



УДК 531/534:[57+61]

МОДЕЛИРОВАНИЕ МОРФОЛОГИИ И ЖЕСТКОСТИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПОСЛЕ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Ю.С. Нагорнов

Тольяттинский государственный университет, Россия, 445667, Тольятти, ул. Белорусская, 14б, e-mail: rq-georg@rambler.ru

Аннотация. Ставилась цель проведения расчета морфологии эритроцита в рамках простой механической модели и сравнения расчетных данных с экспериментальными данными, полученными при помощи атомно-силовой микроскопии, в том числе для клеток крови после фемтосекундного лазерного облучения. Предложена модель эритроцита, которая представляет эритроцит в виде однородного упругого тела с упругостью, зависящей от расстояния до центра эритроцита. В основу модели положены данные атомно-силовой микроскопии различных авторов, в частности данные по зависимости ригидности мембраны от положения точки измерения на поверхности. В разработанной модели упругость мембраны изменялась в зависимости от расстояния до центра в пределах 1–1,6 кПа. Расчет упругих свойств выполнен методом конечных элементов, что позволило получить зависимость морфологии эритроцита от давления на мембрану, которое менялось в диапазоне 0,5–2 кПа. Хорошее согласие расчетных и экспериментальных данных подтверждает состоятельность модели и позволяет заключить, что морфология эритроцита во многом определяется упругими характеристиками мембраны. Кроме этого, разработанная модель позволила провести моделирование изменения жесткости мембраны эритроцитов после фемтосекундного лазерного облучения, которое выступает как фактор, разрушающий мембрану. Моделирование упругих свойств основывалось на статистическом анализе количественных данных содержания дискоцитов, эхиноцитов, сфероцитов и стоматоцитов, а также на предположении, что жесткость каждой формы есть величина постоянная. Коэффициенты ригидности для различных форм были подобраны методом наименьших квадратов и оказались равны соответственно $k_{ds} = 1,28$ кПа для дискоцитов, $k_{eh} = 1,46$ кПа для эхиноцитов, $k_{sf} = 17,6$ кПа для сфероцитов и $k_{st} = 13,1$ кПа для стоматоцитов.

Ключевые слова: модель эритроцита, атомно-силовая микроскопия, геометрические характеристики эритроцита, моделирование упругих свойств.

ВВЕДЕНИЕ

Эритроциты – клетки крови, выполняющие газотранспортную функцию переноса кислорода из легких к органам и тканям, а диоксида углерода – в обратном направлении. Зрелые эритроциты лишены ядра и органелл и имеют форму двояковогнутого диска с максимально высоким отношением площади к объему, что обеспечивает наиболее оптимальный газообмен. Особенности цитоскелета и строения клеточной мембраны двояковогнутых эритроцитов позволяют им претерпевать значительные деформации при прохождении через узкие изогнутые капилляры с последующим восстановлением формы.

Известно, что в случае изменения формы пластичность эритроцитов уменьшается, например при старении клеток. Пластичность существенно снижена у сфероцитов, серповидных эритроцитов и стоматоцитов, а также изменена у эхиноцитов. Транспорт кислорода обеспечивается гемоглобином, на долю которого приходится около 98% массы белков цитоплазмы эритроцитов, что свидетельствует о практически однородном содержимом эритроцитов.

Кроме того, форма красных кровяных клеток зависит от осмотического давления в эритроцитах и в плазме крови, а также от состояния цитоскелета мембраны эритроцитов, влияющего на упругие свойства оболочек красных кровяных телец. Известно, что содержание белков в эритроцитах выше, а низкомолекулярных веществ – ниже, чем в плазме. Осмотическое давление, создаваемое высокой внутриклеточной концентрацией белков в эритроцитах, в значительной степени компенсируется малой концентрацией низкомолекулярных веществ [5].

В последнее время наиболее интересные и полные экспериментальные данные о структуре эритроцита и строении цитоскелета были получены методами атомно-силовой микроскопии [6, 10, 11]. Наиболее интересные данные атомно-силовой микроскопии о мембране эритроцита были получены в работах [2, 3, 13], где указывалось, что коэффициент упругости (коэффициент жесткости, или модуль Юнга) мембраны эритроцитов в норме равен 1,4–1,7 кПа [2], при этом, по данным работы [3], жесткость в центре и на краю эритроцита отличается на 25–40%. Прямое наблюдение методами атомно-силовой микроскопии тонкой структуры филаментной сети мембраны эритроцита позволило определить размер ее ячеек в диапазоне 50–70 нм [13]. Несмотря на то что в методе мазка происходит высыхание эритроцита на воздухе и он теряет свой объем более чем в 2 раза, пропорции основных геометрических характеристик сохраняются [8–11].

