



Перспективные достижения междисциплинарных исследований

Панченко Владислав Яковлевич, д.ф.-м.н., проф., акад. РАН, вице-президент РАН

Пантелеев Михаил Александрович, д.ф.-м.н., проф., чл.-корр. РАН

Кафедра медицинской физики физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН

НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева

Ветви медицинской физики

Физические подходы в диагностике, лечении, вопросах патофизиологии



- Визуализация (КТ, МРТ...)
- Хирургия (лазеры, роботы...)
- Протезы, матриксы, нейроинтерфейсы...
- Приборы для лабораторной диагностики

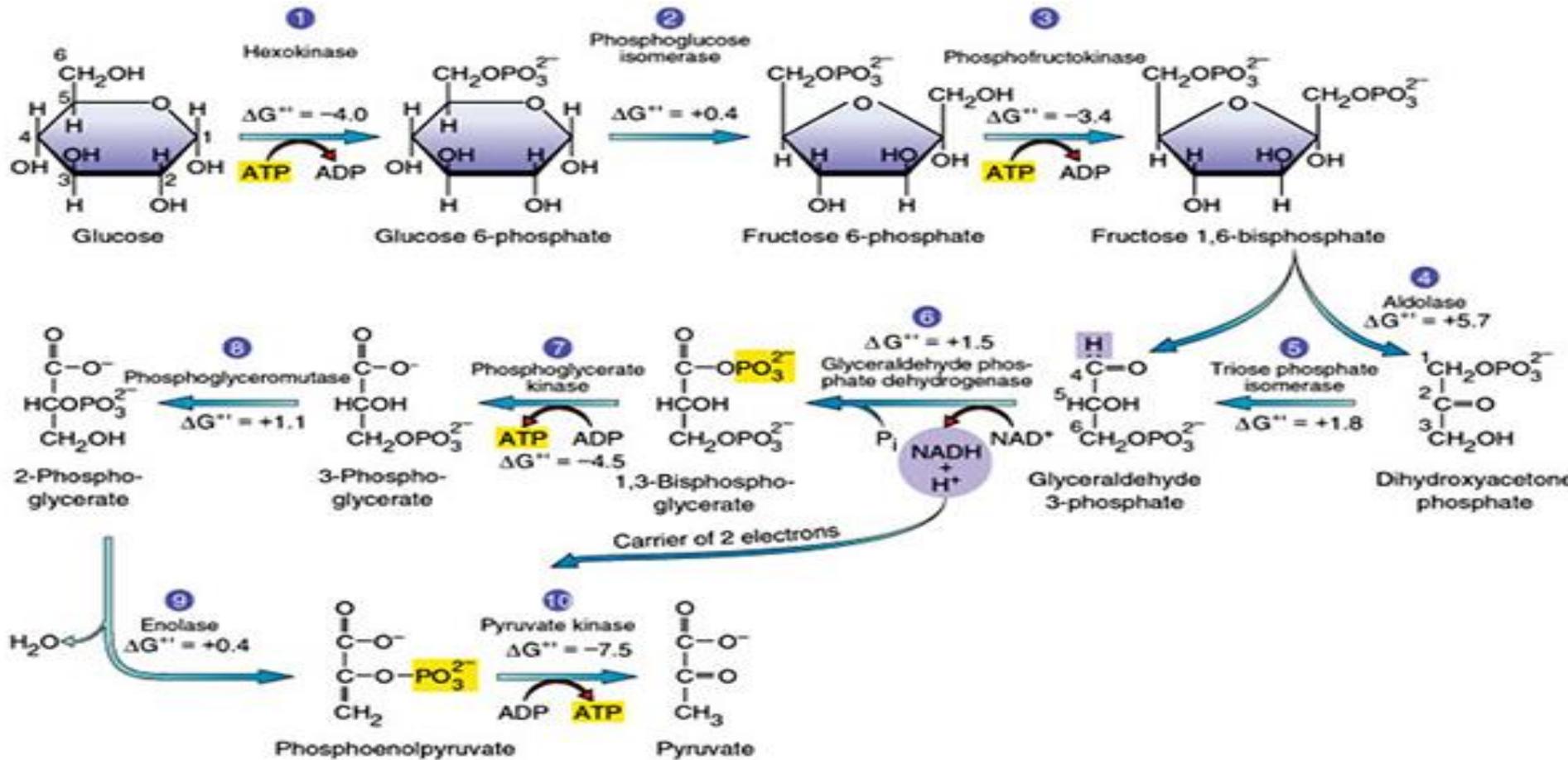
Физические подходы к регуляции и управлению в биологических системах



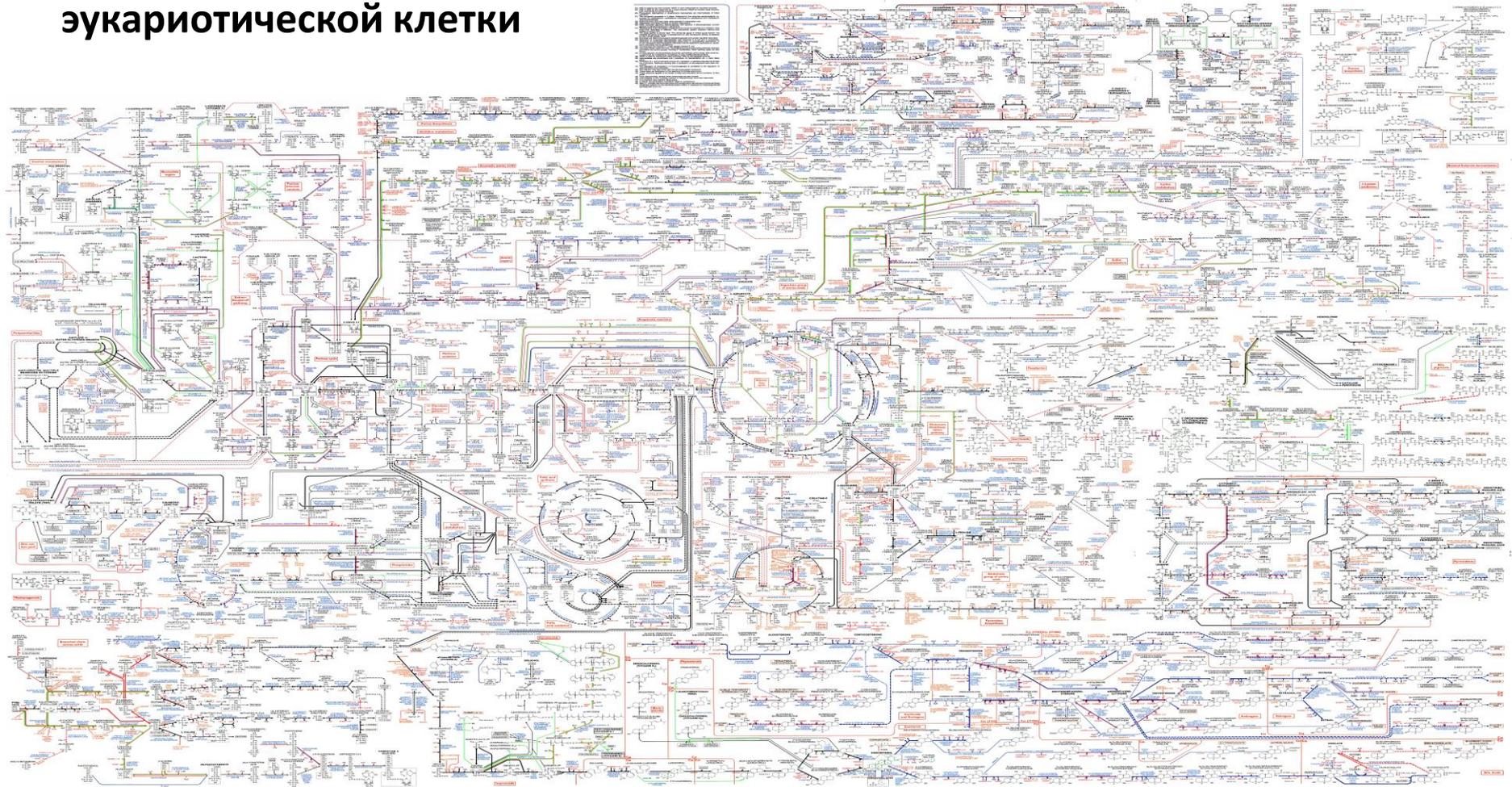
- Выявление физиологических механизмов работы систем организма
- Понимание механизмов заболеваний
- Создание новых подходов в диагностике
- Определение мишеней для терапии
- Разработка и исследование лекарств (от придумывания молекулы до пост-клинических исследований)

Часть 1. Проблема регуляции биологических систем

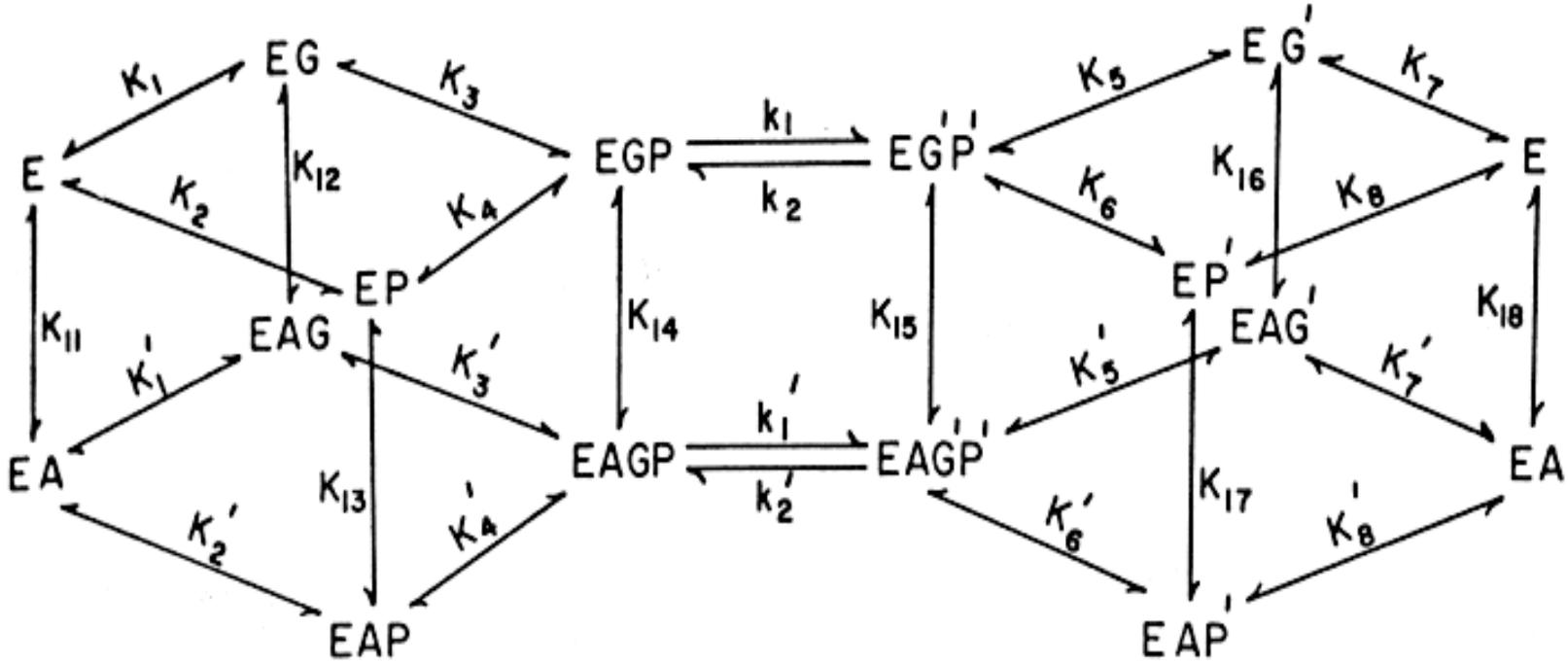
Классический гликолиз



Метаболизм эукариотической клетки



Одна реакция в метаболизме гликогена



Проблема биологической сложности

1. Большое количество компонентов в системах
2. Изобилие связей между компонентами на разных уровнях организации
3. Плохая охарактеризованность (причем практически перманентная)
4. Плохая воспроизводимость экспериментов и разброс между индивидуумами
5. Сложность составных частей
6. Комбинаторная сложность
7. Нестационарность во времени
8. Пространственная неоднородность, компартменты, диффузия

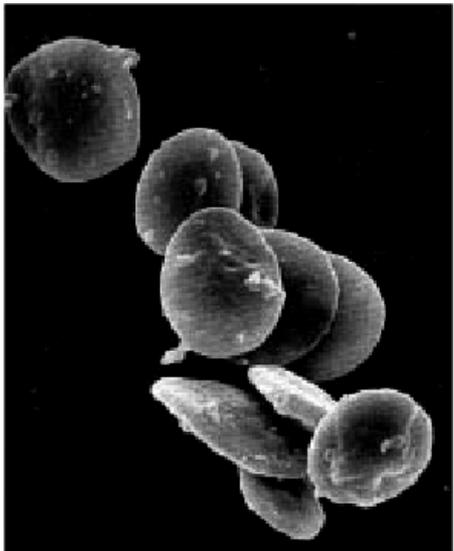
Как с ней бороться?

1. **Использование особенностей биологических систем: устойчивость, модульность, функциональность, многомасштабность, иерархичность - и, в конечном итоге, простота**
2. Разумное сочетание теории и эксперимента
3. Специализированные приемы моделирования и исследования моделей
4. Специализированный дизайн экспериментов
5. Использование вычислительных методов и баз данных
6. Использование высокопроизводительных экспериментальных методов

