

УДК 51-76

ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ФОРМЫ МОДЕЛИ ЭРИТРОЦИТА

¹Нагорнов Ю.С., ²Жиляев И.В.

¹ФГБОУ ВПО «Тольяттинский государственный университет»,
Тольятти, e-mail: rq-georg@rambler.ru;

²ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, e-mail: Zhilyaev@mail.com

В работе предложена модель эритроцита, которая позволяет с использованием генетического алгоритма рассчитать упругие свойства мембраны и морфологию эритроцита. В модели эритроцит представляет собой однородное упругое тело с упругостью мембраны, зависящей от расстояния до центра симметрии. Расчет упругих свойств выполнен по генетическому алгоритму при помощи минимизации функционала, учитывающего минимум энергии деформации и максимальное соотношение площади к объему. Расчет энергии деформации проводился методом конечных элементов. Сравнение расчетных данных с данными атомно-силовой микроскопии позволило сделать вывод о состоятельности модели. Кроме этого, модель позволяет предположить изменение тонкой структуры цитоскелета мембраны в зависимости от расстояния до центра эритроцита, что может быть связано с концентрацией белка полосы 3 или с размерами ячеек филаментной сети.

Ключевые слова: генетический алгоритм, метод конечных элементов, метод минимизации функционала, метод оптимизации, модель эритроцита, мембрана цитоскелета

APPLICATION OF GENETIC ALGORITHM TO OPTIMIZE THE FORM OF ERYTHROCYTE MODELS

¹Nagornov Y.S., ²Zhilyaev I.V.

¹Togliatti State University, Togliatti, e-mail: rq-georg@rambler.ru;

²Southern Federal University, Rostov-on-Don, e-mail: Zhilyaev@mail.com

In the paper the model is proposed of the erythrocyte, which allows using a genetic algorithm to calculate the elastic properties of the membrane and the morphology of erythrocytes. In the model the erythrocyte is a homogeneous elastic body with the elasticity of the membrane, depending on the distance to the center of symmetry. The calculation is made on the elastic properties of the genetic algorithm by minimizing the functional that takes into account the minimum strain energy and the maximum ratio of surface to volume. The calculation of the energy of deformation was carried out using finite element analysis. Comparison of the calculated data with atomic force microscopy was used to make a conclusion about the viability of the model. Additionally, the model suggests variation of the fine structure of the cytoskeleton of the membrane, depending on the distance to the center of the erythrocyte, which may be due to the concentration of the protein band 3 with mesh size or filament network.

Keywords: genetic algorithm, finite element method, functional minimization, optimization method, erythrocyte model, membrane cytoskeleton

Эритроциты – высокоспециализированные клетки крови, выполняющие газотранспортную функцию переноса кислорода из лёгких к органам и тканям, а диоксида углерода – в обратном направлении. Зрелые эритроциты человека лишены ядра и органелл и имеют форму двояковогнутого диска с максимально высоким отношением площади к объёму, что обеспечивает наиболее оптимальный газообмен. Особая форма эритроцитов увеличивает их диффузионную поверхность с одновременным уменьшением диффузного расстояния [4]. Транспорт кислорода обеспечивается гемоглобином, на долю которого приходится около 98% массы белков цитоплазмы эритроцитов.

Особенности цитоскелета и строения клеточной мембраны двояковогнутых эритроцитов позволяют им претерпевать значительные деформации при прохождении через узкие изогнутые капилляры с последующим восстановлением формы. 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 [1, 4]. В настоящей статье делается попытка ответить на вопрос: почему эритроцит приобретает форму двояковогнутого диска при условии однородности его содержимого? Какие факторы влияют на форму эритроцита и его упругие свойства? Для ответа на эти фундаментальные вопросы необходимо привлечь данные о цитоскелете клеточной мембраны эритроцитов.

В последнее время наиболее интересные и полные экспериментальные данные о структуре эритроцита и строении цитоскелета были получены методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) [1, 3, 5, 6]. Наиболее интересные данные атомно-силовой микроскопии о мембране эритроцита были получены в работах [1, 3], где

указывалось, что коэффициент упругости (коэффициент ригидности или модуль Юнга) мембраны эритроцитов в норме равен 1,4–1,7 кПа [1], при этом, по данным другой работы [3], ригидность в центре и на краю эритроцита отличается на 25–40%. Прямое наблюдение методами АСМ тонкой структуры филаментной сети мембраны эритроцита позволило определить размер её ячеек в диапазоне 50–70 нм [5]. 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 [6–8].

