

УДК 531/534: [57+61]

ТРИБОЛОГИЯ КЛЕТОК ХРЯЦА В БИОРЕАКТОРЕ

К. Вежхольский

Department of Basic Engineering, Gdynia Maritime University, Morska 83, PL-81-225, Gdynia, Poland, e-mail: wierzch@pg.gda.pl
Кафедра основ инженерии, Морской Университет г. Гдыня, Гдыня, Польша

Аннотация. Темой данного исследования являются аспекты оптимизации выращивания клеток сустава человека с точки зрения трибологии. Для этого используются системы управления с целью изменения различных параметров течения биологических жидкостей (давление, скорость, колебания, величины сил трения), омывающих клетки в биореакторе. В работе описывается прототип мини-биореактора, разработанный для решения этих задач. При построении моделей течения вязкой жидкости в пограничном слое и потенциального течения будут использованы уравнения гидродинамики с граничными условиями для биологических жидкостей, омывающих клетки, а также образцы ткани суставного хряща. С помощью аналитических и численных методов будут определены поля скоростей вязкоупругой, неньютоновской, биологической и питательной жидкостей, а также силы трения, возникающие вблизи поверхностей клеток в процессе выращивания. Кроме того, будут учтены потенциальные течения жидкостей, которые обеспечивают питание хрящевого сустава после трансплантации. Будет проведено сравнение значений сил трения, которые определялись аналитически и численно, с величинами, измеренными атомно-силовым микроскопом. Аналитическое и численное решения будут получены с использованием современных методов гидродинамики тонкого слоя, гипо- и гиперупругости мягких тканей.

Ключевые слова: трибология суставного хряща, биореактор, микро- и наноструктура.

1. Введение

Хрящ – это стекловидное тело, которое формирует суставные поверхности, а потому является важным элементом скелета человека [8–10]. Гиалиновый хрящ состоит из клеток (хондроцитов), которые окружены однородным межклеточным матриксом без толстых волокон.

Только очень тонкие волокна (фибриллы), образованные коллагеном в хряще, имеют такой же показатель перелома, что и основное вещество, покрытое оболочкой. При далеко зашедших дегенеративных изменениях сустава в конечностях (в основном в колене и бедре) полная замена поврежденного сустава эндопротезом является общепринятым и эффективным способом лечения.

Несмотря на несомненные преимущества аллотрансплантации, этот метод имеет ряд недостатков. Например, искусственный сустав не способен воспроизводить

поверхности и оказывает отрицательное воздействие на биомеханику таза в области вертлужной впадины.

Согласно клиническим наблюдениям, время эксплуатации эндопротеза после правильно выполненной операции и при его надлежащем использовании ограничено 10–15 годами [11, 21, 22], поэтому необходимо изыскивать более эффективные методы лечения суставных хрящей. К числу таких методов относится выращивание (культивация) хондроцитов в биореакторах и их трансплантация в область поврежденного хряща. Общая схема биореактора представлена на рис. 1. Вид и расположение микроконтейнеров в биореакторе, сконструированном в Институте биологических пограничных слоев в г. Карлсруэ (*Institute of Biological Boundary Layers, Karlsruhe*) [6], показаны на рис. 2.

Хондроциты, используемые для дальнейшего выращивания, были предоставлены кафедрой цитологии и гистологии Ягеллонского университета в г. Кракове (*Cytology and Histology Department, Jagiellonian University, Cracow*). Состав питательных веществ и фармакологических жидкостей также был разработан на данной кафедре.

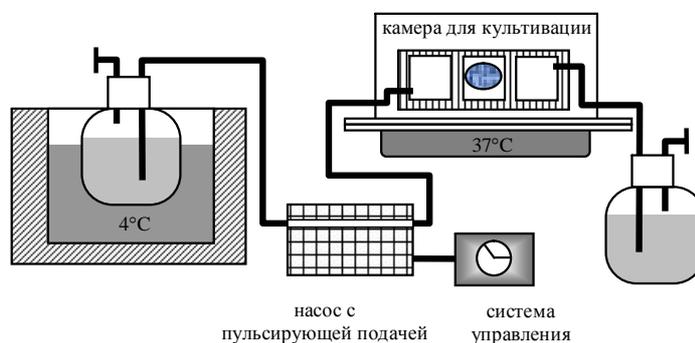


Рис. 1. Прямое омывание клеток поверхности хряща в биореакторе при их выращивании

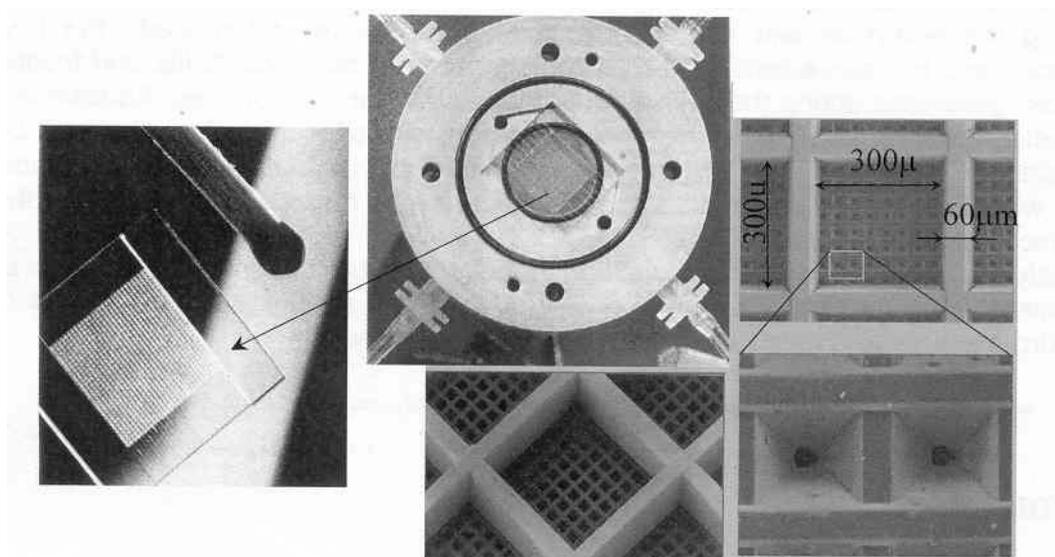


Рис. 2. Микроконтейнеры в биореакторе, сконструированном в Институте биологических пограничных слоев в г. Карлсруэ [6]

