

УДК 577.3

ДЕФОРМАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ УДАРНО-ИМПУЛЬСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

М. А. Илюхина

(кафедра акустики)

E-mail: ilyukhina@rambler.ru

На основе решения модельной задачи о воздействии ударного импульса на сферическую липидную оболочку рассчитаны ее деформации. Применение полученного решения и сопоставление кривизны поверхности с величиной относительного локального изменения площади элементов мембраны позволяет судить о наличии в ней областей, где велика вероятность образования неустойчивых дефектов.

Эффекты акустического воздействия на клетки как на элементарные самостоятельно функционирующие структурные составляющие и их группы в настоящее время являются предметом многочисленных исследований [1–4]. В ряде экспериментальных работ была продемонстрирована перспективность его применения для прицельного уничтожения групп клеток [1, 2], изменения их состояния путем коррекции хода биологических процессов, инициированной механическими возмущениями при акустической терапии [3, 4]. Традиционно акустическое воздействие на биообъекты разделяют на два типа — ультразвуковое (УЗ) и более специфическое ударно-волновое, или, что то же самое, ударно-импульсное (УИ). Для УИ-воздействия характерен импульс с ударным фронтом (рис. 1). Этот тип акустического излучения, как правило, используется при дроблении почечных и других камней, при этом его возможное влияние на близлежащие ткани (клетки) является нежелательным фактором [5]. Помимо этого, относительно недавно в исследованиях была продемонстрирована перспективность применения такого воздействия на клеточном уровне в терапевтических целях [2, 3]. Очевидно, что его эффективность связана прежде всего с выбором оптимальных параметров акустического излучения, при которых будут созданы благоприятные условия для развития тех или иных процессов в окрестности озвучиваемой группы клеток, вызывающих в конечном счете желаемый результат, например их механическое разрушение, облегчение внедрения в их пределы лекарственного препарата и т. д. Выбор режима озвучивания определяют механизмы акустического воздействия на клеточные структуры [5–7], из анализа которых следует, что одним из ключевых моментов при изучении и практическом использовании акустического излучения являются деформации клетки в целом и ее мембраны в частности, приводящие в дальнейшем к нарушению барьерных функций последней [1, 8]. Однако

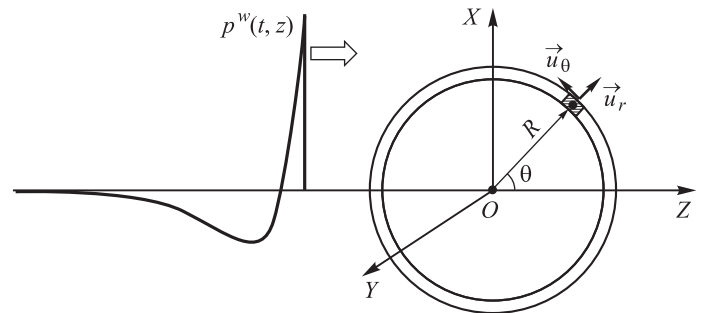


Рис. 1. Геометрия задачи: взаимное расположение мембраны и падающей на нее ударной волны

механическое воздействие на клетку, проявляющееся в ее деформации, изучено недостаточно.

В настоящей работе рассмотрена задача о механических эффектах при УИ-воздействии на клетку, моделируемой сферической везикулой радиуса R , погруженной и заполненной жидкостями, оболочку которой образует бислоиная липидная мембрана (БЛМ) толщины h . Свойства внутренней и внешней жидкостей будем описывать через их плотности ρ^i, ρ^e ; сдвиговую вязкость η^i, η^e ; объемную вязкость ξ^i, ξ^e и скорость c_i^j, c_i^e распространения продольных звуковых волн (здесь и в дальнейшем индексы i и e будут относиться к внутренней и внешней жидкости соответственно). Оболочку считаем несжимаемой, характеризуемой плотностью ρ , поверхностной сдвиговой вязкостью η_m , поверхностными модулями сдвига μ и изотропного растяжения K_S . Предполагаем, что в равновесном состоянии при отсутствии внешних растягивающих напряжений в ней действует изотропное натяжение T_0 . Нахождение смещений u_θ и u_r элементов мембраны при падении на нее импульса с ударным фронтом (рис. 1), характерным по форме и параметрам для медицинских исследований, осуществлялось в соответствии с алгоритмом, изложенным в [9–12].

