

ный оператор является частным случаем рассмотренного в [7]. В частности, он удовлетворяет требованию

$$\left| \frac{\partial}{\partial x} \left( \rho(x) \frac{\partial \tilde{u}}{\partial x} \right) - \frac{\partial \tilde{u}}{\partial t} \right| \leq C_1 \tilde{u}^2 + C_2 \tilde{u}_x^2,$$

где  $C_1, C_2 \geq 0$ , при котором условиям  $\tilde{u}(0, t) = 0$ ,  $\tilde{u}(l, t) = 0$ ,  $\tilde{u}(x, t_1) = 0$  может удовлетворять лишь тривиальное решение. Теорема доказана.

3. Возможен другой подход к постановке рассматриваемой задачи, соответствующий работе [8], посвященной определению коэффициента теплообмена (или массообмена). Если предположить, что физическое поле задано на сегменте  $[t_1, T]$ , а заданные функции  $u(0, t) = \varphi_1(t)$ ,  $u(l, t) = \varphi_2(t)$ ,  $\rho(x) \frac{\partial u}{\partial x} \Big|_{x=0} = q(t)$  аналитичны, как и искомая  $p(x)$ , то аналитичной оказывается и функция  $u(x, t)$  [9]. Тогда функция  $u(0, t)$  аналитична на  $[t_1, T]$  и может быть однозначно продолжена (например, через комплексную плоскость [10]) на  $[0, T]$ . В этом случае априорное задание  $u(0, t)$  оказывается излишним, и мы автоматически попадаем в условия доказанной выше теоремы.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Тихонов А. Н., Кальнер В. Д., Гласко В. Б. Математическое моделирование технологических процессов и метод обратных задач в машиностроении. М., 1990. [2] Тихонов А. Н., Арсенин В. Я. Методы решения некорректных задач. М., 1986. [3] Лаврентьев М. М., Романов В. Г., Шишатский С. П. Некорректные задачи математической физики и анализа. М., 1980. [4] Херман-дер Л. Линейные дифференциальные операторы с частными производными. М., 1965. [5] Клибанов М. В. // Неклассические проблемы математической физики. Новосибирск, 1981. С. 101. [6] Ладыженская О. А., Солонников В. А., Уральцева Н. Н. Линейные и квазилинейные уравнения параболического типа. М., 1967. [7] Фридман А. Уравнения параболического типа с частными производными. М., 1970. [8] Богомолова И. А., Гласко В. Б., Кальнер В. Д. и др. // Инж.-физ. журн. 1987. 53, № 5. С. 835. [9] Михайлов В. П. Дифференциальные уравнения в частных производных. М., 1983. [10] Булычев Е. В., Гласко В. Б., Федоров С. М. // ЖВМ и МФ. 1983. 23, № 6. С. 1410.

Поступила в редакцию  
20.05.91

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1992. Т. 33. № 1

УДК 53.001.57:577.12

### НАКОПЛЕНИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В КЛЕТКЕ С УЧЕТОМ ПРОНИКНОВЕНИЯ ЕГО ЗАРЯЖЕННЫХ ФОРМ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

Л. В. Жорина, Н. В. Степанова

(кафедра общей физики и волновых процессов)

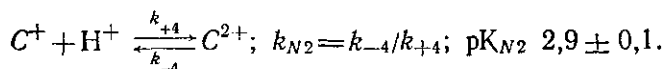
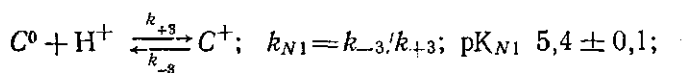
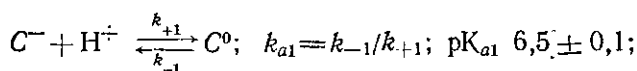
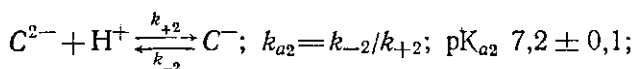
Построена и исследована математическая модель проникновения и накопления в клетках ионных форм гематопорфирина (ГП) — фотосенсибилизатора, наиболее часто используемого в фотодинамической терапии опухолевых заболеваний. Показано, что селективность накопления ГП в опухолях определяется: 1) пониженной кислотностью внутри злокачественных клеток и в окружающей их среде и 2) повышенной концентрацией в опухолевых клетках липидов, с которыми связываются молекулы ГП.

