

На правах рукописи



Ванина Анастасия Сергеевна

**Моделирование структурных свойств и
транспортных процессов в паренхиме мозга с
использованием гидрогелевого фантома на
основе коллагена**

1.5.2 – Биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Курск – 2025

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Курский государственный университет».

Научный руководитель: **Постников Евгений Борисович**

д.ф.-м.н, доцент

Официальные оппоненты: **Власова Ольга Леонардовна**

д.ф.-м.н., профессор,

директор Высшей школы биомедицинских систем и технологий, директор Научно-образовательного центра «Фундаментальные основы медицинских и биомедицинских технологий» ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»

Голдобин Денис Сергеевич

к.ф.-м.н.,

зав. лабораторией подземной утилизации углерода Института механики сплошных сред УрО РАН – филиала ПФИЦ УрО РАН

Ведущая организация:

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»

Защита состоится 24 июня 2025 г. в 16:30 на заседании диссертационного совета 24.2.273.08 при ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта» по адресу: 236022, г. Калининград, ул. Чернышевского, д. 56, ауд. 22.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Балтийского федерального университета им. И. Канта (г. Калининград, ул. Университетская, д. 2) и на сайте <https://kantiana.ru/postgraduate/dis-list/vanina-anastasiya-sergeevna/>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2025 г.

Отзывы и замечания по автореферату в двух экземплярах, заверенные печатью, просьба высылать по вышеуказанному адресу на имя ученого секретаря диссертационного совета.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.ф.-м.н.,



Андреев Андрей Викторович

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования.

Головной мозг как биофизическая система характеризуется не только нейрональной активностью, но и физическими свойствами его паренхимы. В частности, значительный ее объем занимает внеклеточное пространство, являющееся важным каналом регуляции широкого спектра процессов. Однако, особенности протекающих в нем процессов транспорта метаболитов и растворенных веществ, которые могут иметь ключевое значение при рассмотрении таких вопросов как регуляция нейронной активности, развитие нейродегенеративных заболеваний и адресная доставка лекарств до сих пор все-сторонне не изучены¹. Сложность прямой регистрации переноса растворенных веществ в этой сильно неупорядоченной системе *in vivo* обуславливает необходимость разработки фантомов со свойствами, имитирующими паренхиму головного мозга, в качестве физических моделей с контролируемыми свойствами для проверки применимости различных теоретических подходов к описанию как реологии, так и транспортных режимов, регистрируемых в натуральных биологических экспериментах².

Существующие модельные системы предполагают использование агарозного геля или близких по свойствам к нему полимерных композиций³, зачастую характеризующиеся чрезмерным упрощением по сравнению с реальной биологической структурой. Кроме того, большинство физических моделей предназначены либо для использования в качестве фантомных сред для изучения транспортных процессов, либо в качестве фантомов для механических исследований. По этой причине растет интерес к разработке новых функциональных материалов, являющихся биомиметическими, то есть воспроизводящими требуемые свойства мозговой ткани в комплексе⁴. Среди них биоматериалы, такие как нативный коллаген, способные образовывать многомасштабную пористую матрицу с высокими влагоудерживающими свойствами, представляются одними из наиболее перспективных.

Цели и задачи диссертационной работы. Цель работы заключается в создании физической фантомной среды, биофизически релевантной структурно-реологическим свойствам паренхимы головного мозга и аналоговом моделировании транспортных процессов в ней, объясняющих явления, наблюдаемые в натурной системе.

¹ Nicholson C., Hrabětová S. Brain Extracellular Space: The Final Frontier of Neuroscience // *Biophys. J.* **113** (2017) 2133.

² Axpe, E. et al. Towards brain-tissue-like biomaterials. *Nat. Comm.* **11** (2020) 3423.

³ Pomfret R. et al. The substitute brain and the potential of the gel model // *Ann. Neurosci.* **20** (2013)118; Rauti R. et al. Mimicking the Brain Extracellular Matrix in Vitro: A Review of Current Methodologies and Challenges. *Isr. J. Chem.* **60** (2020) 1141.

⁴ Bouattour S. et al. A Minireview on Brain Models Simulating Geometrical, Physical, and Biochemical Properties of the Human Brain. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **10** (2022) 818201

Для достижения поставленной цели определены и сформулированы основные *задачи* диссертационного исследования:

1. Синтезировать гидрогель на основе коллагена, соответствующий по структурным и механическим свойствам паренхиме и внеклеточному матриксу головного мозга, и модельную среду – фантом на его основе.
2. Провести сравнительный анализ реологических свойств гидрогелевого фантома по отношению к соответствующим характеристикам вещества мозга при сдавливающих и колебательно-вращательных нагрузках.
3. Разработать методику использования гидрогелевого фантома для аналогового моделирования распространения в нем жидких маркеров при процессах, соответствующих экспериментам при открытом гематоэнцефалическом барьере (ГЭБ) на головном мозге *in vivo*.
4. На основе имитационных экспериментов с использованием гидрогелевого фантома предложить интерпретацию биофизических механизмов, приводящих к возникновению аномальных транспортных режимов, детектируемых в натуральных биологических экспериментах.

Научная новизна работы состоит в следующем:

1. Разработана новая аналоговая биофизическая модель в виде фантома паренхимы мозга на основе рыбного коллагена, которая в отличие от известных ранее, позволяет одновременно имитировать комплекс реологических и транспортных свойств мозговой ткани.
2. Впервые продемонстрирована возможность проведения экспериментов по исследованию механизмов отличных от нормальной диффузии транспортных режимов, регистрируемых при перфузии маркерных веществ в мозге, с использованием фантомной среды.
3. Установлен новый механизм контроля диффузионных процессов, воспроизводящий вариабельность коэффициента диффузии метаболитов в межклеточном пространстве мозга, за счет биомолекулярного состава пористой среды, в частности, включений липидного компонента.
4. Впервые в натурном эксперименте в макроскопическом масштабе выявлено возникновение эффекта “броуновской-но-негауссовой” диффузии, что позволило сделать вывод о механизме ее возникновения, детектируемого в МРТ-экспериментах на живом мозге.
5. На основе экспериментов с использованием фантома участка паренхимы, окружающего проницаемый микрососуд, предложена новая модельная интерпретация эффекта двухэтапного характера распространения маркерных сред из капилляров мозга при открытом ГЭБ.

Теоретическая и практическая значимость. *Теоретическая значимость* работы состоит в развитии подхода, оперирующего физически реализуемой моделью, имеющей структурно-реологические свойства, близкие

биологической ткани (паренхиме головного мозга), что позволяет проводить эксперименты в условиях контролируемых свойств материала для тестирования вклада различных управляющих факторов, включенных в разрабатываемые математические модели данного типа биофизических процессов, наблюдаемых в натурном эксперименте. *Практическая значимость* состоит в перспективе использования созданной фантомной среды для широкого круга практических биомедицинских приложений, включающих ее использование как калибровочного объекта для компьютерной томографии, создание фантомов для тестирования средств защиты мозга при механических воздействиях, ведущих к черепно-мозговым травмам, тренировочных фантомов для отработки хирургических операций.

