

Ахманова Мария Александровна

**Модель транспорта макромолекул
в биологической ткани при циклической
деформации**

03.01.02 — биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата физико–математических наук

Москва — 2011

Работа выполнена на кафедре биофизики физического факультета
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Научный руководитель: доктор физико-математических наук,
профессор Рууге Энно Куставич
Научный консультант: кандидат биологических наук,
Домогатский Сергей Петрович
Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук,
Пантелеев Михаил Александрович
кандидат биологических наук,
Левицкий Сергей Алексеевич
Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук
Институт теоретической и экспериментальной
биофизики РАН

Защита состоится «26» мая 2011 года в 14 часов на заседании диссертационного совета Д501.001.96 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Россия, Москва, Ленинские горы 1/12, МГУ, биологический факультет, кафедра биофизики, «Новая» аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Автореферат разослан «___» апреля 2011г.

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук



М.Г. Страховская

Общая характеристика работы

Актуальность темы

Биологические ткани состоят из клеток и полимерной сети, или внеклеточного матрикса, пространство между элементами которого заполнено жидкостью. Таким образом, основу ткани, то есть внеклеточную среду, составляет полимерный гель. Жидкость в порах геля может перемещаться относительно матрикса. Массообмен между тканью и близкими кровеносными сосудами происходит быстро за счет диффузионного переноса молекул во внеклеточной жидкости. В случае, если кровоток нарушен, для транспорта молекул на большие расстояния возникают диффузионные ограничения. Это происходит, например, в поврежденной и регенерирующей ткани, в аваскулярных тканях, таких как хрящ, или в кровяных сгустках. Для таких тканей существенный вклад в перенос веществ, особенно макромолекул, вносят потоки внеклеточной жидкости.

Под действием физиологических механических нагрузок ткани подвергаются переменной деформации (сердечный ритм, работа мышц). Циклы чередования сжатий и растяжений приводят к изменяющемуся по направлению движению жидкости относительно матрикса. Это движение будем называть знакопеременными потоками жидкости.

Экспериментально доказано, что поток внеклеточной жидкости, в том числе знакопеременный, стимулирует биосинтез и влияет на скорость регенерации ткани¹. Одним из примеров регенерации ткани является процесс приживления костного имплантата. Ткань на стыке имплантата и кости постепенно перестраивается. Для каждого типа ткани существует оптимальный диапазон скоростей потоков, определяющий образование именно этого типа (например, соединительной ткани, хряща, кости). Если поток ниже некоторого значения, то происходит резорбция, то есть растворение матрикса и отторжение имплантата. Одним из вариантов воздействия потока жидкости на клетки может быть изменение концентрации молекул вокруг них. Во многих работах предполагается, что изменение скорости переноса питательных веществ и морфогенов и есть тот стимул, на который непосредственно реа-

¹Bonassar et al., J.Orthop.Res, 2001, 19(1), 11–17

гируют клетки². Однако, существующих на данный момент исследований не достаточно для подтверждения или опровержения этой гипотезы. В частности, не определено, насколько знакопеременный поток может ускорять транспорт молекул внутри ткани — питательных веществ, продуктов метаболизма, факторов роста и др.

Последние 15 лет развивается область инженерии тканей, и много экспериментальных и теоретических работ посвящены механике мягких тканей под динамической нагрузкой и транспорту молекул в этих тканях. Наиболее интенсивно исследуются бессосудистые ткани, в особенности хрящ. Скорость потоков в пограничной ткани имплантата моделировалась во многих работах, чаще всего с целью найти зависимость интенсивности биосинтеза от скорости потока³ без изучения механизмов этой зависимости. Несколько теоретических работ посвящено транспорту молекул в хряще и агарозном геле, результаты которых подтверждены экспериментально. Однако в этих работах предполагается, что молекулы не связываются и не задерживаются молекулами внеклеточного матрикса. Таким образом, не решена актуальная задача расчета транспорта молекул, связывающихся с матриксом, хотя известно, что многие белковые морфогены, факторы роста или протеазы, которые потенциально могут влиять на биосинтез клеток ткани, сорбируются на внеклеточном матриксе.

Еще одной интенсивно изучаемой задачей массопереноса макромолекул является растворение сгустков крови или тромбов. Медленная диффузия тромболитических ферментов и их связывание с молекулярной сеткой фибринового геля накладывает пространственное ограничение на скорость лизиса. Поток жидкости за счет градиента давлений увеличивает глубину проникновения макромолекул вследствие их конвективного переноса помимо диффузионного, что исследовалось экспериментально и теоретически⁴. Однако влияние переменного потока, возникающего при циклической деформации, не изучалось.

В связи с необходимостью оценить возможный вклад циклической деформации ткани в массоперенос молекул при физиологических нагрузках и

²Mauck et al., J. Biomech. Eng., 2003, 125, 602–618

³Prendergast et al., J. Biomech., 1997, 30(6), 539–548

⁴S. Diamond, S. Anand, Biophys. J., 1993, 65(6), 2622–2643

частотах оказывается целесообразным построить теоретическую модель, описывающую транспорт молекул при наличии знакопеременных потоков, вызванных циклической деформацией, и при условии связывания молекул с внеклеточным матриксом.