Рассчитаем деформацию мембраны при падении на нее ударной волны (рис. 1), имея в виду, что их величина и характер определяют возможность

разрушения везикулы. Более подробное описание геометрии задачи представлено в [7]. Уравнение движения точек мембраны выберем в виде, аналогичном [9, 13, 14]:

$$\frac{T_{\theta\theta}}{R_\theta} + \frac{T_{\varphi\varphi}}{R_\varphi} = F_r - \rho h \frac{\partial^2 u_r}{\partial t^2}, \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (T_{\theta\theta} R \sin \theta) - RT_{\varphi\varphi} \cos \theta + R^2 \sin \theta F_\theta = \\ = \rho h R^2 \sin \theta \frac{\partial^2 u_\theta}{\partial t^2}, \end{aligned} \quad (2)$$

где R_θ, R_φ — главные радиусы кривизны деформированной оболочки; $T_{\theta\theta}, T_{\varphi\varphi}$ — возникающие в ней натяжения; F_r, F_θ — внешние силы, действующие вдоль ортов $\mathbf{e}_r, \mathbf{e}_\theta$. Закон Гука для деформированного элемента:

$$\begin{aligned} T_{\theta\theta} = T_0 + K_S(u_{\theta\theta} + u_{\varphi\varphi}) + \\ + \mu(u_{\theta\theta} - u_{\varphi\varphi}) + 2\eta_m \left(\frac{1}{R} \frac{\partial v_\theta}{\partial \theta} + \frac{v_r}{R} \right), \\ T_{\varphi\varphi} = T_0 + K_S(u_{\varphi\varphi} + u_{\theta\theta}) + \\ + \mu(u_{\varphi\varphi} - u_{\theta\theta}) + 2\eta_m \left(\frac{v_r}{R} + \frac{v_\theta \operatorname{ctg} \theta}{R} \right), \end{aligned} \quad (3)$$

где $u_{\theta\theta}, u_{\varphi\varphi}$ — компоненты тензора деформаций, v_r, v_θ — компоненты скорости элемента мембраны. Временной профиль импульса взрывного типа (рис. 1) будем описывать выражением

$$p^w(\tau) = \begin{cases} P^+ \left(1 + \frac{\tau}{d} \right), & \tau \in [-d; 0], \\ P^+ \left(1 - \frac{\tau}{a} \right) \exp \left[-\frac{\tau}{b} \right], & \tau \geq 0, \end{cases} \quad (4)$$

где $\tau = t - z/c_l^e$ — время в сопровождающей системе координат; P^+ — максимальное положительное давление в УВ; a, b — постоянные, имеющие размерность времени. Для типичных импульсов, используемых в медицине, характерными параметрами являются [15]: $a = 0.8$ мкс, $b/a = 1.26$; $d = 25$ нс, $P^+ = 5$ МПа.

Внешние силы F_r и F_θ в (1) и (2) определяются напряжениями, действующими у поверхности деформированной оболочки во внутренней и внешней жидкостях:

$$F_r = \sigma_{rr}^e - \sigma_{rr}^i, \quad F_\theta = \sigma_{\theta r}^e - \sigma_{\theta r}^i, \quad (5)$$

$\sigma_{rr}^{i,e}$ и $\sigma_{r\theta}^{i,e}$ описываются известными соотношениями

$$\begin{aligned} \sigma_{rr}^{i,e} = -p^{i,e} + 2\eta^{i,e} \frac{\partial v_r^{i,e}}{\partial r} + \left(\xi^{i,e} - \frac{2}{3} \eta^{i,e} \right) \operatorname{div} \mathbf{v}^{i,e}, \\ \sigma_{r\theta}^{i,e} = \eta^{i,e} \left(\frac{1}{r} \frac{\partial v_r^{i,e}}{\partial \theta} + \frac{\partial v_\theta^{i,e}}{\partial r} - \frac{v_\theta^{i,e}}{r} \right), \end{aligned} \quad (6)$$

