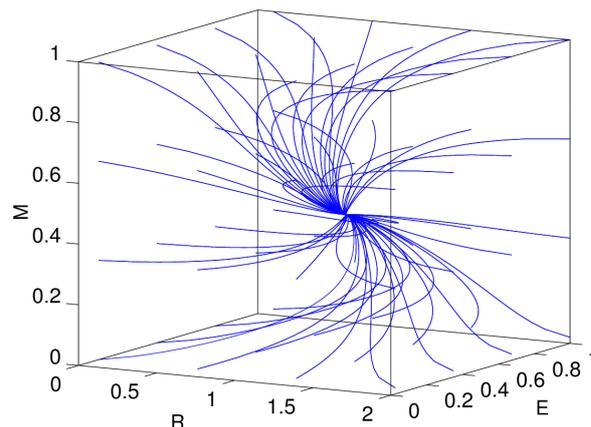


Рисунок 7: Фазовый портрет безразмерной редуцированной математической модели

(flow-mediated dilation)¹⁸. Имитационное моделирование сильной пульсации кровотока, подобно той, которая наблюдалась экспериментально и описана в Главе 2, показало зависимость характера реакции от силы пульсаций: увеличение диаметра сосуда при больших пульсациях кровотока и уменьшение диаметра при малых, что объяснимо тем, что КЭ реагирует на величину напряжения сдвига, которое определяется величиной линейной скорости потока, но не ее знаком.

2. Перераспределение кровотока на Y-бифуркации сосудов при окклюзии одного из сегментов. Была смоделирована сосудистая сеть из трех сегментов: первый разветвлялся на второй и третий. В ходе вычислительного эксперимента моделировалась окклюзия одного из дочерних сегментов. Распределение потоков и изменение радиусов оставшихся двух определялись силой вклада эндотелиальной регуляции и соответствовали распределениям в экспериментальных исследованиях. Продемонстрирована возможность и предложено объяснение парадоксальной ситуации, когда окклюзия одного из дочерних сегментов не уменьшает общий втекающий поток.

3. Перестройку состояния малой микроциркуляторной сети в ответ на действие эндотелиального механизма. В данном разделе приведено описание результатов модельного исследования реакции малой микроциркулятор-

¹⁸Thijssen D. H. J. et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2011. – Т. 300. – №. 1. – С. H2-H12.

ной сети на (а) изменение состояния (окклюзию) одного из входящих в нее сосудов, и (б) изменение вклада эндотелиальной регуляции. Моделируемая МЦС строилась с помощью разработанной в ходе диссертационного исследования программы “VascuNet” и включала 14 сегментов, из которых по 7 принадлежали артериальной и венозной частям, рисунок 8 а). Вычислительный эксперимент проводился на программно сгенерированной популяции из 20 реализаций сети одинаковой топологии (бинарное дерево из 14 сегментов), но с рандомизированным распределением длин входящих в сеть сосудов, и был направлен на выявление общего вклада эндотелиального механизма регуляции.

Анализ полученных данных позволил сформулировать тезис о разбалансированном действии эндотелиального механизма, что выражалось в усилении различий состояний и режимов исследуемых 20 вариантов сети по мере увеличения его вклада. Сделанный вывод был проиллюстрирован специальным вычислительным экспериментом на вырожденной (полностью симметричной и однородной по параметрам) реализации 14-сегментной сети. В результате эксперимента с увеличением силы эндотелиальной регуляции (что в физиологии соответствует увеличению напряжения сдвига под действием увеличения линейной скорости потока) на бифуркациях сосудов наблюдается разбаланс сильных потоков и наоборот, восстановление симметрии в ветвях с уменьшенным кровоснабжением, см. рисунок 8 б).