Цель и задачи исследования

Целью работы было выявить закономерности влияния циклической деформации ткани на транспорт в ней макромолекул, связывающихся с внеклеточным матриксом, и найти условия, при которых скорость массопереноса может существенно возрасть. (Под тканью подразумевается пористый материал, состоящий из полимерного каркаса, насыщенного жидкостью, в которой растворено рассматриваемое вещество. Перемещение молекул происходит под действием потока внеклеточной жидкости и за счет диффузии.)

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Построить модель деформации ткани для определения скоростей потоков жидкости в ней, вызванных внешней циклической нагрузкой.
2. Построить модель транспорта молекул, связывающихся с матриксом ткани, в условиях переменных потоков, вызванных циклической деформацией ткани.
3. Установить, насколько потоки, возникающие при циклической деформации, увеличивают скорость транспорта молекул в ткани в зависимости от параметров, характеризующих внешнюю нагрузку, механические свойства ткани и свойства самих молекул.

Научная новизна

Впервые создана модель транспорта молекул внутри биологических гидрогелей с учетом потока жидкости, вызванного деформацией, и связывания вещества с полимерной сеткой геля. Модель позволяет описывать распределение потоков жидкости и концентраций молекул в тканях, граничащих с перемешиваемой жидкой средой. Проведено сравнение предсказаний модели с экспериментальными данными и продемонстрирована ее работоспособность.

Впервые с помощью модели проведен анализ зависимости скорости массопереноса веществ в геле от параметров связывания с молекулярным каркасом,

механических параметров геля, частоты и амплитуды деформации. Показано, что циклическая деформация может ускорять транспорт растворенных молекул и значительно ускорять накопление связывающегося вещества. Показано, что существует оптимальная частота циклической деформации, при которой накопление связывающегося вещества происходит с теоретически максимальной скоростью при данной амплитуде деформации.

Практическая значимость работы

На основе построенной модели можно предсказать интенсивность транспорта белковых факторов регенерации внутри гидрогелевого покрытия имплантата при внешних нагрузках на имплантат. Результаты модели могут использоваться при подборе состава и характеристик гелевых коллагеновых материалов, используемых в качестве покрытий костных имплантатов, и проектировании динамической нагрузки для достижения максимальной скорости приживления. Также модель может служить основой при выборе факторов роста для заживления поврежденных тканей и протоколов их введения. Кроме того, результаты модели могут быть использованы при моделировании лизиса тромба, так как указывают на то, что эластичность тромба и пульсации давления крови могут иметь значение для транспорта тромболитических веществ внутрь сгустка и влиять на скорость его растворения.

Апробация результатов

Результаты работы были представлены на следующих конференциях: X-ой Международной молодежной конференции ИБХФ РАН-ВУЗЫ «Биохимическая физика» (Москва, 2010), 1-ой Международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2010), XVIII-ой Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование» (Пушино, 2011). Доклады о результатах работы были представлены на семинаре сектора информатики и биофизики сложных систем кафедры биофизики биологического факультета МГУ, семинаре лаборатории физической биохимии ИТЭБ РАН и семинаре лаборатории физической биохимии ГНЦ РАМН.

По материалам диссертации опубликовано 6 работ, из них 2 публикации

в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК и 4 — тезисы в трудах международных конференций.

Структура диссертации

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и приложения. Полный объём диссертации — 128 страниц. Работа содержит 25 рисунков и 3 таблицы, библиография включает 140 источников.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность Сергею Петровичу Домогатскому за постоянную помощь в работе и многочисленные обсуждения, своему научному руководителю Энно Куставичу Рууге за всестороннюю поддержку. Автор признателен Д.П. Харакозу, Р.В. Полозову и Г.Ю. Ризниченко за внимание, ценные замечания и обсуждение результатов работы.

Краткое содержание работы

Введение

Во введении обоснована тема диссертации, сформулированы цели работы, кратко охарактеризованы методы решения; показана актуальность поставленной задачи, отражена научная новизна полученных результатов и их практическая значимость.

Глава 1. Роль потоков жидкости как механического стимула в регуляции функции биологических тканей.

Первая глава посвящена описанию свойств биологических тканей и обзору литературы по влиянию механических стимулов и транспорта молекул на дифференцировку клеток и тканей.

В **разделе 1.1** описывается структура мягких биологических тканей, таких как соединительная и хрящевая, и обосновывается их рассмотрение как пористого материала, состоящего из твердой и жидкой фазы. Рассмотрены

механические свойства некоторых тканей и биологических гелей. Приводятся примеры приложения циклической нагрузки в процессе функционирования тканей и условия возникновения за счёт этого переменных потоков жидкости.

Раздел 1.2 посвящен обзору экспериментальных данных о влиянии механических стимулов на регуляцию биосинтеза клеток, в частности, при приживлении костного имплантата к кости. Особенное внимание уделено рассмотрению имеющихся в настоящее время данных о роли скорости потока внеклеточной жидкости. Перечислены известные механизмы чувствительности клеток к потоку. Обосновывается необходимость исследования внеклеточного транспорта молекул под действием потоков жидкости с помощью математического моделирования.

Глава 2. Существующие модели молекулярного транспорта в биологических тканях при циклической деформации.

Во второй главе представлен обзор литературы по моделированию механических свойств биологической ткани при циклической деформации, а также моделированию и экспериментальным исследованиям транспорта молекул внутри различных типов тканей под действием циклической деформации.

