大气压等离子体作用于细胞产生电场效应的数值模拟研究

刘雨^{1,3}, 高皓天², 赵彤¹, 邹亮¹, 张远涛^{1*}

1. 山东大学电气工程学院, 济南 250061;

2. 重庆大学电气工程学院, 重庆 400044;

3. 国家电网浙江省电力有限公司湖州供电公司, 湖州 313000

*联系人, E-mail: ytzhang@sdu.edu.cn

收稿日期: 2018-05-15; 接受日期: 2018-07-16; 网络出版日期: 2018-11-26

国家自然科学基金(批准号: 11675095)和山东大学基本科研业务费(批准号: 2017JC017)资助项目

摘要 近年来, 随着大气压等离子体技术的发展, 等离子体医学作为新兴的交叉学科逐渐发展起来, 大量实验研究表明, 等离子体对生物组织会产生各种显著的效应, 但人们始终缺乏对等离子体与生物组织相互作用内在机理的深入认识. 本文从描述大气压等离子体的流体模型出发, 耦合描述细胞电学特性的细胞介电模型, 研究了正弦电压驱动的介质阻挡放电产生的大气压氦等离子体作用于细胞时, 细胞中电场的分布与演化. 计算结果表明, 细胞膜电压占细胞总电压的主要部分, 内膜电压远小于外膜电压, 肿瘤细胞的跨膜电压明显大于正常细胞的跨膜电压, 且内膜电压只在放电过程中数值较大, 而外膜电压则在放电后始终保持较大的数值. 基于模拟结果, 本文还讨论了放电参数对跨膜电压的影响. 目前, 有关等离子体医学的理论研究还较少, 本文的计算将为研究大气压等离子体对细胞的电磁效应机理提供有益的探索.

关键词 大气压等离子体, 介质阻挡放电, 细胞介电模型, 跨膜电压, 数值模拟

PACS: 52.80.Pi, 52.65.Kj, 52.25.-b

1 引言

近年来, 随着大气压等离子体技术的发展, 等离子体医学的研究逐渐成为引起人们极大兴趣的研究课题^[1-6]. 大气压等离子体的产生摆脱了真空装置的束缚, 同时由于气压较高碰撞频繁, 可以产生大量的激发态或亚稳态的活性粒子, 同时整体气体温度仍旧保

持在室温左右, 可以适合于生物组织乃至活体的处理^[5,7,8]. 应该说, 通过系统的实验研究与理论分析, 人们目前对大气压下气体放电的稳定性与化学活性有了比较深入的认识, 并掌握了切实可行的控制方法与手段, 可以按照人们的需要产生稳定的、大体积且富含特定活性成分的大气压等离子体, 特别是近年来发展了各式各样等离子体射流装置^[9], 促使等离子体医学

引用格式: 刘雨, 高皓天, 赵彤, 等. 大气压等离子体作用于细胞产生电场效应的数值模拟研究. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2019, 49: 015201
Liu Y, Gao H T, Zhao T, et al. Numerical study on distribution of electric fields in cells induced by atmospheric helium plasmas (in Chinese). Sci Sin-Phys Mech Astron, 2019, 49: 015201, doi: 10.1360/SSPMA2018-00188

的发展成为可能^[10]. 目前大气压等离子体在生物医学材料的制备、手术伤口消毒、医疗器械除垢消毒等方面已经取得了一定的进展, 甚至一些装置已经进入临床实验阶段^[3,4]. 同时大气压等离子体在促进血液凝结、皮肤病的治疗、诱导癌细胞凋亡、牙齿根管治疗等方面也有明显的效果, 国际上已有很多课题组进行了相关的深入研究^[3,4,10]. 已有的实验结果明确表明, 大气压冷等离子体作用于生物组织乃至人体具有安全有效且无毒副作用的优点, 在某些医疗应用中可以用大气压等离子体取代药物或者用于辅助药物治疗, 甚至可以得到更好的治疗效果^[10,11].

人们通过大量的实验研究, 对等离子体与细胞相互作用的机理已经有了一定的了解, 但是由于实验条件及诊断手段的限制, 导致人们对等离子体医学的内在机理还远没有达到深入认识的地步, 尤其是缺乏系统的理论指导. 应该说, 人们目前对于等离子体医学机理的认识还处在初期的探索阶段. 通过总结现有的实验结果, 人们一般认为等离子体对生物组织的相互作用体现在如下的几个方面: (1) 电磁相互作用, 即等离子体作为由带电粒子组成的多粒子体系, 其外加与自生电磁场对生物组织的生理机能具有一定的影响; (2) 等离子体中产生的各种射线, 如紫外线等高能射线对细胞的作用, 只是, 紫外线对生物细胞的影响已经有了非常充分的研究, 不论这种紫外线是等离子体中产生的还是专门的医疗设备产生的, 从作用机理上来说并没有本质的区别; (3) 等离子体中种类繁多的活性粒子对细胞的生物与化学作用, 这可以称之为等离子体对细胞的生化作用^[2-4,6,10]. 目前普遍认为等离子体对细胞的生化作用是等离子体对细胞的主要作用方式, 等离子体中活性粒子的种类与浓度对于作用效果的影响是比较大的^[5,12]. 特别是等离子体中的活性粒子与特定生物大分子的相互作用, 这一般被认为是理解等离子体与细胞相互作用的关键之处, 本课题组在这方面也已经采用反应分子动力学模拟做了一些工作, 进一步的研究还在进行中^[13]. 当然一些其他的影响也是需要考虑的, 比如等离子体中的重粒子对细胞的机械冲击作用, 高能离子的这种作用在低气压低温等离子体的应用中起着非常重要的作用, 但在高气压下对细胞能有多大作用还不是很清楚, 一般认为不会太显著; 等离子体的热效应也是需要考虑的另外一个因素.

特别是, 还需要考虑当生物组织受到等离子体等外界刺激时自身会有一定的调节与反馈效应, 比如细胞的再生与自愈等功能, 这是明显不同于传统研究等离子体与其他物质相互作用的(比如镀膜、刻蚀等应用). 可以说, 人们对等离子体与生物组织相互作用的内在机理的理解还处在起步阶段, 还有很长的路要走. 本文的讨论主要集中于借助于理论模型研究等离子体对细胞的电磁效应.

