

**CONSTITUTIVE MODEL OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS
DETERMINED USING COMPUTATIONAL SIMULATION****R. Lebiš¹, J. Burša², K. Hayashi³,**

Summary: *It is well known that vascular smooth muscle cells (VSMCs) play important role not only in vascular tone but also in arterial remodelling, healing and growth. Determination of mechanical properties of these cells is very important for understanding not only the physiology of VSMCs themselves but also the basic physiology, pathology, and mechanics of arterial wall. In the present study, a constitutive model of VSMCs of contractile and synthetic phenotypes is determined using FE computational simulation of tension tests of isolated cells. Material of the cells was modelled as homogeneous and isotropic using Mooney-Rivlin five-parameter hyperelastic strain energy density function. The model was loaded similarly to the real experiment by micropipet displacement.*

1. Úvod

Je známo, že buňky hladkého svalstva cévní stěny hrají důležitou roli nejen při udržování cévního tonusu a regulaci krevního tlaku, ale také při tepenné remodelaci a růstu. Tyto buňky se v cévní stěně vyskytují ve dvou tzv. fenotypech s odlišnou funkcí – kontraktilním a syntetickým. Naprostá většina buněk hladkého svalstva v medii tepen zdravého dospělého jedince je kontraktilního fenotypu. Jejich funkcí je udržovat cévní tonus a aktivně regulovat krevní průtok a tlak prostřednictvím kontrakce a relaxace.

Naproti tomu buňky syntetického fenotypu mají odlišnou strukturu a jsou nezbytné při regeneraci a růstu tepen. Obsahují menší množství kontraktilních vláken, ale velké množství syntetických organel potřebných k produkci vnitrobuněčných komponent a extracelulární hmoty jako např. kolagen a elastin.

Buňky mění svůj fenotyp v závislosti na mechanickém a hormonálním podnětu a také na změnách okolního prostředí. Fenotypická modulace je jednou z klíčových událostí doprovázejících vznik dvou nejčastějších cévních onemocnění – ateroskleróza a hypertenze. Protože při této modulaci dochází ke změnám struktury buněk, dochází také ke změně jejich mechanických vlastností. Určování mechanických vlastností těchto buněk je důležité pro

¹ Ing. Radek Lebiš, ÚMTMB FSI VUT Brno, Technická 2, 616 69 Brno,
e-mail: r.lebis@post.cz, tel.:+420 54114 2804

² Ing. Jiří Burša, PhD, ÚMTMB FSI VUT Brno, Technická 2, 616 69 Brno,
e-mail: Bursa@umt.fme.vutbr.cz, tel.:+420 54114 2856

³ Kozaburo Hayashi, Biomechanics Laboratory, Osaka University
e-mail: hayashi@me.es.osaka-u.ac.jp

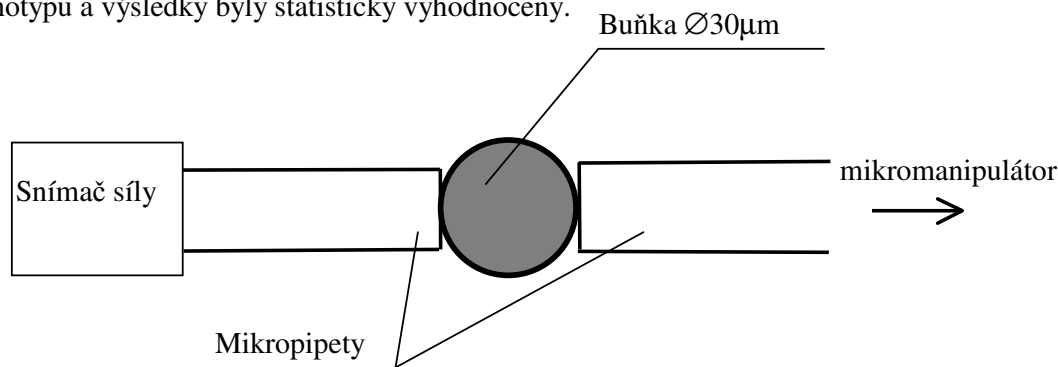
pochopení procesů, probíhajících v cévní stěně. I když buňky představují složité strukturované objekty, jako první krok při modelování jejich vlastností byl realizován nejjednodušší model homogenního elastického kontinua.

V práci Miyazaki, H., Hasegawa, Y., Hayashi, K., (2002) je popsán experiment, při kterém byly měřeny mechanické vlastnosti buněk hladkého svalstva cévní stěny (hrudní aorty králíka) kontraktilního a syntetického fenotypu při jednoosém tahu. Náplní naší práce bylo nalézt vhodný popis konstitutivního chování materiálu buňky jako celku, založený na informacích, získaných z tohoto experimentu.