В настоящей работе представлена модель, которая учитывает накопленный экспериментальный материал, полученный методами атомно-силовой микроскопии, и подтверждает расчетами взаимосвязь упругих свойств мембраны и формы эритроцита. В основу модели положены следующие предположения: 1) эритроцит является однородным упругим телом; 2) упругие свойства эритроцита определяются ригидностью его мембраны; 3) жесткость мембраны является плавно меняющейся функцией расстояния до центра эритроцита. Модель выбирается достаточно простой специально для того, чтобы можно было применить метод конечных элементов, применяемый для механических систем. В перспективе предложенная модель позволит создать расчетные методики атомно-силовой микроскопии по определению упругих напряжений внутри живых объектов.

МЕХАНИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ЭРИТРОЦИТА

В первом приближении в модели было учтено только влияние упругости мембраны на форму и состояние эритроцита [7]. Основопологающим в разработанной модели явилось то, что влияние упругих свойств мембраны эритроцита, зависящее от состояния ее цитоскелета и осмотического давления как в самом эритроците, так и в плазме крови, рассматривалось в качестве одного из ведущих факторов изменения его формы. Переходя в цилиндрические координаты, введем оси симметрии в геометрическую модель эритроцита. Горизонтальную ось обозначим буквой r , а вертикальную – z . Для решения задачи методом конечных элементов введем область ее определения, которая обладает аксиальной симметрией относительно оси z . На рис. 1, a показано радиальное сечение эритроцита, при этом полная форма получается поворотом на 360° вокруг оси z и отражением в горизонтальной плоскости. Для задания начальных данных были взяты максимальные значения: исходный радиус эритроцита $R = 4$ мкм и

толщина $h = 2$ мкм. По данным работы [2], коэффициент упругости (коэффициент жесткости, или модуль Юнга) мембраны эритроцитов в норме равен 1,4–1,7 кПа, при этом в работах [3, 6] указывается, что жесткость в центре и на краю эритроцита отличается на 25–40%. С целью учета этого экспериментального факта в модель была введена зависимость модуля Юнга от радиуса по формуле $E = E_0(2 - \exp[-(r/R)^2])$, где масштабный множитель $E_0 = 1000$ Па.

Модуль Юнга при удалении от оси плавно нарастал от 1000 до 1632 Па. Данное изменение модуля Юнга обеспечило плавность контура эритроцита в деформированном состоянии при линейном изменении модуля с возникновением резкого угла по отношению к оси. Коэффициент Пуассона $\nu = 0,33$, при этом давление на стенки эритроцита варьировалось от 0,1 до 2 кПа.

Было проведено моделирование морфологии эритроцитов методом конечных элементов при различных давлениях, действующих на мембрану. Начальная форма эритроцита без внешнего давления представлена на рис. 1, *а*, там же показана сетка конечных элементов. При этом начальный размер формы эритроцита был равен 2 и 8 мкм по осям z и r соответственно. Далее модель эритроцита нагрузили внешним давлением от 500 до 2000 Па. При расчетах предполагалось, что давление p приложено однородно по всей поверхности эритроцита, так что изменение морфологии связано только с внутренними характеристиками эритроцита, которые заложены в модель. На рис. 1, *б* и *в* показано изменение морфологии эритроцитов в зависимости от роста давления на мембрану. Видно, что при приложении небольших давлений (см. рис. 1, *б*), сравнимых с величиной упругости мембраны, форма эритроцита практически не изменяется и близка к начальной форме (см. рис. 1, *а*). Данная форма характерна для эритроцитов с нарушенными функциями обмена веществ и, соответственно, с низкой

