



Universidad Autónoma de San Luis Potosí

“Instituto de Física ”

Manuel Sandoval Vallarta



**Deformación de Vesículas por Campos Electromagnéticos: Una
Descripción Teórica**

T E S I S

Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias (Física)

Presenta

Jonathan Said de Lira Escobedo

Asesor

Dr. Bernardo José Luis Arauz Lara

Coasesor

Dr. Said Eduardo Aranda Espinoza

San Luis Potosí, S. L. P. Agosto 2017





Instituto de Física "Manuel Sandoval Vallarta"
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

**EXAMEN DE GRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (FÍSICA)**

SUSTENTANTE:

L.F. JONATHAN SAID DE LIRA ESCOBEDO

TITULO:

**“Deformación de Vesículas por Campos
Electromagnéticos: Una Descripción Teórica”**

CO-DIRECTORES DE TESIS:

Dr. Bernardo José Luis Arauz Lara

Dr. Said Eduardo Aranda Espinoza

JURADO QUE ACEPTA LA TESIS:

Dr. Bernardo José Luis Arauz Lara

Dr. Said Eduardo Aranda Espinoza

Dr. Miguel Ángel Ojeda López

Dr. Jesús Dorantes Dávila

Dr. Martín Chávez Páez

(Arauz)

Said

Miguel

Jesús

Martín


Coordinador del Posgrado en Ciencias (Física)

UASLP
Instituto de Física
POSGRADO EN CIENCIAS (FÍSICA)

FECHA: 4 de septiembre, 2017.

A mi madre

Ana

Agradecimientos

Agradezco a mis asesores los Drs. Said Eduardo Aranda Espinoza y Bernardo José Luis Arauz Lara por todo el apoyo que me brindaron al realizar ésta investigación y al Dr. Helim Aranda Espinoza por tomarse un tiempo para discutir los aspectos físicos de esta tesis.

A todos mis profesores del instituto de Física por aportarme conocimientos relacionados con el campo de la Física.

Agradezco a mi familia, mi mamá Ana Karina Escobedo, pero sobre todo a mis Abuelos, María de Jesús Solís y José Antonio Escobedo, ya que ellos han tenido que hacerse cargo de mi, cuidarme y soportarme desde el día en que nací.

Agradezco a Selene Acosta porque con ella todo es mejor.

A Esla Cabrera que sin deberla y ni temerla siempre esta presente.

Ésta tesis fue financiada por el CONACYT a través del programa de becas nacionales. Las presentaciones parciales en congresos de ésta tesis fueron financiadas por el proyecto CB-2011-169504.

Resumen

En esta tesis se presenta la teoría para encontrar las formas estables en la deformación de vesículas por campos eléctricos alternos y campos magnéticos uniformes. Las vesículas (o liposomas) son objetos delimitados por una membrana formada por una bicapa de lípidos que encierran una solución acuosa. Se obtiene la energía de deformación a través del Tensor de Esfuerzos de Maxwell, esto nos da la energía electromagnética sobre la superficie de la membrana y con ello, en adición con la energía de doblado, se pudo determinar la energía libre de la vesícula que al minimizar con respecto al parámetro de la deformación se pueden encontrar las formas que adquiere una vesícula. Se presentan los diagramas de formas para un magnetoliposoma (un liposoma que encierra un ferrofluido) en presencia de un campo magnético DC, se demuestra además que la forma que adquiere, usando valores numéricos que pueden ser usados de forma experimental, es siempre prolata. Se describe el comportamiento de una célula modelo (dos vesículas concéntricas) cuando un campo eléctrico que depende del tiempo incide sobre ella y se propone un método no invasivo para determinar la conductividad del núcleo, los resultados de la teoría y de los experimentos estan en concordancia. Se presenta además una teoría generalizada para la deformación de N vesículas en presencia de un campo electromagnético.

Índice general

Dedicatoria	III
Agradecimientos	IV
Resumen	v
Índice	v
1. Introducción	1
1.1. Liposomas o Vesículas de doble capa de Lípido	1
1.2. Tecnicas para modificar membranas de lípidos	2
1.2.1. Electroporación	3
1.2.2. Magnetoporación	5
1.2.3. Electrodefomación	5
1.2.4. Magnetodeformación	9
1.2.5. Deformación del núcleo celular	10
1.3. Descripción general del contenido de la tesis	13
2. Campo Magnético DC	14
2.1. Teoría de la deformación de una vesícula en presencia de un Campo Magnético .	14
2.1.1. Modelo	14
2.1.2. Trabajo del Campo magnético sobre la vesícula	17

2.1.3.	Energía Libre de una vesícula en un campo electromagnético	21
2.1.4.	Formas estables de una vesícula en un campo magnético DC	21
2.2.	Resultados Teóricos y Experimentales	22
3.	Campo Eléctrico AC	27
3.1.	Teoría de la deformación de una célula modelo en presencia de un campo eléctrico	28
3.1.1.	Modelo	28
3.1.2.	Trabajo del Campo eléctrico AC sobre la doble vesícula	32
3.1.3.	Formas estables de una doble vesícula en un campo eléctrico AC	34
3.2.	Resultados	34
3.2.1.	Diagrama de Formas para una doble vesícula en un campo eléctrico AC .	34
3.2.1.1.	caso (a) , $x_{int} = 2.4$	35
3.2.1.2.	caso (b) , $x_{ext} = 0.4$	38
3.2.1.3.	caso (c) , $x_{ext} = 2.4$	39
3.2.2.	Ecuación de Bifurcación para el Núcleo	40
3.2.3.	Límite cuando $\mathbf{r}_m \approx \mathbf{r}_n$	43
4.	Teoría Generalizada	44
4.1.	Trabajo Generalizado	44
4.2.	Deformación de N vesículas concéntricas a través de un campo magnético DC . .	45
4.3.	Deformación de N vesículas concéntricas a través de un campo eléctrico AC . . .	47
4.3.1.	Resultados	48
5.	Conclusiones	50
6.	Apéndice	52
6.1.	Apéndice A	52
6.2.	Apéndice B	53
6.3.	Apéndice C	54

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo se hablará acerca de las vesículas o liposomas y la importancia de la interacción con campos electromagnéticos. Se hará una revisión de algunas técnicas para modificar las propiedades mecánicas de una membrana compuesta por una bicapa de lípidos, como lo son la electroporación que se usa principalmente para producir pequeños orificios sobre la membrana y se utiliza para insertar moléculas dentro de la vesícula o célula. La magnetoporación, que es una mejora al método de poración usando campos magnéticos. La electrodeformación, técnica empleada para medir las propiedades mecánicas de la membrana como lo es la constante de rigidez y el módulo de estiramiento. Técnicas de manipulación celular con campos eléctricos AC y DC, que se han utilizado en aplicaciones biomédicas y biotecnologías. Por ejemplo, campos eléctricos se han empleado en experimentos in vivo e in vitro para remover tejidos, curación de heridas y tratamientos de cáncer [1]. Se hablará además de los experimentos relacionados con el cambio en la expresión genética y el reacomodo del núcleo. Cabe resaltar que en esta tesis se trabajó, desde un aspecto teórico, la deformación con campos magnéticos y eléctricos.

1.1. Liposomas o Vesículas de doble capa de Lípido

De las mayores incógnitas que rodean al mundo científico es entender como funciona la célula, pese a los avances en la ciencia y las nuevas técnicas desarrolladas todavía no es posible

entender a este ente del todo. Lo que si se sabe es que células y organelos están envueltos por una membrana compuesta principalmente de una bicapa de lípidos, en el caso del núcleo son dos bicapas [2]. Experimentalmente se puede aislar uno de los componentes de la membrana, el fosfolípido, el cual al entrar en contacto con el agua se forman de manera espontánea las vesículas [3], los lípidos son unas moléculas que tiene una cabeza que es hidrofílica y un cuerpo que es una cadena hidrocarbonada (hidrofóbica) ver figura 1.1, que forman diversas estructuras dependiendo del medio en el que se encuentren. Debido a esta analogía con células, las vesículas son comúnmente usadas en estudios biofísicos. Vesículas artificiales son usadas para imitar algunos fenómenos biológicos [3]. Vesículas de lípidos son un buen modelo para estudiar el efecto de los campos eléctricos en membranas de lípidos [1]. Vesículas compuestas de lípidos representan un modelo simplificado de una célula procariota dando oportunidades para estudiar fenómenos relacionados al controlar parámetros importantes tal como el tamaño de la vesícula, composición de la membrana, contenido y propiedades fisicoquímicas del medio en que se encuentra. [4–9]

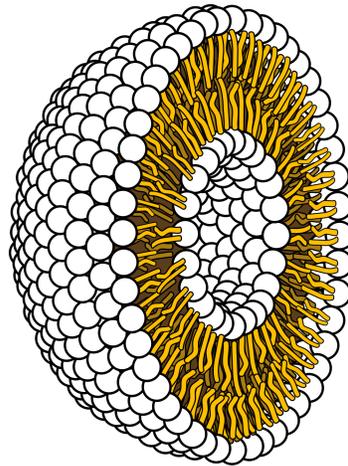


Figura 1.1: Sección Transversal de una vesícula. Se puede observar que los lípidos se alinean con las cabezas hidrofílicas hacia los medios acuosos. Dentro de la vesícula se encuentra almacenada una solución acuosa. (Tomado de <https://commons.wikimedia.org/wiki/> visitado 1 febrero de 2017)

1.2. Técnicas para modificar membranas de lípidos

A lo largo de estas décadas se han utilizado los campos electromagnéticos para alterar las propiedades mecánicas de las membranas, ya que encapsular objetos dentro del citoplasma ha

resultado de gran interés en temas de bioingeniería [1].

1.2.1. Electroporación

El papel que juegan las membranas biológicas en los organismos es crucial, estos objetos son estructuras de materia blanda que delimitan las células y sus distintos organelos, una de sus funciones además de delimitar el medio acuoso es mantener gradientes de activación los cuales abren o cierran canales por donde iones de distintos tipos pueden pasar a través de ella [10].

En las últimas décadas, los estudios sobre membranas intercúando con campo eléctricos se han intensificado. Además de servir como una frontera en una célula que sirve para separar el material intracelular del ambiente externo, la membrana funciona como una barrera que regula el transporte de sustancias dentro y fuera de la célula, incluyendo iones y otras sustancias importantes para el metabolismo y otros procesos biológicos. [11]. Esta separaciones de iones da a la membrana su propiedad de capacitor, permitiéndole almacenar carga en la superficie [2]. Una manera de modificar el gradiente que crea la membrana es mediante campos eléctricos de muy alta intensidad, esto se debe a que la presencia del campo hace que se induzca un potencial transmembranal generado por la diferencia en las propiedades eléctricas de la membrana y los medios intermedios y externos, este proceso es conocido como la polarización de Maxwell-Wagner. Esta polarización es la que produce los cambios mecánicos en las membranas de lípidos [12]. Al aplicar un pulso electrico de alta intensidad, se crean poros, incrementando la conductividad y la permeabilidad eléctrica, ver figuras 1.3 y 1.2. Este fenómeno es conocido como electroporación. Se ha demostrado que usando electroporación, se puede introducir moléculas dentro de la célula y de igual manera extraer objetos de ella. Debido a la la facilidad de esta técnica, rápidamente se ha aplicado en diversos campos de la ciencia como bioquímica, biología molecular y medicina, como por ejemplo introducir DNA dentro de las células, matar organismos como bacterias u otras células [3].

Si el pulso eléctrico es corto e intenso, el proceso es reversible, el poro se vuelve a cerrar. Si el pulso eléctrico es largo y muy intenso, el proceso es irreversible, por tal razón podemos clasificar

Electroporation

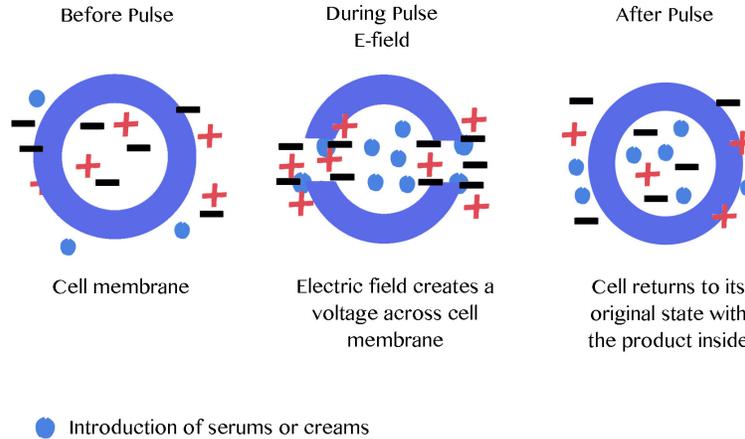


Figura 1.2: Poración de una célula. Diagrama de la poración de la membrana de una célula a través de un campo eléctrico. (Tomado de <http://www.neoelegance.co.uk/electroporation-skin/> visitado 1 febrero de 2017)

la electroporación en dos tipos: reversible e irreversible o funcional y destructiva respectivamente. En el proceso reversible, las funciones de las células permanecen inalteradas y en la segunda son usadas para destruirlas. A pesar de lo sencillo de esta técnica, existe una gran desventaja: en algunos casos, las células tienen que estar en contacto con los electrodos, esto puede contaminar la muestra y por lo tanto se pueden afectar los resultados, además pueden existir burbujas de aire entre los electrodos y el medio acuoso [13]. Un método para porar vesículas o membranas celulares sin tener que estar en contacto con estas, es la magnetoporación.

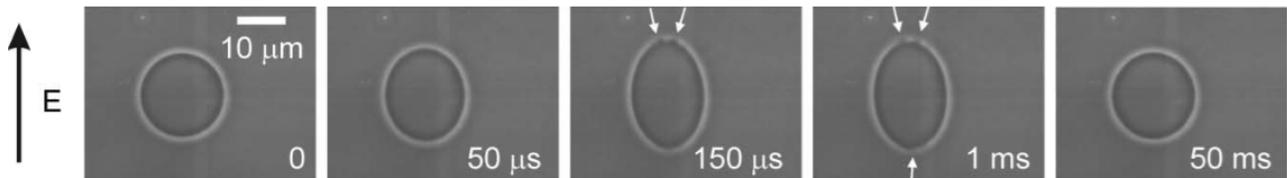


Figura 1.3: Poración de una vesícula. Se usó un campo eléctrico DC sobre una vesícula durante 200 μs y una intensidad de 1.4kV/cm. La flecha negra indica la dirección del campo, y el tiempo mostrado en cada cuadro es el tiempo de exposición del campo. En las imágenes 3 y 4 se alcanza a visualizar poros sobre la membrana de lípidos. (Tomado de [1])

1.2.2. Magnetoporación

Al trabajar con campos eléctricos tienen algunas desventajas al momento de usarse para porar vesículas o membranas celulares, una posible solución es que en lugar de aplicar un campo eléctrico, se haga incidir un campo magnético que varía con el tiempo. Actualmente la investigación entre campos magnéticos y medios biológicos es escasa. Se sabe de las leyes de Maxwell, en específico la Ley de Faraday, que un campo magnético que depende del tiempo genera un campo eléctrico. La técnica de magnetoporación consiste en generar a través de pulsos magnéticos campos eléctricos que puedan porar la membrana de lípidos ([13])

1.2.3. Electrodeformación

Helfrich *et. al.* fue el primero en estudiar las vesículas en presencia de campos electromagnéticos, estudió las deformaciones que puede tener la bicapa de lípidos de la membrana: estiramiento, cizalla y cambio en la curvatura, donde concluyó que la deformación más significativa se debe al último, en la curvatura. Caracterizó la deformación de una vesícula con la desviación de su forma esférica a desviaciones elipsoidales, del tipo prolata o oblata, una deformación prolata ocurre cuando el eje polar a del esferoide es mayor que el ecuatorial c y oblata en caso contrario (ver figura 1.4), en esta tesis el eje polar siempre es paralelo a la dirección del campo (o al eje z). Helfrich Propuso una teoría para predecir las formas estables de la vesícula en un campo eléctrico AC y un campo magnético DC usando dos enfoques, un enfoque de fuerzas y el otro de energías, donde como es usual en la física, el enfoque energético es más sencillo y rápido [4].