$\mathbf{v}^{i,e} = \{v_r, v_\theta, 0\}$ — скорость частиц заполняющей и окружающей оболочку жидкостей. В отличие от внутренней жидкости, где давление определяется смещением частиц, обусловленным наличием

внешнего акустического воздействия, в выражении для p^e появляется второе слагаемое, связанное с падающей ударной волной:

$$p^i(t, z) = p_i^i(t, z), \quad p^e(t, z) = p_i^e(t, z) + p^w(t, z). \quad (7)$$

Для описания внешних сил F_r и F_θ , обусловленных воздействием импульса, введем потенциалы скоростей φ^i и φ^e во внутренней и внешней жидкостях соответственно. Как известно, φ^i и φ^e являются решениями волнового уравнения в сферических координатах с нулевой асимптотикой при $r \rightarrow 0$ для $\varphi^i(t, z)$ и условием излучения на бесконечности для $\varphi^e(t, z)$. В случае негармонической зависимости потенциалов скоростей от времени, имеющей место в рассматриваемой задаче, их Фурье-образы представимы в виде разложений

$$\begin{aligned} \bar{\varphi}^i(r, \theta, \omega) = \sum_{k=0}^{\infty} C_k(\omega) j_k(k_l^i r) P_k(\cos \theta), \\ \bar{\varphi}^e(r, \theta, t) = \sum_{k=0}^{\infty} A_k(\omega) h_k^{(2)}(k_l^e r) P_k(\cos \theta), \end{aligned} \quad (8)$$

где $P_k(y)$ — полином Лежандра порядка n , $j_n(z)$ и $h_n^{(2)}(z)$ — сферическая функция Бесселя и сферическая функция Ганкеля второго рода порядка n соответственно, $k_l^{i,e} = \omega/c_l^{i,e} - i\beta^{i,e}$, где $\beta^{i,e}$ — коэффициент затухания звука в средах «i», «e», и $A_k(\omega)$, $C_k(\omega)$ — неизвестные функции частоты ω . Тогда скорости $\mathbf{v}^{i,e}$ и давления $p_i^{i,e}$ выражаются через φ^i и φ^e [10–12]:

$$\mathbf{v}^{i,e} = \operatorname{grad} \varphi^{i,e}, \quad p_i^{i,e} = -\rho^{i,e} \frac{\partial \varphi^{i,e}}{\partial t}. \quad (9)$$

Поскольку $h \ll R$, граничное условие на поверхности мембраны записываем следующим образом:

$$v_r^i|_s = v_r^e|_s, \quad v_\theta^i|_s = v_\theta^e|_s. \quad (10)$$

Из (9), (10) и связи между смещением частицы и ее скорости следует, что тангенциальное u_θ и радиальное u_r смещения, а также давление в волне $p^w(r, \theta, t)$ следует искать в виде разложений по полиномам Лежандра, образующим полную систему функций:

$$\begin{aligned} u_r(t, R, \theta) = \sum_{k=0}^{\infty} a_k(t, R) P_n(\cos \theta), \\ u_\theta(t, R, \theta) = \sum_{k=0}^{\infty} d_k(t, R) \sin \theta \frac{dP_n(y)}{dy} \Big|_{y=\cos \theta}, \\ p^w(r, \theta, t) = \sum_{k=0}^{\infty} \Pi_k^w(t, r) P_k(\cos \theta), \end{aligned} \quad (11)$$

где $\Pi_k^w(t, r)$ — k -й коэффициент разложения.

Подстановка соотношений (3), (5)–(7), (9) в (1), (2) сводит уравнения движения к зависимости

от смещений элементов оболочки, их производных по времени, потенциалов скоростей и давления (4) в падающей ударной волне. Проведение Фурье-преобразования полученных уравнений движения и дальнейшая подстановка в них Фурье-образов разложений (11), рядов (8) с использованием связи между $A_k(\omega)$, $C_k(\omega)$ и $\bar{a}_k(\omega, R)$, $\bar{d}_k(\omega, R)$, определяемой (9) и граничными условиями на поверхности мембраны, позволяют преобразовать систему (1), (2) к системе $2N$ алгебраических линейных уравнений относительно Фурье-образов неизвестных коэффициентов $\bar{a}_n(\omega, R)$ и $\bar{d}_n(\omega, R)$, где N — число слагаемых в разложениях (8) и (11):

