

**ŽILINSKÁ UNIVERZITA V ŽILINE**

---

**AUTOREFERÁT  
DIZERTAČNEJ PRÁCE**

---

**Žilina, marec, 2021**

Mgr. Mariana Ondrušová

**Žilinská univerzita v Žiline**  
**Fakulta riadenia a informatiky**

**Mariana Ondrušová, Mgr.**

Autoreferát dizertačnej práce

**Výpočtové algoritmy pre vývoj, validáciu a aplikáciu modelov biologických buniek**

na získanie akademického titulu „**philosophiae doctor**“ (v skratke **PhD.**)  
v študijnom programe doktorandského štúdia  
**aplikovaná informatika**  
v študijnom odbore:  
**informatika**

Žilina, marec 2021

**Dizertačná práca bola vypracovaná v dennej forme doktorandského štúdia katedre softvérových technológií, Fakulte riadenia a informatiky Žilinskej univerzity v Žiline**

- Predkladateľ:** Mgr. Mariana Ondrušová  
Katedra softvérových technológií  
Fakulta riadenia a informatiky  
Žilinská univerzita v Žiline
- Školiteľ:** prof. Mgr. Ivan Cimrák, Dr.  
Katedra softvérových technológií  
Fakulta riadenia a informatiky  
Žilinská univerzita v Žiline
- Oponent:** prof. Ing. Elena Zaitseva, PhD.  
Katedra informatiky  
Fakulta riadenia a informatiky  
Žilinská univerzita v Žiline
- Oponent:** prof. Ing. Karel Šotek, CSc.  
Katedra softwarových technológií  
Fakulta elektrotechniky a informatiky  
Univerzita Pardubice v Pardubiciach

**Autoreferát bol rozoslaný dňa: .....**

Obhajoba dizertačnej práce sa koná dňa ..... o ..... h. pred komisiou pre obhajobu dizertačnej práce schválenou pracovnou skupinou odborovej komisie v študijnom odbore **informatika v študijnom programe aplikovaná informatika**, vymenovanou dekanom Fakulty riadenia a informatiky Žilinskej univerzity v Žiline dňa .....

**prof. Ing. Karol Matiaško, PhD.**  
predseda pracovnej skupiny odborovej komisie  
študijného programu **aplikovaná informatika**  
v študijnom odbore **informatika**  
Fakulta riadenia a informatiky  
Žilinská univerzita  
Univerzitná 8215/1  
010 26 Žilina

## 1 Úvod

Už dávno sa ľudstvo zaoberalo otázkou, čo sa nachádza vo vnútri organizmov. Prvé biologické experimenty zamerané na prácu s červenými krvinkami však vždy mali a stále majú svoje obmedzenia. Napríklad je to ich životnosť, možnosť opakovať experiment s tými istými krvinkami, či vyššie rýchlosti tokov krvi. Preto postupom času ľudia hľadali aj iné možnosti akými sú počítačové simulácie. Počítačové simulácie vychádzajú z biologických experimentov. Navyše v sebe zahŕňajú vlastnosti ako je elasticita, energetický stav, príľnavosť k iným objektom ale tiež dokážu predpovedať výsledky biologických experimentov, ktoré nie sú zreplikovateľné v laboratóriách. V neposlednom rade ich veľkou prednosťou je, že k experimentom nepotrebujú živé bytosti.

Počítačové simulácie sú založené na spracovávaní interakcií objektov a tekutiny, pričom správanie každého elementu je definované matematickým predpisom. K vzájomným interakciám dochádza napríklad v mikrofluidických zariadeniach, ktoré predstavujú rôzne druhy kanálov väčších či menších rozmermi, zúženiami, rôzne vstavanými prekážkami.

Pod objektami myslíme červené krvinky, biele krvinky a krvné doštičky, ktoré sa spolu nachádzajú v tekutine – krvnej plazme. Podľa [1] je tvorená približne z 55% homogénnou krvnou plazmou a 45% tvoria červené a biele krvinky a krvné doštičky v pomere 500:1:30. Preto ďalej budeme pracovať len s krvnou plazmou a červenými krvinkami. V ďalšom texte používame pre červené krvinky skratku RBC (z anglického red blood cell).

Mikrofluidické zariadenia majú veľký význam pre štúdie, ktoré sa venujú chorobám buniek (napríklad nádorovým bunkám). Ich výskyt v krvi je veľmi zriedkavý - napríklad len jedna bunka na milión hematologických buniek v krvi pacientov. A keďže sa uvádza súvis medzi typom nádorovej bunky a typom rakoviny, separácia týchto buniek v mikrofluidických zariadeniach môže slúžiť na rýchle stanovenie diagnózy u pacientov [2]. V ďalšom texte používame pre cirkulujúce nádorové bunky skratku CTC (z anglického circulating tumor cell).

Názov dizertačnej práce výpočtové algoritmy pre vývoj, validáciu a aplikáciu modelov biologických buniek je rozpracovaný do dvoch čiastkových cieľov. Validáciu modelu biologických buniek v sebe zahŕňa prvý čiastkový cieľ. Vývoj a aplikáciu modelov biologických buniek v sebe zahŕňa druhý čiastkový cieľ.

- Prvý čiastkový cieľ: Validácia existujúceho modelu v rôznych simulačných podmienkach. Tomuto cieľu sa venujeme v Kapitole 3, kde náš simulačný model validujeme s existujúcimi biologickými dátami.

- Druhý čiastkový cieľ: Návrh, spracovanie a výskum nového modulu bunky – modul viskozity membrány bunky. Tomuto cieľu je venovaná Kapitola 4, kde si najprv vysvetlíme podstatu viskozity membrány a postupne ju zaradíme do simulačného modelu.

## 2 Súčasné metódy modelovania buniek

V kapitole si povieme viac o prínose našej výskumnej skupiny Cell-in-fluid Biomedical Modeling & Computations Group do výskumu vo svete, opíšeme metódu simulácie tekutiny v softvéri ESPResSo, doplníme opis modelovania tekutiny o interakciu s objektami, ktoré predstavujú červené krvinky, ponorenými v kvapaline a opíšeme model samotnej červenej krvinky s jeho jednotlivými atribútmi.

### 2.1 Naš výskum v rámci výskumu vo svete

Počítačové simulácie sú v modelovaní biologických procesov stále žiadaným prínosom, avšak spôsob, ako k nim pristupovať sa vo výskumných skupinách líši. Modelovanie biologických procesov je určitým zjednodušením komplexnosti javu. Preto je veľmi dôležité nájsť vhodný spôsob ako čo najviac zjednodušiť dané prostredie a pritom

zachovať jeho fyzikálne a biologické vlastnosti. Ak by sme sa zamerali len na modelovanie biologických buniek, vynárajú sa dva základné prístupy - modely založené na časticách (particle-based) a modely založené na diskretizačnej sieti (mesh-based). V oboch prípadoch sa model musí vysporiadať so samotnými objektami a ich vlastnosťami a tiež s interakciami navzájom.

### **Modely založené na časticách**

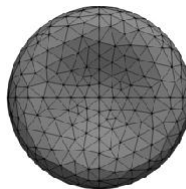
Model je založený na predpoklade, že simulačný priestor je v celom svojom objeme vyplnený časticami [3] [4]. Nastavením vlastností sa rozlíšia častice kvapaliny, bunky a membrány. Pri simulovaní červených krviniek zohrávajú významnú úlohu častice membrány bunky. Do nich sú vkladané elastické a viskózne vlastnosti tak, aby predstavovali model červenej krvinky.