人们研究电磁场对生物组织或者细胞的影响已经具有较长的历史. 研究表明, 当将电场施加于细胞时, 可能使细胞的内外膜出现电穿孔, 或是导致细胞凋亡. 在强电场作用下, 细胞膜通透性明显增大, 可以允许细胞外的分子物质通过扩散进入细胞内, 这种现象叫做电穿孔. 利用电穿孔, 人们可以把许多之前不能进入细胞的物质比如外源DNA、蛋白质、抗体、药物等送入细胞, 这可以极大地提高抗癌药物或其他药物的使用效果^[14-16]. 进一步的研究表明, 用纳秒脉冲电场处理肿瘤细胞, 随着脉宽的减小, 电场与细胞外膜的相互作用逐渐减弱, 而与细胞内结构的相互作用逐渐增强. 比如可能出现细胞外膜依然保持完整, 但是细胞内部的细胞器比如线粒体、细胞核等出现了一些功能上的改变, 同时细胞可能发生凋亡^[16]. 总的来说, 实验与理论研究已经表明, 外加电场可以有效地影响与调控细胞的生理活动^[17-19].

当等离子体作用于细胞时, 外加电场与等离子体中带电粒子的自生电场都会对细胞产生影响, 虽然在各种放电系统中外加电压的形式, 比如正弦、射频、脉冲乃至脉冲调制电压波形都是比较明确的^[7,8,20,21], 但问题在于作用在细胞上电压波形却不规则, 而且细胞上的电压是随着放电的进行发生快速的变化(甚至可能在纳秒量级上发生变化), 进而深入计算细胞内的各层结构上的电压也比较困难.

一般说来, 大气压等离子体可以用流体模型准确地加以描述^[8,20], 而细胞的描述则根据研究目的的不同而有不同的描述形式, 要研究细胞中电场的分布与演化, 多层细胞介电模型是比较合适的描述模型^[22]. 实际上, 借助于细胞介电模型, 人们已经对不同给定电压波形作用下细胞的跨膜电压等有了大量的研究成果^[22]. 但是, 具体到介质阻挡放电条件下细胞内的电场分布, 作用于细胞上的电压的形式及其演化是很难直接给定的. 本文拟采用的方法就是基于等离子体流

体模型与细胞介电模型的耦合, 数值仿真研究介质阻挡放电过程中细胞内部电场的分布与演化, 将等离子体与细胞作为一个整体来处理, 这样就不用人为地假设作用于细胞上的电压形式, 而是可以与等离子体中的电场一起自洽地计算出来, 进而计算出细胞内部各层的电压分布, 这样就可以给出大气压等离子体作用下的细胞跨膜电压.

本文安排如下: 第2节简要介绍了细胞介电模型与等离子体流体模型, 及两者的有效性验证, 确保所使用的模型是合理的. 第3节基于数值模拟结果, 主要讨论了正常细胞与肿瘤细胞各层上电压的分布, 并进行了比较分析. 最后对文章内容进行总结并提出展望.

2 模型介绍

2.1 细胞介电模型及其验证

大气压介质阻挡放电是一种比较广泛地应用于等离子体医学的等离子体源, 本文所研究的放电装置是将细胞作为一层介质放置于电极上, 这也是从等离子体医学发展的早期一直到现在许多学者所采用的实验装置^[1,4], 如图1所示. 从上到下依次为电极、介质层、等离子体与细胞层. 应该说这是个非常简化的结构, 特别是将细胞简化为直接放置在电极上, 一般来说细胞是放在培养皿里面的. 同时, 细胞是直接和等离子体相互作用, 细胞并没有被营养液覆盖.

细胞电学的特性可以借助于细胞的多层介电模型来描述, 将细胞的各个部分都用电容和电阻的串并联来表征. 将细胞多层介电模型作为电路耦合进等离子体流体模型, 从而可以将等离子体与细胞作为一个整体来处理, 分析细胞内各层电压、电场、电荷、电流等电参数的时空分布与演化, 进而可以分析研究对细胞生理机能的影响, 比如对细胞膜及胞内细胞器电穿孔过程的影响^[18,23-26]. 文献[27]中使用时域电介质光谱仪研究了人类正常血细胞及肿瘤血细胞, 比较准确地测出了其电参数及几何参数, 并发现肿瘤细胞的介电常数、电导率值比正常细胞的相应数据要小一些. 本文所使用的细胞参数就是其中的扁桃体B细胞的参数, 当然, 这些细胞参数也被广泛应用于国内外学者对细胞生理机能的数值模拟研究^[18,24].

在本文的研究中, 将细胞放置在极板上, 通常假设细胞为圆形, 这样细胞的任一半都有5层组成, 依次为

细胞外液、细胞膜、细胞质、核膜、核质, 分别对应图2中的1, 2, 3, 4与5各层. 这样细胞介电模型就由5层介电常数和电导率各不相同的介质层依次排列组成, 每一层都与相应的细胞结构对应, 其所采用的数据来源于文献[18], 可以认为这5层相互之间是串联关系, 而在每层内部是一个电容和电阻的并联结构. 当然从这里也可以对图1中模型的简化稍作解释, 因为不论是放置细胞的培养皿还是覆盖细胞的营养液, 如果单单是考虑电场的因素的话, 这两者只是相当于增加了两层介质(当然, 如果要是考虑活性粒子对细胞的作用的话, 等离子体与营养液的相互作用还是能产生新的活性成分的, 预计能起比较显著的作用), 只起到分压的作用, 为了下面计算的简便, 在模型中没有考虑这两者的作用(实际上, 可以通过调节图1中介质层的厚度与电导率等参数起到等价于考虑两者作用的效果).