$$\begin{aligned} \bar{a}_n \left[\frac{4K_S + T_0(\lambda_n - 2)}{R^2} - \omega^2 \rho h \right] + \bar{d}_n \left[\frac{2K_S}{R^2} n(n+1) - \right. \\ \left. - \omega^2 \left(\rho^e R - \rho^i \frac{Rk_l^e}{k_l^i} \frac{j_n(k_l^i R)}{h_n^{(2)}(k_l^e R)} \right) + i\omega k_l^e (H_2 - H_4) \right] + \\ + i\omega \frac{2\eta_m}{R^2} (\bar{a}_n + n(n+1)\bar{d}_n) = -\bar{\Pi}_n^\omega, \quad (12) \\ 2\frac{K_S}{R} \bar{a}_n - \bar{d}_n \left\{ 2\frac{\mu}{R} - n(n+1)\frac{\mu + K_S}{R} + \rho R \omega^2 h - \right. \\ \left. - i\omega R \left[\eta^e \frac{W_3(\omega)}{R} - \eta^i k_l^e W_2(\omega) \right] \right\} + \\ + i\omega \frac{2\eta_m}{R} [\bar{d}_n(n\{n+1\} - 1) + \bar{a}_n] = 0, \end{aligned}$$

где

$$\begin{aligned} H_2 = 2\eta^e k_l^e R H_1(\omega) + \\ + \left(\xi^e - \frac{2}{3}\eta^e \right) \left(k_l^e R H_1(\omega) + \frac{2h_n^{(2)'}}{h_n^{(2)}} - \frac{n(n+1)}{k_l^e R} \right), \\ H_1(\omega) = \frac{1}{k_l^e R} \frac{h_n^{(2)'}}{h_n^{(2)}} - \left(\frac{h_n^{(2)'}}{h_n^{(2)}} \right)^2 + \frac{h_n^{(2)''}}{h_n^{(2)}}, \\ H_3(\omega) = \frac{j_n'}{h_n^{(2)}} - k_l^e \frac{h_n^{(2)'}}{(h_n^{(2)})^2} j_n' + k_l^i R \frac{j_n''}{h_n^{(2)}}, \\ H_4 = 2\eta^i H_3(\omega) + \\ + \left(\xi^i - \frac{2}{3}\eta^i \right) \left(H_3(\omega) + \frac{2j_n'}{h_n^{(2)}} - \frac{n(n+1)j_n}{k_l^i R h_n^{(2)}} \right), \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} h_n^{(2)} = h_n^{(2)}(k_l^e R), \\ h_n^{(2)'} = \left. \frac{dh_n^{(2)}(z)}{dz} \right|_{k_l^e R}, \quad h_n^{(2)''} = \left. \frac{d^2 h_n^{(2)}(z)}{dz^2} \right|_{k_l^e R}, \\ j_n = j_n(k_l^i R), \quad j_n' = \left. \frac{dj_n(z)}{dz} \right|_{k_l^i R}, \quad j_n'' = \left. \frac{d^2 j_n(z)}{dz^2} \right|_{k_l^i R}, \end{aligned}$$

$$W_1(\omega) = \frac{j_n'}{h_n^{(2)}} - \frac{c_l^i}{c_l^e} \frac{h_n^{(2)'}}{(h_n^{(2)})^2} j_n,$$

$$\begin{aligned} W_2(\omega) = \frac{1}{k_l^i R} \frac{j_n}{h_n^{(2)}} - \frac{j_n'}{h_n^{(2)}} - W_1(\omega), \\ W_3(\omega) = 1 - k_l^e R \frac{h_n^{(2)'}}{h_n^{(2)}}. \end{aligned}$$

В уравнении (12)

$$\bar{\Pi}_n^\omega(\omega, r) = \frac{2n+1}{2} \int_{-1}^1 \bar{p}^\omega(\omega, r, \cos \theta) P_n(\cos \theta) d(\cos \theta).$$

