

УДК 534.2, 534.7

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ МИКРОПУЗЫРЬКОВЫХ КОНТРАСТНЫХ АГЕНТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В УЛЬТРАЗВУКОВОЙ МЕДИЦИНЕ: ОБЗОР

А. А. Дойников, А. Буаказ

Университет им. Франсуа Рабле, 37044 Тур, Франция

E-mail: doinikov@bsu.by

Представлена новая область пузырьковой динамики, изучающая поведение ультразвуковых контрастных агентов — искусственных заключенных в оболочку пузырьков, которые используются в диагностической и терапевтической ультразвуковой медицине для улучшения качества ультразвуковых изображений и доставки лекарства в заданные точки в организме пациента. Проведен анализ теоретических моделей, используемых при описании поведения оболочки пузырька, взаимодействия пузырька со стенками кровеносных сосудов и воздействия пузырька на клеточную мембрану.

Ключевые слова: ультразвук, эхография, контрастный агент, сонопорация.

Введение. В ультразвуковой медицине существуют процедуры, при которых в кровоток организма пациента вводятся специальные заключенные в оболочку пузырьки — ультразвуковые контрастные агенты (ultrasound contrast agents) [1]. Увлекаемые кровотоком, контрастные пузырьки распространяются по кровеносным сосудам. Размер пузырьков (несколько микрометров) позволяет им проникать даже в малые периферийные капилляры, а оболочка предохраняет их от быстрого растворения. Наличие пузырьков приводит к увеличению акустического контраста между кровью и окружающими тканями, что позволяет получить более качественные ультразвуковые изображения исследуемых органов и тем самым повысить надежность диагностики. В настоящее время разрабатываются целевые контрастные агенты (targeted contrast agents), оболочка которых содержит специальные молекулы, вследствие чего эти агенты способны накапливаться вблизи определенных органов и в областях патологий. При проведении ультразвукового исследования происходит подсветка таких областей, что делает возможным раннее неинвазивное обнаружение различных болезней.

Область применения контрастных пузырьков не ограничивается диагностикой. Ведутся активные исследования по их использованию в терапии для решения задачи лечения индивидуальных клеток, которая получила название целевой доставки лекарства (targeted drug delivery). Необходимо доставить лекарство к пораженным клеткам, чтобы они поглотили его, поскольку при нормальных условиях клеточная мембрана не пропускает внутрь инородные вещества. Использование контрастных пузырьков позволяет решить эту задачу. Они могут переносить лекарство внутри оболочки или на ее поверхности и доставлять его в нужную точку. Более того, экспериментально обнаружено, что пульсации пузырьков, вызываемые ультразвуком, могут приводить к временной проницаемости клеточных

мембран, в результате чего лекарство может попадать внутрь клеток, которые при этом остаются живыми. Данный процесс, называемый сонопорацией (sonoporation), происходит только при наличии обоих компонентов — ультразвука и пузырьков. Механизм сонопорации окончательно не установлен. Предполагается, что некие процессы, вызываемые пульсациями пузырьков (акустические течения, ударные волны, кавитационные микроструи), приводят к появлению микропор на поверхности клеточной мембраны, которые затягиваются после отключения ультразвука.

Первый микропузырьковый контрастный агент — “Альбунекс” — был одобрен для клинического применения в США в 1994 г. Этот агент представлял собой суспензию воздушных пузырьков, заключенных в оболочку из альбумина (разновидность природного белка). Средний диаметр пузырьков составлял порядка 4 мкм, а толщина оболочки — $15 \div 20$ нм. Современные агенты заполняются газом со слабой растворимостью (например, перфторпропаном) и имеют фосфолипидную оболочку, которая представляет собой молекулярный монослой толщиной порядка $2 \div 4$ нм.

Использование контрастных агентов привело к появлению новой области пузырьковой динамики, которая изучает влияние оболочки и взаимодействия со стенками кровеносных сосудов на акустические характеристики пузырька, а также воздействие пузырька на биологические объекты. В данной работе представлены теоретические модели, разработанные в этой области.

1. Моделирование оболочки. При моделировании динамики контрастного пузырька прежде всего необходимо выяснить, каким образом можно учесть влияние оболочки. В [2] предложен феноменологический подход — введение в уравнение Рэлея — Плессета, описывающее пульсации обычного пузырька, дополнительных членов (обозначим их совокупность через S), вид которых определяется реологическими свойствами оболочки:

$$\rho_L \left(R\ddot{R} + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \right) = P_{G0} \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S. \quad (1.1)$$

Здесь ρ_L — плотность жидкости; R — переменный радиус пузырька; точка над буквой обозначает дифференцирование по времени; P_{G0} — равновесное давление газа в пузырьке; R_0 — равновесный радиус пузырька; σ — коэффициент поверхностного натяжения; η_L — коэффициент вязкости жидкости; P_0 — гидростатическое давление; P_{ac} — давление, создаваемое падающей волной.

Выражение для S , предложенное в [2], основано на предположении, что оболочка ведет себя как линейная вязкоупругая среда. Впоследствии это выражение было несколько изменено [3]. В настоящее время оно имеет вид формулы, называемой моделью де Йонга:

$$S = 4\chi \left(\frac{1}{R_0} - \frac{1}{R} \right) + 4\kappa_S \frac{\dot{R}}{R^2}. \quad (1.2)$$

Здесь χ — поверхностный упругий модуль оболочки; κ_S — поверхностная вязкость оболочки. В случае бесконечно тонкой сферической оболочки, подвергающейся малым деформациям, выражение (1.2) можно рассматривать как предельную форму закона Кельвина — Фойгта, поэтому оно не содержит плотность и толщину оболочки.