考虑使用基尔霍夫定律来进行求解电压分配, 基于细胞5层介电模型的串并联关系和基尔霍夫电流定律(KCL)与基尔霍夫电压定律(KVL)可列方程组如下:

$$\begin{aligned} G_1 U_1 + C_1 \frac{dU_1}{dt} &= G_2 U_2 + C_2 \frac{dU_2}{dt} \\ &= G_3 U_3 + C_3 \frac{dU_3}{dt} \\ &= G_4 U_4 + C_4 \frac{dU_4}{dt} \\ &= G_5 U_5 + C_5 \frac{dU_5}{dt}, \end{aligned} \quad (1)$$

$$U_1 + U_2 + U_3 + U_4 + U_5 = V_h, \quad (2)$$

其中, G 和 C 分别代表细胞各层的电导值、电容值, 可由相应细胞的电参数和几何参数计算得到, U 表示电压, 如图2所示, 下标1, 2, 3, 4, 5依次可代表细胞外液、细胞膜、细胞质、核膜、核质; V_h 代表细胞介质的最小对称单元即半个细胞的电压降, 可以由细胞介质的总电压 V_{cell} 除以2倍的细胞数得到.

将式(1)和(2)方程组离散化后进行数值求解, 在计算程序中随时间逐步推进求解每个时刻的各电压值. 离散化过程是这样的, 先将式(1)第一个等号左右离散化:

$$G_1 U_1^m + C_1 \frac{U_1^m - U_1^{m-1}}{\Delta t} = G_2 U_2^m + C_2 \frac{U_2^m - U_2^{m-1}}{\Delta t}, \quad (3)$$

其中, Δt 表示时间步长, 上标 $m-1$ 和 m 表示相差一个时间步长的相邻时刻. 进一步有

图 1 (网络版彩图)介质阻挡放电等离子体作用于细胞的模拟结构图

Figure 1 (Color online) Simulation sketch for interaction of DBD plasmas with cells.

图 2 五层细胞介电模型结构

Figure 2 Multilayer dielectric model for cells.

$$U_1^m = \frac{C_1 U_1^{m-1} - C_2 U_2^{m-1} + (\Delta t \times G_2 + C_2) U_2^m}{\Delta t \times G_1 + C_1}, \quad (4)$$

同理, 有

$$U_i^m = \frac{C_i U_i^{m-1} - C_2 U_2^{m-1} + (\Delta t \times G_2 + C_2) U_2^m}{\Delta t \times G_i + C_i}, \quad (5)$$

其中, 下标 $i=1, 3, 4, 5$, 将式(5)代入式(2)可得

$$U_2^m = \frac{V_h^m - \sum_i \frac{C_i U_i^{m-1} - C_2 U_2^{m-1}}{\Delta t \times G_i + C_i}}{1 + \sum_i \frac{\Delta t \times G_2 + C_2}{\Delta t \times G_i + C_i}}, \quad (6)$$

其中, V_h^m 可由 V_{cell}^m 求得, 等式右边其余项都是已知的上一时刻的值; 另外有初始条件为, 细胞各层电压初始时刻的电压值均为零. 所以由式(5)和(6)可以共同构成细胞各层电压的分配公式.

为了验证本文中5层细胞介电模型本身及其数值

算法的正确性, 首先不考虑大气压介质阻挡放电及等离子体对细胞介质的影响, 类似于文献[18]中的工作, 直接将方波脉冲电压施加于该细胞介电模型, 模拟细胞膜内外的跨膜电压. 与文献[18]采用同样的细胞参数, 仅输出细胞内外膜的跨膜电压(当然其他各层的参数也可以给出), 结果如图3所示. 与文献[18]中的计算数据对比可以看到, 二者的计算结果具有相同的量级及相同的演化趋势, 这初步验证了本文所用的细胞介电模型的合理性.

当然, 上述计算结果还可以借助于公式来进一步分析. 如图3(f)所示, $1 \mu\text{s}$ 脉宽的方波作用下, 细胞膜电压最大值处, 曲线变化已接近水平稳态, 因此此时的跨膜电压值可以看作是直流电场下的结果. 对于直流电场下的细胞膜跨膜电压的计算, 通用的公式是如下的Schwan公式^[28]:

$$\Delta\varphi = 1.5RE\cos\theta. \quad (7)$$

现在将相应参数代入式(7)计算: 细胞外半径 R 对于肿瘤细胞是 $5.2 \times 10^{-4} \text{ cm}$, 对于正常细胞是 $3.3 \times 10^{-4} \text{ cm}$, 外施电场的数值为 $E=1.3 \times 10^4 \text{ V/cm}$, $\cos\theta=1$. 由Schwan公式计算可得, 肿瘤细胞外膜的跨膜电压为 10.14 V , 正常细胞外膜的跨膜电压为 6.435 V . 可以看到结果与图3(f)中的数值十分接近.

通过以上的数值计算与理论分析, 无论是计算结果的变化趋势还是具体的数值量级上, 本文所采用的多层介电模型所得到的结果都与已有文献基本一致, 表明所采用的细胞介电模型及其数值算法是合理的.

2.2 等离子体流体模型及其验证

一直以来, 用流体模型来描述大气压等离子体是常用的方法, 该模型具有较高的计算效率并可以考虑多种活性粒子, 这也是流体模型相较于粒子模型在研究大气压等离子体时的重要优势^[5,8,21], 该模型在绝大多数应用场景下也是适用的(当然需要电子能量分布函数满足麦克斯韦分布)^[29], 特别是在大气压介质阻挡放电中, 流体模型的有效性已经得到了大量实验的验证, 有关流体模型的方程形式、离散化方法及数值求解算法请参见文献[7,20]. 在本文的计算条件下, 初始时刻电子和离子的数密度均为 10^7 cm^{-3} 且在气隙中均匀分布. 两侧电极处介质板的相对介电常数为7.5, 厚度均为 1 mm . 放电气隙为 5 mm , 工作气体为氦气. 如

图 3 (网络版彩图)方波脉冲电场作用于细胞的模拟结果. (a) 130 kV/cm, 10 ns; (b) 58 kV/cm, 50 ns; (c) 41 kV/cm, 100 ns; (d) 23.8 kV/cm, 300 ns; (e) 18.4 kV/cm, 500 ns; (f) 13 kV/cm, 1 μs

Figure 3 (Color online) Simulation results of transmembrane potential of plasma membrane and nuclear envelop induced by rectangular pulses. (a) 130 kV/cm, 10 ns; (b) 58 kV/cm, 50 ns; (c) 41 kV/cm, 100 ns; (d) 23.8 kV/cm, 300 ns; (e) 18.4 kV/cm, 500 ns; (f) 13 kV/cm, 1 μs.