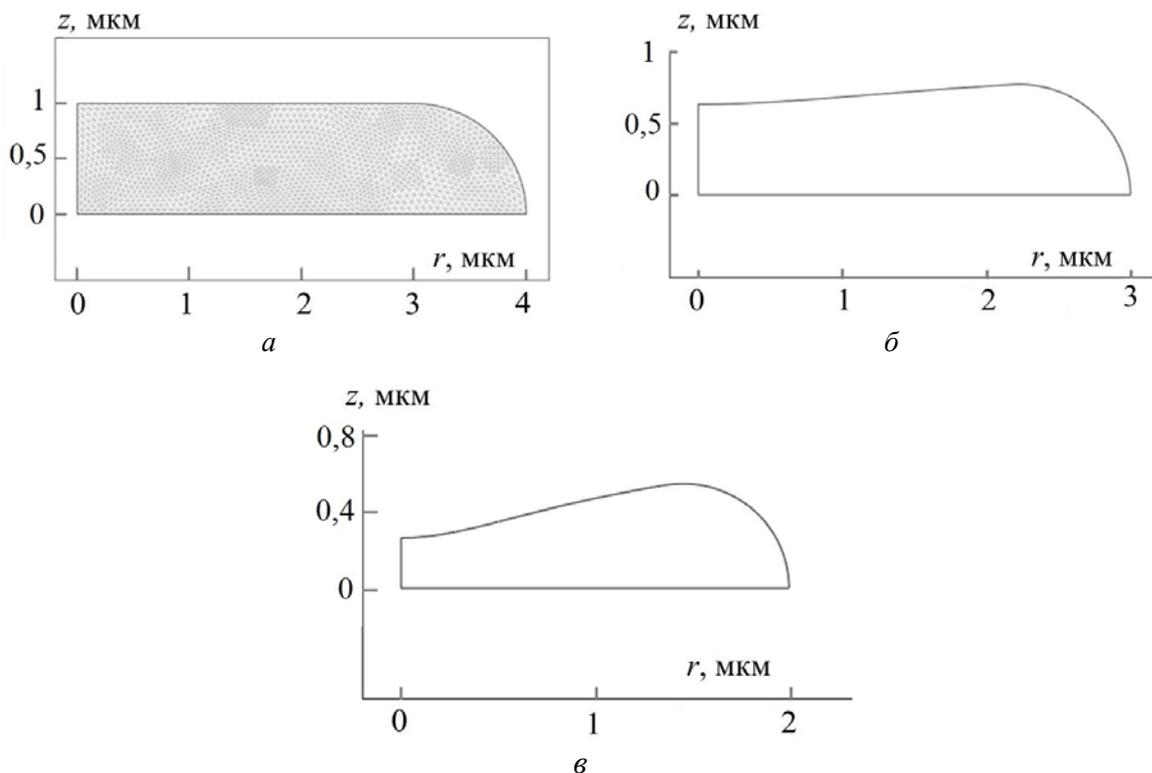


Рис. 1. Геометрическая модель эритроцита: *а* – недеформированная геометрия эритроцита с размерами 1×4 мкм и сеткой конечных элементов; *б* – изменение морфологии эритроцита при приложении внешнего давления величиной 1000 Па, эритроцит с размерами 0,8×3 мкм; *в* – морфология эритроцита при приложении внешнего давления величиной 2000 Па, эритроцит с размерами 0,6×2 мкм

разницей давлений внутри и вне мембраны эритроцита. В предыдущей работе [8] автором была проведена оптимизация формы эритроцита из условий минимизации упругой энергии и максимального соотношения площади к объему. Результаты расчетов оптимизационной модели оказались схожими с результатами в рамках простой механической модели [7, 8].

СРАВНЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И РАСЧЕТНЫХ ДАННЫХ

Для сравнения экспериментальных и расчетных данных возьмем данные атомно-силовой микроскопии мазка крови больной бронхиальной астмой [4, 7]. На скане представлены как нормальные эритроциты, так и с измененной формой, что позволит сравнить форму и размеры эритроцитов в норме и при патологии. Для определения морфологических особенностей эритроцитов по скану эритроцита был получен его поперечный разрез через центр вдоль линий симметрии (рис. 2). Разрезы эритроцитов с измененной морфологией представлены на рис. 2, б, в. Определяя геометрические характеристики разрезов эритроцитов, авторы обратили внимание на то, что высота и ширина нормальных по форме двояковогнутых эритроцитов составляют 0,6–0,8 мкм и 8 мкм соответственно. У морфологически измененных эритроцитов при отсутствии впадин эти величины составили 0,8–1,1 мкм и 8–10 мкм соответственно. Таким образом, данные эритроциты изменили свою форму и увеличились в размерах.

