

Карабачинский А.Л., Семеренко Д.А.,
Дубцов А.В., Степанов Г.В.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛИ ГАЗООБМЕНА И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК НА ПОДВИЖНОЙ МЕМБРАНЕ*

Аннотация. В данной статье рассматриваются возможные решения задачи обеспечения оптимального режима газообмена и размножения клеток на подвижной мембране в питательной жидкой среде в биореакторе. Разработана модель сопряжения колебаний подвижной мембраны с кинетикой газообмена и размножения клеток. На модели проведено исследование фазовых портретов динамической системы «подвижная мембрана – жидкость – кислород и углекислый газ – клетки».

Ключевые слова: подвижная мембрана, микромикширование, клетки, газообмен, фазовые портреты системы.

A. Karabachinskiy, D. Semerenko, A. Dubtsov, G. Stepanov
INVESTIGATION OF THE MODEL OF RESPIRATORY EXCHANGE AND CELLS
PROLIFERATION ON A VIBRATING MEMBRANE

Abstract. In this paper, the possible solutions of the problem of optimal regime supplying of respiratory exchange and cells proliferation in a nutrient medium in a bioreactor are considered. The model of oscillating conjugation of vibrating membrane with kinetics of respiratory exchange and cells proliferation is developed. Phase portraits investigation of dynamic system “vibrating membrane – liquid – oxygen and carbon dioxide – cells” was held.

Key words: vibrating membrane, micromixing, cells, respiratory exchange, phase portrait of the system.

В настоящее время культивирование клеток осуществляется на неподвижной мембране в питательной среде биореактора. Актуальной представляется проблема кинетики размножения клеток в пограничном слое на подвижной мембране с учётом газообмена в двухфазной системе «клетки – питательная жидкость» [3, 4, 5].

Существующие технологии культивирования клеток на биосовместимом слое не учитывают реальных условий размножения, дифференцировки прогенеторных клеток и их последующего морфогенеза в подвижной среде, совершающей колебания в определенном спектре частот. Эти колебания (клеток) совершаются, в свою очередь, под влиянием сосудистого и нервно-мышечного тонуса, т.е. под влиянием процессов периодического возбуждения и торможения в вегетативной нервной системе и, соответственно, периодического колебания стенок кровеносных сосудов (капилляров) и пульсового кровотока в них [4].

Предлагается, в дополнение к существующим схемам перемешивания кислорода и углекислого газа с жидкостью в биореакторе, схемам макромикширования с неподвижной мембраной [6, 7], - осуществлять микромикширование непосредственно в пограничном слое жидкости с клетками на подвижной мембране или на системе мембран, образующей 3D-matrix.

Таким образом, необходимо разработать и исследовать математическую модель раз-

* © Карабачинский А.Л., Семеренко Д.А., Дубцов А.В., Степанов Г.В.

Данная работа поддержана грантом ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” НК-372П/1 (П1714).

множения клеток на подвижной мембране и их газообмена с жидкой питательной средой типа «система уравнений реакции с диффузией и переносом». С помощью полученных результатов могут быть рассчитаны режимы колебаний мембраны, адекватные данному сосудистому и нервно-мышечному тону. Также это даст возможность создания органов *in vitro* [5].

Данная математическая модель позволит осуществить прогноз и идентификацию значений параметров состояния двухфазной системы «клетки – жидкая питательная среда» в пограничном слое на поверхности подвижной мембраны в режиме вычислительного и натурального эксперимента на базе измерительной информации.

В работе [3] была представлена модель кинетики размножения клеток и их газообмена в пограничном слое питательной жидкости на подвижной мембране. В данной модели осуществлено сопряжение процессов кинетики размножения клеток и их газообмена на поверхности этой мембраны из биосовместимого материала, совершающей колебания под воздействием внешних факторов. Параметром сопряжения кинетики газообмена и размножения клеток и колебаний мембраны здесь является скорость колебаний поверхности мембраны [1]:

$$V(t, r, z) := V(t, r, z) = \frac{\partial W(t, r, z)}{\partial t}; \quad (1)$$

$$V(t, z) := \sum_{m=1}^{\infty} \sum_{n=1}^{\infty} W_{mn} \sin(\omega_n t) \sin\left(\frac{2\pi r}{R}\right), \quad (2)$$

$W(t, r, z)$ – перемещение поверхности мембраны в направлении нормали (ортогональном к ней – по оси z); $r \in [0, R]$ – радиальная координата произвольной точки поверхности мембраны, t – время; m – число полуволн на поверхности мембраны $\forall r \in [0, R]$;

$\omega_n = \frac{2\pi n}{T}$ – угловая (циклическая) частота колебаний для n -й гармоники в представлении (2) Фурье; W_{mn} – амплитуда n -й гармоники m -й полуволны.