Некоторые флуоресцирующие красители при введении их в организм способны преимущественно накапливаться в опухолевых тканях. Эти красители могут использоваться как фототерапевтические агенты. Облучение злокачественных тканей, содержащих краситель, видимым

светом может привести к уничтожению опухоли. Такой способ обнаружения и лечения раковых заболеваний лежит в основе метода фотодинамической терапии (ФДТ) [1]. Важнейшей задачей оптимизации ФДТ является нахождение способов повышения уровня фотосенсибилизатора в клетке.

В предыдущей работе [2] мы рассмотрели математическую модель накопления в клетках наиболее часто используемого в ФДТ сенсбилизатора — гематопорфирина (ГП). В модели предполагалось, что через клеточную мембрану проникает лишь нейтральная форма ГП. Расчеты показали возможность существенного превышения внутриклеточной концентрации ГП над концентрацией в окружающей среде в случае, когда рН внутри клетки выше, чем снаружи. В данной работе мы рассмотрим ту же задачу, но с учетом проникновения в клетку помимо нейтральной также и заряженных форм ГП.

Предварительно исследуем более подробно образование ионных форм ГП. Известно, что ГП может существовать в нейтральной форме, в виде аниона, дианиона, катиона и дикатиона. В соответствии с рН окружающей среды реакции протонирования — депротонирования молекул ГП имеют вид



Символами  $C^{2-}$ ,  $C^-$ ,  $C^0$ ,  $C^+$ ,  $C^{2+}$  обозначены соответствующие ионные формы ГП, а также их концентрации;  $k_{ai}$ ,  $k_{Ni}$  — константы равновесия реакций;  $pK_j = -\lg k_j$ ; значения рК взяты из [3].

Введем суммарную концентрацию ГП по формуле

$$C_{\Sigma} = C^0 + C^- + C^{2-} + C^+ + C^{2+}.$$

Относительные концентрации для стационарного распределения ГП по ионным формам имеют вид

$$\begin{aligned} \alpha_0 &= \frac{C^0}{C_{\Sigma}} = \left( \frac{k_{a2}k_{a1}}{[H^+]^2} + \frac{k_{a1}}{[H^+]} + 1 + \frac{[H^+]}{k_{N1}} + \frac{[H^+]^2}{k_{N1}k_{N2}} \right)^{-1}, \\ \alpha_{a1} &= \frac{C^-}{C_{\Sigma}} = \frac{k_{a1}\alpha_0}{[H^+]}; \quad \alpha_{a2} = \frac{C^{2-}}{C_{\Sigma}} = \frac{k_{a1}k_{a2}\alpha_0}{[H^+]^2}, \\ \alpha_{N1} &= \frac{C^+}{C_{\Sigma}} = \frac{[H^+]\alpha_0}{k_{N1}}; \quad \alpha_{N2} = \frac{C^{2+}}{C_{\Sigma}} = \frac{[H^+]^2\alpha_0}{k_{N1}k_{N2}}. \end{aligned} \quad (1)$$

Очевидно, что при других значениях рК (см., напр., [4, 5]) картина распределения изменится. Заметим также, что в данной работе мы не учитывали зависимость рК от степени агрегации ГП [6]. Из рис. 1 видно, что при нормальных значениях рН относительная концентрация катионов ГП очень мала, тогда как анионные и нейтральная формы преобладают.

Кинетическую модель мы будем строить так же, как и в [2], для культуры клеток, используемых в экспериментах *in vitro*. Рассмотрим основные положения модели. На мембране клетки существует электрический и термодинамический потенциальные барьеры. Нейтральная форма молекулы ГП «не чувствует» электрического потенциала, и для нее величина потенциального барьера на мембране  $\Delta G^0 = \Delta G$ . Для заряженных форм ГП эта величина будет складываться из электрического ( $\Delta G_e$ ) и термодинамического ( $\Delta G$ ) потенциалов, причем для однократно заряженных форм  $\Delta G_e = |\psi|F$ , для двукратно заряженных  $\Delta G_e = 2|\psi|F$ , где  $F$  — постоянная Фарадея,  $\psi$  — мембранный потенциал (рис. 2). Будем считать, что величина  $\Delta G$  одинакова для всех ионных форм ГП, а цитоплазма является водной средой.

