

**ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE**

**FAKULTA
STROJNÍ**



**DIPLOMOVÁ
PRÁCE**

2022

**JIŘÍ
ZALABÁK**



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Zalabák** Jméno: **Jiří** Osobní číslo: **457219**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávající katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**
Studijní program: **Aplikované vědy ve strojním inženýrství**
Specializace: **Biomechanika**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Stabilní tvary uzavřených fosfolipidových membrán

Název diplomové práce anglicky:

Stable shapes of closed phospholipid membranes

Pokyny pro vypracování:

1. Současný stav - přehled současných koncepcí
2. Helfrichova energie
3. 2D model tvarů s minimální energií určený pomocí Lagrange-Eulerova přístupu
4. Numerický model náhodných fluktuací
5. Ověření na předem definovaných tvarech
6. Srovnání analytického a numerického modelu

Seznam doporučené literatury:

Seguin B, Fried E. Microphysical derivation of the Canham-Helfrich free-energy density. *J Math Biol.* 2014 Feb;68(3):647-65. doi: 10.1007/s00285-013-0647-9.
Guckenberger A, Gekle S. Theory and algorithms to compute Helfrich bending forces: a review. *J Phys Condens Matter.* 2017 May 24;29(20):203001. doi: 10.1088/1361-648X/aa6313.
Deuling HJ, Helfrich W. Red blood cell shapes as explained on the basis of curvature elasticity. *Biophys J.* 1976 Aug;16(8):861-8. doi: 10.1016/S0006-3495(76)85736-0.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D. České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **19.04.2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **14.08.2022**

Platnost zadání diplomové práce:

prof. RNDr. Matej Daniel, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce

doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomant bere na vědomí, že je povinen vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

5.5.2022

Datum převzetí zadání

Podpis studenta

Poděkování

Rád bych na tomto místě velice poděkoval vedoucímu mé diplomové práce panu prof. RNDr. Mateji Danielovi, Ph.D. za veškerý věnovaný čas a poskytnutou pomoc. Bez jeho cenných rad, důležitých připomínek a obrovské trpělivosti, kterou se mnou měl, by tato práce nemohla vzniknout.

Čestné prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, ze kterých jsem při psaní čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Tato práce nebyla použita k získání jiného titulu.“

V Praze dne 12.8.2022

.....

Abstrakt

Tato práce se zabývá popisem numerického modelu buněčné membrány ve dvou rozměrech. Jako srovnání pro numerický model byl použit analyticky popsáný tvar buněčné membrány, získaný odvozením z Helfrichovy teorie elasticity membrány. Podle této teorie by takový tvar membrány by měl reprezentovat stav s nejnižší hodnotou deformační energie pro dané parametry. Pro ověření této hypotézy byl tento tvar aproximován pomocí interpolační funkce, čímž byl získán přibližný tvar křivky složený z diskrétních elementů stejné délky. Následně byla provedena optimalizace tvaru s využitím metody Monte Carlo za účelem minimalizace deformační energie, která ověřila zda analyticky získaný tvar skutečně reprezentuje stav s minimální deformační energií. Ukázalo se, že takto popsáným numerickým modelem je možné aproximovat analytický tvar buněčné membrány.

Klíčová slova

buněčná membrána; lipidy; Helfrichova teorie; numerické modelování; optimalizace; metoda Monte Carlo

Abstract:

The objective of this thesis is the construction of a numerical model of a cell membrane in two dimensions. As a comparison for the numerical model, an analytically defined shape of a cell membrane, obtained from Helfrich theory of membrane elasticity, is used. This shape should represent the state with the lowest amount of deformation energy for given parameters. To verify this hypothesis, the analytical shape of the curve was approximated using an interpolation function, which provided an approximate shape of the curve comprised of discrete elements of equal length. Furthermore, this shape was subjected to optimization by Monte Carlo method with respect to minimizing deformation energy in order to establish whether the analytically defined shape does indeed represent the state of minimal deformation energy. It was established that a numerical model constructed in this way can indeed be used to approximate the analytical shape of a cell membrane.

Keywords:

cell membrane; lipids; Helfrich theory; numeric modelling; optimization; Monte Carlo method

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Stav poznání.....	10
2.1	Pohled do historie	10
2.2	Struktura membrány.....	12
2.3	Tvary červených krvinek	14
2.4	Numerické modely buňky.....	15
2.4.1	Coarse-grained particle method (CGPM)	15
2.4.2	Coarse-grained molecular dynamics (CGMD)	15
2.4.3	Dissipative particle dynamics (DPD).....	16
2.4.4	Metody na bázi bilayer-couple hypotézy	16
2.4.5	Metoda konečných prvků (MKP).....	16
2.4.6	Helfrichova teorie elasticity membrány	17
3	Cíle práce	18
4	Použité metody.....	19
4.1	Odvození analytické rovnice energie membrány	19
4.2	Implementace analytické úlohy v MatLabu.....	23
4.3	Numerická aproximace	26
4.4	Způsoby definice elementů pro numerickou aproximaci.....	27
4.4.1	Metoda elementů stejné délky.....	27
4.5	Metody numerického výpočtu křivosti	28
4.5.1	Metoda průměrné křivosti.....	28
4.5.2	Discrete winding number theorem	29
4.5.3	Discrete gradient of arc length	29
4.5.4	Discrete area inflation	29
4.5.5	Fitování kružnic	29
4.5.6	Rozšíření křivky a předsání symetrie	30
4.6	Optimalizace tvaru pomocí minimalizace deformační energie.....	31
4.6.1	Parametry optimalizace.....	33
5	Výsledky	34
5.1	Analytická úloha	34
5.1.1	Vliv Lagrangeova multiplikátoru Δp	35
5.1.2	Vliv Lagrangeova multiplikátoru λ	36
5.1.3	Vliv vlastní křivosti c_0	38

5.2	Numerická úloha	40
5.2.1	Vliv počtu elementů na přesnost aproximace křivky	40
5.2.2	Vliv použité metody výpočtu křivosti na přesnost výsledků	42
5.2.3	Konečná volba parametrů numerické aproximace	43
5.2.4	Zhodnocení funkčnosti optimalizace	45
5.2.5	Optimalizace tvaru analytické křivky	47
6	Diskuze	49
7	Závěr	50
	Použitá literatura	51

Seznam obrázků

Obr. 1 - Schématická ilustrace lipidové dvouvrstvy podle Gortera a Grenela (1925) [1].	10
Obr. 2 - Ilustrace lipidové dvouvrstvy s vrstvou proteinů na povrchu - Danielli a Davson (1935) [1].	11
Obr. 3 - Snímek z elektronového mikroskopu ukazující dvě buněčné membrány oddělené mezibuněčným prostorem [1].	11
Obr. 4 - Model buněčné membrány sestavený na základě pozorování elektronovým mikroskopem - Robertson (1959).	12
Obr. 5 - Monomerní lipid rozdělený na hlavičku a řetězec (vlevo); ukázka uspořádání lipidových vrstev – micela (uprostřed) a lipidová dvouvrstva (vpravo) [1].	12
Obr. 6 - Přehled různých fází, kterými v závislosti na teplotě prochází lipidová dvouvrstva [1].	13
Obr. 7 - Znázornění tvarů, kterých může nabývat červená krvinka - stomatocyt (vlevo), diskocyt (uprostřed), echinocyt (vpravo) [4].	14
Obr. 8 - Znázornění vazby mezi lipidovou dvouvrstvou a cytoskeletem [5].	14
Obr. 9 - Znázornění diskretizace buněčné membrány pomocí metody CGPM [5].	15
Obr. 10 - Znázornění diskretizace buněčné membrány pomocí metody CGMD [7].	15
Obr. 11 - Diskretizace diskocytu pomocí metody DPD [2].	16
Obr. 12 – integrační oblasti ds (vlevo) a dA (vpravo).	19
Obr. 13 - Vývojový diagram funkce $bvp5c$ – přeloženo z [10].	23
Obr. 14 - Křivka znázorňující tvar celé buněčné membrány ve 2D.	25
Obr. 15 – Původní křivka (tečkovaná) a křivka posunutá do nuly (plná).	25
Obr. 16 - Aproximace analytické křivky pomocí numericky vytvořených elementu.	26
Obr. 17 - Geometrické znázornění elementu.	26
Obr. 18 - Znázornění numerické aproximace křivky vytvořené pomocí elementů a úhlů sklonu.	28
Obr. 19 - Doplnění křivky o jeden symetrický element na obou koncích - původní křivka (nahore) a doplněná křivka (dole).	30
Obr. 20 - Vývojový diagram optimalizačního algoritmu Monte Carlo.	32
Obr. 21 - Parametrická konstrukce elipsy [14].	33
Obr. 22 – Změna tvaru křivky v závislosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru Δp .	34
Obr. 23 - Vliv hodnoty Lagrangeova multiplikátoru p na hodnoty L , A , U a UL .	35
Obr. 24 - Změna tvaru křivky v závislosti na Lagrangeově multiplikátoru λ .	36
Obr. 25 - Vliv hodnoty Lagrangeova multiplikátoru λ na hodnoty L , A , U a UL .	37
Obr. 26 - Změna tvaru křivky v závislosti na vlastní křivosti c_0 .	38
Obr. 27 - Vliv hodnoty vlastní křivosti c_0 na hodnoty L , A , U a UL .	39
Obr. 28 - Ukázka velikosti chyb výpočtu délky křivky L a plochy pod křivkou A pro různé tvary křivky v závislosti na počtu elementu.	41
Obr. 29 – Porovnání různých způsobů výpočtu deformační energie pro referenční tvar křivky.	42
Obr. 30 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivky popsané pomocí $\Delta p = 0.05$.	43
Obr. 31 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivky popsané pomocí $\Delta p = 0.1$.	44
Obr. 32 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivky popsané pomocí $\Delta p = 0.142$.	44
Obr. 33 – Ukázka rozdílných výsledků dvou pokusů o optimalizaci tvaru elipsy s použitím stejných parametrů: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).	45
Obr. 34 – Ukázka rozdílných průběhů minimalizace deformační energie pro dva provedené pokusy s použitím stejných parametrů: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).	46
Obr. 35 - Porovnání výsledků dvou pokusů optimalizace s odlišnými parametry: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).	47

Obr. 36 - Porovnání průběhů minimalizace deformační energie pro dva pokusy s odlišnými parametry:
pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole). 48

Seznam tabulek

Tab. 1 – srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru p	35
Tab. 2 - srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru λ	37
Tab. 3 - srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě vlastní křivosti c_0	39
Tab. 4 - Srovnání počátečních hodnot deformační energie s hodnotami získanými optimalizací.	45
Tab. 5 - Srovnání počátečních hodnot deformační energie s hodnotami získanými optimalizací.	47

Seznam použitých zkratk a symbolů

CGPM		Coarse-grained particle method
CGMD		Coarse-grained molecular dynamics
DPD		Dissipative particular dynamics
MKP		Metoda konečných prvků
H	$\left[\frac{1}{\mu m}\right]$	střední křivost
K	$\left[\frac{1}{\mu m^2}\right]$	Gaussova křivost
c_1	$\left[\frac{1}{\mu m}\right]$	první hlavní křivost
c_2	$\left[\frac{1}{\mu m}\right]$	druhá hlavní křivost
U	$[k_B T]$	deformační energie
κ	$[Pa]$	ohybový modul
$\bar{\kappa}$	$[Pa]$	Gaussův modul
γ	$[Pa]$	povrchové napětí
c_0	$\left[\frac{1}{\mu m}\right]$	vlastní křivost
δ		variační symbol
A	$[\mu m^2]$	plocha
V	$[\mu m^3]$	objem
L	$[\mu m]$	celková délka
Δp	$\left[\frac{J}{\mu m^2}\right]$	první Lagrangeův multiplikátor
λ	$\left[\frac{J}{\mu m}\right]$	druhý Lagrangeův multiplikátor
s	$[\mu m]$	délka křivky
ψ	$[rad]$	úhel sklonu
$d\psi$	$[rad]$	změna úhlu sklonu
x, z	$[\mu m]$	souřadnicové osy
φ_1, φ_2	$[rad]$	náhradní proměnné
\vec{e}_i		element
l_i	$[\mu m]$	délka elementu
k	$[-]$	parametr náhodné změny úhlu
n_{krit}	$[-]$	počet cyklů beze změny, po kterém se opt. algoritmus zastaví
a	$[\mu m]$	hlavní poloosa elipsy
b	$[\mu m]$	vedlejší poloosa elipsy
k_B	$\left[\frac{J}{K}\right]$	Boltzmannova konstanta
T	$[K]$	termodynamická teplota

1 Úvod

Buňka je základní stavební jednotkou živých organismů a také dějištěm metabolických procesů. V těchto procesech hrají roli nejen jednotlivé buněčné organely, ale také buněčná membrána, která buňku obklopuje. Tato membrána odděluje buňku od okolního prostředí, poskytuje ochranu a oporu, a umožňuje přepravu živin dovnitř buňky a vylučování toxinů ven z buňky. Uvnitř membrány se také nacházejí proteiny, pomocí kterých může jedna buňka interagovat s jinými buňkami.

Studium mechanických a chemických vlastností buněčné membrány je klíčové pro porozumění průběhu nemocí a vrozených vad, které následně umožňuje vývoj nových léčiv a inovativních léčebných postupů. Jedním z hlavních předmětů zájmu v tomto oboru je studium vlastností červených krvinek. Protože funkce červených krvinek je přenášet v těle kyslík a živiny, jakákoli změna jejich vlastností může mít obrovské následky pro zdraví i život.

Pro správnou funkci krevního oběhu je nutné, aby červené krvinky byly schopny projít velmi úzkými vlásečnicemi, které jsou někdy až dvakrát tenčí než jejich původní průměr. Je tedy zřejmé, že jejich buněčná membrána je velmi poddajná. Snížení této poddajnosti, ať už vlivem přirozeného stárnutí nebo nemoci, výrazně snižuje energetickou účinnost transportu krve.

Protože čistě experimentální přístup je technicky náročný a finančně nákladný, byly k výzkumu mechanických vlastností buněčné membrány vyvinuty její matematické modely. Pro určité vybrané tvary buněk dokonce známe jejich analytický popis, jako je např. Helfrichova teorie. Pro jiné tvary nebo procesy však takový popis neznáme.

V takových případech se ve fyzice a inženýrství běžně obracíme na numerické modely. Numerická řešení jsou často analyticky jednodušší a umožňují nám řešit problémy, které analyticky vyřešit nedokážeme. K jejich použití však vždy potřebujeme vytvořit dostatečně reprezentativní model analytického problému, který nám zaručí, že naše numerické řešení bude dostatečně přesné k použití v dalším výzkumu nebo v inženýrské praxi. Dalším možným omezením je také výpočetní náročnost modelu, která ve snaze dosáhnout dostatečně přesného modelu může být velmi vysoká.

Tato práce se zabývá popisem právě takového numerického modelu buněčné membrány ve dvou rozměrech. Účelem modelu je co nejpřesněji aproximovat tvar buněčné membrány získaný z analytické rovnice, který reprezentuje stav s minimální deformační energií. V průběhu práce zhodnotíme, jak přesný tento model je v závislosti na hustotě diskretizace a tvaru křivky, který pomocí něj chceme aproximovat. Dále zhodnotíme také vliv různých metod numerického výpočtu křivosti na přesnost a výpočetní náročnost. Nakonec ještě na tomto modelu provedeme optimalizaci pomocí metody Monte Carlo, abychom ověřili, zda tato aproximace tvaru také reprezentuje tvar s minimální deformační energií.

2 Stav poznání

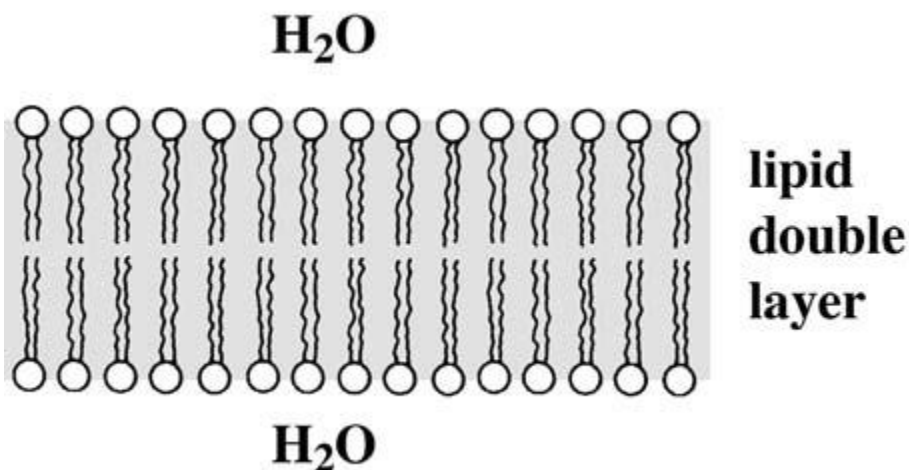
2.1 Pohled do historie

Moderní koncept buněčné membrány sahá zhruba do druhé poloviny 19. století. Za otce teorie membrán je považován německý botanik Wilhelm Pfeffer, který se v roce v té době jako první zabýval problematikou osmotického tlaku v buňkách. Pfeffer ve svých závěrech publikovaných v roce 1877 postuloval, že existuje tenká vrstva, která obklopuje buněčnou protoplazmu (metabolicky aktivní živou hmotu vyplňující vnitřní část buňky) od jejího okolí. Tuto vrstvu Pfeffer nazval „plazmatická membrána” a byl přesvědčen, že podobné membrány existují nejen okolo buněk, ale také na každém rozhraní mezi dvěma tekutými prostředími různého složení [1].

Dalším důležitým objev přišel na konci 19. století, kdy se britský biolog a fyziolog Charles E. Overton zabýval závislostí mezi rozdělovacím koeficientem (mezi vodou a olejem) různých látek a jejich schopností projít skrz buněčnou membránu. Jeho zkoumání ho dovedlo k hypotéze, že vlastnosti buněčné membrány jsou blízko vlastnostem oleje. Ve své práci na téma anestezie se o těchto membránách vyjadřoval jako o „lipidech” složených z lipidů a cholesterolu [1].

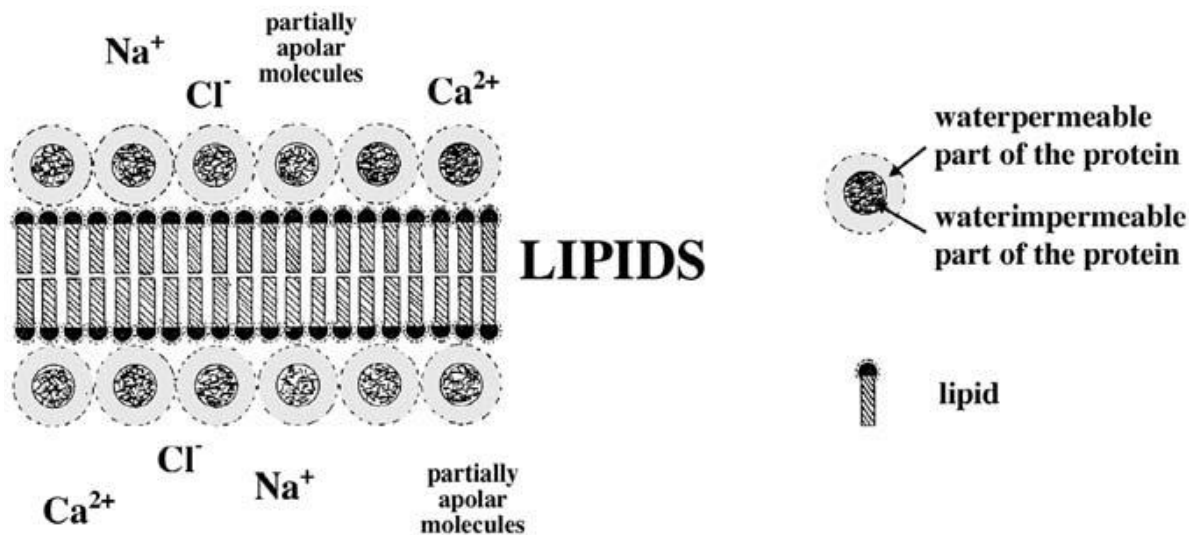
V roce 1917 přišel americký fyzikální chemik Irving Langmuir na základě svých měření s teorií, že hlavičky lipidů jsou hydrofilní, zatímco jejich ocasy jsou hydrofobní [1].

Tuto teorii využili při svých měřeních o něco později holandské fyziologové E. Gorter a F. Grendel. V rámci svého experimentu získali lipidy z červených krvinek lidí, psů, králíků, morčat a koz. Tyto lipidy byly rozprostřeny na povrchu vody a měřil se jejich povrch. Ze stejných krevních vzorků se zároveň pomocí mikroskopu určil povrch červených krvinek. Bylo zjištěno, že povrch, který lipidy zauímají na vodním povrchu jako jednovrstvý film, je přesně dvojnásobný než povrch zjištěný z mikroskopie. Na základě těchto zjištění vznikla teorie, že buněčná membrána se skládá z lipidové dvouvrstvy, ve které hlavičky v obou vrstvách vždy směřují k vodnímu prostředí (viz Obr. 1) [1].



Obr. 1 - Schématická ilustrace lipidové dvouvrstvy podle Gortera a Grenela (1925) [1].

Ve 30. letech 20. století vznikl první model buněčné membrány, který zahrnoval přítomnost proteinů. Danielli a Davson is všimli, že na vrstvách obklopujících buňku je adsorbováno značné množství proteinů. Bylo známo, že fosfolipidy jsou amfipatické (mají hydrofobní i hydrofilní část). Pozorované proteiny byly z velké části rozpustné ve vodě, ale zůstávaly adsorbované k povrchu membrán. Na základě těchto zjištění byl zformulován koncept lipidové dvouvrstvy, která je z obou stran pokrytá vrstvou proteinů (viz Obr. 2) [1].