Основными компонентами суставного хряща являются вода (65–80%), коллаген (10–30%) и протеогликаны (5–10%). Оставшиеся компоненты – это протеины, не содержащие коллаген, и некоторые липиды. Хондроциты образуют 2–4% объема ткани [23–27]. Замечено, что с возрастом у человека уменьшается количество хрящевых клеток. Однако у новорождённых средняя площадь поверхности хондроцитов достигает значения 90 мкм², и к тридцати годам она возрастает до 370 мкм².

На наноуровне учитывается твердость поверхности выращиваемых клеток, изменяющаяся случайным образом. Толщина поверхностного слоя варьируется от 1 до 2 мкм. Форма пор, появляющихся внутри растущего слоя, меняется стохастически, что сильно влияет на объем протекания питательной жидкости в зоне наибольшей активности клеток поверхности. В совместном эксперименте при участии Национальной академии наук Беларуси (г. Минск) с использованием атомно-силового микроскопа были измерены на наноуровне силы трения, возникающие при росте и воспроизводстве клеток. Кроме того, с помощью лазерного сенсора были измерены поверхности хондроцитов [12].

Полученные геометрические параметры поверхностей клеток и подтвержденные физико-химические свойства питательной жидкости, а также механические характеристики суставного хряща и его клеток позволяют обозначить некоторые проблемы исследования, используя аналитические и численные методы, в частности, математики и гидродинамики. Выращивание клеток оптимизируется с помощью управления различными параметрами течения жидкости, такими как давление, скорость течения, колебания, величины сил трения, возникающих при течении хондроцитов в биореакторе.

Хрящевые клетки подвержены воздействию со стороны различных веществ и вязких жидкостей в биореакторе и суставе, поэтому необходимо исследовать структурные изменения в цитоплазме, т.е. ядрах клеток, учитывая структурные изменения поверхности на уровне ДНК. Рентгеновские методы, сканирующая микроскопия, методы цитологии, исследования поверхностного слоя и экспериментальные методы на молекулярном уровне применялись для анализа.

2. Цели научного исследования

2.1. Постановка проблемы исследования

В ходе исследования будут применяться аналитические и численные методы.

Цели исследования:

- определение и оптимизация параметров течения, величин сил трения и коэффициентов трения при выращивании и воспроизводстве клеток суставного хряща человека при неустановившемся течении питательной жидкости около клеток в биореакторе, а также при смазывании трансплантированных хондроцитов в суставах хряща человека;
- выявление влияния шероховатости и геометрических параметров поверхности хондроцитов на течение питательной биологической жидкости, омывающей клетки, посредством точного анализа геометрической структуры поверхности при выращивании и воспроизводстве клеток в биореакторе; анализ будет проводиться с использованием атомно-силового микроскопа на наноуровне;
- величины сил трения будут находиться теоретически, с учетом анализа динамической вязкости жидкости и модуля упругости клеток и биоматериалов.

Взаимодействие между неньютоновскими жидкостями (питательной и фармакологической), которые заполняют межклеточные пространства и тела клеток, обуславливает влияние физических свойств жидкости на гипер- и гипоупругие свойства клеток хряща.

Силы трения определяются меняющимся случайным образом распределением скорости течения в пограничном слое и вокруг клеток. Поэтому результаты представляются в стохастической форме.

В данной работе используются ранее найденные функции плотности распределения, которые описывают геометрическую структуру шероховатости суставного хряща и некоторых клеток, а также высоту пограничного слоя жидкости. Плотности распределения рассчитываются для малых средних квадратичных отклонений. Полученные стохастические данные, относящиеся к поверхности, позволят определить в вероятностной форме величины скоростей течения питательной и фармакологической жидкостей в тонком пограничном слое вокруг клеток. Зная значения скоростей, можно построить стохастические модели, описывающие распределение сил трения.

2.2. Основные направления исследования

Основными целями исследования являются аналитическое и численное определение или экспериментальное выявление оптимальных значений давления и скорости течения, омывающего клетки, а также управление силами трения, возникающими между частицами питательной или фармакологической жидкости и телами клеток в тонком пограничном слое. Предполагается проведение исследований физических и прочностных характеристик различных видов суставного хряща, а именно с патологией и без неё, в зависимости от возраста человека. Для обработки поверхностной структуры хондроцитов и суставного хряща необходимо иметь в распоряжении соответствующую модель течения жидкости в тонком слое и знать величины сил трения.

Для определения характеристик (давление, скорость течения, силы трения) на микро- и наноровнях будут применяться аналитические и численные методы для получения следующих результатов:

1. Определение оптимальных ожидаемых величин характеристик на наноровне, допустимых, чтобы избежать чрезмерного износа хряща сустава человека [13].
2. Определение заданных величин характеристик на наноровне при оптимальном выращивании выбранных клеток в биореакторе.
3. Качественное и количественное определение действительных значений характеристик на наноровне между различными поверхностями клеток и тонким слоем питательной жидкости в биореакторе для подготовки хондроцитов к трансплантации.

