

УДК 532.5

DOI: <https://doi.org/10.17721/1812-5409.2022/2.4>

Батюк Л. В.¹, к. ф.-м. н., доцент,
Кізілова Н. М.², д. ф.-м. н., проф.

L. V. Batyuk¹, PhD, docent,
N. M. Kizilova², DSc, prof.

Реологічні моделі біологічних клітин

Rheological models of biological cells

¹ Харківський національний медичний
університет, 61022, м. Харків, пл. Свободи, 2,

² Харківський національний університет
ім. В.Н. Каразіна, 61022, Харків, пл. Свободи,
4,

e-mail: n.kizilova@gmail.com
liliyabatyuk24@gmail.com

¹ V.N. Karazin Kharkov National University, 61022,
Kharkov, Svobody sq., 4,

² V.N. Karazin Kharkov National University, 61022,
Kharkov, Svobody sq., 4,

e-mail: n.kizilova@gmail.com
liliyabatyuk24@gmail.com

У роботі наведений перелік найбільш важливих експериментальних методів дослідження механічних властивостей клітин, а також найбільш поширених реологічних моделей, серед яких є дискретні моделі мікро/наноструктури клітини і континуальні моделі, які дозволяють обчислити модулі пружності і в'язкості клітини в нормі і патології. Наведений перелік континуальних моделей із зазначенням їх особливостей і відрізень. Запропонована нова континуальна модель клітини як багатошарової оболонки, яка заповнена в'язкопружною рідиною. Отримані рівняння моделі і її розв'язки для випадків ізотонічного, ізометричного і динамічного експериментів. Досліджені особливості механічної поведінки моделей в залежності від ідентифікованих параметрів. Проведено порівняння з даними експериментальних вимірювань. Показано, що запропонована багатошарова модель дозволяє оцінювати окремий вклад механічних властивостей цитоскелету, мембрани, адсорбованих речовин і гідратної оболонки, що важливо для клінічної діагностики захворювань шляхом вимірювань механічних властивостей клітин.

Ключові слова: Реологічна модель, Мембрана, Еритроцит, Деформація, В'язкопружність.

The most important experimental methods of studying the mechanical properties of cells, as well as the most common rheological models, among which the discrete models of the micro/nanostructure of the cell and continuous models that allow calculating the modulus of elasticity and viscosity of the cell in normal and pathological conditions are discussed. A review of continuous models is given with an indication of their features and differences. A new continuum model of the cell as a multi-layer shell filled with a viscoelastic fluid is proposed. Equations of the model and their solutions for cases of isotonic, isometric and dynamic experiments are obtained. Peculiarities of the mechanical behavior of the models depending on the identified parameters are investigated. A comparison with the data of experimental measurements is given. It is shown that the proposed multi-layer model allows evaluation of separate contribution of the mechanical properties of the cytoskeleton, membrane, adsorbed substances and the hydrated shell, which is important for clinical diagnosis of diseases by measuring the mechanical parameters of cells.

Key Words: Rheological model, Membrane, Erythrocyte, Deformation, Viscoelasticity.

Статтю представив чл.- кор. НАН України Жук Я. О.

1. Вступ

Всі клітини протягом життя постійно піддаються механічним навантаженням як з боку зовнішнього середовища, так і через внутрішні фізіологічні умови – скорочення м'язів, переміщення органів, течії крові та інших біологічних рідин [1]. Залежно від величини, напрямку та розподілу цих механічних впливів клітини можуть реагувати різними способами, наприклад, орієнтуватися

вздовж течії, змінювати свою форму і жорсткість за рахунок перебудови цитоскелету і т.д. Різні біологічні процеси, такі як міграція, зростання, диференціація, апоптоз та ін. суттєво залежать від змін у формі та структурі клітин і будь-яке відхилення в їх структурних і механічних властивостях може призвести до порушення цих фізіологічних функцій і до хвороб [2,3]. Так, еритроцити транспортують O₂ до різних частин тіла і можуть проходити кризу

капіляри завдяки своїй здатності до деформацій [1]. Таким чином, механічні і зв'язані з ними термічні і електричні властивості клітин, дуже важливі для розуміння фізіологічних процесів в тканинах. Сучасні успіхи експериментальної техніки дозволяють проводити експерименти з окремими клітинами. Для біомеханічної інтерпретації результатів цих вимірювань потрібні відповідні реологічні моделі [4] як здорових клітин, так і пошкоджених або змінених певним захворюванням.