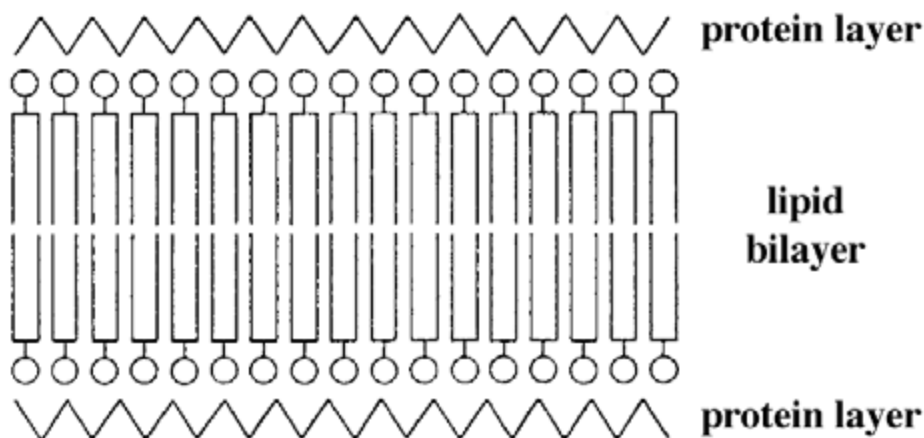


Obr. 2 - Ilustrace lipidové dvouvrstvy s vrstvou proteinů na povrchu - Danielli a Davson (1935) [1].

Výše zmíněné modely byly zatím pouze teoretické, a byly sestaveny s použitím nepřímých důkazů. Důvodem je to, že s použitím světelné mikroskopie není možné pozorovat objekty menší než 200 nm. Průlomem v této oblasti dosáhl J. David Robertson, který na základě snímků z elektronového mikroskopu (viz Obr. 3) sestavil model membrány. Podobně jako ve výše uvedených modelech se jeho model skládal z lipidové dvouvrstvy, s jednou vrstvou proteinů na každé straně (viz Obr. 4). Povedlo se mu také určit tloušťku membrány jako zhruba 7.5 nm [1].



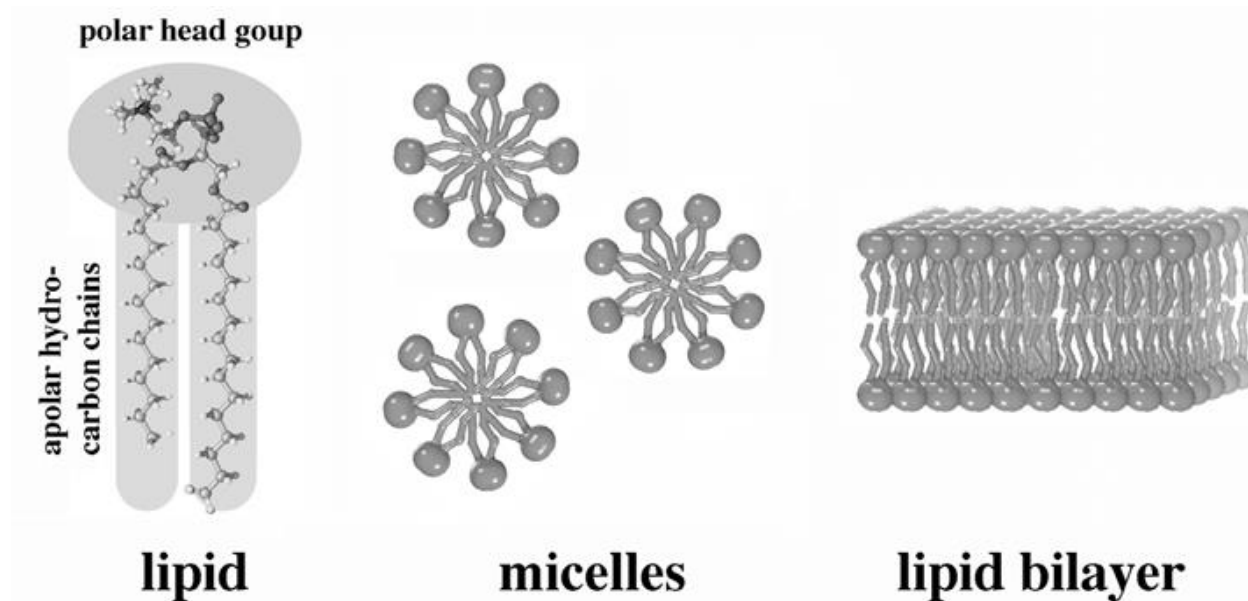
Obr. 3 - Snímek z elektronového mikroskopu ukazující dvě buněčné membrány oddělené mezibuněčným prostorem [1].



Obr. 4 - Model buněčné membrány sestavený na základě pozorování elektronovým mikroskopem - Robertson (1959).

2.2 Struktura membrány

Lipidy se skládají z polární hlavičky, tvořené fosfáty a choliny, a nepolárního řetězce tvořeného uhlovodíky. Jak je zmíněno výše, hlavičky jsou hydrofilní zatímco řetězce jsou hydrofobní. V důsledku toho lipidy obvykle formují tvary, ve kterých jsou hlavičky orientovány směrem ven a řetězce směrem dovnitř (viz Obr. 5) [1].

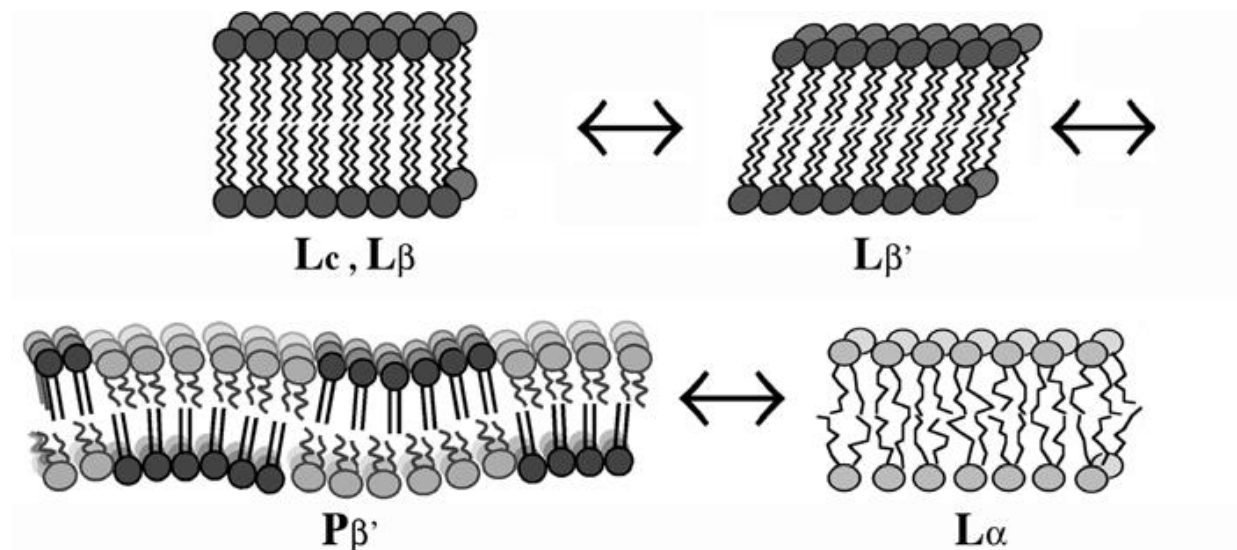


Obr. 5 - Monomerní lipid rozdělený na hlavičku a řetězec (vlevo); ukázka uspořádání lipidových vrstev – micela (uprostřed) a lipidová dvouvrstva (vpravo) [1].

Všeobecně lze říci, že se zvýšenou koncentrací lipidů dochází k formování komplexnějších uspořádání. Monomerní lipidy (viz Obr. 5 vlevo) se proto vyskytují spíše při nižších koncentracích. Při dosažení kritické koncentrace se lipidy začnou spojovat do tzv. „micel“ (viz Obr. 5 uprostřed), které mohou nabývat různých tvarů.

Při ještě vyšších koncentracích se lipidy začnou spojovat do lamelárních dvouvrstev (viz Obr. 5 vpravo). V závislosti na zvyšující se teplotě se postupně můžeme setkat s tímto pořadím lamelárních fází:

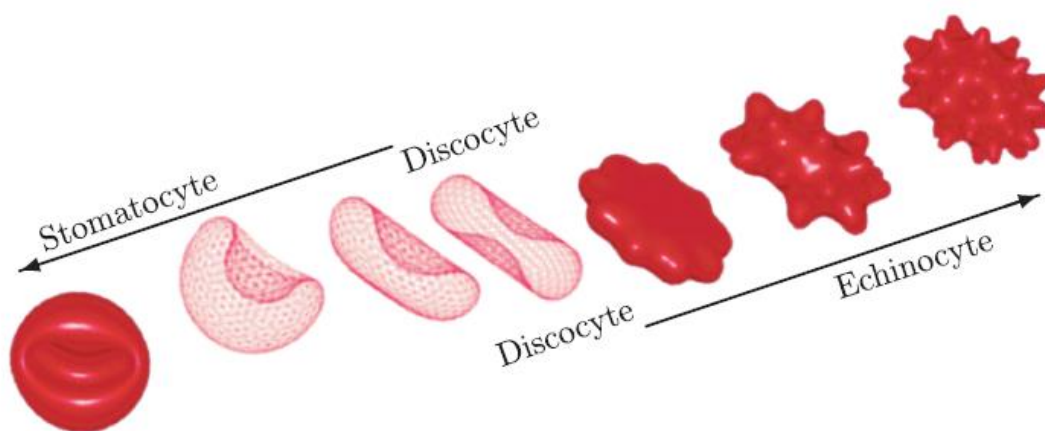
- 1) Fáze L_c – Jedná se o krystalickou fázi lipidové dvouvrstvy, uspořádanou ve třech rozměrech.
- 2) Fáze L_{β} – Tuto fázi nazýváme gelová, a na rozdíl od předchozí fáze dochází k náklonu lipidů vzhledem k normále membrány (až o 30°). Lipidy jsou uspořádány ve dvourozměrné trojúhelníkové mřížce v rovině membrány.
- 3) Fáze P_{β} – Fáze, při které dochází k periodickému jednorozměrnému zvlnění membrány. Vlnky pravděpodobně vznikají vlivem periodického rozmístění fází L_{β} a L_{α}
- 4) Fáze L_{α} – Tuto fázi označujeme jako fluidní. Řetězce jsou v této fázi většinou neuspořádané a dochází také k rozpadu mřížky.



Obr. 6 - Přehled různých fází, kterými v závislosti na teplotě prochází lipidová dvouvrstva [1].

2.3 Tvary červených krvinek

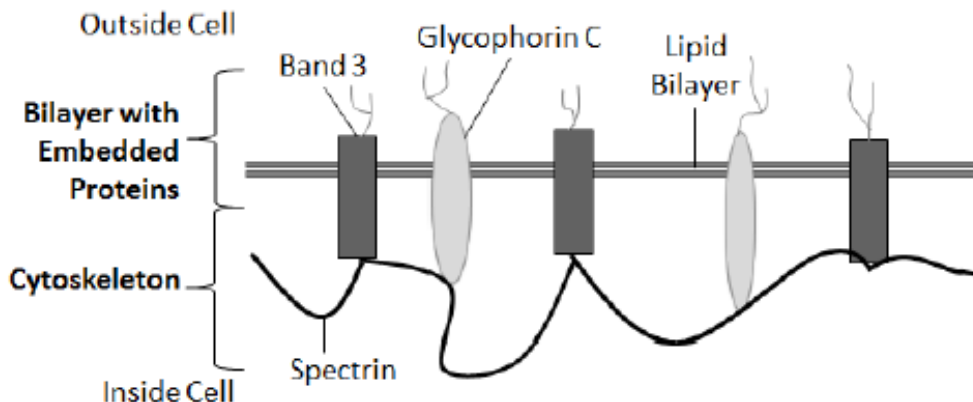
Červené krvinky, jinak nazývané také erythrocyty, tvoří v lidském těle zhruba polovinu celkového objemu krve. Červené krvinky jsou bezjaderné, a jsou jedinými buňkami v lidském těle schopnými přenášet v krvi kyslík. V jejich přirozeném stavu zaujímají tvar bikonkávního disku (označovaného jako diskocyt) o poloměru přibližně $8\ \mu\text{m}$ a tloušťce $2\ \mu\text{m}$ (viz Obr. 7 uprostřed). Tyto buňky jsou schopny velkých deformací, což jim umožňuje protékat i velmi tenkými vlásečnicemi, jejichž průměr je až o 50% menší než běžný průměr erythrocytu. [2] [3] [4].



Obr. 7 - Znázornění tvarů, kterých může nabývat červená krvinka - stomatocyt (vlevo), diskocyt (uprostřed), echinocyt (vpravo) [4]

Mechanické vlastnosti jejich buněčné membrány jsou v jejich přirozeném stavu plně předepsány vazbou mezi membránou a cytoskeletem. Jakákoli změna ve vlastnostech membrány tedy nutně znamená změnu tvaru a funkčnosti buňky. Základní struktura buněčné membrány je výše zmíněná (viz 2.2) lipidová dvouvrstva, která je v kontaktu s vodným prostředím okolo, a jejíž vlastnosti mohou být ovlivněny přítomností různých činidel (viz Obr. 8). Cytoskelet je tvořen hexagonální dynamickou sítí tvořenou spektrinovými filamenti přichycenými k membráně [4].

Červené krvinky mohou nabývat také jiných tvarů, ale ke změnám tvaru dochází vždy podle stejné sekvence (viz Obr. 7). Její základní bikonkávni tvar je předepsán především hodnotou ohybové energie lipidové dvouvrstvy, ale přítomnost cytoskeletu má také významný vliv [3] [4].



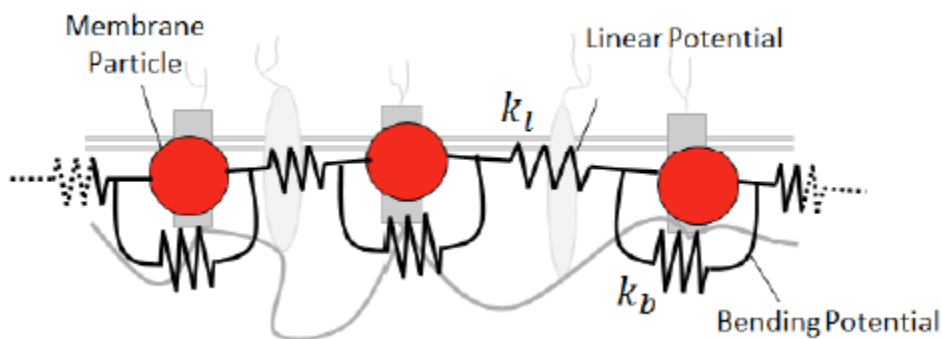
Obr. 8 - Znázornění vazby mezi lipidovou dvouvrstvou a cytoskeletem [5].

2.4 Numerické modely buňky

Vzhledem k malým rozměrům buněk je jejich experimentální zkoumání poměrně náročné, zvláště pokud jde o mechanické vlastnosti. V takové situaci je často lepší aproximovat buňku a její membránu numerickým modelem, pomocí kterého je možné vyšetřovat tyto vlastnosti v mnohem menším měřítku. V této kapitole si uvedeme několik běžně používaných metod.

2.4.1 Coarse-grained particle method (CGPM)

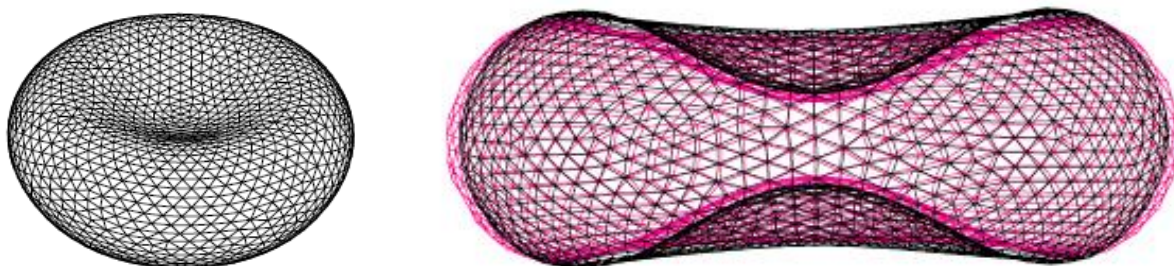
Tato metoda spočívá v rozdělení membrány na jednotlivé částice, které jsou spojeny pomocí sítě. Tato síť má schopnost ukládat v sobě energii. Preferovaný tvar, který buňka zaujme v klidovém stavu, je nalezen pomocí minimalizace takto uložené energie. Minimalizace je provedena pomocí principu virtuálních prací a druhého Newtonova zákona. Síť na ukládání energie je sestavena tak, aby simulovala mechanické funkce jednotlivých částí buňky. Mezi běžně definované vlastnosti patří odolnost vůči strečování (v důsledku přítomnosti cytoskeletu), konstantní velikost povrchu membrány, konstantní velikost vnitřního objemu buňky a ohybový odpor membrány. Tento model se většinou používá k simulaci chování erytrocytů při proudění [5] [6].



Obr. 9 - Znárodnění diskretizace buněčné membrány pomocí metody CGPM [5]

2.4.2 Coarse-grained molecular dynamics (CGMD)

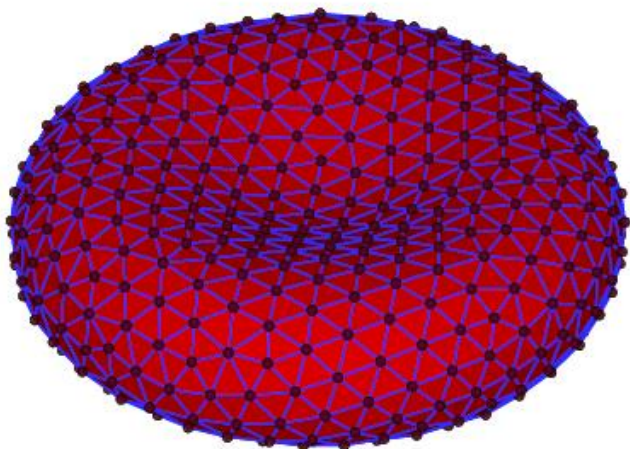
Tato metoda, stejně jako metoda CGPM, zahrnuje diskretizaci membrány rozdělením na jednotlivé částice. Na rozdíl od předchozí metody jsou však elementy mnohem menší, což umožňuje simulovat chování molekulárních těles složených z různých druhů částic s rozdílnými vlastnostmi. Díky tomu je tato metoda vhodná např. k vyšetřování defektů v buněčné membráně. Nevýhoda těchto modelů spočívá v tom, že díky své vysoké sofistikovanosti jsou určeny především k modelování malých oblastí membrány. Pokud se pokusíme simulovat takto celou membránu, množství částic potřebných na diskretizaci bude obrovské, a výpočetní náročnost velmi vysoká [5] [7].



Obr. 10 - Znárodnění diskretizace buněčné membrány pomocí metody CGMD [7].

2.4.3 Dissipative particle dynamics (DPD)

Metoda DPD je podobná výše zmíněným metodám v tom, že také používá popis částic pomocí energetických veličin, a také využívá principu virtuálních prací. Hlavní rozdíl je v tom, že v metodě DPD automaticky počítáme se zahrnutím tekuté fáze do výpočtů, což v předchozích metodách není nutné. Tato metoda se rovněž používá k simulaci proudění a deformace. Pokud jde o tvar buňky, touto metodou byly zatím simulovány pouze diskocyty [2] [5].



Obr. 11 - Diskretizace diskocytu pomocí metody DPD [2].

2.4.4 Metody na bázi bilayer-couple hypotézy

V této metodě je změna tvaru membrány řízena podle hodnoty ΔA_0 , která značí rozdíl povrchů mezi rovinami dvouvrstvy. Tento výraz je zahrnut do energetické rovnice, která popisuje chování dvouvrstvy včetně chování v ohybu. Tvar buňky v klidovém stavu se opět získává pomocí minimalizace takto popsané energie. Stejně jako předchozích metodách počítáme s povrchovou a objemovou nestlačitelností a odolností vůči strečování [5].

Na rozdíl od předchozích metod však minimalizace neprobíhá metodou virtuálních prací, ale náhodnou metodou Monte Carlo. Výhodou této metody je, že je analyticky nenáročná, ale její náhodnost může potenciálně značně prodloužit výpočetní čas. Tato metoda byla úspěšně využita k simulaci tvarů stomatocytů a echinocytů (viz Obr. 7), ale pouze v klidovém stavu. Nevýhodou je, že protože metoda Monte Carlo je náhodná, není možné předepsat pohyb částic jako u metody virtuálních prací [5].

2.4.5 Metoda konečných prvků (MKP)

Další možnou metodou simulace chování erytrocytů je MKP. Pro použití této metody je nutné nejprve předem definovat tvar křivky, většinou pomocí analytické rovnice. To představuje problém při zkoumání jiných tvarů buněk (především echinocytů), protože tyto tvary mnohdy neumíme analyticky popsat [5].

Simulace pomocí metody MKP je náročnější než u částicových metod jako CGPM, protože metoda MKP není příliš vhodná k simulování velkých deformací, které u těchto buněk vznikají. To vyžaduje mnohem jemnější síť bodů, což komplikuje a zpomaluje výpočet. Navíc je také nutné předepsat komplikovanější vazby mezi pevnou a tekutou fází, což vytváří další komplikace při výpočtu. Metoda MKP

také není vhodná k simulaci heterogenních materiálů, takže zahrnutí defektů nebo různých druhů částic jako v metodě CGMD se zatím nepovedlo [5].

2.4.6 Helfrichova teorie elasticity membrány

Tato teorie charakterizuje mechanické vlastnosti buněčné membrány pomocí deformací vyvolaných tepelnými změnami. Buněčná membrána je aproximována pomocí dvourozměrného povrchu charakterizovaného lokální hodnotou křivosti a průměrnou plochou molekul, které tento povrch tvoří. Díky této aproximaci je možné vyjádřit kompresi nebo rozpínání v tečném směru a zkrivení v normálovém směru [3] [4].

