

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК · УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ  
ИНСТИТУТ ФИЗИКИ МЕТАЛЛОВ

*А.В. Кобелев, Л.Т. Смолюк, Р.М. Кобелева, Ю.Л. Проценко*

**НЕЛИНЕЙНЫЕ ВЯЗКОУПРУГИЕ  
СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ТКАНЕЙ**

Екатеринбург · 2012

УДК: 577.35

ББК 28.901+28.91

К55

*Рецензент* член-корр. РАН А.Б. Борисов

*Ответственный редактор* член-корр. РАН В.С. Мархасин

К55

Кобелев А.В., Смолюк Л.Т., Кобелева Р.М., Проценко Ю.Л. **Нелинейные вязкоупругие свойства биологических тканей.** Екатеринбург: УрО РАН, 2012.- С.

ISBN 978-5-7691-2276-7

В книге рассмотрены особенности строения биологических тканей и методы исследования их вязкоупругих свойств. Представлены механические модели препаратов миокарда как типичной биологической ткани с нелинейной зависимостью напряжения от деформации. Характерный для ткани эффект её «ужесточения» с ростом деформации описан в рамках модельных пространственных структур, составленных из линейных упругих и вязких элементов. Принятая топология моделей в целом соответствует строению базовых структурных элементов биологических тканей. Адекватность предложенного описания подтверждается хорошим совпадением предсказанных теоретически и полученных из экспериментов статических зависимостей «напряжение – деформация», кривых гистерезиса при циклическом растяжении, кривых релаксации напряжения при ступенчатой деформации и кривых ползучести.

Книга может быть полезна при изучении вязкоупругих характеристик биологических тканей в курсе лекций по биомеханике и биофизике в университетах естественнонаучного и медицинского профиля, а также при интерпретации биомеханических испытаний мягких тканей.

УДК: 577.35

ББК 28.901+28.91

ISBN 978-5-7691-2276-7

© РИО УрО РАН, 2012

## ПРЕДИСЛОВИЕ ОТВЕТСТВЕННОГО РЕДАКТОРА

---

Своеобразное строение (морфология) живых мягких тканей определяет их механические свойства. Обычно последние исследуются с помощью стандартных методик механических испытаний промышленных твёрдых искусственных материалов, таких как металлы, керамика, пластмассы, резина и т.п. Методы теории упругости и вязкости, разработанные, например, для описания пластического течения металлов, оказываются в данном случае не совсем удобными и обычно применяются при биомеханическом моделировании костной ткани, суставов и связок, в то время как для мягких биологических тканей таких работ недостаточно. Поэтому необходимы простые и доступные неспециалистам теоретические подходы, позволяющие понять специфику образцов мягких тканей и приблизиться к адекватному представлению связи между их морфологическим строением и механической функцией.

Разработанные и представленные в настоящей книге механические модели тканей систематизированы как по их структуре, так и по доступности аналитического решения. Фактически речь идет о возможности выбора модели с наиболее оптимальным соответствием её функции отклика имеющимся экспериментальным данным. Таким образом, могут быть получены определенные заключения о возможном строении сетки рабочих элементов ткани, ответственных за то или иное поведение при механических испытаниях.

## ВВЕДЕНИЕ

---

Термин «нанотехнологии», в соответствии с первоначальным смыслом, относится не к технологии производства наноматериалов, а к перенесению технологии на наноуровень. В тех пространственных масштабах, в которых существует человек, осуществить этот перенос в науке и технике только пробуют, однако нанотехнологии уже давно и успешно действуют в живой природе. По мнению многих исследователей для решения этой задачи в дальнейшем придётся научиться понимать в деталях механизмы, созданные и функционирующие в живой природе, чтобы сначала скопировать, а потом, может быть, и превзойти её. При этом возможен подход к исследованию как со стороны «химических» масштабов десятых долей нанометра, так и со стороны микронных масштабов биологических молекулярных систем.

Материаловедение развивается в сторону всё более мелких (nano) масштабов и композитных материалов. С точки зрения материаловедения необходимо понять, какова структура биологических материалов. Сердечная мышца, миокард, а более конкретно, папиллярная мышца сердца, в этом смысле является модельным и эталонным материалом. С точки зрения физиологии миокард обладает уникальными свойствами: на протяжении жизни организма он подвергается постоянным значительным деформациям, сохраняя при этом, наряду с высокой пластичностью адаптационных свойств, стабильность структуры, физиологические и вязкоупругие характеристики. Поэтому логично рассматривать моделирование вязкоупругих свойств папиллярной мышцы в пассивном состоянии, без учёта её способности генерировать силу, в качестве важного этапа на пути решения этой задачи, не забывая об общности применяемого подхода.

В последние десятилетия многие исследователи пытались применить аппарат теории упругости к мышце, как к материалу, используя приближение сплошной среды. Были сформулированы уравнения для композитной среды с

армирующим соединительнотканным каркасом, заполненным контрактильными волокнами, организованными в протяженные образования мышечной ткани. Такая композитная среда демонстрирует анизотропное и нелинейное вязкоупругое поведение, к тому же усугублённое необходимостью учитывать действие активных элементов, генерирующих силу. Второе направление моделирования – это вывод уравнений, описывающих упругие и вязкие характеристики пористой среды, содержащей межклеточные жидкие компоненты, способные при деформации с изменением объёма как «выжиматься», так и обратно «впитываться» в поры. Однако, как количество таких уравнений, так и сложность их структуры, даже при современной вычислительной мощности, не позволяют пока надеяться на получение практических результатов. Не удовлетворяют задаче чёткого выявления механизмов нелинейности упругих и вязких свойств биологических сред и традиционные подходы к моделированию в механике сплошных полимерных и резиноподобных сред, связанные с записью функционалов истории деформирования и приближенной оценке их ядер исходя из некоторых общих требований [1].

В последнее время появились попытки обосновать новый подход в механике биологических тканей, основанный на концепции «ортотропного материала» [2]. Предполагается, что в отличие от изотропных сред, упругие свойства таких материалов описываются девятью материальными параметрами. При этом нелинейность вводится не за счёт инвариантов более высокого (четвертого) порядка, как это принято обычно, а полагая свободную энергию экспоненциальной (или какой-то другой) функцией квадратичных инвариантов. При этом понятна произвольность такого приёма, рассчитанного на получение заранее требуемых результатов при сравнении с данными по нелинейным статическим эффектам. Морфологическое строение моделируемой ткани учитывается за счёт выбора зависимости направления волокон и расположения слоёв для заданной

формы объекта. Такой подход не даёт возможности объяснить многие интересные особенности и неприемлем вследствие своей сложности (при, казалось бы, достаточной универсальности), тем более что он сопровождается отказом от учёта вязкости и сжимаемости материала. Для миокардиальной ткани, как хорошо известно, частоты релаксации напряжения одного порядка с частотой сердечного ритма, а её структура весьма близка к пористой, применительно к которой, вследствие «выталкивания» жидкого компонента, понятие сжимаемости необходимо существенно изменить. Для верификации модели ортотропного материала в этих работах обычно используются экспериментальные данные по зависимости статических сдвиговых деформаций от напряжения, при этом выпадает обширный пласт данных по гистерезису, релаксации напряжения и ползучести. Вязкоупругие свойства миокардиальной ткани на основе модели пористой композитной среды рассмотрены в небольшой группе работ [3], [4].

В книге использован альтернативный подход, отличающийся от приближения сплошной среды, и восходящий к пионерским реологическим моделям Максвелла и Кельвина-Фойгта. По сути дела, такой подход является в большой степени феноменологическим и хорошо описывает механические функции отклика среды на одноосную деформацию. В то же время, от него нельзя требовать точного совпадения строения модели и морфологии материала, хотя, безусловно, имеется определённое сходство структуры модели со строением базовой функциональной морфологической единицы ткани. Этот подход, на наш взгляд, может быть легко совмешён с теорией пористой вязкоупругости при описании процессов вязкого гистерезиса и релаксации напряжения за счёт фильтрации межклеточной жидкости.

Имеются, по-видимому, две отличительные особенности материала мышц, являющиеся общей «родовой чертой» практически для всех биологических тканей. Это нелинейность статической кривой «напряжение –

деформация» в виде эффекта «ужесточения» ткани с повышением уровня деформации и зависимость времени релаксации напряжения, а именно, его увеличение с ростом деформации. Эти особенности ткани играют ключевую роль в её устойчивости при экстремальных нагрузках и выработаны природой в результате длительной эволюции. При моделировании вязкоупругих свойств миокарда мы не пошли по прямолинейному пути с помощью предположений о зависимости материальных параметров (жёсткости и вязкости) от деформации. Мы показали, что эти эффекты воспроизводятся в моделях с линейными (гуковскими и ньютоновскими) элементами при изменении геометрии модели за счёт простой физической причины, а именно, различной степени вовлечённости жёстких и вязких элементов при малых и больших степенях деформации. Вначале работают более мягкие, а затем, более жёсткие элементы ткани. Здесь имеется некоторая аналогия с процессом растяжения гибкой сетчатой оплётки, когда высокая податливость на ранних этапах продольного растяжения сменяется жёстким режимом по мере достижения эффекта «схлопывания» ячеек.

Найдена эмпирическая формула для временной зависимости релаксации напряжения в виде экспоненты от квадратного корня из времени. Такие зависимости характерны для сред с фрактальным строением и дробной размерностью производных, к которым, вероятно, относится и мышечная ткань, но здесь мы не будем касаться этого обширного вопроса, оставаясь в рамках линейной теории и учитывая лишь «структурную» геометрическую нелинейность. Учёт последней, даже самой по себе, даёт неплохое согласие с экспериментальными данными, как в части функциональной зависимости напряжения от времени, так и для увеличения времени релаксации с ростом деформации.

В книге пойдёт речь об исследовании и моделировании сплошных макроскопических биологических сред, однако определяющим является то, что они обладают внутренней структурой. Под структурой здесь понимается

не атомная кристаллическая, а структура более высокого, «надмолекулярного» уровня. С некоторыми оговорками к таким средам относят композитные материалы, резины, или определенного типа полимеры. Если ограничиться, например, только механическими свойствами, и более точно, одноосными деформациями, то эти среды можно характеризовать не одним, а несколькими модулями Юнга, и несколькими временами релаксации, т.е. параметрами внутренней вязкости.

Согласно принципам нелинейной динамики, такая система должна описываться минимальным числом переменных, например, деформациями некоторых упругих элементов, и так как учитывается вязкость, то и их производными по времени, поскольку ньютоновская вязкая сила пропорциональна скорости деформации. Эти упругие и вязкие элементы между собой соединяются в виде некоторой пространственной схемы (или «элементарной ячейки» такой структуры). Так как в динамические уравнения входят тригонометрические функции угла, определяющего взаимное положение элементов, то связь получается нелинейной. В итоге среда описывается системой обыкновенных нелинейных дифференциальных уравнений относительно деформаций и их производных. Если уравнения можно разрешить относительно производных, то система уравнений решается стандартными численными методами. Эта система уравнений представляет математическую модель, описывающую вязкоупругие свойства рассматриваемой мышечной среды. В результате решения получается функция отклика, например, напряжение при заданной внешней деформации, или наоборот, деформация при заданной нагрузке.

Следует сказать, что такой подход к описанию нелинейных систем носит название «кинематической интерпретации» и описывает эволюцию, не обязательно механических, переменных, полностью характеризующих состояние системы. Например, знаменитая система уравнений Лоренца, который открыл странный аттрактор, имеет подобное строение, но,

естественно, с другой нелинейностью, происходящей из задачи о нагреве атмосферы.

Задачей верификации модели является определение «рабочих» значений параметров, используя при этом имеющиеся экспериментальные данные. Предлагаемые модели применимы для описания биологических мягких тканей, например, мышцы, и конкретно, такого «одноосного» объекта, как папиллярная мышца сердца. В Институте иммунологии и физиологии УрО РАН специально сконструирована компьютеризированная микромеханографическая установка для механических испытаний биологических тканей. Используя её возможности, на папиллярных мышцах млекопитающих снимают статические кривые «деформация-напряжение», кривые гистерезиса, кривые релаксации напряжения при ступенчатой деформации, которые используют при выборе параметров той или иной модели.

Новизна предлагаемого подхода к описанию вязкоупругих свойств биологических тканей определяется следующим обстоятельством. Имеется много моделей, объединяющих свойства твёрдых упругих и жидких вязких тел, начиная с первых двойных блоков Максвелла, Кельвина-Фойгта, далее трёх- и четырёхэлементные модели Бюргерса-Френкеля, и т.д. Все эти модели при описании одноосных деформаций используют одномерные конструкции. В данном случае используются пространственные схемы («графы»), позволяющие за счёт новых геометрических степеней свободы учесть ранее не описываемые нелинейные явления, присущие этим средам. Например, зависимость времени релаксации напряжения при ступенчатой деформации от уровня текущей деформации, т.е. от «номера ступени».

В первой главе приведены основы теории упругости, которые необходимы для дальнейшего понимания рассматриваемого подхода к моделированию вязкоупругих характеристик биологических тканей.

Даются основные определения механических переменных, используемых в книге для описания упругих и вязких явлений при одноосной деформации, и приводятся наглядные механические аналоги используемых далее первичных элементов моделей: упругих пружин и вязких демпферов.

Сведения о строении биологических мягких тканей приведены во второй главе и дают представление о многообразии структур на макроскопическом уровне, выработанных природой для выполнения живой тканью тех или иных, в том числе и механических, функций. Во многих случаях для ткани характерно свойство модульности строения, а в некоторых и фрактальности, т.е. повторения структуры на различных иерархических уровнях, что существенно упрощает задачу определения связи между структурой и механическими свойствами материала.

Глава 3 посвящена изложению экспериментальных методов измерения вязкоупругих свойств тканей и отдельных белковых молекул с использованием как прямого механического воздействия, так и косвенно, при возбуждении ультразвука, магнитного резонанса и других способов.

Глава 4 посвящена анализу исторически пионерских исходных моделей для описания вязкоупругих особенностей материалов, которым присущи свойства как упругих твёрдых тел, так и текучих вязких жидкостей. Обсуждается вопрос о соответствии первичных элементов моделей и их простейших соединений реально существующим в тканях морфологическим структурам на основе протяженных белковых молекул и волокон. Исходные одномерные модели и их многоэлементные обобщения до настоящего времени служат в качестве основного аппарата теории вязкоупругости. Затем даются описания двумерных моделей, разделенных на две группы: «ромбического» типа и типа «параллелограмма», используемых при описании нелинейных явлений. Выводятся исходные уравнения для определения функций отклика при задании внешней деформации и при

задании нагрузки. Проводится классификация систем уравнений моделей, для которых возможно приведение к стандартному виду для использования численных методов решения. Рассмотрены получающиеся в результате статические кривые «сила-деформация», квазистатические кривые гистерезиса, кривые релаксации напряжения при ступенчатой деформации, кривые ползучести при задании прямоугольных импульсов нагрузки, эволюция кривых гистерезиса. Следующий раздел главы посвящен верификации двумерных моделей на основе полученных экспериментальных данных. И в заключительном разделе главы разработан трёхмерный вариант модели фасцикулы с привлечением широко применяемого для описания вязкоупругих свойств волокон тайтина приближения «червеобразной цепи» (WLC). Описано объёмное (3D) обобщение модели фасцикулы миокарда, позволившее более точно провести сопоставление полученных результатов статических и релаксационных испытаний с предсказаниями теории.

В заключительной пятой главе изложены основные результаты по изучению вязкоупругих свойств папиллярных мышц, полученные в лаборатории биологической подвижности Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН. Проведён анализ собственных экспериментальных результатов по биомеханическим испытаниям папиллярных мышц крысы и проведена верификация трёхмерной модели фасцикулы миокарда. В заключительном разделе главы приведены результаты численных экспериментов по моделированию неоднородности вязкоупругих характеристик миокардиальной ткани и показано, что неоднородность биомеханических характеристик сегментов стенки сердца играет существенную роль в определении вязкоупругих характеристик миокардиальной ткани.

Таким образом, в книге изложен новый подход к моделированию вязкоупругих характеристик ткани миокарда, т.е. мышечной оболочки камер сердца. В качестве репрезентативного образца миокардиальной ткани

выбрана фасцикула. Это элементарная морфологическая структура миокарда, в которой представлен минимальный набор всех элементов ткани. Она состоит из нескольких сотен кардиомиоцитов, окруженных соединительно-тканной оболочкой, а несколько фасцикул образуют сосочковую (папиллярную) мышцу сердца. Папиллярная мышца представляет собой относительно изолированный объект в полости камер сердца, и все компоненты папиллярной мышцы четко определены морфологически. Они могут быть сгруппированы в продольные, поперечные и наклонные элементы в соответствие с направлениями их соединений. На уровне фасцикулы наклонные и продольные элементы представляют собой совокупность внутренних волокон соединительной ткани и окружающей оболочки. Поперечные элементы представляют межклеточные белковые волокна, а внеклеточная жидкость обеспечивает вязкость.

Эти свойства характерны для большинства живых мягких тканей. Для того чтобы описать нелинейные статические кривые «напряжение-деформация», квазистатические петли гистерезиса совместно с неэкспоненциальной временной зависимостью релаксации и ползучести в разных биологических тканях, мы предлагаем ряд пространственных конструкций с различной структурой, составленных из линейных упругих и вязких элементов. Определены функции отклика напряжения для этих моделей на одноосное ступенчатое или импульсное внешнее растяжение. Найден обратный отклик для продольного смещения на внешнюю нагрузку при импульсной форме зависимости напряжения от времени. Значения упругих модулей и вязких коэффициентов оценены при сравнении теоретических кривых релаксации, ползучести и восстановления с экспериментальными данными. Последние получены на различных объектах, на мышцах в пассивном состоянии (ответ релаксации) и на клетках эндотелия (ответ ползучести).

До сих пор анализ зависимостей «пассивное напряжение-деформация» для сердечной мышцы, как правило, основывается на одноосных реологических моделях. Иными словами, поперечные деформации не учитываются. Впервые роль вклада поперечных деформаций в происхождении нелинейных зависимостей «сила-длина» для препаратов изолированного миокарда была отмечена авторами в 2001 г., когда были предложены двумерные топологические модели, в которых эффект «развертывания» при деформации играет важную роль [5]. Возможность адекватного описания статических зависимостей «пассивное напряжение - деформация», гистерезиса и релаксации напряжения для папиллярной мышцы была исследована с помощью классических линейных упругих элементов, объединённых в структуру, подобную структуре фасцикулы миокарда [6], [7], [8]. В дальнейшем предложенная концепция двумерных топологических моделей была обобщена на трёхмерный случай [9]. Проведен анализ и статических, и динамических вязкоупругих характеристик папиллярной мышцы в рамках трёхмерной структурно-функциональной модели.

В рамках предложенной модели было показано, что достаточно реалистично предположение о том, что морфологические элементы миокарда с различными значениями линейной жёсткости работают в различных диапазонах физиологических деформаций. Это связано с упомянутым геометрическим эффектом, наряду с эффектом изменения длины отдельного волокна. Есть основания предполагать, что представленные пространственные модели, по-видимому, имеют довольно общий характер, чтобы описать нелинейные свойства релаксации и ползучести, которые отсутствуют в традиционно используемых одномерных моделях.

# Глава 1. ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ ТЕОРИИ УПРУГОСТИ В ПРИМЕНЕНИИ К МЯГКИМ ТКАНЯМ

---

Биологические ткани являются к конденсированным средам и с точки зрения материаловедения их можно отнести к композитным материалам, содержащим твёрдые вещества и жидкости как компоненты. Фундаментальные механические свойства, определяющие их функциональность, это упругость и вязкость.

Базовые сведения из механики конденсированных сред, как твёрдых, так и жидких, можно найти в специальных руководствах по теории упругости и вязкости (см., например, в [1]). Здесь мы кратко остановимся на особенностях использования основных понятий механики, применительно к биологическим мягким тканям, составляющим предмет рассмотрения настоящей книги.

## 1.1. МЕХАНИЧЕСКОЕ НАПРЯЖЕНИЕ

Мерой внутренних сил, возникающих в материале при реакции на внешние механическое воздействие, служит напряжение. В подавляющем большинстве случаев для выяснения специфики механического поведения однородного материала используется внешняя сила, направленная вдоль одного направления, например при одноосном растяжении. В биомеханике биологических мягких тканей и в частности миокарда важную роль играют осевые нагрузки. Рассмотрим стержень, изображенный на рис. 1.1А. Выделим в плоскости поперечного сечения стержня элементарную площадку площадью  $\Delta S$ . При растяжении стержня на эту площадку со стороны верхней части стержня будет действовать внутренняя сила  $\Delta F$ , препятствующая растяжению. Среднее напряжение, действующее на

рассматриваемую площадку, определяют как отношение  $\frac{\Delta F}{\Delta S}$ , а истинное напряжение в точке определяют как:

$$\sigma = \lim_{\Delta S \rightarrow 0} \frac{\Delta F}{\Delta S} \quad (1.1)$$

Для образцов биологических тканей поперечное сечение обычно не постоянно, и соответственно, напряжение различно по длине образца. Кроме того, при растяжении образца площадь его поперечного сечения изменяется. Условное напряжение по Коши  $\sigma^{(C)}$  определяется, как отношение нагрузки к площади поперечного сечения в недеформированном состоянии. Истинное напряжение по Эйлеру  $\sigma^{(E)}$  определяется, как отношение нагрузки к площади сечения, которую имеет образец при этой нагрузке:

$$\sigma^{(C)} = \frac{F}{S_0}, \quad \sigma^{(E)} = \frac{F}{S} \quad (1.2)$$

Истинное напряжение используют в случае больших деформаций биологических тканей, как например, для сердечной мышцы. Воспользовавшись условием, что материал несжимаем, т.е.  $S_0 \cdot l_0 = S \cdot l$ , и определением степени растяжения  $\lambda = l/l_0$  (см. следующий раздел), легко установить связь между условным и истинным напряжениями:

$$\sigma^{(E)} = \frac{F}{S} = \frac{F}{S_0} \cdot \frac{l}{l_0} = \sigma^{(C)} \cdot \lambda \quad (1.3)$$

Остановимся кратко на приближённых практических способах определения напряжения при одноосных деформациях. Как правило, в биомеханических экспериментах напряжение в образце в ответ на деформацию считается однородным и определяется, как отношение силы внешней нагрузки к площади поперечного сечения. Напряжённое состояние миокарда в силу его гетерогенной структуры не может быть однородным. В этом случае, разделив внешнюю нагрузку на поперечное сечение препарата, получим некоторое напряжение, усредненное в масштабах, превышающих

размеры отдельных неоднородностей. Обычно это среднее напряжение и используется при изучении механического поведения биологических тканей.

В таблице 1.1 приведены характерные естественные значения напряжения, определенные по Коши и по Эйлеру для кардиомиоцитов [10] и волокон скелетной мышцы [11] в нормальном состоянии.

Таблица 1.1

Характерные значения напряжения

длина саркомера	кардиомиоцит		волокно скелетной мышцы	
	$\sigma^{(E)}$ мН/мм <sup>2</sup>	$\sigma^{(C)}$ мН/мм <sup>2</sup>	$\sigma^{(E)}$ мН/мм <sup>2</sup>	$\sigma^{(C)}$ мН/мм <sup>2</sup>
2,2 мкм	0,83 ± 0,35	0,44 ± 0,16	0,25 ± 0,06	–
2,6 мкм	4,91 ± 2,58	4,50 ± 2,78	1,20 ± 0,36	1,02 ± 0,15

## 1.2. УПРУГАЯ ДЕФОРМАЦИЯ

Изменение размеров и формы тела происходит под действием внешних сил и приводит к его деформации, т.е. изменению взаимного положения частиц тела, связанному с их перемещением друг относительно друга. Выделяют следующие виды деформации: растяжение, сдвиг, всестороннее сжатие, кручение и изгиб (рис. 1.1). Перечисленные виды деформаций идеальные, на практике деформации представляют собой сочетания основных видов в разных пропорциях (например, кручение образца, вызванное моментом сил, также приводит к сдвигу). Рассмотрим деформацию на примере одноосного растяжения (рис. 1.1А).

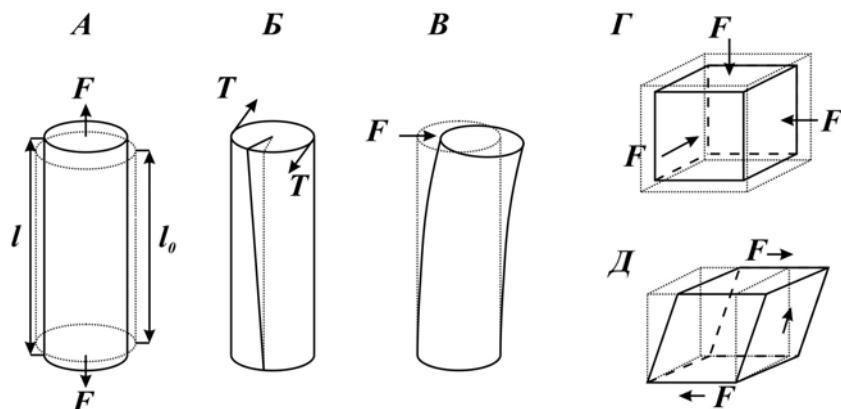


Рис. 1.1. Виды деформаций. А – растяжение; Б – кручение; В – изгиб; Г – всесторонне сжатие; Д – сдвиг.

Зависимость «напряжение – деформация» является одним из способов описания упругих свойств материала. Диаграмма связывает механическое напряжение, которое возникает в материале в ответ на действие внешних сил, и вызванную им деформацию.

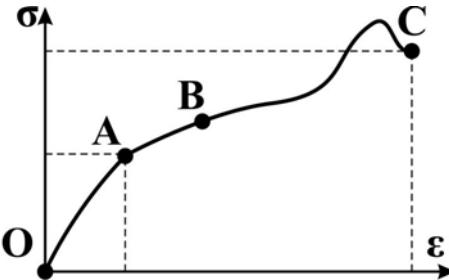


Рис. 1.2. Схематический вид диаграммы напряжений (объяснения в тексте)

Деформации могут носить как обратимый, так и необратимый характер. Обратимые деформации полностью исчезают после снятия нагрузки. Такая деформация называется упругой (участок  $OA$ ). При заданной постоянной нагрузке упругая деформация не зависит от времени. Деформация называется пластической, если после снятия нагрузки она не исчезает. Пластическая деформация характеризуется необратимостью, а её величина при заданной постоянной нагрузке, изменяется во времени (участок  $AB$ ). Упругопластическая деформация после прекращения действия внешних сил исчезает не полностью. Пластическая деформация проявляется существенно, когда напряжение достигает некоторой критической величины (точка  $B$ ). До этого значения напряжения (предела текучести) поведение тела можно считать упругим. Если напряжение (груз) действует долговременно, возникает явление "крипа" (ползучести) материала – медленной необратимой деформации (участок  $BC$ ). Вблизи точки разрушения  $C$  появляется характерный для механических испытаний стержней на разрыв «купол», который объясняется появлением «шейки» и соответствующим увеличением напряжения (предел прочности).

Возможны два типа механических испытаний образца, которые взаимосвязаны функционально. Так, можно применяя усилие, значительно

превосходящее жёсткость материала, задавать деформацию образца и регистрировать развивающееся напряжение. Этот тип испытаний наиболее распространён в биомеханике. Наоборот, задавая постоянное напряжение в образце, например, нагружая образец постоянным грузом, можно регистрировать в нём происходящую деформацию. Более подробно о методах и результатах таких исследований на разных уровнях организации биологических тканей - в следующих главах.

При одноосном растяжении под абсолютной деформацией понимают разность между длиной  $l$  образца в нагруженном состоянии и его начальной длиной при отсутствии нагрузки  $l_0$ :

$$\Delta l = l - l_0 \quad (1.4)$$

Относительная деформация по Коши определяется как:

$$\varepsilon = \frac{l - l_0}{l_0} = \frac{l}{l_0} - 1 \quad (1.5)$$

Деформация по Коши аддитивна в случае последовательных скачкообразных растяжений стержня (на  $\Delta l_1$  и  $\Delta l_2$ ):

$$\varepsilon = \varepsilon_1 + \varepsilon_2 \quad (1.6)$$

где  $\varepsilon_1 = \Delta l_1 / l_0$ ,  $\varepsilon_2 = \Delta l_2 / l_0$ . Для образца, составленного последовательно из двух частей  $l = l_1 + l_2$ , полная деформация определяется парциальными вкладами составляющих:

$$\varepsilon = \frac{l_{10}}{l_0} \varepsilon_1 + \frac{l_{20}}{l_0} \varepsilon_2 \quad (1.7)$$

где  $l_0 = l_{10} + l_{20}$ .

В механике мышц часто используют степень растяжения, определяемую как:

$$\lambda = \frac{l}{l_0} = 1 + \varepsilon \quad (1.8)$$

Величины  $\varepsilon$  и  $\lambda$  являются безразмерными и их применяют для сравнения деформированного состояния образцов различной длины.

Отметим, что в биомеханике используют также деформацию по Лагранжу, т.к. сложно точно определить естественную начальную длину  $l_0$  препаратов в отсутствии нагрузки (напряжения). Деформация по Лагранжу определяется как:

$$\varepsilon = \frac{l - l_p}{l_p} \quad (1.9)$$

где  $l_p$  есть некоторая произвольно выбранная длина препарата. При изучении вязкоупругого поведения мышц, как правило, в качестве такой величины выбирают длину  $l_{\max}$  мышцы, при которой развивается максимальное изометрическое усилие, и длина половины саркомера составляет 1.15 мкм. Этот естественный внутренний характерный размер может быть использован для определения деформации по Лагранжу.

При увеличении длины мышцы, как материала, который можно с большой точностью считать несжимаемым, её поперечные размеры уменьшаются. Для характеристики соотношения между продольными и поперечными деформациями используют коэффициент Пуассона  $\mu_p$ , который определяют как отношение поперечного относительного сжатия  $\varepsilon^\perp$  к продольной деформации  $\varepsilon$ :

$$\mu_p = \frac{\varepsilon^\perp}{\varepsilon} \quad (1.10)$$

Простейшее описание упругой деформации сплошного тела основывается на законе Гука. Длинный бруск с начальной длиной  $l_0$  и поперечным сечением  $S_0$ , которое будем считать неизменным при деформации, силой  $F_e$ , приложенной с торцов, растянем до длины  $l$ . Закон Гука устанавливает пропорциональность абсолютной деформации  $\Delta l = l - l_0$  приложенной силе:

$$\Delta l = \frac{1}{E} \frac{l_0}{S_0} F_e \quad (1.11)$$

где  $E$  – модуль упругости Юнга, по размерности и численно выражаящийся в единицах давления [ $\text{Па}=\text{Н}/\text{м}^2$ ] ( $1 \text{ дин}/\text{см}^2=100 \text{ Па}$ ), которое необходимо приложить для растяжения образца в два раза. В таблице 1.2 представлены значения модуля Юнга. Как видно из сравнения значений модуля Юнга и предела прочности (напряжения разрыва стержня при растяжении), большинство материалов разрушается при очень малых значениях относительной деформации  $\varepsilon$ .

Таблица 1.2

**Значения модуля Юнга некоторых материалов**

Материал	Модуль Юнга, ГПа	Напряжение разрыва, ГПа	Предельное растяжение, %
Углеродное волокно	300	4.0	13
Сталь	200	1.5	8.0
Кевлар	130	3.6	2.7
Латунь	120	0.4	5.0
Резина	0.001	0.05	850
Натуральный шелк	10	1.1	27
Нейлон	5	0.95	18
Шерсть	0.5	0.2	50
Кость	20	0.16	3.0
Коллаген	1.5	0.15	12
Эластин	0.001	0.002	150

В механике биологических мягких тканей приходится рассматривать значительные деформации, сравнимые, например, с техническими деформациями полимеров и резин. Для описания таких деформаций удобно использовать представление механических элементов ткани в виде пружин, в которых достижение значительных удлинений осуществляется за счёт малых сдвиговых деформаций. Пружина в рамках такого подхода характеризуется коэффициентом жёсткости  $K$  (размерности [ $\text{Н}/\text{м}$ ]). Закон Гука в применении к пружинному элементу имеет вид:

$$F_e = K \cdot (l - l_0) = k \cdot \varepsilon \quad (1.12)$$

Если мысленно заменить пружину сплошным материалом сечения  $S_0$  с такими же упругими свойствами, характеризуемыми модулем Юнга  $E$ , то его значение будет связано с коэффициентом жёсткости  $K$  соотношением:

$$K \cdot l_0 = E \cdot S_0 \quad (1.13)$$

### 1.3. ВЯЗКОСТЬ

Биологические мягкие ткани, состоящие (по массовой доле) в основном из жидких компонентов, обладают, наряду с упругостью, и многими свойствами жидких сред, например, вязкостью. Внутреннее трение в жидкости (вязкость) является диссипативным процессом, в котором тормозящая внешнее движение сила трения производит работу, переходящую в тепловую энергию системы (пополняя тепловой резервуар). При этом полная механическая энергия в системе не сохраняется, но в случае слабой диссипации иногда можно использовать обычный подход, связанный с введением динамической силы трения  $F_\nu$ .

Пусть смачиваемая жидкостью поверхность площадью  $S_n$  движется касательно вдоль оси  $x$  со скоростью  $v_0$  (рис. 1.3).

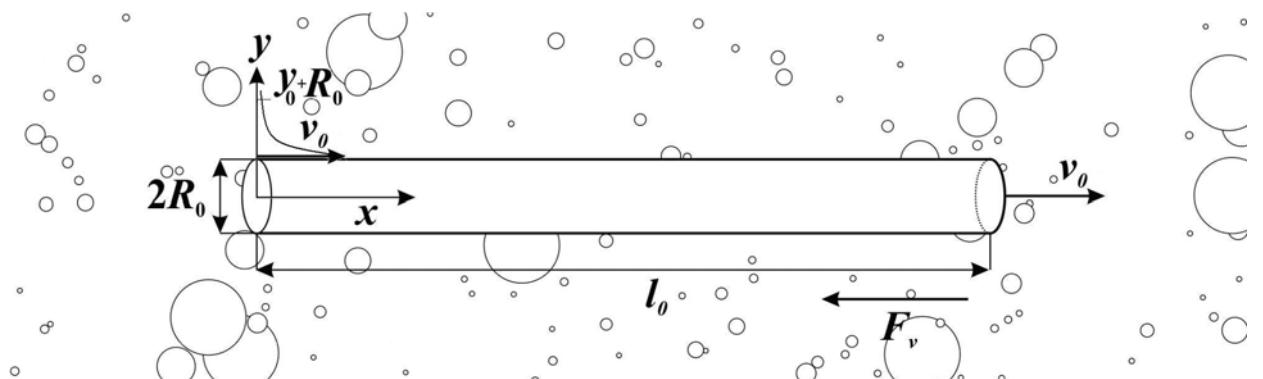


Рис. 1.3. Движение тела в вязкой жидкости.

Слой жидкости, прилипающий к поверхности с каждой из сторон, увлекается с той же скоростью и по мере увеличения расстояния от

поверхности скорость увлечения жидкости благодаря внутреннему трению убывает (экспоненциально) на расстоянии  $y_0$  (см. рисунок 1.3).

Закон Ньютона выражает пропорциональную зависимость силы трения (и касательного напряжения в расчёте на одну сторону) от скорости движения:

$$\frac{F_v}{S_n} = \eta \frac{dv}{dy} = \eta \frac{v_0}{y_0} \quad (1.14)$$

где  $\eta$  – ньютоновский коэффициент вязкости [Па·сек] (1 Па·сек=10 пуз). Значения коэффициента вязкости ряда жидкостей представлены в таблице 1.3.

Таблица 1.3

Значения коэффициента вязкости  $\eta$  некоторых жидкостей

Вещество	Вязкость, $10^{-3}$ Па·с, при 30°C
Ацетон	0.3
Вода	0.8
Межфибрillярная жидкость	2 – 6
Ртуть	1.5
Анилин	3.2
Бензиловый спирт	4.3
Масло машинное	6.6
Этиленгликоль	13.2
Глицерин	630

При растяжении цилиндра, движущегося в вязкой несжимаемой жидкости вдоль оси  $x$ , и закреплённого с одного конца, вклад в трение вносит в основном его боковая поверхность  $S_n = l_0 2\pi R_0 \gg S_0$  (площади торца). Согласно (1.14), учитывая, что средняя скорость движения стержня  $v_0$  есть  $\frac{1}{2}dl/dt = \frac{1}{2}l_0d\varepsilon/dt$ , получим:

$$F_v = H \cdot \frac{dl}{dt} = \eta S_{ef} \cdot \frac{d\varepsilon}{dt} = \tilde{\eta} \frac{d\varepsilon}{dt}, \quad (1.15)$$

где  $S_{ef} = \pi l_0^2 R_0 / y_0$ ,  $\tilde{\eta} = S_{ef} \eta$  – линейный коэффициент вязкости размерности [Н·сек], а коэффициент  $H \sim l_0 \eta$  (если учесть, что  $y_0 \sim R_0$ ) отражает пропорциональность силы вязкого трения производной по времени от

деформации согласно закону Ньютона. В дальнейшем мы будем опускать значок тильды над обозначением линейной вязкости « $\sim$ » и надеемся, что это не должно привести к недоразумениям.

Итак, для первичных элементов моделей (гуковские пружины и ньютоновские демпферы) считаем справедливыми уравнения 1.12 и 1.15, предполагая жидкость несжимаемой, а все течения, возникающие в ткани, ламинарными. Фактически, этими формулами определяются функциональные свойства введённых в модели линейных пружин и демпферов.

Здесь следует отметить, что ньютоновская модель вязкого трения, связанная с ламинарным движением жидкости, существенно упрощает реально наблюдаемые зависимости, хотя и является правильным начальным приближением.

#### 1.4. НЕЛИНЕЙНОСТЬ УПРУГИХ СВОЙСТВ ТКАНЕЙ

Для подавляющего большинства многих типов биологических мягких тканей на уровне макроскопических образцов характерна типичная *нелинейная* зависимость напряжения от одноосной деформации растяжения с эффектом ужесточения. Задаче математического моделирования нелинейных статических и релаксационных свойств тканей с первоначальной ориентацией на свойства папиллярной мышцы посвящены следующие разделы. Здесь мы коснемся вкратце проблемы нелинейности и её описания на примере тканей кровеносных сосудов, артерий и вен.

Кровеносные сосуды представляют собой трёхслойный композитный материал с различным строением слоёв, которые выполняют особые функции. Артерии состоят преимущественно из эластичных волокон, жёстких волокон и гладкой мускулатуры. В венах намного больше эластичного компонента по сравнению с артериями, что является следствием

необходимости противостоять значительным перепадам давления в крупных артериях, подобных аорте, за время сердечного цикла.

На рисунке 1.4 представлена нелинейная функция отклика кровеносного сосуда в координатах «тангенциальное давление (напряжение)  $\sigma$  – растяжение  $\lambda = 1+\varepsilon$ ». Наблюдается небольшой гистерезис при нагрузке и разгрузке, связанный с вязкоупругими явлениями. Наклон кривой возрастает до значительной величины при деформации  $\sim 0.3$ . Дальнейшее увеличение растяжения может привести к разрыву и другим повреждениям. Как и в случае ткани папиллярной мышцы, увеличение наклона объясняется конкуренцией вкладов эластичных и жёстких волокон.

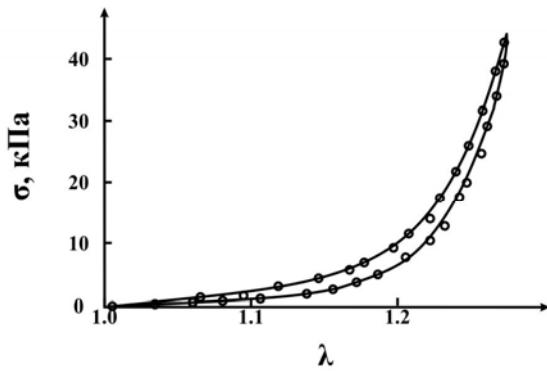


Рис. 1.4. Кривая напряжение – деформация в вене человека [12].

Уравнение, описывающее подобное нелинейное поведение ткани получено впервые Фунгом и называется его именем:

$$\sigma = (\sigma^* + \beta) e^{\alpha(\varepsilon - \varepsilon^*)} - \beta \quad (1.16)$$

Здесь  $\alpha$  и  $\beta$  суть феноменологические параметры, связанные с наклоном кривой  $E(\sigma)=d\sigma/d\varepsilon$  в асимптотических точках, а  $\sigma^*$  и  $\varepsilon^*$  – соответствующие значения напряжения и деформации. Нетрудно видеть, что по существу уравнение Фунга постулирует определённую зависимость дифференциального модуля Юнга от деформации (или напряжения). Задачей моделирования нелинейного вязкоупругого поведения тканей без предположений о зависимости материальных параметров от деформации является создание морфологически обоснованных конструкций из первичных

линейных упругих и вязких элементов, функция отклика которых соответствовала бы наблюдаемым на опыте закономерностям.

Наличие эффекта ужесточения, т.е. увеличение со степенью деформации растяжения статического дифференциального модуля Юнга, носит принципиальный характер для механических свойств ткани, её надежного функционирования при значительных физиологических уровнях деформации. Приведём один пример, связанный со свойствами такого распространенного искусственного полимерного материала, как резина. На начальном участке кривой «напряжение – деформация» дифференциальный модуль Юнга резины падает (эффект «размягчения»), а далее затем остаётся постоянным и ещё далее растёт при растяжении. На молекулярном уровне эффект размягчения связан с обратимым разрывом поперечных связей между полимерными волокнами. Согласно расчётом [13], цилиндрическая трубка, сделанная из такого материала, при увеличении давления протекающей жидкости до некоторого критического испытывает неустойчивость по отношению к резкому катастрофическому изменению первоначальной цилиндрической формы в виде определенных локализованных вздутий. Можно представить, насколько пагубными оказались бы подобные патологические изменения в кровеносных сосудах, на медицинском языке называемые аневризмами в стенках сосудов, если бы в их строении были использованы подобные резиноподобные материалы. В то же время, эффект ужесточения в живой биологической ткани сосудов препятствует появлению такой патологии.

В сердечной мышце, как и в других мягких биологических тканях, а также в полимерах наподобие каучука, зависимость напряжения от деформации не является линейной. Это неудивительно вследствие сложной композитной структуры и особых механических свойств некоторых компонентов. Линейная зависимость возникает вследствие общего параболического вида потенциальной кривой взаимодействия между

атомами вблизи точки равновесия: притяжения на больших дистанциях и отталкивания на малых. Она характерна лишь для некоторых структурных компонентов композита и для всего материала на начальных участках деформирования. При больших деформациях возникают изменения свойств материала в результате деформирования. Этую нелинейность связывают с зависимостью модуля упругости от напряжения или деформации. Существует обширная область исследований влияния предыстории деформирования и временного характера нагрузений на уравнение состояния нелинейной упругой среды  $\sigma = \sigma(\varepsilon)$ , связанное с учётом «памяти» материала, например, для каучуков [14], [1]. Нелинейное упругое и вязкое поведение тела может быть также объяснено без привлечения каких-либо физических представлений в рамках функциональных моделей материала.

Упругие и вязкие свойства композитных материалов зависят от индивидуальных свойств компонентов, от их соотношения и от структурной организации. Поскольку книга посвящена моделированию биологических тканей, представляется необходимым рассмотреть их структуру и виды компонентов, как элементов, оптимально приспособленных для выполнения тканью определенных функций. Выявленные закономерности строения биологических тканей могут быть учтены при создании искусственных материалов.

В данной главе представлен краткий обзор строения и свойств мягких биологических тканей млекопитающих, обладающих одним важным биомеханическим свойством – характерной стационарной кривой «напряжение – деформация» с эффектом ужесточения при увеличении одноосного растяжения. Приведены основные молекулярные структурные блоки, из которых они собраны (общие вопросы более подробно см., например, в [15]). В процессе эволюции природа выработала такие типы надмолекулярных структур, которые привели к целесообразным и в то же время совершенно уникальным механическим свойствам композитной ткани, не вытекающим непосредственно из свойств отдельных компонентов.

Деформации, которые многократно испытывают живые биологические ткани порой весьма значительны и достигают ста и более процентов. Обычно используемые твёрдые конструкционные материалы имеют предельно допустимые деформации, не препятствующие их эксплуатации, на три порядка меньше. К твёрдым материалам, допускающим значительные деформации до 800 %, относятся резиноподобные полимеры, называемые в материаловедении эластомерами. Каким же способом достигаются столь значительные деформации в биологических тканях? Здесь природа пошла по естественному пути, который впоследствии повторили изобретатели витой пружины. В пружине малы продольные деформации самого материала, а существенны деформации сдвига, за счёт которых, и вследствие геометрических структурных особенностей конструкции, получаются весьма значительные полные продольные удлинения (в случае цилиндрической спиральной пружины). Отметим здесь, что этот же принципложен авторами в основу предлагаемого подхода к моделированию нелинейного поведения биологических тканей, который связан с определёнными геометрическими особенностями их структуры.

Прежде всего, кратко рассмотрим молекулярное строение мышечной ткани млекопитающих, которое намного сложнее молекулярной структуры резины и полимеров (более подробно о молекулярных составляющих биологических тканей см. далее в соответствующем разделе). Чаще всего, строение такой ткани композитное и включает, по крайней мере, два компонента: мышечные клетки и внеклеточный матрикс с мягкими и армирующими прочными волокнами. Внутриклеточный каркас (цитоскелет) состоит из жёстких микротрубочек, обладающих конструкционной нелинейной жёсткостью, и тайтина также с нелинейной упругостью. В состав сплошной среды матрикса входят длинные полимерные волокна эластина, имеющие весьма малый модуль Юнга  $5 \cdot 10^2 \frac{мН}{мм^2}$ . Армирующие волокна состоят в основном из коллагена – белка, имеющего протяжённую полимерную структуру с весьма большим модулем Юнга  $10^5 \frac{мН}{мм^2}$  и почти гуковское линейное поведение кривой «напряжение – деформация». Сетка армирующих волокон благодаря рыхлой структуре оказывает незначительное сопротивление растяжению при начальных деформациях и включается по мере выравнивания направления волокон вдоль оси нагрузки. Таким образом, при малых деформациях упругое поведение ткани близко к поведению эластина, а по мере того, как композитная ткань вытягивается, коллагеновые волокна, подвергаясь растяжению, все более вовлекаются в процесс деформации и в растянутом состоянии её модуль Юнга приближается к модулю Юнга коллагена. Коллаген в мышце несет функцию ограничения её растяжения в расслабленном состоянии. Другими словами, он действует как некий тормоз, ограничивающий предельные деформации. Другим механизмом, обеспечивающим безопасность функционирования ткани при резких нагрузках, является вязкость.

Мы рассмотрим здесь в этой главе такие ключевые для понимания функциональности биологической мягкой ткани свойства, как иерархичность

и фрактальность строения, играющие важную роль, как в процессе воспроизведения, так и при её изучении; существенную нелинейность её механических и вязких свойств, являющуюся следствием неоднородного композитного строения. Рассмотрены основные молекулярные блоки, из которых иерархически снизу вверх построена ткань, на примере папиллярной мышцы, начиная с 20 базовых аминокислот, полипептидов и полисахаридов, важнейших протеинов. Вследствие специфики книги, мы не касаемся здесь интересных свойств таких фибриллярных белков как кератин и полисахаридов: целлюлозы, хитина и др., ограничиваясь кратким рассмотрением свойств коллагена, эластина и тайтина.

Мы напоминаем читателю, что под приставкой ‘био’ понимается три компонента: биологические материалы – природные материалы; биоматериалы – синтетические материалы, использующиеся в биологическом окружении; и биомиметики – материалы и структуры, инспирированные биологией.

Композиция и структура неорганических и органических компонентов в составе биологических композитов, часто тесно связаны на различных уровнях структурной шкалы, создавая иерархию, которая оптимизирует напряжение, жёсткость и ударную вязкость для конкретных применений при минимизации веса. Механизмы повреждения биологических материалов более замысловатые, чем у современных технологических устройств. Одним из важных отличий является то, что природа не имела при этом возможности использования синтетических материалов, разработанных в последнее столетие, которые связаны, в большей части, с высокотемпературными процессами.

Таким образом, оригинальный план природы связан со способностью изменять вид и конфигурацию ткани в течение жизни организма. Мультифункциональность и способность к самоизлечению являются неотъемлемыми характеристиками многих из этих компонентов, которые

гарантируют выживание в окружающей обстановке, где естественный отбор постоянно «настраивает» их. Различные элементы, которые являются уникальными для биологических материалов, вносят вклад в их структуру и функцию.

Изучение биологических материалов в чистом виде является интересным полем с обилием сложных задач для исследователей материалов, и создатели материалов смотрят на это с острым взглядом мультифункциональности при иерархичности структур таких материалов, которые во многом определяют сущность жизни. Таким образом, эволюция играла и продолжает играть главную роль в выборе структуры, которая приносит оптимум характеристик ткани.

## 2.1. СТРУКТУРА БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

### 2.1.1. *Основные типы биологических тканей*

Биологическая ткань представляет собой совокупность клеток и межклеточного вещества, объединённых общим происхождением, строением и выполняемыми функциями. Практически все клетки характеризуются наличием основных структур. Поверхность клетки покрыта мембраной, образованной двойным слоем фосфолипидных молекул, ориентированных гидрофильными концами вне мембраны, усиленной молекулами белков и содержащей рецепторы и сквозные транспортные каналы. Внутри клетки расположено ядро, органеллы различного типа и размеров и некоторые другие внутриклеточные структуры. Клетка заполнена жидкой фазой (цитозоль) и содержит цитоскелет, состоящей из сети микротрубочек, актина и промежуточных филаментов. С точки зрения материаловедения, клетка относится к классу структурированных жидких сред – гелей.

В течение жизненного цикла клетки ткани подвергаются всевозможным механическим воздействиям, как со стороны внешнего окружения, так и вследствие внутренних физиологических процессов. Ответ клеток на внешнее механическое возмущение может быть самым разнообразным: от высвобождения гормонов и выработки кальциевого сигнала, до изменения вязкости цитозоля и изменения жёсткости цитоскелета путём изменения его структуры. Внешнее растяжение клетки может привести к изменению её подвижности и ориентации, что может служить причиной нелинейного ответа всей ткани на деформацию. Таким образом, вязкоупругие свойства живой биологической ткани непосредственно связаны с различными биохимическими процессами в клетках и межклеточных структурах и оказываются самыми разнообразными в зависимости от специализации ткани.

В соответствии с выполняемыми функциями и происхождением в процессе эволюции выделяют четыре основных типа тканей тела всех животных, включая человека и низших многоклеточных организмов, таких как насекомые.

*Эпителий* – ткань, состоящая из слоёв клеток, которые покрывают поверхность органов, как например, кожа или внутренняя поверхность пищеварительного тракта (рис. 2.1).

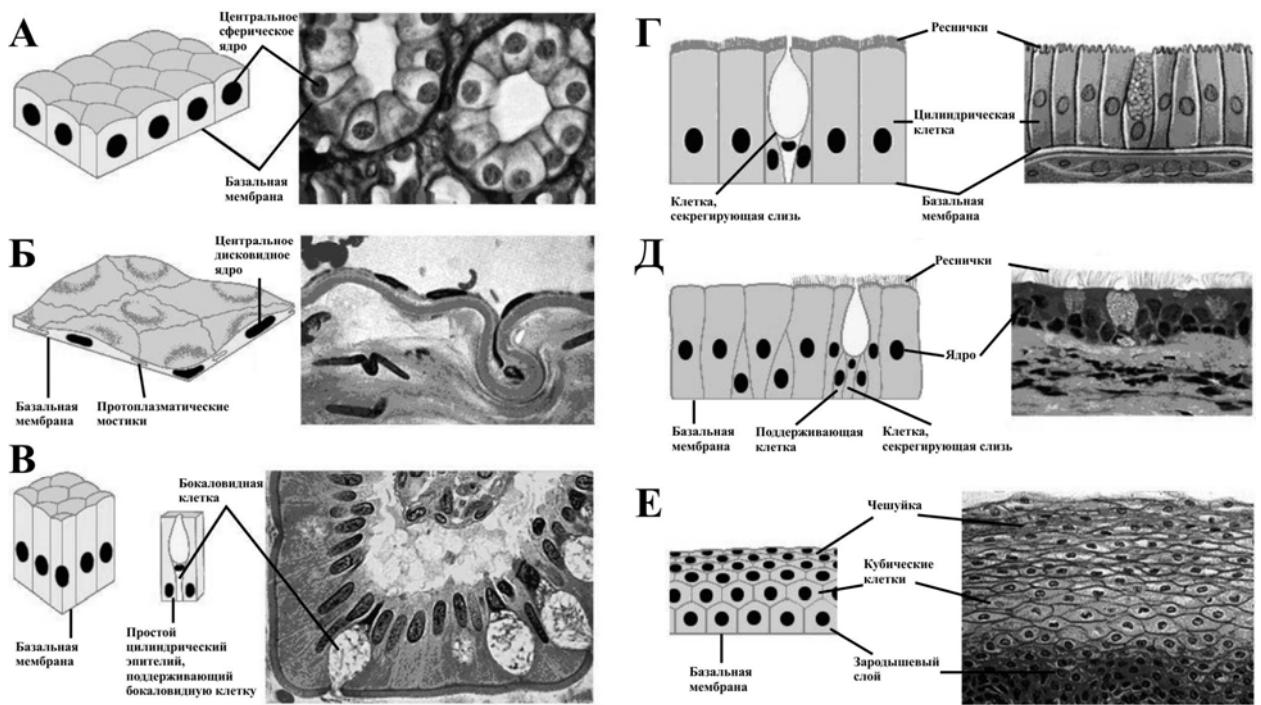


Рис. 2.1. Типы эпителиев. (А) кубический эпителий; (Б) плоский эпителий; (В) цилиндрический эпителий; (Г) мерцательный эпителий; (Д) псевдомногослойный эпителий; (Е) многослойный эпителий.

Основной функцией эпителия является защита соответствующих органов от механических повреждений и инфекции. Нередко в местах больших нагрузок эпителий уплотняется. Свободная поверхность эпителия также может выполнять функции всасывания, секреции и экскреции, воспринимать раздражения.

*Соединительная ткань* – как следует из названия, соединяет между собой различные ткани и органы, окружая их, защищает от повреждения. Соединительная ткань состоит из клеток различных типов, располагающихся обычно далеко друг от друга в прозрачном полужидком матриксе, содержащем волокна (рис. 2.2).

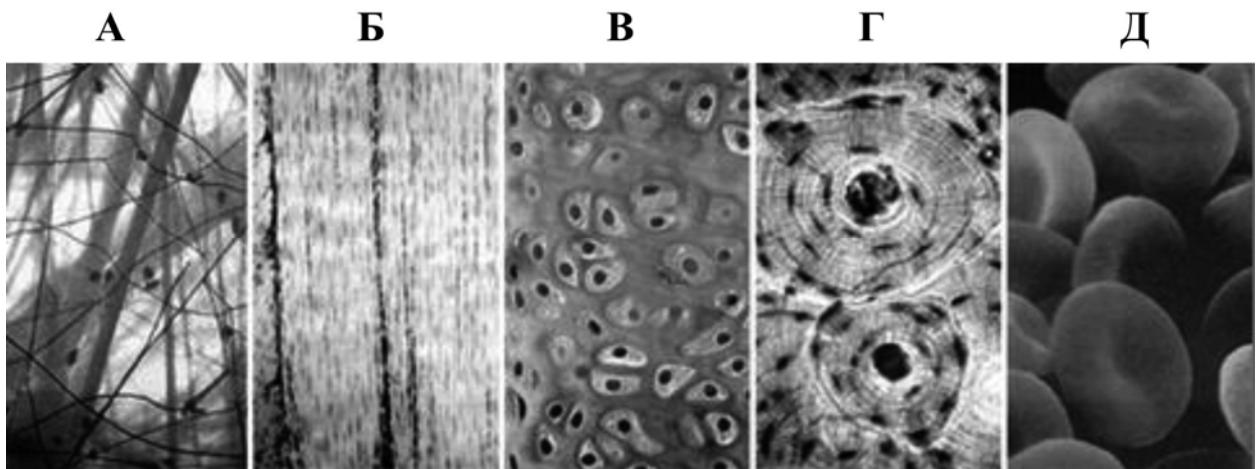


Рис. 2.2. Типы клеток соединительной ткани. (А) рыхлая соединительная ткань; (Б) плотная соединительная ткань; (В) хрящ; (Г) кость; (Д) кровь.

Выделяют следующие типы клеток соединительной ткани:

*фибробласты* – клетки, продуцирующие волокна и основное вещество;

*мучные клетки* окружают кровеносные сосуды; они вырабатывают матрикс, а также продуцируют гепарин (противодействие свёртыванию крови) и гиспарин (расширение сосудов, сокращение мышц, стимуляция секреции желудочного сока);

*макрофаги* (гистоциты) – амёбоподобные клетки, поглощающие болезнетворные организмы;

*плазматические клетки* – ещё один компонент иммунной системы;

*хроматофоры* – сильно разветвлённые клетки, содержащие меланин; имеются в глазах и коже;

*жировые клетки*;

*мезенхимные клетки* – недифференцированные клетки соединительной ткани, способные при необходимости превращаться в клетки одного из перечисленных выше типов.

Клетки соединительной ткани находятся в сети прочных белковых волокон, вместе с которыми погружены в основное вещество – полисахаридный гель из гликозаминогликанов и протеогликанов. Белковые волокна и основное вещество образуют межклеточный матрикс. Некоторые

авторы рассматривают кровь как соединительную ткань, у которой форменные элементы разделены неорганическим материалом – плазмой. При таком подходе, бесцветная и прозрачная тканевая жидкость – плазма является внеклеточным матриксом. Элементы матрикса постоянно обновляются (в том числе и в миокарде), процессы синтеза фибрillлярных белков чередуются с их распадом.

Белки матрикса секретируются преимущественно фибробластами, основными клетками соединительной ткани (например, в миокарде их количество достигает 90 – 95% от всех клеток соединительной ткани миокарда). Они мезенхимального происхождения, круглой или удлиненной, веретенообразной плоской формы с отростками и плоским овальным ядром. Поскольку клетки соединительной ткани зачастую меньше по размерам, чем клетки паренхимы, то в количественном соотношении они могут преобладать, проигрывая в объёмном отношении этим клеткам. Например, в количественном отношении в миокарде преобладают клеточные элементы соединительной ткани (65 – 75%), обеспечивающие выполнение кардиомиоцитами их основной сократительной функции. Объёмное соотношение кардиомиоцитов (паренхимы) и соединительнотканного компонента (стромы) в дефинитивном миокарде колеблется, по данным разных источников, от 3:1 (75% и 25%) до 4:1 (80% и 20%) [16]. Фибробlastы синтезируют тропоколлаген, предшественник коллагена и основное вещество соединительной ткани - аморфное желеподобное вещество, заполняющее пространство между клетками и волокнами соединительной ткани (см. раздел о молекулярном строении блоков тканей). Фибробlastы и макрофаги в случае повреждения способны мигрировать к пораженным участкам тканей и участвовать в их заживлении. В результате дифференцирования фибробlastы превращаются в менее активные зрелые клетки - фиброциты.

Рыхлая соединительная ткань состоит из клеток, распределенных в межклеточном веществе, и переплетённых неупорядоченными волокнами. Переплетенные пучки внеклеточных волокон состоят из коллагена, а распрымленные – из эластина; их совокупность обеспечивает прочность и упругость соединительной ткани. Рыхлая соединительная ткань окутывает все органы тела, соединяет кожу с лежащими под ней структурами, покрывает кровеносные сосуды и нервы на входе и выходе из органов.

Плотная соединительная ткань состоит из волокон, а не из клеток. Белая ткань содержится в сухожилиях, связках, роговице глаза, надкостнице и других органах. Она состоит из собранных в параллельные пучки прочных и гибких коллагеновых волокон. Жёлтая соединительная ткань находится в связках, стенках артерий, лёгких. Она образована беспорядочным переплетением эластичных волокон.

Жировая ткань содержит, в основном, жировые клетки. Жировая клетка состоит из центральной жировой капли, а ядро и цитоплазма оттеснены к мембране. Этот тип ткани предохраняет лежащие под ней органы от ударов и переохлаждения.

Скелетные ткани представлены хрящем и костью. Хрящ – прочная ткань, состоящая из клеток (хондробластов), погруженных в упругое вещество – хондрин. Снаружи он покрыт более плотной надхрящницей, в которой формируются новые клетки хряща. Хрящ покрывает суставные поверхности костей, содержится в ухе и глотке, в суставных сумках и межпозвоночных дисках.

Из кости построен скелет позвоночных животных. Она состоит из клеток, погруженных в твёрдое вещество, состоящее на 30 % из органики (в основном, коллаген) и на 70 % из гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . В ней содержатся также натрий, магний, калий, хлор и другие вещества. Такое сочетание материалов повышает устойчивость костной ткани при

растяжении и изгибе. Костные клетки (остеобласти) находятся внутри особых лакун, связанных между собою кровеносными сосудами.

*Мышечная ткань* – клетки мышцы содержат сократительные белки, которые могут скользить друг относительно друга и тем самым изменять размеры клеток и генерировать механическое напряжение (рис. 2.3). У высших животных мышечная ткань составляет до 40 % массы тела.

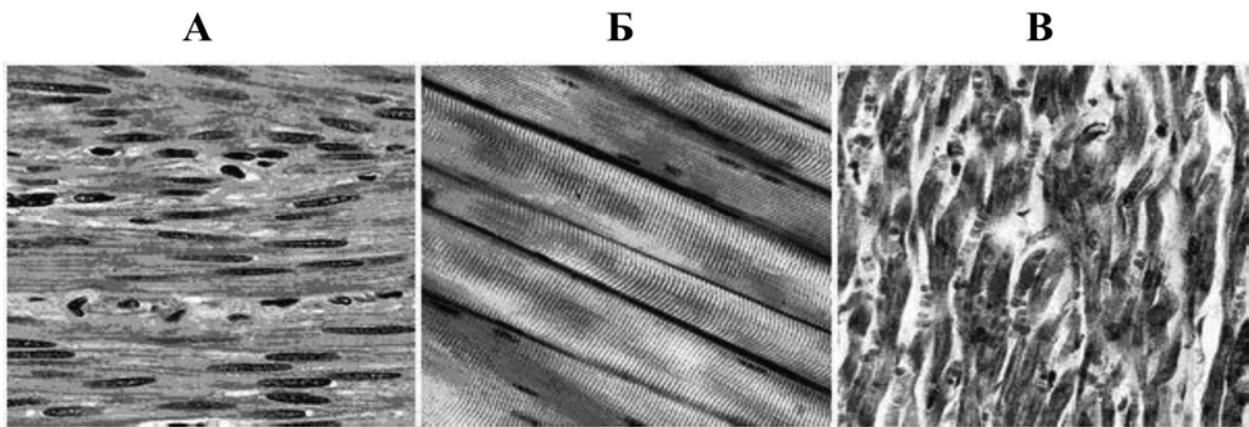


Рис. 2.3. Продольные срезы гладкой (А), поперечно-полосатой (Б) и сердечной мышцы (В).

Гладкие или висцеральные (непроизвольные) мышцы образуют стенки дыхательных путей, кровеносных сосудов, пищеварительной и мочеполовой систем. Их отличают относительно медленные ритмичные сокращения; активность зависит от автономной нервной системы. Одноядерные клетки гладких мышц собраны в пучки или пластины. Поперечно-полосатые (их также называют скелетными) мышцы являются основой двигательной системы организма. Очень длинные многоядерные клетки-волокна связаны друг с другом соединительной тканью, содержащей в себе множество кровеносных сосудов. Данный тип мышц отличают мощные и быстрые сокращения. Активность поперечно-полосатых мышц определяется деятельностью головного и спинного мозга. Наконец, клетки сердечной мышцы разветвляются на концах и соединяются между собой при помощи поверхностных наростов – вставочных дисков. Клетки содержат, как правило, одно и реже несколько ядер и большое количество крупных

митохондрий. Как следует из названия, сердечная мышца встречается только в стенке камер сердца.

*Нервная ткань* – состоит из нервных клеток – нейронов и клеток нейроглии (рис. 2.4). Кроме того, она содержит рецепторные клетки. Они формируют головной и спинной мозг и периферическую нервную систему. Осуществляют функцию возбуждения и проведения электрических сигналов

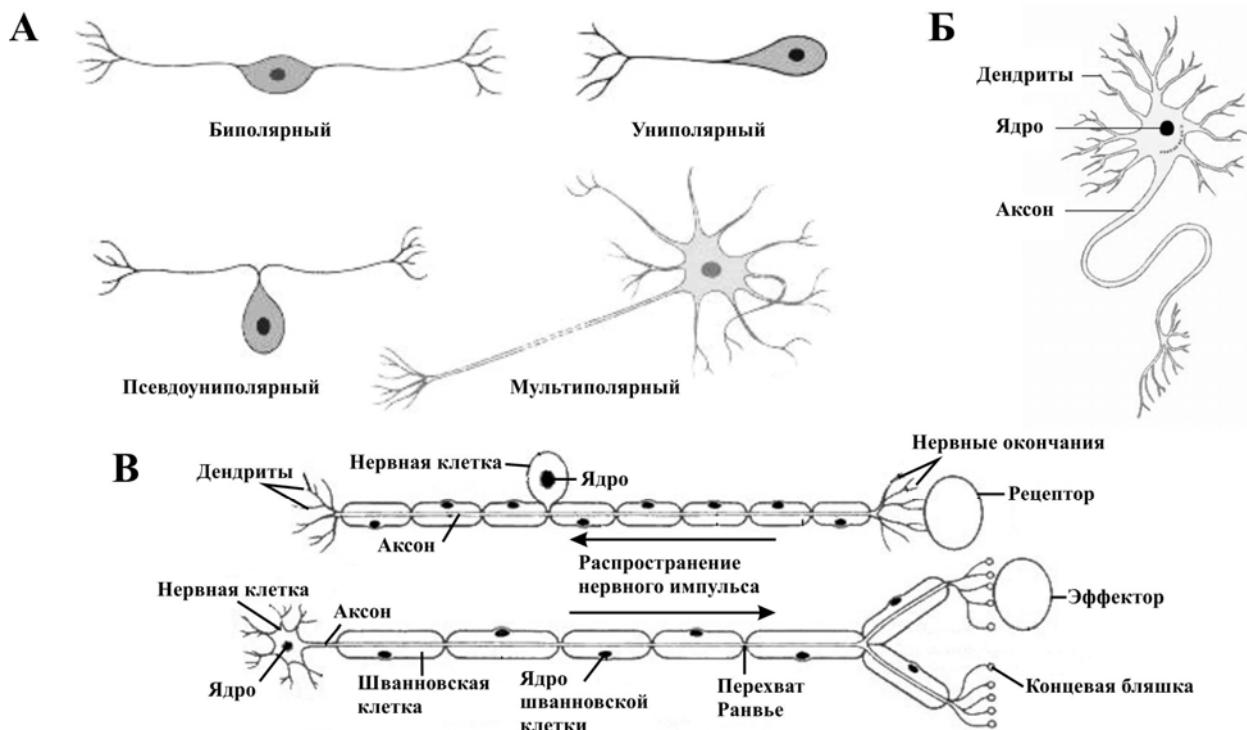


Рис. 2.4. Типы нейронов (А); аксоны и дендриты (Б); строение сенсорного и моторного нервов (В).

### 2.1.2. Базовые структурные элементы

Представление о модульности строения биологических тканей, т.е. существования элементарной единицы, полностью отражающей как морфологические, так и функциональные свойства материала, сыграло принципиальную роль в раскрытии закономерностей строения и функций живой материи. Модуль возник в процессе эволюции от простейших организмов до самых сложных, как результат самоорганизации отдельных клеток многоклеточной структуры. Очевидно, что клетки модуля

осуществляют взаимодействие как по нисходящей иерархической ветви, обеспечивая когерентность функций внутри модуля, так и в направлении структур и органов более высокого ранга, приводя к когерентному поведению всех модулей, составляющих ткань.

Клетки, составляющие модуль, в соответствии со специализацией, дифференцированы по выполнению ограничивающей, рецепторной, опорно-трофической функции, а также в обеспечении локальной или общей двигательной активности. Рассматривая модуль как элементарную ячейку в сложной иерархической структуре ткани, можно представить её как результат «полимеризации» таких «димеров». Конечно, нужно учитывать и различные возможности полимеризации, как по линейному (одномерному), плоскому (двумерному) или объёмному типу. Кроме того, иерархичность структуры часто подразумевает и её фрактальность, т.е. повторение основных закономерностей пространственного строения на разных масштабах.

Внешняя форма живых организмов весьма разнообразна, между тем в структурном отношении биологические мягкие ткани ограничены небольшим набором конструкций. Применение модульного подхода в этом случае даёт возможность классифицировать ткани исходя из топологии и симметрии элементарных ячеек. Здесь ситуация напоминает возникновение кристаллографии и представлений о кристаллических решётках в теории твёрдого тела в результате подробных исследований внешней формы кристаллов в минералогии.

Возможность существования закономерностей пространственной организации тканей теоретически обсуждается многими морфологами уже более столетия. Многие авторы развивали формализованную теорию, описывающей топологию и геометрию биологических тканей, и в частности строение клеточных пластов [17], [18].