Положения, выносимые на защиту:

1. Биофизические свойства паренхимы и внеклеточного матрикса мозга млекопитающих, как реологические (модуль Юнга, модули упругости и вязкости варьируются в интервале $E \sim 10^0 - 10^1$ кПа и $G', G'' \sim 10^2 - 10^3$ Па для нагрузочных и вращательно-колебательных тестов в зависимости от образца), композиционно-структурными (массовая доля воды $n_W \sim 85\%$), так и транспортные, воспроизводятся ($E = 4.5 \pm 1.8$ кПа, $G', G'' \sim 10^2$ Па, $n_W \approx 91\%$) моделью в виде гидрогелевого фантома на основе нативного коллагена, выделенного из шкуры североафриканского сома *Clarias gariepinus*, что позволяет использовать его для проведения аналогового моделирования процессов в веществе тканей мозга.
2. Величины ($\sim 10^{-6}$ см²/с) коэффициентов диффузии низкомолекулярных метаболитов (таких как сахара) и веществ, применяемых в медицинской биофизике (рентген- и МРТ-контрасты), в паренхиме мозга согласуются со значениями в интервале $(0.4 \div 13.2) \cdot 10^{-6}$ см²/с, контролируемые включением липидного компонента и поверхностно-активных веществ в состав фантомной среды.
3. Явление “броуновской-но-негауссовой” диффузии, наблюдаемое в данных транспорта контрастного вещества при МРТ-исследовании мозга, соответствует аналогичному эффекту, воспроизведенному в аналоговом эксперименте на фантоме путем внедрения неупорядоченного липидного компонента, модифицирующего проницаемость матрицы; данное соответствие подтверждено статистическим анализом, показавшим, что распределение концентрации маркера является лапласовым и контролируется степенью неоднородности среды.
4. Эффект двухэтапного распространения флуоресцентного маркера, попадающего в паренхиму мозга из микрососудов при открытом ГЭБ воспроизведен в гидрогелевом фантоме с капиллярным каналом, характерное время перехода (~ 200 с) качественно соответствует данным натур-

ного эксперимента на головном мозге мыши; установлено его количественное ($R^2 = 0.994$) соответствие данной динамики решению модели типа Каттанео, учитывающих конечные времена локальной релаксации при переносе вещества.

Достоверность и соответствие паспорту специальности.

Достоверность полученных результатов в части экспериментальных данных обеспечивается использованием стандартизированного специализированного оборудования и применением стандартных статистических и численных методов; достоверность сделанных выводов и следующих из них теоретических интерпретаций наблюдаемых процессов с биофизической точки зрения обеспечивается сравнительным анализом с данными натуральных биофизических экспериментов, а также с данными математических моделей.

Результаты соответствуют паспорту научной специальности 1.5.2. “Биофизика” (отрасль науки – физико-математические) по направлениям п. 1.4 “Биофизика сложных систем: медицинская биофизика” и п. 4 “Теоретическое и экспериментальное исследование физических процессов, протекающих в биологических системах разного уровня организации”.

Апробация результатов. Основные результаты докладывались автором лично на научных конференциях:

- 4th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces" в рамках Baltic Forum 2022: Neuroscience, Artificial Intelligence and Complex Systems (14-19.09.2022, Калининград, Россия);
- VII Съезд биофизиков России (17-23.04.2023, Краснодар, Россия);
- AIMECS 2023. 14th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (25-28.06.2023, Seoul, South Korea);
- 5th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces" в рамках Baltic Forum 2023: Neuroscience, Artificial Intelligence and Complex Systems (18-20.09.2023, Калининград, Россия);
- Симпозиум “Приложение современных физико-математических методов в исследовании биомедицинских систем” в рамках XII Конгресса «Национальной Ассоциации Фтизиатров», посвященного 100-летию со дня основания Санкт-Петербургского научно-исследовательского института фтизиопульмонологии (20-23.11.2023, Санкт-Петербург, Россия);
- TransMat 2K24: International Conference on Translational Materials for Sustainable Technology (1-4.02.2024, Varanasi, India).
- IUPAB2024: 21st Congress of the International Union for Pure and Applied Biophysics & 62nd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (24-28.06.2024, Kyoto, Japan).
- 6th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces" в рамках Baltic Forum 2024: Neuroscience, Artificial Intelligence and Complex Systems (19-21.09.2024, Калининград, Россия);

- ICBBB 2025: 15th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics (16-19.01.2025, Bangkok, Thailand)

Исследования были поддержаны грантом РФФ № 22-15-00143.

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 14 работах, из них: 4 статьи в рецензируемых журналах, индексируемых базами данных Web of Science и Scopus, приравненным ВАК к категории К1, 4 статьи в материалах международных научных конференций, проиндексированные Scopus, 1 патент РФ и 5 тезисов докладов.

Личный вклад автора состоит в разработке способа создания гидрогелевых фантомов с заданными свойствами, их синтезе, выполнении экспериментов по распространению в фантоме маркерных веществ, обработке и интерпретации их результатов путем сравнительного анализа с данными натуральных биологических и модельных экспериментов, выполнении эксперимента по исследованию нагрузочной деформации материала фантома и анализе соответствия его результатов реологическим характеристикам вещества мозга, подготовке фантомов для проведения их электронной сканирующей микроскопии, компьютерной томографии и снятия данных вращательно-колебательной реологии (данные с использованием специализированного оборудования получены соавторами по опубликованным работам и переданы для дальнейшей обработки в исходном виде), обработке полученных данных и их интерпретации в соответствии с известными биологическими данными, формулировке биофизических выводов. Постановка конкретных задач исследования и план их реализации разрабатывались автором совместно с научным руководителем и соавторами опубликованных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения и библиографии. Общий объем диссертации составляет 129 страниц, из них 109 страниц текста, включая 40 рисунков и 2 таблицы. Библиография включает 156 наименований на 19 страницах.

Содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы цель и задачи исследования, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимости полученных результатов, выносимые на защиту положения и личный вклад автора.

В **первой главе** приведен обзор современных проблем биофизики, связанных с обнаружением новых транспортных режимов, наблюдаемых при проникновении веществ в паренхиму головного мозга при открытом гематоэнцефалическом барьере на основе оптических методов и МРТ⁵, отличающихся

⁵ ^a Alruwaili et al. *Neurochem. Res.* **48** (2023) 3255; ^b Postnikov et al. *Eur. Phys. J. Plus* **136** (2021) 480; ^c Semyachkina-Glushkovskaya et al. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **21** (2023) 758; ^d Mériaux et al. *Front.*

