# БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

# Модель лиганд-рецепторной адгезии для микрочастиц и клеток эллипсоидальной формы

М. А. Казначеев,<sup>1, а</sup> А. В. Беляев<sup>2, б</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, кафедра математики; <sup>2</sup> кафедра биофизики. Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.

Поступила в редакцию 07.02.2019, после доработки 17.04.2019, принята к публикации 17.04.2019.

Тромбоциты играют ключевую роль в процессах гемостаза (остановки кровотечений) и тромбоза. В работе предложена математическая модель адгезионного взаимодействия между неактивированным тромбоцитом и адгезионным субстратом. Клетка представлена в виде твердого недеформируемого эллипсоида, на поверхности которой равномерно распределены адгезионные белки-рецепторы. В качестве адгезионного субстрата рассматривается плоскость, равномерно покрытая адгезионным лигандом-коллагеном, или фактором фон Виллебранда. Тромбоцит прикрепляется к плоскости путем образования упругих лиганд-рецепторных связей. Рассматривается движение тромбоцита при постоянной скорости, направленной перпендикулярно поверхности, и под действием постоянной силы, направленной также перпендикулярно поверхности. Показано влияние формы тромбоцита на силы адгезионного взаимодействия. В случае движения под действием постоянной силы получены пороговые силы, определяющие два возможных состояния: отрыв тромбоцита или удержание его у поверхности.

*Ключевые слова*: биологическая адгезия, агрегация, тромбоциты, микрочастицы, математическое моделирование.

УДК: 519.622.1, 577.359, 576.524. PACS: 87.17.Rt, 87.15.kp, 87.15.Fh, 87.10.Ed.

### введение

Под термином клеточная (или биологическая) адгезия понимают способность клеток прикрепляться друг к другу или различным субстратам с помощью специальных мембранных протеинов. Явление адгезии может быть результатом различных физикохимических взаимодействий, например электростатических, дисперсионных и гидродинамических сил, гидрофобных взаимодействий, капиллярных явлений, шероховатости поверхности и других [1, 2]. В биологических системах адгезия осуществляется в первую очередь за счет сил электростатической природы между молекулами определенных классов белков. Прикрепление клеток, например, к внеклеточному матриксу или к стенкам кровеносных сосудов осуществляется путем формирования лиганд-рецепторных связей по принципу «ключзамок» между белком-рецептором на мембране клетки и белком-субстратом [3-6]. Избирательность (специфичность) такого взаимодействия определяется особенностями структурной самоорганизации молекул адгезионных белков и их распределением как на внешней мембране клетки, так и на поверхности адгезионного субстрата. Комплекс рецептора и лиганда образуют обратимую и до некоторой степени эластичную адгезионную связь, которая может быть представлена как упругий элемент, способный рваться и восстанавливаться. В математических моделях такие парные адгезионные связи описываются как ансамбль пружин, которые с течением времени могут присоединяться и отсоединяться стохастическим образом с определенной вероятностью. Вероятность разрыва связей может зависеть от механических напряжений, воздействующих на лиганд-рецепторный комплекс. Как правило, с увеличением натяжения связи вероятность разрыва увеличивается [6], однако может наблюдаться и обратная зависимость [7, 8] вследствие особенностей молекулярного строения и механических свойств адгезионных протеинов. Математическое описание биологической адгезии оказывается более сложной задачей с вычислительной точки зрения, поскольку не может быть сведено к некоторому среднему полю. Стохастичность процесса, как правило, требует рассматривать кинетику образования—разрыва связей явным образом.

Вместе с этим расчеты сил биологической адгезии необходимы как при проведении фундаментальных исследований сложных биофизических систем, например при создании многомасштабной модели роста тромба [9], так и при инженерных разработках в области микрофлюидики [10]. Детальный теоретический анализ биологической адгезии микрочастиц и клеток позволит точнее интерпретировать данные экспериментов по измерению биологической адгезии в экспериментах с атомно-силовым микроскопом (AFM)[11], оптическим пинцетом [12, 13] или аппаратом для измерения поверхностных сил (SFA) [14].