Часть 2. Конкретные примеры

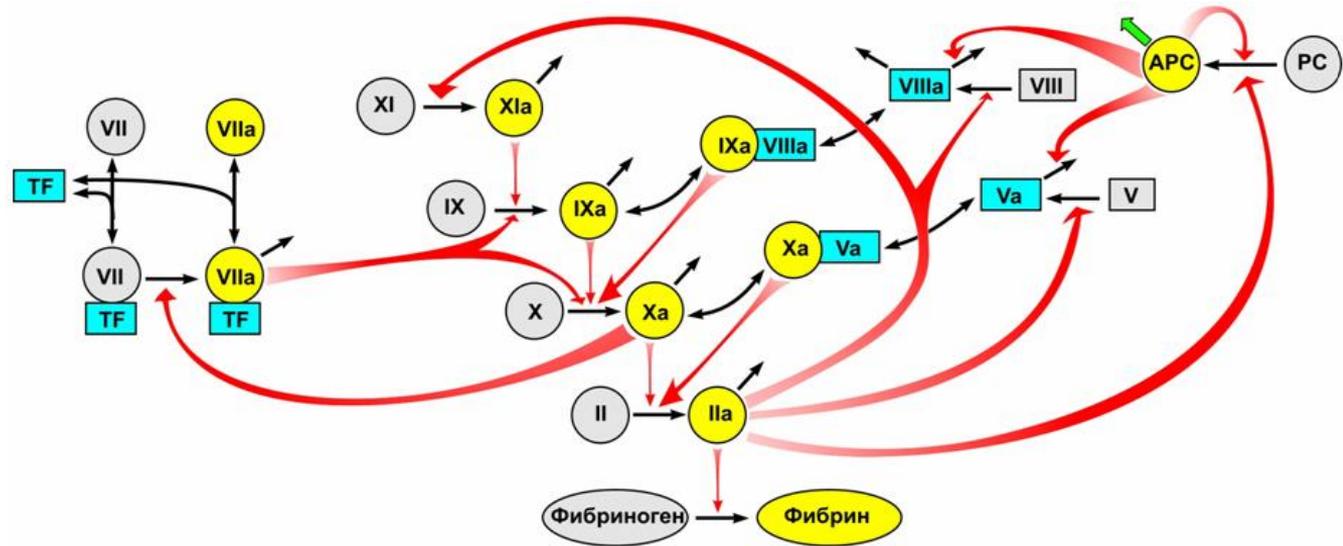
Механизмы гемостаза

Тромбоциты

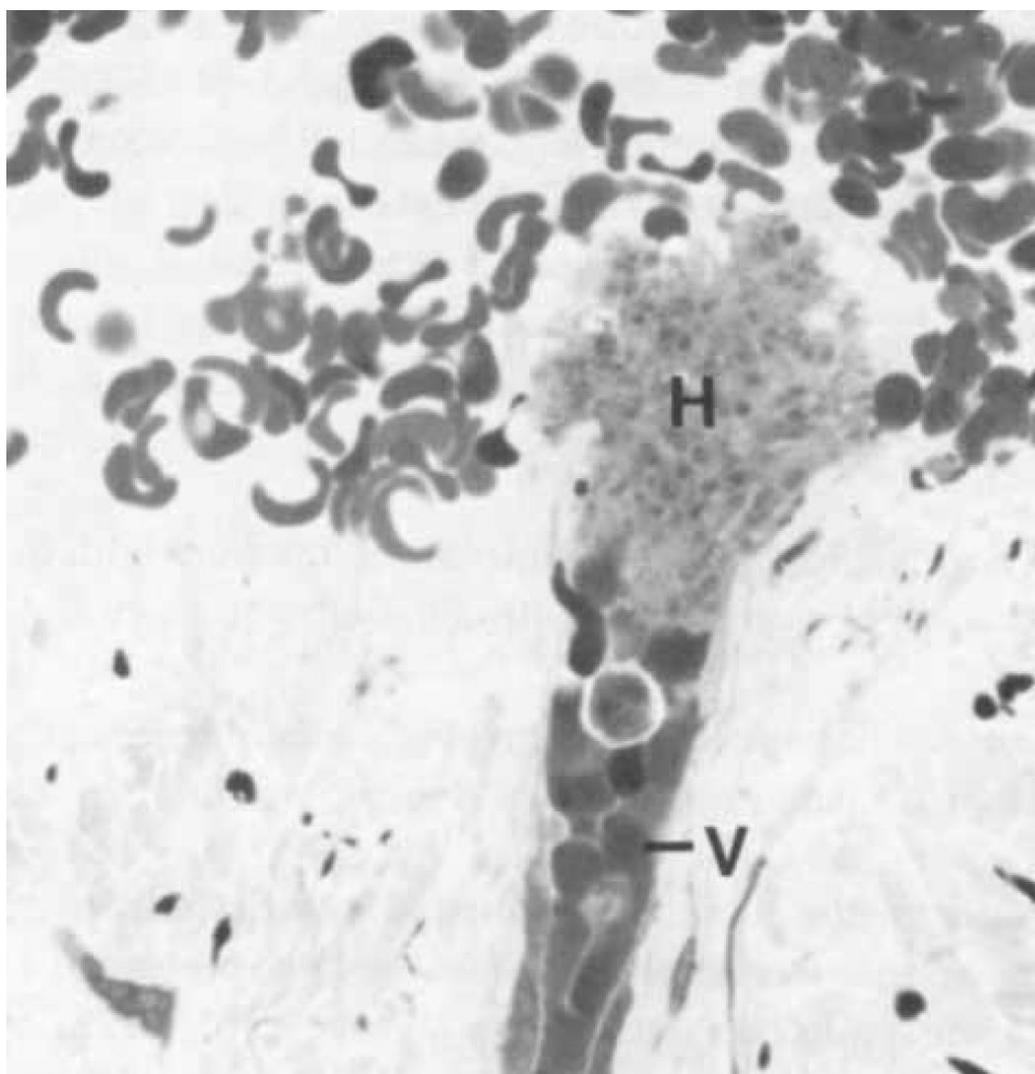


Ohlmann et al.
Blood 2000; 96: 2134-2139

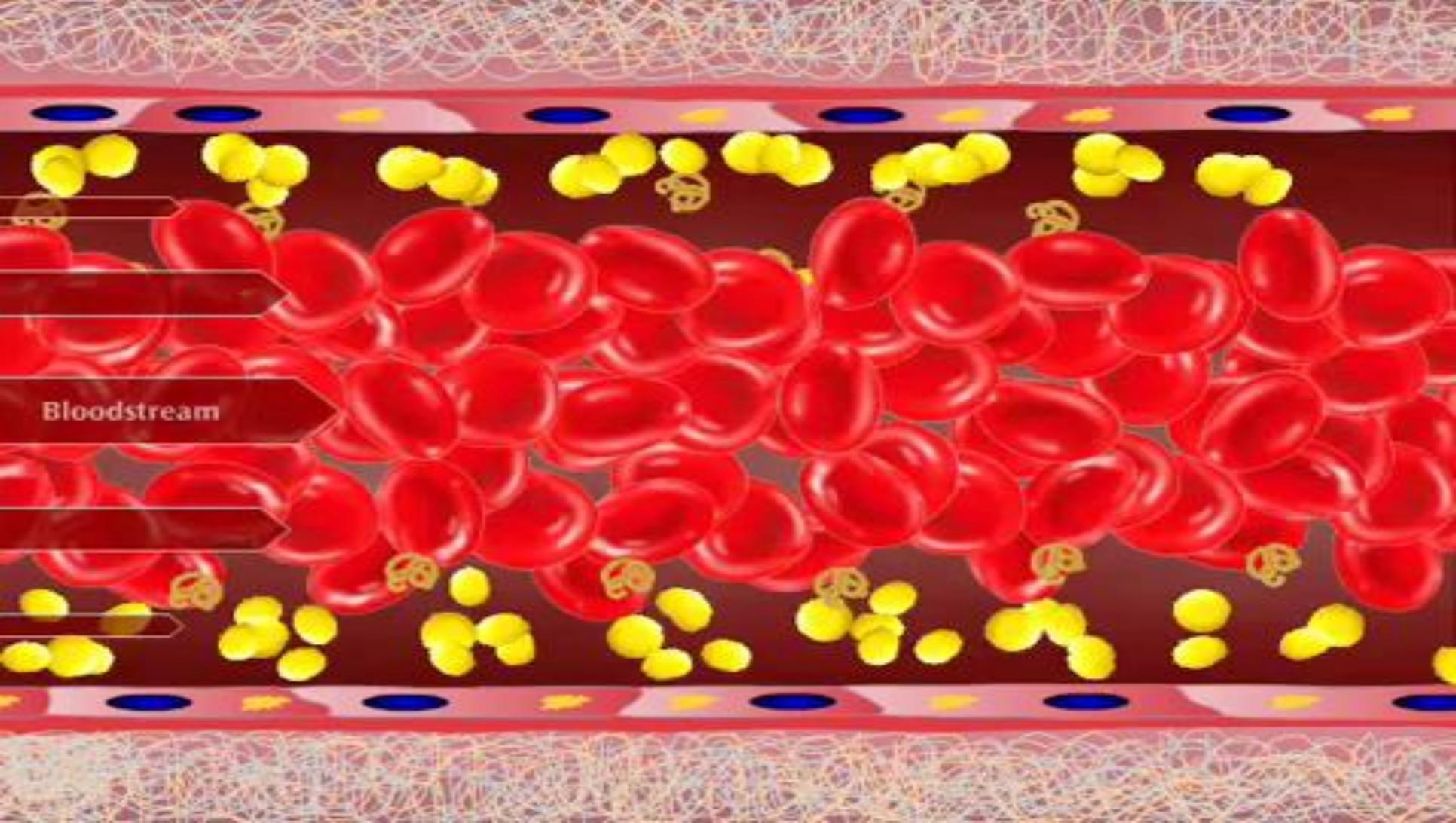
Свертывание крови



Pantelev et al.
Biophys J 2010; 98:1751-1761



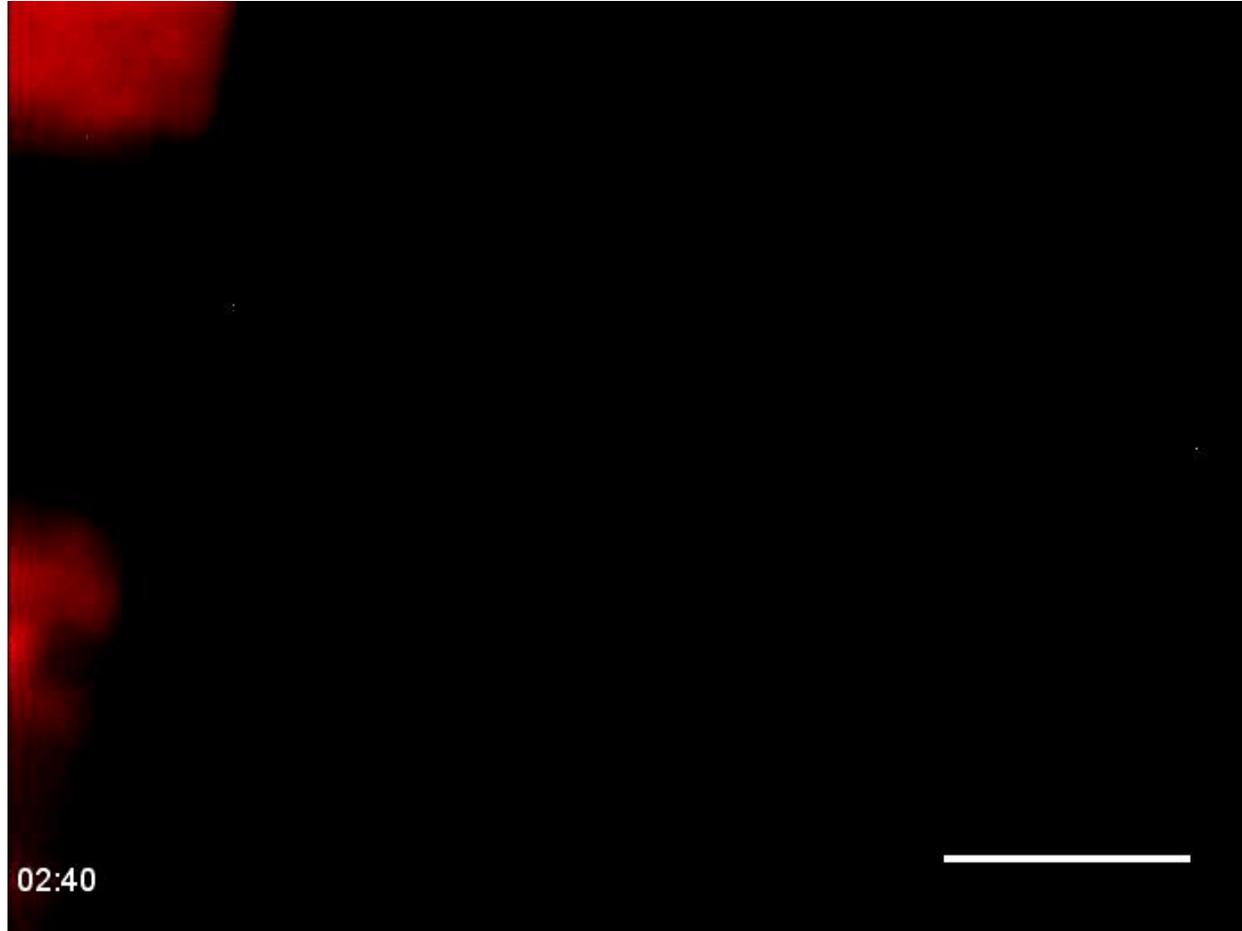
Гемостатический агрегат



Bloodstream

Динамика тромбообразования в сосуде мыши

Platelets
Fibrin

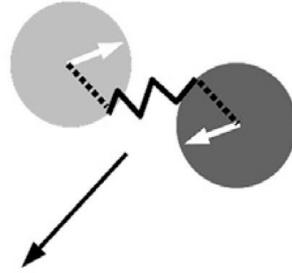


Data by Aleksandra Yakusheva

Пример 1. Тромбоциты

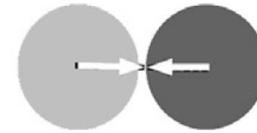
Модель взаимодействия тромбоцитов

Stochastic springs-mediated interaction

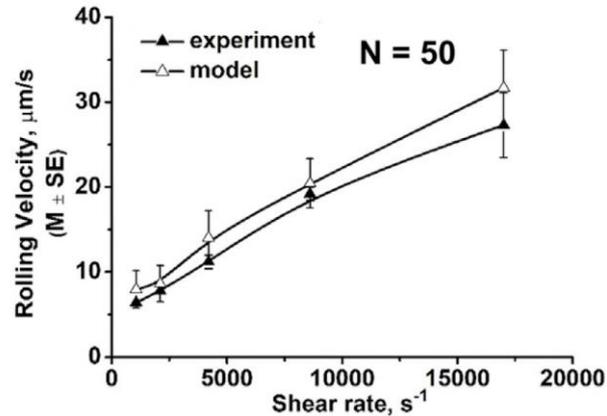
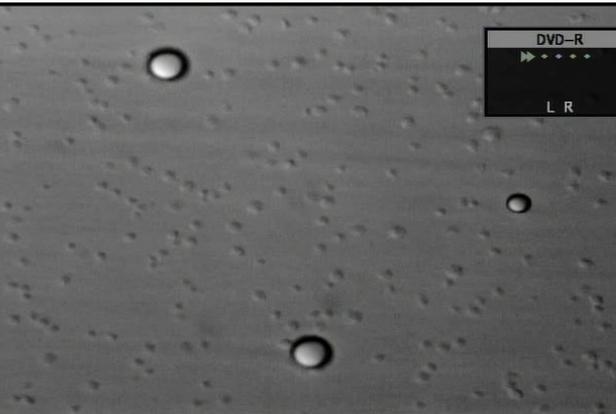


$\text{GPIb}\alpha - \text{vWF} - \text{GPIb}\alpha$

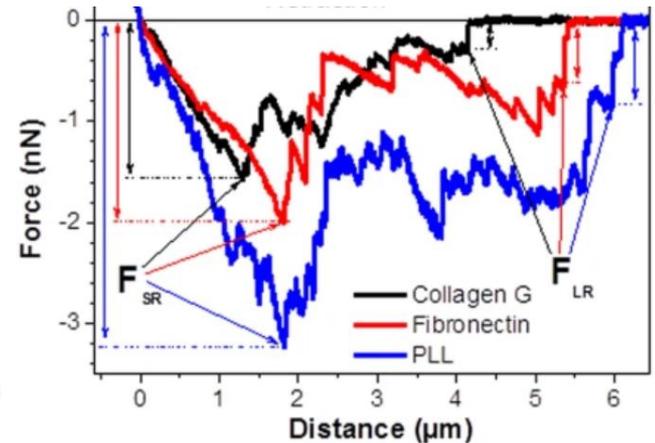
Deterministic interaction



$\alpha_{\text{IIb}} \beta_3 - \text{Fg} - \alpha_{\text{IIb}} \beta_3$



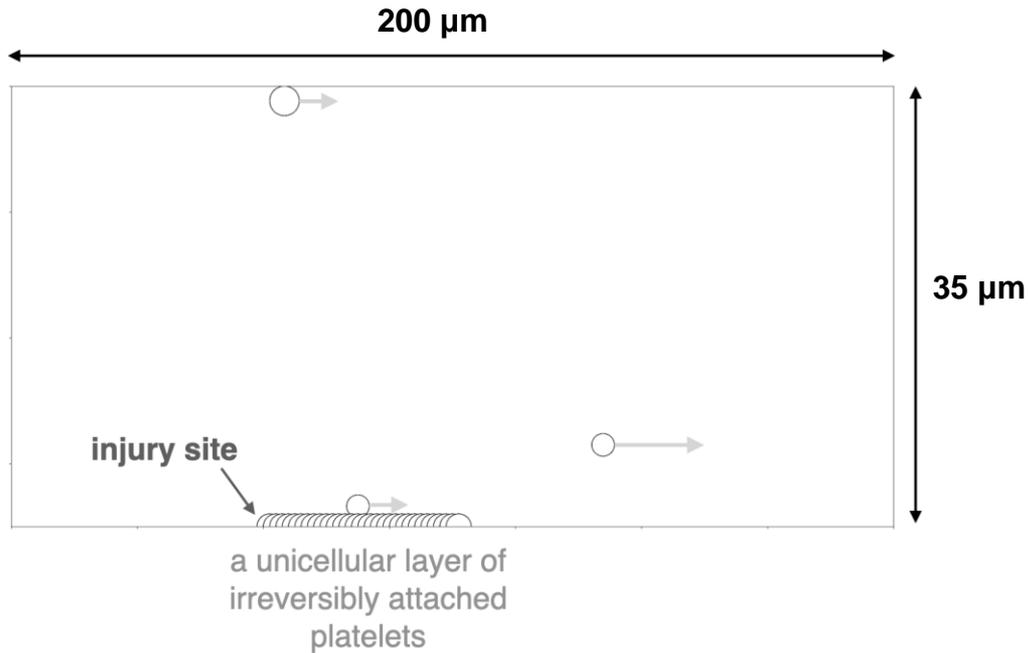
Coburn et al, 2011



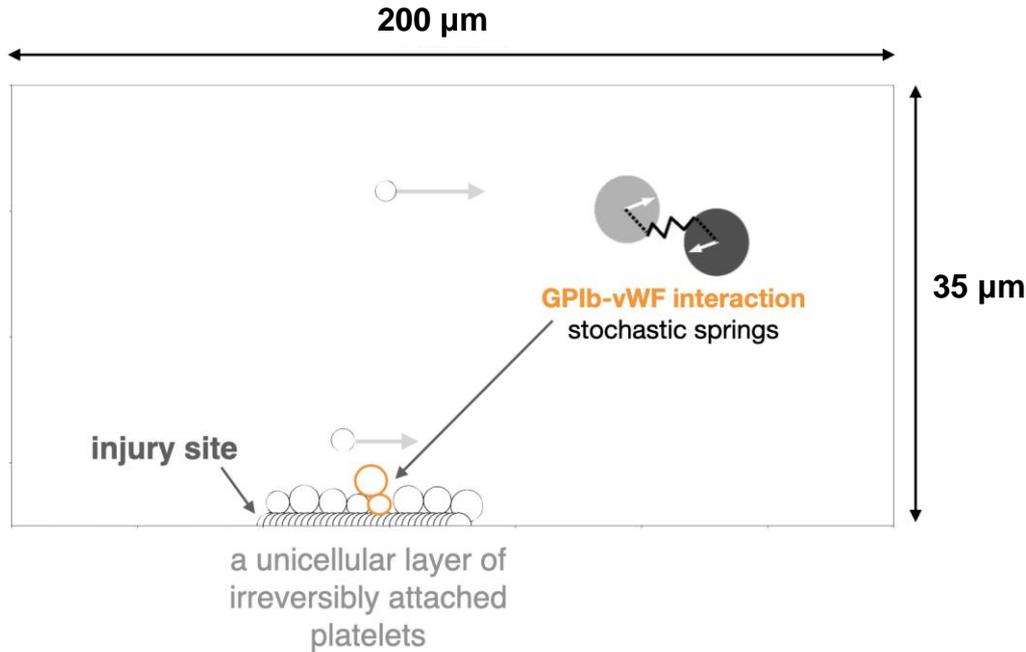
Nguyen et al, 2016

Модель оболочки тромба

1. Двумерная модель.

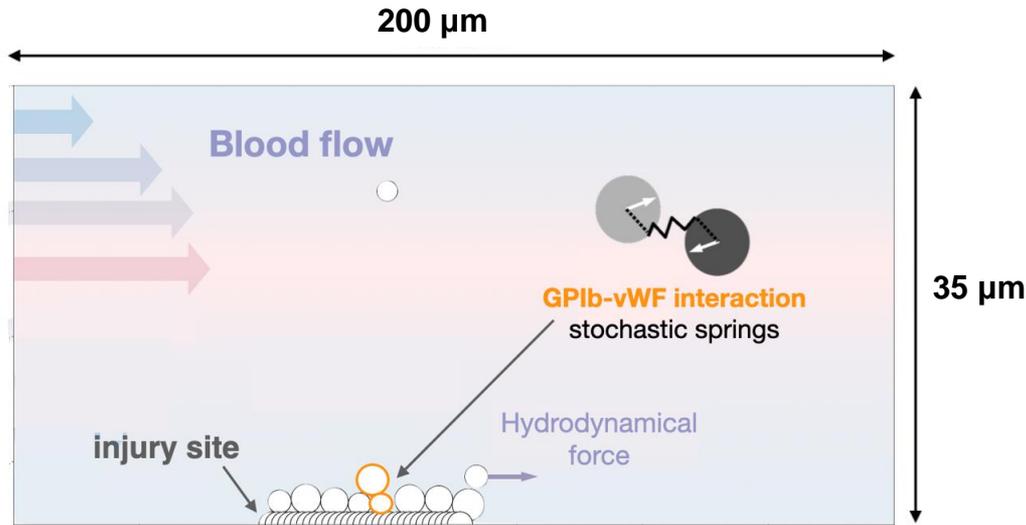


Модель оболочки тромба



1. Двумерная модель.
2. Новые клетки приносятся потоком и взаимодействуют с местом повреждения через стохаст. пружины.