En ausencia de agentes externos la forma natural de las vesículas es permanecer en forma esférica, y éste aspecto característico de las vesículas se debe a la diferencia de presiones del medio externo con el medio interno. Las fluctuaciones térmicas alteran la forma plana de la superficie lo cual nos indica la cantidad de energía necesaria para doblarlas. Si al sistema lo excitamos con un agente externo tal como un campo eléctrico, las formas que adquirirá la membrana se deberá a la competición de la energía eléctrica y a la energía de doblado. Helfrich *et al.*, usando métodos de la geometría diferencial pudo obtener una expresión para la energía de

doblado que caracteriza las deformaciones prolata y oblata; términos como la rigidez de doblado y el grado de deformación están involucrados en tal expresión. Observaciones experimentales de deformación de vesículas con campos eléctricos y magnéticos están de acuerdo a lo predicho por la teoría [4]. Estos trabajos de Helfrich desataron una ola de investigación en esta dirección. En el modelo de Helfrich solo se puede predecir las formas estables que puede adquirir la vesícula, es decir no se puede ver la evolución de la transición de esfera a prolata o a oblata. Hyuga *et al.*, propuso un modelo simplificado de la evolución temporal del fenómeno de la deformación de vesículas en campo eléctricos. Hyuga usó la teoría de perturbaciones, esto es, propuso que la deformación se debe a desviaciones pequeñas en el radio y consideró despreciable el grosor de la membrana, donde la transición de forma se debe a la evolución temporal del termino perturbativo. Las ecuaciones de movimiento para la membrana las construyó del Lagrangiano donde las fuerzas como de doblado, eléctricas y de resistencia que ejerce el fluido al movimiento están involucrados. Los resultados de Hyuga están en alto grado de concordancia con los obtenidos por Helfrich [7].

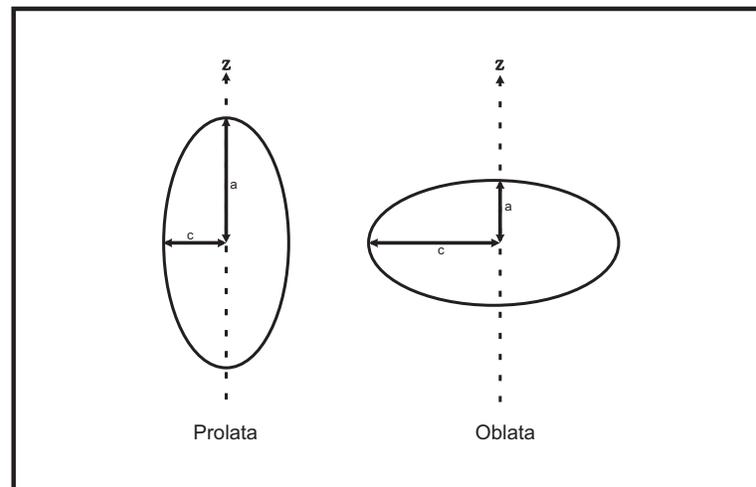


Figura 1.4: Deformaciones representativas de una vesícula en un campo eléctrico. Elipses que representan la deformación prolata y oblata que sufre una vesícula. En la deformación prolata el eje polar a es mayor que el ecuatorial c mientras que para una deformación oblata sucede lo contrario. El eje z es representado por la línea punteada.

Recientemente, Aranda *et al.*, caracterizó y observó las formas que adquiere una vesícula en presencia de un campo eléctrico alterno, encontró que a bajas frecuencias (kHz), la forma que adquiere las vesículas es prolata, y si se incrementa la frecuencia se llega a obtener una forma

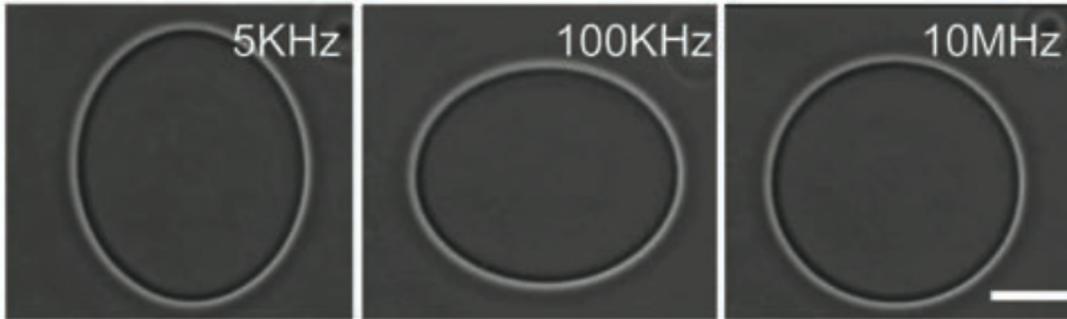


Figura 1.5: Ejemplos de vesículas deformadas por la acción de un campo eléctrico AC. Para este caso, la razón de las conductividades tiene un valor de $\frac{\sigma_{in}}{\sigma_{ex}} = 0.5$. Estas deformaciones fueron producidas con un campo eléctrico de magnitud $0.2kV/cm$, en la parte superior derecha se muestra la frecuencia característica del campo eléctrico. (Tomado de [14])

oblata, para frecuencias grandes del rango de MHz las vesículas mantiene su forma esférica [15], esto concuerda con la hipótesis de que para estas frecuencias el reacomodo de los iones es demasiado rápido y en promedio no existe desplazamiento alguno, sorprendentemente la frecuencia de transiciones prolata-oblata es independiente de la amplitud del campo [9], [16]. Conjuntamente con este trabajo, Yamamoto *et. al.*, con la ayuda de la energía de doblado propuso un modelo para explicar las transiciones encontradas por Aranda *et. al.*, al igual que Helfrich propuso un modelo energético, y las formas estables las encontró minimizando la energía libre de una vesícula en presencia de un campo eléctrico AC respecto al grado de deformación, mas aun se pudo calcular la acumulación de carga sobre la membrana lipídica, los resultados fueron muy favorables, ya que concuerdan altamente con las observaciones experimentales, cabe resaltar que, en su modelo la vesícula es un cascaron esférico donde la membrana de lípidos es tratada como una capa delgada propensa a deformarse y el radio de la vesícula es un factor de escalamiento, se encontró que el grado de deformación es proporcional al cuadrado de la deformación, lo que significa que vesículas grandes se deforman más que las vesículas pequeñas [14], esto contradice los experimentos encontrados por Antonova *et. al.*, en donde estudiaron las frecuencias de transición de prolata-oblata como funcion del radio de las vesículas, de las observaciones concluyeron que existe una relación directa entre la frecuencia de transición y el radio de las vesículas dado que vesículas pequeñas tienen una frecuencia de transición mayor que las grandes [17]. Trabajos sobre la deformación de vesículas con pulsos eléctricos DC son mas

escasos, existen estudios experimentales donde han investigado este tipo de fenómeno, llegando a la conclusión de que los campos DC producen deformaciones de corta duración, el inverso del la duración del pulso debe ser análogo a la frecuencia del campo AC, pero dado que la fuerza producida por un campo eléctrico DC es mucho mayor que la de un campo AC el grado de deformación también difiere [18], [7,8,19] . Se ha logrado demostrar que la deformación en campos AC y DC es dependiente de la razón entre las conductividad interior del la solución acuosa que encierra la vesícula y la conductividad del medio exterior en el cual esta inmersa [15].

Los trabajos donde se pueda observar la evolución temporal del cambio en la forma de la vesícula son escasos. Vlahovska *et. al.* propuso un modelo hidrodinámico de la deformación de vesículas en campos eléctricos alternos. Su modelo, al igual que otros, proponen el fluido dentro de la vesícula y en el que esta inmerso como dielectricos y la membrana de lípidos como un líquido impermeable, flexible e incompresible, ellos además de la fuerza eléctrica y de doblado añadieron la fuerza hidrodinámica que ejercen las suspensiones acuosas sobre la membrana lipidica y fueron capaz de obtener la evolución temporal de la transición prolata-oblata [20]. Se tenia pensando que la evolución de deformación de esfera a una forma elíptica se daba de una manera cuasiestática, es decir simplemente alargando en direccion del campo (prolata) o achatandoe (obalta), sin embargo, una expansión al modelo de Vlahovska contradijo esta hipótesis, ellos encontraron que las vesículas antes de ser elipses toman una forma rectangular con esquinas onduladas y hasta después de esto que las vesículas toman una forma elíptica [2].

La dinámica de las deformaciones es resultado del reacomodo de los iones de las soluciones acuosas, ya que cuando el campo eléctrico es aplicado, la vesícula se comporta como un capacitor y la membrana comienza un proceso de carga, ya que iones libres migran hacia los alrededores de la membrana, y debido a la discrepancia entre las conductividades de los dos medios la razón a la que se acumulan las cargas en la superficies interior y exterior son diferentes dando lugar a una polarización en la vesícula. Una vez cargada la bicapa de lípidos, la vesícula se linea en dirección del campo eléctrico, lo que significa que cuando sucede esto, la dependencia de la orientación en la razones de las conductividades desaparece [2].

En el momento en que se hace incidir un campo eléctrico AC se modifica la forma de la vesícula, se puede usar como método para obtener la dureza que caracteriza la membrana de lípidos, Kummrow *et. al.*, sugirió un método para poder determinar con alto grado de precisión la dureza de doblado de una vesícula [5].

1.2.4. Magnetodeformación

Los magnetoliposomas, son una combinación de dos sistemas complejos, las vesículas y un fluido ferromagnético, una solución acuosa que tiene dispersas partículas magnéticas (3 cabuil [21]). Los estudios de estos sistemas tienen algunos objetivos principales, en medicina, estos objetos biocompatibles pueden ayudar en la separación inmunomagnética (4 cabuil [22]). Se pueden usar como transporte de drogas. Con modelos físicos apropiados es posible encontrar las constantes elásticas que caracterizan una membrana con ayuda de un agente externo muy amigable como lo es el campo magnético [23].

Se ha observado experimentalmente que cúmulos de magnetoliposomas en presencia de un campo magnético uniforme se alinean en dirección de éste para formar cadenas que sugiere una interacción dipolo-dipolo, en contraste con magnetoliposomas aislados, que se alargan en dirección del campo dando origen a una deformación tipo elipsoidal, autores como Sandre *et. al.* reportan deformación tipo oblata para magnetoliposomas débilmente magnetizados, y estas deformaciones prolatas se deben a una alta magnetización [24]. Con las deformación es posible obtener las constantes viscoelásticas de la membrana de lípidos, la dureza de doblado y la constate de estiramiento de la membrana (cabuil [23]). Aunque experimentos revelan que los cambios de forma estan determinados por las interacciones electrostáticas entre los lípidos de la membrana y los iones de la solución acuosa, ya que se ha logrado medir un potencial de algunos pocos milivolts sobre la superficie de vesícula [25] que concuerda con la distribución anisotrópica de las nanopartículas en vecindades de la membrana [24]. Cabe mencionar que en los cúmulos, si no se forman las cadenas, no existe alargamiento de las vesículas con fluido magnético, de tal manera que se da un apantallamiento del campo magnético, por otro lado, las vesículas con

mayor tamaño son mas vulnerables a la deformación.

Estudios experimentales han demostrado que la deformación de vesículas puede ayudar a calcular la dureza de doblado, mientras que la constante de estiramiento requeriría de mayor concentración de ferrofluido dentro de las vesículas, estos cálculos son prometedores, ya que con estas hipótesis se puede calcular la dureza del ADN [23].

La membrana celular esta expuesta a varios agentes externos, como lo son anticuerpos, proteínas o drogas que pueden afectar la integridad de la misma, por tal razón, calcular la dureza de doblado es de gran importancia, ya que ésta es una medida de la sensibilidad celular a agentes externos [23].

Vesículas con partículas magnéticas colocadas sobre la superficie puede imitar a una membrana con proteínas [23].

1.2.5. Deformación del núcleo celular

La membrana plasmática además de servir como envoltura que rodea y delimita a la célula esta involucrada en otras funciones importantes en la célula, como por ejemplo: división celular, motilidad, expresión genética, transduccion de señales y apoptosis. Estas funciones celulares dependen de las propiedades mecánicas, elásticas y viscoelásticas de la membrana [26–28]. La célula es capaz de cambiar las propiedades elásticas y viscoelásticas de la membrana cuando existen alteraciones estructurales y moleculares causadas por el inicio de enfermedades o por la invasión de organismos extraños, tales como parásitos [29–32], estos cambios, son conocidos por tener un importante rol en patogénesis y patología. Estudios, donde se investigo las propiedades mecánicas de la membrana plasmática, desde un punto de vista bioquímico, demostraron que enfermedades tales como tumores gastrointestinales y malaria producen grandes cambios en la deformabilidad de la mecánica de la célula llegando a la conclusión de que ésta reorganización es la que controla la motilidad celular. No solo las propiedades de la membrana plasmática esta involucrada en las funciones celulares anteriormente citadas, la deformación de la membrana nuclear [33] también esta involucrada en tales eventos celulares, así como también en prolifera-

ción [34–36], organización del citoesqueleto [37] y posiblemente con la expresión genética(ver figura) . El núcleo es lugar en la célula donde la replicación, transcripción y otros procesos bioquímicos se llevan a cabo, y su estructura es esencial para gran cantidad de funciones biológicas, el núcleo delimitado por una membrana encapsula cerca de 2 metros de DNA [38].Cambios en las fuerzas que hay en el citoesqueleto conllevan a cambios en el núcleo, afectando la distribución y organización del DNA, que tiene como finalidad alterar las funciones celulares [39–41]. Si a la célula se le restringe el movimiento, esta automáticamente entra en fase de apoptosis [34].

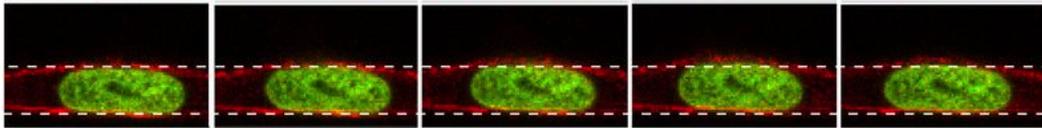


Figura 1.6: Deformación del núcleo celular. La imagen muestra a un fibroblasto migrando, se puede apreciar que el núcleo se elonga en dirección del movimiento. (Tomado de [42])

Una manera de relacionar la traducción de la información que llega en forma de cambios en la fuerza del citoesqueleto en expresión genética es que existe un mecanismo por el cual, fuerzas producidas por el citoesqueleto se transmiten hasta proteínas que se encuentran sobre la membrana nuclear [39], [43], [44]. Estas proteínas con factores de transcripción producen cambios en la doble hélice del DNA llevándose a cabo una interacción directa con secuencias de genes promotores [45]. Esta hipótesis ha sido puesta a prueba, en donde se ha tratado de medir como eventos mecánicos están involucrados con la morfología celular, organización del citoesqueleto, la señalización intracelular, forma nuclear, organización de la matriz nuclear, y la expresión genética; algunos autores lograron controlar la forma nuclear y medir *in situ* expresión de mRNA manejando el área proyectada del núcleo, con esto fue posible observar que la expresión genética y la síntesis de proteína se ven afectadas con alteraciones en la forma nuclear [33]. Conociendo el mecanismo de balance de fuerzas entre la célula y la ECM (Matriz Extracelular, por sus siglas en inglés) nos puede ayudar a entender el proceso de mecanotransducción, el proceso celular de sentir y responder de una manera específica a un estímulo mecánico [46], lo que hace pensar que receptores de la ECM, filamentos del citoesqueleto y moléculas sobre la membrana nuclear tienen una relación directa entre ellos, por lo que un cambio en la membrana resulta

en un reacomodo estructural de los componentes de toda esta red interconectada [46]. Algunos autores han logrado demostrar que existe un camino discreto proporcionado por los componentes del citoesqueleto por el cual la fuerza que se genera en superficie puede llegar hasta el núcleo, en particular demostraron que las integrinas que se encuentran sobre la membrana plasmática, el citoesqueleto y la superficie nuclear están acoplados, estos resultados indican que se puede regular la transmisión de la información en forma de fuerzas mecánicas o vibraciones desde los receptores de la superficie a distintos elementos que componen la célula, como por ejemplo núcleo, incluyendo canales iónicos, poros nucleares, cromosomas, y tal vez, genes individuales [46].

Experimentos de deformación mediante campos eléctricos para controlar la forma del núcleo celular pueden ser muy prometedores, ya que se ha demostrado con experimentos de aspiración por micropipeta que se puede reducir el volumen del núcleo hasta un 60 o 70 % antes de que llegue a un estado donde no se pueda extraer más contenido de su interior, lo que indica que dos tercios del interior del núcleo es una solución acuosa. Estos experimentos han logrado además probar que esta solución se comporta como un gel suave [47], que concuerda con las observación de la difusión de moléculas diminutas dentro del núcleo [38]. Con la misma técnica citada al inicio de este párrafo también ha sido posible llegar a la conclusión de que el núcleo es mucho más blando que el citoplasma [48–50]. Otro aspecto atractivo del manipular la forma nuclear por medio de campos eléctricos, es que en la membrana nuclear existe mayor cantidad de fosfolípidos que proteínas, para ser más exactos, la razón de proteínas a lípidos es del rango de 0.2 a 0.5 [51, 52], además se ha mostrado que cuando el núcleo se deforma con micropipeta de aspiración ya no puede regresar a su forma original [47].

