УДК 536:532:530.1:512.111

К РАСЧЕТУ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ И РЕЖИМНЫХ ПАРАМЕТРОВ ПРОТОЧНОГО МИКРОБИОРЕАКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК[1]

© 2007 Д.А. Казенин, С.П. Карлов, Б.Г. Покусаев,[2] А.И. Журов,[3] Д.П. Эшлиман[4]

На основе точного решения задачи конвективной дисперсии примеси, выделяемой точечным источником в инфильтруемой среде с поглощением, построено однопараметрическое семейство замкнутых, вложенных друг в друга областей, ограниченных изоконцентратами. Полученные результаты предполагается использовать при проектировании проточных микробиореакторов для искусственного культивирования (in vitro) клеточных культур.

Введение

Проблема аппаратурного культивирования стволовых клеток, могущих служить исходным материалом регенерации тканей путем клеточной терапии, является одной из важных современных проблем мировой медикобиологической науки. Способность стволовых клеток к размножению, самоподдержанию и дифференцировке, а также возможность трансплантации аллогенных (донорских) клеток при клеточной терапии некоторых патологических состояний организма, например, в кардиологии, неврологии, онкологии, делает перспективным развитие теории и практики их искусственного (in vitro) культивирования [1]. Кроме того, дифференцировка стволовых клеток, являющаяся главной частью морфогенеза и происходящая

[1]Представлена доктором физико-математических наук, профессором А.В. Манжировым.

[2]Казенин Дмитрий Александрович (kazenin@nm.ru), Карлов Сергей Петрович (karlovsp@mail.ru), Покусаев Борис Григорьевич (pokusaev@mail.ru), Московский государственный университет инженерной экологии, 105066, Россия, г. Москва, ул. Старая Басманная, 21/4.

[3]Журов Алексей Иванович (ZhurovAI@cardiff.ac.uk), Кардиффский университет, г. Кардифф, Великобритания; Институт проблем механики РАН, 119526, Россия, г. Москва, просп. Вернадского, 101, корп. 1.

[4]Эшлиман Даниель–Питер (AeschlimannDP@cardiff.ac.uk), Кардиффский университет, Великобритания, г. Кардифф.

под влиянием механохимических воздействий [2], может быть удобнее всего осуществлена в искусственном проточном микробиореакторе (хемостате) с контролируемыми режимами работы [3, 4]. Известно, что клетки чувствительны как к концентрации питательных веществ, так и к слабым тангенциальным напряжениям (0,5–1,0 Па), создаваемым жидкостью в среде [5].

1. Формулировка задачи

Иммобилизация клеточных культур в хемостате осуществляется на специальном геле — нанопористой среде, армированной кросслинкером — длинными цепными полимерными молекулами. Эта среда обладает упруговязкой реологией, пористостью, проницаемостью и дисперсионными (рассеивающими) свойствами при продавливании через нее культуральной жидкости. Культуральная жидкость, представляющая собой раствор необходимых для питания клеток веществ (субстрат), вводится в реактор в виде ламинарных струек (Re = 0,001–1) через мембрану с размером пор до нескольких десятков микрометров и выводится из него через мембрану с размером пор порядка нескольких микрометров. Баланс площадей пор во входном и выходном сечениях позволяет считать, что в реакторе осуществляется приблизительно однородное осевое фильтрационное течение раствора со скоростью фильтрации w, м/с.

Будем считать, что фильтрация через гель осуществляется по закону Дарси [6]

$$w = \frac{k_0}{\mu}\frac{\Delta p}{H}, \tag{1}$$

где k_0 — проницаемость геля, м^2; Δp — перепад давления на слое геля, Па; μ — динамическая вязкость фильтруемого раствора, Па·с; H — толщина слоя геля, м.