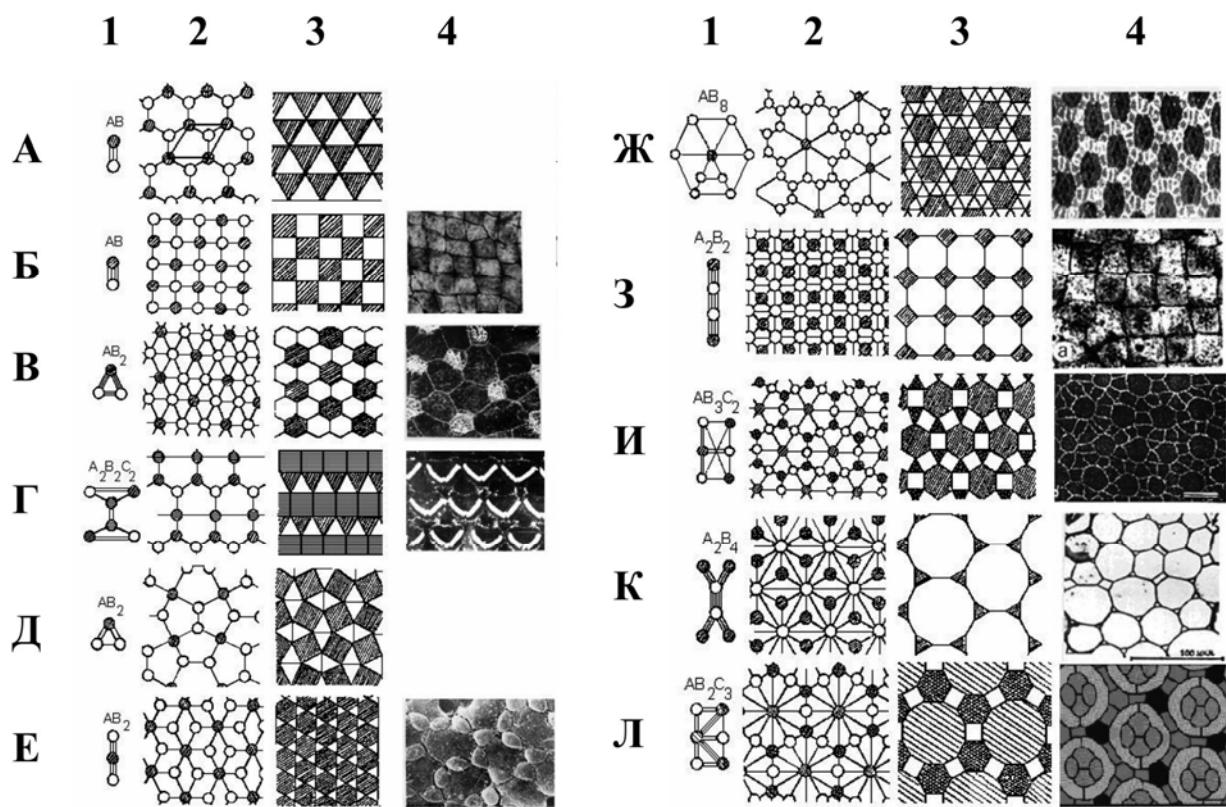


Рис. 2.5. Возможные варианты пространственной организации однослойных клеточных пластов. В первой колонке изображены элементарные морфофункциональные единицы ткани (гистионы), во второй – показана топология пласта, в третьей – геометрические модели решётки, в четвертой – срезы реальных тканей [18].

Дело в том, что особенностью сложившейся к настоящему времени ситуации в морфологии (теории пространственного строения) является двумерный (плоскостной) характер рассматриваемых структур живых мягких тканей. Это отчасти вызвано тем, что чаще всего методами гистологии исследуются тонкие плоские срезы тканей. Поэтому не удивительно, что наибольшее развитие получила теория элементарных пространственных структур для такого практически двумерного образования, как эпителиальная ткань. В качестве первого шага в этом направлении предложены одиннадцать возможных вариантов пространственной организации однослойных клеточных пластов (рис. 2.5) [18].

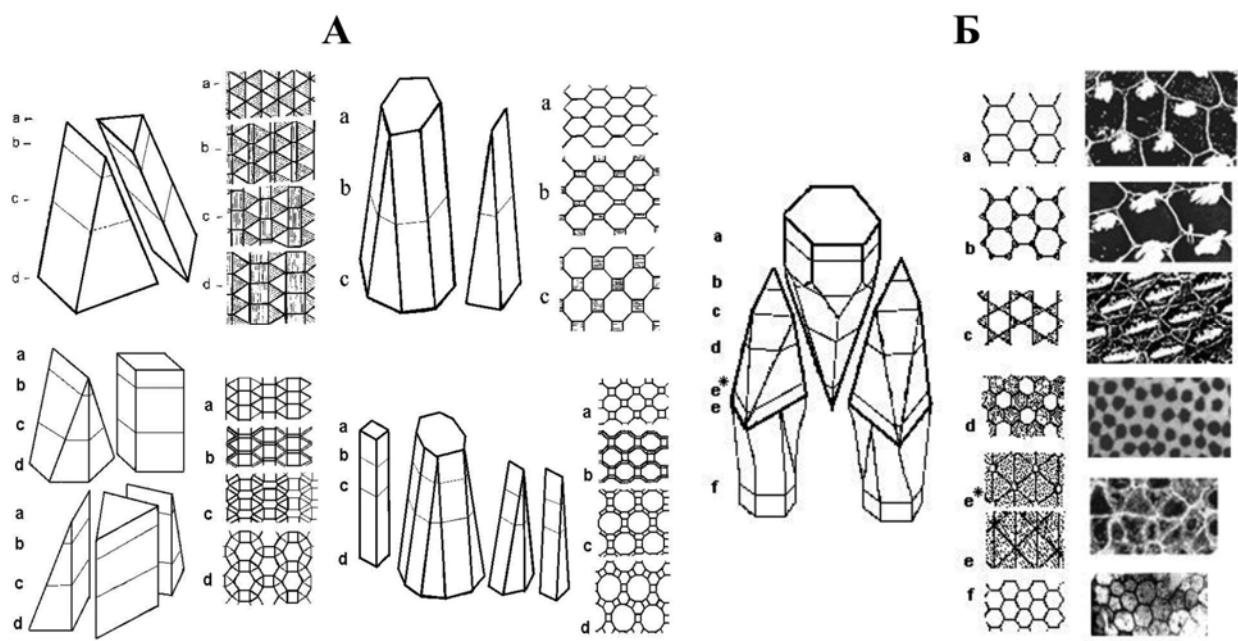


Рис. 2.6. 3D структура моделей, реализованных на искривленных поверхностях (А); трёхмерная пространственная организация двухслойного сенсорного эпителия улитки птиц из сенсорных и опорных клеток в соотношении  $AB_2$  (рис. 2.5В) (Б). Рисунок из книги «Основы структурной гистологии. Пространственная организация эпителиев» Савостьянова Г.А. [18].

Что же касается пространственной трёхмерной организации тканей, то в большинстве исследований хотя и подчеркивается морфофункциональный характер модулей материала, но собственно функциям ткани уделено значительно меньше внимания, а о механических свойствах вообще не упоминается. Проблема классификации пространственных структур тканей низводится до формальной задачи разбиения пространства на замкнутые многогранники (рис. 2.6) [18].

Важно отметить, что помимо прочих, эпителиальные клетки выполняют и защитную функцию, для успешного осуществления которой необходимо сохранение вязко-эластических свойств в определенном диапазоне в течение некоторого периода. Поддержание вязко-эластических свойств в определенных границах важно и для оптимального по энергетике функционирования мышечной ткани и костно-сухожильных соединений. Большинство тканей организма имеет свой срок жизни, начиная от митоза и

построения новых органелл клетки и кончая апоптозом (клеточной смертью). Так жизненный цикл клеток крови укладывается примерно в три месяца. При этом в нормальных условиях модульность ткани на протяжении всего цикла сохраняется.

### *2.1.3. Фасцикулярное строение сердечной мышцы*

Для морфофункциональных единиц скелетных мышц и миокарда предложен термин фасцикула. В морфологии принято оперировать с четко очерченными типами структурных элементов, или меронами по С.В. Мейену [19]. Фасцикулы имеют веретенообразную форму. Высказано предположение, что гистионы представляют собой самостоятельный уровень биологической организации, расположенный между уровнями клеток и тканей.

Пластинчатая или листовая структура миокарда содержит слои, образованные пучками кардиомиоцитов, толщиной примерно в четыре клетки с экстенсивным расщеплением в плоскости между слоями. Листовая архитектура миокарда характеризуется неоднородностью в направлении поперек стенки камер сердца (трансмуральном направлении) и региональной изменчивостью, которая подвержена динамическим изменениям в течение сердечного цикла, без значительного изменения угла между мышечными волокнами в ходе систолы. Растворение листка, утончение и сдвиг являются частью механической основы систолического утолщения стенки левого желудочка (ЛЖ), позволяющего минимизировать конечно-систолический объём, и таким образом максимизировать объём выброса.

Известно, что при патологии модульность сохраняется, но значительно расширяется вариация геометрических параметров кардиомиоцитов. Следовательно, геометрические параметры модуля могут представлять диагностический признак.

## 2.2. СТРУКТУРНЫЕ СОСТАВЛЯЮЩИЕ ТКАНЕЙ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

Структурные составляющие твёрдых биологических тканей, образующих скелетные кости, зубы, ногти и волосы и мягких биологических тканей (кожа, сухожилия, мышцы, сосуды, внутренние органы) не столь разнообразны в силу ограниченности природных материалов, пригодных для создания живого организма. Например, тело человека примерно на 58 % состоит из воды, на 20 % из протеинов (полипептидов), на 15 % из жиров, и на 7 % из минералов. К наиболее важным составляющим биологических тканей относят: белок коллаген, являющийся армирующим органическим компонентом костей, дентина, сухожилий, мускулов и сосудов, кератин (ногти, волосы, крылья), хитин (экзоскелет насекомых), целлюлоза (стенки клеток растений), эластин (кожа, легкие, сосуды), резилин (белок, служащий для сохранения и быстрого высвобождения упругой энергии в мышцах некоторых насекомых), тайтин (внутриклеточный белок, наряду с актином и миозином образующий контрактильный аппарат мышечной ткани). В соответствие с нашими задачами вкратце остановимся на молекулярной структуре коллагена, эластина и тайтина, как основных белков определяющих вязкоупругие свойства мышечной ткани.

Полипептиды можно рассматривать в качестве линейных полимеров, составленных из аминокислотных остатков. Аминокислоты в основном представляют собой комбинации аминовой (NH) и карбоксильной (CO) групп. Имеется 20 различных аминокислот, и наиболее важными для понимания молекулярной структуры являются четыре: аденин (A), цитозин (C), тимин (T), гуанин (G). В молекуле ДНК, являющейся хранителем генетической информации, две цепи связаны поперечными водородными связями через пары аминокислотных остатков (A с C, T, G). Аминокислоты

образуют длинные (порядка миллиона единиц, т. е. Мега Дальтонов MD) полимерные цепи, называемые полипептидными цепями. В силу водородных связей, или связей Ван-дер-Ваальса, или ковалентных связей между группами NH и CO в двух цепях или элементов одной цепи, осуществляемых некоторым регулярным образом, получаются правильные конформации полипептидных цепей в виде  $\alpha$ -спиралей. Разновидностью правильной конформации полипептидов также являются  $\beta$ -листки, напоминающие сложенную «гармошкой» длинную ленту. Если центр связывания белка комплементарен другому участку на своей поверхности, то образуется цепь субъединиц. При некоторых взаимных ориентациях двух участков связывания цепь замкнется сама на себя и рост прекратится. В результате образуется кольцо из 2, 3, 4 или большего числа субъединиц. В более общем случае получится бесконечно длинный полимер из белковых субъединиц. При условии, что все субъединицы связаны друг с другом идентичным образом, субъединицы в такой цепи располагаются по спирали. Иными словами, спираль – это белковая структура, которая формируется очень легко.

#### *2.2.1. Коллаген и иерархическая структура его волокон*

Различия в природе боковых групп аминокислот обуславливает замечательное разнообразие возможных типов пространственной структуры белков. Рассмотрим два крайних случая. Один – это семейство белков внеклеточного матрикса – коллагены. В коллагене три отдельные полипептидные цепи, богатые пролином и содержащие в каждом третьем положении глицин, закручены одна вокруг другой и образуют тройную спираль. В результате дальнейшей регулярной упаковки таких молекул образуется соединительная ткань, например сухожилия, в которых лизиновые остатки соединённых молекул коллагена связаны ковалентными

шивками. В результате формируются волокна, способные выдерживать исключительно большую нагрузку.

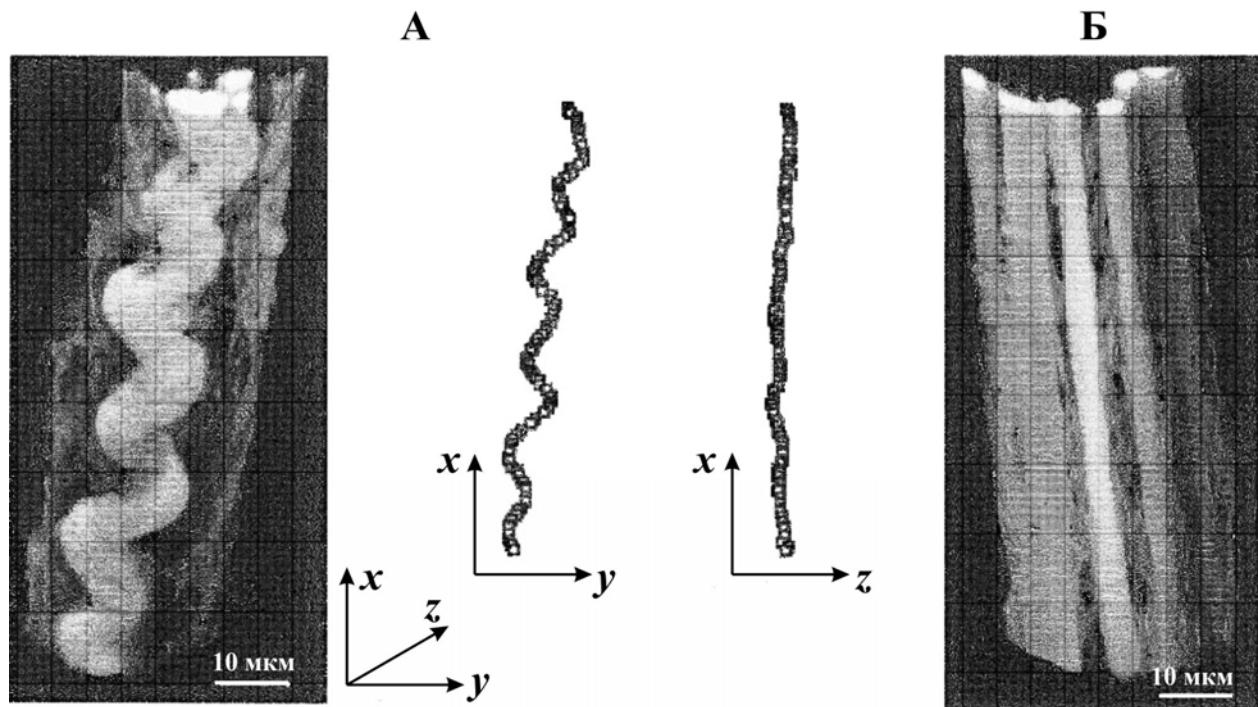


Рис. 2.7. 3D реконструкция типичного перимизиального коллагенового волокна трабекулы правого желудочка крысы фиксированного при длине саркомера 1.81 мкм, (А); 3D реконструкция перимизиальных коллагеновых волокон в трабекуле желудочка крысы фиксированных при длине саркомеров 2.27 мкм (Б) [20].

В этой реконструкции использованы 30 последовательных оптических изображений полученные с интервалом 0,39  $\mu\text{м}$  с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа. Анализ этого трёхмерного изображения показывает, что волокно имеет скорее волнистую, нежели спиральную форму (рис. 2.7). Обращает на себя внимание, что волокно выглядит волнистым в сечении XY (вид сверху), по сравнению с видом в другой ортогональной плоскости XZ. Площадь фракции этих волокон, определенная по площади поперечного сечения для семи трабекул правого желудочка крысы достигала  $10,5 \pm 3,9\%$  от всей площади трабекулы (среднее  $\pm$  стандартное отклонение). Эти данные соответствуют представлению о том, что выпрямление этих волокон ответственно за ограничение растяжения саркомеров сердца до длины 2.3 мкм. Необходимо заметить, что

выпрямленное коллагеновое волокно очень резистентно к растяжению. Коллаген I типа, основной компонент фибрillлярного коллагена сердца, имеет модуль упругости 2.9 ГПа [21].

Коллаген в живых тканях играет роль главного конструкционного материала, который определяет её структуру и служит каркасом, на который нанизываются все прочие компоненты композитного материала. В твёрдых биологических материалах, таких как кость или зубы, в определённых местах пространственной сетки, образованной коллагеновыми волокнами, происходит минерализация, что придаёт твёрдость и прочность соответствующим органам. В мягких тканях сетка коллагеновых волокон обеспечивает единую неразрывную структуру, определяющую сопротивление механической нагрузке. Существует более 20 типов коллагена, незначительно различающихся по своей структуре. В человеческом теле (а также у крысы и в целом ряде других организмов) в основном представлен коллаген I типа. Каждая из трёх ветвей тройной спирали молекулы тропоколлагена образована последовательностью аминокислот (глицин и пр.), точное расположение которых исследовано с помощью метода атомно-силовой микроскопии и рентгеновской дифракции и зафиксировано в специальных атласах. Сама последовательность аминокислот представляет собой полимерную цепочку, закрученную в виде левосторонней  $\alpha$ -спирали 0.87 нм в периоде. Тройная спираль правосторонне закручена и имеет период 86 нм. Тройные волокна коллагена самоорганизуются в виде фибрill, которые можно наблюдать с помощью электронного микроскопа. Длина каждой молекулы коллагена 300 нм и они регулярно расположены с зазорами и перекрытиями по длине около 30 нм. Возникает периодичность в структуре, так что каждая повторяющаяся ячейка содержит пять сегментов, и это даёт характерную интерференционную картину. По толщине молекула коллагена  $\sim$ 1.5 нм, фибрillы имеют поперечник 50 нм. Благодаря внутренним связям между молекулами,

фибриллы достаточно автономны и в дальнейшей иерархии образуют волокна диаметром  $\sim 1$  мкм. Волокна представляют собой пучки фибрилл с поперечником от 0.2 до 12 мкм, а по длине в сухожилиях могут достигать длины всего сухожилия. В сухожилиях это одномерная структура, в коже и сосудах это двумерная, а в мышцах это более сложная 2D и 3D конструкция. Иерархическая одномерная структура коллагенового каркаса сухожилия представлена на рисунке 2.8.

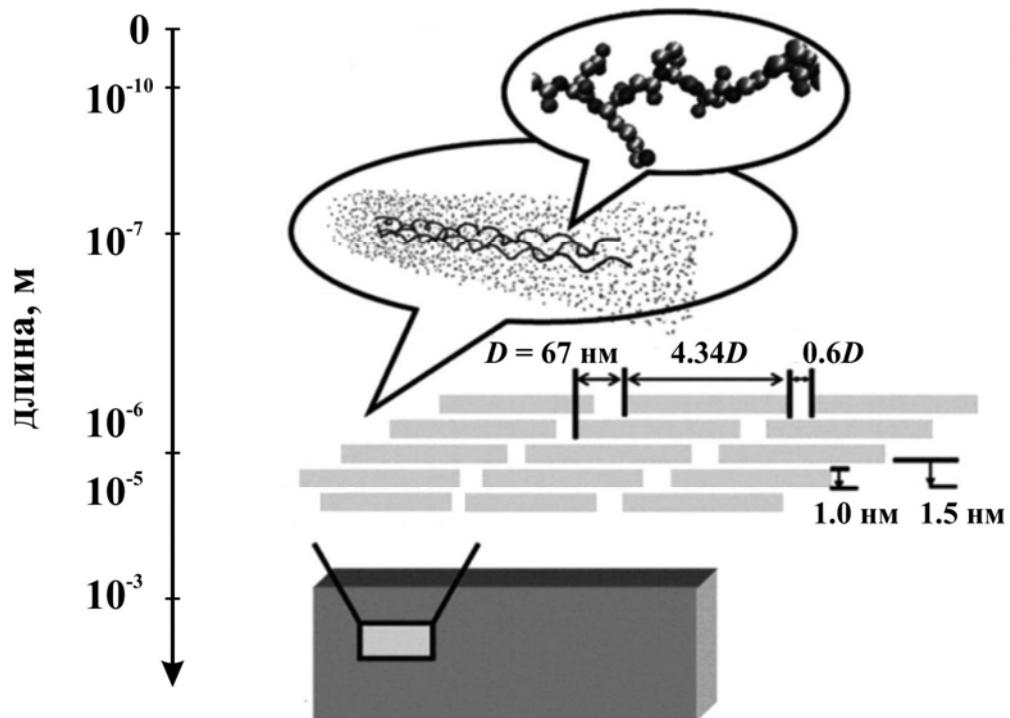


Рис. 2.8. Схематическое представление иерархической структуры строения коллагена, начиная от молекулы тропоколлагена и до фасцикулы сухожилия [22].

### 2.2.2. Строение и свойства внеклеточного белка эластина

Другой предельный случай – внеклеточный белок эластин, в котором благодаря ковалентным сшивкам, относительно неструктурированные полипептидные цепи образуют резиноподобный материал. Как показано на рисунке 2.9, эластичность этого белка обусловлена способностью индивидуальных молекул обратимо разворачиваться под действием растягивающего усилия. Подобно коллагену, эластин секретируется во

внеклеточное пространство, что позволяет таким тканям, как артерии и легкие деформироваться и растягиваться, не причиняя себе вреда.

Исследовано механическое состояние эластина артерий путём измерений механических свойств очищенного эластина из окружения аорты, как функции положения вдоль восходящей дуги аорты свиньи [23]. Секущий модуль эластичности, измеренный при одноосных механических тестах, увеличивался на 30% ( $P<0.001$ ), от величины 0.88 МПа в проксимальной ткани вблизи дуги аорты и до 1.14 МПа в дистальной ткани вблизи диафрагмы т.е. указанная жёсткость образцов эластина возрастила в зависимости от позиции. Напряжение разрушения было на 54% выше в дистальных тканях по сравнению с проксимальными ( $P<0.001$ ), но степень относительного удлинения для разрыва ткани не изменялась. Изменения секущего модуля эластичности коррелировали с отношением величины радиуса к толщине стенки, измеренным в ненагруженном состоянии. Это предполагает, что возрастание жёсткости связано с кольцевой морфологией. Высокая жёсткость и сила дистальных тканей может быть объяснена повышенной долей волокон, ориентированных по окружности, которые указывают, что сетчатая структура эластина в грудной аорте становится прогрессивно анизотропной с расстоянием от сердца. Отметим замечательную природную функцию эластина, который в строении шеи лошади и других животных образует длинные тяжи. Эти тяжи постоянно находятся в напряжении и позволяют без использования мускулов поддерживать положение тела, подобно тросам в конструкции кранов.



Рис. 2.9. Схематическое строение 3D сети волокон эластина.

Примером обычной для клеток спиральной структуры может служить актиновая нить, которая состоит из двух обвитых одна вокруг другой спиральных цепей, собранных из одного глобулярного белка – актина (Рис.2.10). Наличие двух спиральных цепей усиливает стабилизацию и прочность структуры, так как каждая субъединица может взаимодействовать не только с соседями по цепи, но и с субъединицами другой цепи. Молекулы, для функционирования которых имеет значение механическая прочность, обычно состоят не из глобулярных, а из фибриллярных субъединиц, что ещё больше увеличивает поверхность взаимодействия [24].

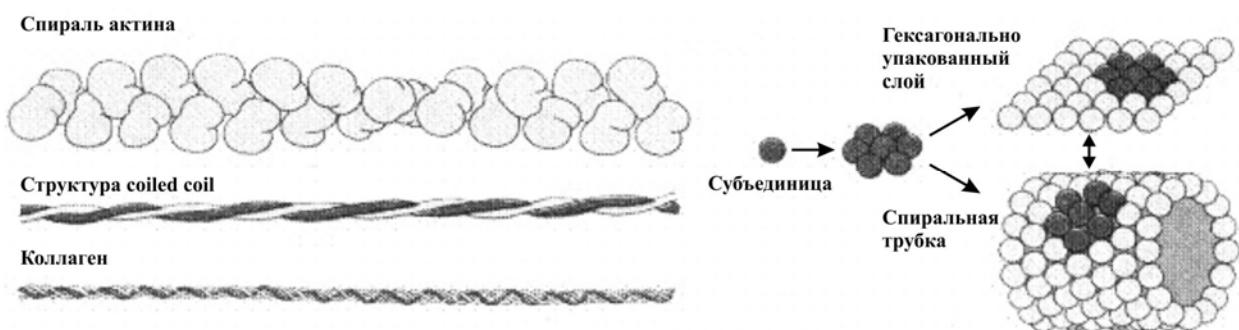


Рис. 2.10. Структуры, образующиеся при самосборке белковых субъединиц.

### 2.2.3. Строение и свойства внутриклеточного белка тайтина

Внутриклеточный белок тайтин (titin) наряду с актином и миозином является определяющей составной частью контрактильного аппарата мышц, входя в клеточное образование, ответственное за генерацию силы (саркомер), в качестве её основного структурообразующего стержня. Несмотря на его внутриклеточное расположение, он играет основную роль в механическом ответе мышцы на нагрузку в пассивном состоянии, в отсутствие сигналов (команд), приводящих к её сокращению. Причем, тайтин вносит вклад не только в упругие, но и в вязкие свойства ткани.

Тайтин простирается от Z-диска до М-линии – центра саркомера. В процессе расслабления нити тайтина ведут себя как генераторы пассивной

силы параллельно с сократительным аппаратом. Тайтин крепится к тонким нитям у Z-диска, уходит к концам толстых нитей и тянется вдоль нити миозина вплоть до M-полосы.

Тайтин считается самым большим известным мышечным белком с максимальной молекулярной массой 4.2 MDa [25]. Существуют две изоформы тайтина в миокарде млекопитающих: N2B ( $\sim$ 3 MDa) и N2BA (3.2-3.7 MDa) [26]. Уникальность тайтина заключается в его механической функции. Распутывание-скручивание клубочков тайтина (рис. 2.11) изменяет упругость саркомеров и определяет пассивное напряжение миокарда совместно с коллагеновыми волокнами соединительно-тканного каркаса. Упругость I-диапазона тайтина поддерживает упругую отдачу в начале диастолы и раннее сокращение в систолу. Связывая миозиновые филаменты с Z-дисками, тайтин принимает участие в регуляции силы сокращений по механизму Франка-Старлинга [27].

Молекула тайтина пожалуй, является рекордно длинной (до 1 мкм) линейно-цепочечной молекулой, относящейся к полипептидам, состоящей из многих последовательно соединённых линейных областей и глобулярных фрагментов. Для исследования её упругих и вязких свойств используются недавно разработанные нанотехнологические методики операций с клетками и отдельными молекулами, основанные на методах атомно-силовой микроскопии с применением очень тонкого острия в качестве пробного рычага, оптических лазерных ловушек для микронного размера диэлектрических бусинок, прикреплённых к клеточной мембране или даже к концам отдельных молекул. Применяются и бусинки из магнитных материалов, приклеенных на поверхность клетки, с целью локального воздействия импульсами магнитного поля. Методики исследования механических свойств таких длинных молекул описаны в одном из последующих разделов книги.

На рисунке 2.11 приведена схематическая картина последовательного развертывания отдельных глобулярных фрагментов таких молекул, как тайтин. При этом, кривая «деформация-напряжение» испытывает пики характерной нелинейной формы с увеличивающимся наклоном, которые соответствуют возникающей силе, препятствующей такому развертыванию. В модели червеобразной цепочки (WLC) происхождение такой силы носит энтропийный характер, отвечающий большей статистической вероятности свернутого в глобулу (клубок) состояния, чем развернутого. При дальнейшем растяжении сила падает, вероятно, вследствие рекомбинации, и начинается развертывание следующего глобулярного домена.

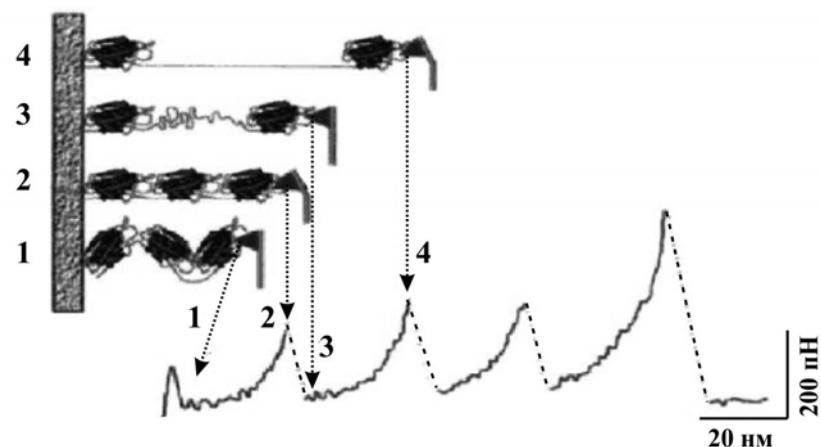


Рис. 2.11. Схема развертывания отдельных доменов в белковых молекулах, подобных тайтину, и соответствующая кривая «сила-растяжение».

Пассивное напряжение в сердечной мышце определяется двумя основными источниками: коллагеном и тайтином. Внутри саркомера имеется фрагмент (*I*-область групп молекул тайтина), где он работает в качестве пружины. При удлинении саркомера пассивное напряжение возрастает. При малых растяжениях тайтин обеспечивает основную часть пассивного напряжения. При больших растяжениях сетка коллагеновых волокон вытягивается вдоль оси растяжения и даёт все больший вклад в пассивное напряжение.

## Глава 3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

---

### 3.1. ОСНОВНЫЕ НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ

Тысячелетия врачи используют методику прощупывания (пальпацию) как часть врачебного исследования, чтобы диагностировать различные патологические процессы в теле человека. Наличие «жёстких» участков ткани ассоциируется с патологией и часто представляет ранний сигнал о заболевании, как в случае рака грудной железы или простаты. Часто при хирургических вмешательствах обнаруживают опухоли, которые невозможно обнаружить даже современными инструментальными методами. Это предполагает, что методы оценки «твёрдости» ткани являются дополнительными к обследованию с помощью обычного медицинского оборудования. В этом свете в этой обзорной главе обсуждаются несколько методов оценки жёсткости ткани, органа или клеток используя прикладываемое снаружи или изнутри механическое напряжение. Приводятся несколько методов для анализа возникающей в ответ деформации (частичного изменения длины) в попытке получить механические параметры, такие как модуль Юнга (отношение напряжения к продольной деформации). В некоторых методиках даётся оценка параметра жёсткости или упругих модулей, но большинство методов дают лишь качественную картину жёсткости. Тем не менее, такие оценки могут дать информацию в дополнение к современным методам оценки медицинских изображений.

### 3.1.1. Эластография

Эластография – это исследование состояния органов и тканей с помощью ультразвуковых волн. В основу эластографии заложен следующий физический принцип. В однородной среде ультразвуковые волны распространяются прямолинейно и с постоянной скоростью. На границе сред с неодинаковой акустической плотностью часть лучей отражается, а часть преломляется, продолжая прямолинейное распространение (рис. 3.1). Чем выше перепад акустической плотности пограничных сред, тем большая часть ультразвуковых колебаний отражается. В жёстких тканях (например, вокруг повреждения) эхо будет менее искажённым, чем в окружающей ткани, обозначая этим меньшую деформацию.

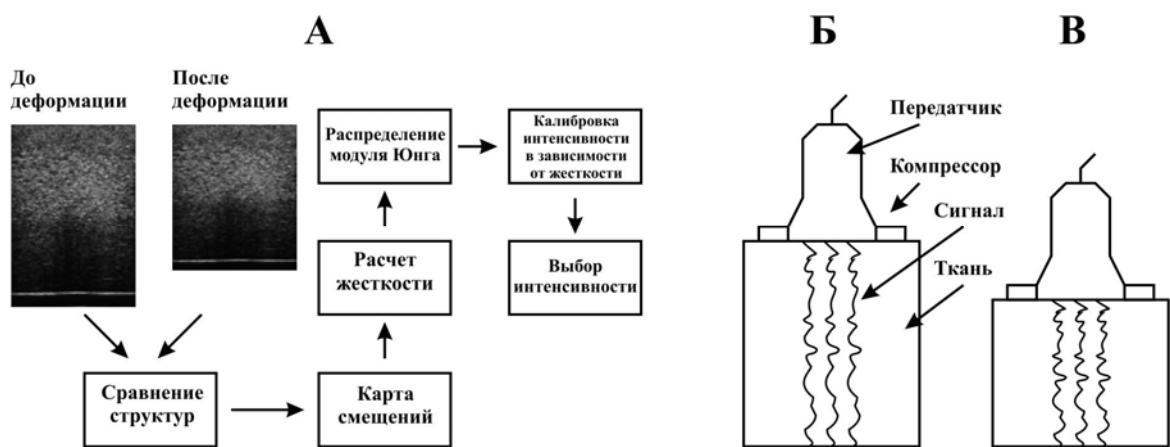


Рис. 3.1. Схема, поясняющая физический принцип метода ультразвуковой эластографии.

При эластографии используется технология улучшения визуализации неоднородностей плотности мягких тканей по их сдвиговым упругим характеристикам (рис. 3.2). Методика основана на качественной (по изменению цветовой гаммы) и количественной (за счёт специальной программы обсчёта полученных данных) оценке степени эластичности поверхностно расположенных органов и тканей, что позволяет при обнаружении патологических образований с высокой степенью

достоверности судить об их природе. В процессе эластографии на исследуемую ткань помимо акустического воздействия накладывают дополнительное внешнее давление. Вследствие неодинаковой эластичности неоднородные элементы ткани сжимаются по-разному. Это позволяет точно определить форму злокачественной опухоли, "маскирующейся" под здоровую ткань, диагностировать рак на ранних стадиях развития. Наибольшее распространение этот метод получил при диагностике заболеваний печени и сосудов.

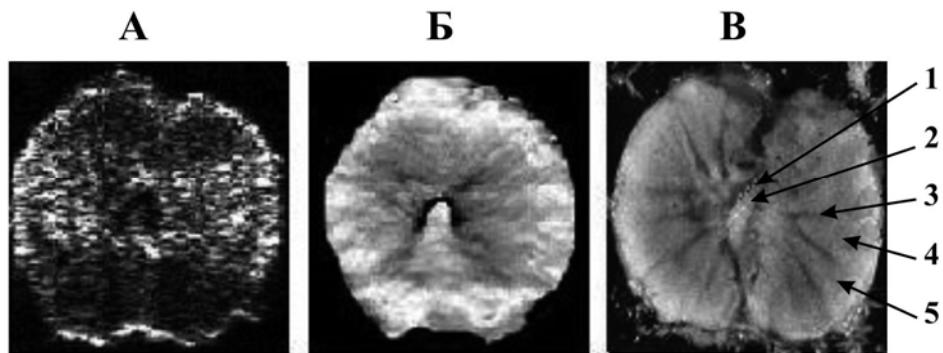


Рис 3.2. Стадии обработки ультразвукового изображения ткани простаты. (А) сонограмма; (Б) эластограмма; (В) гистологический срез. Цифрами обозначены различного типа объекты в ткани.

В литературе описан метод количественной обработки изображений распределения напряжения и деформации в мягких тканях [28]. Метод базируется на сжатии внешних тканей с последующим вычислением профиля деформаций методом кросс-корреляционного анализа пар А-линий до и после компрессии вдоль оси датчика. Профиль деформаций может быть преобразован в профиль модуля упругости при измерении напряжения, прикладываемого устройством сжатия. Метод применяется с определенной коррекцией для неоднородного поля напряжения. Сообщаются первые результаты экспериментов на нескольких фантомах и изолированных тканях животных, которые демонстрируют способность такой техники количественно описывать картину распределения деформации и модулей упругости с хорошим разрешением, чувствительностью и с уменьшенным

размером зерна изображения. Обсуждаются несколько потенциальных возможностей клинического использования этой техники.

В лаборатории математических проблем биомеханики Института математических проблем биологии РАН (ИМПБ, г. Пущино) совместно с рядом российских и зарубежных лабораторий создаются новые методы диагностики патологии мягких биологических тканей, в частности, методы ранней неинвазивной диагностики рака (рис. 3.3). Физической основой этих методов является отличие механических характеристик аномальных новообразований разных типов от характеристик нормальных тканей, что ведет к различному характеру деформирования исследуемого объекта при внешнем механическом воздействии. Таким образом, количественная реконструкция пространственного распределения механических свойств объекта по данным о характере его деформирования в сочетании с информацией о том, как эти свойства зависят от физиологического состояния ткани, даёт дополнительную возможность для проведения ранней неинвазивной дифференциальной диагностики патологий мягких биологических тканей.

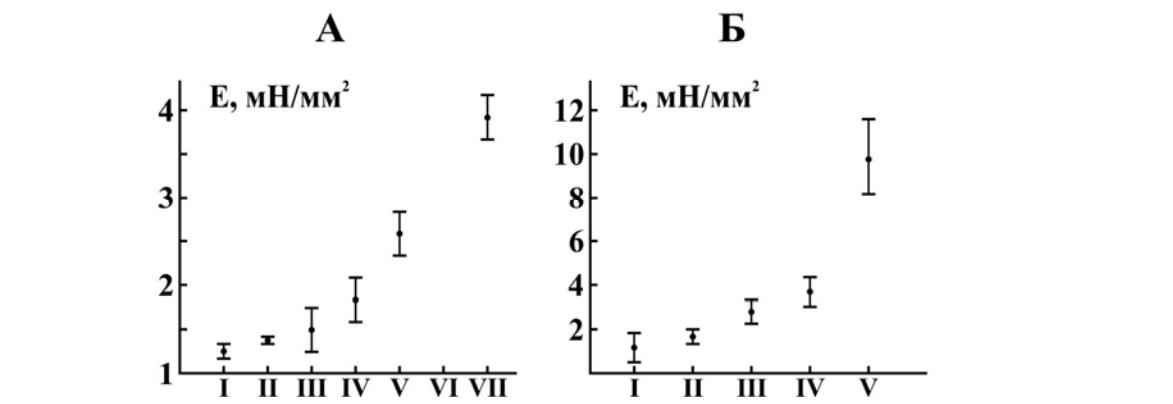


Рис. 3.3. Результаты прямого измерения модуля Юнга патологически измененных участков предстательной (А) и молочной (Б) железы человека.

В этой лаборатории используют метод реконструкции упругих свойств ткани по ультразвуковым изображениям и таким образом, получают надежный способ обнаружения тканевых новообразований. На рисунке 3.4 представлена иллюстрация метода реконструкции упругих свойств ткани по

ультразвуковому изображению. (А) Стандартные ультразвуковые изображения тканеподобных фантомов – включение не наблюдается. (Б) результат реконструкции модуля Юнга в областях интереса – включение ясно видно.

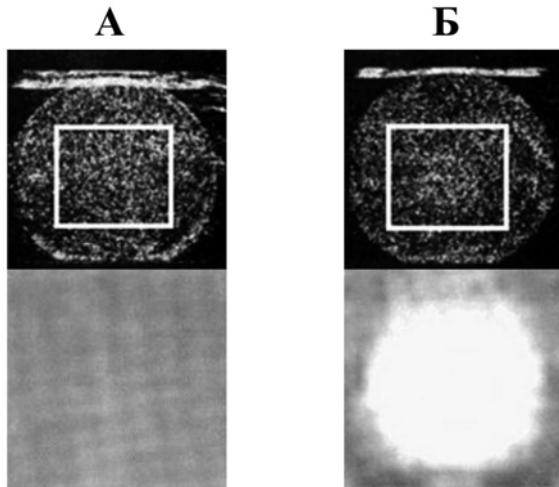


Рис. 3.4. Иллюстрация метода реконструкции упругих свойств ткани по ультразвуковому изображению.

Развитие техники и компьютерных методов анализа изображений биологических тканей позволяет методом реконструкции получать 3D изображения исследуемых органов. Используя традиционный диагностический ультразвуковой аппарат и датчик положения, была установлена возможность создания трёхмерного ультразвукового изображения (рис. 3.5). Двумерное ультразвуковое изображение, полученное на аппарате Simens Sonoline SI400, было совмещено с помощью рабочей станции Silicon Graphics Graphik Workstation, чтобы сформировать 3D объём данных. Пространственное положение двумерного изображения, введенное в виде серой шкалы данных в виртуальный объём зависело от позиции ультразвуковой головки на момент регистрации этого изображения.

В портативном комплексе имеется возможность калибровки цифрового электронного измерителя длины. Калибратор обеспечивает высокую точность измерений в широком диапазоне и используется как твёрдый и прецизионный пробник для компрессионных тестов. Поддерживающее

крепление присоединено к измеряющим захватам. Устройство измерения силы и датчик ультразвука на каждой стороне фиксированы по углам. Датчики ультразвука расположены коаксиально друг к другу. Датчики действуют как захваты для компрессионных тестов. Калибры устройств измерения силы действуют на датчик звука. Время прохождения ультразвукового импульса измеряется специально сконструированным устройством, использующим метод «sing-around». Эти значения, как и величина силы давления и тестируемая длина вводятся в программу компьютера и вычисляют скорость звука, напряжение и деформацию, которые записывают на жёсткий диск.



Рис. 3.5. Схема комплекса современной аппаратуры, необходимой для получения 3D изображений органов человека.

Механические свойства ткани животных исследованы с применением трёх различных измерительных комплексов. Используя первый комплекс, измерены статические и динамические характеристики в условиях напряжения. Вследствие проблем, проистекающих из комбинации измерений напряжения и ультразвуковых измерений, в этом исследовании скорость звука не измеряли. Во втором подходе проводили тесты на сжатие и одновременно измеряли скорость звука. В этом случае функция отклика на деформацию могла быть точно установлена. Третье тестирующее устройство

разработано для портативного использования и позволяет производить измерения на животных и на их органах в операционной.

### *3.1.2. ЯМР-эластография*

В основе метода магнитно-резонансной эластографии (MRE) лежит метод ядерного магнитного резонанса для определения концентрации ядер некоторых элементов в веществе, в основном, ядер водорода – протонов. Традиционные визуальные методы (такие как КТ, МРТ и УЗИ) не способны выявить степень фиброза в печени до развития цирроза. Динамическая магнитно-резонансная эластография (MRE) количественно картографирует жёсткость тканей методом визуализации сдвиговой волны, распространяющейся в тканях. Такие волны могут быть получены от движений внутренних источников (например, при движении сердца), от наружных источников, которые прямо приводят в движение глубокие слои ткани (например, амплитудно-модулированный сфокусированный ультразвук) и от наружных силовых приводов, которые вызывают движение поверхностных тканей, распространяющееся внутрь. С внешним силовым приводом обычно используется один датчик, для того, чтобы создать сдвиговую волну. Это приводит к ограничениям, обусловленным экранированием и затуханием волн. Акустическая система формирователя с фазированной антенной решёткой позволяет производить и получать ответ от независимо контролируемых волн разной формы по каждому каналу. Таким методом величина жёсткости любого произвольного региона может быть уточнена при получении максимального озвучивания сдвиговой волной.

Для измерения эластичности тканей путём вибрации используют технику и алгоритмы обработки изображений. MRE используется для исследования скелетных мышц, поскольку жёсткость мышцы изменяется в ходе мышечного сокращения. Методика может также быть использована при

раке молочной железы и других опухолях более плотных, чем окружающая ткань. В результате применения этого метода показано, что MRE является ценным дополнительным методом, позволяющим оценить ранние изменения ткани печени, молочной и щитовидной железы, простаты и других органов [29], [30].

### *3.1.3. Соноэластография*

Анализ механических свойств кожи имеет важное клиническое значение, начиная от рака кожи и до остеопороза при сахарном диабете. Изменение клеточного строения кожи при этих патологиях, по сути, проявляются как изменение эластичности ткани. Процедура дермаскопии, проведённая совместно с получением функциональной информации о механическом поведении кожи, становится потенциально важным диагностическим дополнением. Стандартные методы эластографии такие как магнито-резонансная и ультразвуковая эластография зависят от модальности изображений для которых они были разработаны. Разработан метод «модально-независимой» эластографии (‘modality-independent elastography’ - MIE), как отдельная методология техники обработки изображения. Она концептуально относится только к образам, свойственным изображению, но не к конкретному режиму оборудования. Результатом является реконструкция степени эластичности (модулей Юнга), получаемых при сопоставлении подобных измерений, для изображений до и после прикладываемой к ткани деформации.

Обычно полагают, что измерения механической жёсткости биологических тканей внутренних органов может обеспечить раннюю информацию о существовании ненормальных условий или о процессе выздоровления в ответ на проводимую терапию. Возможность получить информацию такого вида, до некоторых пор, могла быть осуществлена

только при хирургических вмешательствах с посылкой образцов интересующих тканей в лабораторию для дальнейшего анализа.

Благодаря недавно запатентованной технологии, имеется возможность применить новый инструмент, который представляет прорыв в этом диагностическом методе: PenFM (рис. 3.6). По форме PenFM напоминает ручку и включает индентор (рабочий элемент твёрдомера) для *in-vivo* измерений жёсткости ткани при минимуме инвазивной хирургии. Основным элементом нового инструмента является миниатюрный кронштейн – устройство, полученное путём прецизионной резной работы прямо на конце одномодового оптического волокна (диаметром 125 мкм). Концевой кронштейн накручивается на пьезоэлектрический прибор, который выполняет быстрые реверсивные колебания. Миниатюрный оптический считыватель (расположенный внутри ручки) позволяет прямо измерять вертикальные перемещения консоли с субнанометровым разрешением. При контакте с поверхностью концевая волоконная консоль отклоняется по направлению волокна. По амплитуде перемещения консоли в ходе реверсивных колебаний вычисляется жёсткость на поверхности.



Рис. 3.6. Механический метод измерения упругих свойств поверхности биологических тканей портативным устройством. Новый инструмент (PenFM) для измерения жёсткости поверхности ткани с минимальными хирургическими манипуляциями.

### *3.1.4. Реконструкция эластографических изображений*

Концептуальные рамки для эластографической реконструкции содержат три главных компонента: биомеханическую модель ткани, картину деформаций и сопоставление результатов и численную оптимизацию подобного образа. Образ интересующей ткани (источник) деформируется с помощью описанной компьютерной модели и сопоставляется с полученным образом той же ткани в механически нагруженном состоянии (цель). Деформация и сопоставление повторяются, используя систематически изменяемые параметры упругости вплоть до достижения приемлемой степени соответствия образов. Степень соответствия определяется по методу наименьших квадратов и удовлетворяет схеме множественного разложения и нелинейной оптимизации. Поскольку целью является картирование эластичности, этот процесс может быть классифицирован как обратная задача с деформацией источника образа, основанного на модели, и дополняющая прямую задачу.

### *3.1.5. Методы измерения вязкоупругих свойств кожи*

Индустрия косметики и персональной защиты имеют многообразный диапазон продукции. Она включает средства против пота, аэрозоли для волос, зубные пасты, средства ухода для лица (губная помада, маски, тени для глаз и т.д.), лак для ногтей, пилочки для ногтей, увлажнители (лосьон для тела, крем для рук) и дефолианты нескольких разновидностей. Для всех этих продуктов распределение размера частиц и реологические параметры являются ключевым индикатором их конечных характеристик. Срок хранения, который зависит от электрохимического дзета-потенциала и реологических свойств, может быть также интересен.

Растяжение ткани является свойством, основанным на природной способности кожи растягиваться в ответ на прикладываемую силу. Цель этого раздела рассмотреть гистологические и физиологические изменения, которые происходят в мягких тканях кожи и подлежащих структурах в ходе растяжения ткани. Приводятся литературные данные об этих изменениях. Растяжение ткани может выражаться в гипертрофии эпидермы, уменьшении дермы, уменьшении толщины жировой клетчатки и в ресорбции кости. Сосудистая капсула и ангиогенез обеспечивают адаптацию к высоким колебаниям давления в сосудах и улучшают жизнестойкость. Некоторые изменения мягких тканей наблюдаются в течение быстрого растяжения. Способность кожи увеличивать площадь поверхности в течение обычных растяжений ткани описывается, главным образом, как крип биологических тканей. Изменения мягких биологических тканей происходят в процессе её разрастания и большинство из этих изменений исчезают после прекращения процесса растяжения [31].

Данные о возрастных изменениях механических свойств кожи лица, полученные компьютеризированным методом всасывания, показывают, что с возрастом ухудшаются механические свойства кожи. Редкие исследования, проведённые с использованием объективных измерений кожи лица, дают противоречивую информацию. Всего были исследованы 200 здоровых женщин в возрасте от 17 до 68 лет [32]. Результаты свидетельствуют о значительном увеличении растяжимости и существенном падении эластичности с возрастом. Эти изменения становятся обычными для женщин достигающих 40 летнего возраста.

### 3.2. МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОРГАНОВ

Рассмотрим один из таких методов на примере исследования вязкоупругих свойств левого желудочка (ЛЖ) морской свинки (рис. 3.7). На остановленном в диастолу ЛЖ при быстром изменении его объёма регистрировали процесс релаксации давления с помощью катетерного концевого датчика (2-Fr, Millar). Вручную 10 раз инъецировали по 0,1 мл физиологического раствора и контролировали стабильность объёма ЛЖ путём измерения большого и малого диаметров ЛЖ с помощью ультразвуковых датчиков. Циклическое ступенчатое изменение объёма при нагрузке и разгрузке характеризовалось петлёй гистерезиса. Проявлялась релаксация напряжения на каждой ступени изменения объёма. С использованием методов линейного регрессионного анализа в сигнале давления был выделен эффект вязкоупругости, который разделён на быструю и медленную компоненту с постоянными временем релаксации, равными примерно 1 и 20 секундам, соответственно.

Анализ амплитуд быстрой и медленной компонент показал, что релаксация напряжения ярче выражена при больших объёмах ЛЖ и имеется асимметрия, т.е. релаксация хорошо выражена при нагрузке и почти отсутствует при разгрузке объёмом. Оба вывода предполагают, что вязкоупругость пассивного миокарда, когда ЛЖ подвергается апериодическим нагрузкам объёмом с инкрементом, нелинейна. Асимметрия вязкоупругого поведения согласуется с гипотезой о фильтрации внеклеточной жидкости.

При анализе таких измерений необходимо останавливать желудочек в фазу диастолы и выключать предсердие. Однако определить жёсткость ЛЖ

возможно и при действующем предсердии по так называемой диастатической связи «давление-объём» (рис. 3.8).

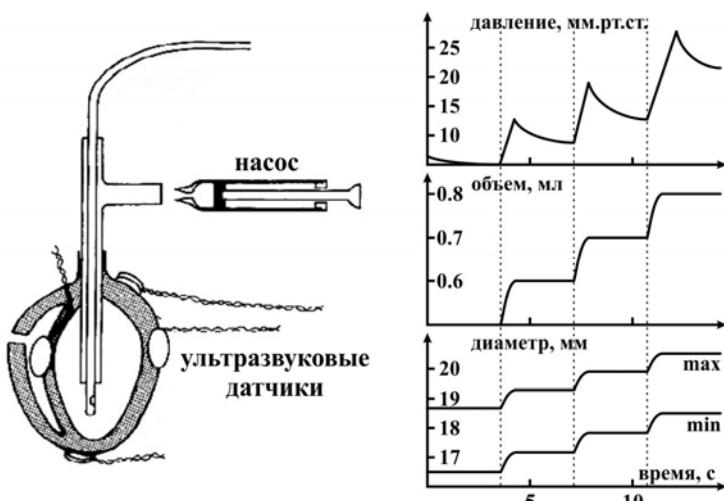


Рис. 3.7. Схема эксперимента по измерению вязкоупругих свойств камер изолированного сердца. Большой и малый диаметры желудочка измерены с помощью ультразвуковых датчиков, расположенных по оси «основание – верхушка» и «переднезадней» оси свободной стенки желудочка. Справа приведены графики изменения объёма левого желудочка (ЛЖ) ступенчатым образом, что отражается на изменениях диаметра и давления. Во время эксперимента коронарные артерии были перевязаны [33].

Основываясь на физиологическом различии между диастазом (состояние, когда левый желудочек и предсердие расслаблены и остановлены) и концом диастолы (объём левого желудочка увеличен за счёт систолы предсердия) было предположено, что поскольку в обоих случаях в определении жёсткости участвует объём желудочка, то должны быть две разных и отличимых связи «давление-объём». Давление и объём в левом желудочке пациентов определяли с помощью катетерной техники. Связь «давление–объём» при физиологической вариации диастатических и конечнодиастолических значений от цикла к циклу была аппроксимирована линейными и экспоненциальными функциями. Экстраполяция экспоненциальной зависимостью диастатической связи «давление-объём» (D-PVR) недооценивала зависимость конечно-диастолического давления в левом желудочке – объём (LVEDP) в 82% сокращений сердца ( $P<0.001$ ). Если результаты по каждому субъекту объединить в непрерывный набор

данных и аппроксимировать их одной экспоненциальной зависимостью, то можно получить более хорошую аппроксимацию, чем в случае раздельного представления данных. Жёсткость камеры, определяемая по наклону связи «давление-объём» в диастатических условиях, была меньше, чем для конечно-диастолических, и равнялась  $0.16 \pm 0.11$  против  $0.24 \pm 0.15$  мм.рт.ст./мл у 31 субъекта ( $P < 0.001$ ).

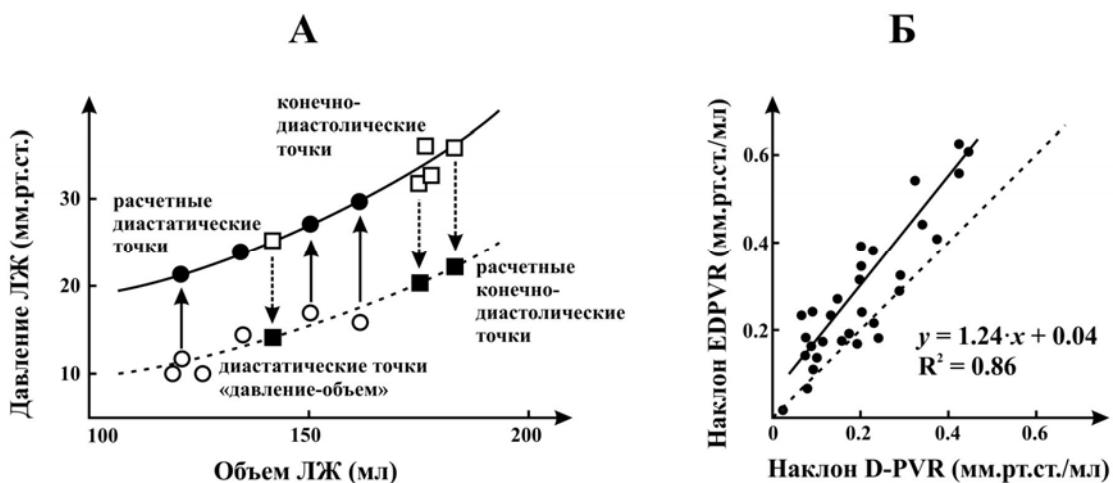


Рис. 3.8. (А) Экстраполяция диастатической связи давление-объём; чёрные кружки – точки измеренной диастатической связи Р-V; сплошная линия – зависимость D-PVR к соответствующей EDV; пустые квадраты – оценки конечно-диастолической связи Р-V по экстраполированной кривой D-PVR; чёрные квадраты – измеренная конечно-диастолическая связь Р-V; прерывистая линия – EDPVR экстраполированная к соответствующему диастатическому объёму; пустые кружки – оценка диастатической связи Р-V экстраполированной по EDPVR. (Б) Сплошная линия – жёсткость по наклону связи EDPVR против жёсткости по наклону связи D-PVR; прерывистая линия – линия регрессии между наклоном EDPVR против наклона D-PVR [34].

При анализе данных авторы пришли к выводу, что диастатическая и конечно-диастолическая зависимости «давление-объём» различны, и поскольку диастатическая связь не связана с сокращением предсердия, она лучше отражает жёсткость пассивного левого желудочка.

### 3.3. МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ.

Поскольку практически невозможно получить точные данные о вязкоупругих характеристиках ткани на целом органе из-за помех, вносимых окружающими, пусть и подобными тканевыми структурами, наибольшее распространение получили методы измерения на изолированных образцах. Однако и в этом случае для получения адекватных данных измерений необходимо соблюдать ряд условий.

#### *3.3.1. Условия адекватного измерения*

Для получения адекватных результатов измерений необходимо придерживаться нескольких принципов тестирования образцов биологического материала:

1. образец должен иметь все компоненты, свойственные исследуемому композитному биологическому материалу;
2. тестируемый образец должен быть получен так, чтобы основные компоненты ткани располагались вдоль оси нагрузки и не были повреждены при иссечении;
3. образцы тестируют в среде, свойственной этому материалу. Например, полоски мышечной ткани помещают в хорошо аэрируемом физиологическом растворе и постоянно контролируют их физиологическое состояние;
4. необходимо выбирать такие размеры образца материала, чтобы, длина образца, вдоль которой задаётся деформация, была намного больше его толщины (учитывая принцип Сен-Венана). В теории упругости [35], согласно этому принципу уравновешенная система сил, приложенная к какой-либо части поверхности однородного упругого тела, вызывает в

- нём напряжения, очень быстро убывающие по мере удаления от этой части и на расстояниях, существенно превышающих наибольший линейный размер области приложения нагрузок. Принцип был сформулирован французским учёным А. Сен-Венаном (A. Saint-Venant) в 1855. Этот принцип важно учитывать в том смысле, что при фиксации образца в измерительной аппаратуре неизбежно возникает эффект поврежденных концов, который постепенно уменьшается вдоль длины препарата;
5. протокол эксперимента должен включать циклы прекондиционирующих деформаций перед началом регистрации динамических характеристик исследуемых препаратов. Эффект прекондиционирующих деформаций, играет важную роль в определении механических свойств биологических тканей [36].

Как уже отмечено, материалы тестируют, подвергая деформации: сжатия-растяжения, кручения, изгиба, сдвига, и при этом анализируют напряжение, которое имеет множество составляющих.

### *3.3.2. Одноосное растяжение*

При одноосном растяжении образцы материала, как правило, подвергаются деформации устройством, развивающим силу, значительно превосходящую силу сопротивления материала, и в этом случае в образце происходит релаксация напряжения. При достаточном времени напряжение достигает стационарного уровня. Образец может также подвергаться постоянной нагрузке, которая приводит к развитию крипа, проявляющегося в переменной деформации. В зависимости от скорости задания этих воздействий образец реагирует не только проявлением упругих, но и вязких свойств. Теоретически эти два способа исследования материала взаимозаменяемы, но для практических целей их лучше совмещать. Схема

экспериментального оборудования для исследования биомеханических характеристик изолированной сердечной мышцы при одноосной деформации изображена на рисунке 3.9.

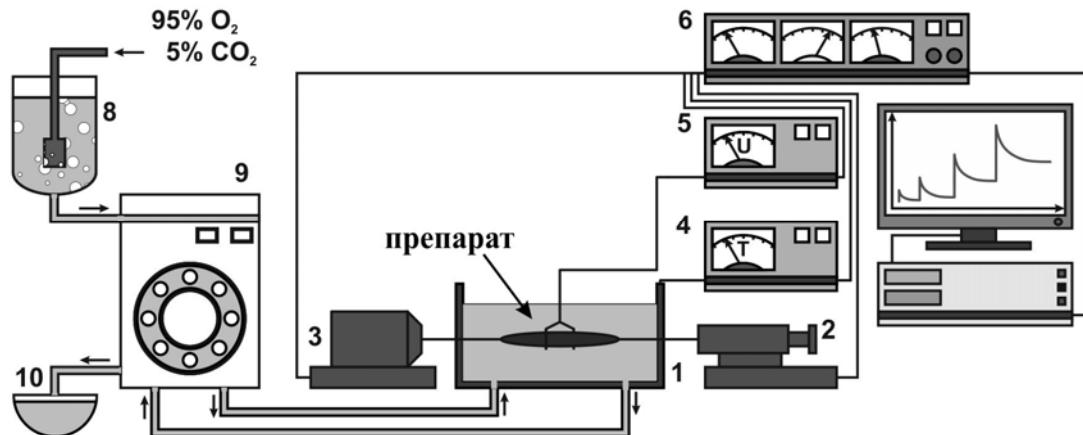


Рис. 3.9. Схема экспериментального оборудования для исследования биомеханических характеристик сердечных мышц. На рисунке выделены 1 – перфузируемая термостатируемая ванночка для изолированного препарата миокарда, 2 – датчик силы, 3 – мотор длины, 4 – термостат, 5 – электростимулятор, 6 – блок управления, 7 – персональный компьютер, 8 – сосуд для физиологического раствора, 9 – перистальтический насос, 10 – резервуар для отработанного раствора. Стрелками указано направление циркуляции раствора.

Биомеханические эксперименты на сердечных мышцах, используя подобные установки [37], обычно проводят по следующему протоколу. Животным вводят гепарин в дозировке 1 мл/кг для предотвращения образования тромбов в коронарных сосудах. После умерщвления животного и вскрытия грудной клетки извлечённое сердце промывается в физиологическом растворе, содержащем 30 мМ 2,3-бутандион моноксим (BDM) для предотвращения изменения сократительных свойств препарата миокарда во время процедуры выделения [38]. Физиологический раствор содержит (в мМ):  $\text{NaCl}$  118.5,  $\text{KCl}$  4.2,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  14.5,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2,  $\text{CaCl}_2$  2.5, глюкоза 11.1. Стабильный уровень pH (7.35) поддерживают фосфатно-карбонатным буфером с барботированием карбогеном (95%  $\text{O}_2$ +5%  $\text{CO}_2$ ) при температуре 250°C. Затем вскрывают правый желудочек и вырезают папиллярные мышцы. Для исследования

выбирают тонкие и длинные препараты. Изолированную мышцу фиксируют к штокам измерительной аппаратуры в ванночке (рис. 3.9) и подвергают стимуляции импульсами постоянного тока в течение примерно 60 минут до установления стабильных механических характеристик сокращения мышц и вымывания BDM. Оценку функционального состояния изолированных сердечных мышц осуществляют следующим образом: в изометрическом режиме мышцу растягивают до длины, при которой развивающая сила максимальна –  $L_{\max}$ . Затем мышцу отпускают до рабочей длины, равной, как правило,  $0.95 L_{\max}$ , вычисляют отношение пассивной ( $F_{\text{пак}}$ ) и максимальной активной составляющей развивающей силы ( $F_{\text{акт}}$ ),  $F_{\text{пак}}/F_{\text{акт}} < 0.15$  при  $L=0.95 L_{\max}$ , и если развивающая сила при этой длине составляет не менее 10 мН, то препараты считают пригодными для исследования. Большие соотношения  $F_{\text{пак}}/F_{\text{акт}}$  свидетельствуют о повреждении препарата и развитии в нем контрактуры. Такие препараты исключаются из анализа.

Перед тем, как приступить к исследованию биомеханических характеристик сердечной мышцы, измеряют длину провиса мышцы  $L_0$  в изоляции. Препарат укорачивают до тех пор, пока пассивная составляющая силы не перестаёт изменяться, а активная составляющая достигает минимального значения. Эту длину принимают за длину провиса  $L_0$ .

Для того, чтобы получить вязкоупругие характеристики мышцы, стимуляцию выключают. Запись квазистационарной зависимости «пассивное напряжение – деформация» в диапазоне длин от  $L_0$  до  $L_{\max}$  проводят путём растяжения мышцы со скоростью  $\sim 0.5$  мкм/сек. Запись релаксации силы проводят при ступенчатом растяжении мышцы заданной величины. Скорость изменения длины мышцы выбирают из следующих соображений: во-первых, чтобы избежать повреждений препарата, а во-вторых, чтобы выявить начальную фазу релаксации напряжения. Запись вязкоупругого гистерезиса проводят при гармоническом изменении длины мышцы с заданным периодом и амплитудой. В промежутках между записями проводят контроль

физиологического состояния препаратов – включают стимуляцию и проверяют уровень сократимости, соотношение активного напряжения к пассивному, чтобы исключить препараты, в которых возникает гипоксическая контрактура, т.е. происходит рост пассивного напряжения и падение активного.

### 3.3.3. Двумерные испытания

Для исследования влияния анизотропии характеристик биологических препаратов используют двумерное задание деформаций в двух (обычно перпендикулярных) направлениях. Отметим, что проведение измерений при двухосном растяжении сопряжено с трудностями крепления образца ткани к измерительной аппаратуре и ещё более сильным влиянием фиксации образца при данных измерениях, чем при одноосных испытаниях.

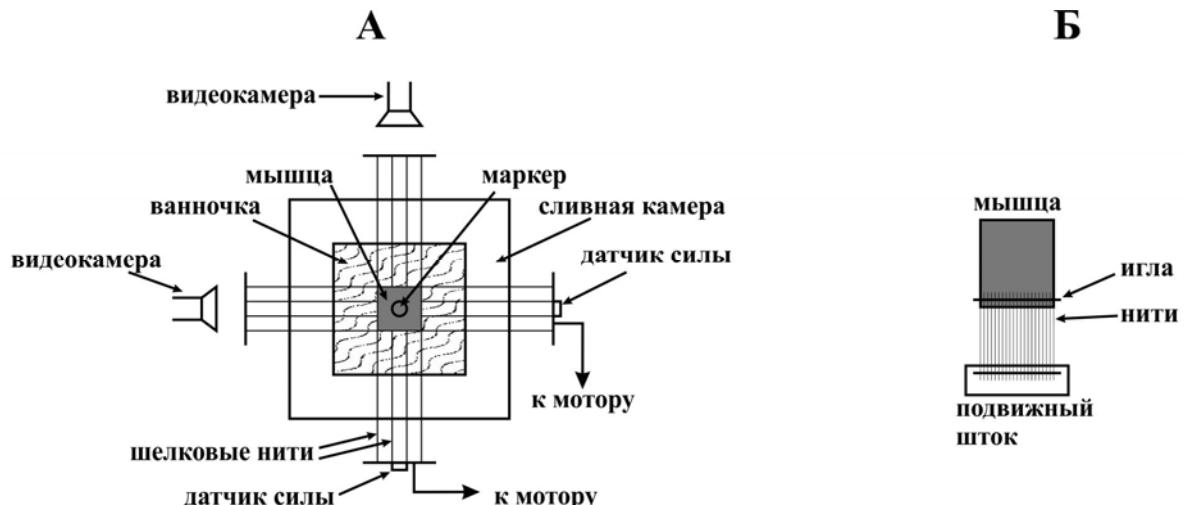


Рис. 3.10. Схема аппаратуры для проведения экспериментальных двухосных испытаний (А). Схема крепления краев материала к подвижным штокам (Б).

На рисунке 3.10 изображена схема экспериментальной установки для проведения двухосных биомеханических экспериментов на образцах биологической ткани. Образец ткани помещён в центре ванночки. Параллельно расположенным нитками он прикреплён к двум ортогонально расположенным парам манипуляторов с поворотной степенью подвижности,

которые передвигаются на двух ортогональных винтовых шпинделях. Винтовые шпинNELи сопряжены цепочкой через блок. Две пары ультразвуковых датчиков использованы для измерения внешних размеров ткани между концами области ниток (не показаны). Круглая метка на образце обозначает центральную область, в которой деформации отслеживаются двумя видеокамерами, соединёнными с видеоанализаторами (не показаны). Также не показано зеркало и расщепитель луча, которые смонтированы над образцом.

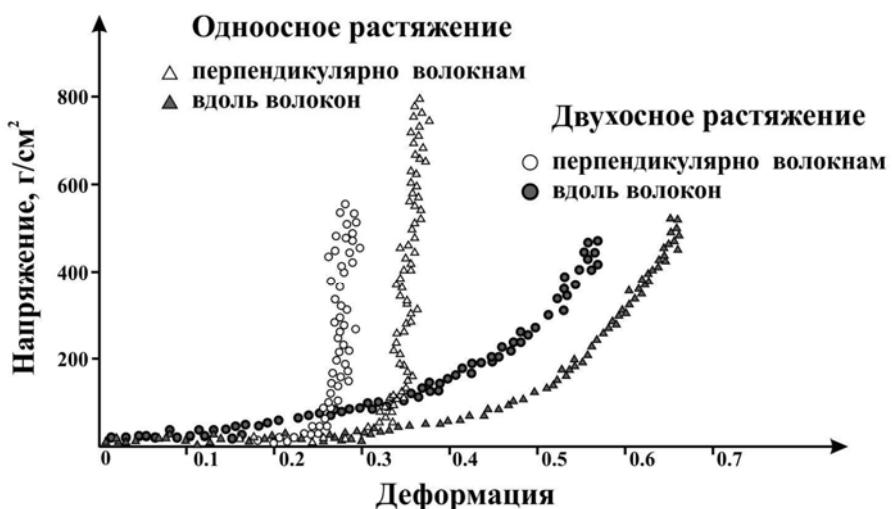


Рис. 3.11. Репрезентативный набор зависимостей «напряжение-деформация» при одноосном и двухосном растяжении мышечной полоски диафрагмы [39].

В других экспериментах для определения локальных механических деформаций диафрагмальной мышцы (рис. 3.11) использованы маркеры, размещенные на центральном сухожилии и включениями на грудной стенке, и видеокамеры. Деформация определена по расстоянию между маркерами при относительно ненапряжённой длине. Эти данные показывают, что податливость и растяжимость в поперечном ходе волокон значительно меньше, чем в направлении вдоль волокон (рис. 3.11). Кроме того, кривая «напряжение-деформация» при двухосном растяжении смещена влево по сравнению с таковой при одноосном нагружении. Это указывает на то, что

мышца диафрагмы менее растяжима при двухосном растяжении, чем при одноосном.

### 3.3.4. Метод сдвиговых деформаций

Этот метод имеет существенное значение для характеристики ткани, хотя и мало распространён. Сдвиговые деформации сопровождают практически любую другую деформацию, поскольку биологические ткани характеризуются многослойностью элементов и их неоднородностью.



Рис. 3.12. Возможные варианты сдвиговых деформаций.