Так как при падении на оболочку импульса в соответствии с (4) в УВ нельзя аналитически выделить гармонику порядка n , то это приводит к необходимости численного расчета $\bar{\Pi}_n^\omega(\omega, r)$, что в свою очередь является источником существенного увеличения погрешности, в итоге приводящей к завышенным значениям u_r и u_θ . Поскольку \bar{p}^ω в общем случае зависит от $z = r \cos \theta$ и t (см. рис. 1), то указанную проблему можно обойти, разложив $\bar{p}^\omega(\omega, z)$ в ряд Тейлора по $\cos^k \theta$ ($k \in N$) и представив $\cos^k \theta$ в виде $x^k = \sum_{l=0}^k C_{kl} P_l(x)$, где $x = \cos \theta$, а C_{kl} определяются с помощью рекуррентной формулы

$$\begin{aligned} x^{k+1} = \left[2^k \left(\frac{k+1}{2k+1} P_{k+1}(x) + \frac{k}{2k+1} P_{k-1}(x) \right) - \right. \\ \left. - \sum_{m=1}^{\lfloor k/2 \rfloor} (-1)^m \frac{(2k-2m)!}{m!(k-m)!(k-2m)!} \times \right. \\ \left. \times \sum_{l=1}^{k-2m+2} C_{k-2m+1,l} P_{l-1}(x) \right] \frac{(k!)^2}{(2k)!}. \quad (13) \end{aligned}$$

Формула (13) получена из разложения $P_k(x)$ в ряд по степеням x . Проведя указанные преобразования \bar{p}^ω с помощью (13), выразим $\bar{\Pi}_n^\omega(\omega, r)$:

$$\bar{\Pi}_n^\omega = \sum_{k=n}^{\infty} b_k C_{kn}, \quad \bar{p}^\omega(\omega, \cos \theta) = \sum_{k=0}^{\infty} b_k \cos^k \theta. \quad (14)$$

Выражение (14) позволяет вычислять $\bar{\Pi}_n^\omega(\omega, r)$ с заданной точностью и не вносить дополнительную погрешность, связанную с численным интегрированием.

Решив систему (12) относительно $\bar{a}_n(\omega)$, $\bar{d}_n(\omega)$ и применив к ним операцию обратного Фурье-преобразования, численно находим искомые коэффициенты $a_n(t)$ и $d_n(r)$, с помощью них и разложений (11) рассчитаем смещения элементов мембраны. Разрез деформированной оболочки по координатной линии $\varphi = \text{const}$ в разные моменты времени, начиная со второй гармоники, представлен на рис. 2, где для наглядности смещения элементов мембраны увеличены в 200 раз ($R = 15$ мкм, $h = 10$ нм, $c_l^e = 1800$ м/с, $c_l^i/c_l^e = 2$, $\eta^i = 0.012$ Пз, $\eta^e = 0.01$ Пз, $\xi^i = 0.02$ Пз, $\xi^e = 0.01$ Пз, $\eta_m = 6 \cdot 10^{-4}$ Пз·см, $K_S = 500$ дин/см,

