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

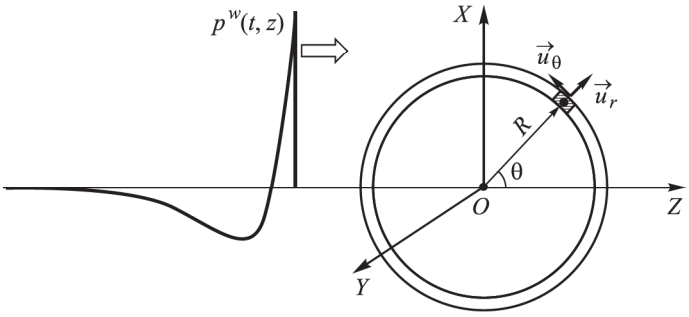

Рис. 1. Геометрия задачи: взаимное расположение мембраны и падающей на нее ударной волны

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 бислойная 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_l^i, c_l^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]:

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

$$\frac{\partial}{\partial t}(T_{\theta\theta}R\sin\theta)-RT_{\varphi\varphi}\cos\theta+R^2\sin\theta F_\theta= \\ =\rho hR^2\sin\theta\frac{\partial^2}{\partial t^2}u_\theta, \tag{2}$$

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 $\boldsymbol{e}_r$, $\boldsymbol{e}_\theta$. Закон Гука для деформированного элемента:

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

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

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

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:

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

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

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

$\boldsymbol{v}^{i,e}=\{v_r,v_\theta,0\}$ — 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:

$$p^i(t,z)=p_f^i(t,z),\quad p^e(t,z)=p_f^e(t,z)+p^w(t,z). \tag{7}$$

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 $r\to 0$ 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

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

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 $\boldsymbol{v}^{i,e}$ и давления $p_f^{i,e}$ выражаются через φ^i и φ^e [10–12]:

$$\boldsymbol{v}^{i,e}=\operatorname{grad}\varphi^{i,e},\quad p_f^{i,e}=-\rho^{i,e}\frac{\partial\varphi^{i,e}}{\partial t}. \tag{9}$$

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

$$v_r^i\big|_s=v_r^e\big|_s,\quad v_\theta^i\big|_s=v_\theta^e\big|_s. \tag{10}$$

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:

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

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):

$$\bar{a}_n\left[\frac{4K_S+T_0(\lambda_n-2)}{R^2}-\omega^2\rho h\right]+\bar{d}_n\left[\frac{2K_S}{R^2}n(n+1)-\right.$$
$$\left.-\omega^2\left(\rho^eR-\rho^i\frac{Rk_l^e}{k_l^i}\frac{j_n(k_l^iR)}{h_n^{(2)}(k_l^eR)}\right)+i\omega k_l^e(H_2-H_4)\right]+$$
$$+i\omega\frac{2\eta_m}{R^2}\left(\bar{a}_n+n(n+1)\bar{d}_n\right)=-\overline{\Pi}_n^w, \qquad (12)$$
$$2\frac{K_S}{R}\bar{a}_n-\bar{d}_n\left\{2\frac{\mu}{R}-n(n+1)\frac{\mu+K_S}{R}+\rho R\omega^2h-\right.$$
$$\left.-i\omega R\left[\eta^e\frac{W_3(\omega)}{R}-\eta^ik_l^eW_2(\omega)\right]\right\}+$$
$$+i\omega\frac{2\eta_m}{R}\left[\bar{d}_n(n\{n+1\}-1)+\bar{a}_n\right]=0,$$

где

$$H_2=2\eta^ek_l^eRH_1(\omega)+$$
$$+\left(\xi^e-\frac{2}{3}\eta^e\right)\left(k_l^eRH_1(\omega)+\frac{2h_n^{(2)\prime}}{h_n^{(2)}}-\frac{n(n+1)}{k_l^eR}\right),$$
$$H_1(\omega)=\frac{1}{k_l^eR}\frac{h_n^{(2)\prime}}{h_n^{(2)}}-\left(\frac{h_n^{(2)\prime}}{h_n^{(2)}}\right)^2+\frac{h_n^{(2)\prime\prime}}{h_n^{(2)}},$$
$$H_3(\omega)=\frac{j_n'}{h_n^{(2)}}-k_l^e\frac{h_n^{(2)\prime}j_n'}{(h_n^{(2)})^2}+k_l^iR\frac{j_n''}{h_n^{(2)}},$$
$$H_4=2\eta^iH_3(\omega)+$$
$$+\left(\xi^i-\frac{2}{3}\eta^i\right)\left(H_3(\omega)+\frac{2j_n'}{h_n^{(2)}}-\frac{n(n+1)j_n}{k_l^iRh_n^{(2)}}\right),$$

$$h_n^{(2)}=h_n^{(2)}(k_l^eR),$$
$$h_n^{(2)\prime}=\left.\frac{dh_n^{(2)}(z)}{dz}\right|_{k_l^eR},\quad h_n^{(2)\prime\prime}=\left.\frac{d^2h_n^{(2)}(z)}{dz^2}\right|_{k_l^eR},$$
$$j_n=j_n(k_l^iR),\quad j_n'=\left.\frac{dj_n(z)}{dz}\right|_{k_l^iR},\quad j_n''=\left.\frac{d^2j_n(z)}{dz^2}\right|_{k_l^iR},$$

$$W_1(\omega)=\frac{j_n'}{h_n^{(2)}}-\frac{c_l^i}{c_l^e}\frac{h_n^{(2)\prime}j_n}{\left(h_n^{(2)}\right)^2},$$
$$W_2(\omega)=\frac{1}{k_l^iR}\frac{j_n}{h_n^{(2)}}-\frac{j_n'}{h_n^{(2)}}-W_1(\omega),$$
$$W_3(\omega)=1-k_l^eR\frac{h_n^{(2)\prime}}{h_n^{(2)}}.$$