Приведём возможные варианты сдвиговых деформаций и изложим конкретные результаты таких испытаний для миокардиальной ткани (рис. 3.12). Для исследования свойств пластов миокарда желудочка в пассивном состоянии использовали образцы ткани миокарда размером 3x3x3 мм. Они были выделены из соседних областей среднего слоя боковой стенки левого желудочка со сторонами, ориентированными в соответствии с направлением главных осей. Четыре синусоидальных цикла простого сдвига (максимум сдвигового смещения 0.1-0.5) применяли раздельно к каждому образцу в двух ортогональных направлениях. Измеряли результирующие силы вдоль трёх осей. Три образца ткани из каждого сердца исследовали в разных ориентациях, чтобы подвергнуть образец всем шести видам

деформации сдвига. Показано, что миокард проявляет нелинейные вязкоупругие свойства сдвига с воспроизведимыми, зависящими от направления, характеристиками смягчения при возрастающей деформации. Сдвиговые свойства анизотропны и отличаются в трёх направлениях: миокард пассивного желудочка менее всего резистентен к сдвиговому смещению в плоскости миокардиальных слоёв и более резистентен к сдвиговой деформации по оси миоцитов.

Из сопоставления результатов шести различных видов сдвига следует, что простой сдвиговой деформации сопротивляются упругие элементы, выстроенные по микроструктурным осям ткани [40].

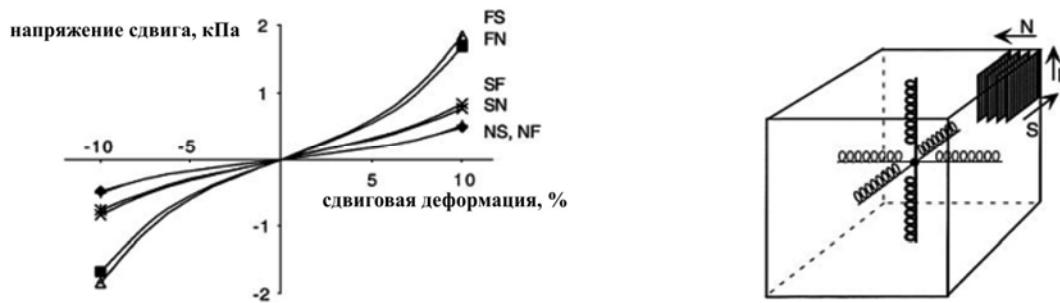


Рис. 3.13. Механический отклик миокарда желудочка при простой деформации сдвига. Направление ориентации трёх семейств упругих элементов соответствует микроструктурному обозначению осей.

Динамический ответ образцов мягких тканей при гидростатическом сжатии и простом сдвиге исследуют с применением следующей техники [41]. Для получения кривой «напряжение-деформация» при задании высокоскоростной деформации предложено использовать вместо длинного образца сэндвич из исследуемого материала и алюминиевых пластин (рис. 3.14). В этом методе динамического испытания образцов материалов регистрируют скорость распространения волны напряжения по материалу после кратковременной деформации, задаваемой входным стержнем.

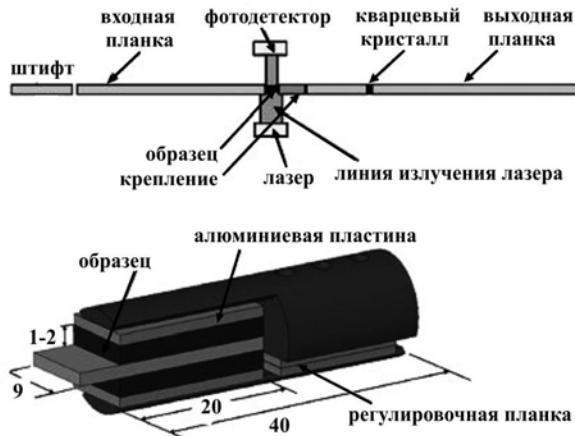


Рис. 3.14. Схема установки для измерения сдвигового ответа биологической ткани (сверху). Увеличенный рисунок (снизу) – сдвиговое крепление двойного перекрытия образца. Размеры указаны в мм.

Данный метод приспособлен для исследования мягких материалов при гидростатическом сжатии или сдвиге. Используя эту модификацию, был получен динамический отклик тканей человека (желудка, сердца, печени и легких от трупа) и получена величина динамического модуля и сдвигового ответа для каждого типа ткани. Динамический объёмный отклик этих тканей легко аппроксимируется линией в том диапазоне давлений, в котором ответ ткани на динамический сдвиг является нелинейным и демонстрирует сдвиговое напряжение, близкое к экспоненциальному.

### 3.4. МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ ВЯЗКОУПРУГИХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК

Различные методы и техника измерений биомеханических характеристик клеток подробно описаны в обзоре [42].

Таблица 3.1

## Методы, применяемые на уровне отдельной клетки

	метод	принцип	диапазон сил
1	Атомно-силовая микроскопия	Для оценки сил используется относительная деформация штока крепления и образца	$\sim 10 \text{ пН} \leq F_x \leq ?$
2	Аспирация микропипеткой	Насос прикреплён к микропипетке, соединённой с клеткой	$10-20 \text{ пН} \leq F_x \leq ?$
3	Растягивающие устройства	Гибкая мембрана соединена с образцом, растягивающим мембрану	мин. 25% от нерастянутого состояния
4	Системы на карбоновых волокнах	Карбоновые волокна присоединяются непосредственно к клетке и контролируются механически с помощью системы обратной связи	$? \leq F_x \leq 5 \text{ мкН}$
5	Магнитные щипцы/цитометрия	Намагниченные ферромагнитные или суперparamагнитные шарики перемещаются вдоль градиента магнитного поля	$2 \text{ пН} \leq F_x \leq 50 \text{ нН}$
6	Оптические щипцы	Диэлектрические шарики с высоким показателем преломления перемещают лазерным лучом	$\sim 2 \text{ пН} \leq F_x \leq 600 \text{ пН}$
7	Гибкие слои с шариками	Сдвиг шарика в слое используется, чтобы определить упругую силу в слое клетки	$140 \text{ нН} \leq F_x \leq ?$
8	Гибкие слои, размеченные точками или сеткой	Деформация решётки используется, чтобы определить упругую силу в слое клетки	$70 \text{ нН} \leq F_x \leq ?$
9	Массив вертикальных микрорычагов	Горизонтальное отклонение вертикального рычага используется, чтобы определить упругую силу	$50 \text{ пН} \leq F_x \leq$
10	Микромеханические горизонтальные рычаги	Горизонтальное отклонение рычага используется, чтобы определить упругую силу	$\sim 2 \text{ нН} \leq F_x \leq 100 \text{ нН}$

В таблице 3.1 представлены основные методики, применяемые в биомеханике клетки. Вкратце коснемся основных деталей методов, применяемых для исследования механических свойств биологических клеток. Измерительная аппаратура для измерения механических характеристик кардиомиоцитов проектируются с использованием инвертированных микроскопов (например, Carl Zeiss, Nikon Diaphot TMD,

или IMT-2, Olympus), которые оборудованы для фазоконтрастных или эпифлюoresцентных измерений. Микроскопы размещают на виброизолирующих столах (марки Torlab или Micro-G, model 63-573, Technical Manufacturing Corp.). На столике микроскопа закрепляют датчик силы и мотор, каждый из которых прикрепляют своему микроманипулятору. Поскольку необходимо задавать деформации порядка нескольких процентов от длины кардиомиоцита равной 100-120 мкм и регистрировать силы порядка сотен микрограмм, то нужно быстродействующее, высокоточное и малошумящее оборудование. Например, моторы модели 6800, Cambridge Technology Inc. с ответом в 0.5 мс на ступеньку задающего сигнала и с шумом порядка 0.5 мкм. В качестве датчика силы с высоким разрешением используют полупроводниковый датчик модели 406A, Cambridge Technology с шириной полосы пропускания 90 Гц и пиковым шумом без прикреплённой клетки ~ 1 мкг, а с прикреплённой клеткой в ходе медленного пилообразного растяжения с шумом до 10-20 мкг или аналогичные им. Датчики калибруют весом известной массы. На предметном столике микроскопа размещают также гидравлический трёхпозиционный микроманипулятор (типа NRC MX630 или аналогичный) с зажатой стеклянной микроиглой, кончик которой опускается в ванночку и используется для манипуляций с клетками. Дно проточной ванночки, в которую помещают клетку, изготовлено из покровного стекла. Перед добавлением клеток в ванночку она покрывается бычьим сывороточным альбумином, растворённым в релаксирующем растворе в концентрации 0.5 мг/мл, чтобы избежать прилипания клеток к стеклу. В ванночке, объёмом примерно 100 мкл, находится маленькая термопара, позволяющая контролировать температуру в пределах от 0 до 40<sup>0</sup>С. Обычно эксперименты проводят при 20-25<sup>0</sup>С.

Особого внимания требует проблема крепления клеток к штокам аппаратуры. Для этого используют несколько способов. Крепление с помощью миниатюрных прищепок. Одну прищепку тупым концом с

помощью парафина прикрепляют к штоку датчика, а её острый конец (диаметр 10 -20 мкм) погружают в ванночку и приклеивают к клетке. Для увеличения площади прикрепления клетки конец прищепки изгибают так, чтобы он был перпендикулярен длинной оси клетки. Экспериментальным путём был выявлен наиболее подходящий клей «Great Stuff» (Insta-Foam Products, Inc.) [43]. Микроиглами сначала ориентируют клетку так, чтобы она была перпендикулярна крючкам. Затем располагают крючок над той частью клетки, к которой, как ожидается, она будет прикреплена. После этого крючок выводят из раствора и на воздухе под контролем стереомикроскопа наносят клей на кончик крючка (очень критично достичь оптимального количества клея). Сразу же после этого крючок быстро вводят в ванночку и осторожно подводят к вершине клетки, после чего крючок поднимают и клетка приподнимается над дном ванночки. Перед приклеиванием второго конца клетки его разворачивают так, чтобы было видно поперечное сечение клетки для определения площади её поперечного сечения. После этого приклеивают другой конец клетки. Перед растяжением клетки достаточное время (более 45 мин) необходимо для затвердевания клея. Полученное таким способом крепление клетки способно выдержать силы более чем 3-5 мг, и даже при растяжении клетки до точки разрыва клетка не полностью отрывается от крючков.

Другим вариантом крепления одиночных клеток является использование карбоновых волокон. В последнее десятилетие разработан новый тип карбоновых волокон, который содержит более мелкие гранулы графитовых кристаллов. Их называют карбоновыми волокнами, армированными графитом (Graphite Reinforced by Carbon – GRC). Они изготовлены и запатентованы японскими исследователями [44]. Смесь мелких графитовых гранул (1-5 мм в диаметре) и резинового олигомера хорошо смешана и сформирована в виде стержней путём пропускания через тонкие отверстия в сапфире. Такая процедура вытягивает в том же

направлении концы графитовых гранул, которые насыщены заряженными концевыми остатками, тем самым увеличивая плотность поверхностных зарядов на карбоновом волокне. Затем волокна карбонизируются при  $1500^{\circ}\text{C}$  и превращаются в GRC волокна. GRC волокна (рис. 3.15А) отличаются от доступных коммерческих аморфных карбоновых волокон (рис. 3.15Б) по виду и плотности заряда поверхности.

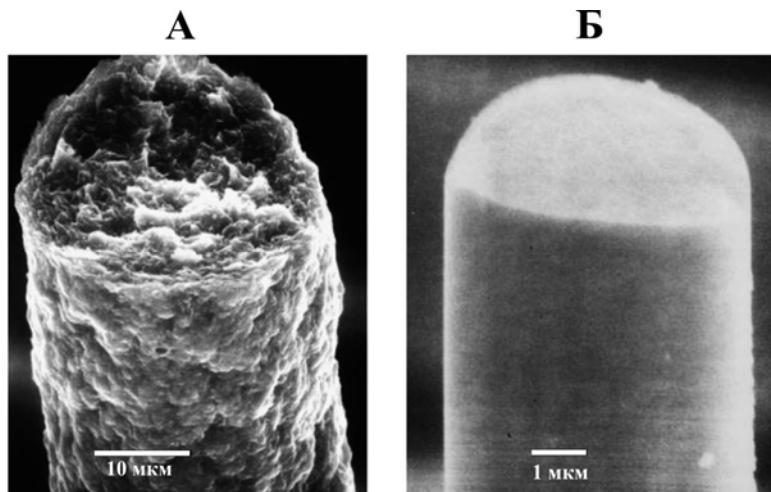


Рис. 3.15. Карбоновое волокна нового типа (А); доступное коммерческое карбоновое волокно (Б).

Карбоновые волокна, армированные графитом, имеют бугристую поверхность в отличие от гладкой поверхности аморфных карбоновых волокон. Эти бугорки GRC волокон соответствуют графитовым гранулам, которые сообщают поверхности волокна электрический заряд. Заряд на поверхности волокна измерен электрохимическим методом (циклической вольтамперометрией). Миоциты прикрепляются к GRC волокнам значительно более надежно, чем к аморфным карбоновым волокнам (рис. 3.16). Плотное крепление миоцитов к GRC волокнам происходит в результате большой плотности заряда на поверхности волокна.

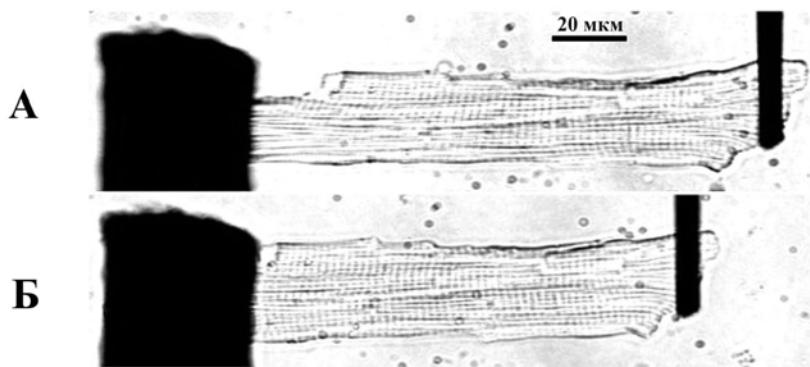


Рис. 3.16. Фотографии одиночного кардиомиоцита на двух разных длинах. (А) длина саркомеров 2.1 мкм; (Б) длина саркомеров 1.9 мкм. Миоцит расположен между двумя карбоновыми волокнами, армированными графитом.

Карбоновые волокна монтируются внутри стеклянных капилляров и соединены с устройствами, обеспечивающими точный контроль положения за счёт управления с обратной связью. GRC волокна прикрепляются к клеткам и используются в качестве средства, как для приложения активных сил, так и для регистрации сил, возникающих в клетке. Для этого используют оптический образ карбоновых волокон, который проектируется на фотодиодную матрицу. Для удержания заданной длины миоцита сигнал положения волокна с матрицы преобразуется в рабочий сигнал для системы управления с обратной связью. Оптическая система подключена к системе записи изображения и может быть использована для захвата и записи изменений в длине клетки (рис. 3.17).

Хотя этот метод может быть потенциально использован для многих типов клеток, в последнее время он был использован для изучения отдельных кардиомиоцитов, размеры которых на несколько порядков меньше, чем у мышечных волокон и их, соответственно, сложнее исследовать. В дальнейшем внесли улучшения в систему управления с обратной связью и применили её для исследования механики сердечных миоцитов крысы в изометрических ненагруженных и нагруженных физиологических условиях [45]. Некоторые из ограничений происходят вследствие повреждения клеток

в процессе присоединения волокон. Неточность в измерении длины саркомера обусловлена проблемами с фокусом изображения клетки.

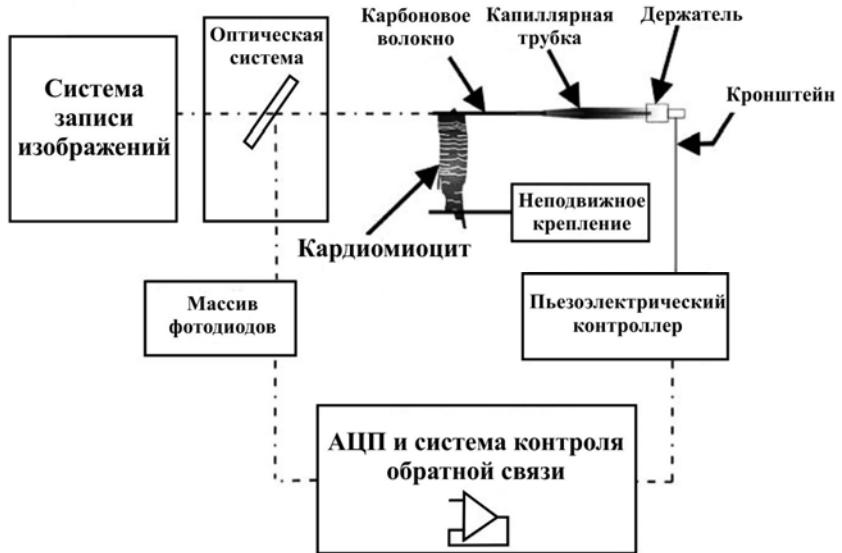


Рис. 3.17. Модифицированная блок-схема основных принципиальных элементов системы для манипулирования карбоновыми волокнами [42].

В работе [46] сделали дальнейшие изменения в этой установке путём введения двустороннего, а не одностороннего управления, которое использовано в работах [45], [44], что позволило снизить размытость образа саркомера (рис. 3.18). Рассмотрим устройство растяжения клеток. На салазках смонтирована оптическая передвижная система, которую можно вручную грубо перемещать. На подвижной части смонтирована прецизионная пьезоэлектрический платформа для точного управления в горизонтальной плоскости оптической и компонентами перфузионной системы (дву направленные стрелки). К этой платформе прикреплён трёхосный гидравлический манипулятор, управляющий положением карбоновых волокон. Он обеспечивает две другие степени свободы перемещения: вращение вокруг оси стеклянной пипетки с карбоновыми волокнами и подпружиненное соединение держателя карбоновых волокон и столика гидравлического манипулятора.

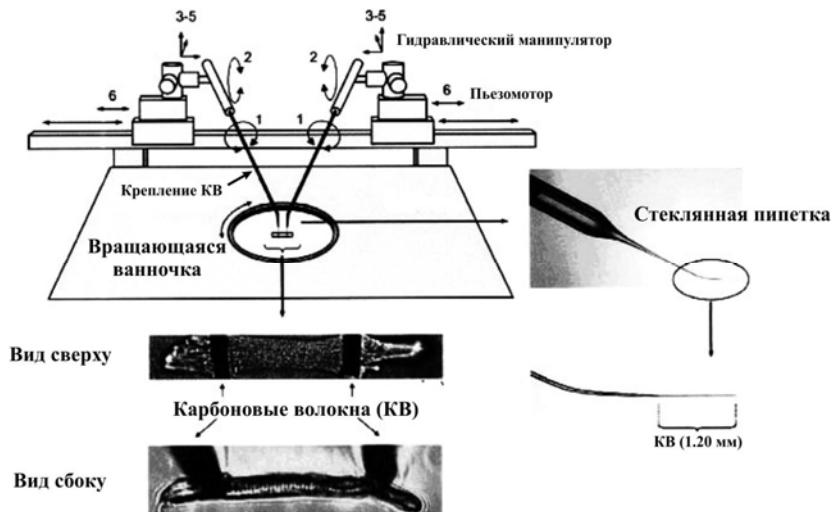


Рис. 3.18. Экспериментальная установка и изображения карбоновых волокон, прикреплённых к изолированному кардиомиоциту.

С помощью этой методики изучали влияние преднагрузки и постнагрузки на силу сокращений, а также связь «сила – длина» для кардиомиоцитов желудочка морских свинок [46]. Было установлено, что конечно-систолическая зависимость «длина-сила», полученная путём независимой вариации преднагрузки и постнагрузки в кардиомиоцитах желудочка морской свинки близка к линейной, не зависит от нагрузки в области длин саркомеров 1.85–2.05 мкм. Важно отметить, что этот метод обеспечивает истинное, замкнутое в петлю, механическое управление одной клеткой, в которой податливость измерительной системы контролируется независимо от перемещения. Это позволяет проводить исследования механических характеристик клетки в полном интервале сил, перемещений и скоростей, которые необходимы, чтобы установить параметры для активной вязкоупругой модели клетки. Поперечную жёсткость клеток можно определить по эффективной жёсткости ( $K_{eff}$ ) путём оценки наклона кривой «сила-глубина вдавливания» в начале координат. Так, для контрольных кардиомиоцитов крыс, поперечная жёсткость составляет  $11.6 \pm 1.6$  нН/мкм ( $n = 9$ ). Поперечная жёсткость кардиомиоцитов зависит от плотности микротрубочек. После деполимеризации микротрубочек колхицином (colchicines) поперечная жёсткость падает и равняется  $10.2 \pm 1.5$  нН/мкм,

( $n = 10$ ), а после гиперполимеризации паклитакселом (paclitaxel) возрастает –  $14.7 \pm 2.0$  нН/мкм, ( $n = 8$ ), но различия статистически не значимы ( $P = 0.19$  группового сопоставления ANOVA).

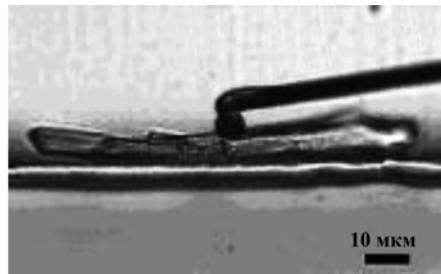


Рис. 3.19. Определение поперечной жёсткости кардиомиоцита крысы [47].

В этой же работе определяли сдвиговую жёсткость в двух направлениях, продольном и поперечном, по отношению к длинной оси кардиомиоцита (рис. 3.20). Миоцит размещали между покровным стеклом (снизу) и маленькой стеклянной пластинкой, прикреплённой к карбоновому волокну. Сдвиговое напряжение задавали смещением верхней пластинки через карбоновое волокно, соединённое с пьезоэлектрическим датчиком.

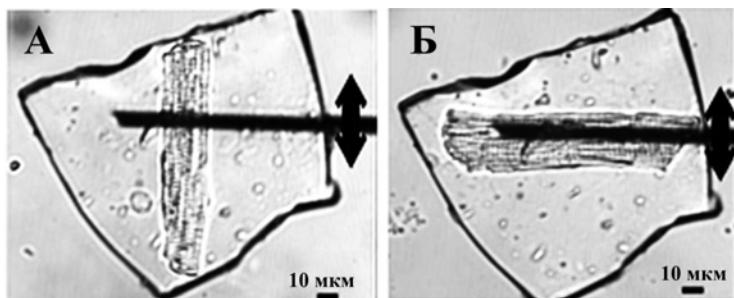


Рис. 3.20. Определение сдвиговой жёсткости кардиомиоцита: (А) в поперечной плоскости, (Б) в продольной плоскости.

Сдвиговая жёсткость, определяемая как отношение напряжение сдвига к деформации сдвига у контрольных миоцитов в направлении длинной оси (волокна), равнялась  $4.57 \pm 0.20$  кПа ( $n = 15$ ). Она увеличилась после применения паклитаксела до  $7.21 \pm 0.56$  кПа ( $N = 16$ ) и снизилась после колхицина ( $2.70 \pm 0.14$  кПа,  $N = 16$ ) ( $P = 0.00$  по ANOVA). Сдвиговая жёсткость в поперечных плоскостях оставалась неизменной при добавлении веществ, влияющих на микротрубочки (контроль:  $2.94 \pm 0.27$  кПа,  $N = 12$ ; колхицин:

$3.37 \pm 0.21$  кПа,  $N = 15$ ; паклитаксел:  $3.66 \pm 0.25$  кПа,  $N = 15$ ) ( $P = 0.13$  ANOVA).

### *3.4.1. Метод оптической ловушки. Магнитный пинцет и магнитная цитометрия скручивания (BTC).*

Эти методы были использованы во многих исследованиях физических свойств биологических тканей. Методы требуют, чтобы шарики сначала подвергались намагничиванию в катушке, которая вызывает наведённый магнитный дипольный момент в бусинках. Затем применяется более слабое направленное магнитное поле или градиент поля, чтобы либо генерировать крутящий момент, поворачивающий шарики на определённый угол (МТС), либо перемещать шарики линейно, как показано на рисунке 3.21А. В обоих случаях, крутящий момент силы зависит от величины приложенного магнитного поля и/или его градиента, а также от свойств шарика [42].

Магнитные щипцы являются уникальным инструментом, позволяющим манипулировать растяжением и кручением одиночных биомолекул и регистрировать их ответ в виде изменения длины. Прикладывать силу и вращать биомолекулу позволяют маленькие суперпарамагнитные частицы, которые могут двигаться по градиенту магнитного поля. Обычно размеры магнитов порядка миллиметров и частицы перемещаются на несколько микрон, так что прикладываемая магнитная сила постоянна при данном положении магнитов. На практике магнитные щипцы были использованы при растяжении и кручении одиночной молекулы ДНК (рис. 3.21Б)

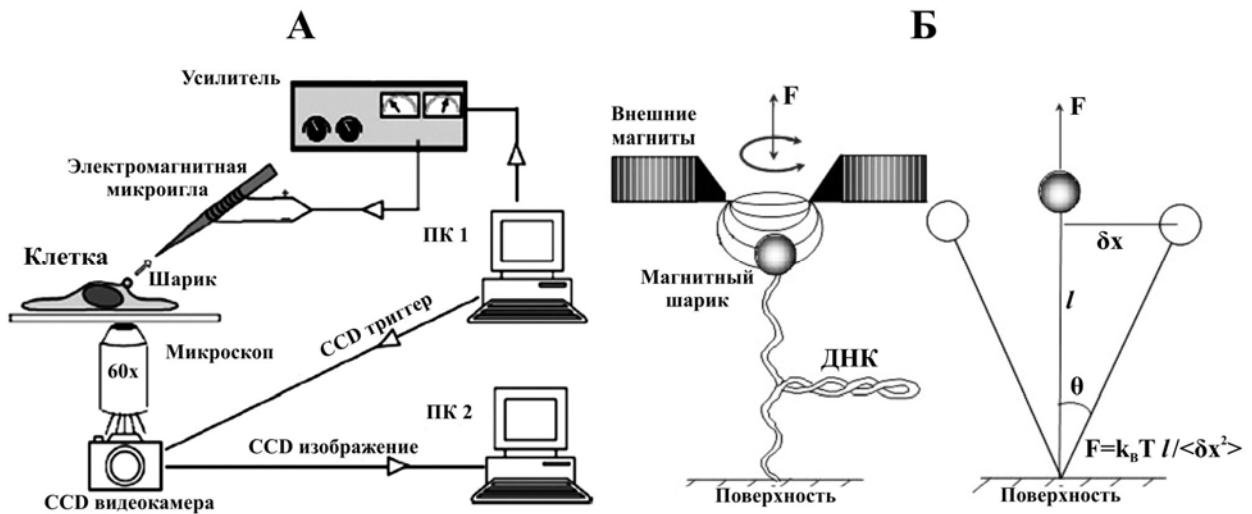


Рис. 3.21. Схема установки магнитного пинцета для анализа механических свойств изолированной клетки (А). Схема задания сил растяжения и кручения молекулы ДНК магнитными щипцами (Б).

Интересной особенностью магнитных щипцов является возможность задавать вращение молекулы за счёт вращения прикреплённых к ней магнитных бусинок. Для успешного проведения подобного вида измерений разработана специальная процедура калибровки устройств. Проведение эксперимента включало два этапа: 1. измерение растяжения ДНК как функции силы и калибровка силы; 2. измерение растяжения ДНК при вращении/скручивании и определение зависимости этого поведения от силы. Из набора этих данных были получены основные механические параметры ДНК. Очень важно было установить, при какой длине молекула ДНК может все ещё рассматриваться как твёрдый стержень или уже как гибкая цепочка. Растяжение и вращение молекул обычно измеряют по их положению на видеозаписи изображения под микроскопом.

Данная техника была использована для измерения локальных вязкоупругих модулей сетей актина [48]. Для проведения локальных измерений параметров вязкости поверхности клетки установка была модифицирована (рис. 3.22). Конец магнитного полюса находился на расстоянии 10 – 100 мкм от образца и генерировал силу  $\sim 10$  нН [49].



Рис. 3.22. Схема измерительного блока усовершенствованного магнитного реометра. 1200 витков медной проволоки диаметром 0.7 мм намотаны на катушку из мягкого железа. Керн магнита входит внутрь камеры с образцом на покровном стекле и шариком. Магнит с камерой фиксированы на микроскопном столике (А). Магнитный шарик покрыт фибронектином, который обеспечивает соединение с актиновой корой посредством интегринов, находящихся на клеточной мемbrane. Фибронектин ковалентно связан с шариком диаметром 4.5 мм из парамагнитного полистирола и покрытого реактивными группами тозила (DYNABEADS M-450 tosylactivated, Dynal) (Б).

Авторы отмечают и некоторые недостатки, связанные с подобными системами. Во-первых, трудно контролировать область клетки, с которой связана бусинка. Если они в первую очередь прикрепляются на периферии, или вблизи ядра, то измерения механических свойств могут быть соответственно привязаны к этим органеллам. Далее, не существует способа, обеспечивающего полное связывание шарика с поверхностью клетки, что может привести к недооценке жёсткости клетки. Наконец, и возможно, самое главное, шарики теряют намагниченность со временем и должны быть перемагнитены через определенные промежутки времени для поддержания магнитного момента. Таким образом, имеется «врождённая» деградация сигнала с течением времени и, вследствие этого, эксперименты длительностью больше, чем один - два часа, как правило, не возможны с применением этой техники.

### 3.4.2. Метод магнитного вращения

Для исследования изменений микроструктуры клеток, в частности при развитии гипертрофии миокарда, были выполнены эксперименты по исследованию вязкоупругих характеристик одиночных кардиомиоцитов в нормальных и гипертрофированных сердцах котят [50]. На рисунке 3.23 представлена схема магнитного вращающего цитометра и показано положение микрошариков, декоририрующих клетку.

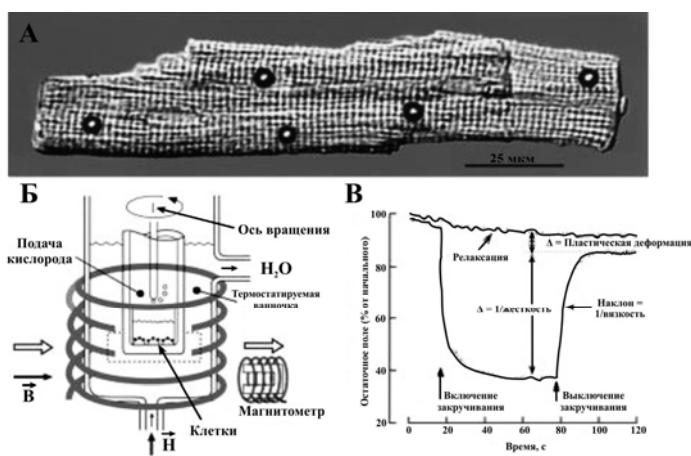


Рис. 3.23. Экспериментальный препарат (А); схема метода магнитного вращения (Б); пример экспериментальных данных, полученных методом магнитного вращения, для нормальных кардиомиоцитов (В) [50].

Клетки находятся в перфузируемом буферном растворе Krebs-Henseleit, барбатируемого карбогеном (95% O<sub>2</sub> / 5% CO<sub>2</sub>) в ванночке с контролируемой температурой. Горизонтальное магнитное поле в 1000 Гаусс использовано для намагничивания шариков и изображено парой магнитных полюсов, отмеченных открытыми стрелками. Магнитное поле, генерируемое намагниченными шариками и измеряемое магнитометром, показано горизонтальными закрытыми стрелками. Магнитное поле в 30 Гаусс, используемое для вращения шариков, приложено снаружи камеры и обозначено вертикальными стрелками. Окружающий магнитный шум минимизирован подходящей ориентацией четырёх магнитометрических

датчиков, внешней супермаллоевой защитой и, как показано, вращением всей камеры вокруг вертикальной оси с частотой 10 Гц. Детальное обсуждение биофизических принципов, используемых в магнитометре, дано в работах [51], [52].

Кривая релаксации представляет собой спонтанный спад остаточного поля без поля вращения. Стрелки показывают момент включения поля вращения и момент его выключения. Величина жёсткости цитоскелета почти в два раза меньше в нормальных кардиомиоцитах  $8.53 \pm 0.77$  дин/см<sup>2</sup>, по сравнению с миоцитами из правого желудочка гипертрофированных сердец  $16.46 \pm 1.32$  дин/см<sup>2</sup>. Величина структурной вязкости цитоскелета почти в четыре раза выше в гипертрофированных кардиомиоцитах –  $87.85 \pm 6.95$  пуз по сравнению с нормальными миоцитами –  $20.97 \pm 1.92$  пуз [50]. Остаточное угловое напряжение обусловлено постоянной деформацией цитоскелета после выключения поля вращения и характеризует собой пластическую деформацию.

Другой модификацией метода магнитного вращения, применяемого для исследования вязкоупругих свойств клеток, является использование шариков из магнитных материалов, прикрепленных к поверхности клетки, с целью локального воздействия импульсами магнитного поля.

Ферромагнитные микрошарики прикреплены к поверхности мембранны клетки и намагнечены в направлении  $\phi_0$  (рис. 3.24). Шарику придают вращение, подвергая действию вертикального магнитного поля ( $H$ ). Вращение шарика определяют по изменению магнитного поля, регистрируемого магнитометром (В). Магнитный сигнал от шарика модулирован вращением образца ( $\omega_c$ ) [53].

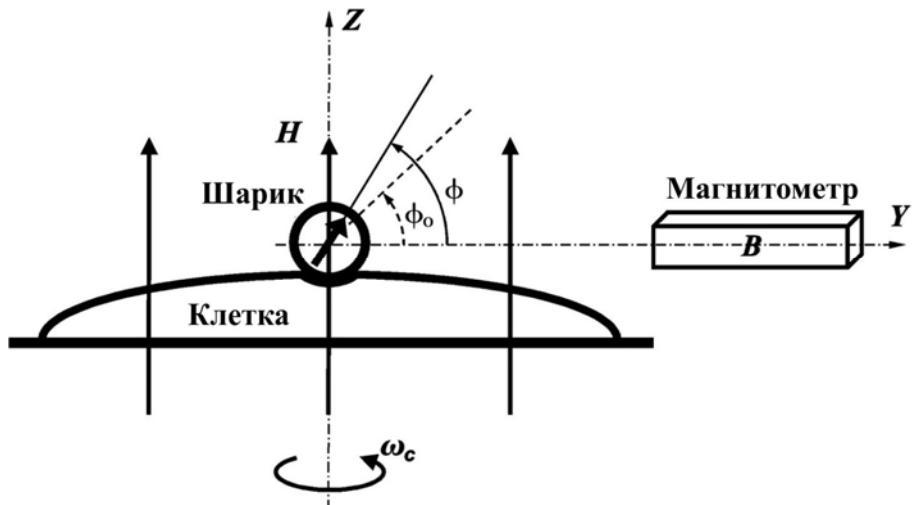


Рис. 3.24. Диаграмма метода цитометрии с применением кручения прикреплённых на поверхности клетки меток с помощью магнитного поля.

### 3.4.3. Использование микропипеток

Впервые метод присасывающихся микропипеток был применён к исследованию эритроцитов [54], [55]. В этом методе клетку деформируют лёгким всасыванием мембранны в микропипетку, которую подводят к поверхности клетки. Обработка результатов измерений всасывания эритроцитов в микропипетки основана на аппроксимации мембранны клетки как бесконечной плоскости, которая засасывается в трубку радиуса  $R_p$  (рис 3.25). Геометрия результирующей деформации вместе с приложенным давлением используются для расчёта приложенной силы. Пусть  $R'$ ,  $\varphi'$ ,  $Z'$  - цилиндрические координаты и  $R = R'/R_p$ , а  $Z = Z'/R_p$ . Затем, пусть безразмерные координаты  $(R_o, \varphi_o, Z_o)$  и  $(R, \varphi, Z)$  обозначают начальные и деформированные координаты тех же материальных точек мембранны. Тогда, путём математических расчётов, которые приведены в соответствующих статьях, можно получить данные о механических свойствах мембранны [56].

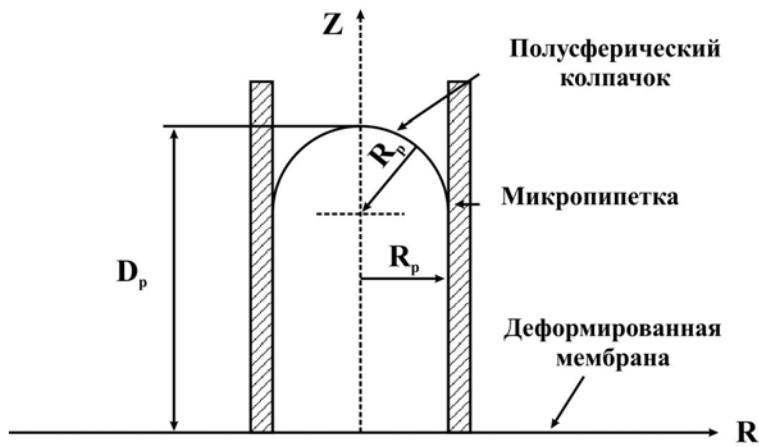


Рис. 3.25. Диаграмма полусферической модели аспирации мембраны в цилиндрическую микропипетку радиусом  $R_p$  и координатами ( $Z, R$ ) для анализа аспирации части плоской мембраны.

Анализ данных, полученных методом микропипеток, показал, что функция релаксации напряжения зависит от разности величины прикладываемого давления и длительности деформации. При исследовании вязкоупругих свойств мембран эритроцитов было показано, что деформация происходит в два этапа. Начальная (быстрая) фаза характеризуется величиной вязкости мембраны в диапазоне от  $0.6 \cdot 10^{-4}$  до  $4 \cdot 10^{-4}$  пуз. Вторая, медленная фаза свидетельствует о высокой вязкости мембран со средним значением около  $23 \cdot 10^{-2}$  пуз и не зависит от величины деформации. Вязкость мембраны в фазу восстановления после 20 секунд деформации достигала величины  $5.44 \cdot 10^{-4}$  дин·с/см и также не зависела от степени деформации. Такое поведение мембраны эритроцитов, когда одновременно наблюдается и сдвиговая деформации и утончение, потребовало введения в модель двух констант времени. После этого теоретическая модель стала удовлетворительно описывать зависимость деформации от предыстории в широком диапазоне аспираций применяемых в эксперименте.

В других работах использовали всасывающие микропипетки для исследования механических свойств лейкоцитов человека [57]. Микропипетки с внутренним радиусом от 1.1 мкм до 1.8 мкм изготавливали на специальном вытяжном устройстве и заполняли тем же солевым

раствором, в котором находились клетки. Микропипетки монтировали на микроманипуляторе и соединяли с регулятором давления [54]. С помощью этого регулятора давления можно было быстро прикладывать и понижать давление в пипетке. Для аспирации использовалось давление 200 мм водяного столба со временем достижения полной амплитуды 30-40 мс. Важно, что в этом эксперименте деформируется вся клетка.

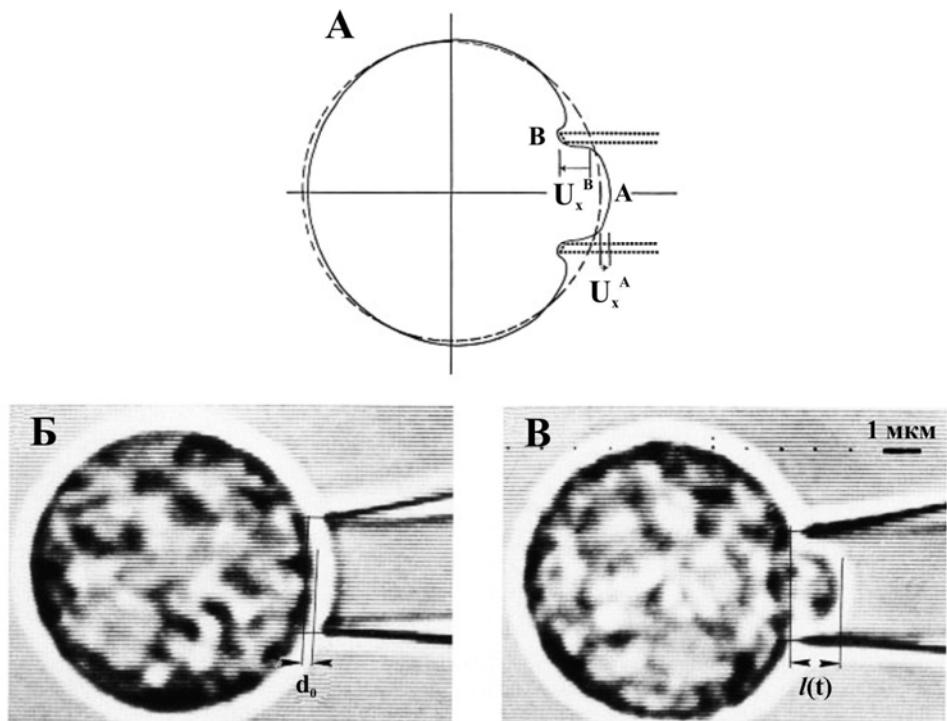


Рис. 3.26 Вид деформированной клетки. Компьютерный рисунок (А); реальный вид клетки с эквивалентным диаметром и размером пипетки (Б, В).

Исследования на 75 нейтрофилах, взвешенных в изотоническом буфере (310 мосмоль и  $\text{pH} = 7.4$ ) при температуре  $22^{\circ}\text{C}$ , установили следующие значения коэффициентов:  $k_1 = 275 \pm 119 \text{ дин}/\text{см}^2$ ,  $k_2 = 737 \pm 346 \text{ дин}/\text{см}^2$  и  $\eta = 130 \pm 54 \text{ дин}\cdot\text{с}/\text{см}^2$  (среднее  $\pm$  стандартное отклонение). Коэффициенты  $k_1$  и  $k_2$  представляют собой коэффициенты упругости в модели Кельвина, а  $\eta$  – коэффициент вязкости в этой модели (описание моделей см. в следующей главе). Значения этих коэффициентов для моноцитов и эозинофилов находятся в этом же диапазоне [57]. Физиологическое значение таких экспериментов состоит в том, что зная коэффициент вязкости лейкоцитов в

нормальных физиологических условиях, можно сравнить его с коэффициентом вязкости гемоглобина, растворённого внутри эритроцитов, который в 2000 раз меньше вязкости лейкоцитов, равной 130 пуз. Кроме того, известно, что объём лейкоцитов в два раза больше объёма эритроцитов [58]. Следовательно, лейкоциты оказывают значительно большее сопротивление току крови по капиллярам, чем эритроциты.

Метод с использованием двух микропипеток применяли для нескольких различных приложений – для измерения жёсткости поверхности клетки в процессе клеточного дробления (цитокинез) в яйцах морского ежа, в том числе и для количественной оценки зависимой адгезии клеток [59].

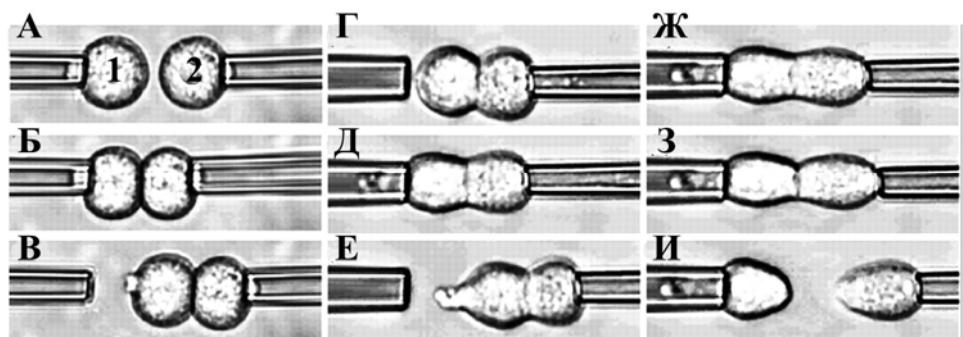


Рис. 3.27. Разделение клеток после их 4-х минутного контакта с использованием двух микропипеток (А – И).

На рисунке 3.27 показан процесс разделение клеток после их 4-х минутного контакта с использованием двух микропипеток. Две клетки (1 и 2) в супензии удерживаются под лёгкой аспирацией двумя пипетками (А) и затем они входят в контакт (Б). Образование контакта проверяют смещением правой пипетки (В и Г). Вторая клетка удерживается микропипеткой под более сильной аспирацией (Д – И). Первую клетку снова прикрепляют к микропипетке и увеличивают глубину аспирации в ней и снова, шаг за шагом, смещают правую микропипетку, до тех пор, пока клетки не разделяются (И) [59]. Сила, необходимая для разделения пары клеток, использована как индекс межклеточной адгезии. Эта сила зависит от взаимодействия кадхерина (cadherins) и поверхности клетки и увеличивается с длительностью контакта и с уровнем кадхерина. Так, средняя сила порядка

20 нН необходима для разделения клеток с 30 сек временем контакта, и стабилизируется на уровне 200 нН после 1 часа контакта. Сохранение связи между кадхерином и актиновым цитоскелетом или разрушение полимеризации актина не влияло на возникновение адгезии, опосредованной кадхерином, но предотвращало её развитие.

Метод микропипеток применяется и для измерений механических характеристик одиночных кардиомиоцитов. Для этого используют следующий набор аппаратуры (рис. 3.28). Система смены раствора позволяет быстро менять раствор без изменения высоты мениска. Миоцит наблюдается на видеомониторе в ходе всего эксперимента и его изображение регистрируется для дальнейшего анализа и определения длины саркомеров с помощью рабочей станции VAX. В состав установки входят также CCD камера, видеорегистратор и персональный компьютер [60]. На рисунке 3.29 подробно показан миоцит, закреплённый между двумя пипетками. Слева видно, что часть конца миоцита затянута в полость пипетки. В свою очередь, пипетки прикреплены с одной стороны к датчику силы, а с другой - к устройству задания длины. Этот метод крепления миоцита двуствольными пипетками позволяет измерять механические свойства миоцита как в активном, так и в пассивном состоянии с высоким соотношением сигнал/шум.

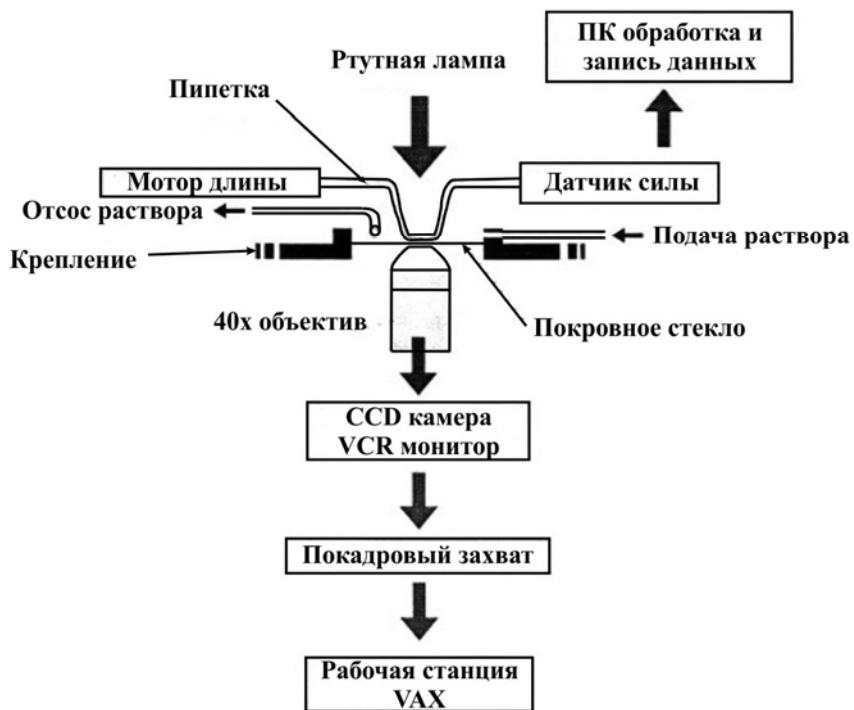


Рис. 3.28. Схема аппаратуры для исследования миоцита.

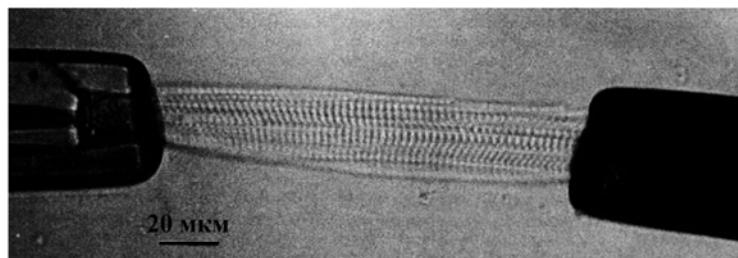


Рис. 3.29. Фотография одиночного миоцита левого желудочка крысы, фиксированного между двухствольных пипеток.

На рисунке 3.29 слева видны две полости концентрической пипетки. По 8 саркомеров с каждого конца клетки введены в неперекрывающуюся полость концентрической пипетки. Клетка втянута в пипетку только внутренним капилляром. Пипетка покрыта клейким монослоем для удержания клетки на месте. Структура пипетки обеспечивает большую площадь контакта между клеткой и пипеткой, покрытой клейким веществом. Видимая деформация клетки мала. Расстояние между пипетками 138.8 мкм, средняя длина саркомера 2.48 мкм ( $n = 2072$ ); средняя ширина клетки 29.5 мкм. Фотография получена с помощью стандартной оптической системы для ССД видеокамеры, с заменой на фотокамеру.

Необходимо отметить, что применение метода микропипеток с диаметром около 1 мкм сопряжено и с возможностью прилипания исследуемого образца к пипетке. В таких случаях необходимо повышать давление в пипетке, чтобы удалить клетку. Возникновение такой необходимости указывает на наличие силы прилипания между клеточной мембраной и стеклом пипетки. В таких случаях результаты измерений игнорируют и используют только те, в которых клетка свободно отлипает после снятия давления аспирации без какого-либо положительного давления. Необходимо учитывать и возможность возникновения трения между мембраной и пипеткой.

#### *3.4.4. Оптические щипцы*

Метод оптических щипцов относится к инструментам нанотехнологии. В нём используются один или два микроскопических оптически прозрачных шарика (диаметром в единицы микрон), которые прикреплены к исследуемому объекту. Шарики с высоким коэффициентом преломления светадерживаются в пространстве в центре луча лазера силой давления фотонов в преломлённом шариком свете лазера (рис. 3.30). Таким образом, лучом захватывается и удерживается шарик в пространстве. Физический принцип удержания шарика в центре луча лазера основан на выравнивании сил давления фотонов в ходе преломления потоков света разной интенсивности в шарике. Шарик смещён относительно центра луча (рис. 3.30А). Это приводит к неравномерному преломлению потоков света разной интенсивности и увеличению силы  $F_2$ . В результате шарик сдвигается к центру луча. На рисунке 3.30Б показано равновесное положение шарика относительно лазерного луча.

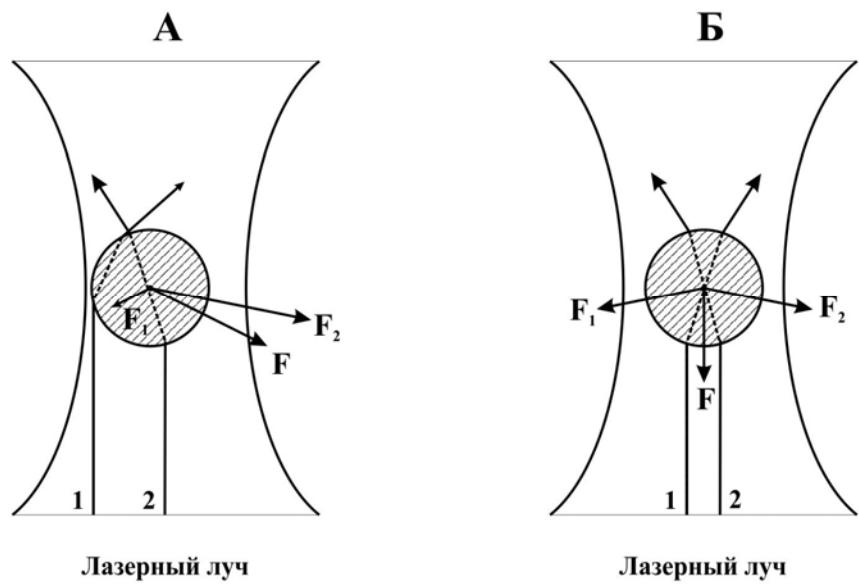


Рис. 3.30. Схема, показывающая физический принцип удержания шарика в центре луча лазера.

Установку, реализующую метод оптических щипцов, собирают на базе инвертированного микроскопа, размещенного на виброизолирующем столе. Типичная схема установки приведена на рис. 3.31. Смещение положение луча приводит к смещению шарика и деформирует клетку, прикрепленную к нему.

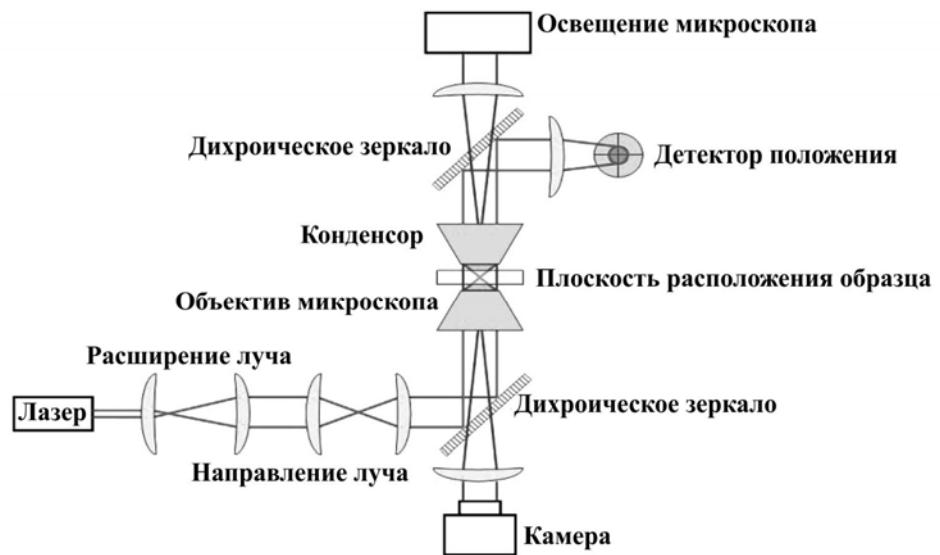


Рис. 3.31. Схема экспериментальной установки с оптическими щипцами.

Захват в ловушку достигается фокусированием лазерного луча с помощью иммерсионного объектива микроскопа. Два перпендикулярных

гальванометрических зеркала осуществляют это, перемещая захват в плоскости наблюдения или расщепляя ловушку на два луча при быстром переключении их положения.

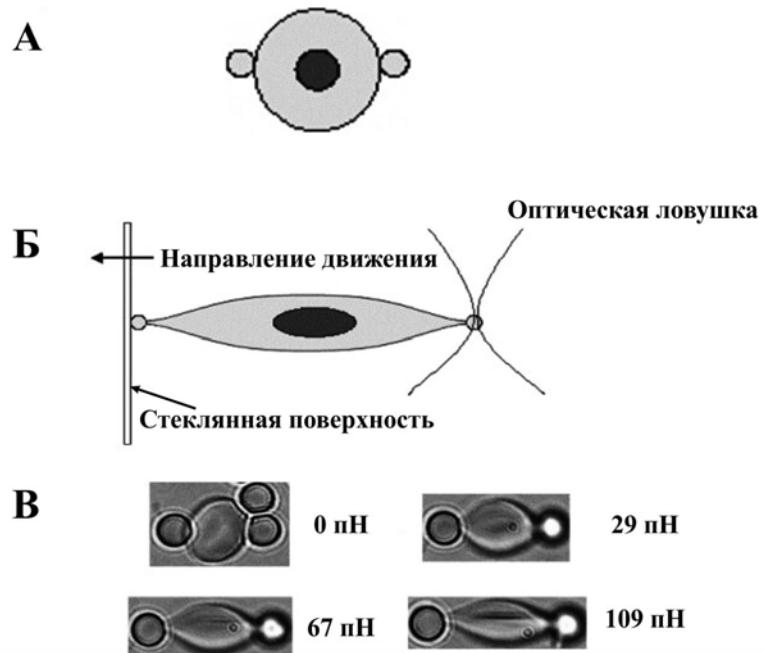


Рис. 3.32. Растижение красных кровяных клеток с помощью оптических щипцов. Два диаметрально расположенных кварцевых шарика диаметром 4.1 мкм прикреплены к поверхности эритроцита (А); один шарик захвачен в ловушку оптических щипцов, а второй прикреплён к стеклянной поверхности (Б); изображения эритроцита при разных силах растяжения (В) [34].

В качестве примера приведём использование этого метода для определения модуля сдвига  $G$  мембранны человека эритроцита [61]. Для этого к поверхности эритроцита прикрепили маленькие кварцевые шарики и измеряли деформацию в зависимости от приложенной калиброванной силы. Величина модуля сдвига мембранны изменялась от 1.7 до 3.3 мкН/м со средним значением  $2.5 \pm 0.4$  мкН/м, как для дисковидных, так и для сферических выпуклых клеток. Эти величины меньше, чем в экспериментах с микропипеткой. Однако эти два метода применяются в двух разных режимах деформации и не обязательно должны приводить к совпадению данных.

В другой группе работ методом оптических щипцов были получены значительно более высокие данные модуля сдвига эритроцита человека, порядка 13.3 мкН/м [62]. Однако в следующей работе сообщили, что после разработки метода калибровки, применения статистической обработки и меньших сил оптических щипцов были получены меньшие величины этого модуля. Так, на том же объекте величина  $G_0 = 7,3$  мкН/м, а  $G_i = 3,3$  мкН/м, что согласуется с данными, полученными методом пипеточной аспирации [63]. Аналогичные работы проведены группой ученых из Самарского научного центра [64]. Они использовали растяжение эритроцита с помощью многопучковой ловушки, сформированной дифракционной решёткой, посредством её перемещения и с помощью однопучковой (классического оптического пинцета). Получено, что жёсткость оболочки молодых эритроцитов  $35 \pm 8$  мкН/м существенно отличается от таковой для старых  $56 \pm 19$  мкН/м, что согласуется с данными других методов.

Недостатки метода оптических щипцов заключаются в возможных фотоиндуцированных повреждениях из-за малой длины волны и большой мощности лазеров, и ограничения сверху на величину силы, которая может быть достигнута в этом методе.

### 3.5. ИЗМЕРЕНИЕ ВЯЗКОУПРУГИХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЗОЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ. АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

Эксперименты по исследованию механических характеристик более мелких образований, например, одиночной миофибриллы кардиомиоцита, проводят с использованием техники микроскопии. На рисунке 3.33 показана регистрация деформации одиночной миофибриллы с помощью фазо-контрастной микроскопии. При растяжении миофибриллы пассивное напряжение возрастило с ростом длины саркомеров (рис. 3.35Б). Это

увеличение не было экспоненциальным, как это имеет место в многоклеточных препаратах. Данные лучше аппроксимировались полиномиальным разложением. Обычно имелся предел деформации, или «предел текучести» при длинах саркомеров между 3.2 и 3.5 мкм [65], [53]. При этих длинах наблюдался меньший прирост напряжения и иногда кривая становилась пологой. Величина напряжения при предельной деформации находилась между 110 и 150 нН/мм<sup>2</sup>.

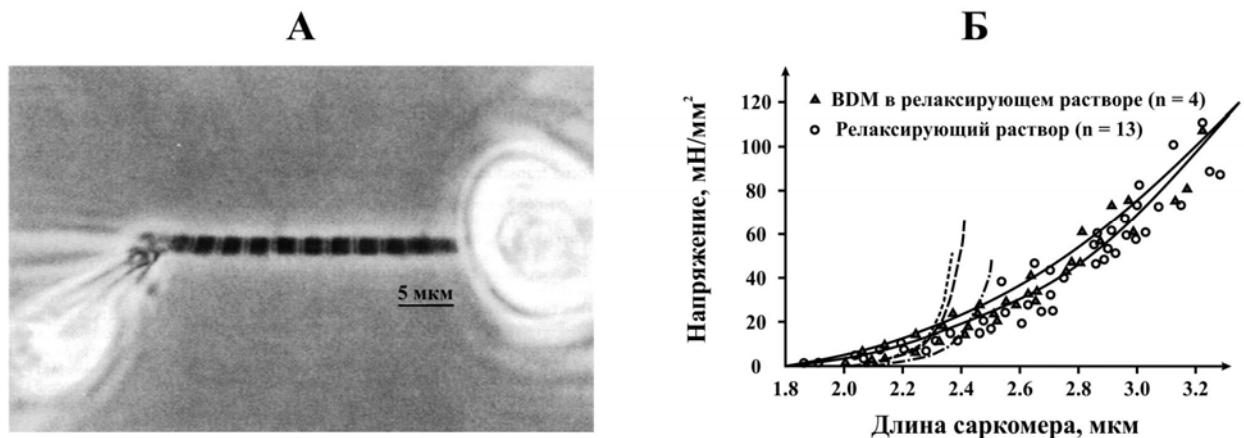


Рис. 3.33. (А) Фазово-контрастное изображение миофибриллы длиной в 11 саркомеров, растянутых в релаксирующем растворе до длины 2.4 мкм.

Образец приклеен к двум тонким стеклянным петлям, одна из которых соединена с мотором (слева), а другая с датчиком силы (справа) [66]. (Б) Связь «длина саркомера – пассивное напряжение» в одиночной миофибрилле сердца; нижняя сплошная кривая (соответствующая кружкам) аппроксимирует данные для миофибриллы в релаксирующем растворе; верхняя кривая (соответствующая треугольникам) аппроксимирует данные для миофибрилл в расслабляющем растворе с разными концентрациями BDM (10, 50, 100 мМ). Предельная деформация достигалась при длинах саркомеров 3.3 и 3.5 мкм. Линия крупный штрих соответствует данным, полученным на интактной папиллярной мышце кролика [67]; линия мелкий штрих – интактной трабекуле крысы, штрих-пунктирная линия – скинированной трабекуле крысы [38]. В приведённых данных обращает на себя внимание значительное расхождение между кривыми «напряжение-

деформация» для объектов разного уровня организации миокарда при сохранении общего характера кривых.

Метод атомно-силовой микроскопии (AFM) основан на взаимодействии пробного острия (зонда) с поверхностными атомами. Действительно, если подвести зонд к образцу на расстояние в несколько ангстрем, то между атомами, образующими остриё, и атомами, расположенными на поверхности образца, начнёт действовать сила притяжения, связанная с поляризацией электронных оболочек. Под действием этой силы зонд будет приближаться к образцу до тех пор, пока не возникнет электростатическое отталкивание отрицательно заряженных электронных оболочек атомов зонда и поверхности. Равновесное положение задаётся жёсткостью и определяется упругим изгибом зонда, величина которого может записываться в память электронным способом при многократном проходе вдоль поверхности (сканировании) и таким образом может фиксироваться силовая карта поверхности образца на атомном масштабе расстояний.

Техника атомно-силовой микроскопии (AFM) со сканированием пробником позволяет манипулировать и получать изображение биологических материалов с микро- и нано- разрешением. Впервые сканирующий туннельный микроскоп применили в 1986 году, как метод измерения сил меньше чем  $10^{-18}$  Н [68]. Затем, в качестве приложения этого метода, новый тип микроскопа был использован для исследования поверхности изолятора на атомном уровне. Атомно-силовая микроскопия использует комбинацию принципов сканирующей туннельной микроскопии и остроконечного профилометра. Профилометр подводится к материалу как зонд, не повреждая поверхность (рис. 3.34).

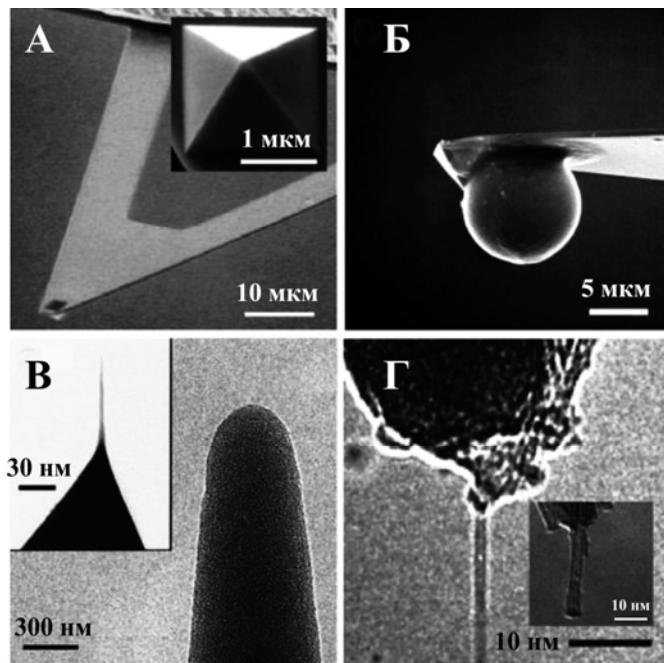


Рис. 3.34. Стандартный пирамидальный кронштейн из нитрида кремния (А). Коллоидная частица, приклеенная к наконечнику AFM (Б). Электроннолучевой напылённый наконечник (В). Карбоновый наконечник, модифицированный из нанотрубки диаметром (Г).

Первые результаты на воздухе показали боковое разрешение  $30 \text{ \AA}$  и вертикальное менее чем  $1 \text{ \AA}$ . Вскоре атомно-силовая микроскопия становится одним из широко используемых биофизических инструментов в биологии клетки, поскольку даёт возможность получать изображение биомолекул на нанометровой шкале, применять к клетке силы в экстремально широком диапазоне (от  $10$  до  $10^6 \text{ pN}$ ) и работает с образцами в физиологической среде и водных буферах [69], [70].

Атомно-силовой микроскоп действует, отслеживая физическое взаимодействие между образцом и наконечником нанометровых размеров, прикреплённого к концу гибкого кронштейна. Амплитуда колебаний кронштейна в результате такого взаимодействия отражает силу взаимодействия между наконечником и образцом (рис. 3.35).

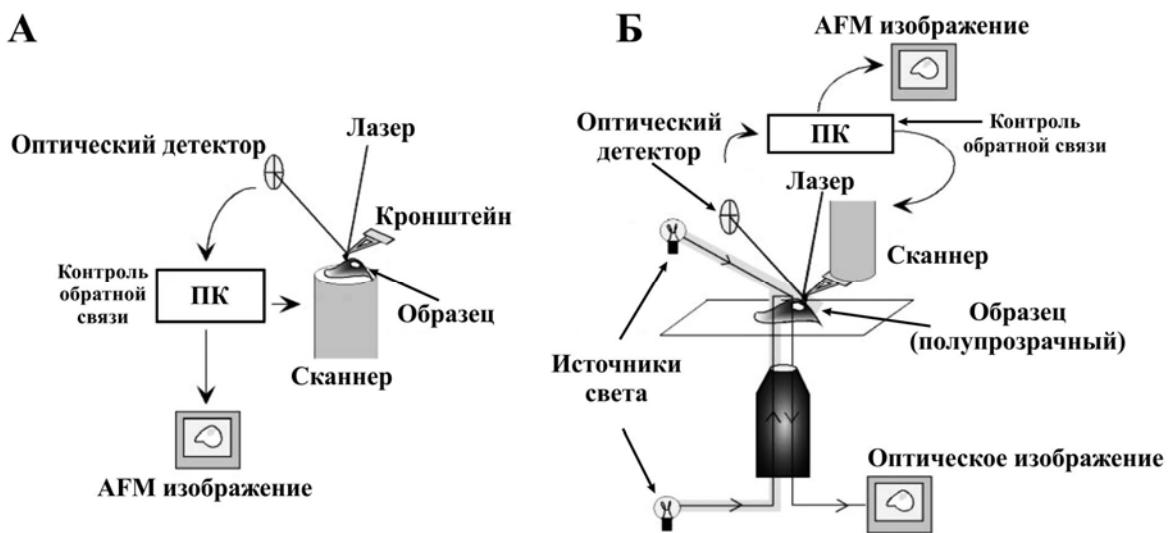


Рис. 3.35. Комплекс инструментов атомно-силовой микроскопии. Схема стационарного зонда AFM (А). Схема комбинированного AFM/оптического микроскопа (Б).

В случае стационарного зонда AFM образец монтируется на пьезоэлектрическом сканере, который позволяет манипулировать с образцом в трёх плоскостях  $x$ ,  $y$  и  $z$ .  $Z$ -положение кронштейна отслеживается лазерным лучом, который отражается на датчике положения. Сигнал положения непрерывно подаётся на сканер, который корректирует постоянство прогиба кронштейна под статической нагрузкой (режим контакта) или постоянство амплитуды колебаний (режим осцилляций). Таким образом, траектория сканера даёт топографический сигнал. Комбинированный атомно-силовой/оптический микроскоп имеет большое количество модификаций, в соответствии с необходимым оптическим доступом, и ряд особенностей. Во-первых, образец удерживается стационарно и сканируется кронштейном. Во-вторых, образец и субстрат должны быть относительно прозрачными. Наконец, наличие сканера на оптическом пути означает, что источник света не должен быть размещён на одной линии с образцом и объективом, однако это можно обойти путём размещения зеркальной поверхности на сканере. Изображение с атомно-силового микроскопа может быть получено в двух типах режима обратной связи: режим “АС” – наконечник осциллирует на

своей резонансной частоте и при сканировании образца поддерживается постоянство амплитуды осцилляций; режим “DC” (контактный) – наконечник приводится в прямой контакт с поверхностью и отклонение кронштейна удерживается постоянными.