Целью экспериментов по измерению поверхностей хондроцитов на наноровне является получение следующих результатов:

1. Измерение посредством атомно-силового микроскопа геометрической структуры взаимодействующих деформируемых поверхностей клеток и изучение её влияния на геометрические изменения в процессах нестационарной культивации, роста, воспроизводства и смазывания клеток в биореакторе [1–3].
2. Измерение высоты пограничного слоя биологической жидкости между клетками и биологической жидкостью при выращивании хондроцитов в биореакторе.
3. Изучение анизотропии свойств поверхности и тел клеток при выращивании.
4. Исследование свойств изотропии тел хондроцитов на наноровне и её влияния на свойства изотропии тех же самых клеток на микроуровне.

Целью экспериментов по измерению поверхности хряща человека на микро- и макроуровнях является получение следующих результатов:

1. Измерение посредством механического и лазерного сенсоров геометрической структуры взаимодействующих деформируемых поверхностей суставного хряща человека и изучение её влияния на геометрические изменения в процессах нестационарной культивации, роста, воспроизводства и смазывании тканей для различных видов суставов.
2. Измерение высоты пограничного слоя биологической жидкости вблизи мягкого тела суставного хряща при смазывании в различных видах суставов человека [5, 7].
3. Изучение коэффициентов изотропии материала, описывающих поведение мягкого тела хряща и его поверхности в процессе смазывания [6].
4. Исследование упрощенных свойств изотропии суставного хряща человека на микро- и макроуровнях.
5. Обнаружение неодинаковости шероховатости поверхности хряща на микро- и макроуровнях, имеющих место при смазывании.
6. Проведение измерения неодинаковости шероховатости поверхности хряща на микро- и макроуровнях при случайных изменениях в случаях гидродинамического смазывания со сжатием и протеканием.

В области биомедицинской инженерии материала результаты будут представлены в форме аналитических, численных и экспериментальных моделей с целью определения коэффициентов материала для вязкоупругой жидкости в суставных зазорах, а также в виде методик для определения коэффициентов питательной и фармакологической жидкостей, которые омывают клетки в биореакторе. Конечный результат должен включать в себя:

1. Модели, описывающие влияние механических свойств поверхностного слоя суставного хряща на изменения эффективной вязкости питательной жидкости, омывающей клетки хряща, выращиваемые в биореакторе.
2. Аналитические, численные и экспериментальные модели для определения эффективной вязкости питательной жидкости с целью применения в биореакторе при выращивании клеток.
3. Численные модели, описывающие изменение эффективной вязкости питательной жидкости в биореакторе под влиянием внешних импульсов.
4. Коэффициенты материала для питательной вязкоупругой неньютоновской жидкости с использованием аналитических, численных и экспериментальных методов.

Все большее количество молодых людей подвержено болезням, связанным с повреждениями суставного хряща, и нуждается в лечении поврежденных областей. Одним из способов лечения в настоящее время является трансплантация хондроцитов. Ожидается, что в будущем можно будет трансплантировать все части хряща, выращенные в биореакторе, а также воспроизводить и обновлять часть хряща внутри живого сустава человека. Чтобы такие операции нашли широкое применение, необходимо научиться реализовывать и модифицировать процесс выращивания при одновременном снижении затрат на производство хондроцитов. Залогом успешной операции является оптимизация параметров течения и регулирование потока жидкости для хряща, подготовленного к трансплантации.

Целью данного исследования является разработка адекватных моделей течения при выращивании клеток в биореакторе и смазывания при течении в суставных зазорах человека. В данной исследовательской работе необходимо убедиться в достоверности аналитических и численных моделей течения. Поэтому для измерения некоторых материальных параметров был разработан прототип биореактора.

