



В. А. Шигимага

ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ИМПУЛЬСНОГО ПРОБОЯ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРАХ

Построены физико-математические модели импульсного пробоя мембраны клеток в различных растворах на основе аппроксимации данных нелинейными функциями. Выполнен поиск характерных точек модельных функций и установлена их взаимосвязь с пробоем

Ключевые слова: физико-математическая модель, нелинейная аппроксимация, клетка, пробой

Введение

В клеточной инженерии известны различные методы, основанные на электропорации мембраны клетки в импульсном электрическом поле (ИЭП) [1,2]. Построены различные модели электропорации и предложены механизмы для объяснения этого непростого биофизического явления [2,4,5], но интерес к нему не снижается. Одним из новых направлений, использующих электропорацию, является исследование проводимости клетки и пробоя мембраны методом импульсной кондуктометрии [3]. К настоящему времени получено достаточно данных по кондуктометрии клеток в различных растворах [6,7], чтобы приступить к их анализу посредством физико-математического моделирования.

Построение и анализ модельных функций

В основу построения моделей для количественного анализа пробоя мембраны клеток в ИЭП в различных растворах положены физические закономерности. Аппроксимация экспериментальных данных выполнена нелинейными функциями методом наименьших квадратов, проведен поиск экстремумов, точек перегиба и пересечения. Для моделирования и анализа взят собственный экспериментальный материал по импульсной кондуктометрии с пробоем мембран ооцитов и двухклеточных эмбрионов мыши в различных растворах [3,6,7].

Экспериментальная температурная зависимость напряженности пробоя $E_{np}(T)$ мембраны клеток позволяет выбрать в качестве модели логистическую функцию Ферхюльста-Перла [6]. Модельные функции и экспериментальные кривые имеют точку перегиба и ограничены асимптотами, физическое обоснование которых следующее. При температуре ниже 15°C мембрана "замерзает" и напряженность ее пробоя максимальна, а при температуре выше 40°C наступает тепловая деструкция мембраны и напряженность ее пробоя минимальна. Уравнение математической модели:

$$E_{np} = a - \frac{b}{1 + \exp[-c(T-d)]} \quad (1)$$

где: a, b, c, d – параметры модели, T – температура, E_{np} – напряженность пробоя. Параметры построенной модели сведены в табл. 1.

Таблица 1

Параметры логистической модели для ооцитов и эмбрионов

параметр	клетки	
	ооциты	эмбрионы
a	2,91	2,97
b	0,91	1,10
c	0,95	1,07
d	27,51	28,29
R ²	0,999	0,999

Посредством анализа построенной модели, согласно необходимому условию наличия точки перегиба $E''_{np}(T) = 0$, из уравнения (1) получена формула:

$$T = \frac{cd - \ln\left(\frac{c}{2-c}\right)}{c} \quad (2)$$

Подстановкой в формулу (2) числовых значений модели в табл.1 вычислены температуры точек перегиба функции (1) для ооцитов $T=27,6^\circ\text{C}$ и эмбрионов $T=28,2^\circ\text{C}$ соответственно. Повышенная температура эмбрионов, скорее всего, связана с составом липидов и распределением микровиллей их мембран [5,8]. Подставляя в (1) температуры точек перегиба, получена напряженность пробоя мембраны ооцитов $E_{np}=2,41$ кВ/см и эмбрионов $E_{np}=2,47$ кВ/см.

Экспериментальная зависимость напряженности пробоя мембраны клеток от осмотической концентрации раствора допускает логарифмическую модель [7]. Она основана на физическом эффекте изменения поверхностно-объемного отношения (ПОО) клетки W за счет растяжения-сжатия микровиллей мембраны, подверженной влиянию сил осмотического давления [5]:

$$W = \frac{S}{V} \approx \frac{2}{R}, \quad (3)$$

где: S - поверхность, V - объем, R - радиус сферической клетки. Скорость изменения величины W обратно пропорциональна концентрации раствора [7], следовательно, можно записать простое дифференциальное уравнение:

$$\frac{dW}{dC} = \frac{1}{C} \quad (4)$$

где: C - осмотическая концентрация раствора. Решая уравнение (4) и подставляя в решение соотношение (3), получаем логарифмическую функцию:

$$\frac{1}{R} = \frac{\ln C}{2} + K \quad (5)$$

где: K - некоторая константа. Напряженность пробоя мембраны клетки обратно пропорциональна ее радиусу [1,2], откуда, используя функцию (5), следует:

$$E_{np} = a \ln C + b \quad (6)$$

Путем аппроксимации построенной модели (6) к экспериментальным точкам получены уравнения логарифмических функций для ооцитов и эмбрионов [7] с числовыми параметрами, сведенными в табл.2.