В **разделе 2.1** приведена краткая история теоретического описания механических свойств биологических тканей на основе теории пороэластичности. Указаны примеры моделей, предсказания которых согласуются с экспериментальными данными и адекватно описывают вязкоэластичные свойства хрящевой ткани. Обосновывается применимость теории пороэластичности для описания скорости потоков жидкости при циклической деформации.

В **разделе 2.2** дается обзор существующих моделей транспорта молекул в условиях циклической деформации, в которых поток жидкости описывается с помощью теории пороэластичности. Результаты этих моделей говорят о том, что скорость накопления или десорбции молекул увеличивается при циклической деформации по сравнению с диффузионным переносом. Перечисляются недостатки упомянутых моделей. Делается вывод о том, что существующие модели транспорта молекул не могут быть использованы для описания массопереноса многих биологически значимых молекул, так как не учитывают связывания вещества с внеклеточным матриксом.

Глава 3. Модель потоков жидкости в ткани при циклической деформации.

В третьей главе описывается модель деформации ткани для расчета скоростей потоков жидкости в ней, вызванных внешней циклической нагрузкой.

В **разделе 3.1** обосновывается схема модели, формулируются приближения и соответствующая им краевая задача.

Сначала опишем модель качественно. Биологические ткани (такие как соединительная ткань, хрящ, связки, мышцы, тромб) — это пористый материал, каркас которого составляет сеть из белков (коллаген и др.) и протеогликанов, а поры заполняет внеклеточная жидкость. Поры связаны между собой, и приложение градиента гидростатического давления или другой движущей силы вызывает течение жидкости относительно каркаса. Каркас в отдельности от жидкости обладает механическими свойствами (модуль упругости, проницаемость, вязкоэластичные свойства), жидкость имеет вязкость. Полимерные гели, например, фибриновый, коллагеновый гель, составляющие основу многих тканей, также могут рассматриваться как пористый материал, и в этом смысле аналогичны тканям.

В процессе функционирования ткани подвергаются циклически меняющейся нагрузке, например, при ходьбе, жевании, вследствие сердечного ритма, мышечного сокращения. Характерный диапазон частот таких нагрузок — от $0,001\text{Гц}$ до 10Гц . При этом ткань деформируется, но не сжимается, если внеклеточной жидкости некуда вытекать, т.к. жидкость практически несжимаема. Если же ткань граничит с резервуаром жидкости, то сжатие матрикса приводит к уменьшению объема пор и истечению жидкости из пор во внешний компартмент. При движении в обратном направлении (растяжении) поры увеличиваются и жидкость затягивается обратно в ткань.

Заметим, что так как тканью считается матрикс и клетки, также являющиеся частью каркаса, то под границами ткани имеются в виду именно границы матрикса. Таким образом, при сжатии объем ткани уменьшается за счет истечения жидкости.

В организме встречается много примеров ткани, граничащей с жидкостью: хрящ омывается синовиальной жидкостью, ткань в месте повреждения может граничить с гематомой или экссудатом (лимфа и плазма крови, вытекшие из сосудов и образовавшие полости), тромб граничит с кровью. В связи с этим

в работе построена модель системы, в которой ткань граничит с жидкостью и подвергается циклической деформации.

В качестве модели биологической ткани, граничащей с жидкостью, и подвергающейся деформации со стороны жестких стенок, принята схема неограниченной деформации (рис. 1). Ткань рассматривается как гомогенный пористый материал, состоящий из твердой фазы (сеть полимерных молекул и клетки) и жидкой фазы (внеклеточная жидкость).

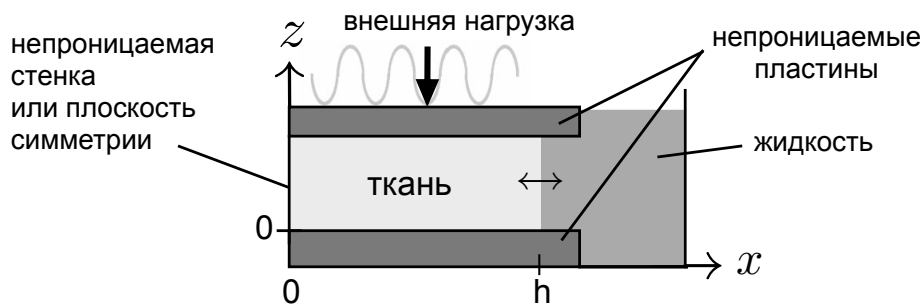


Рис. 1 Схема модели. Фрагмент ткани прямоугольной формы зажат между двумя непроницаемыми пластинами, к верхней из которых прикладывается циклическая нагрузка; ткань имеет свободную поверхность, граничащую с жидким резервуаром. На расстоянии h от свободной поверхности ткань ограничена плоскостью симметрии или непроницаемой стенкой.

Система уравнений, описывающих механику ткани выводится из положений теории пороэластичности с учетом следующих приближений:

- п.1) Приближение малых деформаций.
- п.2) Твердая и жидкая фаза несжимаемы, изотропны и гомогенны.
- п.3) Твердая фаза обладает линейной эластичностью, то есть модуль упругости матрикса не зависит от величины относительной деформации. Это приближение справедливо для полимерных гелей при относительной деформации $\leq 5\%$ ⁵.
- п.4) Скорость деформации мала, и можно считать, что в каждый момент времени справедливо условие равновесия напряжений в ткани.
- п.5) Силой тяжести можно пренебречь, и она не рассматривается.
- п.6) Коэффициент проницаемости ткани не зависит от величины относительной деформации. Это приближение также как и п.3 справедливо для полимерных гелей при относительной деформации $\leq 5\%$ ⁶.

