

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ В.А. Кратасюк

«___» _____ 2020 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Моделирование ремоделирования кости агентным методом

03.04.02 Физика

03.04.02.01 Биофизика

Научный руководитель _____	м.н.с., к.ф.-м.н.М.Ю. Салтыков
Выпускник _____	И.Е. Банных
Рецензент _____	с.н.с., к.ф.-м.н. П.В. Белолипецкий

Красноярск 2020

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация выполнена в теме агентное моделирование ремоделирования кости. Нарушения ремоделирования кости приводят к нарушениям в формированиях кости, замедлению восстановления кости при повреждениях. Характеризация коллективного взаимодействия костных клеток при ремоделировании, позволяет раскрыть механизм формирования и функционирования костной ткани и оценить влияния нарушений на формирование кости. Имитационное моделирование агентным методом предоставляет исходные посылы для научных изысканий и позволяет воспроизводить пространственно-временные и системные взаимодействия костных клеток как коллектива в среде.

Ремоделирование включает в себя пять фаз: активация, резорбция, реверсия, формирование, покой [75]. Формирование костного матрикса происходит с укладкой остеоидов, представляющих собой комплекс из коллагена с вкраплениями апатитов [72]. Остеоиды в дальнейшем накапливают кальций и минерализуются, оформляясь в «зрелую» кость. Для характеристики формирования топологии костной ткани была поставлена цель: показать с помощью имитационного моделирования формирование костной ткани в динамике на плоскости. В результате было построена агентная модель костной ткани с формирующими костный матрикс остеобластами в основе. Симуляции показали, что при движении остеобластов схожим с движением по градиентам жесткости [59, 73, 74], топологии костной ткани различны: при движении по нисходящим градиентам остеобласты формируют рыхлую топологию с большей площадью, при движении по восходящим градиентам — плотную, располагающуюся отдельными или соединенными перемычками кластерами. При чередовании направления таксиса, остеобласты формируют переходные формы топологий с обширными кластерами и включениями пор. Модель расширяется [70] для изучения взаимодействий остеобластов с имплантатами и медикаментами, и применима для планирования экспериментов и

теоретических исследований взаимодействия костных клеток и формирования костной ткани. Результаты работы обосновывают разработку изысканий механизмов, лежащих за таксисом остеобластов [59], и коллективным поведением остеобластов, формирующим морфологию кости [10].

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	2
СОДЕРЖАНИЕ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1. Литературный обзор	8
1.1 Агентно-ориентированное моделирование	8
1.2. Самодвижущиеся частицы	10
1.3. Костные клетки	11
1.3.1. Рост длинных костей	12
1.3.2. Рост плоских костей	12
1.3.3. Гормоны, регулирующие костные клетки	12
1.4. Ремоделирование кости	13
1.4.1 Восстановление кости при переломе	14
1.5. Миграция клеток	16
1.6. Синтез коллагена	17
1.7. Биоинженерия	19
2. Материалы и методы	22
2.1. Мотивация выбора методики	22
2.2. Агентная модель формирования костной ткани при ремоделировании кости	26
2.2.1 Назначение	26
2.2.2. Переменные параметры состояний и масштабы	26
2.2.3. Процессы	27
2.2.4. Инициализация	29
2.2.5. Входные данные	29
3. Результаты	31
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	37
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	39
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	40

ПРИЛОЖЕНИЯ.....	47
Приложение А. Таблица “агенты, правила и конечные состояния” [56].....	47

ВВЕДЕНИЕ

С костями человека связаны заболевания суставов; заболевания костного мозга [39]. Восстановление повреждений костей – долгий процесс может занимать 5 лет и больше [39]. В случаях сильного износа восстановить функцию кости или сустава не представляется возможным естественным путем. Современная медицина разрабатывает способы поддержания здоровья костей, например внедрение титановых имплантат [5].

Создание искусственных костей – современная задача. Уже испытали печать костей на 3D принтере [7]. Подобрали полимер из материала, он помогает «напечатать кость». Вводят титановые имплантаты [5]. Разрабатываются имплантаты с пропуском сосудов [7]. Выращивание органов *in vitro* – другая современная задача. В чашке Петри выращивали слой костной ткани [69].

Для разработки вопросов создания искусственных органов имеет значение понимание фундаментальных процессов жизнедеятельности кости – жизнедеятельность клеток отдельно и в сообществах [3]. Кость человека, в независимости от её положения в теле и функции — сложный орган [8].

В жизнедеятельности кости участвуют клетки из крови, клетки хрящей, клетки кости непосредственно. Для того чтобы сформировать кость, в организме клетки хрящей сначала формируют хрящ. На нём формируют свои кластеры костные клетки. И уже затем, формирование на хряще минерализованной кости, на месте хрящевого материала появляется костная ткань [9].

Клетки кости – это остеобласты, остеокласты, остеоциты. Они ремоделируют кость. Остеобласты непосредственно закладывают белковую основу кости [66]. Остеокласты собираются из единичных клеток в многоядерное образование и работают как один большой организм над разрушением костного материала [5]. Остеоциты — костные клетки, отвечающие за питание и коммуникацию ткани. Они пускают актиновые отростки через матрикс и передают вещества, сигналы [6].

Исследователи костных клеток моделировали минерализацию группами остеобластов в ячейках посуды [69]. Их работа — продолжение лабораторного эксперимента. Исследователи по результатам моделирования выяснили, что минерализация в пределах одного и того же срока, при разных топологиях формирует схожую площадь минерализации [69].

Для исследователя формирование кости вне организма позвоночного недоступно для наблюдения. Как сделать изучение роста кости доступным для исследований в любое время?

Если мы ставим численный эксперимент в среде агентного моделирования, мы можем представить агента в виде клетки, задав агентам правила поведения костных клеток и выявить как пространственно-временные и системные взаимодействия клеток формируют костную ткань [1, 2].

Цель: Показать с помощью имитационного моделирования формирование костной ткани в динамике на плоскости.

Задачи:

1. Разработать имитационную модель лабораторного эксперимента с костной тканью;
2. Вывести топологию костной ткани в процессе имитации формирования ткани;
3. Определить зависимость топологии костной ткани и характера движения клеток.

1. Литературный обзор

1.1 Агентно-ориентированное моделирование

Агент — автономная сущность, которая направляет свою деятельность для достижения заданных целей [1]. Агенты могут использовать датчики и приспособления для взаимодействия со средой [3]. Интеллектуальные агенты также могут учиться и использовать знания для достижения своих целей. Агенты могут быть простыми и сложными [1].

Предлагается подразделять агенты на категории: агенты с простыми рефлексами, агенты зависимые от модели, агенты зависимые от цели, агенты зависимые от задачи, обучающиеся агенты [1].

Цель агентно-ориентированного моделирования - поиск объяснения коллективного поведения агентов, подчиняющихся простым правилам, обычно в естественных системах, но не разработка агентов самих по себе или решение специфических практических или инженерных задач [2].

Агентно-ориентированное моделирование позволяет исследователю непосредственно наблюдать последствия произвольных гипотезо-структурных или концептуальных моделей, таким образом что механические последствия каждой гипотезы можно наблюдать и оценивать. Такой тип динамического представления знания позволяет добиться показательности мысленного эксперимента. Например, исследователь может тестировать возможные варианты решений, если гипотезы и предположения по проблеме явно выражены. Такая концепция появилась в результате работы сообщества искусственной жизни, работающих с мысленными экспериментами по созданию “альтернативных миров”, функционирующих по заданным правилам. Агентные модели могут помочь в процессе исследований как аппарат, позволяющий создать идеи и задумки - стартовые точки для разработки дальнейших экспериментов и измерений в лаборатории [2].

Коллективное поведение — спонтанное возникновение упорядоченного движения большого числа самодвижущихся агентов.

Коллективное поведение можно наблюдать в повседневности: в стаях птиц, косяках рыб, в толпах и потоках машин. На микроскопических уровнях организации: в колониях бактерий, в самодвижущихся частицах. Интенсивные исследования на тему коллективного поведения проводят в статистической физике и в области физики активной материи. Эксперименты из этой области ставят на животных, на биологических и синтезированных самодвижущихся частицах; параллельно проводят симуляции и создают теории для изучения явления коллективного поведения [5].

1.2. Самодвижущиеся частицы

Самодвижущиеся частицы - термин, который используют физики, чтобы описать автономных агентов, которые превращают энергию из среды в направленное или устойчивое движение [18]. Идея создания самодвижущихся частиц основывается на движении животных. В общем случае, под самодвижущимися частицами подразумеваются искусственные системы - роботы или специально созданные частицы: например, наномоторы. В случае если движение вперед такой частицы обосновано химическим градиентом, тогда такое движение называют хемотаксисом [14].

Самодвижущиеся частицы взаимодействуют друг с другом, что ведет к возникновению коллективных видов поведения. Такое поведение идентично самоорганизации, наблюдаемой у стайных птиц, у роящихся насекомых, в косяках рыб и т. д [18].

Рой моделируется набором самодвижущихся частиц с постоянной скоростью, которые могут отвечать на случайные возмущения, принимая на каждом временном промежутке угол направления близкий к усредненному всех частиц в окрестности [13]. Модели с неупругими столкновениями и специфичными краевыми условиями можно использовать, чтобы интерпретировать современные наблюдения за когерентными движениями в геометрически сложных бактериальных колониях, растущих на мягких агаровых поверхностях [13].

При рассмотрении коллективного движения групп клеток можно наблюдать возникновение коллективного поведения из взаимодействий типа клетка-среда и типа клетка-клетка [21]. Коллективная миграция клеток - это важный процесс в жизни многоклеточных организмов, лежащий в основе развития эмбриона, заживления ран, распространения метастаз [5, 25].

Для изучения коллективной миграции исследователи используют метод конечных элементов. Такой метод обычно используется в механической инженерии [12].