Следует заметить, что закон Дарси имеет ограничение по скоростям фильтрации как сверху, когда связь между скоростью и градиентом давления становится нелинейной, так и снизу, когда начинает сильно сказываться действие молекулярных сил [6]. Проницаемость геля k_0 является его фундаментальным свойством, которое можно оценить на основании (1), измеряя фильтрационный расход и перепад давления. Другой фундаментальной характеристикой геля как фильтрационной среды, описывающей его диспергирующие свойства, является эффективный коэффициент латеральной дисперсии D, м^2/с. Он характеризует рассеяние элементарных струек фильтрата на неоднородностях тела геля.

В результате "букет" элементарных струек, содержащих свежий субстрат и выходящих из дискретной поры входной мембраны, как из точечного источника, оказывается занимающим конечную область тела геля — факел. Если совокупность этих факелов перекрывает всю занимаемую гелем область, в которую имплантированы иммобилизованные гелем стволовые клетки, значит, клетки получают полноценное питание. Расчет проточного реактора сводится, по существу, к оценке числа и размеров насыщенных свежим субстратом факелов. Размеры факела должны определяться скоростью фильтрации, количеством подаваемого субстрата, эффективным коэффициентом дисперсии и скоростью потребления субстрата клетками.

Для проведения этих оценок рассматривается следующая модельная задача конвективной диффузии субстрата в среде с рассеянием и поглощением. В безграничной среде, инфильтруемой жидкостью со скоростью w, работает помещенный в начало цилиндрических координат r, z точечный источник, выделяющий q кг/с субстрата. Субстрат сносится по оси z фильтрационным течением и диффундирует по оси r с коэффициентом латеральной дисперсии D. Кроме того, в каждой точке пространства субстрат поглощается со скоростью Kc, где K — распределенная по пространству кинетическая функция потребления, с^{-1}, а c — локальная концентрация субстрата, кг/м^3. Математически задача о распределении концентрации субстрата в пространстве описывается уравнением

$$w\frac{\partial c}{\partial z} = \frac{D}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(r\frac{\partial c}{\partial r}\right) + q\delta(r)\delta(z) - Kc; \qquad 0 \leqslant r < \infty, \qquad -\infty < z < \infty. \tag{2}$$

Здесь $\delta(r)$, $\delta(z)$ — дельта-функции Дирака соответствующих координат.

Это задача без начальных и граничных условий. Ее специфика заключается в дельтообразно представленном источниковом члене.

2. Решение уравнения (2)

Уравнение (2) приводится к классическому уравнению теплопроводности с постоянным источником с помощью преобразования переменных [7]

$$t = \frac{Dz}{w}, \quad \theta = c\exp\left(\frac{Kt}{D}\right). \tag{3}$$

Воспользуемся также известным свойством дельта-функции [8]

$$\delta(z) = \delta\left(\frac{Dz}{w}\frac{w}{D}\right) = \delta\left(t\frac{w}{D}\right) = \frac{D}{w}\delta(t). \tag{4}$$

Уравнение (2) при этом принимает вид

$$\frac{\partial\theta}{\partial t} = \frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(r\frac{\partial\theta}{\partial r}\right) + q\delta(r)\delta(t); \qquad 0 \leqslant r < \infty, \qquad -\infty < t < \infty. \tag{5}$$

Уравнение (5) будем решать методом функции Грина, которая для данной задачи имеет вид [9]

$$G(r, \rho, t, \tau) = \frac{1}{4\pi(t-\tau)}\exp\left[-\frac{r^2+\rho^2}{4(t-\tau)}\right] I_0\left(\frac{r\rho}{2(t-\tau)}\right), \tag{6}$$

где I_0 — модифицированная функция Бесселя [8]. Тогда, согласно [7, 9], решение (5) есть

$$\theta(r, t) = \int_0^\infty \int_{-\infty}^\infty G(r, \rho, t, \tau)\frac{q}{w}\delta(\rho)\delta(\tau)\, d\rho\, d\tau. \tag{7}$$