Lokální křivost je vyjádřena pomocí dvou matematických veličin zvaných střední křivost H and Gaussova křivost K definovaných pomocí vztahů (1) a (2), ve kterých členy c_1 a c_2 představují hlavní křivosti [3] [4] [8].

$$2H = c_1 + c_2 \quad (1)$$

$$K = c_1 c_2 \quad (2)$$

Pomocí těchto veličin je možné vyjádřit vztah (3) pro volnou energii na jednotkový povrch membrány

$$U = \frac{1}{2} \kappa (2H - c_0)^2 + \bar{\kappa} K + \gamma, \quad (3)$$

kde člen κ značí ohybový modul, $\bar{\kappa}$ Gaussův modul a γ povrchové napětí. Člen c_0 značí hodnotu vlastní křivosti, která reprezentuje vliv chemického složení a asymetrie membrány. energii celé membrány získáme pomocí integrace po celém jejím povrchu [3] [4].

$$\int U(H, K) = \int \left\{ \frac{1}{2} \kappa (2H - c_0)^2 + \bar{\kappa} K + \gamma \right\} dA \quad (4)$$

Pokud chceme zjistit tvar membrány s minimální energií, můžete to provést pomocí variačního počtu s podmínkami konstantní plochy A a konstantního objemu V [4]. Ve výsledku jde o minimalizaci hodnoty určitého integrálu s okrajovými podmínkami. Pokud na rovnici (4) aplikujeme metodu Lagrangeových multiplikátorů, je možné zapsat výraz (5).

$$\delta \left\{ \frac{\kappa}{2} \int (c_1 + c_2 - c_0)^2 dA + \Delta p \cdot V + \lambda \cdot A \right\} = 0 \quad (5)$$

Ve výrazu (5) člen δ značí variační symbol a členy p a λ reprezentují Lagrangeovy multiplikátory. Pokud tuto rovnici vydělíme členem κ , tak zjistíme, že tvar buněčné membrány nyní závisí na parametrech $\Delta p / \kappa$ a λ / κ . Můžeme tedy říci, že ohybový modul κ slouží jako měřítko Lagrangeových multiplikátorů p a λ [4].

3 Cíle práce

Účelem této práce je sestavit numerický model pro výpočet energie buněčné membrány podle Helfricha (1973) [3] pro dvourozměrnou úlohu. Specifické cíle práce:

- Odvodit vztah pro energii buněčné membrány pro dvourozměrnou úlohu. Toto odvození je inspirováno odvozením, které bylo provedeno pro trojrozměrnou úlohu v článku od Martínez-Balbuena (2021) [4].
- Takto odvozenou rovnici převést na obyčejnou diferenciální rovnici prvního řádu a poté ji vyřešit v softwaru MatLab, čímž získáme tvar buněčné membrány s minimální deformační energií v závislosti na Lagrangeových multiplikaátorech a vlastní křivosti.
- Zhodnotit vliv Lagrangeových multiplikaátorů a vlastní křivosti na tvar, délku, vnitřní plochu a deformační energii analytické křivky.
- Tento analytický tvar diskretizovat pomocí interpolační funkce a vytvořit numerickou aproximaci pomocí elementů stejné délky.
- Navrhnout optimalizační algoritmus pro minimalizaci deformační energie křivky při konstantní délce a ploše s využitím metody Monte Carlo
- Zhodnotit vliv hustoty diskretizace a zvoleného způsobu numerického výpočtu křivosti na přesnost modelu.
- Ověřit, že analytický tvar i jeho numerická aproximace reprezentují stav s minimální deformační energií pomocí navrženého optimalizačního algoritmu Monte Carlo.

4 Použité metody

4.1 Odvození analytické rovnice energie membrány

Při odvození rovnice pro energii buněčné membrány ve dvou rozměrech budeme vycházet z rovnice (5) odvozené pro trojrozměrnou úlohu převzaté z Martínez-Balbuena et al. (2021) [4]. Stejně jako v odvození pro trojrozměrnou úlohu se snažíme najít takový tvar membrány, pro který bude splněna Euler-Lagrangeova diferenciální rovnice (6).

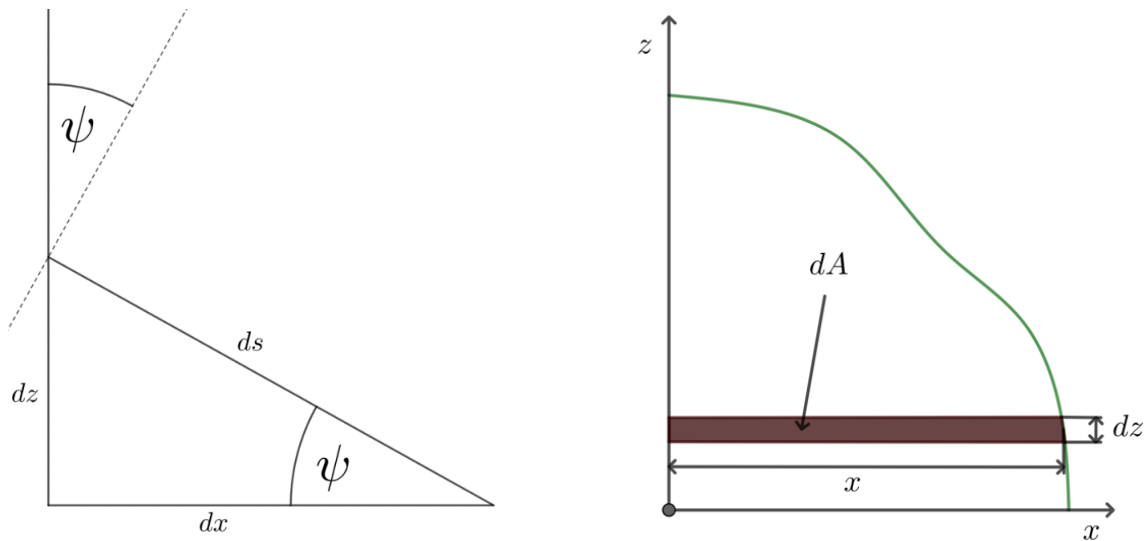
$$\frac{d}{dx} \left(\frac{\partial F}{\partial \dot{\psi}} \right) - \frac{\partial F}{\partial \psi} = 0 \quad (6)$$

Díky tomu, že se pohybujeme pouze ve dvourozměrném prostoru, si vystačíme pouze s jednou hodnotou křivosti. Zároveň musíme také změnit oblasti integrace tak, že je zúžíme o jeden rozměr. To znamená, že z plošného integrálu se stane integrál po délce, zatímco z objemového integrálu integrál plošný.

$$c_1 = 0 \quad (7)$$

$$dA \rightarrow ds \quad (8)$$

$$dV \rightarrow dA \quad (9)$$



Obr. 12 – integrační oblasti ds (vlevo) a dA (vpravo).

Dosažením úprav (7), (8) a (9) do rovnice (5) dostaneme tvar rovnice pro dvourozměrnou úlohu. Následně rozšíříme integrál v rovnici (10) tak, aby obsahoval i členy Δp a λ . Výsledkem tohoto kroku je rovnice (11).

$$\delta \left\{ \frac{\kappa}{2} \int (c_2 - c_0)^2 ds + \Delta p \cdot A + \lambda \cdot s \right\} = 0 \quad (10)$$

$$\delta \left\{ \int \left[\frac{\kappa}{2} (c_2 - c_0)^2 ds + \Delta p \cdot dA + \lambda \cdot ds \right] \right\} = 0 \quad (11)$$

Nyní musíme do rovnice (11) dosadit vyjádření integračních oblastí. Integrační oblast ds vyjádříme ve vztahu (12) pomocí funkce $\cos \psi$ (viz Obr. 12). Dále si obdobným způsobem, ale tentokrát s využitím funkce $\tan \psi$, vyjádříme rozměr dz . S využitím geometrie úlohy pak zapíšeme vztah (13) pro integrační oblast dA . Křivost c_2 definujeme jako změnu úhlu ψ po délce křivky s . Pokud do tohoto vyjádření dosadíme vztah (12), dostaneme pro křivost c_2 vztah (14).

$$ds = \frac{1}{\cos \psi} dx \quad (12)$$

$$dA = x dz = x \tan \psi dx = x \frac{\sin \psi}{\cos \psi} dx \quad (13)$$

$$c_2 = \frac{d\psi}{ds} = \frac{d\psi}{dx} \cos \psi = \dot{\psi} \cos \psi \quad (14)$$

Takto získané vztahy (12), (13) a (14) dosadíme do rovnice (11), čímž získáme vztah (15) pro energii membrány v závislosti na úhlu ψ . Z tohoto vztahu následně vytkneme členy $\frac{\kappa}{2}$ a $\frac{1}{\cos \psi}$ a získáme vyjádření ve zjednodušeném tvaru (16). Násobení konstantou nemá vliv na průběh integrace, takže κ před závorkou můžeme zanedbat a zapsat rovnici ve tvaru (17).

$$\delta \left\{ \int \left[\frac{\kappa}{2} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 \frac{1}{\cos \psi} + \Delta p \cdot x \frac{\sin \psi}{\cos \psi} + \lambda \cdot \frac{1}{\cos \psi} \right] dx \right\} = 0 \quad (15)$$

$$\delta \left\{ \int \frac{\kappa}{2 \cos \psi} \left[(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] dx \right\} = 0 \quad (16)$$

$$\delta \left\{ \int \frac{dx}{2 \cos \psi} \left[(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] \right\} = 0 \quad (17)$$

Při výpočtu prvního členu rovnice (6) derivujeme podle $\partial \dot{\psi}$. To nám umožňuje uvažovat v závorce v rovnici (17) pouze první člen, protože v ostatních není tento člen obsažen. Pomocí derivace vnitřní

funkce získáme výraz (18), který pak dále derivujeme podle dx . Protože na x závisí $\dot{\psi}$ i ψ , musíme provést pro první člen derivaci součinu. Vlastní křivost c_0 na x nijak nezávisí, takže její derivaci opět neuvažujeme. Výsledkem je výraz (19).

$$\frac{\partial F}{\partial \dot{\psi}} = \frac{2 \cos \psi}{2 \cos \psi} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0) = \dot{\psi} \cos \psi - c_0 \quad (18)$$

$$\frac{d}{dx} \left(\frac{\partial F}{\partial \dot{\psi}} \right) = \ddot{\psi} \cos \psi - \dot{\psi}^2 \sin \psi \quad (19)$$

Pro výpočet druhého členu rovnice (6) provedeme derivaci součinu a následně derivaci složené funkce. Derivujeme podle $\partial \psi$, takže během derivace závorky můžeme zanedbat pouze třetí člen. Po vykrácení čitatele a jmenovatelů získáme tvar (21) pro vyjádření druhého členu ELDR.

$$\frac{\partial F}{\partial \psi} = \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \left[(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] - \frac{2\dot{\psi} \sin \psi}{2 \cos \psi} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0) + \frac{2x\Delta p \cos \psi}{2\kappa \cos \psi} \quad (20)$$

$$\frac{\partial F}{\partial \psi} = \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \left[(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] - \frac{\dot{\psi} \sin \psi}{\cos \psi} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0) + \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (21)$$

Nyní je třeba tyto dva členy vyjádřené v (19) a (21) dosadit do rovnice (6). Rovnici anulujeme a dostaneme rovnici (22). Roznásobením závorky $(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2$ získáme rovnici (23), a dalším roznásobením všech zbývajících závorek rovnici (24).

$$0 = \ddot{\psi} \cos \psi - \dot{\psi}^2 \sin \psi - \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \left[(\dot{\psi} \cos \psi - c_0)^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] + \frac{\dot{\psi} \sin \psi}{\cos \psi} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0) - \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (22)$$

$$0 = \ddot{\psi} \cos \psi - \dot{\psi}^2 \sin \psi - \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \left[\dot{\psi}^2 \cos^2 \psi - 2c_0 \dot{\psi} \cos \psi + c_0^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right] + \frac{\dot{\psi} \sin \psi}{\cos \psi} (\dot{\psi} \cos \psi - c_0) - \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (23)$$

$$0 = \ddot{\psi} \cos \psi - \dot{\psi}^2 \sin \psi - \frac{1}{2} \dot{\psi}^2 \sin \psi + \dot{\psi} \frac{\sin \psi}{\cos \psi} c_0 - \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} c_0^2 - \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi - \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \frac{2\lambda}{\kappa} + \dot{\psi}^2 \sin \psi - \dot{\psi} \frac{\sin \psi}{\cos \psi} c_0 - \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (24)$$

Nyní se pokusíme rovnici (24) co nejvíce zjednodušit. Začneme vytknutím členů $\dot{\psi}^2, \dot{\psi}$ a $\frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi}$ a zapíšeme tvar (25). Po úpravách výrazů v závorkách získáme tvar (26).

$$0 = \ddot{\psi} \cos \psi + \dot{\psi}^2 \left(\sin \psi - \sin \psi - \frac{1}{2} \sin \psi \right) + \dot{\psi} \left(\frac{\sin \psi}{\cos \psi} c_0 - \frac{\sin \psi}{\cos \psi} c_0 \right) + \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \cdot \left(-c_0^2 - \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi - \frac{2\lambda}{\kappa} \right) - \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (25)$$

$$0 = \ddot{\psi} \cos \psi - \frac{1}{2} \dot{\psi}^2 \sin \psi + \frac{\sin \psi}{2 \cos^2 \psi} \left(-c_0^2 - \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi - \frac{2\lambda}{\kappa} \right) - \frac{x\Delta p}{\kappa} \quad (26)$$

Následně si potřebujeme vyjádřit vztah pro výpočet $\ddot{\psi}$, který bude použit pro řešení úlohy v softwaru MatLab. Abychom tento vztah získali, potřebujeme výraz $\ddot{\psi}$ z rovnice (26) převést na opačnou stranu, a poté celý vztah vydělit $\cos \psi$, čímž dostaneme finální vztah (27).

$$\ddot{\psi} = \frac{1}{2} \dot{\psi}^2 \frac{\sin \psi}{\cos \psi} + \frac{\sin \psi}{2 \cos^3 \psi} \left(c_0^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \psi + \frac{2\lambda}{\kappa} \right) + \frac{x\Delta p}{\kappa \cos \psi} \quad (27)$$

Nakonec je třeba upravit celý vztah na takový tvar, který bude možné numericky vyřešit. To znamená, že výsledný tvar musí obsahovat nejvýše první derivaci. Tento problém vyřešíme pomocí substituce. Místo proměnné ψ definujeme pomocnou proměnnou φ_1 , zatímco její derivaci $\dot{\psi}$ vyjádříme jako φ_2 . Díky této úpravě jsme schopni zapsat vztah (30) pro $\ddot{\psi}$, a jeho dosazením do (27) získáme finální vztah (31).

$$\varphi_1 = \psi \quad (28)$$

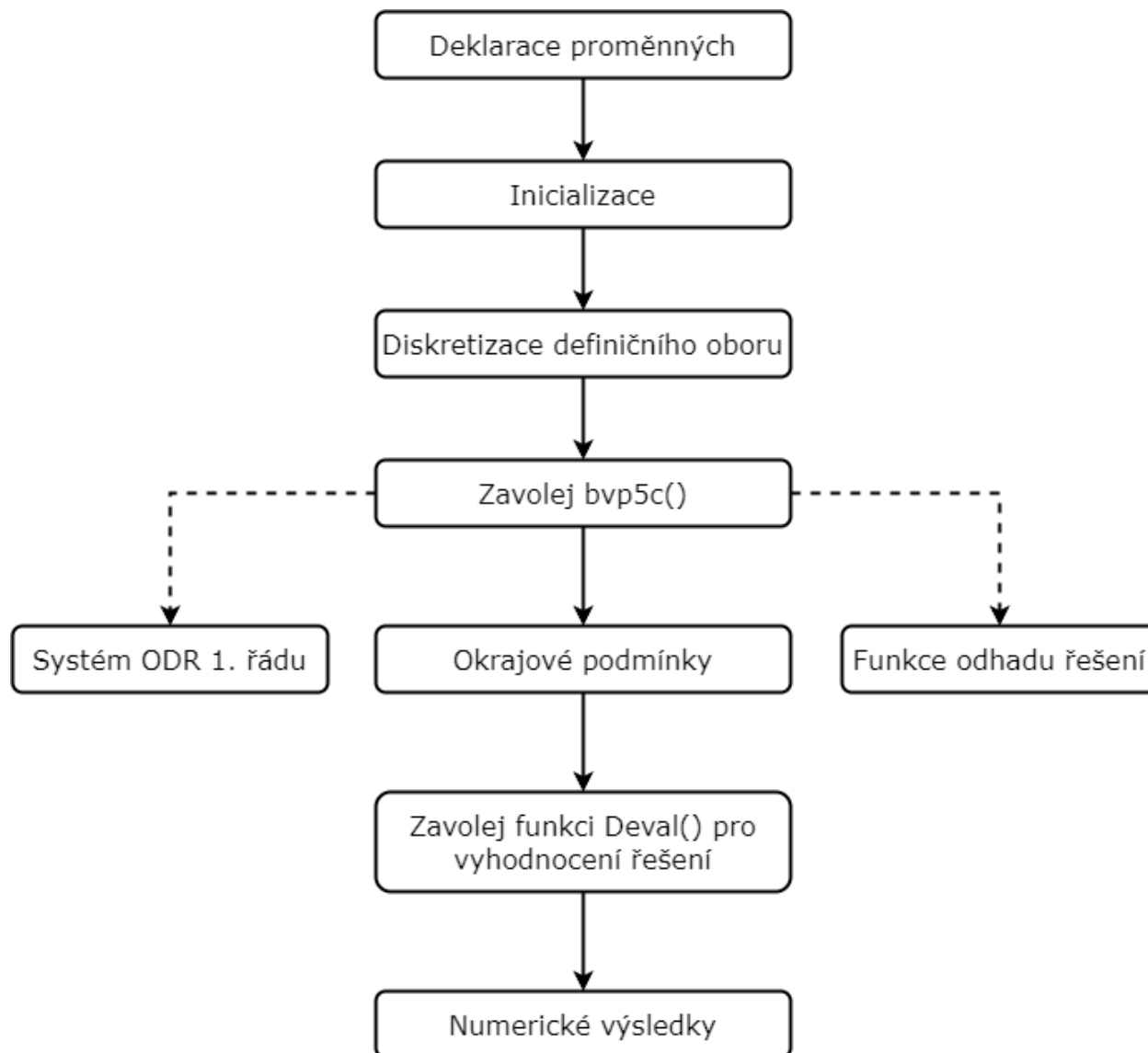
$$\dot{\varphi}_1 = \dot{\psi} = \varphi_2 \quad (29)$$

$$\ddot{\varphi}_1 = \ddot{\psi} = \dot{\varphi}_2 \quad (30)$$

$$\dot{\varphi}_2 = \frac{1}{2} \varphi_2^2 \frac{\sin \varphi_1}{\cos \varphi_1} + \frac{\sin \varphi_1}{2 \cos^3 \varphi_1} \left(c_0^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \varphi_1 + \frac{2\lambda}{\kappa} \right) + \frac{x\Delta p}{\kappa \cos \varphi_1} \quad (31)$$

4.2 Implementace analytické úlohy v MatLabu

K řešení analytické úlohy zadané vztahem (31) využijeme funkci pro řešení okrajových úloh *bvp5c* (viz Obr. 13). Tato funkce řeší okrajovou úlohu pomocí integrace soustavy diferenciálních rovnic prvního řádu zadaných ve formě $\dot{y} = f(x, y)$. Tato funkce má tři hlavní vstupní parametry [9].



Obr. 13 - Vývojový diagram funkce *bvp5c* – přeloženo z [10].

Prvním parametrem je **funkce**, zadaná formou soustavy diferenciálních rovnic prvního řádu ve formátu $\dot{\varphi} = f(x, \varphi)$, které chceme vyřešit. V našem případě se jedná o zápis substitučních vztahů pro φ_1 a φ_2 ve formátu MatLab kódu.

$$\dot{\varphi}_1 = \varphi_2 \quad (32)$$

$$\dot{\varphi}_2 = \frac{1}{2} \varphi_2^2 \frac{\sin \varphi_1}{\cos \varphi_1} + \frac{\sin \varphi_1}{2 \cos^3 \varphi_1} \left(c_0^2 + \frac{\Delta p}{\kappa} \cdot 2x \sin \varphi_1 + \frac{2\lambda}{\kappa} \right) + \frac{x \Delta p}{\kappa \cos \varphi_1} \quad (33)$$

$$funkce = (\dot{\varphi}_1, \dot{\varphi}_2) \quad (34)$$

Druhým parametrem jsou **okrajové podmínky**, kterými bude funkce omezena. Předpokládáme, že tvar buněčné membrány musí být symetrický (viz Obr. 14), a že vzniklá křivka musí být hladká (viz Obr. 14). Pro dosažení tohoto stavu je nutné, aby oba konce křivky svíraly pravý úhel se souřadnicovými osami. Tuto podmínku definujeme pomocí hodnot úhlu φ_1 na začátku a na konci definičního oboru. Hodnotu na začátku označíme φ_{1a} a hodnotu na konci φ_{1b} .

$$\varphi_{1a} = 0 \quad (35)$$

$$\varphi_{1b} = \frac{\pi}{2} \quad (36)$$

$$okrpodm = \left(\varphi_{1a}, \varphi_{1b} - \frac{\pi}{2} \right) \quad (37)$$

Posledním parametrem je **počáteční odhad řešení**. V našem případě definujeme počáteční odhad φ_1 i φ_2 na obou koncích definičního oboru x jako velmi malé, ale nenulové číslo.

$$x = \langle 0, 10 \rangle \quad (38)$$

$$odhad = (x, [0.001 \ 0.001]) \quad (39)$$

Tyto tři parametry zadáme do funkce `bvp5c` a získáme **řešení** ve tvaru (40). Získané hodnoty φ_1 a φ_2 použijeme k vykreslení tvaru křivky. Při vykreslování křivky musíme mít na paměti, že počáteční souřadnice z je nulová, takže původní vykreslená křivka nebude končit na ose x (viz Obr. 15). Abychom dosáhli požadovaného tvaru a polohy, musíme od každé souřadnice z_i odečíst konečnou hodnotu z_N .

$$\text{řešení} = \text{bvp5c}(\text{funkce}, \text{okrpodm}, \text{odhad}) = (\varphi_1, \varphi_2) \quad (40)$$

$$dz = dx \cdot \tan \varphi_1 \quad (41)$$

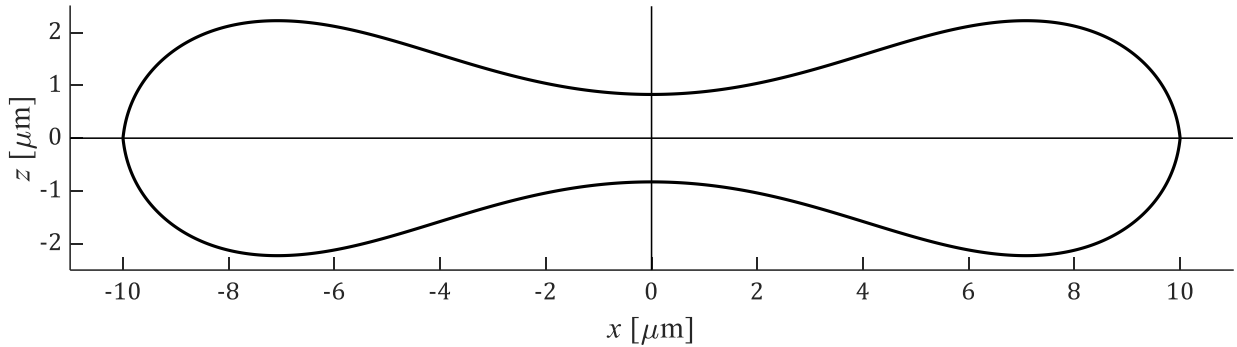
$$z_i = z_{i-1} - dz - z_N \quad (42)$$

Dále vypočítáme délku křivky L , plochu pod křivkou A a deformační energii U . K výpočtu těchto hodnot využijeme numerické integrace pomocí funkce trapézového integrálu. Použitý MatLab kód je k nahlédnutí v **Příloze 4**.