2. Formulace problému

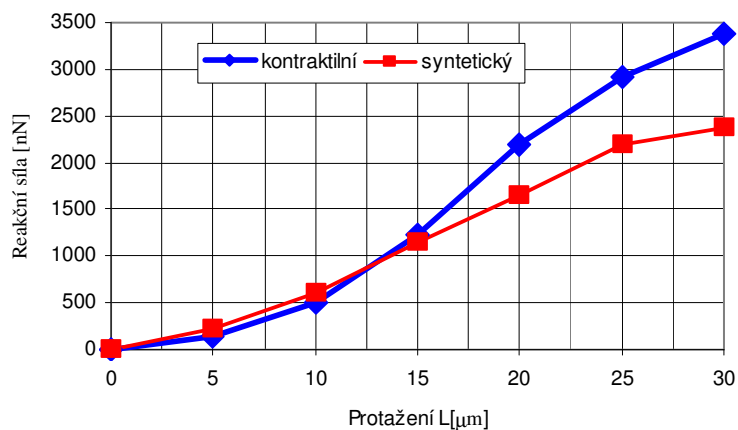
Experiment publikovaný v Miyazaki, H., Hasegawa, Y., Hayashi, K., (2002) byl proveden na nově vyvinutém zařízení na provádění tahových zkoušek buněk a jemných biologických vláken a lze zjednodušeně popsat následujícím způsobem:

Na protilehlé konce izolované buňky se nalepí dvě mikropipety, přičemž jedna je připojena ke snímači síly a druhá k mikromanipulátoru, pomocí kterého je řízeno protažení buňky v rozsahu 0- 100% původního průměru. Tvar buňky v nezatíženém stavu je přibližně sférický o průměru zhruba 30 μm . Experiment byl proveden pro šest buněk každého fenotypu a výsledky byly statisticky vyhodnoceny.



Obr. 2.1 Schéma experimentu

Výsledkem tohoto experimentu je závislost reakční síly v mikropipetách na protažení buňky (obr.2.2).



Obr 2.2 Experimentálně určená závislost reakční síly na protažení buňky

Naším úkolem bylo určit z těchto experimentálních dat odpovídající konstitutivní popis, použitelný v MKP výpočtovém modelování deformačně napěťových stavů buněk hladkého svalstva cévní stěny. Problém lze tedy naformulovat takto:

- Nalezení vhodného konstitutivního modelu, kterým jsme schopni popsat nelineární zpevňující průběh deformačně napěťové křivky materiálu buňky.
- Určit parametry tohoto modelu tak, aby simulace experimentu pomocí MKP odpovídala skutečnosti.

3. Řešení

Protože buňky mají sférický tvar, nelze naměřené závislosti jednoduše přepočítat na materiálové křivky σ - ϵ , jak jsme zvyklí u běžné tahové zkoušky na normalizovaných vzorcích. K řešení jsme použili výpočtovou simulaci experimentu v MKP systému ANSYS v. 7.1.

Máme k dispozici některé vstupní údaje, popisující geometrii buňky a její aktivaci (natažení) při experimentu a odezvu na tuto aktivaci v podobě závislosti výsledné reakční síly působící na mikropipety na protažení buňky. Vstupní materiálové charakteristiky buňky neznáme, určení konstitutivního modelu materiálu buňky je tedy inverzní úlohou.

Model materiálu

Důležitým předpokladem pro věrohodnost výsledků výpočtové simulace je volba vhodného modelu konstitutivního chování, který by postihoval všechny podstatné vlastnosti reálného materiálu. Pro schůdnost výpočtu jsme materiál buňky modelovali jako homogenní nelineární izotropní kontinuum, což sice neodpovídá realitě, ale vzhledem k absenci jakýchkoliv informací o mechanických vlastnostech strukturních prvků buňky se nám identifikace parametrů komplikovanějšího modelu jejího chování jeví zatím jako neschůdná. Použili jsme hyperelastický konstitutivní model Mooney-Rivlinův, popsáný vztahem pro energii napjatosti např. ve tvaru

$$W = a_1(i_1 - 3) + a_2(i_2 - 3) + a_3(i_1 - 3)^2 + a_4(i_1 - 3)(i_2 - 3) + a_5(i_2 - 3)^2 + a_6(i_1 - 3)^3 + a_7(i_1 - 3)^2(i_2 - 3) + a_8(i_1 - 3)(i_2 - 3)^2 + a_9(i_2 - 3)^3 \quad (1)$$

kde i_1 a i_2 jsou (první a druhý) invarianty Cauchy-Greenova tenzoru deformace. Jednodušší varianty modelu uvažují pouze lineární (první dva) nebo lineární a kvadratické (prvních pět) členy této rovnice. V našem případě se ukázal jako dostačující pětiparametrický model.