果不加说明, 外加电压频率为10 kHz、幅值为2000 V 的正弦电压, 计算所得的放电电流密度随时间的变化如图4所示。

从图4中可以看出, 这是典型的大气压介质阻挡放电辉光放电形式的电流波形, 每个电压正负半周期的

电压上升过程中出现一次放电电流脉冲, 电流脉宽在几十纳秒的量级。其相应的外加电压、气体电压与介质层电压随时间的演化如图5所示, 这已经为大量的研究工作所证实^[7,8]。如果将极板上的介质层用细胞来代替的话, 此时的介质层电压就是加在细胞上的

图 4 (网络版彩图)放电电流密度随时间的演化

Figure 4 (Color online) Temporal evolution of discharge current driven by sinusoidal voltage in atmospheric dielectric barrier discharges.

图 5 (网络版彩图)气体和介质电压随时间的演化

Figure 5 (Color online) Temporal evolution of gas voltage and barrier voltage in atmospheric dielectric barrier discharges.

电压. 如前所述, 施加在细胞上的电压波形对于细胞内的电场分布乃至诱导细胞凋亡等都是非常重要的, 从模拟给出的电压波形来看, 虽然总的外加电压是正弦形式, 但是施加在细胞上电压更类似于脉冲电压, 而且上升沿极快(这是由放电特性决定的), 这对于进一步深入认识细胞内的电压与电场分布是关键.

通过上面的讨论可知, 描述大气压等离子体的流体模型及描述细胞电学特性的细胞介电模型均是在各自的范围内行之有效的模型. 通过将流体模型与细胞介电模型作为整体耦合起来, 就可以将等离子体与细胞当作一个统一的系统来处理, 将外加电压施加在整个系统上, 进而将等离子体与细胞, 乃至细胞内各层上的电压与电场均自洽地计算出来. 即使等离子体源

的电压波形比较复杂^[30], 比如施加射频、脉冲乃至脉冲调制的电压波形, 借助于该模型也可以直接自洽地计算, 而不用人为假设施加在细胞上的电压形式及其随时间的演化情况.

3 模拟结果与讨论

在本文模拟的大气压介质阻挡放电中, 在极板上用多层细胞代替介质, 放电气隙为 5 mm, 工作气体为纯氦气. 细胞采用扁桃体 B 细胞的肿瘤细胞和正常细胞的电学参数^[18], 为了保证细胞介质总厚度的一致, 肿瘤细胞采用 33 层, 正常细胞则采用 52 层, 使细胞介质总厚度均为 0.48048 mm. 电极两侧施加一个频率为 10 kHz、幅值为 2000 V 的正弦电压. 需要说明的是, 由于单层细胞过薄(与放电间隙相比差别较大), 直接将单层细胞放置于极板上引起的计算误差较大, 同时进一步的计算也表明, 只要总的细胞厚度足够厚, 在确保计算稳定的情况下细胞的具体层数对最终的计算结果是没有影响的.

3.1 细胞各层电压的分布

为处理方便起见, 可以将细胞当作具有对称性的球形结构, 每个细胞可以分为对称的两半, 每半均有细胞膜、细胞质、核膜、核质及细胞外液各一层, 也就是说, 实际上一个完整细胞的上述结构都是双层的, 各层计算出来的电压也是单层的 2 倍. 图 6 给出了一个周期内, 一个完整肿瘤细胞的细胞总电压和细胞膜电压随时间的演化情况. 可以看到, 施加在细胞上的电压波形的确是如图 5 中给出的形式, 但是数值上要小得多, 并且是上下半周期对称的. 同时可以看到, 细胞膜电压占据了整个细胞电压的绝大部分, 也就是说细胞膜的跨膜电压是降在细胞上的主要电压, 而且从演化上来看比细胞电压略微滞后一点, 这可以理解细胞膜的充电需要一定的时间.

从数值上来看, 细胞电压的最大值约在 0.597 V, 而同时细胞膜电压的最大值为 0.583 V 左右, 大约只小了 2.34%, 而且两者的最大电压值均是在外加电压达到最大后出现. 同时还可以看到, 细胞与细胞膜电压的极性反转是在放电期间完成的, 大约在每周期开始后 35.39 μs 时电压快速变化, 达到较高的数值且基本保持不变, 一直到下一次放电开始. 当然, 从数值上来看,

图 6 (网络版彩图)肿瘤细胞及细胞膜电压随时间的演化

Figure 6 (Color online) Temporal voltages on the whole cell and plasma membrane.

肿瘤细胞单层细胞的电压为0.299 V, 而单层细胞膜的电压最大值为0.292 V左右, 从一个周期的整体情况来看, 除了放电的几十纳秒之外, 大气压等离子体作用下的细胞一直保持较高的跨膜电压. 当然, 从总体的电压演化来看, 降在细胞与细胞膜上的电压波形与介质阻挡放电中降在普通介质上的电压波形类似, 如图5所示.

细胞质、核膜、核质的电压波形则在图7中给出, 这里及以后未注明时均指单层膜或质的电压. 可以明显看到, 这几层细胞结构上的电压波形明显不同于细胞膜上的电压. 细胞质、核膜、核质上的电压呈现出脉冲形状, 其峰值均是出现在放电期间, 当然从计算中可以知道, 实际是比气隙放电时间, 也就是比放电电流脉冲出现的时间滞后约0.1–0.2 μs. 细胞质、核膜、核质的电压峰值分别为0.01, 0.048与0.024 V左右, 数值上比细胞膜跨膜电压要小得多, 其放电结束后的电压值更小, 比峰值电压还要小1个数量级左右. 在这几层里面, 可以明显看出核膜电压是最大的. 当然, 细胞膜和其他各层电压上的差异也完全可以从相应的电学参数看出来, 主要是由其电导和电容的数值的差别造成的.

作为对比, 图8给出了完整一个正常细胞的细胞总电压和细胞膜电压随时间的演化情况, 图9给出了正常细胞内各层电压随时间的演化, 需要注意的是这里给出的均是单层细胞结构承受的电压. 从图8可以看出, 在相同的放电条件下, 正常细胞的总电压比肿瘤细胞小, 数值在0.189 V左右, 这和个体上肿瘤细胞比较大

图 7 (网络版彩图)肿瘤细胞内各层电压随时间的演化

Figure 7 (Color online) Temporal evolution of voltages on the layers of malignant cell.