Далее, без потери общности, ограничимся случаем $m=n=1$.

Тогда имеем из (1), (2):

$$V(t, z) := W_{11} \omega_1 \sin\left(\frac{\pi r}{R}\right) \cos(\omega_1 t)$$

или, обозначив $U_{11}(r) = W_{11} \sin\left(\frac{\pi r}{R}\right)$,

$$V(t, z) := U_{11}(r) \omega_1 \cos(\omega_1 t). \quad (3)$$

Исходную систему уравнений кинетики газообмена и размножения клеток, в соответствии с [2, 3], запишем в виде системы реакции с диффузией и переносом $\forall r \in [0, R]$:

$$\begin{cases} \frac{\partial x_1}{\partial t} = k_1 x_1 - k_{13} x_1 x_3 + D_1 \Delta x_1 + V(t, r) \frac{\partial x_1}{\partial z} \\ \frac{\partial x_2}{\partial t} = k_2 x_2 + k_4 x_3 + D_2 \Delta x_2 + V(t, r) \frac{\partial x_2}{\partial z} \\ \frac{\partial x_3}{\partial t} = k_3 x_3 + k_{13} x_1 x_3 - k_{23} x_2 x_3 - k_{33} x_3^2 \end{cases} \quad (4)$$

Здесь $\Delta = \frac{\partial^2}{\partial z^2}$ – оператор Лапласа, $x_1 := x_1(t) \cdot (1 - e^{-\alpha_1 z})$, $x_3 := x_3(t) \cdot e^{-\alpha_3 z}$, $\alpha_1 > 0$,

$\alpha_2 > 0$, $\alpha_3 > 0$, $x_1(t)$, $x_2(t)$, $x_3(t)$ – концентрации O_2 , CO_2 клеток соответственно, – на поверхности мембраны (границе раздела сред).

Начальные условия для системы (4):

$$x_0 = \begin{pmatrix} x_1(0) \\ x_2(0) \\ x_3(0) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_{10} \\ x_{20} \\ x_{30} \end{pmatrix}. \quad (5)$$

Задача Коши (4), (5) на поверхности мембраны (границе раздела сред) запишется в виде:

$$\begin{cases} \frac{\partial x_1}{\partial t} = k_1 x_1 - k_{13} x_1 x_3 - \alpha_1^2 D_1 x_1 - \alpha_1 V(t, r) x_1 \\ \frac{\partial x_2}{\partial t} = k_2 x_2 + k_4 x_3 + \alpha_2^2 D_2 x_2 - \alpha_2 V(t, r) x_2 \\ \frac{\partial x_3}{\partial t} = k_3 x_3 + k_{13} x_1 x_3 - k_{23} x_2 x_3 - k_{33} x_3^2 \end{cases} \quad (6)$$

или

$$\begin{cases} \frac{\partial x_1}{\partial t} = a_1(r, t) x_1 - k_{13} x_1 x_3 \\ \frac{\partial x_2}{\partial t} = a_2(r, t) x_2 + k_4 x_3 \\ \frac{\partial x_3}{\partial t} = k_3 x_3 + k_{13} x_1 x_3 - k_{23} x_2 x_3 - k_{33} x_3^2 \end{cases}, \quad (7)$$

где

$$\begin{aligned} a(t) &:= a_1(r, t) = k_1 - \alpha_1^2 D_1 - \alpha_1 V(t, r) \\ b(t) &:= a_2(r, t) = k_2 + \alpha_2^2 D_2 - \alpha_2 V(t, r), \end{aligned} \quad (8)$$

$k_1, k_2, k_3, k_4, k_{13}, k_{23}, k_{33}$ суть функции от времени t , а в общем случае – и функции от пространственной координаты r в R^3 . В данной модели амплитуды и периоды изменения функций k_i, k_{ij} ($i=1,2,3,4; j=3$) – величины одного порядка, – в силу коллективной самоорганизации ритмов дыхания клеток синхронно с их ритмом размножения, т.е. концентрация кислорода (O_2) и углекислого газа (CO_2) в пограничном слое возле мембраны изменяется синхронно с ритмом изменения концентрации клеток на мембране, т.е. синхронно с ритмом их размножения. Результаты численного решения (5) – (8) методом Рунге-Кутта представлены в виде фазовых портретов на рис. 1.