Настоящая статья посвящена применению генетического алгоритма к численному расчету оптимизации формы эритроцитов с целью оценки их упругих и морфологических свойств, а также проверки модели на

экспериментальных данных, полученных атомно-силовой микроскопией.

1. Модель эритроцита

На основе имеющихся данных о линейных размерах и физических константах эритроцита в пакете Comsol Multiphysics была построена осесимметричная конечно-элементная модель (рис. 1). Данный пакет моделирования решает системы нелинейных дифференциальных уравнений в частных производных методом конечных элементов в одном, двух и трех измерениях. В модели геометрия эритроцита задается фигурой вращения в цилиндрических координатах вокруг прямой $r = 0$, где ось r является осью абсцисс, а ось z – ординат. Верхняя граница области представляет собой три последовательно соединенные кривые Безье третьего порядка, каждая из которых представляется в виде:

$$\mathbf{B}(t) = (1-t)^3 \mathbf{P}_0 + 3t(1-t)^2 \mathbf{P}_1 + 3t^2(1-t) \mathbf{P}_2 + t^3 \mathbf{P}_3, \quad t \in [0; 1],$$

где \mathbf{P}_0 , \mathbf{P}_1 , \mathbf{P}_2 и \mathbf{P}_3 – опорные точки, задающие координаты и направление кривой,

а параметр t задает координаты точек на кривой.

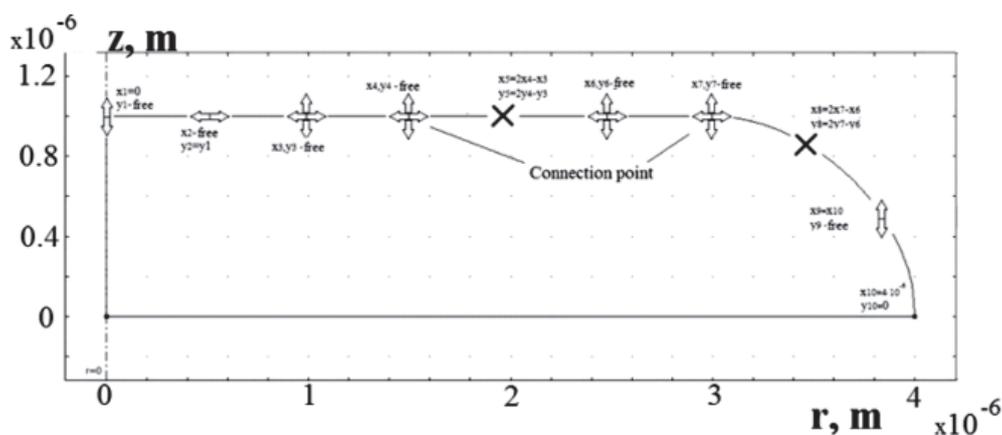


Рис 1. Геометрия модели эритроцита, заданной в цилиндрических координатах последовательно соединенными кривыми Безье

Точки, определяющие кривые Безье, задаются по разному. Некоторые точки имеют две степени свободы и перемещаются в двух независимых направлениях, некоторые – только в одном направлении. Направления перемещения точек в процессе оптимизации показаны на рис. 1 стрелочками, координаты точек под номерами 5 и 8, показанных в виде крестиков, алгебраически определяются из соседних точек для того, чтобы геометрия поверхности была

гладкой. Кроме этого на свободные перемещения точек накладываются естественные ограничения, предупреждающие наложение точек друг на друга и создание пересекающихся граней.

Плотность эритроцита в модели задается равной плотности крови, т.е. $\rho = 10^3$ кг/м³. Поскольку ригидность в центре и на краю эритроцита отличается [3], модуль упругости в модели задается функцией от координаты абсцисс:

$$E_{\text{mod}}(r) = \frac{a(5 \cdot 10^{-6} - r)^3 + 3 \cdot b \cdot r(5 \cdot 10^{-6} - r)^2 + 3 \cdot c \cdot r^2(5 \cdot 10^{-6} - r) + d \cdot r^3}{1,25 \cdot 10^{-16}} 10^3,$$

где параметры a и d задаются таким образом, чтобы ограничить перепад значений функции в пределах от 1,0 до 1,6 кПа для значений $r = [0; 4 \cdot 10^{-6}]$, а параметры b и c определяют изгибы кривой. Кривая является также достаточно гладкой, чтобы при расчете исключить появление изломов поверхности, обусловленных упругостью.