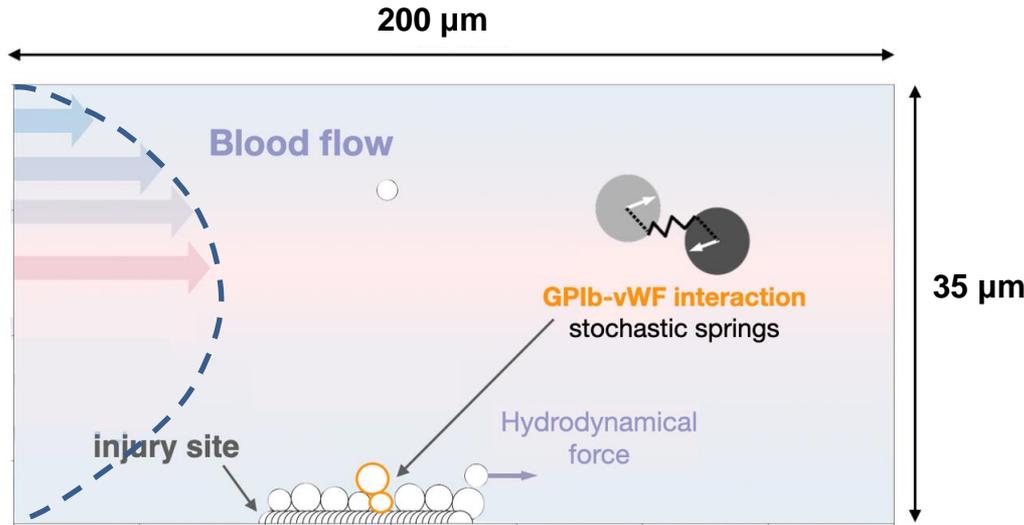
Модель оболочки тромба



$$\text{Stokes force } \vec{F} = 6\pi \vec{\mu} R V$$

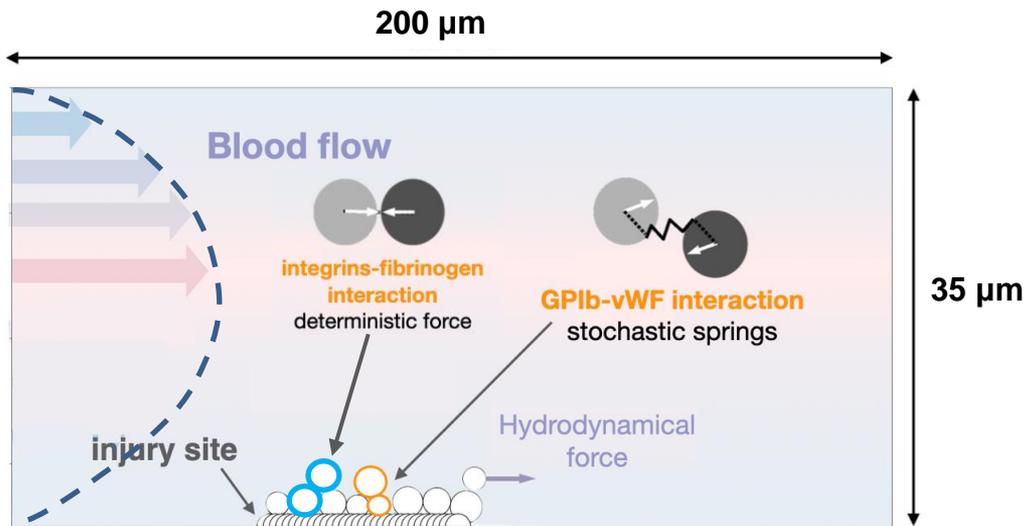
1. Двумерная модель.
2. Новые клетки приносятся потоком и взаимодействуют с местом повреждения через стохаст. пружины.
3. Поток действует на клетки (сила Стокса).

Модель оболочки тромба

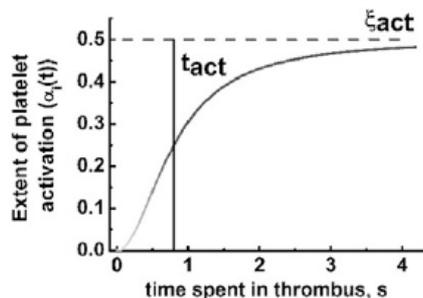


1. Двумерная модель.
2. Новые клетки приносятся потоком и взаимодействуют с местом повреждения через стохаст. пружины.
3. Поток действует на клетки (сила Стокса).
4. Тромбоциты не влияют на поток (постоянный профиль течения).

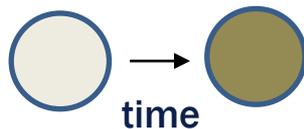
Модель оболочки тромба



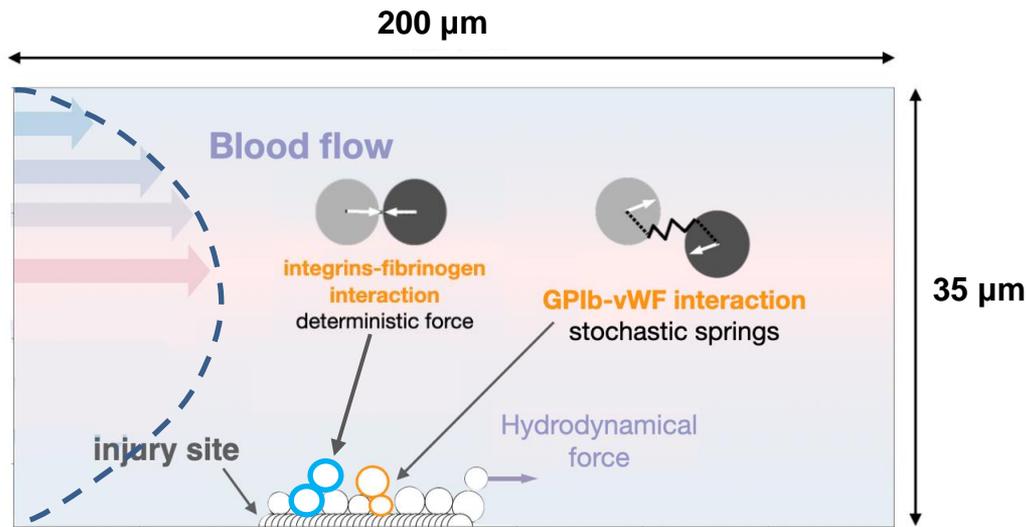
1. Двумерная модель.
2. Новые клетки приносятся потоком и взаимодействуют с местом повреждения через стохаст. пружины.
3. Поток действует на клетки (сила Стокса).
4. Тромбоциты не влияют на поток (постоянный профиль течения).
5. Со временем клетки активируются:



α_i — extent of platelet activation



Модель оболочки тромба



1. Двумерная модель.
2. Новые клетки приносятся потоком и взаимодействуют с местом повреждения через стохаст. пружины.
3. Поток действует на клетки (сила Стокса).
4. Тромбоциты не влияют на поток (постоянный профиль течения).
5. Со временем клетки активируются:

Activation

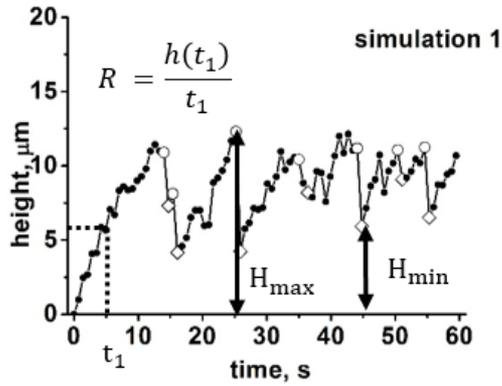
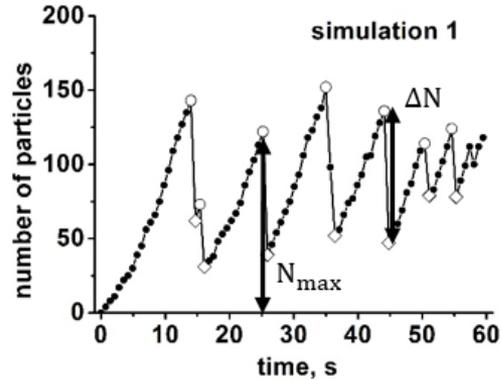
Probability of stochastic springs generation: $P \sim \alpha_1 \alpha_2$

Magnitude of deterministic interaction force: $F_{12} \sim \alpha_1 \alpha_2$

α_i — extent of platelet activation

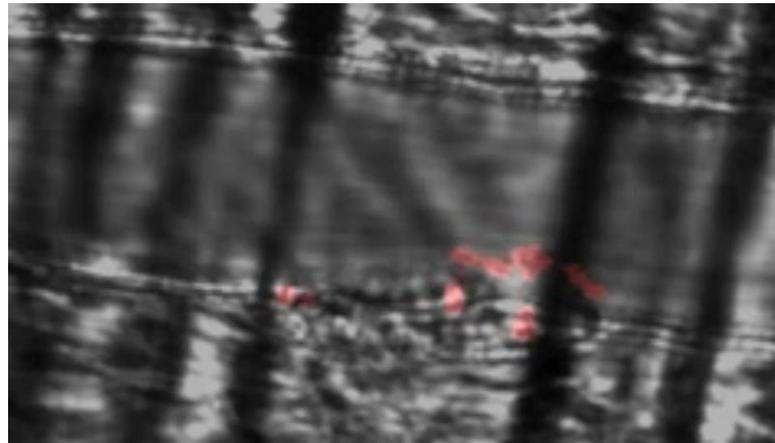
они начинают взаимодействовать через потенциал Морзе

Динамика оболочки тромба в модели



Dynamics of the thrombus formation
in the model.

Kaneva et al,
Biophys J 2021



Thrombin activity
blocked with
hirudin (no core)

Stalker et al, 2013

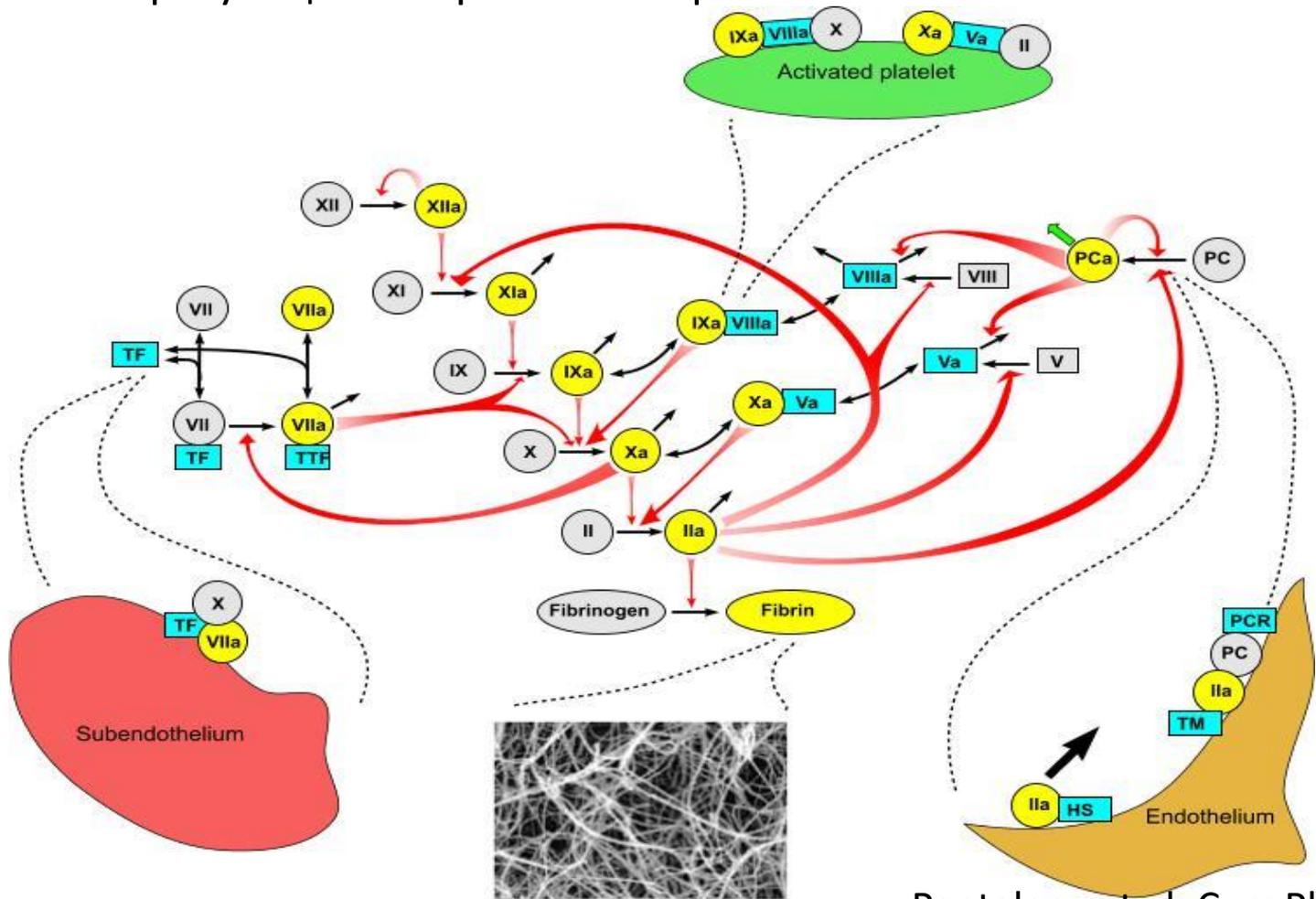
Модель со стохастической компонентой взаимодействия



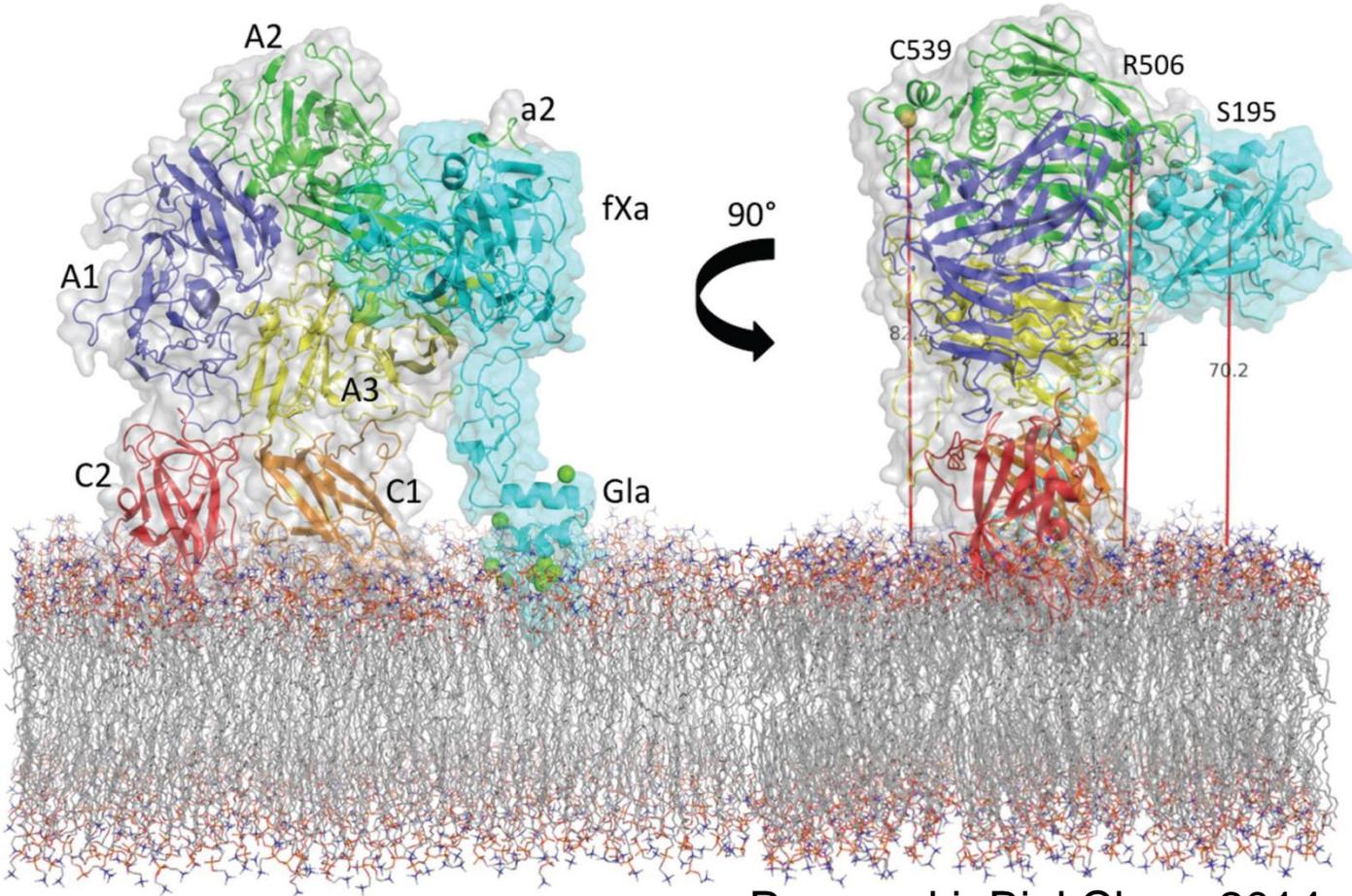
Без стохастической компоненты



Внеклеточная регуляция: свертывание крови

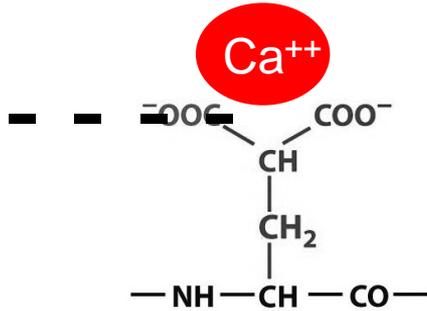


Мембранный комплекс протромбиназы

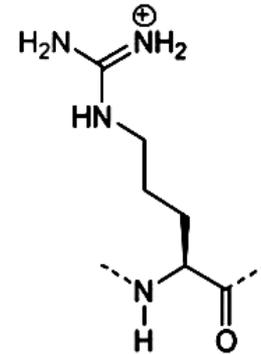


Механизмы связывания для факторов свертывания

Отрицательно заряженная мембрана (фосфатидилсерин)