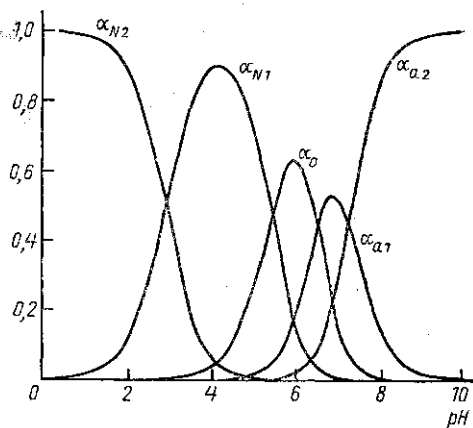


Рис. 1. Стационарное распределение относительных концентраций ионных форм ГП

В модели будем учитывать:

1) диффузию пяти ионных форм ГП  $C^+$ ,  $C^{2+}$ ,  $C^0$ ,  $C^-$ ,  $C^{2-}$  через клеточную мембрану в предположении полного перемешивания в пределах объемов клетки и среды с константами входа и выхода соответственно (см. рис. 2):

для нейтральной формы  $q_0 = \bar{q}_0 \equiv q_0 = A\sigma_z \exp\{-\Delta G/RT\}$ ,

для аниона  $C^-$   $q_{a1} = q_0 \exp\{-\psi F/RT\}$ ,  $\bar{q}_{a1} = q_0$ ,

для дианиона  $C^{2-}$   $q_{a2} = q_0 \exp\{-2\psi F/RT\}$ ,  $\bar{q}_{a2} = q_0$ ,

для катиона  $C^+$   $q_{N1} = q_0$ ,  $\bar{q}_{N1} = q_0 \exp\{-\psi F/RT\}$ ,

для дикатиона  $C^{2+}$   $q_{N2} = q_0$ ,  $\bar{q}_{N2} = q_0 \exp\{-2\psi F/RT\}$ ;

2) кинетику распределения ГП по ионным формам внутри клетки;

3) различие pH внутри и вне клетки; при этом  $pH^{in}$  будем считать неизменным в процессе накопления ГП в клетке, т. е. не будем учитывать работу внутриклеточного буфера \*) и колебания  $pH^{in}$  в течение жизненного цикла клетки \*\*);

4) мембранный потенциал  $\psi$ , препятствующий проникновению анионных форм ГП через клеточную мембрану, который отрицателен и постоянен. С помощью уравнения Гольдмана—Ходжкина—Катца для электрического мембранного потенциала  $\psi$  [10—12] легко можно показать, что изменением  $\psi$  в процессе проникновения и накопления ГП в клетке можно пренебречь. Проведенные нами опыты по непосредственному измерению  $\psi$  [13], однако, показали, что  $\psi$  изменяется при прохождении ГП через мембрану и восстанавливается к прежнему значению после проникновения ГП в клетку.

\*) Основным буфером, поддерживающим pH внутриклеточной жидкости, является фосфатная буферная система  $H_2PO_4^- - HPO_4^{2-}$ , pK 6,86 [7, 8]. Проведенные нами расчеты показывают, что скорость восстановления буфером значения  $pH^{in}$  значительно превышает скорости проникновения ГП в клетку и производимого им изменения внутриклеточного pH.

\*\*) Известно, что колебания  $pH^{in}$  в течение жизненного цикла клетки достигают 0,3 (среднее значение  $pH^{in}$  при этом сохраняется) [9]. Однако разные клетки в культуре находятся в разных фазах своего жизненного цикла, что обеспечивает постоянство среднего значения  $pH^{in}$  по культуре.