2. Генетический алгоритм расчета оптимизации функционала

Расчет формы и упругих свойств при заданных параметрах производился по следующему алгоритму:

Шаг 1. Описанная модель решается модулем Stress-Strain программного пакета Comsol Multiphysics.

Шаг 2. Экспорт полученной конечно-элементной модели в среду Matlab в виде скрипта.

Шаг 3. Расчет функционала оптимизации в среде Matlab по формуле:

$$F = \frac{V}{S} \cdot W,$$

где V – объем фигуры вращения; S – ее площадь; W – интеграл по объему потенциальной энергии деформации, который рассчитывается в предположении, что сжатие происходит по линейному закону.

Шаг 4. Оценка функционала и выбранных параметров с точки зрения минимальной потенциальной энергии деформации и наибольшего соотношения площади фигуры к ее объему. Таким образом, отбираются параметры, при которых F принимает минимальное значение.

Шаг 5. Запуск модуля OptimTool пакета Matlab для генерации следующего поколения параметров оптимизации.

Шаг 6. Возврат к шагу 1, если не выполнены условия остановки алгоритма.

На первых шагах алгоритма определяются механические напряжения и деформации тела, его линейные размеры, а также его внутренняя потенциальная энергия деформации. На верхнюю границу эритро-

цита действует равномерно распределенное давление, значение которого задается параметром, в нашем случае, изменяемом в диапазоне от 500 до 2000 Па. Для автоматического запуска алгоритма расчета в среде Comsol Multiphysics конечно-элементная модель экспортируется в программную среду Matlab в виде скрипта. Экспорт обусловлен необходимостью непосредственного доступа к координатам ряда точек кривых Безье для возможного изменения формы расчетной области, а также возможностями оптимизационных модулей Matlab.

На третьем и четвертом шагах алгоритма происходит оценивание функционала модели с точки зрения минимальной потенциальной энергии деформации и наибольшего соотношения площади фигуры к ее объему. На пятом и шестом шагах происходит расчет функционала и его оценка с точки зрения эффективности выбранных параметров. При этом в модуле OptimTool пакета Matlab происходит генерация новых поколений путем скрещивания наиболее эффективных поколений предыдущей итерации цикла. В случае, если число поколений превысило наперед заданную величину, алгоритм останавливается. Выбор числа поколений определяется из соображений эффективности расчета и их сложности. Расчет производился при помощи генетического алгоритма до тех пор, пока изменения в следующем поколении в функционале F не стали менее 2–3%. Как правило, для этого было необходимо более 100 поколений.

3. Результаты расчета оптимизации формы эритроцита

На рис. 2 представлена зависимость модуля упругости E_{mod} мембраны от расстояния до центра эритроцита, построенная по оптимизированным параметрам b и c . Видно, что зависимость имеет два участка – до 2 мкм резкое увеличение модуля и после 2 мкм плавное увеличение, что может быть связано с морфологией эритроцита, представленной на рис. 3.