1.3. Костные клетки

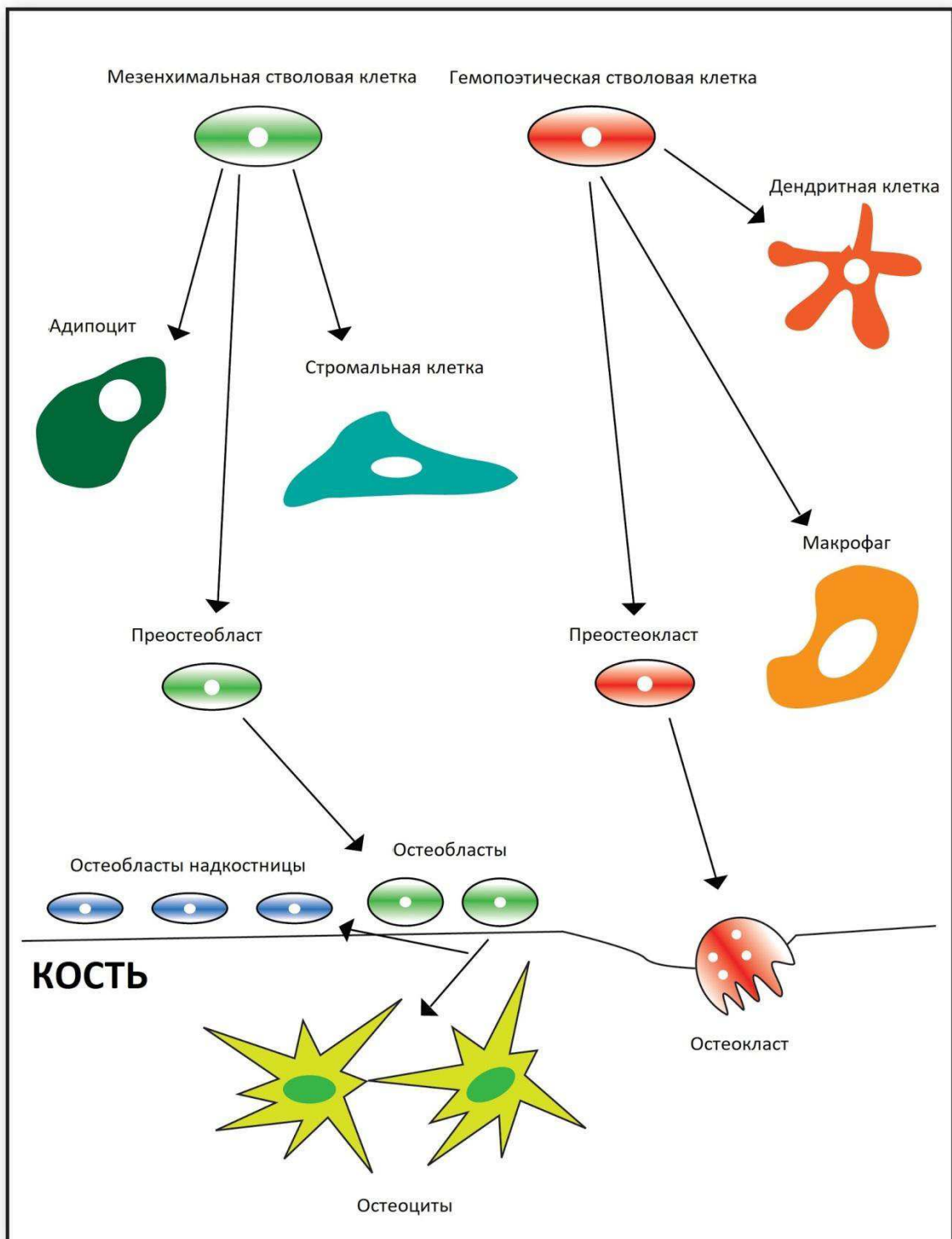


Рисунок 1. Развитие костных клеток. Развитие костных клеток начинается со стволовых: мезенхимальных и гемопоэтических. Мезенхимальные клетки формируют преостеобласты, адипоциты и стромальные клетки. Преостеобласты развиваются в остеобласты [38].

1.3.1. Рост длинных костей

У детей кости растут благодаря эпифизарной пластинке из хряща, расположенной в окончании кости [49, 63]. После того как под эпифизарной пластинкой сформируется свежий костный матрикс, утолщившиеся во время роста стенки метафиза должны быть резорбированы остеокластами, чтобы подходить по размеру диафизу [51]. Вместе с увеличением длины кости, надкостница также расширяется, поэтому резорбция происходит и снаружи, на надкостнице.

1.3.2. Рост плоских костей

Остеобласты напрямую формируют растущий череп, челюсть и ключицы, пропуская этап формирования хряща. Слой преостеобластов ложатся вдоль кости [63]. Преостеобласты затем превращаются в остеобласты, которые секретируют коллаген, беспорядочно укладываемый в перепончатую ретикулофиброзную кость [63]. Позже остеокласты резорбируют беспорядочную кость и новые остеобласты формируют зрелую, слоистую кость. В результате, кость растет в размерах, промежуток между плоскими костями при этом не обязательно зарастает [63].

1.3.3. Гормоны, регулирующие костные клетки

Усиливают резорбцию кости: гормоны паращитовидной железы, глюкокортикоиды, гормоны щитовидной железы, метаболиты витамина D в высоких дозах [62].

Ослабляют резорбцию кости: кальцитонин, гонадные стероиды [62].

Усиливают формирование кости: гормоны роста, метаболиты витамина D, стероиды гонад [62].

Ослабляют формирование кости: глюкокортикоиды [62].

1.4. Ремоделирование кости

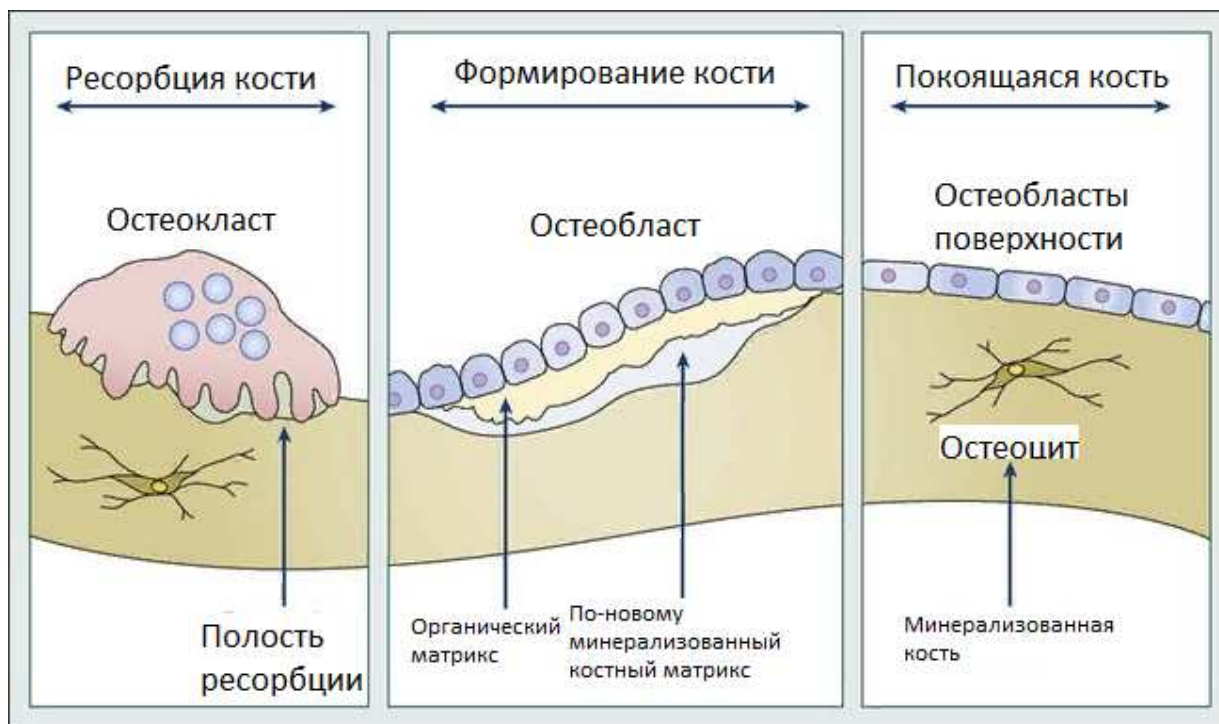


Рисунок 2. Ремоделирование кости [50]

В покоящейся кости включенные в минерализованный матрикс остеоциты секретируют склеростин, ингибирующий выделение сигнальных молекул Wnt-пути в клетках наружной части кости [38]. Когда возникают микротрещины, в остеоцитах рядом с микротрещинами происходит апоптоз. Остеоциты замечают напряжение и секретируют факторы роста, простагландины и оксид азота [50]. Остеобласты на поверхности кости оттягивают матрикс наружу и формируют купол, сливающийся с кровеносными сосудами [66].

Тем временем стромальные клетки, переместившиеся с внешней стороны под купол, освобождаются от ингибирования склеростином и подвергаются действию других факторов (интерлейкину-1, например) [63]. Стромальные клетки генерируют пре-остеобласты и секретируют фактор M-CSF, помогающий создавать остеокласты [63].

Преостеобласты пролиферируют и секретируют факторы Wnt, интерлейкины и костные морфогенические белки. Преостеобласты начинают экспрессировать RANK-L со своих поверхностей. Преостеокласты,

постоянно перемещающиеся по потоку крови, имеют RANK рецепторы [49, 63]. Когда преостеокласты попадают под купол, они увеличиваются в размерах и слипаются в зрелые остеокласты. Остеокласты закрепляются на костном матриксе с помощью интегринов, секретируют кислоту и катепсин К, чтобы резорбировать кость [50]. Резорбция кости с этого момента занимает две недели. Высвобождаются, получаемые из кости факторы роста IGF и TGF- β . В конце концов остеокласт проходит через апоптоз. Продолжительность жизни остеокласта регулируют эстроген и другие факторы [38].

С этого момента преостеобласты дифференцируются в остеобласты, что приводит к остановке секретирования RANK-L и началу секретирования OPG. OPG связывается со свободными RANK-L, что приводит к блокировке активации преостеокластов. Преостеобласты пролиферируют и созревают до остеобластов [38]. Остеобласты заполняют образовавшуюся после резорбции полость, секретируют остеоид и минерализуют его в течение 3-4 месяцев. В матриксе находятся другие белки и факторы роста как IGF и TGF- β . Часть остеобластов превращаются в остеоциты, часть в остеобласты на поверхности кости, остальные проходят через апоптоз [38].