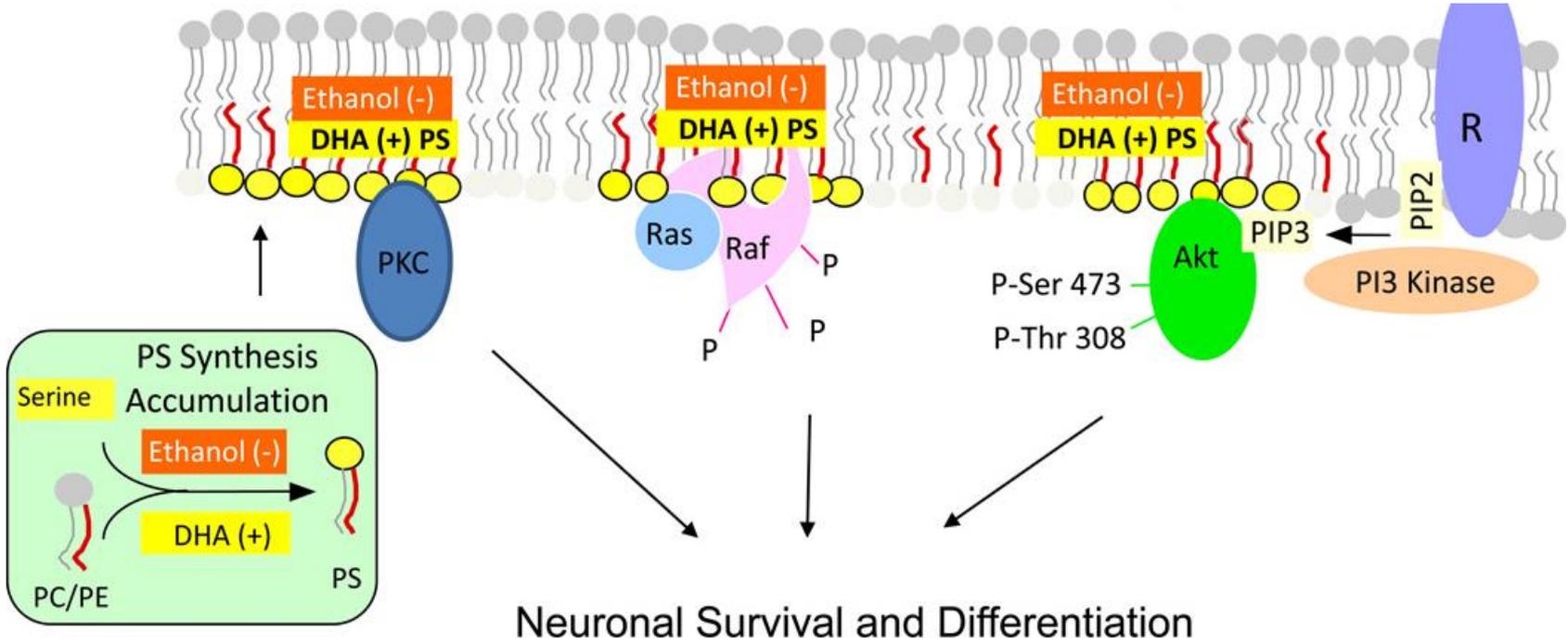
For vitamin K-dependent factors (VII, IX, X, II, PC, PS): calcium-dependent binding via a Gla domain rich in gamma-carboxyglutamic acid residues



For factors V and VIII: binding via C domains by means of positive residues (Arg, Lys) and hydrophobic interactions (Met, Phe, Leu)

Мембранные реакции в ферментативных управляющих системах: универсальный биофизический прием внутри и снаружи клетки

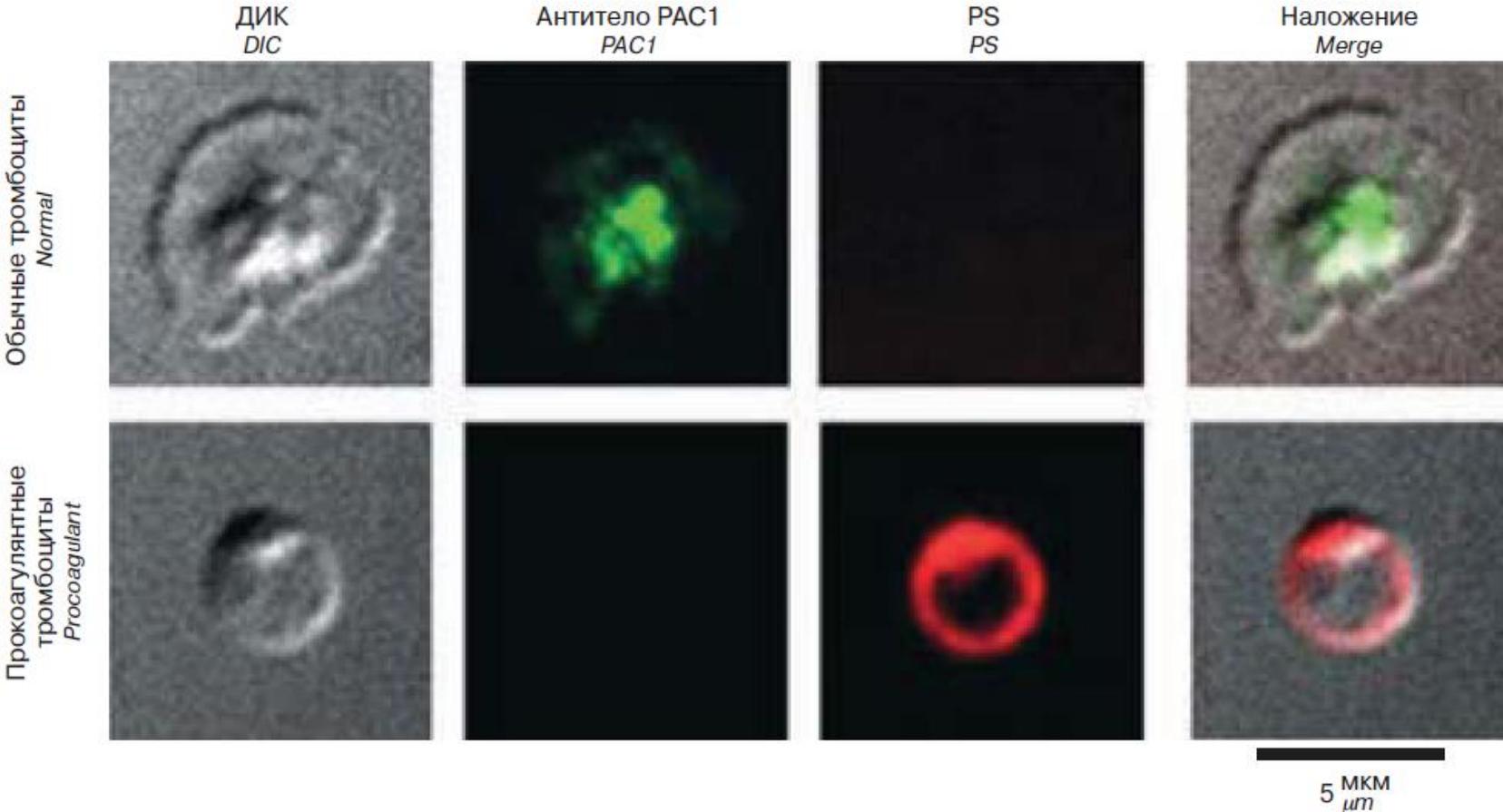
Фосфатидилсерин-зависимые реакции классических сигнальных путей:



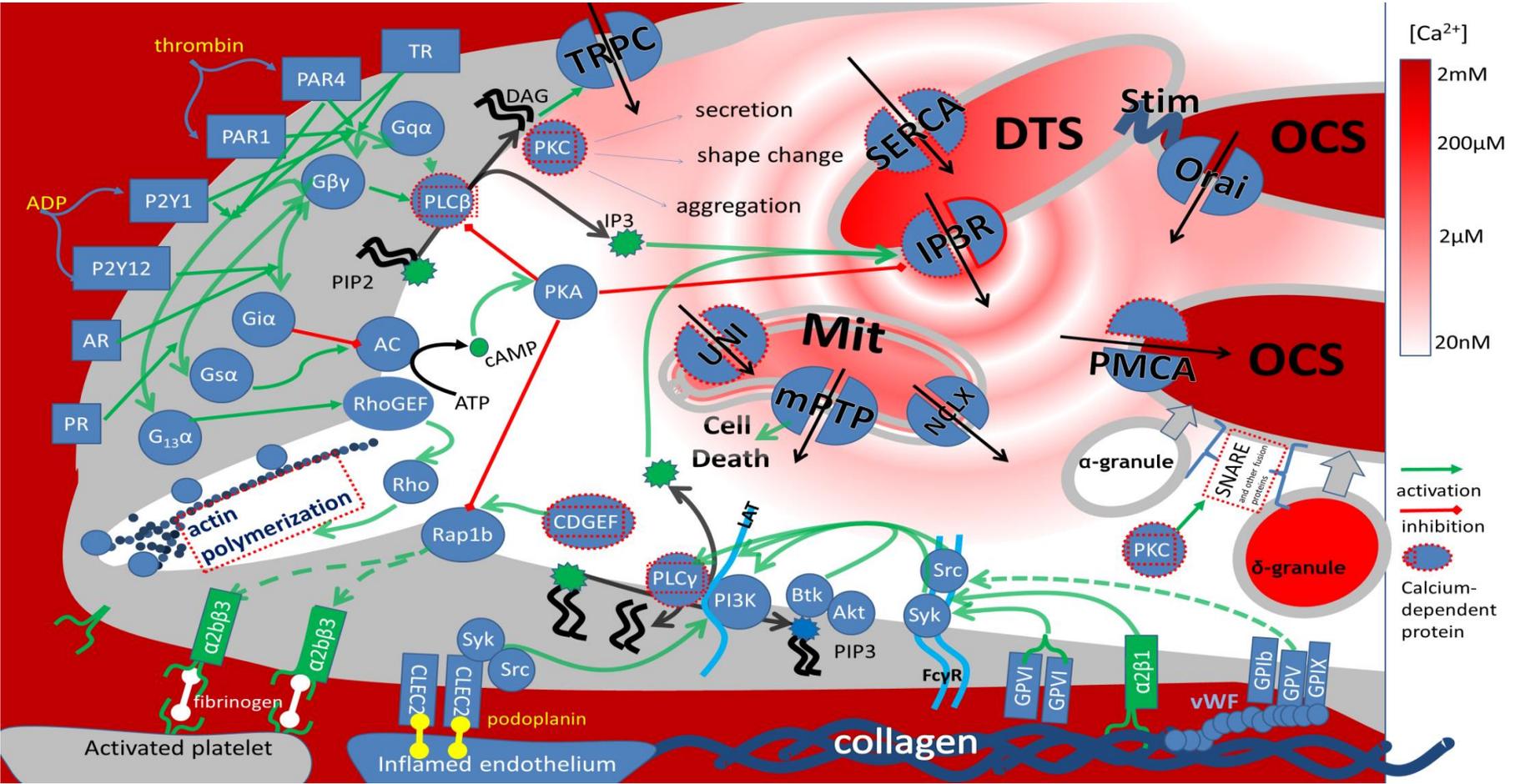
Мембранные реакции: в чем их физический и физиологический смысл?

- 1. Ускорение реакций за пределы диффузионного лимита.**
Ферментативная реакция не может протекать быстрее, чем скорость диффузии субстрата. Чтобы ускорить реакцию, нужно либо увеличить общие концентрации молекул (что в целом невыгодно для сигнальных молекул), либо увеличить их локальные концентрации - например, поместив их на мембрану.
- 2. Пространственно-временной контроль реакций.** Природа может использовать мембраны для управления физиологическими процессами в пространстве и времени посредством мембранно-зависимых реакций. Проще говоря, реакция будет идти везде, где имеется соответствующая мембрана.
- 3. Транспортные ограничения процессов.** Молекула, связанная с мембраной, с гораздо меньшей вероятностью будет унесена диффузией или потоком.

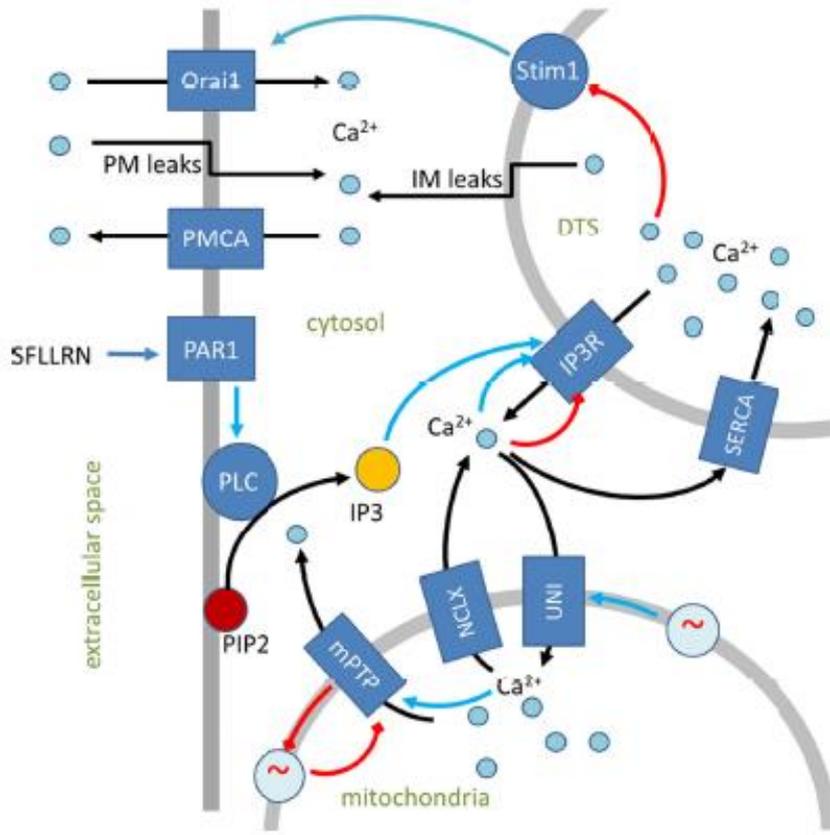
Прокоагулянтные и нормальные тромбоциты: после активации



Внутриклеточная сигнализация тромбоцитов



Компьютерная модель сигнализации в тромбоците



Module	Name	Reaction	Flux, compartment	Parameters	Reference
PAR	Activation of PAR1	$PAR1 + Thr \rightleftharpoons PAR1^*$	$k[PAR1][Thr] - k_m[PAR1^*], PM$	$k = 0.03(mM \cdot s)^{-1}$, $k_m = 0.001s^{-1}$	(15)
PAR	Degradation of PAR1*	$PAR1^* \rightarrow$	$k[PAR1^*], PM$	$k = 20s^{-1}$	(15), this work
PAR		$GqGTP \rightarrow GqGDP$	$k[GqGTP], PM$	$k = 0.02s^{-1}$	(15)
PAR		$PLCGqGTP \rightarrow PLCGqGDP$	$k[PLCGqGTP], PM$	$k = 15s^{-1}$	(15)
PAR		$PAR1^*Gq + GTP \rightleftharpoons PAR1^*GqGTP$	$k[PAR1^*Gq][GTP] - k_m[PAR1^*GqGTP], PM$	$k = 1(\mu M \cdot s)^{-1}$, $k_m = 0.1s^{-1}$	(15)
PAR		$PAR1^*Gq + GDP \rightleftharpoons PAR1^*GqGDP$	$k[PAR1^*Gq][GDP] - k_m[PAR1^*GqGDP], PM$	$k = 1(\mu M \cdot s)^{-1}$, $k_m = 5s^{-1}$	(15)
PAR		$PAR1^* + GqGDP \rightleftharpoons PAR1^*Gq$	$k[PAR1^*][GqGDP] - k_m[PAR1^*Gq], PM$	$k = 100(\mu M \cdot s)^{-1}$, $k_m = 1s^{-1}$	(15)
PAR		$PAR1^*GqGTP \rightarrow PAR1^* + Gq$	$k_m[PAR1^*GqGTP], PM$	$k_m = 2s^{-1}$	(15)
PAR		$PLCGqGTP + PIP2 \rightarrow PLCGqGTPPIP2$	$k[PLCGqGTPPIP2], PM$	$k = 320s^{-1}$	(15)
PAR		$PLCGqGTP \rightleftharpoons PLC + GqGTP$	$k[PLCGqGTP] - k_m[PLC][GqGTP], PM$	$k = 5s^{-1}$, $k_m = 500(\mu M \cdot s)^{-1}$	(15)
PAR		$PLCGqGTPPIP2 \rightleftharpoons PIP2 + PLCGqGTP$	$k[PLCGqGTPPIP2] - k_m[PIP2][PLCGqGTP], PM$	$k = 1s^{-1}$, $k_m = 1000(\mu M \cdot s)^{-1}$	(15)
PAR		$PLCGqGDP \rightleftharpoons PLC + GqGDP$	$k[PLCGqGDP] - k_m[PLC][GqGDP], PM$	$k = 10^5s^{-1}$, $k_m = 10^{-4}(\mu M \cdot s)^{-1}$	(15)
PAR	Simplified PI turnover	$IP3 \rightleftharpoons PIP2$	$k[IP3] - k_m[PIP2], PM$	$k = 0.17s^{-1}$, $k_m = 1.8 \cdot 10^{-5}s^{-1}$	This work