В работе [4] использован более строгий подход, а именно по аналогии с уравнением Рэлея — Плессета выведено уравнение, описывающее пульсации пузырька, заключенного в оболочку конечной толщины, в предположении, что поведение этой оболочки описывается

некоторым девиатором напряжений $\tau_{rr}^{(S)}$, а пульсации не приводят к изменению плотности оболочки:

$$\begin{aligned} R_1 \ddot{R}_1 \left(1 + \frac{\rho_L - \rho_S}{\rho_S} \frac{R_1}{R_2} \right) + \dot{R}_1^2 \left(\frac{3}{2} + \frac{\rho_L - \rho_S}{\rho_S} \frac{4R_2^3 - R_1^3}{2R_2^3} \frac{R_1}{R_2} \right) = \\ = \frac{1}{\rho_S} \left[P_{G0} \left(\frac{R_{10}}{R_1} \right)^{3\chi} - \frac{2\sigma_1}{R_1} - \frac{2\sigma_2}{R_2} - 4\eta_L \frac{R_1^2 \dot{R}_1}{R_2^3} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right]. \end{aligned} \quad (1.3)$$

Здесь R_1, R_2 — внутренний и внешний радиусы оболочки; ρ_S — плотность оболочки; σ_1, σ_2 — коэффициенты поверхностного натяжения на внутренней и внешней поверхностях оболочки; S вычисляется по формуле

$$S = -3 \int_{R_1}^{R_2} \frac{\tau_{rr}^{(S)}(r, t)}{r} dr. \quad (1.4)$$

В [4] с использованием закона Кельвина — Фойгта для $\tau_{rr}^{(S)}$ получено выражение

$$S = 4\mu_S(R_{20}^3 - R_{10}^3)R_2^{-3}(1 - R_{1e}/R_1) + 4\eta_S(R_{20}^3 - R_{10}^3)R_1^{-1}R_2^{-3}\dot{R}_1, \quad (1.5)$$

где μ_S, η_S — модуль сдвига и сдвиговая вязкость материала оболочки; R_{10}, R_{20} — равновесные значения R_1 и R_2 ; R_{1e} — радиус внутренней поверхности оболочки в ненапряженном состоянии. Нетрудно показать, что если толщина оболочки стремится к нулю ($R_{20} \rightarrow R_{10}$), а пульсации малы, то (1.3) переходит в (1.1), а (1.5) — в (1.2) [5]. Таким образом, для современных контрастных агентов, имеющих монослойную липидную оболочку, в режиме линейных пульсаций модели де Йонга [3] и Черча [4] будут давать практически одинаковые результаты. Применение обеих моделей для описания нелинейных пульсаций не является теоретически обоснованным, поскольку выражения для S в обеих моделях основаны на линейном реологическом законе.

В [6] предложено описывать динамику оболочки современных контрастных агентов, являющейся монослоем, так же, как описывается динамика пленки адсорбированного поверхностно-активного вещества. При наличии такого вещества коэффициент поверхностного натяжения σ является функцией поверхностной концентрации этого вещества. Когда пузырек пульсирует, концентрация меняется, а следовательно, меняется и σ . При малых пульсациях изменение концентрации адсорбированного вещества пропорционально изменению площади поверхности пузырька. В [6] предложено вычислять S по формуле

$$S = \frac{2\sigma(R)}{R} + \frac{4\chi_S \dot{R}}{R^2}, \quad (1.6)$$

в которой “упругая” часть представляет собой эффективное поверхностное натяжение

$$\sigma(R) = \sigma_0 + E_S(R^2/R_e^2 - 1). \quad (1.7)$$

В [6] радиус R_e , при котором напряжения в оболочке отсутствуют, предлагается вычислять из условия равенства давлений снаружи и внутри пузырька ($P_{G0} = P_0$): $R_e = R_0 \sqrt{1 - \sigma_0/E_S}$ (σ_0, E_S — константы, которые следует определять экспериментально). При подстановке (1.6) в (1.1) член $2\sigma/R$ в (1.1) должен быть опущен.

Та же идея использована Ф. Мармотто [3] для моделирования больших пульсаций пузырька, при которых оболочка может разрываться, когда пузырек расширяется, восстанавливается, когда он сжимается, и коробится, когда $R < R_0$. Модель Мармотто, модифицированная в [7], обычно записывается в виде (1.6), где $\sigma(R)$ вычисляется по следующему правилу:

$$\sigma(R) = \begin{cases} 0, & R < R_b, \\ \chi(R^2/R_b^2 - 1), & R_b \leq R \leq R_r, \\ \sigma_L, & R > R_r. \end{cases} \quad (1.8)$$

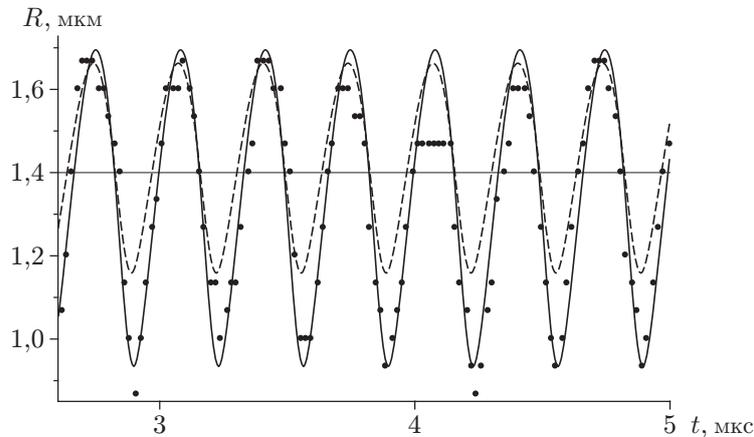


Рис. 1. Пульсации контрастного пузырька в режиме “только сжатие”:
 точки — результаты экспериментов, линии — результаты аппроксимации экспериментальных данных (штриховая линия — модель де Йонга, сплошная — модель Мармотто)