1.3. Descripción general del contenido de la tesis

Esta tesis aborda la deformación de las vesículas desde un punto de vista teórico tomando como punto de partida los trabajos realizados por Helfrich *et. al.* [4] y Yamamoto *et. al.* [14]. En el

capítulo 2 se presenta la teoría que predice las formas estables que adquiere un magnetoliposoma en presencia de un campo magnético, se hace una comparación de los resultados teóricos y experimentales. En el capítulo 3 estudiamos el caso de una célula modelo en presencia de un campo eléctrico AC, la generalización de n vesículas concéntricas se encuentran en el capítulo 4, las conclusiones son mencionadas en el capítulo 5.

Capítulo 2

Campo Magnético DC

Cuando una vesícula esta inmersa en un campo magnético la discontinuidad de la permeabilidad magnética entre los medios, da lugar a que se generen densidades de fuerza sobre la superficie interior y exterior de dicha vesícula. Dado que la membrana de la vesícula es un medio blando, las fuerzas son capaces de deformarla ya sea de manera prolata u oblata. Las fuerzas de deformación se pueden calcular fácilmente utilizando el Tensor de esfuerzos de Maxwell. Al minimizar la energía total, que es la aplicada por el campo magnético y la energía de doblado, se pueden calcular las formas estables que adquiere la vesícula minimizando respecto al grado de la deformación. En este capítulo se presenta un modelo teórico de las deformaciones estables de la vesícula cuando se aplica un campo magnético y se obtiene el diagrama de formas de la vesícula.

2.1. Teoría de la deformación de una vesícula en presencia de un Campo Magnético

2.1.1. Modelo

Considérese una vesícula sumergida en un medio con cierta permeabilidad magnética donde se aplica un campo magnético uniforme externo \mathbf{H}_0 . Para estudiar este sistema se puede hacer

un modelo sencillo: como primera aproximación considérese que la membrana que delimita la vesícula es una pequeña capa delgada blanda eléctricamente neutra y que esta colocada en un medio con permeabilidad magnética μ_1 (exterior de la vesícula) y contiene una solución ferromagnética de permeabilidad μ_3 (interior de la vesícula), así mismo, la membrana misma tiene una permeabilidad magnética μ_2 . Este sistema se perturba colocando un campo magnético uniforme en la dirección \hat{k} (ver figura 2.1). Debemos encontrar la distribución de campo magnético en todo el espacio. Como no existen cargas con movimiento $\mathbf{J} = 0$, siendo \mathbf{J} la densidad de corriente superficial y como $\mathbf{H}(r, \theta, \phi) = \nabla\varphi$ y $\nabla \cdot \mathbf{B} = 0$. Usando la relación $\mathbf{B} = \mu\mathbf{H}$ encontramos que $\nabla^2\varphi = 0$. Por lo que hemos reducido el problema a encontrar la solución de a la ecuación de Laplace en todo el espacio con las condiciones de fronteras adecuadas [53].

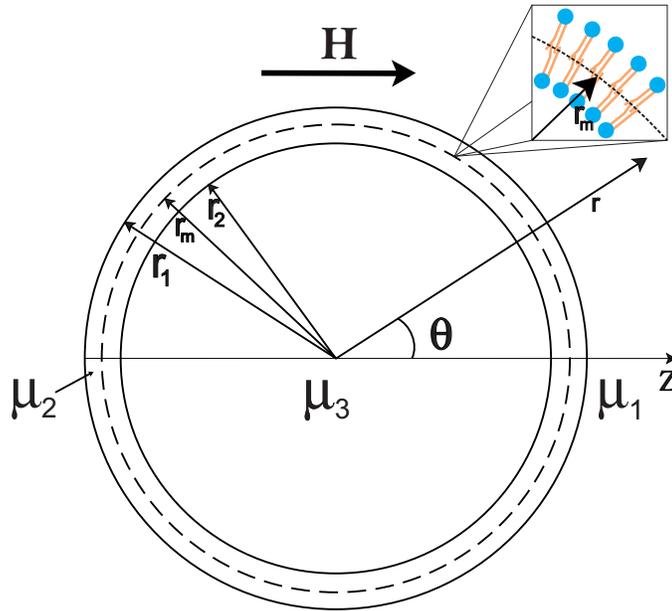


Figura 2.1: Modelo de una vesícula en un campo magnético DC. La vesícula es modelada como un cascarón esférico de permeabilidad magnética μ_2 . El campo magnético es aplicado a la vesícula en la dirección z . Debido a la geometría del sistema, se trabajó con coordenadas esféricas, (r, θ, ϕ) . En su interior, la vesícula contiene un fluido de permeabilidad magnética μ_3 , el exterior de la vesícula tiene un permeabilidad magnética μ_1 . Los parámetros r_1 y r_2 son los radios exterior e interior de la vesícula, y r_m es el radio medio de la vesícula, l_m es el grosor de la capa de lípidos.

Las condiciones de frontera son las usuales, $\mathbf{H}(r \rightarrow \infty) \rightarrow \mathbf{H}_0$, en donde \mathbf{H}_0 es el campo externo, además en $r = 0$ el campo está definido, entonces

$$\frac{\partial \varphi_k}{\partial \theta}(r_k) = \frac{\partial \varphi_{k+1}}{\partial \theta}(r_k); \quad k = 1, 2 \quad (2.1)$$

$$\frac{\partial \varphi_1}{\partial r}(r_1) = \lambda_1 \frac{\partial \varphi_2}{\partial r}(r_1); \quad (2.2)$$

$$\lambda_2 \frac{\partial \varphi_2}{\partial r}(r_2) = \frac{\partial \varphi_3}{\partial r}(r_2) \quad (2.3)$$

$$\lambda_1 = \mu_2 / \mu_1 \quad (2.4)$$

$$\lambda_2 = \mu_2 / \mu_3 \quad (2.5)$$

De acuerdo a la geometría del sistema, la solución a la ecuación de Laplace esta dada por

$$\varphi_k = \left(a_k^m r + \frac{b_k^m}{r^2} \right) \cos \theta; \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.6)$$

Donde, el superíndice se refiere al campo magnético (para distinguir esta ecuación del caso eléctrico) y el subíndice se refiere al medio donde actúa el campo, al resolver el sistema de ecuaciones obtenemos que

$$a_1^m = -H_0 \quad (2.7)$$

$$b_1^m = \frac{r_1^3(1+2\lambda_2)(\lambda_1-1) - r_2^3(\lambda_2-1)(1+2\lambda_1)}{2\frac{r_2^3}{r_1^3}(\lambda_1+\lambda_2-1-\lambda_1\lambda_2) + (2+\lambda_1)(1+2\lambda_2)} H_0 \quad (2.8)$$

$$a_2^m = \frac{-3(1+2\lambda_2)}{2\frac{r_2^3}{r_1^3}(\lambda_1+\lambda_2-1-\lambda_1\lambda_2) + (2+\lambda_1)(1+2\lambda_2)} H_0 \quad (2.9)$$

$$b_2^m = -r_2^3 \frac{\lambda_2 - 1}{2 \frac{r_2^3}{r_1^3} (\lambda_1 + \lambda_2 - 1 - \lambda_1 \lambda_2) + (2 + \lambda_1)(1 + 2\lambda_2)} H_0 \quad (2.10)$$

$$a_3^m = - \frac{9\lambda_2}{2 \frac{r_2^3}{r_1^3} (\lambda_1 + \lambda_2 - 1 - \lambda_1 \lambda_2) + (2 + \lambda_1)(1 + 2\lambda_2)} H_0 \quad (2.11)$$

$$b_3^m = 0 \quad (2.12)$$

A partir de aquí podemos escribir el campo magnético

$$\mathbf{H}(r, \theta)_k = \left[\left(\frac{2b_k^m}{r^3} - a_k^m \right) \cos\theta \right] \hat{\mathbf{r}} + \left[\left(\frac{b_k^m}{r^3} + a_k^m \right) \sin\theta \right] \hat{\boldsymbol{\theta}}; \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.13)$$

2.1.2. Trabajo del Campo magnético sobre la vesícula

Al aplicar un campo electromagnético sobre una vesícula este altera su estado alterando su forma esférica, en el caso del campo magnético podemos encontrar su distribución sobre las distintas superficies de la membrana, exterior e interior. Esto genera unas fuerzas que son los que originan que la membrana de lípidos se deforme. Estos esfuerzos son los llamados los esfuerzos de Maxwell cuya naturaleza es puramente electromagnética y físicamente representa la fuerza por unidad de área. Estos esfuerzos se pueden caracterizar con el tensor de esfuerzos de Maxwell que es un tensor de rango 2 con 9 componentes en el espacio 3D y tiene la forma de

$$T_{kij} = \varepsilon_k \left(E_{ki} E_{kj} - \frac{1}{2} \delta_{ij} E_k^2 \right) + \frac{1}{\mu_k} \left(B_{ki} B_{kj} - \frac{1}{2} \delta_{ij} B_k^2 \right); \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.14)$$

Donde k representa el medio en el que actúa el tensor. El elemento del tensor ij físicamente representa la fuerza por unidad de área en la dirección i que experimenta una superficie normal a la dirección j . En una superficie, la tensión puede ser calculada con los elementos de la diagonal del tensor, mientras las fuerzas de cizalla son dadas por los elementos fuera de la diagonal del tensor. En nuestro caso, estamos utilizando un sistema coordenado esférico, por lo que

es necesario adoptar la siguiente convención de subíndices en el tensor de Maxwell, el primer subíndice indica el medio, como ya se mencionó anteriormente, y los otros dos subsecuentes ij corren desde 1 hasta 3, siendo $1 = r$, $2 = \theta$, $3 = \phi$. Aquí consideraremos que la deformación que sufre la vesícula debido al campo magnético (eléctrico) se debe a las fuerzas que actúan sobre el elemento de área normal a la superficie de la esfera, de esta manera, solo nos concierne dos elementos del tensor $T_{kr\theta}$ (T_{k11}) y $T_{kr\theta}$ (T_{k12}). Usando la ecuación 2.13 y la ecuación 2.14 se puede calcular fácilmente los esfuerzos sobre la vesícula, usando $B_k = \mu H_k$ tenemos que

$$T_{kr\theta} = \frac{\mu_k}{2} (|H_{kr}|^2 - |H_{k\theta}|^2); \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.15)$$

y

$$T_{kr\theta} = \mu_k H_{kr} H_{k\theta}; \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.16)$$

En donde se ha utilizado solo la parte magnética del tensor. Como fue descrito al inicio del capítulo, la manera en que encontraremos las formas estables de la vesícula es mediante un enfoque energético, por lo que necesitamos encontrar el trabajo que realiza el tensor de Maxwell. Debido a la discontinuidad en la permeabilidad en el interior y exterior existe una discontinuidad sobre los tensores en la interface que produce fuerzas sobre sobre la membrana. El desplazamiento que sufrirá la membrana esta dado por los vectores unitarios que son característicos de la deformación elipsoidal, \mathbf{u} , estos vectores tienen unidades de longitud. Las densidades de fuerzas están dadas por [14]

$$\mathbf{f}_{ex} = -\mathbf{n}_{ex} \cdot (T_2(r_1, \theta) - T_1(r_1, \theta)) \quad (2.17)$$

$$\mathbf{f}_{in} = -\mathbf{n}_{in} \cdot (T_2(r_2, \theta) - T_3(r_2, \theta)) \quad (2.18)$$

en donde $\mathbf{n}_{ex} \equiv \hat{\mathbf{r}}$ y $\mathbf{n}_{in} \equiv -\hat{\mathbf{r}}$ y el punto representa el producto punto entre un vector y

un tensor definido de la siguiente manera

$$(\mathbf{a} \cdot T)_j = \sum_i a_i T_{ij} \quad (2.19)$$

en donde \mathbf{a} es un vector. Por lo que el trabajo realizado por estas densidades de fuerzas es calculado usando las siguientes ecuaciones

$$W_{mg} = \int \mathbf{f}_{ex} \cdot \mathbf{u} dA_{ex} + \int \mathbf{f}_{in} \cdot \mathbf{u} dA_{in} \quad (2.20)$$

Donde dA_{ext} y dA_{int} son diferenciales de area de las superficies exterior e interior respectivamente y

$$\mathbf{f}_{ex} \cdot \mathbf{u} = (\langle T_{111} - T_{211} \rangle u_r, \langle T_{112} - T_{212} \rangle u_\theta) \quad (2.21)$$

$$\mathbf{f}_{in} \cdot \mathbf{u} = (\langle T_{211} - T_{311} \rangle u_r, \langle T_{212} - T_{312} \rangle u_\theta) \quad (2.22)$$

con

$$u_r = \frac{1}{2}s (3\cos^2\theta - 1) \quad (2.23)$$

$$u_\theta = -s\cos\theta\sin\theta \quad (2.24)$$

En donde s es el grado de deformación definido por la ecuación $s = a - R$, R es el radio de una vesícula antes de aplicar el campo (ver figura 2.2) . El vector $\mathbf{u} = (u_r, u_\theta)$ es un vector de desplazamiento que caracteriza los dos tipos de deformación, prolata u oblata, estos vectores mantienen el área local de las membranas constantes [4]. Con eso se escribe el campo magnético como

$$H(r, \theta)_k = \tau(r)_k^m \cos\theta \hat{\mathbf{r}} + \eta(r)_k^m \sin\theta \hat{\boldsymbol{\theta}}; \quad k = 1, \dots, 3 \quad (2.25)$$

en donde

$$\tau(r)_k^m = \frac{2b_k^m}{r^3} - a_k^m; \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.26)$$

$$\eta(r)_k^m = \frac{b_k^m}{r^3} + a_k^m; \quad k = 1, 2, 3 \quad (2.27)$$

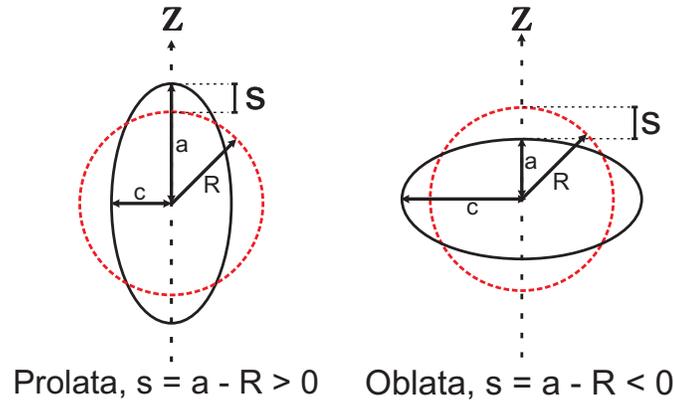


Figura 2.2: Definición de s . En una deformación prolata $s > 0$ mientras que en una oblata $s < 0$. Las letras a y c representan los ejes polares y ecuatoriales respectivamente de un elipsoide, la línea punteada roja representa el contorno de una esfera de radio R .

Se puede escribir el trabajo realizado por el campo magnético de la siguiente manera

$$\begin{aligned}
 W_{mg} = & \frac{8\pi s r_1^2}{15} \left\{ \frac{\mu_1}{2} [|\tau_1(r_1)^m|^2 + |\eta_1(r_1)^m|^2] - \frac{\mu_2}{2} [|\tau_2(r_1)^m|^2 + |\eta_2(r_1)^m|^2] \right. \\
 & \left. + \mu_2 [\tau_2(r_1)^m \eta_2(r_1)^m] - \mu_1 [\tau_1(r_1)^m \eta_1(r_1)^m] \right\} + \\
 & \frac{8\pi s r_2^2}{15} \left\{ \frac{\mu_2}{2} [|\tau_2(r_2)^m|^2 + |\eta_2(r_2)^m|^2] - \frac{\mu_3}{2} [|\tau_3(r_2)^m|^2 + |\eta_3(r_2)^m|^2] \right. \\
 & \left. + \mu_2 [\tau_2(r_2)^m \eta_2(r_2)^m] - \mu_3 [\tau_3(r_2)^m \eta_3(r_2)^m] \right\}
 \end{aligned} \quad (2.28)$$

Obsérvese que W_{mg} es proporcional al parámetro de la deformación, s . La información de las a 's y b 's esta contenida en las τ 's y las η 's.

2.1.3. Energía Libre de una vesícula en un campo electromagnético

La energía de doblado de Helfrich de una vesícula es [54]

$$\Delta F_{be} = \frac{48\pi}{5} k_m \left(1 - \frac{M_{sp} r_m}{6} \right) \left(\frac{s}{r_m} \right)^2 \quad (2.29)$$

En donde M_{sp} es la curvatura espontánea, r_m es el radio de la vesícula, k_m es la constante de rigidez de la membrana y s es el grado de deformación. La ecuación 2.29 es derivada usando el vector de desplazamiento \mathbf{u} definido por las ecuaciones 2.23 y 2.24, lo que quiere decir que la ecuación anterior fue derivada manteniendo el area local de las membranas constantes [4]. La energía dada por la expresión 2.29, es la energía para resistirse a agentes externos, ya sea un campo electromagnético o simplemente energía térmica.