⁵Гросберг А.Ю., Хохлов А.Р., Статистическая физика макромолекул. М.: Наука. 1989

⁶на основе аналитического выражения из Sengers B. et al., J. Biomech. Eng., 2004, 126, 82–91

п.7) Напряжение в материале не зависит от z , что выполняется, если принято допущение об отсутствии трения между пластинами и тканью.

Перечисленные приближения модели позволяют вывести одномерное уравнение равновесия напряжений в ткани. Введем функцию

$$\tilde{u}(x, t) = u_x(x, t) + \varepsilon_{\perp}(t) \cdot x, \quad (1)$$

которая зависит только от координаты x , параллельной пластинам (см. рис. 1) и от времени. Здесь $u_x(x, t)$ — смещение элемента матрикса с начальной координатой x в неподвижной системе отсчета, связанной с пластинами, в направлении x . $\varepsilon_{\perp}(t) = \varepsilon_0 \cdot \sin(2\pi ft)$ — относительная деформация ткани в перпендикулярном к x направлению z с амплитудой ε_0 , возникающая вследствие приложения к верхней пластине синусоидальной нагрузки с частотой f . Из приближения п.7 следует, что относительная деформация ткани и напряжения в ней не зависят от z ⁷.

В тексте диссертации показано, что скорость потока жидкости относительно матрикса, будет выражаться через $\tilde{u}(x, t)$:

$$v(x, t) = -\frac{\partial \tilde{u}(x, t)}{\partial t}, \quad (2)$$

а также описывается законом Дарси, то есть скорость потока пропорциональна градиенту давления:

$$v(x, t) = -k \frac{\partial p(x, t)}{\partial x}, \quad (3)$$

где p — давление в жидкости, k — коэффициент проницаемости ткани для внеклеточной жидкости.

Тогда условие равновесия напряжений в ткани (п.4) можно записать в следующем виде:

$$\frac{\partial \tilde{u}}{\partial t} = H_A \cdot k \cdot \frac{\partial^2 \tilde{u}}{\partial x^2}, \quad (4)$$

где H_A — модуль упругости для ограниченной деформации. Функция $\tilde{u}(x, t)$ удовлетворяет уравнению параболического типа, аналогичному уравнению диффузии.

Граничное условие на свободной поверхности ткани соответствует приложенной к верхней пластине синусоидальной нагрузке, приводящей к относительной деформации в направлении z , равной ε_{\perp} . Смещение на свободной

⁷Armstrong C.G. et al., J. Biomech. Eng., 1984, 106, 165–173

границе равно $u_x(h, t) = -\varepsilon_{\perp} \cdot h \cdot 2\nu$, где ν — коэффициент Пуассона, т.к. при сжатии по оси z растяжение материала происходит только по оси x . Отсюда граничное условие Дирихле на свободной границе:

$$\tilde{u}(h, t) = (1 - 2\nu) \cdot h \cdot \varepsilon_0 \cdot \sin(2\pi ft). \quad (5)$$

Граничное условие на неподвижной границе — нулевое смещение:

$$\tilde{u}(0, t) = 0. \quad (6)$$

В начальный момент времени $\varepsilon_{\perp}(0) = 0$ и $u(x, 0)$, поэтому

$$\tilde{u}(x, 0) = 0. \quad (7)$$

В разделе 3.2 приводится результат численного интегрирования уравнения (4) с условиями (5), (6), (7) и решение для скорости потока жидкости v (из (2)), обсуждаются характерные особенности полученного решения и проводится сравнение с существующими моделями и экспериментами.

Основным параметром, характеризующим степень деформации ткани вследствие прикладываемой нагрузки, является максимальная относительная деформация ткани ε_{max} , пропорциональная нагрузке ($\varepsilon_{max} \sim (1 - 2\nu) \cdot \varepsilon_0$). На рис. 2а приведена зависимость относительной деформации ткани от расстояния для двух экстремальных положений пластины. Когда $\varepsilon_{\perp} = \varepsilon_0$, то $\varepsilon_x = -\varepsilon_0$ на непроницаемой границе и $\varepsilon_x = \varepsilon_{max}$ на свободной границе.