Большинство имеющихся теоретических работ в этой области рассматривает взаимодействие сферических клеток или плоских поверхностей [15–17]. Существует предположение, что форма микрочастицы может оказать существенное влияние на силы адгезионного и гидродинамического взаимодействия на микромасштабе. В настоящей работе теоретически исследуется влияние формы микрочастиц или клеток на силу адгезионного лиганд-рецепторного взаимодействия.

<sup>&</sup>lt;sup>*a*</sup> E-mail: kaznacheev.michael@mail.ru

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> E-mail: al\_belyaev@inbox.ru

### 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

#### 1.1. Математическая модель

Рассмотрим биологическую адгезию тромбоцита к плоской поверхности z = 0, равномерно покрытой молекулами адгезионного лиганда (рис. 1). Будем также предполагать, что поверхность тромбоцита покрыта адгезионными рецепторами также равномерно. Кроме того, можно предположить, что образуются только вертикальные связи. Тогда задачу можно рассматривать в цилиндрической системе координат  $(r, \varphi, z)$ .



Рис. 1. Движение тромбоцита при постоянной вертикальной скорости, направленной перпендикулярно поверхности

В нашей модели адгезионные связи рассматриваются как пружины с равновесной длиной  $\lambda$  и константой упругости  $\kappa_0$ . Вероятность образования связей будет определяться константами скоростей прямой и обратной реакции между адгезионными рецепторами и лигандами. Тромбоцит в данной модели аппроксимируется жестким, недеформируемым эллипсоидом вращения. Это допустимое приближение, поскольку в неактивированном состоянии твердость тромбоцита обеспечивается цитоскелетом [18].

Будем рассматривать случай, когда тромбоцит двигается с постоянной скоростью V, направленной перпендикулярно поверхности.

Уравнение для плотности связей будет иметь вид:

$$\frac{dn(r,t)}{dt} = K_{\rm on}(r,t)(N_r - n)(N_l - n) - K_{\rm off}(r,t)n(r,t),$$
(1)

$$K_{\rm on}(r,t) = K_{\rm on,eq} \exp\left[\frac{-\kappa_s (L(r,t) - \lambda)^2}{2k_B T}\right], \quad (2)$$

$$K_{\text{off}}(r,t) = K_{\text{off,eq}} \exp\left[\frac{(\kappa_0 - \kappa_s)(L(r,t) - \lambda)^2}{2k_B T}\right], \quad (3)$$

где  $N_r$  — плотность рецепторов,  $N_l$  — плотность лигандов,  $K_{\rm off,eq}$  и  $K_{\rm on,eq}$  — константы скоростей реакции в равновесном состоянии, L(r,t) — длина связи,  $k_B$  — постоянная Больцмана, T — температура,  $\kappa_0$  и  $\kappa_s$  — константы пружины, знак во второй экспоненте определяет тип связей. В силу осевой симметрии системы в уравнении не будет зависимости от  $\varphi$ . Длина связей имеет вид:

$$L(r,t) = h + Vt - b\left(1 - \frac{r^2}{a^2}\right)^{1/2} + b, \qquad (4)$$

где *a* и *b* — полуоси эллипсоида, *h* — кратчайшее расстояние между эллипсоидом и поверхностью в начальный момент времени, *V* — скорость, с которой движется тромбоцит, *r* — расстояние от центра системы до рассматриваемой точки, *t* — время.

Для того чтобы получить суммарное число связей N(t) между тромбоцитом и поверхностью в некоторый момент времени, необходимо проинтегрировать функцию n по всем возможным положениям связей, т. е.

$$N(t) = \int_{0}^{a} \int_{0}^{2\pi} n(r,t) r dr d\varphi.$$
(5)

Сила, которая действует на тромбоцит, будет вычисляться также интегрированием по всем возможным положениям связей, учитывая растяжение связей. Так как рассматриваются только вертикальные связи, сила будет иметь только вертикальную составляющую:

$$F(t) = \kappa_0 \int_0^a \int_0^{2\pi} n(r,t) [L(r,t) - \lambda] r dr d\varphi.$$
 (6)

В работе рассматривались два вида начальных условий:

1) отсутствие связей в начальный момент времени;

2) количество связей в начальный момент времени равно равновесному.