Купол из остеобластов поверхности деформируется. Остеобласты восстанавливают связь друг с другом и остеобластами поверхности кости. Микротрещина заделана. Новый матрикс будет уплотняться в течение 3 лет [51].

1.4.1 Восстановление кости при переломе

Восстановление кости при переломе схоже с интрамембранным формированием кости и с формированием шрамов. Для восстановления переломов критично наличие кровеносного потока. В процесс включатся факторы роста, например BMP [64].

При переломе в полости в промежутке между частями кости образуется кровяной тромб. Из циркулирующей крови и надкостницы прибывают фибробласты, часть которых дифференцируются в остеобласты. Фибробласты с остеобластами выпускают коллаген [64]. Процесс схож с формированием шрама. Коллаген минерализуется после примерно двух недель, в результате в бреше между участками кости остается комок дезорганизованной кости — костная мозоль [51]. Мозоль со временем remodelируется до полной замены организованным костным матриксом [64].

1.5. Миграция клеток

Миграция клеток — основной процесс в развитии и поддержании многоклеточных организмов. Формирование тканей во время развития эмбриона, лечения ран, ремоделирования кости и иммунных ответов требуют координированного движения клеток в конкретном направлении до специфичных мест [52]. Клетки чаще всего мигрируют в ответ на внешние сигналы: химические, механические и т. д. Ошибки развития эмбриона приводят к серьезным заболеваниям вроде умственной отсталости, болезням сосудов, метастазам [40, 52].

Клеткам необходимо постоянно прикладывать силу, чтобы двигаться в вязкой среде. Клетки достигают активного движения благодаря приспособлениям: жгутикам, щетинкам [53]. Также клетка может активно перемещаться за счет перемещения белков связанных с актином, перемещением цитоплазмы [53].

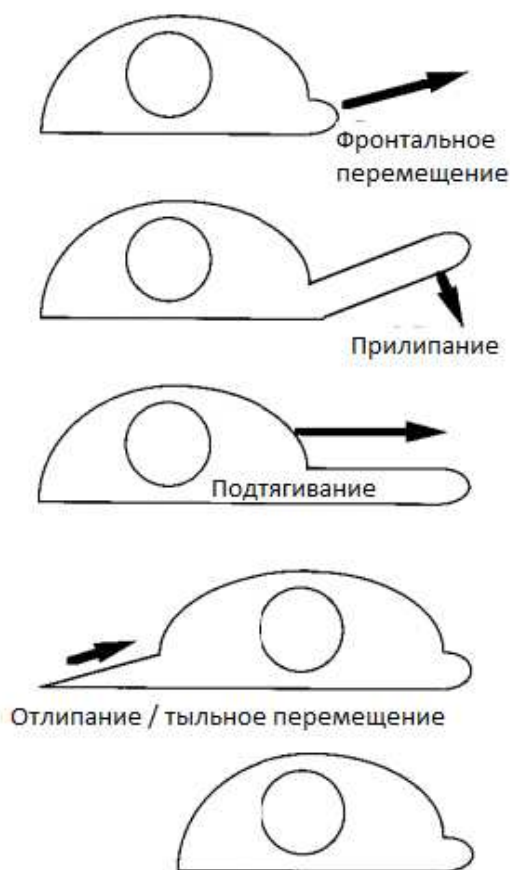


Рисунок 3. Миграция клетки за счет адгезивных контактов [56]

Несмотря на различия в морфологии и функциях остеобласты, остеокласты, дендритные клетки, стволовые клетки перемещаются схожим образом [52, 53, 54, 55]. Большая часть клеток перемещается в цикличной манере: сначала клетка перемещает фронтальную часть вперед, формируя одну или несколько ложноножек за счет полимеризации актиновых филаментов, которые, по сути, продолжение клеточной мембраны [55]. Затем клетка прилипает к окружающей среде вне зависимости от того, плоский это субстрат или сеть волокон, формируя фокальные контакты, которые

соответствуют точкам привязки вдоль оболочки клетки. В конце концов клетка перемещает тыльную часть путем деполимеризации актиновых филаментов [56].

При перемещении клетка чувствительна и к биохимическим, и к механическим свойствам среды. В ходе движения клетка исследует и нащупывает жесткие части внеклеточного матрикса с помощью фокальных контактов, ответственных за восприятие клеткой механических сигналов, в то время как акто-миозиновые комплексы выступают в качестве сенсоров жесткости [60].

1.6. Синтез коллагена

Коллаген синтезируется в остеобластах. В молекуле коллагена три цепи: две альфа-1 цепи и одна альфа-2 цепь, их гены находятся на хромосомах 17 и 7. Гены активируются различными факторами транскрипции [59].

Трансляция происходит в рибосомах. Цепи коллагена очень длинны - примерно 1400 аминокислот [49]. В центральной части цепи каждая третья аминокислота - глицин, самая малая аминокислота. Это позволяет цепи сворачиваться в спираль. Цепи затем проходят модификацию. Например, многие аминокислоты пролина меняются на гидроксипролин. Цепи закручиваются вокруг друг друга и формируют тройную спираль, после чего секретируются клеткой [59].

Вне клетки ферменты терминальный С-пропептид и терминальный N-пропептид отсекают С- и N-концы тройной цепи [40]. Фрагменты концов попадают в кровеносный поток и могут быть измерены для оценки скорости формирования коллагена [40]. Тройные цепи группируются относительно друг друга и формируют фибриллы. Фибриллы перекрывают друг друга на $\frac{1}{4}$ их длины в повторяющихся последовательностях [40].

Между фибриллами формируются ковалентные связи. Они называются пиридиновыми мостами. Фибриллы присоединяются друг к другу торцами и

связи укрепляют фибриллы [40]. Через годы, когда кость рассасывается, коллаген разрушается, и пиридиновые мосты попадают в кровь и мочу [40]. Таким образом можно оценить скорость всасывания кости.

1.7. Биоинженерия

Исследователи живых систем анализируют препарированные образцы модельных животных, проводят эксперименты на установках имитирующих биологические системы, используют абстрагированные от реальной сложности математические модели [47, 48]. Исследователи сталкиваются с дилеммой: либо изучать орган как матрёшку из черных ящиков, но в динамике функционирования живой системы; либо изучать орган в отрыве от соседствующих органов и организма в целом, но с наблюдаемыми структурными отношениями: извлекать орган из его естественной среды, разбирать на отдельные части по заданным признакам, определять отношения частей друг с другом и экстраполировать отношения частей на временных и пространственных диапазонах до наблюдаемости функций органа [3].

Анализ дал достаточно данных для формирования таких наук как анатомия, гистология, физиология, биология клеток, тканей, органов, организмов. Теперь, когда есть представление, что живые системы делают на каждом из организационных уровней по отдельности.

Пока кость в теле, она функционирует в составе скелета и всего организма: принимает на себя энергию шагов при движении, производит кровяные клетки, поддерживает мышцы и внутренние органы, растет, обновляется [65]. Режимы существования кости тесно связаны с процессами через которые проходит весь организм в целом, с процессами характерными непосредственно для кости, с процессами, завязанными на клетках в матриксе. Вкратце, параллельно с “костными” процессами идут процессы в соседних органах и идут процессы на соседних организационных уровнях [3].

Во-первых, на чем стоит область? Основная задача: используя живые клетки как кирпичи построить на искусственном внеклеточном матриксе функционирующий материал совместимый с живой тканью для медицинских

и исследовательских целей. Выращивание ткани с заданными свойствами происходит следующим образом: подготовка культуры клеток и матрикса; заселение матрикса культурой; рост и размножение особей клеток в популяции культуры; индуцирование дифференциации; возвращение ткани в биореакторе; снятие образца. На каждом из этапов исследователи сталкиваются с проблемами, которые и формируют область: поддержка параметров среды в оптимумах, прогнозирования экспериментов, уточнение отношений и взаимодействий между клетками, средой [46].

Чтобы воспроизвести эксперимент с культурой клеток, которая растет и формирует ткань и в перспективе орган, необходимо надежно воспроизводить каждый из этапов последовательно. Чтобы организовать поиск условий воспроизводимости каждого из этапов есть смысл использовать лабораторные методы при воспроизведении динамики эксперимента и методы моделирования как для проверки идей и закономерностей, так и для поиска режимов работы объекта исследования. Использование вычислительного эксперимента само по себе позволяет неоднократно проводить эксперимент при различных условиях, если один раз построить модель [2, 4].

Культура, чтобы её можно было использовать в эксперименте, должна обладать живучестью, способностью к росту и потенциалом выполнять заданную функцию. Матрикс и среда должны обеспечивать условия для роста: доступ к кислороду, воде, питательным веществам; кислотность, температура и осмотическое давление должны быть в пределах оптимума. Встают вопросы: при каких условиях режима питания, заселенности среды и обеспеченности ресурсами культура живет в оптимуме? Как будет изменяться среда в ходе эксперимента? Как жизнедеятельность клеток влияет на состояние популяции в целом? На такие вопросы помогают ответить математические модели одной или нескольких популяций [55].

Постановка основной задачи инженерии тканей подразумевает, что исследователь в ходе роста предмета исследования наблюдает формирование

иерархии в живой системе. Предмет исследования, начиная с клеточного уровня организации, проходит через тканевый уровень организации и в итоге формирует живой орган. Такая динамика воспроизводима подходами “снизу вверх” в моделировании [28].

Каждая клетка в популяции существует автономно — перемещается, выполняет свои функции и поддерживает метаболизм за счет внутренних ресурсов. Клетки восстанавливают ресурсы питанием и синтезом. В популяции клетки живут рядом друг с другом [29].

Для исследования имеет смысл строить феноменологические модели, чтобы знать, что происходит в черном ящике в каждый момент времени [27, 48].

2. Материалы и методы

2.1. Мотивация выбора методики

Жизнедеятельность органов человеческого тела скрыта от исследователя кожей, мышцами, скелетом — непосредственные наблюдения затруднены без физического вмешательства в функционирование организма. При вмешательстве возможны как и ответ организма с перестройкой биологических процессов, так и вовсе смерть организма. Для живых систем характерны нетривиальные процессы с множеством элементов, разворачивающиеся на различных организационных уровнях и временных масштабах. Мы ищем, как и избежать физического влияния на естественный ход биологических процессов, так и возможность сделать функционирование живой системы прозрачным для наблюдения [20].