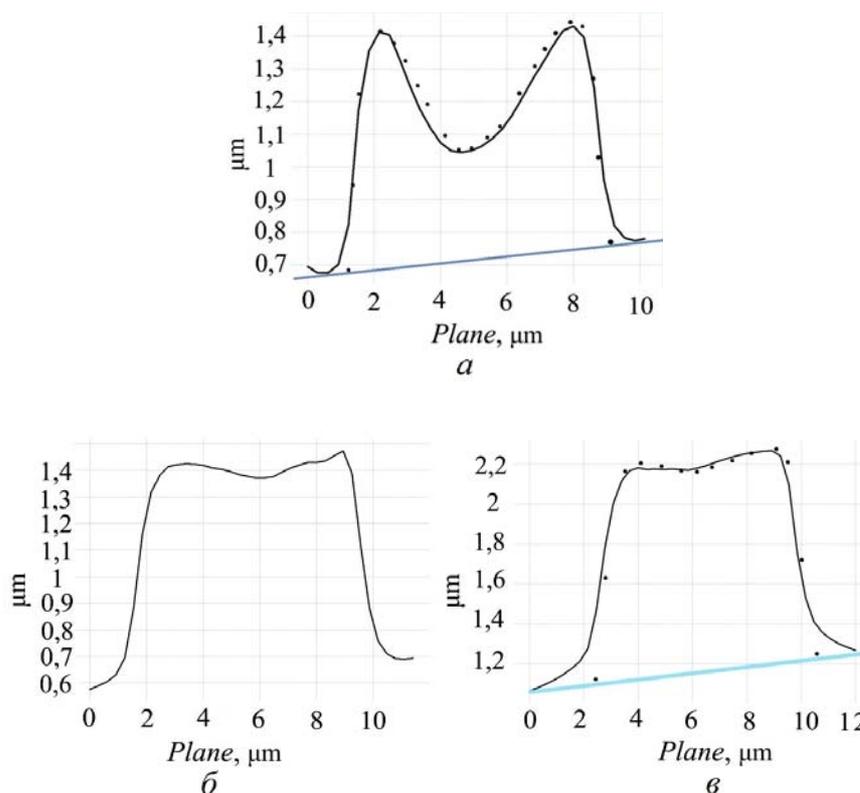


Рис. 2. Разрез эритроцитов со скана: *а* – эритроцит в норме; *б* и *в* – эритроциты с измененной морфологией. Линиями обозначены экспериментальные данные атомно-силовой микроскопии, взятые из работы [12], точками – результаты расчета в рамках простой механической модели для разных давлений: *а* – $p = 2000$ Па; *б* – $p = 500$ Па. Линия под графиком показывает уровень наклона образца при измерении

Эти данные согласуются с результатами исследования методом Культера. Средний объем эритроцитов, измеренный методом Культера, составил у обсуждаемой больной 97 фл, или 97 мкм^3 [4, 7]. Методом атомно-силовой микроскопии были рассчитаны объемы эритроцитов, находящихся в воздушной среде. Объем эритроцита, представленного на рис. 2, *а*, составил 34 мкм^3 , а на рис. 2, *б, в* – 38 и 46 мкм^3 соответственно. Объем морфологически измененных эритроцитов оказался примерно на 12–35% больше объема двояковогнутых эритроцитов нормальной формы из-за наличия у них впадины. Таким образом, при высыхании объем эритроцитов уменьшился примерно в 2–3 раза, сохранив при этом исходные соотношения основных геометрических характеристик, что позволяет, по мнению ряда авторов, с успехом использовать метод атомно-силовой микроскопии для оценки морфологии красных клеток крови [12].

Наибольший интерес представляет сравнение расчета морфологии с данными атомно-силовой микроскопии для клеток в различных состояниях. Сравнение форм эритроцитов по данным атомно-силовой микроскопии и модели, представленных на рис. 1 и 2, необходимо проводить с учетом изменения формы при осаждении эритроцита на подложку. Действительно, эритроцит в модели и в физическом растворе является полностью симметричным объектом. При осаждении на подложку возникают несколько эффектов, изменяющих форму эритроцита. Во-первых, это прилипание мембраны эритроцита на подложку и связанное с этим «растекание» с удлинением формы. Во-вторых, впадины эритроцита сверху и снизу по причине прилипания к поверхности подложки превращаются в одну впадину с глубиной, равной сумме двух впадин эритроцита, не осажженного на подложку. В-третьих, происходит высыхание эритроцита при исследовании методом мазка, как в нашем случае, что влияет на объем эритроцита и уменьшение его толщины в 2–3 раза.

С учетом сделанных замечаний проведено сравнение морфологии эритроцитов, полученной в расчетах и при измерении методами атомно-силовой микроскопии. На рис. 2, *а* представлен эритроцит в норме, имеющий глубину впадины 0,3–0,4 мкм, диаметр 7–8 мкм и ширину 0,7 мкм. Данной форме соответствует модель эритроцита, представленная на рис. 1, *в*, с глубиной впадины 0,52 мкм, диаметром 4 мкм, шириной 1,06 мкм. Поскольку модель не учитывает процессы адгезии и прилипания эритроцита к поверхности, происходящие при измерении методами атомно-силовой микроскопии, данные в расчетах отличаются от данных атомно-силовой микроскопии. Если представить, что за счет прилипания эритроцит, сохраняя свой объем, вытянется, значения его толщины и глубины впадины должны, соответственно, уменьшиться.

Поскольку в модели не могут быть учтены процессы изменения объема из-за высыхания, проведем нормировку данных, а только потом их сравнение. Для этого были приведены к одним единицам ширина и толщина эритроцитов, затем расчетные данные были пересчитаны с учетом изменения высоты из-за сложения двух впадин (умножением на два) и наложены на экспериментальные данные по атомно-силовой микроскопии (рис. 2, *а* и *в*). При расчетах также учитывался наклон образца при измерениях, что выражалось в добавке к теоретическим значениям значений прямой, описывающей наклон. При этом для нормальной формы эритроцита в модели была взята разница давлений внутри и снаружи эритроцита, равная 2000 Па (см. рис. 2, *а*), а для измененной формы эта величина составила 500 Па (см. рис. 2, *в*). Видно, что с учетом нормировки расчет совпадает с экспериментальными данными.