La energía libre de una vesícula en un campo electromagnético puede escribirse como

$$F = \Delta F_{be} - W_{em} \quad (2.30)$$

Donde ΔF_{be} es la energía de doblado y W_{em} es el trabajo realizado ya sea por un campo magnético o eléctrico. W_{em} es proporcional a s mientras que la energía de doblado es proporcional a s^2 , la formas estables que adquiere la vesícula se obtienen al minimizar la energía libre respecto a s , cuando no existe campo externo tendremos que $s = 0$ y la vesícula se mantendrá en forma esférica. Si s es positiva la forma será prolata mientras que si s es negativa tendremos forma oblata (ver figura 2.2).

2.1.4. Formas estables de una vesícula en un campo magnético DC

Insertando el trabajo realizado por el campo magnético (ecuación 2.28) y sustituyendo la ecuación 2.29 en la ecuación de la energía libre (ecuación 2.30) se obtiene, al minimizar la energía libre respecto a s , la siguiente expresión para las formas estables que adquiere la vesícula en un campo magnético DC

$$\begin{aligned}
 \frac{s}{r_m} = & \frac{r_1^2 r_m}{36 \left(1 - \frac{M_{sp} r_m}{6}\right) k_m} \left\{ \frac{\mu_1}{2} [|\tau_1(r_1)^m|^2 + |\eta_1(r_1)^m|^2] - \frac{\mu_2}{2} [|\tau_2(r_1)^m|^2 + |\eta_2(r_1)^m|^2] \right. \\
 & \left. + \mu_2 [\tau_2(r_1)^m \eta_2(r_1)^m] - \mu_1 [\tau_1(r_1)^m \eta_1(r_1)^m] \right\} + \\
 & \frac{r_2^2 r_m}{36 \left(1 - \frac{M_{sp} r_m}{6}\right) k_m} \left\{ \frac{\mu_2}{2} [|\tau_2(r_2)^m|^2 + |\eta_2(r_2)^m|^2] - \frac{\mu_3}{2} [|\tau_3(r_2)^m|^2 + |\eta_3(r_2)^m|^2] \right. \\
 & \left. + \mu_3 [\tau_3(r_2)^m \eta_3(r_2)^m] - \mu_2 [\tau_2(r_2)^m \eta_2(r_2)^m] \right\}
 \end{aligned} \tag{2.31}$$

2.2. Resultados Teóricos y Experimentales

Los parámetros usados en los cálculos numéricos son lo que se han reportado experimentalmente para vesículas [10], [55], [42] : $H_0 = 10T$, $M_{sp} = 0.0$, $k_m = 1.9 \times 10^{-19} J$, $\mu_1 = 1.256627 \times 10^{-6}$ (agua), $\mu_2 = 1.221451 \times 10^{-6}$ (lípidos), $r_1 = 10\mu m$, $r_m = r_1 - 2nm$ $r_2 = r_1 - 4nm$.

La ecuación 2.31 se puede simplificar de la siguiente manera, tomando en cuenta que lo único que varía es la permeabilidad del medio que se encuentra dentro de la vesícula, desde un material diamagnético hasta un material ferromagnético

$$\frac{s}{r_m} = \frac{r_m r_1^2 \mu_2 H_0^2}{6 k_m \Delta_m^2} \left\{ G_0 + G_1 \lambda_2 + G_2 \lambda_2^2 \right\} \tag{2.32}$$

Donde los términos G 's son funciones únicamente de la geometría de las vesículas, la forma explícita de Δ_m y de las G 's se encuentran en el apéndice A.

Los valores numéricos de las G 's con $r_3 = 10\mu m$ y $r_4 = 10\mu m - 4nm$ son

$$\begin{aligned}
 G_0 &= 8.74127 \\
 G_1 &= -0.0285554 \\
 G_2 &= 9.25178
 \end{aligned} \tag{2.33}$$

De la ecuación 2.32 se puede observar que el término entre llaves es el que describe el comportamiento de la transición de forma. De los valores presentados para las G 's, se puede

observar que s siempre será positiva, por lo que la vesícula con las condiciones mencionadas al inicio de esta sección siempre adquirirán una forma prolata.

En los experimentos donde el medio exterior e interior son materiales ferromagnéticos y de igual valor, es decir el caso simétrico: $\mu_1 = \mu_3$ se ha encontrado que, para campos alrededor de $400G$, la vesícula siempre adquiere una forma prolata, es decir que siempre se alinean en dirección del campo magnético aplicado (ver figura 2.3).

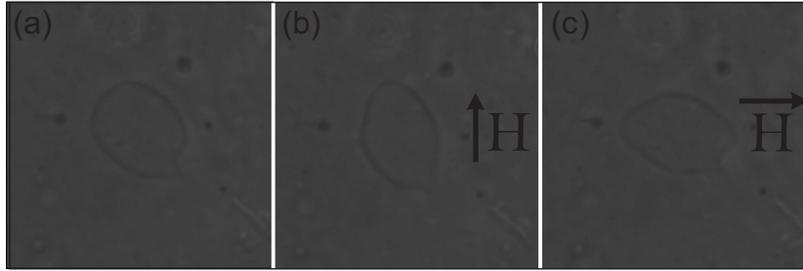


Figura 2.3: Deformación de una vesícula en un campo magnético DC. (a) Magnetoliposoma en ausencia de campo magnético, se puede observar que la vesícula mantiene una forma esférica a pesar de las fluctuaciones en la membrana. (b), (c) Se puede distinguir que el magnetoliposoma se alinea con el campo magnético. Cortesía de Raymundo Rodríguez

En el caso simétrico, la ecuación 2.31 toma la siguiente forma

$$\frac{s}{r_m} = \frac{r_m r_1^2 \mu_2 H_0^2}{6 \Delta_m^2 k_m} \left\{ G'_0 + G'_1 \mu + G'_2 \mu^2 + G'_3 \mu^3 + G'_4 \frac{1}{\mu} \right\} \quad (2.34)$$

en donde se tomados que $M_{sp} = 0$ $\mu = \mu_2/\mu_1$, la forma explícita las G'' 's se encuentra en el Apéndice A y con $r_1 = 10\mu m$ y $r_2 = 10\mu m - 4nm$ tenemos que

$$\begin{aligned} G'_0 &= 0.0143827 \\ G'_1 &= -0.028764 \\ G'_2 &= 8.9856 \\ G'_3 &= 5.75539 \times 10^{-6} \\ G'_4 &= 1.43885 \times 10^{-6} \end{aligned} \quad (2.35)$$

Con los datos anteriores y usando la ecuación 2.34 se obtiene el diagrama de formas de que adquiere la vesícula, ver Figura 2.4, en donde s siempre será positiva cuando $\mu_1 > 0$, por lo que la teoría concuerda con lo obtenido en los experimentos de magnetodeformación, más

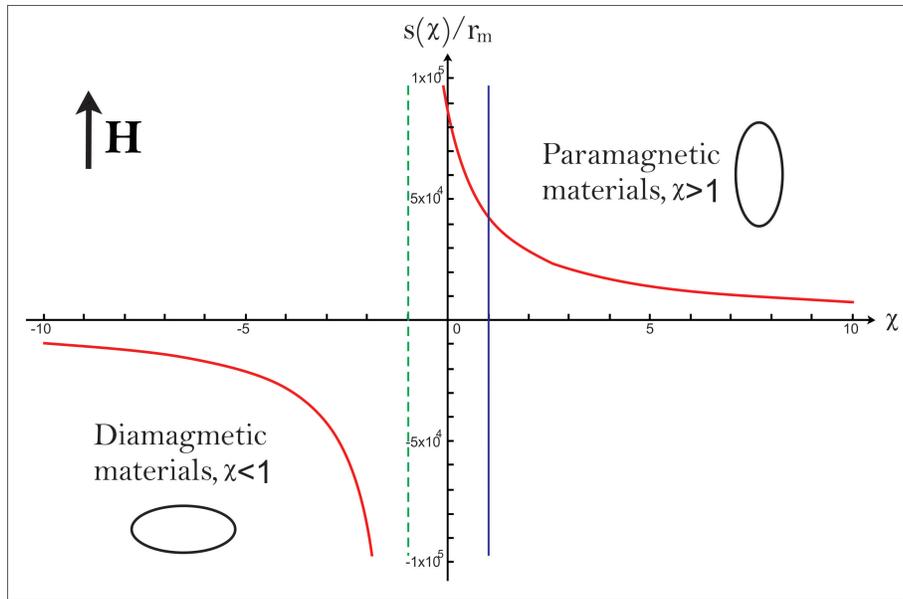


Figura 2.4: Diagrama de formas en el caso simétrico $\mu_1 = \mu_2$. Se puede observar que para materiales con susceptibilidad χ , con la condición $\chi < -1$ el magnetliposoma adquiere forma oblata, pero si $\chi > -1$ toma una forma prolata. Esta diagrama se construyó a partir de la ecuación 2.34. La flecha indica la dirección del campo magnético. $\mu/\mu_0 = 1 + \chi$

aún, en la figura 2.4 se puede apreciar las formas que adquiere un magnetoliposoma en función de la susceptibilidad del medio interior. En la figura anterior se ha usado la relación $\mu/\mu_0 = 1 + \chi$, siendo μ_0 la permeabilidad magnética del vacío y χ es la susceptibilidad magnética. En general, para materiales diamagnéticos, los magnetoliposomas son oblatas mientras que para materiales paramagnéticos y aquellos en los que la susceptibilidad magnética tome un valor χ tal que $-1 < \chi < 1$ se encuentra en forma prolata. De los resultados experimentales se ha concluido que las deformaciones se deben principalmente a que nanopartículas magnéticas que están suspendidas en el ferrofluido, estas se se incrustan en la membrana lipídica, siendo estos los que interactúan con el campo magnético. De la ecuación 2.34 se puede ver que si μ_2 es grande el grado de deformación aumentará. En la literatura se han reportado formas oblatas de los magnetoliposomas [56], estas deformaciones se deben al incremento al citrato de trisodio, que los autores de ese trabajo usan para dispersar las nanopartículas magnéticas. Lo cual nos dice que los iones presentes tienen una influencia en las deformaciones y una generalización es necesaria para poder comprobar esos resultados.

De la ecuación 2.11 se puede observar que si μ_2 es pequeño habrá un apantallamiento magné-

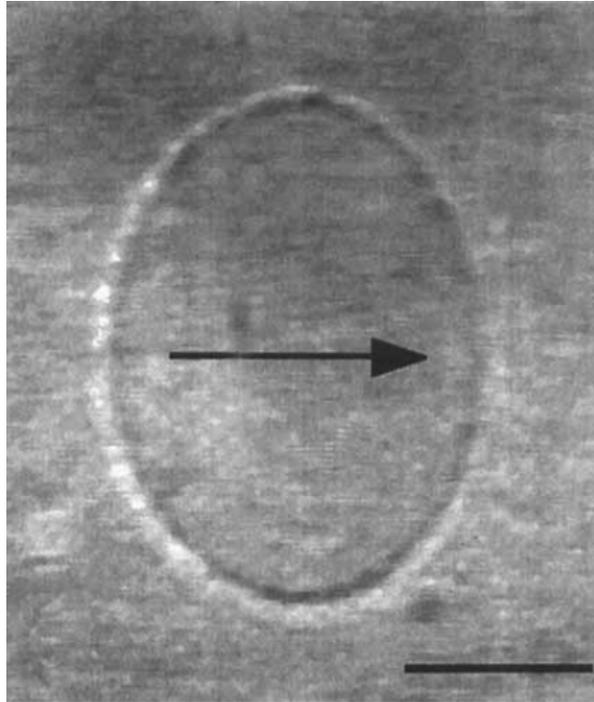


Figura 2.5: Forma oblata de un magnetoliposoma. Algunos autores han reportado forma oblata de los liposomas cuando estos contienen ferrofluido con baja concentración iónica, la flecha indica la dirección del campo magnético. [56]

tico, por lo que se puede deducir que el medio fuera de la vesícula es el que contribuye mayormente a la deformación. Si variamos la permeabilidad del medio exterior la deformación de la vesícula debe cambiar. En el caso de que este sea un material diamagnético existe una transición oblata-prolata en la vesícula, ver figura 2.6.

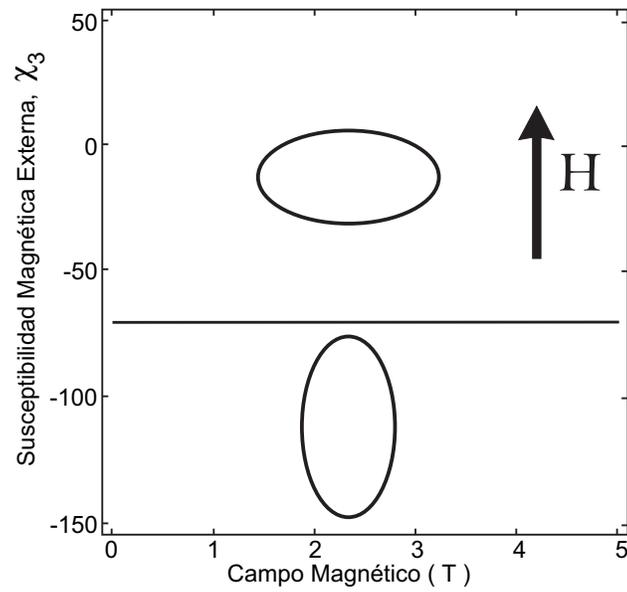


Figura 2.6: Diagrama de formas de una vesícula en un campo DC. Se observa una transición oblatada-prolatada cuando el medio exterior toma un valor diamagnético, $\chi_3 = -100$. La flecha indica la dirección del campo magnético.

Capítulo 3

Campo Eléctrico AC

Se han logrado construir diagramas de formas en los que describen el comportamiento de las vesículas en presencia de campos eléctricos alternos, algunos de manera experimental [15] y otros autores han logrado construir estos diagramas teóricamente usando un enfoque energético introducido por Helfrich [14], en esta tesis, los diagramas se construyeron desde un punto de vista teórico utilizando programas computacionales. En el caso de la célula modelo (dos vesícula concéntricas) en un campo eléctrico AC se logró caracterizar las formas que adquieren la membrana plasmática (vesícula exterior) como la membrana nuclear (vesícula interior) para un gran rango de frecuencias y conductividades, donde al igual que otros autores, se ha encontrado que la deformación es dependiente de la razón entre las conductividades de los distintos medios. Los resultados mas prometedores, son aquellos en los se ha encontrado que es posible deformar la membrana nuclear sin alterar de ninguna manera la membrana plasmática, y como ya se ha mencionado en la introducción de esta tesis existe una relación entre las formas que adquiere el núcleo y la expresión genética, por lo que los resultados presentados en esta tesis pueden ser de gran ayuda en experimentos donde se intenta deformar el núcleo celular sin alterar la membrana plasmática. Como se ha mencionado, la deformación del núcleo esta relacionada con muchas funciones celulares, por lo que es importante entender como interactúa el campo eléctrico con la membrana nuclear, por tal razón, en el presente capítulo se hace una revisión intensa

de la deformación del núcleo, donde uno de nuestros principales resultados es la ecuación de bifurcación para el núcleo, una ecuación que relaciona la razón de las conductividades del núcleo y el citoplasma y la frecuencia del campo y a la cual, la deformación se anula. Con la ecuación de bifurcación es posible encontrar el valor de la conductividad nuclear simplemente conociendo la frecuencia a la que el núcleo cambia de oblato a prolata.

La discontinuidad en la permitividad eléctrica en los medios provoca que el tensor de Maxwell sea discontinuo y como resultado se generan densidades de fuerzas sobre las distintas superficies en presencia de un campo eléctrico, estas fuerzas son capaces de deformar las membranas de lípidos realizando un trabajo. En éste capítulo se presenta la teoría para determinar las formas estables que adquiere una célula modelo en presencia de un campo eléctrico dependiente del tiempo debido a la competición entre la energía de doblado y el trabajo del campo eléctrico.