Здесь R_b — радиус, при котором оболочка начинает коробиться; R_r — радиус, при котором оболочка рвется; σ_L — коэффициент поверхностного натяжения для внутреннего газа и окружающей жидкости при отсутствии оболочки. Радиусы R_b и R_r вычисляются по формулам $R_b = R_0(1 + \sigma(R_0)/\chi)^{-1/2}$, $R_r = R_b(1 + \sigma_L/\chi)^{1/2}$, где величина $\sigma(R_0)$ рассматривается как параметр, который может быть определен экспериментально.

Модель Мармотто является наиболее эффективной среди имеющихся моделей, поскольку позволяет моделировать режим пульсаций, получивший название “только сжатие” (compression-only). Результаты экспериментов, проведенных в [8], показывают, что при пульсациях пузырьков с липидной оболочкой обычно $R_0 - R_{\min} \gg R_{\max} - R_0$ (R_{\min} , R_{\max} — минимальное и максимальное значения $R(t)$), т. е. пузырьки сжимаются легче, чем расширяются (рис. 1). Точки на рис. 1 соответствуют результатам измерений, выполненных для липидного пузырька с $R_0 = 1,4$ мкм при частоте $f = 3$ МГц и амплитуде давления $P_a = 100$ кПа [5]. Штриховая кривая получена в результате подгонки экспериментальных данных с использованием модели де Йонга, сплошная — в результате подгонки с помощью модели Мармотто. Видно, что при использовании модели Мармотто экспериментальные и теоретические результаты согласуются лучше. Модель де Йонга, так же как и другие модели, рассмотренные выше, не воспроизводит пики сжатия, которые наблюдаются в экспериментах. Эти модели могут использоваться только при очень слабых полях, для которых кривая $R(t)$ симметрична относительно R_0 .

Однако модель Мармотто, как и все прочие известные модели, имеет существенный недостаток: материальные константы χ и \varkappa_S , которые в том или ином виде содержатся во всех моделях, могут быть найдены путем подгонки экспериментальных кривых $R(t)$, при этом обнаруживается, что значения этих констант возрастают с увеличением размера пузырька R_0 [5, 9–12]. Несмотря на то что разброс значений χ и \varkappa_S достаточно большой, эта тенденция явно прослеживается в моделях де Йонга и Мармотто. Данный результат нельзя объяснить наличием случайных неоднородностей в структуре оболочки, а также зависимостью толщины оболочки от R_0 , поскольку липидная оболочка является монослоем и ее толщина приблизительно одинакова для всех пузырьков. В [10] исследована зависимость значений \varkappa_S , полученных путем подгонки экспериментальных кривых $R(t)$ с помощью модели де Йонга, от скорости сдвига оболочки. Для оценки последней использовалось максимальное значение величины \dot{R}/R . Обнаружено, что с увеличением скорости сдвига значение \varkappa_S уменьшается. В реологии этот эффект называется псевдопластично-

стью. В [5] исследована зависимость χ от величины деформации оболочки, для оценки которой использовалась величина $(R_{\max} - R_0)/R_0$. Обнаружено, что с увеличением деформации χ уменьшается. В реологии такое поведение материала называется разупрочнением. Зависимость χ и \varkappa_S от частоты и давления не исследовалась, но результаты, полученные в [5, 10], свидетельствуют о том, что такая зависимость должна существовать. Таким образом, для каждого значения параметров R_0, f, P_a нужно находить значения χ и \varkappa_S , используя экспериментальные кривые $R(t)$, полученные при этих параметрах. Поэтому существующие оболочечные модели не способны достоверно описывать ситуации, для которых отсутствуют экспериментальные данные. Это обусловлено тем, что описание липидных оболочек с помощью линейных реологических законов, в которых χ и \varkappa_S рассматриваются как константы, не является адекватным. Необходимо использовать нелинейные законы для материальных констант, которые справедливы в достаточно широком диапазоне как пузырьковых, так и акустических параметров.

Имеются работы, в которых для описания упругости и вязкости оболочки предложено применять нелинейные законы. В [13] изучалась возможность моделирования упругости оболочки с помощью законов Муни — Ривлина и Скалака. Первый из этих законов используется в нелинейной теории упругости для моделирования процесса разупрочнения, второй — для моделирования процесса упрочнения. В [13] проведено сравнение поведения пузырьков в указанных двух случаях и в случае, когда оболочка описывается законом Кельвина — Фойгта, однако сравнение с экспериментальными данными не проводилось и зависимость материальных констант от размера пузырька не исследовалась.

В [14] предложено рассматривать величину E_S в модели (1.7) как функцию изменения площади поверхности пузырька: $E_S = E_S(\Delta A)$, где $\Delta A = (R/R_e)^2 - 1$. Исследованы два закона, описывающие деформационное разупрочнение: $E_S(\Delta A) = E_{S0} - E_{S1} \Delta A$ и $E_S(\Delta A) = E_{S0} \exp(-\alpha_S \Delta A)$. При оценке констант E_{S0}, E_{S1}, α_S использовались результаты измерений линейного затухания ультразвука в суспензии липидных пузырьков, т. е. константы оценивались по осредненным данным для большого количества пузырьков, имеющих различные размеры, а не по осцилляционным кривым для индивидуальных пузырьков. Показано, что экспоненциальный закон может использоваться для моделирования режима “только сжатие”, если условие неотрицательности накладывается на величину $\sigma(R)$. Это условие означает, что $\sigma(R)$ вычисляется по формуле (1.7), а $E_S(\Delta A)$ — по экспоненциальному закону, когда $\sigma(R) > 0$, но в случае $\sigma(R) < 0$ (на стадии сжатия) значение $\sigma(R)$ принимается равным нулю. Однако зависимость констант, введенных в [14], от размера пузырька не исследовалась.