### **Modely založené na diskretizačnej sieti**

Model založený na diskretizačnej sieti sa skladá z dvoch rozdielnych častí. Jedna popisuje tekutinu, druhá povrch bunky. Časti sa prepájajú pomocou vzájomných interakcií. Ak sa pozeráme na červenú krvinku ako na simulačný objekt, berieme do úvahy len jej povrch. Pre zjednodušenie je diskretizovaný bodmi, ktoré sú navzájom poprepájané, čím vytvárajú trojuholníkovú sieť. K interakciám medzi tekutinou a povrchom bunky môžeme pristupovať dvoma spôsobmi. Prvý je metóda vnorenej hranice, ktorú používame aj my. Podstatou je rozptýlené prepojenie pomocou trecích síl medzi mrežovými bodmi siete bunky a vrcholmi mriežky tekutiny.

## *2.2 Model červenej krvinky*

Pri modeli červenej krvinky berieme do úvahy len membránu bunky na povrchu, reprezentovanú bodmi, ktoré sú navzájom poprepájané v trojuholníkovej sieti. Na obrázku 1 môžeme vidieť diskretizovaný tvar červenej krvinky.



Obrázok 1 Skutočný a diskretizovaný tvar červenej krvinky.

Simulovanie membrány v našom modeli musí spĺňať rovnaké charakteristiky ako má biologická bunka. To v našich simuláciách zabezpečujeme pomocou piatich modulov elasticity. Jednou z podstatných častí práce je viskozita membrány bunky a z nej vyplývajúci šiesty modul – modul viskozity membrány. Zatiaľ čo prvých päť modulov má význam pri elasticite bunky a pomáhajú jej pri zmene tvaru v rôznych podmienkach, podstatou modulu viskozity membrány bunky je proces elasticity spomaliť.

### **Modul pružnosti**

Modul je založený na pôsobení síl medzi každými dvoma bodmi, ktoré vytvárajú hrany jednotlivých trojuholníkov. Ak je dĺžka hrany medzi dvoma bodmi dlhšia, pôsobiaca sila sa ju snaží skrátiť ak je hrana kratšia, sila sa ju snaží predĺžiť.

### **Modul ohybu**

Tento modul je dôležitý nielen pre zachovanie tvaru bunky, ale hlavne zabezpečuje postupný návrat do pôvodného stavu. Modul ohybu je založený na zachovávaní uhlov medzi každou dvojicou susedných trojuholníkov.

### **Modul zachovania lokálnej plochy**

Hlavnou úlohou tohto modulu je zachovanie plochy jednotlivých trojuholníkov v triangulácii. Tým tiež prispieva k udržaniu celkovej plochy červenej krvinky.

## Modul zachovania globálnej plochy

Modul zabezpečuje konštantný povrch bunky počas celej doby simulácie.

## Modul zachovania objemu

Modul zabezpečuje konštantný objem bunky počas celej doby simulácie.

### 3 Skúmanie citlivosti výpočtového modelu v iných podmienkach simulácií

Neustála validácia simulačného modelu by mala byť základom pre každý výskum. Aj náš simulačný model sa neustále vyvíja. Či už je to v tom, ako matematicky implementujeme jednotlivé moduly do celkových elastických vlastností, alebo v zmene veľkosti jednotlivých parametrov, ktoré upravujeme na základe biologických experimentov. Nasledujúce validačné experimenty sú výsledkom viacerých simulácií rozdelených podľa toho, na čo sme sa zamerali.

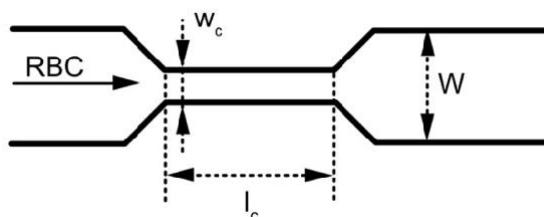
#### 3.1 Validácia modelu červenej krvinky vzhľadom na deformáciu bunky v zúženom mikrokanáli

Deformácia bunky je jedným z ukazovateľov vhodného nastavenia parametrov bunky. V nasledujúcom experimente sa zameriavame na nasledujúce otázky:

- Ovplyvňuje počiatočná pozícia bunky jej maximálnu deformáciu?
- Ovplyvňuje počiatočná pozícia bunky jej otáčanie počas simulácie?
- Udržiava si bunka svoju pozíciu vzhľadom na šírku simulačného kanála aj po deformácii?

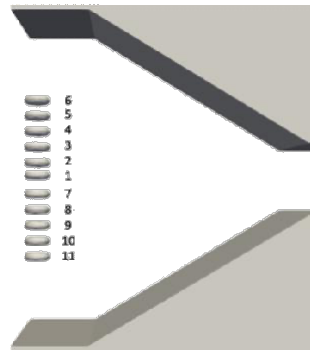
Pozícia bunky predstavuje jej relatívnu polohu vzhľadom na kraj a šírku simulačného kanála. Inšpiráciou pre naše simulačné prostredie bol biologický výskum od [5], kde autori použili kanál, ktorý sa postupne zužuje. V článku sú popísané dve rôzne simulačné prostredia s dvoma rôznymi dĺžkami v zúženej časti. Oba typy lepšie popisuje 2.

Pri prvom type prostredia boli použité nasledujúce rozmery: celková šírka kanála  $w = 100\mu\text{m}$ , ktorá sa postupne zúžila do  $w_c = 20\mu\text{m}$ , dĺžka zúženej časti  $l_c = 100\mu\text{m}$ . Pri druhom type zostali zachované hodnoty pre šírku  $w$  v širšej časti a  $w_c$  v zúženej časti, avšak sa zmenil parameter pre  $l_c$  – celková dĺžka zúženej časti zo 100 na  $800\mu\text{m}$ . Celková výška bola zachovaná po celej dĺžke kanála =  $38\mu\text{m}$ .

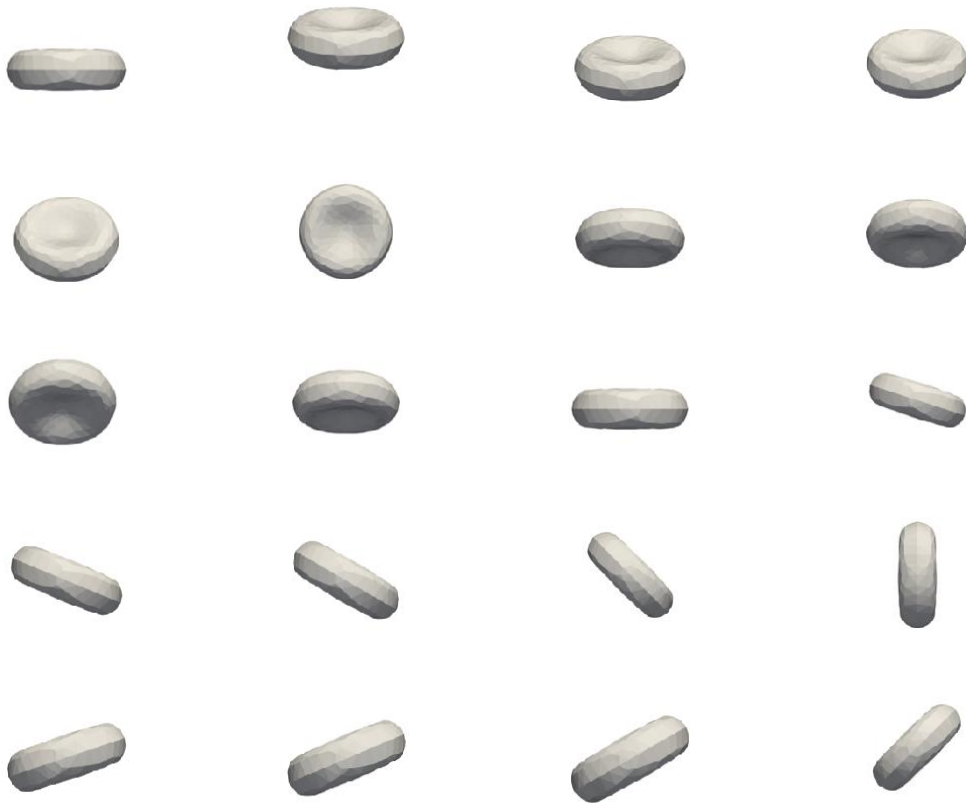


Obrázok 2 Schematický pohľad na experimentálny kanál zhora. Počiatočná šírka kanála  $w = 100\mu\text{m}$ , postupne zúžená do šírky  $w_c = 20\mu\text{m}$ , výška kanála bola  $38\mu\text{m}$ ,  $l_c$  v závislosti od aktuálneho experimentu od 100 do  $800\mu\text{m}$ .