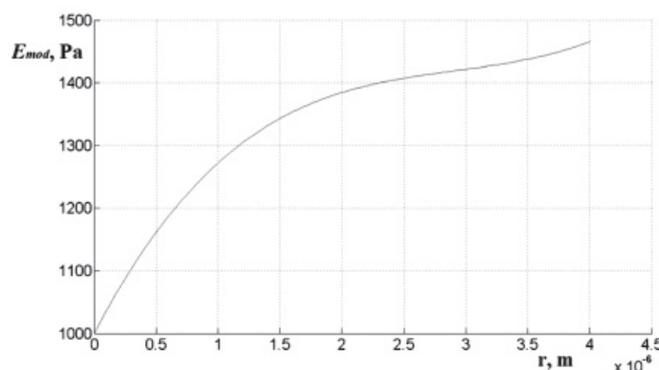


Рис. 2. Зависимость модуля упругости мембраны от расстояния до центра эритроцита

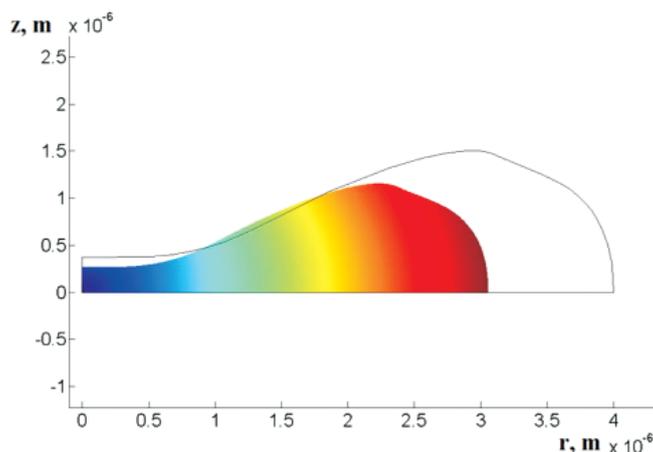


Рис. 3. Морфология эритроцита в соответствии с расчетами по оптимизации в отсутствии давления (контур) и при давлении 2000 Па (заливка)

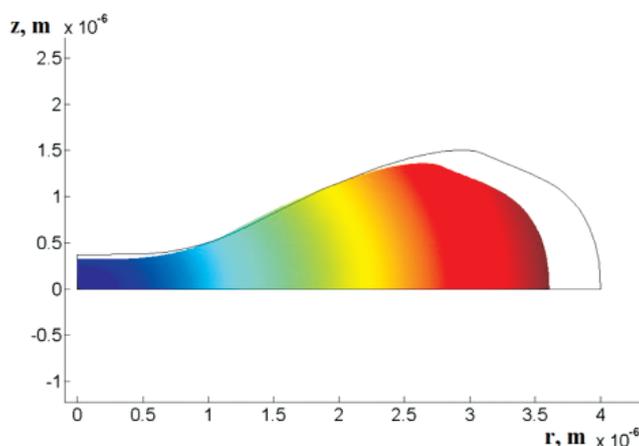


Рис. 4. Морфология эритроцита в соответствии с расчетами по оптимизации в отсутствии давления (контур) и при давлении 500 Па (заливка)

Из рис. 3 видно, что расчетная форма близка к форме эритроцита как по размерам в длину (5–7 мкм) и высоту (2–3 мкм), так и по морфологии. Несколько отличий можно увидеть в расчетной форме эритроцита. Так, участок в районе 2,2–2,4 мкм (3–3,2 мкм для контура) имеет перегиб, не связанный с упругими характеристиками мембраны. Для проверки наличия этого перегиба были проведены дополнительные расчеты, и количество поколений увеличено в 5–10 раз для различных давлений. Как показал расчет, во всех случаях перегиб оставался.

Для объяснения этого феномена обратимся за результатами работы [9], в которой изучалось влияние вирусов гриппа на тонкую структуру мембраны эритроцитов или спектринный мембранный скелет. В частности оказалось, что воздействие вирусов влияет на мембрану эритроцитов и происходит размытие мембранного скелета. В результате появляются кластеры, регулярно наблюдающиеся на краю эритро-

цитов, взаимодействовавших с вирионами, и не наблюдающиеся на нативных клетках. Авторы работы [9] не могут указать причины появления кластеров, однако их можно соотнести с нашими результатами и связать с перегибом в районе 2,2–2,4 мкм (см. рис. 3) и 2,6–2,8 мкм (рис. 4), если предположить, что кластеры существуют в эритроцитах в любом состоянии, но проявляются только при воздействии вирусов. Таким образом, косвенно можно соотнести результаты расчета с экспериментальными данными атомно-силовой микроскопии.

Наиболее интересным представляется сравнение морфологии эритроцита, полученной в результате расчета и по данным АСМ. Для этого приведем данные АСМ для нормальных эритроцитов, не подвергнутых каким-либо воздействиям. На рис. 5 представлен поперечный разрез эритроцита в норме, полученного полуконтактным методом АСМ.