Попытка ввести нелинейную вязкость предпринята в работе [5]. Была выполнена подгонка экспериментальных кривых $R(t)$ с помощью модели (1.2), в которой значение \varkappa_S вычислялось по формуле

$$\varkappa_S = \left| \frac{\varkappa_0}{1 + \alpha |\dot{R}|/R} + \varkappa_1 \frac{\dot{R}}{R} \right|, \quad (1.9)$$

где $\varkappa_0, \alpha, \varkappa_1$ — константы. Первое слагаемое в (1.9) — частный случай закона Кросса, который используется в нелинейной теории вязкости для описания псевдопластичности. Второе слагаемое введено для моделирования режима “только сжатие”. Показано, что закон (1.9) действительно позволяет воспроизвести этот режим, а также то, что зависимость \varkappa_0 от R_0 становится более слабой, но не исчезает.

В данном обзоре не рассматривались работы, в которых описываются непринципиальные уточнения и математические варианты представленных выше моделей. Дополнительные списки литературы, посвященной исследованию оболочечных моделей, приведены в [15, 16].

2. Взаимодействие со стенками сосудов. Динамику контрастного пузырька, находящегося в центре большого кровеносного сосуда, можно моделировать так же, как в случае пузырька, помещенного в неограниченную жидкость. Однако в случае, когда пузырек достигает стенки этого сосуда или попадает в капилляр, возникает вопрос, каким образом близость стенки влияет на акустический отклик пузырька. Первые попытки ответить на этот вопрос основывались на результатах, полученных в классической акустике для обычных пузырьков. В этих исследованиях кровеносный сосуд рассматривался как жесткая трубка [17, 18]. Такая модель предсказывает, что при уменьшении радиуса сосуда резонансная частота пузырька уменьшается. Однако в случае кровеносных сосудов применимость модели жесткой стенки вызывает сомнения, поскольку плотность стенок кровеносных сосудов несущественно отличается от плотности крови. Применимость модели жесткой стенки сомнительна также в случае моделирования экспериментов с контрастными агентами, поскольку в таких экспериментах используются специальные пластиковые контейнеры, плотность стенок которых близка к плотности воды, обычно являющейся несущей жидкостью. Предпринимаются попытки разработать более адекватные модели, в которых стенка рассматривается как несжимаемая жидкость с конечной плотностью или как упругий материал.

В [19, 20] получены результаты численных расчетов, описывающие поведение пузырька, пульсирующего в центре малого кровеносного сосуда, стенки которого способны подвергаться эластичному растяжению. Закон движения крови в сосуде получен в результате численного решения уравнения Навье — Стокса. Для моделирования реакции стенок сосуда введено эмпирическое уравнение, основанное на экспериментальных данных и описывающее изменение радиуса сосуда при изменении давления вблизи внутренней поверхности сосуда. Это уравнение использовалось при численном решении уравнения Навье — Стокса в качестве граничного условия на внутренней поверхности сосуда. Коэффициент Пуассона для стенок сосуда был выбран равным 0,5, что соответствует несжимаемой жидкости с конечной плотностью. Показано, что при уменьшении радиуса такого сосуда резонансная частота пузырька возрастает.

В тех случаях, когда пузырек находится в большом кровеносном сосуде или в экспериментальном контейнере, его взаимодействие с ближайшей стенкой можно аппроксимировать как взаимодействие с бесконечной плоскостью, поскольку размер пузырька мал по сравнению с размером стенки и, следовательно, кривизна стенки не оказывает существенного влияния. В этом случае взаимодействие пузырька со стенкой можно описать с использованием модифицированного уравнения Рэлея — Плессета. Для случая жесткой стенки такая модификация хорошо известна [21], модификации для упругой стенки предложены в [22, 23]. В [22] получено уравнение для случая, когда расстояние между контрастным пузырьком и стенкой существенно превышает размер пузырька:

$$\begin{aligned}
 R\ddot{R}\left(1 - \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \frac{R}{2d} - \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \frac{R}{2(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{R}{2h}\right) + \\
 + \frac{3}{2} \dot{R}^2 \left(1 - \frac{\rho_1 - \beta}{\rho_1 + \beta} \frac{2R}{3d} - \frac{\beta - \rho_3}{\beta + \rho_3} \frac{2R}{3(d+h)} + \frac{(\rho_1 - \beta)(\beta - \rho_3)}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)} \frac{2R}{3h}\right) = \\
 = \frac{1}{\rho_1} \left[P_{G0} \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right]. \quad (2.1)
 \end{aligned}$$

Здесь ρ_1 — плотность жидкости; $\beta = \rho_2\nu/(1-\nu)$; ρ_2 — плотность стенки; ν — коэффициент Пуассона для стенки; d — расстояние между центром пузырька и стенкой (предполагается, что $d \gg R_0$); ρ_3 — плотность жидкости позади стенки; h — толщина стенки. В [22] также

получено выражение для поля рассеянного давления, создаваемого пузырьком в дальней зоне:

$$p_{scat} = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \frac{4\beta\rho_3}{(\rho_1 + \beta)(\beta + \rho_3)}. \quad (2.2)$$

Здесь L — расстояние от центра пузырька до точки измерения. Предполагается, что $L \gg d$, $L \gg h$. Уравнения (2.1), (2.2) могут быть также применены к случаю, когда позади стенки находится упругая среда, а не жидкость. Для этого достаточно заменить ρ_3 выражением $\rho_3\nu_3/(1 - \nu_3)$, где ν_3 — коэффициент Пуассона для среды, находящейся позади стенки. Уравнение (2.1) использовано в [22] для расчета резонансных кривых пузырька вблизи жесткой и полистироловой стенок. Выбор полистирола обусловлен тем, что именно такие стенки имеют контейнеры, используемые в экспериментах. Для определения члена S использовалась модель де Йонга (1.2). Анализ полученных кривых показывает, что вблизи жесткой стенки резонансная частота пузырька уменьшается по сравнению с ее значением для неограниченной жидкости, а вблизи полистироловой стенки возрастает.