Аккумуляция кальциевых осцилляций в итохондриях

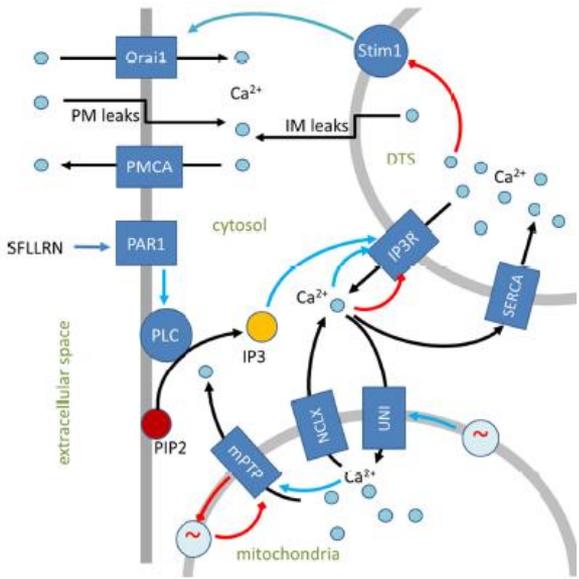
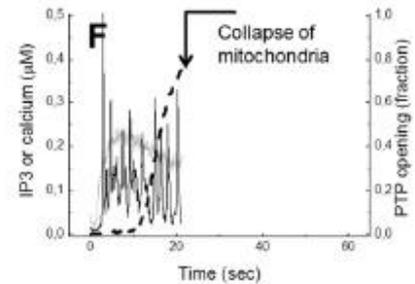
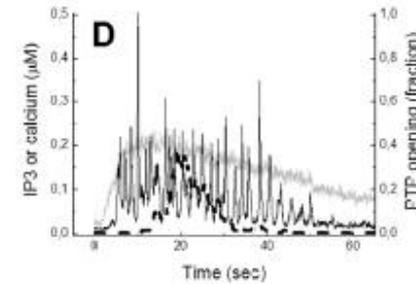
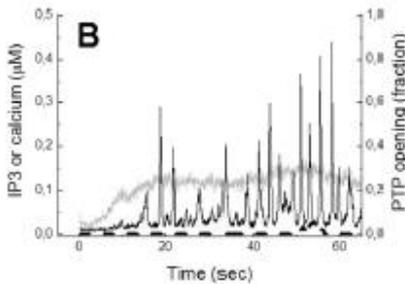
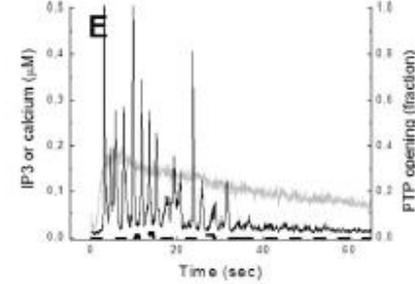
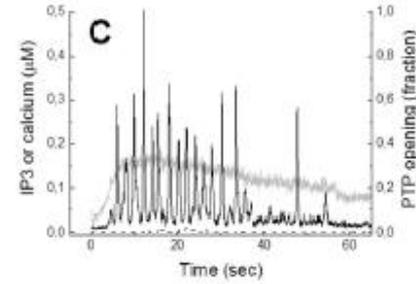
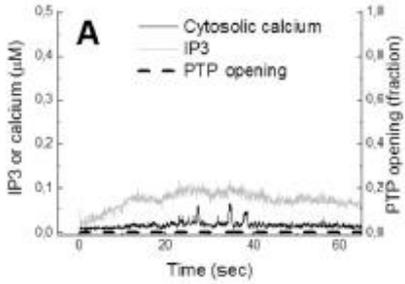
SFLLRN:

0.4 μM

4 μM

40 μM

Typical run 1



Экспериментальная проверка

Supplement video 1

**Activation of platelets
with 10 nM of thrombin**

Green: Fura red
Red: Annexin V

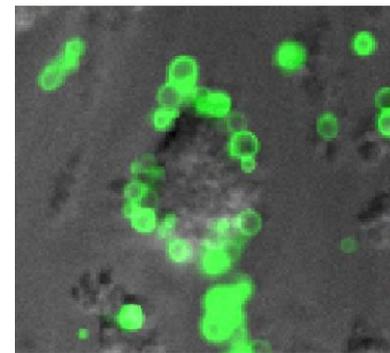
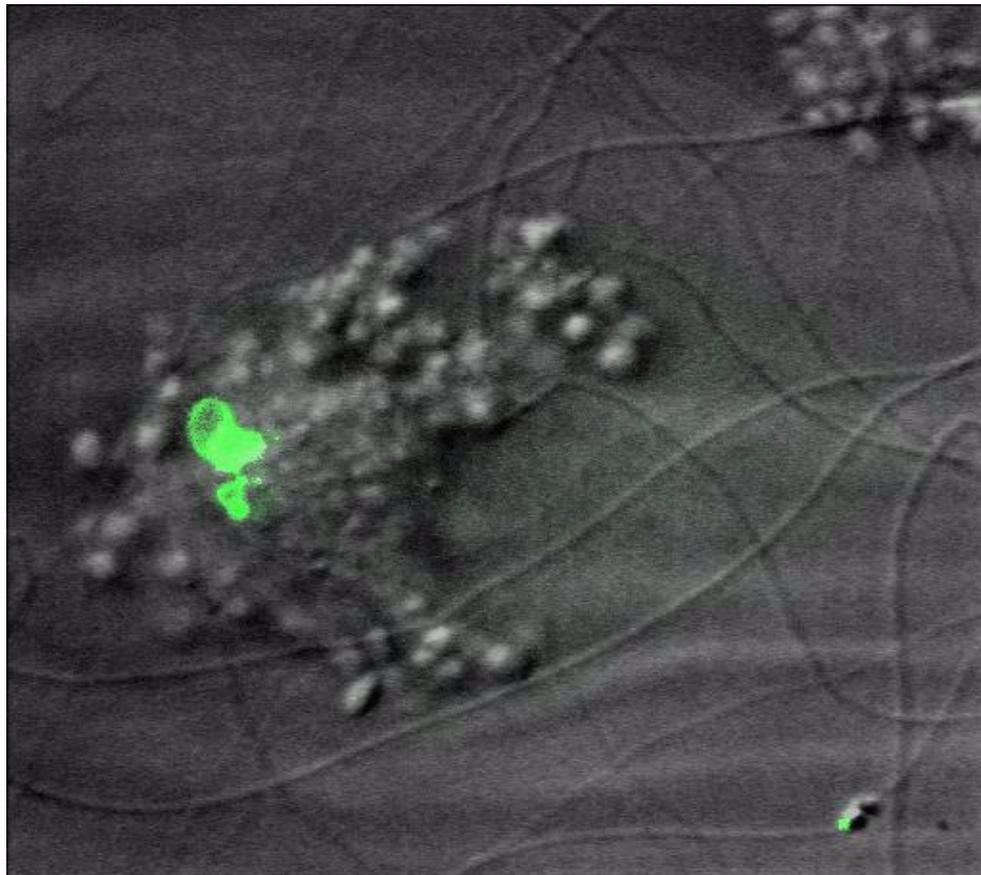
25 times faster

Supplement video 2

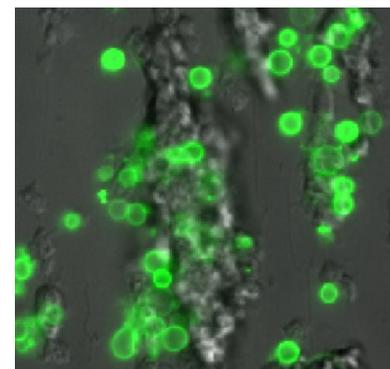
Asynchronous mitochondria depolarization

Green: TMRM
Red: Annexin V

Прокоагулянтные тромбоциты в тромбе: вытеснение из-за контракции

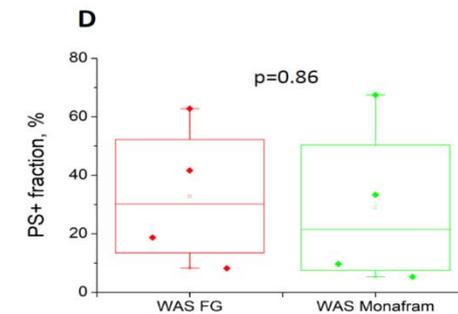
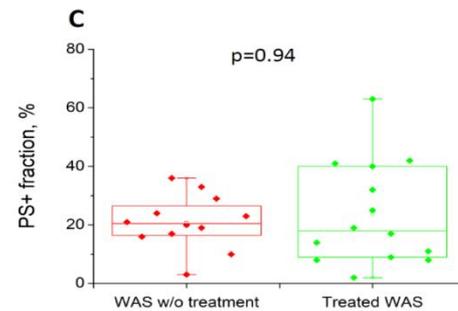
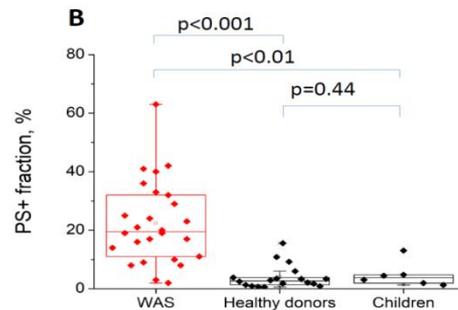
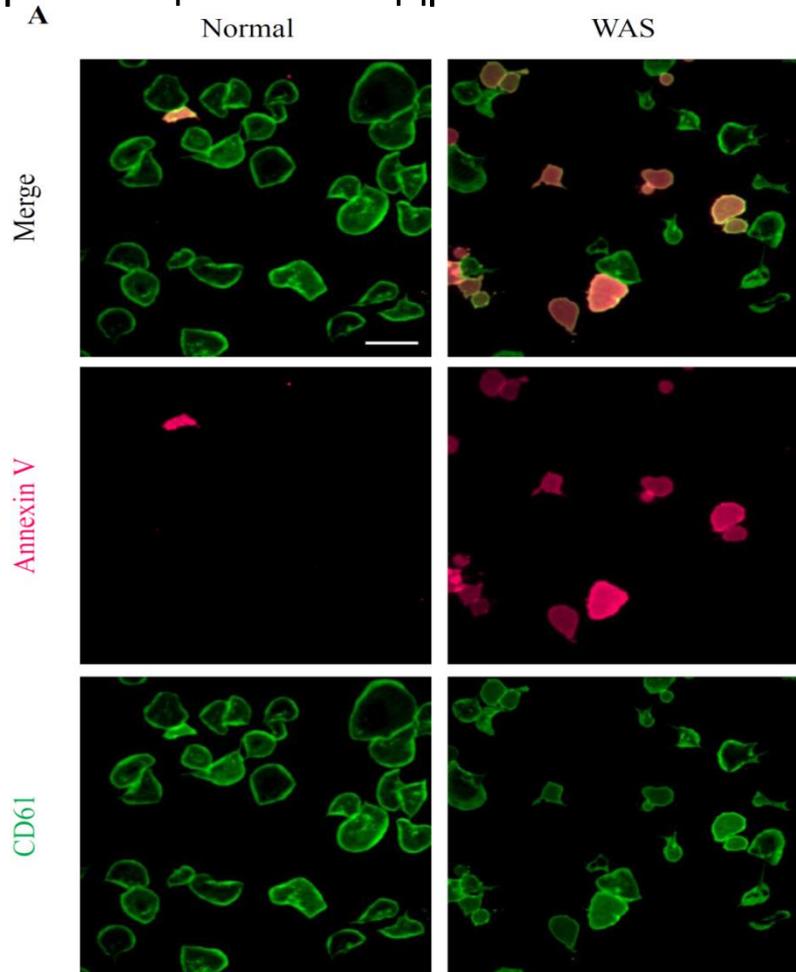


WT

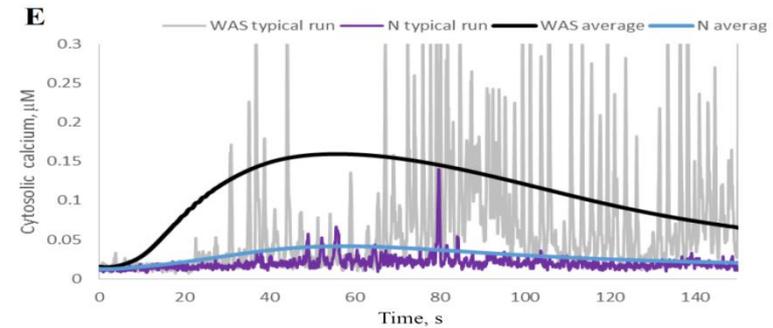
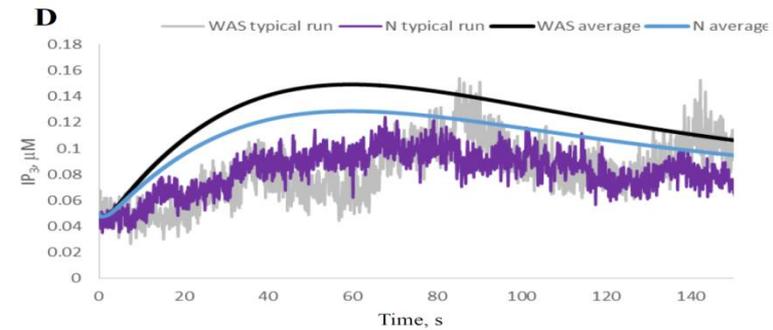
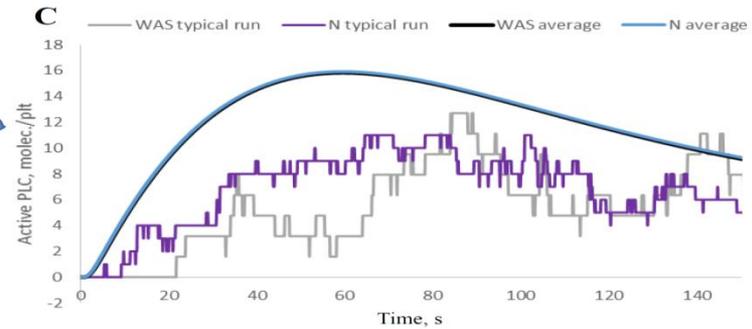
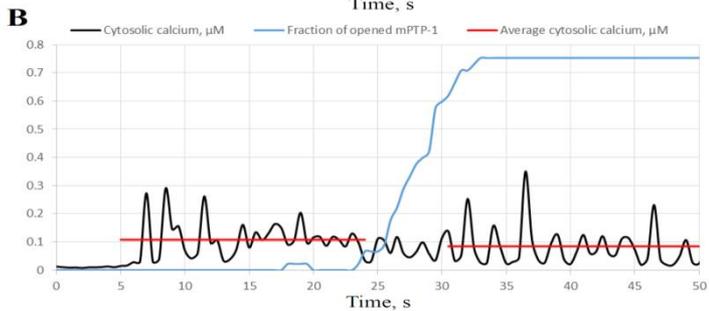
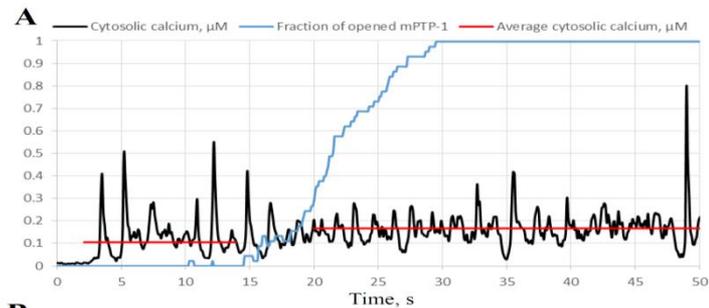
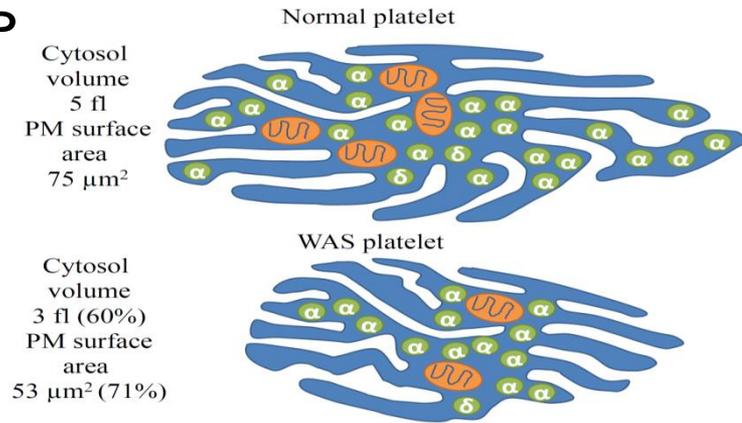