Принимая во внимание еще одно свойство дельта-функции [8]

$$\int_0^{\infty} f(r-\rho)\delta(\rho)\,d\rho = f(r), \qquad \int_{-\infty}^{\infty} f(t-\tau)\delta(\tau)\,d\tau = f(t), \tag{8}$$

а также то, что [8]

$$I_0(0) = 1, \tag{9}$$

получаем, вычисляя (7), решение уравнения (5) в виде

$$\theta(r,t) = \frac{1}{4\pi t}\exp\left(-\frac{r^2}{4t}\right)\frac{q}{w}. \tag{10}$$

Возвращаясь, согласно преобразованиям (3), обратно к переменным z и θ, находим выражение для $c(r,z)$:

$$c(r,z) = \frac{q}{4\pi Dz}\exp\left(-\frac{r^2 w}{4Dz} - \frac{K}{w}z\right). \tag{11}$$

3. Результаты исследования

Выражение (11) представляет собой точное решение задачи (2). Однако практически более интересно построить пространственные области, ограниченные изоконцентратами. Для этого, положив $c = \text{const}$, следует разрешить выражение (11) относительно r:

$$r(z) = 2\sqrt{\frac{Dz}{w}\left(\ln\frac{q}{4\pi Dcz} - \frac{Kz}{w}\right)}. \tag{12}$$

Выражение (12) описывает однопараметрическое (параметр c) семейство поверхностей — изоконцентрат. Элементарный анализ показывает, что это «грушевидные» замкнутые, вложенные друг в друга поверхности, пересекающие ось z в точках $z = 0$ и $z = z_0$. Точка z_0 определяется из решения трансцендентного уравнения

$$\frac{q}{4\pi Dcz_0} = \exp\left(\frac{Kz_0}{w}\right). \tag{13}$$

Максимальная полутолщина «грушевидной» области достигается в точке $z = z_*$, определяемой решением трансцендентного уравнения

$$\frac{q}{4\pi Dcz_*} = \exp\left(2\frac{Kz_*}{w} + 1\right), \tag{14}$$

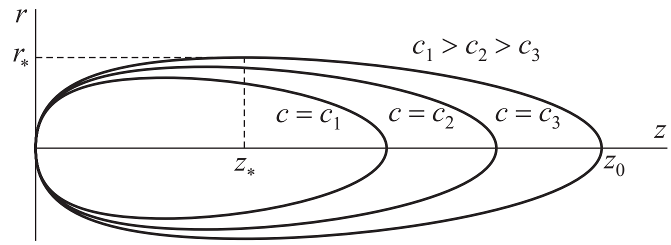
и равна

$$r_* = r(z_*) = 2\sqrt{\frac{Dz_*}{w}\left(\frac{Kz_*}{w} + 1\right)}. \tag{15}$$

Вид областей, ограниченных изоконцентратами $c = c_1$, $c = c_2$ и $c = c_3$ при $c_1 > c_2 > c_3$, показан на рисунке.

Будем называть ”грушевидную” область, соответствующую минимально необходимому значению концентрации

$$c = c_{\min}, \tag{16}$$



факелом.

В частном случае малости безразмерного параметра Kz_0/w при

$$\frac{Kz_0}{w} \ll 1 \tag{17}$$

выражения для z_0, z_* и r_* принимают особенно простой вид:

$$z_0 = \frac{q}{4\pi D c_{\min}}, \qquad z_* = \frac{z_0}{e}, \qquad r_* = \sqrt{\frac{q}{\pi e w c_{\min}}}, \tag{18}$$

где e — основание натурального логарифма.