Model geometrie

Buňka byla v nezatíženém stavu modelována jako koule o průměru $30\mu\text{m}$, mikropipety byly modelovány jako duté nepoddajné válce o vnějším průměru $20\mu\text{m}$ a vnitřním průměru $4\mu\text{m}$, které byly umístěny na protilehlých stranách buňky. Spoj mezi buňkou a mikropipetami byl realizován jako slepený bez vzájemných posuvů.

Okrajové podmínky

Rotačně symetrická geometrie nám umožňuje řešit problém v systému ANSYS jako 2D úlohu v rotační symetrii. Model je zatížen stejně jako v experimentu posuvem pohyblivé mikropipety. Protože mikropipety jsou modelovány jako nepoddajné, nejsou zahrnuty v MKP

modelu a jejich funkce je zajištěna předepsáním posuvů do těch uzlů buňky, které by byly s mikropipetou v kontaktu.

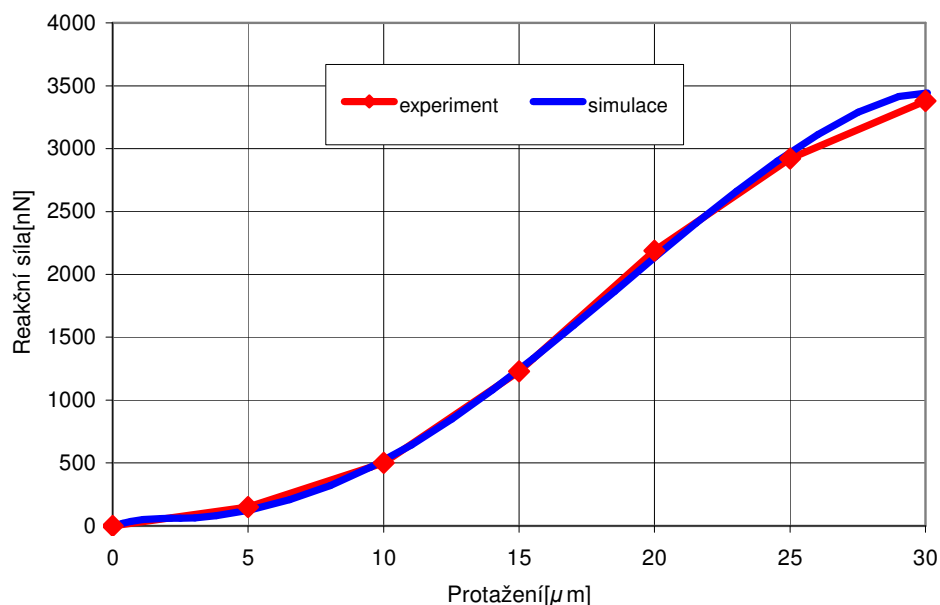
Výpočtová simulace byla realizována předepsáním posuvů do vybraných uzlů na povrchu buňky tak, aby rozsah protažení odpovídal experimentu. V těchto uzlech byla odečítána výsledná reakční síla.

Parametry konstitutivního modelu materiálu buňky byly určovány iterační metodou.