图 8 (网络版彩图)正常细胞及细胞膜电压随时间的演化

Figure 8 (Color online) Temporal evolution of normal cell and its plasma membrane.

有一定关系. 细胞膜的变化趋势和肿瘤细胞类似, 但是只有0.178 V左右, 数值比肿瘤细胞要小一些, 这有利于正常细胞外膜不被击穿.

需要特别注意的是核膜电压, 也就是内膜电压, 从图8可以看到, 正常细胞的核膜峰值电压明显比肿瘤细胞要小, 正常细胞的为0.018 V而肿瘤细胞的为0.048 V, 但是在非放电期间我们却发现正常细胞核膜电压却比肿瘤细胞的大, 例如肿瘤细胞的非放电期间核膜电压最大值为0.004 V, 而正常细胞的为0.005 V, 形成类似细胞膜电压一样的波形凸起, 尽管数值远没有细胞膜大, 这种对跨膜电压的时间分布特性有利于正常细胞内膜不被击穿.

一般说来, 跨膜电压是反映电穿孔出现与否的重要参数, 而有无电穿孔效应也是研究外加电场作用于

图 9 (网络版彩图)正常细胞内各层电压随时间的演化
Figure 9 (Color online) Temporal evolution of voltages on the layers of normal cell.

细胞时的重要关注点. 通过以上给出的计算数据可以看出, 肿瘤细胞的内外膜跨膜电压均明显大于正常细胞的内外膜电压. 根据文献[28]中对电场作用于小鼠骨髓瘤细胞的实验测量, 正弦交流激励下细胞膜的击穿电压有效值约为0.23–0.37 V, 而在1 mm直流脉冲下细胞膜击穿电压为0.95 V. 在此处, 整个等离子体与细胞体系所加的外加电压为正弦形式, 但是作用于细胞介质的电压是一种介于正弦和脉冲之间的波形(更接近于脉冲形式), 可以粗略地认为膜的击穿电压在0.23–0.95 V之间, 因此根据计算所得肿瘤细胞与正常细胞内各层数值, 可以合理地说, 当施加外加2000 V正弦电压时, 正常细胞与肿瘤细胞的内膜都没有发生击穿. 因为从计算上来看, 这里的电压上升率和观察到内膜击穿的300 kV/cm纳秒脉冲放电的电压上升率差距很远[28]. 但是对于外膜即细胞膜, 从数值上来看, 施加2000 V电压时, 正常细胞外膜没有发生击穿(电压在0.189 V左右, 小于击穿所需的0.23 V), 但是从数据上来看肿瘤细胞膜却是可能发生了击穿(电压为0.292 V, 已经介于0.23与0.95 V之间, 存在击穿的可能). 即肿瘤细胞的外膜相比正常细胞而言更容易击穿.

从结构上来说核膜之所以在放电期间没有形成细胞膜那样高的电压, 简单地讲是因为虽然核膜、细胞膜都是生物膜结构, 但是其构造却大有区别. 比如细胞膜是单层生物膜且上面没有孔, 核膜是双层生物膜但是上面有可以使大分子通过的核孔, 这造成核膜电导比细胞膜大很多, 虽仍小于细胞质和核质的电导但

是却在同一个数量级上, 在外电压反向时不能迅速反向积累足够的电荷, 而不够迅速的后果就是电场被迅速完成积累的外膜电荷所屏蔽.

图10给出了细胞膜及核膜中的电场变化情况, 虽然两者电压差别较大, 但是由于核膜的厚度较小, 两者之间的最大的电场值还是比较接近的. 但是, 由于核膜电压在放电期间达到峰值, 可以看到, 核膜电场仅在细胞电压翻转期间出现较大的数值. 由于细胞膜上的压降更大并且膜结构更薄所以细胞膜的电场比核膜高一些, 而且持续时间要远远长于核膜电场, 在这种情况下细胞膜比核膜更容易击穿. 事实上根据有关研究, 只有场强变化率极高的纳秒脉冲放电下才有可能使核膜先于细胞膜击穿, 实际上从模拟中给出的核膜的电场波形也可以看出其内在的原因. 核膜电场的快速上升并达到最大值是在放电过程中完成的, 而要实现现在放电期间气体电压和介质电压可在纳秒量级上发生变化, 施加脉冲电压是一种有效的选择, 这就是为什么内膜击穿往往需要外加电压变化率比较高的脉冲电压的原因. 而细胞膜电压上升虽然是在放电期间, 但是其达到并维持较大的数值却是在放电结束以后. 所以, 如果合理地选择外加电压波形, 比如纳秒脉冲电压, 就可以做到首先击穿内膜而保持外膜的完整.

图11给出了细胞膜和核膜两侧的积累电荷随时间的演化情况, 可以看到, 细胞膜内外两侧正负电荷量是对称的, 而核膜内外的电荷并不对称. 这可以由图12得到解释, 该图中给出了细胞各层的传导电流随时间的演化情况, 在放电期间细胞质、核质、细胞外液有明显的传导电流峰, 其峰值分别为0.57, 1.39和0.57 mA/cm². 细胞质和细胞外液中的传导电流曲线几乎完全重合, 所以细胞膜内外电荷量呈对称变化. 而核膜两侧即细胞质和核质中的传导电流大小明显不同, 所以核膜内外电荷的演化并不对称.

细胞内外膜中的传导电流很小, 与质液中的相比有数量级的差别. 细胞膜传导电流最大值约0.038 mA/cm², 和细胞质非放电期间的数值基本一致, 这主要是因为细胞膜的电导率极小、绝缘性好, 带电粒子的通过非常困难. 在放电期间, 介质电压的正负发生翻转, 促使细胞膜中带电粒子流动方向发生变化, 细胞膜的电导极小电流很小, 使电流的方向变化而数值的绝对值大小变化不明显, 而其他各层的电导相对较大就会在电压翻转的过程中出现电流峰. 细胞膜内

图 10 (网络版彩图)肿瘤细胞内外膜中的电场演化
Figure 10 (Color online) Temporal evolution of electric field in inner and outer membrane.