3.1. Teoría de la deformación de una célula modelo en presencia de un campo eléctrico

3.1.1. Modelo

Experimentalmente y teóricamente se ha estudiado la deformación de una vesícula cuando se aplica un campo eléctrico alterno [14], aquí haremos una expansión a este modelo. Nuestro modelo consiste en dos vesículas esféricas concéntricas inmersas en un medio de conductividad σ_1 y permitividad eléctrica ε_1 . La vesícula externa, de mayor tamaño, contiene en su interior una solución acuosa de conductividad σ_3 y permitividad eléctrica ε_3 . La vesícula interna contiene un medio acuoso de conductividad σ_5 y permitividad eléctrica ε_5 . Las membranas exterior e interior tienen conductividad σ_2 y σ_4 con permitividades eléctricas ε_2 y ε_4 y con un grosor de l_m y l_n respectivamente. Estas están sujetas a un campo eléctrico que varía con el tiempo en dirección z , los radios que caracterizan la membrana exterior sin alteración alguna son r_1 y r_2 , y los radios de la membrana interior en su forma esférica son r_3 y r_4 , los radios medios de las vesículas

mayor y menor son denotados por r_m y r_n respectivamente, ver figura 3.1. Al igual que una vesícula en un campo magnético, queremos encontrar la distribución de campo eléctrico en todo el espacio. Experimentalmente se ha trabajado con longitud de onda que son mucho mayores al tamaño de las vesículas, esta diferencia en escalas nos guía a que podemos usar la llamada aproximación cuasiestática de las ecuaciones de Maxwell, donde se puede despreciar el efecto del campo magnético inducido, lo que significa que en todo el espacio se cumple que $\nabla \times E = 0$ [53], por tanto podemos encontrar la distribución de campo eléctrico del gradiente de un potencial, el cual se obtiene al resolver la ecuación de Laplace con las condiciones de frontera adecuadas, cabe resaltar que las soluciones que encontramos serán para cuando la célula modelo está en su forma esférica, ya que las deformaciones sufridas por el campo son demasiados pequeñas comparadas con el radio de ésta.

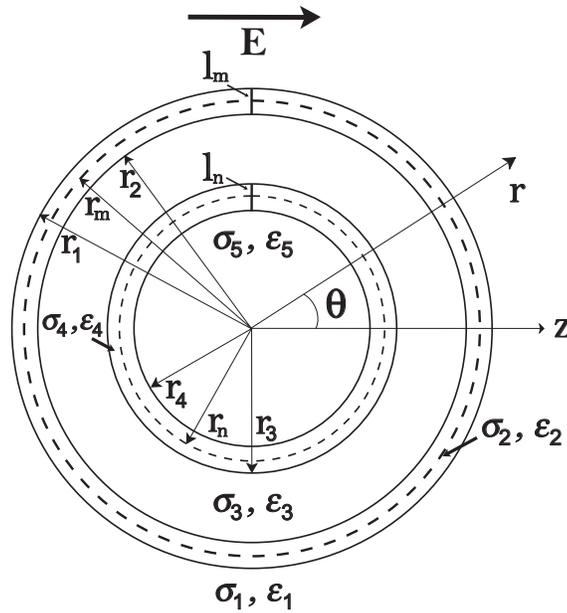


Figura 3.1: Célula modelo en un campo eléctrico alterno. La célula es modelada como dos cascarones esféricos concéntricos de permitividad eléctrica ϵ_2 y conductividad σ_2 y ϵ_4 y σ_4 , respectivamente. El campo eléctrico es aplicado en la dirección z . De acuerdo a la geometría del sistema, se usó un sistema de coordenadas esféricas (r, θ, ϕ) . La vesícula interior contiene una solución acuosa de permitividad eléctrica ϵ_5 y conductividad σ_5 , mientras que la solución acuosa intermedia cuenta con una permitividad eléctrica ϵ_3 y conductividad σ_3 . La doble vesícula se encuentra inmersa en un fluido con una permitividad eléctrica ϵ_1 y conductividad σ_2 . Los parámetros r_1 y r_2 son los radios exterior e interior de la vesícula exterior, r_m es el radio de la vesícula exterior y l_m es el grosor de la membrana de lípidos de la vesícula exterior. Los parámetros r_3 y r_4 son los radios exterior e interior de la vesícula interior, r_n es el radio de la vesícula interior y l_n es el grosor de la membrana de lípidos de la vesícula interior.

La forma general del campo eléctrico en las diferentes regiones del espacio está dado por la siguiente expresión

$$\mathcal{E}_k = \frac{1}{2} \mathbf{E}_k e^{-i\omega t} + cc; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.1)$$

en donde $E_1 = E_0$, es decir cuando $r \rightarrow \infty$ la magnitud del campo eléctrico es constante y $k = 1 - 5$ representa el campo en los distintos medios, ω es la frecuencia angular con que se caracteriza el campo eléctrico.

Como ya se mencionó anteriormente, podemos encontrar la distribución de campo eléctrico mediante el gradiente de un potencial, que a su vez lo podemos determinar resolviendo la ecuación de Laplace, por lo que

$$\nabla^2 \varphi = 0 \quad (3.2)$$

La solución a la ecuación tal es de la forma de

$$\varphi_k = \left(a_k r + \frac{b_k}{r^2} \right) \cos \theta; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.3)$$

Nótese que se ha usado la misma notación que para el caso del campo magnético, esto por simplicidad. Una suposición importante de este modelo es que no existe fuente de corriente sobre las distintas superficies, lo que significa que estamos resolviendo el problema para estados estacionarios, entonces de la ecuación de continuidad

$$\frac{\partial}{\partial t} \rho + \nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (3.4)$$

vemos que

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (3.5)$$

de aquí se obtendrá una condición de frontera, usando el hecho de que

$$\mathbf{J} = (\sigma - i\omega\epsilon)\mathbf{E} = \psi\mathbf{E} \quad (3.6)$$

en donde ψ es la admitancia compleja, luego una de las condiciones de frontera es

$$(\sigma_k - i\omega\varepsilon_k)E_{kn} = (\sigma_{k+1} - i\omega\varepsilon_{k+1})E_{(k+1)n}; \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.7)$$

en donde n significa la componente normal del campo eléctrico.

o escrita en otra forma

$$\frac{\partial\varphi_k}{\partial r}(r_k) = \beta_k \frac{\partial\varphi_{k+1}}{\partial r}(r_k); \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.8)$$

donde

$$\beta_k = \frac{\sigma_{k+1} - i\omega\varepsilon_{k+1}}{\sigma_k - i\omega\varepsilon_k}; \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.9)$$

Para el campo eléctrico se cumple que la componente tangencial al pasar de un medio a otro es continua, luego

$$\frac{\partial\varphi_k}{\partial\theta}(r_k) = \frac{\partial\varphi_{k+1}}{\partial\theta}(r_k); \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.10)$$

finalmente la otra condiciones de frontera es que en $r = 0$ el campo esta definido, con esto ya se puede obtener los valores de las a 's y b 's.

La forma general de las a 's y b 's se encuentran en el Apéndice B.

Por lo que la forma general del campo eléctrico es

$$\mathbf{E}(r, \theta)_k = \left[\left(\frac{2b_k}{r^3} - a_k \right) \cos\theta \right] \hat{\mathbf{r}} + \left[\left(\frac{b_k}{r^3} + a_k \right) \sin\theta \right] \hat{\theta}; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.11)$$

Con lo podemos escribir a \mathcal{E} como

$$\mathcal{E}_k = \left(\frac{E_{kr}e^{-i\omega t} + E_{kr}^*e^{i\omega t}}{2}, \frac{E_{k\theta}e^{-i\omega t} + E_{k\theta}^*e^{i\omega t}}{2} \right); \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.12)$$

3.1.2. Trabajo del Campo eléctrico AC sobre la doble vesícula

Al igual que en el caso del campo magnético, el campo eléctrico genera esfuerzos sobre membranas plasmática y nuclear, y las únicas componentes relevantes que contribuyen en la deformación de las vesículas son las componentes T_{rr} y $T_{r\theta}$. Luego tomando solo la parte del campo eléctrico del tensor de Maxwell, ecuación 2.14, tenemos que

$$T_{krr} = \frac{\varepsilon_k}{2} (|\mathcal{E}_{kr}|^2 - |\mathcal{E}_{k\theta}|^2); \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.13)$$

y

$$T_{kr\theta} = \varepsilon_k \mathcal{E}_{kr} \mathcal{E}_{k\theta}; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.14)$$

El tensor de Maxwell consta de términos que dependen del tiempo, como estamos trabajando en encontrar las formas de las vesículas en un estado estacionario es necesario eliminar la parte temporal del tensor, esto lo podemos hacer fácilmente integrando el tensor sobre un periodo $\frac{2\pi}{\omega}$ [14], ya que la dependencia del tensor de maxwell en el tiempo es una función periódica, con lo que obtenemos

$$\langle T_{krr} \rangle = \frac{\varepsilon_k}{4} (|E_{kr}|^2 - |E_{k\theta}|^2); \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.15)$$

$$\langle T_{kr\theta} \rangle = \frac{\varepsilon_k}{4} (E_{rr} E_{kr\theta}^* + E_{rr}^* E_{kr\theta}); \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.16)$$

En donde el braket indica que se ha efectuado una integral sobre un periodo. Como consecuencia del cambio discontinuo en la conductividad y permitividad eléctrica los tensores de Maxwell también son discontinuos y generan fuerzas sobre las distintas superficies, que se calculan con las siguientes expresiones

$$\mathbf{f}_k = -\mathbf{n} \cdot (T_{k+1}(r_k, \theta) - T_k(r_k, \theta)); \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.17)$$

en donde el punto denota el producto entre un tensor y un vector definido en la ecuación 2.19 y en donde $\mathbf{n} \equiv \hat{\mathbf{r}}$.

El trabajo sobre la membrana plasmática y nuclear se calcula de la siguiente manera

$$W_{(k+1)/2} = \int \mathbf{f}_k \cdot \mathbf{u} dA_k + \int \mathbf{f}_{k+1} \cdot \mathbf{u} dA_{k+1}; \quad k = 1, 3 \quad (3.18)$$

en donde

$$\mathbf{f}_k \cdot \mathbf{u} = \langle T_{k11} - T_{k11} \rangle u_r + \langle T_{k12} - T_{(k+1)12} \rangle u_\theta; \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.19)$$

y

$$dA_k = r_k^2 \sin\theta d\theta d\phi; \quad k = 1, \dots, 4 \quad (3.20)$$

Si $k = 1$ nos estamos refiriendo al trabajo sobre la membrana plasmática, y si $k = 3$ hacemos referencia al trabajo sobre la membrana nuclear, por tanto si conocemos la forma del Tensor de Maxwell en los distintos medios fácilmente se puede calcular el trabajo sobre las distintas membranas.

Definiendo al campo eléctrico independiente del tiempo como

$$E(r, \theta)_k = \tau(r)_k \cos\theta \hat{\mathbf{r}} + \eta(r)_k \sin\theta \hat{\boldsymbol{\theta}}; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.21)$$

en donde

$$\tau(r)_k = \frac{2b_k}{r^3} - a_k; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.22)$$

$$\eta(r)_k = \frac{b_k}{r^3} + a_k; \quad k = 1, \dots, 5 \quad (3.23)$$

se puede escribir el trabajo realizado por un campo eléctrico AC sobre las dos superficies como

$$W_{(k+1)/2} = \frac{2\pi}{15} s_{(k+1)/2} E_0^2 \left\{ r_k^2 \Gamma_k + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1} \right\}; \quad k = 1, 3 \quad (3.24)$$

En donde

$$\begin{aligned} \Gamma_k = & \varepsilon_k \left[|\tau_k(r_k)|^2 + |\eta_k(r_k)|^2 \right] - \varepsilon_{k+1} \left[|\tau_{k+1}(r_k)|^2 + |\eta_{k+1}(r_k)|^2 \right] \\ & + \varepsilon_{k+1} \left[\tau_{k+1}(r_k) \eta_{k+1}^*(r_k) + \tau_{k+1}^*(r_k) \eta_{k+1}(r_k) \right] - \varepsilon_k \left[\tau_k(r_k) \eta_k^*(r_k) + \tau_k^*(r_k) \eta_k(r_k) \right] \end{aligned} \quad (3.25)$$

3.1.3. Formas estables de una doble vesícula en un campo eléctrico AC

Con el trabajo realizado por el campo eléctrico AC y el trabajo necesario para deformar una vesícula, podemos obtener una ecuación similar al caso magnético 2.30, se obtiene una vez minimizada la energía libre respecto a la siguiente expresión para las formas estables que adquiere la célula modelo en un campo eléctrico AC

$$\frac{s_{(k+1)/2}}{R_{\frac{k+1}{2}}} = \frac{R_{\frac{k+1}{2}} E_0^2}{144 \left(1 - \frac{M_{sp} R_{\frac{k+1}{2}}}{6} \right) \kappa_{\frac{j+1}{2}}} \left\{ r_k^2 \Gamma_k + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1} \right\}; \quad k = 1, 3 \quad (3.26)$$

en donde si $k = 1$ nos referimos a la membrana plasmática, si $k = 3$, significa que estamos hablando de la membrana nuclear.

3.2. Resultados

3.2.1. Diagrama de Formas para una doble vesícula en un campo eléctrico AC

Los parámetros usados para el cálculo numérico son lo que se han reportado experimentalmente para células [10] : $E_0 = 20kV/m$, $M_{spm} = 0.0$, $M_{spn} = 0.0$, $k_m = 1.9 \times 10^{-19} J$,

$\varepsilon_1 = \varepsilon_3 = \varepsilon_5 = 7 \times 10^{-10} F/m$, $\varepsilon_2 = \varepsilon_4 = 1.7 \times 10^{-7} F/m$, $\sigma_2 = \sigma_4 = 1.0 \times 10^{-7} S/m$,
 $\sigma_1 = 1.2 \times S/m$, $\sigma_3 = 0.5 \times S/m$, $k_n = 1.9 \times 10^{-19} J$, $r_1 = 10\mu m$, $r_3 = 5\mu m$ $l_n = l_m = 4nm$.

Para caracterizar las deformaciones de las dos membranas, se ha dejado las conductividades del medio exterior y del medio interior como parámetros libres, ya que la conductividad del medio exterior se puede manipular fácilmente en el laboratorio, y la conductividad del medio interno del núcleo no se ha medido del todo. Para construir los diagramas de formas se definieron dos razones entre las conductividades

$$x_{ext} = \sigma_1/\sigma_3 \quad (3.27)$$

$$x_{int} = \sigma_5/\sigma_3. \quad (3.28)$$

como la razón de la conductividad del medio externo y el intermedio y la razón de la conductividad del medio interior del núcleo y el medio intermedio respectivamente.

Dado que los iones de la suspensión acuosa responden a la frecuencia e intensidad del campo eléctrico, la deformación de las membranas será dependiente de la frecuencia angular del campo eléctrico. Analizaremos dos configuraciones: Cuando se varía x_{ext} y se deja fijo x_{int} y viceversa, con ello se obtienen dos parámetros de los que depende la deformación. Se analizaron tres casos: (a) $\sigma_3 = 1.2S/m$, $\sigma_5 = 0.5S/m$ y $x_{int} = 2.4$, (b) $\sigma_1 = 0.5S/m$, $\sigma_3 = 1.2S/m$ y $x_{ext} = 0.4$, (c) $\sigma_1 = 1.2S/m$, $\sigma_3 = 0.5S/m$ y $x_{ext} = 2.4$.