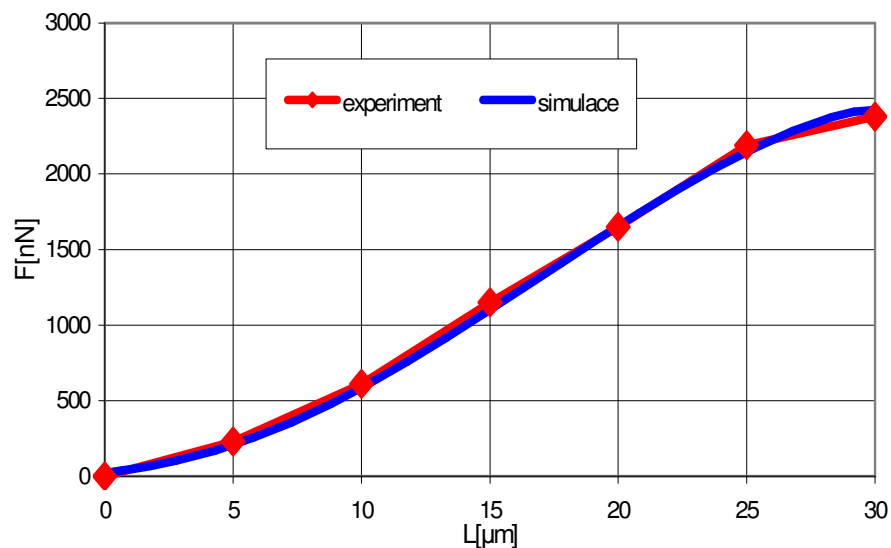
4. Výsledky

Pro první výpočet byla materiálová křivka σ - ϵ odhadnuta z experimentem zjištěné závislosti síly na protažení jednoduchým přepočtem – podělením síly počátečním průřezem a prodloužení počátečním průměrem buňky. Po skončení výpočtu byla závislost síla – protažení získaná simulací porovnána s křivkou získanou experimentem. Následně byla vstupní materiálová křivka σ - ϵ vhodně modifikována a výpočet proběhl znovu. Tento proces se opakoval tak dlouho dokud nebylo dosaženo dostatečné shody experimentální závislosti síla – prodloužení se závislostí spočítanou simulací. Vstupní charakteristika σ - ϵ , při které bylo dosaženo shody simulace a experimentu byla považována za správný výsledek.

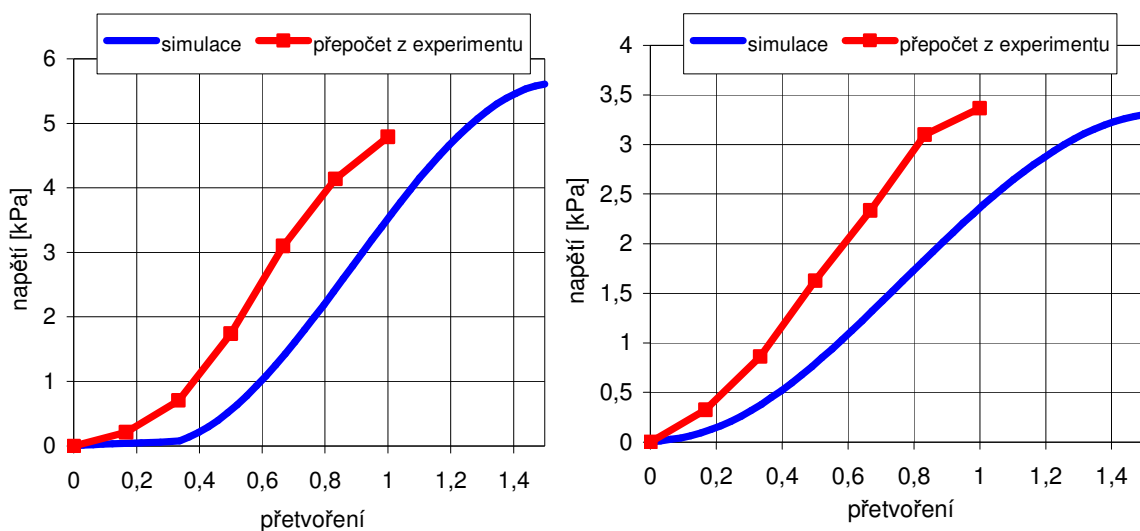
Z obr. 4.3 vidět, že křivky spočítané jednoduchým přepočtem z experimentální závislosti síla-protážení se od křivek určených simulací výrazně liší.



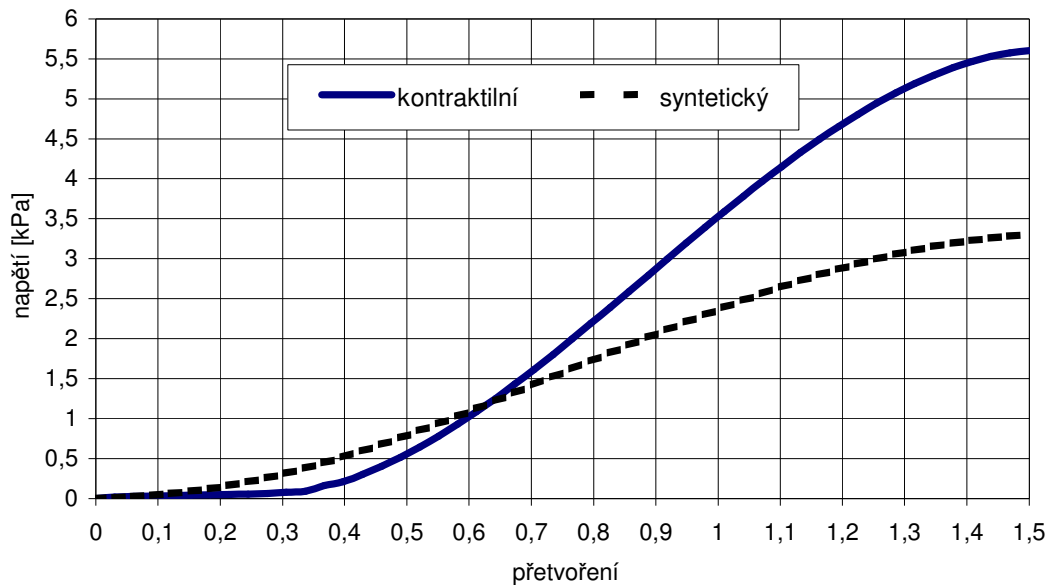
Obr. 4.1 Porovnání závislosti síla – protažení z experimentu a výpočtové simulace u buňky kontraktálního fenotypu