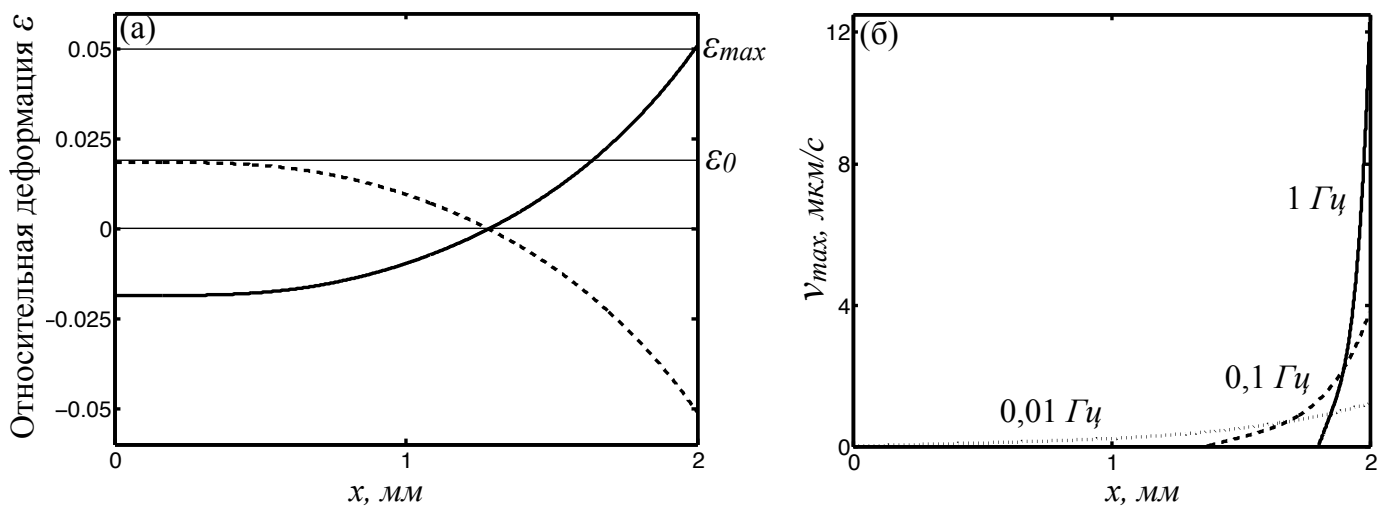


Рис. 2 а) Относительная деформация ткани в нижнем «- - -» и верхнем «—» положении пластины при нагрузке с частотой 0,01 Гц б) Максимальная скорость потока за цикл нагрузки для частот 1, 0,1 и 0,01 Гц. Значения параметров: $\varepsilon_{max} = 0,05$, $\nu = 0$, $H_A k = 10^{-2} \frac{mm^2}{c}$.

Максимум скорости потока в течение одного цикла нагрузки достигается на поверхности ткани и растет с частотой (см. рис. 2б). Характерная глубина, на которой максимальная скорость потока жидкости падает в e раз, зависит от частоты, так как зависит от времени приложения нагрузки (что следует из аналитического решения уравнения (4)):

$$\tilde{h} = \sqrt{\frac{H_A k}{f}}. \quad (8)$$

Уравнение (4) выведено аналогично работе Армстронга и соавторов⁷, в которой, однако, получено уравнение в полярных координатах для цилиндрической геометрии, имеющее другой вид. Кроме того, новым в настоящей модели является то, что с помощью замены переменной показано совпадение уравнения для неограниченной деформации в декартовых координатах (при $\nu = 0$) с уравнением для ограниченной деформации⁸.

Глава 4. Модель транспорта макромолекул, связывающихся с матриксом, при циклической деформации ткани.

В четвертой главе описывается основная в диссертации модель транспорта молекул в ткани за счет потоков внеклеточной жидкости, вызванных циклической внешней нагрузкой. Учитывается связывание вещества с компонентами матрикса. Рассчитывается, на сколько знакопеременные потоки увеличивают скорость транспорта по сравнению с диффузией, и как этот эффект зависит от характеристик ткани, вещества, нагрузки.

В **разделе 4.1** формулируется схема модели, приближения и соответствующая им краевая задача.

В качестве модели, описывающей транспорт молекул внутри ткани, рассматривается проникновение вещества внутрь ткани из внешнего резервуара с жидкостью. Схема модели изображена на рис. 1. Резервуар будем считать хорошо перемешиваемым, и его объем много больше объема ткани, в который проникает вещество. Следовательно, концентрации веществ в резервуаре гомогенны и постоянны во времени.

⁸Mow V. et al., J. Biomech. Eng., 1980, 102, 73-83

Коэффициент диффузии D не зависит от деформации, что справедливо для малой относительной деформации $\leq 5\%$ ⁹.

В модели учитывается связывание молекул вещества (F) со связывающими центрами (N), расположенными на полимерных молекулах внеклеточного матрикса. Реакция образования связанной формы (B)



считается бимолекулярной реакцией с константой ассоциации k_a и константой диссоциации комплекса k_d . Скорость изменения концентрации связанных молекул описывается уравнением:

$$\frac{dc_B}{dt} = k_a \cdot c_F(N - c_B) - k_d \cdot c_B, \quad (10)$$

где c_B — концентрация связанных молекул, c_F — концентрация свободных молекул, N — концентрация связывающих центров, рассчитанные на единицу объема жидкой фазы.

Если считать, что пористость недеформированной ткани (отношение объема жидкости ко всему объему) близка к единице $\phi_0 \approx 1$, то изменение концентрации свободных молекул за счет диффузионного переноса, движения с потоком жидкости и реакции связывания с компонентами матрикса, описывается уравнением:

$$\frac{\partial c_F}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c_F}{\partial x^2} - \frac{\partial}{\partial x} (v(x, t) \cdot c_F) - \frac{\partial c_B}{\partial t}, \quad (11)$$

где скорость течения жидкости $v(x, t)$ вычисляется по формуле (2).

Граничные и начальные условия системы ((10), (11)) имеют вид:

$$c_F(h, t) = c_0, \quad \left(\frac{\partial c_F}{\partial x} \right)_{x=0} = 0, \quad c_F(x, 0) = 0, \quad c_B(x, 0) = 0, \quad (12)$$

где c_0 — концентрация молекул в резервуаре.