Таблица 2

Параметры логарифмической модели для ооцитов и эмбрионов

параметр	клетки	
	ооциты	эмбрионы
a	1,45	1,03
b	4,52	3,82
R ²	0,997	0,998

Анализ логарифмической модели путем приравнивания уравнений (6) для эмбрионов и ооцитов с параметрами из табл.2:

$$1,45 \ln C + 4,52 = 1,03 \ln C + 3,82 \quad (7)$$

дал точку пересечения моделирующих функций с координатами: $E_{np} = 2,1$ кВ/см и $C = 0,19$ М, которая означает равенство проводимости клеток за счет сходной геометрической структуры мембран при определенной укладке микровиллей [5]. Это вытекает из равенства ПОО (3) этих клеток. Отсюда следует также, что при концентрации $C < 0,19$ М эмбрионы легче выдерживают гипотонию, чем ооциты. При $C > 0,19$ М - наоборот, эмбрионы более уязвимы [7].

Вывод

На основе физических процессов в клетке при воздействии ИЭП с факторами температуры и концентрации раствора, построены логистическая и логарифмическая модели, предсказывающие стойкость мембраны к пробоем.

Литература

- Zimmermann, U. Electromanipulation of cells [Текст] / U. Zimmermann, G.A.Neil. – N.Y. : CRC Press, 1996. – 375 p.
- Chen, C. Membrane electroporation theories: a review [Текст] / C. Chen, S.W. Smye, M.P. Robinson, J.A. Evans // Med. Biol. Eng. Comput. – 2006. – V.44. – №1 - 2. – P.5-14.
- Шигимага, В.А. Метод и аппаратура импульсной кондуктометрии одиночных клеток животных и жидких сред [Текст] / В.А. Шигимага // Актуальные вопросы биологической физики и химии : материалы VII междунар. науч.-техн. конф., г. Севастополь, (26-30).04. 2011г. – Севастополь, 2011. – С.25-26.
- Teissie, J. Mechanisms of cell membrane electroporation: a minireview of our present (lack of?) knowledge [Текст] / J. Teissie, M. Golzio, M.P. Rols // Biochim. Biophys. Acta. – 2005. – V.1724. – № 3. – P.270-280.
- Шигимага, В.А. Математическое моделирование мембраны в связи с проводимостью клетки в различных растворах [Текст] / В.А. Шигимага, Д.А. Левкин, Ю.Е. Мегель // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – Харьков. – 2012. – № 4/4(58). – С.32-35.
- Шигимага, В.А. Метод определения проводимости ооцитов и эмбрионов в различных условиях диэлектрической среды [Текст] / В.А. Шигимага, Ю.Е. Мегель // Вестник НТУ «ХПИ» // Сб. трудов «Новые решения в современных технологиях». – Харьков : НТУ (ХПИ), 2011. – № 9. – С.140-144.
- Шигимага, В.А. Исследование проводимости клеток при изменении осмотической концентрации среды [Текст] / В.А. Шигимага, Ю.Е. Мегель // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – Харьков. – 2011. – № 2/5(50). – С.53-55.
- Comiskey, M. Spatio-temporal localization of membrane lipid rafts in mouse oocytes and cleaving preimplantation embryos [Текст] / M. Comiskey, C.M. Warner // Dev. Biol. – 2007. – V.303. – № 2. – P.727-739.

ФІЗИКО-МАТЕМАТИЧНІ МОДЕЛІ ІМПУЛЬСНОГО ПРОБОЮ МЕМБРАНИ КЛІТИН В РІЗНИХ РОЗЧИНАХ

В. А. Шигимага

Побудовані фізико-математичні моделі імпульсного пробую мембрани клітин в різних розчинах на основі апроксимації даних нелінійними функціями. Проведено пошук характерних точок модельних функцій і встановлено їх взаємозв'язок з пробоем.

Ключові слова: фізико-математична модель, нелінійна апроксимація, клітина, пробій

Віктор Олександрович Шигимага, кандидат с.-г. наук, зав. лабораторією біології репродукції та штучного осіменіння тварин, Інститут тваринництва НААН, тел.: (057) 740-31-83, e-mail: vash105@gmail.com

PHYSICAL AND MATHEMATICAL MODELS OF CELL MEMBRANES PULSE BREAKDOWN IN VARIOUS SOLUTIONS

V. Shigimaga

The physical and mathematical models of cells membrane pulse breakdown in different solutions on the basis of data approximation by nonlinear functions are built. The search of model functions characteristic points is executed and their correlation with breakdown is determined.

Keywords: physical-mathematical model, nonlinear approximation, cell, breakdown

Victor Shigimaga, PhD, Chief Laboratory biology of reproduction and artificial insemination of animals, Institute of animal science of UAAS, tel.: (057) 740-31-83, e-mail: vash105@gmail.com