Начальные условия в данной модели идеализированные, однако они позволяют аппроксимировать две практически важные ситуации. Первое условие эквивалентно тромбоциту в кровотоке вблизи раны или тромба: клетка движется со скоростью кровотока а адгезионные связи образуются в момент контакта (соударения) клетки и адгезионного субстрата. Второй случай реализуется в экспериментах по исследованию сил клеточной адгезии с помощью оптического пинцета [12] или методом атомносиловой микроскопии [11]. Перед началом опыта клетку и адгезионный субстрат приводят в контакт на некоторое время, добиваясь установления связей. После чего клетку начинают отрывать от поверхности и измеряют силу адгезии.

В таблице представлены параметры моделирования.

#### 1.2. Численные методы

Для решения дифференциального уравнения используется одностадийная схема Розенброка с комплексным коэффициентом (CROS1), контроль точности осуществляется с помощью рекуррентного метода Ричардсона [19].

Рассмотрим задачу Коши:

$$y' = f(y, t), \quad y(0) = y_0,$$
 (7)

где y — искомая функция, f(y,t) — заданная функция. Для нее схема CROS1 будет иметь следующий вид:

$$(1 - \tau a f_y(y_n, t_n))w_n = f\left(y_n, t_n + \frac{\tau}{2}\right), \qquad (8)$$

$$y_{n+1} = y_n + \tau Re(w_n), \tag{9}$$

где  $a = \frac{1+i}{2}$ ,  $\tau$  — шаг по времени в разностной схеме.

## БИОФИЗИКА И МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА

Параметр	Обозначение	Значение	Размерность
Начальное расстояние	h	0.1	МКМ
Длина нерастянутой связи	$\lambda_0$	0.1	МКМ
Константа скорости			
прямой реакции	$K_{ m on,eq}$	$10^{-14}$	мкм $^2 \cdot c^{-1}$
Константа скорости			
обратной реакции	$K_{{ m off},ea}$	10	c <sup>-1</sup>
Константа пружины	$\kappa_0$	$10^{-5}$	$H \cdot m^{-1}$
Константа пружины	$\kappa_s$	$0.5^{-5}$	Н∙м <sup>-1</sup>
Температура	$k_bT$	$4, 14 \cdot 10^{-21}$	Дж
Плотность рецепторов	$N_r$	10 <sup>5</sup>	mkm <sup>-2</sup>
Плотность лигандов	$N_l$	10 <sup>5</sup>	мкм <sup>-2</sup>

#### Таблица. Параметры моделирования



Рис. 2. Зависимости количества связей и силы от времени при различных условиях: *а* — зависимость количества связей от времени при нулевых начальных условиях, *б* — зависимость количества связей от времени при равновесных начальных условиях, *в* — зависимость силы от времени при нулевых начальных условиях, *с* — зависимость силы от времени при равновесных начальных условиях, *с* — зависимость силы от времени при равновесных начальных условиях.

Для каждого r уравнение кинетики связи (1) является обыкновенным дифференциальным уравнением, которое разрешимо с помощью численного метода (8)–(9).

Гидродинамическое взаимодействие будет описываться следующей формулой:

$$F_h = rac{6\pi\eta R_{ ext{eff}}^2 \dot{y}}{y}, \quad R_{ ext{eff}}^2 = rac{a^2}{b},$$

где  $\eta$  — динамическая вязкость, y — координата нижней точки эллипсоида.