Создание изображений с помощью атомно-силового микроскопа широко используется в исследованиях структуры и механических измерениях изолированных биомолекул [71-72], компонентов клетки [73-74] и субклеточных структур цитоскелета [75-76]. Атомно-силовая микроскопия также успешно применяется в силовом режиме, при котором наконечник удерживается в фиксированном горизонтальном положении и используется для давления на образец. Такой подход с большим успехом был использован для измерения вязкоупругих свойств клеток разного типа [36, 77-80], образцов ткани [81-82], изменений жёсткости, связанных с дифференцировкой клеток [83] и развитием заболеваний [81]. Режим изображений и силовой режим могут быть использованы в комбинации для оценки сил, обусловленных определёнными процессами в клетке, включая миграцию [84], выпячивание ламеллоподий [75] и деление клетки [85]. Атомно-силовой микроскоп используется также в качестве реометра, толкая клетку на кронштейн, который находится в режиме осцилляций, и используя, таким образом, кронштейн для измерения амплитуды и фазы ответа [86].

В дополнение к исследованиям механики клеток и тканей, AFM применяется как чрезвычайно мощный зонд конформационных свойств и связывания одиночных молекул, включая разворачивание трёхмерной структуры белков [87-89] и нуклеиновых кислот [90]. Силы развертывания молекул были измерены при взаимодействии рецептора и лиганда, ковалентно прикреплённых к наконечнику AFM и субстрату друг против друга [91]. Силы связывания пар рецептор-лиганд были получены для таких систем как интегрин-коллаген [92] и кадхерин-кадхерин [93]. AFM был использован в комбинации с микроскопией полной внутренней

флюоресценцией (total internal fluorescence – TIRF) и магнитными щипцами для изучения взаимодействия между талином и винкулином, зависящего от силы связывания [94]

### 3.6. МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ВКЛАДОВ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В ВЯЗКОУПРУГИЕ СВОЙСТВА ТКАНИ

При различных воздействиях на структуру препарата ткани появляется возможность выделения вкладов внутриклеточных и межклеточных структур различной иерархии в свойства ткани. Такие воздействия разнообразны и могут быть проведены на уровне от тонких генно-инженерных, таких как нокаут, при котором в ткани не продуцируются определенные белки, до изменения структуры сетки микротрубочек, и до полного удаления внутриклеточных структур (мацерации) с помощью препаратов, разрушающих липидные мембранны. Проблеме разделения вкладов соединительно-тканного каркаса и внутриклеточных структур в биомеханические свойства мышцы в последнее время уделяется внимание исследователей в связи с выявлением особых нелинейных свойств тайтина [74, 95-96]. Известно, что тайтин вносит существенный вклад не только в упругие, но и в вязкие свойства миокардиальной ткани [96].

Миокард имеет сложную композитную структуру, однако в ней можно выделить два основных компонента: клеточные структуры (кардиомиоциты) и внеклеточный матрикс (соединительная ткань). В настоящее время особое внимание уделяется вкладу тайтина и роли его отдельных сегментов. Тайтин является основным белком, обеспечивающим пассивное напряжение миоцитов [74]. Однако количественно вклад тайтина в пассивное напряжение сердца сложно оценить, поскольку, во-первых, существует несколько изоформ тайтина, соотношение которых в миокарде меняется в зависимости условий нагрузления миокарда. Во-вторых, сердечная мышца, помимо

комплекса тайтина, содержит хорошо развитый цитоскелет с высокой концентрацией промежуточных филаментов [97-98], которые могут давать вклад в пассивное напряжение. Миокард также содержит плотную коллагеновую сеть, которая выполняет опорную функцию и является основным внеклеточным источником пассивного напряжения [99-101]. Поэтому для количественной оценки вклада той или иной морфологической структуры применяются разнообразные экспериментальные методики выделения структур [27, 96, 102-104].

Следует отметить, что исследованию жёсткости ткани сердца посвящено множество работ [25, 27, 96, 105] и её природа достаточно полно установлена. Однако этого нельзя сказать о вязкости миокарда и существует несколько теорий, объясняющих природу вязкости миокарда. В основе их лежит теория смесей: биологические ткани, в частности миокард, представляются в виде композита, состоящего из нескольких связанных твёрдых структур и несвязанной жидкости. Вязкость возникает за счёт фильтрации межклеточной жидкости в миокарде [3, 106-107]. Однако исследований, посвященных количественной оценке вязкости различных морфологических структур ткани сердца, практически нет.

### *3.6.1. Вклад коллагенового каркаса в вязкоупругие свойства миокарда*

Вклад коллагенового каркаса может быть изучен посредством разрушения коллагеновых волокон в исследуемом препарате и последующего сопоставления реологических характеристик с таковыми в контрольном препарате. Разрушают коллаген воздействием плазмина [101-102]. Показано, что плазмин приводит к разрушению коллагена, а развивающееся миокардом напряжение, в том числе пассивное, значительно уменьшается после воздействия плазмином. Однако, при этом воздействие плазмином не влияло на сократимость самих миоцитов. Поэтому, одним из

механизмов, который мог бы быть причиной падения развивающей силы и сократительной функции, после воздействия плазмином, является потеря оптимальной организации фасцикул в папиллярной мышце. Таким образом, можно сделать вывод, что структурные изменения сети коллагеновых волокон оказывают значительное влияние на вязкоупругие и сократительные свойства ткани миокарда.

Количественно оценить вклад коллагенового каркаса в вязкоупругие свойства миокарда возможно при разрушении мышечных волокон миокарда. Для этих целей широко применяется раствор KCl/KI [96, 103, 108]. Препарат миокарда подвергают вымачиванию в растворе 0.6 М KCl в течение 40 мин, затем вымачиванию в растворе 1 М KI в течение 40 мин. В результате такого воздействия сократительные белки – актин и миозин денатурируются, разрушаются точки крепления титина в саркомере и он перестает вносить вклад в пассивное напряжение [96, 109]. В этих экспериментах показано, что пассивное напряжение, развиваемое трабекулой крысы, обусловлено в основном титином при длинах саркомера до  $\sim 2.2$  мкм, а при больших деформациях жёстким соединительно-тканным каркасом.

В ряде работ были определены модули упругости для белков, вносящих основной вклад в вязкоупругие свойства миокарда. Модуль упругости титина составил  $\sim 3.5 \cdot 10^6 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2}$ , эластина  $\sim 5 \cdot 10^6 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2}$ , коллагена  $\sim 10^9 \frac{\text{дин}}{\text{см}^2}$  [66, 96, 110]. Однако, несмотря на то, что жёсткость коллагена на 3 порядка превосходит уровень жёсткости остальных белков, при небольших деформациях (при длинах саркомеров менее  $\sim 2.2$  мкм) жёсткость коллагена не оказывает столь значительного влияния на жёсткость миокарда в целом [25, 111]. В диапазоне малых деформаций коллаген проявляет конструкционную жёсткость, связанную с объёмной деформацией сетки волокон, но при больших деформациях жёсткость этой сетки резко возрастает [25, 27].

### *3.6.2. Вклад тайтина в вязкоупругие свойства миокарда.*

На сегодняшний день подробно изучены реологические свойства одиночной молекулы тайтина, особенности перехода клубок-спираль Ig-доменов в молекуле [25, 112]. Показано, что упругие характеристики молекулы тайтина с большой степенью точности описываются моделью упругости белков Worm Like Chain (WLC-модель) [113-114]. Однако по причине многообразия изоформ тайтина, неаддитивности реологических характеристик в группе кардиомиоцитов остается открытым вопросом оценка вклада тайтина в пассивное напряжение как одиночного миоцита, так и многоклеточного препарата миокарда – папиллярной мышцы, либо трабекулы.

Для количественной оценки вклада тайтина в пассивное напряжение миокарда в работах разных групп исследователей измеряли пассивное напряжение трабекулы правого желудочка крысы путём плавного растяжения трабекулы до длин саркомеров  $\sim 2.4$  мкм (до  $L_{max}$ ). Далее трабекулу помещали в раствор трипсина. После воздействия трипсином проводили измерение пассивного напряжения по тому же протоколу. Сравнение результатов показало, что вклад тайтина доминирует на длинах саркомера до 2.2 мкм, а при больших длинах включается жёсткий соединительно-тканый каркас, препятствующий перерастяжению кардиомиоцитов [25, 27].

Также для определения вклада тайтина применяли раствор KCl/KI (см. Вклад коллагенового каркаса в пассивное напряжение миокарда) [96, 103]. В экспериментах на изолированных кардиомиоцитах показано, что тайтин обеспечивает до  $\sim 90\%$  пассивного напряжения клетки во всем диапазоне исследуемых деформаций. Однако в случае испытаний на многоклеточных препаратах – трабекулах, как и в случае воздействия трипсином, вклад

тайтина доминирует на длинах саркомера до 2.2 мкм, а при больших длинах включается коллагеновый каркас [96].

Для сопоставления результатов различных групп исследователей необходимо учитывать разнообразие изоформ тайтина в миокарде взрослых особей и сильные различия в размерах молекул тайтина во время внутриутробного и перинатального развития сердца [103, 115-116]. На средних стадиях беременности в сердце млекопитающих возникает уникальная зародышевая N2BA-изоформа (~3.7 MDa), но, при этом, полностью отсутствует N2B-тайтин [117-119]. Зародышевая N2BA-изоформа в процессе развития постепенно замещается меньшими N2BA-изоформами, представленными с N2B-изоформами в той же половине саркомера [117-118, 120]. Эти внутриутробные и перинатальные изменения, соотношения N2BA:N2B от высокого к низкому приводят к тому, что пассивное напряжение, развиваемое миофибриллами в миокарде взрослых особей много больше напряжения, развиваемого в миокарде зародышей. Этот феномен обусловлен следующим фактом: растяжение длинной N2BA-изоформы в физиологическом диапазоне длин саркомеров (1.8-2.4 мкм) происходит за счёт деформации областей Ig-доменов, при этом практически не участвуют PEVK и N2B-Us домены. Поэтому пассивная сила, развиваемая тайтином при деформациях в физиологическом диапазоне, остается малой. В противоположность этому, при растяжении более короткой N2B-изоформы в том же самом диапазоне длин саркомеров, сегмент I-зоны удлиняется намного сильнее, чем в случае N2BA, также в большей степени удлиняются PEVK-домен и N2B-Us, что приводит к резкому возрастанию пассивной силы. Следовательно, полная пассивная жёсткость саркомера зависит от соотношения в нем мягкой N2BA-изоформы и жёсткой N2B-изоформы [74]. Значительное изменение соотношения N2BA:N2B в процессе развития сердца способствует регулированию пассивной жёсткости миокарда из-за изменения нагрузок. Хотя до сих пор не выяснена природа изменений

изоформ тайтина в процессе роста, вероятно, что гормональные изменения и механические нагрузки играют в этом основную роль.

В ряде работ был проведен анализ данных по соотношению изоформ тайтина N2BA:N2B у пациентов с различными патологиями сердца [117, 121-122]. При хронической ишемии коронарных артерий левых желудочков с острой сердечной недостаточностью доля N2BA-изоформы составила ~50% от общего количества тайтина, по сравнению с ~30% у контрольной группы [121]. Эти изменения в изоформах тайтина были связаны со значительным уменьшением нагрузок, что привело к уменьшению величины пассивного напряжения в миофибриллах. При закупорке коронарных артерий наблюдается увеличение выработки коллагена, который воспринимает нагрузку, и поэтому происходит сдвиг в сторону формирования мягкой N2BA-изоформы, как реакция на увеличение жёсткости соединительнотканного матрикса [117, 122]. Последующий анализ культивированных неишемических образцов сердца с дилатационной кардиомиопатией (средняя фракция выброса (EF) ~20%) также показал увеличение пропорции N2BA-изоформ и, в частности, перестройку N2BA-изоформ в молекулы с массой более 3.3 MDa [117, 122]. Так же как и в случае закупорки коронарных артерий, уменьшается пассивная жёсткость миоцитов по сравнению с контрольной группой, а это влияет на диастолическую функцию сердца. Считается, что у пациентов с систолической сердечной недостаточностью происходит увеличение количества N2BA-изоформ, что помогает компенсировать жёсткость стенки для того, чтобы сохранить диастолическую функцию. Однако отрицательной стороной этого является уменьшение пассивного напряжения, развиваемого тайтином, приводящее к нарушениям в механизме Франка-Старлинга и чувствительности миоцитов к деформациям [117, 122]. Следует отметить, что при анализе биопсии миокарда левых желудочков у больных с диастолической сердечной недостаточностью (EF ~62%) обнаружено, что соотношение N2BA:N2B, по

сравнению с больными с систолической сердечной недостаточностью, было значительно меньше, пока пассивная жёсткость миоцитов была высокой. Возможно, меньшее значение соотношения N2BA:N2B, обусловленное жёсткостью тайтина, является главной особенностью сердечной недостаточности с сохранением фракции выброса [74]. В конечном итоге, увеличение соотношения N2BA:N2B и последующее уменьшение жёсткости саркомера при систолической сердечной недостаточности является результатом обширного фиброза, резко меняющихся нагрузок или гуморальной регуляции.

Функциональная роль тайтина заключается в поддержке и обеспечении упругости миофибрилл. Этот белок также выполняет важнейшую функцию «датчика» напряжения. Киназный домен тайтина в области М-полосы действует как «датчик» напряжения, который при растяжении включает активацию биохимических процессов, приводящих к изменению экспрессии генов саркомерных белков и гипертрофии сердца [123]. Напротив, нарушенная функция отклика на напряжение, обусловленная например, изменениями белковых взаимодействий, может приводить к нарушению механической регуляции и сердечной недостаточности [74].

Таким образом, представляется важным детальное изучение вклада тайтина в вязкоупругие свойства миокарда, а также влияние различных изменений в структуре тайтина на механические и физиологические свойства ткани сердца.

### *3.6.3. Вклад цитоскелета в вязкоупругие свойства миокарда.*

Цитоскелет кардиомиоцитов сформирован микрофиламентами, промежуточными филаментами и микротрубочками и описывается на основе принципа тенсегрити (tensegrity) [124]. Этот принцип, общий для всех каркасных структур, заключается в том, что для каркасных структур, в

которых задействованы цельные детали, работающие на растяжение, и составные детали, работающие на сжатие, взаимодействие составных частей происходит таким образом, чтобы каждая деталь функционировала с максимальной эффективностью и экономичностью [124]. Жёсткость цитоскелета определяют микротрубочки, которые обладают вязкоупругими свойствами и могут играть значительную роль в обеспечении вязкоупругой реакции миоцитов на внешние нагрузки [125]. Показано, что изменения в микротрубочках в ответ на механическую нагрузку непосредственно влияют на структуру и функцию кардиомиоцитов [125]. Гипертрофия миоцитов также связана с увеличением плотности внутриклеточной сети микротрубочек в ответ на увеличение вязкости внутриклеточной среды [126]. При гипертрофической и дилатационной кардиомиопатии, микротрубочки хотя и не являются основным источником пассивного напряжения миокарда, однако оказывают значительное влияние на контрактильную функцию, так как происходит рост их концентрации, приводя к увеличению жёсткости цитоскелета миоцитов [127-128]. Также происходит увеличение вязкости миоцитов, что влияет на диастолическую функцию [129]. Важно отметить, что пассивная жёсткость миокарда взрослых млекопитающих определяется множеством внутриклеточных и внеклеточных компонентов, содержащих тайтин, десмин,  $\alpha$ -актинин, коллаген, микротрубочки и т.п. Однако миокард эмбрионов содержит значительно меньшее количество волокон коллагена и имеет более простую организацию цитоскелета. Таким образом увеличение жёсткости при гипертрофии в ходе внутриутробного развития возможно объяснить именно изменениями в структуре сети микротрубочек [126].

Показано, что гиперполимеризация микротрубочек таксолом приводит к увеличению жёсткости и пассивного напряжения в миоците [129]. Таксол снижает критическую концентрацию гетеродимеров  $\alpha\beta$ -тубулина, необходимую для формирования микротрубочек, приводя к гиперполимеризации существующих микротрубочек, а также к

формированию нефункциональных микротрубочек [130]. Колхицин, напротив, препятствует полимеризации, прочно связываясь с  $\beta$ -тубулином, что приводит к дестабилизации микротрубочек. Под действием колхицина миоциты меняют свою форму и сжимаются, в результате чего угнетается сократительная функция миоцитов [128-129].

Количественная оценка вклада микротрубочек, как основы цитоскелета, в вязкоупругие свойства миокарда на сегодняшний день остается открытым вопросом.

Таким образом, можно сделать следующий вывод: на сегодняшний день накоплено большое количество экспериментальных данных по реологическим испытаниям изолированных препаратов миокарда и отдельных белков в нормальном миокарде и при различных патологиях. Однако ввиду того, что разные авторы используют разные методики и работают с разными животными, а также из-за большой вариабельности реологических характеристик биологических тканей вообще, по результатам исследований различных авторов не представляется возможным выявить общие закономерности, лежащие в основе вязкоупругого поведения миокарда. В частности, чрезвычайно трудно достоверно провести количественную оценку вкладов основных структурных компонентов миокарда в пассивное напряжение миокарда.

Следует также отметить, что для понимания биомеханики миокарда в пассивном состоянии анализ экспериментальных результатов необходимо проводить в рамках определенного модельного представления. Модель, достоверно описывающая особенности реологических свойств основных морфологических структур миокарда в пассивном состоянии, позволяет установить закономерности вязкоупругого поведения миокарда.

### 3.7. ИЗМЕРЕНИЕ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ В КОМБИНАЦИИ С МАТЕМАТИЧЕСКИМИ МОДЕЛЯМИ

Использование математических моделей особенно актуально при исследовании сложных биологических систем. Зачастую проведение экспериментов на живых тканях приводит к их разрушению или гибели, что делает невозможным их дальнейшее изучение как живых объектов. К тому же, процессы, контролирующие ту или иную функцию клеток или органов, многочисленны, охвачены петлями прямой и обратной связи и относятся к классу нелинейных явлений. Такие процессы описываются нелинейными уравнениями, которые обычно не имеют аналитических решений, но могут быть решены численно. Численные эксперименты на моделях позволяют выявить закономерности поведения живых тканей, исследовать и проанализировать широкий класс явлений и процессов, которые могут происходить в тканях в широком диапазоне воздействий, а также являются проверкой адекватности предложенных моделей. Особенность моделирования вязкоупругих свойств биологических тканей заключается в необходимости описания нелинейного характера зависимости реологических характеристик от величины деформации [12, 131-136].

Выделяют две основные группы моделей, используемые при анализе вязкоупругих свойств мягких тканей. К первой группе отнесём реологические модели, использующие в качестве структурных элементов различные комбинации линейных упругих и вязких элементов (пружины и демпферы), такие как модели Максвелла, Фойгта, Кельвина. Такие модели описываются системами дифференциальных уравнений. Отметим, что перечисленные модели линейны и не могут адекватно описать вязкоупругие характеристики живых тканей во всем физиологическом диапазоне деформаций. Поэтому широкое распространение получили квазилинейные

модели [12, 137-138]. С использованием квазилинейных моделей становится возможным описать нелинейные вязкоупругие характеристики. Такие модели обладают достаточной универсальностью в том плане, что в рамках этих моделей можно описывать свойства различных типов живых тканей. Однако квазилинейные модели обладают существенными недостатками. Во-первых, пространственная структура таких моделей не соответствует реальной морфологической структуре исследуемого объекта [137]. Во вторых, вязкость и жёсткость элементов этих моделей считаются зависящими от величины деформации или приложенного напряжения, однако характер этой связи не отражает реальных процессов деформации ткани [12].

Ко второй группе относятся модели, в основе описания которых лежит метод конечных элементов. Некоторые из них используются в рамках теории смесей, когда биологические ткани представляют композит, состоящий из пористого твёрдого материала и несжимаемой жидкости [4, 139]. Однако применение и идентификация таких моделей является трудоёмкой и подчас неразрешимой задачей [107]. Многие такие модели содержат комбинации элементов Максвелла, Кельвина, но параметры этих элементов не являются постоянными, зависят от величины деформации и должны быть получены при решении нелинейных интегро-дифференциальных уравнений [105, 140]. Тем не менее, использование метода конечных элементов в моделировании структуры мягких тканей позволяет получить важную информацию о её строении и свойствах [141]. Отдельно отметим графические модели. Пример такой модели для деформированной папиллярной мышцы приведён в работе [142], суть её заключается в графическом отображении эволюции структуры соединительнотканых волокон папиллярной мышцы крысы в процессе деформации.

Все большее распространение получает новый оригинальный, комбинированный подход в биомеханических исследованиях, в котором наряду с натуральным объектом тестируется и модель этого объекта. В

качестве примера приведём один из вариантов такого подхода, когда он был использован для определения модуля эластичности ткани печени мышей [143]. Для определения белкового состава исследовали суспензию ткани печени в полиакриламидном геле, структуру ткани определили с помощью компьютеризированного микротомографа, механические характеристики получили в результате биомеханических испытаний и затем, после анализа всей совокупности данных в рамках метода конечных элементов была построена модель ткани. Механическое напряжение поверхности печени, рассчитанное по модели, сравнивали с таковым из экспериментальных данных. В случае удовлетворительного совпадения получали значение модуля упругости ткани. Затем проводили механические испытания оставшейся доли печени, используя другой метод испытаний (метод вдавливания пробника). Дополнительно эту часть печени подвергали гистологическому анализу, чтобы установить связь между степенью эластичности и ее физиологическим состоянием. Такой полный протокол был применен при исследовании 14 фиброзных, 3 контрольных и 3 здоровых органа. Величина модуля для здоровых тканей печени составила  $0,62 \pm 0,09$  кПа, а для фиброзных - в диапазоне 0,6–1,64 кПа.

Такой подход к исследованию механических характеристик ткани является естественным, поскольку анализ данных о вязкоупругих свойствах материала или их обсуждение всегда проводятся в рамках той или иной модели этой среды.

## Глава 4. МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

---

В настоящем разделе книги мы обратимся к рассмотрению теоретических моделей, используемых при описании реологических свойств биологических мягких тканей. Большинство биологических тканей характеризуются нелинейной зависимостью напряжения от деформации растяжением с эффектом ужесточения при больших деформациях. Задаче математического моделирования нелинейных статических и релаксационных свойств биологических тканей на примере свойств папиллярной мышцы посвящена данная глава.

### 4.1. ОДНОМЕРНЫЕ МОДЕЛИ

Подавляющее большинство проблем, возникающих при моделировании поведения вязкоупругих тел, относится к одноосному деформированию, поэтому первоначально в классических исследованиях было предложено и в большинстве практических случаев оказалось достаточным рассматривать одномерные реологические модели (см. руководства по биомеханике, например, [144]), в которых имеется одна ось, вдоль которой происходят движения в одном измерении. Однако оказалось, что даже при одноосной деформации поперечные степени свободы существенны и необходимо учитывать поперечные деформации (т.е. фактически, коэффициент Пуассона). Тем не менее, рассмотрение различных реологических моделей мы начнем с одномерных. Очевидно, что одномерные модели, составленные из линейных упругих и вязких элементов, линейны, т.е. имеют линейные характеристики «сила-длина» и «сила – скорость деформации».

#### 4.1.1. Модель Кельвина (К)

Проблема описания механических свойств материалов, в которых сочетается упругость, пластичность и текучесть возникла намного раньше того, как подробно стали исследоваться мягкие биологические ткани. Одной из первых моделей, учитывающих вязкость наряду с упругостью, явилась простейшая двухэлементная модель Кельвина-Фойгта, в которой упругий элемент (пружина) соединён параллельно демпферу, отражающему вязкие свойства (рис. 4.1). Такое соединение двух базовых элементов является наиболее естественным и подразумевает вполне очевидные аналоги на уровне различных белковых волокон биологических тканей, содержащих демпфирующий жидкий компонент. При дальнейшем рассмотрении модель Кельвина будет использоваться как один из основных блоков при конструировании двумерных и объёмных конструкций, отражающих реальную структуру ткани.

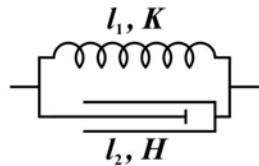


Рис. 4.1. Модель Кельвина

Пружина характеризуется длиной  $l_1$  и параметром жёсткости  $K$ , а демпфер – длиной  $l_2$  и параметром вязкости  $H$ . В большинстве случаев считают длины упругого и вязкого элементов и соответствующие деформации одинаковыми:  $l_1 = l_2 = l$ ,  $\Delta l_1 = \Delta l_2 = \Delta l$ ,  $\Delta l/l_0 = \varepsilon$  ( $\varepsilon_1 = \varepsilon_2$ ). Полная сила, приложенная вдоль оси, и равная сумме упругого и вязкого слагаемых, согласно (1.12) и (1.15) есть:

$$F_K = K(l - l_0) + H \frac{dl}{dt} = k\varepsilon + \eta \frac{d\varepsilon}{dt} \quad (4.1)$$

Используем предположения о том, что длина упругого элемента и его поперечное сечение  $S_0$  равны соответственно длине вязкого элемента и его

поперечнику. Это позволяет представить модель Кельвина в более наглядном виде как упругого элемента, помещённого в жидкий вязкий резервуар. В этом случае уравнение для модели примет стандартный вид:

$$\sigma_K = E\varepsilon + \eta \frac{d\varepsilon}{dt} \quad (4.2)$$

где  $\sigma_K = F_K / S_0$  – напряжение,  $E$  – модуль Юнга.

Удобно перейти к безразмерным переменным для силы  $f = F/k$ , тогда основное уравнение модели примет вид:

$$f(t) = \varepsilon(t) + \frac{\eta_1}{k_1} \dot{\varepsilon}(t) \quad (4.3)$$

Если задать зависимость от времени деформации модели  $\varepsilon(t)$  из (4.3) можно получить зависимость напряжения от времени. Наоборот, если задана зависимость от времени внешней нагрузки  $f(t)$ , решая дифференциальное уравнение, можно получить деформацию. На рис. 4.2 показано развитие деформации в модели Кельвина как реакция на ступенчатую нагрузку.

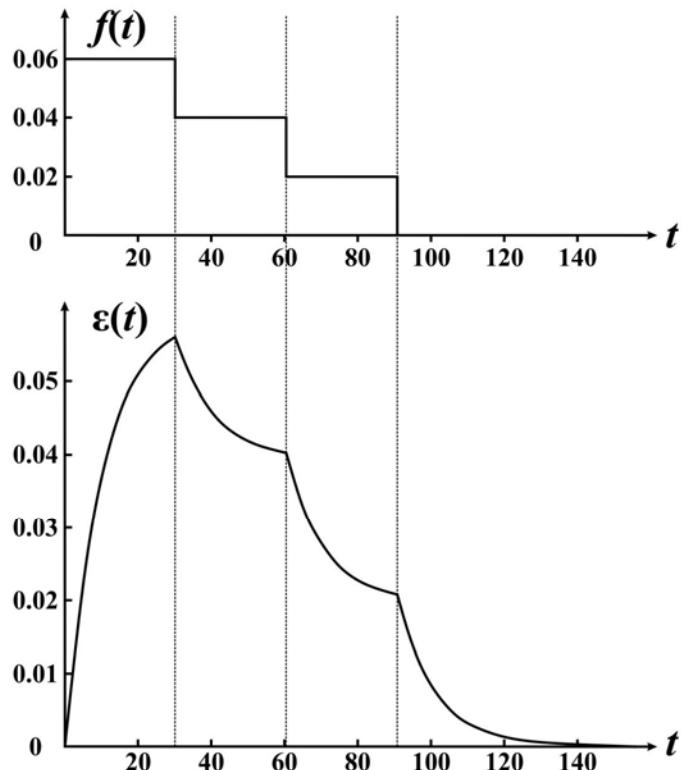


Рис. 4.2. Временной ход продольной деформации в модели Кельвина (внизу) для ступенчатой нагрузки (вверху) при значениях параметров (относительные единицы):  $l_0 = 2$ ,  $K = 0.1$ ,  $H = 1$ .

Модель Кельвина описывает тела, близкие по свойствам к упругим, в которых вследствие вязкого трения происходит задержка развития деформации в ответ на заданную нагрузку на времена порядка времени вязко-упругой релаксации  $\tau = \eta/k = H/K$ . Однако в этой модели невозможно получить релаксацию напряжения, т.е. его спадание при постоянной деформации.

#### 4.1.2. Модель Максвелла (М)

Модель Максвелла представляет последовательное соединение упругого и вязкого элементов (рис. 4.3), и предназначена для описания тел, в которых пластическая деформация (или вязкое течение в жидкости) преобладает при малых скоростях деформации, сохраняя упругость деформации при больших скоростях. Довольно трудно найти физиологический аналог последовательному максвелловскому демпферу и его реализации в биологических структурах, хотя, например, в строении актин–миозинового и тайтинового комплекса имеют место такие длинные молекулярные волокна, погруженные в цитоплазму.

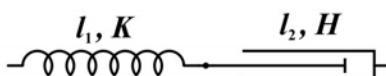


Рис. 4.3. Модель Максвелла.

Будем считать, что начальные длины упругого и вязкого элементов совпадают и равны  $0.5 \cdot l_0$ , а в процессе деформации полная длина  $l = l_0(1+\varepsilon) = l_0[1+0.5 \cdot (\varepsilon_e + \varepsilon_v)]$  (см. формулу 1.7 сложения деформаций по Коши) определяется (не равными друг другу) деформациями упругого  $\varepsilon_e$  и вязкого  $\varepsilon_v$  элементов.

Вследствие последовательного соединения, силы, развивающиеся на упругом и вязком элементах, равны:  $F = F_e = F_v$ , причем

$$F_e = K(l_e - l_0 / 2) = K \frac{l_0}{2} \left( \frac{2l_e}{l_0} - 1 \right) = k \varepsilon_e \quad (4.4)$$

$$F_v = H \frac{dl_v}{dt} = H \frac{l_0}{2} \frac{d\varepsilon_v}{dt} = \eta \dot{\varepsilon}_v \quad (4.5)$$

Система уравнений, которой подчиняются деформации упругого и вязкого элементов, принимает вид ( $f = F/k$ ,  $k = K \cdot l_0/2$ ,  $\eta = H \cdot l_0/2$ ):

$$\begin{cases} f(t) = \varepsilon_e(t) \\ f(t) = \frac{\eta}{k} \dot{\varepsilon}_v(t) \end{cases} \quad (4.6)$$

Пусть вначале для этой модели задана внешняя сила  $\varepsilon_e(t) = f(t)$ ,  $f(0) = 0$ .

Тогда полная деформация:

$$\varepsilon(t) = \frac{1}{2} \left[ f(t) + \frac{k}{\eta} \int_0^t f(t') dt' \right] \quad (4.7)$$

Таким образом, задавая в модели Максвелла деформацию упругого элемента, мы задаем силу и тогда можем вычислить полную деформацию. Если же мы задаем полную деформацию  $\varepsilon(t)$  и требуется найти развивающую силу, то необходимо решить либо интегральное уравнение типа Вольтера (4.7) относительно искомой функции  $f(t)$ , либо эквивалентное дифференциальное уравнение:

$$\dot{f}(t) + \frac{k}{\eta} f(t) = 2 \dot{\varepsilon}(t) \quad (4.8)$$

На рисунке 4.4 представлена реакция модели Максвелла на задаваемый импульс полной деформации.

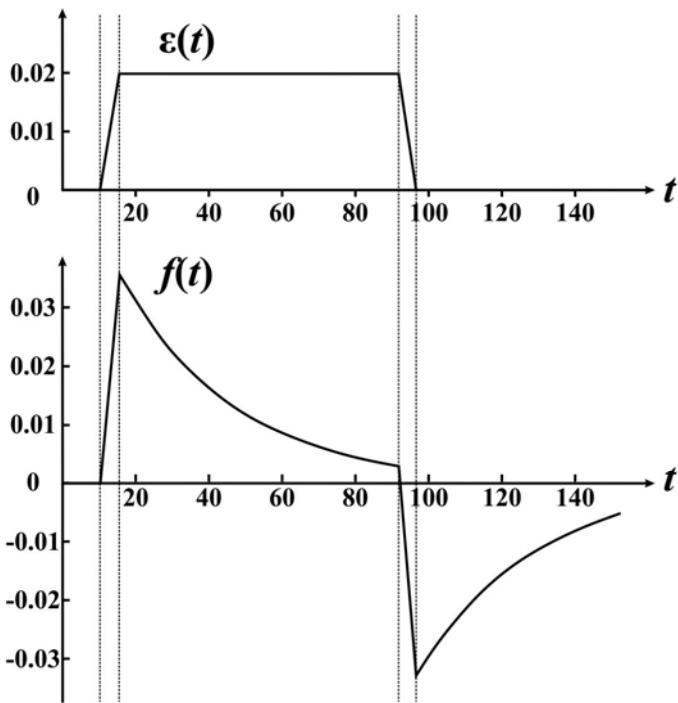


Рис. 4.4. Сила, развивающаяся в модели Максвелла (внизу) в ответ на импульсную внешнюю деформацию (вверху) ( $l_0 = 2, K = 1, H = 30$ ).

Спадание силы после резкого растяжения или сжатия в то время, когда уровень деформации остается постоянным, вызывается релаксацией напряжения. Рассмотрим физику этого явления, описываемого моделью Максвелла. Вследствие «замороженности» вязкого элемента для высоких скоростей деформации при резком увеличении общей длины упругий элемент почти полностью берёт на себя полное растяжение. В дальнейшем на временах порядка времени вязкоупругой релаксации  $\tau$  происходит сжатие упругого элемента до равновесного значения с убыванием соответствующей упругой силы и увеличение длины вязкого элемента. Далее при резком сокращении общей длины упругий элемент, вследствие замороженности демпфера, сжимается, вызывая отрицательные значения силы. В дальнейшем происходит возвращение длины упругого элемента к своему равновесному значению.

#### 4.1.3. Трёхэлементные модели (МЕ, KV, MV, KE)

Разнообразие наблюдаемых вязкоупругих свойств материалов привело к необходимости усложнить модели Максвелла (М) и Кельвина (К), в какой-то мере объединив их путём введения дополнительных элементов в схему. Из трёхэлементных моделей можно рассматривать следующие комбинации, составленные из блоков **M**, **K**, упругих (**E**) или вязких (**V**) элементов: **ME**, **KE**, **KV**, **MV**, соответственно, А, Б, В, Г (рис. 4.5).

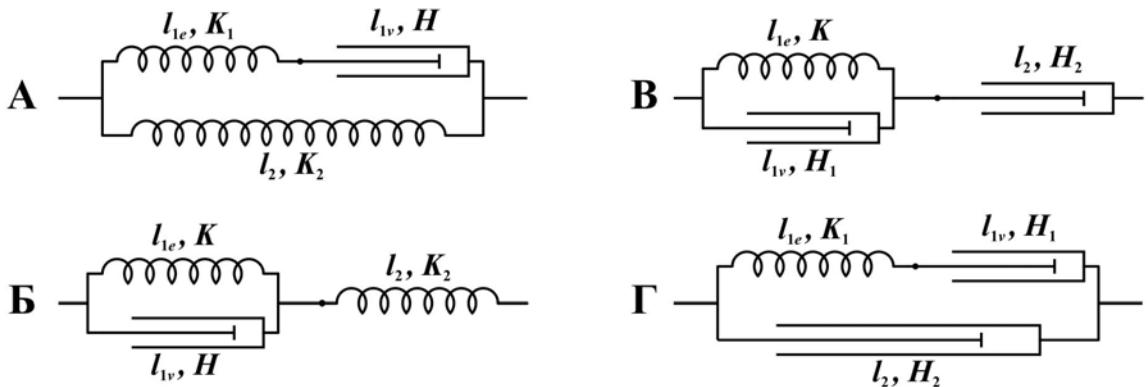


Рис. 4.5. Трёхэлементные модели как комбинации блоков Кельвина и Максвелла.

В модели **МЕ** пластическое течение модели Максвелла ( $l_{1e}+l_{1v}$ ) зашунтировано вторым упругим элементом ( $l_2$ ) с жёсткостью  $K_2$ . Для сил имеем  $F = F_1 + F_2$ ,  $F_{1e} = F_{1v}$ , где

$$F_1 = K_1(l_{1e} - l_{1e0}) + H_1 \frac{d}{dt} l_{1v}; F_2 = K_2(l_2 - l_0) \quad (4.9)$$

Для приведённой силы  $f = F/k_2$  ( $k_1 = K_1 \cdot l_{1e0}$ ,  $k_2 = K_2 \cdot l_0$ ,  $\eta_1 = H_1 \cdot l_{1v0}$ ) имеем

$$f = \varepsilon + \frac{k_1}{k_2} \varepsilon_{1e}; \quad \varepsilon_{1e} = \frac{\eta_1}{k_1} \dot{\varepsilon}_{1v} \quad (4.10)$$

Учитывая, что  $l_{1e} + l_{1v} = l_2$ , получим правило сложения деформаций  $\varepsilon = (l_{1e0}/l_0) \cdot \varepsilon_{1e} + (l_{1v0}/l_0) \cdot \varepsilon_{1v}$ , с помощью которого из (4.10) получим основное уравнение для модели **МЕ**:

$$\dot{f}_{ME} + \frac{K_1}{H_1} f_{ME} = \left(1 + \frac{K_1}{K_2}\right) \dot{\varepsilon} + \frac{K_1}{H_1} \varepsilon \quad (4.11)$$

В простейшем случае, когда начальные длины упругого и вязкого элементов в блоке Максвелла ( $l_{1e0} = l_{1v0} = l_0/2$ ) равны, аналогично формулам (4.7), (4.8) для полной деформации в модели **МЕ** получим:

$$\varepsilon(t) = \frac{1}{2} \left[ \varepsilon_{1e}(t) + \frac{k_1}{\eta_1} \int_0^t dt' \varepsilon_{1e}(t') \right] \quad (4.12)$$

а для полной силы:

$$f(t) = \left( \frac{1}{2} + \frac{k_1}{k_2} \right) \varepsilon_{1e}(t) + \frac{k_1}{2\eta_1} \int_0^t dt' \varepsilon_{1e}(t') \quad (4.13)$$

Если задана полная деформация, то решением (4.12) относительно  $\varepsilon_{1e}$  можно получить деформацию упругого элемента, и затем, полную силу (4.13). Если задана сила, то начинать нужно с решения (4.13), и по (4.12) определить деформацию. В модели **МЕ** слабый шунтирующий элемент, с одной стороны, приводит к устраниению бесконечных течений, связанных с деформацией демпфера, а с другой – к смещению точки равновесия. На рисунке 4.6 показан вид зависимости силы от деформации (гистерезис) со временем в модели **МЕ** при синусоидальном периодическом растяжении. При резком скачке деформации в модели **МЕ** обе пружины деформируются одинаково, но развивающиеся на них силы различны. После снятия нагрузки деформация первой пружины уменьшается до нуля за счёт демпфера.

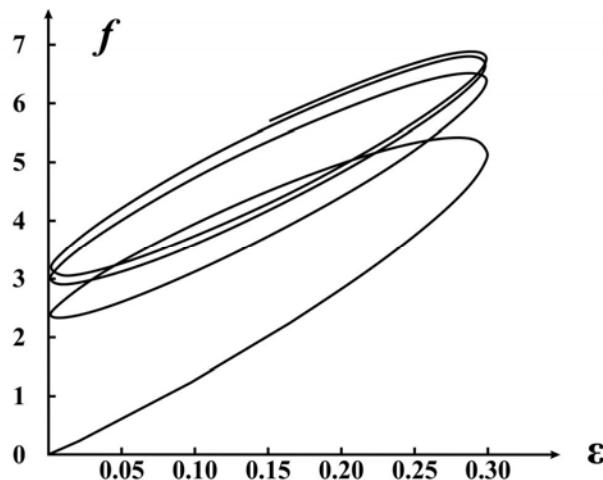


Рис. 4.6. Эволюция кривой гистерезиса в модели **МЕ** ( $l_0 = 2$ ,  $K_1 = 1$ ,  $K_2 = 0.1$ ,  $H_1 = 30$ ).

В модели **КЕ** (рис. 4.5Б) упругий элемент соединён последовательно с блоком Кельвина ( $l = l_1 + l_2$ ). Имеем  $F = F_1 = F_2$ :

$$\dot{F}_1 = k_1 \varepsilon_1 + \eta_1 \dot{\varepsilon}_1; \quad \dot{F}_2 = k_2 \varepsilon_2 \quad (4.14)$$

Основное уравнение для модели **КЕ** получим таким же образом, что и (4.11):

$$\dot{f}_{KE} + \frac{K_1 + K_2}{H_2} f_{KE} = \frac{l_0}{l_{20}} \left( \frac{K_1}{K_2} \dot{\varepsilon}_1 + \frac{K_1}{H_2} \varepsilon_2 \right) \quad (4.15)$$

Из сравнения (4.11) и (4.15) следует эквивалентность функциональных свойств моделей **КЕ** и **МЕ** при равенстве длин ( $l_0 = 2 \cdot l_{20}$ ), что достигается определённой перенормировкой упругих и вязких параметров моделей.

Задавая внешнюю силу  $f(t)$  в этой модели, мы тем самым задаём деформацию последовательного упругого элемента  $\varepsilon_2(t)$  и полную деформацию находим из решения дифференциального уравнения:

$$f(t) = \frac{k_1}{k_2} \varepsilon_1(t) + \frac{\eta_1}{k_1} \dot{\varepsilon}_1(t) \quad (4.16)$$

Полная деформация при этом равна:

$$\varepsilon(t) = \frac{l_{10}}{l_0} \varepsilon_1(t) + \frac{l_{20}}{l_0} f(t) \quad (4.17)$$

Модели **КВ** и **МВ**, в отличие от предыдущих, характеризуются двумя параметрами вязкости каждая и применяются для описания плавных процессов, поскольку резкие скачки деформации в этих моделях запрещены вследствие замороженности шунтирующих полную длину вязких элементов. Обычно в этих моделях задаётся внешняя сила  $f(t)$ . В модели **КВ**, вследствие равенства сил, парциальные деформации  $\varepsilon_1$  и  $\varepsilon_2$  находятся из решения дифференциальных уравнений:

$$f = \varepsilon_1 + \frac{\eta_1}{k_1} \dot{\varepsilon}_1; \quad f = \frac{\eta_2}{k_1} \dot{\varepsilon}_2 \quad (4.18)$$

Полная деформация находится в соответствии с общими правилами сложения деформаций  $\varepsilon = (l_{10}/l_0) \cdot \varepsilon_1 + (l_{20}/l_0) \cdot \varepsilon_2$ .

В модели **MV**  $F = F_1 + F_2$ ,  $F_{1e} = F_{1v}$  и соответствующие уравнения для деформаций ( $\varepsilon_1 = \varepsilon_{1e}$ ,  $\varepsilon_2 = \varepsilon_{1v}$ ) есть:

$$f = (1 + \frac{H_2}{H_1})\varepsilon_1 + \frac{H_2}{K_1}\dot{\varepsilon}_1; \quad \dot{\varepsilon}_2 = \frac{K_1}{H_1}\varepsilon_1 \quad (4.19)$$

Решая первое из них при заданной  $f(t)$ , находим деформацию  $\varepsilon_1$ , затем, решая второе, находим  $\varepsilon_2$  и соответственно полную деформацию  $\varepsilon(t)$ .

#### 4.1.4. Модель Бюргерса-Френкеля (E-KV).

Впервые достаточно полное обобщение для одномерных моделей, позволившее описать широкий круг вязкоупругих свойств, достигнуто в четырёхэлементной модели Бюргерса-Френкеля [145], которая по существу представляет собой последовательное соединение моделей Кельвина и Максвелла (рис. 4.7).

Учитывая равенство сил  $F = F_1 = F_2 = F_3$ , эквивалентность задания силы заданию деформации  $\varepsilon_1$  и исключая  $\varepsilon_2$  с помощью соотношения для деформаций  $l_0 \cdot \varepsilon = l_{10} \cdot \varepsilon_1 + l_{20} \cdot \varepsilon_2 + l_{30} \cdot \varepsilon_3$ , а также равенств:

$$F_1 = k_1 \varepsilon_1; \quad F_2 = k_2 \varepsilon_2 + \eta_2 \dot{\varepsilon}_2; \quad F_3 = \eta_3 \dot{\varepsilon}_3 \quad (4.20)$$

получим в качестве управляющей для этой модели систему двух дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_3 = \frac{l_{20}}{l_{30}} \frac{K_2}{H_3} f \\ \dot{f} = -\left(\frac{K_1 + K_2}{H_2} + \frac{K_1}{H_3}\right) f - \frac{l_{30}}{l_{20}} \frac{K_1}{H_2} \varepsilon_3 + \frac{l_0}{l_{20}} \left(\frac{K_1}{K_2} \dot{\varepsilon} + \frac{K_1}{H_2} \varepsilon\right) \end{cases} \quad (4.21)$$

Наличие в этой модели двух демпфирующих элементов с параметрами  $H_2$  и  $H_3$  приводит к тому, что возникает дифференциальное уравнение второго порядка:

$$\ddot{f} + \left(\frac{K_1 + K_2}{H_2} + \frac{K_1}{H_3}\right) \dot{f} + \frac{K_1 K_2}{H_2 H_3} f = \frac{l_0}{l_{20}} \left(\frac{K_1}{K_2} \ddot{\varepsilon} + \frac{K_1}{H_2} \dot{\varepsilon}\right) \quad (4.22)$$

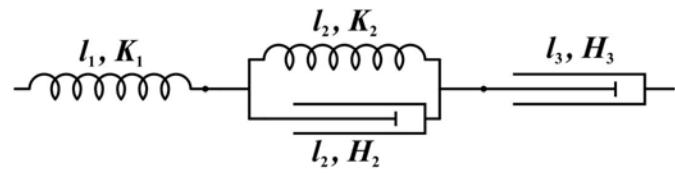


Рис. 4.7. Четырёхэлементная модель Бюргерса-Френкеля, составленная параллельным соединением упругого элемента ( $K_1$ ), блока Кельвина ( $K_2, H_2$ ) и вязкого элемента ( $H_3$ )

Важные следствия, вытекающие из этого уравнения будут подробнее рассмотрены в параграфе о релаксационных осцилляциях. Приведём здесь только результаты, связанные с необычной (так называемой «двуухэкспоненциальной») релаксацией деформации в ответ на серию из двух прямоугольных импульсов силы (рис. 4.8). При этом сила  $f(t)$  считается заданной и система уравнений (4.21) разрешается относительно деформации  $\varepsilon_3$  и полной деформации  $\varepsilon(t)$ .

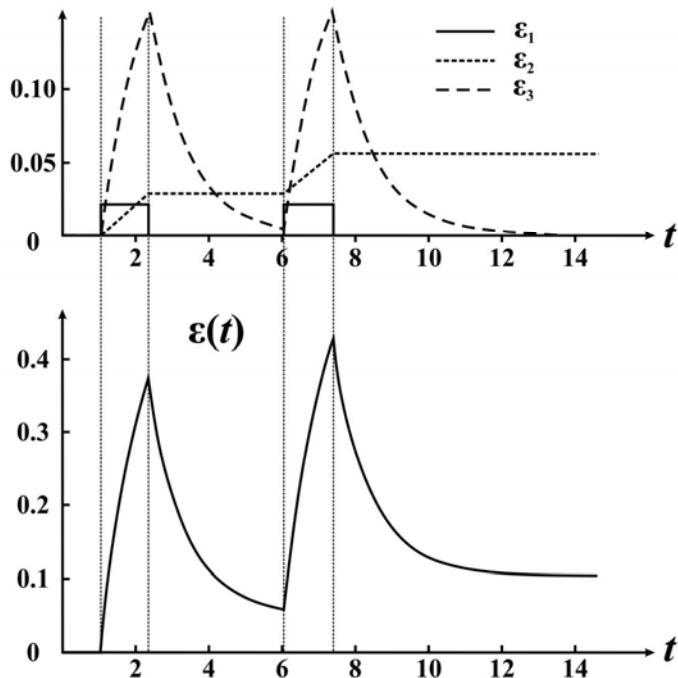


Рис. 4.8. Полная деформация в модели Бюргерса-Френкеля (внизу) в ответ на прямоугольные импульсы силы ( $\varepsilon_1$  вверху). Параметры модели:  $l_{10} = l_{20} = l_{30} = 2$ ,  $K_1 = 2.5$ ,  $K_2 = 0.25$ ,  $H_2 = 2.5$ ,  $H_3 = 25$ .

#### 4.1.5. Модель Бауша-Меллера-Сакмана (МЕ-В).

Модель Бауша-Меллера-Сакмана [146] по функциям вполне аналогична рассмотренной четырёхэлементной модели Е-КВ (рис. 4.9).

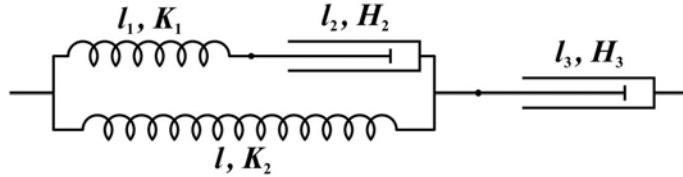


Рис. 4.9. Модель Бауша-Меллера-Сакмана, составленная из модели МЕ (рис. 4.5), последовательно соединённой с демпфером.

Для деформаций имеют место два соотношения  $l_0 \cdot \varepsilon = l_{1e0} \cdot \varepsilon_{1e} + l_{2v0} \cdot \varepsilon_{2v} + l_{30} \cdot \varepsilon_3$ ,  $l_{20} \cdot \varepsilon_2 = l_{1e0} \cdot \varepsilon_{1e} + l_{2v0} \cdot \varepsilon_{2v}$ , а для силы  $F = F_1 + F_2$ ,  $F = F_3$ ,  $F_{1e} = F_{2v}$ , где

$$F = k_1 \varepsilon_{1e} + k_2 \varepsilon_2; \quad F = \eta_3 \dot{\varepsilon}_3; \quad k_1 \varepsilon_{1e} = \eta_2 \dot{\varepsilon}_{1v} \quad (4.23)$$

и  $k_1 = l_{1e0} \cdot K_1$ ,  $k_2 = l_{20} \cdot K_2$ ,  $\eta_2 = l_{2v0} \cdot H_2$ ,  $\eta_3 = l_{30} \cdot H_3$ . Исключая из этих уравнений  $\varepsilon_{1e}$  и  $\varepsilon_{2v}$  с помощью соотношений для деформаций, получим систему управляемых уравнений:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_3 = \frac{l_{20}}{l_{30}} \frac{K_2}{H_3} f \\ \dot{f} = -\left(\frac{K_1}{H_2} + \frac{K_1 + K_2}{H_3}\right) \cdot f - \frac{l_{30}}{l_{20}} \frac{K_1}{H_2} \varepsilon_3 + \frac{l_0}{l_{20}} \left[ \left(1 + \frac{K_1}{K_2}\right) \cdot \dot{\varepsilon} + \frac{K_1}{H_2} \varepsilon \right] \end{cases} \quad (4.24)$$

Отметим, что из (4.24) следует такое же уравнение, что и (4.22), только с коэффициентом  $1+K_1/K_2$  перед  $\ddot{\varepsilon}$  в правой части. Это говорит о функциональной эквивалентности этих моделей. На рисунке 4.10 для модели МЕ-В представлены кривые, полученные в тех же условиях, что и для модели Е-КВ (рис. 4.8).

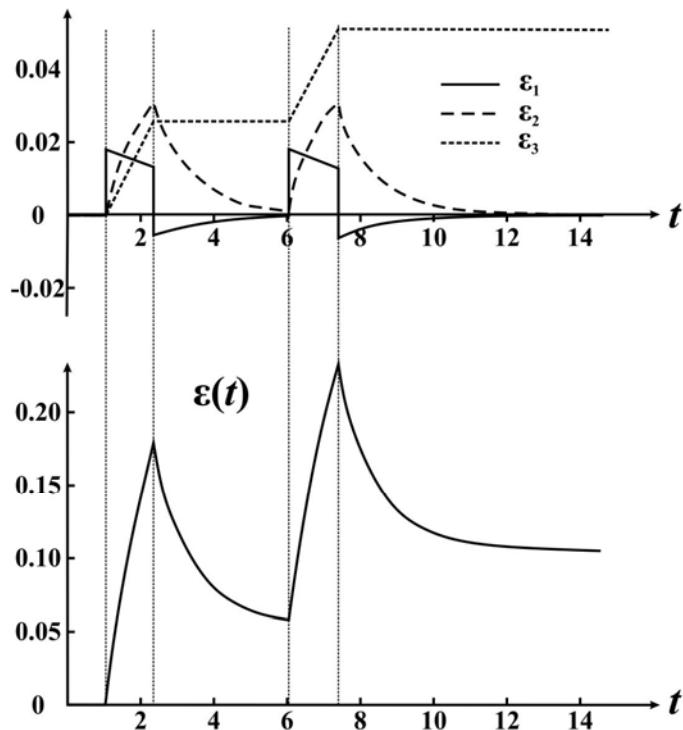


Рис. 4.10. Полная деформация в модели Бауша-Меллера-Сакмана в ответ на прямоугольные импульсы силы (вверху). Параметры модели:  $l_{10} = l_{20} = l_{30} = 2$ ,  $K_1 = 2.5$ ,  $K_2 = 0.25$ ,  $H_2 = 2.5$ ,  $H_3 = 25$ .

Для модели **МЕ-В** при общем похожем поведении ползучести, в отличие от **Е-КВ**, характерны скачки деформации на резких фронтах подъема и обрыва внешней силы.

#### 4.1.6. Четырёхэлементные модели **Е-МВ**, **КВ\_Е** и **КЕ\_В**

Оставшиеся возможные комбинации четырёх элементов представлены в моделях **Е-МВ**, **КВ\_Е** и **КЕ\_В** (рис. 4.11).

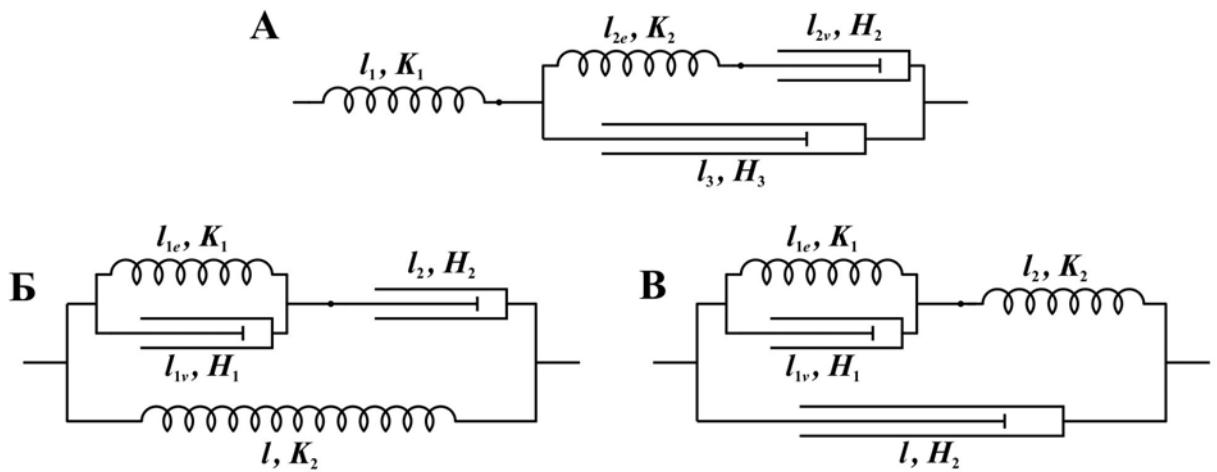


Рис. 4.11. Четырёхэлементные модели **E-MV** (А), **KV\_E** (Б), **KE\_V** (В).

Следует отметить, что последние две модели в большей степени предназначены для моделирования особенностей ползучести при импульсной нагрузке, чем кривых релаксации напряжения при ступенчатой деформации, поскольку в них полная длина зашунтирована вязкими элементами.

Для модели **E-MV** выпишем управляющие уравнения в форме, удобной при задании внешней полной деформации  $\varepsilon = \varepsilon(t)$ :

$$\begin{cases} \dot{f} = \frac{K_1}{H_3}(\varepsilon_{2e} - f) + \frac{l_0}{l_{20}} \frac{K_1}{H_3} \dot{\varepsilon} \\ \dot{\varepsilon}_{2e} = -\left(\frac{K_2}{H_2} + \frac{K_2}{H_3}\right) \cdot \varepsilon_{2e} + \frac{K_2}{H_3} f \end{cases} \quad (4.25)$$

Соответствующая решению (4.25) относительно  $\varepsilon_{2e}$  и  $\varepsilon$  при задании внешней силы  $f(t)$  кривая ползучести представлена на рисунке 4.12.

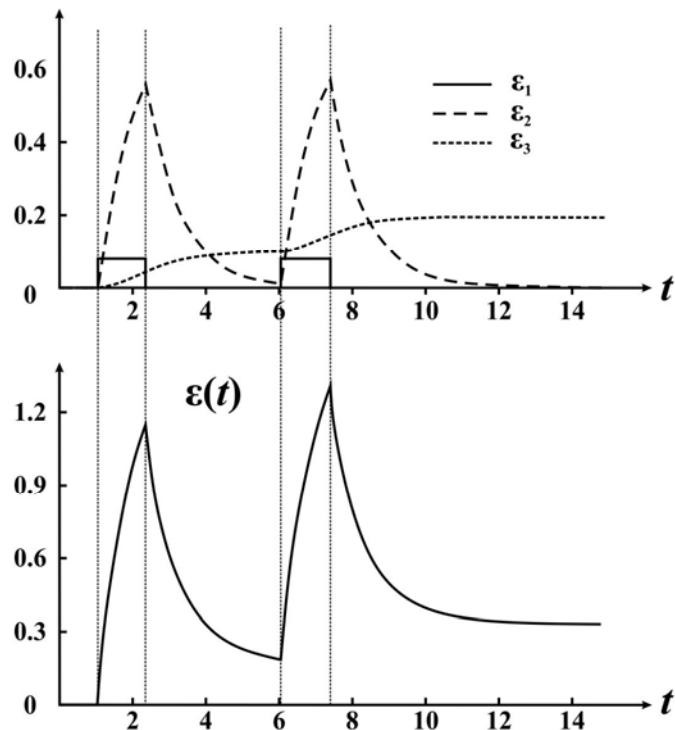


Рис. 4.12. Ползучесть в модели Е-МВ при  $l_{10} = l_{20} = l_{30} = 2$ ,  $K_1 = 2.5$ ,  $K_2 = 0.25$ ,  $H_2 = 25$ ,  $H_3 = 2.5$ .

Для модели KV\_E при задании полной деформации  $\varepsilon(t)$  получается одно замкнутое уравнение для деформации  $\varepsilon_2$ :

$$\dot{\varepsilon}_2 = -\frac{K_1}{H_1+H_2} \left( \varepsilon_2 - \frac{l_0}{l_{20}} \varepsilon \right) + \frac{l_0}{l_{20}} \frac{H_1}{H_1+H_2} \dot{\varepsilon} \quad (4.26)$$

После его решения находим силу:

$$f = \varepsilon + \frac{K_1}{K_2} \frac{H_2}{H_1 + H_2} \left[ \left( \varepsilon - \frac{l_{20}}{l_0} \varepsilon_2 \right) + \frac{H_1}{K_1} \right] \cdot \dot{\varepsilon} \quad (4.27)$$

Для вычисления функции полной деформации при заданной внешней силе  $f(t)$  получим систему уравнений:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_2 = \frac{l_0}{l_{20}} \frac{K_2}{H_2} \cdot (f - \varepsilon) \\ \dot{\varepsilon} = -\frac{K_1}{H_1} \left( \varepsilon - \frac{l_{20}}{l_0} \varepsilon_2 \right) - \left( \frac{K_2}{H_1} + \frac{K_2}{H_2} \right) \cdot (\varepsilon - f) \end{cases} \quad (4.28)$$

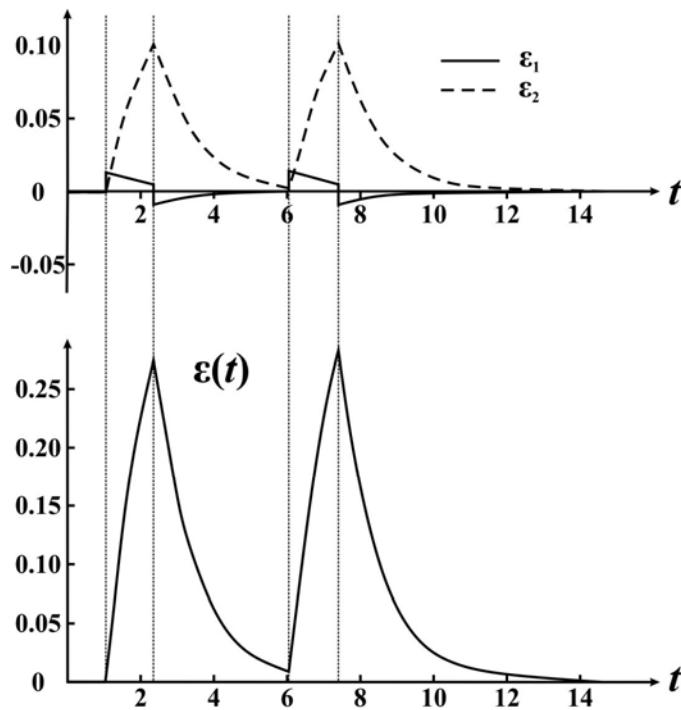


Рис. 4.13. Ползучесть в модели **KV\_E** при  $l_{10} = l_{20} = 3$ ,  $K_1 = 2.5$ ,  $K_2 = 0.25$ ,  $H_1 = 25$ ,  $H_2 = 2.5$ .

Для модели **KE\_V** аналогичным образом получаем одно замкнутое уравнение для определения деформации  $\varepsilon_1$  при задании полной деформации:

$$\dot{\varepsilon}_1 = -\frac{K_1 + K_2}{H_1} \varepsilon_1 + \frac{l_0}{l_{10}} \frac{K_2}{H_1} \varepsilon \quad (4.29)$$

и уравнение для силы:

$$f = \frac{l_0}{l_{20}} \cdot \left( -\frac{l_{10}}{l_0} \varepsilon_1 + \varepsilon + \frac{H_2}{K_2} \dot{\varepsilon} \right) \quad (4.30)$$

При задании силы  $f(t)$  необходимо решить систему уравнений:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon} = -\frac{K_2}{H_2} \left( \varepsilon + \frac{l_{10}}{l_0} \varepsilon_1 \right) + \frac{l_{20}}{l_0} \frac{K_2}{H_2} f \\ \dot{\varepsilon}_1 = -\frac{K_1 + K_2}{H_1} \varepsilon_1 + \frac{l_0}{l_{10}} \frac{K_2}{H_2} \varepsilon \end{cases} \quad (4.31)$$

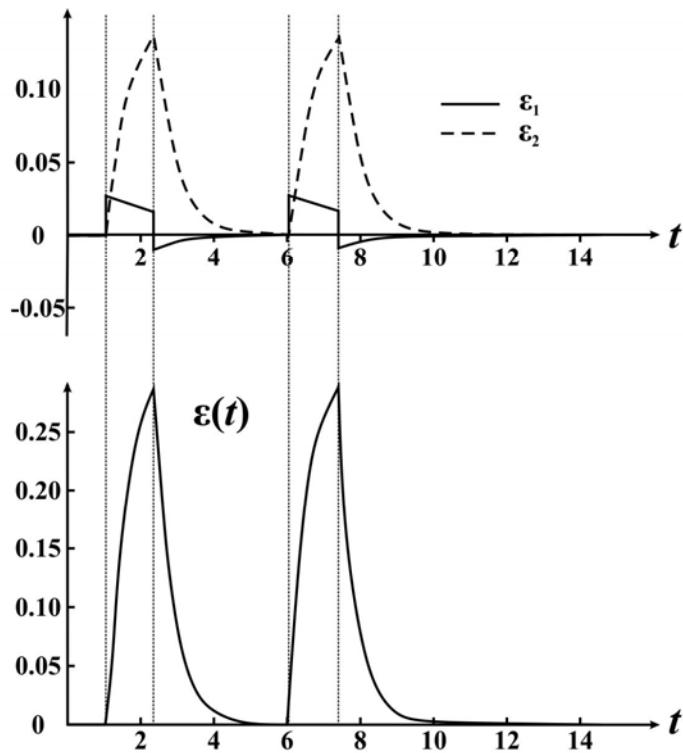


Рис. 4.14. Ползучесть в модели **KE\_V** при  $l_{10} = l_{20} = 3$ ,  $K_1 = 0.25$ ,  $K_2 = 2.5$ ,  $H_1 = 2.5$ ,  $H_2 = 25$ .

При сравнении кривых на рисунках 4.8, 4.10, 4.12, 4.13 и 4.14, отражающих зависимость полной деформации  $\varepsilon \cdot l_0$  от времени при прямоугольной импульсной нагрузке  $f(t)$  в четырёхэлементных одномерных моделях с различной архитектурой, видно, что при одинаковом общем виде, детали этой зависимости достаточно индивидуальны, чтобы можно было различить их по «функциональным портретам». Такой подход, как будет показано далее, является достаточно плодотворным для установления соответствия характерных особенностей функциональных кривых и структуры моделей.

#### 4.1.7. Релаксационные осцилляции

Для силы  $F = f k_2$  уравнение (4.22) принимает вид

$$\ddot{F} + \dot{F}(1/\tau_1 + 1/\tau_1 + 1/\tau_1) + \Omega^2 F = l_0 K_1 (\ddot{\varepsilon} + 1/\tau_2 \dot{\varepsilon}) \quad (4.32)$$

где  $\varepsilon$  – полная продольная деформация,  $1/\tau_1 = K_1/H_2$ ,  $1/\tau_2 = K_2/H_2$ ,  $1/\tau_3 = K_1/H_3$  и  $\Omega^2 = K_1 K_2 / H_3 H_2$ .

По форме уравнение (4.32) представляет собой уравнение гармонического осциллятора на частоте  $\Omega$  и с сильным затуханием, декремент которого одного порядка с частотой. Отметим, что осцилляционное поведение в данном случае возникает без динамической возвращающей силы, за счёт конкуренции двух диссипативных процессов.

## 4.2. ДВУМЕРНЫЕ МОДЕЛИ

### 4.2.1. Нелинейность функции отклика. Роль поперечных деформаций

При одноосном деформировании сплошных вязкоупругих тел вполне заметную роль играют деформации в поперечном оси деформирования направлении (поперечные деформации). Из соотношения модулей Юнга и модуля поперечной упругости (коэффициента Пуассона) можно сделать определенные заключения об объёмной сжимаемости среды. С высокой степенью точности биологические мягкие ткани, как сплошные среды, в основном состоящие из жидкостей, можно считать несжимаемыми. Однако на уровне внутренних морфологических единиц, погруженных в межклеточную или внутриклеточную жидкость, весьма существенны поперечные деформации. Поэтому при рассмотрении реологии таких тканей весьма продуктивным оказывается возможность выхода за рамки одномерных моделей, что даёт дополнительную степень свободы. Это приводит к возможности описания нелинейных характеристик в рамках таких моделей. Значительные изменения поперечных размеров в двумерных и трёхмерных моделях можно согласовать с требованием общей объёмной несжимаемости с помощью предположения о втекании или вытекании жидкого наполнителя из структуры. Модели для описания таких явлений

представлены в разделе, посвященном внутриклеточным структурам. Начнём с простейших двумерных моделей, составленных из наклонных и поперечных упругих элементов [5].

Предположим, что без учёта вязкости все морфологическое разнообразие упругих структур, составляющих ткань миокарда, можно свести к трём первичным линейным элементам. Пусть  $l_1, l_2, l_3$  – длины этих элементов, а  $K_1, K_2, K_3$  – соответствующие жёсткости. Комбинируя эти три элемента путём соединения их шарнирами без трения, можно получить двумерные структурно различные модели, отличающиеся по своим функциональным упругим характеристикам. Отметим, что все эти модели должны обладать центром симметрии, что позволяет не рассматривать сдвиговые деформации. Следует указать, что в соответствии с экспериментальными условиями, приложенная сила распределяется на некоторую площадь закрепления на краях образца, поэтому считаем, что сила приложена к жёсткой муфте с поперечником  $h$ . В некоторых моделях считается, что  $h \rightarrow 0$ , и это упрощает расчёты.

При разработке 2D модели фасцикулы сделаны существенные упрощения в её структуре, исходя из необходимого минимума количества элементов, отражающих вязкоупругие свойства образца миокарда. Мы предполагаем симметричность и наличие центра симметрии модели, отсутствие массы элементов, шарнирный тип всех соединения элементов без трения. При проведении численных экспериментов приложенная сила, в соответствии с экспериментальными условиями, распределялась на некоторую площадь в виде жёсткого элемента (фермы), имитирующего свойства Z-пластинки в саркомерах, межклеточного контакта (нексуса) между кардиомиоцитами и места закрепления на краях образца папиллярной мышцы.

В качестве иллюстрации возможностей получения нелинейной функции отклика и «тригонометрического» происхождения нелинейности,

рассмотрим простейшую конструкцию из двух одинаковых скрещенных упругих элементов (гуковских пружин) (рис. 4.15).

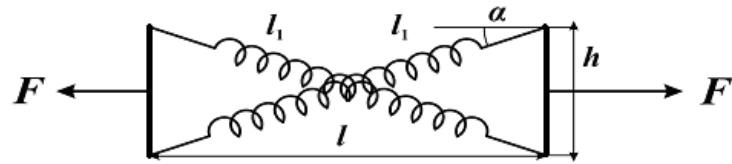


Рис. 4.15. Простейшая модель с «тригонометрической» нелинейностью.

Очевидно, что по мере продольного растяжения угол  $\alpha$  уменьшается и наклон кривой «сила – длина» увеличивается, асимптотически приближаясь к значению, определяемому упругим коэффициентом пружин (рис. 4.16).

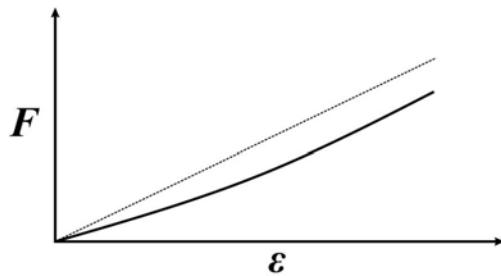


Рис. 4.16. Кривая зависимости силы от деформации для модели, представленной на рисунке 4.15. Пунктирная линия – линейная зависимость.