В **разделе 4.2** определяются безразмерные параметры системы; из данных литературы вычисляется диапазон значений этих параметров, характерный для реальных тканей, молекул и физиологических нагрузок, для которого будет проводится численный расчет.

⁹на основе аналитического выражения из Ogston A.G. et al., Proc. R. Soc. Lond. A, 1973, 333, 297–316

Так как расстояние от поверхности ткани, на котором скорость потока жидкости падает в ϵ раз, зависит от частоты, эффект увеличения скорости транспорта молекул за счет конвекции может присутствовать только в слое толщиной порядка \tilde{h} (см. (8)). Для определенности расчет проводится в зоне толщиной $h = 2\tilde{h}$. Такой выбор области интегрирования связан с тем, что влияние потока жидкости на транспорт молекул убывает по мере продвижения фронта вглубь ткани, и скорость транспорта молекул на большем расстоянии от поверхности будет равна скорости диффузионного переноса.

Для того, чтобы определить безразмерные параметры, от которых зависит общее решение задачи, перейдем к нормированным переменным, используя выражение (8) для \tilde{h} :

$$x' = \frac{x}{2\sqrt{H_A k/f}}, \quad \tilde{u}' = \frac{\tilde{u}}{2\sqrt{H_A k/f}}, \quad t' = \frac{f}{4} \cdot t, \quad c'_{F,B} = \frac{c_{F,B}}{c_0}. \quad (13)$$

Тогда система уравнений (10) и (11) с краевыми условиями (12) будет иметь вид:

$$\begin{cases} \frac{\partial c'_F}{\partial t'} + \frac{\partial c'_B}{\partial t'} = \frac{1}{R_g} \frac{\partial^2 c'_F}{\partial x'^2} + \frac{\partial}{\partial x'} \left(\frac{\partial \tilde{u}'}{\partial t'} c'_F \right), \\ \frac{dc'_B}{dt'} = k_1 \cdot c'_F (N' - c'_B) - k_2 \cdot c'_B, \\ \left(\frac{\partial c'_F}{\partial x'} \right)_{x'=0} = 0, \quad c'_F(1, t) = 1, \quad c'_F(x', 0) = 0, \quad c'_B(x', 0) = 0, \end{cases} \quad (14)$$

где введены четыре безразмерных параметра:

$$R_g = \frac{H_A k}{D}, \quad k_1 = \frac{k_a \cdot c_0 \cdot 4}{f}, \quad k_2 = \frac{k_d \cdot 4}{f}, \quad N' = \frac{N}{c_0}. \quad (15)$$

Параметр R_g определяет отношение характерной скорости потока жидкости относительно матрикса при деформации $\frac{H_A k}{h}$ к характерной скорости диффузии вещества относительно жидкости $\frac{D}{h}$. k_1 и k_2 — отношения характерного времени деформации к характерному времени связывания $\frac{1}{k_a \cdot c_0}$ и характерному времени диссоциации $\frac{1}{k_d}$ соответственно. N' — отношение концентрации связывающих центров к концентрации молекул в растворе.

Скорость течения жидкости $-\frac{\partial \tilde{u}'}{\partial t'}$ находится из уравнения (4) с краевыми условиями (5), (6), (7), в безразмерных переменных имеющего вид:

$$\begin{cases} \frac{\partial \tilde{u}'}{\partial t'} = \frac{\partial^2 \tilde{u}'}{\partial x'^2}, \\ \tilde{u}'(1, t) = (1 - 2\nu) \cdot \epsilon_0 \cdot \sin(2\pi f' t'), \quad \tilde{u}'(0, t') = 0, \quad \tilde{u}'(x', 0) = 0, \end{cases} \quad (16)$$

где безразмерная частота равна $f' = f \cdot \frac{(2\hbar)^2}{H_A \cdot k} = 4$.

Решение задачи (14), (16) зависит от значений пяти параметров: R_g , k_1 , k_2 , N' и ε_{max} . Диапазон физиологических значений этих параметров определен из данных литературы для некоторых тканей, биологических гидрогелей и характерных для них молекул с различными свойствами (см. таблицу 1): $R_g = 10 \div 1000$; $N' = 0,1 \div 100$; $k_1 = \frac{10^{-3}}{N'} \div \frac{10^4}{N'}$ и $k_2 = 10^{-6} \div 10^2$, т.к. $f = 0,001 \div 10$ Гц. Также рассматривается значение $k_1 = 0$, соответствующее отсутствию связывания вещества с матриксом. Диапазон деформаций $\varepsilon_{max} = 0,005 \div 0,05$.

Таблица 1. Механические параметры биологических тканей и гидрогелей и параметры взаимодействия с этими тканями характерных для них молекул.