Універсальним підходом є розробка механічної моделі з параметрами, які найкраще відповідають експериментальним даним. Основною метою моделювання в цьому контексті є кількісна оцінка механічних властивостей і відгуку клітин на дію постійного або періодичного навантаження.

В роботі наведений стислий огляд існуючих реологічних моделей біологічних клітин і обговорюються відповідні постановки задач механіки.

2. Типи експериментів з клітинами.

Бурхливе розвинення нанотехнологій протягом останнього десятиріччя привело до можливості візуалізувати мембрану і внутрішню мікроструктуру клітин, а також вимірювати переміщення і деформації на рівні $h \sim 10^{-12}$ м. Серед найбільш поширених експериментальних методів вивчення механічних властивостей окремих клітин запропоновані:

- 1) Інtruзія магнітної частинки і вимірювання деформації мембрани (Рис.1а) за рахунок переміщення частинки в магнітному полі (Crick F.H.C., Hughes A.F.W., 1950);
- 2) Аспірація поверхні клітини мікропіпеткою (Рис.1б) була вперше використана на клітинах морських їжаків (Mitchison J.M., Swann M.M., 1954), а потім на еритроцитах (Band R.P., Burton A.C., 1964);
- 3) Розплющення клітини між паралельними поверхнями і вимірювання деформації (Рис.1в);
- 4) Продавлення поверхні, cell poking (Petersen N.O. et al., 1982);
- 5) Відстеження руху (Geerts H. et al., 1987);
- 6) Магнітно-скручувальна цитометрія (Рис.1г), МСЦ (Wang, N. et al., 1993);
- 7) Коливальна магнітно-скручувальна цитометрія, КМСЦ (Maksym G.N., et al., 2000);
- 8) Атомно-силова мікроскопія (Рис.1д) (Hoh J.H., Schoenenberger C.A., 1994);
- 9) Мікроманіпуляції з поверхнею (Thoumine O., Ott A., 1997);

10) Наноіндентометрія (Рис.1е) (Shin D., Athanasiou K., 1999);

11) Вимірювання електричного імпедансу клітини і субстрату в поєднанні з магнітним витягуванням кульок (Lo C.M., et al., 1998);

12) Оптичні пінцети (Henon S., et al., 1999) і тест на розтягнення (Рис.1є) (Miyazaki H., et al., 2000; Nagayama K., et al., 2005);

13) Взаємодія з потоком рідини (Рис.1ж).

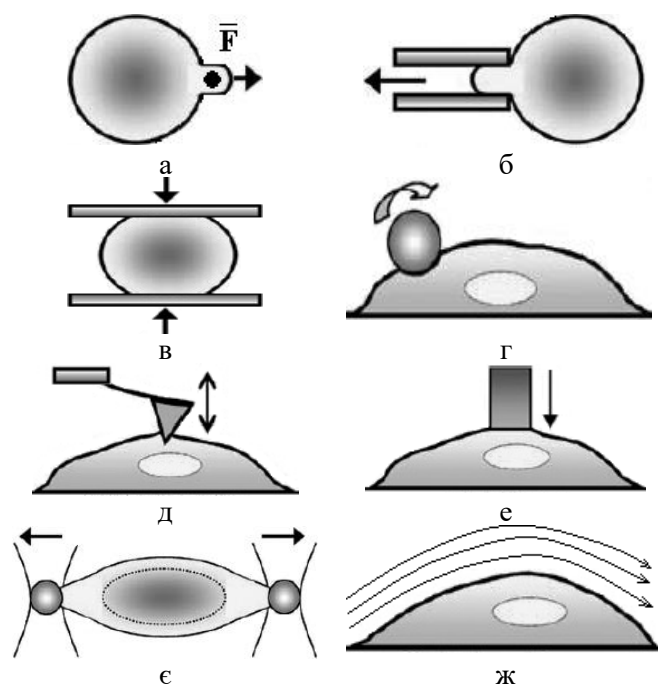


Рис.1. Типи реологічних експериментів з біологічними клітинами (пояснення в тексті).

Прикладена сила може бути або зосередженою (атомно-силова мікроскопія) або розподіленою (стискання між пластинами), внутрішньо-клітинною (магнітна частинка всередині) або на поверхні клітини (МСЦ), тимчасовою (аспірація мікропіпеткою) або динамічна (КМСЦ).