Obr. 4.2 Porovnání závislosti síla – protažení z experimentu a výpočtové simulace u buňky syntetického fenotypu



Obr. 4.3 Porovnání křivek σ - ϵ (ve smluvních hodnotách) materiálu buňky kontraktilního a syntetického fenotypu určené jednoduchým přepočtem z experimentu a výpočtovou simulací experimentu pomocí MKP.



Obr. 4.4 Materiálové křivky σ - ϵ (ve smluvních hodnotách) buněk kontraktilního a syntetického fenotypu, určené výpočtovou simulací experimentu.

Tabulka 4.1 Hodnoty konstant Mooney-Rivlinova konstitutivního modelu buněk hladkého svalstva kontraktilního a syntetického fenotypu, určené výpočtovou simulací.

Mooney-Rivlinovy konstanty	Kontraktilní fenotyp	Syntetický fenotyp
a_1	-3,529955	0,0792873
a_2	3,862332	-0,01529048
a_3	-0,9832718	-0,3066485
a_4	3,146998	0,8768383
a_5	-0,433546	-0,1151485

Závěr

Bylo dosaženo velmi dobré shody mechanické odezvy mezi experimentem a jeho výpočtovou simulací pomocí MKP (obr.4.1,4.2). Ve shodě s experimentem vykazuje větší tuhost materiál buněk kontraktilního fenotypu. V oblasti, kde křivka je téměř lineární (pro rozmezí smluvních přetvoření 0,5-1) lze vyhodnotit jeho modul pružnosti ($E=5,9\text{kPa}$), zatímco u syntetického fenotypu je tato hodnota nižší ($E=3.3\text{kPa}$). Výsledné křivky σ - ϵ , určené simulací mají nelineární zpevnující průběh, typický pro materiál cévní stěny. Při přetvoření okolo 100% dochází ke změně charakteru křivek z konvexního na konkávní a tedy k poklesu tuhosti. Tento jev může být způsoben tím, že při experimentu docházelo v některých případech k porušování vazby mezi buňkou a mikropipetou už při protažení kolem $25\mu\text{m}$. Křivky σ - ϵ

v oblastech přetvoření větších než 100% mohou být tímto jevem zkreslené, takže odpovídají realitě jen pro menší hodnoty přetvoření.

Konstitutivní model, určený výpočtovou simulací experimentu lze použít při tvorbě MKP výpočtových modelů deformačně napěťových stavů buněk hladkého svalstva cévní stěny, sloužících k pochopení dějů probíhajících v tepnách.

5. Poděkování

Práce byla provedena v rámci Výzkumného záměru MŠMT č.CEZ:322/98:262100001

6. Literatura

Miyazaki, H., Hasegawa, Y., Hayashi, K., (2002) Tensile properties of contractile and synthetic vascular smooth muscle cells.. *JSME Int. J.*, Vol. 45, No. 4, pp. 870-879.

Miyazaki, H., Hasegawa, Y., Hayashi, K., (2000) A newly designed tensile tester for cells and its application to fibroblasts. *Journal of Biomechanics*, Vol. 33, No. 1, pp. 97-104.

Miyazaki, H., Hayashi, K., Hasegawa, Y., (2003) Tensile properties of fibroblasts and vascular smooth muscle cells. *Biorheology*, Vol. 40, No. 1-3, pp. 207-212.

Vajdák, M., Burša, J., (2003) Non-linear regression application in identification of hyperelastic constitutive models of soft tissues. *Engineering Mechanics 2003, Svratka, CZ, May 2003*, p.360