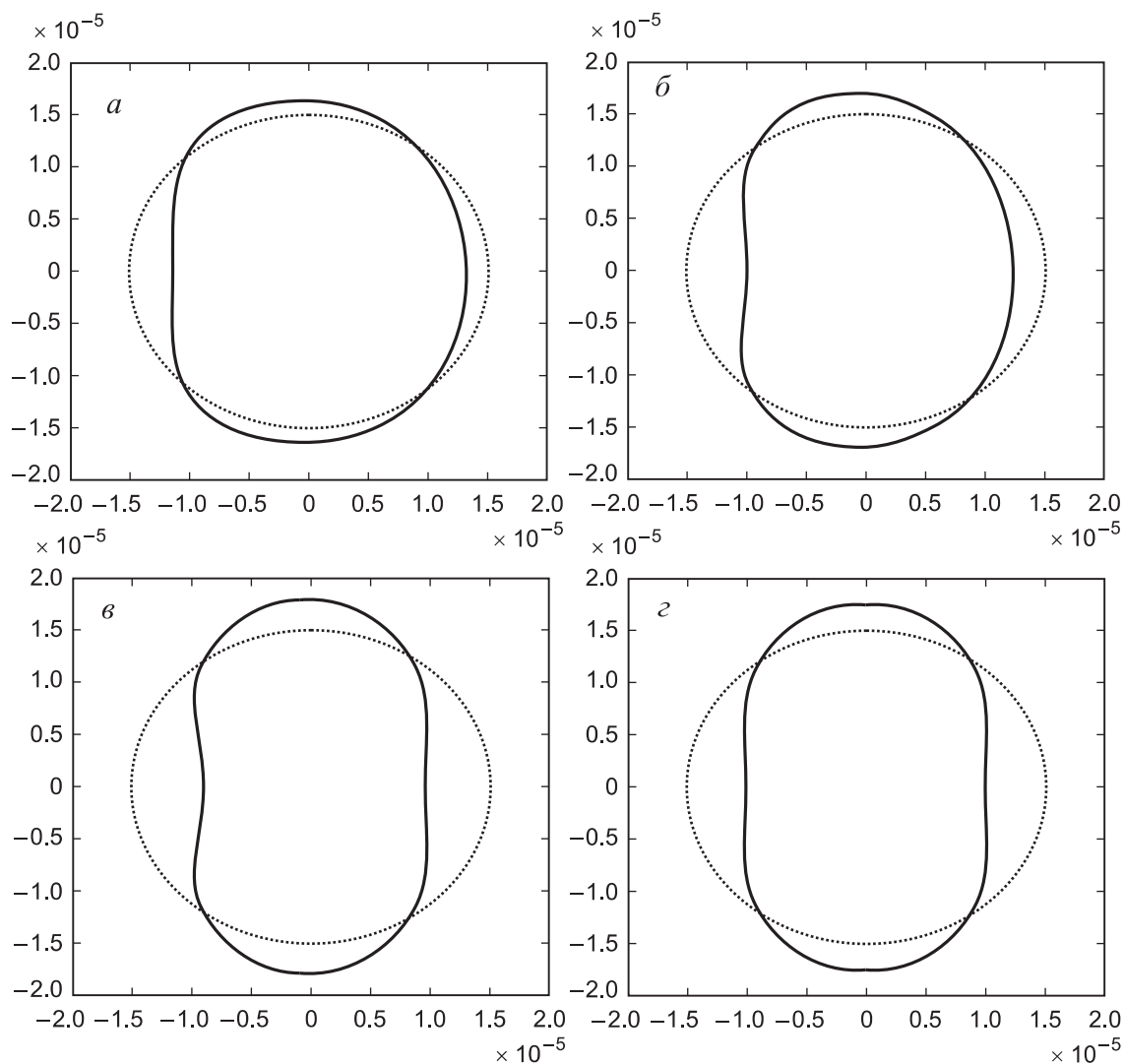


Рис. 2. Профиль деформированной оболочки (сплошная линия) в разные моменты времени t , определенного относительно момента соприкосновения фронта УВ с оболочкой (точками указан профиль недеформированной мембраны): $t = 20$ нс (а), 25 нс (б), 35 нс (в) и 115 нс (г)

$\mu = 10^{-2}$ дин/см, $\rho^i = 1.25$ г/см³, $\rho^e = 1.1$ г/см³, $\rho = 0.8$ г/см³, $T_0 = 25$ дин/см). Известно, что нулевая гармоника не связана с изменением формы везикулы и приводит к ее изотропному растяжению или сжатию, а первая вызывает только смещение сферы как целого [12], в связи с чем на рис. 2 отражены деформации, обусловленные гармониками более высоких порядков начиная со второго.

Интерес к изменению формы мембраны, связанному с возбуждением гармоник более высоких порядков ($n \geq 2$), при УИ-воздействии обусловлен несколькими причинами. С одной стороны, в отличие от нулевой, характерное время проявления гармоник более высоких порядков сопоставимо со средним временем восстановления площади элемента БЛМ при деформации, имеющим величину порядка 10^{-8} с. Таким образом, они могут оказать влияние на динамику мембранных пор при акустическом воздействии [1]. Заметим, что, как показывают численные расчеты, влияние нулевой гармоники на

изотропное растяжение оболочки проявляется на существенно больших временах (порядка 10^{-5} с). С другой стороны, вопрос о характере деформаций мембраны на нулевой гармонике изучен весьма подробно, в отличие от вклада гармоник более высоких порядков в изменение формы везикулы.