Результати експериментів 1)-12) мають вигляд або безперервних кривих сила-деформація $\sigma(\epsilon)$, де σ - механічні напруження, ϵ - деформації, або дискретних вимірюваних точок $\{\sigma_j(\epsilon_j)\}_{j=1}^n$, для яких відповідна залежність $\sigma(\epsilon)$ може бути отримана за допомогою апроксимацій.

3. Механічні моделі клітин

Для розуміння результатів експериментів (Рис.1а-ж) з клітинами, оцінки модулів пружності і прогнозування механічної поведінки клітин і клітинних суспензій використовуються математичні моделі.

3.1. Дискретні мікро/наноструктурні моделі розглядають структуру клітини, яка складається з мембрани, цитоскелету і внутрішньої

мікроструктури. Всі компоненти утворені мікроволокнами і мікротрубочками, які розглядаються як просторовий набір пружин з різними жорсткостями. Розрахунки деформацій і руху клітин в таких моделях проводиться методами структурної механіки (пакет Structural mechanics в AnSys та ін. пакетах прикладних програм) або методами динаміки частинок [5].

3.2. Континуальні моделі розглядають клітини як заповнені рідиною оболонки, матеріал яких може бути анізотропним і неоднорідним. Для матеріалів оболонки і рідини вибираються відповідні реологічні моделі, параметри яких потім визначаються з експериментальних кривих $\sigma(\epsilon)$, наприклад, методом найменших квадратів. Хоча цей підхід дає менше розуміння детальних молекулярних механічних подій, його легше та зрозуміліше використовувати для обчислення механічних властивостей клітин і їх біомеханічної відповіді на механічний стимул. Континуальні моделі надають більш детальну інформацію про розподіл механічних напружень і деформацій, що, у свою чергу, може бути корисним для визначення розподілу та передачі цих сил до мембрани, цитоскелету і елементів субклітинної структури. Наприкінці це дозволяє розробляти більш точні дискретні моделі мікро- і наноструктур [6].

3.2.1. Модель пружної частинки розглядає клітину як сферу, еліпсоїд або дискоїд з однорідного лінійно-пружного матеріалу, так що зв'язок між тензорами пружності і деформацій має вигляд $\sigma_{ik} = E \epsilon_{ik}$, де E - модуль Юнга, який можна оцінити з простих експериментів з навантаження клітини і вимірювання її висоти h (відстані між паралельними поверхнями на Рис.16) як функції прикладеної сили. Деформації зсуву (горизонтальні переміщення верхньої пластини відносно нижньої на Рис.16) дозволяють вимірювати модуль зсуву G , де $\tau_{ik} = G \dot{\gamma}_{ik}$, τ_{ik} і $\dot{\gamma}_{ik}$ - тензори зсувних напружень і швидкостей деформацій зсуву, крапка відповідає похідній за часом. Якщо модель пружної частинки є коректною, повинне виконуватися відоме співвідношення $E = 2G(1+\nu)$, де ν - коефіцієнт Пуасона матеріалу. Оскільки численні експерименти з клітинами дають значення E і G , які не задовольняють це співвідношення, модель потребує узагальнення.

3.2.2. Модель пружної оболонки, яка заповнена ньютонівською рідиною має

найпростіший вигляд у випадку мембранної моделі оболонки (Yeung A., Evans E. 1989) [1]

$$(T_1 + T_2) = 2T_0 + \eta_d \gamma_d, \quad (T_1 - T_2) = \eta_s \gamma_s, \quad (1)$$

де T_0 - напруження в оболонці до навантаження, T_1 і T_2 - ортогональні головні напруження після навантаження, γ_d і γ_s - швидкості навантажень розтягнення і зсуву, η_d і η_s - в'язкості поверхні оболонки до розтягнення і зсуву; часто приймають $\eta_d = 3\eta_s$. Оболонка заповнена ньютонівською рідиною з реологічним законом $\tau_{ik} = 2\mu v_{ik}$, де μ - динамічна в'язкість рідини. Моделювання експериментів (Рис.1а,б,в) базується на використанні закону Лапласа для клітини або її напівсферичного виростка (Рис.1а,б).

Модель сферичної або сплющеної опуклої геометрії, а також двогнута оболонки розглядалися в якості моделі еритроцита [1,2]. Більшість клітин мають внутрішні органи, тому для них використовують модель оболонки, яка включає в рідному вмісті менші оболонки, які заповнені рідинами з іншими в'язкостями і відповідають органелам клітин.