В [23] рассмотрен случай, когда контрастный пузырек совершает монополярные и дипольные осцилляции, находясь в постоянном контакте с упругой стенкой бесконечной толщины. Получены следующие выражения для $R(t)$ и рассеянного давления в дальней зоне:

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{1}{\tau\rho_1} \left[P_{G0} \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\nu} - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right]; \quad (2.3)$$

$$p_{scat} = \frac{\rho_1(R^2\ddot{R} + 2R\dot{R}^2)}{L} \frac{2\beta}{\rho_1 + \beta}. \quad (2.4)$$

Здесь τ — безразмерная величина, для вычисления которой используется итерационная процедура, разработанная в [23]. Значение τ зависит от плотности жидкости ρ_1 и параметров стенки ρ_2 , ν . Для жесткой стенки $\tau \approx 1,49$, для реальных стенок значение τ меньше. Например, для системы вода — полистирол $\tau \approx 0,62$. Из (2.3) следует, что контакт пузырька со стенкой можно моделировать так же, как если бы пузырек находился в неограниченной жидкости с эффективной плотностью $\rho_{eff} = \tau\rho_1$. В зависимости от свойств стенки значение ρ_{eff} может быть больше или меньше ρ_1 . Соответственно при контакте со стенкой резонансная частота пузырька может уменьшаться или увеличиваться по сравнению с ее значением в неограниченной жидкости. В [23] выполнены численные расчеты, в которых для определения S использовалась модель Мармотто (1.8). Показано, что в случае полистироловой стенки резонансная частота пузырька увеличивается, а амплитуда пульсаций уменьшается. Сдвиг резонансной частоты может приводить к значительному изменению спектра рассеянного давления пузырька. Например, может существенно измениться соотношение между мощностями основной компоненты и второй гармоники. Следует отметить, что для системы кровь — сосуд выражение (2.3) предсказывает очень слабые изменения динамики пузырька, поскольку в этом случае $\tau \approx 1$. Незначительность этих изменений не позволяет установить надежные признаки, по которым можно определить момент, когда целевой агент достигает области патологии, что очень важно для клинической практики. Возможно, проблема заключается в том, что выражение (2.3) учитывает далеко не все процессы, происходящие в реальности (сдвиговые напряжения в стенке и ее вязкость, акустические течения, искажения поверхности пузырька и т. д.).

В [24] получено модифицированное уравнение Рэлея — Плессета, описывающее пульсации пузырька в сжимаемой вязкой жидкости, находящейся между двумя вязкоупругими слоями конечной толщины:

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 + \frac{R}{R_0}(R\ddot{R} + 2\dot{R}^2) * H(t) = \frac{1}{\rho_1} \left[P_{G0} \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\kappa} - 4\eta_L \frac{\dot{R}}{R} - P_0 - P_{ac}(t) - S \right]. \quad (2.5)$$

Здесь знак “*” обозначает свертку; $H(t)$ — обратное преобразование Фурье функции $H(\omega)$, описывающей амплитудно-частотную характеристику окружающей среды [24]. Как и модели, описанные выше, (2.5) предсказывает уменьшение амплитуды пульсаций пузырька в случае полистироловых слоев. При этом в отличие от других моделей (2.5) предсказывает не увеличение, а уменьшение резонансной частоты пузырька. В [24] сделано предположение, что это различие обусловлено учетом вязких эффектов в слоях и жидкости, которые не были учтены в других моделях. Однако результаты проведенных в [24] численных расчетов не подтверждают это предположение, поскольку в расчетах и сдвиговая, и объемная вязкости слоев были приняты равными нулю вследствие отсутствия данных об этих параметрах. Таким образом, только упругие параметры слоев были полностью учтены, тем не менее резонансная частота уменьшалась. Что касается вязкости жидкости, то расчеты показали, что она оказывает очень незначительное влияние на резонансную частоту пузырька. Сложность теоретических выкладок, на которых основана модель (2.5), затрудняет проверку их корректности, поэтому вопрос о том, почему (2.5) противоречит другим моделям, остается открытым.

Эксперименты показывают, что наличие ограничивающих поверхностей оказывает существенное влияние на рассеянный сигнал, создаваемый контрастными агентами [25–28]. В частности, имеются данные о том, что вблизи упругой стенки амплитуда пульсаций пузырька значительно уменьшается [27, 28]. Однако известные экспериментальные данные не позволяют сделать достоверных заключений об изменении резонансной частоты пузырька. Например, в [27] не проводились измерения резонансной частоты, но в [22] приведены косвенные свидетельства, которые позволяют предположить, что вблизи полистироловой стенки резонансная частота увеличивается. В [28] отмечено, что контакт пузырька с полистироловой стенкой приводит к значительному уменьшению резонансной частоты. Однако в эксперименте использовались целевые агенты, оболочка которых содержала лиганды — специальные молекулы, которые обеспечивают прилипание пузырька к заданным клеткам. По-видимому, основное влияние на процесс взаимодействия пузырька со стенкой оказывали не свойства стенки, а наличие лигандов.