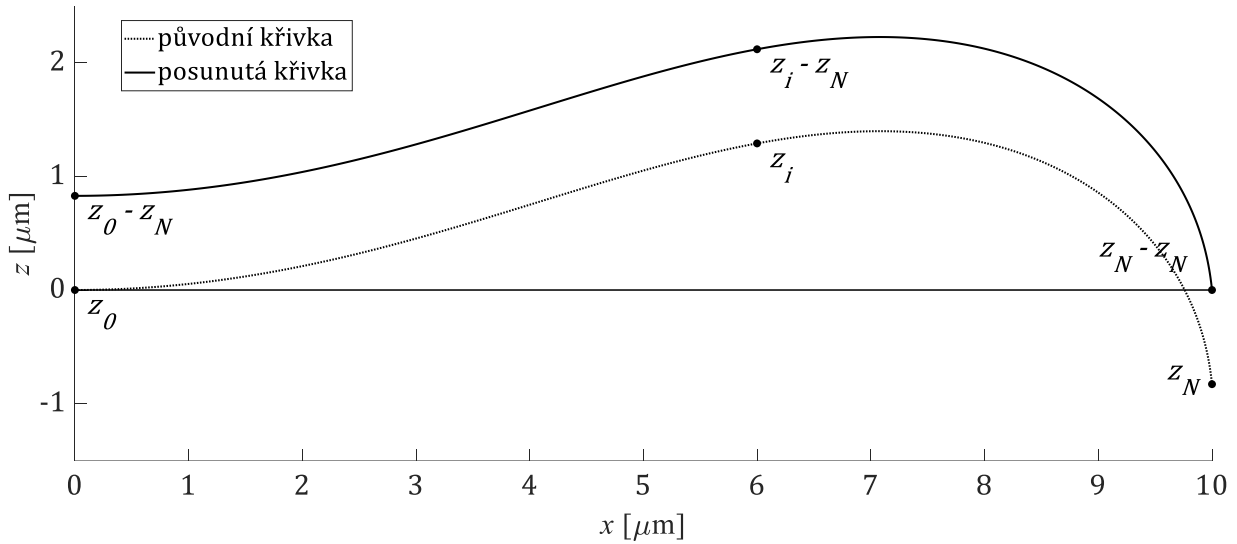
$$L = \int_0^{10} \frac{1}{\cos \varphi_1} dx \quad (43)$$

$$A = \int_0^{10} x \cdot \tan \varphi_1 dx \quad (44)$$

$$U = \int_0^{10} (c_2 - c_0)^2 dL \int_0^{10} (\varphi_2 \cdot \cos \varphi_1 - c_0)^2 \cdot \frac{1}{\cos \varphi_1} dx \quad (45)$$



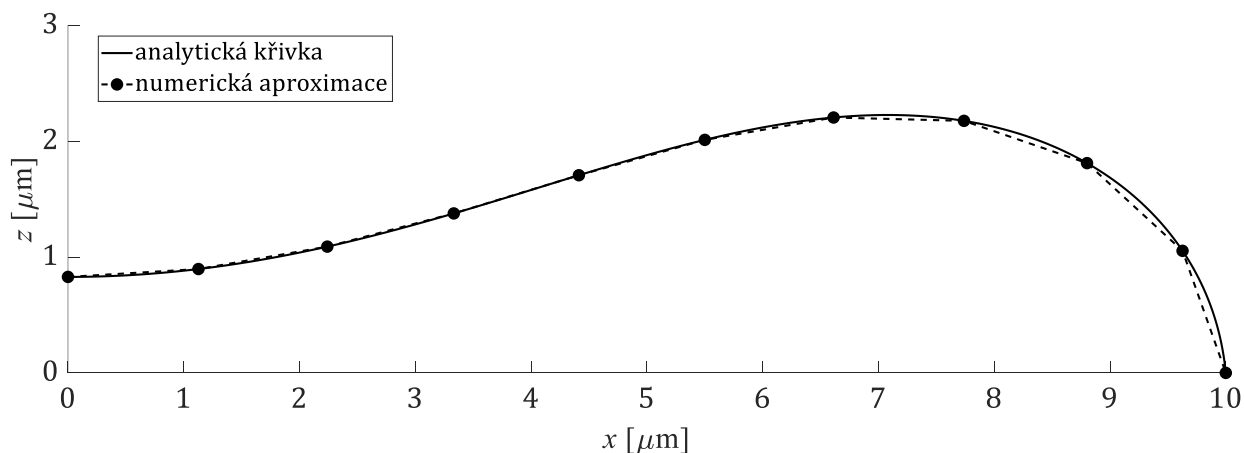
Obr. 14 - Křivka znázorňující tvar celé buněčné membrány ve 2D.



Obr. 15 – Původní křivka (tečkovaná) a křivka posunutá do nuly (plná).

4.3 Numerická aproximace

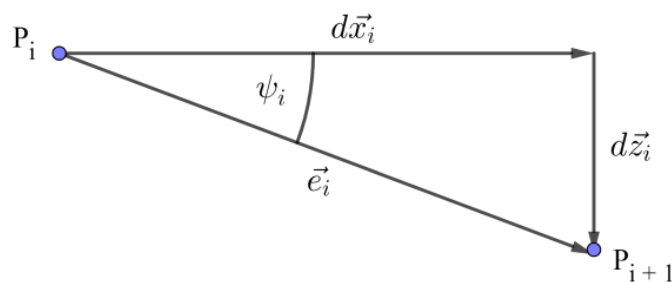
Když už máme vyjádření analytické křivky z programu MatLab, je nutné vytvořit její numerickou aproximaci. Numerickou aproximaci křivky vytvoříme pomocí předem zvoleného počtu bodů, které leží na dané křivce (viz Obr. 16). Tyto body pak mezi sebou propojíme a získáme vektorové elementy \vec{e}_i , ze kterých sestavíme numerickou aproximaci křivky.



Obr. 16 - Aproximace analytické křivky pomocí numericky vytvořených elementů.

Každý vektor elementu pak musíme popsat tak, aby pomocí jejich kombinace bylo možné vykreslit křivku. K tomu potřebujeme pro každý element tyto parametry:

- Výchozí bod $P_i[x_i, z_i]$
- Délku elementu $l_i = |\vec{e}_i|$
- Úhel sklonu elementu ψ_i



Obr. 17 - Geometrické znázornění elementu.

Křivku následně vyjádříme jako součet počátku a sumy vektorových elementů, jejichž počet si označíme jako N . Počátek označíme P_1 a protože bodů musí být o jeden více než spojnic mezi nimi, konečný bod křivky označíme jako P_{N+1} .

$$P_{N+1} = P_1 + \vec{e}_1 + \vec{e}_2 + \dots + \vec{e}_N = P_1 + \sum_{i=1}^N \vec{e}_i \quad (46)$$

Polohy počátku a konce křivky jsou do značné míry omezeny okrajovými podmínkami. Přestože aproximaci (a následnou optimalizaci) provádíme pouze v prvním kvadrantu, je třeba mít na paměti, že tvar křivky má simulovat tvar buněčné membrány. To znamená, že při promítnutí takto získané křivky do ostatních kvadrantů pomocí symetrie nesmí vzniknout žádné nespojitosti nebo mezery. Pro dosažení této podmínky je nutné, aby začátek i konec křivky vždy ležely na souřadnicových osách.

$$P_1[0, z_1]$$

$$P_{N+1}[x_{N+1}, 0]$$

Použitý MatLab kód je k nahlédnutí v **Příloze 5**.

4.4 Způsoby definice elementů pro numerickou aproximaci

4.4.1 Metoda elementů stejné délky

Tato metoda spočívá v tom, že na křivku získanou analytických řešením použijeme interpolační funkci. Interpolačním parametrem bude délka křivky L , kterou získáme jako součet vzdáleností jednotlivých bodů mezi původní křivky. Tyto body označíme jako A_j a jejich vzdálenosti mezi sebou jako a_j , přičemž počet těchto vzdáleností označíme M .

$$a_j = |A_{j+1} - A_j| = \sqrt{(x_{j+1} - x_j)^2 + (z_{j+1} - z_j)^2} \quad (47)$$

$$L = \sum_{j=1}^M a_j \quad (48)$$

Tuto délku křivky následně rozdělíme na N stejně dlouhých kroků. Číslo N značí počet elementů, který jsme si zvolili (viz 4.3). Rozdělením získáme interpolační krok L_{step} , který použijeme k získání odpovídajících souřadnic bodů P_i na osách x a z . Ze souřadnic těchto bodů následně vypočteme délky elementů l_i a jejich úhly sklonu ψ_i .

$$L_{step} = \frac{L}{N} \quad (49)$$

$$l_i = |P_{i+1} - P_i| = \sqrt{(x_{i+1} - x_i)^2 + (z_{i+1} - z_i)^2} \quad (50)$$

$$\psi_i = -\arcsin\left(\frac{z_{i+1} - z_i}{a_j}\right) \quad (51)$$

Po získání těchto parametrů ze vztahů (50) a (51) už máme vše potřebné, abychom mohli vytvořit numerickou aproximaci křivky. Provedeme to pomocí vztahu (46), který zapíšeme v parametrickém vyjádření jako (52) a (53). Použitý MatLab kód je k nahlédnutí v **Příloze 5**.

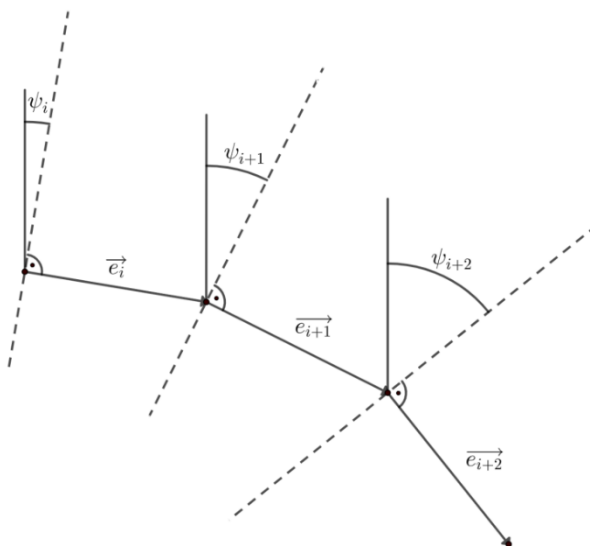
$$x_{i+1} = x_0 + \sum_{j=1}^i l_j \cdot \cos \psi_j \quad (52)$$

$$z_{i+1} = z_0 + \sum_{j=1}^i l_j \cdot \sin \psi_j \quad (53)$$

4.5 Metody numerického výpočtu křivosti

Jednou z hlavních vlastností, kterou u numerické aproximace křivky sledujeme, je hodnota velikosti deformační energie. Jak vidíme ve vztahu (54), hodnota deformační energie přímo závisí na vypočtených hodnotách křivosti. Je proto důležité zajistit, aby naše zvolená metoda výpočtu křivosti byla co možná nejpřesnější. Tato kapitola se bude zabývat stručným popisem jednotlivých metod.

$$U = \frac{\kappa}{2} \int_0^L (c_2 - c_0)^2 dl \quad (54)$$



Obr. 18 - Znázornění numerické aproximace křivky vytvořené pomocí elementů a úhlů sklonu.

4.5.1 Metoda průměrné křivosti

Tato metoda počítá křivost c_i pomocí poměru mezi změnou úhlu ψ a délkou elementu. Pokud si definujeme změnu úhlu jako $d\psi$ a délku elementu jako l_i , lze tuto metodu vyjádřit vztahem (57).

$$d\psi_i = \psi_{i+1} - \psi_i \quad (55)$$

$$|\vec{e}_i| = l_i = \sqrt{(x_{i+1} - x_i)^2 + (z_{i+1} - z_i)^2} \quad (56)$$

$$c_i = \frac{1}{2} \cdot \left(\frac{d\psi_i}{|\vec{e}_i|} + \frac{d\psi_{i+1}}{|\vec{e}_{i+1}|} \right) \quad (57)$$

4.5.2 Discrete winding number theorem

V této metodě postupujeme podobně jako v té předchozí. Narozdíl od předchozí metody, zde uvažujeme pouze jednu změnu úhlu $d\psi$, kterou následně podělíme diskrétní délkou elementu l_i [11].

$$l_i = \frac{|\vec{e}_i| + |\vec{e}_{i+1}|}{2} \quad (58)$$

$$c_i = \frac{2d\psi_i}{|\vec{e}_i| + |\vec{e}_{i+1}|} \quad (59)$$

4.5.3 Discrete gradient of arc length

Tuto metodu je možné odvodit ze vztahu mezi diskrétním gradientem délky oblouku L a numerickou křivostí (60). Po úpravách s využitím funkce $\sin(d\psi/2)$ získáme vztah (61) [11].

$$|c_i| = \|\nabla L\|_i \quad (60)$$

$$c_i = \frac{4 \sin \frac{d\psi_i}{2}}{|\vec{e}_i| + |\vec{e}_{i+1}|} \quad (61)$$

4.5.4 Discrete area inflation

Tato metoda vychází z výpočtu změny plochy v důsledku jejího rozšíření pomocí rovnoběžek s původními hranami. Na základě této operace je možné vyjádřit si $d\psi$ pomocí vztahu (62). Pokud tento výraz podělíme hodnotou l_i podle vztahu (58), dostaneme výsledný vztah pro křivost (63) [11].

$$d\psi_i = 2 \tan \frac{d\psi_i}{2} \quad (62)$$

$$c_i = \frac{4 \tan \frac{d\psi_i}{2}}{|\vec{e}_i| + |\vec{e}_{i+1}|} \quad (63)$$

4.5.5 Fitování kružnic

Tato metoda spočívá v nalezení rovnice pro kružnici v případě, že známe 3 její různé body $P_i[x_i, z_i]$. Pro každý z bodů si vyjádříme obecnou rovnici kružnice (64). Z této soustavy rovnic následně získáme souřadnice středu $S[x_s, z_s]$, po jejichž dosazení do kterékoli z původních tří rovnic dostaneme hodnotu poloměru R . Křivost c_i poté vypočítáme podle vztahu (65) jako převrácenou hodnotu poloměru [12] [13].

$$(x_i - x_s)^2 + (z_i - z_s)^2 - r^2 = 0 \quad (64)$$

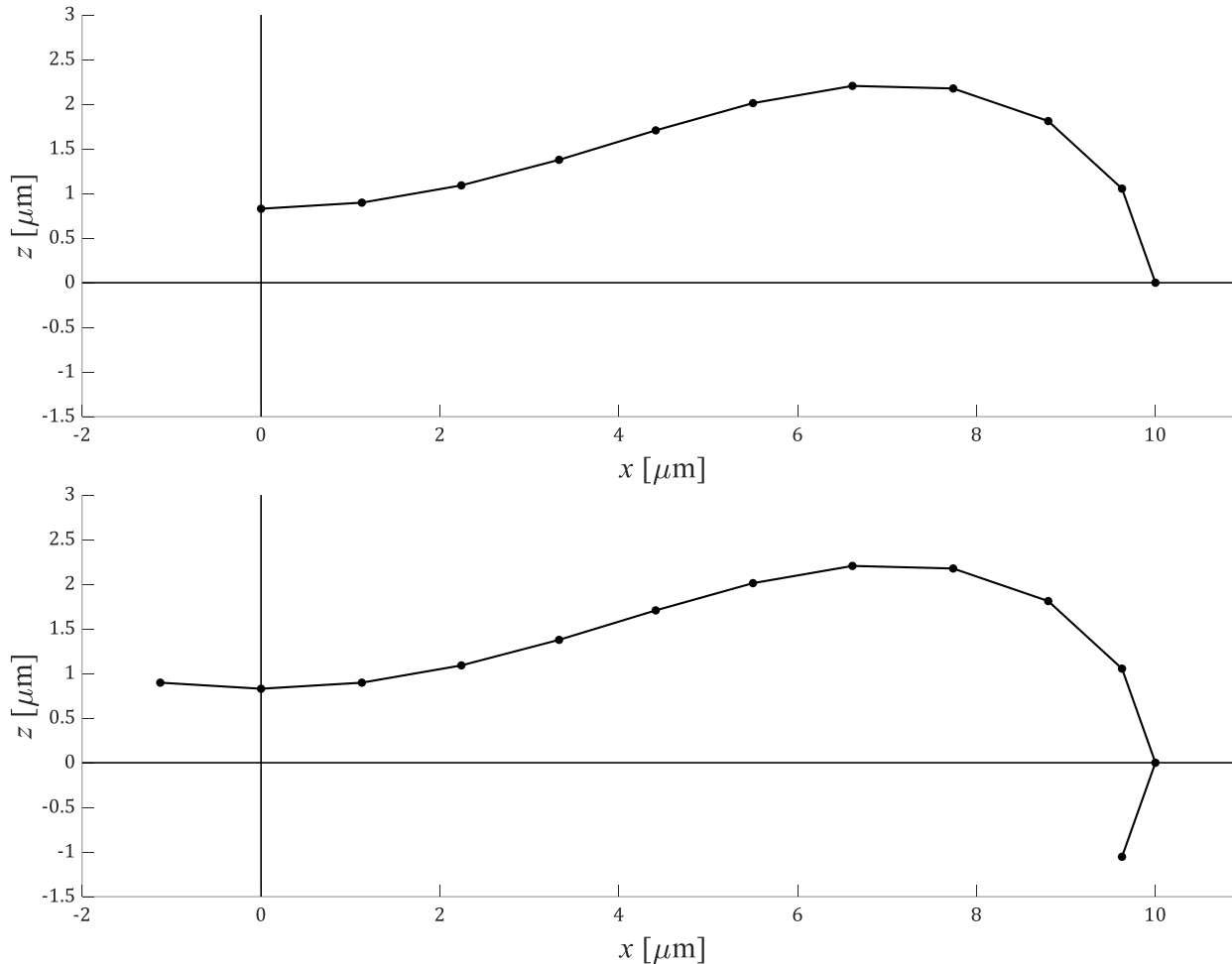
$$c_i = \frac{1}{R_i} \quad (65)$$

4.5.6 Rozšíření křivky a předepsání symetrie

Ve všech výše uvedených metodách si můžeme všimnout, že k výpočtu křivosti v konkrétním bodě musíme mít k dispozici délky obou elementů, které s tímto bodem sousedí. Pro úspěšný výpočet křivosti v počátečním a koncovém bodě aproximace je tedy potřeba přidat na každou stranu ještě jeden element. To vede k rozšíření původního tvaru (viz Obr. 19). Tímto rozšířením zároveň předepíšeme požadovanou symetrii úlohy (viz 4.2). Provedeme to pomocí nastavení $d\psi$ pro přidané elementy jako (66) a (67).

$$d\psi_0 = 2\psi_1 \quad (66)$$

$$d\psi_{N+1} = 2 \cdot \left(\frac{\pi}{2} - \psi_N \right) \quad (67)$$



Obr. 19 - Doplnění křivky o jeden symetrický element na obou koncích - původní křivka (nahore) a doplněná křivka (dole).

4.6 Optimalizace tvaru pomocí minimalizace deformační energie

Na křivce získané numerickou aproximací je následně možné provést optimalizaci tvaru pomocí metody Monte Carlo (viz Obr. 20). Účelem optimalizace je nalézt takový tvar křivky, při kterém bude dosaženo minimální hodnoty deformační energie U . Jedná se o lokální optimalizaci provedenou pomocí *while* cyklu. Cyklus poběží tak dlouho, dokud nedosáhneme určitého počtu n po sobě jdoucích opakování, ve kterých nedojde ke snížení hodnoty deformační energie. Počet opakování, při kterém se cyklus zastaví, označíme jako n_{krit} .

K zahájení cyklu potřebujeme výchozí konfiguraci K_0 , tedy křivku (viz 4.3) popsanou pomocí počátečního bodu $P_0[0, z_0]$, délek jednotlivých elementů l_i a velikostí jejich sklonů ψ_i . Počet elementů tvořících tuto křivku označíme jako N . Pro takto definovanou konfiguraci si následně spočteme celkovou délku křivky L_0 , celkovou plochu pod křivkou A_0 , a hodnotu deformační energie U_0 , kterou získáme výpočtem z hodnot křivosti zadané křivky (viz 4.5).