Aby sme zabezpečili čo najviac možností na overenie spomínaného biologického experimentu, bunky sme vložili do kanála v jedenástich pozíciách a dvadsiatich rotáciách. Štartovné pozície buniek boli zvolené tak, aby obsiahli podstatnú šírku kanála. Obrázky 3, 4 ukazujú a vysvetľujú všetky možnosti tak, ako sme s nimi ďalej pracovali.



Obrázok 3 Jedenásť pozícií buniek v počiatočnej fáze simulácie.



Obrázok 4 Set rotácií buniek, s ktorými sme pracovali. Otáčané v x a z-smere.

## Výsledky

- o Ovplyvňuje počiatočná pozícia bunky jej maximálnu deformáciu?

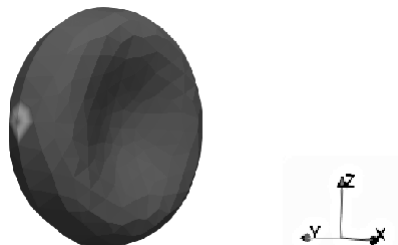
Bunka má svoj relaxovanú dĺžku  $L_0$  a taktiež dĺžku, do ktorej sa vie maximálne natiahnúť  $L_{max}$ . V našom prípade stav maximálneho natiahnutia bunka dosiahla pri vstupe do zúženej časti kanála so šírkou  $w_c = 20\mu m$ . Bunka spustená z akékoľvek pozície dosiahla maximálne predĺženie pri vstupe do zúženej časti kanála. A to bezohľadu na to, ako menila tvar pred vstupom pod vplyvom kvapaliny. Hodnoty pre  $L_0$  boli  $8,00\mu m$ , bezohľadu na pozíciu alebo rotáciu bunky. Hodnoty pre  $L_{max}$  sa v závislosti od pozície mierne líšili. Hodnoty pre jednotlivé pozície sú v tabuľke 1.

Počiatočná pozícia bunky	Spriemerovaná maximálna dĺžka bunky $l_c = 100 \mu\text{m}$	Spriemerovaná maximálna dĺžka bunky $l_c = 800 \mu\text{m}$	Smerodajná odchýlka od dĺžky $l_c = 100 \mu\text{m}$	Smerodajná odchýlka od dĺžky $l_c = 800 \mu\text{m}$
1	12,83 $\mu\text{m}$	12,81 $\mu\text{m}$	0,54 $\mu\text{m}$	0,51 $\mu\text{m}$
2	12,74 $\mu\text{m}$	12,75 $\mu\text{m}$	0,51 $\mu\text{m}$	0,48 $\mu\text{m}$
3	12,64 $\mu\text{m}$	12,62 $\mu\text{m}$	0,47 $\mu\text{m}$	0,44 $\mu\text{m}$
4	12,42 $\mu\text{m}$	12,44 $\mu\text{m}$	0,55 $\mu\text{m}$	0,51 $\mu\text{m}$
5	12,31 $\mu\text{m}$	12,30 $\mu\text{m}$	0,52 $\mu\text{m}$	0,56 $\mu\text{m}$
6	12,28 $\mu\text{m}$	12,25 $\mu\text{m}$	0,69 $\mu\text{m}$	0,64 $\mu\text{m}$
7	12,70 $\mu\text{m}$	12,71 $\mu\text{m}$	0,42 $\mu\text{m}$	0,44 $\mu\text{m}$
8	12,65 $\mu\text{m}$	12,61 $\mu\text{m}$	0,48 $\mu\text{m}$	0,44 $\mu\text{m}$
9	12,46 $\mu\text{m}$	12,42 $\mu\text{m}$	0,48 $\mu\text{m}$	0,50 $\mu\text{m}$
10	12,28 $\mu\text{m}$	12,25 $\mu\text{m}$	0,55 $\mu\text{m}$	0,58 $\mu\text{m}$
11	12,41 $\mu\text{m}$	12,40 $\mu\text{m}$	0,64 $\mu\text{m}$	0,66 $\mu\text{m}$

Tabuľka 1 Hodnoty pre spriemerovanú maximálnu dĺžku bunky pre  $l_c = 800 \mu\text{m}$  podľa závislosti od počiatočnej pozície. Smerodajná odchýlka udáva odchýlku v maximálnej dĺžke bunky od spriemerovanej maximálnej dĺžky pre  $l_c = 800 \mu\text{m}$  podľa závislosti od počiatočnej pozície.

- Ovplyvňuje počiatočná pozícia bunky jej otočenie počas simulácie?

Pri vyhodnotení sme sledovali z-vektor extrémálneho bodu bunky s počiatočnou rotáciou číslo šesť a jeho uhol otočenia vzhľadom na stred bunky. Pre prehľadnosť výsledkov sme menili len pozície bodov - 1. až 11. pozícia v šírke simulačného kanála, ale rotácia buniek ostala pre všetky pozície nemenná. Zvolenú pozíciu s vyznačeným extrémálnym bodom predstavuje 5.



Obrázok 5 Bunka s počiatočnou rotáciou a natočením pre viditeľnosť extrémálneho bodu.

Počiatočná pozícia predurčuje, ako rýchlo sa bude bunka otáčať. V stredovej časti kanála je rýchlosť otáčania najmenšia, zatiaľ čo smerom k stenám kanála sa rýchlosť zvyšuje na svoju maximálnu hodnotu. Čím bližšie k stenám simulačného kanála sa bunka nachádza, tým rýchlejšie sa otáča. Pozícia bunky tiež predurčovala smer otočenia v smere



a proti smere hodinových ručičiek. Bunky v strede a vo vrchnej časti simulačného kanála začali od vplyvom tekutiny rotovať v smere, bunky v spodnej časti v proti smere hodinových ručičiek.

Doplňujúce informácie u veľkosti uhla sú v tabuľke 2.

Počiatočná pozícia bunky		Uhol otočenia
Bunka v strede	1	79,14 °
Vrchná časť simulačného kanála	2	148,12 °
	3	201,76 °
	4	206,84 °
	5	293,65 °
	6	340,93 °
Spodná časť simulačného kanála	7	155,33 °
	8	196,17 °
	9	201,53 °
	10	286,74 °
	11	350,58 °

Tabuľka 2 Uhol otočenia bunky od počiatočnej pozície po pozíciu na konci zúženej časti simulačného kanála.

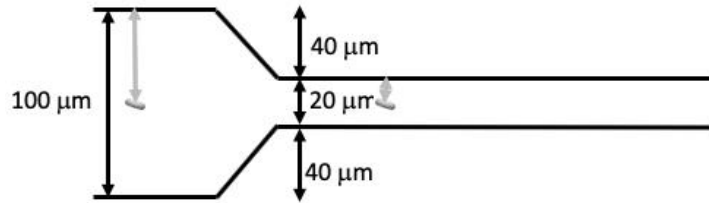
- o Udržiava si bunka svoju pozíciu vzhľadom na šírku simulačného kanála aj po deformácii?