MYH9

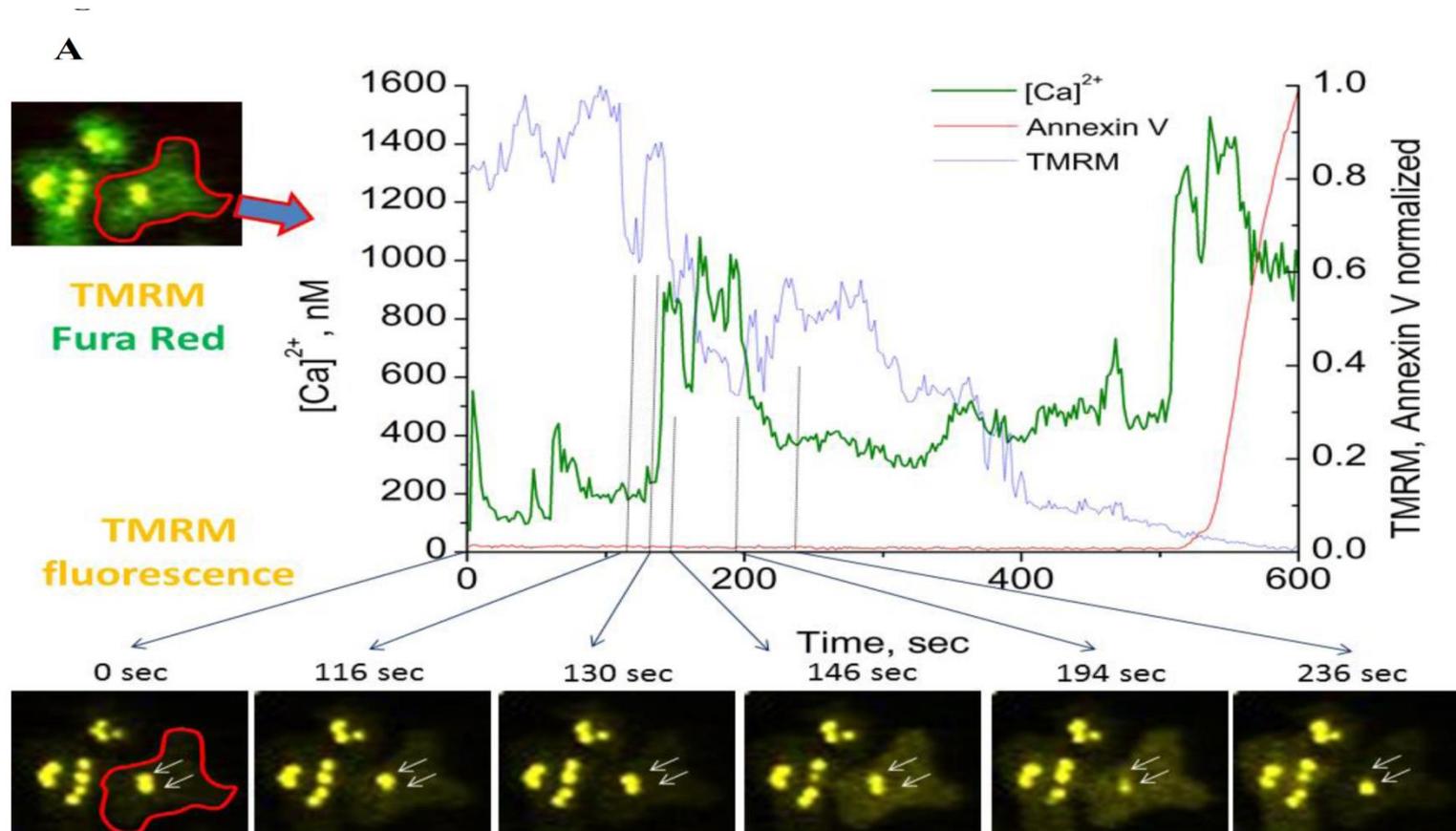
Тромбоциты в синдроме Вискотта-Олдрича



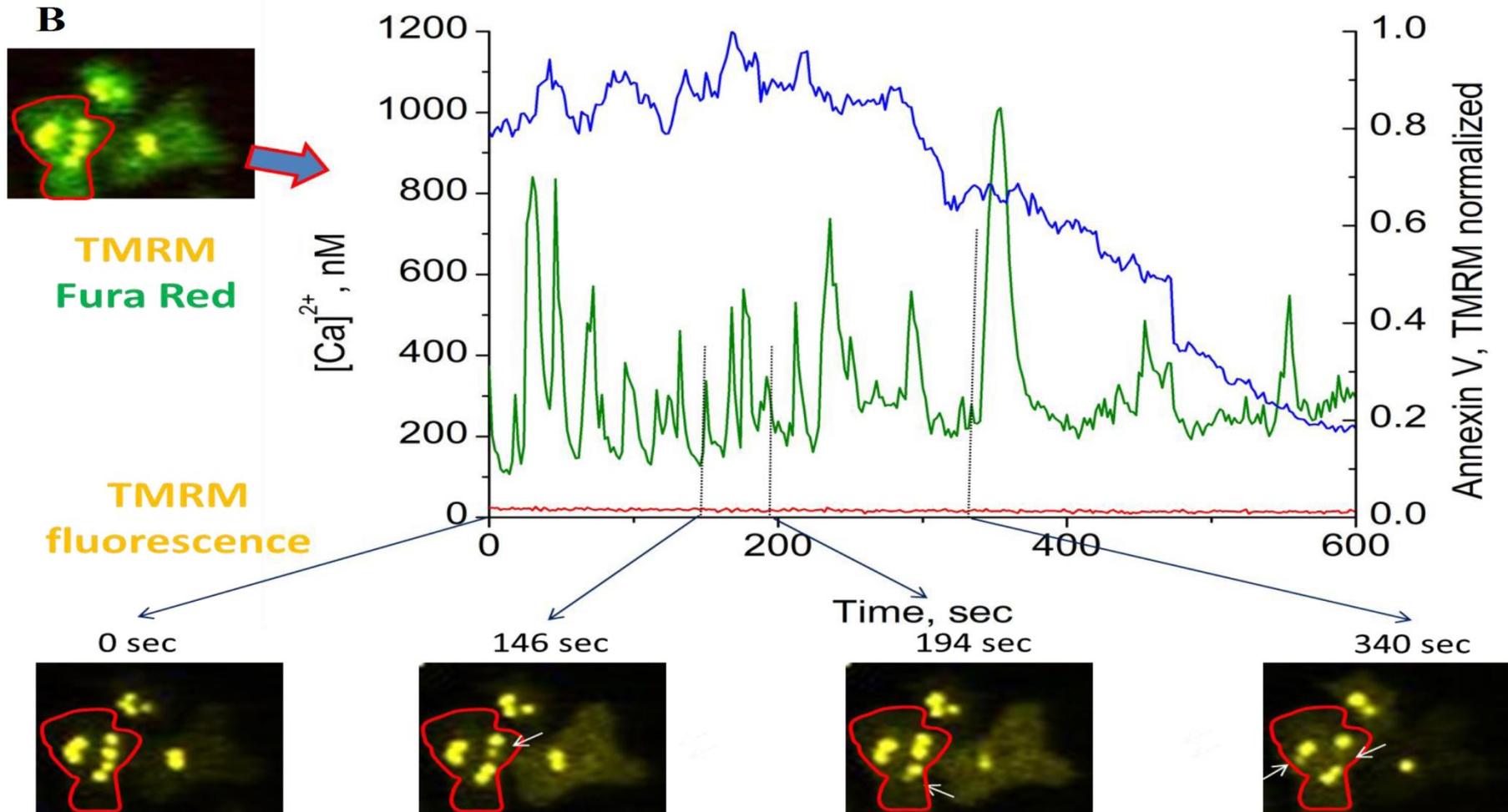
Модель



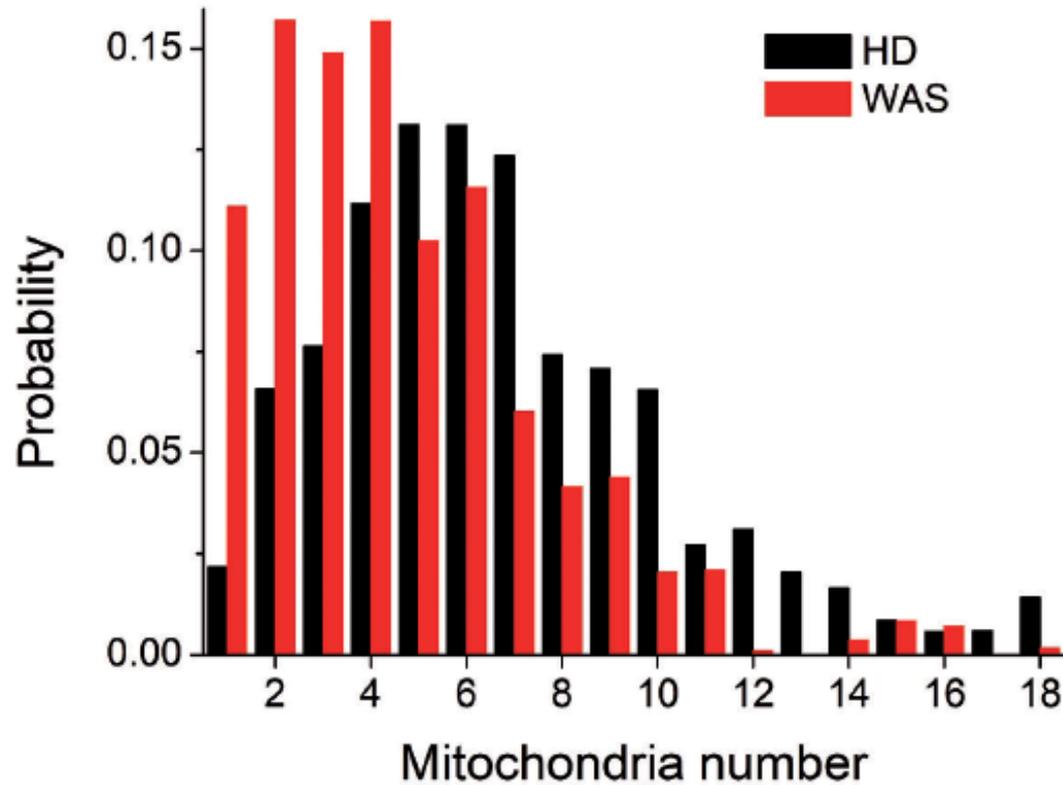
Тромбоцит с 2 митохондриями



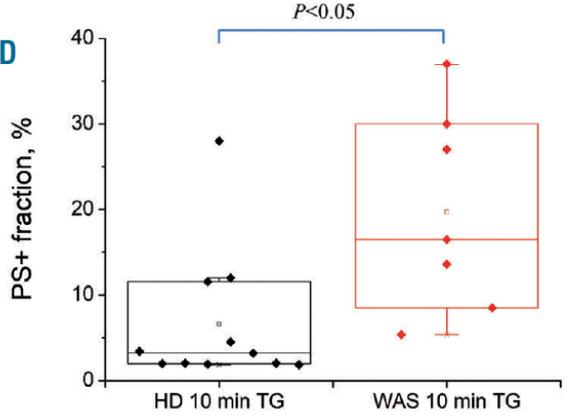
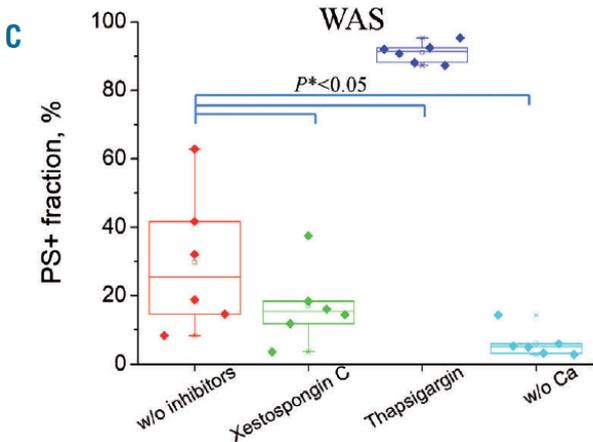
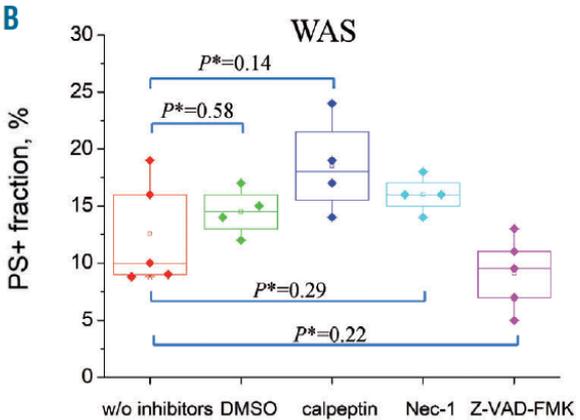
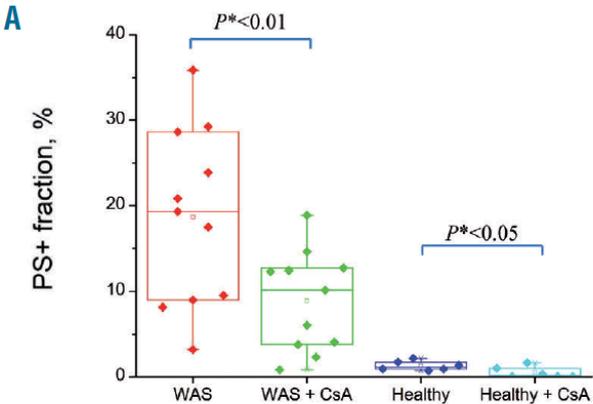
Тромбоцит с 6 митохондриями



Тромбоциты в синдроме Вискотта-Олдрича

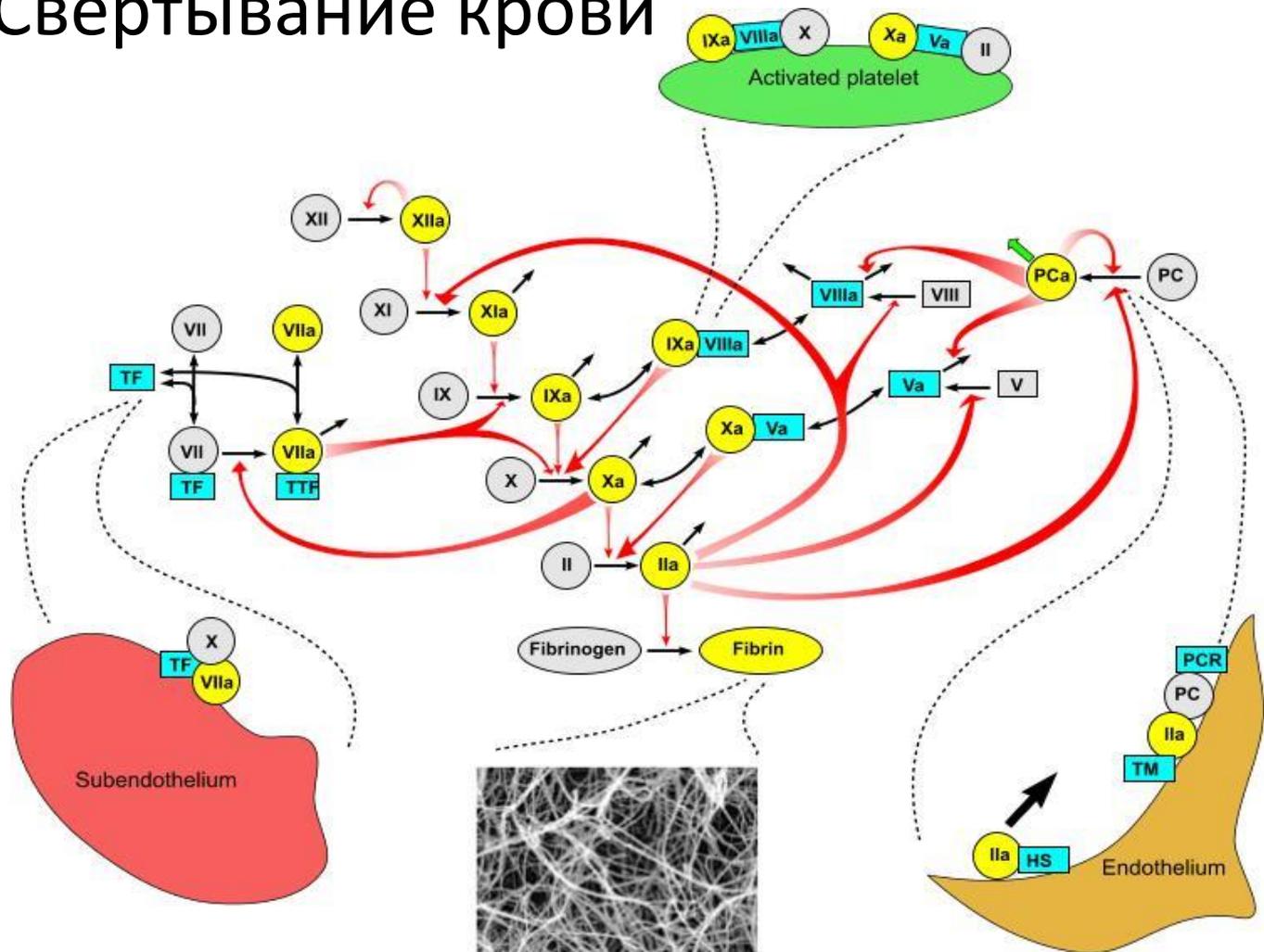


Тромбоциты в синдроме Вискотта-Олдрича

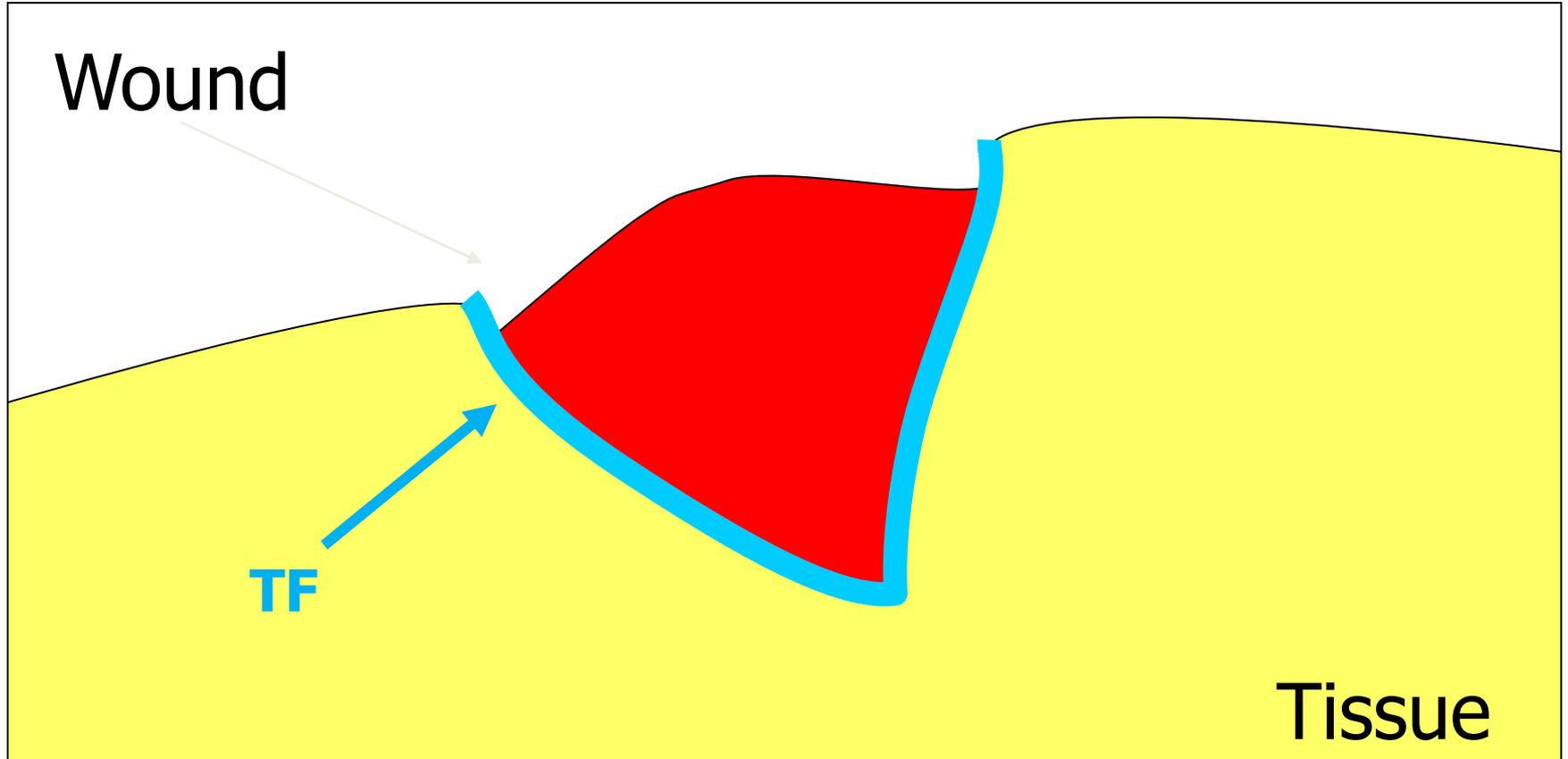


Пример 2. Свертывание крови

Свертывание крови



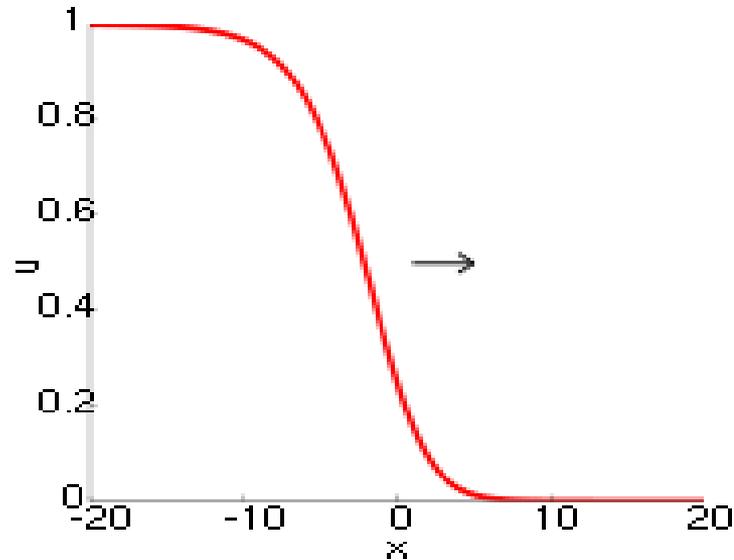
В организме этот процесс - пространственный. Как он движется?