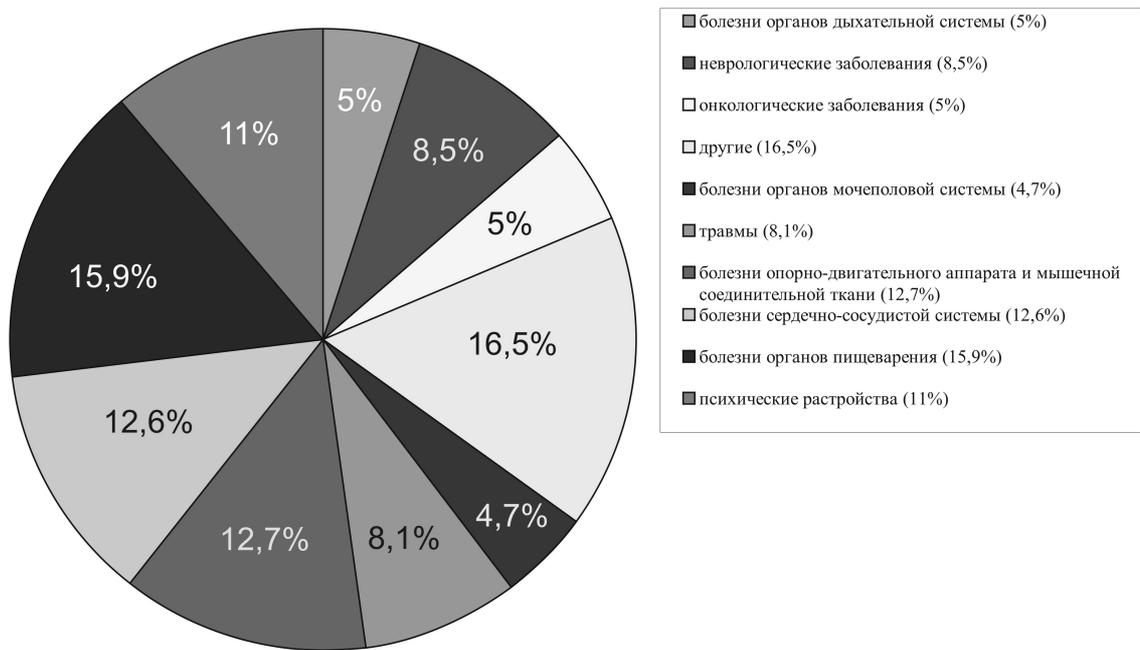


Рис. 3. Диаграмма затрат на лечение различных заболеваний в Германии на 1995 год

3. Постановка исследования

3.1. Цель исследования

В работе предлагается использовать неинвазивные методы для определения сил трения, а также будет проводиться управление их значениями при смазывании клеток на поверхности суставного хряща человека. Данные факторы позволяют обнаружить ранний абразивный износ суставного хряща и провести мониторинг развития остеопороза. Указанный факт стимулирует проведение исследований для ответа на вопрос: как известные значения сил трения в суставах человека и методы управления силами могут дать информацию, необходимую для профилактики и лечения. Параметры течения питательной жидкости в биореакторе сильно влияют на рост клеток и их качество. Выращивать хондроциты значительно труднее, чем другие клетки организма человека. Прежде всего, этот факт касается выбора способа питания клеток. Во многих научно-исследовательских центрах питательная жидкость подается в биореактор посредством изменяющихся импульсов давления. По мнению автора, при выращивании клеток необходимо использовать оптимальные значения параметров течения (давление, скорость жидкости, силы трения). Определение сил трения, управление ими в процессе выращивания клеток в биореакторах и восстановление суставного хряща человека влияют на выбор и наблюдение за оптимальными значениями сил трения для выращиваемого хряща и трансплантата. Это исследование очень тонкое, так как силы трения, которые возникают на наноуровне при течении питательной жидкости, омывающей клетки, в значительной мере воздействуют на их восстановление и рост в биореакторе, а также на функционирование трансплантата.

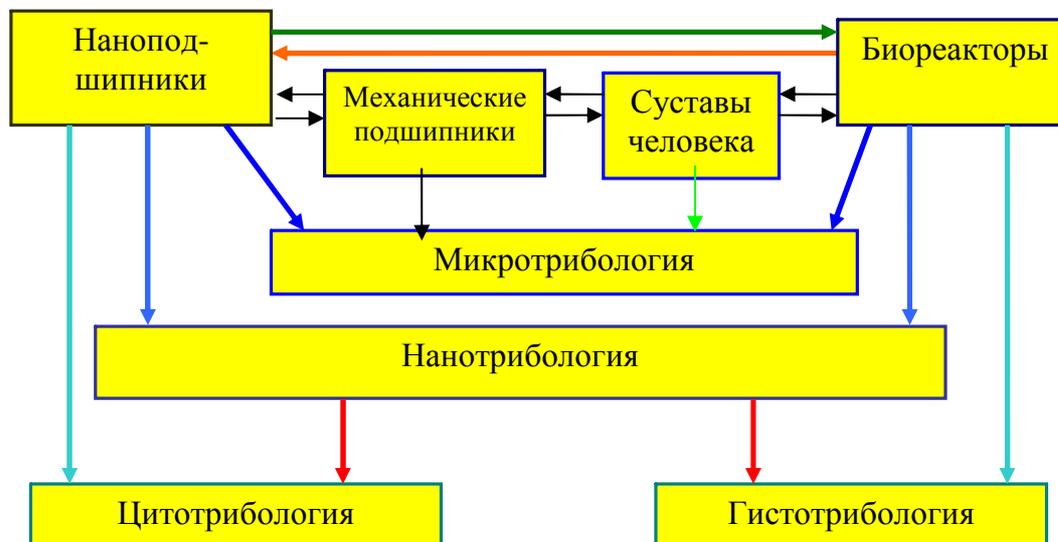


Рис. 4. Новые области трибологии

Затраты на лечение болезней суставов человека превышают 20% и включают в себя затраты на лечение травм и болезней опорно-двигательной системы (рис. 3).

3.2. Значение полученных результатов для развития науки

Данное исследование будет способствовать развитию новых научных областей, таких как цитотрибология (трибология клеток), гистотрибология (трибология тканей). На рис. 4 показана взаимосвязь между биореакторами, суставами человека, микроподшипниками в областях нано-, микро-, цито- и гистотрибологии.

По мнению автора, эти научные области не были изучены полностью в каком-либо научно-исследовательском центре, занимающимся трибологией и инженерией тканей. Для развития цитотрибологии и гистотрибологии необходимы знания не только в области инженерии тканей, но и в нанотрибологии и гидродинамике тонкого слоя.

Кроме того, использование инкубаторов, биореакторов, атомно-силовых микроскопов необходимо для измерения геометрических параметров структуры поверхности размерами $20 \text{ мкм} \times 20 \text{ мкм}$, а также сил трения порядка 10^{-6} Н , возникающих на таких малых поверхностях.

Полученный опыт в аналитическом, численном и экспериментальном определении распределений параметров стационарного и нестационарного течения питательной жидкости (скорость, давление, нагруженность, силы трения, коэффициенты трения, износ) в тонком слое в биореакторе около хондроцитов и в тонком пограничном слое при смазывании сустава человека можно применить для решения похожих проблем в области механизмов, например, подшипников скольжения.

Самые надежные и долговечные в эксплуатации подшипники скольжения – это так называемые биоподшипники, вследствие особенностей их конструкции и материала. Форма биоподшипника меняется в процессе длительной эволюции, а вязкость смазки – вследствие внешнего воздействия. Поэтому биоподшипники (биосуставы) могут приспосабливаться к существующим внешним условиям. Эти факты заставляют искать материалы с аналогичными свойствами для механических подшипников и проектировать «интеллектуальные» конструкции и материалы, которые могут изменять свои свойства в процессе работы и приспосабливаться к условиям внешней среды.

