МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССА ДИФФУЗИИ ПОПЕРЕЧНОСШИТЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФЕРМЕНТАТИВНОГО СОСТАВА РЕАКЦИЙ

Войтенко Д.А.1, Мишуков А.А. 2, Ивановская Е.В.2,3

1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2ФГБУНЦентр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

3 РХТУ им. Менделеева

Каждый живой организм в процессе своей жизнедеятельности сталкивается с неизбежным процессом старения. Человек не является исключением из правила, заметнее всего это выражается на коже. Ее старение связано с изменением активности клеток кожи – фибробластов [1]. Существует множество факторов, влияющих на активность фибробластов. В частности, за счет продуцируемого фибробластами ключевого полисахарида межклеточного матрикса – гиалуроновой кислоты (ГК) [2], кожа не теряет свою упругость и эластичность. Помимо внеклеточного матрикса самые мелкие частицы ГК способны проникать внутрь клетки [3]. Таким образом, при введении в кожу высокомолекулярных поперечносшитых продуктов ГК необходимо учитывать способность ГК диффундировать и разложение, введенных продуктов под действием ферментов [4], все это необходимо для определения верной концентрации вводимого препарата и получения ожидаемого эффекта длительного омоложения.

Целью настоящей работы является разработка математической модели, позволяющей описать процессы распада высокомолекулярных продуктов в межклеточном матриксе, распространения фрагментов ГК в результате диффузии, захват ГК фибробластами и влияние ферментативной активности гиалуронидаз.

Математическая модель представляет собой систему дифференциальных уравнений в частных производных (типа «реакция-диффузия»), описывающих процесс гидролиза высокомолекулярной ГК и диффузии фрагментов. Интегрирование точечной модели (система ОДУ) проводилось методом LSODA в программе COPASI. Интегрирование системы ДУЧП проводилось методом конечных объемов в программе Vcell. Для валидации предсказаний модели были поставлены эксперименты по пролифирации выделенных фибробластов человека в присутствии высокомолекулярных поперечносшитых продуктов ГК. Культивирование фибробластов проводилось стандартными методами в атмосфере 5% СО2 и 37оС [7]. Оценка пролиферации фибробластов проводилась методом проточной цитофлуориметрии и MTT-теста[8].

В присутствии поперечно-сшитых продуктов гиалуроновой кислоты происходило статистически значимое увеличение скорости пролиферации фибробластов человека. В результате валидации модели на экспериментальных данных по пролифирации фибробластов были получены параметры деления фибробластов в культуре. В модели было получено снижение экспрессии CD44 на поверхности фибробластов в присутствии гиалуроновой кислоты, что соответствует литературным данным.

Таким образом, в ходе работы была получена зависимость скорости деления фибробластов и экспрессии CD44 от концентрации продуктов ГК, что в свою очередь позволило сделать вывод о величине омолаживающего эффекта, оказываемого при введении препарата. Данная математическая модель может быть применена для расчетов концентраций инъекции препарата в зависимости от индивидуальных особенностей пациента.

Исследование поддержано программой научных школ МГУ, грант 23-Ш06-08

ЛИТЕРАТУРА

1. Croce MA, Boraldi F, Quaglino D, Tiozzo R, Pasquali-Ronchetti I. Hyaluronan uptake by adult human skin fibroblasts in vitro. Eur J Histochem. 2003;47(1):63-73. doi: 10.4081/808. PMID: 12685559.

2. Y. Tokita, A. Okamoto, Hydrolytic degradation of hyaluronic acid, Polymer Degradation and Stability, Volume 48, Issue 2, 1995, Pages 269-273, ISSN 0141-3910,

3. Hofinger ES, Bernhardt G, Buschauer A. Kinetics of Hyal-1 and PH-20 hyaluronidases: comparison of minimal substrates and analysis of the transglycosylation reaction. Glycobiology. 2007 Sep;17(9):963-71. doi: 10.1093/glycob/cwm070. Epub 2007 Jun 29. PMID: 17602139.

4. Rodén L, Campbell P, Fraser JR, Laurent TC, Pertoft H, Thompson JN. Enzymic pathways of hyaluronan catabolism. Ciba Found Symp. 1989;143:60-76; discussion 76-86, 281-5

5. Ивановская Е.В, Болдова А.Е., Сидорина А.Н., Ивановская Ю.А., Газитаева З.И., Свешникова А.Н., Влияние поперечносшитых производных высокомолекулярной гиалуроновой кислоты на пролиферацию фибробластов

6. Žádníková P, Šínová R, Pavlík V, Šimek M, Šafránková B, Hermannová M, Nešporová K, Velebný V. The Degradation of Hyaluronan in the Skin. Biomolecules. 2022 Feb 3;12(2):251. doi: 10.3390/biom12020251. PMID: 35204753; PMCID: PMC8961566.

7. Garcia, Claudia & Britto, Dahyana & Marelli, Jean-Philippe. (2021). Plant Cell Culture Protocols.

8. Abd, Abdulkareem. (2023). MTT (Assay protocol v1. 10.17504/protocols.io.eq2ly72emlx9/v1).