Уравнение Фишера-Колмогорова

Распространение гена в популяции (1930)

$$\frac{\partial u}{\partial t} = u(1 - u) + \frac{\partial^2 u}{\partial t^2}$$



Реакция Белоусова-Жаботинского



Б.П. Белоусов



А.М.Жаботинский

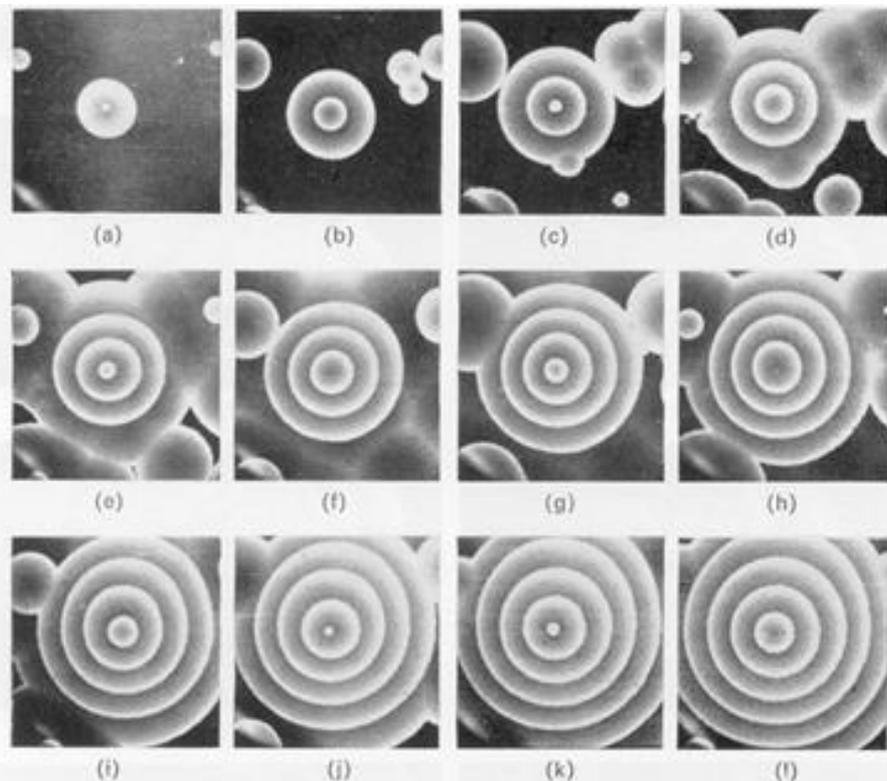
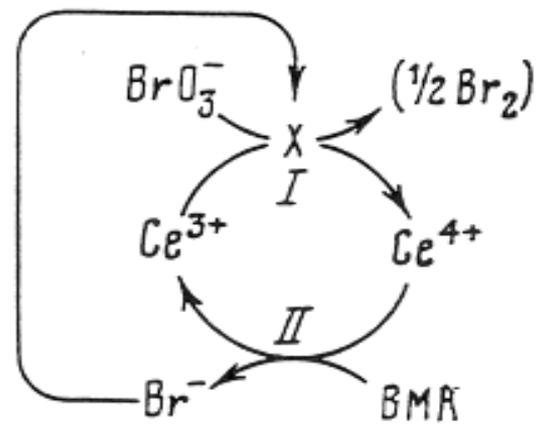


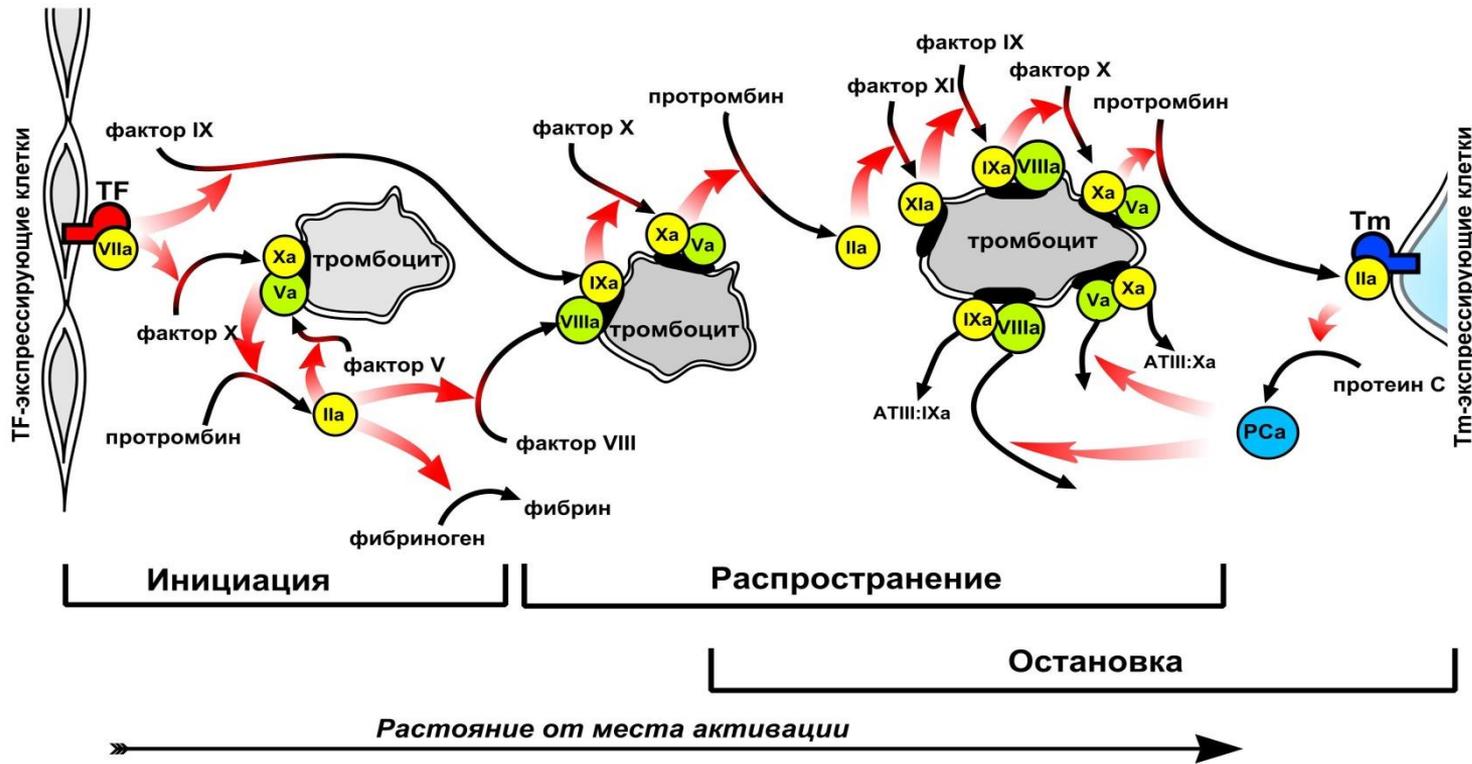
PLATE I. Leading centre. Photographs taken at 30 sec intervals. Initial reactant concentrations (mol/l): BMA = 0.16; NaBrO_3 = 0.23; $\text{Fe}(\text{phen})_3$ = 0.003; H_2SO_4 = 0.27; $T = 20^\circ\text{C}$.

BZ Reaction

speed : x10

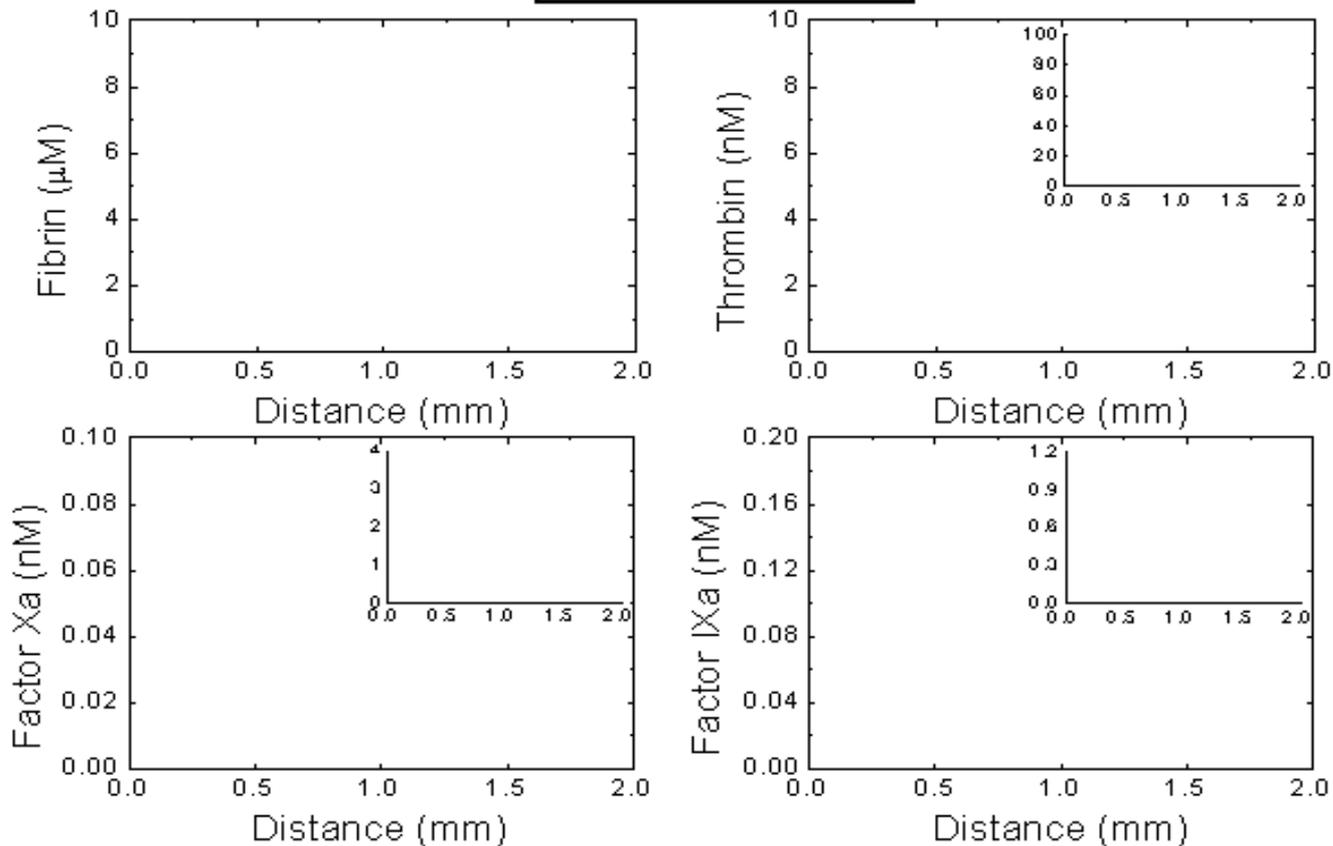


Пространственное свертывание: гетерогенная реакция-диффузия

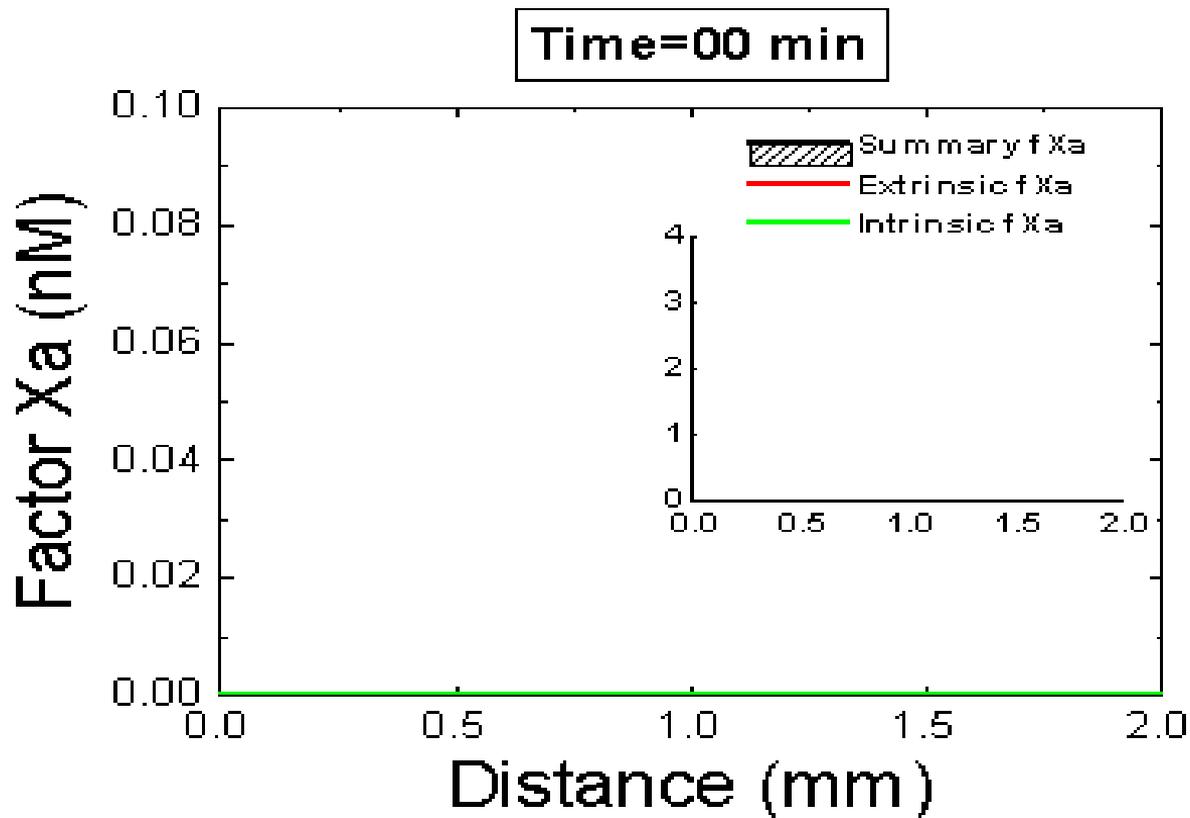


Пространственный рост сгустка

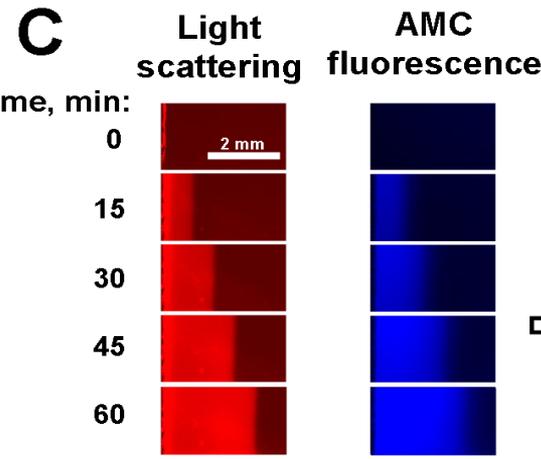
Time=00min



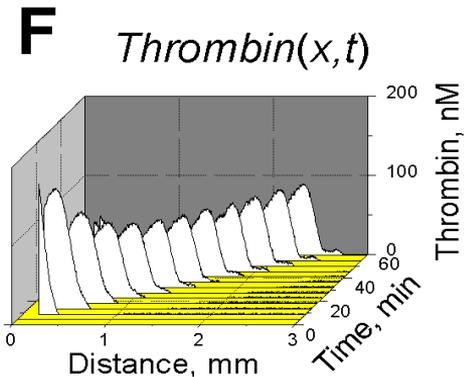
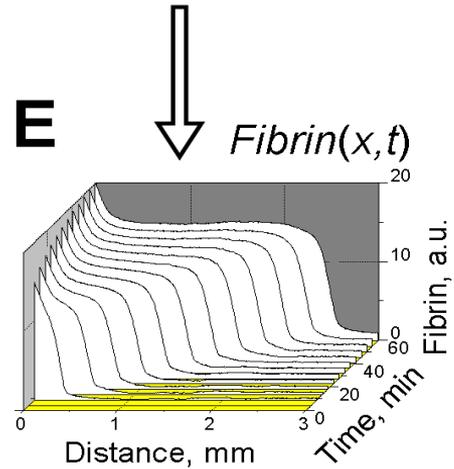
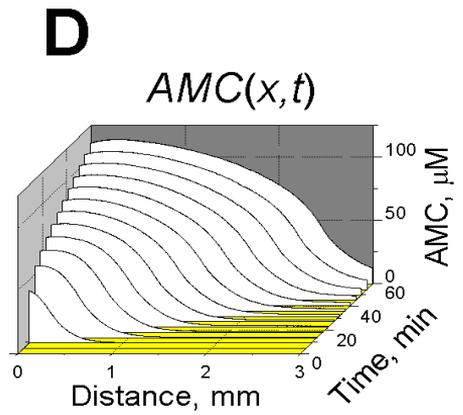
Активация фактора X в пространственной системе



Восстановление распределения тромбина



1. Correction of fibrin-induced fluorescence distortion
2. Calibration



3. Noise reduction
4. Thrombin spatiotemporal reconstruction:

$$Thrombin(x,t) = \frac{Km + S}{k_{cat}S} \left(\frac{\partial AMC}{\partial t} - D \frac{\partial^2 AMC}{\partial x^2} \right)$$