图 11 (网络版彩图)细胞介质中积累电荷随时间的演化
Figure 11 (Color online) Temporal evolution of accumulated charges of layers in cell.

外液中传导电流带来的电荷在电导极低的细胞膜表面发生积累, 积累电荷在细胞内产生一个反向电场, 使细胞内的合成电场变小进而使其传导电流迅速变小; 而同时该积累电荷则加强了细胞膜中的电场, 使得细胞电压大部分降落在细胞膜上。

核膜传导电流在放电期间虽也有峰值但其峰值只有 0.006 mA/cm^2 , 峰值比细胞膜的还小, 这可以理解为是细胞膜的静电屏蔽效果造成的。核膜内外电荷的积累对细胞膜没有大的影响, 但是细胞膜电荷的积累却会起到类似静电屏蔽的效果使得细胞内部各处的电场都降低, 所以由图11可以看到在放电期间细胞膜和核膜两侧的电荷都急剧变化, 但是当细胞膜表面迅速完成了正负电荷的释放和反向积累后, 此时虽然核膜还没有完成这个过程, 但是由于受到细胞膜电荷的屏蔽

图 12 (网络版彩图)细胞介质中传导电流随时间的演化
Figure 12 (Color online) Temporal evolution of conductive currents of layers in cell.

作用, 使得核膜内的电场较小, 如图10所示。

3.2 放电参数对细胞各层电压的影响

众所周知, 放电参数, 特别是电压幅值和激励频率对介质阻挡放电具有明显的影响, 这方面已经有较为充分的实验与理论研究^[7,8]。这样, 放电参数的变化会对细胞上的电压, 进而对细胞各层上的电压分布产生影响。

图13给出了外施电压幅值在1800–2400 V变化时细胞各层电压的最大值的演化情况, 在该电压区间时放电始终每半周期出现一个电流脉冲的辉光放电。可以看到, 随着外施电压幅值的增大, 细胞各层电压近乎线性增大, 就增长的绝对量而言细胞膜电压增加得最多, 就相对增长比例而言则细胞外液、细胞膜、细胞质、核膜、核质分别增加了45.69%, 43.48%, 45.61%, 39.49%, 45.68%, 这里可以看到细胞膜电压比核膜电压增加得更快。

当外施电压幅值增大到2400 V以上时, 放电由单电流脉冲的辉光放电转为多电流脉冲的辉光放电, 随电压幅值的增加电流脉冲的个数会增加。但是对于每一个放电脉冲一般来说, 如果放电比较充分的话依旧是辉光放电类型。与单电流脉冲辉光放电相比, 多电流脉冲辉光放电的情况下, 细胞各层电压最大值随外施电压幅值的演化情况如图14所示, 细胞各层电压最大值随外施电压幅值的增加依旧是增大的, 但是增速已经放缓, 最后有一种趋向于饱和的趋势。只有细胞膜尚保持线性但是增速更大了, 而核膜电压甚至会略微下降。这种变化趋势一方面可以从多脉冲大气压介

图 13 (网络版彩图)单电流峰条件下细胞各层电压最大值随外施电压幅值的变化

Figure 13 (Color online) Maximum voltages on layers in cell as a function of applied voltage with only one current peak in a half cycle.

图 14 (网络版彩图)多电流脉冲条件下细胞各层电压最大值随外施电压幅值的变化

Figure 14 (Color online) Maximum voltages on layers as a function of applied voltage with multiple current peaks in a half cycle.

质阻挡放电的气体电压演化来理解, 另外还需要考虑细胞介电模型各层的电容与电阻值. 至于从生物学角度来理解这种演化还需要进一步的深入研究.

同样也可以借助于数值计算研究细胞内各层电压随电源频率的变化情况, 进而为放电频率的优化提供一定依据. 如上所述, 在 2000 V 电压下, 频率为 10 kHz 时放电为单电流脉冲形式, 一般说来, 在外加电压不变的情况下, 随着频率的增加, 放电始终为单电流脉冲的辉光放电形式, 而且电流幅值会增大, 同时电流脉宽变窄^[7]. 图 15 给出了细胞各层电压的最大值随外施频率的变化情况, 细胞各层电压会随着频率的增大而增大, 从 7–18 kHz 的变化过程中, 细胞外液、细胞膜、细胞质、核膜、核质各自增大了 110.52%, 49.96%,

110.29%, 95.44%, 110.54%, 可以看到, 核膜电压比细胞膜电压增加得要更快, 这一点与外施电压幅值变化时的规律有所不同, 但和一些文献中提到的脉宽更窄的脉冲更容易获得较高的内膜电压有一定的相关性^[16], 当然进一步的机理探讨还需要更为深入的实验与计算研究.

当保持其他放电参数不变, 将 7000 V 电压施加在同样厚度的肿瘤细胞介质和正常细胞介质, 图 16 给出了外加 7000 V 正弦电压时两种细胞内外膜跨膜电压的演化过程. 这时候由于外加电压较大, 放电为多电流峰形式, 所以跨膜电压波形与图 8 及图 10 有所区别. 由计

图 15 (网络版彩图)单电流峰条件下细胞各层电压最大值随频率的变化

Figure 15 (Color online) Maximum voltages on the layers in cell as a function of excitation frequency.

图 16 (网络版彩图)7000 V 电压时的细胞内外膜跨膜电压的演化

Figure 16 (Color online) Temporal evolution of voltages of inner and outer membrane in cell with applied voltage of 7000 V.

算可知, 当外加电压为 7000 V 时, 肿瘤细胞内外膜跨膜电压峰值分别为 1.64179 和 0.06787 V, 正常细胞内外膜跨膜电压峰值分别为 1.00246 和 0.02896 V, 如图 14 所示.

根据上面讨论, 如果认为膜的击穿电压在 0.23–0.95 V 之间的话, 基于数值计算的结果, 可以合理地说, 当外加电压为 7000 V 时肿瘤细胞和正常细胞的外膜都发生了击穿. 而在图 10 所示的 2000 V 的结果中, 正常细胞的外膜没有发生击穿而肿瘤细胞的外膜发生了击穿. 这就意味着, 从理论上来说可以通过合理优化外加电压幅值, 使得正常细胞与肿瘤细胞内外膜发生选择性的击穿.