#### 4.2.2. Ромбические модели и их обобщение

Рассмотрим конструкцию, составленную из упругих элементов  $l_1$ ,  $l_2$  и  $l_3$ , и её вариант (рис. 4.17) с жёсткой поперечной муфтой  $h$ . Из условий равновесия упругих сил в точках  $a$  и  $b$  в проекциях на оси для правой модели на рисунке 4.17 получим систему уравнений для относительных деформаций элементов  $\varepsilon_1$ ,  $\varepsilon_2$ ,  $\varepsilon_3$ :

$$\begin{cases} 2 \cdot \varepsilon_1 / \kappa_1 \cdot \cos \alpha + 2 \cdot \varepsilon_2 = f \\ 2 \cdot \varepsilon_1 / \kappa_1 \cdot \sin \alpha + \varepsilon_3 / \kappa_3 = 0 \end{cases} \quad (4.33)$$

где  $l_1 = l_{01} \cdot (1 + \varepsilon_1)$ ;  $l_2 = l_{02} \cdot (1 + \varepsilon_2)$ ;  $l_3 = l_{03} \cdot (1 + \varepsilon_3)$ ;

$$k_1 = K_1 \cdot l_{01}; \quad k_2 = K_2 \cdot l_{02}; \quad k_3 = K_3 \cdot l_{03};$$

$$f = F / k_2; \quad \kappa_1 = k_2 / k_1; \quad \kappa_3 = k_2 / k_3;$$

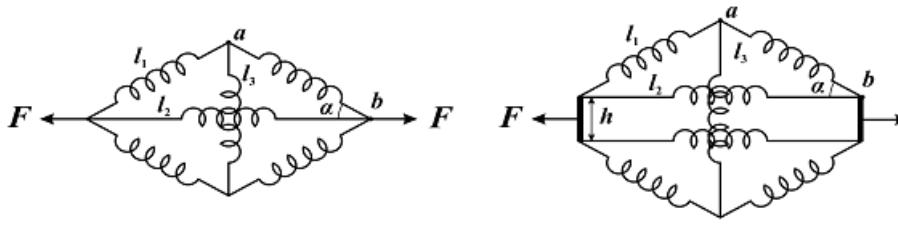


Рис. 4.17. Ромбические модели, содержащие гуковские: наклонные  $l_1$ , продольные  $l_2$  и поперечные элементы  $l_3$ .

В данной модели длина и деформация продольного элемента совпадают соответственно с полной длиной и деформацией  $l_0 = l_{02}$ ,  $\varepsilon = \varepsilon_2$ . Удобно задавать исходную поперечную деформацию  $\varepsilon_3$  в диапазоне  $(0, \varepsilon_{3\max})$  и находить решение как функцию  $\varepsilon_3$ . В результате получим:

$$\begin{cases} \varepsilon_1(\varepsilon_3) = -\frac{\varepsilon_3}{\varepsilon_3 + 2 \cdot (k_1/k_3 \cdot \lambda) \cdot (\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma)} \\ \varepsilon(\varepsilon_3) = -1 + \sqrt{y_1^2(\varepsilon_3) - (y_3 - \gamma)^2} \\ f(\varepsilon_3) = \varepsilon(\varepsilon_3) + 2 \cdot \frac{k_1}{k_2 \cdot \lambda_1} \cdot \frac{(1 + \varepsilon(\varepsilon_3)) \cdot \varepsilon_1(\varepsilon_3)}{1 + \varepsilon_1(\varepsilon_3)} \end{cases} \quad (4.34)$$

где  $y_1(\varepsilon_3) = \lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1(\varepsilon_3))$ ;  $y_3(\varepsilon_3) = \lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3)$ ;

$$\lambda_1 = l_{01}/l_0; \quad \lambda_3 = 2 \cdot l_{03}/l_0; \quad \gamma = h/l_0$$

Несмотря на линейность исходных элементов зависимости деформаций продольного элемента и полной продольной деформации от поперечной деформации  $\varepsilon_1(\varepsilon_3)$ ,  $\varepsilon(\varepsilon_3)$  при значениях параметров жёсткости  $K_1$  примерно на два порядка больших, чем  $K_2$  и  $K_3$ , является нелинейной (см. рис. 4.18А). Кривая  $\varepsilon(\varepsilon_3)$  отражает немонотонную зависимость, связанную с насыщением полной деформации. Ход зависимости нормированной силы от продольной деформации  $f(\varepsilon)$  (рис. 4.18Б) соответствует двум предельным режимам деформации и отражает эффект “ужесточения”, т.е. увеличения дифференциального коэффициента жёсткости всей конструкции при продольном удлинении. Вклад в возникновение этого эффекта вносят, с одной стороны, “тригонометрическая” нелинейность, а с другой стороны,

“схлопывание”, приводящее к тому, что при больших деформациях начинает работать более жёсткий элемент  $K_I$ .

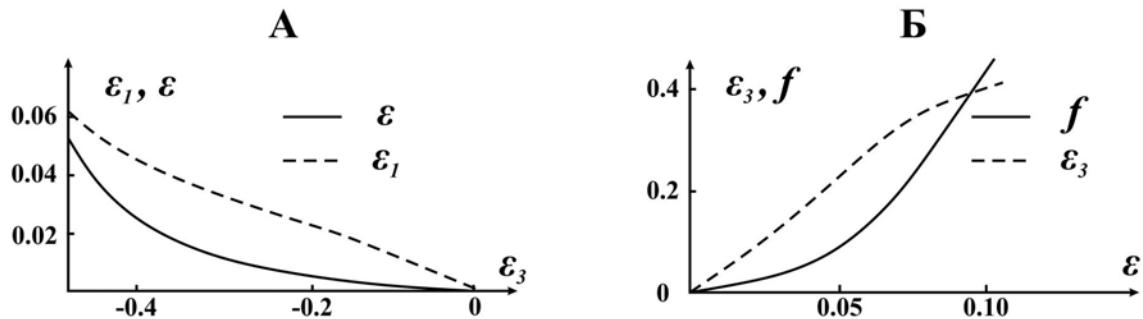


Рис. 4.18. (А) Сплошная линия – зависимость полной деформации  $\varepsilon$  в ромбической модели от заданной деформации поперечного элемента  $\varepsilon_3$ ; штриховая линия – деформация наклонного элемента  $\varepsilon_1$ ; (Б) сплошная линия – зависимость силы  $f$  от полной продольной деформации  $\varepsilon$ ; штриховая линия – зависимость  $\varepsilon_3(\varepsilon)$ .

Другие комбинации первичных упругих элементов приводят к изменению формы и топологии моделей, что, в конечном счёте, выражается в изменении функции отклика и характеристики «деформация – напряжение» для модели. На рисунке 4.19 приведены все исследованные варианты соединения наклонных, поперечных и продольных элементов.

Номер модели соответствует определенной комбинации соединений поперечных, наклонных продольных и перекрестных элементов. Отметим, что модели двух нижних рядов таблицы взаимно топологически эквивалентны, но при продольном растяжении в моделях нижнего ряда происходит растяжение (а не сжатие) поперечных элементов. Для ряда моделей на рисунке 4.20 приведены соответствующие функции отклика.

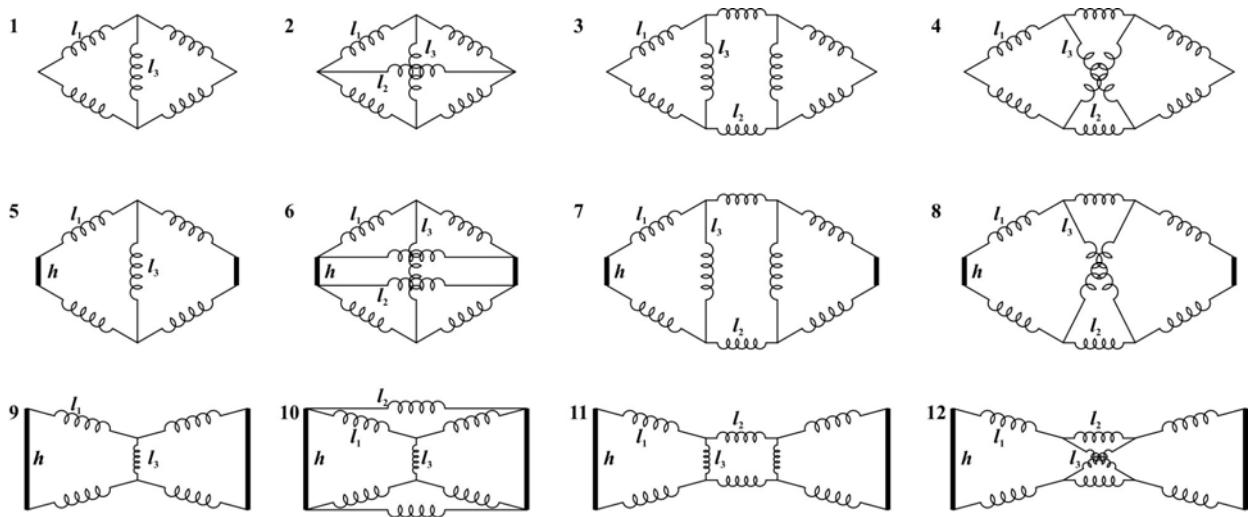


Рис. 4.19. Схематический вид некоторых из моделей.

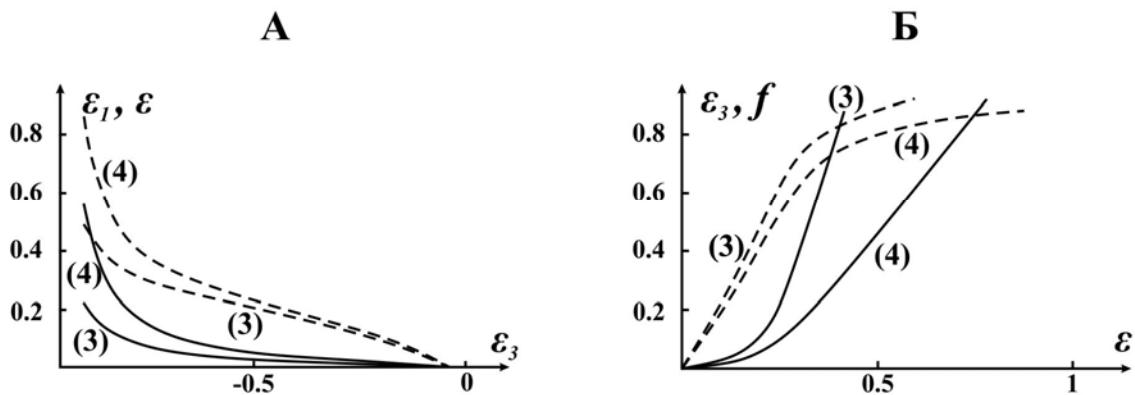


Рис. 4.20. Зависимости параметров моделей (3) и (4) при задании поперечной деформации.

#### 4.2.3. Учёт вязкости в моделях с блоком Кельвина

Обратимся теперь к учёту вязкости при использовании двумерных моделей и к тем динамическим эффектам, к которым приводит такой учёт [6], [7]. В качестве тестирующих механических воздействий используется периодическая деформация синусоидальной и пилообразной формы с различной частотой. Физический смысл гистерезиса силы достаточно прост. Пусть мы имеем зависимость силы от длины, например, одну из кривых, представленных на рисунке 4.20Б без учёта вязкости. На прямом ходе, т.е. при увеличении длины с некоторой скоростью вязкость приведет к увеличению силы, которую необходимо приложить для данного удлинения,

поэтому «вязкая» кривая пройдет выше статической кривой. При уменьшении длины соответствующая возвращающая сила будет меньше за счёт вязких потерь, и кривая пойдет ниже статической. Таким образом, движение по петле гистерезиса при периодическом растяжении направлено по часовой стрелке, что характерно для диссипативных систем. При моделировании вязкоупругих динамических свойств сердечной мышцы (без учёта её массы, что справедливо при достаточно низкой частоте периодической нагрузки) мы будем опираться на некоторые из представленных на рисунке 4.19 двумерных структур, составленных из гуковских линейных упругих элементов, соединённых шарнирами без трения в точках типа *a* и *b*. Вязкость учитывается введением ньютоновских демпферов, включенных параллельно упругим элементам, т.е. в рамках модели Кельвина (рис. 4.21). При этом, часть моделей мы опустим, учитывая их не вполне адекватные статические характеристики, и остановимся на моделях ромбической и обобщённой ромбической геометрии 6 и 7 в обозначениях рисунка 4.19. Элемент Кельвина обозначен соответствующим образом.

В первом из возможных вариантов постановки задачи считается заданной зависимость от времени деформации какого либо первичного элемента модели в виде периодической функции синусоидальной или пилообразной формы. При этом предполагается, что данный элемент обладает вязкостью. Например, при деформации вязкого поперечного элемента  $\varepsilon_3(t)$  вязкая сила пропорциональна  $\eta_3 \varepsilon_3(t)$ , где  $\eta_3$  – коэффициент вязкости. Зависимости от времени деформации всех других элементов, общая продольная деформация модели, а также результирующая сила  $F(t)$  находятся в результате решения системы нелинейных уравнений с учётом вязкой силы, пропорциональной скорости деформации. В такой постановке удается получить решение задачи, задавая деформацию того элемента, который обладает вязкостью. Таким способом рассмотрены варианты

ромбической и обобщённой (параллельной) геометрии, в которых последовательно учитывается вязкость наклонного  $\eta_1 \varepsilon_1$ , продольного  $\eta_2 \varepsilon_2$  и поперечного  $\eta_3 \varepsilon_3$  элементов, представленные на рисунке 4.21.

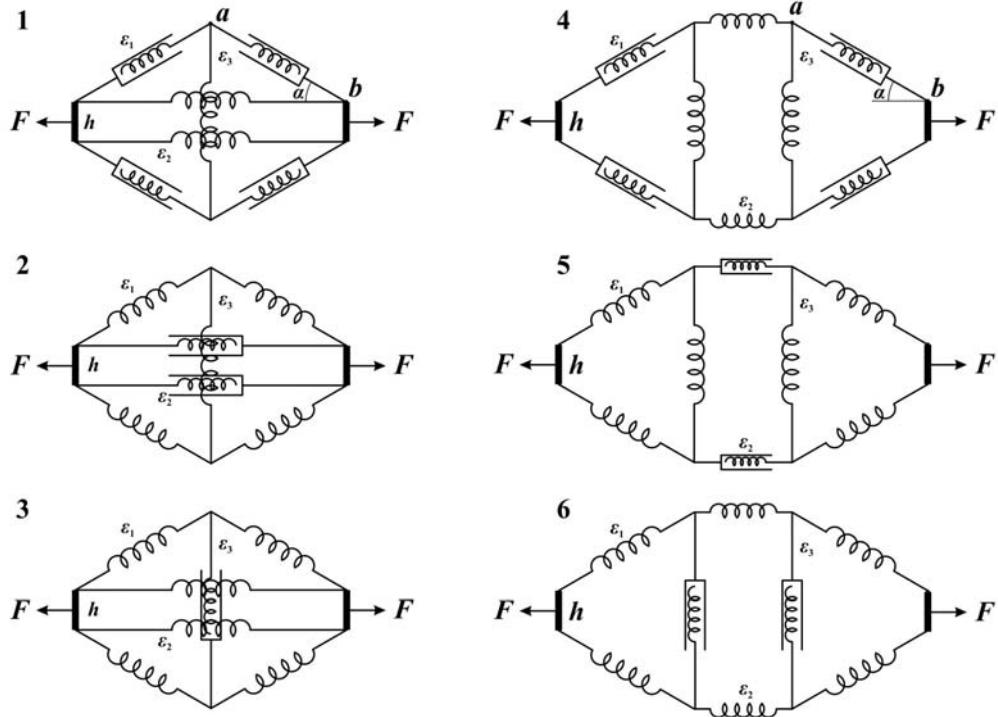


Рис. 4.21. Схемы моделей ромбической **RLH<sub>1</sub>** (1), **RLH<sub>2</sub>** (2), **RLH<sub>3</sub>** (3) и параллельной **PH<sub>1</sub>** (4), **PH<sub>2</sub>** (5), **PH<sub>3</sub>** (6) геометрии.

#### 4.2.4. Кривые гистерезиса «сила-длина»

Приведём основные уравнения, описывающие кривые гистерезиса силы при заданной деформации в моделях, наиболее адекватно описывающих квазистатические упругие свойства. Используем обозначения:

$\alpha$  – угол наклонного элемента;

$h$  – поперечник муфты закрепления;

$F$  – сила нагрузки на муфту;

$l, l_0$  – продольная длина, начальная продольная длина;

$l_1, l_2, l_3$  – длины наклонного, продольного и поперечного элементов;

$l_{10}, l_{20}, l_{30}$  – соответствующие начальные длины;

$\varepsilon_1, \varepsilon_2, \varepsilon_3$  – однородные относительные деформации;

$\dot{\varepsilon}_1, \dot{\varepsilon}_2, \dot{\varepsilon}_3$  – скорости деформаций;

$K_1, K_2, K_3$  – коэффициенты жёсткости элементов;

$\eta_1, \eta_2, \eta_3$  – коэффициенты вязкости.

Рассмотрим вначале модель **RLH<sub>1</sub>** на рисунке 4.21(1) с вязким наклонным элементом. Для наклонного вязкого элемента упругая сила есть:

$$F_1 = K_1(l_1 - l_{10}) + H_1 \frac{dl_1}{dt} = k_1 \varepsilon_1 + \eta_1 \dot{\varepsilon}_1 \quad (4.35)$$

а для поперечного элемента:

$$F_3 = K_3(l_3 - l_{30}) = k_3 \varepsilon_3 \quad (4.36)$$

Считая деформацию наклонного элемента  $\varepsilon_1 = \varepsilon_1(t)$  и её производную  $\dot{\varepsilon}_1 = d\varepsilon_1/dt$  заданными функциями времени, запишем условия равенства упругих и вязких сил в точках  $a$  и  $b$ :

$$\begin{cases} 2 \cdot \left( \varepsilon_1 / \kappa_1 + \eta_1 \dot{\varepsilon}_1 / k_2 \right) \cdot \cos \alpha + 2 \varepsilon_2 = f \\ 2 \cdot \left( \varepsilon_1 / \kappa_1 + \eta_1 \dot{\varepsilon}_1 / k_2 \right) \cdot \sin \alpha + \varepsilon_3 / \kappa_3 = 0 \end{cases} \quad (4.37)$$

где  $k_1 = K_1 \cdot l_{10}$ ,  $k_2 = K_2 \cdot l_{20}$ ,  $k_3 = K_3 \cdot l_{30}$ ,  $f = F/k_2$ ,  $\kappa_1 = k_2/k_1$ ,  $\kappa_3 = k_2/k_3$ .

Из геометрических соотношений следует:

$$\sin \alpha = \frac{l_3 - h}{2 \cdot l_1} = \frac{y_3 - \gamma}{y_1}; \quad \cos \alpha = \frac{l_2}{2 \cdot l_1} = \frac{(1 + \varepsilon_2)}{y_1} \quad (4.38)$$

где в соответствии с (4.37)  $y_1 = \lambda_1(1 + \varepsilon_1)$ ,  $y_3 = \lambda_3(1 + \varepsilon_3)$ ,  $\lambda_1 = 2 \cdot l_{10}/l_{20}$ ,  $\lambda_3 = l_{30}/l_{20}$ ,  $\gamma = h/l_{20}$  ( $l_{20} = l_0$ ). Тогда из второго уравнения (4.37) для деформации поперечного элемента получим:

$$\varepsilon_3 = - \left( 1 - \frac{h}{l_{30}} \right) \left( 1 + \frac{l_{10}}{l_{30}} \cdot \frac{k_3}{k_1} \cdot \frac{1 + \varepsilon_1}{\varepsilon_1 + \eta_1 / k_1 \dot{\varepsilon}_1} \right)^{-1} \quad (4.39)$$

Выражение (4.39) позволяет далее рассчитать полную деформацию (которая в данной модели совпадает с деформацией продольного элемента  $\varepsilon = \varepsilon_2$ ):

$$\varepsilon = \sqrt{y_1^2 - (y_3 - \gamma)^2} - 1 \quad (4.40)$$

и в соответствии со вторым уравнением (4.37) и соотношением (4.36) решить задачу определения силы  $f(t)$  при заданной деформации  $\varepsilon_1(t)$ :

$$f = 2\varepsilon + \frac{l_0}{l_{10}} \cdot \frac{k_1}{k_2} \cdot \frac{1+\varepsilon}{1+\varepsilon_1} \left( \varepsilon_1 + \frac{\eta_1}{k_1} \dot{\varepsilon}_1 \right) \quad (4.41)$$

Нетрудно проверить, что для соответствующей обобщённой (параллельной) модели **RH<sub>1</sub>** (рис. 4.21(4)) решение находится столь же просто, но в уравнении (4.37) отсутствует слагаемое с  $\varepsilon_2$ :

$$f = 2 \cos \alpha \cdot \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \dot{\varepsilon}_1 \right) \quad (4.42)$$

$$\varepsilon_2 = \cos \alpha \cdot \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \dot{\varepsilon}_1 \right), \quad (4.43)$$

в правой части формулы (4.40) добавляется слагаемое  $y_2$ :

$$\varepsilon = y_2 - 1 + \sqrt{y_1^2 - (y_3 - \gamma)^2} \quad (4.44)$$

и появляется условие  $f(t) = 2\varepsilon_2$ .

Считаем заданной функцией времени деформацию поперечного элемента  $\varepsilon_3$  и соответствующую скорость деформации. Система уравнений для модели ромба **RLH<sub>3</sub>** (рис. 4.21(3)) в этом случае:

$$\begin{cases} 2 \cdot \cos \alpha \cdot \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + 2\varepsilon_2 = f \\ 2 \cdot \sin \alpha \cdot \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\varepsilon_3}{\kappa_3} + \frac{\eta_3}{k_2} \dot{\varepsilon}_3 = 0 \end{cases} \quad (4.45)$$

позволяет получить соотношение, аналогичное (4.39), для деформации наклонного элемента:

$$\varepsilon_1 = - \left[ 1 + \frac{y_3 - \gamma}{\kappa_1 \lambda_1 (\varepsilon_3 / \kappa_3 + \varepsilon_3 \eta_3 / k_2)} \right]^{-1} \quad (4.46)$$

При этом для продольной деформации справедлива формула  $\varepsilon = \varepsilon_2$ , которая совместно с первым уравнением (4.45) позволяет получить решение для  $f(t)$ :

$$f = \varepsilon_2 + 2 \cdot \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} \sqrt{1 - \left( \frac{y_3 - \gamma}{y_1} \right)^2} \quad (4.47)$$

Задача для модели «параллелограмма» с вязкими поперечными элементами РН<sub>3</sub> даёт систему уравнений (4.45) без слагаемого  $\varepsilon_2$  и с дополнительным условием  $f = 2 \cdot \varepsilon_2$ , которая решается аналогично.

При синусоидальной зависимости от времени задаваемой деформации продольного элемента в области линейного участка стационарной кривой «сила-деформация» вязкость «включена» во всем диапазоне деформаций равномерно в соответствии со скоростью деформации. В соответствии с этим кривая гистерезиса для модели ромба, представленная на рисунке 4.22А, имеет симметричную эллипсоидальную форму. В данном случае производная деформации, определяющая вязкие свойства, является плавной непрерывной функцией. Для формы задаваемой деформации мы использовали также пилообразную функцию времени (кусочно-линейного, квадратичного и кубического вида) с расположением зубцов вверх и вниз. Кривые гистерезиса в этих случаях имеют разрывы соответственно в верхней и нижней частях (рис. 4.22Б и 4.22В). Такого же рода особенности кривых гистерезиса вблизи точек скачков производной деформации характерны и для других исследованных моделей.

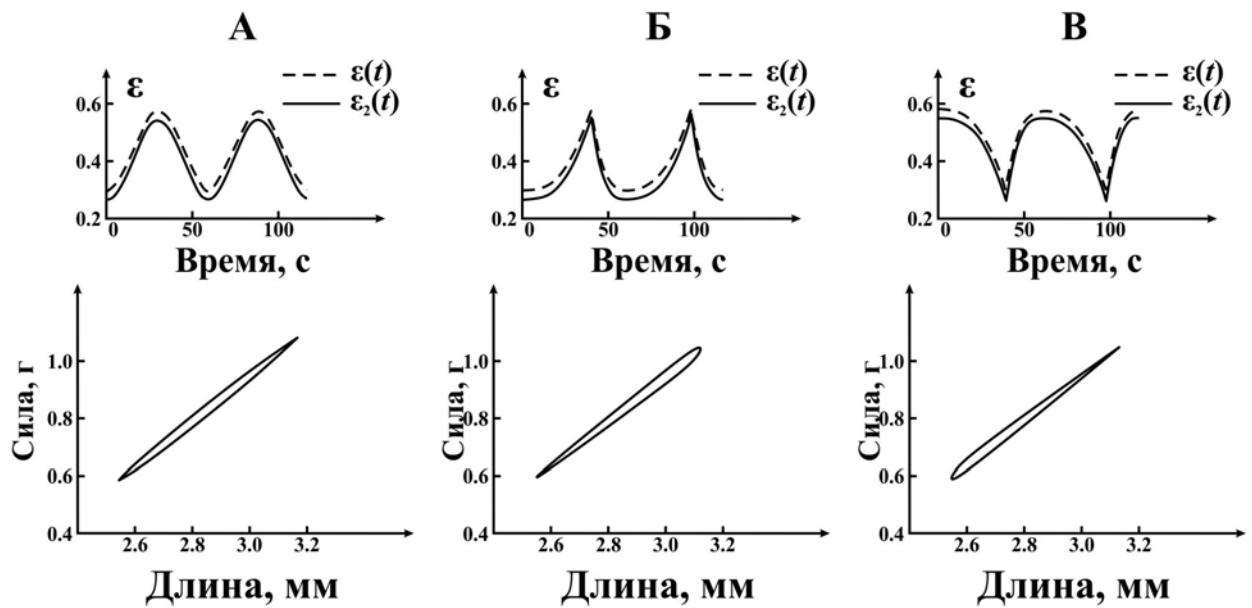


Рис. 4.22. Кривые гистерезиса, полученные в модели ромба с вязким продольным элементом  $\text{RLH}_2$  при синусоидальной (А) и кубической пилообразной (Б и В) нагрузке (внизу). Начальная продольная деформация 0.3, максимальная 0.6. Вверху приведены зависимости от времени для задаваемой и полной деформации. Значения параметров:  $l_0 = 2$  мм,  $l_{01} = 1.07$  мм,  $l_{03} = 1.25$  мм,  $K_1 = 1.0$  г/мм,  $K_2 = K_3 = 0.01$  г/мм,  $H_2 = 0.8$  сек г/мм (А),  $H_2 = 0.5$  сек г/мм (Б и В).

Кривые гистерезиса, полученные для моделей с поперечным вязким элементом во всем диапазоне деформаций, включающем нелинейную область, при определенных соотношениях параметров модели имеют асимметрию, связанную с тем, что мягкий поперечный элемент работает, в основном, при малых деформациях, а при достижении условий развертывания работает меньше. В соответствии с этим, кривая гистерезиса имеет расширение, обусловленное вязкостью, на начальном участке при малых деформациях (рис. 4.23А). Напротив, в моделях с вязким наклонным элементом расширение кривой гистерезиса больше происходит не при малых, а при значительных деформациях, когда начинает работать этот жесткий элемент (рис. 4.23Б). Аналогичный эффект наблюдается при переходе от моделей с поперечным вязким элементом к моделям с

наклонным вязким элементом и для пилообразной зависимости от времени задаваемой деформации.

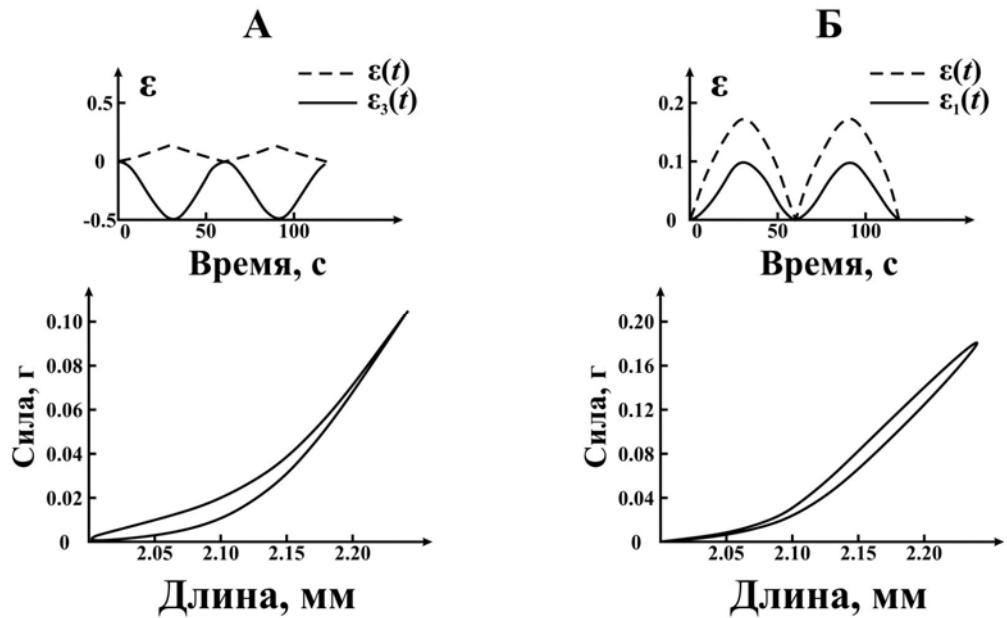


Рис. 4.23. Кривые гистерезиса при синусоидальной деформации вязкого поперечного элемента в модели RLH<sub>3</sub> (А) и вязкого наклонного элемента в модели RLH<sub>1</sub> (Б). Геометрические параметры и параметры жёсткости элементов указаны в подписи к рис. 4.22.

#### 4.2.5. Релаксация напряжения в моделях с блоком Кельвина

Согласно принципу минимального числа первичных элементов, введённых в целях имитации наблюдаемых реологических характеристик, здесь мы используем самые простые модели. Два вида постановки задачи будут использоваться в дальнейшем. Описание релаксации напряжения продуктивно, в основном, когда задаётся внешнее растяжение (или сжатие) ступенчатой или импульсной прямоугольной формы, и измеряется временной ход силы. С другой стороны, может быть рассчитан отклик ползучести и восстановления (полной продольной деформации) при внешней нагрузке импульсной формы, если задаётся внешняя сила и рассчитывается результирующая деформации.

В отличие от одномерных моделей, в рамках которых невозможно описать релаксацию напряжения при параллельном соединении упругого и вязкого элементов, и необходимо рассматривать последовательные комбинации (модель Максвелла и её обобщения, см. п.п. 4.1.2), двумерные модели обладают намного более широкими возможностями благодаря дополнительной степени свободы.

Рассмотрим, например, реакцию некоторых моделей ромбической геометрии, представленных на рисунке 4.24, на ступенчатое растяжение прямоугольной формы с линейным фронтом нарастания и спада деформации.

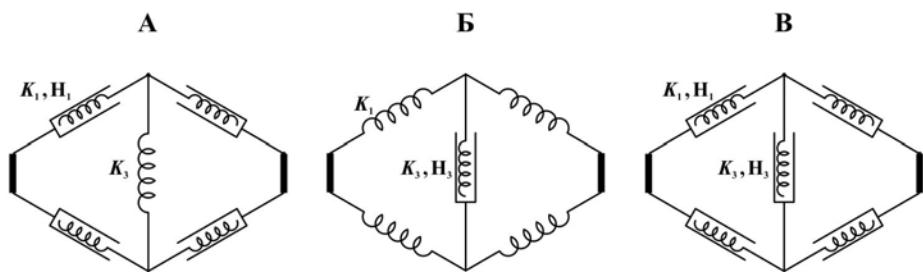


Рис. 4.24. Ромбические модели с блоками Кельвина в качестве наклонных  $RH_3K_1$  (А) и поперечных  $RH_1K_3$  (Б) элементов; «жёсткая» модель  $RH_3K_3$  (В).

При резком продольном растяжении, благодаря замороженности наклонных элементов в модели (А), резко уменьшится размер поперечной пружины ( $K_3$ ). Далее, при постоянной продольной деформации, увеличение поперечного размера к равновесному значению приведёт за время релаксации к постепенному растяжению наклонных блоков. При резком продольном сжатии, так же за счёт замороженности уже растянутых наклонных блоков, происходит резкое растяжение  $K_3$ , сопровождающееся (отрицательной) силой сопротивления сжатию. При постепенном сжатии поперечного элемента и соответствующем сжатии наклонных блоков достигается равновесный первоначальный размер всех элементов.

В модели (Б), наоборот, при резком продольном удлинении происходит растяжение наклонных пружин, сопровождающееся релаксационным уменьшением длины поперечного блока, и последующее резкое сжатие наклонных пружин при продольном сжатии. Результирующая кривая

релаксации напряжения при импульсной деформации в рассмотренных случаях (А) и (Б) очень сходна и качественно напоминает классическое релаксационное поведение модели Максвелла (рис. 4.4).

Таким образом, выход за рамки одномерного приближения позволяет описывать релаксацию напряжения в моделях с блоками Кельвина, наряду с традиционно применяемой для этой цели моделью Максвелла с последовательно соединёнными упругим и вязким элементами. Очевидно, что различные 2D комбинации блоков Кельвина и Максвелла ещё более расширяют возможности описания релаксационных процессов.

Естественно, что с одной стороны, модели, составленные из жёстких комбинаций блоков Кельвина, как например, модель  $RH_3K_3$  (рис. 4.24) не вполне пригодны для описания реакции на очень быструю внешнюю деформацию, и используются, преимущественно в другой постановке задачи, когда считается заданной внешняя нагрузка  $F(t)$  и вычисляется деформация. С другой стороны, модели, включающие последовательные демпферы, как например, на рисунке 4.25, не совсем удобны при расчёте деформаций, близких к статическим, и применяются, в основном, для описания релаксации напряжения, ползучести или крипа.

#### *4.2.6. Модели с двумя демпфирующими элементами*

Приведём некоторые двумерные модели ромбической и обобщённо-ромбической геометрии «параллелограмма», ориентированные, преимущественно на постановку задачи с заданием внешней продольной деформации (рис. 4.25). Благодаря наличию двух различных видов демпфирующих элементов с различными вязкими постоянными, эти модели удобны для описания такого нередко встречающегося в реологии живых мягких тканей свойства, как «неодноэкспоненциальная» релаксация. Такие же два типа демпферов использованы и в 1D модели **E-KV** (рис. 4.9), которая

также используется для описания двухэкспоненциальной релаксации. Сравнение результатов расчёта в этих моделях позволяет выявить преимущества 2D моделей [147], [8].

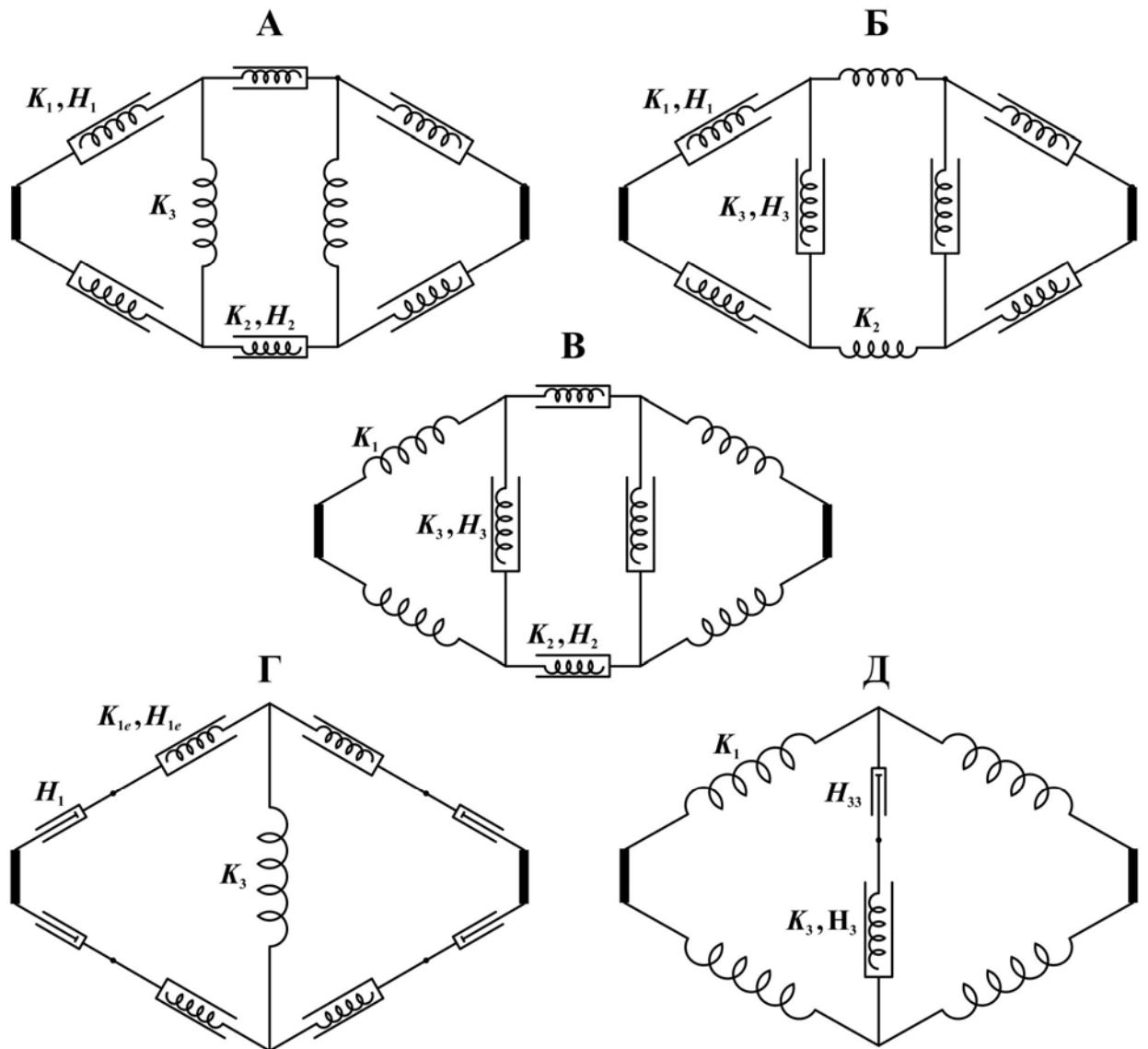


Рис. 4.25. Модели с двумя видами демпфирующих элементов, соединённых параллельно и последовательно упругим модулям.

#### 4.2.7. Базовые уравнения при задании продольной деформации

Простейшая 1D модель **KV\_E**, (рис. 4.11Б) состоящая из четырёх первичных элементов (две Гуковские пружины с коэффициентами жёсткости  $K_1, K_2$  и два Ньютоновских демпфера  $H_1, H_2$ ), может быть просчитана для результирующей силы  $F$ , действующей на правом и левом конце, при

задании общей внешней деформации растяжения  $\varepsilon(t)$ . Определяющей переменной в данном случае является деформация  $\varepsilon_2(t)$  демпфера  $H_2$ , которая подчиняется дифференциальному уравнению:

$$\dot{\varepsilon}_2 = -\frac{k_1}{\eta} \cdot \varepsilon_2 + \frac{k_1}{\eta} \cdot \frac{l_0}{l_{02}} \cdot \left( \varepsilon + \frac{\eta_1}{k_1} \cdot \dot{\varepsilon} \right) \quad (4.48)$$

где общая начальная длина  $l_0 = l_{01} + l_{02}$ , так что  $\varepsilon \cdot l_0 = \varepsilon_1 \cdot l_{01} + \varepsilon_2 \cdot l_{02}$ , и  $\eta = \eta_1 + l_{01}/l_{02} \cdot \eta_2$ . Здесь  $k_i = K_i l_{0i}$ ,  $\eta_i = H_i l_{0i}$ ,  $i = 1, 2$ . После решения (4.48) может быть найдена полная сила  $F = k_2 f$ , включающая упругую и вязкую компоненты:

$$f = \varepsilon + \frac{\eta_2}{k_2} \dot{\varepsilon}_2 \quad (4.49)$$

Ромбическая 2D модель **RH-K<sub>13</sub>** с блоками Кельвина **K<sub>1</sub>H<sub>1</sub>** и **K<sub>3</sub>H<sub>3</sub>**, представленная на рисунке 4.24В, приводит к следующей системе дифференциальных уравнений в случае, когда задана полная продольная деформация  $\varepsilon(t)$ :

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_1 = \dot{\varepsilon}_3 \cdot \frac{\lambda_3}{\lambda_1^2} \cdot \frac{\lambda_3(1 + \varepsilon_3) - \gamma}{1 + \varepsilon_1} + \dot{\varepsilon} \cdot \frac{1}{\lambda_1^2} \cdot \frac{1 + \varepsilon}{1 + \varepsilon_1} \\ \dot{\varepsilon}_3 = -\frac{k_2}{\eta_3} \cdot \frac{\varepsilon_3 / \kappa_3 + 2 \frac{\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma}{\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)} \cdot \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \frac{1 + \varepsilon}{\lambda_1^2 \cdot (1 + \varepsilon_1)} \cdot \dot{\varepsilon} \right)}{1 + \frac{\eta_1}{\eta_3} \cdot \frac{2 \lambda_3 \cdot (\lambda_3(1 + \varepsilon_3) - \gamma)^2}{\lambda_1^3 \cdot (1 + \varepsilon_1)^2}} \end{cases} \quad (4.50)$$

Здесь для  $k_i$  и  $\eta_i$ ,  $i = 1, 2, 3$  то же, и в (4.46),  $\lambda_1 = 2l_{01}/l_0$ ,  $\lambda_3 = l_{03}/l_0$ ,  $\kappa_i = k_2/k_i$ ,  $\gamma = h/l_0$ . Эта система уравнений для продольной ( $\varepsilon_1$ ) и поперечной ( $\varepsilon_3$ ) деформаций может быть решена и получена временная зависимость этих величин. Полная сила может быть определена согласно:

$$f = 2 \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) \frac{1 + \varepsilon}{\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)} \quad (4.51)$$

Другие 2D модели геометрии «параллелограмма» (рис. 4.25А, Б, В) **RH-K<sub>12</sub>**, **RH-K<sub>13</sub>**, **RH-K<sub>23</sub>** являются "гибкими" при скачках полной продольной

деформации. Заметим, что предыдущая модель не может подвергаться резким изменениям длины из-за того, что демпфер "заморожен" для бесконечного быстрого изменения деформации. Система дифференциальных уравнений модели **РН-К<sub>12</sub>** для наклонных и продольных деформаций имеет вид:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_1 = -\frac{k_2}{\eta_1} \left[ \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)}{\lambda_3 \kappa_3} \cdot \Psi_3 \right] \\ \dot{\varepsilon}_2 = -\frac{k_2}{\eta_2} \left[ \varepsilon_2 + \frac{1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)}{\lambda_3 \cdot \kappa_3} \cdot \Psi_3 \right] \end{cases} \quad (4.52)$$

где:

$$\Psi_3 = 1 - \frac{\lambda_3 - \gamma}{\sqrt{\lambda_1^2 \cdot (1 + \varepsilon_1)^2 - [1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)]^2}} \quad (4.53)$$

После решения (4.52) поперечная деформация может быть найдена из выражения:

$$\varepsilon_3 = -1 + \frac{\gamma + \sqrt{\lambda_1^2 \cdot (1 + \varepsilon_1)^2 - [1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)]^2}}{\lambda_3} \quad (4.54)$$

Результирующая сила даётся формулой:

$$f = \left( 2 \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + 2 \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) \frac{1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)}{\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)} \quad (4.55)$$

Нетрудно получить соответствующие системы уравнений для моделей **РН-К<sub>13</sub>** и **РН-К<sub>23</sub>**. Выпишем такую систему для **РН-К<sub>23</sub>**:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_2 = -\frac{k_2}{\eta_2} \left[ \varepsilon_2 + \frac{1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)}{\lambda_1 \cdot \kappa_1} \cdot \Psi_1 \right] \\ \dot{\varepsilon}_3 = -\frac{k_2}{\eta_3} \left[ \frac{\varepsilon_3}{\kappa_3} + \frac{\lambda_3 (1 + \varepsilon_3) - \gamma}{\lambda_1 \cdot \kappa_1} \cdot \Psi_1 \right] \end{cases} \quad (4.56)$$

где:

$$\Psi_1 = 1 - \frac{\lambda_1}{\sqrt{[1 + \varepsilon - \lambda_2 (1 + \varepsilon_2)]^2 + [\lambda_3 (1 + \varepsilon_3) - \gamma]^2}} \quad (4.57)$$

После решения (4.56) наклонная деформация может быть найдена из выражения:

$$\varepsilon_1 = -1 + \frac{\sqrt{[1 + \varepsilon - \lambda_2 \cdot (1 + \varepsilon_2)]^2 + [\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma]^2}}{\lambda_1} \quad (4.58)$$

Результирующая сила даётся формулой:

$$f = 2\varepsilon_2 + 2\frac{\eta_2}{k_2}\dot{\varepsilon}_2 \quad (4.59)$$

В двух последних моделях (рис. 4.25Г, Д) содержится блок с демпфером, соединённым последовательно с элементом Кельвина, в наклонном ( $H_{1v}$ ), или в поперечном ( $H_{3v}$ ) первичных элементах. Они похожи на трёхэлементные обобщённые блоки Максвелла, в которых обычно описывается ползучесть в твёрдых телах или течение жидкости. Выпишем уравнения для модели **RH-KV<sub>1</sub>** (рис. 4.25Г) в случае заданной полной продольной деформации. Основными переменными в данном случае являются деформация демпфера  $H_{1v}$  и деформация блока Кельвина  $H_{1e}K_{1e}$ :

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_{1v} = \frac{k_{1e}}{\eta_{1v}} \cdot \varepsilon_{1e} + \frac{\eta_{1e}}{\eta_{1v}} \cdot \dot{\varepsilon}_{1e} \\ \dot{\varepsilon}_{1e} = -\frac{k_2}{\eta_{1e}} \left[ \frac{\varepsilon_{1e}}{\kappa_{1e}} + \frac{\lambda_1}{2\lambda_3 \cdot \kappa_3} \left( 1 + \frac{1}{2}(\varepsilon_{1e} + \varepsilon_{1v}) \right) \cdot \Theta_3 \right] \end{cases} \quad (4.60)$$

где:

$$\Theta_3 = 1 - \frac{\lambda_3 - \gamma}{\sqrt{\lambda_1^2 \cdot \left[ 1 + \frac{1}{2}(\varepsilon_{1e} + \varepsilon_{1v}) \right]^2 - (1 + \varepsilon)^2}} \quad (4.61)$$

Результирующая сила вычисляется согласно выражению:

$$f = \frac{2\varepsilon_{1v} \cdot \eta_{1v}}{k_2} \frac{1 + \varepsilon}{\lambda_1 \cdot \left[ 1 + \frac{1}{2}(\varepsilon_{1e} + \varepsilon_{1v}) \right]} \quad (4.62)$$

#### 4.2.8. Базовые уравнения при задании продольной нагрузки

Теперь обратимся к обратной постановке задачи, когда задана внешняя продольная загрузка  $f(t)$  и в результате должна быть найдена продольная деформация  $\varepsilon(t)$ . Начнем с задачи для модели **KV\_E** (рис. 4.11Б), только что решённой в прямой постановке. Тогда система дифференциальных уравнений сводится к:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_2 = \frac{k_2}{\eta_2} [f(t) - \varepsilon] \\ \dot{\varepsilon} = -\left( \frac{\eta}{\eta_1} \cdot \frac{l_{02}}{l_0} \cdot \frac{k_2}{\eta_2} + \frac{k_1}{\eta_1} \right) \cdot \varepsilon + \frac{l_{02}}{l_0} \cdot \frac{k_1}{\eta_1} \cdot \varepsilon_2 + \frac{\eta}{\eta_1} \cdot \frac{l_{02}}{l_0} \cdot \frac{k_2}{\eta_2} \cdot f(t) \end{cases} \quad (4.63)$$

В «ромбической» модели **RH-K13** с вязкими блоками Кельвина **K1H1** и **K3H3** в наклонных и поперечных элементах (рис. 4.25А), в качестве управляющих справедливы следующие уравнения:

$$\begin{cases} \dot{\varepsilon}_1 = -\frac{k_2}{\eta_1 \cdot \kappa_1} \cdot \varepsilon_1 + \frac{k_2}{2\eta_1} \cdot \frac{f(t)}{\sqrt{1 - \left[ \frac{\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma}{\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)} \right]^2}} \\ \dot{\varepsilon}_3 = -\frac{k_2}{\eta_3 \cdot \kappa_3} \cdot \varepsilon_3 - \frac{k_2}{\eta_3} \cdot \frac{[\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma] f(t)}{\sqrt{[\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)]^2 - [\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma]^2}} \end{cases} \quad (4.64)$$

Результирующая полная продольная деформация есть:

$$\varepsilon = -1 + \sqrt{[\lambda_1 \cdot (1 + \varepsilon_1)]^2 - [\lambda_3 \cdot (1 + \varepsilon_3) - \gamma]^2} \quad (4.65)$$

Наконец, в ромбической модели с последовательно соединёнными вязким демпфером и блоком Кельвина в качестве поперечного элемента **RH-KV3** (рис. 4.25Д) в случае с заданной внешней нагрузкой  $f(t)$  система из трёх дифференциальных уравнений для деформации поперечного вязкого  $\varepsilon_{3v}$ , поперечного упругого  $\varepsilon_{3e}$  и наклонного упругого  $\varepsilon_1$  элементов выглядит следующим образом:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{\varepsilon}_{3v} = -\frac{2k_2 \cdot \lambda_3}{\lambda_1 \cdot \kappa_1 \cdot \eta_{3v}} \cdot (1 + \varepsilon_3) \cdot \frac{\varepsilon_1}{1 + \varepsilon_1} \\ \dot{\varepsilon}_{3e} = -\frac{2k_2 \cdot \lambda_3}{\lambda_1 \cdot \kappa_1 \cdot \eta_{3e}} \cdot (1 + \varepsilon_3) \cdot \frac{\varepsilon_1}{1 + \varepsilon_1} - \frac{k_{3e}}{\eta_{3e}} \cdot \varepsilon_{3e} \\ \dot{\varepsilon}_1 = \frac{\lambda_3^2 \cdot (1 + \varepsilon_3) \cdot \left[ \frac{k_2 \cdot \lambda_3}{\eta_3 \cdot \kappa_1} \cdot (1 + \varepsilon_3) \cdot \frac{\varepsilon_1}{1 + \varepsilon_1} - \frac{k_{3e}}{2\eta_{3e}} \cdot \varepsilon_{3e} \right]}{\lambda_1^2 \cdot (1 + \varepsilon_1) \cdot \left[ 1 - \frac{\kappa_1^2}{4} \cdot \frac{f(t)^2}{\varepsilon_1^3} \right]} - \\ - \frac{\left( \frac{\kappa_1 \cdot \lambda_1}{2} \right)^2 \left( \frac{1 + \varepsilon_1}{\varepsilon_1} \right)^2 \cdot f(t) \cdot \dot{f}(t)}{\lambda_1^2 \cdot (1 + \varepsilon_1) \cdot \left[ 1 - \frac{\kappa_1^2}{4} \cdot \frac{f(t)^2}{\varepsilon_1^3} \right]} \end{array} \right. \quad (4.66)$$

где выражение (4.65) справедливо для результирующей деформации и учтено, что:

$$\varepsilon_3 = \frac{1}{2}(\varepsilon_{3e} + \varepsilon_{3v}) \quad (4.67)$$

#### 4.2.9. Кривые релаксации деформации

При исследовании релаксации деформации считается заданной зависимость от времени внешней нагрузки  $F(t)$  в виде периодической или ступенчатой функции. Скорости деформации первичных элементов  $\dot{\varepsilon}_1$ ,  $\dot{\varepsilon}_2$ ,  $\dot{\varepsilon}_3$ , а также сами деформации  $\varepsilon_1$ ,  $\varepsilon_2$  и  $\varepsilon_3$  определяются при решении системы нелинейных дифференциальных уравнений первого порядка с нулевыми начальными условиями. В конце этого раздела будут рассмотрены полученные решения, которые описывают релаксацию деформации различных элементов и структуры в целом в форме переходных процессов с выходом на квазистационарный предел. Приведём систему уравнений для модели ромба без продольного элемента (рис. 4.24В) при  $h = 0$ .

$$\begin{cases} 2\sin\alpha \cdot \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) + \frac{\varepsilon_3}{\kappa_3} + \frac{\eta_3}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_3 = 0 \\ 2\cos\alpha \cdot \left( \frac{\varepsilon_1}{\kappa_1} + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) = f \end{cases} \quad (4.68)$$

Как обычно, преобразуем систему (4.68) к виду, удобному для стандартных методов решения систем нелинейных дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 = -\frac{1}{\kappa_1} \cdot \varepsilon_1 + \frac{1}{2} \Psi_1(\varepsilon_1, \varepsilon_3) \cdot f(t) \\ \frac{\eta_3}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_3 = -\frac{1}{\kappa_3} \cdot \varepsilon_3 + \frac{1}{2} \Psi_3(\varepsilon_1, \varepsilon_3) \cdot f(t) \end{cases} \quad (4.69)$$

$$\text{где } \Psi_1 = \left[ 1 - \left( \frac{y_3 - \gamma}{y_1} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \text{ и } \Psi_3 = -2 \cdot \left[ 1 - \left( \frac{y_1}{y_3 - \gamma} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}.$$

Для модели ромба с продольным элементом при  $h = 0$  получим систему трёх нелинейных дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} 2 \left( \frac{1}{\kappa_1} \cdot \varepsilon_1 + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) \Psi_1^{-1} + \varepsilon_2 + \frac{\eta_2}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_2 = f(t) \\ \frac{1}{\kappa_3} \cdot \varepsilon_3 + \frac{\eta_3}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_3 + 2 \left( \frac{1}{\kappa_1} \cdot \varepsilon_1 + \frac{\eta_1}{k_2} \cdot \dot{\varepsilon}_1 \right) \cdot \frac{y_3}{y_1} = 0 \\ \dot{\varepsilon}_2 (1 + \varepsilon_2) = \dot{\varepsilon}_1 \cdot \lambda_1 \cdot y_1 - \dot{\varepsilon}_3 \cdot \lambda_3 \cdot y_3 \end{cases} \quad (4.70)$$

Последнее уравнение получено дифференцированием соотношения для полной деформации при  $\gamma = 0$ .

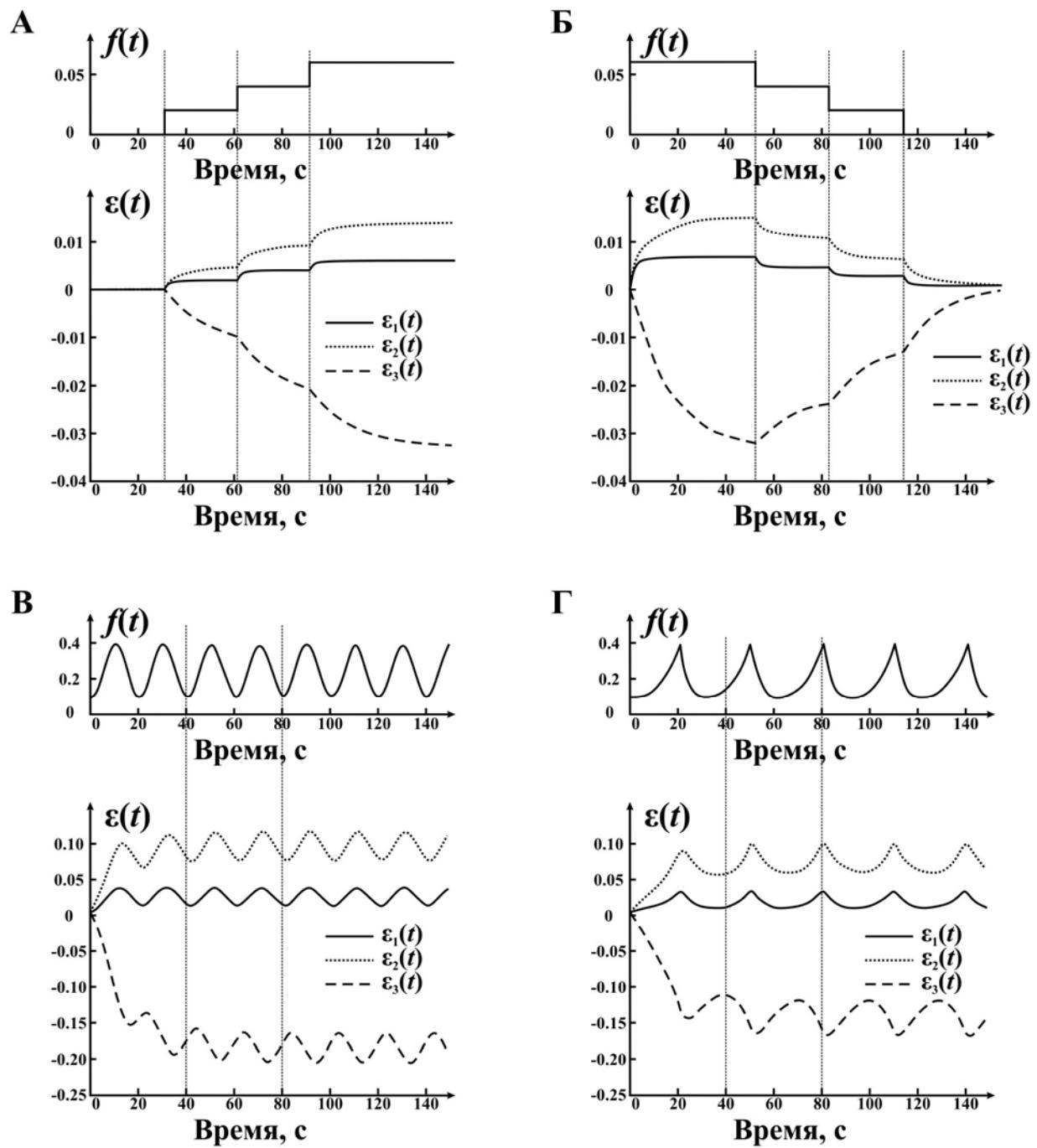


Рис. 4.26. Кривые релаксации деформации различных элементов модели **RLH<sub>13</sub>**. Геометрические параметры и параметры жёсткости элементов указаны в подписи к рисунку 4.23,  $H_1 = 1.0$  сек г/мм  $H_3 = 0.01$  сек г/мм. Ступенчатая восходящая (А), нисходящая (Б), синусоидальная (В) и пилообразная (Г) зависимости от времени задаваемой нагрузки  $f(t)$ .

На рисунке 4.26 (А, Б) представлены кривые релаксации деформации наклонного, продольного и поперечного элементов в ромбической модели

при заданной внешней силовой ступенчатой нагрузке (возрастающей и убывающей), полученные при решении системы управляющих уравнений (4.70) при нулевых начальных условиях [7]. Нетрудно заметить, что времена релаксации первичных упругих элементов пропорциональны соответствующим коэффициентам вязкости, и в течение периода действия нагрузки релаксация менее вязких элементов практически заканчивается, тогда как более вязких - не успевает. Это отчетливо видно при синусоидальной и пилообразной внешней нагрузке (рис. 4.26 (В, Г)).

Сравнение с экспериментом в этом случае не было проведено, поскольку имеющиеся опытные данные относятся к релаксации напряжения при ступенчато изменяемой продольной деформации образца. Помимо рассмотрения вопроса об ударной жёсткости, который возникает при анализе резких скачков деформации, исследование релаксации напряжения требует, на наш взгляд, перехода к моделям с включением демпфера последовательно упругим элементам и составит предмет изложения в последующих разделах.

#### 4.2.10. Эволюция петли гистерезиса

Петля гистерезиса «сила – длина» в ряде экспериментов, проведённых на образцах биологических тканей, демонстрирует эволюционные изменения во времени при периодической нагрузке. Чаще всего наблюдается эволюция петли гистерезиса, выражаясь в уменьшении её ширины и наклона по мере прохождения циклов «растяжение – сокращение» и в заметном уменьшении её нелинейности. Приведём результаты моделирования, воспроизводящие отмеченные нелинейные явления.

Рассмотрим эволюцию петли гистерезиса при периодической гармонической нагрузке в ромбических моделях с последовательно включенным демпфером  $RHKV_1$  и  $RHKV_3$  (соответственно, рис. 4.25Г, Д). На рисунке 4.27 представлены результаты расчёта в этих моделях, которые

имитируют два различных эффекта «размягчения» (А) и «ужесточения» (Б) петли гистерезиса, нередко наблюдаемые в живых мягких тканях [148].

Задано синусоидальное продольное растяжение  $\varepsilon(t) = -0.03 + 0.2\sin(\omega t)$ . Ширина гистерезиса определяется в модели **RHKV<sub>1</sub>** параметром вязкости  $H_{1e}$ , а время релаксации напряжения определяется  $H_{1v}$ . Видно, что по мере продольного растяжения, вследствие эффекта развертывания происходит, с одной стороны, сужение петли гистерезиса, а с другой стороны, выполнование её общего наклона. Отметим, что характерная нелинейная «бананообразная» форма кривой гистерезиса с расширением при больших растяжениях остается во всем диапазоне деформаций.

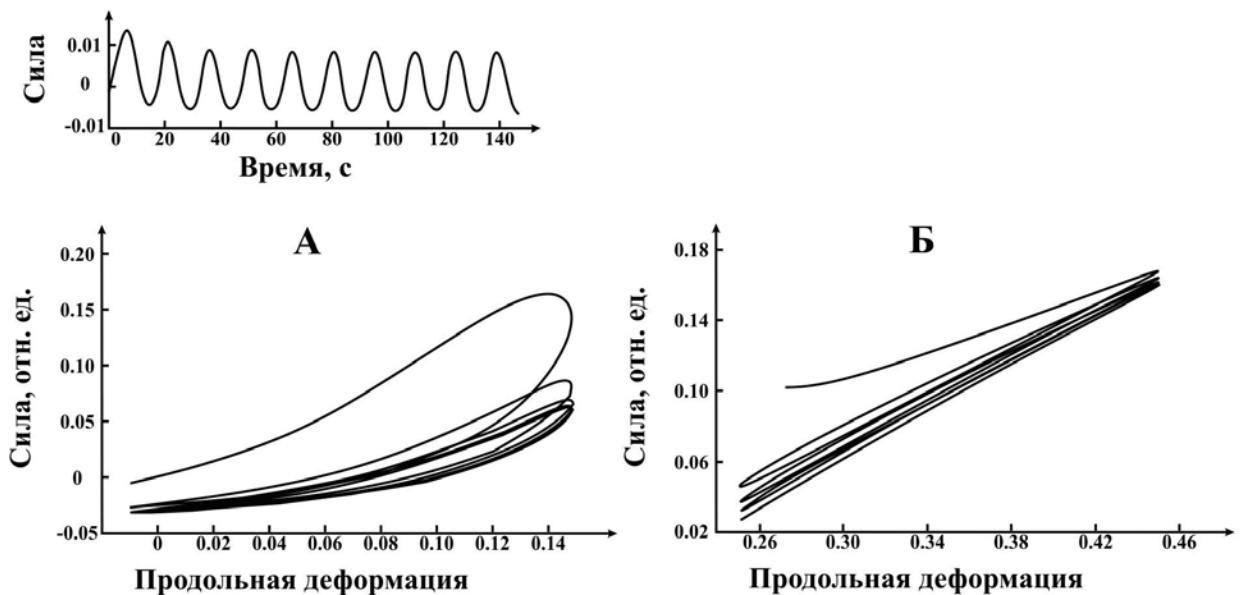


Рис. 4.27. Эволюционные изменения положения и формы петли гистерезиса в моделях **RHKV<sub>1</sub>** и **RHKV<sub>3</sub>**.

Мы не будем здесь приводить конструкции моделей, позволяющих воспроизводить целый комплекс особенностей эволюции петель гистерезиса, который наблюдается в экспериментах на образцах биологических тканей, подвергнутых внешним воздействиям и в условиях различных патологий. Отметим среди них постепенное «выполаживание» или, наоборот,

«ужесточение» кривой, её уширение или сжатие со временем и эволюционное изменение формы.

#### 4.2.11. Простейшие объёмные модели

Реальные образцы биологических тканей и препараты папиллярной мышцы имеют трёхмерную структуру и внешнюю форму. 2D моделирование реальных объектов подразумевает воспроизведение существенных базовых характеристик их вязкоупругого поведения в рамках двумерных структур, многие из которых рассмотрены в ходе изложения нашего подхода. Для более наглядного представления геометрических особенностей 2D моделей вполне логично перейти к их объёмным обобщениям с помощью простейшего приема – получения тел вращения при их поворотах вокруг продольной оси (рис. 4.28).

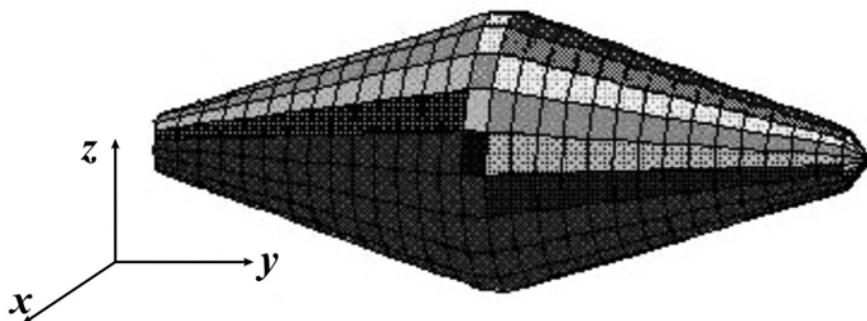


Рис. 4.28. Объёмное обобщение модели ромбической геометрии.

### 4.3. ВЕРИФИКАЦИЯ ДВУМЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ

#### 4.3.1. Статические зависимости «сила-длина» для папиллярных мышц

Было проведено сравнение результатов моделирования с экспериментальными данными на папиллярных мышцах правого желудочка кроликов [5]. Были отобраны три типа образцов, которые отличались по уровню физиологической жёсткости  $F_{\text{pas}}/F_{\text{act}}$ , т.е. отношения напряжения в

пассивном состоянии к максимально активному напряжению в изометрическом режиме при той же длине. Препарат называют "мягким", если это отношение меньше, чем 0.3, что косвенно подтверждает отсутствие контрактуры в препарате. Экспериментальные данные для всех образцов отражают нелинейный характер зависимости стационарного напряжения от длины образца в физиологическом диапазоне деформаций. Начальные участки кривой напряжение-деформация характеризуются более слабой «локальной» жёсткостью, тогда как при увеличении деформации значения локальной жёсткости возрастают. В таблице 4.1 приведены значения локальных модулей упругости  $E_{sta}$  и  $E_{fin}$ . Изменением величин трёх типов параметров можно управлять формой кривой «напряжение – деформация». Значения жёсткости поперечных и перекрещенных элементов отвечают за наклон начальной части кривой. Соотношение геометрических параметров отвечает за положение точки смены одного режима деформации на другой. И наконец, жёсткость наклонных элементов отвечает за наклон конечной части кривой «напряжение – деформация». Кроме того, оказывается, что сравнение результатов в разных моделях по-разному чувствительно к изменениям параметров моделей.

Таблица 4.1

**Исходные параметры препаратов**

№ препарата	1	2	3	4
$F_{pas}/F_{act}$	2.49	0.77	0.67	0.22
$h$ , мм	0.9	0.7	0.7	0.7
$l_o$ , мм	3.25	6.5	6.5	3.5
$l_{max}$ , мм	3.94	7.37	7.37	4.72
$K_{sta}$ , г/мм ( $E_{sta}$ , кПа)	0.48 (24.5)	0.21 (35.5)	0.19 (32)	0.1 (9)
$K_{fin}$ , г/мм ( $E_{fin}$ , кПа)	1.78 (91)	3.03 (512)	2.64 (446)	0.64 (58)

В качестве реперного набора используем данные эксперимента 3, по отношению к которым проанализируем упругие свойства различных моделей. Рисунок 4.29 представляет кривые «напряжение – деформация», полученные

в моделях, в которых есть комбинации поперечных, перекрещенных, продольных и наклонных элементов с определёнными значениями коэффициентов жёсткости. Все эти модели с трудом могут приблизённо воспроизвести экспериментальные данные (обозначенные кружочками), несмотря на попытки оптимизации подгоночных параметров. Модели с более реалистичным описанием особенностей экспериментальных зависимостей представлены справа (рис. 4.29Б). Это в основном модели "ромбический" геометрии (случае, если мы отвлечемся от конечности параметра  $h$ ), в которых определяющими являются наклонные и поперечные элементы.

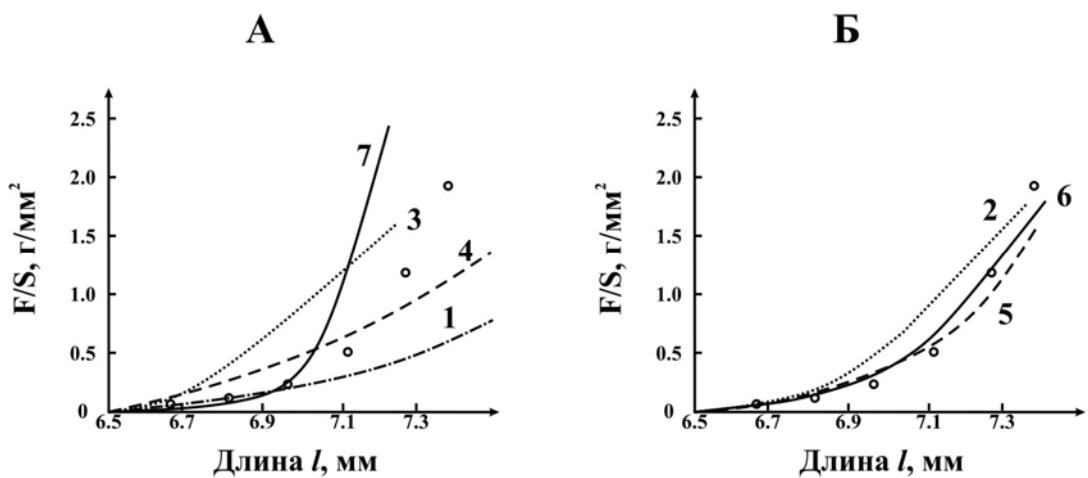


Рис. 4.29. Кривые «напряжение – деформация» для моделей, обозначенных цифрами (см. рис. 4.19), в сравнении с экспериментальными данными (кружки) препарата с номером (3).