Тогда уравнение, описывающие динамику движения тромбоцита, можно получить из предыдущего выражения. Оно будет иметь вид:

$$\frac{dy(t)}{dt} = \frac{F - F_b(t)}{6\pi\eta R_{\rm eff}^2} y(t),$$
(10)

где F — постоянная сила, которая действует на тромбоцит,  $F_b$  — сила натяжения адгезионных связей. Последняя находится суммированием (или в континуальном пределе — интегрированием) по всем



Рис. 3. Зависимости количества связей и силы от времени при различных условиях: *a* — зависимость количества связей от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *б* — зависимость количества связей от времени (в начальный момент число связей равно равновесному) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *s* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *s* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *s* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно равновесному) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно 0) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно равновесному) при различном соотношении полуосей *a* и *b*, *c* — зависимость силы от времени (в начальный момент число связей равно равновесному) при различном соотношении полуосей *a* и *b* 

активным связям. То есть необходимо решить уравнение (1) для плотности связей в некоторый момент времени, вычислить силу адгезионного взаимодействия по формуле (6) и затем использовать уравнение (10) для нахождения положения тромбоцита в следующий момент времени.

Проверка сходимости численной схемы осуществляется по методу Ричардсона (метод сгущения сеток):

$$R_{kN} = \frac{y_{rN} - y_N}{r^p - 1}, \quad p_k = \frac{\lg \frac{R_{k-1}}{R_k}}{\lg r},$$

где k — индекс, определяющий номер сетки (0 — первоначальная сетка, 1 — сетка, сгущенная один раз и так далее), r — показатель сгущение сетки (во сколько раз сгущается сетка по сравнению с предыдущей),  $R_{kN}$  — погрешность решения,  $y_N$  — решение уравнения,  $y_{rN}$  — решение на сгущенной сетке, p — точность численной схемы.

Если  $p_k$  сходится к теоретическому значению, значит, численная схема работает правильно.

### 2. РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 2.1. Движение с постоянной скоростью

Сначала рассмотрим результаты при различной скорости движения тромбоцита (рис. 2, *a*, *б*).

В случае нулевых начальных условий вначале количество связей резко растет, потом оно плавно спадает до 0, растянутые связи рвутся по экспоненциальному закону, а новые связи не успевают образоваться. Различные начальные условия приводят к различной динамике образования связей вначале.

Увеличение скорости приводит к более быстрому разрыву связей. Кроме того, при нулевых начальных условиях максимальное число связей, которое успевает образоваться, уменьшается.

Рассчитанные значения силы адгезии приведены на рис. 2, *в*, *г*. В случае равновесных начальных условий, при увеличении скорости появляется резкий пик. Он связан с тем, что тромбоцит уже удалился на достаточное расстояние, а связи не успели разорваться. Величины сил близки к значениям, получаемым экспериментаторами при отрыве связанной клетки лазерным пинцетом [12, 13].

Также была изучена зависимость результатов моделирования от формы тромбоцита (рис. 3). Рассчитывались зависимости количества связей от времени и силы от времени при различном аспектном соотношении осей тромбоцита. Полуоси выбираются следующим образом. Взято аспектное соотношение 2:1 (a = 1.5 мкм, b = 0.75 мкм), которое часто



Рис. 4. (а,б) Зависимость ширины минимального зазора между тромбоцитом и плоскостью от времени, F = 200 пН (а) и F = 1000 пН (б). (в,г) Зависимость плотности связей от времени и координаты на нижней поверхности при соотношении полуосей a : b = 3 : 1 (в) и a : b = 1 : 1 (г)

встречается в природе, посчитан объем при таком соотношении ( $V_{\rm thromb} = 7.07~{\rm MKM}^3$ ), далее полуоси вычислялись при сохранении этого объема. Скорость движения тромбоцита в данных расчётах была равна 0.2 мкм·с<sup>-1</sup>.

При увеличении соотношения полуосей *a:b* плотность связей и сила также увеличиваются, что является следствием большей площади, на которой могут образоваться связи. Так при соотношении полуосей 3:1 сила адгезионного взаимодействия оказывается более, чем в 2 раза больше по сравнению с соотношением полуосей 1:1.