3. Сонопорация. Существует большое количество экспериментальных данных о сонопорации, в то время как теоретические исследования находятся на начальной стадии. Имеющиеся модели основаны на гипотезе, согласно которой источником сонопорации являются акустические течения, создаваемые пузырьками вблизи клеток [29, 30]. Предполагается, что эти течения приводят к возникновению растягивающих напряжений в клеточной мембране и как следствие к образованию временных микропор [31–33]. В ряде работ имеются предположения о том, что проникновение инородных веществ внутрь клеток происходит не через поры, а посредством иных (биологических) процессов, таких как эндоцитоз [34]. Однако изображения клеточных мембран, подвергшихся воздействию ультразвука и контрастных пузырьков, подтверждают теорию микропор. На рис. 2 приведен пример такого изображения, полученного с помощью электронного микроскопа. Нельзя с полной уверенностью утверждать, что черные точки, появляющиеся на мембране после воздействия ультразвука и контрастных пузырьков, — это именно сквозные поры. Однако их вид и динамика свидетельствуют о том, что данное предположение скорее всего соответствует действительности. В некоторых работах имеются предположения о том, что появление

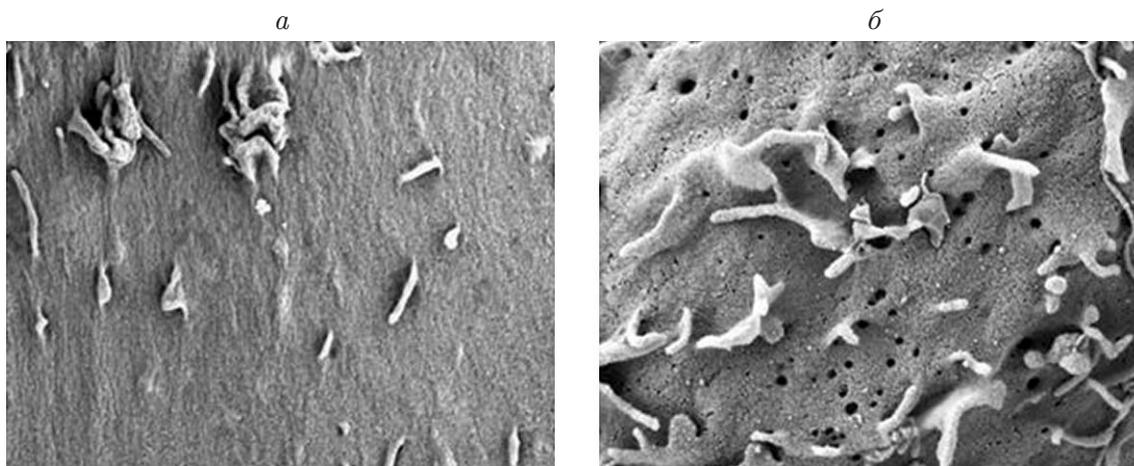


Рис. 2. Изображения клеточной мембраны до (а) и после (б) воздействия ультразвука и контрастных пузырьков, полученные с помощью электронного микроскопа

микропор обусловлено влиянием ударных волн и кавитационных микроструй, которые генерируются при коллапсе пузырьков [35–37]. Возможно, эти процессы также оказывают влияние на образование микропор, однако, учитывая имеющиеся экспериментальные данные, большинство исследователей считают, что образование микропор в основном происходит вследствие наличия акустических течений.

Существующая теория, используемая для оценки сдвиговых напряжений, создаваемых пузырьком на клеточной мембране, основана на положениях работы У. Ниборга [38]. В [38] выведена формула для сдвигового напряжения, которое создается на жесткой границе акустическим течением, генерируемым малым звуковым источником, расположенным вблизи данной границы. С помощью этой формулы сдвиговое напряжение выражается через потенциальное поле скоростей, создаваемое звуковым источником в окружающей жидкости. Согласно теории Ниборга максимальное напряжение, создаваемое на жесткой плоскости пульсирующим полусферическим пузырьком, присоединенным к этой плоскости, можно вычислить следующим образом:

$$s_{\max} = \frac{u_{\max}^2}{2R_0} \left(\frac{\rho_L \eta_L}{\pi f} \right)^{1/2}. \quad (3.1)$$

Здесь ρ_L , η_L — плотность и вязкость жидкости; f — задаваемая частота; R_0 — равновесный радиус пузырька; u_{\max} — максимальная радиальная скорость стенки пузырька. При использовании амплитуды смещения стенки пузырька ξ_{\max} вместо величины u_{\max} (3.1) принимает вид

$$s_{\max} = 2(\rho_L \eta_L)^{1/2} (\pi f)^{3/2} \xi_{\max}^2 / R_0. \quad (3.2)$$

В [39] предложено применять (3.2) для вычисления сдвиговых напряжений, испытываемых клетками вблизи пульсирующего пузырька, а также вблизи вибрирующего провода, который иногда используется в экспериментах в качестве источника звука. В последнем случае R_0 следует рассматривать как радиус поперечного сечения провода. В [40] предложено вычислять ξ_{\max} с помощью уравнения Рэлея — Плессета, что является обобщением (3.2) на случай нелинейных пузырьковых пульсаций. В [29] соотношение (3.2) использовалось для описания поведения контрастных агентов. При этом для вычисления ξ_{\max} применялась модель де Йонга. В [41] указано, что выражение (3.2), полученное для полусферического пузырька, не является корректным для пузырька, имеющего оболочку. Для