Устойчивость системы (7) исследуется с помощью матрицы Якоби. Положения равновесия определяются из системы уравнений:

$$\begin{cases} f_1(x) = a_1(r, t)x_1 - k_{13}x_1x_3 = 0 \\ f_2(x) = a_2(r, t)x_2 + k_4x_3 = 0 \\ f_3(x) = k_3x_3 + k_{13}x_1x_3 - k_{23}x_2x_3 - k_{33}x_3^2 = 0 \\ x = (x_1, x_2, x_3) \end{cases} \quad (9)$$

Определим матрицу Якоби:

$$f'(x) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial f_1(x)}{\partial x_3} \\ \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial f_2(x)}{\partial x_3} \\ \frac{\partial f_3(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial f_3(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial f_3(x)}{\partial x_3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_1(r, t) - k_{13}x_3 & 0 & -k_{13}x_1 \\ 0 & a_2(r, t) & k_4 \\ k_{13}x_3 & -k_{23}x_3 & k_3 + k_{13}x_1 - k_{23}x_2 - 2k_{33}x_3 \end{pmatrix} \quad (10)$$

Собственные значения $\lambda := \lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ находятся, по определению, в виде корней характеристического уравнения:

$$|f'(x^{k+1}) - \lambda E| = 0. \quad (11)$$

Если $\forall \lambda_i : \operatorname{Re} \lambda_i > 0$ ($i = 1, 2, 3$), то положение системы равновесия (9) устойчиво, если $\exists \lambda_i : \operatorname{Re} \lambda_i > 0$, то неустойчиво, соответственно $\forall \lambda_i$, имеем фазовый портрет системы (7).

Идентификация параметров системы (7) осуществляется следующим образом. Пусть имеется вектор измеренных значений наблюдаемых $x = (x_1, x_2, x_3)$. Тогда в системе (9) неизвестными являются множества значений параметров k_i, k_{ij}, a_1, a_2 ($i = 1, 2, 3, 4; j = 0, 1, 2, 3$). Эти значения находятся также с помощью метода Ньютона-Рафсона при условии наличия необходимого массива измеренных в дискретные моменты времени t_n значений наблюдаемых $x_n = (x_{1,n}, x_{2,n}, x_{3,n})$.

Идентификация системы (7) считается удовлетворительной, если осуществляется с заданной ошибкой прогноз множества значений параметров состояния системы (7) $k_{i,n+1}, k_{ij,n+1}, a_{1,n+1}, a_{2,n+1}$, соответственно, множества значений наблюдаемых x_{n+1} на момент времени t_{n+1} ; если известны значения параметров состояния $k_{i,n}, k_{ij,n}, a_{1,n}, a_{2,n}$ (соответственно, значения наблюдаемых x_n на момент времени t_n).