3.2.1.1. caso (a) , $x_{int} = 2.4$

En este caso, los parámetros fijos fueron: $\sigma_3 = 1.2S/m$, $\sigma_5 = 0.5S/m$ y $x_{int} = 2.4$ y el diagrama de formas que se obtiene al variar x_{ext} se muestra en la figura 3.2, donde se puede ver que existen dos líneas de transición, etiquetadas con los números 1 y 2 dentro de los círculos, la línea de transición 1 corresponde a la vesícula interior, mientras que la 2 corresponde a la vesícula exterior. Para x_{ext} pequeñas la vesícula exterior adquiere una deformación prolata (ver figura

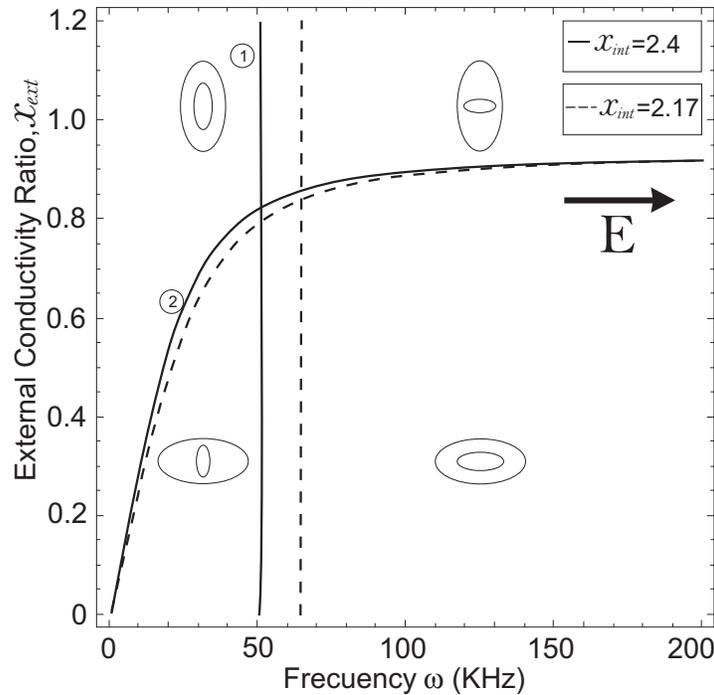


Figura 3.2: Diagrama 1, caso (a) Los elipsoides representan un modelo simplificado de las vesículas interna y externa. La flecha indica la dirección del campo eléctrico. Las líneas solidas corresponden a las condiciones: $\sigma_3 = 1.2S/m$, $\sigma_5 = 0.5S/m$ y $x_{int} = 2.4$. Las líneas punteadas corresponden al caso $\sigma_3 = 1.3S/m$, $\sigma_5 = 0.6S/m$ y $x_{int} = 2.17$

1.4 capítulo 1), que concuerda fuertemente con los resultados experimentales (ver por ejemplo Aranda *et. al.* [15]), esto quiere decir que la elongación esta en dirección del campo eléctrico en contraste con la vesícula interior que se deforma de manera oblata para frecuencias $\omega < 50kHz$ (ver figura 1.4 capítulo 1), donde la elongación es perpendicular a la dirección del campo eléctrico. Si aumentamos la frecuencia angular, la vesícula interna sufre una transición oblata-prolata. Exactamente sobre la línea de transición, $s_n = 0$, por lo que la vesícula interior no estará deformada para estas condiciones. Si aumentamos la conductividad externa, *i.e.*, aumentamos x_{ext} , la membrana sufre una transición prolata-oblata, una transición que se presenta en los experimentos (ver figura 3.3) y sobre la línea de transición 2 la membrana, $s_m = 0$, y por lo que la vesícula exterior mantendrá su forma esférica, si con estas condiciones disminuimos la frecuencia angular del campo eléctrico el núcleo sufrirá una transición prolata-oblata, finalmente si bajamos la concentración de iones de la solución acuosa exterior la membrana sufrirá una transición oblata-prolata.

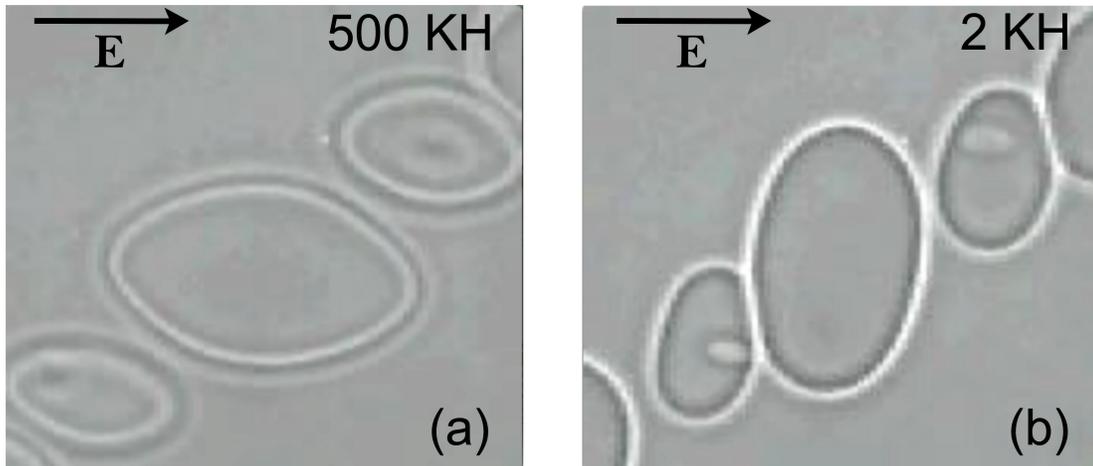


Figura 3.3: Experimentos con dos vesículas concéntricas. Para frecuencias grandes la membrana y el núcleo adquieren una forma prolata(a), sin embargo para frecuencias pequeñas la membrana cambia a una forma oblata. Los parámetros experimentales usados fueron: $\sigma_1 = 65\mu S/cm$ y $\sigma_3 = 15\mu S/cm$

Para explicar las transiciones obtenidas anteriormente, ver Figura 3.2, nos situamos en casos específicos. Es decir, estudiamos la distribución de líneas de campo eléctrico alrededor de las vesículas con lo cual podemos encontrar las fuerzas sobre ellas, (ver figura 3.4). En la figura se puede observar que una vesícula adquirirá una forma prolata cuando la conductividad del medio exterior (σ_a) es menor que la conductividad del medio interior (σ_b) (figura 3.4 (a)), esto quiere decir que la razón de conductividades $x_{ab} = \sigma_a/\sigma_b < 1$. En este caso, las líneas del campo eléctrico permean con gran facilidad la membrana produciendo fuerzas radiales sobre el eje de rotación de la vesícula y tangenciales sobre la superficie de los polos. La acumulación de líneas será mayor en los ecuadores de la vesícula produciendo que ésta se alargue en la dirección del campo eléctrico. Si ahora analizamos el caso contrario, en el que el medio externo es más conductor que el interno (*i.e.*, $x_{ab} = \sigma_a/\sigma_b > 1$, figura 3.4 (b)), habrá más acumulación de líneas de campo sobre los polos ya que las líneas de campo preferirán irse por el medio exterior, por lo tanto se producirán fuerza sobre los polos que achatarán la vesícula. Combinando estos dos casos, se puede determinar las formas que adquiere una doble vesícula en un campo eléctrico de los cuatro casos posibles (figura 3.4, (c), (d), (e), (f).). Al variar la frecuencia del campo eléctrico, las propiedades de los medios puede cambiar, es por ello que las deformaciones dependen de la frecuencia, esto puede explicar todas las transiciones del diagrama de la figura 3.4. De estos

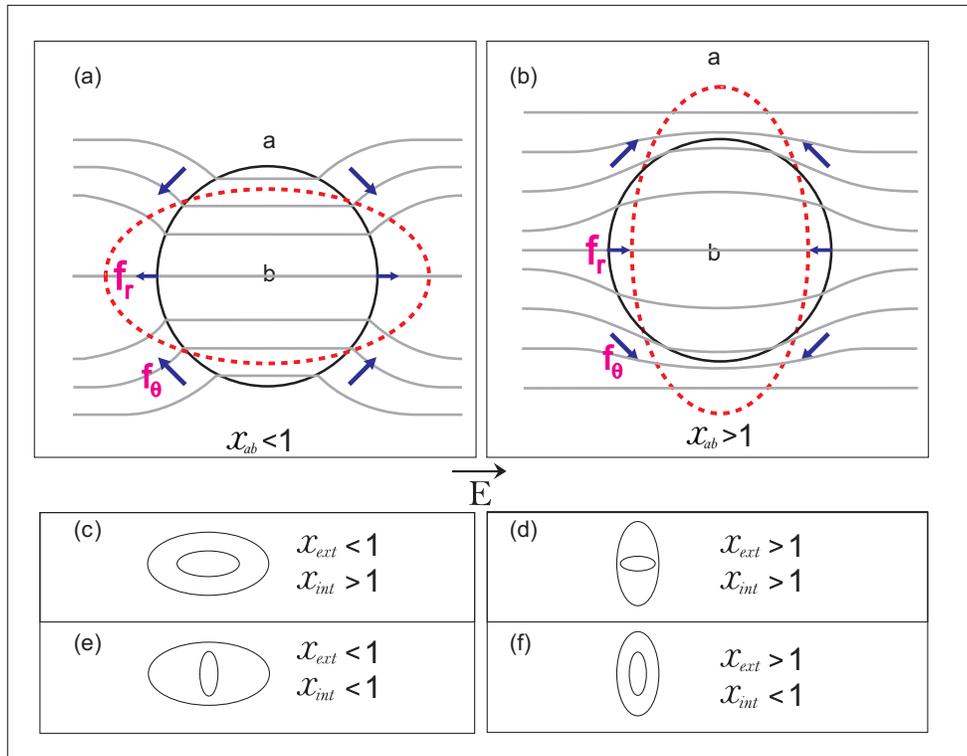


Figura 3.4: Líneas del campo eléctrico de una vesícula y una célula modelo. Las líneas grises representan las líneas del campo eléctrico y los círculos las vesículas sin perturbar, las líneas punteadas corresponden a la deformación que adquirirán las vesículas con esas condiciones (a) Diagramas de líneas de una deformación típica prolata. Las líneas de campo se concentran más en el ecuador de la vesícula, produciendo un alargamiento en dirección del campo. (b) Diagramas de líneas de una deformación típica oblata. Las líneas de campo se concentran más en los polos de la vesícula, produciendo un alargamiento perpendicular a la dirección del campo. (c), (d), (e), (f) formas que puede adquirir un sistema formado por dos vesículas en un campo eléctrico.

resultados es posible ver que se puede deformar la vesícula interior sin comprometer la membrana externa. Nótese además que si incrementamos las conductividades a un valor de $\sigma_3 = 1.3S/m$, $\sigma_5 = 0.6S/m$ se producirá un desfase de las dos líneas de transición.

3.2.1.2. caso (b) , $x_{ext} = 0.4$

Debido al hecho de que existe muy poca información acerca de la conductividad del núcleo, es interesante explorar un rango de conductividades que puede poseer el interior del núcleo (figuras 3.5 y 3.6). Del caso anterior nos podríamos preguntar los efectos sobre las líneas de transición si intercambiamos las conductividades, del caso anterior vimos que si incrementamos los valores de las conductividades se desfasan las líneas de transición, pero cuando $\sigma_1 = 0.5S/m$, $\sigma_3 = 1.2S/m$ ocurre algo interesante en el diagrama de fase, ver figura 3.5. Vemos que la línea de transición

2 del diagrama 1 desaparece., mientras que la línea de transición 1 del del caso anteriormente discutido en el diagrama 2 tiene un comportamiento constante, y la membrana solo presenta cambio de forma de oblata a prolata para frecuencias alrededor de frecuencias de $50kHz$. La vesícula interior solamente presenta una transición, descrita por la línea 2. Si incrementamos el valor de las conductividades $\sigma_1 = 0.6S/m$, $\sigma_3 = 1.6S/m$ las líneas de transición presentan un desfaseamiento que se puede ver en las líneas punteadas. Al igual que con las condiciones del caso (a), se ve que es posible deformar la membrana nuclear sin alternar la vesícula externa, esto se puede hacer deformando a la doble vesícula en la línea de transición 1 del diagrama 2.

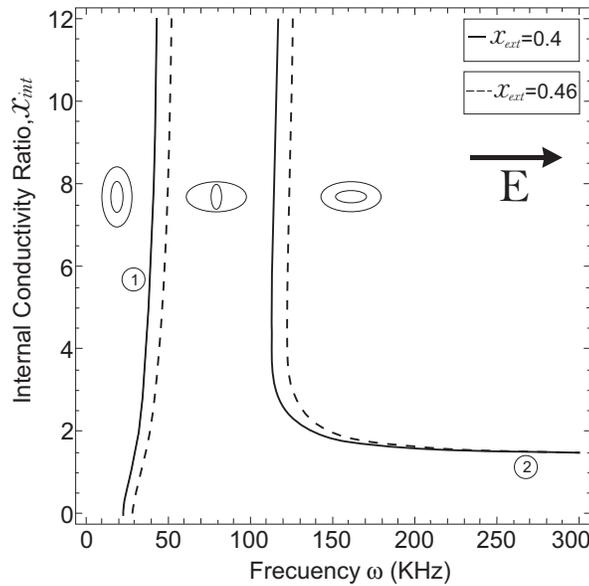


Figura 3.5: Diagrama 2, caso (b) Las líneas sólidas corresponden a las condiciones: $\sigma_1 = 0.5S/m$, $\sigma_3 = 1.2S/m$. En este caso $x_{ext} < 1$ siempre. Las líneas punteadas corresponden al caso $\sigma_3 = 1.3S/m$, $\sigma_5 = 0.6S/m$ y $x_{ext} = 0.46$

3.2.1.3. caso (c) , $x_{ext} = 2.4$

Para este caso, las conductividades externas e intermedias fueron fijadas a valores $\sigma_1 = 1.2S/m$, $\sigma_3 = 0.5S/m$ y $x_{ext} = 2.4$, el diagrama de formas se muestra en la figura 3.6, de la figura se puede ver que cuando $x_{ext} > 1$ la membrana plasmática permanece en forma oblata para todas las frecuencias, mientras que en la vesícula interior sufre una transición de oblata-prolata.

El grado de deformación de la membrana externa es mayor que la deformación de la membrana nuclear a pesar de que se usaron parámetros reportados experimentalmente donde se

demuestra que el núcleo es mas blando que la membrana plasmática [48–50]. En todos los resultados se ha logrado demostrar que se puede cambiar la forma del del núcleo (vesícula interior) sin alterar la membrana plasmática. Además se puede resaltar que la deformación del núcleo para frecuencias intermedias y grandes (unos cuantos MHz) adquiere una formas prolata y es independiente de la razón de las conductividades, lo que significa, segun resultados experimentales, que la membrana de lípidos de la vesícula interior esta completamente cargada, por lo que se podría concluir que la la membrana de la vesícula externa solo se puede cargar completamente cuando la conductividad del medio encerrado por la vesícula interior tiene una conductividad muy grande, como en el caso (b). (ver por ejemplo [2].)

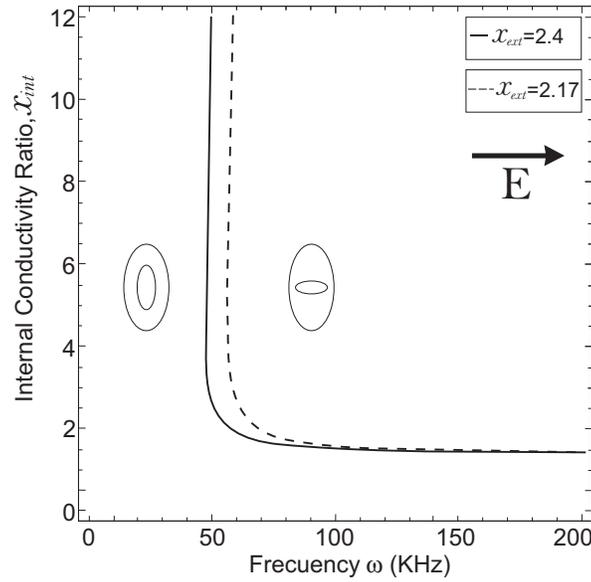


Figura 3.6: Diagrama 3, caso (c) Las líneas sólidas corresponden a las condiciones: $\sigma_1 = 0.5S/m$, $\sigma_3 = 1.2S/m$. En este caso $x_{ext} > 1$ siempre. Las líneas punteadas corresponden al caso $\sigma_3 = 1.3S/m$, $\sigma_5 = 0.6S/m$ y $x_{ext} = 2.46$

3.2.2. Ecuación de Bifurcación para el Núcleo

Como se puede ver de los datos, $\sigma_4 \ll \sigma_3$, $\varepsilon_3 < \varepsilon_4$ y $\varepsilon_5 < \varepsilon_4$ por tres ordenes de magnitud, por lo que podemos aproximar β_3 y β_4 de la siguiente manera

$$\beta_3 = -i \frac{\omega \varepsilon_4}{\sigma_3} \quad (3.29)$$

$$\beta_4 = i \frac{\sigma_5}{\omega \varepsilon_4} \quad (3.30)$$

Como solo estamos interesados en el caso de la deformación del núcleo, el medio exterior lo podemos considerar como un medio infinito, es decir podemos hacer tender $r_1 \rightarrow \infty$ y $r_2 \rightarrow \infty$, esto físicamente es aceptable porque las líneas de campo que deforman el núcleo no cambian con esta suposición, sin embargo el cociente de las admitancias complejas β_1 y β_2 cambian de forma, más aún, se anula, ya que no tendría sentido hablar de la razón de las admitancias si solamente existe un medio, por tanto, $\beta_1 = \beta_2 = 0$.