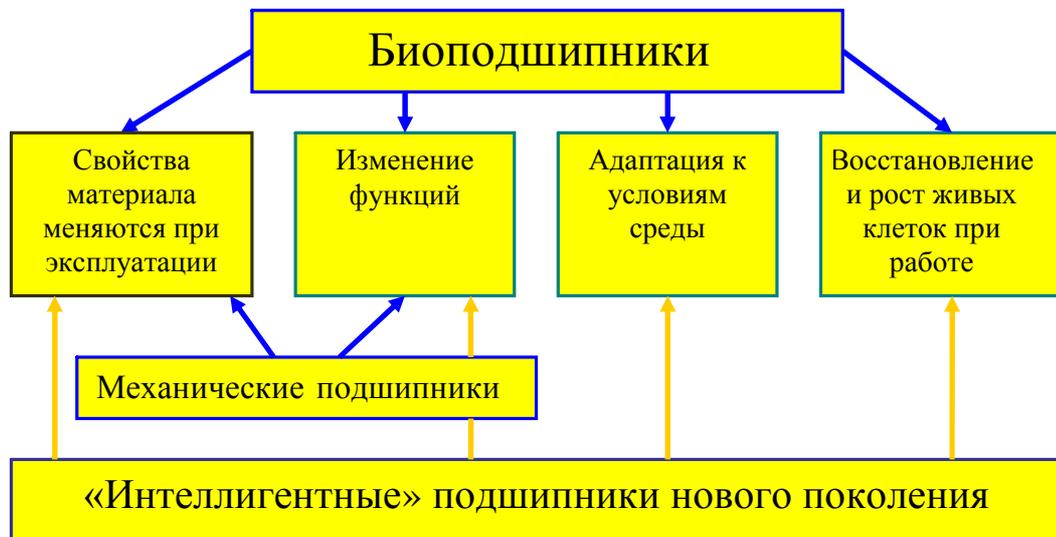


Рис. 5. Свойства суставов человека и требования к «интеллектуальным» подшипникам

Можно сказать, что выращивание клеток, использование биореакторов, биосуставов и биоподшипников являются вызовом производству самовосстанавливающихся механизмов и подшипников, способных приспособиться к внешним воздействиям и условиям работы.

Накопленный опыт в области проектирования механизмов может быть применен к биоподшипникам только в редких случаях.

На рис. 5 показаны свойства биоподшипников (биосуставов) и требования к новому поколению «интеллектуальных» подшипников.

3.3. Практическое применение

По завершении исследования с последующим практическим применением прогнозируются следующие результаты:

1. Возможность снижения затрат на производство хондроцитов.
2. Вероятность повышения количества и качества выращиваемых клеток.
3. Возможность дифференциации процесса культивации в биореакторе, в котором внимание будет уделяться прочности клеток, их сопротивлению возникающим силам трения, иммунитету от болезней, а также виду или месту трансплантации выращиваемых хондроцитов.
4. Разработка метода измерения физико-механических свойств питательной и фармакологической жидкостей, а также механических свойств клеток и хряща человека.
5. Определение соответствующих геометрических поверхностей структур клеток и суставного хряща.
6. Проектирование и производство соответствующего прототипа биореактора.

4. Существующее состояние знаний в рамках проведенного исследования

4.1. Ожидаемое влияние на науку

1. Возможность адаптации выращенных клеток, подготавливаемых к трансплантации, с точки зрения их прочности, так как они должны быть способны выдерживать заданные нагрузки и напряжения в данном суставе человека.
2. Сравнение величин сил трения в суставе человека, измеренных *in vivo*, с полученными численно и аналитически.
3. Определение допустимых напряжений на поверхности клеток с использованием методов гидро- и гиперупругости мягких тканей.
4. Сравнение сил трения в биореакторе, определенных аналитически и численно, с величинами, измеренными посредством атомно-силового микроскопа на поверхностях клеток (20 мкм × 20 мкм).
5. Усовершенствование конструкции биореактора и более точное определение влияния параметров течения на процесс выращивания клеток.

4.2. Подтверждение некоторых стереотипов и существующее состояние знаний

Во всем мире (в том числе и в Польше) процесс выращивания клеток в биореакторах проводится в большинстве случаев в статических условиях. В основном, клетки трансплантируют в область поражений хряща, преимущественно в колене. По сведениям автора, трансплантация хондроцитов была осуществлена не так давно при поражении бедренного сустава человека.

Ведущие мировые научные центры активно изучают влияние различных химических, физических и медицинских факторов на процессы культивации клеток, а именно хондроцитов, остеобластов, остеокластов [3, 9, 15]. Гипотетически предполагается, что недостаточное управление сопротивлением клеточных тел силам трения при выращивании в биореакторе приводит к тому, что клетки после трансплантации не могут приспособиться к условиям нагружения в бедренном суставе и вследствие этого трансплантация хряща встречает сопротивление [17, 20].

Мнение автора подтвердилось в ходе многочисленных обсуждений с профессором Р. Градингером (*R. Gradinger*) и доктором Р. Бургартом (*R. Burgkart*) с кафедры клинической и спортивной ортопедии Мюнхенского технического университета (*Orthopedic Clinic and Sport Orthopedic, Munchen Technical University*). На кафедре проводились измерения сил трения, прочности поверхности и напряжений в нем, а также деформаций суставного хряща.

По сведениям автора, научные исследования, в которых на основе экспериментальных измерений, аналитических и численных расчетов с использованием теорий гидро- и гиперупругости учитывались силы, напряжения, деформации, возникающие на поверхности клеток, до сих пор не проводились.

По мнению автора, представленное исследование является единственным в своем роде, следовательно, оно несет в себе не только познавательную функцию, но и имеет важное практическое значение.

Исследования поведения хондроцитов под влиянием органической жидкости, которая частично вытекает из внутрисуставного пространства, до сих пор не проводились и смогут помочь не только выявить причины хондропатии, но и разработать методику лечения с помощью трансплантации клеток.