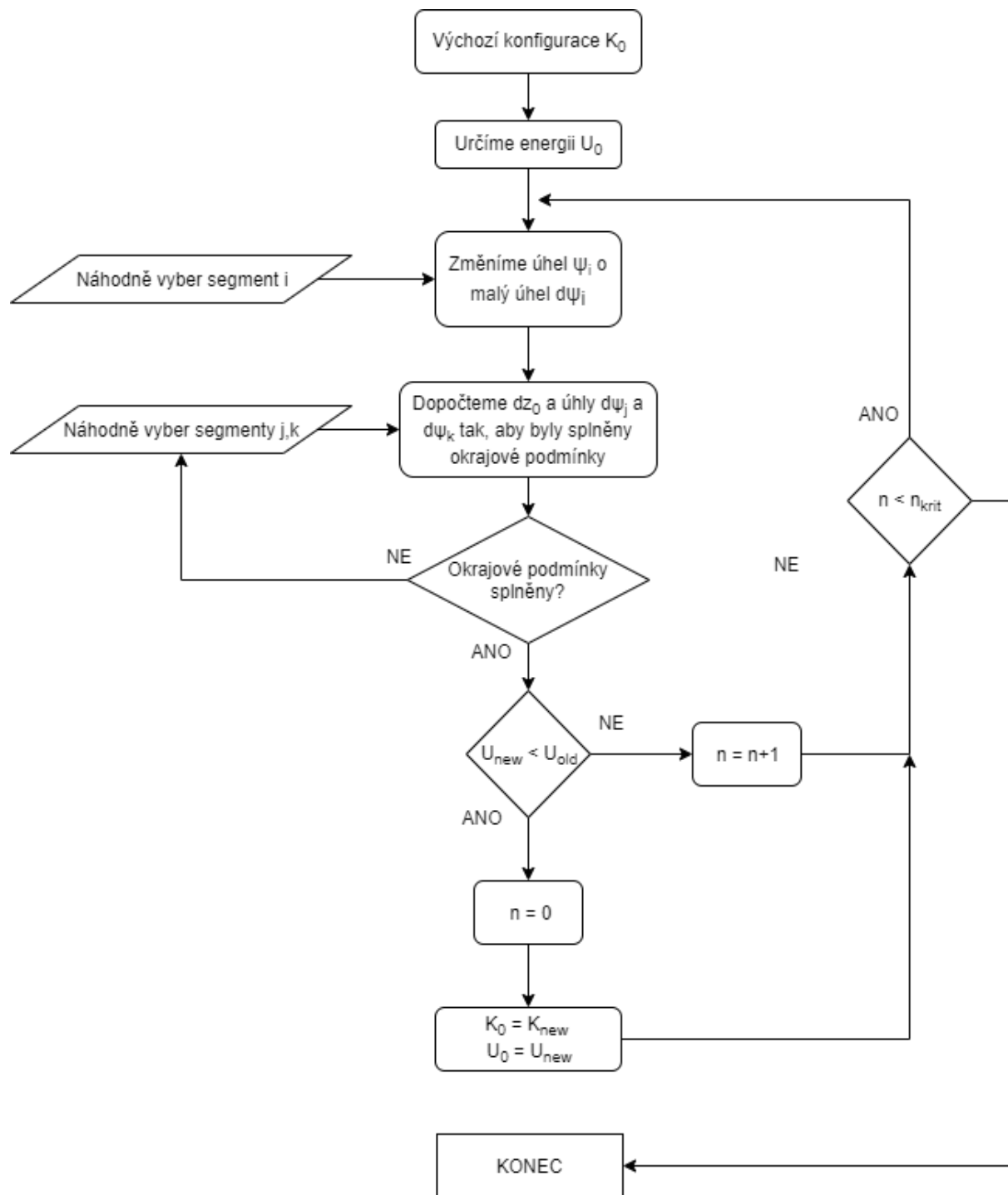
Pak už nastává samotná optimalizace, která je omezena třemi okrajovými podmínkami:

- Délka křivky L musí zůstat stejná
- Plocha pod křivkou A musí zůstat stejná
- Počáteční a koncový bod křivky musí zůstat na souřadnicových osách

Zahájíme ji tak, že náhodně vybereme úhel ψ_i a změním ho o malou hodnotu $d\psi_i$. Tím dostaneme nový tvar křivky, který ale nesplňuje okrajové podmínky. Je proto nutné změnit další parametry křivky tak, aby podmínky splněny byly. Vybereme proto další dva náhodné (jiné než ψ_i) úhly ψ_j a ψ_k . Tyto úhly následně změním o malé hodnoty $d\psi_j$ a $d\psi_k$. Dalším parametrem, který je možno změnit, je počáteční souřadnice z_0 , ke které přičteme změnu dz_0 . Tento postup se opakuje (přes funkci *fsolve*), dokud nejsou splněny okrajové podmínky.

Novou konfiguraci křivky, která okrajové podmínky splňuje, označíme K_{new} , a spočítáme pro ni novou hodnotu deformační energie U_{new} , kterou porovnáme s původní hodnotou U_0 , abychom zjistili, zda je nová hodnota deformační energie menší než ta původní. Pokud ne, nová konfigurace K_{new} je zapomenuta a vracíme se zpět ke K_0 . Zároveň ještě musíme zaznamenat, že se jednalo o neúspěšný pokus, což vyjádříme přičtením jedničky k číslu n . Pokud ano, stává se z konfigurace K_{new} nová výchozí konfigurace. Podobně také hodnota deformační energie U_{new} nahradí původní hodnotu. Hodnota čísla n se při úspěšném pokusu vrátí na zpět nulu.

Když se začneme blížit k lokálnímu minimu, nacházení konfigurací s nižší energií je stále těžší, což znamená, že hodnota čísla n se resetuje méně často. Ve chvíli, kdy hodnota n dosáhne předem zvolené hodnoty n_{krit} , cyklus se zastaví.



Obr. 20 - Vývojový diagram optimalizačního algoritmu Monte Carlo.

4.6.1 Parametry optimalizace

V předchozí kapitole jsme zvolili jako optimální numerický model. Analytickou křivku aproximujeme 20 elementy a křivost počítáme pomocí metody průměrné křivosti. Nyní se můžeme pustit do provedení optimalizační úlohy. Nejprve vyhodnotíme funkčnost optimalizace tak, že jako počáteční bod zvolíme jednoduchý geometrický tvar. Optimalizace má čtyři důležité parametry.

Prvním parametrem je konstanta k , určující velikost náhodného vychýlení úhlu $d\psi_i$ na počátku každého cyklu. Hodnotu vychýlení v konkrétním cyklu vypočítáme jako náhodné číslo od -0.5 do 0.5 , které pak přenásobíme zvolenou konstantou. Funkce *rand* generuje náhodné číslo od 0 do 1, takže funkci pro generování náhodné změny zapíšeme jako (68).

$$d\psi_i = k \cdot (\text{rand} - 0.5) \quad (68)$$

Druhý pametr je kritický počet cyklů n_{krit} , který můžeme označit jako „vytrvalost“ algoritmu. Tento parametr značí množství po sobě jdoucích cyklů, při kterých se nesníží hodnota deformační energie. Pokud se začneme blížit k lokálnímu minimu, nalezení jiného tvaru s nižší energií je méně a méně pravděpodobné. Velikost tohoto parametru určuje, jak dlouho bude algoritmus pokračovat bez nalezení lepšího řešení. Vyšší hodnota obvykle (ne vždy, protože metoda Monte Carlo je náhodná) vede k nalezení lépe optimalizovaného řešení.

Třetí a čtvrtý parametr jsou rozměry výchozího tvaru. V našem případě volíme elipsu, kterou zadáme parametricky s parametry a a b (viz Obr. 21). Protože úlohu bereme jako osově a středově symetrickou, můžeme elipsu vyjádřit pouze v prvním kvadrantu. Elipsu vykreslíme jako množinu bodů P a vzniklou „analytickou“ křivku potom numericky aproximujeme pomocí elementů stejné délky (viz 4.4).

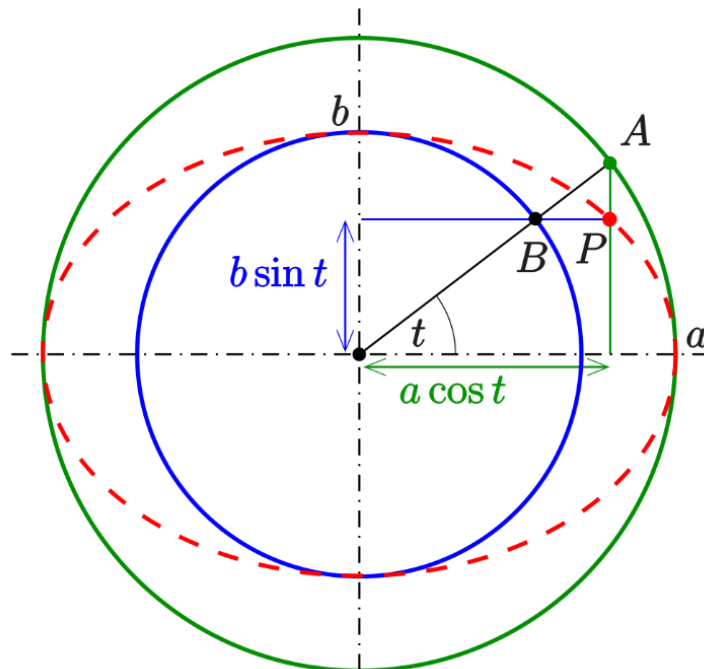
$$P[a \cdot \cos t, b \cdot \sin t], \quad t \in \langle 0, \pi/2 \rangle$$

$$k = 0.002$$

$$n_{krit} = 20000$$

$$a = 10$$

$$b = 2$$



Obr. 21 - Parametrická konstrukce elipsy [14].

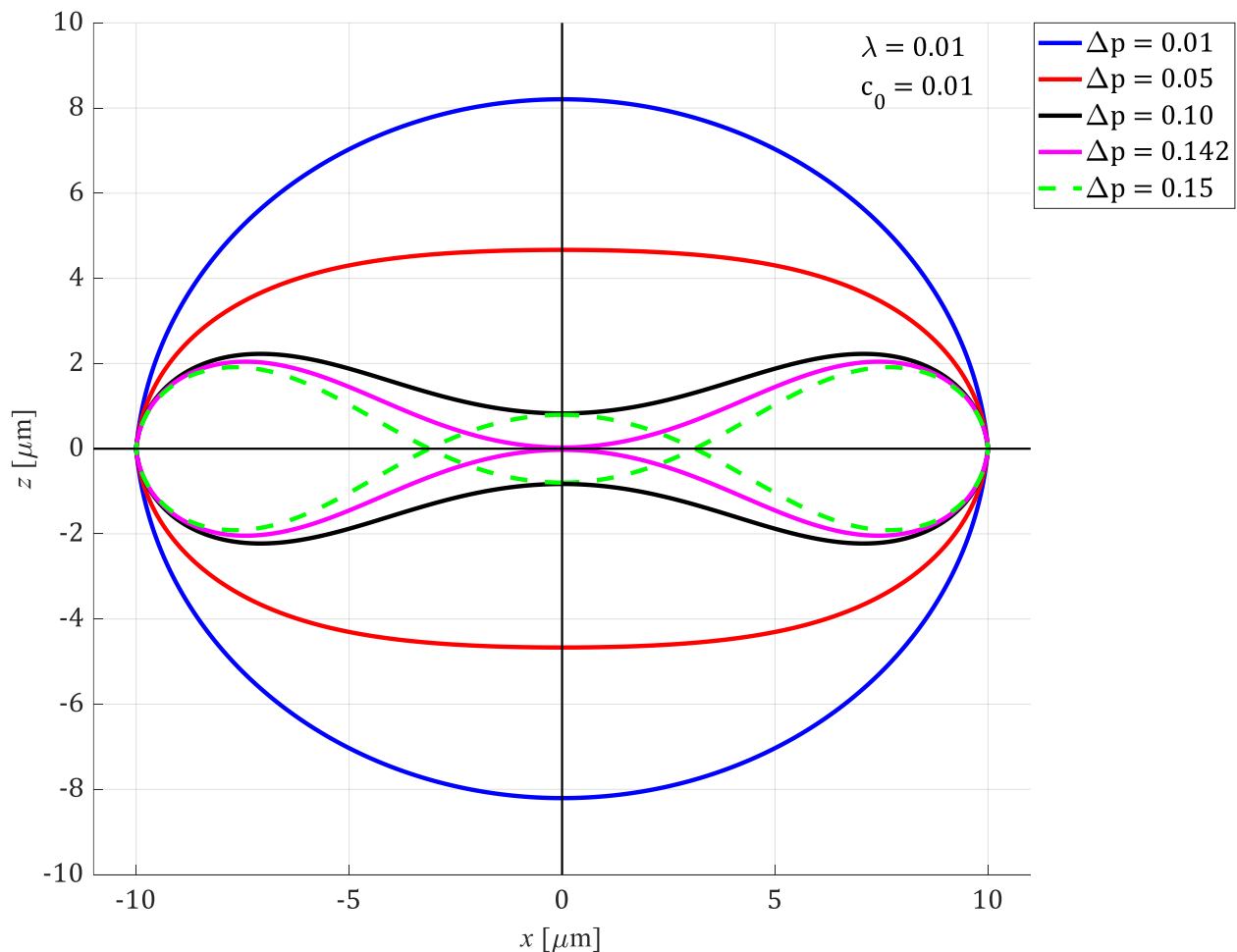
5 Výsledky

5.1 Analytická úloha

Tato kapitola se zabývá zhodnocením výsledků získaných odvozením rovnice pro dvourozměrnou úlohu (viz 4.1) a jejím zapsáním a vyřešením v softwaru MatLab (viz 4.1 a 4.2). Hodnotí se vliv hodnot Lagrangeových multiplikátorů Δp a λ a také vlastní křivosti c_0 na výsledný tvar získané křivky. Pro vybrané tvary také vypočteme délku křivky L , hodnotu plochy A a hodnotu deformační energie U . Protože různé tvary křivky mají různé rozměry, zavedeme také relativní deformační energii na jednotku délky. Pro všechny tyto simulace tvaru byla uvažována hodnota ohybového modulu

$$\kappa = 10 k_B T.$$

Nejprve si vytvoříme referenční konfiguraci (viz Obr. 22), ve které dáme všem parametrům velmi malou hodnotu, v našem případě 0.01. Tvar této konfigurace je blízký tvaru kružnice, což odpovídá hypotéze, že buňka bez vnějšího zatížení zaujímá tvar koule.



Obr. 22 – Změna tvaru křivky v závilosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru Δp .

5.1.1 Vliv Lagrangeova multiplikátoru Δp

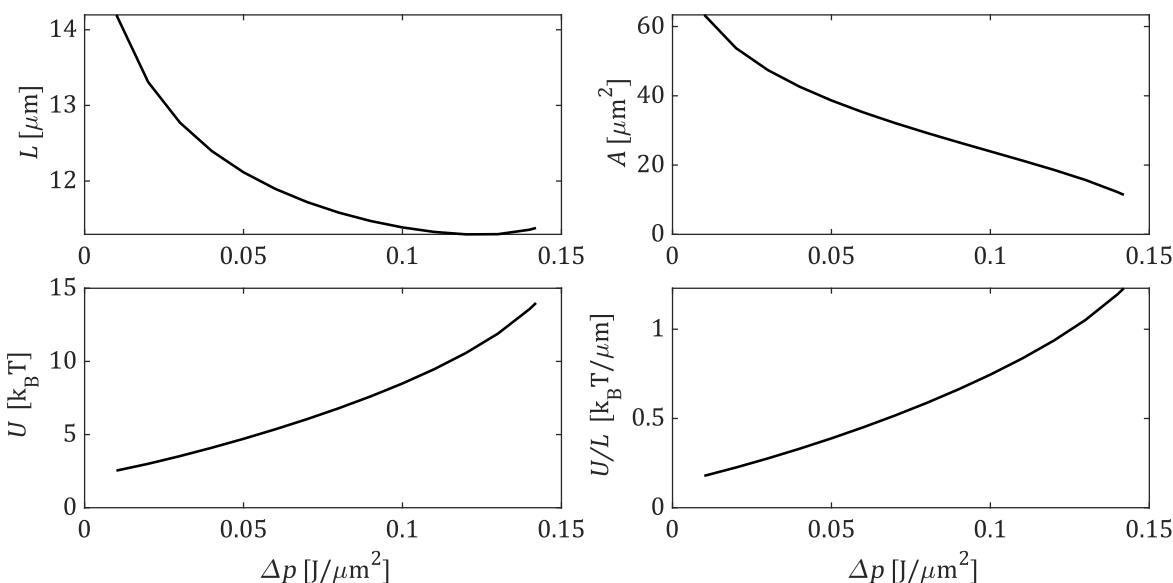
Při hodnocení vlivu Lagrangeova multiplikátoru Δp můžeme pozorovat (viz Obr. 22), že s rostoucí hodnotou Δp se křivka zplošťuje a získává bikonkávní tvar, charakteristický pro červenou křivku. To postupně vede ke zkracování délky L a zmenšování plochy A (viz Obr. 23).

Pokud vezmeme v úvahu symetrii úlohy, protnutí křivky s osou x (viz Obr. 22) znamená, že se membrána protнула sama se sebou. Z toho důvodu pro tyto stavy už nepočítáme žádné hodnoty, protože v tuto chvíli pochází k porušení membrány. Uvedené hodnoty (viz Tab. 1) byly vybrány z důvodu názornosti. Kompletní výčet hodnot je k nahlédnutí v **Příloze 1**.

Tab. 1 – srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru p .

$\Delta p \left[\frac{J}{\mu m^2} \right]$	$\lambda \left[\frac{J}{\mu m} \right]$	$c_0 [-]$	$L [\mu m]$	$A [\mu m^2]$	$U [k_B T]$	$U/L \left[\frac{k_B T}{\mu m} \right]$
0.01	0.01	0.01	14.19	63.35	2.57	0.18
0.05	0.01	0.01	12.12	38.66	4.71	0.39
0.10	0.01	0.01	11.39	23.95	8.49	0.75
0.142	0.01	0.01	11.38	11.39	13.99	1.23
0.15	0.01	0.01	-	-	-	-

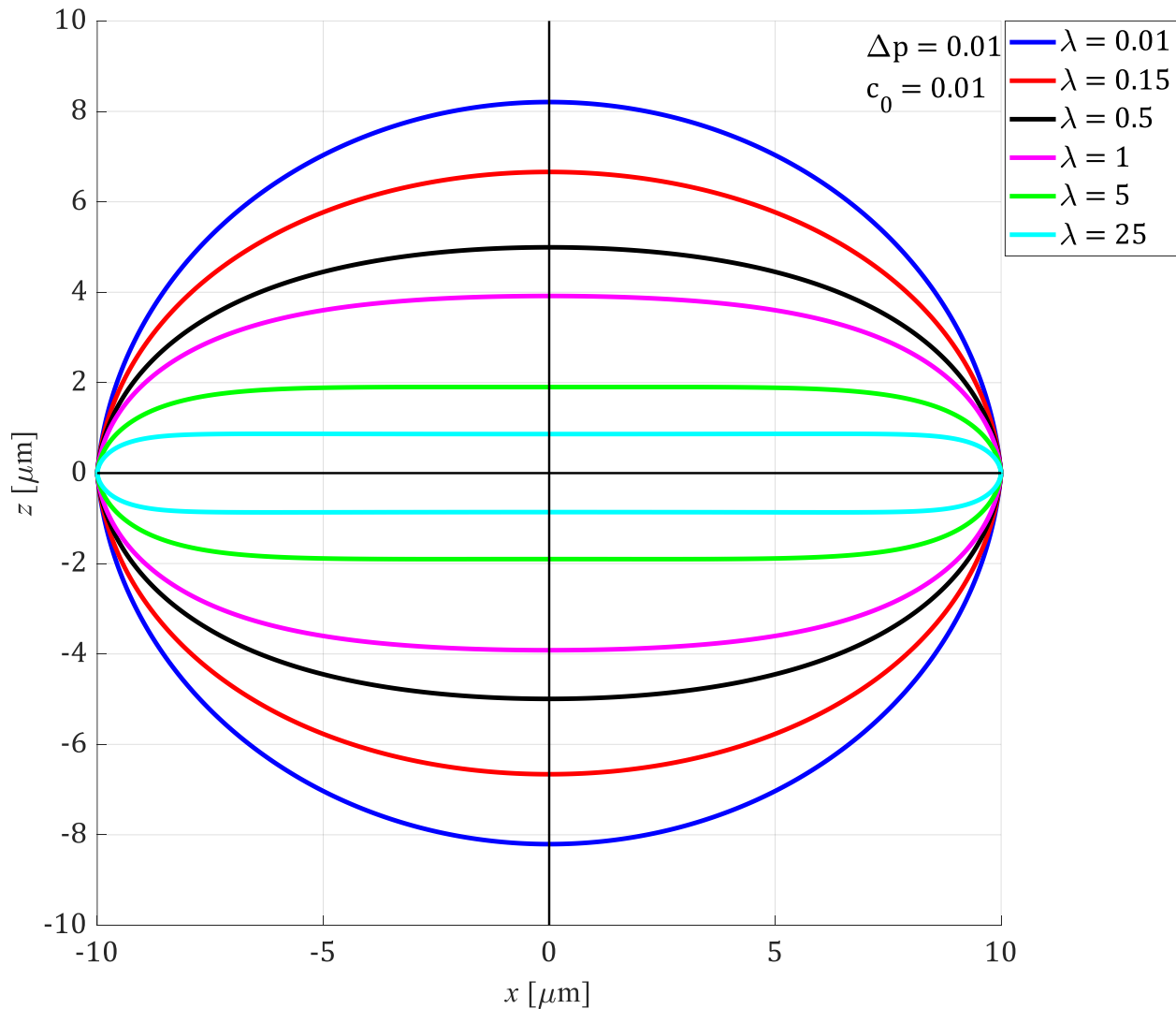
Multiplikátor Δp má také významný vliv na hodnotu deformační energie. Se zvyšující se hodnotou Δp se zvyšuje také deformační energie. Nejvyšší hodnota dosažená před porušením membrány je zhruba 5.5-krát vyšší než hodnota referenční. Vzhledem k tomu, že během nárůstu energie dochází zároveň ke zkracování délky L , bude nárůst relativní deformační energie mírně rychlejší. Její nejvyšší hodnota je přibližně 7-krát referenční hodnoty.