Необходимо сделать несколько замечаний по модели и сравнению полученных данных. Модель эритроцита исходит только из предположения о зависимости упругости мембраны от расстояния до центра. При этом мембрана эритроцита выполняет функцию регулятора ионных каналов и содержания ионов калия и других веществ в эритроците, таким образом меняя величину осмотического давления внутри.

Содержание гемоглобина в эритроците также влияет на величину онкотического давления, состояние мембраны и морфологию эритроцита. Поэтому разница давлений в модели эритроцита отражает эти величины в совокупности. Однако у эритроцитов на воздухе при измерении методами атомно-силовой микроскопии величина осмотического давления должна существенно уменьшиться, а величина онкотического давления остаться без изменений. Именно поэтому разница давлений внутри и вне мембраны в модели эритроцита, равная 2 кПа, близка к онкотическому давлению (0,03–0,04 атм или 3–4 кПа) крови.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ЖЕСТКОСТИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПОСЛЕ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Для проверки предложенного подхода о взаимосвязи жесткости и формы эритроцитов был проведен расчет упругих свойств мембраны эритроцитов после фемтосекундного лазерного облучения. Экспериментальные данные получены Арслановой в работе [1], где было изучено мембранодестабилизирующее фотодеструктивное действие фемтосекундного лазерного облучения эритроцитов млекопитающих *in vitro*. В качестве объекта исследования были использованы эритроциты крысы, отмытые физиологическим раствором. Облучение проводили в пластиковых кюветах глубиной 1 см, суспензию эритроцитов разводили 1:1 0,85%-ным NaCl. Объем облучаемой суспензии составлял 100 мкл, что не позволяло обеспечить равномерную дозу облучения, поскольку диаметр луча лазера составлял 0,6 см, при этом интенсивность излучения по диаметру луча меняется по функции Гаусса. Лазерное облучение проводилось волоконным эрбиевым фемтосекундным лазером с длиной волны инфракрасного излучения 1268 нм и длительностью импульса порядка 100 фс, при этом средняя мощность излучения составляла 1,25 мВт, а пиковая достигала значений в 6 кВт. Для оценки цитоархитектоники эритроцитов в работе [1] использовали сканирующий зондовый микроскоп *Smena A NT-MDT* с кремниевыми зондами жесткостью 0,20 Н/м. Важно, что эритроциты высушенного мазка, сделанного в течение часа до сканирования, исследовались в полуконтактном режиме, что не нарушало морфологии эритроцитов в процессе измерения.

Для сравнения полученных данных с расчетами автора приведем только необходимые для модели исходные данные. На рис. 3 и 4 представлены зависимости морфологических состояний эритроцитов и их усредненная по образцу жесткость от степени трансформации. При этом в работе [1] эти зависимости связаны с дозой облучения, что не соответствует заявленным у авторов задачам по нескольким причинам. Доза облучения и поглощенная доза в случае облучения эритроцитов в образце крови являются совершенно разными величинами, так как поглощение фемтосекундных импульсов лазерного света носит стохастический характер. Эритроциты в крови получали дозу облучения в зависимости от положения в пробе (ближе или дальше относительно поверхности), а также от попадания световых импульсов в ту или иную область пробы.

Таким образом, какие-то эритроциты получают большую дозу, какие-то не облучаются вовсе. Соотношение облученных и необлученных эритроцитов, безусловно, растет с дозой, но нельзя утверждать, что эритроциты разрушались пропорционально дозе облучения. Степень разрушения эритроцитов возрастала по мере поглощения фемтосекундного лазерного излучения. Поскольку жесткость эритроцитов исследовалась методами атомно-силовой микроскопии для каждого эритроцита отдельно, а затем усреднялась по образцу, то корректно говорить о зависимости жесткости от степени трансформации, оставляя в стороне вопрос, какая была при этом поглощенная доза. Связывая степень трансформации эритроцитов