Оскільки реальні клітини проявляють властивості немиттєвої відповіді на механічний стимул і релаксаційними властивостями, особливо в експериментах з періодичним навантаженням [4,5], використовуються моделі цитоплазми і органел клітин як неньютонівських рідин

3.2.3. Модель пружної оболонки, яка заповнена неньютонівською рідиною відповідає реології біологічних рідин, які мають в'язкопластичні властивості і для них реологічний закон має вигляд $\tau_{ik} = 2\mu(I_{2v})v_{ik}$, де I_{2v} - другий інваріант тензора швидкостей деформацій, або у одновимірному випадку $\tau = \mu(\dot{\gamma})\dot{\epsilon}$, причому $\mu(\dot{\gamma})$ - спадна функція. В ряді експериментів було показано, що в'язкість цитоплазми дійсно зменшується зі збільшенням перепаду тисків аспірації клітини піпеткою (Рис.16) або середньої швидкості зсуву за степеневим законом $\tau = \mu_0(\dot{\gamma}_m)^{-k}\dot{\gamma}$, де $\mu_0 = \text{const}$, $\dot{\gamma}_m$ - зсувна деформація, осереднена по поверхні клітини. Значення k оцінювалися з експериментів для різних типів клітин [1].

3.2.4. Модель краплі вязкопружної рідини була запропонована як на основі реологічного закону Фойхта

$$\tau_{ik} = E \epsilon_{ik} + \mu \dot{\epsilon}_{ik}, \quad (2)$$

так і реологічного закону Максвелла

$$\mu \dot{\tau}_{ik} + E \tau_{ik} = E \mu \dot{\epsilon}_{ik}, \quad (3)$$

де E - модуль Юнга пружної компоненти цитоплазми клітин (мікрОВОЛОКОН і мікротрубок).

Реологія (2) характеризується релаксацією деформацій в ізотонічних експериментах і миттєвим появленням механічних напружень як при постійних ($\varepsilon = \text{const}$), так і при лінійних ($\dot{\varepsilon} = \text{const}$) деформаціях. Модель (3), навпаки, проявляє релаксацію механічних напружень в ізометричних експериментах і необмежені лінійні деформації $\varepsilon \sim t$ при постійному навантаженні ($\tau = \text{const}$).

Обидва варіанти поведінки не є природними, тому ведеться пошук більш складних реологічних моделей, наприклад, моделей в'язкопружних тіл Кельвіна-Фойхта і Зінера [1,2], відповідно

$$\mu \dot{\tau}_{ik} + E_c \tau_{ik} = E_m E_c \varepsilon_{ik} + \mu (E_m + E_c) \dot{\varepsilon}_{ik}, \quad (4)$$

$$\mu \dot{\tau}_{ik} + (E_m + E_c) \tau_{ik} = E_m E_c \varepsilon_{ik} + \mu E_c \dot{\varepsilon}_{ik}, \quad (5)$$

де E_m і E_c - це пружності мембрани і мікроструктури цитоплазми.

Також для обробки даних експериментів використовуються моделі клітини як в'язкопружної краплі у вигляді поєднання в'язкого елемента з тілом Фойхта послідовно, або з тілом Максвела паралельно [1,4], відповідно

$$(\mu_m + \mu_c) \dot{\tau}_{ik} + E_c \tau_{ik} = E_c \mu_m \dot{\varepsilon}_{ik} + \mu_m \mu_c \ddot{\varepsilon}_{ik}, \quad (6)$$

$$\mu_m \dot{\tau}_{ik} + E_c \tau_{ik} = E_c (\mu_m + \mu_c) \dot{\varepsilon}_{ik} + \mu_m \mu_c \ddot{\varepsilon}_{ik}, \quad (7)$$

де μ_m і μ_c відповідають в'язкостям мембрани і мікроструктури цитоплазми.

Пари рівнянь (4)-(5) і (6)-(7) мають схожі релаксаційні залежності $\tau(t)$ і $\varepsilon(t)$ для ізометричних ($\varepsilon = \varepsilon^* = \text{const}$), ізотонічних ($\sigma = \sigma^* = \text{const}$) і динамічних ($\sigma = \sigma_0 \exp(i\omega t)$) експериментів, де σ_0 - амплітуда напружень, але реологічні параметри E_m, E_c, μ_m, μ_c входять до них по-різному. Таким чином, ідентифікація моделей (4)-(7) на основі тих самих експериментальних кривих дасть різні набори значень параметрів моделей. Саме тому питання про найбільш точну реологічну модель клітини як рідкої краплі в оболонці є до сих пір відкритим [2].