#### 2.2. Движение под действием постоянной силы

Методика расчетов представлена в разд. «Материалы и методы». В результате зависимость ширины минимального зазора между тромбоцитом и плоскостью от времени имеет вид, представленный на рис. 4,  $a, \delta$ , при действующей постоянной силе F = 200 пН и 1000 нН соответственно.

На рис. 4, в представлена зависимость плотности связей от времени и координаты на нижней поверхности. В начале для соотношения полуосей a:b=3:1 образуется большое число связей в центральной части, тромбоцит притягивается к поверхности, далее количество связей в центральной части начинает уменьшаться на расстояниях меньших  $\lambda$ , но увеличивается число связей по периферии, за счет этого тромбоцит продолжает удерживаться у поверхности. Далее происходит выход на плато, при котором сила адгезионного взаимодействия и сила, с который тромбоцит отрывают от поверхности, уравновешиваются. При соотношении полуосей 3:1 образуется большее число связей, чем в случае соотношения 2:1, следовательно, тромбоцит быстрее захватывается поверхностью. При соотношении 1:1 (рис. 4, *e*) не успевает образоваться достаточное количество связей, тромбоцит отрывается от поверхности и уходит на бесконечность. При увеличении соотношения полуосей эффективная площадь тромбоцита оказывается больше и, как следствие, образуется большее число связей.

На рис. 4, 6 представлена зависимость ширины минимального зазора от времени при постоянной силе F = 1000 пН. Видно, что форма оказывает сильное влияние на способность тромбоцита прикрепляться к подложке. При 200 пН и соотношении полуосей 2:1 тромбоцит удерживался у поверхности, при увеличении силы в 5 раз и при том же соотношении полуосей он отрывается от подложки, но при соотношении 3:1 остается у поверхности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Скорость движения тромбоцита определяет количество связей, которые успевают образоваться. При увеличении скорости максимальное количество связей уменьшается, а вместе с этим и пиковое значение силы адгезии. В условиях артериального кровотока пристеночная скорость сдвига может достигать 1000 – 1800 с<sup>-1</sup>. В момент удара о место повреждения кровеносного сосуда в распоряжении тромбоцита есть только доли миллисекунды для формирования достаточного для адгезии количества лиганд-рецепторных связей. Представленная в статье модель показывает, что чем больше скорость кровотока, тем меньше количество первичных связей образуется в момент соприкосновения тромбоцита и раны (рис. 2). При этом изменение формы клетки от сферической до сплюснутой позволяет в несколько раз увеличить число связей и, следовательно, силу адгезии (рис. 3).

2. При рассмотрении случая, когда на тромбоцит действует постоянная сила, в зависимости от величины этой силы тромбоцит может как прикрепиться к поверхности, так и оторваться. Модель позволяет рассчитывать пороговую силу, при которой тромбоцит перестает удерживаться связями у поверхности. Пороговое значение силы отрыва равно F = 2.1 пH. 3. Форма тромбоцита является существенным параметром при исследовании его адгезии, так как различное соотношение полуосей приводит к существенным отличиям числа связей, которые успевают образоваться, и силы, которая действует на него. Связано это с тем, что при увеличении соотношения полуосей увеличивается доля поверхности тромбоцита, доступная для образования адгезионных связей. Следовательно, при одинаковой действующей силе также возможны случаи как удержания тромбоцита около поверхности, так и его отрыва. Как видно из рис. 3 и 4, сплюснутая форма клетки способствует более прочной адгезии по сравнению со сферической. В частности, для эллипсоида с соотношением полуосей 3:1 пиковое значение силы адгезии примерно в 3 раза больше, чем для сферической клетки того же объема. Этот результат демонстрирует целесообразность сплюснутой формы тромбоцита в крови человека: при высоких сдвиговых напряжениях вблизи стенок артерий и микрососудов тромбоцитам