Obr. 23 - Vliv hodnoty Lagrangeova multiplikátoru p na hodnoty L , A , U a U/L .

5.1.2 Vliv Lagrangeova multiplikátoru λ

Při hodnocení vlivu Lagrangeova multiplikátoru λ můžeme vidět (viz Obr. 24), že stejně jako jako v případě multiplikátoru p dochází ke zplošťování křivky, zkracování délky L a zmenšování plochy A (viz Obr. 25). Pokud se podíváme na zadané hodnoty λ a příslušné změny tvaru, můžeme zřetelně vidět, že vliv multiplikátoru λ na tvar křivky je výrazně menší než vliv multiplikátoru p . Abychom mohli vliv lépe pozorovat, jsme nuceni zvolit mnohem větší rozsah hodnot. Ani při velmi vysokých hodnotách si však nelze všimnout přechodu k bikonkávnímu tvaru jako předchozím případům.



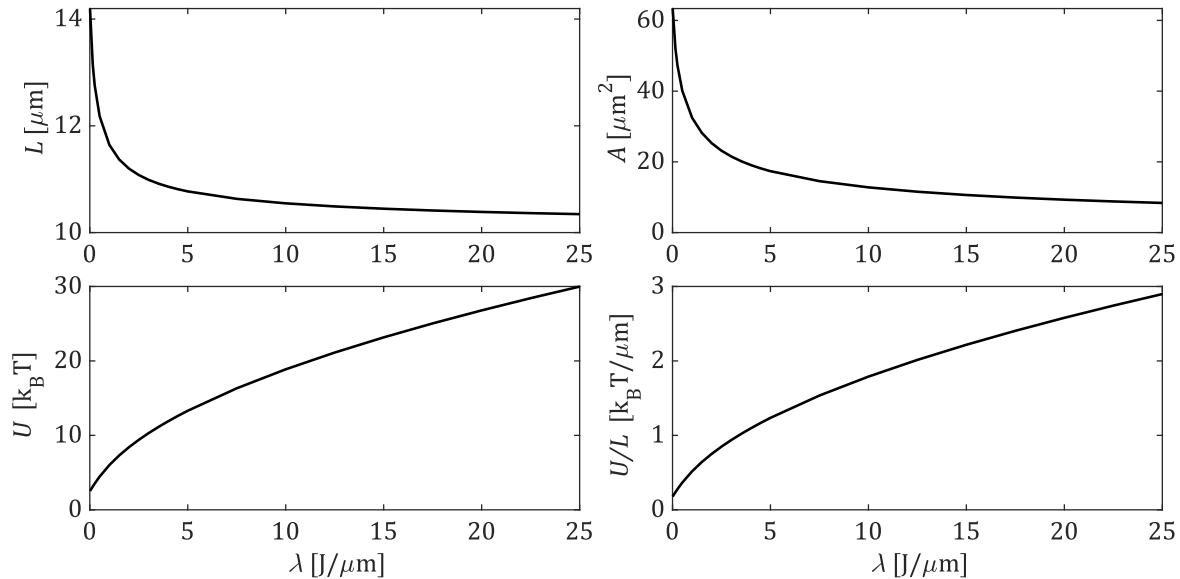
Obr. 24 - Změna tvaru přívky v závislosti na Lagrangeově multiplikátoru λ .

Tab. 2 - srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě Lagrangeova multiplikátoru λ .

$\Delta p \left[\frac{J}{\mu m^2} \right]$	$\lambda \left[\frac{J}{\mu m} \right]$	$c_0 [-]$	$L [\mu m]$	$A [\mu m^2]$	$U [k_B T]$	$U/L \left[\frac{k_B T}{\mu m} \right]$
0.01	0.01	0.01	14.20	63.35	2.54	0.18
0.01	0.15	0.01	13.15	52.02	3.12	0.24
0.01	0.5	0.01	12.18	40.13	4.46	0.37
0.01	1	0.01	11.64	32.49	6.02	0.52
0.01	5	0.01	10.77	17.36	13.31	1.24
0.01	25	0.01	10.35	8.38	29.98	2.90

Pokud jde o hodnotu deformační energie křivky, můžeme si všimnout (viz Tab. 2), že podobně jako případě multiplikátoru Δp dochází se zvyšující se hodnotou λ k postupnému nárůstu deformační energie U . Nárůst deformační energie je však ve srovnání s předchozím případem výrazně pomalejší. Zatímco v předchozím případě vzrostla deformační energie zhruba 6-krát, v tomto případě vzrostla při srovnatelné změně parametru pouze asi o 20%. Nárůstu jako v předchozím případě dosahujeme až při 500-násobném zvýšení hodnoty multiplikátoru λ . Uvedené hodnoty (viz Tab. 2) byly vybrány z důvodu názornosti. Kompletní výčet hodnot je k nahlédnutí v **Příloze 1**.

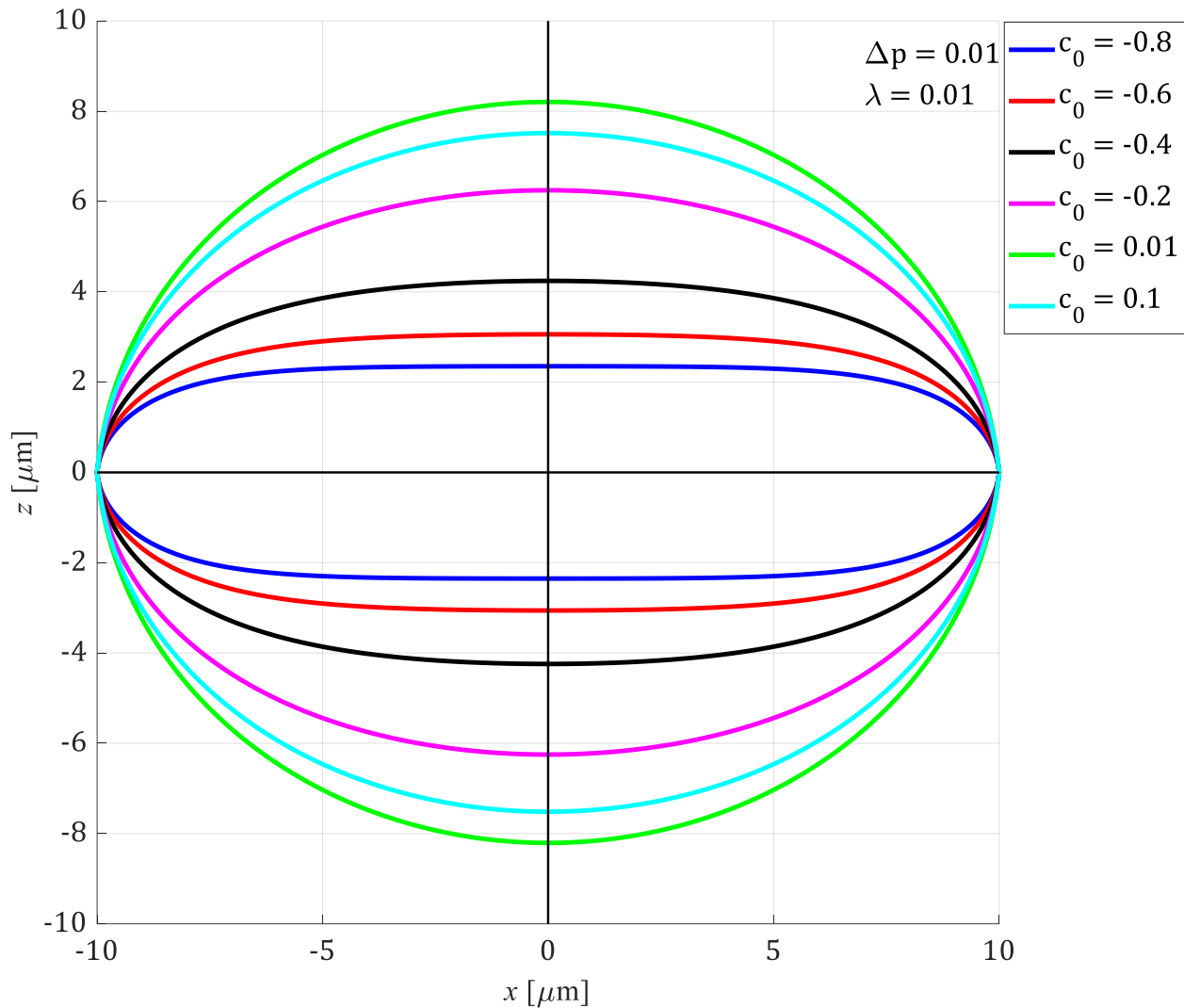
Co se týče relativní deformační energie, můžeme pozorovat, že díky průběžnému zkracování křivky opět roste rychleji než samotná deformační energie. Rozdíl v rychlosti růstu je pro oba případy srovnatelný.



Obr. 25 - Vliv hodnoty Lagrangeova multiplikátoru λ na hodnoty L , A , U a U/L .

5.1.3 Vliv vlastní křivosti c_0

Při hodnocení vlivu vlastní křivosti c_0 můžeme pozorovat (viz Obr. 26) podobný vývoj tvaru jako u Lagrangeova multiplikátoru λ . Vidíme, že ve srovnání s referenčním tvarem se křivka zplošťuje, a to pro kladné i záporné hodnoty vlastní křivosti. To opět vede ke zkrácování délky L a zmenšování plochy A . Je vidět (viz Tab. 3), že vliv vlastní křivosti c_0 na výsledný tvar je významnější než vliv Lagrangeova multiplikátoru λ , ale méně významný než u Lagrangeova multiplikátoru Δp .



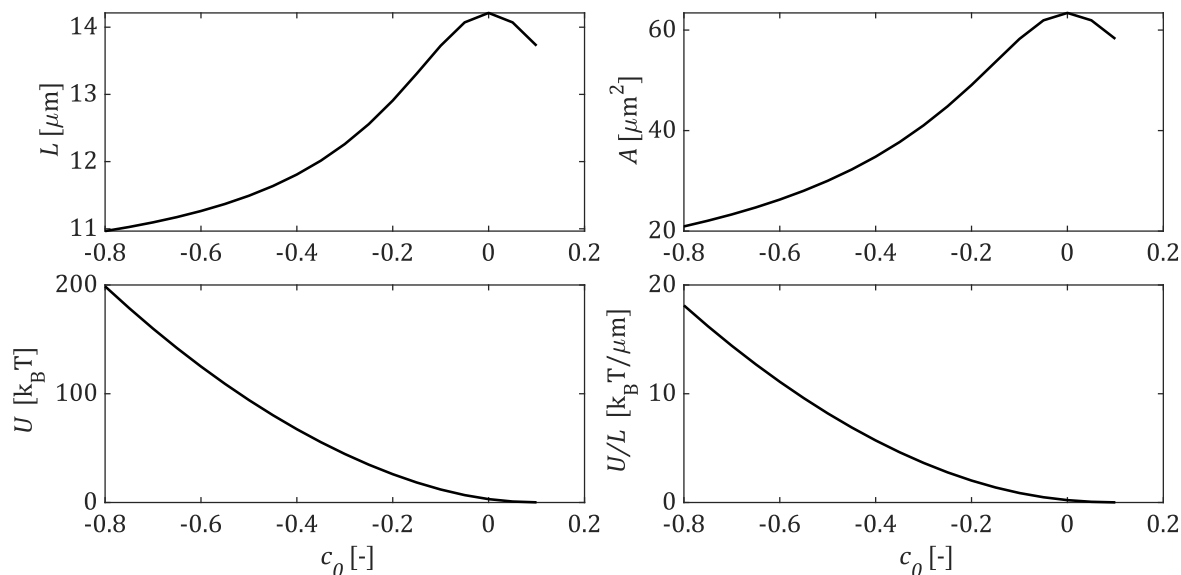
Obr. 26 - Změna tvaru křivky v závislosti na vlastní křivosti c_0 .

Tab. 3 - srovnání vlastností křivky v závislosti na hodnotě vlastní křivosti c_0 .

$\Delta p \left[\frac{J}{\mu m^2} \right]$	$\lambda \left[\frac{J}{\mu m} \right]$	$c_0 [-]$	$L [\mu m]$	$A [\mu m^2]$	$U [k_B T]$	$U/L \left[\frac{k_B T}{\mu m} \right]$
0.01	0.01	-0.8	10.97	20.93	198.73	18.12
0.01	0.01	-0.6	11.26	26.27	125.04	11.10
0.01	0.01	-0.4	11.81	34.81	67.39	5.71
0.01	0.01	-0.2	12.91	49.07	26.04	2.02
0.01	0.01	0.01	14.21	63.42	3.10	0.22
0.01	0.01	0.1	13.72	58.25	0.16	0.01

Vliv hodnoty vlastní křivosti c_0 na hodnotu deformační energie je velmi významný (viz Tab. 3). Důvodem je to, že vlastní křivost c_0 přímo figuruje (dokonce ve druhé mocnině) v rovnici (54) pro výpočet deformační energie U . Vidíme, že pro výrazně záporné hodnoty vlastní křivosti c_0 je hodnota deformační energie velmi vysoká, až 60-krát větší než u referenční konfigurace. Pro kladné hodnoty naopak získáváme hodnoty velmi malé, téměř nulové.

Vlastní křivost c_0 má, narozdíl od ostatních sledovaných parametrů, přímý fyzikální význam. Tato veličina představuje kvantifikaci (především chemických) rozdílů mezi vrstvami v rámci lipidové dvouvrstvy. Při pohledu na hodnotách deformační energie jednotlivých tvarů můžeme velmi dobře vidět, jak velké změny ve vlastnostech buněčné membrány mohou tyto rozdíly vyvolat. Uvedené hodnoty (viz Tab. 3) byly vybrány z důvodu názornosti. Kompletní výčet hodnot je k nahlédnutí v **Příloze 1**.



Obr. 27 - Vliv hodnoty vlastní křivosti c_0 na hodnoty L , A , U a U/L .

5.2 Numerická úloha

V této kapitole zhodnotíme výsledky numerické aproximace křivky pomocí elementů. Hlavní vlastností, kterou potřebujeme kvantifikovat, je přesnost aproximace v závislosti na počtu elementů. Všeobecně můžeme očekávat, že s rostoucím počtem elementů se bude aproximace křivky postupně zpřesňovat. Na druhou stranu ale musíme mít na paměti, že větší počet elementů prodlužuje výpočetní čas. To sice není problém při samotné aproximaci, ale může to působit problémy při numerické optimalizaci tvaru, při které běžně operujeme ve statisících nebo milionech cyklů. Snažíme se proto najít takový počet elementů, pro který bude výpočet dostatečně přesný, ale zároveň časově úsporný.

5.2.1 Vliv počtu elementů na přesnost aproximace křivky

Nejprve zhodnotíme vliv počtu elementů na přesnost aproximace samotného tvaru křivky. Tuto přesnost kvantifikujeme pomocí hodnot chyb L_{err} a A_{err} , které vznikají při výpočtu délky křivky L a plochy pod křivkou A v závislosti na použitém počtu elementů.

$$L_{err} = 100 \cdot \left| \frac{L_{an} - L_{num}}{L_{an}} \right| \quad (69)$$

$$A_{err} = 100 \cdot \left| \frac{A_{an} - A_{num}}{A_{an}} \right| \quad (70)$$

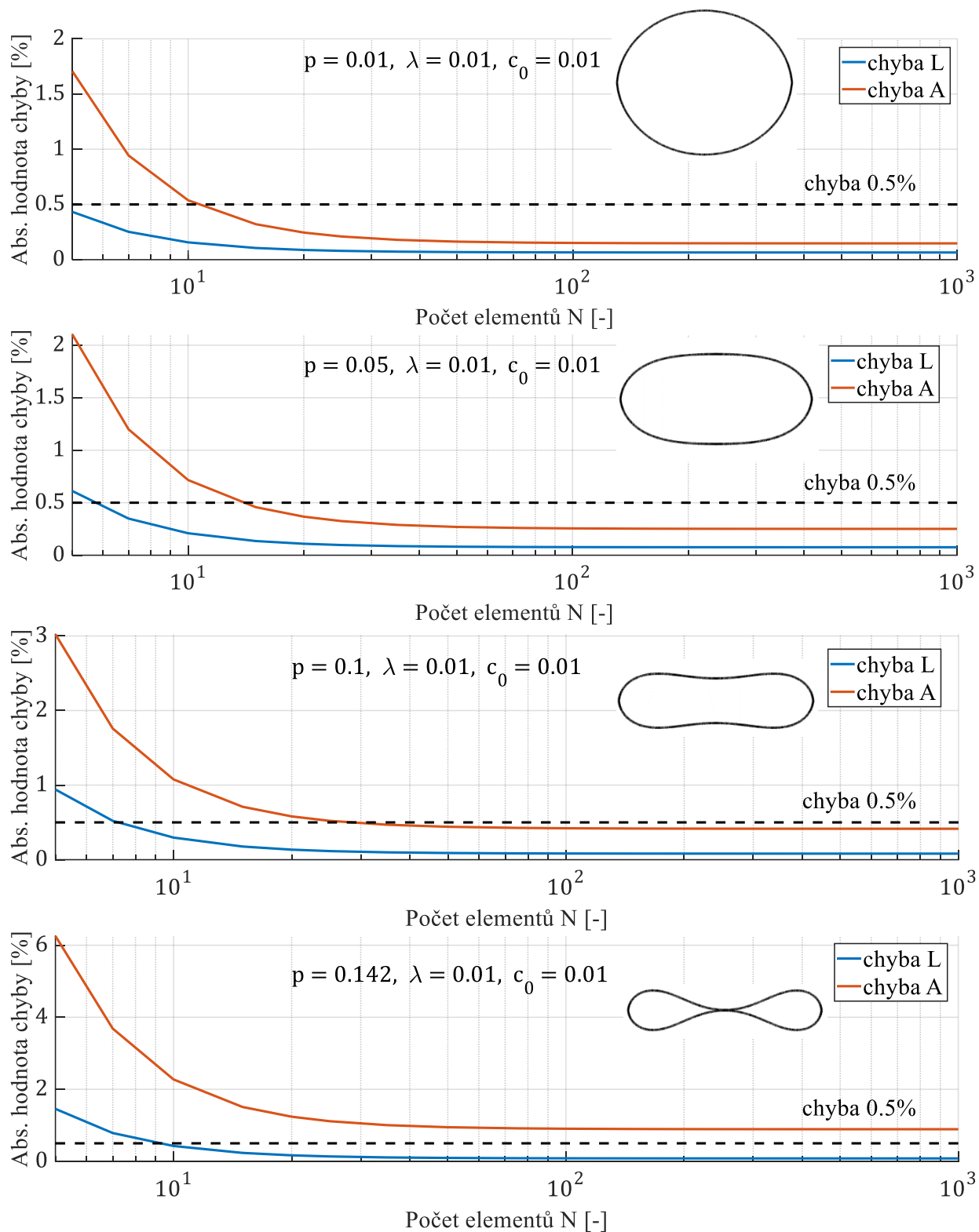
Protože analytický tvar křivky se mění v závislosti na zadaných parametrech, provedeme toto zhodnocení pro několik různých tvarů křivky. Jako vzorek pro zkoušku zvolíme sérii čtyř tvarů analytické křivky v závislosti na Lagrangeově multiplikátoru Δp (viz Obr. 22). Abychom minimalizovali chyby v dalších výpočtech, snažíme se najít takový počet elementů, pro který bude chyba numerického výpočtu menší než 0.5%. Hlavní prioritou je dosažení této hodnoty v případě L_{err} , protože výpočet numerické hodnoty deformační energie se provádí integrací po délce L_{num} .

Můžeme si všimnout (viz Obr. 28), že velikost chyb se zvyšuje s komplexností tvaru křivky. Pro referenční tvar, který je blízký tvaru kružnice, jsou hodnoty 3-krát až 4-krát menší než pro silně zploštělý tvar křivky, kdy křivka téměř protíná vodorovnou osu.

Stejně tak můžeme pozorovat, že chyba výpočtu plochy A_{err} je přibližně 3-krát až 5-krát větší než chyba výpočtu délky L_{err} . U silně zploštělé křivky tento rozdíl způsobí, že pro A_{err} nejsme schopni dosáhnout předepsané tolerance 0.5%. Vzhledem k tomu, že hodnota plochy A se nepoužívá v dalších výpočtech deformační energie, můžeme tento problém zanedbat.

Pro hodnotu chyby L_{err} dostáváme výrazně lepší výsledky. Vidíme, že už od 10 elementů dosáhneme ve všech čtyřech případech předepsané tolerance 0,5%. Můžeme tedy říci, že numerická aproximace křivky složená z 10 a více elementů poskytuje dostatečně přesnou aproximaci tvaru křivky.

Data použitá k tvorbě grafů (viz Obr. 28) jsou k nahlédnutí v **Příloze 2**.



Obr. 28 - Ukázka velikosti chyb výpočtu délky křivky L a plochy pod křivkou A pro různé tvary křivky v závislosti na počtu elementu.