устранения этого недостатка теория Ниборга была применена для случая сферического пузырька, находящегося на расстоянии d от жесткой плоскости, причем учитывалось влияние наличия плоскости на пульсации пузырька. В [41] получено выражение для напряжения

$$s(\varepsilon) = 2(\rho_L \eta_L)^{1/2} (\pi f)^{3/2} \frac{\xi_{\max}^2}{R_0} \left(\frac{R_0}{d}\right)^5 K(\varepsilon), \quad K(\varepsilon) = \frac{2\varepsilon(1-2\varepsilon^2)}{(1+\varepsilon^2)^4},$$

где $\varepsilon = x/d$; x — расстояние на плоскости (клеточной мембране), отсчитываемое от точки, являющейся проекцией центра пузырька на плоскость. Функция $K(\varepsilon)$ имеет максимум при $\varepsilon_{\max} = \sqrt{(13 - \sqrt{129})/20}$, следовательно, максимальное напряжение $s_{\max} = s(\varepsilon_{\max})$ достигается вдоль окружности радиусом $\varepsilon_{\max}d$. В [41] предложено использовать это напряжение при оценке воздействия контрастного пузырька на клетку, причем значение ξ_{\max} должно вычисляться с помощью модифицированного уравнения Рэлея — Плессета, содержащего член S , определяемый реологическими свойствами оболочки, и член, учитывающий влияние границы (клеточной мембраны).

Аналитические исследования эффекта сонопорации пока не получили дальнейшего развития. Однако имеются работы, посвященные численному моделированию поведения клеточной мембраны под действием ультразвука. Мембрана моделируется как липидный бислой, макроскопическое поведение которого изучается путем численного интегрирования системы уравнений, описывающих движение отдельных молекул, составляющих этот бислой. Данный подход основан на численных методах, используемых в молекулярной динамике [42–44].

Заключение. Количество работ, посвященных исследованию ультразвуковых контрастных агентов, быстро увеличивается. Появляются новые типы агентов [45] и новые медицинские методики, в которых они используются. Данный обзор позволяет получить представление о наиболее известных теоретических проблемах, которые возникают при моделировании динамики микропузырьковых контрастных агентов. Анализ экспериментальных работ требует проведения отдельного обзора.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Szabo T.** Diagnostic ultrasound imaging: inside out. N. Y.: Acad. Press, 2004.
2. **de Jong N., Cornet R., Lancée C. T.** Higher harmonics of vibrating gas-filled microspheres. Pt 1. Simulations // *Ultrasonics*. 1994. V. 32. P. 447–453.
3. **Marmottant P., van der Meer S., Emmer M., et al.** A model for large amplitude oscillations of coated bubbles accounting for buckling and rupture // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2005. V. 118. P. 3499–3505.
4. **Church C. C.** The effect of an elastic solid surface layer on the radial pulsations of gas bubbles // *J. Acoust. Soc. Amer.* 1995. V. 97. P. 1510–1521.
5. **Doinikov A. A., Haac J. F., Dayton P. A.** Modeling of nonlinear viscous stress in encapsulating shells of lipid-coated contrast agent microbubbles // *Ultrasonics*. 2009. V. 49. P. 269–275.
6. **Sarkar K., Shi W. T., Chatterjee D., Forsberg F.** Characterization of ultrasound contrast microbubbles using in vitro experiments and viscous and viscoelastic interface models for encapsulation // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2005. V. 118. P. 539–550.
7. **Overvelde M., Garbin V., Sijl J., et al.** Nonlinear shell behavior of phospholipid-coated microbubbles // *Ultrasound Med. Biol.* 2010. V. 36. P. 2080–2092.