Матрикс	H_A , кПа	k , $\times 10^{-6}$ мм ² /кПа·с	ϕ	ν	Молекула	D , $\times 10^{-6}$ мм ² /с	k_a , 1/ μ М·с	k_d , 1/с	N
Хрящ ^{2,10}	200-700	0,2-2	0,8	0,09- 0,16	IGF-I	5	0,4	0,001	50 нМ
					декстран	15	-	-	-
					3 кДа глюкоза	1000	-	-	-
Соединительная ткань ^{2,11}	100-1000	10-20	0,95	0,3	VEGF	90	4	0,0003	-
Фибриновый гель 1 – 2% ^{4,12}	0,1-1	100000- 10000	0,99	0,25- 0,3	плазмин	50	0,1-0,01	0,0001	60 μ М
Коллагеновый гель 1% ¹³	5	1000	0,99	0,2	фибронектин	25	0,1	0,001	30 нМ
Агарозный гель 2 – 3% ^{14,15}	10 – 20	700 – 100	0,97	0,4	альбумин	50	-	-	-
					декстран 3 кДа	100	-	-	-

Раздел 4.3 посвящен результатам численного интегрирования системы уравнений (14), (16). В качестве меры увеличения скорости транспорта молекул за счет циклической деформации рассчитывается функция среднего за цикл выигрыша в накоплении вещества по сравнению с диффузией. Дает-

¹⁰M.Soltz et al., Ann. Biomed. Eng., 2000, 28(2), 150–159; L.Zhang et al., Arch. Biochem. Biophys, 2007, 457(1), 47–56

¹¹C. Helm et al., PNAS, 2005, 102(44), 15779

¹²Weisel J., Biophys. Chem., 2007, 112(2-3), 267–276; J. Noailly et al., J. Biomech., 2008, 41(15), 3265–3269; M. Matveyev, S. Domogatsky, Biophys. J., 1992, 63(3), 862

¹³D. Vader et al., PLoS One, 2009, 4(6), e5902; S. Ramanujan et al., Biophys.J., 2002, 83(3), 1650–1660; K. Ingham et al., J. Biol. Chem., 1988, 263(10), 4624

¹⁴F. Urciuolo et al., AIChE J., 2008, 54(3), 824–834; A. Pluen et al. Biophys. J., 1999, 77(1), 542–552

ся определение функции выигрыша. Приводится зависимость выигрыша от значений параметров в пределах принятого диапазона.

Функция выигрыша определяется следующим образом:

$$G(t) = \frac{M_{\text{conv}}(t) - M_{\text{diff}}(t)}{M_{\text{diff}}(t)}, \quad (17)$$

где $M_{\text{conv}}(t) = \int_0^1 c'(x, t) dx$ — количество молекул, накопленных в ткани за счет конвекции и диффузии в присутствии циклической деформации; $M_{\text{diff}}(t) = \int_0^1 c(x, t) dx$ — количество молекул, накопленных в недеформируемой ткани только за счет диффузии. $G(t)$ показывает, на сколько больше молекул накопилось в ткани к моменту времени t при ее циклической деформации по сравнению с количеством вещества, накопленным за счет диффузии в отсутствие циклической деформации при тех же значениях остальных параметров.

На рис. 3а представлен вид функции выигрыша для накопления свободных и связанных молекул по отдельности, а также общего числа молекул. $G(t)$ осциллирует с частотой, равной частоте нагрузки. Поэтому характеристикой увеличения скорости транспорта молекул считаем *среднее значение* $G(t)$ за один цикл, $G_{av}(t)$, которое вычисляется как среднее между ближайшими к данной точке максимумом и минимумом. $G_{av}(t)$ постепенно снижается со временем. Это связано с тем, что фронт концентрации проходит зону больших скоростей потока жидкости, и величина направленного переноса падает по сравнению с диффузионным переносом.

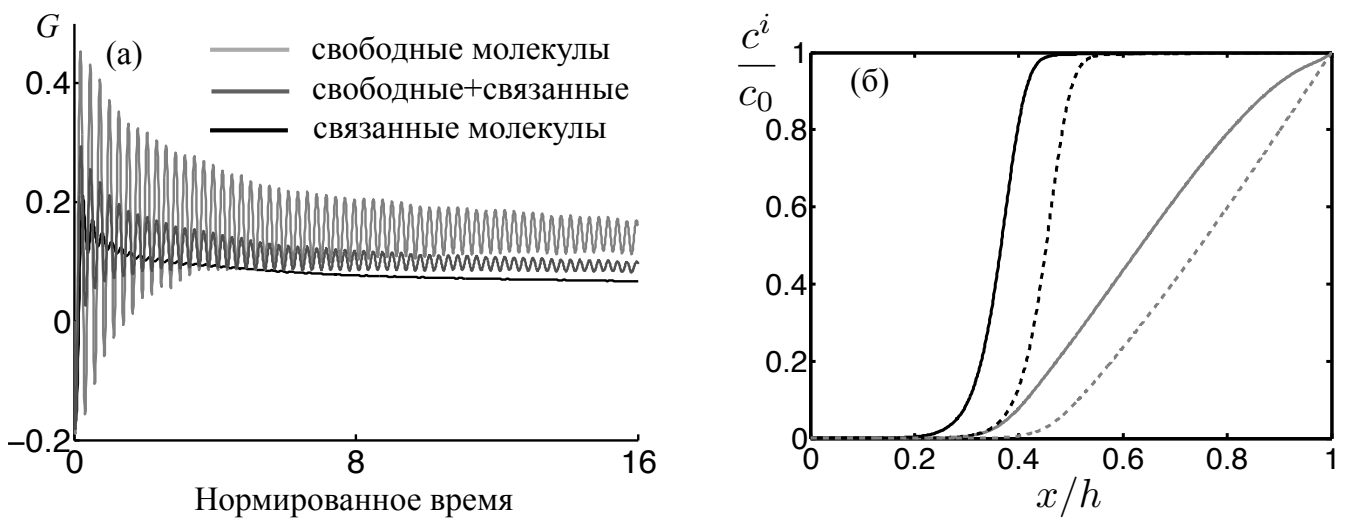


Рис. 3 а) Функция выигрыша для свободных молекул, связанных молекул и их суммы. Значения параметров: $\varepsilon_{max} = 0,05$, $R_g = 200$, $k_1 = 1$, $k_2 = 10^{-3}$, $N' = 1$. Время $t' = 15$ соответствует 60 циклам. б) Распределение концентрации свободных (серый) и связанных (черный) молекул в середине последнего цикла: «—» — с циклической деформацией, «- - -» — без циклической деформации.