Формулы (18) вкупе с визуальными наблюдениями и измерением факела позволяют оценить дисперсные свойства геля, т.е. найти параметр D, а также параметр $c_{\min}$:

$$D = \frac{q}{4\pi z_0 c_{\min}}, \qquad c_{\min} = \frac{q}{\pi e w r_*^2}. \tag{19}$$

Тогда окончательно

$$D = \frac{e w r_*^2}{4 z_0}. \tag{20}$$

Зная проницаемость геля (формула (1)) и его дисперсионные свойства (формула (2)), можно, задавая μ и $c_{\min}$, выбрать геометрические и режимные параметры микробиореактора, такие как размер и плотность пор мембран во входном и выходном сечениях, расход жидкости и входная концентрация питательных веществ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 05-02-16313) и НАТО (грант GBR.NR.NRCLG 98113).

Литература

[1] Романов, Ю.А. Стволовые клетки в современной медицине: настоящее и будущее / Ю.А. Романов // Открытое образование. – 2006. – №3. – С. 89–92.

[2] Белинцев, Б.Н. Физические основы биологического формообразования / Б.Н. Белинцев. – М.: Наука, ГРФМЛ, 1991. – 253 с.

[3] Романовский, Ю.М. Что такое математическая биофизика / Ю.М. Романовский, Н.В. Степанова, Д.С. Чернавский. – М.: Просвещение, 1971. – 136 с.

[4] Варфоломеев, С.Д. Биокинетика / С.Д. Варфоломеев, К.Г. Гуревич. – М.: ФАИР ПРЕСС, 1999. – 716 с.

[5] Stathopoulos, N.A. Shear-stress effects on human-embryonic kidney-cells in vitro / N.A. Stathopoulos, J.D. Hellums // Biotechnology and Bioengineering. – 1985. – Vol. 27. – P. 1021–1026.

[6] Полубаринова–Кочина, П.Я. Теория движения грунтовых вод / П.Я. Полубаринова–Кочина. – М.: Наука ГРФМЛ, 1977. – 664 с.

[7] Справочник по точным решениям уравнений тепло- и массообмена / А.Д. Полянин [и др.]. – М.: Факториал, 1998. – 368 с.

[8] Корн, Г. Справочник по математике (для научных работников и инженеров) / Г. Корн, Т. Корн. – М.: Лань, 2003. – 832 с.

[9] Бутковский, А.Г. Характеристики систем с распределенными параметрами / А.Г. Бутковский. – М.: Наука ГРФМЛ, 1979. – 224 с.

Поступила в редакцию 28/V/2007;
в окончательном варианте — 28/V/2007.

THE CALCULATION OF GEOMETRIC AND OPERATING PARAMETERS OF A FLOW MICROBIOREACTOR FOR CULTIVATION OF STEM CELLS[5]

© 2007 D.A. Kazenin, S.P. Karlov, B.G. Pokusaev[6], A.I. Zhurov, D.P. Aeschlimann[7]

A convective dispersion problem for a solute in a flow through a nanoporous medium is considered; the solute injection is modelled by a point source and the medium is characterized by a linear volumetric absorption function. The exact solution to the problem is obtained and a one-parameter family of closed embedded isocontentration regions is constructed. The geometry of the regions is described and the lateral dispersion coefficient is evaluated. The results obtained are intended to be used in designing flow microbioreactors for (in vitro) cultivation of cell cultures.

Paper received 28/V/2007.
Paper accepted 28/V/2007.

[5]Communicated by Dr. Sci. (Phys. & Math.) Prof. A.V. Manzhirov.

[6]Kazenin Dmitry Alexandrovich (kazenin@nm.ru), Karlov Sergei Petrovich (karlovsp@mail.ru), Pokusaev, Boris Grigor'evich (pokusaev@mail.ru), Moscow State University of Environmental Engineering, Moscow, 105066, Russia.

[7]Zhurov Alexei Ivanovich (ZhurovAI@cardiff.ac.uk), Aeschlimann Daniel Peter (AeschlimannDP@cardiff.ac.uk), Cardiff University, School of Dentistry, Cardiff CF14 4XY, United Kingdom; Institute for Problems in Mechanics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119526, Russia.