Time- and space-resolved imaging of clot growth and thrombin activity in blood plasma

t = 50 min

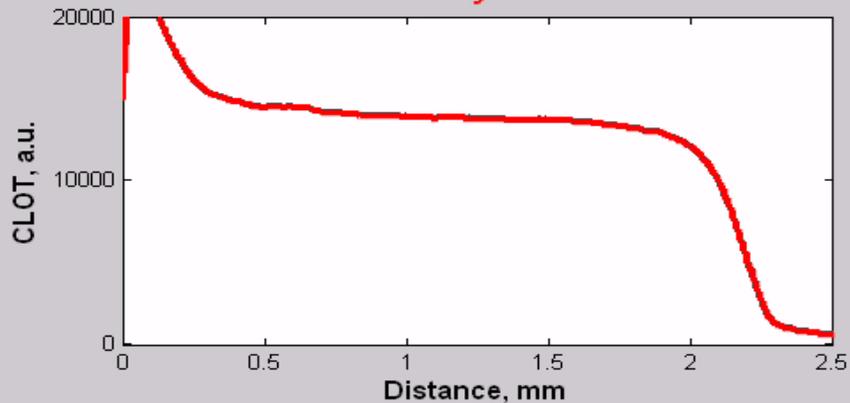
Images of fibrin clot



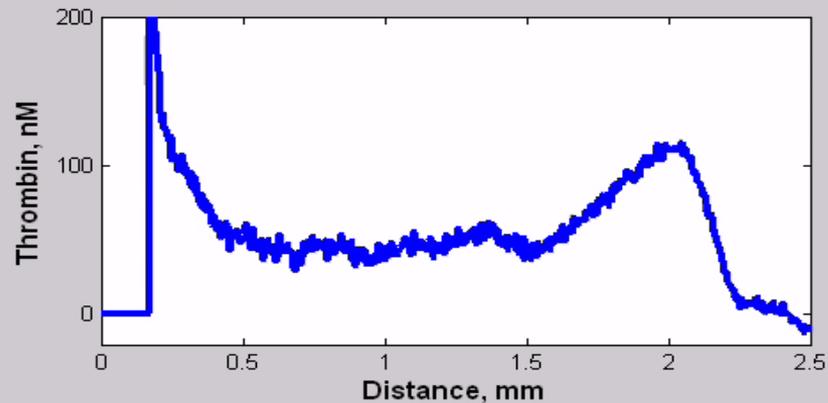
Images of AMC

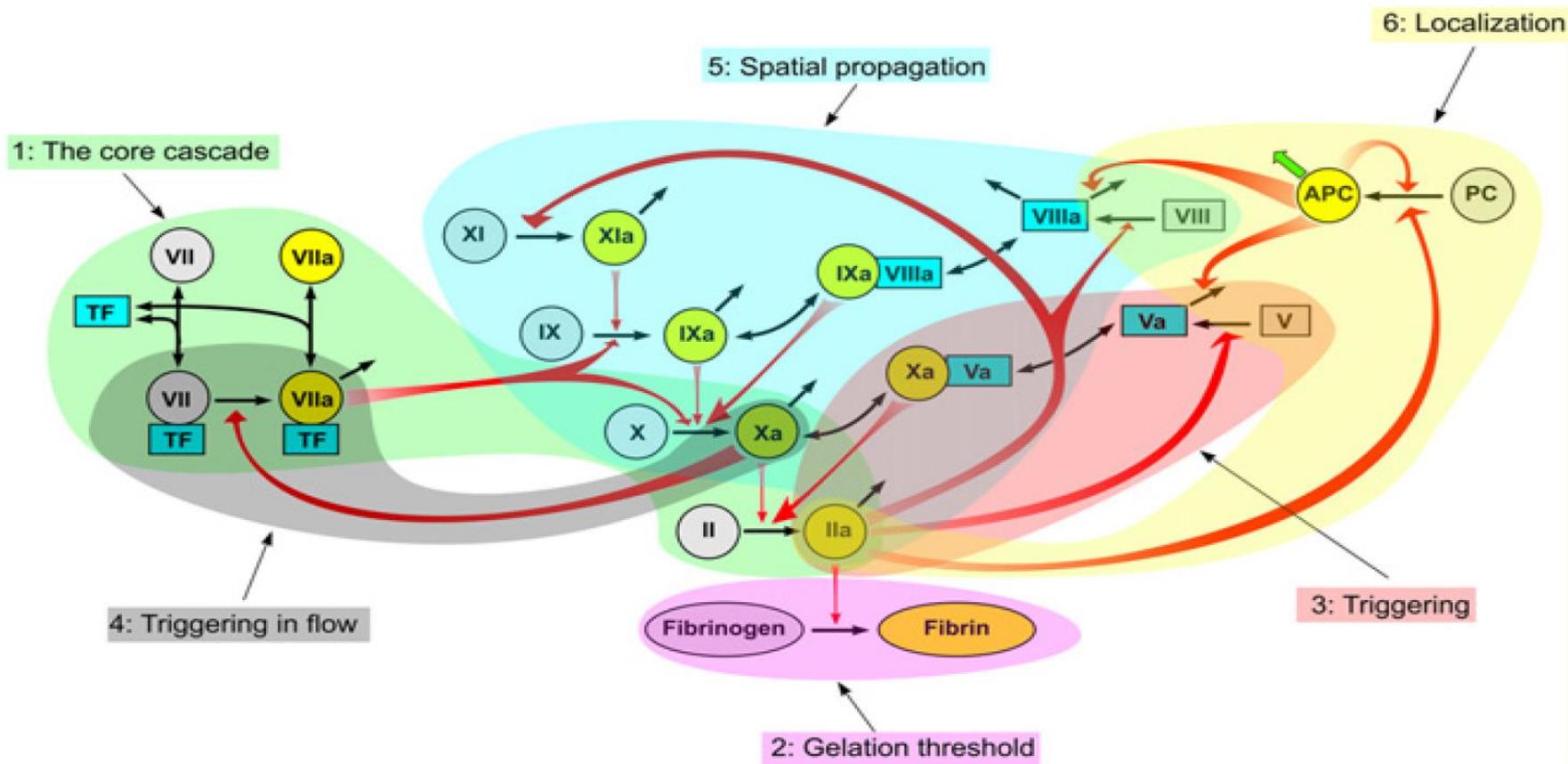


Intensity of clot



Thrombin concentration





1. Clotting initiation:

$$\text{VIIa-TF: } \frac{dx_{7-3}}{dt} = (k_1 \cdot x_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot x_{7-3}^F) - h_2 \cdot x_{10-7-3} \cdot i_2$$

$$\text{VII-TF: } \frac{dy_{7-3}}{dt} = (k_1 \cdot y_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot y_{7-3})$$

$$\text{TF: } \frac{dx_3}{dt} = - (k_1 \cdot x_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot x_{7-3}^F) - (k_1 \cdot y_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot y_{7-3})$$

$$\text{VIIa: } \frac{dx_7}{dt} = - (k_1 \cdot x_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot x_{7-3}^F)$$

$$\text{VII: } \frac{dy_7}{dt} = - (k_1 \cdot y_7 \cdot x_3 - k_{-1} \cdot y_{7-3})$$

2. The cascade backbone:

$$\text{Xa: } \frac{dx_{10}}{dt} = \frac{k_6}{K_6} \cdot y_{10} \cdot x_{7-3}^F - (h_4 \cdot i_1 + h_5 \cdot i_6 + h_6 \cdot i_7 + h_7 \cdot i_{10}) \cdot x_{10}^F - h_8 \cdot i_1 \cdot x_{10-5}^B$$

$$\text{X: } \frac{dy_{10}}{dt} = - \frac{k_6}{K_6} \cdot y_{10} \cdot x_{7-3}^F$$

$$\text{IIa: } \frac{dx_2}{dt} = k_{12} \cdot p \cdot x_{10}^F \cdot y_2 + \frac{k_{13} \cdot x_{10-5}^B \cdot y_2^B}{p} - (h_9 \cdot i_1 + h_{10} \cdot i_6 + h_{11} \cdot i_7 + h_{12} \cdot i_{10} + h_{13} \cdot i_9) \cdot x_2^F$$

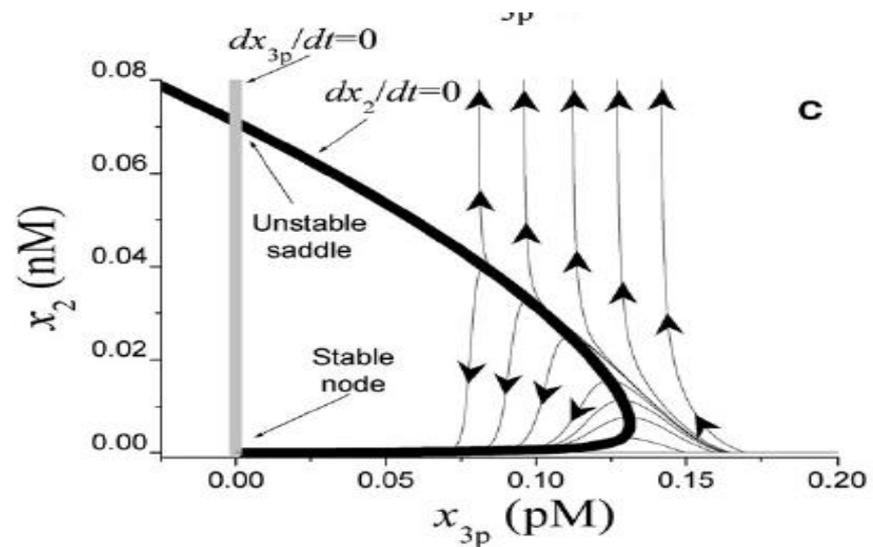
$$\text{II: } \frac{dy_2}{dt} = -k_{12} \cdot p \cdot x_{10}^F \cdot y_2 - \frac{k_{13} \cdot x_{10-5}^B \cdot y_2^B}{p}$$

$$\text{Fibrin: } \frac{dx_1}{dt} = \frac{k_{14}}{K_{14}} \cdot y_1 \cdot x_2^F$$

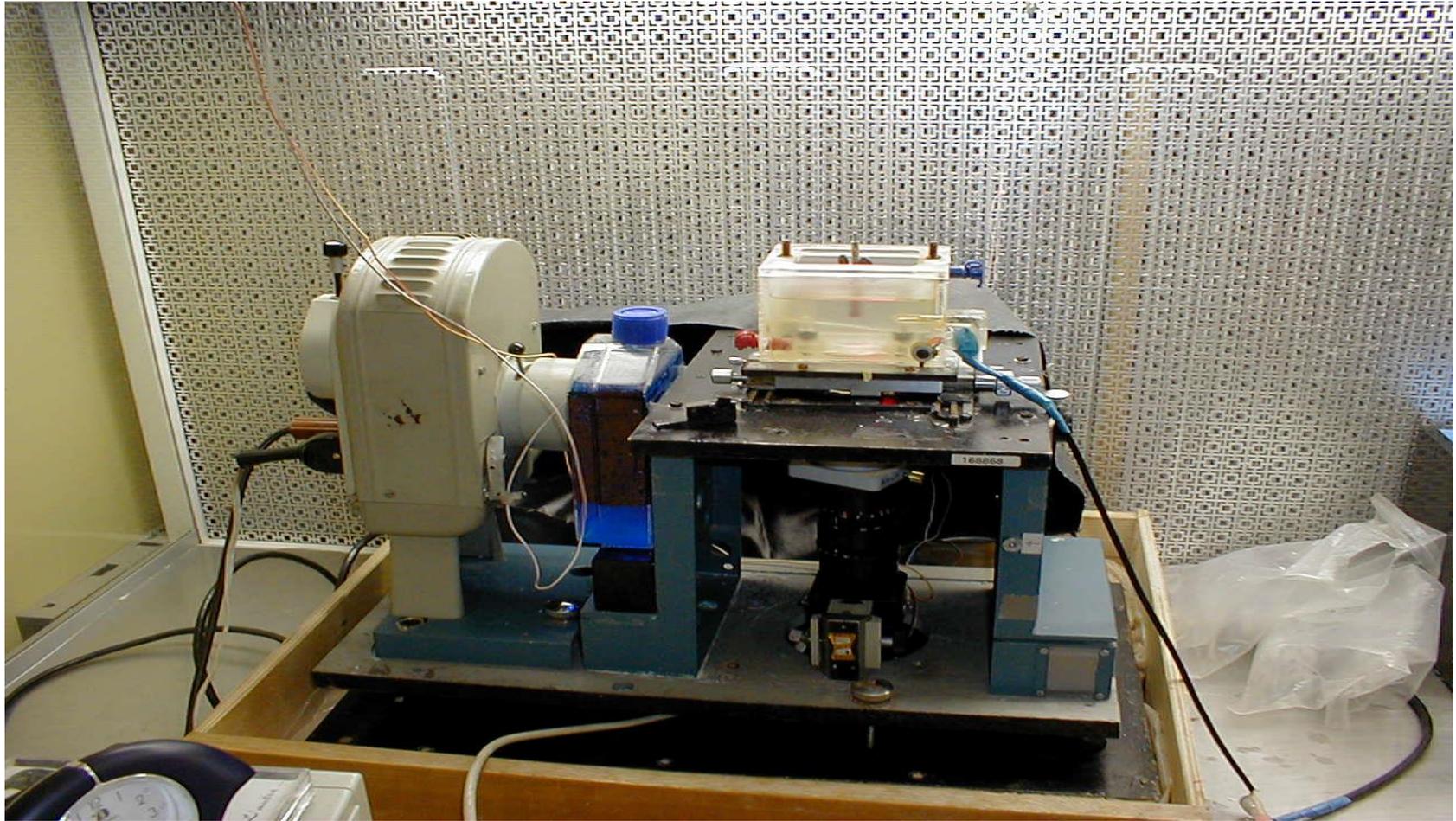
$$\text{Fibrinogen: } \frac{dy_1}{dt} = - \frac{k_{14}}{K_{14}} \cdot y_1 \cdot x_2^F$$

3. Positive feedback loops:

$$\text{Va: } \frac{dx_5}{dt} = \frac{k_{16} \cdot y_5 \cdot x_2^F}{K_{16} + x_2^F}$$



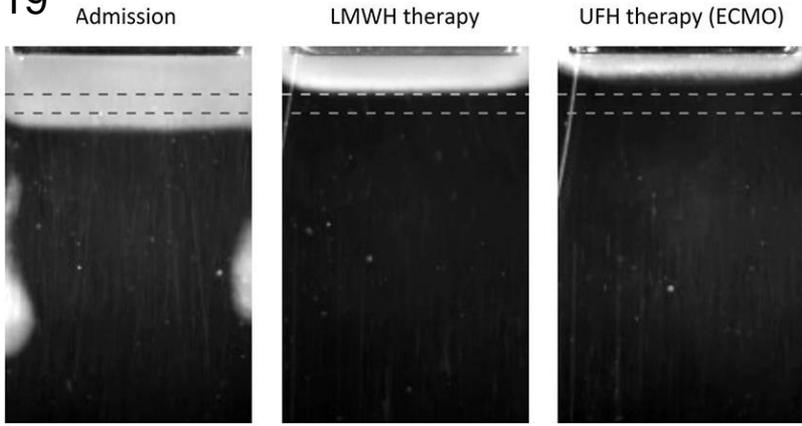
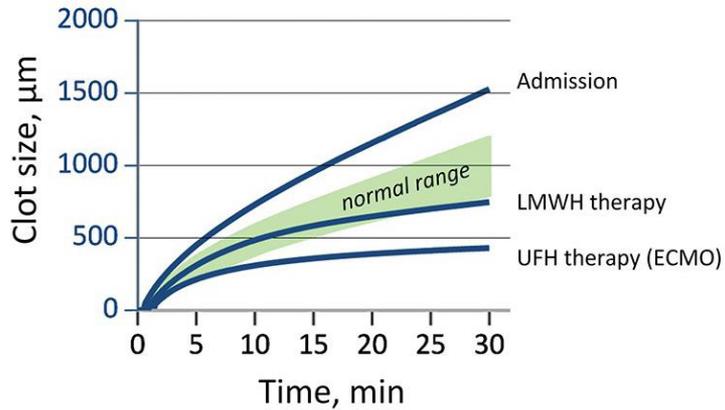
Первая версия прибора



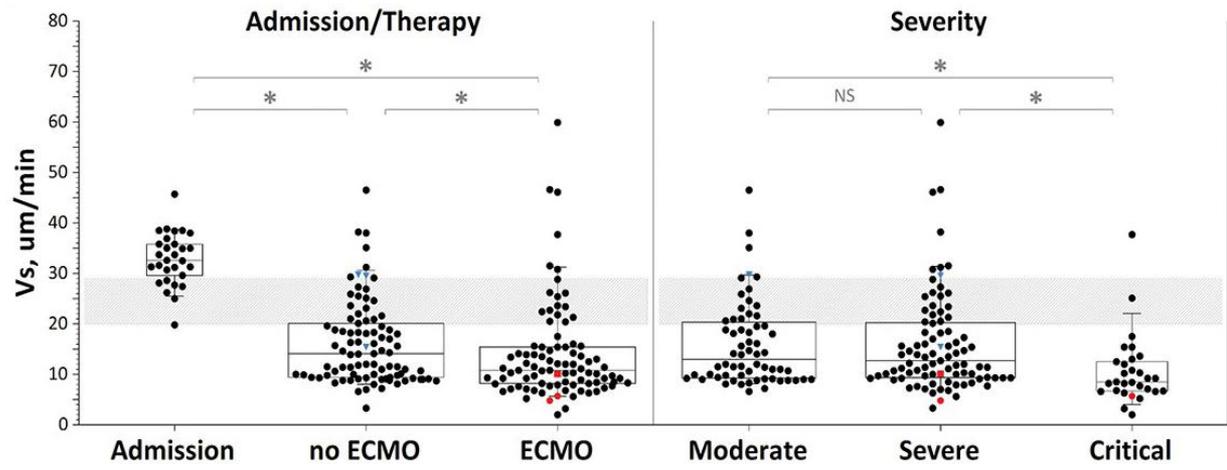
Метод тромбодинамики



Тромбодинамика у пациентов с COVID-19



Photos of fibrin clot at 30th minute



Другие примеры из нашей практики

1. Механизм действия ромиплостима при иммунной тромбоцитопении (**пост-регистрационное исследование**)
2. Загадка побочных эффектов ибрутиниба в хроническом лимфолейкозе (**пост-регистрационное исследование**)
3. Ингибитор ингибитора свертывания как лекарство от гемофилии (**доклиническая фаза**)
4. Загадка остановки роста тромба (**физиология**)
5. Разработка эритроцитов-биореакторов для утилизации аммиака и не только (**биотехнологии**)
6. Анализ кривых непрерывного мониторинга глюкозы с помощью самообучающейся модели для персональной дозировки инсулина (**персонализация терапии**)
7. Разработка потоковой модели метаболизма полной клетки для "перепрограммирования" бактерий в режим производства водородного топлива (**биотехнологии**)
8. Функции и полиморфизмы рецепторов к тромбину (**физиология**)
9. Создание виртуального тромбоцита (**диагностика, персонализация терапии**)

Спасибо за внимание!