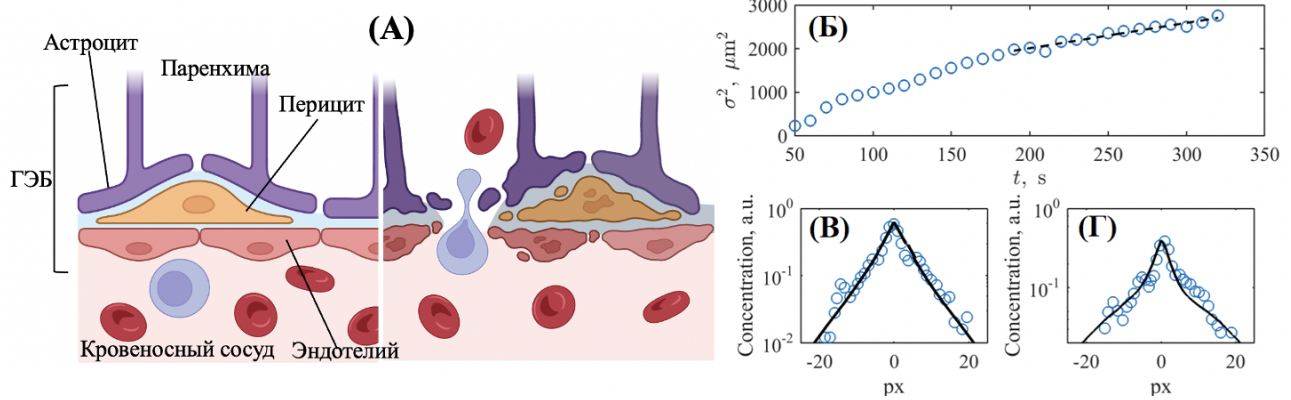


Рис. 1: Нестандартный транспорт, наблюдаемый при проникновении жидкого маркера в мозг при открытом ГЭБ^{5a} (А): переход между потоковым и диффузионным (штриховая линия) режимами изменения дисперсии области проникновения флуоресцентного маркера^{5b} (Б), временная эволюция пространственных распределений вида “броуновской-но-негауссовой” диффузии контрастного маркера по данным МРТ^{5c} (В) и (Г).

от классической диффузии, см., например, рис. 1; обосновывается роль фантомных сред, используемых в качестве физических аналогов ткани мозга с развитой неоднородной структурой межклеточного пространства как пористой среды в задачах моделирования процессов распространения вещества и биомеханики, выявлены ограничения существующих реализаций таких фантомов, адаптированных, как правило, для воспроизведения характеристик нормальной диффузии или же упругой реологии без учета сопутствующего транспорта жидкостей, и формулируются требования к созданию более биофизически-адекватных аналоговых моделей, разработке которых и исследованиям с их использованием посвящены дальнейшие разделы диссертации.

Во **второй главе** представлена методика изготовления физической модели (фантома), используемой для проведения экспериментов, а также приводятся основные результаты исследования фантома на основе базовых физических методов установления структурных и реологических особенностей материала и их анализ в сопоставлении с соответствующими свойствами биологической ткани.

Рис. 2 (А) показывает фотографию типичного образца фантома, материал которого представляет собой гидрогель, синтезированный на основе нативного коллагена, выделенного из кожи бесчешуйчатого африканского сома *Clarias gariepinus*. Были также изготовлены его модификации, включающие дополнительные компоненты (фосфолипиды и поверхностно-активные вещества) для большего соответствия химическому составу головного мозга и создания возможности исследования влияния состава и микроструктуры на физические транспортные процессы в данной пористой среде.

Структура образца в водонаполненном состоянии, подготовленном к использованию для экспериментов в качестве фантома мозговой ткани пред-

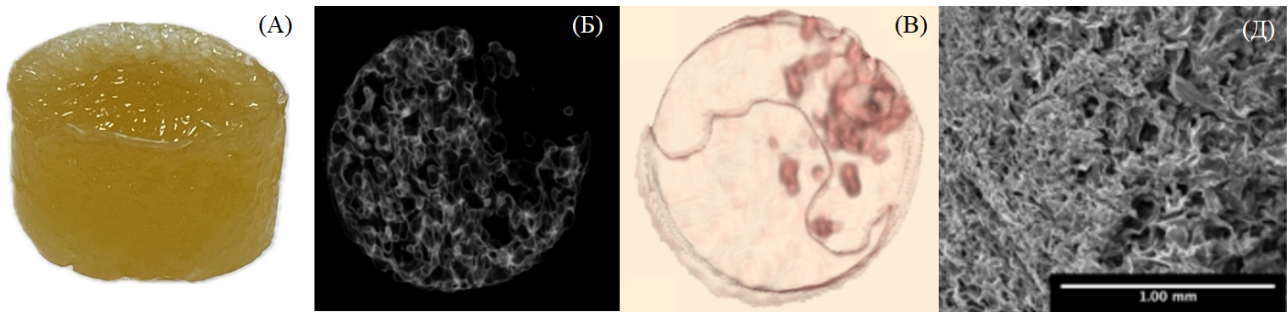


Рис. 2: Синтезированный гидрогель (А) и его структурные особенности, выявляемые посредством КТ (проведена в СПб НИИФ) в режимах отображения биополимеров (Б) и липидов (В), а также СЭМ (проведена в МНТЦ КГУ) (Д). Характерные линейные размеры пор ($10^1 \div 10^2$ мкм) соответствуют крупномасштабным структурам децеллюляризированной ткани головного мозга крысы.

ставляет собой сетевидную коллагеновую матрицу, распределенную по всему объему гидрогеля, и имеет качественное сходство с зернистой структурой компьютерных томограмм биологической ткани (рис. 2 (Б)). Кроме того, в режиме выделения липидного компонента тканей (рис. 2 (В)) можно наблюдать и анализировать распределение крупных анизотропно локализованных липидных капель. Сканирующая электронная микроскопия поверхности криовысушенного образца (рис. 2 (Д)) подтверждает наличие многомасштабной микроскопической морфологии в виде глобальной сетчатой структуры с множеством ячеек с диаметрами от нескольких до десятков микрон, образующиеся вследствие складывания друг с другом коллагеновых пластинок.

При исследовании водопоглощающей способности фантома показано, что ее временная динамика удовлетворяет предложенной в диссертации дробно-рациональной регрессионной модели $SR(t) = t(t + q_1) / (p_1 t^2 + p_2 t + 1)$, где коэффициенты q_1 , $p_{1,2}$ задают кинетику процесса, а асимптотическое содержание воды в гидрогеле может достигать 91%, что близко к тканям головного мозга, где содержание воды (особенно в сером веществе) составляет около 80-85%.