Сравнение форм эритроцитов, по данным атомно-силовой микроскопии и рас-

четной модели, 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 два эффекта, изменяющие форму эритроцита. Во-первых, это прилипа-

ние мембраны эритроцита на подложку и связанное с этим «растекание» с видимым 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 осажденного на подложку.

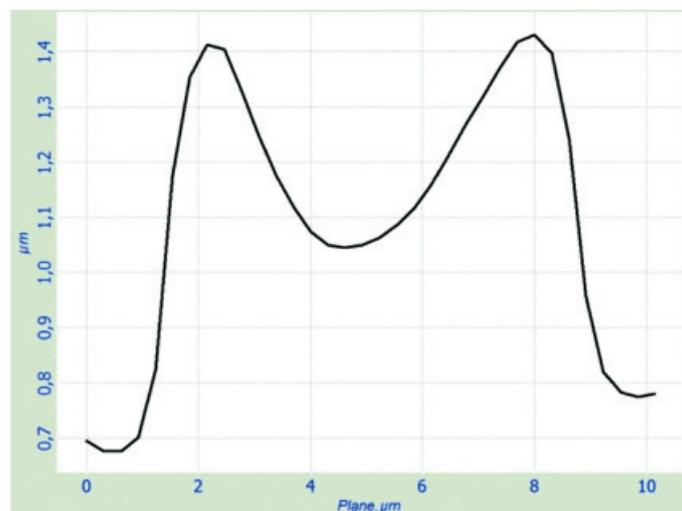


Рис. 5. Поперечный разрез эритроцита в норме, полученного полуконтактным методом атомно-силовой микроскопии

С учетом сделанных замечаний проведено сравнение морфологии эритроцитов, полученной в расчетах и при измерении методами АСМ. На рис. 5 представлен эритроцит в норме, имеющий глубину впадины 0,4 мкм, диаметр 7–8 мкм и ширину 0,7 мкм. Необходимо отметить, что ширина эритроцита в АСМ существенно занижается из-за высыхания и процесса измерения, в котором на эритроцит оказывается механическое воздействие. В результате наблюдаемый объем и толщина эритроцита уменьшаются в несколько раз.

Данной форме соответствует модель эритроцита, представленная на рис. 3, с глубиной впадины, равной 1,4 мкм, диаметром 6 мкм, шириной 2 мкм. Поскольку модель не учитывает процессы адгезии и прилипания эритроцита к поверхности, происходящие при измерении методами АСМ, данные в расчетах отличаются от данных АСМ. При этом в расчете и эксперименте АСМ сохраняются пропорции, например, отношение длины от центра эритроцита до его вершины к расстоянию от вершины до края в обоих случаях равно 3 к 1 (см. рис. 3 и 4).

Необходимо сделать несколько замечаний по модели и сравнению полученных расчетных данных с экспериментальными. Модель эритроцита исходит только из предположения о зависимости упругости

мембраны от расстояния до центра, на основании проведенных расчетов видно, что модель на качественном уровне описывает изменение морфологии в зависимости от состояния мембраны.

Предположение о зависимости упругости мембраны от расстояния до центра, положенное в основу модели, имеет, с одной стороны, экспериментальное подтверждение в ряде работ по атомно-силовой микроскопии [1, 3], 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 [2, 9], 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 модели стоит задача определения изменений тонкой структуры мембраны по поверхности эритроцита с удалением от его центра, с другой стороны, изменение концентрации белка полосы 3.

Заключение

В работе рассматривается модель эритроцита, позволяющая рассчитать упругие свойства мембраны и его морфологию. Поскольку известно, что эритроцит состоит из гемоглобина, его можно представить как однородное упругое тело. При этом из экспериментальных данных атомно-силовой микроскопии известно [2, 3], что упругость мембраны зависит от расстояния до центра симметрии эритроцита. В опоре на два этих факта в предложенной модели проводится оптимизация функционала, учитывающего минимум энергии деформации и максимальное соотношение площади к объему. При этом расчет энергии деформации проводился методом конечных элементов. Сравнение расчетных данных с данными атомно-силовой микроскопии позволило сделать вывод о состоятельности модели. Можно предположить, что изменение упругих свойств является следствием зависимости тонкой структуры цитоскелета мембраны от расстояния до центра эритроцита, что может быть связано с концентрацией белка полосы 3 или с размерами ячеек филаментной сети.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы (соглашение № 14.В37.21.0228).