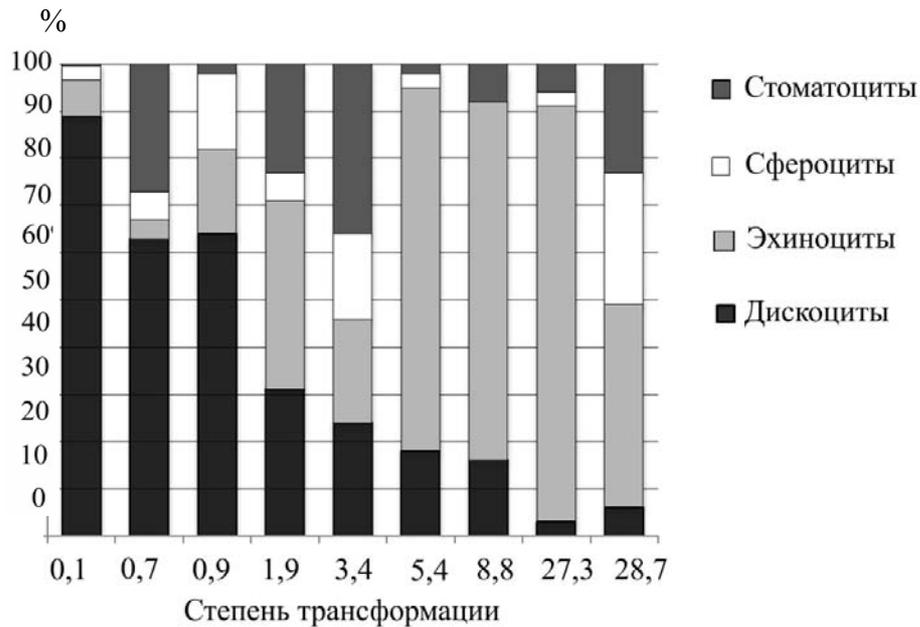


Рис. 3. Зависимость процентного содержания дискоцитов, эхиноцитов, сфероцитов и стоматоцитов от степени трансформации, меняющейся в процессе фемтосекундного лазерного облучения [1]

с изменениями в них, можно провести расчет упругих свойств мембраны в процессе облучения и, соответственно, трансформации. На рис. 3 приведены экспериментальные данные [1] содержания эритроцитов различных форм в контроле и после облучения от степени трансформации. Для контрольной пробы степень трансформации оказалась равной 0,1.

Предполагая, что жесткость различных форм эритроцитов является величиной постоянной, получим, что коэффициент жесткости в работе [1] вычислялся усреднением по эритроцитам, относящимся к разным формам:

$$k = N_{st}k_{st} + N_{sf}k_{sf} + N_{eh}k_{eh} + N_{ds}k_{ds}, \quad (1)$$

где N – доля эритроцитов соответствующей формы; k – коэффициент жесткости соответствующей формы; индексы отвечают следующим формам: st – стоматоциты, sf – сфероциты, eh – эхиноциты, ds – дискоциты.

Число эритроцитов различных форм с ростом степени трансформации и, соответственно, дозы облучения показано на рис. 3, коэффициенты жесткости для различных форм были подобраны методом наименьших квадратов, что позволило получить следующие величины: $k_{st} = 13,1$ кПа, $k_{sf} = 17,6$ кПа, $k_{eh} = 1,46$ кПа, $k_{ds} = 1,28$ кПа.

На рис. 4 представлены экспериментальная и расчетная зависимости жесткости от степени трансформации. Видно, что расчетная кривая достаточно хорошо описывает экспериментальные данные даже на начальном участке, где изменения происходят наиболее резко и немонотонно. Коэффициенты жесткости, полученные из расчета, достаточно близки к литературным данным – 1,46 и 1,28 кПа для эхиноцитов и дискоцитов соответственно, а также 13,1 и 17,6 кПа для стоматоцитов и сфероцитов соответственно. Интересно, что при высоких дозах облучения, когда происходит практически полное разрушение мембраны эритроцита, ригидность остается на уровне 1,7 кПа, т.е. близка к начальной величине.

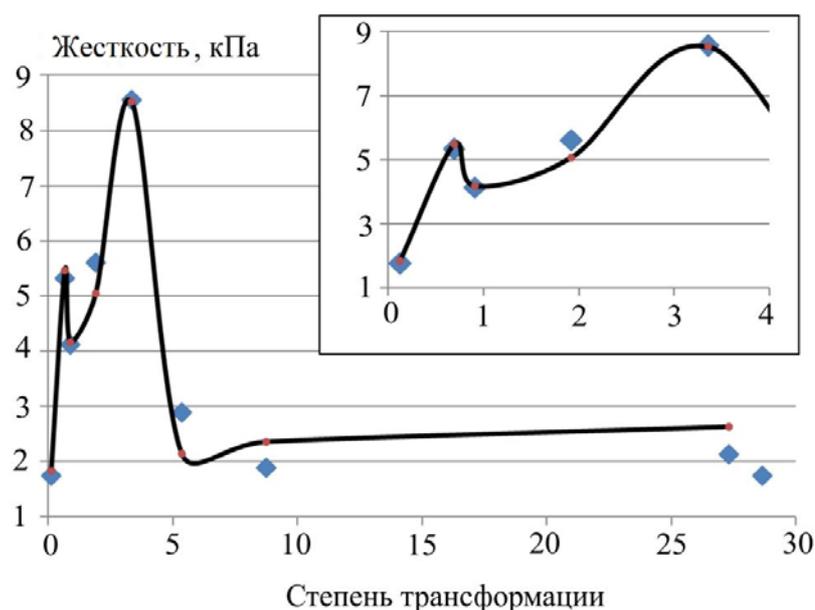


Рис. 4. Зависимость усредненной жесткости мембраны эритроцитов образцов от степени трансформации, меняющейся при фемтосекундном лазерном облучении: точки – данные из работы [1]; линия – расчет. На вставке показан начальный участок зависимости