Физико-реологические испытания показали, что в тесте на сжатие зависимость между деформацией и напряжением соответствует модели Огдена первого порядка, которая широко применяется для описания гиперэластичной мягкой материи, в частности, ткани головного мозга. Сравнение с результатами для образцов свиного мозга показывает близость значений вплоть до величины относительных деформаций $\varepsilon = 0.3 \div 0.4$, см. рис. 3 (А). При анализе реологических свойств при вращательных деформациях установлено количественное (принимая во внимание диапазон высокой неопределенности измерений) соответствие модулей упругости (накопления) G' и вязкости (потерь) G'' с таковыми для свиного мозга при измерениях в условиях амплитудной развертки при малых напряжениях, см. рис. 3(Б). При больших деформациях, приводящих к выходу в существенно-нелинейном режиме, количественное согласие нарушается, однако качественные эффекты (тип нелинейности, ги-

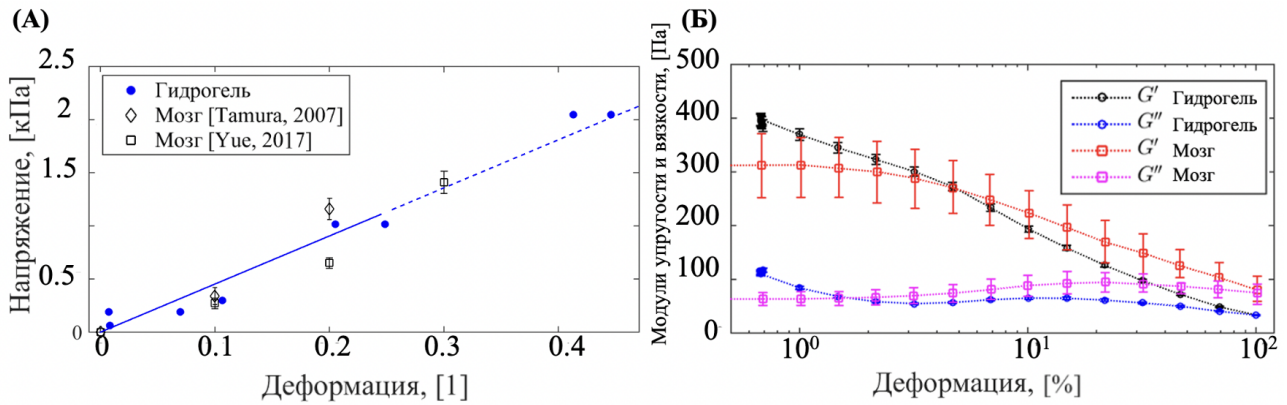


Рис. 3: Диаграмма “напряжение–деформация” для образца гидрогеля в сравнении со свиным мозгом при малых сдвигающих нагрузках (А) и динамические модули при 1%-ной вращательной деформации (G' и G'' – упругости и вязкости соответственно) в сравнении со свиным мозгом [Mendizabal *et al.*, 2015] (Б).

стерезис при нагрузке-разгрузке) воспроизводятся.

Проведенный сравнительный анализ структурных и реологических характеристик созданного фантома с биологическим аналогом свидетельствует о том, что процессы переноса молекулярных маркеров в вязкоупругом пористом материале гидрогеля, состоящим из барьеров и ловушек различных размеров и пролегающих между ними водных путей, должны иметь схожие физические механизмы с транспортными процессами во внеклеточном пространстве мозговой ткани, то есть фантом может быть использован для соответствующего аналогового моделирования как биомиметическая среда.

В **третьей главе** рассматриваются результаты экспериментальных исследований механизмов распространения жидких маркеров в объеме синтезированного гидрогеля с различными модификациями состава. Основной фокус на данном этапе сделан на возможности аналогового моделирования характерных диффузионных процессов, свойственных для ткани головного мозга.

Первая серия экспериментов была проведена с использованием раствора флуоресцентного органического маркера (9-оксо-9,10-дигироакридин-2-сульфоновая кислота), который вводился с помощью тонкой иглы в среду гидрогеля, что соответствует условиям биологических экспериментов, проводимых на мозге при инъекции маркерного вещества в паренхиму или же при развитой утечке из микрососудов при открытом ГЭБ. Дальнейший процесс распространения регистрировался на видео, которое было разделено на кадры для последующей обработки. На рис. 4 приведены примеры развития процесса в сравнении со снимками распространения флуоресцентного маркера из микрососудов мозга живой мыши.

Помимо качественного визуального сходства представленных на рис. 4 наборов изображений, была проведена количественная характеристика динамики распространения маркеров в гидрогеле с использованием метода⁶,

⁶ Postnikov, E.B., Namykin, A.A., Semyachkina-Glushkovskaya, O.V., Postnov, D.E. Diffusion

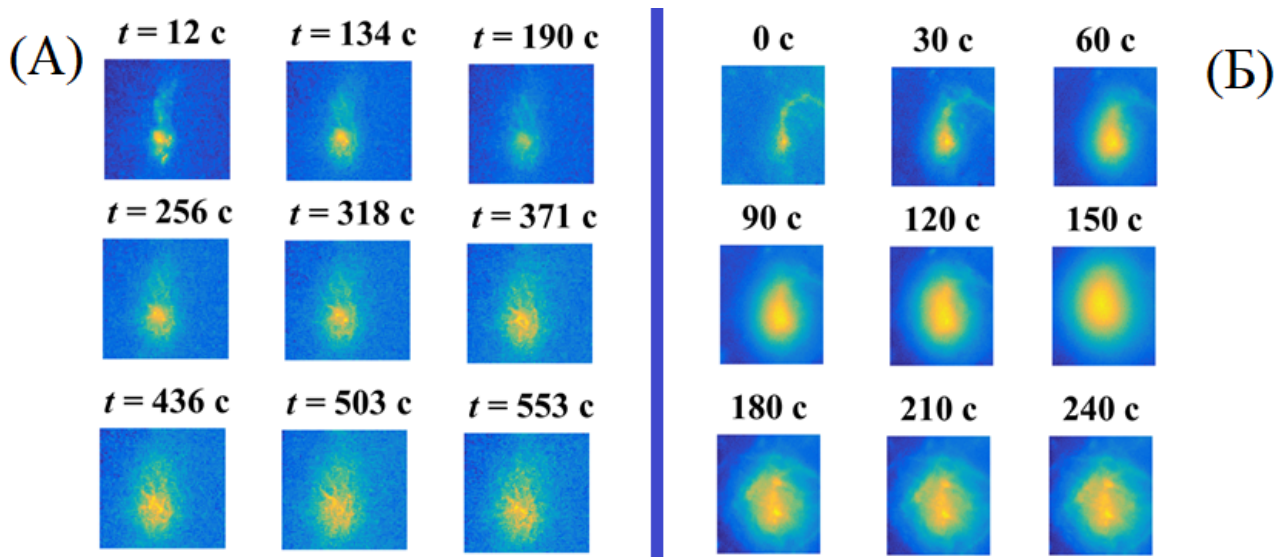


Рис. 4: Последовательное распределение интенсивности флуоресценции маркеров, распространяющихся от жидкостного канала в среде гидрогеля (А) и от микрососуда в мозге мыши при нарушении целостности ГЭБ [Postnikov et al, 2021] (Б). Интенсивность желтого цвета соответствует концентрации маркера.

который использовался для анализа биологических данных, примеры которых даны на рис. 4 (Б). Сущность метода заключается в диффузионном сглаживании изображения источника утечки и оптимизации размера соответствующего сглаживающего окна (масштабного параметра) σ_m по критерию максимума корреляции с последовательностью необработанных изображений для различных моментов времени. Было показано, что зависимость масштабного параметра σ_m^2 от времени для модельного эксперимента демонстрирует линейный характер, что свидетельствует о том, что процесс распространения маркера соответствует диффузии ($\sigma^2 = 4Dt$). Наклон соответствующей прямой дает значение $D = (2.4 \pm 0.1) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ с 95% доверительным интервалом. Это значение отличается от величины, известной для экспериментов, показанных на рис. 4 (Б) так как в последних использовался существенно более высокомолекулярный маркер, но соотносится с биологически-релевантным диапазоном значений коэффициента диффузии контрастного агента (гадобутрола) применяемого в МРТ-исследованиях, который составляет $(1.5 - 1.7) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ в сером веществе человеческого мозга и $(1.4 - 2.0) \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$ в белом.