В дальнейшем будем использовать модели 6 и 7, которые существенно отличаются друг от друга по топологии (в расположении продольных элементов) и функционально, для обработки экспериментальных данных. Эти модели являются наиболее пригодными, на наш взгляд, для описания различных экспериментальных кривых из-за их "гибкости" и чувствительности к изменениям параметров.

Основные геометрические параметры модели, такие, как например, длина поперечных элементов  $l_3$ , длина наклонных элементов  $l_1$ , и соответствующие деформации представлены в таблице 4.1. Поперечные

размеры муфты  $h$  и общая исходная длина  $l_0$  предполагаются совпадающими с экспериментальными данными (см. табл. 4.2). Заметим, что, несмотря на малое значение максимальной продольной деформации  $\varepsilon_{\max}$ , лежащей в диапазоне физиологических ограничений, значения поперечных деформаций довольно высоки.

Таблица 4.2

**Значения параметров для двух моделей,  
полученные при сравнении с экспериментом**

№ образца	1		2		3		4	
№ модели	6	7	6	7	6	7	6	7
$l_3$ , мм	2.4	2.4	3.8	3.8	3.4	3.4	4.0	3.7
$\varepsilon_{3\max}$	-0,33	-0,48	-0,65	-0,7	-0,65	-0,68	-0,45	-0,55
$\varepsilon_{\max}$	0,221	0,244	0,137	0,138	0,145	0,135	0,357	0,363
$l_1$ , мм	1.79	1.79	3.6	3.6	3.52	3.52	2.4	2.3
$K_1$ , г/мм	2	1.6	4,1	4.3	2.4	2.5	2.1	1.2
$K_2$ , г/мм	-	0.4	-	0.06	-	0.06	-	0.04
$K_3$ , г/мм	0,2	0.05	0.03	0.02	0.03	0.02	0.06	0.03
$E_1$ , г/мм <sup>2</sup>	140	110	145	152	87	90	110	66
$E_2$ , г/мм <sup>2</sup>	-	16	-	1.2	-	1.2	-	1.4
$E_3$ , г/мм <sup>2</sup>	11	2.7	1	0.7	1.1	0.7	1.9	1

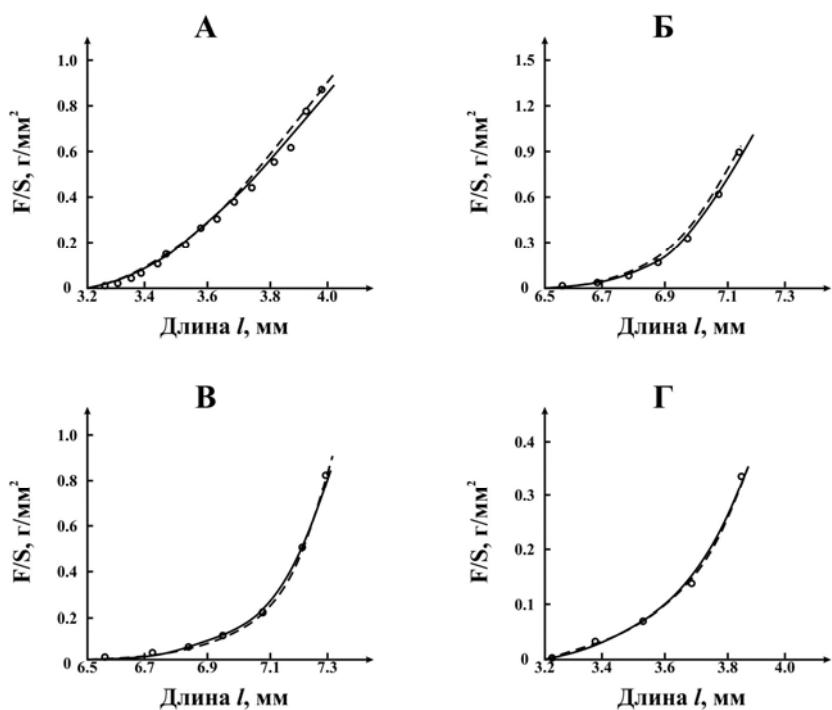


Рис. 4.30. Результаты подбора наилучших значений параметров в моделях 6 (штриховая линия) и 7 (сплошная линия) при сопоставлении с данными эксперимента на препаратах 1-4 (А-Г)

Общее согласие между теоретическими кривыми и экспериментальными данными очень хорошее, как видно из рисунка 4.30, как для модели 6, так и для модели 7, с незначительным преимуществом в пользу второй. Диапазон значений начальной длины, полной деформации и различий в наклонах кривых достаточно велик, чтобы сделать вывод об адекватности моделей. Значения всех параметров, полученные путём подгоночной процедуры, являются достоверными с точки зрения чувствительности кривой к изменениям в последней значащей цифре параметров. Отметим, что значения параметров жёсткости ( $K_1$ ,  $K_2$  и  $K_3$ ) первичных элементов отличаются более чем на порядок величины. Соответствующие значения модулей Юнга ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ ) рассчитываются в предположении, что поперечные размеры элемента составляет 0.1 его длины.

Нелинейный характер статической кривой «напряжение – деформация» в диапазоне физиологических деформаций и эффект увеличения жёсткости при деформации имеют достаточно высокую степень общности для всех мягких живых тканей и, в частности, для миокарда. Наш подход к моделированию имеет целью продемонстрировать, что геометрический фактор может сыграть существенную роль в его понимании.

Зависимость «сила - длина» (или «давление-объём»), измеренные в систолу и в диастолу, в области физиологических деформаций, являются определяющими характеристиками при оценке сократимости миокарда. Первичные белковые элементы структуры мышечной ткани, такие как нити миозина, актина и тайтина, входящие в состав саркомера, нити коллагена, составляющие каркас соединительной ткани и пр. в механическом отношении с достаточной степенью точности можно считать Гуковскими элементами, в которых пассивная сила линейно зависит от удлинения. Известно, что морфологическое строение как кардиомиоцитов, так и соединительного каркаса представляет собой достаточно сложную топологическую структуру. По всей видимости, именно этим можно

объяснить упругую нелинейность, как отдельных тканей миокарда, так и сердца в целом. До настоящего времени отсутствовала функциональная реологическая модель, описывающая опытные зависимости напряжение-деформация во всем диапазоне деформаций. Существующие модели являются либо простейшими одномерными комбинациями упругого и вязкого элементов, либо применяются для оценки упругих постоянных в заведомо линейной области и не описывают нелинейных особенностей.

В последнее время, как уже отмечалось, во многих работах сообщается, что внутриклеточный белок тайтин даёт ведущий вклад в пассивное напряжение миокарда. В нашем подходе продольные элементы  $l_2$  можно рассматривать как модель тайтина в качестве связывающего белка. Это тем более так, что как было показано, некоторые домены тайтина можно представлять как Гуковские элементы. Альтернативные результаты основаны на предположении о том, что зависимость «напряжение – деформация» на уровне отдельных нитей тайтина является нелинейной. Морфологические данные отсутствуют, и вполне естественно полагать, что в образцах изолированного миокарда важно отсутствие последовательно связанных цепочек кардиомиоцитов «торец-торец». Нельзя исключать вклад в генерацию пассивного напряжения соединительно-тканых структур миокарда, т.к. они выполняют функцию каркаса, хотя они представлены порядка 20% от всех элементов. В разделе о выделении вкладов внутриклеточных и межклеточных структур мы более подробно остановимся на роли тайтина.

Значения упругих модулей "мягких" и "жёстких" элементов, определённые при сравнении экспериментальных данных и теоретических параметров модели не совпадают со значениями "локальных" упругих модулей, полученных как наклон экспериментальных кривых "напряжение - деформация". Последние зависят от геометрии модели. Достаточно хорошее согласие наблюдается между диапазоном полученных значений упругих

модулей и табличными данными для некоторых материалов (резина  $E = 150$  г/мм<sup>2</sup>, эластин  $E = 60$  г/мм<sup>2</sup>) и данными других исследователей ( $K = 8.7$  г/мм для коэффициента поперечной жёсткости при двухосных растяжениях стенки сердца собаки). Это позволяет рассматривать первичные элементы модели материала как некоторые белки соединительной ткани миокарда.

Размеры поперечных (и перекрестных) элементов, которые должны быть использованы в той или другой модели для успешного сравнения теории и эксперимента, как оказалось, не намного меньше, чем общая длина образца. Это верно и для реальных препаратов: отношение поперечного сечения и общей длины составляет 0.3 при начальных условиях. Поперечные деформации в моделях, удовлетворительно описывающих экспериментальные данные, в некоторых случаях больше, чем продольные, особенно на начальных этапах. Это свидетельствует о том, что нельзя рассматривать предложенные структуры как сплошные твёрдые тела (коэффициент Пуассона  $\mu_p$  может оказаться  $> 1$ ), а также подчеркивает роль неоднородности, т.е. различия упругих свойств составных элементов в различных сечениях. Очевидно, в этой связи, что 3D моделирование, которое использует покрытие поверхностей вращения сеткой элементов, позволяет избежать этих трудностей.

Таким образом, в статическом случае ткань под действием одноосных деформаций может быть представлена тремя типами рабочих первичных упругих гуковских элементов, а именно: продольных, наклонных (или перекрещенных), и поперечных. Иными словами, причина повышения общей жёсткости состоит в том, что «мягкие» элементы работают преимущественно при малых деформациях, в то время как «жёсткие» элементы работают, когда наклонные элементы имеют почти продольное направление после развертывания. Это приводит к «дважды-асимптотическому» виду кривой напряжение-деформация модели. Чтобы добиться этого, коэффициенты

жёсткости наклонных элементов должны быть на два порядка больше, чем поперечных, оставаясь постоянными при деформации.

#### *4.3.2. Вязкоупругий гистерезис на папиллярных мышцах*

В натуральных экспериментах [7] перемещения концов препарата были заданы как пилообразные функции времени. Это связано с возможностью более простого анализа нелинейных объектов в случае с линейным по времени увеличением и уменьшением деформации. Продольные неоднородности реологических свойств были исследованы с помощью маркеров. Тем не менее, оказалось, что на практике не могут быть определены локальные структуры, ответственные за то или иное поведение реологических характеристик препарата. Однородность деформации вдоль всей длины препарата не была подтверждена.

В численных экспериментах однородная деформация одного из первичных элементов модели была задана в виде периодической функции пилообразной или синусоидальной формы. При этом форма результирующей общей продольной деформации была существенно различной, и, возможно, отражала в той или иной мере практически линейный вид задаваемой на натурном эксперименте полной деформации. Кроме того, различный вид нелинейности деформации синусоидальной, квадратичной и кубической формы задавался в численных экспериментах. Это было сделано с учётом возможного превращения линейных перемещений концов препарата в неоднородные продольные локальные деформации. Неоднородности продольной деформации могут быть изучены в обобщённых моделях **PLH** (рис. 4.25A-B), в которых продольная деформация центральных элементов отличается от деформации структур вблизи закреплённых концов.

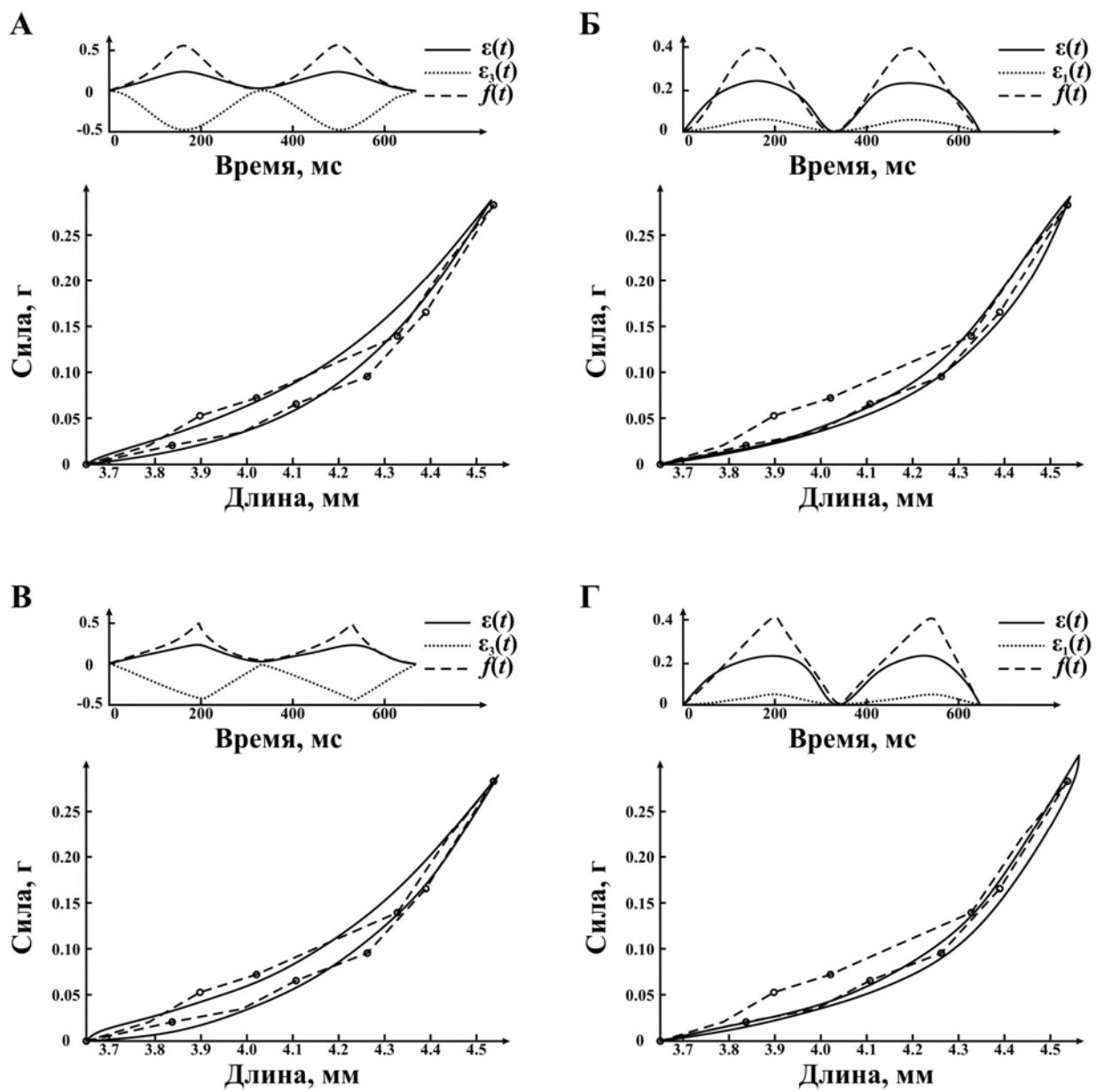


Рис. 4.31. Сопоставление кривых гистерезиса, полученных в различных моделях, с данными эксперимента. Значения геометрических параметров одинаковы во всех моделях:  $l_{01} = 2.157$  мм,  $l_{02} = 3.65$  мм,  $l_{03} = 3.2$  мм,  $h = 0.9$  мм. Синусоидальная нагрузка: (А) модель с вязким поперечным элементом **RLH<sub>3</sub>** при  $K_1 = 0.95$  г/мм,  $K_2 = K_3 = 0.027$  г/мм,  $H_3 = 0.5$  сек г/мм,  $\varepsilon_{3\max} = -0.5$ ,  $\varepsilon_{\max} = 0.243$ . (Б) модель с вязким наклонным элементом **RLH<sub>1</sub>** при  $K_1 = 1.05$  г/мм,  $K_2 = K_3 = 0.02$  г/мм,  $H_1 = 5$  сек·г/мм,  $\varepsilon_{1\max} = 0.06$ ,  $\varepsilon_{\max} = 0.243$ . Пилообразная нагрузка: (Б) **RLH<sub>3</sub>** при  $K_1 = 0.85$  г/мм,  $K_2 = K_3 = 0.03$  г/мм,  $H_3 = 0.8$  сек·г/мм,  $\varepsilon_{3\max} = -0.455$ ,  $\varepsilon_{\max} = 0.237$ , (Г) **RLH<sub>3</sub>** при  $K_1 = 0.85$  г/мм,  $K_2 = K_3 = 0.03$  г/мм,  $H_3 = 0.8$  сек·г/мм,  $\varepsilon_{1\max} = 0.06$ ,  $\varepsilon_{\max} = 0.243$ .

Кривая гистерезиса, полученная в ромбической модели с продольным элементом и муфтой  $RLH_3$ , при учёте вязкости мягкого поперечного элемента для синусоидальной задаваемой деформации, достаточно хорошо в целом описывает эксперимент, (рис. 4.31А), хотя имеются отклонения при малых и при максимальных деформациях. Теоретическая кривая в модели с вязким жёстким наклонным элементом  $RLH_1$  (рис. 4.31Б) хорошо описывает максимальные деформации, но не работает при малых деформациях. На рисунке 4.31 (В, Г) представлены соответствующие экспериментальные и модельные кривые гистерезиса для задаваемой деформации кусочно-линейной формы.

Следует обратить внимание, что значения параметров жёсткости и вязкости, полученные в результате подгонки, несколько изменяются при изменении формы зависимости от времени задаваемой деформации элемента. Для более детального сравнения нужны численные эксперименты при разной крутизне (скорости изменения) пилообразной нагрузки и при различных начальных длинах препарата при одной и той же скорости изменения деформации в условиях нелинейности стационарной кривой «сила-длина».

Для представленного эксперимента характерна нерегулярная форма опытной кривой гистерезиса. В этом случае результаты моделирования при задаваемой деформации синусоидального вида (рис. 4.31А, Б) по средним квадратичным отклонениям хуже, чем при использовании пилообразной формы кривой (рис. 4.31В, Г). Однако и в этом случае согласие экспериментальных данных с теоретическими кривыми наблюдается либо при малых, либо при максимальных деформациях.

Для оценки величины упругих и вязких параметров предположили, что отношение поперечника первичного элемента к его длине равно 0.2. При этом для поперечного элемента с длиной 2.8 мм и коэффициентом упругости  $K_3 = 0.02$  г/мм получим значение модуля Юнга  $E_3 = 0.23$  г/мм<sup>2</sup> = 2.2 кН/м<sup>2</sup>. Аналогично для наклонного элемента с длиной 2.28 мм и коэффициентом

упругости  $K_1 = 0.9 \text{ г/мм}$ , получим  $E_1 = 12.6 \text{ г/мм}^2 = 123 \text{ кН/м}^2$ . Предполагая, что площадь боковой поверхности элемента представляет рабочую поверхность возникновения ньютоновской вязкости, при значении параметра вязкости  $H_1 = 16 \text{ сек}\cdot\text{г/мм}$ , получим для коэффициента вязкости  $\eta_1 = 11 \text{ сек}\cdot\text{кН/м}^2$  и, соответственно, для  $H_3 = 1.5 \text{ сек}\cdot\text{г/мм}$   $\eta_3 = 0.8 \text{ сек}\cdot\text{кН/м}^2$ . Для сравнения приведём значения модуля Юнга эластина  $600 \text{ кН/м}^2$ , и коэффициента вязкости вазелина  $0.5 \text{ сек}\cdot\text{кН/м}^2$ .

Полученные в результате математического моделирования кривые гистерезиса соответствуют статической кривой «сила-длина» с учётом её нелинейности в определенных условиях. Таким образом, представлено объяснение нелинейной формы петли гистерезиса, наблюданной на эксперименте без дополнительных предположений об экспоненциальной зависимости напряжения от деформации.

Раздвижка ветвей в широкой части петли гистерезиса соответствует значению коэффициента вязкости элемента, который даёт основной вклад в заданном диапазоне деформаций. Кривая гистерезиса имеет асимметричную форму и может иметь широкий участок либо в диапазоне малой, либо максимальной деформации, в случае, если значения упругих и вязких параметров этих первичных элементов достаточно различаются. Указанное различие в значениях параметра должны быть в сотни раз для упругих и десятки - для вязких параметров. Для описания нелинейной формы кривой гистерезиса нет необходимости использовать, как это обычно делается, предположения о зависимости упругих и вязких параметров от длины препарата.

Интересно, что с помощью параметров, описывающих упругость и вязкость элементов, существует возможность изменять форму петли гистерезиса. Так как эти параметры могут быть оценены путём сопоставления теоретических кривых с экспериментальными данными, можно выявить соотношения этих параметров, которые характерны для той

или иной реальной мышечной структуры, и предсказать их вариации в разных условиях, основываясь на форме петли гистерезиса.

Неполное соответствие экспериментальных и теоретических данных по форме петли гистерезиса во всем диапазоне деформаций предполагает необходимость введения демпферов в поперечные и наклонные элементы структуры одновременно, а также и в последовательном их соединении. Если предположить, что физическим источником вязкости является фильтрация жидкости, то на основании этого вывода можно сделать предположение о присутствии механизмов фильтрации в миокарде как через мембрану (поперечные элементы), так и межклеточной жидкости (наклонные элементы).

Учёт вязкости происходит за счёт добавления демпферов, присоединённых последовательно или параллельно к некоторым из первичных упругих элементов. Петли гистерезиса получены путём математического моделирования в соответствии со статической кривой «сила-длина» при синусообразном растяжении с учётом нелинейности при определенных условиях. Таким образом, нелинейная форма экспериментально наблюдаемых кривых гистерезиса может быть объяснена без общего предположения об экспоненциальной зависимости нагрузки от деформации.

Таким образом, показано, что простейший вариант учёта вязкости в рассмотренных ранее двумерных моделях с помощью введения демпферов параллельно первичным упругим элементам позволяет получить нелинейные кривые гистерезиса, наблюдаемые в экспериментах, и кривые релаксации деформации. Для большей определенности качественных и количественных выводов при сравнении теории и опыта, необходимо повышение точности эксперимента, которая пока ещё недостаточна для оказания предпочтения той или иной модели.

#### 4.3.3. Сравнение кривых ползучести с данными на одноклеточных структурах

Для того чтобы сравнить предсказания моделей с экспериментальными данными по релаксации напряжения и деформации, обратимся к работам [112], [146] с различными объектами (пассивная мышца и эндотелиальные клетки) и различными методами исследования и измеряемыми характеристиками (релаксации напряжения и ползучесть), имея в виду общность предлагаемых феноменологических моделей.

Вначале исследуем перемещения среды под действием периодической прямоугольной нагрузки в 1D и 2D-моделях для того чтобы сравнить с результатами измерений ползучести в живых клетках макрофагов [146]. Пространственные масштабы перемещений в этих экспериментах, которые проводились с помощью микронного размера магнитных бусинок, порядка микронов и масштаб по шкале сил составляет 0.4 мН в пике прямоугольного импульса силы. Магнитная бусина имплантирована на поверхности клеток и движется под действием внешних магнитных полей (см. подробно в разделе «методы измерений»). Из-за различных видов связей бусинки движутся как в вязкой жидкости и в то же время с упругими связями от окружающих прикреплённых нитей.

Рисунок 4.32А показывает результаты в 1D модели **KV-E**. Хотя такая модель часто используется в литературе [112], она имеет важный недостаток, вызывающий противоречие с экспериментальными данными. А именно, форма последовательных шагов в кривой перемещения в этой модели (а также во всех моделях 1D) является одной и той же, независимо от номера шага.

Результаты в 2D модели **RH-KV<sub>3</sub>**, представленные на рисунке 4.32Б, лучше соответствуют экспериментальным данным, однако, как представляется, эффект развертывания, который приводит к нелинейности в

зависимости «напряжение-деформация», и, следовательно, зависимости формы кривой спадания напряжения во времени от номера ступени, в данном случае, практически лежит вне исследованного диапазона.

Наиболее перспективной представляется модель, изображённая на рисунке 4.25Д с поперечным блоком, составленным из последовательно соединённого вязкого элемента и блока Кельвина. Смещение кривой отклика на втором пике (рис. 4.32В) показывает неплохое согласие с экспериментом. Второй пик на эксперименте имеет амплитуду несколько ниже, чем первый пик, но, к сожалению, кривая не воспроизводит амплитуду и форму третьего пика. Тем не менее, эта модель имеет неплохие возможности для описания немонотонной зависимости амплитуды пиков от номера из-за довольно высокой чувствительности кривой к значениям параметров модели, что показано на рисунке 4.32Г.

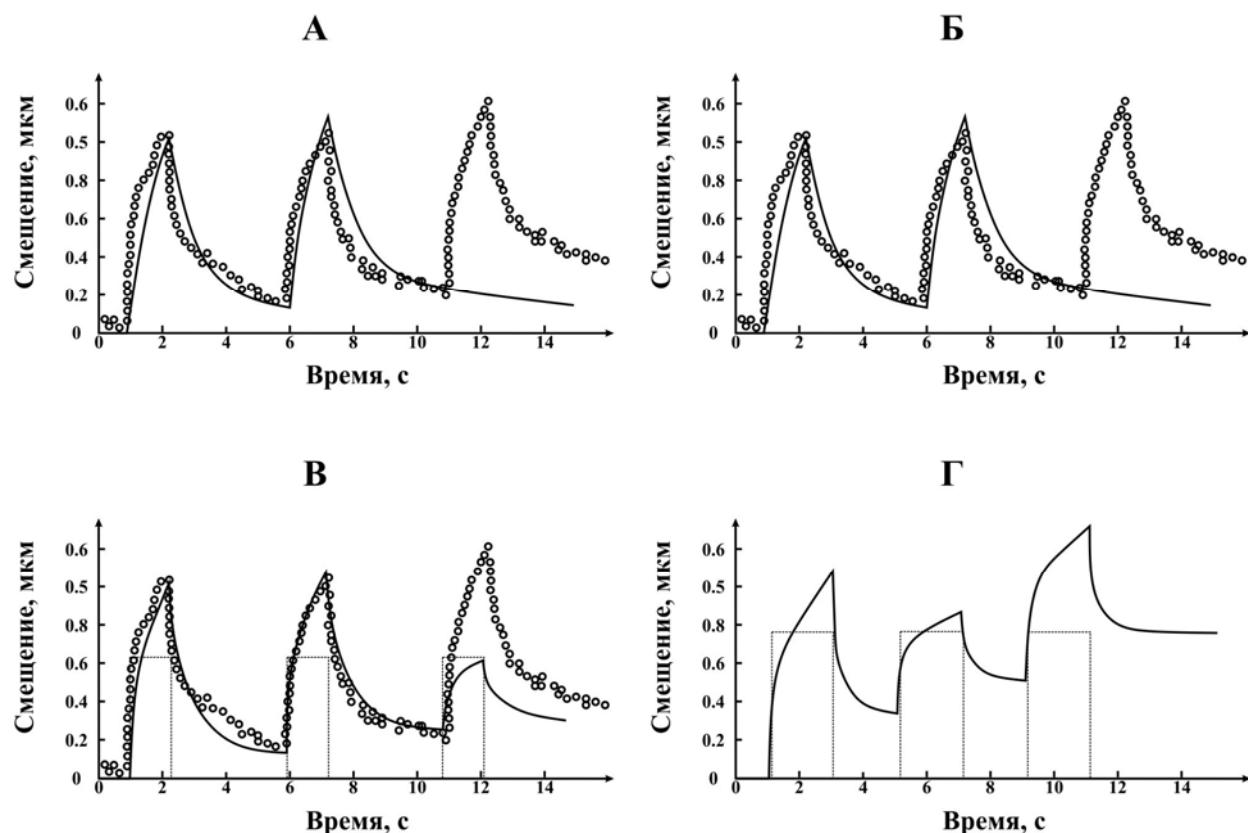


Рис. 4.32. Перемещения при 3 периодических импульсах внешней силы в моделях **KB-E** (А), **RH-K<sub>13</sub>** (Б) и **RH-KV<sub>1</sub>** (В) в сравнении с экспериментальными данными. Кривая (Г) представляет смещение как функцию времени с немонотонной зависимостью пиковой амплитуды в модели **RH-KV<sub>1</sub>**.

#### 4.3.4. Релаксация напряжения в скелетных и папиллярных мышцах

Теперь мы переходим к другой постановке задачи, которая касается релаксации напряжения под действием ступенчатого внешнего растяжения. Рис. 4.33А представляет временную зависимость релаксации напряжения в пассивной скелетной мышце, длиной 11 мм, индуцированной ступенчатым растяжением с деформацией 0.23, при сравнении с кривыми, полученными в моделях «параллограмма» **RH-K<sub>12</sub>** и «ромбической» **RH-KV<sub>1</sub>** (рис. 4.33Б) с двумя типами топологии вязких элементов. Кривые сдвинуты влево на 3 сек. Отрицательная область не отображается. Мы можем заключить, что рисунок 4.33Б показывает качественно лучшее совпадение, хотя никто не может определенно отнести спад кривых к релаксационным эффектам (А) или к ползучести (Б).

Экспериментальная кривая зависимости от времени напряжения при четырёхступенчатом приросте на 0,05 деформации, которая является результатом другого измерения на этом препарате в работе [112] показана на рисунке 4.33В. Примечателен нелинейных рост амплитуды спайков вследствие ударной жёсткости в моменты резких скачков в длине образца. Здесь видно также изменение времени релаксации с деформацией, что характерно для большинства живых мягких тканей. Кривая, полученная в модели (Б) (рис. 4.33Д), находится в хорошем соответствии с экспериментальной кривой как по пиковым значениям напряжения, так и по форме спада напряжения в зависимости от номера ступени, хотя модель (А) так же показывает неплохое соответствие (рис. 4.33Г).

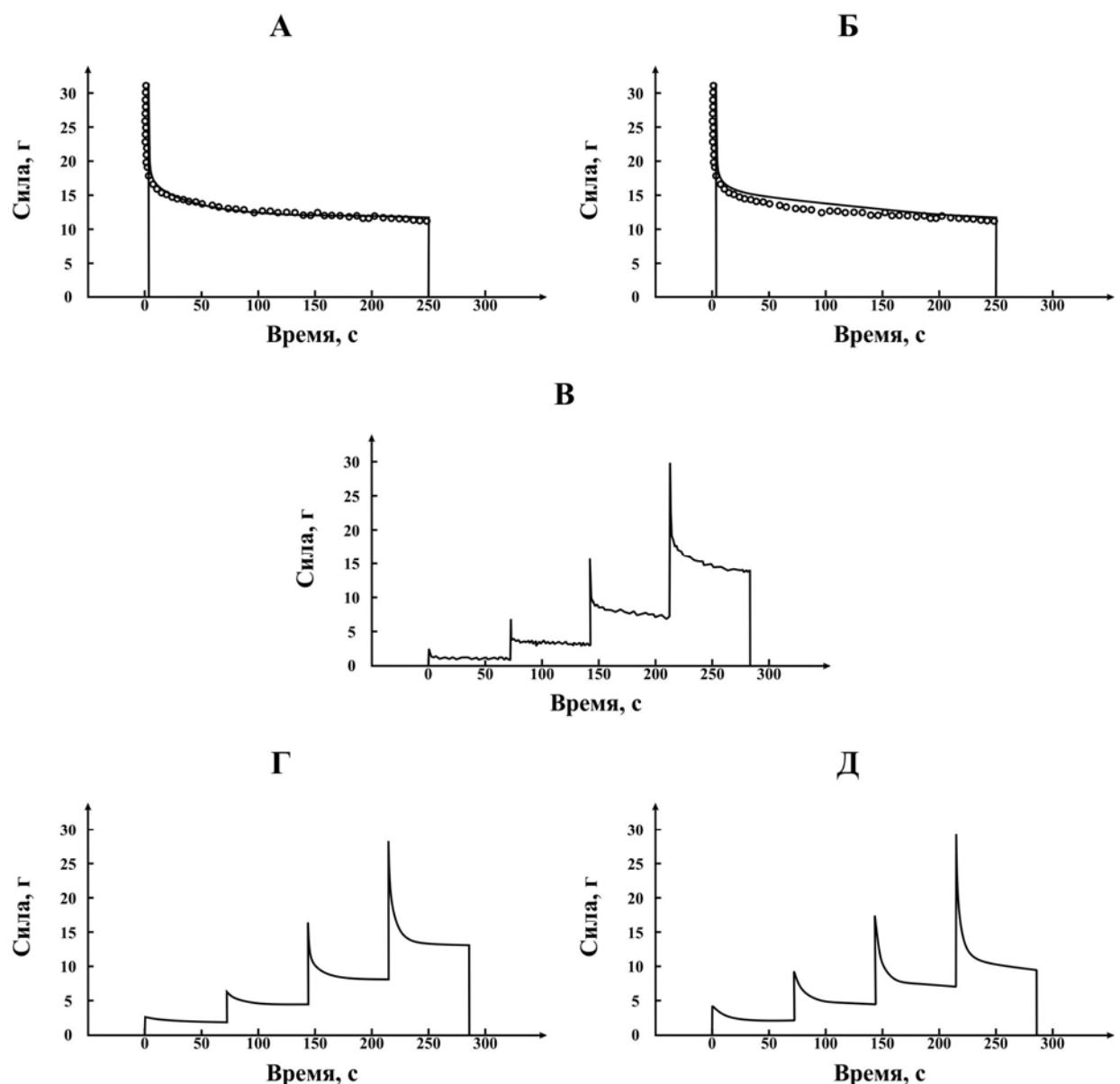


Рис. 4.33. Спад пассивного напряжения в препарате скелетной мышцы [112], при продольном растяжении прямоугольной формы с  $\varepsilon = 0.23$  (точки), и предсказания в модели геометрии «параллелограмма» RH-K<sub>12</sub> (А) и «ромба» RH-KV<sub>1</sub> (Б). Эволюция пассивного напряжения в том же препарате при последовательном четырёхступенчатом растяжении с  $\varepsilon = 0.05$  в эксперименте (В) и в соответствии с прогнозами для четырёхступенчатого растяжения в тех же моделях (Г), (Д).

В заключение этого раздела приведём некоторые выводы. Одной из физиологических функций вязкости в живых тканях является предотвращения их повреждения при быстрых деформациях. Практически все биологические ткани обладают вязкостью, однако её природа в

мышечных тканях не ясна до настоящего времени. Выяснено, что ответ на достаточно быстрое приращение деформации в пассивной мышце сопровождается релаксацией. В ряде экспериментов показано, что релаксационные процессы зависят не только от амплитуды шага деформации, но и от рабочей длины препарата. Этот эффект не воспроизводится ни в одной из реологических моделей без дополнительного предположения о зависимости коэффициента вязкости от длины препарата. Геометрический фактор структуры ткани может быть успешно использован в математическом моделировании активной и пассивной зависимости напряжения от длины мышцы. Морфологические структуры миокарда, как и большинство других живых мягких тканей, с различными значениями линейных параметров жёсткости функционируют в разных диапазонах физиологических деформаций. В начальной области деформации вовлечены главным образом мягкие элементы, для которых меньше сопротивление генерации активного напряжения в мышце. С увеличением деформации, более жёсткие элементы начинают играть главную роль, что предотвращает разрушение ткани. Это обстоятельство является ключевым моментом в нашем описании нелинейных зависимостей «напряжение-деформация» в 2D модели. Например, увеличение жёсткости при деформации может быть вызвано эффектом «развертывания». Это будет верно для некоторой топологии с более мягкими поперечными упругими элементами и более жёсткими наклонными и продольными элементами в морфологии ткани. Таким образом, предлагаемый выход за пределы традиционно используемых линейных 1D моделей, безусловно, является перспективным для описания обычно наблюдаемых нелинейных реологических характеристик живых мягких тканей.

2D модели, представленные здесь, демонстрируют очень хорошие возможности для описания наиболее характерных особенностей стационарных функций, гистерезиса и релаксации в живых мягких тканях.

Это справедливо даже в моделях с блоками Кельвина, которые сами по себе в 1D не могут описывать релаксацию напряжения. Это происходит, если они включены в 2D модели, вследствие появления дополнительной степени свободы в двумерных структурах. Таким образом, связь между структурой и функцией проявляется в различных моделях, соответствующих различным видам морфологии тканей. Наиболее соответствующие экспериментальным данным модели могут отражать наиболее вероятные рабочие структуры для препаратов.

Нелинейность связи напряжение-деформация в случае релаксации приводит к зависимости резких скачков в амплитуде при равных шагах деформации от рабочей длины, определяемой номером шага. Кроме того, скорость релаксации зависит от номера шага по этой же причине. Иными словами, это означает, что если вначале работает мягкий элемент с низкой вязкостью, время релаксации будет небольшим на первом шаге. Далее, когда преимущественно начинают работать жёсткие элементы с большей вязкостью, время релаксации растет при следующих шагах деформации. Вполне вероятно, что в релаксационных экспериментах так и происходит в действительности.

#### *4.3.5. Влияние вымывания внутриклеточных структур на вязкоупругие свойства миокарда*

Перейдём к результатам верификации моделей с учётом удаления некоторых структурных компонентов ткани [149], [150]. Экспериментальные результаты подробно описаны в [37] (см. также раздел 3.6). В ходе регистрации механических характеристик с помощью видеокамеры, вставленной в окуляр бинокулярного микроскопа, записывали серию изображений испытуемого образца после его релаксации в стационарном режиме. Измерение поперечного размера изображения образца проводили в

трёх сечениях (середина препарата и две плоскости по краям на равном расстоянии от точки крепления до середины). Результаты измерений для каждого препарата усреднили и построили зависимость поперечной деформации от продольной (рис. 4.34).

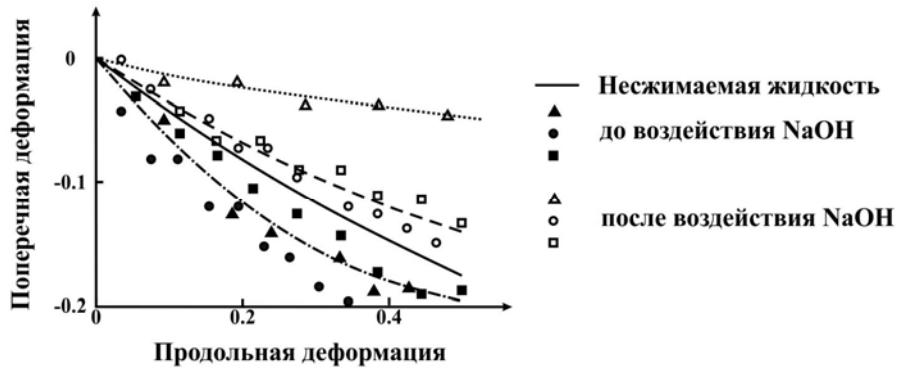
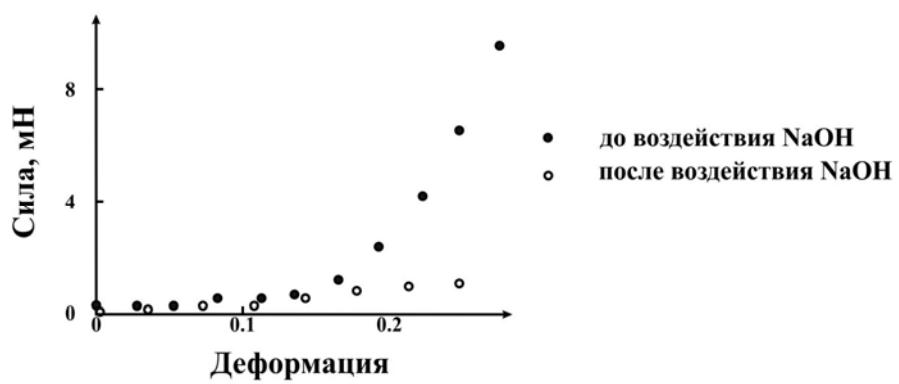


Рис. 4.34. Изменение поперечного размера препаратов 1, 2 и 3 папиллярной мышцы кролика при их ступенчатой продольной деформации в физиологическом состоянии (●, ■, ▲) и после вымачивания в растворе с NaOH (○, □, Δ). Сплошная линия проведена в приближении несжимаемой жидкости.

В препаратах папиллярной мышцы кролика после вымачивания зависимость поперечного размера от продольной деформации стала более пологой. Обращает на себя внимание более кротое падение поперечного размера в нормальном миокарде, особенно в области малых начальных деформаций, по сравнению с приближением несжимаемой жидкости. Это может свидетельствовать о возможной продольной неоднородности деформации, и об утечке части межклеточной жидкости и уменьшении объёма образца в процессе деформации. В образцах после мацерации вследствие существенного превышения значений поперечника по отношению к кривым в приближении несжимаемой жидкости можно констатировать значительное затекание и впитывание жидкой фракции в образец. Отметим, что межклеточная жидкость, как и любая другая, обладает незначительной объёмной сжимаемостью, поэтому приближение несжимаемой жидкости достаточно адекватно. Оно позволяет судить о

вытекания или затекания жидкой фазы вследствие изменения объёма образца при деформации.

Для оценки вклада кардиомиоцитов в упругие свойства всего препарата папиллярной мышцы кролика сравнивали стационарные зависимости «напряжение-деформация» образцов в нормальном состоянии и этих же образцов после вымачивания в щелочном растворе. После вымачивания на длине провиса оказалось, что начальная длина препарата ( $L_0$  - наименьшая длина, при которой дальнейшее растяжение вызывает незначительный прирост напряжения) существенно уменьшилась, и поэтому для сравнения характеристик нормального и мацерированного препаратов использовали деформацию, определенную по Коши с различными  $L_0$ . Для контроля качества вымачивания после всех испытаний делали продольные и поперечные гистологические срезы препаратов. Обнаружено полное разрушение кардиомиоцитов при незначительном повреждении соединительной ткани (набухание в 10% растворе NaOH). Показано, что разрушение кардиомиоцитов приводит к резкому падению дифференциального модуля упругости препарата и зависимость «напряжение-деформация» становится практически линейной (рис. 4.35).



серии ступенчатых деформаций и кривые гистерезиса «напряжение-деформация» при пилообразной деформации. Показано, что с ростом величины деформации растет ударная жесткость препарата миокарда в ответ на резкий скачок деформации (рис. 4.36).

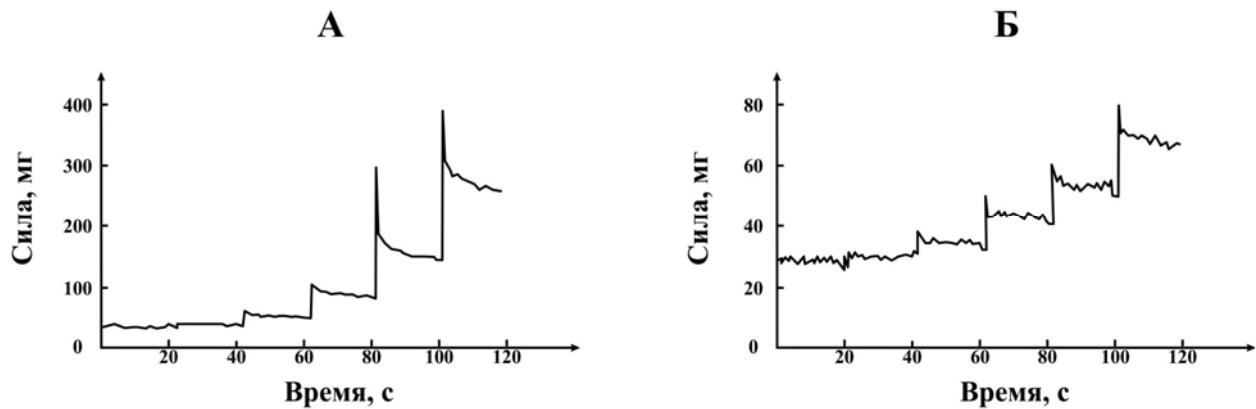


Рис. 4.36. Экспериментальная запись отклика папиллярной мышцы кролика на серию последовательно задаваемых ступенчатых деформаций в нормальном растворе до (А) и после (Б) мацерации.

Эта зависимость сохраняется в папиллярной мышце как в нормальном растворе, так и после мацерации. Отметим, что абсолютные значения силы после мацерации оказываются примерно на порядок ниже. Аналогичные данные были получены на скелетной мышце в работе [112]. Другой особенностью подвергнутых мацерации препаратов является более быстрый выход пассивного напряжения на стационарный уровень на каждой ступени деформации. С ростом деформации стационарный уровень практически линейно возрастает.

В соответствии с протоколом эксперимента нормальные и мацерированные препараты подвергали периодической деформации (пилообразной формы) с амплитудой 10% от длины препарата и с разной скоростью (периодом) деформации.

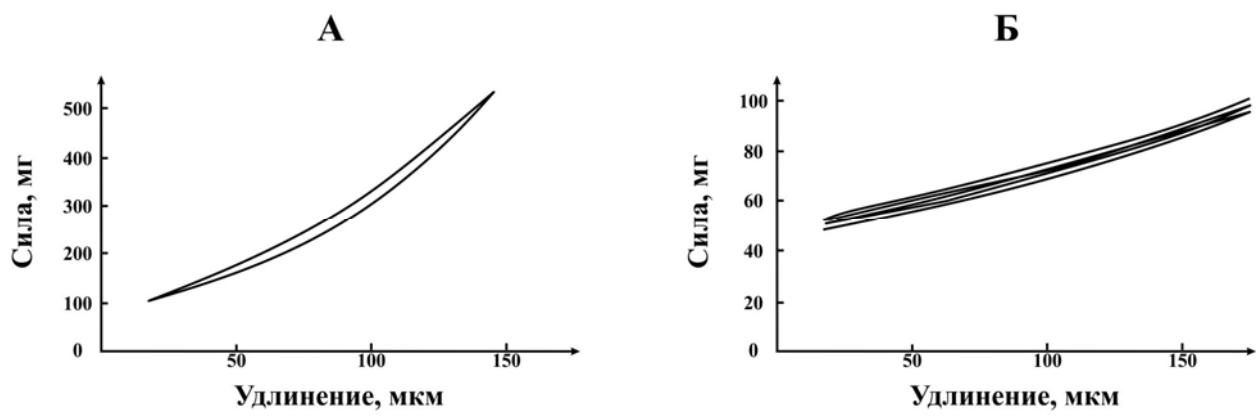


Рис. 4.37. Кривые гистерезиса в координатах «сила – длина» папиллярной мышцы в нормальном растворе до (А) и после (Б) мацерации при пилообразном растяжении с периодом 1 сек. на длине  $0,95 L_{\max}$ .

После вымывания внутриклеточных структур кривая гистерезиса существенно сужается, так что её восходящая и нисходящая ветви практически сливаются, что свидетельствует об уменьшении вязкости препарата (рис. 4.37). Об этом свидетельствует и падение времени релаксации напряжения при ступенчатой деформации мацерированных образцов. В этом смысле результаты, полученные при исследовании гистерезиса, не противоречит данным, полученным при анализе кривых релаксации напряжения.

#### 4.3.6. Обсуждение данных эксперимента с применением мацерации.

Во всех группах препаратов обнаружено преобладание поперечной податливости при малых продольных деформациях и это хорошо согласуется с данными, полученными на изолированных кардиомиоцитах крысы и хорька, податливость которых в поперечном направлении больше, чем в продольном [151]. Сопоставление продольной и поперечной деформации папиллярной мышцы в нормальном растворе и после вымывания кардиомиоцитов показало, что эта зависимость претерпевает существенные изменения (см. рис. 4.34). Значительный разброс данных в каждой группе

препараторов не позволяет провести количественное сопоставление данных. Однако существенное различие между группами позволяет сделать качественный анализ. Так, наибольшая крутизна падения поперечного размера, вызванного продольной деформацией, наблюдается в нормальных препаратах папиллярных мышц кролика. Кроме того, из сопоставления кривых, полученных для препаратов в нормальном растворе и после мацерации, можно утверждать, что вклад собственно кардиомиоцитов в поперечную податливость существенен. Поскольку зависимость наклона кривых от степени вымывания даёт основания предполагать, что ответственность за такое поведение ложится именно на кардиомиоциты. Если в первом приближении папиллярную мышцу считать цилиндром, то связь продольной и поперечной деформации должна была бы отображаться кривой изменения диаметра цилиндра при его продольном растяжении в случае сохранения постоянства его объёма. Сопоставление кривых зависимости «продольная деформация - поперечная деформация» в нормальных и мацерированных препаратах с этой теоретической кривой свидетельствует об уменьшении объёма образца в процессе деформации нормальных препаратов и увеличении объёма в мацерированных препаратах папиллярных мышц кролика. Можно предположить, что это связано с фильтрацией жидкости, например, утечкой части межклеточной жидкости в нормальных препаратах и впитывания жидкости (наподобие губки) в мацерированных.

Линеаризация связи «деформация-напряжение» после вымачивания образцов миокарда в растворах с высокой ионной силой косвенно подтверждается данными, полученными на кардиомиоцитах крыс в работе [152]. После вымачивания кардиомиоцитов в растворе 0.6 М йодистого калия для удаления всех контрактильных белков, авторы получили падение жёсткости кардиомиоцита с экспоненциальным ростом напряжения на длинах, почти в два раза превышающих их начальную длину. Остаточное

напряжение они связывают с присутствием в структуре цитоскелета белка тайтина. В наших экспериментах на гистологических срезах установлено полное удаление кардиомиоцитов после вымачивания в 10% растворе щелочи. Следовательно, оставшуюся линейную связь «деформация-напряжение» можно отнести к характеристике внеклеточного матрикса. Кроме того, при сравнении зависимости «напряжение-деформация» папиллярных мышц нормальных мышей и мышей с генетическим дефектом синтеза и метаболизма коллагена обнаружен резкий подъём кривой в области малых деформаций и значительная линеаризация этой зависимости в папиллярных мышцах с увеличенным количеством связок между коллагеновыми волокнами [153].

Совпадение начальных ветвей связи «деформация-напряжение» в нормальном и мацерированном препарате миокарда свидетельствует, во-первых, о превалирующей роли соединительно-тканного каркаса в определении жёсткости миокарда при небольших деформациях; во-вторых, в рамках предлагаемой нами модели вязко-упругих свойств миокарда в этом диапазоне деформаций наиболее существенен вклад элементов каркаса, моделирующих поперечные структуры миокарда («страты», тяжи и т.д.) [154]. Это подтверждается нашими данными о наибольших изменениях поперечного размера препарата именно в начальном участке его продольной деформации, когда происходит выдавливание части жидкости из препарата и преодоление сопротивления поперечных связывающих структурных элементов, поддерживающих каркас. Такое поведение физиологически обосновано с точки зрения наименьшего сопротивления миокарда в фазу наполнения сердца с дальнейшим резким подъёмом для предотвращения перерастяжения или разрывов при критическом увеличении объёма желудочка. Уменьшение поперечного размера нитей саркомеров способствует развитию активного напряжения мышцы за счёт уменьшения

межмиофиламентарного расстояния и повышения сродства контрактильных белков к ионам кальция.

Наша интерпретация результатов находится в противоречии с утверждением [96] о преимущественном вкладе тайтина (белка цитоскелета) в жёсткость ткани миокарда в физиологической области деформаций. Оно сделано на основе аналогичных нашим экспериментов с трабекулами и одиночными кардиомиоцитами. Возможное объяснение отмеченного разногласия состоит в том, что объектом нашего исследования были папиллярные мышцы кролика, а не трабекулы крысы. Как известно, имеются принципиальные различия в морфологии и физиологии миокарда крыс и кроликов [155-156]. Кроме того, мы использовали раствор щелочи (как в методике [157-158]), а не соли (как в работе [96]). С другой стороны, современные экспериментальные данные, полученные на одиночных нитях тайтина, подтверждают наше предположение о преимущественном вкладе тайтина в вязкоупругие свойства миокарда в области больших деформаций, когда клубочковые участки иммуноглобулина уже распрямлены [159-160].

Неожиданным оказалось практически полное отсутствие вязкости в препаратах с вымытыми кардиомиоцитами, поскольку с точки зрения гипотезы фильтрации основной вклад принадлежит именно фильтрации жидкости во внеклеточном каркасе [3]. На наш взгляд, вопрос о природе вязкого трения в биологических тканях, обеспечивающего значительные (до нескольких минут) времена релаксации, ещё остается открытым.

Полученные данные свидетельствуют о значительном вкладе внутриклеточных структур, в том числе и тайтина, в вязкость миокарда, как показано также и в работе [161]. Результаты имеют принципиальное значение для понимания природы вязкоупругих свойств миокарда, но требуют проверки при более «мягком» способе разрушения кардиомиоцитов.

#### 4.3.7. Механические модели внутриклеточного белка тайтина

Дифференциация роли соединительной ткани и внутриклеточных структур в общей механической ответ пассивных мышц в настоящее время привлекает внимание исследователей в связи с недавно исследованными нелинейными свойствами гигантского белка тайтина. Последние состоят в зубчатой структуре кривой зависимости силы от растяжения для одиночных молекул тайтина. Объяснение этих особенностей, как правило, основывается на цепочечной модели (см. раздел о модели WLC) с глобулярными фрагментами, которые могут находиться в свёрнутом или развёрнутом состоянии. Однако, до настоящего времени, этот подход приводит к некоторым неясностям, как например, очень к быстрому рекомбинационному этапу сразу же после развертывания одного блока. Усреднение показывает, как зубчатая «одномолекулярная» кривая приводит на более высоких уровнях организации ткани к более гладким, но нелинейным зависимостям «напряжение-деформация» с эффектом «ужесточения».

Мы полагаем, что пространственные структуры ткани различной топологии на уровне фасцикулы могут быть представлены 2D моделями, состоящими из наклонных, продольных и поперечных упругих и вязких элементов [150]. В свою очередь, блок, имитирующий механическое поведение тайтина, содержит  $N$  раз повторяющуюся ромбическую структуру ( $N = 10$ , на рис. 4.38). Зубчатая кривая для пассивного напряжения приводится как своеобразная характеристика ромбический структуры, полученная исходя из условия резкого падения коэффициента жёсткости в области критической величины деформации.

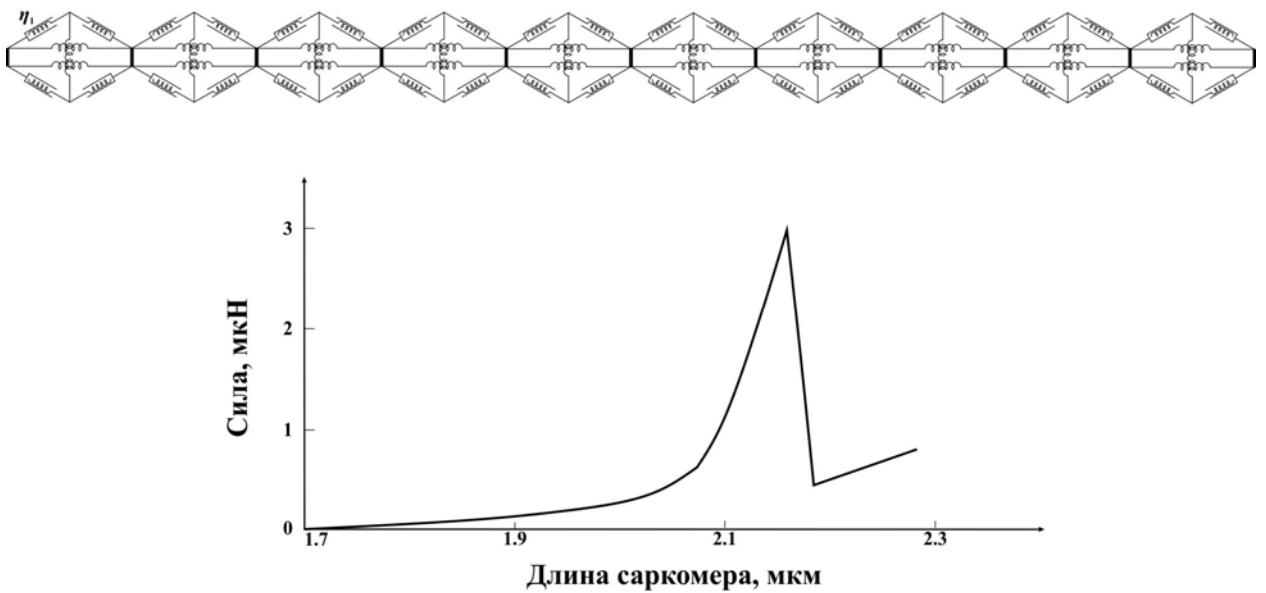


Рис. 4.38. Модель, отражающая вязко-упругие свойства внутриклеточных структур (тайтина, микротрубочек, промежуточных филаментов), состоящая из десятикратно повторенного ромбического блока (вверху) и характерная кривая зависимости силы от растяжения для отдельного ромбического блока модели тайтина (внизу).

#### 4.3.8. Цепочечная модель фасцикулы и её обобщение

На промежуточном уровне иерархии мышечной ткани (фасцикула), совокупность упругих и вязких элементов соединительно-тканного комплекса может быть описана в рамках модели параллелограмма [5] продольными, наклонными и поперечными элементами. Модель состоит из блоков, представляющих матрикс соединительно-тканного комплекса, содержащих наклонные и продольные гуковские пружины, соединённые параллельно с ньютоновскими демпферами (элемент Кельвина). При почти равном соотношении продольного и поперечного размера одного блока модели в исходном состоянии, такой блок достаточно хорошо описывает статическую характеристику «сила-длина» папиллярной мышцы. Исходя из реального соотношения продольного и поперечного размеров препаратов папиллярной мышцы выбрана модель соединительно-тканного комплекса из трёх последовательно соединённых блоков фасцикулы (рис. 4.39).

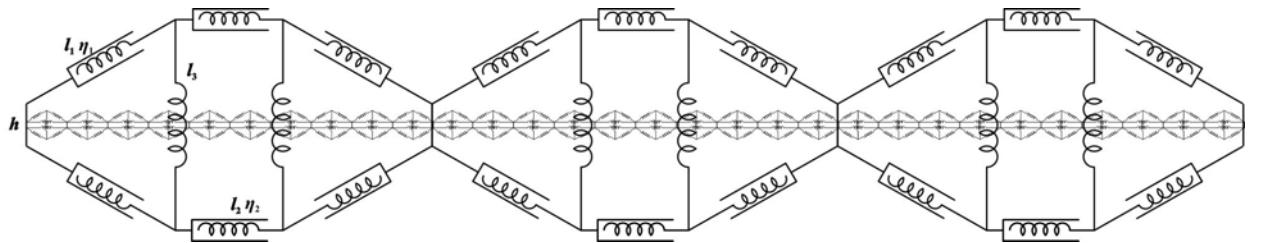


Рис. 4.39. Цепочка из трёх последовательно соединённых блоков, имитирующая соединительно-тканный комплекс фасцикулы, с внедрёнными блоками внутриклеточных структур.

#### 4.3.9. Квазистатические свойства фасцикулы

Процедура расчёта функции отклика модели состоит в решении системы дифференциальных уравнений, которая следует из условий квазистатического равновесия в точках соединения элементов [150]. Предполагается, что вдоль продольной оси модели приложена внешняя однородная деформация в виде заданной ступенчатой функции времени. Результирующий отклик на деформацию в виде полной силы, приложенной с противоположных концов конструкции, складывается из слагаемых, относящихся к блоку тайтина и блоку соединительно-тканного комплекса. Полная продольная деформация блока фасцикул и блока тайтина одинакова (см. рис. 4.39).

Расчёт статических кривых по этой схеме в пределе очень малой вязкости требует постановки некорректной задачи решения уравнений с бесконечно малыми коэффициентами при старших производных. Это подразумевает неоднозначность в высших членах асимптотического разложения по малому параметру. Для преодоления этой трудности при расчёте статических кривых мы предполагали, что исходно задана поперечная деформация  $\varepsilon_{t3}(t)$  блока тайтина в виде простой периодической функции времени:

$$\varepsilon_{t3}(t) = \varepsilon_{t30}[1 - \cos(2\pi t/T)]/2 \quad (4.71)$$

Считая (только в этом случае) поперечный элемент вязким, для деформации наклонного элемента блока тайтина имеем:

$$\varepsilon_{t1}(t) = -\left\{ 1 + \frac{k_{t1}[\lambda_{t3}(1 + \varepsilon_{t3}(t)) - \gamma_t]}{2\lambda_{t1}[\dot{k}_{t3}\varepsilon_{t3}(t) + \lambda_{t3}\eta_{t3}\varepsilon_{t3}(t)]} \right\}^{-1} \quad (4.72)$$

и полная продольная деформация равна

$$\varepsilon_t(t) = -1 + \sqrt{4[\lambda_{t1}(1 + \varepsilon_{t1}(t))]^2 - [\lambda_{t3}(1 + \varepsilon_{t3}(t)) - \gamma_t]^2} \quad (4.73)$$

а нормированная растягивающая сила для блока тайтина есть

$$f_t(t) = \varepsilon_t(t) + \frac{\varepsilon_{t1}(t)}{\mu_{t1}\lambda_{t1}[1 + \varepsilon_{t1}(t)]}[1 + \varepsilon_t(t)]. \quad (4.74)$$

#### 4.3.10. Релаксационные свойства фасцикулы

При задании внешней продольной деформации  $\varepsilon = \varepsilon(t) = (L - L_0)/L_0$ , где  $L_0$  - исходная длина ( $L_0 = Ml_0 = MNl_{t0}$ , где  $M$  и  $N$  - число повторений в блоке фасцикул и в блоке тайтина соответственно,  $M = 3$ ,  $N = 10$ ), деформация наклонного элемента блока тайтина  $\varepsilon_{t1}(t)$  подчиняется нелинейному дифференциальному уравнению, которое имеет следующий вид:

$$\dot{\varepsilon}_{t1} = -\frac{k_{t1}}{\eta_{t1}}\varepsilon_{t1} - \frac{k_{t3}\lambda_{t1}}{\eta_{t1}\lambda_{t3}}(1 + \varepsilon_{t1})\left[1 + \frac{\gamma_t - \lambda_{t3}}{\sqrt{4\lambda_{t1}^2(1 + \varepsilon_{t1})^2 - (1 + \varepsilon)^2}}\right] \quad (4.75)$$

а соответствующая нормированная растягивающая сила  $f_t = f_t(t)$  есть

$$f_t = \frac{2(1 + \varepsilon)}{\lambda_{t1}(1 + \varepsilon_{t1})}\left(\frac{\varepsilon_{t1}}{\mu_{t1}} + \frac{\eta_{t1}}{\mu_{t2}}\dot{\varepsilon}_{t1}\right) \quad (4.76)$$

Система дифференциальных уравнений для наклонной  $\varepsilon_1$  и продольной  $\varepsilon_2$  деформации блока фасцикул имеет вид:

$$\dot{\varepsilon}_1 = -\frac{k_2}{\eta_1} \left[ \frac{1}{\mu_1} \varepsilon_1 + \frac{2\lambda_1(1+\varepsilon_1)}{\lambda_3\mu_3} \Psi(\varepsilon_1, \varepsilon_2) \right] \quad (4.77)$$

$$\dot{\varepsilon}_2 = -\frac{k_2}{\eta_2} \left[ \varepsilon_2 + \frac{1+\varepsilon-\lambda_2(1+\varepsilon_2)}{(\lambda_3-\gamma)\mu_3} \Psi(\varepsilon_1, \varepsilon_2) \right],$$

$$\text{где } \Psi(\varepsilon_1, \varepsilon_2) = 1 - \frac{\lambda_3 - \gamma}{\sqrt{4\lambda_1^2(1+\varepsilon_1)^2 - [1+\varepsilon-\lambda_2(1+\varepsilon_2)]^2}}$$

Сила, отвечающая такой деформации в соответствии с геометрией блока фасцикул, равна

$$f = \left( \frac{2}{\mu_1} \varepsilon_1 + \frac{2\eta_1}{k_2} \dot{\varepsilon}_1 \right) \frac{1+\varepsilon-\lambda_2(1+\varepsilon_2)}{2\lambda_1(1+\varepsilon_1)} \quad (4.78)$$

Здесь  $\lambda_{ti} = l_{ti0}/l_{t0}$  и  $\lambda_i = l_i/l_0$  есть факторы, связанные с длинами элементов  $i$  тайтина и фасцикулы,  $\mu_{ti} = k_{ti}/k_{t0}$  и  $\mu_i = k_i/k_i$  - то же для параметров упругости,  $k_{ti}$ ,  $k_i$ ,  $\eta_{ti}$ ,  $\eta_i$  – нормированные коэффициенты жёсткости и вязкости соответственно.

#### 4.3.11. Сравнение данных исходной модели и модели без блока внутриклеточных структур с результатами эксперимента

Как уже показано [37], вымачивание приводит к некоторому падению дифференциального модуля упругости препарата. Зависимость «сила-длина» становится почти линейной и нелинейность кривой, связанная с эффектом ужесточения, пропадает (рис. 4.40).

Запись экспериментальных кривых временного хода силы при задаваемой шестиступенчатой продольной деформации с шагом  $\Delta\varepsilon = 0.06$  представлена на рисунке 4.41 в нормальном состоянии (А) и после мацерации (Б). Опущены участки экспериментальных кривых, соответствующие длительной паузе более 1 мин. по мере достижения стационарного значения силы.

Характерные особенности кривых состоят, во-первых, в наличии резкого всплеска («ударной жёсткости») в момент, совпадающий с крутым фронтом ступенчатого скачка длины (деформация не менее 0.5 за время 1 мсек). Этот эффект есть следствие «замороженности» препарата при столь больших скоростях деформации. Отметим здесь, что при математическом моделировании (см. ниже) шаг временной сетки при расчёте составлял 0.5 мсек. При величине ступенчатой деформации (высоте ступени) 0.06 это соответствует порядку величины фронтальной скорости деформации в эксперименте.

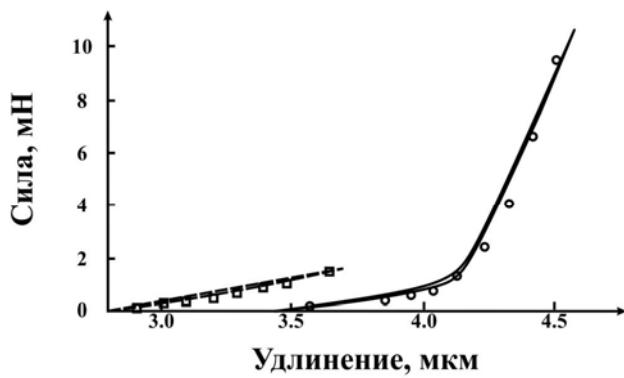


Рис. 4.40. Репрезентативный пример статической характеристики «сила - длина» в папиллярной мышце кролика в нормальном растворе (○) и в том же препарате после мацерации в растворе с  $\text{NaOH}$  (□). Кривые построены по результатам моделирования [150]. Максимальные деформации препаратов в нормальном растворе и после вымачивания были равны.

Другой экспериментально обнаруженной особенностью является резкий спад силы с эффективным временем порядка 1-3 сек, что характерно для сред с очень большой ньютоновской вязкостью. Ещё одной важной особенностью кривых релаксации является нелинейность как стационарного уровня силы в зависимости от удлинения, так и зависимость времени релаксации от текущего значения деформации (номера ступени). Следует отметить, что эффект «ужесточения», т.е. увеличения наклона статической кривой «сила-длина», и эффект роста времени релаксации свойственны большому числу различных биологических мягких тканей. Удаление

внутриклеточных структур приводило, в целом, к размягчению ткани и почти полному исчезновению нелинейности, а также к существенному уменьшению времени релаксации, определяемому вязкостью и жёсткостью ткани.

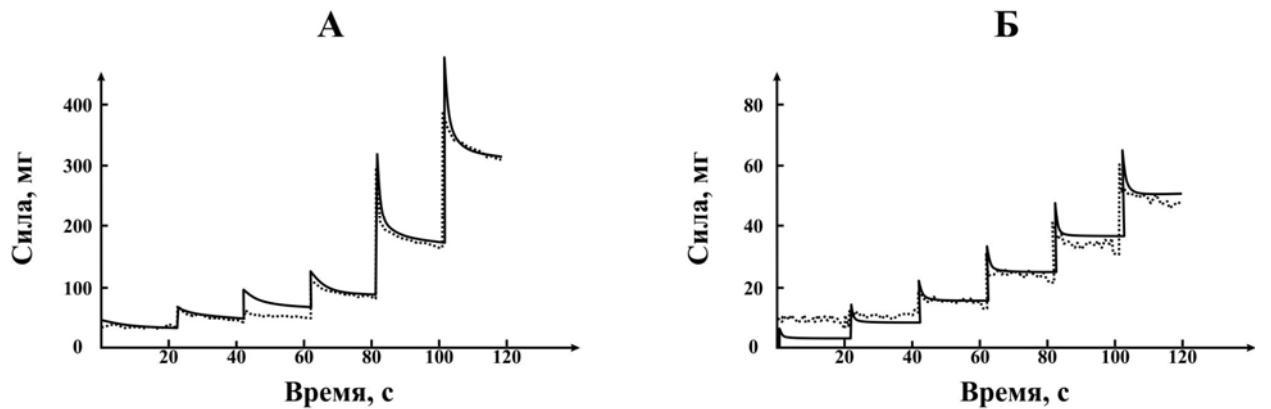


Рис. 4.41. Экспериментальная запись ответов силы пассивного сопротивления папиллярной мышцы кролика на серию из шести последовательно задаваемых ступенчатых скачков продольной деформации (серые кривые, сдвинуты влево) в нормальном растворе (А) и после мацерации (Б). Сплошная кривая релаксации напряжения (А) получена в полной модели, Б – после удаления блока, имитирующего внутриклеточные структуры [150].