4. Результати і обговорення

На основі порівняльного аналізу континуальних моделей біологічних клітин як пружних або в'язкопружних матеріалів запропонована модель клітини як неньютонівської рідини (цитоплазма) в

багат шаровій оболонці (Рис.2). Всі матеріали моделюються як трикомпонентні в'язкопружні середовища, а саме: реологічна модель (6) для цитоплазми з органами всередині і модель (5) для кожного з шарів моделі.

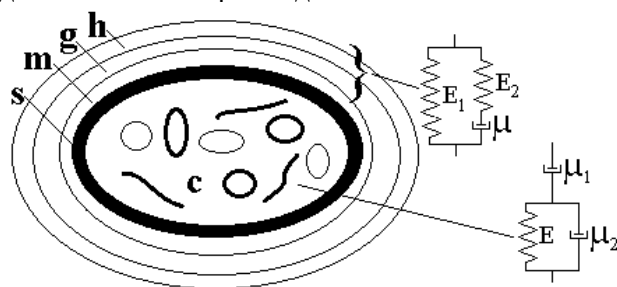


Рис.2. Схема будови клітини і відповідні реологічні моделі складових: цитоплазма (с), цитоскелет (s), мембрана (m), глікокалікс (g) і гідратна оболонка (h).

Загальна система рівнянь у випадку одновимірної задачі стиснення клітини між пластинами (Рис. 1в) має вигляд

$$\mu_j \dot{\tau}_j + (E_{1j} + E_{2j}) \tau_j = E_{1j} E_{2j} \varepsilon_j + \mu_j E_{2j} \dot{\varepsilon}_j, \quad (8)$$

$$(\mu_c + \mu_o) \dot{\tau}_c + E_o \tau_c = E_o \mu_c \dot{\varepsilon}_c + \mu_c \mu_o \ddot{\varepsilon}_c, \quad (9)$$

де $j = \{s, m, g, h\}$, о - відповідає органам.

Операторні перетворення рівнянь (8)-(9) дозволяють отримати загальне реологічне співвідношення для повних деформацій клітини $\varepsilon = \varepsilon_c + \varepsilon_s + \varepsilon_m + \varepsilon_g + \varepsilon_h$ і повних механічних напружень $\tau = \tau_c + \tau_s + \tau_m + \tau_g + \tau_h$ у вигляді

$$\Xi_h \Xi_g \Xi_m \Xi_s \Xi_c \varepsilon = \left[\Xi_h \Xi_g \Xi_m \Xi_s \Theta_c + \Xi_h \Xi_g \Xi_m \Theta_c \Xi_c + \right. \\ \left. + \Xi_h \Xi_g \Xi_s \Theta_m \Xi_c + \Xi_h \Xi_m \Xi_s \Theta_g \Xi_c + \Xi_g \Xi_m \Xi_s \Theta_h \Xi_c \right] \tau, \quad (10)$$

де $\Xi_j = E_{2j} [E_{1j} I + \mu_j d / dt]$, $\Theta_c = [E_o I + (\mu_c + \mu_o) d / dt]$, $\Theta_j = [(E_{1j} + E_{2j}) I + \mu_j d / dt]$, I - одиничний оператор, $\Xi_c = \mu_c [\mu_o d^2 / dt^2 + E_o d / dt]$.

Підстановка $\tau = \tau^*$ в реологічне рівняння (10) дає закон навантаження-розвантаження $\varepsilon(t)$ для ізотонічного експерименту; підстановка $\varepsilon = \varepsilon^*$ дає співвідношення $\tau(t)$ для ізотонічного експерименту; а підстановка $\tau = \tau_0 \exp(i\omega t)$ дає закон коливань клітини (відстані між пластинами на Рис.1в) $\varepsilon = \varepsilon_0 \exp(i\omega t + \varphi)$, де φ - зсув фаз між коливаннями напружень і деформацій, який обумовлений в'язкими властивостями кожної з компонент моделі (Рис.2).

Як видно з (10), рівняння релаксації деформацій і напружень в ізотонічному і ізометричному експериментах представлені звичайними диференціальними рівняннями 6-го

порядку i для кожного з експериментів відповідний розв'язок має вигляд $\{\varepsilon(t), \tau(t)\} = \sum_{i=1}^6 C_i \exp(\lambda_i t)$, де λ_i - розв'язки характеристичного рівняння, C_i - постійні інтегрування, для визначення яких треба задати початкові умови як для самої величини, так і для її 1-5 похідних. Слід зазначити, що якщо умови для величини і її першої похідної є фізично зрозумілими, то інші умови удаються штучними і не можуть бути задані однозначно. Таким чином, потрібне дослідження чутливості моделей вигляду (10) до варіацій не тільки коефіцієнтів в рівняннях, але й граничних умов для старших похідних. Остаточні вирази для розв'язків (1) не наводяться в силу громіздкості.