По мнению автора, это может быть связано с тем, что после разрушения мембраны эритроцитов кантилевер атомно-силового микроскопа измеряет упругость гемоглобина, соответственно его жесткость должна быть равна 1,7 кПа. В норме мембрана эритроцита является очень пластичной, и в контрольном образце упругость также составляет порядка 1,3–1,8 кПа, что отражает состояние гемоглобина. В процессе облучения мембрана становится более жесткой и меняет форму более «мягкого» гемоглобина, происходят морфологические изменения, количество дискоцитов уменьшается, в результате жесткость эритроцитов растет. При уменьшении уровня дискоцитов до 30% и менее, а также увеличении степени трансформации более 2 мембрана эритроцитов разрушается, ее функция механического каркаса уже не выполняется и жесткость становится равной жесткости гемоглобина. Причем утверждается, что жесткость сохраняется даже при дозах существенно больших, чем дозы, представленные в работе [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе предложена модель эритроцита, позволяющая рассчитать упругие свойства и оценить его морфологию. Модель представляет эритроцит в виде однородного упругого тела с упругостью, зависящей от расстояния до центра симметрии эритроцита. Расчет упругих свойств выполнен методом конечных элементов. В рамках механической модели получена зависимость морфологии эритроцита от разницы давлений на мембрану, которая менялась в диапазоне 500–2000 Па, что позволило оценить значение факторов, влияющих на форму эритроцитов. Проведено сравнение расчетных данных с данными атомно-силовой микроскопии, что позволило сделать вывод о состоятельности модели. Модель также позволяет сделать косвенные оценки разницы давлений внутри и вне мембраны эритроцитов, связав ее с онкотическим давлением.

Предположение о зависимости упругости мембраны от расстояния до центра, положенное в основу модели, с одной стороны, имеет экспериментальное подтверждение в ряде работ по атомно-силовой микроскопии [3, 6], с другой стороны, имеет важное следствие. Поскольку модель косвенно подтверждает наличие изменений упругости по поверхности мембраны, возникает естественный вопрос, чем обусловлена эта зависимость упругости. Учитывая, что цитоскелет мембраны эритроцитов состоит из филаментной сети, образованной белком спектрина, а также то, что за упругие свойства мембраны в основном отвечает связующий белок полосы 3, данные моделирования свидетельствуют в пользу следующего предположения.

В центре мембраны эритроцита упругие свойства эритроцита примерно в 1,5 раза меньше, чем на краю, что может быть обусловлено меньшей концентрацией белка полосы 3, а также более разряженной по сравнению с краем эритроцита сеткой цитоскелета. Атомно-силовая микроскопия позволяет определять тонкую структуру цитоскелета мембраны [13], по данным которой структура состоит из ячеек с размерами 50–70 нм. Сложность определения рельефа такого масштаба на биологических объектах до сих пор не позволила определить степень изменения тонкой структуры по поверхности мембраны. Таким образом, в рамках дальнейшего развития модели стоит задача определения изменений тонкой структуры мембраны по поверхности эритроцита с удалением от его центра, а также определение изменений концентрации белка полосы 3.