Bunky spúšťané z vrchnej polovice kanála sa aj v zúženej časti držali vyššie. Bunky spúšťané z nižšej polovice, nižšie. Z pozície v strede si bunka po celú dobu držala polohu v strede kanála. Na výsledky sme vychádzali z obrázka 6. Porovnanie pozícií všetkých buniek v počiatočnej pozícii a v zúženej časti simulačného kanála nájdeme v tabuľke 3.

Počiatočná pozícia bunky	Umiestnenie bunky v počiatočnej pozícii	Relatívne umiestnenie bunky v počiatočnej pozícii vzhľadom na šírku kanála	Umiestnenie bunky v zúženej časti kanála	Relatívne umiestnenie bunky v zúženej časti vzhľadom na šírku kanála
1	50 μm	50 %	49,72 μm	51 %
2	55 μm	45 %	50,51 μm	47 %
3	60 μm	40 %	51,49 μm	42 %
4	65 μm	35 %	52,48 μm	37 %
5	70 μm	30 %	53,46 μm	32 %
6	75 μm	25 %	54,43 μm	27 %
7	45 μm	55 %	48,53 μm	57 %
8	40 μm	60 %	47,54 μm	62 %
9	35 μm	65 %	46,55 μm	67 %

10	30 $\mu\text{m}$	70 %	45,57 $\mu\text{m}$	72 %
11	25 $\mu\text{m}$	75 %	44,60 $\mu\text{m}$	77 %

Tabuľka 3 Pozície buniek v počítačovej pozícii a v zúženej časti kanála pre  $l_c = 800 \mu\text{m}$ .



Obrázok 6 Simulačný kanál podľa [5] pre  $l_c = 800 \mu\text{m}$  s vyznačenými šírkami pre výpočet pozícií buniek na vstupe a počas prechodu zúženou časťou.

### 3.2 Vplyv elastických parametrov na správanie sa bunky v šmykovom toku

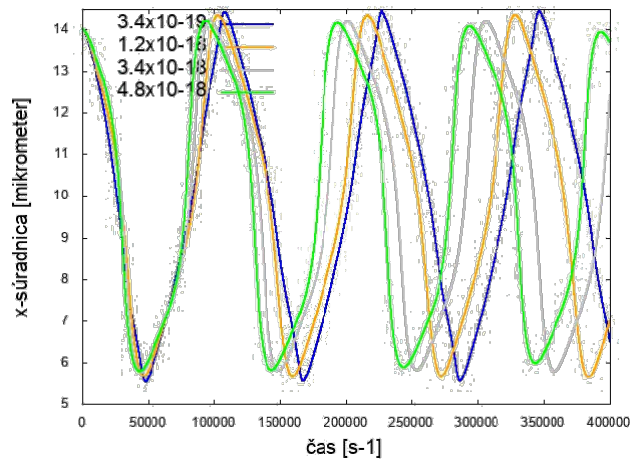
V nasledujúcom texte sa budeme venovať vplyvu modulu ohybu na správanie sa modelu bunky. Predpokladáme, že práve zmenou hodnoty modulu sa bunka stáva viac či menej tuhou. Pri nižších hodnotách je bunka menej tuhá ako pri vyšších hodnotách. V nasledujúcom texte odpovedáme na:

- Ovplyvňuje zmena hodnoty modulu ohybu rýchlosť otočenia bunky v toku?

Aktuálne používaná hodnota pre modul ohybu je  $3,4 \cdot 10^{-18}$  N.m. Na zodpovedanie otázky, ako vplýva modul ohybu na správanie sa bunky sme vybrali nasledovné hodnoty tak, aby boli v súlade s inými elastickými modulmi: desaťnásobne nižšiu hodnotu:  $3,4 \cdot 10^{-19}$  N.m a  $1,2 \cdot 10^{-18}$  N.m a  $4,8 \cdot 10^{-18}$  N.m. Spolu sme tak získali štyri rôzne hodnoty modulu ohybu. K tomu sme na základe [21] zvolili rýchlosti:  $0,0002 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0,0006 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0,0008 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0,001 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0,002 \text{ ms}^{-1}$ , čo zodpovedá piatim rôznym hodnotám šmykového toku:  $20 \text{ s}^{-1}$ ,  $60 \text{ s}^{-1}$ ,  $80 \text{ s}^{-1}$ ,  $100 \text{ s}^{-1}$  a  $200 \text{ s}^{-1}$ . Na meranie rýchlosti otáčania bunky v čase, sme si zvolili extrémny bod s najvyššou súradnicou v x-smere (súhlasný so smerom pohybu kvapaliny).

#### Výsledky

Vykonalí sme  $4 \times 5$  simulácií pre každú hodnotu modulu ohybu a rýchlosť spúšťanej kvapaliny. Pozícia aj rotácia bunky boli rovnaké pre všetky simulácie. Aj keď pre rôzne hodnoty modulu ohybu je rozdiel v natiahnutí minimálny, výsledky potvrdili predpoklad - vyššia hodnota modulu spôsobuje vyššiu tuhosť bunky, t.j. bunka sa menej natiahla. Vyššia tuhosť bunky ovplyvňuje aj rýchlosť otáčania. Obrázok 7 ukazuje závislosť medzi tuhosťou buniek a otočením - čím je bunka tuhšia, tým pomalšie sa otáča.



Obrázok 7 Rýchlosť otáčania bodu pri rôznych hodnotách modulu ohybu a pre rýchlosť tekutiny =  $0,002 \text{ ms}^{-1}$ .

## Závery

Základom kapitoly bola validácia simulačného modelu bunky na základe biologického experimentu. V kapitole sme si položili otázky vychádzajúcich z validácie, doplnené o vlastné otázky. Dokázali sme, že počiatočná pozícia aj rotácia ovplyvňuje maximálnu deformáciu bunky počas simulácie. Najvýraznejšie natiahnutie sa vyskytovalo vo vstupe do zúženej časti bez ohľadu na počiatočnú pozíciu a rotáciu. Ukázali sme vplyv počiatočnej pozície bunky na uhol otočenia a nakoniec sme potvrdili predpoklad, že počiatočná pozícia bunky predurčuje jej pozíciu počas celej doby simulácie, aj po vstupe do zúženej časti.

## 4 Viskozita membrány bunky

Pri pohybe bunky v dynamických systémoch sa väzby v bunkovej membráne preskupujú a tak dochádza k jej deformácii. Pod dynamickými systémami si môžeme predstaviť všetky možnosti, kedy sa bunka pohybuje, prevaľuje či mení tvar. Deformáciu buniek charakterizujú elastické a viskózne vlastnosti. Tie definujú, ktorým smerom sa membrána ohýba, prípadne naťahuje a zmršťuje. Princíp struny a tlmiča spôsobuje, že viskozita bunkovej membrány ovplyvňuje rýchlosť, akou sa tieto zmeny dejú ale negatívnym spôsobom. Viskozita teda vždy pôsobí proti tejto zmene a tým spomaľuje zmenu tvaru membrány. Je dôležité pripomenúť, že viskozita má význam iba v dynamickom systéme, preto v statických experimentoch ako je napríklad sedimentácia buniek je jej veľkosť nulová.