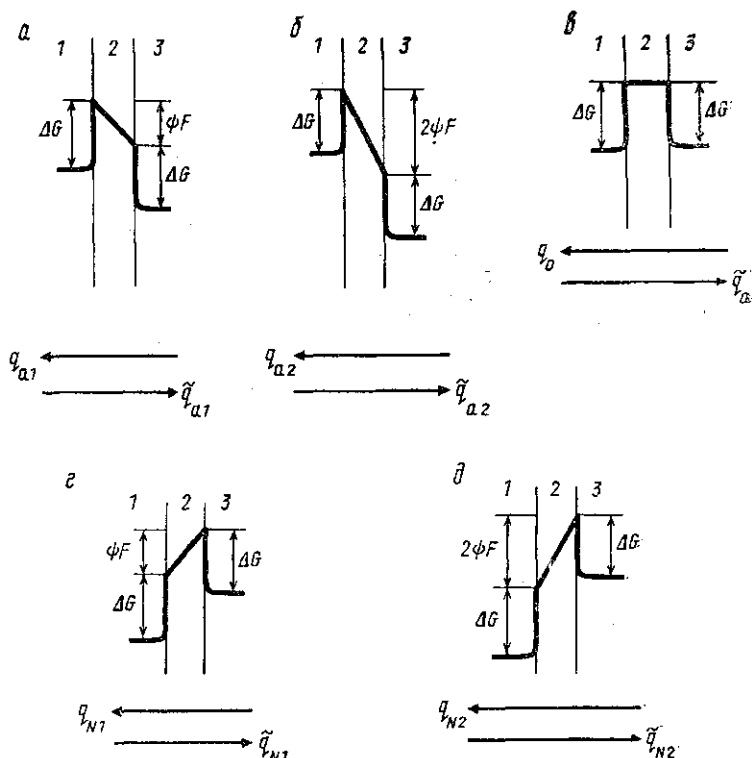


Рис. 2. Потенциальный барьер на мембране клетки для аниона (а), дианиона (б), нейтральной формы (в), катиона (г) и дикатиона (д): 1 — клетка, 2 — мембрана, 3 — среда

Тогда кинетические уравнения накопления ГП в клетке будут иметь вид

$$\begin{aligned}
 \frac{dC_{in}^0}{dt} &= q_0 C_{ex}^0 - \tilde{q}_0 C_{in}^0 - k_{-1} C_{in}^0 + k_{+1} C_{in}^- [H^+]^{in} - k_{+3} C_{in}^0 [H^+]^{in} + k_{-3} C_{in}^+; \\
 \frac{dC_{in}^-}{dt} &= q_{a1} C_{ex}^- - \tilde{q}_{a1} C_{in}^- - k_{-2} C_{in}^- + k_{+2} C_{in}^{2-} [H^+]^{in} + k_{-1} C_{in}^0 - k_{+1} C_{in}^+ [H^+]^{in}; \\
 \frac{dC_{in}^{2-}}{dt} &= q_{a2} C_{ex}^{2-} - \tilde{q}_{a2} C_{in}^{2-} + k_{-2} C_{in}^- - k_{+2} C_{in}^{2-} [H^+]^{in}; \\
 \frac{dC_{in}^+}{dt} &= q_{N1} C_{ex}^+ - \tilde{q}_{N1} C_{in}^+ + k_{+3} C_{in}^0 [H^+]^{in} - k_{-3} C_{in}^+ - \\
 &\quad - k_{+4} C_{in}^+ [H^+]^{in} + k_{-4} C_{in}^{2+}; \\
 \frac{dC_{in}^{2+}}{dt} &= q_{N2} C_{ex}^{2+} - \tilde{q}_{N2} C_{in}^{2+} + k_{+4} C_{in}^+ [H^+]^{in} - k_{-4} C_{in}^{2+}.
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