Кроме этого, в работе проведен расчет изменения и взаимосвязи морфологических и упругих свойств эритроцитов после фемтосекундного лазерного облучения. В рамках модели было предложено считать каждую морфологию обладающей постоянным коэффициентом жесткости. После усреднения по формам эритроцитов в мазке крови и учета данных процентного содержания дискоцитов, эхиноцитов, стоматоцитов и сфероцитов были получены расчетные данные, близкие к экспериментальным. Данный факт свидетельствует о состоятельности модели и позволил сделать оценку жесткости различных форм эритроцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арсланова Д.Р. Система «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» у крыс на разных стадиях онтогенеза и канцерогенеза: дис. ... канд. биол. наук. – Ульяновск, 2009. – 96 с.
2. Арсланова Д.Р., Абакумова Т.В. [и др.]. Влияние фемтосекундного лазерного излучения на эритроциты *in vitro* // Лазерная медицина. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 215.
3. Гноевых В.В., Куприянов А.А., Нагорнов Ю.С., Портнова Ю.А., Смирнова А.Ю., Шалашова Е.А. Бронхиальная астма и табакокурение // Medline.ru. – 2011. – Т. 12. Пульмонология. – С. 261–289.
4. Гущина Ю.Ю., Плескова С.Н., Звонкова М.Б. Исследование различий морфологических параметров клеток крови человека методом сканирующей зондовой микроскопии // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2005. – № 1. – С. 48–53.
5. Данияров С.Б., Зарифьян А.Г., Эсенбекова З.Э., Рябова О.В. Физиология крови: метод. пособие к практическим занятиям по нормальной физиологии. – Бишкек: Изд-во Кыргыз.-Рос. Славян. ун-та, 2000. – 54 с.
6. Дрозд Е.С., Чижик С.А., Константинова Е.Э. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов // Российский журнал биомеханики. – 2009. – Т. 13, № 4 (46). – С. 22–30.
7. Нагорнов Ю.С., Гноевых В.В., Портнова Ю.А. Расчет упругих свойств и морфологии эритроцитов в рамках простой механической модели // В мире научных открытий. – 2013. – № 2.1. – С. 24–42.
8. Нагорнов Ю.С., Жилиев И.В. Оптимизация формы эритроцита в соответствии с данными атомно-силовой микроскопии [электронный ресурс] // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. – Т. 12, № 1. – 2013. – URL: <http://www.smolensk.ru/user/sgma/mmorph/titl.htm>.
9. Asghari-Khiavi M., Wood B.R., Mechler A., Bambery K.R., Buckingham D.W., Cooke B.M., McNaughton D. Correlation of atomic force microscopy and Raman micro-spectroscopy to study the effects of ex vivo treatment procedures on human red blood cells // Analyst. – 2010. – Vol. 135. – P. 525–530.

10. Dulińska I., Targosz M., Strojny W., Lekka M., Czuba P., Balwierz W., Szymoński M. Stiffness of normal and pathological erythrocytes studied by means of atomic force microscopy // J. Biochem. Biophys. Methods. – 2006. – Vol. 66 (1–3). – P. 1–11.
11. Nowakowski R., Luckham P. Imaging the surface details of red blood cells with atomic force microscopy // Surface and Interface Analysis. – 2002. – Vol. 33, № 2. – P. 118–121.
12. O'Reilly M., McDonnell L., O'Mullane J. Quantification of red blood cells using atomic force microscopy // Ultramicroscopy. – 2001. – Vol. 86(1–2). – P. 107–112.
13. Zaitsev B.N., Durymanov A.G., Generalov V.M. Atomic force microscopy of the interaction of erythrocyte membrane and virus particles // Scanning Probe Microscopy–2002: Proc. Intern. Workshop. – Nizhny Novgorod, 2002. – P. 211–213.

SIMULATION OF THE MORPHOLOGY AND RIGIDITY OF THE ERYTHROCYTE MEMBRANE UNDER FEMTOSECOND LASER IRRADIATION

Yu.S. Nagornov (Togliatti, Russia)

The article aim is, within a simple mechanical model of the erythrocyte morphology, to carry out the calculation and comparison of the calculated data with the experimental data obtained using atomic force microscopy of blood cells after femtosecond laser irradiation. The article proposes a model of the erythrocyte which represents the erythrocyte as a homogeneous elastic body with the elasticity depending on the distance to the centre of the erythrocyte. The model is based on data from atomic force microscopy obtained by various authors, in particular the data on rigidity of the membrane depending on the position of the measuring point on the surface. In the developed model, the elasticity of the membrane changes depending on the distance to the centre within 1–1.6 kPa. The calculation of the elastic properties is made by the finite element method, which allows us to determine the dependence of the erythrocyte morphology on pressure on the membrane, which is varied within the range of 0.5–2 kPa. The good agreement between calculated and experimental data confirms the consistency of the model and allows us to conclude that the morphology of the erythrocyte is largely determined by the elastic properties of the membrane. Besides, the developed model allows us to simulate the changes in the rigidity of erythrocyte membrane under femtosecond laser irradiation, which acts as a factor destroying the membrane. Simulation of rigid properties is based on a statistical analysis of quantitative data content of discocytes, echinocytes, spherocytes, and stomatocytes as well as on the assumption that the rigidity of each form is constant. Rigidity coefficients for the various forms are calculated by the method of least squares and are equal to $k_{ds} = 1.28$ kPa for discocytes, $k_{eh} = 1.46$ kPa for echinocytes, $k_{sf} = 17.6$ kPa for spherocytes, and $k_{st} = 13.1$ kPa for stomatocytes.

Key words: model of erythrocyte, atomic force microscopy, geometric characteristics of erythrocyte, modelling of elastic properties.

Получено 8 апреля 2013