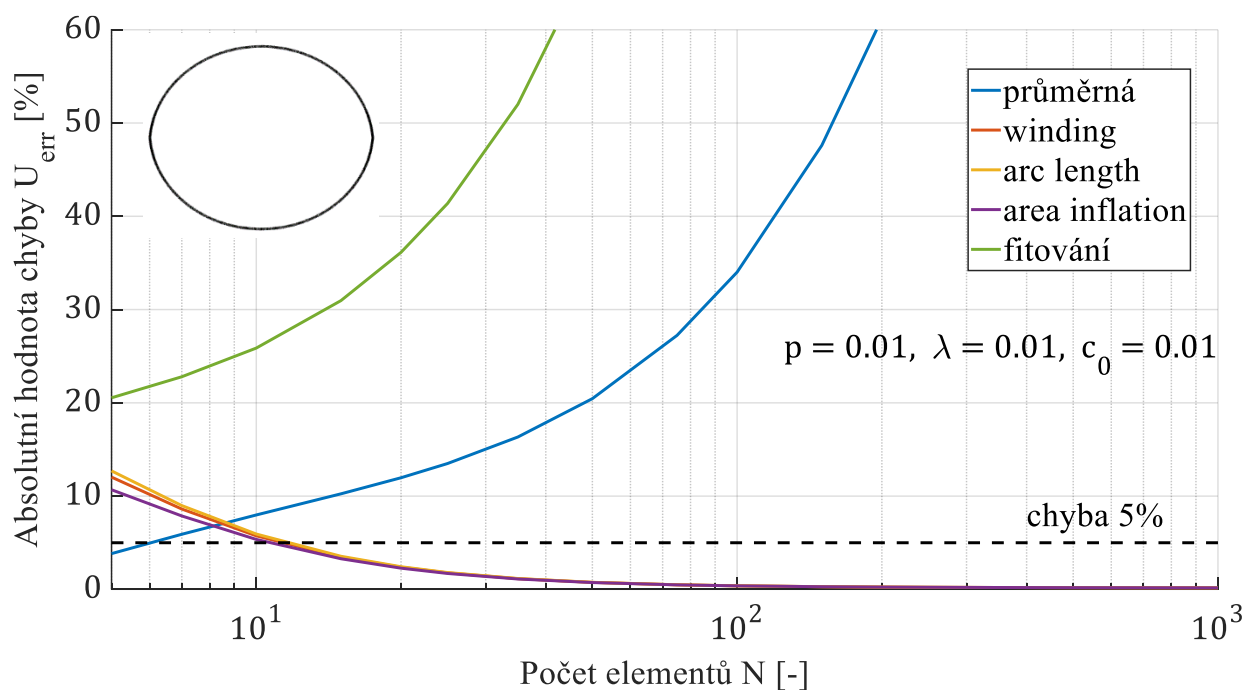
5.2.2 Vliv použité metody výpočtu křivosti na přesnost výsledků

Dále hodnotíme přesnost výpočtu deformační energie. Na rozdíl od předchozího srovnání, kdy byla přesnost aproximace ovlivněna pouze počtem elementů a tvarem křivky, musíme v tomto případě počítat ještě s dalším faktorem – zvolenou metodou výpočtu křivosti c_2 .

Jak si můžeme všimnout z grafů (viz Obr. 29 - Obr. 32), způsob výpočtu křivosti může mít velmi významný vliv na její získané hodnoty. Pro porovnání přesnosti aproximace pro různé tvary křivek využijeme stejnou sérii tvarů jako v předchozím případě (viz Obr. 22). Vzhledem k tomu, že různé metody výpočtu křivosti nám dávají velmi odlišné výsledky, nastavíme si tentokrát toleranci chyby 10-krát vyšší než v přechozím případě, tedy 5%.

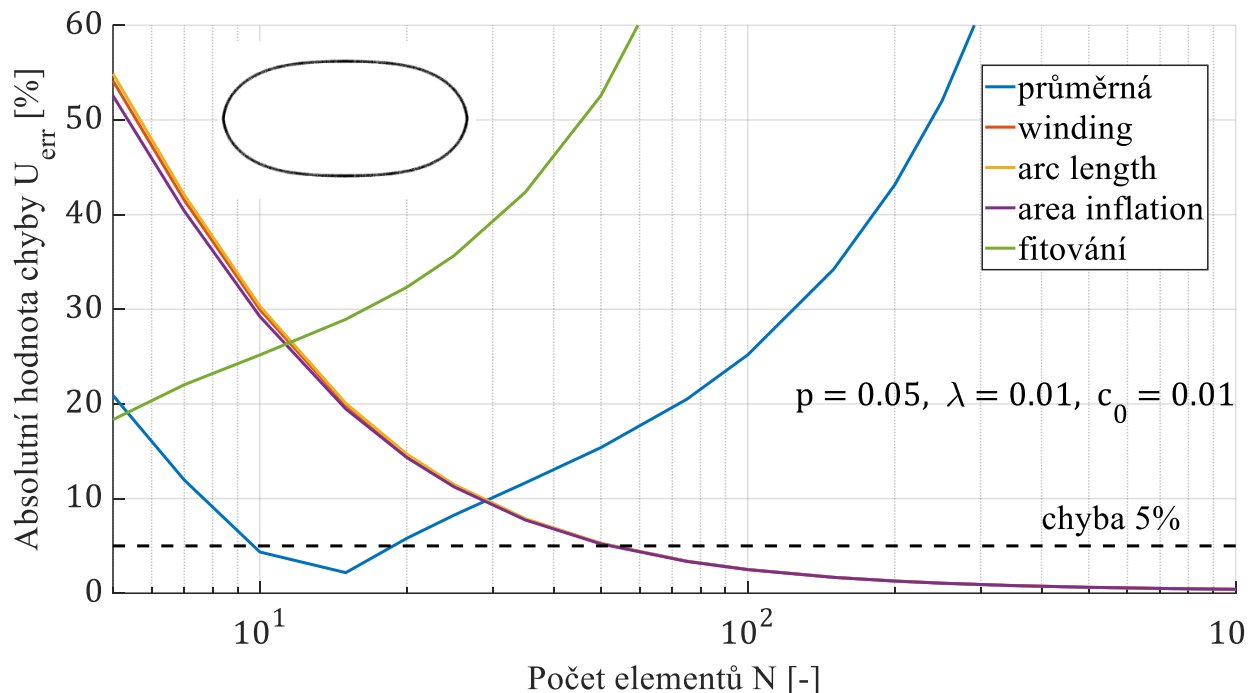
$$U_{err} = 100 \cdot \left| \frac{U_{an} - U_{num}}{U_{an}} \right| \quad (71)$$

Nejdříve zhodnotíme výsledky pro referenční tvar, který je blízký tvaru kružnice (viz Obr. 29). Pro výpočet numerické křivosti tohoto tvaru jsou vhodné především metody winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation. Při velmi malém počtu elementů (méně než 6) je možné využít také metodu průměrné křivosti. Takto malý počet elementů by ale znamenal, že by naše aproximace tvaru křivky nebyla dostatečně přesná.



Obr. 29 – Porovnání různých způsobů výpočtu deformační energie pro referenční tvar křivky.

Pro druhý tvar křivky (viz Obr. 30) si můžeme všimnout, že přesnost metod winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation výrazně poklesla. Při malém počtu elementů dostáváme chybu až 50%. Naopak přesnost metody průměrné křivosti značně vzrostla ve specifickém intervalu (přibližně 10 až 20 elementů), ve kterém s ohledem na malý počet elementů poskytuje velmi dobrý výsledek.



Obr. 30 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivky popsané pomocí $\Delta p = 0.05$.

Pro třetí tvar křivky pozorujeme, že přesnosti metod winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation zůstávají stejné jako u předchozího tvaru. Metoda průměrné křivosti opět vykazuje vysokou přesnost při malém počtu elementů, ale interval se mírně posunul (přibližně 15 až 30 elementů).

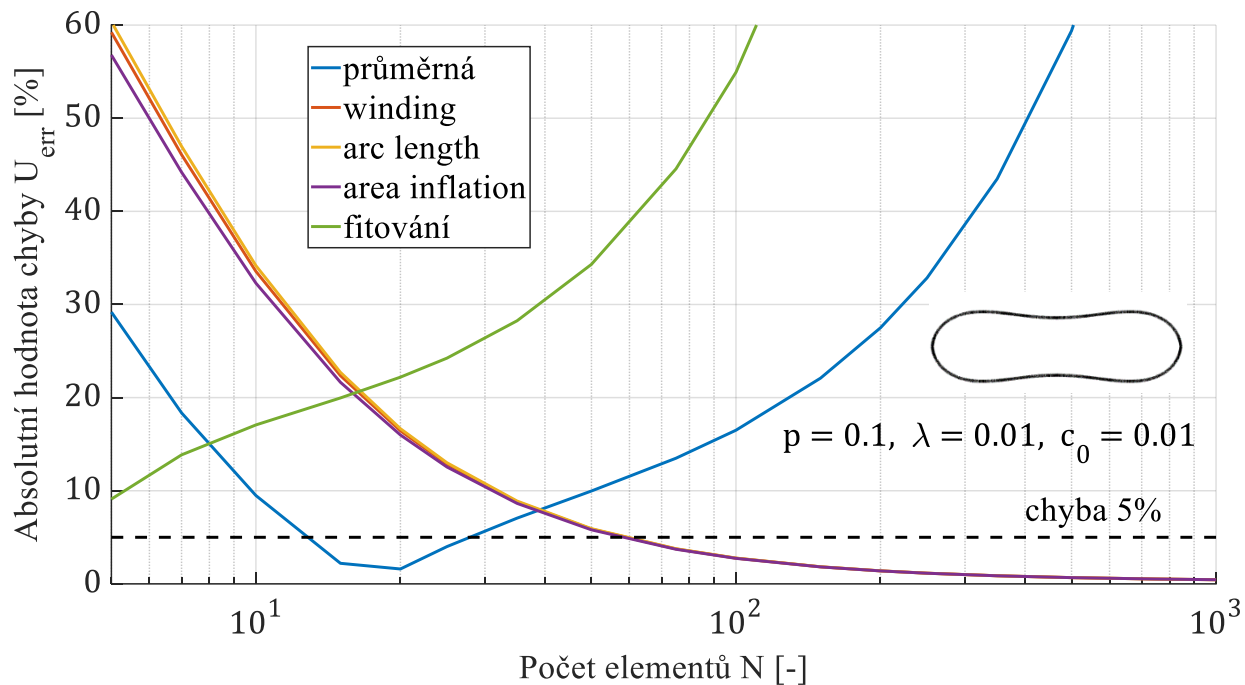
Pro poslední tvar křivky dostáváme opět vidíme, že přesnost metod winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation je pro malý počet elementů velmi špatná, zatímco přesnost metody průměrné křivosti je ve specifickém intervalu (zhruba 15 až 40 elementů) velmi dobrá.

Data použitá k tvorbě grafů (viz Obr. 29 - Obr. 32) jsou k nahlédnutí v **Příloze 3**.

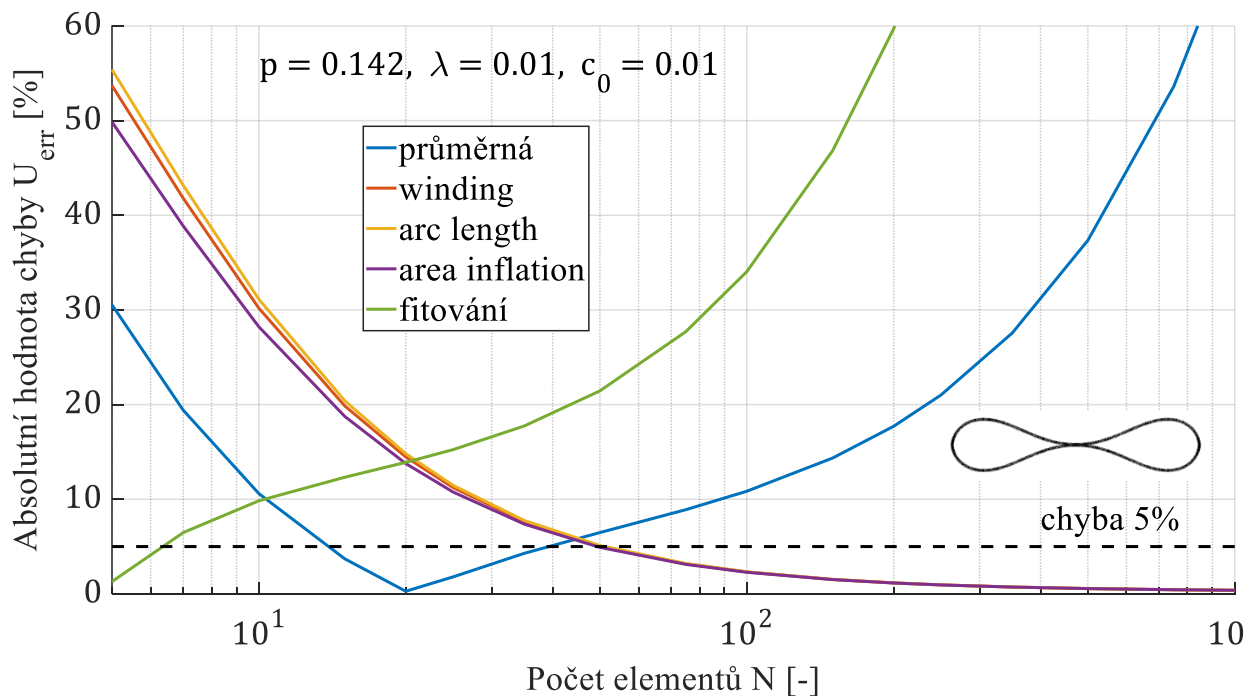
5.2.3 Konečná volba parametrů numerické aproximace

Na základě výše provedených hodnocení přesnosti zvolíme pro výpočet numerických hodnot křivosti metodu průměrné křivosti. Tato metoda nám umožňuje získat stejně přesné (nebo ještě lepší) výsledky jako metody winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation, ale při použití výrazně menšího počtu elementů. Jako optimální numerický model tedy volíme aproximaci křivky složenou z **20 elementů**, jejíž křivost c_2 počítáme pomocí **metody průměrné křivosti**.

$$N = 20$$



Obr. 31 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivku popsané pomocí $\Delta p = 0.1$.



Obr. 32 – Srovnání různých způsobů výpočtu deformační energie křivku popsané pomocí $\Delta p = 0.142$.

5.2.4 Zhodnocení funkčnosti optimalizace

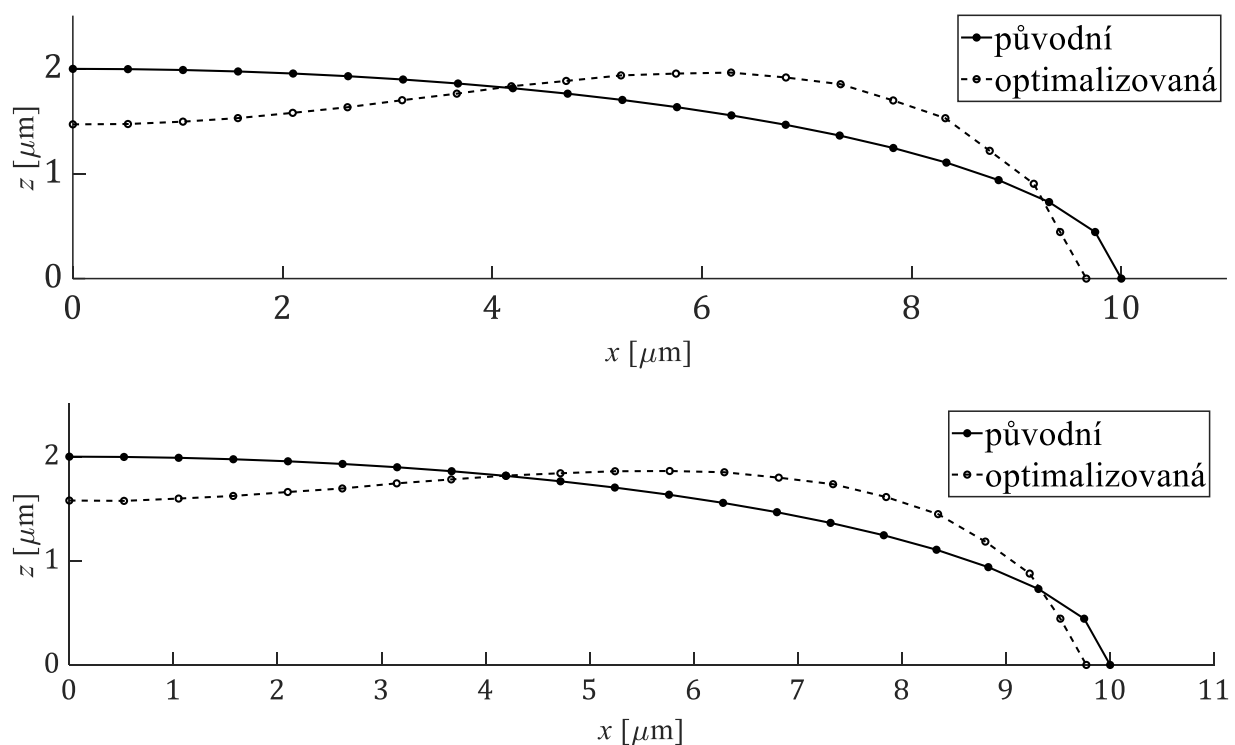
Po provedení optimalizace (viz 4.6) se zvolenými počátečními parametry (viz 4.6.1 a 5.2.3) získáme výsledný optimalizovaný tvar křivky (viz Obr. 33). Výchozí hodnotu deformační energie značíme jako U_0 a minimální získanou hodnotu U_{min} . Hodnotu, na které se algoritmus zastavil, značíme U_k .

Na obrázku je názorně vidět, že metoda Monte Carlo je náhodná, protože pro dva pokusy se stejnými počátečními parametry dostaneme značně odlišné výsledky (viz Tab. 4). Vidíme, že u pokusu č.1 se optimalizace povedla lépe, protože výsledná minimální hodnota U_{min} je menší než u druhého pokusu.

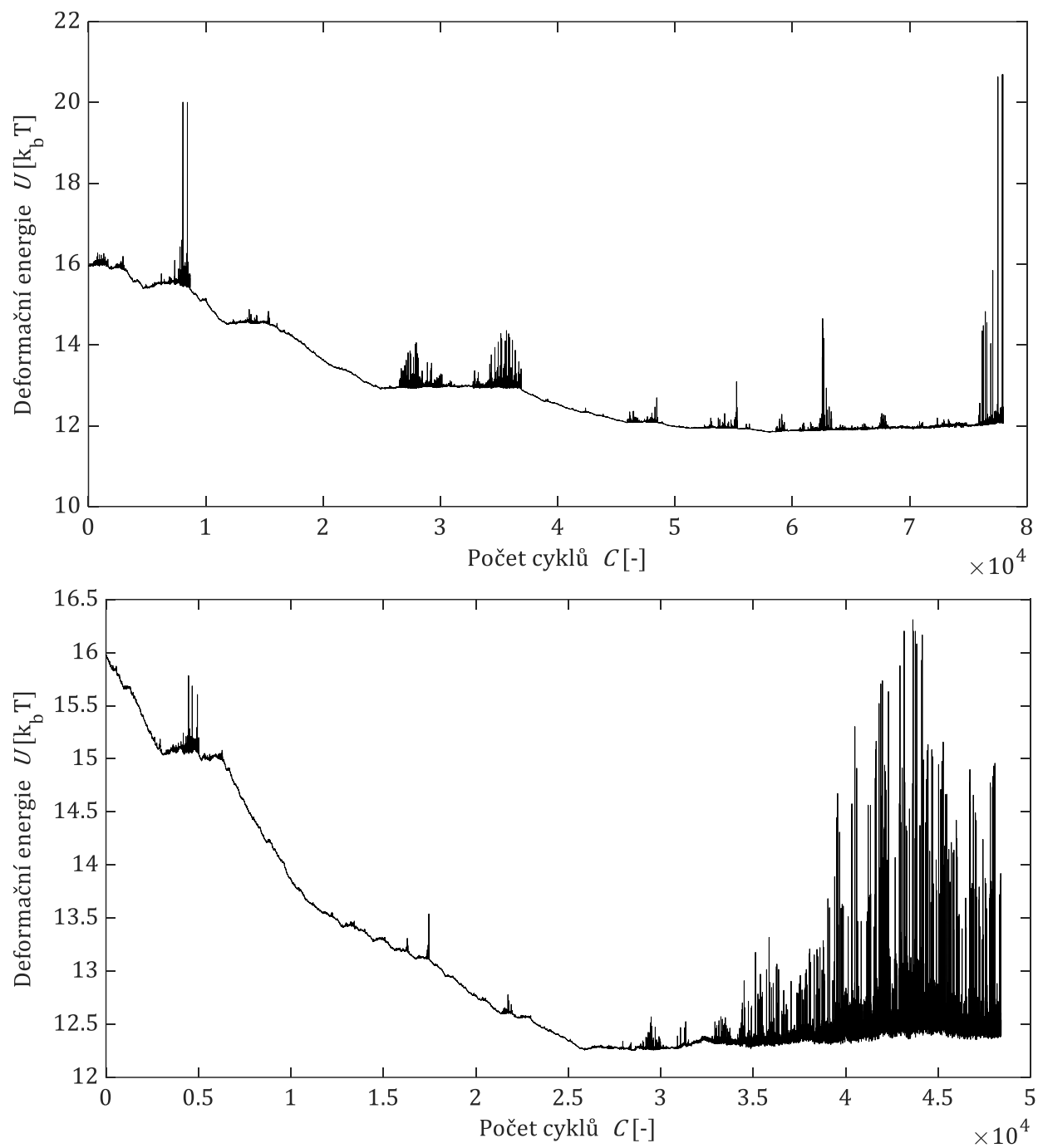
Tab. 4 - Srovnání počátečních hodnot deformační energie s hodnotami získanými optimalizací.

Pokus	$U_0 [k_B T]$	$U_{min} [k_B T]$	$U_k [k_B T]$
1	15.9707	11.8615	12.0320
2	15.9707	12.4097	12.6092

Také průběh optimalizace je značně odlišný (viz Obr. 34). Počet cyklů prvního pokusu je téměř dvojnásobný oproti druhému pokusu. U prvního pokusu také můžeme pozorovat výrazně větší rozkmity hodnot U , což může být potenciální příčina delšího průběhu. I přes tyto rozdíly však platí, že minimální deformační energie U_{min} je výrazně menší než počáteční energie U_0 . Můžeme tedy konstatovat, že naše použitý optimalizační algoritmus je funkční. Použitý MatLab kód je k nahlédnutí v **Příloze 6**.