Наипростейший путь для исследователя — отказаться от изучения живой системы как среды, функционирующей в среде и использовать методы анализа с физическим вмешательством, добывая данные по каждому уровню организации по отдельности. Биология формировалась за счет знаний, полученных при исследовании как самостоятельных организмов, так и организмов выделенных из живых систем. Таким образом накапливались и накапливаются знания о функционировании живых систем на различных уровнях организации. Восстановление информации о сложности живых систем происходит при совместном рассмотрении отдельных уровней организации. В таком случае находят эмерджентные свойства живой системы.

Добытые таким образом знания имеют характер аппроксимации: изучаемую живую систему переводят из сменяющихся состояний “в процессе жизнедеятельности” в статичное состояние “готова к изучению”, извлекают данные по интересующему параметру в зависимости от другого параметра и восстанавливают динамику по точкам. Насколько сильно перекрываются состояния “живет” и “изучаема”? Если перекрываются не

полностью, какую информацию теряем? Какую информацию теряем, когда производим измерения? Естественным образом возникают неопределенности на этапах смены состояний и при измерении.

Как достичь идеального эксперимента — живую систему из состояния “жизнедеятельности” переводить в состояние “готова к изучению” без потерь информации в любой момент существования и производить измерения параметров также без потерь?

Живая система жизнедеятельствует, а измерения происходят - акула с датчиком внутри; модель, которая на каждом шаге отправляет данные пользователю; питание с изотопами; генные модификации с индикаторами.

Проблема: в природе рост кости воспроизводится стабильно, в случае если внутрисистемные отношения не нарушаются вследствие мутаций. Нам детали движения каждой индивидуальной клетки неизвестны, только общие тренды: мы не знаем что, когда и где делает каждая индивидуальная клетка, но знаем что должны получить в итоге.

Идеальный конечный результат: кость воспроизводится стабильно, и нам до сих пор неизвестно какие формы принимает коллективное поведение клеток.

Решение: мы ставим клетки на поле, задаем каждой отдельной клетке правила поведения и отправляем клетки коллективно взаимодействовать до получения картины - известного состояния популяции костных клеток - костной ткани.

Проблема: агенты в модели формируют эмерджентное состояние системы в пространстве из пикселей и времени в тиках, а живые костные клетки существуют в физическом пространстве-времени. Масштабы эмерджентного состояния в агентной модели не соотносятся с эмерджентным состоянием в физическом пространстве-времени.

Идеальный конечный результат: мы имеем полностью взаимно однозначное соотношение между шкалами пространственно-временных координат модели и физического мира, в модели всегда можем отобразить на

экране произвольный масштаб, на котором наблюдается эволюция системы в реальном времени.

Решение: использовать среду агентного моделирования [70], провести сверку масштабов для такого же по сути лабораторного эксперимента в отношении перемещения, размера агентов и параметров среды [68].

Формы коллективного поведения клеток в модели не задаются заранее, а существуют пока агенты взаимодействуют. Основания для взаимодействий формируются заданными правилами. Коллективное поведение приводит к формированию эмерджентного состояния системы [68].

Проблема: форма коллективного поведения неизвестна, пока клетки не начнут взаимодействовать друг с другом.

Идеальный конечный результат: клетки ещё не начали взаимодействовать друг с другом, а форма коллективного поведения уже известна.

Решение: Определяем набор правил, определяем диапазоны параметров агентов и среды, в рамках которых действуют правила, проводим симуляции, организовываем список отличных друг от друга режимов, составляем карту состояний в зависимости от начальных условий.

Теперь модель охарактеризована, как ей пользоваться другим специалистам?

Идеальный конечный результат: эксперимент по выращиванию кости повторяем бесконечное число раз и ткань сама показывает, когда клетки произвели её и сложность живой системы стала на уровень выше.

Решения: 1. берем одну и ту же популяцию, размножаем гены, прививаем их векторами, и ставим в биореактор. Используем одни и те же режимы выращивания, получаем много одинаковых костей.

2. создаем модель, в которой отражаются пространственные, временные и системные отношения между клетками. Имитируем рост костной ткани, получаем кость, проводим с ней численный эксперимент. Ищем динамику, появившуюся из первых принципов. Статистическая и

аналитическая формула сможет отразить эволюцию системы
безотносительно того.

2.2. Агентная модель формирования костной ткани при ремоделировании кости

2.2.1 Назначение

Назначение модели — показывать зависимость формы костной ткани на плоскости от максимального изменения угла поворота остеобластов в движении.

2.2.2. Переменные параметры состояний и масштабы

Элементарные параметры [68]:

t - показатель времени симуляции. Время в модели принимается дискретным и считается в тиках. Все события в рамках одного тика одновременны.

n - индивидуальный порядковый номер агента.

x_n - значение местоположения по оси абсцисс n -го агента, измеряется в пятнах - внутренней модельной величиной.

y_n - значение местоположения по оси ординат n -го агента, измеряется в пятнах.

v_n - скорость изменения местоположения n -го агента, измеряется в пятнах за тик.

φ_n - угол направления агента на плоскости; для агентов 0° соответствует направлению движения на север, 90° на восток, 180° на юг, 270° на запад, 360° снова север.

$\Delta\varphi_n$ - приращение угла направления агента на плоскости, означающее поворот агента влево или вправо.

m - параметр, показывающий наличие остеоида на пятне; принимает значения 0 и 1: пустое пятно и минерализованное соответственно.

Системные:

$N_{ост}$ - число действующих в симуляции остеобластов.

$N_{преост}$ - число существующих в симуляции преosteобластов.

$N_{минер}$ - число минерализованных пятен.

$N_{пятн}$ - число существующих в симуляции пятен.

M - отношение количества минерализованных пятен к общему количеству пятен.

$\langle v_n \rangle$ - средняя скорость движения n -го остеобласта.

$\langle v \rangle$ - средняя скорость движения всех остеобластов.

Агентная модель приведена к масштабам биологической модели ремоделирования кости. Геометрически — размер пятна приведен к размерам остеоида: $d_{patc\Box} = d_{osteoid} = 1$ пятно = 6 мкм. Временной масштаб в модели приводится к реальному при соотношении скоростей увеличения площади костного матрикса при ремоделировании и увеличении площади матрикса в модели: $t_{tick} = t_{day} = 1$ тик = 0,281 сут [65, 66, 69].

2.2.3. Процессы.

Модель отображает этап формирования кости после активации и резорбции. Модель формирования кости включает процессы:

пролиферация преosteобластов - клетки предшественники остеобластов размножаются и заполняют рабочую область, время не учитывается [69];

дифференциация преosteобластов - преosteобласты дифференцируются в остеобласты [69];

миграция остеобластов - остеобласты перемещаются в рабочей области с переменной скоростью, скорость зависит от наличия препятствий;

формирование матрикса остеобластами - остеобласты формируют остеоиды в пространстве в процессе миграции [61, 66].

Пространство размещает остеоиды. Части пространства с остеоидами препятствуют миграции остеобластов.

Время в модели дискретно и измеряется в тиках. В рамках одного тика процессы происходят последовательно, если в инструкциях не указано наоборот. Переменные обновляются после выполнения каждой из инструкций в модели [70, 71].

В рамках модели показывается как на плоскости реализуется формирование неминерализованного костного матрикса из взаимодействия остеобластов со средой. Остеобластам достаточно быть командой в смысле выполнения одной и той же задачи, чтобы образовывать костный матрикс [66].

Остеобласты в модели реагируют на информацию только о наличии препятствий, чтобы максимизировать механический вклад в симуляции. Остеобласты случайно выбирают угол поворота вне зависимости от условий среды и наличия других остеобластов. Остеобласты, в рамках модели, всегда находятся в состоянии миграции. Остеобласт не знает, будет ли он укладывать остеоид на следующем шаге или нет.

Скорость индивидуально каждого остеобласта приведена к скорости заполнения рабочей области остеоидами: каждый остеобласт двигается так быстро, чтобы равномерно заполнить остеоидами траекторию движения.

Стохастичность присутствует в рамках модели при расположении преостеобластов в пространстве, при определении начального положения остеобластов и их направления, при выборе направления остеобласта на каждом тике. Стохастичность позволяет исключить возможность направленного взаимодействия остеобластов между собой.

Данные модели об индивидуальных координатах и совершенной укладке остеоида каждого остеобласта непрерывно записываются в конце каждого тика [70, 71].

2.2.4. Инициализация

Рабочая область состоит из квадратной сетки, в которой каждая ячейка — пятно. Пятна могут взаимодействовать с автономными агентами и размещать их.

При инициализации модели формируется рабочая область размером 101 пятно в ширину и 101 пятно в высоту. Таким образом формируется координатная сетка x : $[-50:50]$, y : $[-50:50]$ с началом отсчета в точке $O(0, 0)$. Внутренние часы принимают значение 0 тиков [70].

Вместе с рабочей областью со случайными координатами x и y появляются преостеобласты. В рабочей области все пятна формируются без остеоидов и могут включать только преостеобласты.

Симуляция формирования матрикса начинается после индукции — направленной дифференциации преостеобластов в остеобласты [69].

2.2.5. Входные данные

Выбор входных данных обеспечивает получение системного эффекта — формирования топологии костной ткани [65, 66].

Площадь рабочей области на входе позволяет выводить значение площади относительно площади формирования кости. Крайнее время симуляции позволяет соблюсти границы симуляции с окончанием биологического формирования кости. Скорость заполнения неминерализованным матриксом принята условно и на основе скорости заполнения масштабы модели приведены к биологической модели формирования. Скорость внутри модели принята как 2 пятна в тик в пустом пространстве и 1 пятно в тик при движении через остеоид. Пропуск одного пятна заложен исходя из необходимости обеспечения проходимости через среду остеобластам. Максимальный угол поворота остеобласта формирует характер построения траектории формирования неминерализованного матрикса и играет ключевую роль в формировании топологии костной ткани на плоскости.

Для вывода данных о формировании топологии костной ткани критичны и пространственно-временные характеристики - скорость движения остеобласта при формировании матрикса, угол поворота, площадь рабочей области и время симуляции, и внутрисистемные отношения — величина торможения на остеоидах.