Список литературы

1. Влияние фемтосекундного лазерного излучения на эритроциты IN VITRO / Д.П. Арсланова, Т.В. Абакумова и др. // Лазерная медицина. – 2011. – Т.15. – № 2. – С. 215–215.
2. Гуцина 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.
3. 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.
4. Физиология человека: учебник / под ред. В.М. Покровского, Е.Ф. Коротко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2007. – 656 с.

5. Asghari-Khiavi M., Wood B.R., Mechler A., Bambery K.R., Buckingham D.W., Cooke B.M. and McNaughton D. Correlation of atomic force microscopy and Raman microspectroscopy to study the effects of ex vivo treatment procedures on human red blood cells // Analyst. – 2010. – № 135. – P. 525–530.

6. Dulińska I., Targosz M. et al. Stiffness of normal and pathological erythrocytes studied by means of atomic force microscopy // J Biochem Biophys Methods. – 2006 Mar 31. – № 66(1–3). – P. 1–11.

7. Nowakowski R., Luckham P. Imaging the surface details of red blood cells with atomic force microscopy // Surface and Interface Analysis. – 2002. – Vol. 33, Issue 2. – P. 118–121.

8. O'Reilly M., McDonnell L., O'Mullane J. Quantification of red blood cells using atomic force microscopy // Ultramicroscopy. – 2001. Jan. – № 86(1–2). – P. 107–12.

9. Zaitsev B.N., Durymanov A.G., Generalov V.M. Atomic Force Microscopy of the Interaction of Erythrocyte Membrane and Virus Particles. Proc. Intern. Workshop «Scanning Probe Microscopy-2002», – P. 211–213. Nizhny Novgorod, 03.03–06.03.2002.

References

1. Arslanova D.R., Abakumova T.V. i dr. Vliyanie femtosekundnogo lazernogo izlucheniya na eritrotsity IN VITRO // Lazernaya meditsina, 2011. T.15. no. 2. pp. 215–215.

2. Gushchina Yu.Yu., Pleskova S.N., Zvonkova M.B. Issledovanie razlichiy morfologicheskikh parametrov kletok krovi cheloveka metodom skaniruyushchey zondovoy miksroskopii // Poverkhnost'. Rentgenovskie, sinkhrotronnye i neytronnye issledovaniya, 2005. no. 1. pp. 48–53.

3. Dрозд Е.С., Чижик С.А., Константинова Е.Э. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов // Rossiyskiy zhurnal biomekhaniki, 2009. T.13. no. 4 (46). pp. 22–30.

4. Fiziologiya cheloveka: uchebnik/pod red. V.M. Pokrovskogo, E.F. Korot'ko.-2-e izd., pererab. i dop. M.: «Meditsina», 2007. 656 p.

5. Asghari-Khiavi M., Wood B.R., Mechler A., Bambery K.R., Buckingham D.W., Cooke B.M. and McNaughton D. Correlation of atomic force microscopy and Raman microspectroscopy to study the effects of ex vivo treatment procedures on human red blood cells // Analyst, 2010. 135. 525–530.

6. Dulińska I., Targosz M. et al. Stiffness of normal and pathological erythrocytes studied by means of atomic force microscopy // J Biochem Biophys Methods, 2006 Mar 31. 66(1–3):1–11.

7. Nowakowski R., Luckham P. Imaging the surface details of red blood cells with atomic force microscopy // Surface and Interface Analysis, 2002. Vol. 33, Issue 2. 118–121.

8. O'Reilly M., McDonnell L., O'Mullane J. Quantification of red blood cells using atomic force microscopy // Ultramicroscopy, 2001. Jan. 86(1–2):107–12.

9. Zaitsev B.N., Durymanov A.G., Generalov V.M. Atomic Force Microscopy of the Interaction of Erythrocyte Membrane and Virus Particles. Proc. Intern. Workshop «Scanning Probe Microscopy-2002», pp. 211–213. Nizhny Novgorod, 03.03–06.03.2002.

Рецензенты:

Потатуркина-Нестерова Н.И., д.м.н., профессор ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;
Мельников Б.Ф., д.ф.-м.н., профессор ФГБОУ ВПО «Тольяттинский государственный университет», г. Тольятти.

Работа поступила в редакцию 15.01.2013.