Другой задачей, рассматриваемой в данной главе, является изучение транспортных процессов в среде гидрогеля с использованием данных, полученных при компьютерной томографии, которая позволяет получить трехмерную картину распространения маркера. Анализ серии измерений пространственного распределения жидкого рентгеноконтрастного вещества (йодпромида) позволил исследовать как общую топологию распределения контрастного вещества после инъекции, так и количественно охарактеризовать

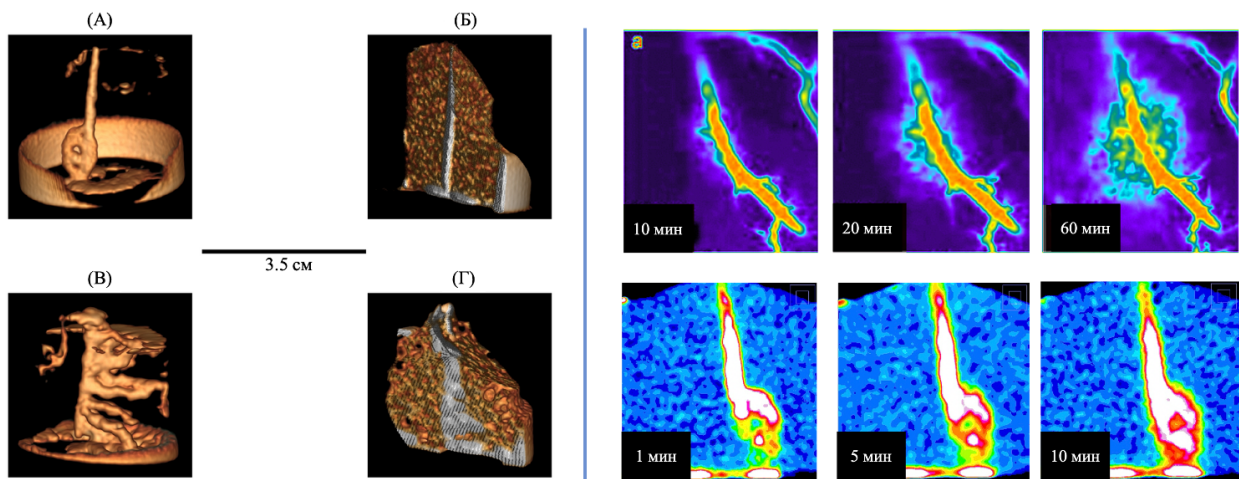


Рис. 5: Слева – примеры распределения рентгеноконтрастной жидкости после инъекции при различных режимах КТ ((А) и (В) – узкополосное окно, соответствующее химическому составу металлоорганического маркера, (Б) и (Г) – широкополосное окно, учитывающее и маркер, и окружающий его гидрогель): (А) и (Б) – образцы гидрогеля с 30%-ным содержанием поверхностно-активного вещества, (В) и (Г) – образцы гидрогеля с 30%-ным содержанием липидов; справа – сравнение снимков, иллюстрирующих распространение маркерных веществ: верхний ряд – распространение красителя Evans Blue в паренхиме головного мозга крысы при открытии ГЭБ [Semyachkina-Glushkovskaya *et al.*, 2023], нижний ряд – распространение рентгеноконтрастного вещества в коллагеновом гидрогеле с 30%-ным содержанием липидов

медленные диффузионные процессы в зависимости от модификаций состава гидрогеля. В качестве таких модификаций были использованы чистый гидрогель на основе коллагена, так и материалы с введением двух добавок – липидов и поверхностно-активных веществ в различных концентрациях (10, 20, 30%).

Выявлено, см. рис. 5(слева), что случае образца, содержащего высокую концентрацию липидов, наблюдалось быстрое проникновение в окружающий объем, за которым следовал процесс медленной диффузии, а в случае инъекции маркера в образец с большим содержанием поверхностно-активного вещества отмечалось образование узкого канала, проходящего по всей высоте гидрогеля и заполненного жидким контрастным веществом с последующей медленной аксиальной диффузией. Показано, что подбор подходящего количества модифицированных добавок позволят получить картину, согласующуюся с наблюдаемой в биофизических экспериментах, проводимых на живых объектах, см. рис. 5(справа).

Количественная оценка распространения маркера была выполнена на основе определения динамики ширины поперечного сечения цилиндрических областей каналов, заполненных рентгеноконтрастным агентом после прекращения постинъекционного переходного периода. Показано, что зависимость от времени в этом режиме соответствует процессу нормальной диффузии, графические иллюстрации и количественные данные представлены на рис. 6. Быстрый рост коэффициента диффузии в случаях повышенного содержания

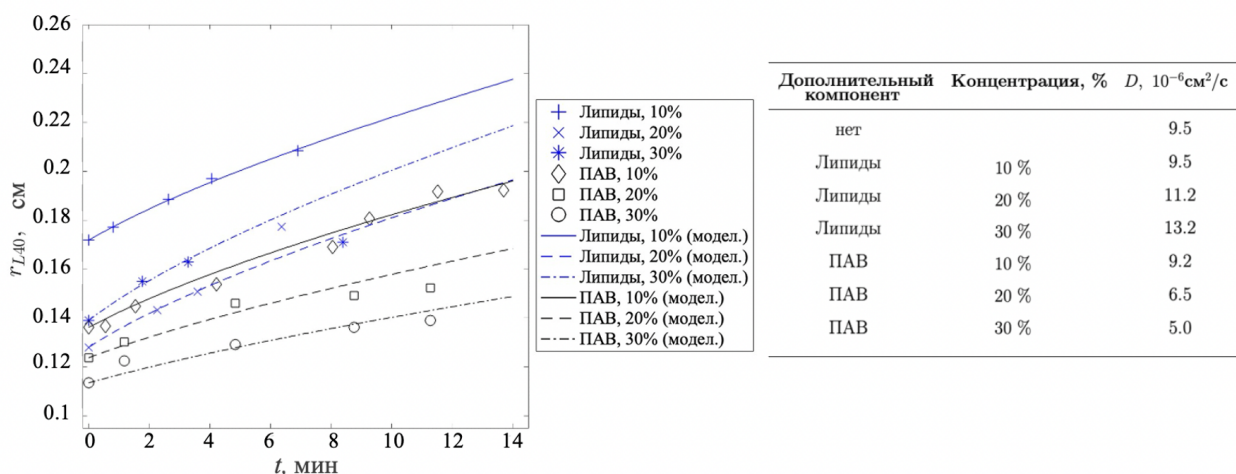


Рис. 6: Слева – средние экспериментальные расстояния радиального распространения йодопромида в среде гидрогеля с различными концентрациями липидных и поверхностно-активных веществ, показанные в сравнении с результатами математического моделирования – решения уравнения диффузии (кривые); справа – эффективные коэффициенты диффузии йодопромида в гидрогелях с различным составом.