3. Результаты

1. В симуляциях на дистанции 250 тиков, в рабочей области 10201 пятно и участвует 10 агентов. Сформированы и рассмотрены топологии костной ткани в зависимости от максимального приращения угла направления движения агента.

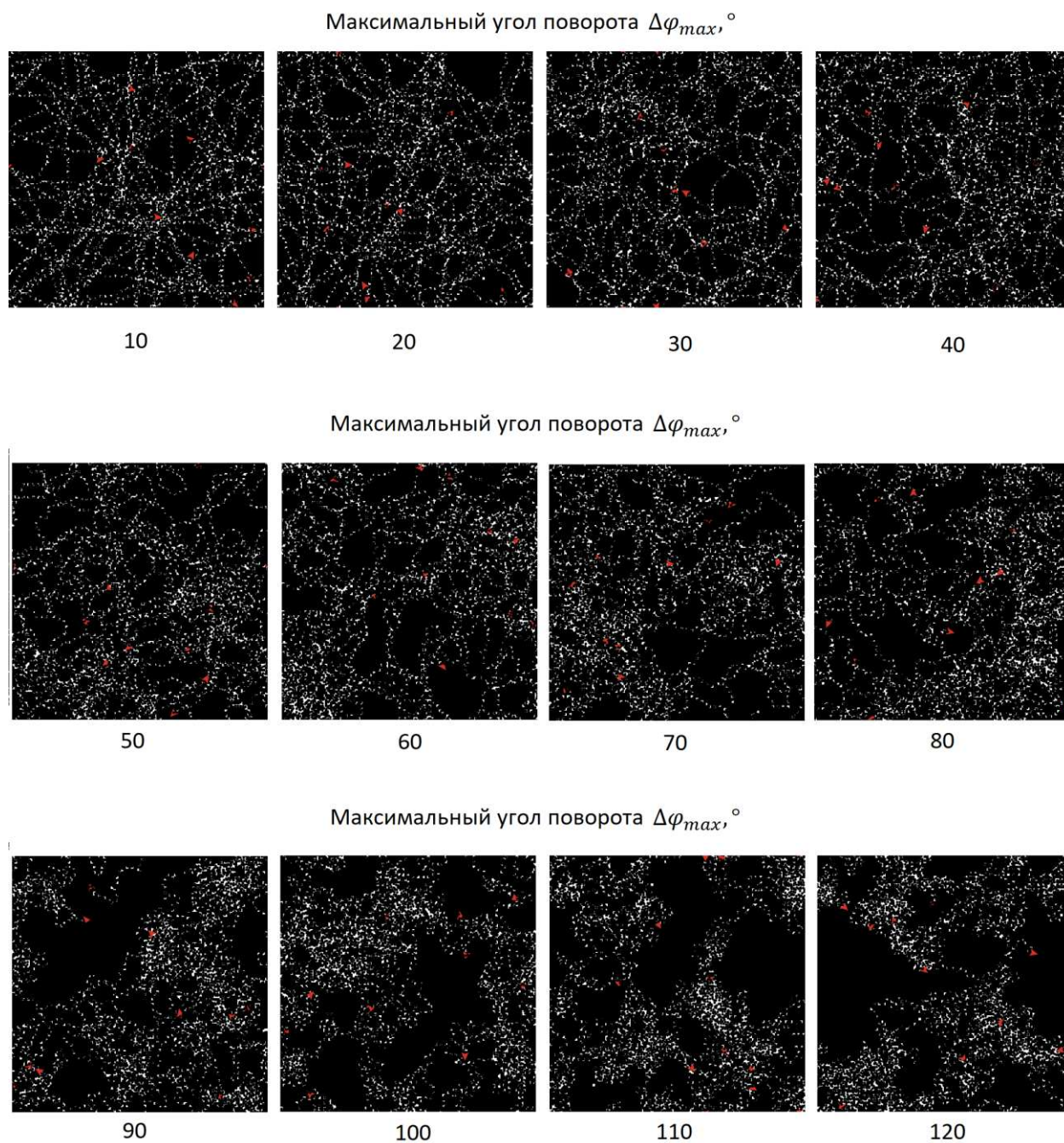
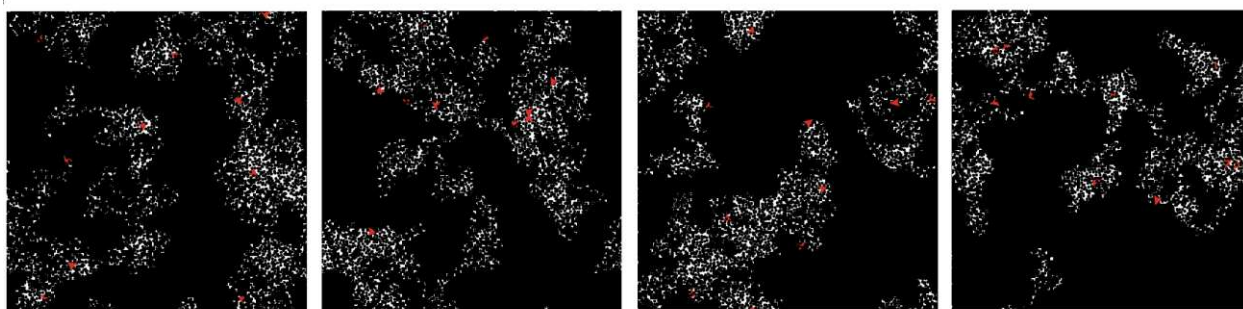


Рисунок 4. Топология костной ткани в зависимости от максимального угла поворота. При значениях максимального угла поворота от 10 до 120 градусов можно наблюдать, как остеобласты формируют ячеистую рыхлую структуру. Чем больше угол, тем более гладкие ячейки

Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



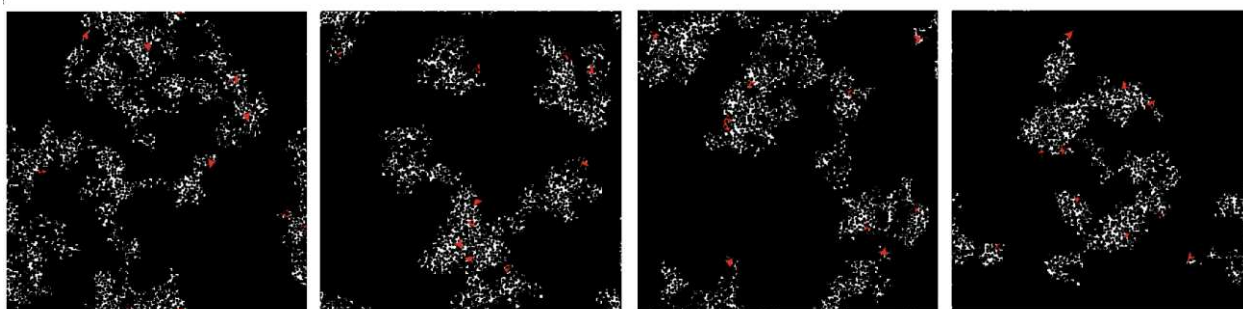
130

140

150

160

Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



170

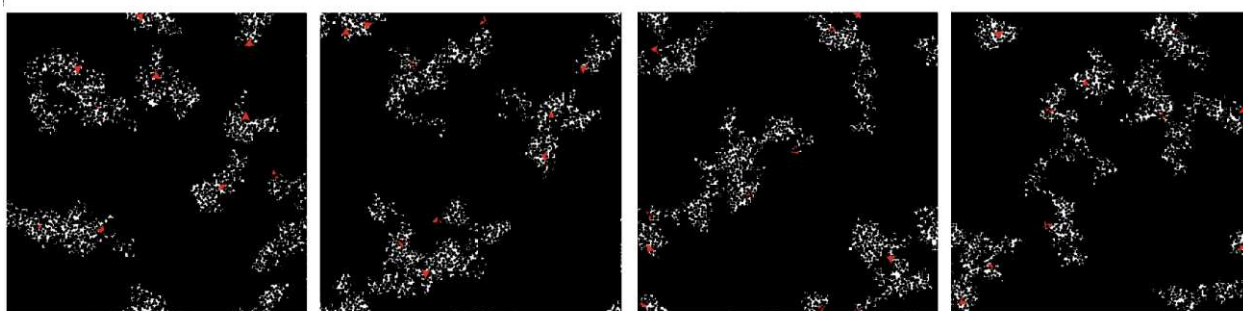
180

190

200

Рисунок 5. Топология костной ткани в зависимости от максимального угла поворота. При значениях максимального угла поворота от 130 до 200 градусов наблюдается тенденция остеобластов формировать матрикс вблизи с точками дифференциации.

Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



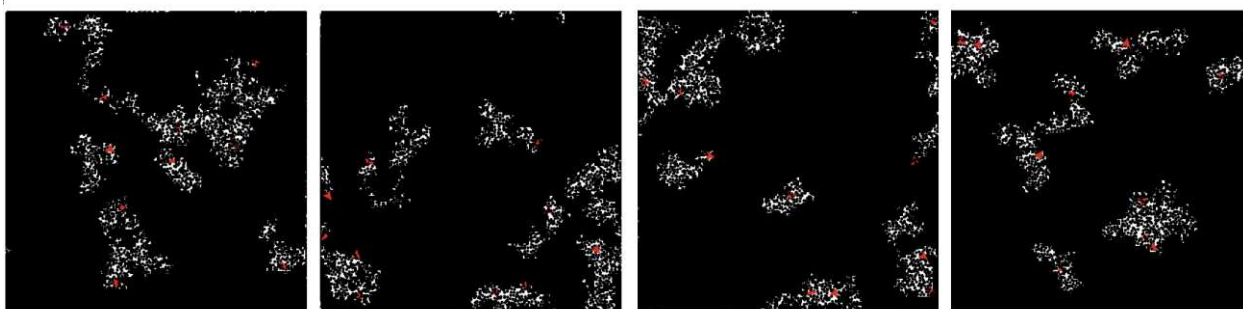
210

220

230

240

Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



250

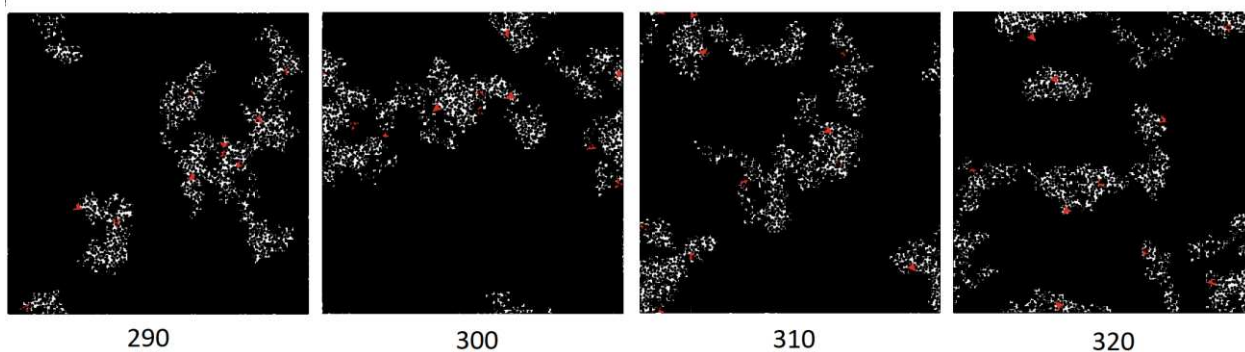
260

270

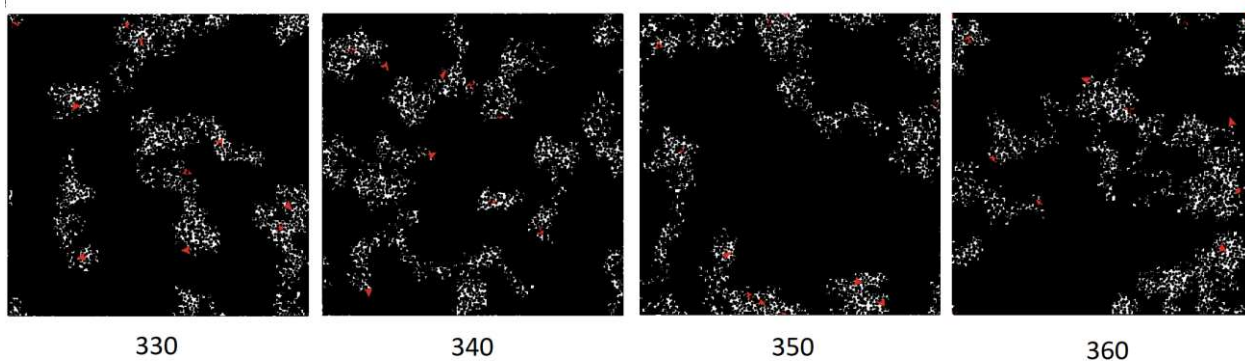
280

Рисунок 6. Топология костной ткани в зависимости от угла поворота. При значениях углов от 210-360 градусов остеобласты формируют матрикс кластерами, наращивая матрикс по краям кластеров. Продолжение на следующей странице.

Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



Максимальный угол поворота $\Delta\varphi_{max}, ^\circ$



Продолжение рисунка 6. Топология костной ткани в зависимости от угла поворота. При значениях углов от 210-360 градусов остеобласты формируют матрикс кластерами, наращивая матрикс по краям кластеров.

2. Сформированы топологии костной ткани на плоскости в рамках агентной модели группы остеобластов в течение 26 дней на плоской поверхности с субстратом.

3. Получен каркас для построения имитационных моделей экспериментов с костной тканью на плоскости.

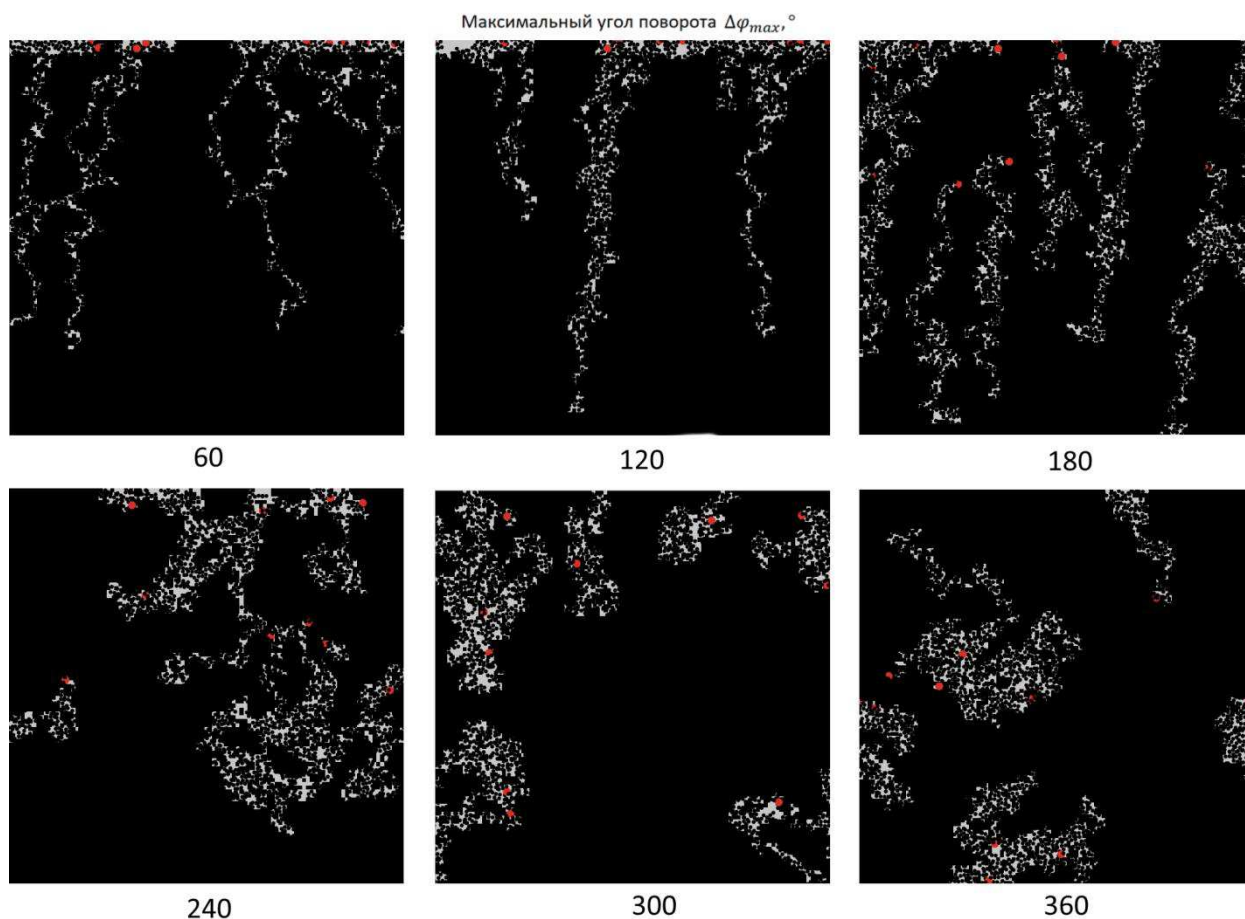


Рисунок 7. Топология костной ткани в зависимости от угла поворота при угле возвращения к положительному градиенту 180 градусов.

Эксперимент с градиентом концентрации питательного вещества. Начальные условия: в рабочей области модели для каждой клетки задан параметр «концентрация питательного вещества». Значения концентраций принимают значения координаты Y , в следствие образуется восходящий градиент концентрации от крайней нижней части до верхней части рабочей области. Верхняя и нижняя часть рабочей области ограничены. Поверхность рабочей области идентична поверхности цилиндра.

Для агентов-остеобластов дополнительно заданы правила:

- А) Определять концентрацию питательного вещества на клетке;
- Б) Сравнивать текущее значение концентрации со значением в памяти;
- В) В случае, если на текущей клетке концентрация больше чем на предыдущей, клетка продолжает двигаться в выбранном направлении. Если

концентрация меньше, чем на предыдущей клетке, остеобласт делает разворот на 180 градусов.

При значениях случайного изменения углов от 60 до 180 градусов остеобласты формируют вытянутые структуры с уменьшением пустого пространства между остеоидами.

В диапазоне максимального случайного угла отклонения от текущего направления от 240 до 360 градусов остеобласты формируют скопления костного материала с нулевыми или единичными расстояниями между остеоидами. С увеличением величины угла число полостей внутри кластеров уменьшается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам работы делаю вывод, что в рамках агентно-ориентированного метода имитационное моделирование формирования костной ткани в динамике на плоскости показывает зависимость формы костной ткани от механических взаимодействий остеобластов с формирующимся матриксом. Было показано, что остеобласты при стремлении к движению вдоль нисходящего градиента плотности среды (durotaxis) формируют относительно более рыхлые топологии костной ткани, покрывая при этом относительно большие площади в пространстве, и занимая пространство равномерно. При стремлении к движению вдоль восходящего градиента плотности среды, остеобласты склонны формировать кластеры из костной ткани, занимая относительно меньшую площадь. В случае, когда к случайному изменению направления добавлено направленное к восходящему градиенту, агенты склонны формировать вытянутые структуры, направленные вдоль градиента концентрации питательного вещества.

Топологии и в первом случае и во втором имеют место быть в организме позвоночного. Сформированная при стремлении к движению вдоль нисходящего градиента плотности рыхлая костная ткань соответствует морфологии губчатой костной ткани, движение по восходящему градиенту — компактной костной ткани [72]. Предположение, что одни и те же остеобласты формируют кость разного типа, позволяет сформулировать гипотезу о переключаемости в остеобластах движения по градиенту плотности среды: по нисходящим градиентам и наоборот. Актуально проводить научные изыскания механизмов переключения таксиса плотности у остеобластов [73, 74].

Построенная агентная модель естественным образом расширяется добавлением в симуляцию агентов с заданными свойствами (инертность, специфические взаимодействия с остеобластами) для имитирования

формирования костной ткани в присутствии медикамента или имплантата. Использование расширенной имитационной модели позволит исследователю набирать статистические данные и наблюдать разворачивание процесса формирования костной ткани во времени, позволит прийти к обобщениям и выводам для определения направления дальнейших исследований [70].