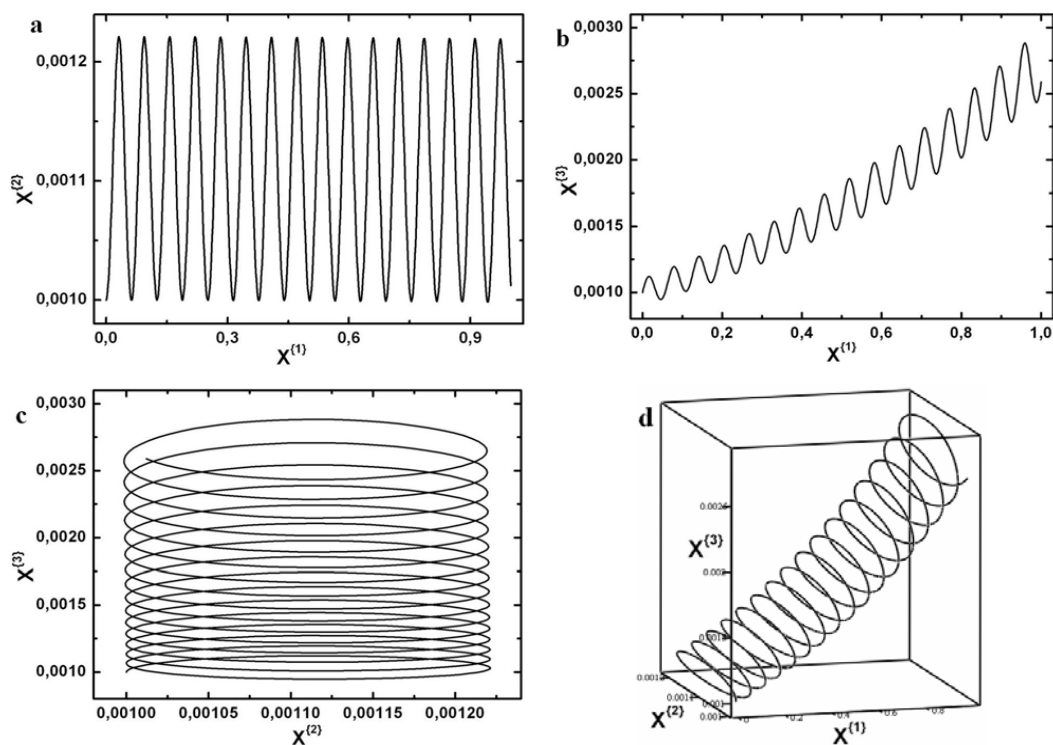


Рис. 1. Фазовые портреты системы (4) – (8): а) концентрации O_2 (X_1) - CO_2 (X_2); б) концентрации O_2 (X_1) – клеток (X_3); в) концентрации CO_2 (X_2) – клеток (X_3); д) X_1 - X_2 - X_3 .

Результаты моделирования процесса газообмена и размножения клеток на мембране в зависимости от амплитуды $U_{11}(t)$ и частоты ω_1 ее колебаний приведены на рис.1. Из рис.1а следует, что с ростом концентрации кислорода X_1 концентрация углекислого газа X_2 совершает устойчивые колебания, что свидетельствует о росте концентрации клеток X_3 и, соответственно, росте потребления ими кислорода и выделения углекислого газа (рис.1б,с,д). В частности, из рис.1д видно, что имеет место периодическое возникновение предельного цикла (т.е. колебаний) для концентрации клеток с ростом концентрации O_2 и CO_2 с учетом фактора тесноты в популяции при сохранении общей тенденции экспоненциального роста численности клеток, что свидетельствует об адекватности математической модели (5) – (8).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Вольмир А.С. Устойчивость деформируемых систем. М.: Наука, 1967.
2. Волькенштейн М.В. Биофизика. М.: Наука, 1988.
3. Карабачинский А.Л., Крашенинников М.Е., Семеренко Д.А., Степанов Г.В. Кинетика стволовых клеток в пограничном слое питательной жидкости на подвижной мембране // Материалы VII МНТК «Физика и Радиоэлектроника в Медицине и Экологии (ФРЭМЭ_2008)». Владимир, 2008. С. 126-129.
4. Лайтфут Э. Явления переноса в живых системах. М.: Наука, 1988.
5. Шумаков В.И., Онищенко Н.А. Биологические резервы клеток костного мозга и коррекция органных дисфункций. М.: ЛАВР, 2009.
6. Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Майстренко В.Ф., Мертвецов Н.П. Вихревой биореактор «БИОК». I. Опыт культивирования штамма *E.coli* BL 21 (DE3) pZZZSA, продуцирующего рекомбинантный ангиогенин человека // Биотехнология. 2000, №4. С.72-79.
7. Lichtenberg A., Dumlu G., Walles T., Marinka M., Ringes-Lichtenberg S., Ruhparwar A., Mertsching H., and Haverich A. A multifunctional bioreactor for threedimensional cell (co)-culture. *Biomaterials* 26, 555, 2005.