### 4.1 Implementácia viskozity membrány bunky

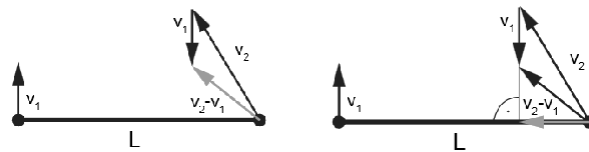
V predošlej kapitole sme písali, že viskozitu bunkovej membrány implementujeme do modelu rovnakým spôsobom ako všetky ostatné moduly. V rôznych prácach sa dočítame o prístupe, ktorý vychádza z predpokladu, že výsledná viskózna sila sa vypočíta ako rozdiel rýchlostí dvoch bodov na spoločnej hrane. Druhý prístup vychádza z rovnakého základu rozdielu rýchlostí, avšak výsledná sila sa potom ešte premietne na spoločnú hranu medzi dvoma bodmi. Je to nový prístup, ktorý sme overovali na rôznych simuláciách. Keďže viskózna sila pôsobí medzi dvoma bodmi na spoločnej hrane, druhá implementácia nám príde logickejšia.

### Prvý princíp implementácie – veľkosť sily ako rozdiel rýchlostí

Predstavme si dva body siete prepojené spoločnou hranou  $L$ , pohybujúce sa rýchlosťami  $v_1$  a  $v_2$ . Vo všeobecnosti sa tieto rýchlosti nerovnajú. Relatívna rýchlosť prvého bodu vzhľadom na druhý bod je daná rozdielom rýchlostí  $v_2 - v_1$ . Viskozita membrány sa dá chápať ako mechanizmus, ktorý má pôsobiť proti tejto rýchlosti. Preto môžeme viskóznou silu definovať ako záporný násobok tohto rozdielu vzt'ahom  $F_{visc} = k_{visc}(v_2 - v_1)$ .

### Druhý princíp implementácie - veľkosť sily ako rozdiel rýchlostí a následné premietnutie na hranu

Pokiaľ budeme viskozitu chápať ako mechanizmus, ktorý má pôsobiť len proti zmene dĺžky samotnej hrany, musíme relatívnu rýchlosť premietnuť do smeru hrany. Do výpočtov teda zahrnieme priemet rýchlosti. Čo znamená, že vektorovú rýchlosť pomocou kolmice premietneme na priamku určenú hranou  $L$ . Dostaneme tak symbolický predpis  $F_{visc} = k_{visc}(v_{riemet}(v_2 - v_1))$ . Oba princípy sú vykreslené na 8.



Obrázok 8 Prvý a druhý princíp implementácie [6].

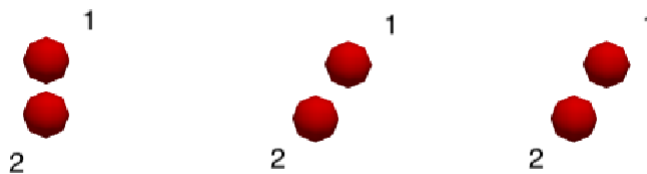
## 4.2 Základné simulácie

Doteraz sme si vysvetlili význam viskozity membrány a spôsoby, ako ju môžeme zaradiť do nášho simulačného modelu. Pri zaradovaní nového modulu sme prechádzali od najjednoduchších objektov k zložitejším.

### Modul viskozity membrány medzi dvoma bodmi na spoločnej hrane

- Prvý princíp implementácie – veľkosť sily ako rozdiel rýchlostí

Ak sa dva body nachádzajú vo vertikálnej rovine, v 1. kroku na prvý bod pôsobí určitá veľkosť externej sily v x-smere. V 2. kroku sa prvý bod posunie o nejakú rýchlosť v x-smere, druhý bod však nemá žiadnu rýchlosť. Viskóznou silou sa vypočíta ako rozdiel rýchlostí prvého a druhého bodu a rovnaká veľkosť sily sa nastaví do oboch bodov ale s opačným smerom. Potom sa oba body budú pohybovať rovnomerne v x-smere - 9.



Obrázok 9 Zobrazenie pohybu dvoch bodov vo vertikálnej rovine- 1. princíp.

- Druhý princíp implementácie – veľkosť sily ako rozdiel rýchlostí a následné premietnutie na hranu

Ak sa dva body nachádzajú vo vertikálnej rovine, v 1. kroku na prvý bod pôsobí určitá veľkosť externej sily v x-smere. V 2. kroku sa prvý bod posunie o nejakú rýchlosť v x-smere, druhý bod však nemá žiadnu rýchlosť. Výsledkom prenesenia síl z priestoru na hranu sa prvý bod posunie mierne dole a druhý bod mierne hore. Tento efekt trvá ešte chvíľku až kým sa druhý bod dostane takmer do vertikálnej roviny s prvým bodom. Potom sily spôsobia, že druhý bod sa začne posúvať nadol a prvý bod nahor. Tento efekt sa cyklicky opakuje počas celej doby simulácie - 10.



Obrázok 10 Zobrazenie pohybu dvoch bodov vo vertikálnej rovine – 2 princíp.

### 4.3 Vplyv modulu viskozity membrány na rýchlosť otáčania bunky v statickom experimente

Skôr ako prejdeme k zložitejším experimentom so zaradením viskozity bunky, je dôležité dokázať, že viskozita má význam iba v dynamickom systéme. V statických experimentoch ju preto môžeme zanedbať a na výsledkoch sa to neprejaví.

- Ovplyvňuje zaradenie modulu viskozity membrány v statickom experimente deformáciu buniek?

Návrh pre naše simulačné prostredie sme čerpali z [7], kde sa autori zameriavali na postupné naťahovanie bunky za určitý počet bodov po oboch stranách. Pre simuláciu sme použili kanál s rozmermi  $30\mu\text{m} \times 10\mu\text{m} \times 20\mu\text{m}$ , ktorý obsahoval jednu bunku v strede kanála a túto bunku sme naťahovali rovnomerne po oboch stranách za 10 bodov - obrázok 11.



Obrázok 11 Simulačné nastavenie bunky. Vľavo sú zobrazené body membrány, v ktorých pôsobila naťahovacia sila. Vpravo je zobrazený smer naťahovacej sily.

### Výsledky

Elastické vlastnosti bunky síce umožňujú naťahovanie, ale s postupujúcim časom sa bunka deformuje stále menej. Simulácie sme porovnávali v štádiu, keď rozdiel zmeny dĺžky bunky v časovom kroku bol menší ako  $0,0001\mu\text{m}$ . Tabuľka 4 prezentuje rozdiel dĺžky a šírky bunky v  $\mu\text{m}$  pre jednotlivé sily naťahovania.

Relatívna zmena na dĺžke a šírke bunky v ustálenom stave			
		Dĺžka	Šírka
Sila naťahovania bunky	0,016 nN	0,00005 $\mu\text{m}$	0,00003 $\mu\text{m}$
	0,047 nN	0,00006 $\mu\text{m}$	0,0001 $\mu\text{m}$
	0,088 nN	0,00 $\mu\text{m}$	0,00001 $\mu\text{m}$
	0,130 nN	0,0 $\mu\text{m}$	0,00002 $\mu\text{m}$
	0,192 nN	0,0 $\mu\text{m}$	0,0 $\mu\text{m}$

Tabuľka 4 Relatívna zmena na dĺžke a šírke bunky v ustálenom stave.

### Záver

Naťahovanie buniek je vhodný spôsob overovania vplyvu viskozity membrány. Pri ustálenom natiahnutí sme porovnali relatívnu zmenu dĺžky a šírky bunky. A aj keď výsledný tvar bunky bol rovnaký, práve spôsob naťahovania bunky spôsobil daný

minimálny rozdiel - v dĺžke nebol väčší ako  $0,00006 \mu\text{m}$  a v šírke  $0,00001 \mu\text{m}$ . Tým sme preukázali, že modul viskozity membrány nemá vplyv v statických experimentoch.

#### 4.4 Vplyv modulu viskozity membrány na rýchlosť otáčania bunky v dynamickom experimente

V nasledujúcich podkapitolách sa budeme venovať vplyvu veľkosti modulu viskozity membrány na rýchlosť otáčania bunky. Táto kapitola je súborom nových simulácií a validačných simulácií s biologickými experimentami.