Учитывая значение констант входа и выхода ионных форм ГП и констант равновесия (из экспериментальных данных *in vitro* известно, что  $q_0 \sim 10^{-13} \text{ c}^{-1}$ ,  $k_{-1} = k_{-2} \sim 1 \text{ c}^{-1}$ ), и, вводя  $\varepsilon = q_0/k_{-1, -2} = 10^{-3}$  и безразмерное время  $\tau = tk_{-1} = tk_{-2}$ , уравнения (2) можно переписать в виде

$$\begin{aligned}
\frac{dC_{in}^{2-}}{d\tau} &= \varepsilon (\exp \{-2\psi F/RT\} C_{ex}^{2-} - C_{in}^{2-}) + \left( C_{in}^{-} - \frac{C_{in}^{2-} [H^+]^{in}}{k_{a2}} \right); \\
\frac{dC_{in}^{-}}{d\tau} &= \varepsilon (\exp \{-\psi F/RT\} C_{ex}^{-} - C_{in}^{-}) - \left( C_{in}^0 - \frac{C_{in}^{-} [H^+]^{in}}{k_{a1}} - C_{in}^{-} + \frac{C_{in}^{2-} [H^+]^{in}}{k_{a2}} \right); \\
\frac{dC_{in}^0}{d\tau} &= \varepsilon (C_{ex}^0 - C_{in}^0) - \left( C_{in}^0 - \frac{C_{in}^{-} [H^+]^{in}}{k_{a1}} - C_{in}^{+} + \frac{C_{in}^0 [H^+]^{in}}{k_{N1}} \right); \\
\frac{dC_{in}^{+}}{d\tau} &= \varepsilon (C_{ex}^{+} - C_{in}^{+} \exp \{-\psi F/RT\}) - \left( C_{in}^{+} - \frac{C_{in}^0 [H^+]^{in}}{k_{N1}} - C_{in}^{2+} + \frac{C_{in}^{+} [H^+]^{in}}{k_{N2}} \right); \\
\frac{dC_{in}^{2+}}{d\tau} &= \varepsilon (C_{ex}^{2+} - C_{in}^{2+} \exp \{-2\psi F/RT\}) - \left( C_{in}^{2+} - \frac{C_{in}^{+} [H^+]^{in}}{k_{N2}} \right).
\end{aligned} \tag{3}$$

При решении системы (3) используем распределение ГП по ионным формам вне клетки в соответствии с  $pH^{ex}$  по формулам (1). В условиях эксперимента *in vitro* объем внешней среды много больше суммарного объема клеток, количество молей красителя внутри клеток много меньше, чем снаружи. Это позволяет концентрацию вне клетки считать неизменной.

Члены с множителем  $\varepsilon$  в системе (3) много меньше остальных. Пренебрегая этими членами, получим уже решенную задачу распределения ГП по ионным формам внутри клетки.

Рассмотрим теперь динамику суммарной концентрации ГП, для чего сложим уравнения системы (2):

$$\begin{aligned}
\frac{dC_{\Sigma}^{in}}{d\tau} &= \varepsilon (C_{ex}^0 + C_{ex}^{-} \exp \{-\psi F/RT\} + C_{ex}^{2-} \exp \{-2\psi F/RT\} + C_{ex}^{+} + C_{ex}^{2+} - \\
& - C_{in}^{2-} - C_{in}^{-} - C_{in}^0 - C_{in}^{+} \exp \{-\psi F/RT\} - C_{in}^{2+} \exp \{-2\psi F/RT\}).
\end{aligned} \tag{4}$$

Уравнение (4) имеет стационарное решение

$$\begin{aligned}
\frac{(C_{\Sigma}^{in})_{sat}}{C_{\Sigma}^{ex}} &= \frac{\alpha_0^{ex} + \alpha_{a1}^{ex} \exp \{-\psi F/RT\} + \alpha_{a2}^{ex} \exp \{-2\psi F/RT\} + \alpha_{M1}^{ex} + \alpha_{N2}^{ex}}{\alpha_0^{in} + \alpha_{N1}^{in} \exp \{-\psi F/RT\} + \alpha_{N2}^{in} \exp \{-2\psi F/RT\} + \alpha_{a1}^{in} + \alpha_{a2}^{in}} = \\
& = \frac{f_1(pH^{ex})}{f_2(pH^{in})},
\end{aligned}$$