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ABM — agent-based modeling;

BMP — bone morphogenic protein;

IGF — insulin-like growth factor;

M-CSF — macrophage colony stimulating factor

OPG — osteoprotegerin

RANK-L — receptor activator of NF- κ B ligand

TGF- β — transforming growth factor- β

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. G. An [и др.]. Agent-based models in translational systems biology // Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine. – 2009. – Т. 1. – №. 2. – С. 159-171.
2. Sacks J. [и др.] Design and analysis of computer experiments // Statistical science. – 1989. – С. 409-423.
3. Miller J. G. Living systems. 1978 // p. McGraw-Hill, New York, USA. – С. 1102.
4. Henriksen J. O. [и др.]. Implementations of time (panel) // Proceedings of the 18th conference on Winter simulation. – ACM, 1986. – С. 409-416.
5. Shah F. A., Thomsen P., Palmquist A. Osseointegration and current interpretations of the bone-implant interface //Acta biomaterialia. – 2018.
6. Goda I., Ganghoffer J. F., Maurice G. Combined bone internal and external remodeling based on Eshelby stress //International Journal of Solids and Structures. – 2016. – Т. 94. – С. 138-157.
7. Bose S., Vahabzadeh S., Bandyopadhyay A. Bone tissue engineering using 3D printing //Materials today. – 2013. – Т. 16. – №. 12. – С. 496-504.
8. Collins M. J. et al. The survival of organic matter in bone: a review //Archaeometry. – 2002. – Т. 44. – №. 3. – С. 383-394.
9. Mackie E. J., Tatarczuch L., Mirams M. THEMATIC REVIEW The skeleton: a multi-functional complex organ. The growth plate chondrocyte and endochondral ossification //Journal of Endocrinology. – 2011. – Т. 211. – С. 109-121.
10. Woods M. L. [и др.]. Directional collective cell migration emerges as a property of cell interactions //PLoS One. – 2014. – Т. 9. – №. 9. – С. e104969.
11. Vicsek T. [и др.]. Novel type of phase transition in a system of self-driven particles //Physical review letters. – 1995. – Т. 75. – №. 6. – С. 1226.

- 12.Lindenmayer A. Mathematical models for cellular interactions in development II. Simple and branching filaments with two-sided inputs //Journal of Theoretical Biology. – 1968. – Т. 18. – №. 3. – С. 300-315.
- 13.Bertin E., Droz M., Gregoire G. Hydrodynamic equations for self-propelled particles: microscopic derivation and stability analysis //Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical. – 2009. – Т. 42. – №. 44. – С. 445001.
- 14.Caussin J. B. Collective dynamics of self-propelled particles: waves, vortex, swarm, braiding: дис. – Ecole normale supérieure de lyon-ENS LYON. – 2015.
- 15.Hauser M. J. B., Schimansky-Geier L. Statistical physics of self-propelled particles //The European Physical Journal Special Topics. – 2015. – Т. 7. – №. 224. – С. 1147-1150.
- 16.Yates C. A. On the dynamics and evolution of self-propelled particle models: дис. – University of Oxford, 2007.
- 17.Shields IV C. W., Velev O. D. The evolution of active particles: toward externally powered self-propelling and self-reconfiguring particle systems // Chem. – 2017. – Т. 3. – №. 4. – С. 539-559.
- 18.Czirók A., Vicsek T. Collective behavior of interacting self-propelled particles // Physica A: Statistical Mechanics and its Applications. – 2000. – Т. 281. – №. 1-4. – С. 17-29.
- 19.Parrish J. K., Edelstein-Keshet L. Complexity, pattern, and evolutionary trade-offs in animal aggregation //Science. – 1999. – Т. 284. – №. 5411. – С. 99-101.
- 20.Li Y. X., Lukeman R., Edelstein-Keshet L. Minimal mechanisms for school formation in self-propelled particles //Physica D: Nonlinear Phenomena. – 2008. – Т. 237. – №. 5. – С. 699-720.
- 21.Nelson C. M. et al. Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – Т. 102. – №. 33. – С. 11594-11599.

22. Shraiman B. I. Mechanical feedback as a possible regulator of tissue growth // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – T. 102. – №. 9. – C. 3318-3323.
23. Basan M. et al. Homeostatic competition drives tumor growth and metastasis nucleation // *HFSP journal*. – 2009. – T. 3. – №. 4. – C. 265-272.
24. Chaté H. et al. Collective motion of self-propelled particles interacting without cohesion // *Physical Review E*. – 2008. – T. 77. – №. 4. – C. 046113.
25. Marchetti M. C. et al. Soft active matter // *arXiv preprint arXiv:1207.2929*. – 2012.
26. Ballarini M. et al. Interaction ruling animal collective behaviour depends on topological rather than metric distance: Evidence from a field study // *PNAS*. – 2008. – T. 105. – №. 4. – C. 1232-1237.
27. Chaté H. et al. Collective motion of self-propelled particles interacting without cohesion // *Physical Review E*. – 2008. – T. 77. – №. 4. – C. 046113.
28. Mach R., Schweitzer F. Multi-agent model of biological swarming // *European Conference on Artificial Life*. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2003. – C. 810-820.
29. O’Keeffe K. P., Hong H., Strogatz S. H. Oscillators that sync and swarm // *Nature communications*. – 2017. – T. 8. – №. 1. – C. 1504.
30. Bäuerle T. et al. Self-organization of active particles by quorum sensing rules // *Nature communications*. – 2018. – T. 9.
31. Dell’Arciprete D. et al. A growing bacterial colony in two dimensions as an active nematic // *Nature communications*. – 2018. – T. 9. – №. 1. – C. 4190.
32. Kokot G., Snezhko A. Manipulation of emergent vortices in swarms of magnetic rollers // *Nature communications*. – 2018. – T. 9. – №. 1. – C. 2344.
33. MacArthur BD; Oreffo RO (January 2005). "Bridging the gap". *Nature*. 433(7021): 19. Bibcode:2005Natur.433...19M. doi:10.1038/433019a. PMID 15635390.

34. Lee E. L., Von Recum H. A. Cell culture platform with mechanical conditioning and nondamaging cellular detachment // *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials.* – 2010. – Т. 93. – №. 2. – С. 411-418.
35. Pasotti L., Zucca S. Advances and computational tools towards predictable design in biological engineering // *Computational and mathematical methods in medicine.* – 2014. – Т. 2014.
36. Александров А. Ю. Математическое моделирование и исследование устойчивости биологических сообществ. – Соло, 2006.
37. Соколов С. В. ББК 22.161. 6 С.59.
38. Jochems C. Estrogen and raloxifene in experimental arthritis and osteoporosis. – Inst of Medicine. Dept of Rheumatology and Inflammation Research, 2008.
39. Reznikov N. et al. A materials science vision of extracellular matrix mineralization // *Nature Reviews Materials.* – 2016. – Т. 1. – №. 8. – С. 16041.
40. Reznikov N. et al. Fractal-like hierarchical organization of bone begins at the nanoscale // *Science.* – 2018. – Т. 360. – №. 6388. – С. eaao2189.
41. Russell S. J., Norvig P. Artificial intelligence: a modern approach. – Malaysia; Pearson Education Limited,, 2016.
42. Buttinoni I. et al. Dynamical clustering and phase separation in suspensions of self-propelled colloidal particles // *Physical review letters.* – 2013. – Т. 110. – №. 23. – С. 238301.
43. Bechinger C. et al. Active particles in complex and crowded environments // *Reviews of Modern Physics.* – 2016. – Т. 88. – №. 4. – С. 045006.
44. Liu Y. Y., Barabási A. L. Control principles of complex systems // *Reviews of Modern Physics.* – 2016. – Т. 88. – №. 3. – С. 035006.

45. Rendell P. A universal turing machine in conway's game of life //2011 International Conference on High Performance Computing & Simulation. – IEEE, 2011. – С. 764-772.
46. Langton C. G. Studying artificial life with cellular automata //Physica D: Nonlinear Phenomena. – 1986. – Т. 22. – №. 1-3. – С. 120-149.
47. Gajardo A., Moreira A., Goles E. Complexity of Langton's ant //Discrete Applied Mathematics. – 2002. – Т. 117. – №. 1-3. – С. 41-50.
48. Kalmykov L. V., Kalmykov V. L. A white-box model of S-shaped and double S-shaped single-species population growth //PeerJ. – 2015. – Т. 3. – С. e948.
49. Coleman R. E., Brown J., Holen I. Bone metastases //Abeloff's Clinical Oncology. – Content Repository Only!, 2020. – С. 809-830. e3.
50. Robling A. G., Turner C. H. Mechanical signaling for bone modeling and remodeling //Critical reviews in eukaryotic gene expression. – 2009. – Т. 19. – №. 4. – С. 319.
51. Thiel A. et al. Osteoblast migration in vertebrate bone //Biological Reviews. – 2018. – Т. 93. – №. 1. – С. 350-363.
52. Mak M. et al. Single-cell migration in complex microenvironments: mechanics and signaling dynamics //Journal of biomechanical engineering. – 2016. – Т. 138. – №. 2. – С. 021004.
53. Романовский Ю. М., Теплов В. А. Физические основы клеточного движения. Механизмы самоорганизации амебоидной подвижности //Успехи физических наук. – 1995. – Т. 165. – №. 5. – С. 555-578.
54. Allena R. The discriminant role of mechanics during cell migration //Journal of Cellular Immunotherapy. – 2018. – Т. 4. – №. 1. – С. 30-34.
55. Flaherty B., McGarry J. P., McHugh P. E. Mathematical models of cell motility //Cell biochemistry and biophysics. – 2007. – Т. 49. – №. 1. – С. 14-28.
56. Borisy G. G., Svitkina T. M. Actin machinery: pushing the envelope //Current opinion in cell biology. – 2000. – Т. 12. – №. 1. – С. 104-112.