Как следует из рис. 2, на деформацию везикулы в основном влияют вторая и третья гармоники. Можно предположить, что эффективно возбуждению гармоник более высоких порядков препятствует вязкость мембраны и жидкостей. Растяжение мембраны в вертикальном направлении (см. рис. 2) можно связать с эффектом «поджатия» оболочки при подходе к ней положительной фазы импульса, в результате чего ее элементы стремятся выпрямиться вдоль ударного фронта. Дальнейшее грушевидное растяжение везикулы можно качественно объяснить присутствием отрицательного пространственного градиента давления в ниспадающей части положительной фазы ударной волны, приводящего

к тому, что частицы мембраны стремятся перейти в область более низких давлений.

Из рис. 2 следует, что изменение формы оболочки при падении на нее УВ, описываемое гармониками порядка $n \geq 2$, сопровождается появлением зависимости радиуса кривизны мембраны от угла θ , что в свою очередь эквивалентно разному локальному растяжению ее элементов. Как показывают численные расчеты, относительное локальное изменение площади поверхности везикулы α , вычисляемое в соответствии с [7], достигает величины порядка 0.1%. Помимо этого, следует отметить высокую скорость деформации мембраны. Характерный масштаб времени нарастания растяжения элементов оболочки сопоставим со средним временем восстановления площади БЛМ после прекращения действия внешнего изотропного натяжения ($\sim 10^{-8}$ с). Следовательно, совместное действие двух указанных выше факторов может стать причиной разрушения рассматриваемой везикулы, поскольку, как следует из экспериментов [16], на его вероятность влияет не только величина деформации, но и скорость ее изменения. Таким образом, из приведенного анализа и сопоставления кривизны поверхности с величиной α можно судить о наличии в мембране областей, где велика вероятность образования неустойчивых дефектов.

Литература

1. *Tachibana K., Uchida T., Ogawa K.* // *Lancet*. 1999. **353**, No. 24. P. 1409.
2. *Miller D.L., Kripfgans O.D., Fowlke J.B.* et al. // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2000. **107**, No. 6. P. 3480.
3. *Zolotaryova T.A., Grishanova A.Yu., Gulyaeva L.F.* et al. // *Proc. of World Congress on Ultrasonics*. 1995. P. 901.
4. *Буров В.А., Дмитриева Н.П., Руденко О.В.* // *ДАН СССР. Биохимия и биофизика*. 2002. **383**, № 3. С. 1.
5. *Lokhandwalla M., Sturtevant B.* // *Phys. Med. Biol.* 2001. **46**, No. 2. P. 413.
6. *Бэйли М.Р., Хохлова В.А., Сапожников О.А.* и др. // *Акуст. журн.* 2003. **49**, № 4. С. 437.
7. *Илюхина М.А., Маков Ю.Н.* // *Вест. Моск. ун-та. Физ. Астрон.* 2005. № 5. С. 39 (*Moscow University Phys. Bull.* 2005. No. 5. P. 50).
8. *Геннис Р.* Биомембраны. Молекулярная структура и функции. М., 1997.
9. *Маев Р.Г.* Акустическая микроскопия. М., 2005.
10. *Sabih H.* // *J. Acoust. Soc. Am.* 1966. **40**, No. 4. P. 342.
11. *Kuorung Wu.* // *J. Acoust. Soc. Am.* 1994. **95**, No. 6. P. 3300.
12. *Zakout U.* // *J. Acoust. Soc. Am.* 2001. **109**, No. 6. P. 2789.
13. *Красильников П.М.* // *Биофизика*. 2001. **46**, № 3. С. 460.
14. *Красильников П.М., Фисун О.И.* // *Биофизика*. 1994. **39**, № 5. С. 876.
15. *Zhong Pei, Haifan Lin, Xufeng Xi* et al. // *J. Acoust. Soc. Am.* 1999. **105**, No. 3. P. 1997.
16. *Evans E., Volkmar H., Florian L.* et al. // *Biophys. J.* 2003. **85**, No. 4. P. 2342.

Поступила в редакцию
14.03.07