липидов может быть вызван увеличением пористости структуры в связи с образованием скоплений гидрофобных молекул липидов, которые заполняют пустоты в полимерной матрице и образуют дополнительные пути распространения жидкости (это же может вызывать нестабильность жидких каналов, что может быть перспективным с точки зрения моделирования процессов геморрагического инсульта в мозге, см. рис. 5(слева)–(В)). Повышение концентрации поверхностно-активных веществ вызывает противоположный эффект: контраст-заполненный канал стабилен, то есть адекватно моделирует микрососуд в мозге. При этом коэффициент диффузии во внешнюю среду гидрогеля соответствует диапазону значений, характерных для распространения низкомолекулярных веществ, таких как глюкоза или сахароза, в головном мозге.

В четвертой главе обсуждаются результаты имитационных экспериментов с использованием гидрогелевого фантома, на основе которых предлагается интерпретация механизмов, приводящих к аномальному (не соответствующему нормальной диффузии) распространению веществ в сложных пористых средах, на основе строения биофизической среды, моделируемой данными экспериментами, как возможная причина возникновения соответствующих эффектов, обнаруженных в последние годы в ряде экспериментов *in vivo* по изучению транспорта веществ в межклеточном пространстве головного мозга.

Среди модельных результатов был выявлен эффект перехода между потоковым и диффузионным распространением для флуоресцентного маркера в коллагеновом гидрогеле, для которого сохранялась возможность свободного оттока жидкости; механизм такого внутригелевого потока, создаваемый в момент вытеснения жидкости за счет избыточного давления в области инъ-

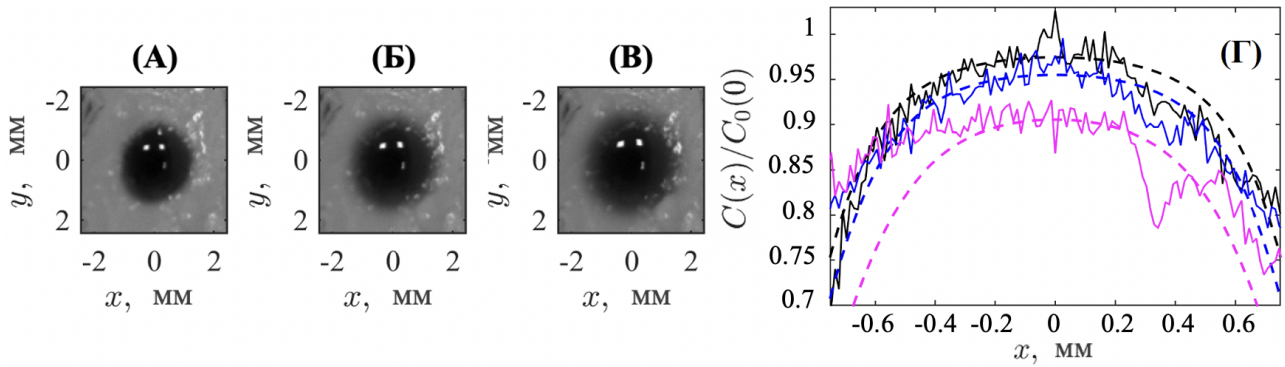


Рис. 7: Примеры распространения маркера из канала, имитирующего микрососуд, в окружающий гидрогель для моментов времени 0 с (А), 120 с (Б), 240 с (В) и профили концентрации вдоль диаметрального сечения моделируемого сосуда и ближайшего его окружения (Г). Сплошные линии соответствуют зарегистрированным данным, пунктирные линии – значениям, смоделированным с помощью решения модифицированного уравнения Каттано. Черный, синий и пурпурный цвета соответствуют моментам 0, 120 и 240 секунд.

екции, напоминает картину, обсуждаемую в контексте “pump–diffuse–pump” модели транспорта спинномозговой жидкости.

Однако, среди задач исследования механизмов, приводящих к двухэтапному транспорту жидкости, основное внимание было уделено аналоговому моделированию соответствующего процесса, наблюдаемого при проникновении веществ через открытый гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), который является отдельной биофизической проблемой с массой открытых вопросов о соотношении молекулярно-биологических и физических эффектов.

Моделирование сценария транспорта веществ при открытом гематоэнцефалическом барьере проводилось путем создания ситуации радиальной диффузии в кратковременных диапазонах времени при утечке металлоорганического вещества-маркера из “сосуда” в среде синтезированного гидрогелевого фантома. Стоит отметить, что детали механизма открытия ГЭБ не воспроизводились, а основное внимание уделялось описанию ситуации, когда вещество уже начинает покидать сосуд и распространяется в паренхиме из канала, заполненного жидкостью с растворенным маркером. На рис. 7(А)–(В) представлены примеры фотографий, иллюстрирующих распространение маркера со временем, на которых можно наблюдать явное увеличение видимого радиуса пятна в течение нескольких сотен секунд. Полученные изображения были обработаны с помощью ImageJ для определения интенсивности распределения маркера в окрестностях центра пятна и получения радиального пространственного распределения концентрации вдоль диаметра пятна как показано на рис. 7 (Г).

На профилях концентрации, изображенных на рисунке 7(Г) видно, что через 120 секунд краситель уже заметно распределен в структуре гидрогеля, и амплитуда пика уменьшилась, но синяя линия близка по форме к черной, то есть можно говорить о распространении без существенного изменения формы профиля, что является характерным признаком “диффузии с конеч-

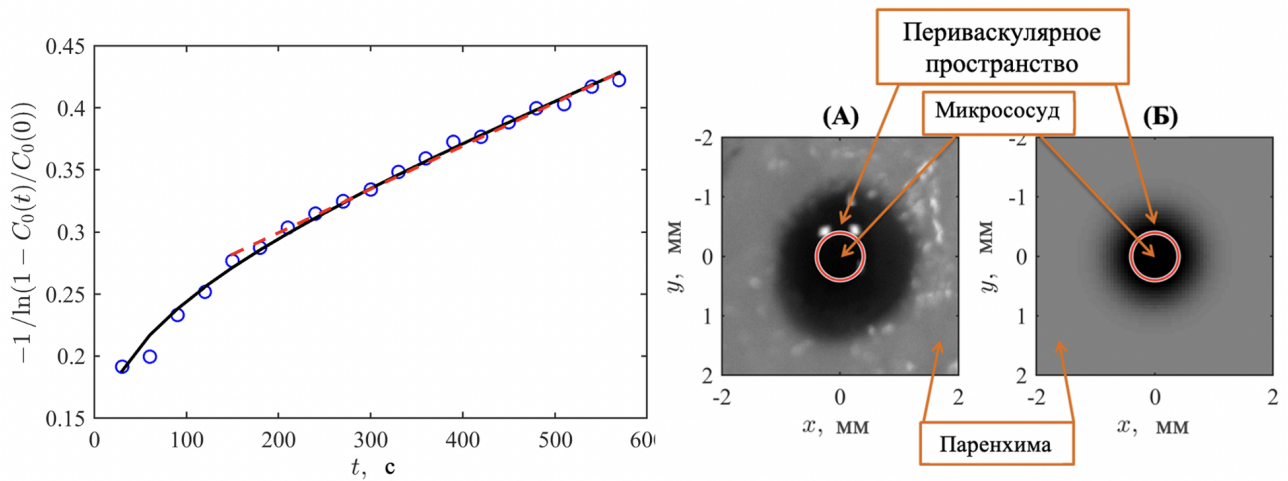


Рис. 8: Слева – изменение концентрации в центральной части пятна маркера, имитирующего сосуд, полученное в эксперименте (кружки) и при моделировании с помощью модифицированного уравнения Каттанео (черная сплошная линия). Красная пунктирная линия подчеркивает линейную зависимость для временных интервалов больше 120 с; справа – сопоставление экспериментальной картины начальной стадии распространения контрастного маркера в среде гидрогеля (А) и ее математической модели (Б).