57. Burridge K. Focal adhesions: a personal perspective on a half century of progress //The FEBS journal. – 2017. – T. 284. – №. 20. – C. 3355-3361.
58. Merkel R. et al. A micromechanic study of cell polarity and plasma membrane cell body coupling in Dictyostelium //Biophysical journal. – 2000. – T. 79. – №. 2. – C. 707-719.
59. Kobayashi T., Sokabe M. Sensing substrate rigidity by mechanosensitive ion channels with stress fibers and focal adhesions //Current opinion in cell biology. – 2010. – T. 22. – №. 5. – C. 669-676.
60. Shemesh T. et al. Focal adhesions as mechanosensors: a physical mechanism //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – T. 102. – №. 35. – C. 12383-12388.
61. Kaul H. et al. Synergistic activity of polarised osteoblasts inside condensations cause their differentiation //Scientific reports. – 2015. – T. 5. – C. 11838.
62. Langenbach F., Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells in vitro //Stem cell research & therapy. – 2013. – T. 4. – №. 5. – C. 117.
63. Astakhova N. M. et al. Analysis of the Basic Characteristics of Osteogenic and Chondrogenic Cell Lines Important for Tissue Engineering Implants //Bulletin of experimental biology and medicine. – 2018. – T. 164. – №. 4. – C. 561-568.
64. Omelon S. et al. Control of vertebrate skeletal mineralization by polyphosphates //PLoS One. – 2009. – T. 4. – №. 5. – C. e5634.
65. Hernandez C. J., Beaupre G. S., Carter D. R. A model of mechanobiologic and metabolic influences on bone adaptation //Journal of rehabilitation research and development. – 2000. – T. 37. – №. 2. – C. 235-244.
66. Parfitt A. M. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone //Journal of cellular biochemistry. – 1994. – T. 55. – №. 3. – C. 273-286.

67. Riehl B. D. et al. Flow taxis of osteoblast migration under fluid shear and the effect of RhoA kinase silencing // *PloS one*. – 2017. – Т. 12. – №. 2. – С. e0171857.
68. Grimm V. et al. A standard protocol for describing individual-based and agent-based models // *Ecological modelling*. – 2006. – Т. 198. – №. 1-2. – С. 115-126.
69. Van Scoy G. K. et al. A cellular automata model of bone formation // *Mathematical biosciences*. – 2017. – Т. 286. – С. 58-64.
70. Wilensky U. et al. Center for connected learning and computer-based modeling // *NetLogo*. – Northwestern University, 1999.
71. Wilensky U. NetLogo Simple Birth Rates model // Center for Connected Learning and Computer-Based Modeling, Northwestern University, Evanston, IL, USA. – 1997.
72. Burr D. B. Bone morphology and organization // *Basic and applied bone biology*. – Academic Press, 2019. – С. 3-26.
73. Sun M., Spill F., Zaman M. H. A computational model of YAP/TAZ mechanosensing // *Biophysical journal*. – 2016. – Т. 110. – №. 11. – С. 2540-2550.
74. Smith L., Cho S., Discher D. E. Mechanosensing of matrix by stem cells: from matrix heterogeneity, contractility, and the nucleus in pore-migration to cardiogenesis and muscle stem cells in vivo // *Seminars in cell & developmental biology*. – Academic Press, 2017. – Т. 71. – С. 84-98.
75. Мазуренко С. О., Шишкин А. Н., Мазуренко О. Г. Ремоделирование костной ткани и патологическая физиология почечных остеодинтрофий // *Нефрология*. – 2018. – Т. 6. – №. 2. – С. 15-27.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А. Таблица “агенты, правила и конечные состояния” [56]

Действие	Агент(ы)	Правило	Конечное состояние агента	Визуализация
Пролиферация	Прекурсор	Начинается при запуске симуляции	Агент делится, чтобы создать больше дочерних агентов	Синяя сфера
		Агент делится каждые 12 часов, создавая дочерний агент в случайно выбранном направлении		
		Агент не может создать агент в третьем измерении		
		Останавливается, когда достигает слияния		
	Преостеобласты	Начинается после слияния	Деление агента усиливает развитие системы	
		Агент делится каждые 12 часов, создавая дочерний агент в случайно выбранном направлении. Время варьировалось для испытания чувствительности до 12±3, 12±1 и 8 часов		
Агент может делиться в третье измерение				
Пролиферация продолжается пока система не достигнет высоты 90 мкм				
Миграция	Преостеобласты	Начинает действовать после слияния	Миграция агента к области скелетогенеза помогает начать развитие системы	
		Случайно выбранные агенты мигрируют в сторону области скелетогенеза		
		Останавливается, когда достигает области скелетогенеза, и начинает пролиферировать		
Апоптоз	Остеобласты	Начинается как только система достигает высоты 110 мкм	Агент умирает и в дальнейшей симуляции роли не играет. Место становится доступным другим агентам	Зеленая сфера исчезает
		Агент входит в цикл апоптоза, если он не дифференцировался в остеоцит в стадию миграции		

продолжение таблицы на следующей странице.

**Приложение А. Таблица “агенты, правила и конечные состояния” [56]
продолжение**

Дифференцировка	Прекурсор	Начинается после слияния	Агенты дифференцируют в преостеобласты, которые мигрируют к области скелетогенеза и начинают развитие структуры	Синяя сфера	
		Случайно выбранные агенты дифференцируются в преостеобласты			
	Преостеобласты	Останавливается как только определенное случайно выбранное число агентов дифференцировалось		Агенты дифференцируют в остеобласты, которые размещают остеоиды, чтобы развивать структуру	Синяя сфера превращается в зеленую
		Начинается, когда высота системы достигает 50 мкм			
		Агент должен находится в области системы ИЛИ			
		Агент находится в контакте больше, чем с четырьмя остеобластами			
		Преостеобласты становятся остеобластами			
	Остеобласты могут стать преостеобластами обратно, если они находятся на периферии системы				
	Остеобласты	Начинается, когда высота системы достигает 100 мкм		Агенты дифференцирует в остеоцит	Зеленая сфера превращается в черную
		Агент, если заключен в или окружен минерализованным матриксом (6 агентов матрикса), дифференцирует в остеоцит. В анализе на чувствительность число соседей уменьшено до 4			
Продолжается пока все остеобласты или дифференцировались или прошли через апоптоз					
Минерализация матрикса	Начинается, когда высота системы достигает 100 мкм		Минерализованный матрикс включает в себя остеобласты, что помогает их дифференциации в остеоциты	Красный куб превращается в серый	
	Все агенты матрикса медленно минерализуются				

продолжение таблицы на следующей странице.

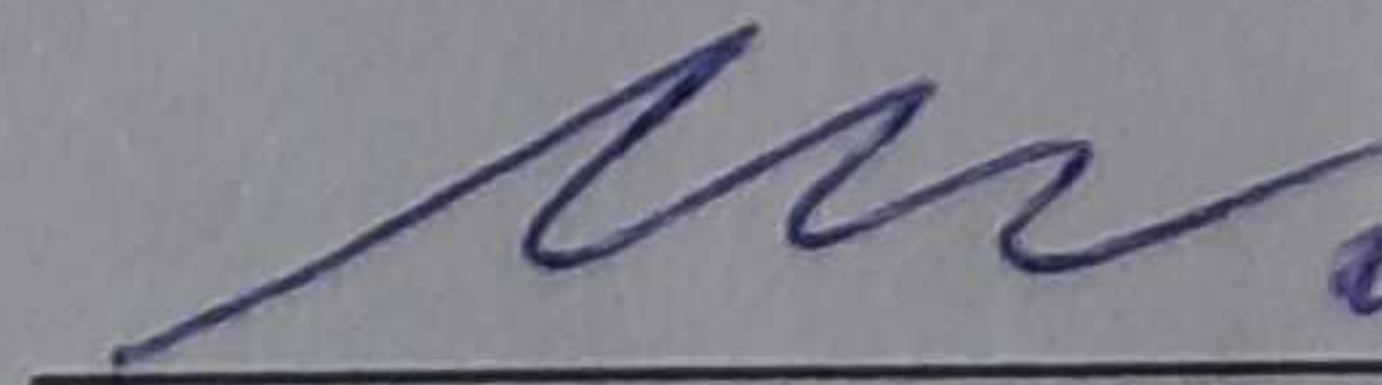
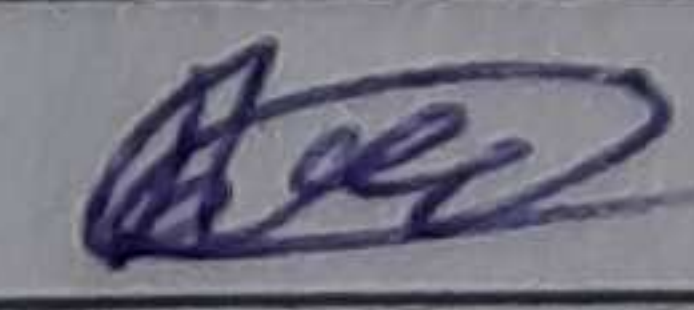

**Приложение А. Таблица “агенты, правила и конечные состояния” [56]
продолжение**

Размещение матрикса	Остеобласты	Начинается, когда высота системы достигает 70 мкм		Агент укладывает матрикс, что приводит к развитию структуры системы. Агент затем заключается в минерализованной форме матрикса и дифференцирует в остеоцит	Зеленая сфера создает красные кубы
		Г№1	Агенты укладывают матрикс случайным образом в любом из направлений в трехмерии на протяжении всей симуляции		
		Г№2	Агент, сформировавшись, приобретает случайную полярность и продолжает укладывать матрикс в одном и том же направлении на протяжении всей симуляции		
		Г№3	Агенты на дистанции 20 мкм друг от друга принадлежат к одному слою		
			Полярность - свойство агентов с одного слоя		
			Агенты приобретают полярность как только формируются, когда высота системы превосходит 50 мкм		
		Г№4	Наследует правила Г№3		
В течение определенного диапазона времени, 2% от всех агентов популяции случайно выбирают и выключают гены секретирования матрикса					
Секретирование матрикса останавливается как только высота системы достигает 110 мкм					

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
В.А. Кратасюк
«22» июня 2020 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
Моделирование ремоделирования кости агентным методом
03.04.02 Физика
03.04.02.01 Биофизика

Научный руководитель  22.06.2020 м.н.с., к.ф.-м.н. М.Ю. Салтыков
Выпускник  22.06.2020 И.Е. Банных
Рецензент  22.06.2020 с.н.с., к.ф.-м.н. П.В. Белолипецкий

Красноярск 2020