На Рис.3 наведені результати розрахунків кривих навантаження моделі (10) постійною силою $\tau = \tau^*$ ($t \in [0, t_1]$) з наступним розвантаженням $\tau = 0$ ($t > t_1$) при значеннях параметрів, які відповідають еластичним біологічним волокнам типу актину ($E \sim 10^{5-6}$ Па) і колагену ($E \sim 10^{7-8}$ Па), а також в'язким рідинам у стані золю ($\mu \sim 1-10$ сПз) і гелю ($\mu \sim 1-10$ Пз) [1,2]. Запропонована модель

краще відповідає даним вимірювань [1,2] ніж даним [4,5] (точки на Рис.3)

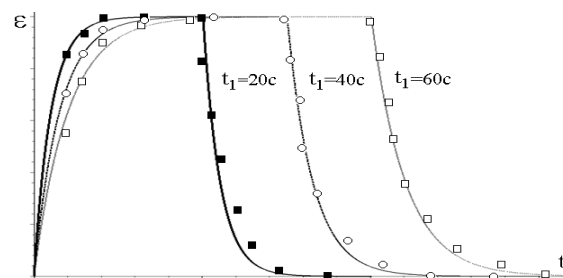


Рис.3. Залежності $\varepsilon(t)$ для моделі (10) в ізотонічному експерименті для деяких наборів параметрів (деталі наведені в тексті).

5. Висновки

Наведений огляд математичних моделей дозволяє порівнювати властивості їх розв'язків з даними експериментальних вимірювань. Запропонована нова математична модель клітини як багатошарової в'язкопружної оболонки дозволяє оцінити вклад кожного шару і точніше відобразити багатозафазову динаміку релаксацій напружень і деформацій, яка властива біологічним клітинам.

Список використаних джерел

1. Fung Y.C. Biomechanics. Mechanical Properties of Living Tissues. Berlin: Springer-Verlag, 1981.
2. Jen C.J., Jhiang S.-J., Chen H.-I. Cellular responses to mechanical stress. // J. Appl. Physiol. – 2000. – 89 (4). – P. 1657–1662.
3. Kizilova N.N., Logvenkov S.A., Stein A.A. Mathematical modeling of transport-growth processes in multiphase biological continua. // Fluid Dynamics. – 2012. – № 47(1). – P. 1–9.
4. Кізілова Н.М., Солов'йова О.М. Аналіз дискретних реологічних моделей біоактивних м'яких і рідких матеріалів. // Вісник ХНУ ім. В.Н. Каразіна, сер. «Математичне моделювання. Інформаційні технології. Автоматизовані системи управління». – 2017. – т.35. – С.21–30.
5. Баранець В. А., Кізілова Н. М. Дискретне моделювання агрегації і осідання мікро- і наночастиць в суспензіях. // Вісник ХНУ ім. В.Н. Каразіна, сер. «Математичне моделювання. Інформаційні технології. Автоматизовані системи управління». – 2018. – т.40. – С.4–14.

References

1. FUNG Y.C. (1981) *Biomechanics. Mechanical Properties of Living Tissues*. Berlin: Springer-Verlag.
2. JEN C.J., JHIANG S.-J., CHEN H.-I. (2000) Cellular responses to mechanical stress. *J. Appl. Physiol.* 89 (4). p. 1657–1662.
3. KIZILOVA N.N., LOGVENKOV S.A., STEIN A.A. (2012) Mathematical modeling of transport-growth processes in multiphase biological continua. *Fluid Dynamics*. № 47(1). p. 1–9.
4. KIZILOVA N.M., SOLOVJOVA O.M. (2017) Analys of discrete rheological models of soft and liquid biological materials. *Visnyk V.N. Karazin Kharkov National University, ser. «Mathematical modeling. Information technologies. Automated Control Systems»*. 35. p.21–30.
5. BARANETS V.A., KIZILOVA N.M. (2018) Discrete modeling of aggregation and sedimentation of micro- and nanoparticles in suspensions. *Visnyk V.N. Karazin Kharkov National University, ser. «Mathematical modeling. Information technologies. Automated Control Systems»*. 40. p.4–14.

Надійшла до редколегії 27.04.2022