#### 4.3.12. Обсуждение проблемы разделения вкладов

Теоретические кривые в координатах «сила-длина», полученные в представленной модели с учётом блока внутриклеточных структур (сплошная кривая, А) и без учёта этого блока (Б), приведены на рис. 4.41. Значения силы легко пересчитать в напряжение, учитывая поперечники  $h$  и  $h_t$  жёсткой фермы, к которой приложено усилие при моделировании отклика блока фасцикул и блока тайтина на растяжение. Результаты моделирования получены в статическом пределе при очень малой вязкости. Геометрические и упругие параметры модели (табл. 4.3) выбраны исходя из условия минимальности отклонения кривых от экспериментальных данных. При пересчёте коэффициентов жёсткости пружин в значения модуля Юнга  $E_i=4k_i/\pi d_i^2$  принималось предположение о том, что эффективный поперечник

$d_i$  элемента составляет одну десятую его длины. Значения вязкости оценивались исходя из площади боковой поверхности элемента, определяемой его длиной и поперечником.

Что касается упругих параметров блока внутриклеточных структур, то мы предположили, что коэффициент жёсткости продольных элементов скачкообразно увеличивается по мере увеличения деформации. На двух последних ступенях деформации к значению модуля Юнга продольного элемента добавляется соответственно 1.9 и 4.8 (см. табл. 4.3). Считая продольные элементы отвечающими вкладу тайтина, мы отражаем таким образом экспериментально наблюдаемую экспоненциальную зависимость «сила-длина». Соответствующая модельная кривая хорошо воспроизводит экспериментальные данные, и это позволяет считать модель блока тайтина адекватной. В этом исключительном случае подгонка осуществляется при использовании предположения о зависимости упругих параметров от деформации, что не вполне согласуется с основополагающими принципами нашего подхода к моделированию рассматриваемых нелинейных явлений. Если заменить продольный элемент в блоке внутриклеточных структур, моделирующий тайтин, на соответствующую ромбическую цепочку, то можно обойтись и без этого предположения. Следует отметить, что все основные качественные особенности кривых релаксации, отраженные на рисунке 4.42А, сохраняются и без учёта указанной зависимости.

Таблица 4.3.

## Геометрические и вязкоупругие параметры 2D моделей

Элемент модели	Длина, мм	Модуль Юнга, МПа	Вязкость, кПа с
Статические кривые «сила – длина»			
Элементарный блок модели соединительно-тканного комплекса ( $M=3$ ), поперечник $h=0.5$ мм			
Наклонный $l_{10}$	0.59	10.8	27
Продольный $l_{20}$	0.50	2.55	6.4
Поперечный $l_{30}$	1.6	1.99	0
Элементарный ромбический блок модели внутриклеточных структур ( $N=10$ ), поперечник $h_t=0.02$ мм			
Наклонный $l_{10}$	0.07	$1.1 \cdot 10^3$	0
Продольный $l_{20}$	0.12	0.031	0
Поперечный $l_{30}$	0.10	1.7	95
Релаксация напряжения			
Элементарный блок модели соединительно-тканного комплекса ( $M=3$ ), поперечник $h=0.14$ мм			
Наклонный $l_{10}$	0.40	4.40	32
Продольный $l_{20}$	0.67	0.96	38
Поперечный $l_{30}$	0.90	0.42	0
Элементарный ромбический блок модели внутриклеточных структур ( $N=10$ ), поперечник $h_t=0.02$ мм			
Наклонный $l_{10}$	0.07	83	$1.6 \cdot 10^6$
Продольный $l_{20}$	0.12	8.8	0
Поперечный $l_{30}$	0.10	10	0

Хорошее согласие теоретических и экспериментальных кривых «сила – длина» позволяет утверждать, что определяющий вклад в статические свойства папиллярной мышцы в рамках модели вносят внутриклеточные структуры, и тайтин в том числе. В частности, в рамках модели нелинейность кривой с эффектом ужесточения по мере роста деформации обеспечивается блоком внутриклеточных структур. Этот механизм есть следствие архитектуры модели, в которой более жёсткие наклонные элементы блока внутриклеточных структур включаются по мере уменьшения их угла

раствора и после сжатия более мягких поперечных элементов (эффект «развёртывания»). Отметим, что подобный эффект развёртывания может иметь место и в использованной модели соединительно-тканного комплекса, однако при выбранных значениях параметров модели для его достижения необходимы более высокие уровни деформации, превышающие физиологический предел. Значения модуля Юнга для жёстких элементов блока фасцикул на порядок больше, чем для мягких (табл. 4.3), существенно меньше по величине упругих параметров коллагена ( $E \sim 1.0$  ГПа) и близки к жёсткости эластина ( $E \sim 0.6$  МПа).

Анализ динамических свойств, и в первую очередь кривых релаксации напряжения при ступенчатом растяжении, предоставляет дополнительные возможности для моделирования вязко-упругих свойств, связанных с проявлениями вязкого трения и диссипации в пассивной мышце. Известно, что невозможно описать релаксацию напряжения при постоянной деформации в рамках одномерных конструкций, использующих блок Кельвина-Фойгта с параллельным соединением вязкого и упругого элементов, и для этого используют блок Максвелла с последовательным соединением этих элементов. Двумерная архитектура моделей позволяет избежать этой трудности и использовать традиционные блоки Кельвина для описания релаксации напряжения за счёт дополнительной степени свободы, обеспечиваемой топологией системы.

Как показано на рис. 4.38 и 4.39, нами выбран вариант модели, учитывающей вязкость только для продольных и наклонных элементов блока фасцикулы и наклонного элемента блока тайтина. Вязкость, соответствующая всем остальным упругим элементам модели, считается пренебрежимо малой. Такой выбор обеспечивает неплохое качественное согласие с экспериментально наблюдаемыми эффектами роста времени релаксации с номером ступени при ступенчатом растяжении как в нормальном состоянии, так и после мацерации. Следует отметить также

качественное совпадение нелинейного роста ударной жёсткости в модели и в эксперименте. Качественное и в некоторых случаях количественное согласие с результатами анализа статических кривых достигнуто и для зависимости стационарного уровня напряжения после релаксации на определённой ступени от деформации.

Для получения экспериментально наблюдаемых значений времени релаксации в модели необходимо задавать очень большие значения параметров вязкости, которые на несколько порядков превышают вязкость биологических жидкостей. По-видимому, формальное рассмотрение эффектов вязкого трения, таких как релаксация напряжения, в рамках линейной ньютоновской модели не вполне адекватно, хотя и приводит к правильным качественным зависимостям. Вопрос о природе вязкого трения в биологических тканях, обеспечивающего значительные (до нескольких минут) времена релаксации, остается на наш взгляд ещё открытым. Скорее всего, он связан со структурными изменениями в белках после растяжения и с кинетикой биохимических реакций в пассивной мышце.

Таким образом, представленная модель [150] позволяет без введения зависимости упругих и вязких параметров от величины деформации воспроизвести весь комплекс нелинейных механических свойств пассивной папиллярной мышцы как в статическом состоянии, так и в процессе релаксации напряжения при ступенчатой деформации. Более того, в рамках той же модели описываются вклады соединительно-тканного каркаса и внутриклеточных структур, проявляющиеся в различии вязкоупругих свойств до и после мацерации. Согласие модельных и экспериментальных данных в этом случае позволяет сделать заключение о преимущественном влиянии тайтина и других внутриклеточных структур на возникновение нелинейности вязко-упругих свойств ткани в области физиологических деформаций. Использованный подход к моделированию вязко-упругих свойств базового элемента миокарда – фасцикулы – согласуется и с

морфологическим строением ткани, позволяя в дальнейшем переходить к моделированию объектов более высокой ступени в иерархии на основе предложенного механизма нелинейности.

В рамках изложенного подхода к моделированию вклада внутриклеточных структур и матрикса в вязкоупругие свойства папиллярной мышцы можно сделать следующие выводы:

1. Продольная деформация папиллярных мышц сопровождается изменением поперечного размера, которое можно объяснить, принимая во внимание уменьшение объёма образца в нормальном состоянии и увеличение после мацерации;
2. Стационарная связь «напряжение-деформация» миокарда в пассивном состоянии существенно нелинейна и характеризуется резким подъёмом при больших величинах деформации;
3. Ударная жёсткость и скорость релаксации напряжения зависят от величины текущей деформации;
4. Внеклеточный матрикс миокарда папиллярных мышц определяет вид зависимости «напряжение-деформация» в физиологической области деформаций;
5. Белки цитоскелета вносят вклад в области больших деформаций и существенным образом влияют на вязкость миокарда;
6. Конкуренция свойств внеклеточных и внутриклеточных белковых структур обуславливает нелинейность вязкоупругих свойств миокарда.

Таким образом, подводя итоги верификации двумерных моделей, можно с уверенностью сказать, что в их рамках удаётся в некоторых случаях воспроизвести на качественном уровне, а иногда и количественно, многие нелинейные особенности статических, гистерезисных и релаксационных вязкоупругих явлений в биологических мягких тканях. Представленные результаты 2D-моделирования вязкоупругого поведения препаратов папиллярной мышцы до и после процедуры мацерирования раствором

щёлочки хотя и не полностью удовлетворяют экспериментальным данным, всё же являются необходимым этапом на пути понимания механизмов функционирования мышечной ткани.

Конечно, нужно отдавать себе отчёт в ограниченности двумерного описания механики реальных тканей, но очевидно, как это и бывает обычно в конструировании на листе бумаги, для понимания физической сущности многих эффектов порой бывает достаточно плоских моделей. Выход за рамки этих моделей в сторону объёмного моделирования и более детального сравнения с экспериментом будет представлен в заключительном разделе четвёртой главы.

#### 4.4. ТРЕХМЕРНАЯ МОДЕЛЬ

Данный раздел посвящён обобщению изложенного в предыдущих разделах подхода к моделированию элементарной ячейки миокардиальной ткани (фасцикулы) на более близкий к реальному трёхмерный случай (3D). На примере одного из вариантов объёмной модели, составленной из продольных, поперечных (в двух измерениях) и наклонных элементов, показана возможность решения задачи в трёх измерениях [9]. Такая модель позволяет ещё более приблизить предсказания статических и динамических функций отклика к экспериментальным данным. Здесь следует отметить, что все нелинейные особенности вязкоупругого поведения, рассмотренные на двумерных моделях, сохраняются и в трёхмерном случае. В то же время, в объёмных моделях возможны и принципиально новые эффекты, связанные с трёхмерностью. Подобные объёмные модели в дальнейшем могут быть использованы при описании сжимаемости и эффектов фильтрации внутриклеточной и межклеточной жидкости.

#### 4.4.1. Предпосылки построения модели

Перейдём к описанию 3D модели морфофункциональной единицы миокарда. Модель состоит из продольных и поперечных упругих элементов и наклонных вязкоупругих элементов, соединённых шарнирно, без трения, масса элементов не учитывается. Геометрия модели схожа с геометрией реальных изолированных папиллярных мышц, то есть в качестве исходных геометрических размеров использовались длина провиса и диаметр папиллярной мышцы в каждом конкретном эксперименте. Верификация модели проводилась по собственным экспериментам, т.к. были известны все условия получения экспериментальных данных. Численные эксперименты на модели повторяли экспериментальный протокол для реальной мышцы. Подбор параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели осуществлялся из соображения наилучшего (по методу наименьших квадратов) воспроизведения моделью статических и динамических характеристик вязкоупругого поведения моделируемой мышцы.

Одной из задач теории является построение математической модели, позволяющей воспроизвести весь спектр полученных экспериментальных данных реологических испытаний изолированных препаратов миокарда в пассивном состоянии. Были установлены следующие критерии, которым должна удовлетворять модель для адекватного описания особенностей вязкоупругого поведения пассивного миокарда. Во-первых, модель должна воспроизводить нелинейные реологические характеристики препаратов миокарда. Во-вторых, поскольку в миокарде, как и во многих других биологических тканях, можно выделить морфофункциональную единицу [162-163], для понимания механизмов вязкоупругого поведения миокарда на тканевом уровне при построении модели необходимо учитывать и структурные особенности строения миокарда. Это также позволит интерпретировать элементы модели как определенные морфологические

единицы, а именно, изменение характеристик этих элементов либо их удаление будет эквивалентно изменениям соответствующих морфологических единиц. В-третьих, такие параметры, как вязкость и жёсткость структурных элементов модели, не должны меняться в зависимости от деформации или приложенной нагрузки, т.к. эти характеристики постоянны для реальных морфологических элементарных единиц ткани. Таким образом, ставится задача построения структурно-функциональной модели, связывающей морфологическое строение ткани миокарда и его реологические свойства.

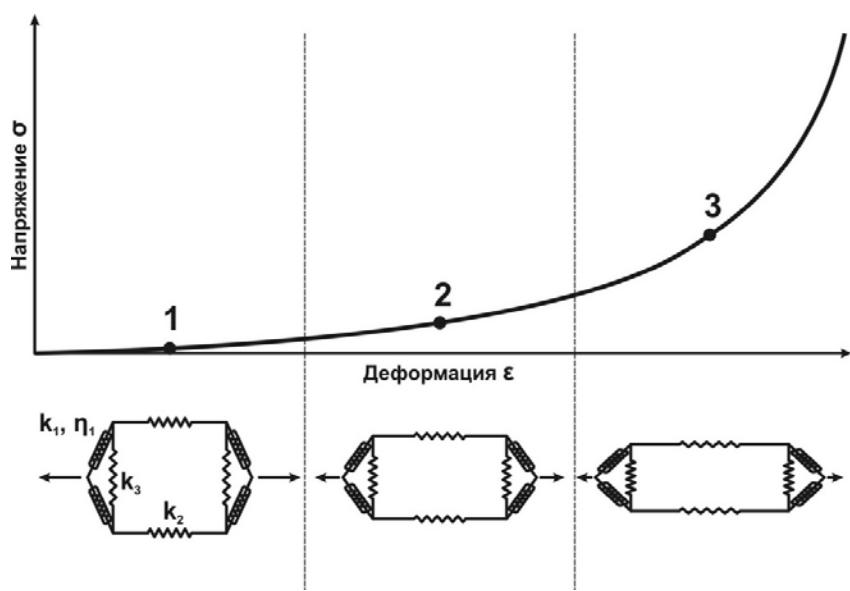


Рис. 4.42. Схема, иллюстрирующая нелинейность характеристики «напряжение – деформация» (вверху) структурной центрально-симметричной модели (внизу), состоящей из продольных и поперечных линейных упругих и наклонных вязких элементов.  $k_1, k_2, k_3$  – параметры упругих элементов,  $\eta_1$  – параметр вязких элементов. Цифрами обозначены точки графика, соответствующие состоянию модели в нижней части рисунка. Стрелками отмечено направление растяжения.

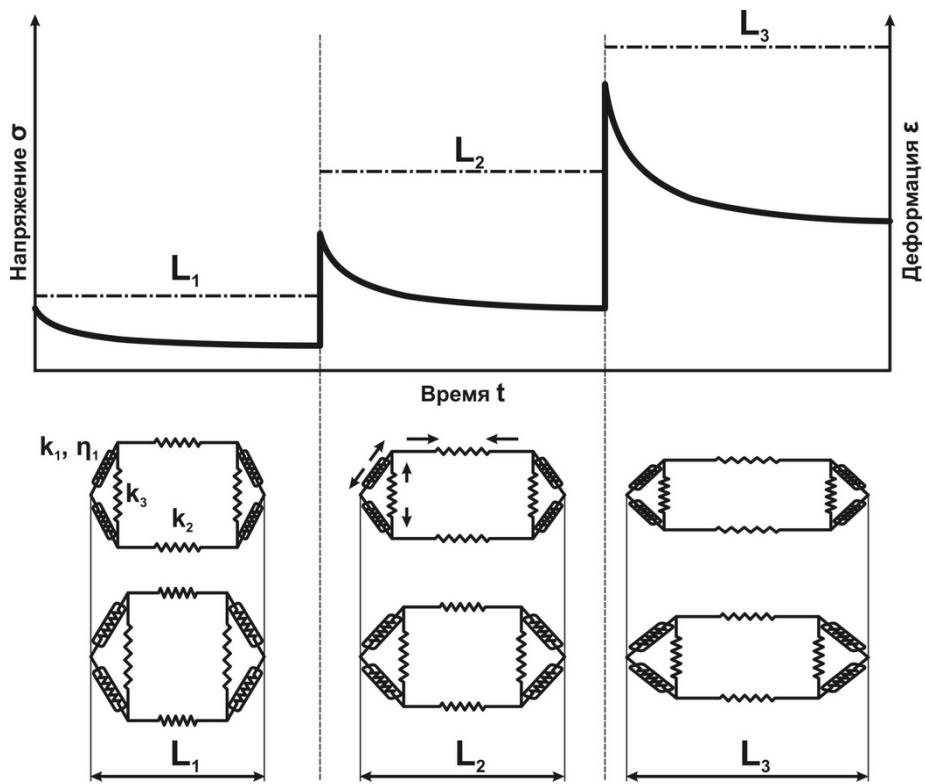


Рис. 4.43. Схема, поясняющая воспроизведение серии кривых релаксации

напряжения (вверху, левая шкала) в ответ на ступенчатое растяжение (вверху, правая шкала) структурной центрально-симметричной моделью (внизу), состоящей из продольных и поперечных линейных упругих и наклонных вязких элементов.  $k_1, k_2, k_3$  – параметры упругих элементов,  $\eta_1$  – параметр вязких элементов. На рисунке штрихпунктирной линией отмечены величины деформации, соответствующие длинам модели  $L_1, L_2, L_3$ . Для каждой из длин модель изображена в двух состояниях: в момент времени начала релаксации напряжения (верхнее изображение модели) и в момент времени, соответствующий квазистационарному состоянию (нижнее изображение модели). Стрелками указано направление деформаций структурных элементов модели в ходе релаксации напряжения.

Таким образом, существует качественная возможность воспроизведения нелинейных вязкоупругих характеристик, присущих биологическим тканям, с помощью структурно-функциональной модели, составленной из линейных упругих и вязких элементов с постоянными значениями параметров жёсткости и вязкости за счёт нелинейного отклика конструкционной вязкоупругости. Следующим этапом является построение объёмной модели морфофункциональной единицы миокарда.

#### 4.4.2. Основные уравнения модели

Объектом моделирования является морфофункциональная единица ткани сердца – фасцикула [162-163]. Поэтому выбрана геометрия модели, по форме схожая с фасцикулой (рис. 4.44).

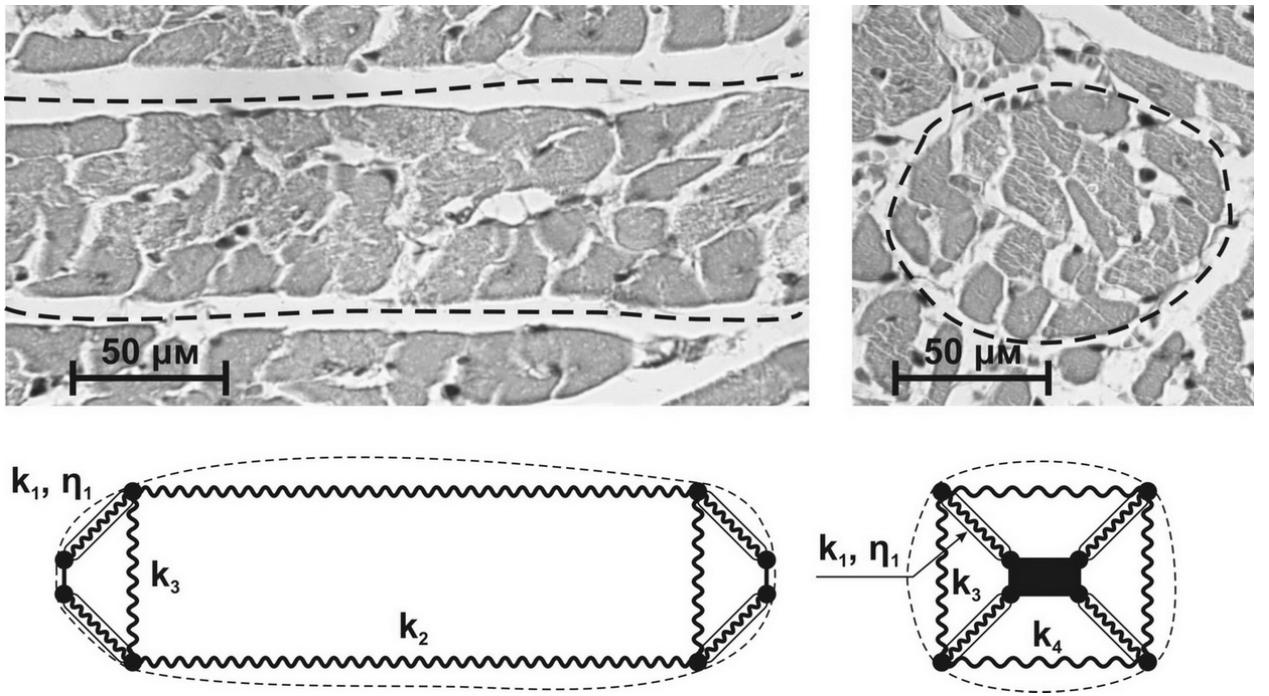


Рис. 4.44. Выбор геометрии модели. Вверху – гистологические срезы контрольного препарата папиллярных мышц крысы: слева продольный срез препарата, справа поперечный срез. Внизу – структурная схема модели морфофункциональной единицы миокарда: слева вид сбоку, справа вид с торца. На рисунке отмечены: пунктирующая линия – примерный контур фасцикулы, черные кружки – узлы модели,  $k_1, k_2, k_3, k_4$  – параметры упругих элементов модели,  $\eta_1$  – параметр вязких элементов.

Отработанный на двумерной структурно-функциональной модели подход и методика описания нелинейных реологических характеристик был применен для построения трёхмерной модели морфофункциональной единицы миокарда. Модель представляет собой центрально-симметричную конструкцию, состоящую из продольных и поперечных упругих гуковских элементов и наклонных вязкоупругих элементов Кельвина – параллельно соединённых ньютоновского демпфера и гуковской пружины (рис. 4.44).

Силы, развивающиеся упругим элементом и вязкоупругим элементом при продольной деформации, выражаются соответственно формулами:

$$\vec{F} = k(\vec{l} - \vec{l}_0) \quad (4.79)$$

$$\vec{F}(t) = k(\vec{l} - \vec{l}_0) + \eta \frac{d}{dt} \vec{l} \quad (4.80)$$

где  $k$  – коэффициент упругости,

$\eta$  – коэффициент вязкости,

$l_0$  – начальная (отсчётная) длина элемента,

$l$  – текущая длина элемента.

Соединения элементов модели между собой считаем шарнирами без трения, масса элементов не учитывается. Длины каждого из элементов при деформировании всей модели могут быть найдены из условия равновесия упругих и вязких сил в узлах модели (рис. 4.45), описываемого уравнением (4.81).

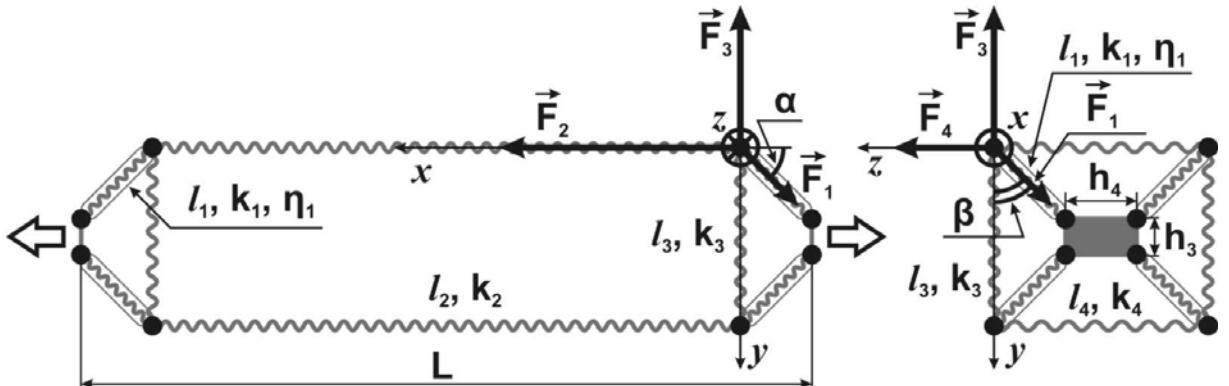


Рис. 4.45. Модель морфофункциональной единицы миокарда: слева вид сбоку, ось  $z$  направлена к нам; справа вид с торца, ось  $x$  направлена от нас. На рисунке отмечены:  $l_1, l_2, l_3, l_4$  – длины элементов модели;  $k_1, k_2, k_3, k_4$  – коэффициенты упругости;  $\eta_1$  – коэффициент вязкости;  $F_1, F_2, F_3, F_4$  – силы, приложенные к соответствующим элементам;  $h_3, h_4$  – размеры нерастяжимого элемента;  $L$  – длина всей модели;  $\alpha$  – угол между силой  $F_1$  и осью  $x$ ;  $\beta$  – угол между проекцией силы  $F_1$  на плоскость  $yz$  и осью  $y$ . Большинствами пустыми стрелками выделено направление деформации всей модели.

$$\vec{F}_1 + \vec{F}_2 + \vec{F}_3 + \vec{F}_4 = 0 \quad (4.81)$$

Распишем уравнение 4.81 в проекциях на оси координат:

$$\begin{aligned}
 Ox : F_2 - F_1 \cdot \cos \alpha &= 0 \\
 Oy : F_1 \cdot \sin \alpha \cdot \cos \beta - F_3 &= 0 \\
 Oz : F_1 \cdot \sin \alpha \cdot \sin \beta - F_4 &= 0
 \end{aligned} \tag{4.82}$$

где  $F_1, F_2, F_3, F_4$  – модули соответствующих сил.

Уравнение (4.83) отражает связь геометрических размеров структурных элементов модели и полной длины модели:

$$(l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2 + (L - l_2)^2 = 4 \cdot l_1^2 \tag{4.83}$$

Отсюда получаем выражения для  $\cos \alpha, \sin \alpha, \cos \beta, \sin \beta$ :

$$\begin{aligned}
 \cos \alpha &= \frac{L - l_2}{2 \cdot l_1} \\
 \sin \alpha &= \frac{\sqrt{(l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2}}{2 \cdot l_1} \\
 \cos \beta &= \frac{l_3 - h_3}{\sqrt{(l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2}} \\
 \sin \beta &= \frac{l_4 - h_4}{\sqrt{(l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2}}
 \end{aligned} \tag{4.84}$$

Теперь, используя уравнения 4.82, 4.83, 4.84 получаем следующую систему:

$$\begin{cases}
 2 \cdot l_1 \cdot F_2 - (L - l_2) \cdot F_1 = 0 \\
 2 \cdot l_1 \cdot F_3 - (l_3 - h_3) \cdot F_1 = 0 \\
 2 \cdot l_1 \cdot F_4 - (l_4 - h_4) \cdot F_1 = 0 \\
 (l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2 + (L - l_2)^2 = 4 \cdot l_1^2
 \end{cases} \tag{4.85}$$

Подставляя в систему 4.85 выражения для модулей сил:

$$\begin{aligned}
 F_1 &= k_1 \cdot (l_1 - l_{10}) + \eta_1 \frac{d}{dt} l_1 \\
 F_2 &= k_2 \cdot (l_2 - l_{20}) \\
 F_3 &= k_3 \cdot (l_{30} - l_3) \\
 F_4 &= k_4 \cdot (l_{40} - l_4)
 \end{aligned} \tag{4.86}$$

где  $l_{10}, l_{20}, l_{30}, l_{40}$  – начальные длины элементов модели, находим длины элементов, соответствующие деформированной модели на длине  $L$  и соответственно силы, приложенные к каждому элементу. В результате получаем значение силы, развивающееся всей моделью при заданной деформации:

$$F = 4 \cdot F_2 \quad (4.87)$$

Представленные формулы отражают математическую основу структурно-функциональной модели вязкоупругого поведения препарата миокарда, составленной из линейных упругих и вязких элементов, и обладающей нелинейными реологическими характеристиками.

#### 4.4.3. Учёт нелинейной упругости тайтина в модели WLC

Как уже упоминалось, тайтин считается основным источником пассивного напряжения кардиомиоцитов. Поэтому представляется разумным включить структуру, имитирующую тайтин, в модель морфофункциональной единицы миокарда. Реологические характеристики молекулы тайтина описываются так называемой Worm Like Chain (WLC) моделью [25, 113-114]. WLC модель устанавливает связь «сила – деформация» для молекулы тайтина в следующем виде:

$$f_{WLC} = \frac{kT}{A} \cdot \left[ \frac{1}{4 \cdot \left(1 - \frac{z}{L}\right)^2} - \frac{1}{4} + \frac{z}{L} \right] \quad (4.88)$$

где  $k$  – постоянная Больцмана,

$T$  – абсолютная температура,

$A$  – характеристическая константа,

$z$  – расстояние между концами молекулы,

$L$  – длина полностью распутанной молекулы.

Формально WLC модель представляет собой пружину, которая развивает упругую силу при деформации согласно уравнению 4.88. В нашем случае сила в WLC модели:  $F_{WLC} = \mu f_{WLC}$ , где  $\mu$  – коэффициент пропорциональности, характеризующий число молекул тайтина. Коэффициент  $\mu$  рассчитывается из отношения площади поперечного сечения исследуемого препарата к площади поперечного сечения саркомера. Исходя из литературных данных, считали, что ~80% объема препарата миокарда занимают кардиомиоциты, а примерно половина их площади поперечного сечения занимают саркомеры [16]. Зная диаметр исследуемого препарата, количество толстых нитей приходящихся на единицу площади поперечного сечения миофибриллы и полагая, что каждую миозиновую нить связывают с Z-дисками шесть молекул тайтина [164], оценивали число молекул тайтина.

Следующей задачей было определить, как именно модель WLC можно включить в структуру модели фасцикулы. В экспериментах показано, что папиллярная мышца обладает нелинейными реологическими характеристиками и в случае контрольного препарата, и в случае препарата с удаленными кардиомиоцитами. Это означает, что соединительнотканый каркас накладывает свои нелинейные вязкоупругие особенности на реологическую характеристику тайтина в многоклеточном препарате, то есть мы имеем некоторую суперпозицию реологических характеристик разных морфологических структур. Следовательно, включение WLC модели тайтина параллельно исходной, между краевыми несжимаемыми элементами (рис. 4.45) будет функционально неверным, т.к. в этом случае WLC блок не будет оказывать влияние на конструкционную вязкость модели. Ввиду того, что миоциты в исследуемых образцах ориентированы преимущественно продольно оси препарата и, соответственно, аналогично располагается тайтин, разумным было включить блоки модели WLC параллельно продольным элементам  $l_2$  исходной модели (рис. 4.46).

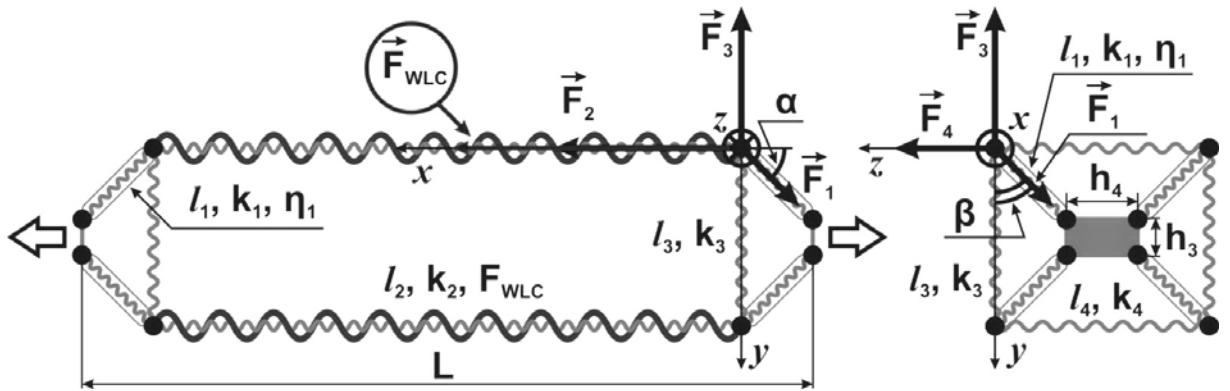


Рис. 4.46. Модель морфофункциональной единицы миокарда с блоком WLC

модели тайтина: слева вид сбоку, ось  $z$  направлена к нам; справа вид с торца, ось  $x$  направлена от нас. Светло-серым обозначены линейные упругие и вязкие элементы; темно-серым обозначены блоки WLC модели тайтина; Красным выделена  $F_{WLC}$  – сила, приложенная к блоку WLC модели тайтина. На рисунке отмечены:  $l_1, l_2, l_3, l_4$  – длины элементов модели;  $k_1, k_2, k_3, k_4$  – коэффициенты упругости;  $\eta_1$  – коэффициент вязкости;  $F_1, F_2, F_3, F_4$  – силы, приложенные к соответствующим элементам;  $h_3, h_4$  – размеры нерастяжимого элемента;  $L$  – длина всей модели;  $\alpha$  – угол между силой  $F_1$  и осью  $x$ ;  $\beta$  – угол между проекцией силы  $F_1$  на плоскость  $yz$  и осью  $y$ . Большими пустыми стрелками выделено направление деформации.

В этом случае система уравнений, описывающая поведение модели, примет следующий вид:

$$\begin{cases} 2 \cdot l_1 \cdot (F_2 + F_{WLC}) - (L - l_2) \cdot F_1 = 0 \\ 2 \cdot l_1 \cdot F_3 - (l_3 - h_3) \cdot F_1 = 0 \\ 2 \cdot l_1 \cdot F_4 - (l_4 - h_4) \cdot F_1 = 0 \\ (l_3 - h_3)^2 + (l_4 - h_4)^2 + (L - l_2)^2 = 4 \cdot l_1^2 \end{cases} \quad (4.89)$$

Решается эта система аналогично системе (4.85).

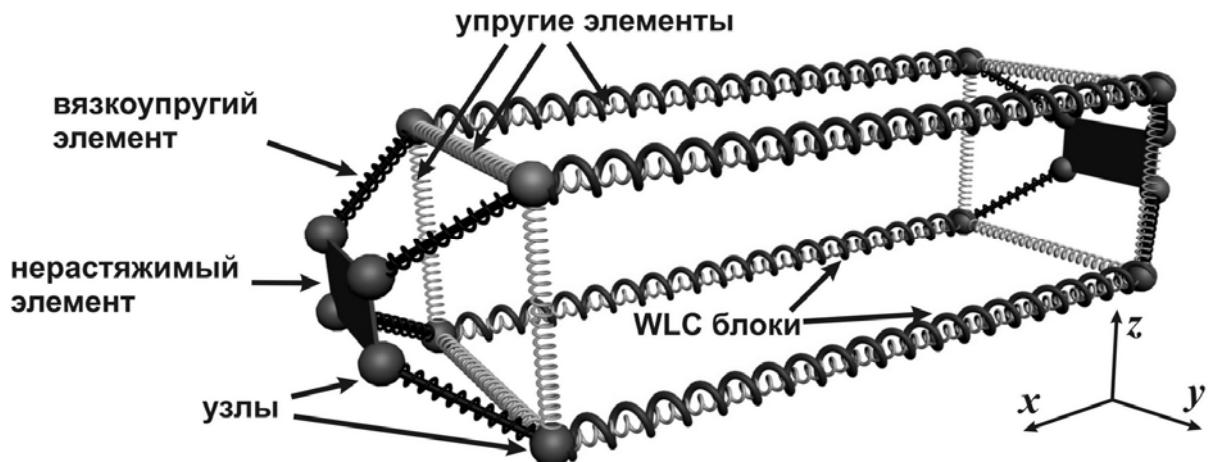


Рис. 4.47. Модель морфофункциональной единицы миокарда.

Включение блока WLC модели тайтина позволило сравнить поведение модели с блоком тайтина и без него. Это эквивалентно сравнению экспериментальных данных по реологическим испытаниям контрольных препаратов миокарда, и препаратов после удаления кардимиоцитов.

Итак, в разработанной модели морфофункциональной единицы миокарда (рис. 4.47) представлены блоки, имитирующие основные морфологические структуры, которые обеспечивают пассивное напряжение миокарда: соединительнотканый каркас и тайтин. Модель позволяет описать всю совокупность полученных экспериментальных данных по реологическим испытаниям папиллярных мышц в широком диапазоне деформаций при постоянных значениях коэффициентов вязкости и упругости структурных элементов модели.

# Глава 5. ВЯЗКОУПРУГИЕ СВОЙСТВА ПАПИЛЛЯРНОЙ МЫШЦЫ. ЭКСПЕРИМЕНТ И МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

---

В данной главе будут представлены результаты моделирования в рамках одного из вариантов трёхмерных конструкций, описанных в предыдущем разделе, и проведено сравнение с экспериментальными данными по вязкоупругим свойствам препаратов папиллярных мышц крысы, полученных в нормальных условиях и после воздействия препарата SDS [9, 165].

## 5.1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Эксперименты проведены на изолированных папиллярных мышцах правого желудочка сердец крысы. Перед получением статических и динамических характеристик исследуемых препаратов регистрировали основные характеристики их механической активности (рис. 5.1). Находили максимальную длину препарата, при которой устанавливался максимум активного напряжения ( $L_{\max}$ ) (рис. 5.2) и отношение «активное напряжение – пассивное напряжение» для определения функциональных свойств исследуемой папиллярной мышцы (п.п. 3.3.2).

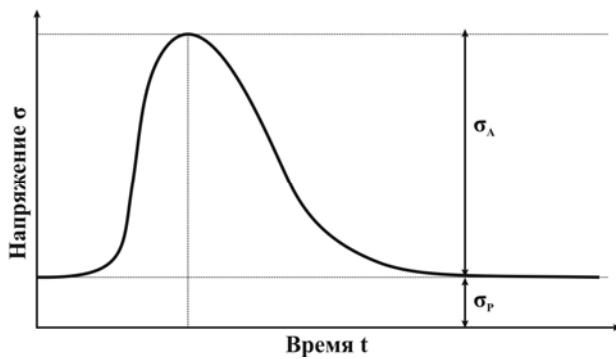


Рис. 5.1. Схема временного хода развития изометрического сокращения-расслабления многоклеточным препаратом миокарда:  $\sigma_A$  – максимальное активное напряжение, развиваемое препаратом в ходе сокращения,  $\sigma_P$  – напряжение, развиваемое пассивными элементами мышцы в неактивном состоянии.

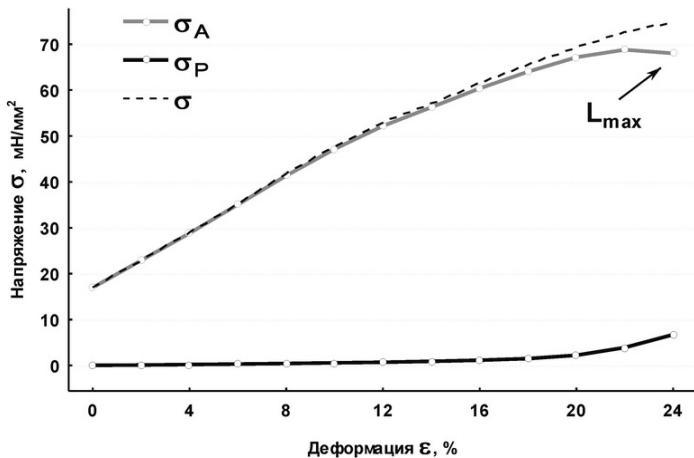


Рис. 5.2. Репрезентативный пример связи «напряжение – деформация» папиллярной мышцы правого желудочка крысы;  $\sigma_A$  – максимальная величина активного напряжения, развиваемого мышцей в ходе сокращения,  $\sigma_P$  – пассивное напряжение,  $\sigma$  – полное напряжение мышцы, стрелкой отмечена деформация соответствующая длине  $L_{\max}$ .

Из рисунка 5.2 видно, что при деформациях препарата наблюдается рост активной составляющей напряжения и, в то же время, прирост пассивной составляющей на порядок меньше. Такое поведение характерно для препаратов с хорошими функциональными свойствами, которые выбирались для дальнейших исследований.

После подтверждения качества исследуемого препарата получали квазистационарную связь «пассивное напряжение – деформация» (рис. 5.3) в соответствии с экспериментальным протоколом (см. 3.3.2).

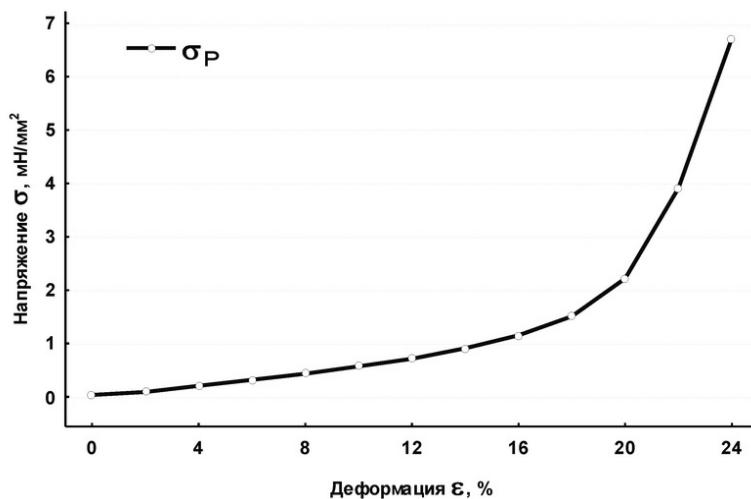


Рис. 5.3. Репрезентативный пример связи «пассивное напряжение – деформация» контрольной папиллярной мышцы правого желудочка крысы.

Обратим внимание на величину и зависимость пассивного напряжения от деформации. В области деформаций до  $1.16 L_0$  наблюдается практически линейный прирост пассивного напряжения с увеличением деформации, а в области больших деформаций прирост напряжения резко возрастает. Таким образом, связь «пассивное напряжение – деформация» носит отчетливо выраженный нелинейный характер.

Следующим этапом после регистрации и анализа статических характеристик препарата пассивного миокарда была запись и анализ релаксации пассивного напряжения папиллярных мышц в ответ на ступенчатое растяжение препарата с постоянным инкрементом, равным 2% от длины провиса  $L_0$ .

#### *5.1.1. Релаксация пассивного напряжения препаратов миокарда в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом*

Исходными данными для анализа являлись записи релаксации пассивного напряжения папиллярной мышцы в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом (рис. 5.4).

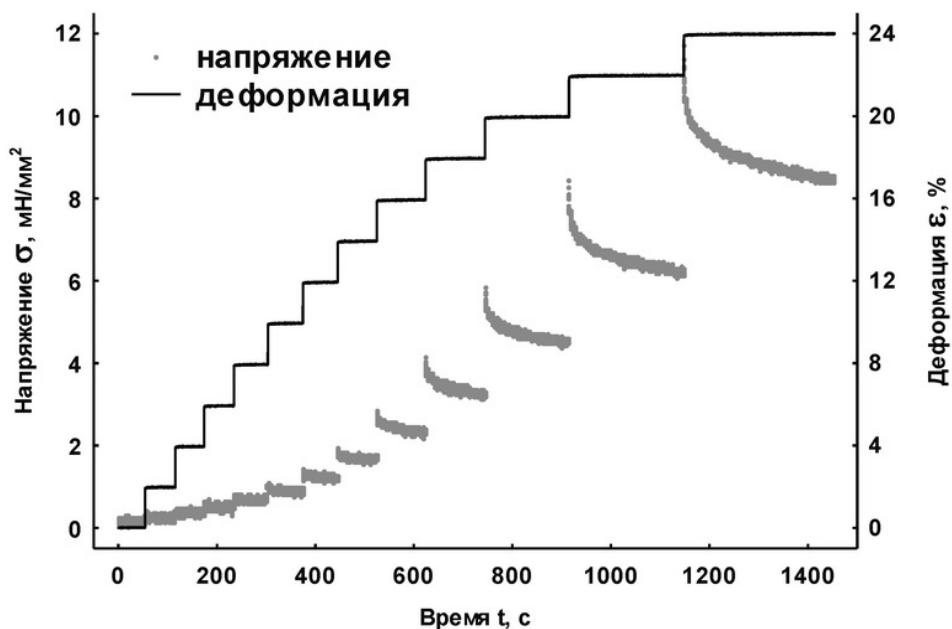


Рис. 5.4. Репрезентативный пример серии кривых релаксации напряжения контрольной папиллярной мышцы правого желудочка крысы в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом равным 2% от  $L_0$ . Серые кружки – напряжение, левая шкала; сплошная черная линия – деформация, правая шкала.

Как видно из рисунка 5.4, одно и то же приращение деформации на разных длинах препарата сопровождается изменением величины «ударного» напряжения, достигнутого в ходе мгновенной упругой реакции на ступенчатую деформацию, и скорости релаксации напряжения. Таким образом, наблюдается нелинейная связь не только в случае стационарной зависимости «напряжение – деформация», но и в случае динамических реологических характеристик. Отметим, что в области деформаций до 12% соотношение «сигнал – шум», в частности, величина ударного напряжения сопоставима с уровнем шума сигнала напряжения, что не позволяет адекватно оценить уровень напряжения. Поэтому для достоверного описания кривых релаксации напряжения сигнал подвергали фильтрации. Алгоритм фильтрации описан в [165]. Использование этого алгоритма позволило уверенно выделить значение сигнала напряжения (рис. 5.5).

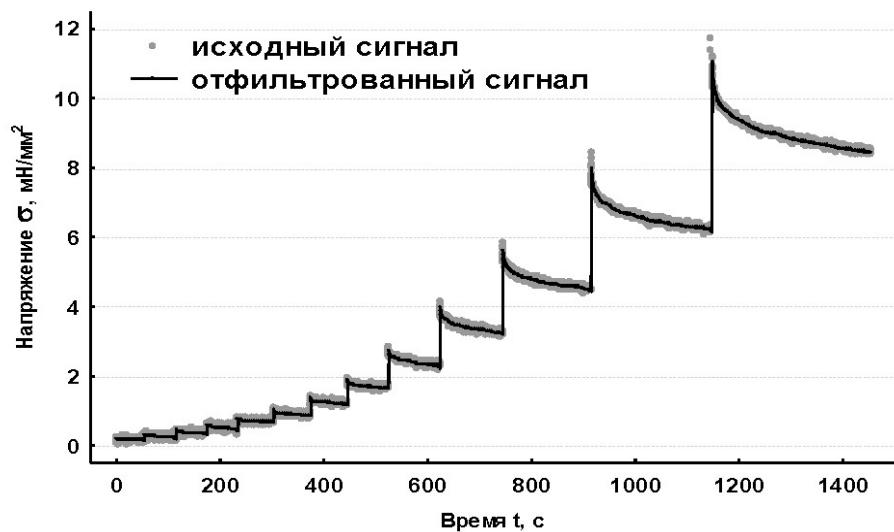


Рис. 5.5. Репрезентативный пример серии кривых релаксации напряжения контрольной папиллярной мышцы правого желудочка крысы в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом равным 2% от  $L_0$ : кружки – исходный сигнал, сплошная линия – сигнал после фильтрации.

5.1.2. Аппроксимация кривых релаксации напряжения, получение стационарной зависимости «напряжение-деформация» препаратов миокарда крысы

Для сравнения характеристик релаксации напряжения различных папиллярных мышц и количественной оценки их вязкости и жёсткости необходимо сопоставлять кривые релаксации напряжения в разных препаратах. Однако, ввиду различий механических свойств самих препаратов, а также различий временных интервалов «ступеней» релаксации, такая задача становится трудновыполнимой.

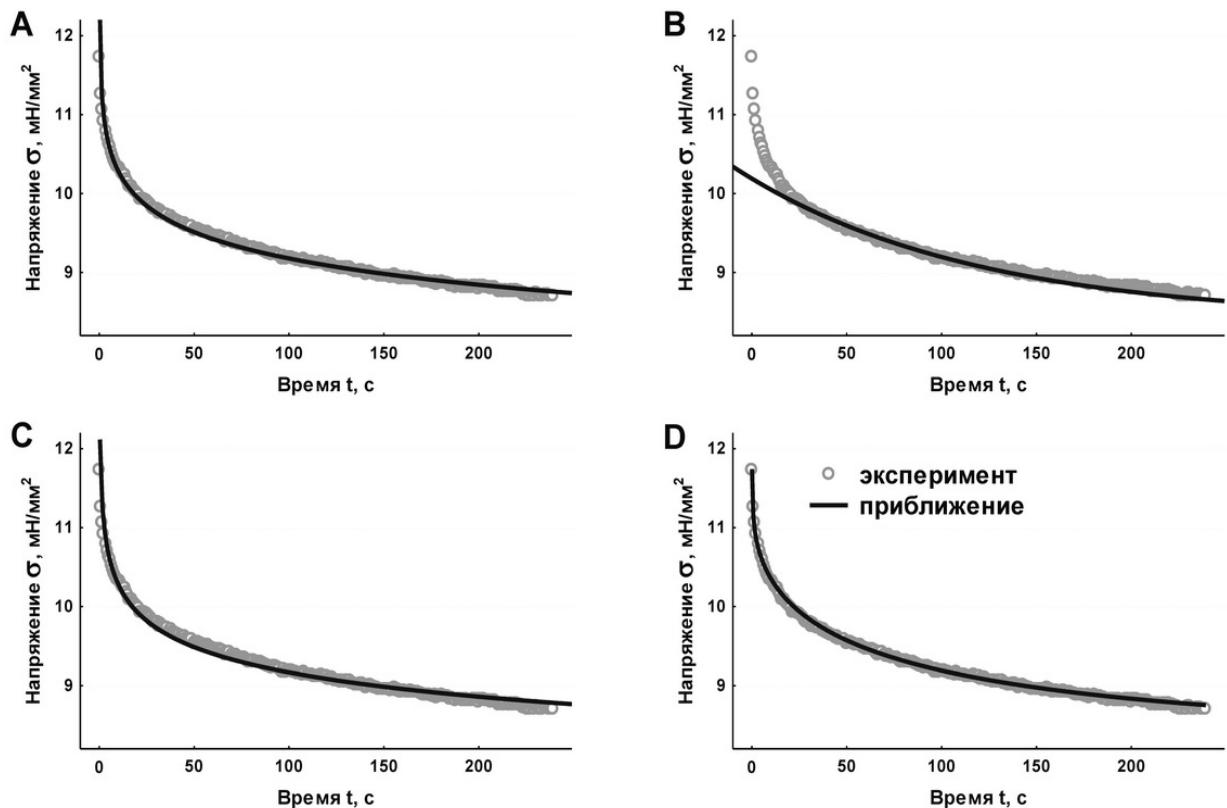


Рис. 5.6. Пример аппроксимации экспериментальных данных разными типами функциональных зависимостей: логарифмическая функция (A), степенная функция (B), показательная функция (C), функция вида  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-A\sqrt{t}} + B$  (D), где  $Y_{max}$  соответствует экспериментальному значению напряжения в момент начала релаксации (ударное напряжение).

Для сопоставления реологических характеристик данные по релаксации пассивного напряжения были аппроксимированы с последующей экстраполяцией при  $t \rightarrow \infty$  для получения стационарной зависимости «пассивное напряжение – деформация». Был проведен анализ нескольких типов функциональных зависимостей, позволяющих аппроксимировать кривые релаксации напряжения (рис. 5.6).

В таблице 5.1 приведены данные по параметрам аппроксимирующих функций, их поведении при  $t \rightarrow 0$ ,  $t \rightarrow \infty$  и параметрам достоверности аппроксимации  $R^2$ .

*Таблица 5.1*  
**Функции для аппроксимации экспериментальных данных по релаксации пассивного напряжения папиллярной мышцы**

Функция	$t \rightarrow 0$	$t \rightarrow \infty$	$R^2$
A) $F(t) = -0.576 \ln(t) + 11.512$	$F(t) \rightarrow \infty$	$F(t) \rightarrow -\infty$	0.9811
B) $F(t) = 2.341 e^{-0.0081t} + 7.983$	$F(t) \rightarrow 10.324$	$F(t) \rightarrow 7.983$	0.9783
C) $F(t) = 11.723 t^{-0.0613}$	$F(t) \rightarrow \infty$	$F(t) \rightarrow 0$	0.9737
D) $F(t) = 3.776 e^{-0.1588\sqrt{t}} + 7.976$	$F(t) \rightarrow 11.752$	$F(t) \rightarrow 7.976$	0.9977

Как видно из таблицы 5.1 функция вида  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-At} + B$  наилучшим образом аппроксимирует экспериментальные данные по релаксации пассивного напряжения. Параметр  $Y_{max}$  соответствует экспериментальному значению напряжения в момент начала релаксации. Коэффициент  $A$  определяет время релаксации напряжения, т.е. характеризует вязкость исследуемого препарата – чем меньше параметр  $A$ , тем меньше время релаксации и соответственно вязкость. Коэффициент  $B$  представляет собой стационарное значение пассивного напряжения.

Следующей задачей было выяснить, насколько достоверны значения параметров  $A$  и  $B$ , и адекватно ли выбрана аппроксимирующая функция. Адекватность выбора аппроксимирующей функции подтверждается данными по приближению одного и того же набора экспериментальных точек тремя способами. В первом случае для подбора параметров функции использовали весь набор экспериментальных точек (3000 точек). Во втором случае

использовали первые 2000 точек, и в третьем случае – первые 1000 точек. Анализ показал, что функция вида  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-At} + B$  достаточно достоверно воспроизводит экспериментальные кривые даже при использовании первых 1000 экспериментальных точек из 3000 (табл. 5.2). Результаты аппроксимации для каждого случая изображены на рисунке 5.7.

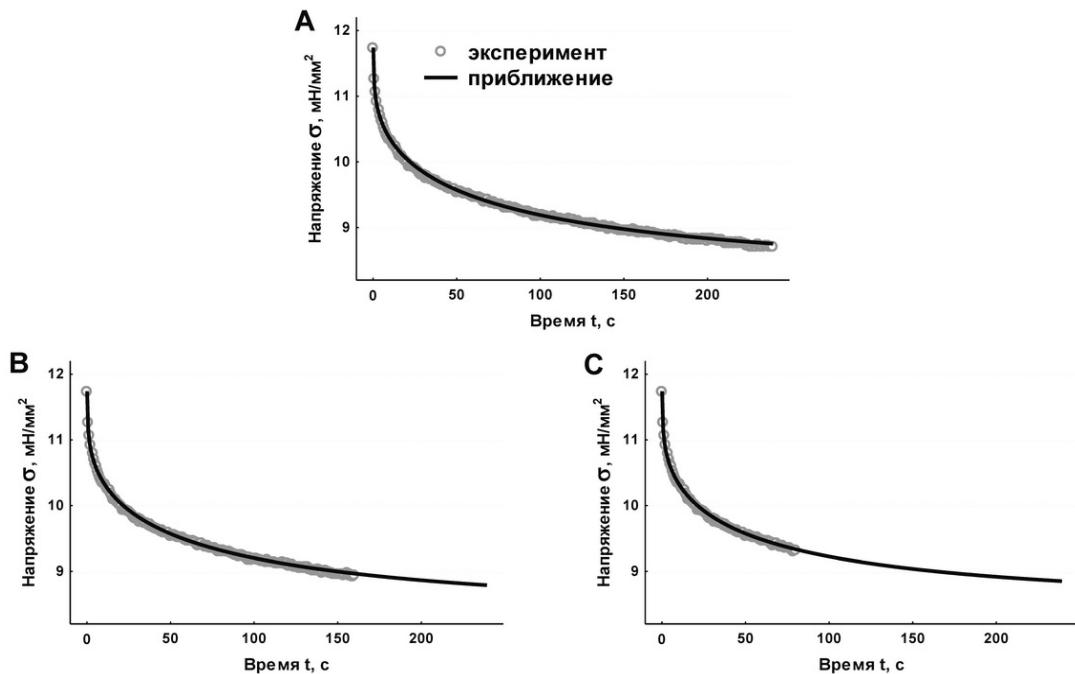


Рис. 5.7. Пример аппроксимации экспериментальных данных функцией вида:  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-At} + B$ . Для набора экспериментальных точек:  $N = 3000$  (A),  $N = 2000$  (B),  $N = 1000$  (C).

В таблице 5.2 представлены значения параметров А и В для каждого случая и коэффициент достоверности аппроксимации.

*Таблица 5.2*  
Значения параметров аппроксимирующей функции вида  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-At} + B$  и коэффициент достоверности аппроксимации.

	$N = 3000$	$N = 2000$	$N = 1000$
$Y_{max}$	11.752	11.752	11.752
$A$	-0.1588	-0.1625	-0.1356
$B$	7.976	8.021	8.106
$R^2$	0.9977	0.9955	0.9824

Следующим шагом было сопоставление квазистационарной зависимости «пассивное напряжение – деформация» папиллярной мышцы и

зависимости от деформации коэффициента  $B$ , отражающего стационарное значение пассивного напряжения. На рисунке 5.8А представлен репрезентативный пример зависимости «пассивное напряжение – деформация» и значения параметра  $B$  при разных деформациях, полученные из анализа кривых релаксации напряжения для папиллярной мышцы контрольной группы.

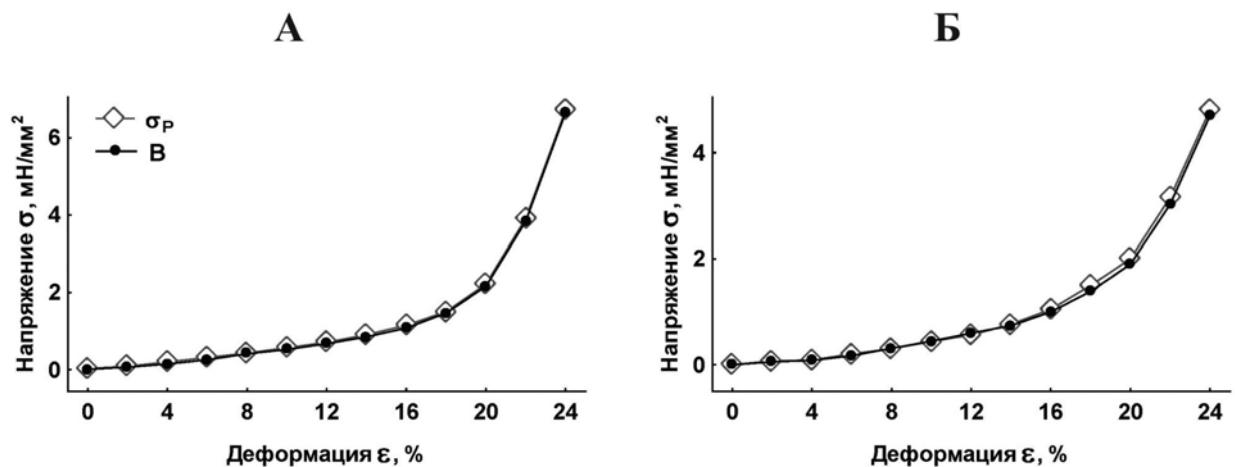


Рис. 5.8. Зависимость «пассивное напряжение – деформация»  $\sigma_p$  папиллярной мышцы (серые ромбики) и значения параметра  $B$  (черные кружки), полученных из анализа экспериментальных кривых релаксации напряжения. (А) – контрольный препарат, (Б) – препарат после удаления кардиомиоцитов.

Таким образом, показано, что использование функции вида  $f(t) = (Y_{max} - B) e^{-A\sqrt{t}} + B$  позволяет с высокой степенью точности аппроксимировать кривые релаксации пассивного напряжения изолированных препаратов миокарда. Достаточная степень точности аппроксимации достигается при наличии только начального участка кривой релаксации. Экстраполяция кривых релаксации этой функцией позволяет получить стационарную зависимость «пассивное напряжение – деформация» при  $t \rightarrow \infty$ . Это означает, что набор параметров аппроксимации релаксационных кривых даёт количественную оценку нелинейных вязкоупругих свойств исследуемого препарата, что, в свою очередь, делает возможным количественное сравнение реологических характеристик препаратов между собой, а также одного и того же препарата до и после различных воздействий.

Для проверки достоверности аппроксимации экспериментальных данных изложенным выше методом были проведены исследования реологических характеристик препаратов папиллярных мышц после обработки раствором додецил-сульфата натрия (SDS) (рис. 5.8Б). Как видно из рисунка 5.8Б предложенный метод позволяет достоверно аппроксимировать кривые релаксации напряжения препаратов, подвергнутых обработке раствором SDS.

В экспериментах получены и проанализированы реологические характеристики в препаратах папиллярной мышцы сердец крыс контрольной группы – 15 препаратов и препаратов группы SDS – 10 препаратов (рис. 5.9).

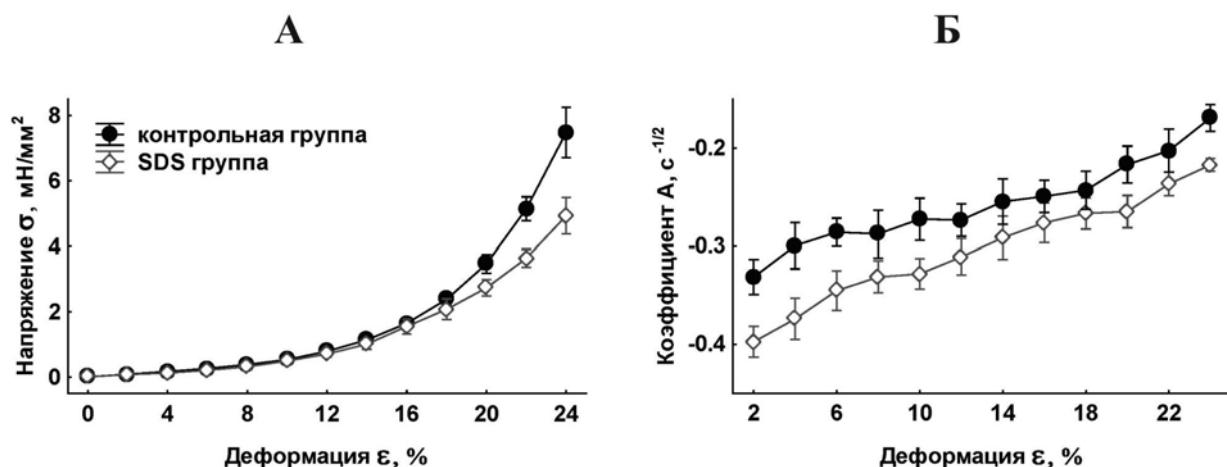


Рис. 5.9. Сопоставление реологических характеристик препаратов папиллярных мышц контрольной группы ( $N = 15, P < 0.05$ ) и SDS – группы ( $N = 10, P < 0.05$ ) 95% доверительный интервал. (А) – зависимости «пассивное напряжение – деформация», полученные экстраполяцией экспериментальных кривых релаксации напряжения, (Б) – зависимости параметра  $A$ , характеризующего вязкость, от величины деформации.

Исходя из представленных результатов, можно сделать следующий вывод: реологические характеристики группы контрольных препаратов папиллярных мышц и SDS – группы количественно существенно различаются, хотя характер нелинейности сохраняется. Децеллюляризация препарата приводила к уменьшению жёсткости препарата. При этом наибольшее падение жёсткости относительно контрольной группы ( $\sim 40\%$  –

50%) наблюдали на длинах больше  $1.18 L_0$ . Децеллюляризация также приводит к падению вязкости препарата, причем значительное уменьшение вязкости наблюдалось во всем диапазоне исследуемых деформаций.

### 5.1.3. Вязкоупругий гистерезис препаратов миокарда крысы

Совместно с кривыми релаксации напряжения важной динамической характеристикой вязкоупругого поведения папиллярных мышц является вязкоупругий гистерезис. Экспериментальные данные по вязкоупругому гистерезису позволяют оценить вязкость препаратов и энергию, рассеиваемую в тепло при различных режимах нагрузок. Исходными данными для анализа являлись записи динамики пассивного напряжения папиллярной мышцы при пилообразном изменении длины мышцы с амплитудой 4%  $L_0$  на разных длинах препарата (рис. 5.10А).

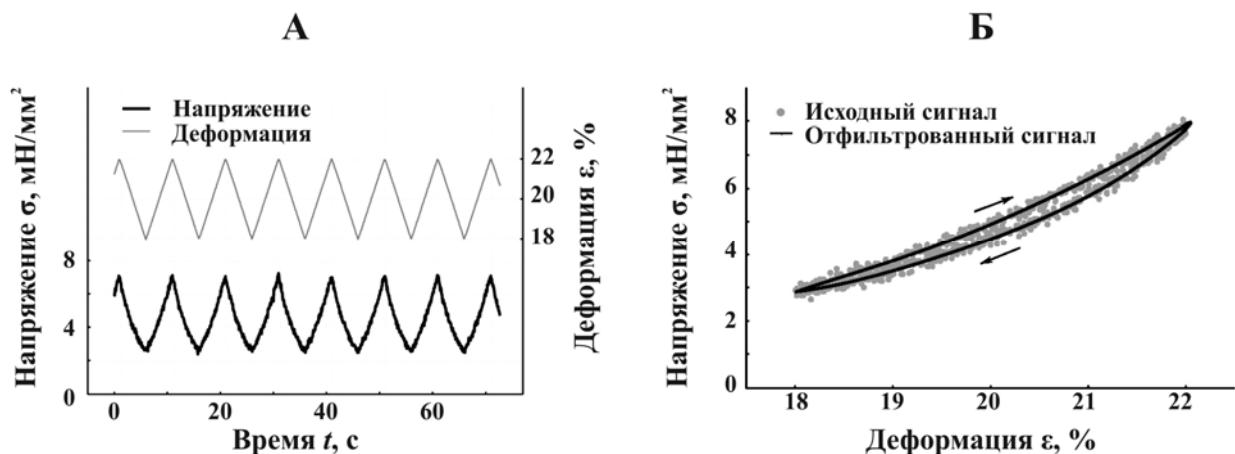


Рис. 5.10. (А) Пример записи изменения пассивного напряжения контрольной папиллярной мышцы (нижняя кривая, левая шкала) при пилообразном изменении длины мышцы (верхняя кривая, правая шкала) с амплитудой 4%  $L_0$  и периодом 10 с при исходной длине препарата  $1.18 L_0$ . (Б) Репрезентативный пример петли вязкоупругого гистерезиса пассивной папиллярной мышцы при исходной длине  $1.18 L_0$  с амплитудой 4% от  $L_0$  и периодом 10 с. Стрелками указано направление хода петли гистерезиса. Кружки – исходный сигнал, сплошная линия – отфильтрованный сигнал.

Затем временные зависимости пассивного напряжения и длины препарата были приведены к координатам «напряжение – деформация». Отметим, что на записях напряжения в экспериментах по вязкоупругому гистерезису наблюдался значительный шум. Поэтому алгоритм фильтрации экспериментальных данных, отработанный на кривых релаксации пассивного напряжения, был применен и для данных по вязкоупругому гистерезису (рис. 5.10Б).

Были получены данные по вязкоупругому гистерезису папиллярных мышц в пассивном состоянии: на длине  $1.08 L_0$ , на длине  $1.18 L_0$  с периодами пилообразного изменения длины мышцы 1 с и 10 с для контрольной группы мышц ( $N = 15$ ,  $P < 0.05$ ) и SDS – группы ( $N = 10$ ,  $P < 0.05$ ). Результаты представлены на рисунке 5.11.

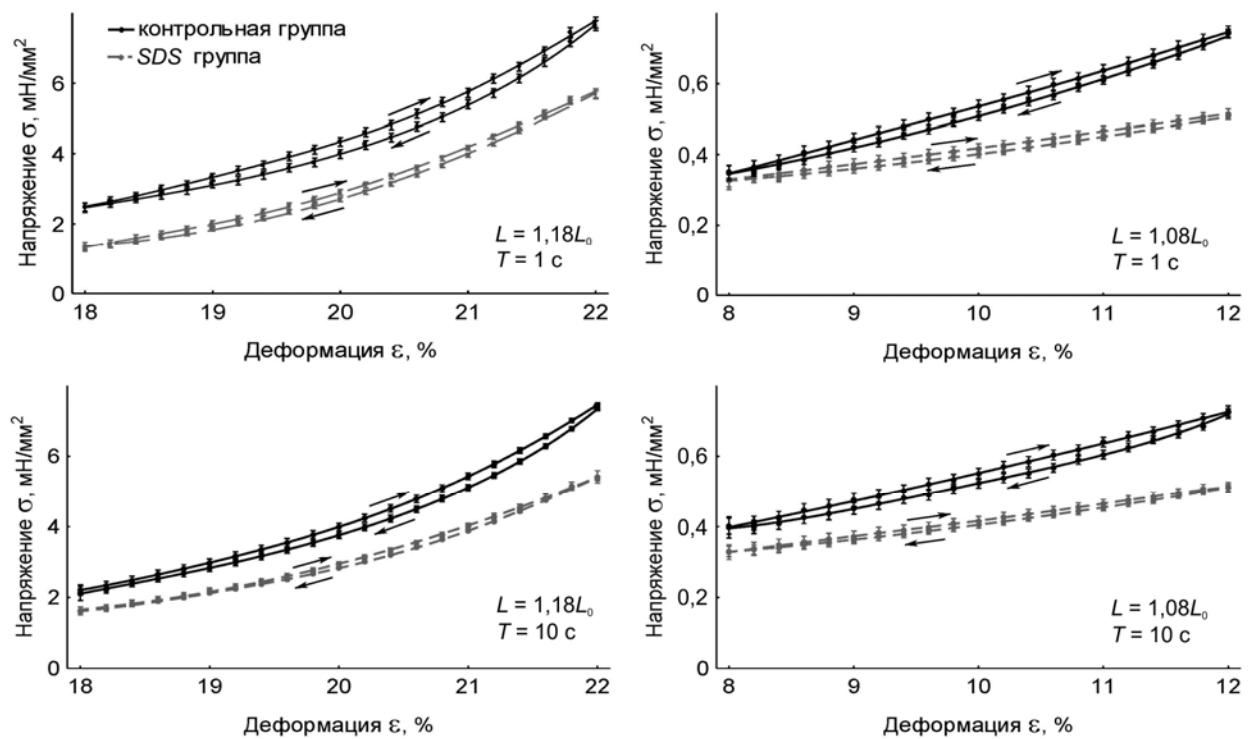


Рис. 5.11. Вязкоупругий гистерезис препаратов папиллярных мышц контрольной группы (черные сплошные линии) ( $N = 15$ ,  $P < 0.05$ ) и SDS – группы (серые прерывистые линии) ( $N = 10$ ,  $P < 0.05$ ). В правом нижнем углу графиков указаны длины мышц  $L$ , на которых записывался гистерезис, и период пилообразного изменения длины мышц  $T$ . Стрелками отмечено направление хода петли гистерезиса.