Con estas aproximaciones es posible obtener una expresión simplificada para la deformación del núcleo, que tiene la siguiente forma

$$\frac{s_n}{r_n} = \frac{r_n r_3^2 \varepsilon_4 E_0^2}{64 \kappa_n |z_0|^2} \left\{ \Lambda_1 x_{int}^2 + \Lambda_2 x_{int} + \Lambda_3 |\omega \varepsilon_4 / \sigma_3|^2 + \Lambda_4 \frac{x_{int}^2}{|\omega \varepsilon_4 / \sigma_3|^2} + \Lambda_5 \right\} \quad (3.31)$$

En donde Λ 's son constantes que depende únicamente de la geometría del sistema y z_0 es una función compleja, la forma explícita de las Λ 's y de z_0 se encuentran en el Apéndice C . De la ecuación, el coeficiente λ_3 es muy pequeño, por lo que este termino se puede despreciar, con esto, se puede ver de la ecuación 3.31 que solamente la parte imaginaria de β_4 , con las aproximaciones mencionadas al inicio de esta sección, es la que contribuye a la deformación del núcleo, en contraste a lo resultados de Yamamoto, donde se dice que es la parte real es la que contribuye a la deformación de vesículas. También se puede observar, que la conductividad de la membrana nuclear σ_4 no es un factor del cual la deformación dependa. Los valores numéricos de las Λ 's con $r_3 = 5\mu m$ y $r_4 = 5\mu m - 4nm$ son

$$\begin{aligned}
\Lambda_1 &= 0.327714 \\
\Lambda_2 &= 0.655953 \\
\Lambda_3 &= 8.40292 \times 10^{-7} \\
\Lambda_4 &= -0.000103 \\
\Lambda_5 &= -1.37304
\end{aligned} \tag{3.32}$$

En donde se puede ver que para frecuencias pequeñas, y para valores de x_{int} despreciables, el signo de la deformación será negativa, mientras que para frecuencias grandes y para valores en lo que x_{int} contribuye a la deformación, la forma prolata es esperada.

Si definimos

$$\bar{\omega} = \omega \varepsilon_4 / \sigma_3 \tag{3.33}$$

La ecuación 3.31 se puede escribir como

$$\frac{s_n}{r_n} = \frac{r_n r_3^2 \varepsilon_4 E_0^2}{64 \kappa_n |z_0|^2} \left\{ \Lambda_1 x_{int}^2 + \Lambda_2 x_{int} + \Lambda_3 \bar{\omega}^2 + \Lambda_4 \frac{(x_{int})^2}{\bar{\omega}^2} + \Lambda_5 \right\} \tag{3.34}$$

La frecuencia de transición se puede encontrar haciendo cero el termino entre paréntesis, luego

$$\Lambda_1 x_{int}^2 + \Lambda_2 x_{int} + \Lambda_3 \bar{\omega}^2 + \Lambda_4 \frac{(x_{int})^2}{\bar{\omega}^2} + \Lambda_5 = 0 \tag{3.35}$$

La ecuación 3.35 es una ecuación de bifurcación de orden 4 para $\bar{\omega}$ para la deformación del núcleo. Para frecuencias intermedias, alrededor de de kilohertz y para $x_{int} > 2$ se puede despreciar el termino de Λ_3 , dando lugar a una ecuación de segundo orden, para $x_{int} < 2$ el termino de Λ_3 es el que da el comportamiento asintótico, la solución de la ecuación de bifurcación reproduce con alto grado de precisión las curvas presentadas en las figuras 3.2, 3.5, 3.6. Cabe destacar que, como las Λ 's son funciones que depende de los radios del núcleo, para que exista la transición oblata-prolata no se puede despreciar el grosor de la capa de lipidos de la membrana, en contraste con trabajos teóricos sobre la deformación de vesículas, donde desprecian el grosor de la bicapa

de lípidos [4–9, 14]. La importancia de la ecuación 3.35 es tal que con ella se puede conocer el valor de la conductividad del nucleoplasma, ya que hasta la fecha es un parámetro que se desconoce, tan solo midiendo la frecuencia de transición a la que el la membrana nuclear cambia de oblata a prolata y resolviendo para x_{int} se puede saber el valor de σ_5 . El comportamiento de la ecuación de bifurcación se muestra en la figura 3.7.

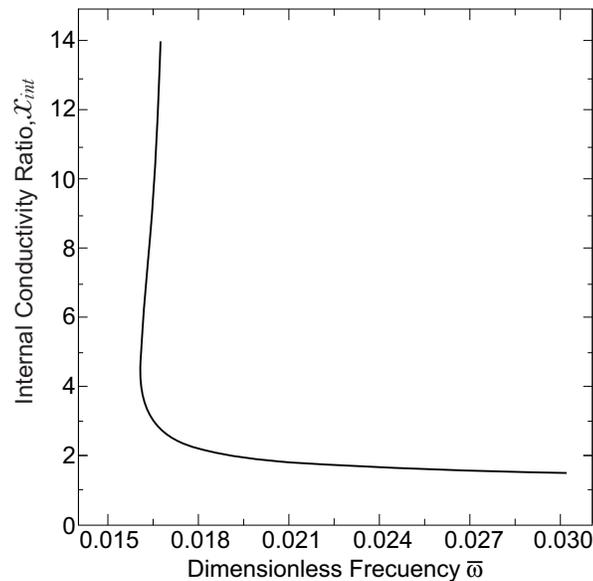


Figura 3.7: Ecuación de Bifurcación Se puede observar la similitud que la ecuación de bifurcación tiene con las figuras 3.5 y 3.6.

3.2.3. Límite cuando $r_m \approx r_n$

Esta teoría tiene contenida el trabajo de Yamamoto [14], haciendo el límite cuando $r_m \approx r_n$ y haciendo otras consideraciones sobre los medios, sin embargo, los resultados obtenidos fueron insatisfactorios, esta teoría no contiene a la de Yamamoto, ya que el cociente de los radios y en particular los términos Λ 's definidos anteriormente juegan un importante papel en el grado de la deformación, por lo que con este límite no es posible estudiar la deformación de una membrana compuesta por dos bicapas de lípidos.

Capítulo 4

Teoría Generalizada

En esta sección se presenta una generalización de la deformación de n vesículas concéntricas usando el sistema esta bajo la influencia de un campo eléctrico AC y un campo magnético DC.

4.1. Trabajo Generalizado

Sea un sistema formado por N vesículas concéntricas tal como se puede ilustra en la figura 4.1. El sistema estará caracterizado por $2N$ radios, y para cada par de radios consecutivos con etiquetas k y $k + 1$ (ver figura 4.1), donde k es impar, habrá una membrana, con etiqueta n , donde n es una función de números naturales definida por

$$n(k) = \frac{k + 1}{2}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.1)$$

El trabajo que realizan las fuerzas generadas por el campo eléctrico esta dado por

$$W_n = \int \mathbf{f}_k \cdot \mathbf{u} dA_k + \int \mathbf{f}_{k+1} \cdot \mathbf{u} dA_{k+1}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.2)$$

en donde

$$\mathbf{f}_k \cdot \mathbf{u} = \langle T_{k11} - T_{(k+1)11} \rangle u_r + \langle T_{k12} - T_{(k+1)12} \rangle u_\theta; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.3)$$

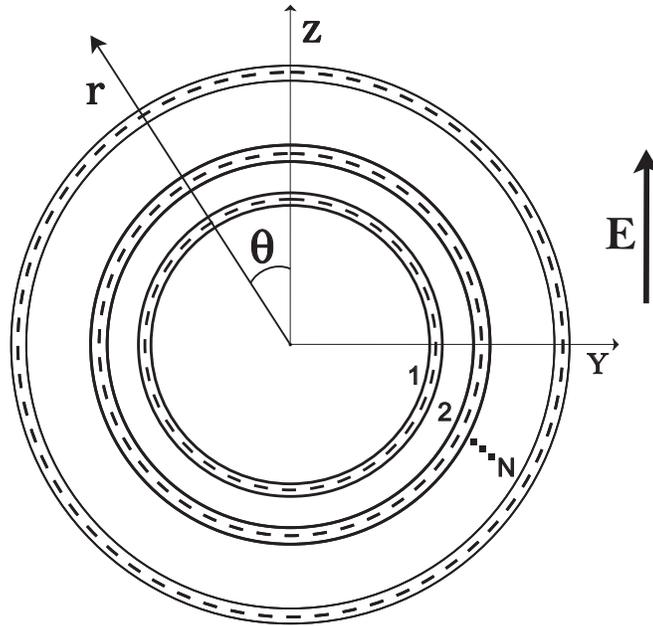


Figura 4.1: Diagrama de n vesícula concéntricas. Los números representan el número de la vesícula. La dirección del campo eléctrico se muestra en la parte derecha de la figura.

y

$$dA_k = r_k^2 \sin\theta d\theta d\phi; \quad k = 1, 2, \dots, 2N \quad (4.4)$$

Si se conoce la forma de las componentes del tensor de Maxwell fácilmente se puede calcular el trabajo hecho por el campo electromagnético sobre la n -ésima membrana.

4.2. Deformación de N vesículas concéntricas a través de un campo magnético DC

La parte magnética del tensor de Maxwell es la siguiente

$$T_{krr} = \frac{\mu_k}{2} (|H_{kr}|^2 - |H_{k\theta}|^2); \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.5)$$

y

$$T_{kr\theta} = \mu_k H_{kr} H_{k\theta}; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.6)$$

Escribiendo al campo magnético como

$$H(r, \theta)_k = \tau(r)_k^m \cos\theta \hat{\mathbf{r}} + \eta(r)_k^m \sin\theta \hat{\boldsymbol{\theta}}; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.7)$$

en donde

$$\tau(r)_k^m = \frac{2b_k^m}{r^3} - a_k^m; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.8)$$

$$\eta(r)_k^m = \frac{b_k^m}{r^3} + a_k^m; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.9)$$

Sustituyendo la ecuación 4.7 en las ecuaciones 4.5 y 4.6 y el resultado insertándolo en las ecuaciones 4.3 y 4.2 llegamos a la siguiente expresión para el trabajo realizado por el campo magnético sobre la n -ésima membrana de las N vesículas concéntricas

$$W_n^{mg} = \frac{8\pi}{15} s H_0^2 \left\{ r_k^2 \Gamma_k^m + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1}^m \right\}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.10)$$

En donde

$$\begin{aligned} \Gamma_k^m &= \varepsilon_k \left[|\tau_k(r_k)^m|^2 + |\eta_k(r_k)^m|^2 \right] - \varepsilon_{k+1} \left[|\tau_{k+1}(r_k)^m|^2 + |\eta_{k+1}(r_k)^m|^2 \right] \\ &+ \varepsilon_{k+1} \left[\tau_{k+1}(r_k)^m \eta_{k+1}^m(r_k) \right] - \varepsilon_k \left[\tau_k(r_k)^m \eta_k^m(r_k) \right] \end{aligned} \quad (4.11)$$

y la deformación en función de las permeabilidades tiene la siguiente forma

$$\frac{s_n}{R(n)} = \frac{R(n) H_0^2}{36 \left(1 - \frac{M_{sp} R(n)}{6} \right) \kappa_n} \left\{ r_k^2 \Gamma_k^m + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1}^m \right\}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.12)$$

en donde $R(1), \kappa_1$ denota el radio de la vesícula 1 y su constante de rigidez, $R(2)$ el de la vesícula 2 y su constante de rigidez y así sucesivamente.

4.3. Deformación de N vesículas concéntricas a través de un campo eléctrico AC

Se puede aplicar la teoría descrita en las secciones anteriores para describir de manera general el comportamiento del trabajo que efectúa un campo eléctrico como el de la situación de la doble vesícula, sobre un objeto que contiene N vesículas concéntricas. El proceso es el mismo, se resuelve la ecuación de Laplace con las condiciones de frontera estacionarias, se resuelve el sistema de ecuaciones, se calculan los tensores de Maxwell, y finalmente se obtiene una expresión para el trabajo.

La parte eléctrica del tensor de Maxwell es la siguiente

$$\langle T_{kr\theta} \rangle = \frac{\varepsilon_k}{4} (|E_{kr}|^2 - |E_{k\theta}|^2); \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.13)$$

y

$$\langle T_{kr\theta} \rangle = \frac{\varepsilon_k}{4} (E_{rr} E_{kr\theta}^* + E_{rr}^* E_{kr\theta}); \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.14)$$

Escribiendo al campo magnético como

$$E(r, \theta)_k = \tau(r)_k \cos\theta \hat{\mathbf{r}} + \eta(r)_k \sin\theta \hat{\boldsymbol{\theta}}; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.15)$$

en donde

$$\tau(r)_k = \frac{2b_k}{r^3} - a_k; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.16)$$

$$\eta(r)_k = \frac{b_k}{r^3} + a_k; \quad k = 1, \dots, 2N \quad (4.17)$$

Sustituyendo la ecuación 4.15 en las ecuaciones 4.13 y 4.14 y el resultado insertándolo en las ecuaciones 4.3 y 4.2 llegamos a la siguiente expresión para el trabajo realizado por el campo

eléctrico sobre la n -ésima membrana de las n vesículas concéntricas

$$W_n = \frac{2\pi}{15} s E_0^2 \left\{ r_k^2 \Gamma_k + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1} \right\}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.18)$$

En donde

$$\begin{aligned} \Gamma_k = & \varepsilon_k \left[|\tau_k(r_k)|^2 + |\eta_k(r_k)|^2 \right] - \varepsilon_{k+1} \left[|\tau_{k+1}(r_k)|^2 + |\eta_{k+1}(r_k)|^2 \right] \\ & + \varepsilon_{k+1} \left[\tau_{k+1}(r_k) \eta_{k+1}^*(r_k) + \tau_{k+1}^*(r_k) \eta_{k+1}(r_k) \right] - \varepsilon_k \left[\tau_k(r_k) \eta_k^*(r_k) + \tau_k^*(r_k) \eta_k(r_k) \right] \end{aligned} \quad (4.19)$$

y la deformación en función de las permeabilidades tiene la siguiente forma

$$\frac{s_n}{R(n)} = \frac{R(n) E_0^2}{144 \left(1 - \frac{M_{sp} R(n)}{6} \right) \kappa_n} \left\{ r_k^2 \Gamma_k + r_{k+1}^2 \Gamma_{k+1} \right\}; \quad k = 1, 3, \dots, (2N - 1) \quad (4.20)$$

4.3.1. Resultados

Debido a la complejidad de las constantes se determinan de las condiciones de frontera del campo eléctrico hacer una simulación del caso generalizado es una tarea muy difícil, ya que se debe de tener una solución analítica para dichas constantes. Sin embargo, pese a estas dificultades se llevo a simular 6 membranas concéntricas y los resultados son muy interesantes, que solo nos limitaremos a describirlos ya que no se pudo demostrar matemáticamente. Lo que se encontró es que las primeras dos vesículas siguen el patrón descrito anteriormente, es decir el de las figuras 3.6 y 3.5, mientras que las subsecuentes siguen el patrón de deformación de la membrana exterior descritas en las mismas figuras, es decir, sea n la membrana comprendida entre los medios k y $k+2$, si se cumple que $\sigma_k > \sigma_{k+2}$ la vesícula n tendrá una forma oblata, mientras que si $\sigma_k < \sigma_{k+1}$ la n -ésima vesícula presenta la línea de transición 1 de la figura 3.5. Con esto se puede inferir que la electrodeformación de N vesículas concéntricas queda completamente determinada por la deformación de dos vesículas concéntricas con campos eléctricos AC. Más aún, también se encontró que el campo en los medios acuosos en los que conductividad es

baja el campo eléctrico toma valores grandes, mientras que el campo es pequeño cuando la conductividad del medio es grande.

Capítulo 5

Conclusiones

Se estudió el comportamiento de las vesículas en campos magnéticos y eléctricos. En la célula modelo se presentaron los diagramas de formas tanto para la membrana plasmática como para la membrana del núcleo y con ello determinar las zonas en las que el núcleo se deforma sin alterar la membrana plasmática. Se obtuvo la ecuación que gobierna la transición prolata-oblata de la membrana nuclear, La ecuación de bifurcación, esta ecuación es una herramienta que permite observar varios aspectos interesantes en lo que respecta a la deformación del núcleo, por ejemplo, el grosor de la bicapa de lípidos es fundamental para que la transición prolata-oblata ocurra, y esta transición se debe únicamente a fuerzas electrostáticas, sorprendentemente, la conductividad de la membrana del lípido no tiene un papel que jugar en dicha transición, de lo que podemos deducir que el campo no afecta directamente los lípidos de las membranas, es importante mencionar que la ecuación de bifurcación proporciona un método no invasivo por electrodeformación para la obtención de la conductividad eléctrica del nucleoplasma de las células en las que la conductividad del citoplasma está reportado. Se logró demostrar que dos bicapas se deforman de manera similar a lo que lo haría una sola haciendo tender el radio de la membrana del núcleo al valor del radio de la membrana plasmática.

Haciendo una comparación de la deformación experimental de magnetoliposomas se puede observar que existe un contraste entre los resultados teóricos y la evidencia experimental de

las formas que adquiere los magnetoliposomas en presencia de un campo magnético, ya que la teoría predice únicamente formas prolatas para las condiciones dadas se puede deducir que la deformación oblata se debe a la interacción del potencial que existe sobre la membrana lipídica con los iones libres que se encuentran en la solución acuosa del magnetoliposoma.

Se construyó una teoría generalizada de la deformación de n vesículas concéntricas usando campos alternos y directos, dicha generalización abarca los dos casos particulares mencionados anteriormente.