5. Методика исследования

Основными методами решения поставленных научных проблем являются аналитические и численные модели гидродинамического течения неньютоновской жидкости в тонком пограничном слое, рассматриваемые на микро- и наноуровнях. Области течения ограничены поверхностями клеток, деформированных гипер- и гипоупруго. Геометрические свойства поверхностей измерены посредством лазерных сенсоров, а также атомно-силового микроскопа.

5.1. Разработка математических моделей

Аналитические модели, описывающие реальные нестационарные гидродинамические и трибологические эффекты в течениях неньютоновской жидкости вблизи клеток в пределах нано- и микросекунд, необходимо привести к описанию поведения течений в пределах секунды. Такие модели позволят исследовать реальные изменения гидродинамических эффектов за очень короткие промежутки времени [14–15], так как эксперименты по измерению таких величин являются очень дорогими и зачастую невозможными на имеющемся лабораторном оборудовании.

Область течения жидкости около клеток и суставного хряща была разделена на три зоны. В первой зоне высотой несколько десятков нанометров наблюдается течение жидкости с коэффициентом динамической вязкости, зависящим от коэффициента материала клеток или суставного хряща. Также учитываются течения в микроканалах диаметром менее 1 микрометра в области омываемого хряща или вблизи хондроцитов.

Вторая зона – тонкий слой вязкой жидкости толщиной несколько десятков микрометров, в котором изменения вектора скорости жидкости в поперечном направлении (в направлении высоты слоя) превышают изменения вектора скорости в продольном направлении.

Течение вязкой жидкости, омывающей клетки, описывается следующими уравнениями:

$$\operatorname{div}(\rho \mathbf{v}) = 0, \quad (1)$$

$$\operatorname{div} \mathbf{S} = \rho \frac{d \mathbf{v}}{dt}, \quad (2)$$

где \mathbf{v} – вектор скорости жидкости в пограничном слое вблизи клеток, \mathbf{S} – тензор напряжений в биологической жидкости.

В третьей зоне рассматривается потенциальное течение невязкой и нетеплопроводной жидкости. Высота зоны превышает в несколько раз высоту второй.

Потенциальное течение несжимаемой жидкости описывается следующими уравнениями:

$$\operatorname{div}(\rho \mathbf{V}) = 0, \quad (3)$$

$$\rho \frac{d \mathbf{V}}{dt} = \rho \mathbf{F} - \operatorname{grad} p, \quad (4)$$

где \mathbf{V} – вектор скорости жидкости в области потенциального течения (м/с), ρ – плотность жидкости (кг/м³), p – давление (Па), t – время (с), \mathbf{F} – вектор массовых сил питательной жидкости (Н/кг).

Течение в зонах с вязкой жидкостью обусловлено движением жидкости в потенциальном течении вследствие её расхода.

Кроме того, движение вязкой жидкости в первой и второй зонах вызвано её

втеканием в пористый поверхностный слой суставного хряща или клеток.

Гидростатическое давление, вызванное объемом третьей зоны, заполненной невязкой и нетеплопроводной жидкостью, определяет внешнюю нагрузку второй зоны с вязкой жидкостью.

Граничные условия для компонент вектора скорости жидкости на границе между третьей (потенциальное течение) и тонкой второй (вязкое течение) зонами идентичны и определяются по законам механики вязких и невязких жидкостей.

Граничные условия для компонент вектора скорости вязкой жидкости на границе между первой или второй зоной и водопроницаемым хрящом или пористым телом с клетками определяются по закону Дарси–Биверса и законам механики деформируемого твердого тела.

Описание невязкого несжимаемого потенциального течения производится с помощью уравнений Эйлера и интеграла Бернулли. Компоненты вектора скорости в простом потенциальном течении определяются по классическому методу Неймана. Кроме того, указанное потенциальное течение определяется с помощью метода потенциала для вертикального течения однослойной жидкости, которая омывает поверхности клеток.

Для описания течения вязкоупругой жидкости в тонком пограничном слое используются определяющие соотношения Ривлина–Эриксона, которые включаются в уравнение непрерывности и в уравнения сохранения количества движения. Затем все члены уравнений определяются в соответствии с принципами для тонкого пограничного слоя жидкости. Малые члены опускаются. Величины течения и значения на границе будут учитываться при стационарных и нестационарных условиях в зонах с потенциальным и вязким течениями. Наиболее благоприятным условием для выращивания клеток является оптимизированное нестационарное течение. Следовательно, проблема представляется с использованием уравнений жидкости в нестационарных условиях.

Система нелинейных уравнений движения неньютоновской жидкости и её частный случай – уравнение Навье–Стокса будут решены, а погрешность вычисления будет оценена численно и аналитически (метод конечных разностей, последовательные шаги аппроксимации Пикара).

Независимо от представленного разделения области течения на зоны течение вязкой жидкости Алена (*Allen*) будет учитываться вблизи криволинейной поверхности клеток. Нужно указать, что только численные методы позволяют определить течение вязкой жидкости для произвольно заданных граничных условий. Значения сил трения определяются численно и аналитически в двух направлениях, заданных компонентами вектора скорости питательной и фармакологической жидкостей в тонком пограничном слое.

5.2. Экспериментальные измерения

Чтобы охарактеризовать механические свойства суставного хряща и его клеток, применяются как и классические, так и современные методы измерений с использованием атомно-силового микроскопа.

Измерения геометрической структуры поверхности клеток осуществляются на наноуровне.

Величины гипер-, вязкоупругих и упругих коэффициентов материала клеток и хрящей измеряются с учетом реологических свойств. Эксперименты проводятся при динамических нагрузках. Одновременно с этим измеряются силы и коэффициенты трения посредством осциллирующего микротрибометра [2, 3]. Для измерения вышеуказанных коэффициентов материала будут использованы приборы для

измерения твердости двух видов: микроприборы с диаметром 350 мкм и наноприборы с диаметром 20 нм. Глубина ямок в ходе измерений достигает 2 мкм и 10 нм, соответственно. Этот факт позволяет оценить свойства пограничного слоя клеток. Силы и напряжения в пограничном слое измеряются с применением лазерно-лучевого метода.