##### 4.4.1 Vplyv veľkosti modulu viskozity membrány

Viskozita bunkovej membrány ovplyvňuje rýchlosť zmeny tvaru bunky v dynamických systémoch, avšak negatívnym spôsobom. Viskozita vždy pôsobí proti tejto zmene a tým spomaľuje zmenu tvaru membrány. Podstatou nasledujúcich simulácií je preukázať vzťah medzi veľkosťou hodnoty viskozity membrány bunky a jej rýchlosťou rotácie v šmykovom toku. V nasledujúcom experimente sa zameriavame na:

- Ovplyvňuje zmena hodnoty modulu viskozity membrány amplitúdy x-súradnice extrémneho bodu?
- Ovplyvňuje zmena rýchlosti tekutiny amplitúdu x-súradnice extrémneho bodu?
- Ovplyvňuje zmena hodnoty modulu viskozity membrány rýchlosť rotácie bunky v šmykovom toku?

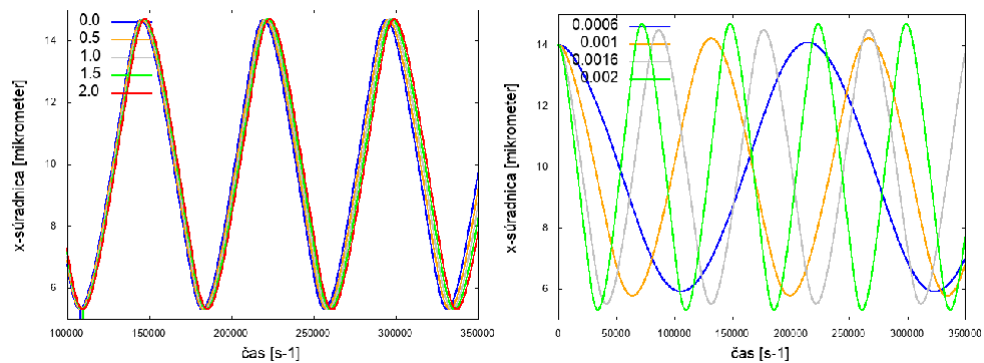
Pre simuláciu sme použili kanál s rozmermi  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ , ktorý obsahoval jednu bunku v strede kanála a kvapalinu sme spúšťali pomocou šmykového toku. Rýchlosť bodu bunky sme prepočítali vzhľadom na frekvenciu otáčania bodu v čase. K tomu sme si opäť zvolili extrémny bod bunky a jeho x-vektor, ktorý má rovnaký smer ako je smer rotácie bunky. Pre zaznamenanie amplitúdy extrémneho bodu a zhodnotenie vplyvu veľkosti modulu viskozity sme zvolili nasledujúce hodnoty -  $0.0 \text{ Ns/m}$ , ktorá predstavovala bunku bez vplyvu viskozity,  $0.5 \text{ Ns/m}$ ,  $1.0 \text{ Ns/m}$ ,  $1.5 \text{ Ns/m}$ ,  $2.0 \text{ Ns/m}$ . Zvolili sme rýchlosti:  $0.0006 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0.001 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0.0016 \text{ ms}^{-1}$ ,  $0.002 \text{ ms}^{-1}$ .

#### Výsledky

Veľkosť modulu viskozity membrány ovplyvňuje amplitúdu bodu len minimálne. V tabuľke 5 vidíme rozdiel až na treťom platnom mieste, na 12 -1. časť rozdiel nevidíme vôbec. Na obrázku je vykreslená rotácia bunky až od hodnoty, pri ktorej vieme rozlíšiť jednotlivé moduly viskozity. Výraznejší rozdiel má vplyv rýchlosti tekutiny, ktorú potvrdzujú 5 aj 12- 2.časť.

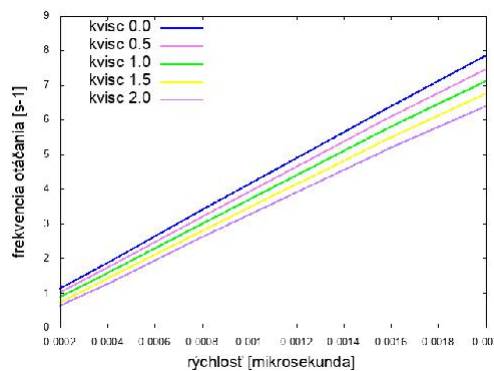
Amplitúda x-súradnice extrémneho bodu					
		Rýchlosť kvapaliny			
		$0,0006\text{ms}^{-1}$	$0,001\text{ms}^{-1}$	$0,0016\text{ms}^{-1}$	$0,002\text{ms}^{-1}$
Hodnoty modulu viskozity membrány	0,0 N.s/m	8,079 $\mu\text{m}$	8,207 $\mu\text{m}$	8,476 $\mu\text{m}$	8,683 $\mu\text{m}$
	0,5 N.s/m	8,080 $\mu\text{m}$	8,210 $\mu\text{m}$	8,480 $\mu\text{m}$	8,686 $\mu\text{m}$
	1,0 N.s/m	8,081 $\mu\text{m}$	8,213 $\mu\text{m}$	8,484 $\mu\text{m}$	8,689 $\mu\text{m}$
	1,5 N.s/m	8,083 $\mu\text{m}$	8,216 $\mu\text{m}$	8,487 $\mu\text{m}$	8,692 $\mu\text{m}$
	2,0 N.s/m	8,084 $\mu\text{m}$	8,218 $\mu\text{m}$	8,491 $\mu\text{m}$	8,694 $\mu\text{m}$

Tabuľka 5 Rozsahy maximálneho natiahnutia bunky pri rôznych hodnotách modulu viskozity membrány a rýchlosti kvapaliny.



Obrázok 12 Amplitúda maximálneho natiahnutia x-súradnice pri rôznych hodnotách modulu viskozity – 1. časť a rýchlosti tekutiny – 2. časť.

Bunka bez modulu viskozity membrány sa pohybovala rýchlejšie ako bunka, ktorá viskozitu membrány medzi modulmi obsahovala. Frekvencia rotácie bunky v toku sa priamoúmerne znižovala so zvyšujúcou sa hodnotou modulu viskozity membrány. Bunka s modulom viskozity o veľkosti 2.0 Ns/m sa pohybovala o 5% pomalšie ako bunka bez modulu viskozity membrány. Porovnanie všetkých hodnôt prepočítaných na frekvenciu rotácie je na 13.



Obrázok 13 Výsledky pre rôzne hodnoty modulu viskozity membrány [8].

## Závery

Rozsah natiahnutia bunky v toku ovplyvňuje nielen rýchlosť spúšťanej kvapaliny, ale aj hodnota modulu viskozity membrány. Čím vyššia rýchlosť kvapaliny, tým vyšší je rozsah natiahnutia bunky v čase. Rovnakým spôsobom je bunka ovplyvnená aj so zvyšujúcim sa modulom viskozity. Modul viskozity membrány ovplyvňuje aj rýchlosť rotácie bunky v šmykovom toku. Postupným zvyšovaním hodnoty modulu viskozity sa rýchlosť rotácie bunky znižovala.

### 4.4.2 Validácia simulačného modelu so zaradením viskozity membrány bunky

K záveru témy o viskozite membrány porovnáme náš simulačný model so zaradeným viskóznym modulom s inými dostupnými dátami. K validácii našej hypotézy sme prevzali výsledky z [9], založený na overení biologických experimentov z [10] a [11]. V nasledujúcich simuláciách odpovieme na otázku:

- Aká hodnota modulu viskozity membrány je najvhodnejšia na validáciu s biologickými experimentami?