8. **de Jong N., Emmer M., Chin C. T., et al.** “Compression-only” behavior of phospholipid-coated contrast bubbles // *Ultrasound Med. Biol.* 2007. V. 33. P. 653–656.
9. **Chetty K., Sennoga C. A., Hainal J. V., et al.** High speed optical observations and simulation results of lipid based microbubbles at low insonation pressures // *Proc. of the 2006 IEEE Intern. ultrasonics symp., Vancouver, 3–6 Oct. 2006.* Vancouver: IEEE, 2006. P. 1354–1357.
10. **van der Meer S. M., Dollet B., Voormolen M. M., et al.** Microbubble spectroscopy of ultrasound contrast agents // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2007. V. 121. P. 648–656.
11. **Tu J., Guan J., Qiu Y., Matula T. J.** Estimating the shell parameters of SonoVue microbubbles using light scattering // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2009. V. 126. P. 2954–2962.
12. **Tu J., Swalwell J. E., Giraud D., et al.** Microbubble sizing and shell characterization using flow cytometry // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* 2011. V. 58. P. 955–963.
13. **Tsiglifis K., Pelekasis N. A.** Nonlinear radial oscillations of encapsulated microbubbles subject to ultrasound: The effect of membrane constitutive law // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2008. V. 123. P. 4059–4070.
14. **Paul S., Katiyar A., Sarkar K., et al.** Material characterization of the encapsulation of an ultrasound contrast microbubble and its subharmonic response: strain-softening interfacial model // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2010. V. 127. P. 3846–3857.
15. **Doinikov A. A., Bouakaz A.** Review of shell models for contrast agent microbubbles // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* 2011. V. 58. P. 981–993.
16. **Faez T., Emmer M., Kooiman K., et al.** 20 years of ultrasound contrast agent modeling // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* 2013. V. 60. P. 7–20.
17. **Sassaroli E., Hynynen K.** Forced linear oscillations of microbubbles in blood capillaries // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2004. V. 115. P. 3235–3243.
18. **Sassaroli E., Hynynen K.** Resonance frequency of microbubbles in small blood vessels: a numerical study // *Phys. Med. Biol.* 2005. V. 50. P. 5293–5305.
19. **Qin S., Ferrara K. W.** Acoustic response of compliant microvessels containing ultrasound contrast agents // *Phys. Med. Biol.* 2006. V. 51. P. 5065–5088.
20. **Qin S., Ferrara K. W.** The natural frequency of nonlinear oscillation of ultrasound contrast agents in microvessels // *Ultrasound Med. Biol.* 2007. V. 33. P. 1140–1148.
21. **Shima A., Tomita Y.** The behavior of a spherical bubble near a solid wall in a compressible liquid // *Ing.-Arch.* 1981. V. 51. P. 243–255.
22. **Doinikov A. A., Aired L., Bouakaz A.** Acoustic scattering from a contrast agent microbubble near an elastic wall of finite thickness // *Phys. Med. Biol.* 2011. V. 56. P. 6951–6967.
23. **Doinikov A. A., Aired L., Bouakaz A.** Dynamics of a contrast agent microbubble attached to an elastic wall // *IEEE Trans. Med. Imag.* 2012. V. 31. P. 654–662.
24. **Hay T. A., Ilinskii Yu. A., Zabolotskaya E. A., Hamilton M. F.** Model for bubble pulsation in liquid between parallel viscoelastic layers // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2012. V. 132. P. 124–137.
25. **Lankford M., Behm C. Z., Yeh J., et al.** Effect of microbubble ligation to cells on ultrasound signal enhancement: implications for targeted imaging // *Invest. Radiol.* 2006. V. 41. P. 721–728.
26. **Caskey C. F., Kruse D. E., Dayton P. A., et al.** Microbubble oscillation in tubes with diameters of 12, 25, and 195 microns // *Appl. Phys. Lett.* 2006. V. 88. 033902.
27. **Garbin V., Cojoc D., Ferrari E., et al.** Changes in microbubble dynamics near a boundary revealed by combined optical micromanipulation and high-speed imaging // *Appl. Phys. Lett.* 2007. V. 90. 114103.
28. **Overvelde M., Garbin V., Dollet B., et al.** Dynamics of coated microbubbles adherent to a wall // *Ultrasound Med. Biol.* 2011. V. 37. P. 1500–1508.

29. **Wu J.** Theoretical study on shear stress generated by microstreaming surrounding contrast agents attached to living cells // *Ultrasound Med. Biol.* 2002. V. 28. P. 125–129.
30. **Wu J., Nyborg W. L.** Ultrasound, cavitation bubbles and their interaction with cells // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2008. V. 60. P. 1103–1116.
31. **Deng C. X., Sieling F., Pan H., Cui J.** Ultrasound-induced cell membrane porosity // *Ultrasound Med. Biol.* 2004. V. 30. P. 519–526.
32. **van Wamel A., Kooiman K., Hartevelde M., et al.** Vibrating microbubbles poking individual cells: Drug transfer into cells via sonoporation // *J. Control. Release.* 2006. V. 112. P. 149–155.
33. **Yang F., Gu N., Chen D., et al.** Experimental study on cell self-sealing during sonoporation // *J. Control. Release.* 2008. V. 131. P. 205–210.
34. **Tran T. A., Le Guennec J. Y., Bougnoux P., et al.** Characterization of cell membrane response to ultrasound activated microbubbles // *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* 2008. V. 55. P. 44–49.
35. **Lee S., Anderson T., Zhang H., et al.** Alteration of cell membrane by stress waves in vitro // *Ultrasound Med. Biol.* 1996. V. 22. P. 1285–1293.
36. **Brujan E. A.** The role of cavitation microjets in the therapeutic applications of ultrasound // *Ultrasound Med. Biol.* 2004. V. 30. P. 381–387.
37. **Ohl C-D., Arora M., Ikink R., et al.** Sonoporation from jetting cavitation bubbles // *Biophys. J.* 2006. V. 91. P. 4285–4295.
38. **Nyborg W. L.** Acoustic streaming near a boundary // *J. Acoust. Soc. Amer.* 1958. V. 30. P. 329–339.
39. **Rooney A.** Shear as a mechanism for sonically induced biological effects // *J. Acoust. Soc. Amer.* 1972. V. 52. P. 1718–1724.
40. **Lewin P. A., Bjorno L.** Acoustically induced shear stresses in the vicinity of microbubbles in tissue // *J. Acoust. Soc. Amer.* 1982. V. 71. P. 728–734.
41. **Doinikov A. A., Bouakaz A.** Theoretical investigation of shear stress generated by a contrast microbubble on the cell membrane as a mechanism for sonoporation // *J. Acoust. Soc. Amer.* 2010. V. 128. P. 11–19.
42. **Koshiyama K., Kodama T., Yano T., Fujikawa S.** Structural change in lipid bilayers and water penetration induced by shock waves: molecular dynamics simulations // *Biophys. J.* 2006. V. 91. P. 2198–2205.
43. **Kudo N., Okada K., Yamamoto K.** Sonoporation by single-shot pulsed ultrasound with microbubbles adjacent to cells // *Biophys. J.* 2009. V. 96. P. 4866–4876.
44. **Koshiyama K., Yano T., Kodama T.** Self-organization of a stable pore structure in a phospholipid bilayer // *Phys. Rev. Lett.* 2010. V. 105. 018105.
45. **Sheeran P. S., Dayton P. A.** Phase-change contrast agents for imaging and therapy // *Curr. Pharm. Design.* 2012. V. 18. P. 2152–2165.

Поступила в редакцию 30/IX 2013 г.