Независимо от вышеописанных методов применительно к телам из клеток также проводятся измерения свойств тонкого слоя осмотической и фармакологической жидкостей, омывающих клетки. Такие жидкости обладают неньютоновскими и анизотропными свойствами. В ходе измерений будет применяться атомно-силовой микроскоп. Для этого проводятся измерения в трёх статико-динамических состояниях. Первое из них характеризуется тем, что прибор для измерения твердости совершает статико-динамическое движение. Второе состояние характеризуется движением поверхности, на которой покоится жидкость, в двух направлениях. В третьем состоянии учитывается вызванное движение жидкости внутри тонкого пограничного слоя, покоящегося на статической неподвижной поверхности. Измерения проводятся в температурных условиях, близких к температуре человеческого тела. Производимые измерения позволяют определить восстановление и увеличение числа клеток, а также их функционирование в процессе выращивания в биореакторах [18, 19]. Кроме того, ожидается увеличение множества трибологических и биофизических параметров, необходимых для выращивания клеток.

Для успешной реализации представленных задач необходимо создать биореактор, соединенный с атомно-силовым микроскопом. Использование микроскопа позволит контролировать многие параметры течения биологической жидкости и температуру в ходе проводимых измерений и выращивания клеток.

5.3. Численный анализ

Не всегда возможно решить аналитически систему нелинейных дифференциальных уравнений. В таких случаях необходимо применять численные методы.

В данной работе для получения численного решения будет применяться метод конечных разностей, в котором частные производные заменяются конечными разностями.

Применение разностных схем позволяет перейти от дифференциальных уравнений к разностным, и численное решение достигается на заданной сетке. Для обеспечения устойчивости и сходимости метода необходимо оптимизировать топологию сетки, используя наименьшее расстояние между узлами сетки в соответствующим образом выбранном метрическом пространстве. Численные расчеты осуществляются в программе *Matlab 7.3*.

Величины, определенные численно, необходимо верифицировать экспериментально в минибиореакторе, в том числе аналитические и численные модели течений питательной жидкости при выращивании клеток, а также распределения скоростей жидкости и величин сил трения в тонком слое.

Выводы

Представленные ниже выводы в основном будут касаться существующих методов для выбора оптимальных параметров течения с целью получения требуемых свойств выращиваемых клеток.

1. Течение питательной жидкости, омывающей суставной хрящ в биореакторе при

выращивании клеток, зависит от расхода поступающей питательной жидкости с терапевтическими и кислородными компонентами и последующего удаления метаболитов.

2. Омывание ткани суставного хряща при выращивании не создает больших сдвиговых величин, чем у человека.
3. Так как динамическая вязкость питательной и фармакологической жидкостей непосредственно влияет на скорость течения и силы трения, возникающие при выращивании ткани, то модуль упругости суставного хряща, скорость сдвига жидкости и структурная геометрия поверхности ткани воздействуют на динамическую вязкость жидкости.
4. Оптимальный рост клеток зависит от должным образом создаваемых и управляемых сил трения, которые возникают вследствие расхода подающейся жидкости. Для каждой выращиваемой ткани требуются разные силы трения для получения требуемых свойств.
5. Представленная модель позволяет применить разработанные в рамках данного исследования новые аналитические и численные результаты к различным геометрическим структурам выращиваемых тканей с неупорядоченно распределенными каналами внутри поверхностного слоя хряща.
6. Величины сил трения, возникающие на поверхности клеток площадью около 10 мкм^2 , при выращивании достигают значения $0,4 \text{ нН}$, которое очень медленно увеличивается со временем выращивания. Измерения таких малых величин является очень дорогим, более того, измерение таких сил с помощью механических устройств неприемлемо для правильного процесса выращивания. Следовательно, описанные методы бесконтактного измерения и численные методы являются желательными.
7. Пробное применение разработанных методов для определения сил и коэффициента трения в биореакторе на поверхности выращиваемых клеток площадью 400 мкм^2 проводилось с использованием атомно-силового микроскопа.
8. На основании ранее выполненных аналитического и численного анализа с точки зрения трибологии выращивания клеток и суставного хряща собраны данные и параметры, влияющие на процесс культивации. Кроме того, исследования позволили установить приблизительные соотношения для нахождения величин параметров.
9. Ранее выполненные аналитические и численные рассмотрения гидродинамических эффектов, возникающих при выращивании клеток и тканей хряща в биореакторе, позволяют точнее выявить трибологические механизмы и область значений величин, определяющих течение питательной жидкости, скорости, напряжения, силы трения порядка 10^{-6} Н или 10^{-9} Н и, кроме того, вычислить скорость роста и восстановления клеток. Знание таких величин окажет существенную пользу в проектировании и использовании биореактора.
10. Численные результаты позволяют говорить о возможности управления свойствами выращиваемых хондроцитов путем установления соответствующих внешних условий и параметров в начале процесса культивации. Управление процессом выращивания даст существенный вклад в развитие проектирования и эксплуатации биореакторов.

Благодарность

Работа выполнена при финансовой поддержке Шестой рамочной программы Евросоюза в рамках контракта МTKD–СТ–2004–517226 (проект передачи знаний имени Марии Кюри).