4 结论

众所周知, 目前等离子体与生物材料相互作用虽然引起了人们极大地关注, 大气压等离子体与各种生物组织(细胞、皮肤、基因等)的实验结果也是层出不穷, 这些实验结果从不同的广度和深度上表明了大气压等离子体对生物组织的有效性. 但是, 我们始终缺乏对等离子体与细胞相互作用机理的深入认识, 特别是目前还缺乏系统的理论来解释和指导实验的发展. 本文以大气压介质阻挡放电为等离子体源, 将等离子体流体模型与细胞多层介电模型耦合起来, 得到一种解决多层介电模型电压分配的数值算法, 从而可以自洽地计算等离子体、细胞及细胞内各层的电压. 当然, 这样对于细胞的分析可能就较为简化, 只能给出电压、电流、电荷等电学参数, 对细胞的内部结构则无法涉及.

通过分析计算数据, 可以看到介质阻挡放电中, 在通常的辉光放电模式下, 等离子体作用于细胞上的电压波形类似上升(下降)速率较快的脉冲电压, 其中细胞膜电压占据了主要部分. 细胞质、核质、核膜等其他各层的电压较小并只在放电期间出现峰值. 通过将

正常细胞和肿瘤细胞的各层电压分布对比可以发现, 等离子体在肿瘤细胞中造成的细胞膜跨膜电压明显高于正常细胞中的跨膜电压, 这样可以合理选择电压幅值, 使正常细胞保持完好而肿瘤细胞实现击穿. 对于细胞内膜, 数值计算表明在放电期间正常细胞的内膜电压比肿瘤细胞的要小, 但是在放电结束后正常细胞的内膜电压比肿瘤细胞的要大, 这种电压分布特征从效果上来看是有利于正常细胞内膜不受电伤害的. 而且, 通过分析内膜与外膜中电场的时空演化, 可以合理选择外加电压的频率与幅值, 使内膜击穿而外膜保持完整.

到目前为止, 从理论计算的角度来研究等离子体对生物材料的各种相互作用的研究工作还比较少, 面临的困难较多. 从理论模型的构建、边界条件的选取、生物组织与材料的理论简化等各个方面来看, 等离子体与生物相互作用的理论与模拟研究都还处在起步阶段. 而且, 理论与实验结果的对比验证也还面临着许多问题. 比如说, 大气压等离子体对细胞的作用往往是多种效应共同生效的结果, 从实验上来说单独抽取一种效应来研究是比较困难的; 而与此相反, 作为理论计算, 单独抽取一种效应来研究却是比较方便和常用的, 综合将各种效应考虑在一个模型中进行研究反而还有本质的困难, 比如从初步的研究来看, 要研究不同效应所使用的模型类型应该也是不同的. 本文所做的工作也只是关于等离子体对细胞电磁效应的一个初步的探索, 将细胞抽象简化为介电模型, 并没有考虑细胞各层的具体结构, 且所用的介电参数也均为常数, 一些计算还有很大完善的余地, 进一步的细化研究工作正在进行中, 特别是脉冲放电等离子体作用于细胞时的情形^[31,32]. 当然, 等离子体中活性粒子对细胞的生化效应可能是更为重要的一种相互作用, 目前很多实验研究的重点也是讨论等离子体中的活性粒子对细胞或生物组织的影响, 我们也正在借助于反应分子动力学模拟进行相关的理论研究工作^[13].

参考文献

- 1 Laroussi M. Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. *IEEE Trans Plasma Sci*, 1996, 24: 1188–1191
- 2 Fridman G, Brooks A D, Balasubramanian M, et al. Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. *Plasma Process Polym*, 2007, 4: 370–375
- 3 Laroussi M, Lu X. Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications. *Appl Phys Lett*, 2005, 87: 113902
- 4 Fridman G, Shereshevsky A, Jost M M, et al. Floating electrode dielectric barrier discharge plasma in air promoting apoptotic behavior in