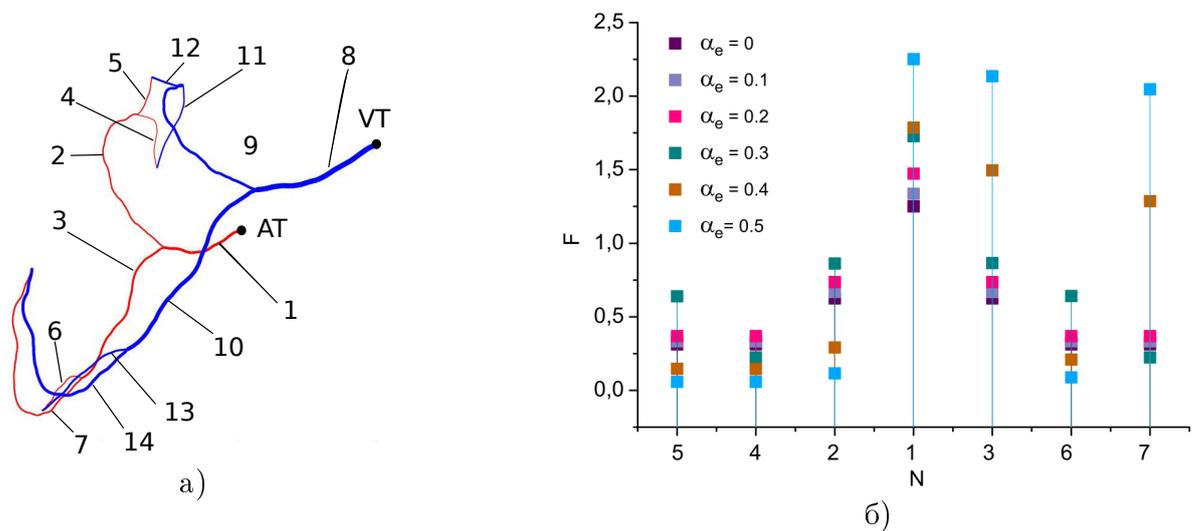


Рисунок 8: (а) Детализация сегментов сосудистой сети модели. Аббревиатурами АТ и VT обозначены артериальный и венозный терминалы, соответственно. (б)

Моделирование изменения протекающего потока через симметричную сеть в зависимости от эндотелиальной регуляции. Цифры 1,2 ... 7 соответствуют сегментам сети, представленной на панели (а). α_e – параметр, отвечающий за силу эндотелиальной регуляции.

В **Заключении** приведены основные результаты работы, которые кратко заключаются в следующем:

1. Исследование лазер-индуцированной вазореактивности одиночного сосуда хориоаллантаоисной оболочки куриного эмбриона показало, что высоколокализованное дозированное лазерное воздействие индуцирует сосудодвигательные реакции (вазореактивность), при этом тип реакции (дилатация или констрикция) в значительной степени зависит от длины волны лазерного излучения.
2. Экспериментально показано, что высоколокализованное дозированное лазерное воздействие на сосудистую стенку сосудов хориоаллантаоисной оболочки куриного эмбриона, помимо локального вазореактивного эффекта, индуцирует распространяющуюся вазоконстрикцию, охватывающую расположенные выше и ниже по потоку участки сосуда, и в ряде случаев – переходящую на соседние сегменты сосудов.
3. Исследование лазер-индуцированной вазореактивности интактного фрагмента микроциркуляторной сети хориоаллантаоисной оболочки куриного эмбриона показало, что паттерны изменения диаметров и линейной скорости кровотока в сосудах, прилежащих к месту воздействия лазером, имеют сложный характер и существенно отличаются от тех, которые можно было бы ожидать при “гидродинамической” интерпретации реакций такой системы.
4. Установлено, что высоколокализованное дозированное лазерное воздействие с длиной волны 405 нм оказывает стимулирующее действие на сократительную активность лимфангиона лимфатических сосудов брюшной полости крысы.
5. Разработана и верифицирована математическая модель малого сегмента кровеносного сосуда, оптимизированная для задач исследования динамики паттернов вазореактивности путем объединения в сети различной топологии с учетом локальных механизмов регуляции сосудистого тонуса.
6. Продемонстрировано различие в реакции малого фрагмента сети на локальную окклюзию отдельной структуры и фрагмента интактной микроциркуляторной сети.
7. Показано, что действие эндотелиального механизма регуляции сосудистого тонуса (поток-зависимая дилатация) способствует разбалансировке потоков в точках бифуркации сосудов. На уровне многосегментной

сети данный эффект приводит к увеличению степени ее неоднородности, что выражается в большем разбросе диаметров и потоков по сравнению со случаем, когда эндотелиальный механизм не действует.

Основные публикации по теме диссертации Литвиненко (Стюхиной) Елены Сергеевны

Статьи в российских журналах, входящих в список ВАК:

1. Е. С. Стюхина, М. А. Курочкин, И. В. Федосов, Д. Э. Постнов Лазер-индуцированные сосудодвигательные реакции на хориоаллантоисной мембране // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 1. С. 71–78.
2. Е. С. Стюхина, Ю. Н. Автомонов, Д. Э. Постнов Математическая модель авторегуляции сосудистого тонуса // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. 2018. Т. 18, вып. 3 С. 202–214.