Capítulo 6

Apéndice

6.1. Apéndice A

$$c_0 = \frac{r_2}{r_1} \quad (6.1)$$

$$\Delta_m = 2c_0^3(\lambda_1 - 1)(1 - \lambda_2) + (2 + \lambda_1)(1 + \lambda_2) \quad (6.2)$$

$$\begin{aligned} G_0 &= (1 + 2c_0^3)^2(\lambda_1 - 1) + (1 - c_0^3)^2\left(\frac{1}{\lambda_1} - 1\right) + 9c_0^2 \\ G_1 &= 2(1 + 2c_0^3)^2 + 2(1 - c_0^3)(2 + c_0^3)\left(\frac{1}{\lambda_1} - 1\right) - 4(1 + 2c_0^3)(1 - c_0^3) - 18c_0^2 \\ G_2 &= 4(1 - c_0^3)^2(\lambda_1 - 1) + (2 + c_0^3)^2\left(\frac{1}{\lambda_1} - 1\right) + 9c_0^2 \end{aligned} \quad (6.3)$$

$$\begin{aligned} G'_0 &= 2(1 - c_0^3)(2 + c_0^3) - (1 + 2c_0^3)^2 - (1 - c_0^3)^2 + 9c_0^2 \\ G'_1 &= (1 + 2c_0^3)^2 + (2 + c_0^3)^2 - 4(1 + 2c_0^3)(1 - c_0^3) - 2(1 - c_0^3)(2 + c_0^3) - 18c_0^2 \\ G'_2 &= (1 + 2c_0^3)^2 - 4(1 - c_0^3)^2 - (2 + c_0^3)^2 + 9c_0^2 \\ G'_3 &= 4(1 - c_0^3)^2 \\ G'_4 &= (1 - c_0^3)^2 \end{aligned} \quad (6.4)$$

6.2. Apéndice B

Las constantes a 's y b 's se puede escribir de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
 a_1 &= -1 \\
 a_2 &= \frac{2}{3}(\beta_2 - 1)\frac{b_3}{r_2} - (2 + \beta_2)\frac{a_3}{3} \\
 a_3 &= -9\frac{\alpha_1}{\Delta_1} \\
 a_4 &= -27\frac{2 + \beta_4}{\Delta_1} \\
 a_5 &= -81\frac{1}{\Delta_1}
 \end{aligned} \tag{6.5}$$

$$\begin{aligned}
 b_1 &= \delta_1 + \delta_2 \\
 b_2 &= \frac{1 + 2\beta_2}{3}b_3 - \frac{\beta_2 - 1}{3}a_3r_2^3 \\
 b_3 &= 9\frac{\alpha_2}{\delta_1} \\
 b_4 &= -\frac{27(\beta_4 - 1)r_4^3}{\Delta_2} \\
 b_5 &= 0
 \end{aligned} \tag{6.6}$$

$$\theta_0 = \frac{r_4}{r_3} \tag{6.7}$$

$$\begin{aligned}
\alpha_1 &= 2\theta_0^3(\beta_3 - 1)(\beta_4 - 1) + (2 + \beta_3)(2 + \beta_4) \\
\alpha_2 &= \theta_0^3(1 + 2\beta_3)(\beta_4 - 1) + (\beta_3 - 1)(\beta_4 + 2) \\
\gamma_1 &= \left(\frac{r_3}{r_2}\right)^3 (1 + 2\beta_2)\alpha_2 + (\beta_2 - 1)\alpha_1 \\
\gamma_2 &= 2\left(\frac{r_2}{r_1}\right)^3 (\beta_2 - 1)\alpha_2 + (2 + \beta_2)\alpha_1 \\
\delta_1 &= \frac{(1 + 2\beta_2)}{9} \left[(1 + 2\beta_2)b_3 - (\beta_2 - 1)r_2^3 a_3 \right] \\
\delta_2 &= \frac{\beta_1 - 1}{9} \left[2\left(\frac{r_1}{r_2}\right)^3 (\beta_2 - 1)b_3 - (2 + \beta_2)r_1^3 a_3 \right] \\
\Delta_1 &= 2\left(\frac{r_2}{r_1}\right)^3 (\beta_1 - 1)\gamma_1 + (2 + \beta_1)\gamma_2 \\
\Delta_2 &= \left\{ (2 + \beta_1) \left[2\left(\frac{r_3}{r_1}\right)^3 (\beta_2 - 1) + (2 + \beta_2) \right] + 2\left(\frac{r_3}{r_2}\right)^3 (\beta_1 - 1) \left[\left(\frac{r_2}{r_3}\right)^3 (\beta_2 - 1) + (1 + 2\beta_2) \right] \right\} (-\alpha_2) \\
&\quad - 3 \left[2\left(\frac{r_2}{r_1}\right)^3 (\beta_1 - 1)(\beta_2 - 1) + (\beta_1 + 2)(\beta_2 + 2) \right] \left[(\beta_4 + 2) - \left(\frac{r_4}{r_3}\right)^3 (\beta_4 - 1) \right] \\
z_0 &= 3 \left[-(\theta_0^3 + 2) + \beta_4(\theta_0^3) - 1 \right]
\end{aligned} \tag{6.8}$$

6.3. Apéndice C

$$\begin{aligned}
\bar{\varepsilon} &= \frac{\varepsilon_3}{\varepsilon_4} = \frac{\varepsilon_5}{\varepsilon_4} \\
\Lambda_1 &= 9\bar{\varepsilon}(1 + 2\theta_0^3) \\
\Lambda_2 &= \bar{\varepsilon} \left[18(1 + 2\theta_0^3)(\theta_0^3 + 2) + 36(1 - \theta_0^3)(\theta_0^3 - 1) \right] \\
\Lambda_3 &= 36\bar{\varepsilon}(1 - \theta_0^3)^2 \\
\Lambda_4 &= 81\theta_0^2 - 9(1 + 2\theta_0^3)^2 - 9(\theta_0^3 - 1)^2 + 18(\theta_0^3 - 1)(1 + 2\theta_0^3) \\
\Lambda_5 &= 81\theta_0^3 - 9(2 + \theta_0^3)^2 - 36(1 - \theta_0^3)^2 - 36(1 - \theta_0^3)(2 + \theta_0^3) - 243\bar{\varepsilon}\theta_0^3
\end{aligned} \tag{6.9}$$

Bibliografía

- [1] Rumiana Dimova, Natalya Bezlyepkina, Marie Domange Jordo, Roland L. Knorr, Karin A. Riske, Margarita Staykova, Petia M. Vlahovska, Tetsuya Yamamoto, Peng Yang, and Reinhard Lipowsky. Vesicles in electric fields: Some novel aspects of membrane behavior. *Soft Matter*, 5:3201–3212, 2009.
- [2] Lane C. McConnell, Michael J. Miksis, and Petia M. Vlahovska. Vesicle electrohydrodynamics in dc electric fields. *IMA Journal of Applied Mathematics*, 78:797, 2013.
- [3] Mohamed M. Sadik, Jianbo Li, Jerry W. Shan, David I. Shreiber, and Hao Lin. Vesicle deformation and poration under strong dc electric fields. *Phys. Rev. E*, 83:066316, 2011.
- [4] M. Winterhalter and W. Helfrich. Deformation of spherical vesicles by electric fields. *Journal of Colloid and Interface Science*, 122:583, 1988.
- [5] M. Kummrow and W. Helfrich. Deformation of giant lipid vesicles by electric fields. *Phys. Rev. A*, 44:8356, 1991.
- [6] M. Kummrow and W. Helfrich. Deformation of giant lipid vesicles by electric fields. *Phys. Rev. A*, 44:8356, 1991.
- [7] H. Hyuga, K. jr. Kinoshita, and N. Wakabayashi. Deformation of vesicles under the influence of strong electric field. *pn. J. Appl. Phys.*, 30:1141–1148, 1991.
- [8] H. Hyuga, K. jr. Kinoshita, and N. Wakabayashi. Deformation of vesicles under the influence of strong electric field ii. *pn. J. Appl. Phys.*, 30:1333, 1991.

- [9] H. Hyuga, K. jr. Kinoshita, and N. Wakabayashi. Deformation of vesicles under the influence of strong electric field. *pn. J. Appl. Phys.*, 30:1333–1335, 1991.
- [10] Mojca Pavlin, Tadej Kotnik, Damijan Miklavčič, Peter Kramar, and Alenka Maček Lebar. Chapter seven electroporation of planar lipid bilayers and membranes. volume 6 of *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, pages 165 – 226. Academic Press, 2008.
- [11] B. Alberts, A. Johnson, and J. Lewis et. a.l. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 2 edition, 2002.
- [12] J. R. Melcher and G. I. Taylor. Electrohydrodynamics: A review of the role of interfacial shear stresses. *Annu. Rev. Fluid Mech*, 1:111–146, 1969.
- [13] V. Novickij, A. Grainys, J. Novickij, and S. Markovskaja. Irreversible magnetoporation of micro-organisms in high pulsed magnetic fields. *IET Nanobiotechnol.*, 8:157–162, 2014.
- [14] Tetsuya Yamamoto, Said Aranda-Espinoza, Rumiana Dimova, and Reinhard Lipowsky. Stability of spherical vesicles in electric fields. *Langmuir*, 26:12390–12407, 2010.
- [15] S. Aranda, K. A. . Riske, R. Lipowsky, and R. Dimova. Morphological transitions of vesicles induced by alternating electric fields. *Biophysical Journal: Biophysical Letters*, 8, 2008.
- [16] P. Peterlin, S. Svetina, and B Zeks. The prolate-to-oblate shape transition of phospholipid vesicles in response to frequency variation of an ac electric field can be explained by the dielectric anisotropy of a phospholipid bilayer. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 19:136220, 2007.
- [17] K. Antonova, V. Vitkova, and M. D. Mitov. Deformation of giant vesicles in ac electric fields —dependence of the prolate-to-oblate transition frequency on vesicle radius. *EPL (Europhysics Letters)*, 89:38004.
- [18] Rumiana Dimova, Karin A. Riske, Said Aranda, Natalya Bezlyepkina, Roland L. Knorr, and Reinhard Lipowsky. Giant vesicles in electric fields. *Soft Matter*, 3:817–827, 2007.

- [19] A. Sokirko, V. Pastushenko, S. Svetina, and B. Žekš. Deformation of a lipid vesicle in an electric field: A theoretical study. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 34:101 – 107, 1994.
- [20] Petia M. Vlahovska, Rubèn Serral Gracià, Said Aranda-Espinoza, and Rumiana Dimova. Electrohydrodynamic model of vesicle deformation in alternating electric fields. *Biophysical Journal*, 96(12):4789 – 4803, 2009.
- [21] R.E. Rosensweig. *Ferrohydrodynamics*. Cambridge University Press, New York, 1985.
- [22] D.T. Grow, S. V. Sonti, A. Bose, and K. Raj.
- [23] Valérie Cabuil, Dihya Guemghar, Christine Ménager, and Olivier Sandre. Magnetic vesicles. In *Magnetic forces nano- and biotechnologies*, 2004.
- [24] O. Sandre, C. Ménager, J. Prost, V. Cabuil, J.-C. Bacri, and A. Cebers. Shape transitions of giant liposomes induced by an anisotropic spontaneous curvature. *Phys. Rev. E*, 62:3865–3870, 2000.
- [25] F.J. Carrión, A. De La Maza, and J.L. Parra. The influence of ionic strength and lipid bilayer charge on the stability of liposomes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 164:78 – 87, 1994.
- [26] E. Fuchs and K. Weber. Intermediate filaments: structure, dynamics, function and disease. *Ann. Rev. Biochem.*, 63:345–82, 1994.
- [27] G. Bao and S. Suresh. Cell and molecular mechanics of biological materials. *Nature Mater*, 2:715–25, 2003.
- [28] D. E. Ingber. Mechanical signalling and cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.*, 91:877–87, 2002.
- [29] B. et. al. Alberts. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland, 4 edition, 2002.

- [30] D. Boal. *Mechanics of the cell*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2002.
- [31] L. H. Miller, D. I. Baruch, K. Marsh, and O. K. Doumbo. The pathogenic basis of malaria. *Nature*, 415:673–9, 2002.
- [32] B. M. Cooke, N. Mohandas, and R. L. Coppel. The malaria-infected red blood cell: structural and functional changes. *Adv. Parasitol.*, 50:1–86, 2001.
- [33] Carson H. Thomas, Joel H. Collier, Charles S. Sfeir, and Kevin E. Healy. Engineering gene expression and protein synthesis by modulation of nuclear shape. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99:1972–1977, 2002.
- [34] Christopher S. Chen, Milan Mrksich, Sui Huang, George M. Whitesides, and Donald E. Ingber. Geometric control of cell life and death. *Science*, 276(5317):1425–1428, 1997.
- [35] J. Folkman and A. Moscona. Role of cell shape in growth control. *Nature (London)*, 273:345–349, 1978.
- [36] R. Singhvi, A. Kumar, G. P. Lopez, G. N. Stephanopoulos, D. I. C. Wang, G. M. Whitesides, and D. E. Ingber. Engineering cell shape and function. *Science*, 264:696 – 698, 1994.
- [37] C. H. Thomas, J.-B. Lhoest, D. G. Castner, C. D. McFarland, and K. E. Healy. The malaria-infected red blood cell: structural and functional changes. *J. Biomech. Eng.*, 121:40 – 48, 1999.
- [38] A. Rowat, Jan C Lammerding, H. Herrmann, and U. Aebi. Towards an integrated understanding of the structure and mechanics of the cell nucleus. *BioEssays*, 30:226–236, 2008.
- [39] A. J. Maniotis, C. S. Chen, and D. E. Ingber. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:849 – 854, 1997.

- [40] C. M. Feldherr and D. Akin. Regulation of nuclear transport in proliferating and quiescent cells.. *Exp. Cell Res*, 2005:179–186, 1993.
- [41] M. Alvarez, H. Long, J. Onyia, J. Hock, W. Xu, and J. Bidwell. Dna binding and gene activation properties of the nmp4 nuclear matrix transcription factors. *Endocrinology*, 138:482–489., 1999.
- [42] Cécile Loudet, Anna Diller, Axelle Grélard, Reiko Oda, and Erick J Dufourc. Biphenyl phosphatidylcholine: A promoter of liposome deformation and bicelle collective orientation by magnetic fields. *Progress in lipid research*, 49(3):289–297, 2010.
- [43] E. Ruoslahti. Stretching is good for a cell. *Science*, 274:1345–1346, 1997.
- [44] J. P. Bidwell, A. J. Van Wijnen, E. G. Fey, S. Dworetzky, S. Penman, J. L. Stein, J. B. Lian, and G. S. Stein. The nuclear matrix protein nmp-1 is the transcription factor yy1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:3162–3166., 1993.
- [45] J. P. Bidwell, M. Alvarez, H. Feister, J. Onyia, and J. Hock. Nuclear matrix proteins and osteoblast gene expression. *J. Bone Miner. Res.*, 13:155–167., 1998.
- [46] Andrew J. Maniotis, Christopher S. Chen, and Donald E. Ingber. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(3):849–854, 1997.
- [47] A. C. Rowat, J. Lammerding, and J. H. Ipsen. Mechanical properties of the cell nucleus and the effect of emerin deficiency. *Biophys. J.*, 94:849–854, 2006.
- [48] F Guilak, JR Tedrow, and R. Burgkart. Viscoelastic properties of the cell nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 269:781 – 786, 2000.
- [49] C. Dong, R. Skalak, and K. L. Sung. Cytoplasmic rheology of passive neutrophils. *Biorheology*, 28:557 – 567, 1991.

- [50] N. Caille, O. Thoumine, Y. Tardy, and J. J. Meister. Contribution of the nucleus to the mechanical properties of endothelial cells. *J. Biomech.*, 35:177 – 187, 2001.
- [51] A. S. Khandwala and C. B. Kasper. The fatty acid composition of individual phospholipids from rat liver nuclear membrane and nuclei. *J. Biol. Chem.*, 246:6242 – 6246, 1971.
- [52] W. W. Franke, B. Deumling, Jarasch E. D. Baerbelermen, and H. Kleinig. Nuclear membranes from mammalian liver. i. isolation procedure and general characterization. *J. Cell Biol.*, 46:379 – 395, 1970.
- [53] John David Jackson. *Classical electrodynamics*. Wiley, 3rd ed. edition, 1999.
- [54] Wolfgang Helfrich. Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 28(11-12):693–703, 1973.
- [55] E. Boroske and W. Helfrich. Magnetic anisotropy of egg lecithin membranes. *Biophysical Journal*, 24(3):863 – 868, 1978.
- [56] P. L. Luisi and P. Walde. *Perspectives in Supramolecular Chemistry: Giant Vesicles, Volume 6*. John Wiley, 2007.