Список литературы

1. *Ahn, H.-S.* Application of phase contrast imaging atomic force microscopy to tribofilms on DLC coatings / H.-S. Ahn, S.A. Chizhik, A.M. Dubravin, V.P. Kazachenko, A.V. Popov // *Wear.* – 2001. – Vol. 249. – P. 617–625.
2. *Chizhik, S.A.* The analysis of molecular scale roughness effect on contact of solids based on computer modelling / S.A. Chizhik, V.V. Gorbunov, N.K. Myshkin // *Precision Engineering.* – 1995. – Vol. 17. – P. 186–191.
3. *Chizhik, S.A.* Computer simulation of precision contact with account of microgeometrical and mechanical heterogeneity of surfaces / S.A. Chizhik, N.B. Gaiduk, N.K. Myshkin // *Proceedings of the 8th International Conference on Metrology and Properties of Engineering Surfaces.* – UK, 2000. – P. 65–69.
4. *Deng, Y.* Study on the three-dimensional proliferation of rabbit articular cartilage-derived chondrocytes on polyhydroxyalkanoate scaffolds / Y. Deng, K. Zhao, X.-F. Zhang, P. Hu, G.-Q. Chen // *Biomaterials.* – 2002. – Vol. 23. – P. 4049–4056.
5. *Dowson, D.* Bio-Tribology of natural and replacement synovial joints // C. Van Mow, A. Ratcliffe, S.L.-Y. Woo. *Biomechanics of Diarthrodial Joint.* – New-York, Berlin, London, Paris, Tokyo, Hong-Kong: Springer Verlag, 1990.
6. *Eschbach, E.* Microstructured scaffolds for liver tissue cultures of high cell density: Morphological and biochemical characterization of tissue aggregates / E. Eschbach, S.S. Chatterjee, M. Noldner, E. Gottwald, H. Dertinger, K.F. Weibezahn, G. Knedlitschek // *Journal of Cellular Biochemistry.* – 2005. – Vol. 95. – P. 243–255.
7. *Купчинов, Б.И.* Биотрибология синовиальных суставов / Б.И. Купчинов, С.Ф. Ермаков, Е.Д. Белоенко. – Минск, 1997.
8. *Mow, V.C.* Cell Mechanics and Cellular Engineering / V.C. Mow, F. Guilak. – Berlin, Heidelberg, New-York: Springer Verlag, 1994.
9. *Pascovici, M.D.* Squeeze-film of unconformal, compliant and layered contacts / M.D. Pascovici, T. Cicone // *Tribology International.* – 2003. – Vol. 36. – P. 791–799.
10. *Podra, P.* Wear simulation with the Winkler surface model / P. Podra, S. Andersson // *Wear.* – 1997. – Vol. 207. – P. 79–85.
11. *Scherge, M.* Bio-Micro-Nanotribology / M. Scherge, S. Gorb // *Natural Solutions.* – 2000.
12. *Свириденко, А.И.* Механика дискретного фрикционного контакта / А.И. Свириденко, С.А. Чижик, М.И. Петроковец. – Минск, 1990.
13. *Varadi, K.* Evaluation of real contacts areas, pressure distributions and contact temperatures during sliding contact between real metal surfaces / K. Varadi, Z. Neder, K. Friedrich // *Wear.* – 1996. – Vol. 200. – P. 55–62.
14. *Wierzcholski, K.* Analytical calculations for experimental dependences between shear rate and synovial fluid viscosity / K. Wierzcholski, S. Pytko // *Proceedings of International Tribology Conference.* – Yokohama, Japan. – 1995. – Vol. 3. – P. 1975–1980.
15. *Wierzcholski, K.* Hydrodynamic lubrication theory of human joint gap / K. Wierzcholski // *Russian Journal of Biomechanics.* – 2002. – Vol. 6, No. 1. – P. 34–55.
16. *Wierzcholski, K.* Optimization of cartilage cultivation process / K. Wierzcholski, A. Miszczak. The aspects of flow of biological liquids within boundary layer. Polish Grant 2003 – 2006, KBN – 4T11E–030–25.
17. *Wierzcholski, K.* Tribological properties of tissue in biobearings and bioreactors as the histotribological parameters / K. Wierzcholski, M.H. Ghaemi // *Zagadnienia Eksploatacji Maszyn.* – 2005. – Vol. 3. – P. 17–30.
18. www.amwaw.edu.pl/~joan/scalch/scalchA/15b.htm, 2006.
19. www.fzk.de, 2006.
20. www.oce.pg.gda.pl/biobearing/?path=8, 2006.

21. www.amaxa.com, 2006.
22. www.bellcoglass.com, 2006.
23. www.lambda-instruments.com, 2006.
24. www.unomaha.edu, 2006.
25. www.zdrowie.med.pl, 2006.
26. *Xiao, H.* Hypo-elasticity model based upon the logarithmic stress rate / H. Xiao, O.T. Bruhns, A. Meyers // *J. Elast.* – 1997. – Vol. 47. – P. 51–68.

TRIBOLOGY OF THE CARTILAGE CELLS IN THE INTELLIGENT BIOREACTOR

K.Ch. Wierzcholski (Gdynia, Poland)

The topic of presented research is the tribological aspects of optimization of the human joint cultivation by using the control tools for changing various flow parameters such as pressure, flow velocity, vibrations, and values of friction forces generated in the flow of biological liquids around the cells in bioreactor. To this end, the building of a prototype of minibioreactor is provided for. The model of viscous liquid flow in boundary layer and that of potential flow will be determined by using the hydrodynamic equation with boundary conditions for bioliquids, formulated near the cells as well as near the tissue samples of the cartilage joint. The flow velocity field of viscoelastic, non-Newtonian, nutrient, biological fluids, and friction forces generated during the cultivation process near the cell surfaces will be determined by analytical and numerical examinations. Additionally, potential flows of the liquids which feed the cartilage joint after transplantation will be considered. The values of friction forces obtained by the analytical and numerical way will be compared with the values of the friction forces measured by means of the atomic force microscope. Analytical and numerical calculation results will be obtained by means of contemporary methods of thin layer hydrodynamics as well as the methods of hypoelasticity and hyperelasticity methods of soft tissues.

Key words: tribology of the joint cartilage, intelligent bioreactor, micro- and nanostructure.

Получено 17 мая 2007