необходимо прикрепляться к ране как можно большим количеством связей.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-71-10150).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Corn M. // Journal of the Air Pollution Control Association. 1961. 11, N 11. P. 523.
- Leite F. L., Bueno C. C., Da Roz A. L. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2012. 13. P. 12773.
- Bell G. I., Dembo M., Boungrand P. // Biophys. J. 1984.
   45. P. 1051.
- Kulkarni S., Dopheide S. M., Yap C. L. et al. // J. Clin. Invest. 2000. 105. P. 783.
- Moore N. W., Mulder D. J., Kuhl T. L. // Langmuir. 2008. 24. P. 1212.
- 6. Bell G. I. // Science 1978. 200, N 4342. P. 618.
- 7. Thomas W. // Annu. Rev. Biomed. Eng. 2008. 10. P. 39.
- Dembo M., Torney D. C., Saxman K., Hammer D. // Proc. R. Soc. Lond. B. 1988 234. P. 55.
- Belyaev A. V., Dunster J. L., Gibbins J. M. et al. // Phys. Life. Rev. 2018. 26-27. P. 57.
- Cetin B., Ozer M. B., Solmaz M. E. // Biochem. Eng. J. 2014. 92. P. 63.
- Rakshit S., Zhang Y., Manibog K. et al. // Proc Nat. Acad. Sci. 2012. 109, N 46. P. 18815.
- Arya M., Anvari B., Romo G. M. et al. // Blood. 2002
   99. P. 3971.
- Arya M., Kolomeisky A.B., Romo G.M. et al. // Biophysical Journal 2005. 88. P. 4391.
- Israelachvili J., Min Y., Akbulut M. et al. // Rep. Prog. Phys. 2010. 73, N 3. 036601.
- 15. Hammer D. A., Apte S. M. // Biophys. J. 1992. 63. P. 35.
- Sircar S., Bortz D. M. // Math. Biosci. 2013. 245, N 2. P. 314.
- Mani M., Gopinath A., Mahadevan L. // Phys. Rev. Lett. 2012. 108. 226104.
- Michelson A. D. // Platelets. 3rd Edition. Academic Press, 2013.
- 19. *Калиткин Н.Н., Корякин П.В.* Численные методы. Книга 2. 2013.

## A Model of Ligand-Receptor Adhesion for Microparticles and Ellipsoidal Cells

## M. A. Kaznacheev<sup>1,a</sup>, A. V. Belyaev<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Department of Mathematics; <sup>2</sup>Department of Biophysics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia. E-mail: <sup>a</sup>kaznacheev.michael@mail.ru, <sup>b</sup>al\_belyaev@inbox.ru.

Blood platelets play a key role in hemostasis and thrombosis. In the present work, a mathematical model of adhesive interaction between a non-activated platelet and an adhesive substrate is proposed. The cell is represented as a solid non-deformable ellipsoid on the surface of which adhesion receptor proteins are evenly distributed. A plane uniformly coated with an adhesive ligand, collagen or von Willebrand factor, is considered an adhesive substrate. The platelet is attached to the plane by the formation of elastic ligand-receptor bonds. The motion of the platelet with constant velocity directed perpendicular to the surface and under the action of a constant force also directed perpendicular to the surface is considered. The influence of the platelet shape on the adhesion force is demonstrated. In the case of motion under a constant force, the threshold forces were obtained that determine two possible states: the separation of a platelet or its retention at the surface.

*Keywords*: biological adhesion, aggregation, platelets, microparticles, mathematical modeling. PACS: 87.17.Rt, 87.15.kp, 87.15.Fh, 87.10.Ed. *Received 07 February 2019.* 

English version: Moscow University Physics Bulletin. 2019. 74, No. 4. Pp. 400-406.

#### Сведения об авторах

1. Казначеев Михаил Александрович — студент; e-mail: kaznacheev.michael@mail.ru.

2. Беляев Алексей Вячеславович — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; тел.: (495) 939-30-25, e-mail: al\_belyaev@inbox.ru.