В таблице 5.3 приведены значения площадей петель вязкоупругого гистерезиса для контрольной группы мышц и SDS – группы на длинах мышц  $1.08 L_0$  и  $1.18 L_0$  с периодами пилообразного изменения длины мышцы 1 с, 10 с. Эти значения пропорциональны энергии, переходящей в тепло в цикле «растяжение-укорочение» папиллярной мышцы при пилообразном изменении ее длины.

Таблица 5.3

**Значения площадей петель вязкоупругого гистерезиса (в единицах напряжения) контрольной группы мышц ( $N = 15, P < 0.05$ ) и SDS – группы ( $N = 10, P < 0.05$ )**

	$L = 1.18 L_0$ $T = 1$ с	$L = 1.18 L_0$ $T = 10$ с	$L = 1.08 L_0$ $T = 1$ с	$L = 1.08 L_0$ $T = 10$ с
контрольная группа	$5.152 \pm 0.420$	$4.120 \pm 0.405$	$0.544 \pm 0.154$	$0.493 \pm 0.168$
SDS – группа	$2.422 \pm 0.352$	$2.000 \pm 0.322$	$0.220 \pm 0.085$	$0.190 \pm 0.094$

Как видно из представленных результатов (рис. 5.11, табл.5.3), значения площадей петель вязкоупругого гистерезиса препаратов контрольной группы при всех исследованных режимах нагрузок больше площадей петель гистерезиса SDS – группы. Кроме того, обращает на себя внимание различие на порядок площади петли гистерезиса контрольной группы и SDS – группы на длинах  $1.18 L_0$  и  $1.08 L_0$ . Вид петли вязкоупругого гистерезиса определяется уникальными вязкоупругими свойствами миокарда. Отметим, что для всех рассмотренных случаев длин препаратов и периодов задания деформаций, угол наклона петли гистерезиса препаратов контрольной группы был больше угла наклона петли гистерезиса препаратов SDS – группы.

Таким образом, исходя из данных по вязкоупругому гистерезису папиллярных мышц, установлено: как и в случае релаксации напряжения в ответ на ступенчатое растяжение, видно, что децеллюляризация препарата приводит к значительному изменению реологических характеристик мышц. Показано, что при удалении кардиомиоцитов уменьшается и жёсткость, и вязкость папиллярных мышц. На длинах вблизи длины провисания площадь

петли гистерезиса SDS-препараторов составляет  $\sim 40\%$  от площади петли гистерезиса контрольных препаратов. А на длинах вблизи максимальной длины площадь петли гистерезиса SDS-препараторов составляет  $\sim 50\%$  от площади петли гистерезиса контрольных препаратов. Такое изменение вклада соединительнотканного каркаса говорит о том, что при больших деформациях в соединительной ткани проявляется конструкционная жёсткость, что предотвращает перерастяжение миокарда.

Резюмируя результаты анализа экспериментальных данных по статическим и динамическим испытаниям папиллярных мышц крысы в пассивном состоянии, приходим к следующему выводу: использованная методика позволяет количественно оценить вклад кардиомиоцитов и соединительнотканного каркаса в нелинейные вязкоупругие свойства изолированных препаратов миокарда. Однако для более глубоко понимания механизмов вязкоупругого поведения миокарда, влияния всевозможных факторов на реологические характеристики ткани сердца и сопоставления реологических характеристик, полученных из разных экспериментов необходимо разработать математическое описание процессов нелинейного вязкоупругого отклика миокарда на различные нагрузки. Отметим, что в рамках какой-либо одной из существующих моделей невозможно описать всю совокупность вязкоупругих свойств папиллярной мышцы, полученную в эксперименте. Таким образом, требуется разработать модель, позволяющую описывать нелинейное вязкоупругое поведение миокарда в целом и предсказывать результат того или иного воздействия на его структуру.

## 5.2. РЕЗУЛЬТАТЫ 3D МОДЕЛИРОВАНИЯ

В ходе работы были получены и проанализированы следующие экспериментальные данные по реологическим испытаниям изолированных

препараторов миокарда крысы в пассивном состоянии контрольной группы и группы препаратов после удаления миоцитов:

- релаксация пассивного напряжения в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом;
- стационарная связь «напряжение – деформация»;
- вязкоупругий гистерезис препаратов при пилообразном изменении длины препарат на различных длинах с разными частотами.

Экспериментальные данные по релаксации пассивного напряжения в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом позволяют получить наиболее полную информацию о вязкоупругом поведении папиллярной мышцы, а именно временнóе изменение эффективной вязкости и жёсткости препарата во всем исследуемом диапазоне деформаций. Поэтому верификацию модели осуществили по данным релаксации пассивного напряжения в ответ на ступенчатое растяжение препарата. Для верификации параметров структурных элементов модели была использована специальная программа, в которой проводился подбор параметров методом наименьших квадратов.

Отклик полного напряжения модели в ответ на деформацию представляет собой нелинейную многопараметрическую функцию, которая не является квадратичной или полиномиальной формой. Поэтому необходим выбор такого алгоритма, который позволяет оптимизировать затраты машинных ресурсов, и отбросить варианты с ошибочным набором параметров модели. Алгоритм подбора параметров реализован на основе усовершенствованного алгоритма Левенберга – Марквардта, оптимизированного для подбора параметров сильно нелинейной функции, не являющейся квадратичной формой [165]. При подборе параметров использовался полный набор, то есть экспериментальные точки всех ступеней в записи релаксации напряжения. Данные о геометрии папиллярной мышцы на длине провиса  $L_0$  позволяли определить геометрию модели в

недеформированном состоянии, а также оценить количество молекул тайтина – параметр, необходимый для идентификации блока WLC модели тайтина. Остальные параметры для WLC модели тайтина взяты из литературных данных [166].

### *5.2.1. Релаксация напряжения в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом и стационарная зависимость «напряжение – деформация»*

Первым этапом верификации модели являлся подбор параметров структурных элементов модели по экспериментальным данным релаксации напряжения контрольного препарата миокарда. Была определена геометрия модели в недеформированном состоянии, соответствующая длине провиса  $L_0$ , и заданы моменты времени, в которые происходило ступенчатое изменение длины. Динамику отклика модели определяли в реальном масштабе времени. Отметим, что в моменты времени перед изменением длины препараты миокарда находились в квазистационарном состоянии (т.е. релаксация напряжения продолжалась, но в дальнейшем не приводила к значительному изменению величины пассивного напряжения). Этот факт был учтён при численных экспериментах на модели – ступенчатое растяжение модели задавали в те же самые моменты времени, что и для реального препарата. Затем отклик модели сопоставляли с экспериментальной записью серии кривых релаксации пассивного напряжения папиллярной мышцы и подбирали значения параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели.

На рисунке 5.12А сопоставлены серия кривых релаксации пассивного напряжения контрольной папиллярной мышцы крысы в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом, равным 2% от  $L_0$ , и динамика

отклика 3D модели морфофункциональной единицы миокарда на ту же деформацию.

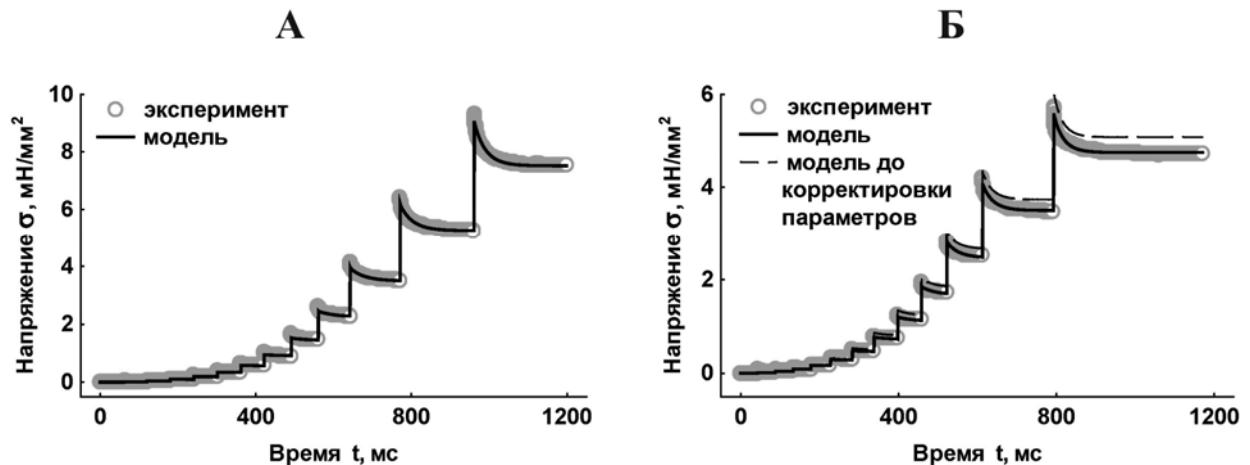


Рис. 5.12. Релаксация напряжения в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом равным 2% от  $L_0$ . Контрольный препарат и модель с WLC блоком – слева, препарат после удаления кардиомиоцитов и модель без WLC блока – справа.

Следующий этап верификации модели заключался в удалении WLC блока и сопоставление отклика модели без WLC блока с экспериментальными данными по релаксации напряжения препарата после обработки 1% раствором SDS. На рисунке 5.12Б представлены серия кривых релаксации пассивного напряжения папиллярной мышцы крысы (тот же самый образец мышцы, что и в случае контрольного препарата) после децеллюляризации в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом равным 2% от  $L_0$  и динамика отклика 3D модели морфофункциональной единицы миокарда без WLC блока на ту же серию деформаций.

Как видно из рисунка 5.12Б, при использовании набора параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели, который был подобран для случая контрольного препарата, имелось существенное расхождение экспериментальных кривых релаксации напряжения и отклика модели. Рассмотрим факторы, которые могут влиять на этот феномен:

- погрешность при оценке  $\mu$  – коэффициента пропорциональности, характеризующего число молекул тайтина;
- возможное частичное повреждение коллагенового каркаса под воздействием раствора SDS;
- вклад цитоскелета кардиомиоцитов в пассивное напряжение препарата.

В действительности достаточно сложно достоверно оценить коэффициент пропорциональности, характеризующий число молекул тайтина в папиллярной мышце. Это обусловлено невозможностью точно определить диаметр самой мышцы, а также диаметр кардиомиоцитов в каждом конкретном эксперименте.

Нами показано, что воздействие раствора SDS не влияет значительно на морфологию соединительнотканного каркаса: препарат после децеллюляризации сохраняет форму, на гистологических срезах препаратов после децеллюляризации видно, что целостность соединительнотканых волокон не нарушена [165]. Однако нельзя исключать влияние SDS на молекулярную структуру соединительнотканного каркаса. Как детергент, SDS может влиять на коллагеновый каркас на молекулярном уровне, приводя к изменению его вязкоупругих свойств, и при этом мы не будем наблюдать изменений в морфологической структуре.

С нашей точки зрения, расхождения между экспериментальными кривыми релаксации напряжения SDS препарата и откликом модели объясняются участием дополнительных структур – цитоскелета миоцитов, вносящего вклад в пассивное напряжение папиллярной мышцы. Поэтому была проведена корректировка значений параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели без WLC блока. В таблице 5.4 сопоставлены значения параметров жёсткости и вязкости структурных элементов 3D модели морфофункциональной единицы миокарда для случаев контрольного препарата, и препарата, подвергнутого децеллюляризации.

**Значения параметров вязкости и упругости структурных элементов  
3D модели морфофункциональной единицы миокарда**

	контрольный препарат	SDS препарат
$k_1$ , мН/мм <sup>2</sup>	10.081	8.266
$k_2$ , мН/мм <sup>2</sup>	8.477	7.379
$k_3$ , мН/мм <sup>2</sup>	0.227	0.202
$k_4$ , мН/мм <sup>2</sup>	0.227	0.202
$\eta_1$ , мН/мм <sup>2</sup> ·с	0.426	0.291

Как видно из таблицы 5.4, для адекватного воспроизведение кривых релаксации напряжения SDS препарата в модели, помимо удаления WLC блока, необходимо также уменьшить жёсткость и вязкость структурных элементов примерно на 10 – 15% по сравнению со значениями этих параметров для случая контрольного препарата.

В численных экспериментах на модели показано, что децеллюляризация препаратов миокарда приводит не только к удалению структуры, имитирующей тайтин, но также и к удалению вклада цитоскелета миоцитов. Этот факт согласуется с тем, что цитоскелет кардиомиоцитов может вносить вклад в пассивное напряжение изолированных препаратов миокарда [125].

Получив динамику отклика 3D модели морфофункциональной единицы миокарда на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом, используя значения параметров жёсткости структурных элементов модели  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ , и устремив вязкость  $\eta_1$  к нулю, мы получили стационарную зависимость «напряжение – деформация» отклика модели для случаев контрольного препарата и SDS препарата с учётом корректировки. На рисунке 5.3 сопоставлены графики стационарных зависимостей «напряжение – деформация» контрольной папиллярной мышцы и этой же мышцы после децеллюляризации и графики стационарного отклика модели для контрольного и SDS препарата.



Рис. 5.13. Сопоставление стационарной характеристики «пассивное напряжение – деформация» папиллярной мышцы крысы (кружки) и стационарного отклика 3D модели морфофункциональной единицы миокарда (линии) на деформацию. На рисунке характеристики контрольного препарата и модели с WLC-блоком отмечены черным цветом, характеристики препарата после удаления кардиомиоцитов и модели без WLC-блока с учётом корректировки параметров – серым.

Таким образом, анализируя результаты верификации 3D модели можно сделать следующий вывод: предложенная модель адекватно описывает и динамические, и статические реологические характеристики изолированных папиллярных мышц в пассивном состоянии. Численные эксперименты на модели подтверждают, что тайтин, как основной источник пассивного напряжения миоцитов, вносит существенный вклад в вязкоупругие свойства папиллярных мышц. Удаление структурных элементов модели, имитирующих тайтин, приводит к значительному уменьшению жёсткости и вязкости модели в целом. Однако известно, что помимо тайтина в вязкоупругие свойства миоцитов вносит вклад цитоскелет [125]. Этот факт нашел отражение в модели, хотя изначально вклад цитоскелета не учитывался.

### 5.2.2. Вязкоупругий гистерезис в 3D модели

Вязкоупругий гистерезис, как отмечено в главе 4, является важной динамической характеристикой вязкоупругого поведения папиллярных

мышц. Данные по вязкоупругому гистерезису папиллярной мышцы крысы и сопоставлены с откликом модели морфофункциональной единицы миокарда на различных длинах препарата и при различных частотах изменения длины. Были сопоставлены экспериментальные данные по вязкоупругому гистерезису тех же самых папиллярных мышц, которые были использованы при верификации параметров модели по данным релаксации напряжения. Параметры структурных элементов модели не изменились. Гистерезис в модели воспроизводился в реальном масштабе времени. На рисунке 5.14 представлены результаты сопоставления данных по вязкоупругому гистерезису папиллярной мышцы крысы и отклика модели морфофункциональной единицы миокарда при пилообразном изменении длины с амплитудой 4% от  $L_0$  [165].

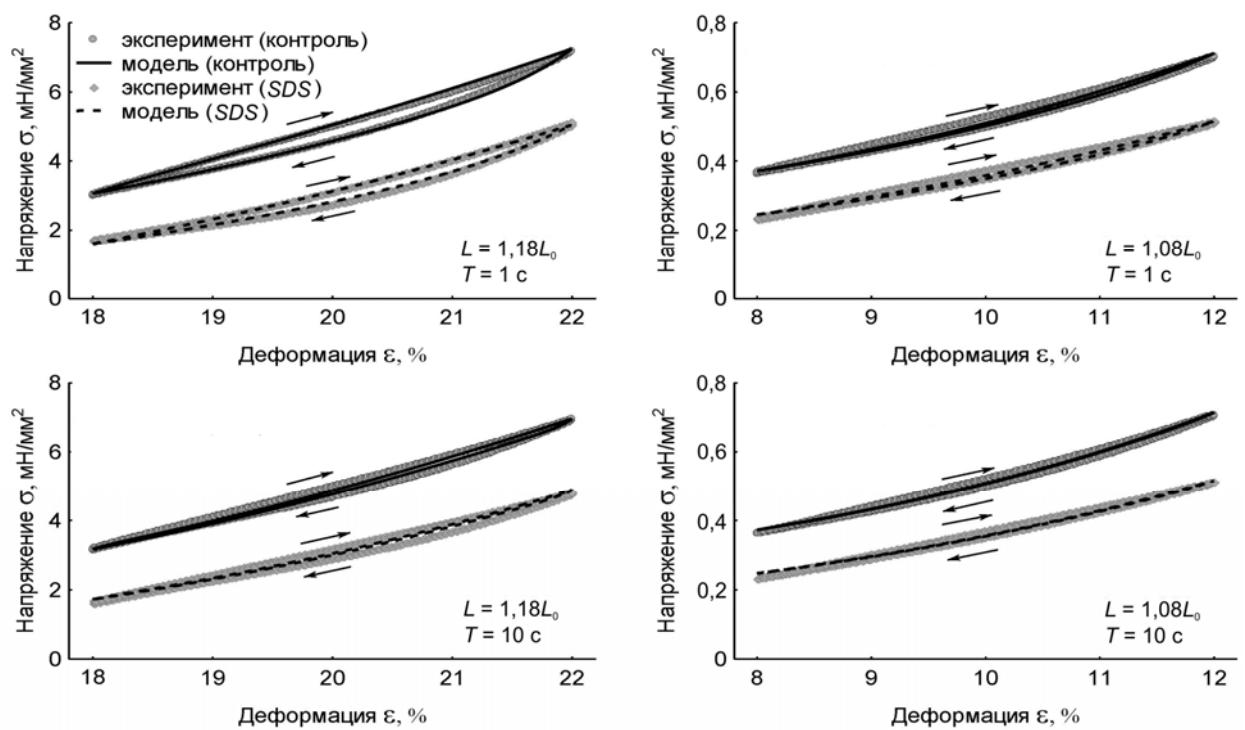


Рис. 5.14. Вязкоупругий гистерезис. Петли гистерезиса контрольного препарата – кружки, петли гистерезиса модели с WLC-блоком – сплошные линии, петли гистерезиса препарата после удаления кардиомиоцитов – ромбики, петли гистерезиса модели без WLC-блока – пунктирные линии. В правом нижнем углу графиков указаны длина препарата и модели  $L$ , на которой записывался гистерезис, и период пилообразного изменения длины препарата  $T$ . Стрелками указано направление хода петли гистерезиса.

Был также проведён расчёт площади петли вязкоупругого гистерезиса модели для каждого случая длины препарата и частот изменения длины. Значения площадей вязкоупругого гистерезиса для модели и папиллярной мышцы, по реологическим характеристикам которой проводилась верификация модели, представлены в таблице 5.5.

*Таблица 5.5*

**Значения площадей петель вязкоупругого гистерезиса папиллярной мышцы крысы и в 3D модели морфофункциональной единицы миокарда (в единицах напряжения - МН/мм<sup>2</sup>)**

	контрольный препарат		SDS препарат	
	мышца	модель	мышца	модель
$L = 1.18 L_0$ $T = 1 \text{ с}$	4.786	6.015	2.755	2.325
$L = 1.18 L_0$ $T = 10 \text{ с}$	3.754	1.540	2.280	0.460
$L = 1.08 L_0$ $T = 1 \text{ с}$	0.423	0.134	0.281	0.132
$L = 1.08 L_0$ $T = 10 \text{ с}$	0.355	0.031	0.191	0.022

Как видно из представленных результатов (рис. 5.14, табл. 5.5), площади петель вязкоупругого гистерезиса 3D модели и реального препарата различаются количественно. Однако динамика изменения площадей для каждого из случаев испытаний сохраняется качественно. Площадь петли гистерезиса контрольного препарата больше площади гистерезиса SDS препарата для всех рассмотренных длин и периодов пилообразного изменения длины. При больших длинах и меньших периодах пилообразного изменения длины площадь модельного гистерезиса больше. Различия экспериментальных значений площади гистерезиса и результатов моделирования могут быть обусловлены следующими факторами:

- модель более чувствительна к уменьшению периода изменения длины, чем реальная папиллярная мышца;
- при малых деформациях имеется существенная погрешность в измерении уровня напряжения папиллярных мышц;

- количество значащих точек, по которым проводится верификация модели, на малых деформациях (на длине  $1.08 L_0$ ) значительно меньше, чем на больших деформациях (на длине  $1.18 L_0$ ).

Следует отметить, что величина пассивного напряжения модели в вершинах петли гистерезиса на всех длинах и периодах пилообразного изменения длины совпадает с этой величиной у папиллярной мышцы. Таким образом, 3D модель качественно отражает изменения площади петли гистерезиса изолированного препарата миокарда при разных режимах нагрузки, а также количественно воспроизводит жёсткость препарата в этих испытаниях. Подчеркнем, что верификация модели по данным вязкоупругого гистерезиса препарата папиллярной мышцы была проведена при наборе параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели, полученных из результатов анализа кривых релаксации напряжения. Кроме того, модель хорошо воспроизводит реологические характеристики препаратов и контрольной группы, и SDS группы.

Итак, проведенная верификация модели показала хорошее совпадение реологических характеристик папиллярных мышц, полученных в экспериментах, и отклика модели.

### *5.2.3. Влияние геометрии 3D модели на вязкоупругие свойства*

Необходимо отметить, что изменения геометрии оказывают значительное влияние на результирующий отклик модели. В численных экспериментах на модели исследовано влияние изменений в геометрии на отклик модели при сохранении значений параметров жёсткости и вязкости структурных элементов модели. На рисунке 5.15 представлены схемы изменения формы модели и соответствующие результирующие отклики модели в координатах «напряжение – деформация».

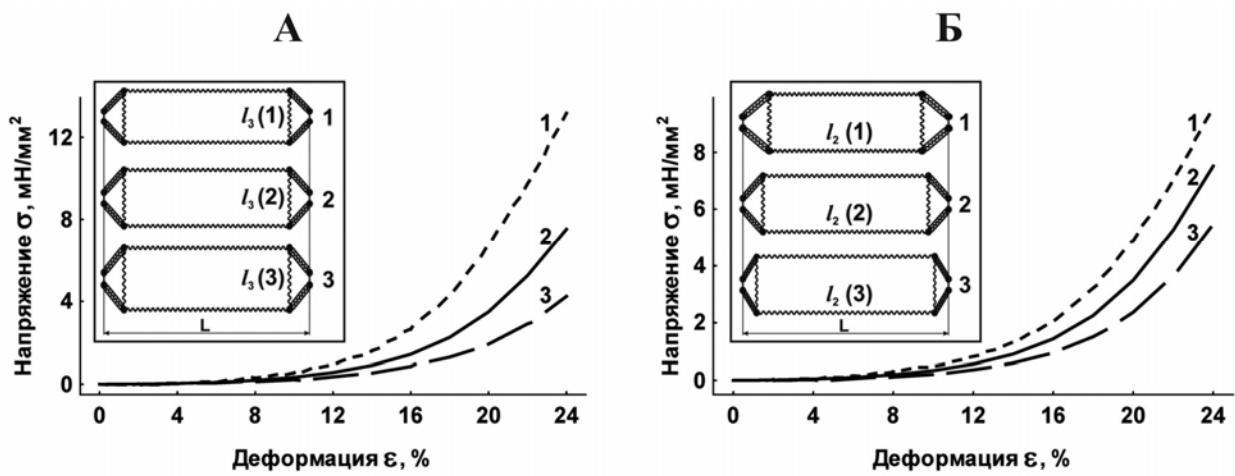


Рис. 5.15. Зависимости «напряжение – деформация» 3D модели при разных значениях длин поперечных элементов (А) и продольных элементов (Б). Цифрой 2 отмечена схема и отклик модели с исходными параметрами; цифрой 1 – схема и отклик модели с уменьшенными значениями параметров; цифрой 3 – схема и отклик модели с увеличенными значениями параметров.

Как видно из рисунка 5.15, увеличение (уменьшение) длин поперечных элементов на 10%, эквивалентное увеличению (уменьшению) площади поперечного сечения без изменения геометрических размеров остальных элементов, приводит к смещению кривой характеристики «напряжение – деформация» вниз (вверх) по отношению к кривой, полученной в модели с исходной геометрией. Увеличение (уменьшение) длин продольных элементов на 2% без изменения геометрических размеров остальных элементов, приводит к смещению кривой характеристики «напряжение – деформация» вниз (вверх) по отношению к кривой, полученной в модели с исходной геометрией. Отметим, что изменение размеров и поперечных, и продольных элементов модели без изменения размеров остальных элементов приводит к изменению угла наклона вязкоупругого элемента Кельвина к продольной оси модели, определяющего степень нелинейности отклика модели.

#### 5.2.4. Моделирование неоднородности пассивного миокарда

Для моделирования неоднородности миокарда составили механическую систему из двух последовательно соединённых частей, характеризуемых различными, как геометрическими, так и вязкоупругими параметрами (рис. 5.12А). На первом этапе была введена геометрическая неоднородность по параметру  $l_2$ : для модели 2 параметр  $l_2$  был уменьшен на 5% по сравнению с  $l_2$  для модели 1. В результате характеристика «напряжение – деформация» полной системы сместилась вверх (рис. 5.16Б). Для того чтобы компенсировать эту геометрическую неоднородность, были изменены параметры упругости для каждой из моделей (табл. 5.6). При этом характеристика «напряжение – деформация» системы приняла первоначальный вид (рис. 5.16В). Как видно из таблицы 5.6 для компенсации геометрической неоднородности введением неоднородности по упругим параметрам необходимо уменьшить значения упругих коэффициентов. То есть для достижения такого же уровня жёсткости, как в случае системы из однородных частей, требуются менее жёсткие неоднородные элементы. Это говорит о том, что наличие неоднородности обеспечивает более эффективную структурную организацию сегментов в миокарде.

Таблица 5.6

**Параметры структурных элементов модели из двух последовательно соединённых частей**

	Однородная система		Геометрическая неоднородность		Упругая неоднородность	
	1	2	1	2	1	2
$k_1, \text{ мН/мм}^2$	10.081	10.081	10.081	10.081	8.572	9.522
$k_2, \text{ мН/мм}^2$	8.477	8.477	8.477	8.477	5.691	8.896
$k_3, \text{ мН/мм}^2$	0.227	0.227	0.227	0.227	0.184	0.103
$k_4, \text{ мН/мм}^2$	0.227	0.227	0.227	0.227	0.184	0.103
$l_2/l_0$	0.955	0.955	0.955	0.915	0.955	0.915

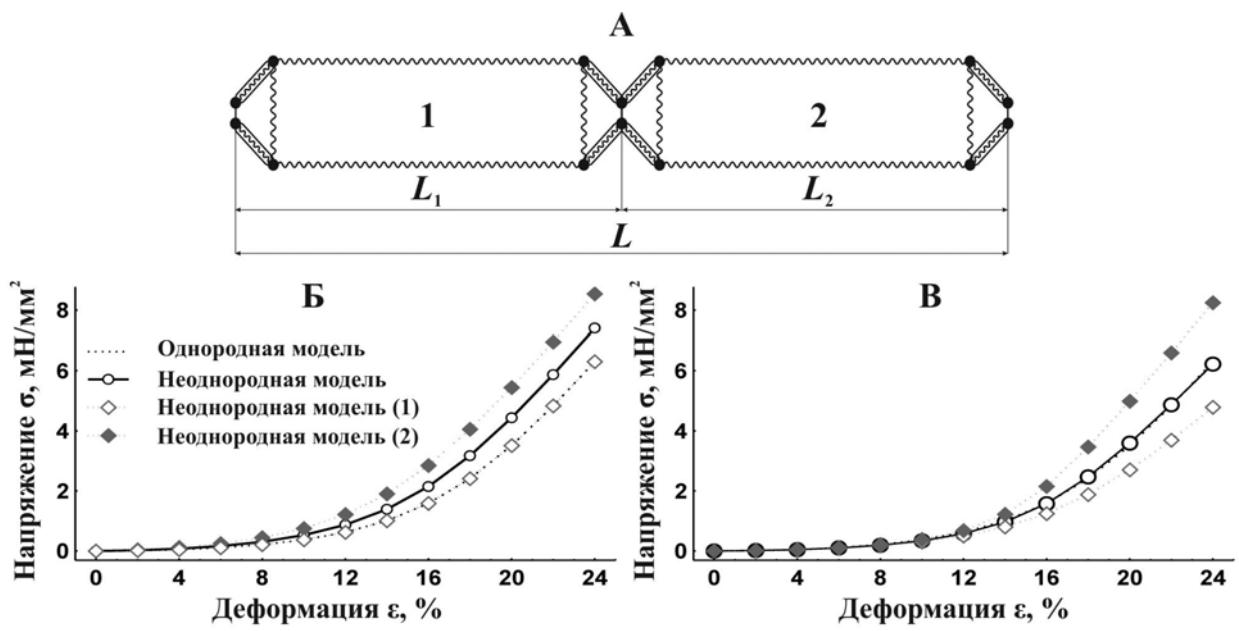


Рис 5.16. Зависимости «напряжение – деформация» (Б, В) для модели, составленной из двух последовательно соединённых частей (А).

Этот подход в будущем, на наш взгляд может определить прорыв в теоретическом исследовании механических свойств пассивного миокарда, позволяя учесть такую, во многих отношениях, определяющую особенность биологических мягких тканей, как неоднородность их структуры и вязкоупругих параметров. Выход за рамки предположения об однородности важен и с точки зрения методологии, поскольку приближает нас к более реалистичному взгляду на природу, чем обычно превалирующий, который подразумевает однородность, изотропность и линейность среды.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

---

Живые мягкие ткани на всех уровнях организации, как правило, обладают вязкоупругими механическими свойствами, которые являются следствием внутренней вязкости белковых молекул, цитоплазматического трения внутриклеточных структур, диссипацией, вызванной внеклеточными окружающими жидкостями и т.д. Наиболее характерные особенности, в которых проявляется это трение, дают эксперименты по релаксации и ползучести. До настоящего времени, они моделируются в рамках одномерных (1D) реологических моделей, аналогичных четырёхэлементной модели Бюргерса-Френкеля. Эти модели восходят к классическим моделям Кельвина-Фойгта и Максвелла, в которых упругие (пружины) и вязкие (демпферы) элементы связаны между собой, соответственно, параллельно или последовательно. Последняя модель и вообще модели с демпфером, присоединённым последовательно, обычно считаются единственными, которые могут воспроизводить релаксацию напряжения.

В последнее время было отмечено, что нелинейность стационарных и гистерезисных кривых сила-длина может быть вызвано простым геометрическим фактором, который всегда присутствует при растяжении биологических тканей, так называемым эффектом «развертывания» наклонных упругих элементов относительно поперечных. Возможность адекватного описания статических зависимостей «пассивное напряжение-деформация» для папиллярной мышцы исследовали с помощью классических линейных упругих элементов, объединённых в структуру, аналогичную морфологической функциональной базовой единице миокарда. Поперечный упругий элемент модели играет существенную роль, препятствуя развертыванию и восстанавливая исходную конфигурацию после снятия нагрузки.

Позднее вязкость была учтена с помощью блоков Кельвина-Фойгта в наклонных и поперечных элементах. Было установлено, что форма петли гистерезиса напряжение-деформация может указать, в каких элементах в образце ткани преобладает влияние вязкости. Это важно и для выяснения вопроса о том, может ли быть описана релаксация напряжения в предлагаемой модели. Это же приводит к эффектам нелинейной зависимости релаксации от уровня деформации, которые, как правило, наблюдаются в экспериментах на живых мягких тканях. Другая точка интереса состоит в выяснении возможности описания нелинейного отклика ползучести в моделях с блоками, содержащими последовательно соединённые демпферы, аналогичных модели Максвелла.

Реологические модели миокарда, предложенные нами ранее для анализа статических кривых сила-деформация и квазистатических петель гистерезиса, обобщены на случай трёх измерений и используются при описании релаксации и ползучести для широкого круга живых мягких тканей, начиная с уровня кардиомиоцитов и до мышечных волокон. Вязкие свойства учитываются с помощью демпферов, соединённых последовательно или параллельно некоторым упругим первичным элементам модели. С помощью моделей определены функции отклика напряжения на внешнее продольное растяжение ступенчатого или импульсного (прямоугольного) типа. Найден обратный ответ продольного растяжения на внешнюю нагрузку для импульсной формы зависимости напряжения от времени. Значения упругих модулей, как в статическом случае, так и вязких коэффициентов, оцениваются путём сравнения теоретических статических кривых, кривых релаксации, ползучести и восстановления с экспериментальными данными. Последние получены на разных объектах, препаратах пассивной мышцы (ответ релаксации) и клеток эндотелия (ответ ползучести). Установлено, что предлагаемые модели носят довольно общий характер и могут описывать

свойства нелинейной релаксации и ползучести, которые отсутствуют в традиционно используемых 1D моделях без их существенных модификаций.

Представленный подход к моделированию особенностей механического поведения биологических мягких тканей при одноосных деформациях основан на наглядном соответствии изучаемых свойств и строения базовых морфологических модулей. Это позволяет во многих случаях более осмысленно представлять механизмы, лежащие в основе их нелинейного вязкоупругого поведения и обобщить полученные результаты и принципиальные подходы на более реалистические режимы плоских и объёмных деформаций растяжения, кручения и сдвига.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

---

1. Виноградов, Г.Б., А.Я. Малкин, *Реология полимеров*. 1977, Москва: Химия. 440.
2. Holzapfel, G.A. and R.W. Ogden, *Constitutive modelling of passive myocardium: a structurally based framework for material characterization*. Philos Transact A Math Phys Eng Sci, 2009. **367**(1902): p. 3445-75.
3. Tsaturyan, A.K., et al., *Extracellular fluid filtration as the reason for the viscoelastic behaviour of the passive myocardium*. J Biomech, 1984. **17**(10): p. 749-55.
4. Huyghe, J.M., et al., *Porous medium finite element model of the beating left ventricle*. Am J Physiol, 1992. **262**(4 Pt 2): p. H1256-67.
5. Проценко, Ю.Л., et al., *Стационарная зависимость "сила-длина" для пассивного миокарда*. Российский журнал биомеханики, 2001. **5**(3): p. 30-40.
6. Kobelev, A.V., Y.L. Protsenko, and R.M. Kobeleva, *Modeling of non-linear visco-elastic properties of myocardium specimens*. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2002. **4**(suppl.): p. 498-499.
7. Кобелев, А.В., et al., *Нелинейное вязкоупругое поведение волокон миокарда: гистерезис кривых "сила-длина" и релаксация деформации*. Российский журнал биомеханики, 2003. **7**(1): p. 9-24.
8. Kobelev, A.V., et al., *Viscoelastic models describing stress relaxation and creep in soft tissues*, in *Structure and Mechanical Behavior of Biological Materials*, Mater. Res. Soc. Symp. Proc. 874, P. Fratzl, et al., Editors. 2005: Warrendale, PA. p. L5.1-L5.6.
9. Смолюк, Л.Т., Ю.Л. Проценко, *Механические свойства пассивного миокарда: эксперимент и математическая модель*. Биофизика, 2010. **55**(5): p. 905-909.
10. Tarr, M., et al., *Sarcomere length-resting tension relation in single frog atrial cardiac cells*. Circ Res, 1979. **45**(4): p. 554-9.
11. Fish, D., J. Orenstein, and S. Bloom, *Passive stiffness of isolated cardiac and skeletal myocytes in the hamster*. Circ Res, 1984. **54**(3): p. 267-76.
12. Fung, Y.C., *Biomechanics: mechanical properties of living tissues*. 2nd ed. 1993, New York: Springer.
13. Гордон, Д., *Конструкции, или почему не ломаются вещи*. 1980, Москва: Мир. 237.
14. Флори, П., *Статистическая механика цепных молекул*. 1971, Москва: Мир. 439.
15. Шмидт, Р., Г. Тевс, *Физиология человека*. 3 ed. Vol. 2. 2005, Москва: Мир. 314.
16. Румянцев, П.П., *Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации*. 1982, Ленинград: НАУКА. 288.
17. Honda, H., H. Yamanaka, and G. Eguchi, *Transformation of a polygonal cellular pattern during sexual maturation of the avian oviduct epithelium: computer simulation*. J Embryol Exp Morphol, 1986. **98**: p. 1-19.
18. Савостьянов, Г.А., *Основы структурной гистологии. Пространственная организация эпителиев*. 2005, СПб: Наука. 376.
19. Мейен, С.В., *Основные аспекты типологии организмов*. Журн. общ. биол., 1978. **39**(4): p. 495-508.
20. Hanley, P.J., et al., *3-Dimensional configuration of perimysial collagen fibres in rat cardiac muscle at resting and extended sarcomere lengths*. Journal of Physiology, 1999. **517**(3): p. 831-837.
21. Sasaki, N. and S. Odajima, *Stress-strain curve and Young's modulus of a collagen molecule as determined by the X-ray diffraction technique*. J Biomech, 1996. **29**(5): p. 655-8.

22. Tang, Y., et al., *Deformation micromechanisms of collagen fibrils under uniaxial tension*. J R Soc Interface, 2010. **7**(46): p. 839-50.
23. Lillie, M.A. and J.M. Gosline, *Mechanical properties of elastin along the thoracic aorta in the pig*. J Biomech, 2007. **40**(10): p. 2214-21.
24. Албертс, Б., et al., *Молекулярная биология клетки*. Vol. 1. 1994, Москва: Мир. 517.
25. Linke, W.A. and J.M. Fernandez, *Cardiac titin: molecular basis of elasticity and cellular contribution to elastic and viscous stiffness components in myocardium*. J Muscle Res Cell Motil, 2002. **23**(5-6): p. 483-97.
26. Вихлянцев, И.М., З.А. Подлубная, *К вопросу об изоформах титина*. Биофизика, 2006. **51**(5): p. 951-959.
27. Fukuda, N., et al., *Length Dependence of Tension Generation in Rat Skinned Cardiac Muscle. Role of Titin in the Frank-Starling Mechanism of the Heart*. Circulation, 2001. **104**: p. 1639-1645.
28. Ophir, J., et al., *Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues*. Ultrason Imaging, 1991. **13**(2): p. 111-34.
29. Rouviere, O., et al., *MR elastography of the liver: preliminary results*. Radiology, 2006. **240**(2): p. 440-8.
30. Mariappan, Y.K., et al., *Magnetic resonance elastography with a phased-array acoustic driver system*. Magn Reson Med, 2009. **61**(3): p. 678-85.
31. Johnson, T.M., et al., *Histology and physiology of tissue expansion*. J Dermatol Surg Oncol, 1993. **19**(12): p. 1074-8.
32. Pierard, G.E., et al., *Ageing and rheological properties of facial skin in women*. Gerontology, 1998. **44**(3): p. 159-61.
33. Starc, V., E.L. Yellin, and S.D. Nikolic, *Viscoelastic behavior of the isolated guinea pig left ventricle in diastole*. Am J Physiol, 1996. **271**(4 Pt 2): p. H1314-24.
34. Zhang, H. and K.K. Liu, *Optical tweezers for single cells*. J R Soc Interface, 2008. **5**(24): p. 671-90.
35. Партон, В.З., П.И. Перлин, *Методы математической теории упругости*. 1981, Москва: Наука. 688.
36. Cheng, S., E.C. Clarke, and L.E. Bilston, *The effects of preconditioning strain on measured tissue properties*. J Biomech, 2009. **42**(9): p. 1360-2.
37. Проценко, Ю.Л., et al., *Вязкоупругие свойства изолированной парилярной мышцы: Разделение вклада соединительно-тканного каркаса и внутриклеточного матрикса*. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2009. **95**(7): p. 716-725.
38. Kiriazis, H. and C.L. Gibbs, *Papillary muscles split in the presence of 2,3-butanedione monoxime have normal energetic and mechanical properties*. Am J Physiol, 1995. **269**(5 Pt 2): p. H1685-H1694.
39. Hwang, W., N.G. Kelly, and A.M. Boriek, *Passive mechanics of muscle tendinous junction of canine diaphragm*. Journal of Applied Physiology, 2005. **98**(4): p. 1328-33.
40. Dokos, S., et al., *Shear properties of passive ventricular myocardium*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002. **283**(6): p. H2650-9.
41. Saraf, H., et al., *Mechanical properties of soft human tissues under dynamic loading*. J Biomech, 2007. **40**(9): p. 1960-7.
42. Addae-Mensah, K.A. and J.P. Wikswo, *Measurement techniques for cellular biomechanics in vitro*. Exp Biol Med (Maywood), 2008. **233**(7): p. 792-809.
43. Sweitzer, N.K. and R.L. Moss, *Determinants of loaded shortening velocity in single cardiac myocytes permeabilized with alpha-hemolysin*. Circ Res, 1993. **73**(6): p. 1150-62.

44. Yasuda, S.I., et al., *A novel method to study contraction characteristics of a single cardiac myocyte using carbon fibers*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **281**(3): p. H1442-6.
45. Nishimura, S., et al., *Single cell mechanics of rat cardiomyocytes under isometric, unloaded, and physiologically loaded conditions*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004. **287**(1): p. H196-202.
46. Iribé, G., M. Helmes, and P. Kohl, *Force-length relations in isolated intact cardiomyocytes subjected to dynamic changes in mechanical load*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007. **292**(3): p. H1487-97.
47. Nishimura, R.A. and S.R. Ommen, *Hypertrophic cardiomyopathy: the search for obstruction*. Circulation, 2006. **114**(21): p. 2200-2.
48. Ziemann, F., J. Radler, and E. Sackmann, *Local measurements of viscoelastic moduli of entangled actin networks using an oscillating magnetic bead micro-rheometer*. Biophys J, 1994. **66**(6): p. 2210-6.
49. Bausch, A.R., et al., *Local measurements of viscoelastic parameters of adherent cell surfaces by magnetic bead microrheometry*. Biophys J, 1998. **75**(4): p. 2038-49.
50. Cooper, G.t., *Cytoskeletal networks and the regulation of cardiac contractility: microtubules, hypertrophy, and cardiac dysfunction*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(3): p. H1003-14.
51. Wang, N. and D.E. Ingber, *Control of cytoskeletal mechanics by extracellular matrix, cell shape, and mechanical tension*. Biophys J, 1994. **66**(6): p. 2181-9.
52. Wang, N. and D.E. Ingber, *Probing transmembrane mechanical coupling and cytomechanics using magnetic twisting cytometry*. Biochem Cell Biol, 1995. **73**(7-8): p. 327-35.
53. Puig-De-Morales, M., et al., *Measurement of cell microrheology by magnetic twisting cytometry with frequency domain demodulation*. Journal of Applied Physiology, 2001. **91**(3): p. 1152-9.
54. Chien, S., et al., *Theoretical and experimental studies on viscoelastic properties of erythrocyte membrane*. Biophys J, 1978. **24**(2): p. 463-87.
55. Evans, E.A., *A new material concept for the red cell membrane*. Biophys J, 1973. **13**(9): p. 926-40.
56. Tozeren, A., et al., *Viscoelastic behavior of erythrocyte membrane*. Biophys J, 1982. **39**(1): p. 23-32.
57. Schmid-Schönbein, G.W., et al., *Passive mechanical properties of human leukocytes*. Biophys J, 1981. **36**(1): p. 243-56.
58. Schmid-Schönbein, G.W., Y.Y. Shih, and S. Chien, *Morphometry of human leukocytes*. Blood, 1980. **56**(5): p. 866-75.
59. Chu, Y.S., et al., *Force measurements in E-cadherin-mediated cell doublets reveal rapid adhesion strengthened by actin cytoskeleton remodeling through Rac and Cdc42*. The Journal of Cell Biology, 2004. **167**(6): p. 1183-94.
60. Palmer, R.E., A.J. Brady, and K.P. Roos, *Mechanical measurements from isolated cardiac myocytes using a pipette attachment system*. Am J Physiol, 1996. **270**(2 Pt 1): p. C697-704.
61. Henon, S., et al., *A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers*. Biophys J, 1999. **76**(2): p. 1145-51.
62. Dao, M., C.T. Lim, and S. Suresh, *Mechanics of the human red blood cell deformed by optical tweezers*. J. Mechanics Physics of Solids, 2003. **51**: p. 2259 – 2280.
63. Dao, M., C.T. Lim, and S. Suresh, *Erratum. Mechanics of the human red blood cell deformed by optical tweezers*. J. Mech. Phys. Solids, 2005. **53**: p. 493-494.

64. Коробцов, А.В., et al., *Применение лазерного пинцета для изучения механических свойств эритроцитов*. Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2009. **11**(3): p. 76-81.
65. Wang, K., et al., *Regulation of skeletal muscle stiffness and elasticity by titin isoforms: a test of the segmental extension model of resting tension*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. **88**(16): p. 7101-5.
66. Linke, W.A., V.I. Popov, and G.H. Pollack, *Passive and active tension in single cardiac myofibrils*. Biophys J, 1994. **67**(2): p. 782-92.
67. Julian, F.J., M.R. Sollins, and R.L. Moss, *Absence of a plateau in length-tension relationship of rabbit papillary muscle when internal shortening is prevented*. Nature, 1976. **260**(5549): p. 340-2.
68. Binnig, G., C.F. Quate, and C. Gerber, *Atomic force microscope*. Phys Rev Lett, 1986. **56**(9): p. 930-933.
69. Kumar, S. and J.H. Hoh, *Probing the machinery of intracellular trafficking with the atomic force microscope*. Traffic, 2001. **2**(11): p. 746-56.
70. Radmacher, M., *Studying the mechanics of cellular processes by atomic force microscopy*. Methods Cell Biol, 2007. **83**: p. 347-72.
71. Silva, L.P., *Imaging proteins with atomic force microscopy: an overview*. Curr Protein Pept Sci, 2005. **6**(4): p. 387-95.
72. Engel, A. and H.E. Gaub, *Structure and mechanics of membrane proteins*. Annu Rev Biochem, 2008. **77**: p. 127-48.
73. Hansma, H.G., K. Kasuya, and E. Oroudjev, *Atomic force microscopy imaging and pulling of nucleic acids*. Curr Opin Struct Biol, 2004. **14**(3): p. 380-5.
74. Hirano, Y., et al., *Nuclear architecture and chromatin dynamics revealed by atomic force microscopy in combination with biochemistry and cell biology*. Pflugers Arch, 2008. **456**(1): p. 139-53.
75. Rotsch, C., K. Jacobson, and M. Radmacher, *Dimensional and mechanical dynamics of active and stable edges in motile fibroblasts investigated by using atomic force microscopy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(3): p. 921-6.
76. Pesen, D. and J.H. Hoh, *Micromechanical architecture of the endothelial cell cortex*. Biophys J, 2005. **88**(1): p. 670-9.
77. Solon, J., et al., *Fibroblast adaptation and stiffness matching to soft elastic substrates*. Biophys J, 2007. **93**(12): p. 4453-61.
78. Rotsch, C. and M. Radmacher, *Drug-induced changes of cytoskeletal structure and mechanics in fibroblasts: an atomic force microscopy study*. Biophys J, 2000. **78**(1): p. 520-35.
79. Hofmann, U.G., et al., *Investigating the cytoskeleton of chicken cardiocytes with the atomic force microscope*. J Struct Biol, 1997. **119**(2): p. 84-91.
80. Takai, E., et al., *Osteoblast elastic modulus measured by atomic force microscopy is substrate dependent*. Ann Biomed Eng, 2005. **33**(7): p. 963-71.
81. Engler, A.J., et al., *Myotubes differentiate optimally on substrates with tissue-like stiffness: pathological implications for soft or stiff microenvironments*. The Journal of Cell Biology, 2004. **166**(6): p. 877-87.
82. Matyka, K., et al., *An AFM study on mechanical properties of native and dimethyl suberimidate cross-linked pericardium tissue*. J Mol Recognit, 2007. **20**(6): p. 524-30.
83. Collinsworth, A.M., et al., *Apparent elastic modulus and hysteresis of skeletal muscle cells throughout differentiation*. Am J Physiol Cell Physiol, 2002. **283**(4): p. C1219-27.
84. Laurent, V.M., et al., *Gradient of rigidity in the lamellipodia of migrating cells revealed by atomic force microscopy*. Biophys J, 2005. **89**(1): p. 667-75.
85. Matzke, R., K. Jacobson, and M. Radmacher, *Direct, high-resolution measurement of furrow stiffening during division of adherent cells*. Nat Cell Biol, 2001. **3**(6): p. 607-10.

86. Mahaffy, R.E., et al., *Scanning probe-based frequency-dependent microrheology of polymer gels and biological cells*. Phys Rev Lett, 2000. **85**(4): p. 880-3.
87. Bhasin, N., et al., *Chemistry on a single protein, vascular cell adhesion molecule-1, during forced unfolding*. J Biol Chem, 2004. **279**(44): p. 45865-74.
88. Law, R., et al., *Cooperativity in forced unfolding of tandem spectrin repeats*. Biophys J, 2003. **84**(1): p. 533-44.
89. Muller, D.J., et al., *Single-molecule studies of membrane proteins*. Curr Opin Struct Biol, 2006. **16**(4): p. 489-95.
90. Lee, G.U., L.A. Chrisey, and R.J. Colton, *Direct measurement of the forces between complementary strands of DNA*. Science, 1994. **266**(5186): p. 771-3.
91. Sen, S. and S. Kumar, *Combining mechanical and optical approaches to dissect cellular mechanobiology*. J Biomech, 2010. **43**(1): p. 45-54.
92. Taubenthaler, A., et al., *Revealing early steps of alpha2beta1 integrin-mediated adhesion to collagen type I by using single-cell force spectroscopy*. Mol Biol Cell, 2007. **18**(5): p. 1634-44.
93. Panorchan, P., et al., *Single-molecule analysis of cadherin-mediated cell-cell adhesion*. J Cell Sci, 2006. **119**(Pt 1): p. 66-74.
94. del Rio, A., et al., *Stretching single talin rod molecules activates vinculin binding*. Science, 2009. **323**(5914): p. 638-41.
95. Tskhovrebova, L. and J. Trinick, *Role of titin in vertebrate striated muscle*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2002. **357**(1418): p. 199-206.
96. Granzier, H.L. and T.C. Irving, *Passive Tension in Cardiac Muscle: Contribution of Collagen, Titin, Microtubules, and Intermediate Filaments*. Biophysical Journal, 1995. **68**(3): p. 1027-1044.
97. Price, M.G., *Molecular analysis of intermediate filament cytoskeleton--a putative load-bearing structure*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 1984. **246**: p. H566-H572.
98. Tokuyasu, K.T., *Visualization of Longitudinally-oriented Intermediate Filaments in Frozen Sections of Chicken Cardiac Muscle by a New Staining Method*. J Cell Biol, 1983. **97**: p. 562-565.
99. Weber, K.T., et al., *Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms*. J. Mol. Cell. Cardiol, 1994. **26**(3): p. 279-292.
100. Wenger, M.P.E., et al., *Mechanical Properties of Collagen Fibrils*. Biophysical Journal, 2007. **93**: p. 1255-1263.
101. MacKenna, D.A., et al., *Contribution of collagen matrix to passive left ventricular mechanics in isolated rat hearts*. Am. J. Physiol., 1994. **266**: p. H1007-H1018.
102. Baicu, C.F., et al., *Changes in extracellular collagen matrix alter myocardial systolic performance*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **284**: p. H122-H132.
103. Cazorla, O., et al., *Differential expression of cardiac titin isoforms and modulation of cellular stiffness*. Circ Res, 2000. **86**(1): p. 59-67.
104. Nishimura, T., et al., *Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef*. Journal of Animal Science, 1998. **76**(2): p. 528-532.
105. Brady, A.J., *Mechanical properties of isolated cardiac myocytes*. Physiol Rev, 1991. **71**(2): p. 413-28.
106. Katsnelson, L.B., et al., *Influence of viscosity on myocardium mechanical activity: a mathematical model*. J Theor Biol, 2004. **230**(3): p. 385-405.
107. Humphrey, J.D., *Continuum biomechanics of soft biological tissues*. Proc. R. Soc. Lond. A, 2003. **459**(2029): p. 3-46.
108. Fukuda, N., et al., *Titin isoform variance and length dependence of activation in skinned bovine cardiac muscle*. J Physiol, 2003. **553**(Pt 1): p. 147-54.

109. Wang, K. and R. Ramirez-Mitchell, *A network of transverse and longitudinal intermediate filaments is associated with sarcomeres of adult vertebrate skeletal muscle*. The Journal of Cell Biology, 1983. **96**(2): p. 562-70.
110. Barra, J.G., et al., *Assessment of smooth muscle contribution to descending thoracic aortic elastic mechanics in conscious dogs*. Circ Res, 1993. **73**(6): p. 1040-50.
111. Granzier, H.L. and S. Labeit, *The giant protein titin: a major player in myocardial mechanics, signaling, and disease*. Circ Res, 2004. **94**(3): p. 284-95.
112. Anderson, J., Z. Li, and F. Goubel, *Models of skeletal muscle to explain the increase in passive stiffness in desmin knockout muscle*. J Biomech, 2002. **35**(10): p. 1315-24.
113. Bustamante, C., et al., *Entropic elasticity of lambda-phage DNA*. Science, 1994. **265**(5178): p. 1599-600.
114. Marko, J.F. and E.D. Siggia, *Statistical mechanics of supercoiled DNA*. Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics, 1995. **52**(3): p. 2912-2938.
115. Prado, L.G., et al., *Isoform diversity of giant proteins in relation to passive and active contractile properties of rabbit skeletal muscles*. J Gen Physiol, 2005. **126**(5): p. 461-80.
116. Neagoe, C., et al., *Gigantic variety: expression patterns of titin isoforms in striated muscles and consequences for myofibrillar passive stiffness*. J Muscle Res Cell Motil, 2003. **24**(2-3): p. 175-89.
117. Makarenko, I., et al., *Passive stiffness changes caused by upregulation of compliant titin isoforms in human dilated cardiomyopathy hearts*. Circ Res, 2004. **95**(7): p. 708-16.
118. Warren, C.M., et al., *Titin isoform changes in rat myocardium during development*. Mech Dev, 2004. **121**(11): p. 1301-12.
119. Opitz, C.A. and W.A. Linke, *Plasticity of cardiac titin/connectin in heart development*. J Muscle Res Cell Motil, 2005. **26**(6-8): p. 333-42.
120. Lahmers, S., et al., *Developmental control of titin isoform expression and passive stiffness in fetal and neonatal myocardium*. Circ Res, 2004. **94**(4): p. 505-13.
121. Neagoe, C., et al., *Titin isoform switch in ischemic human heart disease*. Circulation, 2002. **106**(11): p. 1333-41.
122. Nagueh, S.F., et al., *Altered titin expression, myocardial stiffness, and left ventricular function in patients with dilated cardiomyopathy*. Circulation, 2004. **110**(2): p. 155-62.
123. Lange, S., et al., *The kinase domain of titin controls muscle gene expression and protein turnover*. Science, 2005. **308**(5728): p. 1599-603.
124. Ingber, D.E., *Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology*. J Cell Sci, 2003. **116**(Pt 7): p. 1157-73.
125. Tsutsui, H., et al., *Role of microtubules in contractile dysfunction of hypertrophied cardiocytes*. Circulation, 1994. **90**(1): p. 533-55.
126. Clark, E.B., et al., *Ventricular function and morphology in chick embryo from stages 18 to 29*. Am J Physiol, 1986. **250**(3 Pt 2): p. H407-13.
127. Zile, M.R., et al., *Constitutive properties of adult mammalian cardiac muscle cells*. Circulation, 1998. **98**(6): p. 567-79.
128. Zile, M.R., et al., *Role of microtubules in the contractile dysfunction of hypertrophied myocardium*. J Am Coll Cardiol, 1999. **33**(1): p. 250-60.
129. Schroder, E.A., et al., *Microtubule involvement in the adaptation to altered mechanical load in developing chick myocardium*. Circ Res, 2002. **91**(4): p. 353-9.
130. Schiff, P.B., J. Fant, and S.B. Horwitz, *Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol*. Nature, 1979. **277**(5698): p. 665-7.
131. Pioletti, D. and L. Rakotomanana, *Non-linear viscoelastic laws for soft biological tissue*. Eur. J. Mech. A/Solids, 2000. **19**: p. 749-759.
132. Danto, M.I. and S.L. Woo, *The mechanical properties of skeletally mature rabbit anterior cruciate ligament and patellar tendon over a range of strain rates*. J Orthop Res, 1993. **11**(1): p. 58-67.

133. Haut, R.C., *Age-dependent influence of strain rate on the tensile failure of rat-tail tendon*. J Biomech Eng, 1983. **105**(3): p. 296-9.
134. Pioletti, D.P., et al., *Viscoelastic constitutive law in large deformations: application to human knee ligaments and tendons*. J Biomech, 1998. **31**(8): p. 753-7.
135. Смоляников, В.В., *Математические модели биологических тканей*. 1980, Москва: Наука. 368.
136. Kamenskiy, A., et al., *Finite Element Model of the Patched Human Carotid*. Vascular and Endovascular Surgery, 2009. **43**(6): p. 533-541.
137. Nekouzadeh, A., et al., *A simplified approach to quasi-linear viscoelastic modeling*. J Biomech, 2007. **40**(14): p. 3070-8.
138. Pryse, K.M., et al., *Incremental mechanics of collagen gels: new experiments and a new viscoelastic model*. Ann Biomed Eng, 2003. **31**(10): p. 1287-96.
139. Mow, V.C., et al., *Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiments*. J Biomech Eng, 1980. **102**(1): p. 73-84.
140. Hunter, P.J., A.D. McCulloch, and H.E. ter Keurs, *Modelling the mechanical properties of cardiac muscle*. Prog Biophys Mol Biol, 1998. **69**(2-3): p. 289-331.
141. Karcher, H., et al., *A three-dimensional viscoelastic model for cell deformation with experimental verification*. Biophys J, 2003. **85**(5): p. 3336-49.
142. Robinson, T.F., et al., *Structure and function of connective tissue in cardiac muscle: collagen types I and III in endomysial struts and pericellular fibers*. Scanning Microsc, 1988. **2**(2): p. 1005-15.
143. Barnes, S.L., et al., *Development of a mechanical testing assay for fibrotic murine liver*. Med Phys, 2007. **34**(11): p. 4439-50.
144. Изаков, В.Я., et al., *Введение в биомеханику пассивного миокарда*. 2000, Москва: Наука. 207.
145. Френкель, Я.И., *Кинетическая теория жидкостей*. 1945: Академия наук СССР. 424.
146. Bausch, A.R., W. Moller, and E. Sackmann, *Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers*. Biophys J, 1999. **76**(1 Pt 1): p. 573-9.
147. Kobelev, A.V., et al., *2D rheological models for stress relaxation and creep in living soft tissues*. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 2005. **7**(1).
148. Kobelev, A.V., R.M. Kobeleva, and I.V. Berman. *Hysteresis loop evolution in structured materials*. 33 International Winter School on Theoretical Physics Reports Thesis Book. 2010. Yekaterinburg: Institute of Metal Physics RAS, p. 13-14.
149. Kobelev, A., et al., *Quasi-static and relaxation elastic properties modeling of isolated papillary muscles*. Proceedings of ICTE2009 - International Conference on Tissue Engineering, IST Press, Leiria, Portugal, P.J. Bartolo et. al. (Eds.), 2009: p. 49-56.
150. Кобелев, А.В., et al., *Моделирование упругих статических и релаксационных свойств изолированной папиллярной мышцы*. Биофизика, 2011. **56**(3): p. 534-542.
151. Boyett, M.R., J.E. Frampton, and M.S. Kirby, *The length, width and volume of isolated rat and ferret ventricular myocytes during twitch contractions and changes in osmotic strength*. Exp Physiol, 1991. **76**(2): p. 259-70.
152. Brady, A.J. and S.P. Farnsworth, *Cardiac myocyte stiffness following extraction with detergent and high salt solutions*. Am J Physiol, 1986. **250**(6 Pt 2): p. H932-43.
153. Capasso, J.M., T.F. Robinson, and P. Anversa, *Alterations in collagen cross-linking impair myocardial contractility in the mouse heart*. Circ Res, 1989. **65**(6): p. 1657-64.
154. Robinson, T.F., et al., *Coiled perimysial fibers of papillary muscle in rat heart: morphology, distribution, and changes in configuration*. Circ Res, 1988. **63**: p. 577-592.
155. Schaper, J., E. Meiser, and G. Stammler, *Ultrastructural morphometric analysis of myocardium from dogs, rats, hamsters, mice, and from human hearts*. Circ Res, 1985. **56**(3): p. 377-91.

156. Shattock, M.J. and D.M. Bers, *Rat vs. rabbit ventricle: Ca flux and intracellular Na assessed by ion-selective microelectrodes*. Am J Physiol, 1989. **256**(4 Pt 1): p. C813-22.
157. Icardo, J.M. and E. Colvee, *Collagenous skeleton of the human mitral papillary muscle*. Anat Rec, 1998. **252**(4): p. 509-18.
158. Rossi, M.A., M.A. Abreu, and L.B. Santoro, *Images in cardiovascular medicine. Connective tissue skeleton of the human heart: a demonstration by cell-maceration scanning electron microscope method*. Circulation, 1998. **97**(9): p. 934-5.
159. Kellermayer, M.S., et al., *Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with laser tweezers*. Science, 1997. **276**(5315): p. 1112-6.
160. Mehta, A.D., M. Rief, and J.A. Spudich, *Biomechanics, one molecule at a time*. J Biol Chem, 1999. **274**(21): p. 14517-20.
161. Opitz, C.A., et al., *Damped elastic recoil of the titin spring in myofibrils of human myocardium*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(22): p. 12688-93.
162. LeGrice, I.J., et al., *Laminar structure of the heart: ventricular myocyte arrangement and connective tissue architecture in the dog*. Am J Physiol, 1995. **269**(2 Pt 2): p. H571-82.
163. Fujiwara, H., et al., *Classification and distribution of myocardial fascicle and fiber disarray in 14 hearts with hypertrophic cardiomyopathy in 25  $\mu$ m thick sections*. Jpn Circ J, 1982. **46**(3): p. 225-34.
164. Liversage, A.D., et al., *Titin and the sarcomere symmetry paradox*. J Mol Biol, 2001. **305**(3): p. 401-9.
165. Смолюк, Л.Т., *Экспериментальное и теоретическое исследование вязкоупругих свойств папиллярной мышцы*. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. 2011, Пущино. 119.
166. Helmes, M., et al., *Mechanically driven contour-length adjustment in rat cardiac titin's unique N2B sequence: titin is an adjustable spring*. Circ Res, 1999. **84**(11): p. 1339-52.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

---

Предисловие ответственного редактора .....	3
Введение .....	4
<i>Глава 1.</i> Основные понятия теории упругости в применении к мягким тканям.....	14
1.1.    Механическое напряжение .....	14
1.2.    упругая деформация .....	16
1.3.    Вязкость .....	21
1.4.    Нелинейность упругих свойств тканей.....	23
<i>Глава 2.</i> Строение и свойства мягких тканей .....	27
2.1.    Структура биологических тканей.....	30
2.1.1.    Основные типы биологических тканей.....	30
2.1.2.    Базовые структурные элементы.....	37
2.1.3.    Фасцикулярное строение сердечной мышцы .....	41
2.2.    Структурные составляющие тканей на молекулярном уровне .....	42
2.2.1.    Коллаген и иерархическая структура его волокон .....	43
2.2.2.    Строение и свойства внеклеточного белка эластина .....	46
2.2.3.    Строение и свойства внутриклеточного белка тайтина .....	48
<i>Глава 3.</i> Методы исследования вязкоупругих свойств биологических тканей.....	51
3.1.    Основные неинвазивные методы .....	51
3.1.1.    Эластография .....	52
3.1.2.    ЯМР-эластография .....	57
3.1.3.    Соноэластография .....	58
3.1.4.    Реконструкция эластографических изображений .....	60
3.1.5.    Методы измерения вязкоупругих свойств кожи .....	60
3.2.    Методы измерения вязкоупругих свойств изолированных органов.....	62
3.3.    Методы измерения вязкоупругих свойств изолированных образцов биологических тканей. ....	65
3.3.1.    Условия адекватного измерения.....	65
3.3.2.    Одноосное растяжение .....	66
3.3.3.    Двумерные испытания .....	69
3.3.4.    Метод сдвиговых деформаций.....	71
3.4.    Методы измерения вязкоупругих характеристик изолированных клеток .....	73

3.4.1. Метод оптической ловушки. Магнитный пинцет и магнитная цитометрия скручивания (BTC) .....	82
3.4.2. Метод магнитного вращения .....	85
3.4.3. Использование микропипеток.....	87
3.4.4. Оптические щипцы .....	93
3.5. Измерение вязкоупругих характеристик изолированных белковых молекул. Атомно-силовая микроскопия .....	96
3.6. Методы оценки вкладов морфологических структур биологических тканей в вязкоупругие свойства ткани .....	102
3.6.1. Вклад коллагенового каркаса в вязкоупругие свойства миокарда .....	103
3.6.2. Вклад тайтина в вязкоупругие свойства миокарда. ....	105
3.6.3. Вклад цитоскелета в вязкоупругие свойства миокарда.....	108
3.7. Измерение вязкоупругих свойств изолированных образцов биологических тканей в комбинации с математическими моделями .....	111
<i>Глава 4.</i> Математические модели вязкоупругих свойств биологических тканей .....	114
4.1. Одномерные модели .....	114
4.1.1. Модель Кельвина ( <b>K</b> ).....	115
4.1.2. Модель Максвелла ( <b>M</b> ).....	117
4.1.3. Трёхэлементные модели ( <b>ME</b> , <b>KV</b> , <b>MV</b> , <b>KE</b> ).....	120
4.1.4. Модель Бюргерса-Френкеля ( <b>E-KV</b> ).....	123
4.1.5. Модель Бауша-Меллера-Сакмана ( <b>ME-V</b> ) .....	125
4.1.6. Четырёхэлементные модели <b>E-MV</b> , <b>KV_E</b> и <b>KE_V</b> .....	126
4.1.7. Релаксационные осцилляции .....	130
4.2. Двумерные модели.....	131
4.2.1. Нелинейность функции отклика. Роль поперечных деформаций .....	131
4.2.2. Ромбические модели и их обобщение.....	133
4.2.3. Учёт вязкости в моделях с блоком Кельвина .....	136
4.2.4. Кривые гистерезиса «сила-длина».....	138
4.2.5. Релаксация напряжения в моделях с блоком Кельвина .....	143
4.2.6. Модели с двумя демпфирующими элементами .....	145
4.2.7. Базовые уравнения при задании продольной деформации .....	146
4.2.8. Базовые уравнения при задании продольной нагрузки .....	150

4.2.9.	Кривые релаксации деформации .....	151
4.2.10.	Эволюция петли гистерезиса .....	154
4.2.11.	Простейшие объёмные модели .....	156
4.3.	Верификация двумерных моделей .....	156
4.3.1.	Статические зависимости «сила-длина» для папиллярных мышц .....	156
4.3.2.	Вязкоупругий гистерезис на папиллярных мышцах .....	163
4.3.3.	Сравнение кривых ползучести с данными на одноклеточных структурах .....	168
4.3.4.	Релаксация напряжения в скелетных и папиллярных мышцах ....	
	.....	170
4.3.5.	Влияние вымывания внутриклеточных структур на вязкоупругие свойства миокарда .....	173
4.3.6.	Обсуждение данных эксперимента с применением макерации.. ..	
	.....	177
4.3.7.	Механические модели внутриклеточного белка тайтина .....	181
4.3.8.	Цепочечная модель фасцикулы и её обобщение.....	182
4.3.9.	Квазистатические свойства фасцикулы .....	183
4.3.10.	Релаксационные свойства фасцикулы.....	184
4.3.11.	Сравнение данных исходной модели и модели без блока внутриклеточных структур с результатами эксперимента.....	185
4.3.12.	Обсуждение проблемы разделения вкладов.....	187
4.4.	Трёхмерная модель .....	193
4.4.1.	Предпосылки построения модели.....	194
4.4.2.	Основные уравнения модели .....	197
4.4.3.	Учёт нелинейной упругости тайтина в модели WLC .....	200
<i>Глава 5.</i>	<i>Вязкоупругие свойства папиллярной мышцы. Эксперимент и математическая модель .....</i>	<i>204</i>
5.1.	Экспериментальные результаты.....	204
5.1.1.	Релаксация пассивного напряжения препаратов миокарда в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом .....	206
5.1.2.	Аппроксимация кривых релаксации напряжения, получение стационарной зависимости «напряжение-деформация» препаратов миокарда крысы .....	208

5.1.3. Вязкоупругий гистерезис препаратов миокарда крысы .....	213
5.2. Результаты 3D моделирования .....	216
5.2.1. Релаксация напряжения в ответ на ступенчатое растяжение с постоянным инкрементом и стационарная зависимость «напряжение – деформация» .....	218
5.2.2. Вязкоупругий гистерезис в 3D модели .....	222
5.2.3. Влияние геометрии 3D модели на вязкоупругие свойства .....	225
5.2.4. Моделирование неоднородности пассивного миокарда .....	227
Заключение .....	229
Список литературы.....	232
ОГЛАВЛЕНИЕ .....	240

*Научное издание*

**Александр Владимирович Кобелев  
Леонид Тимофеевич Смолюк  
Римма Михайловна Кобелева  
Юрий Леонидович Проценко**

**НЕЛИНЕЙНЫЕ ВЯЗКОУПРУГИЕ СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ТКАНЕЙ**

Рекомендовано к изданию  
Ученым советом Института иммунологии и физиологии  
и президиумом УрО РАН

НИСО УрО РАН  
ЛР № 82(11)-21 от 20.07.2012 г.