ной скоростью”, близкой по свойствам на малых временах потоковому (или квазипотоковому) распространению. Однако кривая, соответствующая 240 с отличается более расширенным профилем и более быстрым снижением концентрации вещества в центре.

Для перехода к количественной характеристике нестационарного процесса был предложен оригинальный подход к представлению экспериментальных данные путем использования специального масштабирования графика эволюции концентрации в центральной точке пятна $C(0, t)$ в форме зависимости функции $[\ln(1 - C(0, t)/C_0(0))]^{-1}$ от времени, где $C_0(0)$ – концентрация в этой точке в начальный момент. Для диффузионного распространения эта функция является линейной вида $(4D/R^2)t$, где R – радиус диска, ограничивающего распределение маркера в начальный момент времени, а D – коэффициент диффузии.

На рис. 8(слева) видно, что линейная зависимость характерна только для больших времен, что отмечалось и в литературе, посвященной экспериментам проникновения сквозь ГЭБ *in vivo*, см. рис. 1 (Б). В силу того, что реологические исследования, описанные выше, показали вязкоупругий характер несущей гидрогелевой среды, было проведено исследование возможного соответствия экспериментальных данных о поведении маркера, покидающего цилиндрический канал и распространяющегося по окружающей среде гидрогеля, модели транспорта с конечным временем релаксации концентрации в каждой из точек среды. В качестве такой модели для ее проведения экспериментальной верификации было выбрано уравнение Каттанео, обобщающее уравнение диффузии путем введение конечного времени релаксации τ , модифицированное путем введения дополнительного члена, учитывающего (с

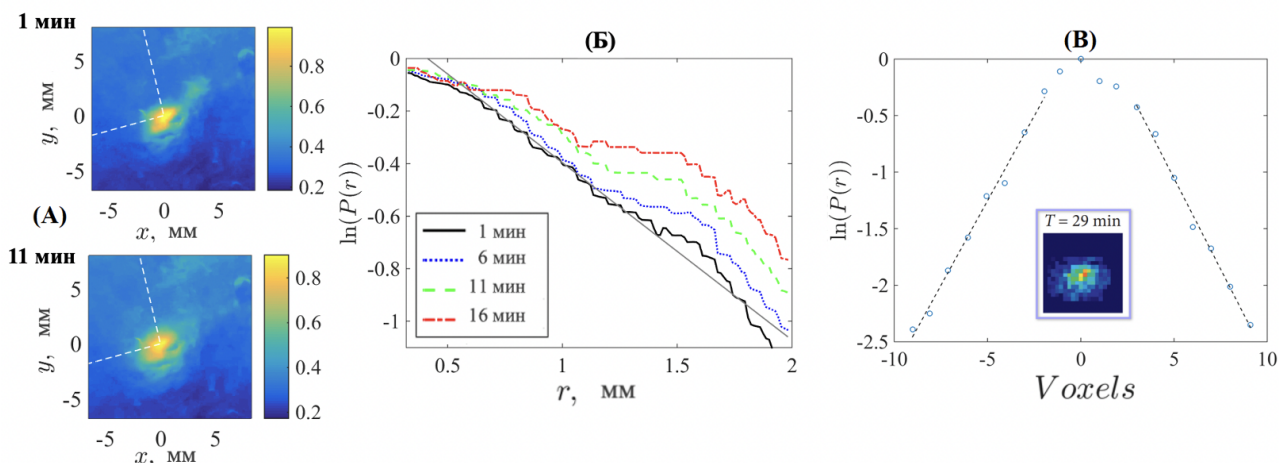


Рис. 9: Примеры масштабированной интенсивности флуоресценции маркера в разные моменты времени (А), где внешний угол соответствует области с неоднородным распределением липидов; логарифмы результирующего среднего радиального распределений интенсивности флуоресценции, нормированной на максимум, для последовательных моментов времени (Б) и пример соответствующего распределения, наблюдаемого в мозге мыши в биофизическом эксперименте [Conti, 2019] (В).

коэффициентом k) отток вещества либо в объем образца, либо его “задержание” в порах образца (поскольку структура гидрогеля неоднородна):

$$\tau \frac{\partial^2 C}{\partial t^2} + \frac{\partial C}{\partial t} = D \nabla^2 C - kC.$$

Рис. 8(справа) показывает сопоставление анализируемых областей физической и математической модели в соответствии с микрососудом и его окружением. Радиус красного круга, отмеченный как “микрососуд”, совпадает с радиусом иглы, которая используется для формирования заполненного жидкостью канала в гидрогеле.

Рис. 8(слева) и 7 (Г) показывают, что данная модель может быть согласована с полученными экспериментальными данными, что дало возможность определить характерное значение коэффициента диффузии, являющееся биологически-релевантным, а также характерным временем перехода между двумя режимами распространения детектированным в реальных системах, включая последствия инициированного звуком открытия ГЭБ в головном мозге мыши, см. рис. 1 (Б).

Еще одной экспериментальной задачей работы является исследования возможности экспериментального воспроизведения эффекта “броуновской-нонегауссовой” диффузии, возникающей при случайных блужданиях маркеров в неоднородной среде, которое отмечалось при МРТ-трассировании маркерного вещества, распространяющегося в паренхиме головного мозга.

Для решения этой задачи регистрацию распространения флуоресцентного маркера проводили в гидрогеле, в состав которого был включен липидный компонент с целью повышения неоднородности. Рис. 9 (А) иллюстриру-

ет кадры двумерного распределения концентрации для различных моментов времени и рис. 9 (Б) – графики его радиальной зависимости после полного углового усреднения. Видно, что картины усредненного по всем углам процесса имеют линейную зависимость (рис. 9(Б)), соответствующую распределению Лапласа (экспоненциальная зависимость от радиуса), с течением времени переходящая в гауссову на отдалении от центра), при соответствии временной зависимости диффузионному распространению. Такое поведение характерно для "броуновской-но-негауссовой" диффузии, возникающей за счет локального неравномерного распределения коэффициентов диффузии (зависимость от неоднородности подтверждена отдельным рассмотрением углового участка с однородной средой). Рис. 9 (В) показывает качественно аналогичное распределение для биологических данных. Это позволяет сделать вывод о возможной причине проявления такого эффекта в реальной ткани головного мозга – специфической неоднородности пористости межклеточного пространства.