В уравнении (12)

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

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 $\overline{\Pi}_n^w(\omega,r)$, что в свою очередь является источником существенного увеличения погрешности, в итоге приводящей к завышенным значениям u_r и u_θ. Поскольку p^w в общем случае зависит от $z=r\cos\theta$ и t (см. рис. 1), то указанную проблему можно обойти, разложив $\bar{p}^w(\omega,z)$ в ряд Тейлора по $\cos^k\theta$ ($k\in N$) и представив $\cos^k\theta$ в виде $x^k=\sum\limits_{l=0}^{k}C_{kl}P_l(x)$, где $x=\cos\theta$, а $_{kl}$ определяются с помощью рекуррентной формулы

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

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

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

Выражение (14) позволяет вычислять $\overline{\Pi}_n^w(\omega,r)$ 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 $\varphi=\mathrm{const}$ 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, $\eta_m=6\cdot10^{-4}$ Пз·см, $K_S=500$ дин/см,

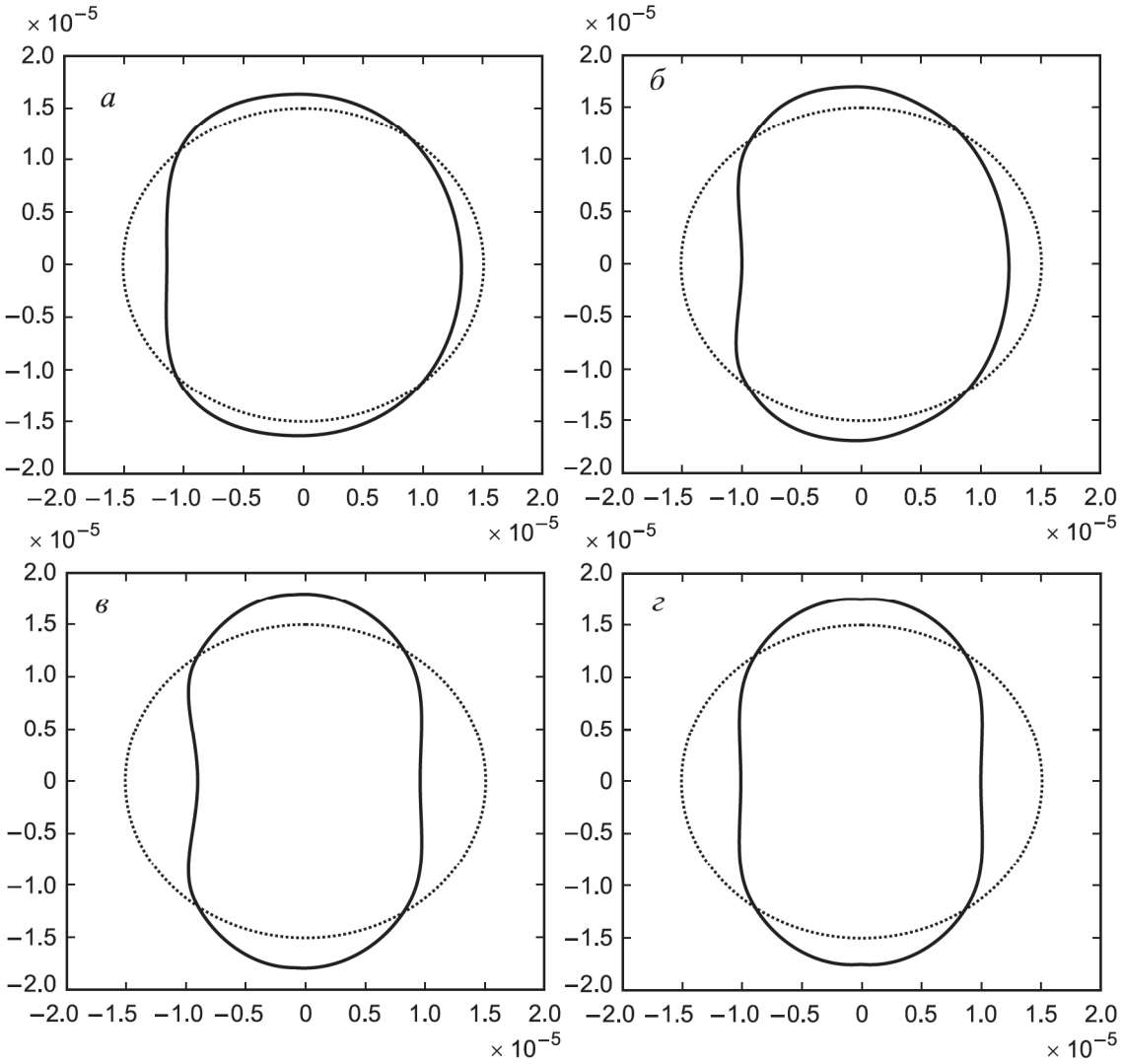

Рис. 2. Профиль деформированной оболочки (сплошная линия) в разные моменты времени t, определенного относительно момента соприкосновения фронта УВ с оболочкой (точками указан профиль недеформированной мембраны): $t = 20$ нс (*а*), 25 нс (*б*), 35 нс (*в*) и 115 нс (*г*)

$\mu = 10^{-2}$ дин/см, $\rho^i = 1.25$ г/см^3, $\rho^e = 1.1$ г/см^3, $\rho = 0.8$ г/см^3, $T_0 = 25$ 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 ($n \geqslant 2$), 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 эффективному 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 $n \geqslant 2$, 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