- melanoma skin cancer cell lines. [Plasma Chem Plasma Process](#), 2007, 27: 163–176
- 5 Lee H W, Park G Y, Seo Y S, et al. Modelling of atmospheric pressure plasmas for biomedical applications. [J Phys D-Appl Phys](#), 2011, 44: 053001
- 6 Dobrynin D, Fridman G, Friedman G, et al. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. [New J Phys](#), 2009, 11: 115020
- 7 Golubovskii Y B, Maiorov V A, Behnke J, et al. Modelling of the homogeneous barrier discharge in helium at atmospheric pressure. [J Phys D-Appl Phys](#), 2003, 36: 39–49
- 8 Zhang Y T, Wang D Z, Kong M G. Complex dynamic behaviors of nonequilibrium atmospheric dielectric-barrier discharges. [J Appl Phys](#), 2006, 100: 063304
- 9 Nie Q Y, Zhang X F, Li H P, et al. Advances of atmospheric-pressure dielectric-barrier-discharge plasma jets (in Chinese). [Sci Sin-Phys Mech Astron](#), 2014, 44: 1157–1169 [聂秋月, 张晓菲, 李和平, 等. 大气压介质阻挡放电等离子体射流源研究进展. 中国科学: 物理 力学 天文学, 2014, 44: 1157–1169]
- 10 Xiong Z L, Lu X P, Cao Y G. Plasma medicine (in Chinese). [Sci Sin-Tech Sci](#), 2011, 41: 1279–1298 [熊紫兰, 卢新培, 曹颖光. 等离子体医学. 中国科学: 技术科学, 2011, 41: 1279–1298]
- 11 Nosenko T, Shimizu T, Morfill G E. Designing plasmas for chronic wound disinfection. [New J Phys](#), 2009, 11: 115013
- 12 He J, Zhang Y. Generation of reactive oxygen species in helium-oxygen radio-frequency discharges at atmospheric pressure. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 2013, 41: 2979–2986
- 13 Zhao T, Shi L, Zhang Y T, et al. A ReaxFF-based molecular dynamics study of the mechanisms of interactions between reactive oxygen plasma species and the *Candida albicans* cell wall. [Phys Plasmas](#), 2017, 24: 103518
- 14 Okino M, Mohri M. Effects of a high-voltage electrical impulse and an anticancer drug on *in vivo* growing tumors. [Jap J Cancer Res Gann](#), 1987, 78: 1319–1321
- 15 Schoenbach K H, Peterkin F E, Alden R W, et al. The effect of pulsed electric fields on biological cells: Experiments and applications. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 1997, 25: 284–292
- 16 Schoenbach K H, Joshi R P, Kolb J F, et al. Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells. [Proc IEEE](#), 2004, 92: 1122–1137
- 17 Beebe S J, Fox P M, Rec L J, et al. Nanosecond pulsed electric field (nsPEF) effects on cells and tissues: Apoptosis induction and tumor growth inhibition. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 2002, 30: 286–292
- 18 Yao C G, Li C X, Sun C X, et al. Electroporation model of cell inner and outer membrane induced by pulsed electric field and its simulation of transmembrane potential (in Chinese). [Proc CSEE](#), 2006, 26: 123–128 [姚陈果, 李成祥, 孙才新, 等. 脉冲电场诱导细胞内外膜电穿孔模型与跨膜电位的仿真. 中国电机工程学报, 2006, 26: 123–128]
- 19 Pakhomov A G, Murthy P R. Low-intensity millimeter waves as a novel therapeutic modality. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 2000, 28: 34–40
- 20 Zhang Y T, Li Q Q, Lou J, et al. The characteristics of atmospheric radio frequency discharges with frequency increasing at a constant power density. [Appl Phys Lett](#), 2010, 97: 141504
- 21 Yuan X, Raja L L. Computational study of capacitively coupled high-pressure glow discharges in helium. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 2003, 31: 495–503
- 22 Kotnik T, Miklavčič D. Analytical description of transmembrane voltage induced by electric fields on spheroidal cells. [Biophys J](#), 2000, 79: 670–679
- 23 Grosse C, Schwan H P. Cellular membrane potentials induced by alternating fields. [Biophys J](#), 1992, 63: 1632–1642
- 24 Joshi R P, Hu Q, Schoenbach K H. Modeling studies of cell response to ultrashort, high-intensity electric fields—Implications for intracellular manipulation. [IEEE Trans Plasma Sci](#), 2004, 32: 1677–1686
- 25 Pavlin M, Slivnik T, Miklavcic D. Effective conductivity of cell suspensions. [IEEE Trans Biomed Eng](#), 2002, 49: 77–80
- 26 Yao C G, Liu H M, Zhao Y J, et al. Simulation on the process of electroporation in spherical single-cell and irregularly shaped real cells based on finite elements analysis (in Chinese). [High Voltage](#), 2016, 42: 2387–2394 [姚陈果, 刘红梅, 赵亚军, 等. 基于有限元分析的球形单细胞及不规则真实细胞电穿孔动态过程仿真. 高电压技术, 2016, 42: 2387–2394]
- 27 Ermolina I, Polevaya Y, Feldman Y, et al. Study of normal and malignant white blood cells by time domain dielectric spectroscopy. [IEEE Trans Dielect Electr Insul](#), 2001, 8: 253–261
- 28 Marszalek P, Liu D S, Tsong T Y. Schwan equation and transmembrane potential induced by alternating electric field. [Biophys J](#), 1990, 58: 1053–

1058

- 29 Zhang Y T, Shang W L. The recovery of glow-plasma structure in atmospheric radio frequency microplasmas at very small gaps. *Phys Plasmas*, 2011, 18: 110701
- 30 Xu Y G, Zhu S, Tang J, et al. Characterization and mechanism studies of argon dielectric barrier discharge excited by a Gaussian voltage at atmospheric pressure (in Chinese). *Sci Sin-Phys Mech Astron*, 2016, 46: 115201 [徐永刚, 朱莎, 汤洁, 等. 高斯电压驱动大气压氩气介质阻挡放电的特性研究. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2016, 46: 115201]
- 31 Lu X P, Yan P, Ren C S. Review on atmospheric pressure pulsed DC discharge (in Chinese). *Sci Sin-Phys Mech Astron*, 2011, 41: 801–815 [卢新培, 严萍, 任春生, 等. 大气压脉冲放电等离子体的研究现状与展望. 中国科学: 物理学 力学 天文学, 2011, 41: 801–815]
- 32 Zhang Y T, Wang Y H. Modeling study on the effects of pulse rise rate in atmospheric pulsed discharges. *Phys Plasmas*, 2018, 25: 023509

Numerical study on distribution of electric fields in cells induced by atmospheric helium plasmas

LIU Yu^{1,3}, GAO HaoTian², ZHAO Tong¹, ZOU Liang¹ & ZHANG YuanTao^{1*}

¹ School of Electrical Engineering, Shandong University, Jinan 250061, China;

² School of Electrical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

³ Huzhou Power Supply Company of State Grid of Zhejiang Electric Power Company, Huzhou 313000, China

In recent years, plasma medicine has attracted more and more attentions with the fast development of atmospheric plasmas technology. The experimental measurements have definitely shown some positive effects on the biological tissue and materials, however, the mechanisms of interactions between atmospheric plasma and cells are still unknown. In this paper, we coupled the fluid model and multi-layer dielectric of spherical cell to investigate the temporal-spatial distribution of electric fields in the cells induced by the atmospheric plasmas generated by dielectric barrier discharges. From the simulation data, the voltage on the cell almost totally drops on plasma membrane and the voltage on the plasma membrane is much larger than that of normal cells. On the other hand, both the transmembrane potentials of inner and outer membrane rise very fast during the process of ignition, then the former drops quickly after the breakdown, but the later sustains at a relatively large value until the next breakdown event. The influences on the voltage distribution in cell of applied voltage and excitation frequency are also discussed based on the simulation data. At present, the numerical investigations on the interaction of plasma and cells still need to be greatly developed, and the given simulation in this work will show some insights to the further theoretical study.

atmospheric plasmas, dielectric barrier discharges, multi-layer dielectric model, transmembrane potential, modeling study

PACS: 52.80.Pi, 52.65.Kj, 52.25.-b

doi: [10.1360/SSPMA2018-00188](https://doi.org/10.1360/SSPMA2018-00188)