Obr. 33 – Ukázka rozdílných výsledků dvou pokusů o optimalizaci tvaru elipsy s použitím stejných parametrů: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).



Obr. 34 – Ukázka rozdílných průběhů minimalizace deformační energie pro dva provedené pokusy s použitím stejných parametrů: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).

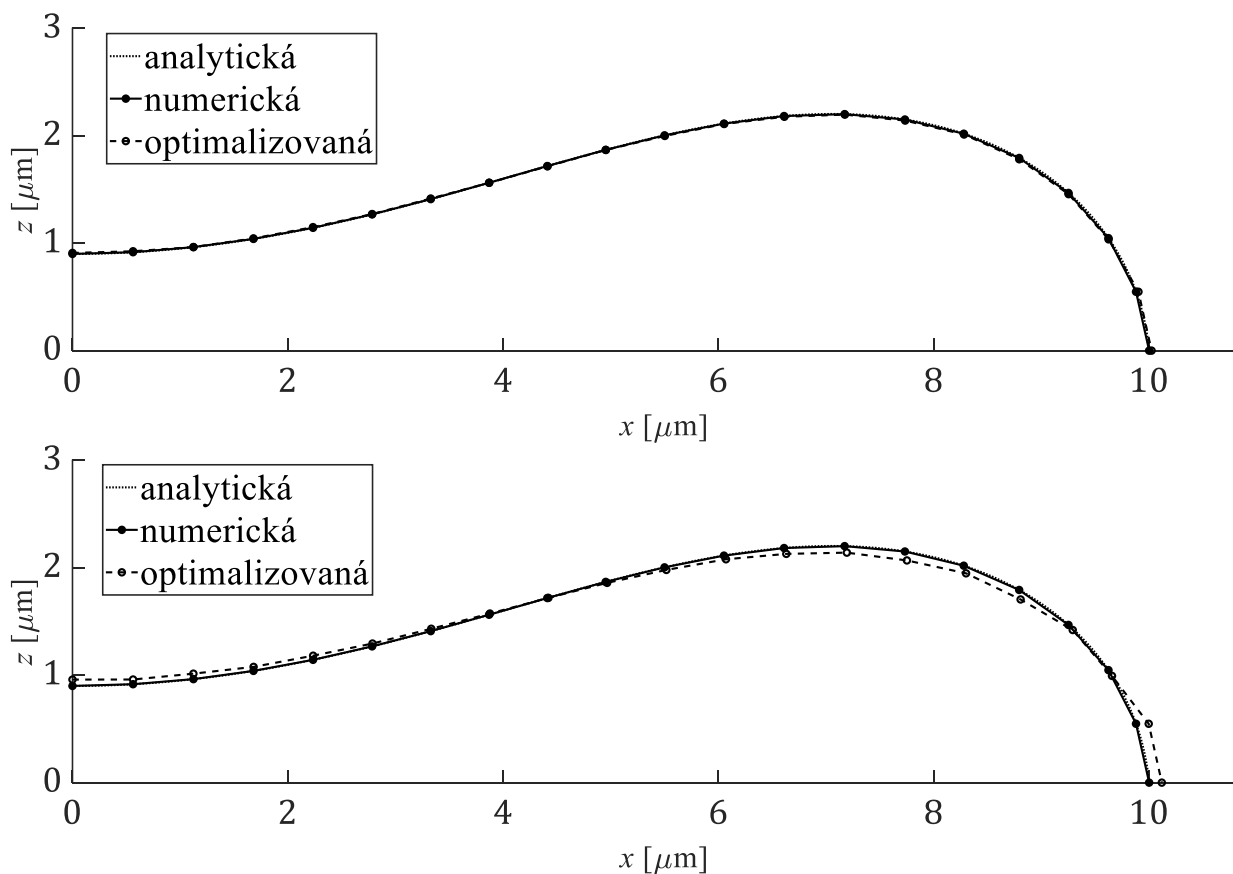
5.2.5 Optimalizace tvaru analytické křivky

Pracujeme s hypotézou, že pokud získáme tvar křivky z analytické rovnice, hodnota deformační energie U_{0a} bude pro takovou křivku velmi blízko minimální hodnotě pro dané parametry p , λ a c_0 . Abychom tuto hypotézu ověřili, aplikujeme na takový tvar optimalizační algoritmus. Pokud je hypotéza pravdivá, mělo by být velmi obtížné najít takový tvar, pro který je minimální numerická hodnota deformační energie U_{min} výrazně menší než původní numerická hodnota U_0 . V prvním pokusu použijeme stejné parametry jako při optimalizaci elipsy (viz 5.2.4).

Z výsledného tvaru křivky vidíme, že při použití stejných parametrů nedošlo téměř k žádným změnám tvaru. Stejný výsledek dostáváme také pro hodnoty deformační energie. Výsledný rozdíl (viz Tab. 5) mezi počáteční numerickou hodnotou U_0 a minimální hodnotou U_{min} je velmi malý (zhruba 1%). Tak malý rozdíl není možné s jistotou potvrdit, protože přijatelná chybovost numerického výpočtu energie je 5%. Pro původní parametry optimalizace tedy hypotéza platí.

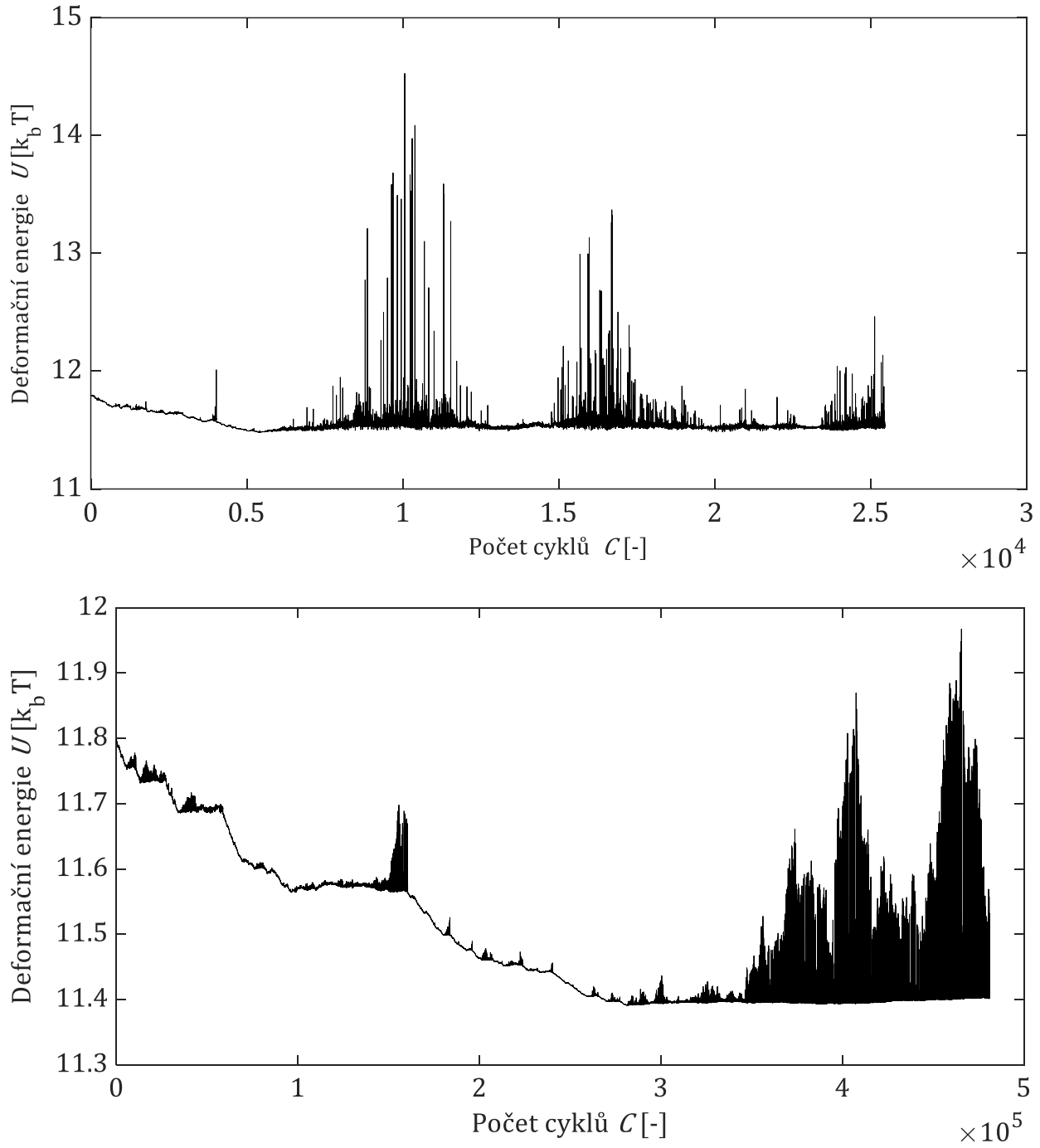
Tab. 5 - Srovnání počátečních hodnot deformační energie s hodnotami získanými optimalizací.

Pokus	U_{0a} [$k_B T$]	U_0 [$k_B T$]	U_{min} [$k_B T$]	U_k [$k_B T$]
1	11.8145	11.7982	11.6869	11.8850
2	11.8145	11.7982	11.3913	11.4108



Obr. 35 - Porovnání výsledků dvou pokusů optimalizace s odlišnými parametry: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).

Ve druhém pokusu zvolíme nové parametry k a n_{krit} . Konstantu k , která určuje velikost počáteční změny úhlu, zmenšíme 10-krát. Kritický počet cyklů n_{krit} naopak 10-krát zvětšíme. Tyto změny by měly novému algoritmu poskytnout mnohem lepší šanci nalézt optimální řešení. Podle výsledků (viz Tab. 5) můžeme usoudit, že do určité míry tomu tak skutečně je. Výsledný rozdíl mezi počáteční a minimální hodnotou je větší než v předchozím případě (asi 3.5%), ale ani tento rozdíl není dostatečně velký na to, abychom ho mohli oddělit od nepřesnosti výpočtu numerické hodnoty energie. Použitý MatLab kód je k nahlédnutí v **Příloze 7**.



Obr. 36 - Porovnání průběhů minimalizace deformační energie pro dva pokusy s odlišnými parametry: pokus č.1 (nahore) a pokus č.2 (dole).

6 Diskuze

Výzkum vlastností buňky a buněčné membrány je velmi důležitý pro lepší pochopení jejich funkce. Čistě experimentální přístup je ale kvůli malým rozměrům většinou technicky i finančně velmi náročný. Z tohoto důvodu je často výhodnější nahradit buňku jejím modelem, ať už analytickým nebo numerickým.

Analytický model buněčné membrány odvozený v této práci vychází z Helfrichovy teorie elasticity, která umožňuje najít takový tvar membrány, který pro zadané hodnoty parametrů reprezentuje stav s minimální deformační energií U . V rámci této práce byla buňka uvažována jako víceméně rotačně symetrická. Díky tomu bylo možné zredukovat úlohu z trojrozměrné prostorové úlohy na dvourozměrnou úlohu v rovině, kde je tvar membrány reprezentován jejím průmětem do této roviny.

Výsledný tvar křivky je ovlivněn hodnotami Lagrangeových multiplikátorů Δp a λ a také hodnotou vlastní křivosti c_0 , sloužící ke kvantifikaci rozdílů v chemickém složení vrstev membrány. Ze získaných tvarů je vidět, že zvolením správných hodnot těchto parametrů, obzvláště parametru Δp , je skutečně možné dosáhnout charakteristického bikonkávního tvaru typického pro červené krvinky.

Hlavní výhody tohoto analytického modelu je jeho jednoduchost, přímota a nízká výpočetní náročnost. Pomocí změn hodnot vstupních parametrů je možné zkoumat vlastnosti mnoha různých tvarů membrány v krátkém čase. Nevýhodou je, že nikdy dopředu nevíme, jak bude získaný tvar vypadat a nemůžeme ani nijak předepisovat jeho vlastnosti. Každý tvar křivky má svou vlastní délku, plochu a hodnotu deformační energie.

Tímto modelem např. není možné simulovat změnu tvaru buňky při jejím konstantním objemu, což je u jiných modelů (jako CGPM nebo CGMD) běžně zadávaná okrajová podmínka. Další problém spočívá v tom, že minimalizovanou hodnotu energie v Helfrichově rovnici počítáme jako integrál přes celou délku křivky. Tento postup je vhodný především pro popis izolované buňky jejíž membrána má homogenní vlastnosti. Okrajové podmínky pro modelování adheze buňky k podložce, perforace membrány, interakce více buněk nebo změny vlastností membrány se zadávají jen velmi obtížně.

Numerický model použitý v této práci funguje na principu interpolace analytické křivky. Tím získáme numerickou aproximaci analytického tvaru sestavenou ze zvoleného počtu elementů stejné délky. Pokud jde o aproximaci samotného tvaru, tento model je schopen, i při využití malého počtu elementů napodobit analyticky získaný tvar s vysokou přesností. Při využití 20 elementů se hodnota délky křivky L u numerického modelu liší od toho analytického o méně než 0.5%. Přesnost toho rozměru je důležitá, protože se používá při výpočtu hodnoty deformační energie pomocí integrace numericky získaných hodnot křivosti v jednotlivých bodech aproximace.

To nás přivádí k jedné z nevýhod tohoto modelu, kterou je značná nepřesnost výpočtu hodnoty numerické křivosti. Tato nepřesnost se projevuje především v místech křivky s velkým zakřivením. V těchto místech se totiž může stát, že hustota diskretizace není dostatečná, což vede k nepřesné aproximaci tvaru. Velký vliv má také to, jaký zvolíme způsob výpočtu křivosti. Různé způsoby fungují lépe nebo hůře nejen pro různé tvary křivky, ale také pro různé počty elementů.

V průběhu navrhování modelu bylo otestováno 5 různých způsobů výpočtu numerické křivosti. Z hodnot křivosti získaných pomocí těchto metod byly pro daný tvar vypočteny hodnoty deformační energie, které byly porovnány s analyticky získanou hodnotou. Metody výpočtu křivosti na bázi winding number theorem, discrete gradient of arc length a discrete area inflation vykazovaly dobrou přesnost, ale pouze při vysokém počtu elementů (více než 100), zatímco metoda fitování kružnic se ukázala jako celkově nepřesná.

Nejlepší shody bylo dosaženo za použití metody průměrné křivosti, která u většiny zkoumaných tvarů vypočetla deformační energii s chybou menší než 5%, a to i při využití malého počtu elementů. Tato přesnost se dá považovat za přijatelnou, ale i tak je řádově větší než u aproximace samotného tvaru. Je možné, že s využitím jiných metod výpočtu křivosti, jako např. fitování elipsy nebo hyperboly, by bylo možné dosáhnout větší přesnosti.

Pro tento numerický model byl v rámci práce vyvinut také optimalizační algoritmus na bázi metody Monte Carlo. Úkolem algoritmu je minimalizovat hodnotu deformační energie při zachování konstantní vnitřní plochy a délky křivky. Aplikace tohoto algoritmu na tvar elipsy vedla ke snížení hodnoty deformační energie zhruba o 25% a změně tvaru z elipsy na bikonkávní tvar. Lze tedy říci, že algoritmus je funkční. Pomocí tohoto algoritmu bylo následně ověřeno, že tvar získaný numerickou aproximací také reprezentuje stav s minimální hodnotou deformační energie. Při optimalizaci analytického tvaru byl pokles energie minimální, zhruba okolo 1%. Ani při výrazném zvýšení rozlišení algoritmu se tento pokles nijak výrazně nezvýšil. Lze tedy prohlásit, že analytický tvar i jeho numerická aproximace jsou velmi blízké tvaru s minimální deformační energií.

Výhoda metody Monte Carlo je v tom, že je analyticky jednoduchá a její parametry jdou snadno nastavovat. Nevýhodou je, že se jedná o náhodnou metodu. Z výsledků vidíme, že pro stejné hodnoty parametrů optimalizace můžeme získat velmi rozdílné výsledky. To znamená, že pokud se snažíme získat reprezentativní data, optimalizaci bude nutné provést opakovaně.

7 Závěr

Tato práce se zabývala tvorbou numerického modelu buněčné membrány červené krvinky pro dvourozměrnou úlohu. Nejprve byla odvozena analytická rovnice pro tvar buněčné membrány pro dvourozměrnou úlohu vycházející z Helfrichovy teorie. Vyřešením této diferenciální rovnice v softwaru MatLab byl získán tvar analytické křivky reprezentující tvar s nejnižší hodnotou deformační energie při daných hodnotách Lagrangeových multiplikátorů a vlastní křivosti. Bylo také provedeno zhodnocení vlivu jednotlivých parametrů na tvar, délku, vnitřní plochu a deformační energii této křivky. Pomocí změn hodnot parametrů se skutečně podařilo nalézt charakteristický bikonkávní tvar červené krvinky.

Tento tvar byl následně diskretizován pomocí interpolační funkce, pomocí níž byl rozdělen na zvolený počet stejně dlouhých elementů. Pro tyto numerické aproximace byly také určeny hodnoty délky, vnitřní plochy a deformační energie, a byly následně porovnány s hodnotami získanými z analytického řešení. Hodnotil se vliv hustoty diskretizace a způsobu výpočtu numerické křivosti na přesnost modelu. Bylo zjištěno, že model funguje nejlépe s menším počtem elementů a s využitím metody průměrné křivosti.

Na závěr bylo ověřeno, zda numericky popsáný tvar křivky, stejně jako analytický tvar, reprezentuje stav s minimem deformační energie. Za tímto účelem byla provedena optimalizace tohoto tvaru metodou Monte Carlo, s cílem minimalizovat hodnotu deformační energie. Výsledky ukázaly, že rozdíly mezi původní numerickou aproximací a optimalizovaným tvarem jsou velmi malé. Z toho lze usoudit, že numerická aproximace křivky je velmi blízko tvaru s minimální energií.

Můžeme tedy prohlásit, že tento model je možné použít k numerickému popisu tvaru buněčné membrány. S využitím nízkého počtu elementů poskytuje poměrně dobrou přesnost aproximace pro širokou škálu možných tvarů buňky.

Použitá literatura

- [1] HEIMBURG, Thomas. *Thermal biophysics of membranes*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2007. ISBN 978-3-527-40471-1.
- [2] PAN, Wenxiao, Dmitry A. FEDOSOV, Bruce CASWELL a George Em KARNIADAKIS. Predicting dynamics and rheology of blood flow: A comparative study of multiscale and low-dimensional models of red blood cells. *Microvascular Research* [online]. 2011, **82**(2), 163-170 [cit. 2022-07-17]. ISSN 00262862. Dostupné z: doi:10.1016/j.mvr.2011.05.006
- [3] DEULING, H.J. a W. HELFRICH. Red blood cell shapes as explained on the basis of curvature elasticity. *Biophysical Journal* [online]. 1976, **16**(8), 861-868 [cit. 2022-07-17]. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/S0006-3495(76)85736-0
- [4] MARTÍNEZ-BALBUENA, L., A. ARTEAGA-JIMÉNEZ, E. HERNÁNDEZ-ZAPATA a E. URRUTIA-BUÑUELOS. Application of the Helfrich elasticity theory to the morphology of red blood cells. *American Journal of Physics* [online]. 2021, **89**(5), 465-476 [cit. 2022-07-17]. ISSN 0002-9505. Dostupné z: doi:10.1119/10.0003452
- [5] BARNS, Sarah. *NUMERICAL MODELLING OF RED BLOOD CELL MORPHOLOGY AND DEFORMABILITY*. Queensland, 2018. Disertační práce. Queensland University of Technology.
- [6] *Geekiyana* NM, *Balanant* MA, *Sauret* E, *Saha* S, *Flower* R, *Lim* CT, *Gu* Y. A coarse-grained red blood cell membrane model to study stomatocyte-discocyte-echinocyte morphologies. *PLoS One*. 2019 Apr 19;14(4):e0215447. doi: 10.1371/journal.pone.0215447. PMID: 31002688; PMCID: PMC6474605.
- [7] LI-GUO, Jiang, Wu HENG-AN, Zhou XIAO-ZHOU a Wang XIU-XI. Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulation of a Red Blood Cell. *Chinese Physics Letters* [online]. 2010, **27**(2), 1-4 [cit. 2022-08-12]. ISSN 0256-307X. Dostupné z: doi:10.1088/0256-307X/27/2/028704
- [8] LIPOWSKY, Reinhard. *Vesicles and Biomembranes* [online]. 2003, 205-208 [cit. 2022-08-10]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/3527600434.eap559
- [9] MathWorks - bvp5c. In: *MathWorks* [online]. [cit. 2022-08-02]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/help/matlab/ref/bvp5c.html>
- [10] OWHAIB, Wahib, Mahanthesh BASAVARAJAPPA a Wael AL-KOUZ. Radiation effects on 3D rotating flow of Cu-water nanoliquid with viscous heating and prescribed heat flux using modified Buongiorno model. *Scientific Reports* [online]. 2021, **11**(1) [cit. 2022-08-02]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-021-00107-x
- [11] VOUGA, Etienne. Lectures in Discrete Differential Geometry 1 – Plane Curves. In: *The University of Texas at Austin* [online]. Austin, 2014 [cit. 2022-08-10]. Dostupné z: <https://www.cs.utexas.edu/users/evouga/uploads/4/5/6/8/45689883/notes1.pdf>

- [12] ALEXIOU, John. Get the equation of a circle when given 3 points. In: *StackExchange* [online]. 2012 [cit. 2022-08-10]. Dostupné z: <https://math.stackexchange.com/questions/213658/get-the-equation-of-a-circle-when-given-3-points>
- [13] *Danylo Malyuta (2022). Fit circle through 3 points, MATLAB Central File Exchange. Retrieved August 10, 2022.* [online]. In: . [cit. 2022-08-10]. Dostupné z: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/57668-fit-circle-through-3-points>
- [14] Ellipse. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2022-08-06]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Ellipse>