определяемое в конечном итоге величиной мембранного потенциала  $\psi$  и  $pH^{ex}$  и  $pH^{in}$ . На рис. 3 показана зависимость  $(C_{\Sigma}^{in})_{sat}/C_{\Sigma}^{ex}$  от  $pH^{ex}$ . Из рис. 3 видно, что чем ниже  $pH^{ex}$  и больше отличие между  $pH^{in}$  и  $pH^{ex}$ , тем выше отношение внутренней и внешней концентраций. Резкий рост накопления ГП наблюдается при уменьшении значений  $pH^{in}$  и  $pH^{ex}$  в области  $pH^{ex}$  меньше 7. Местоположение перегиба кривых существенно зависит от значений  $pK$ . При  $pH^{ex}$  больше 7,5 суммарная концентрация красителя в клетке всегда меньше его концентрации во внешней среде. Аналогичная зависимость накопления производной ГП экспериментально получена авторами работы [14]. В работах [3, 5, 6] также отмечается важная роль заниженной кислотности опухолевых

клеток и окружающей их среды в процессе накопления фотосенсибилизатора в клетке.

При нормальных значениях pH преобладают анионные и нейтральная формы ГП (см. рис. 1). Это позволяет пренебречь присутствием катионов в клетке. Тогда согласно системе (3) кинетика накопления анионных и нейтральной форм ГП в клетке имеет вид, показанный на рис. 4. Примерно через 7000 с кривые накопления выходят на уровень насыщения. Этот уровень различен для разных  $pH^{ex}$  и  $pH^{in}$  и  $\psi$ . Распределение ГП внутри клетки, соответствующее точному стационарному решению системы (3) ( $d/dt=0$ ), мало отличается от распределения, вычисленного по формулам (1) (добавляются члены порядка  $\epsilon$ ).

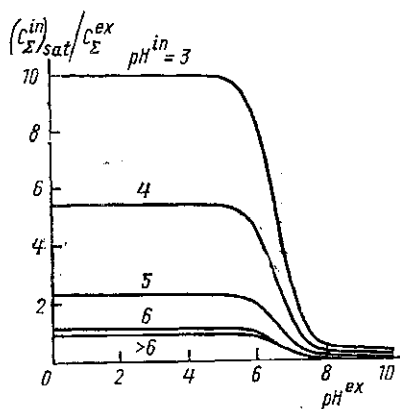


Рис. 3. Зависимость  $(C_{\Sigma}^{in})_{sat} / C_{\Sigma}^{ex}$  от  $pH^{ex}$  для различных  $pH^{in}$

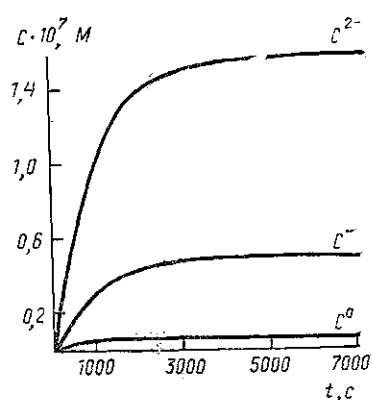


Рис. 4. Кинетика накопления ГП в клетке:  $C_{\Sigma}^{ex}=10^{-5}$  М,  $pH^{ex}=7,2$ ,  $pH^{in}=6,0$ ,  $\psi=50$  мВ

Из полученных результатов следует, что эффект селективного накопления ГП может происходить, если значение pH в цитоплазме клетки меньше, чем в окружающей клетку среде. Именно такое различие в значениях pH наблюдается *in vivo*. Известно, что в злокачественных клетках для удовлетворения возросших энергетических потребностей интенсифицируется процесс гликолиза. При этом побочный продукт гликолиза — молочная кислота — поступает в околочлеточное пространство, понижая там значение pH.

Второй возможной причиной селективности накопления ГП в опухолевых клетках может быть связь гидрофобного красителя с внутриклеточными липидами [15], содержание которых в опухолевых клетках выше, чем в нормальных [2].