Pre simuláciu sme použili kanál s rozmermi  $20\mu\text{m} \times 20\mu\text{m} \times 20\mu\text{m}$ , ktorý obsahoval jednu bunku v strede kanála a kvapalinu sme spúšťali pomocou šmykového toku. Rýchlosť bodu bunky sme prepočítali vzhľadom na frekvenciu otočenia bodu v čase. K tomu sme si

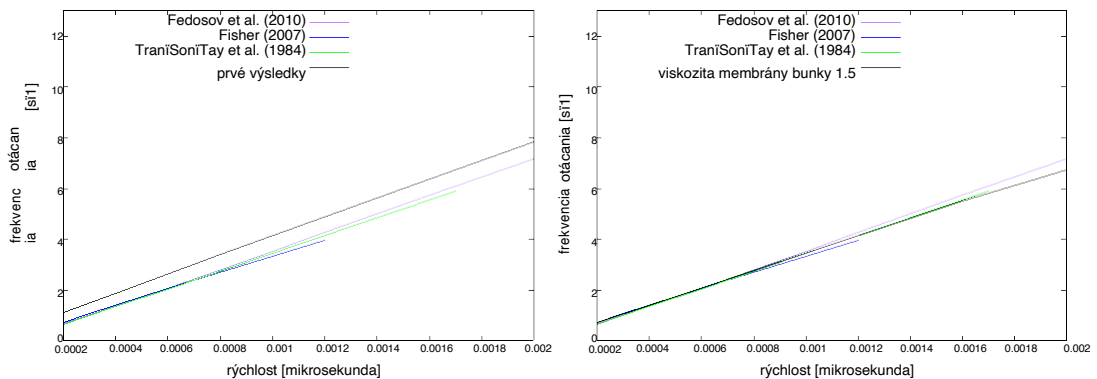
opäť zvolili extrémálny bod bunky a jeho x-vektor. Následne sme k overeniu výsledkov sme použili 4 rôzne časy – od  $0,0002 \text{ ms}^{-1}$  do  $0,002 \text{ ms}^{-1}$ .

## Výsledky

### Diskretizácia bunky s 374 bodmi

Vieme, že viskozita bunkovej membrány pôsobí ako tlmič. Naše prvotné výsledky bez zaradenia modulu viskozity membrány sme porovnávali s výsledkami z [8]. Na 14 – 1. časť môžeme vidieť frekvenciu rotácie bunky v čase. Výsledky (čiernou farbou), ktoré sú o 13% vyššie poukazujú na vyššiu frekvenciu otáčania bunky. Naším ďalším postupom bolo nájsť vhodnú hodnotu pre koeficient viskozity membrány bunky. Nakoniec sme našli odpoveď na našu otázku položenú v úvode.

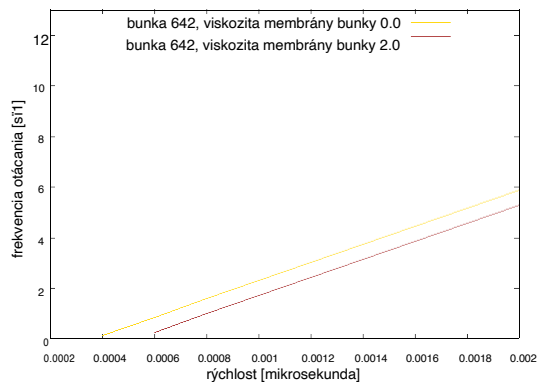
Vykonalí sme niekoľko simulácií nielen pre rôzne hodnoty modulu viskozity membrány, ale každú sme overovali aj pre viaceré časy zaznamenávania. Ako najlepšia hodnota sa nám osvedčila –  $1,5 \text{ Ns/m}$ .



Obrázok 14 Výsledky so zaradením viskozity membrány pre bunku s diskretizáciou - 374 bodov. [12]

### Diskretizácia bunky s 642 bodmi

Pri bunke s vyššou diskretizáciou sme nemohli riešiť zaradenie viskózneho modulu ako pri bunke s nižšou diskretizáciou. Bunka s 642 bodmi sa otáčala v toku pomalšie, čo malo za následok jej nižšiu frekvenciu otáčania aj bez zaradenia modulu viskozity – obrázok 15.



Obrázok 15 Výsledky bez použitia viskozity membrány pre bunku s diskretizáciou - 642 bodov.

Pred samotným záverom však treba zdôrazniť, že simulačný experiment vychádzal z nastavení získaných z [8]. Avšak nastavenia úplne nekorešponujú s nami bežne používanými nastaveniami. Konkrétny rozdiel je vo veľkosti viskozity kvapaliny, ktorá podľa [8] bola  $5 \times 10^{-6} \text{ m}^2 / \text{s}$ , pričom my v simuláciách používame menšiu. Preto sme sa rozhodli pre ďalšiu sadu simulácií s novým nastavením pre viskozitu kvapaliny.

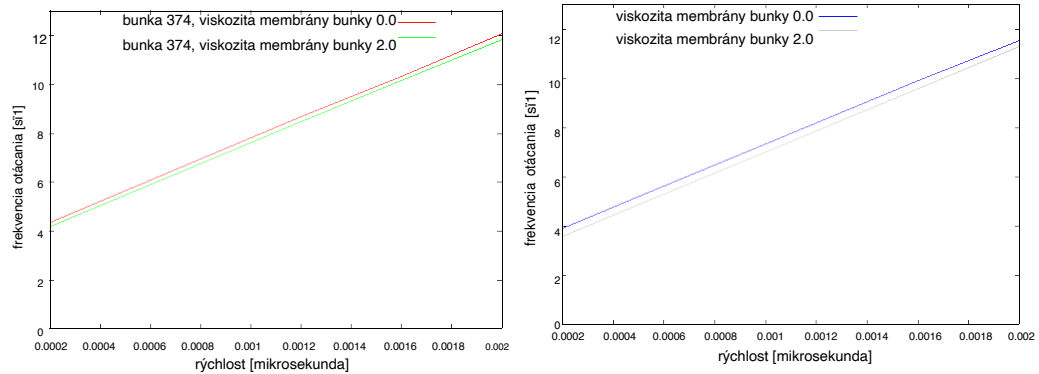
### Diskretizácia bunky s 374 bodmi



Pri použití vyššej viskozity kvapaliny – obrázok 16 – 1. časť je jasne vidieť rozdiel vo frekvenciách otáčania pre jednotlivé moduly viskozity membrány bunky. Avšak pri použití nižšej viskozity kvapaliny sme výraznejší rozdiel nezaznamenali

### Diskretizácia bunky s 642 bodmi

Opäť ako pri viskozite kvapaliny  $5 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$  sa potvrdilo, že bunka s vyššou diskretizáciou má nižšiu frekvenciu otáčania ako bunka s nižšou diskretizáciou – obrázok 16 – 2. časť.



Obrázok 16 Vplyv viskozity membrány pre bunku s diskretizáciou – 374 a 642 bodov.

### Závery

Výsledné obrázky ukazujú, že akákoľvek viskozita, či už kvapaliny alebo membrány bunky a taktiež diskretizácia bunky, znižujú jej frekvenciu otáčania v toku. Podstatou podkapitoly však bolo dokázať vplyv viskozity membrány na rýchlosť otáčania bunky v toku. Simulácie s vyššou hodnotou viskozity kvapaliny sme overovali s biologickými dátami, kde spočiatku náš model bez zaradenia viskózneho modulu dosahoval vyššiu frekvenciu rotácie ako overované dáta. Nakoniec však nájdenie vhodnej veľkosti pre modul viskozity sme dokázali náš model červenej krvinky natoľko spomaliť, aby to zodpovedalo overovaným údajom. Pre úplnosť výsledkov sme pozmenili už existujúce simulačné prostredie na nami používané parametre a výsledky porovnali.