Статьи в зарубежных изданиях, индексируемых реферативными базами “Web of Science”, “Scopus”:

3. E. B. Postnikov, E. S. Stiukhina, D. E. Postnov A fast memory-saving method for the Morlet wavelet-based transform and its application to in vivo assessment of microcirculation dynamics // Applied Mathematics and Computation, 2017. V 305. P. 251–261.
4. E. S. Stiukhina, M. A. Kurochkin, I. V. Fedosov, D. E. Postnov Highly localized laser-induced vascular responses // Proc. SPIE 10717, Saratov Fall Meeting 2017: Laser Physics and Photonics XVIII; and Computational Biophysics and Analysis of Biomedical Data IV, 107171Z.
5. E. S. Stiukhina, M. A. Kurochkin, V. A. Klochkov, I. V. Fedosov, D. E. Postnov Tissue perfusability assessment from capillary velocimetry data via the multicompartment Windkessel model // proc. SPIE. – 2015. - № 9448. - 94481K.
6. A. Y. Neganova, E. S. Stiukhina, D. E. Postnov Mathematical model of depolarization mechanism of conducted vasoreactivity // Proc. SPIE. – 2015. - № 9448. - 94481J.
7. E. S. Stiukhina, D. E. Postnov Modeling study of terminal transients of blood flow // Proc. SPIE 9917, Saratov Fall Meeting 2015: Third International Symposium on Optics and Biophotonics and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS), 99172.

Результат интеллектуальной деятельности:

8. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ “VascuNet” № 2017661135 от 04.10.2017.

Прочие публикации автора по теме диссертации

1. Е. С. Стюхина, М. А. Курочкин, И. В. Федосов, Д. Э. Постнов Лазер-индуцированная вазодилатация как метод тестового воздействия на микроциркуляторную сеть Биология – наука XXI века: 21-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 17 - 21 апреля 2017 г., Пущино. Сборник тезисов, 2017 С. 77
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, 42-44, 2012.
3. Е. С. Стюхина, М. А. Курочкин, И. В. Федосов, В. В. Тучин, Д. Э. Постнов Оценка динамических характеристик капиллярного кровотока методами окклюзионной фотоплетизмографии и капилляроскопии, материалы VII съезда Российского фотобиологического общества, Пущино, 92, 2014.
4. Е. С. Стюхина, М. О. Цой, М. А. Курочкин, В. А. Ключков, Д. Э. Постнов Оценка динамики микроциркуляции при венозной окклюзии верхней конечности, материалы Всероссийской молодежной конференции “Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине - 2014”, Саратов, Издательство Саратовского Университета, 252-253, 2014.
5. Е. С. Стюхина, Д. Э. Постнов Динамические паттерны вазореактивности Биология – наука XXI века: 22-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых, Сборник тезисов, Пущино, 2018. С. 436.
6. Е. С. Стюхина, А.Ю. Неганова, Д.Э. Постнов Нелинейно-динамические аспекты механизмов распространяющейся вазодилатации, Биология – наука XXI века: 19-я Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых (Пущино, 20-24 апреля 2015 г.). Сборник тезисов. Пущино, 114, 2015.
7. Е. С. Стюхина, Д. Э. Постнов Исследование динамики кровотока в постмортальном периоде на ХАО куриного эмбриона, V Съезд биофизиков России. Материалы докладов : в 2 т. - Ростов-на-Дону : Издательство Южного федерального университета, т. 2, 279, 2015.
8. Е. С. Стюхина, Д. Э. Постнов Модельная оценка гравитационного вклада в терминальные переходные процессы кровотока, Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2015 : материалы Всерос. молодеж. конф. / под ред. проф. Д.А. Усанова. - Саратов: Изд-во Саратовский источник, 44, 2015.
9. М. А. Kurochkin, E. S. Stiukhina, I. V. Fedosov, D. E. Postnov, V. V. Tuchin Micro-PIV quantification of capillary blood flow redistribution caused by laser-assisted vascular occlusion // Proc. SPIE 9917, Saratov Fall Meeting 2015: Third International

Symposium on Optics and Biophotonics and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS), 99171T, 2016.

10. M. A. Borozdova, E. S. Stiukhina, A. A. Sdobnov, I. V. Fedosov, D. E. Postnov, V. V. Tuchin Quantitative measurement of blood flow dynamics in chorioallantoic membrane of chicken embryo using laser Doppler anemometry // Proc. SPIE 9917, Saratov Fall Meeting 2015: Third International Symposium on Optics and Biophotonics and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS), 99170W, 2016.
11. M. A. Kurochkin, E. S. Stiukhina, I. V. Fedosov Adaptive micro-PIV for visualization of capillary network microcirculation using Niblack local binarization // Proc. SPIE 10336, Saratov Fall Meeting 2016: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVIII, 103360W, 2017.
12. A. A. Namykin, E. S. Stiukhina, I. V. Fedosov, D. E. Postnov Fluorescent angiography of chicken embryo and photobleaching velocimetry // Proc. SPIE 10336, Saratov Fall Meeting 2016: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XVIII, 103360V, 2017.
13. M. A. Kurochkin, E. S. Stiukhina, I. V. Fedosov, V. V. Tuchin Blood flow velocity measurements in chicken embryo vascular network via PIV approach // Proc. SPIE 10716, Saratov Fall Meeting 2017: Optical Technologies in Biophysics and Medicine XIX, 107160H, 2018.