В заключении приведены основные выводы по результатам работы:

1. Разработана методика получения пористого гидрогеля на основе нативного коллагена, выделенного из кожи бесчешуйчатой рыбы – сома *Clarias gariepinus* и создания на его основе фантомов, адекватно воспроизводящих основные реологические и транспортные свойства ткани паренхимы головного мозга.
2. Динамические модули материала фантома при процессах его нагрузочной и вращательной деформации, количественно соответствующие таковым для мозговой ткани, делают его перспективным материалом для физического моделирования отклика на динамические воздействия в задачах биомеханики.
3. Настраиваемость структурных свойств фантома путем включения в его состав дополнительных биомимитирующих компонентов, таких как липиды и поверхностно-активные вещества, позволяет использовать его как для физического имитационного эксперимента по проверке адекватности различных моделей транспортных процессов во внеклеточном пространстве мозга, так и в качестве тестовой среды для биомедицинского рентгеноструктурного анализа.
4. Результаты проведенных с использованием созданного фантома в его различных модификациях экспериментов позволяют сделать вывод, что два биофизических эффекта, обнаруженных в последние годы при исследованиях маркерной жидкости из микрососудов мозга в его паренхиме: "броуновская-но-негауссова" диффузия и переход между потоковым и диффузионным режимами распространения могут быть объяснены особенностями структурно-реологических свойств сложной пористой среды межклеточного пространства.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, приравненных к Перечню ВАК как издания, индексируемые Scopus и Web of Science

1. Naik K., Vanina A.S., Srivastava S.K., Sychev A.V., Postnikov E.B., Parmar A.S. Structural and Rheological Properties of a Fish Collagen-Based Hydrogel Considered as a Brain Tissue Phantom // *Langmuir*. 2025. Vol. 41. P. 6124–6131. [Q2/Q1 WoS/Scopus, K1 “Белого списка”, K1 ВАК]
2. Vanina A.S., Lavrova A.I., Safonov D.A., Sychev A.V., Proskurkin I.S., Postnikov E.B. Mimicking Marker Spread After Disruption of the Blood–Brain Barrier with a Collagen-Based Hydrogel Phantom // *Biomimetics*. 2024. Vol. 9: 667. [Q1/Q2 WoS/Scopus, K3 “Белого списка”, K1 ВАК]
3. Vanina A.S., Sychev A.V., Lavrova A.I., Gavrilov P.V., Andropova P.L., Grekhnyova E.V., Kudryavtseva T.N., Postnikov E.B. Computed Tomography-Assisted Study of the Liquid Contrast Agent’s Spread in a Hydrogel Phantom of the Brain Tissue // *Fluids*. 2023. Vol. 8: 167. [Q3/Q2 WoS/Scopus, K2 “Белого списка”, K1 ВАК]
4. Vanina A.S., Sychev A.V., Lavrova A.I., Gavrilov P.V., Andropova P.L., Grekhnyova E.V., Kudryavtseva T.N., Postnikov E.B. A hydrogel-based phantom of the brain tissue aimed at modelling complex metabolic transport processes // *European Physical Journal Special Topics*. 2023. Vol. 232. P. 475–483. [Q2/Q2 WoS/Scopus, K1 “Белого списка”, K1 ВАК]

Статьи в трудах конференций, проиндексированные Scopus

5. Vanina A.S., Sychev A.V., Melent’ev V.V., Postnikov E.B. Elastic properties a collagen-based brain tissue phantom under high compressive load // *Proceedings – 6th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces"(CNN)*. IEEE, 2024. P. 250–252.
6. Vanina A.S., Sychev A.V., Proskurkin I.S., Postnikov E.B. Revealing Types of Transport Regimes for Organometallic Markers Spreading in a Collagen-Based Brain Parenchyma’s Phantom // *Proceedings – 5th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces"(CNN)*. IEEE, 2023. P. 114–117.
7. Vanina A.S., Sychev A.V., Grekhnyova E.V., Postnikov E.B. A collagen network-based hydrogel phantom for testing models of the metabolite transport in the brain parenchyma // *Proceedings – 4th International Conference "Neurotechnologies and Neurointerfaces"(CNN)*. IEEE, 2022. P. 212–214.
8. Lavrova A.I., Vanina A.S., Sychev A.V., Grekhnyova E.V., Postnikov E.B. Accessing random diffusivity in a hydrogel-based brain’s paranchyma phantom // *ICIIBMS 2022 – 7th International Conference on Intelligent Informatics and Biomedical Sciences*. IEEE, 2022. P. 243–244.

Патент на изобретение

9. Ванина А.С., Грехнева Е.В., Ефанов С.А., Сычев А.В., Мельниченко В.Э. Способ получения концентрата нативного коллагена // *Заявка 2024118596 от 03.07.2024, решение о выдаче патента от 09.01.2025.*

Прочие публикации

10. Vanina A.S., Sychev A.V., Postnikov E.B. Characterizing Natural Deep Eutectic Solvents Respectively to Their Usage for Producing Biomedical Compounds // *15th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics (ICBBB 2025). Conference Abstracts.* Bangkok: Chulalongkorn University, 2025. P. 44.
11. Vanina A.S., Sychev A.V., Proskurkin I.S., Lavrova A.I., Postnikov E.B. Physics of transport through capillaries and the blood-brain barrier: comparative study of hydrogel phantom and living mouse models // *IUPAB2024: 21st Congress of the International Union for Pure and Applied Biophysics & 62nd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan: Online Abstract Book.* Kyoto, 2024. P. 762.
12. Vanina A.S., Grekhnyova E.V., Kudryavtseva T.N., Sychev A.V., Lavrova A.I., Postnikov E.B. Marine collagen as a prospective component of hemostatic and tissue mimicking materials // *TransMat 2K24: International Conference on Translational Materials for Sustainable Technology – Abstract Book.* Varanasi: IIT(BHU), 2024. P. 52.
13. Vanina A.S., Sychev A.V., Lavrova A.I., Gavrillov P.V., Andropova P.L., Grekhnyova E.V., Kudryavtseva T.N., Postnikov E.B. Synthesis of a Collagen-based Hydrogel Brain's Phantom and Studying its Properties Respectively to Drug Delivery // *14th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium – Abstract Book.* Seoul, 2023. P. 215.
14. Ванина А.С., Сычев А.В., Постников Е.Б., Лаврова А.И., Грехнева Е.В., Кудрявцева Т.Н., Гаврилов П.В., Андропова П.Л. Исследование и количественная оценка транспорта маркеров в гидрогелевом фантоме, имитирующем паренхиму мозга. // *VII Съезд биофизиков России. Сборник научных трудов. В 2-х томах.* Краснодар, 2023. С. 191-192.

Научное издание

Ванина Анастасия Сергеевна

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук на тему:

Моделирование структурных свойств и транспортных процессов в
паренхиме мозга с использованием гидрогелевого фантома на основе
коллагена

Подписано в печать: 17.04.2025. Формат 60 × 90 1/16. Тираж 100 экз.
Отпечатано в отделе оперативной полиграфии Курского государственного
университета 305000, г. Курск, ул. Золотая, 8.