## 5 Záver

V práci sme postupne prešli všetkými časťami, ktoré sú dôležité pre vývoj a validáciu simulačného modelu. V kapitolách popisujúcich biologickú motiváciu - [1](#) a podstatu simulačného modelu - [2](#) sme systematicky popísali všetky dôležité časti. V kapitolách, ktoré tvorili základ pre výskum - [3](#) a [4](#) sme jednotlivé časti doplnili o obrázky, tabuľky, schematické obrázky a obrázky zo simulácií. Hlavný prínos dizertačnej práce je popísaný v [4 Viskozita membrány bunky](#).

V Kapitole [2](#) sme si rozobrali súčasné metódy modelovania buniek, kde sme zaradili nami používaný simulačný model do modelov používaných v rámci iných výskumných skupín. Ich rozdelenie na základe popisu objektov a používanej kvapaliny. Ďalej sme cez súbor rovníc popísali dynamiku kvapaliny využívanú v simulačnom prostredí, doplnenú o názorné obrázky. Zvlášť sme sa venovali interakcii medzi kvapalinou a objektami, ktoré predstavujú červené krvinky. Objektu červenej krvinky sme popísali v samostatnej časti, kde sme dôkladnejšie uviedli jej elastické vlastnosti a päť modulov, ktoré tieto vlastnosti reprezentujú. Moduly sú názorne vysvetlené obrázkami a doplnené rovnicami. Na záver kapitoly sme charakterizovali výpočtové pozadie. Predstavili sme softvér ESPResSo a balík Object-in-fluid, zameraný na simulácie elastických objektov, najmä buniek a tok kvapaliny. Informácie sme doplnili o parametre vysokovýkonného klastra Žilinskej univerzity.

V Kapitole [3](#) sme rozobrali prvý cieľ práce: Validácia existujúceho modelu v rôznych simulačných podmienkach. V jednotlivých podkapitolách sme sa venovali niekoľkým oblastiam simulačného modelu, ktorý sme validovali pomocou postupne položených otázok, zameraných na aktuálny problém. Najprv sme simulačný model porovnávali s biologickým experimentom tak, že sme simulačný model vložili do podmienok popísaných v biologickom experimente a porovnávali sme dosiahnuté výsledky. Získané výsledky boli doplnené o príslušné tabuľky a obrázky.

V Kapitole [4](#) sme rozobrali druhý cieľ práce: Návrh, spracovanie a výskum nového modulu bunky – modul viskozity membrány bunky. Implementácia nového modulu, ktorý ovplyvňuje elastické vlastnosti bunky, bola hlavnou prácou doktorandského štúdia. Popísali sme si dva princípy implementácie modulu viskozity, ich teoretické pozadie, zdôvodnili význam. K vysvetleniu fungovania oboch princípov sme spravili sériu simulácií od najjednoduchších po zložitejšie. Získané výsledky boli doplnené o príslušné schematické nákresy a záznamy zo simulácií. Princíp, ktorému sme sa detailnejšie venovali, je medzi výskumnými skupinami zaoberajúcimi sa modelovaním buniek, novým prístupom. S implementáciou daného princípu sme vykonali ďalšiu sériu simulácií a v závere sme porovnali simulačný model doplnený o nový modul s biologickými experimentami.

V rámci prínosu implementácie nového modulu bunky treba zdôrazniť, že aj keď sa zdá prínos minimálny, treba brať do úvahy, že nie je výsledkom spolupráce ale štúdie jednotlivca.

Neustála validácia výpočtového modelu by mala byť základom pre každý výskum. V rámci našej výskumnej skupiny je naša práca čiastkovým prínosom a model ma neustále možnosti vylepšovania. Napríklad spôsob modelovania jadra v bunke, nové tvary interakčných kanálov alebo zlepšenie nastavení pri interakciách buniek v hustých hematokrytoch.

## *Publikácie*

- [1] Ondrušová, M.: „Influence of elastic parameters in computational model of red blood cells in a shear flow“ *Central European Research Journal*, zv. 3, vyd.1, pp. 28-33, 2017.
- [2] Ondrušová, M., Cimrák, I.: „Dynamical properties of red blood cell model in shear flow“ *Information and Digital Technologies*, pp. 288-292, 2017.
- [3] Ondrušová, M., „Different implementation of viscous parameter in red blood cell's model,“ rev. *MIST conference*, vyd.1 pp. 56-59, 2019.
- [4] Ondrušová, M., „Influence of viscosity of red blood cell's model,“ rev. *MIST conference*, vyd. 1, pp. 60-64, 2019.
- [5] Ondrušová, M., Cimrák, I.: „Analysis of the behavior of the red blood cell model in a tapered microchannel“ *Bioinformatics and Biomedical engineering: Springer*, vyd.1, pp. 407-417, 2019.
- [6] Kajánek, F., Ondrušová, M., Poštek, T.: „Detection of Lattice-points inside Triangular Mesh for Variable-viscosity Model of Red Blood Cells“ *Proceedings of the 13th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies*, vyd.1, pp. 212-217, 2020.
- [7] Ondrušová, M., Cimrák, I.: „Proof-of-concept model of red blood cell with coarse-grained hemoglobin“ *CSBio2020: Proceedings of the Eleventh International Conference on Computational Systems-Biology and Bioinformatics*, vyd. 1, pp 29-32, 2020.

## Bibliografia

- [1] „Volume Of Blood In A Human,“ [Online]. Available: <https://hypertextbook.com/facts/1998/LanNaLee.shtml>. [Cit. 21 04 2019].
- [2] Nagrath,S., Sequist, L.V., Maheswaran,S., et. al, „Isolation of rare circulating tumor cells in cancer patients by microchip technology,“ *Nature*, zv. 450, pp. 1236-1239, 2007.
- [3] Fedosov, D.A, PhD thesis: Multiscale modeling of blood flow and soft matter, Brown University, 2010.
- [4] Pivkin, I. V., Karniadakis, G. E., „Accurate coarse-grained modeling of red blood cells,“ *Physical Review Letters*, zv. 101, 2008.
- [5] Wan, J., Ristenpart, W. D., Stone, H. A., „Dynamics of shear-induced ATP release from red blood cells,“ *PNAS*, zv. 105, %1. vyd.43, pp. 16432-16437, 2008.
- [6] Ondrušová, M., „Different implementation of viscous parameter in red blood cell's model,“ *MIST conference*, pp. 56-59, 2019.
- [7] Bohiniková, B., Bacharatá, K., „Simulation Approaches to Stretching of Red Blood Cells,“ rev. *Bioinformatics and Biomedical Engineefing : Lecture Notes in Computer Science*, Springer, 2019, pp. 309-317.
- [8] Ondrušová, M., „Sensitivity of red blood cell dynamics in a shear flow,“ *Central European researches journal*, pp. 28-33, 2017.
- [9] Fedosov, D.A, Caswell, B., Karniadais, G.E., „Cell deformation in shear flow,“ *Computational Hydrodynamics of Capsules and biological Call*, pp. 204-209, 2010.
- [10] Tran-Son-Tay, R., Sutera, S. P., Rao, P. R., „Determination of RBC membrane viscosity from rheoscopic observations of tank-treading motion,“ *Biophys J.*, zv. 1, %1. vyd.46, pp. 65-72, 1984.
- [11] Fisher, T., „Tank-tread frequency of red blood cell membrane,“ *Biophys J.*, zv. 93, pp. 65-72, 2017.
- [12] Ondrušová,M., Cimrák,I., „Dynamical properties of red blood cell model in shear flow,“ *IDT*, pp. 288-292, 2017.