### ЛИТЕРАТУРА

[1] Камалов В. Ф., Степанова Н. В., Черняева Е. Б., Чикишев А. Ю. // Квант. электроника. 1985. 12, № 10. С. 1997. [2] Фотодинамическое воздействие лазерного излучения на биомолекулы и клетки. Механизмы фотодинамического воздействия на молекулярном и клеточном уровне / Под ред. С. А. Ахманова, Е. Б. Черняевой // Итоги науки и техники. Сер. Современные проблемы лазерной физики. М., 1990. [3] Barrett A. J., Kennedy J. C., Jones R. A. et al. // J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 1990. 6, N 3. P. 309. [4] Brault D., Vever-Bizet Ch., Le Doan T. // Biochim. et Biophys. Acta. 1986. 857. P. 238. [5] Brault D. // J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 1990. 6, N 1—2. P. 79. [6] Pottier R. H., Kennedy J. C. // J. Photochem. Photobiol. B: Biology, 1990. 8, N 1. P. 1. [7] Ленинджер А. Биохимия. М., 1974. [8] Ленинджер А. Основы биохимии. М., 1985. Т. 1.

[9] Литинская Л. Л., Векслер А. М., Оглобина Т. А., Лейкина М. И. // Биофизика. 1988. 303, № 1. С. 236. [10] Волькенштейн М. В. Биофизика. М., 1981. Гл. 10. [11] Кагава Я. Биомембраны. М., 1985. [12] Рубин А. Б. Биофизика. М., 1987. Кн. 2. [13] Гианик Т., Масарикова Д., Жорина Л. В., Порошина М. Ю., Черняева Е. Б. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1992. 33, № 1. С. 59. [14] Böhmig R. M., Morstyn G. // Cancer Res. 1985. 45. P. 5328. [15] Степанова Н. В., Черняева Е. Б. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1989. 30, № 6. С. 23.

Поступила в редакцию  
20.06.91

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1992. Т. 33, № 1

## АТОМНАЯ И ЯДЕРНАЯ ФИЗИКА

УДК 539.17.015

### О РОЛИ ДВОЙНЫХ СТОЛКНОВЕНИЙ В ( $e, 2e$ ) ПРОЦЕССАХ

Ю. В. Попов, Н. М. Кузьмина

(НИИЯФ)

Рассматривается область эффективности второго борновского приближения (SBA) в теории ионизации атомов быстрыми электронами. Построена модель (ASBA) для приближенных вычислений вклада SBA в дифференциальное сечение  $d^3\sigma$ . Расчеты сравниваются с большим массивом экспериментальных значений  $d^3\sigma$  в реакции  $H(e, 2e)H^+$ .

1. Понятие двойных столкновений тесно связано со вторым борновским приближением в теории рассеяния (SBA), введенным в практику расчетов ионизационных процессов Джоашиеном и соавторами [1, 2]. Если бы электроны взаимодействовали между собой и ядром посредством короткодействующих сил, то практически все двойные, тройные и т. д. соударения происходили бы внутри объема атома, а вылетевшие наружу электроны были бы свободными частицами, за исключением случаев очень специфических кинематик. Однако заряженные частицы продолжают взаимодействия и вне объема атома, что приводит к вполне наблюдаемым эффектам [3]. Такое взаимодействие называют послестолкновительным. Эффект послестолкновительного взаимодействия присутствует и в расчетах во втором борновском приближении, поэтому было件 полезно изучить область применимости SBA и роль двойных столкновений, т. е. повторных взаимодействий налетающего электрона с электроном или ядром мишени, происходящих внутри атома, как это наблюдается в случае короткодействующих сил. Этому и посвящена настоящая заметка.

2. Пусть гамильтониан трехчастичной системы (ограничимся для простоты атомом водорода) имеет вид

$$H = h_{10} + h_{20} + V_1 + V_2 + V_{12} = H_0 + H_{int}. \quad (1)$$

В координатном представлении (в атомных единицах, где  $\hbar = m_e = e = 1$ )

$$h_{10} = -\frac{1}{2} \frac{\partial^2}{\partial r_1^2}, \quad V_i = -\frac{1}{r_i}; \quad V_{12} = \frac{1}{|r_1 - r_2|}.$$

Уравнение Шрёдингера (VIII)

$$H|\psi\rangle = E|\psi\rangle, \quad (2)$$