Из графика видно, что при циклической деформации увеличивается скорость накопления вещества в ткани, что означает увеличение интенсивности транспорта молекул. При этом выигрыш для свободных молекул больше (на 60-ом цикле для данных значений параметров он составляет 0,16), чем для связанных молекул (0,1) и общего числа молекул (0,12).

На рис. 3б показаны профили концентраций свободных и связанных молекул, соответствующие последнему циклу на рис. 3а. При циклической деформации оба фронта прошли глубже по сравнению с диффузией без деформации. Разность площадей под кривыми концентрации свободных молекул равна $G_{av} = 0,16$, связанных молекул — $G_{av} = 0,1$.

Графики на рис. 4а и 4б показывают, что выигрыш $G_{av}(t)$ растет с увеличением R_g и ε_{max} . Качественно $G_{av}(t) \sim \sqrt{R_g}$, $G_{av}(t) \sim \varepsilon_{max}^{1,6}$. Зависимости выигрыша от параметров k_1 , k_2 и N' приведены на рис. 4вгд. Графики 4в и 4д имеют максимум в значениях $k_1 = 1$ и $N' = 10$. Так как k_1 зависит от частоты нагрузки (см. (15)), наличие максимума указывает на то, что существует оптимальная частота деформации для данного вещества, при которой достигается максимальный выигрыш в накоплении вещества за счет деформации. Этот вывод проиллюстрирован на конкретных примерах в главе 5.

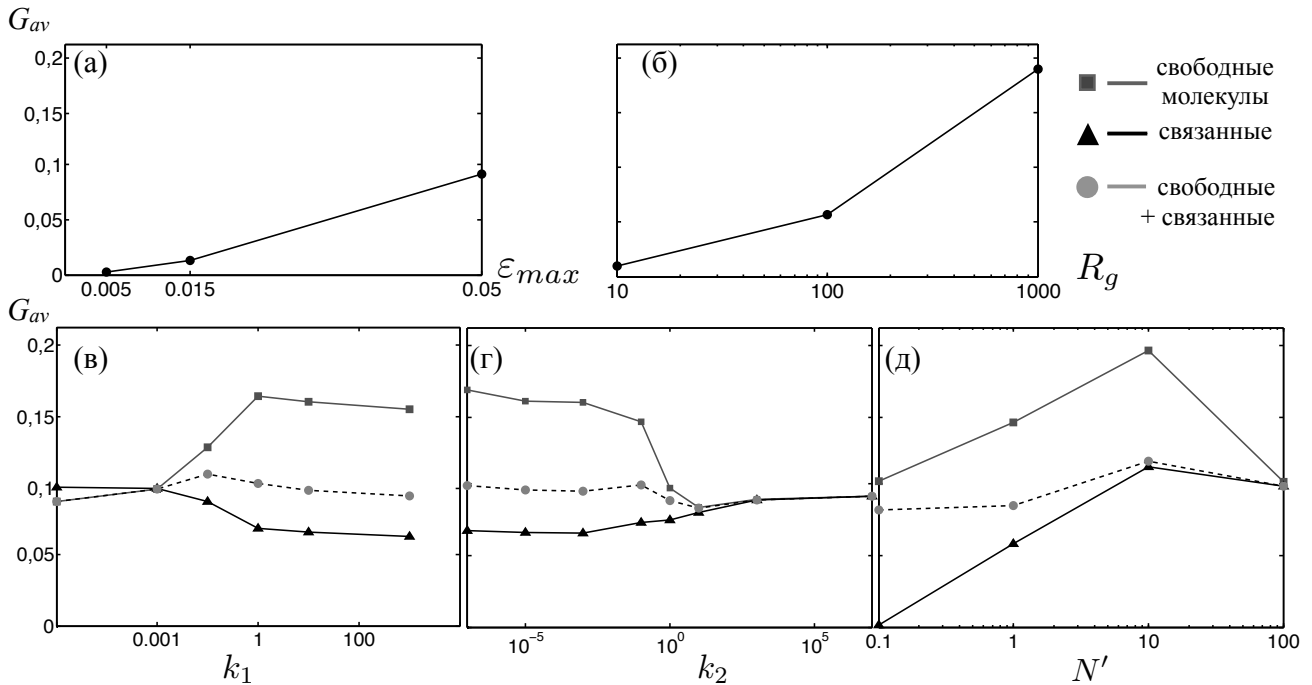


Рис. 4 Среднее значение выигрыша в момент времени, соответствующий 100 циклам нагрузки, в зависимости от значений безразмерных коэффициентов: а) ε_{max} , б) R_g для суммы связанных и свободных молекул; в) k_1 , г) k_2 и д) N' для свободных молекул, связанных и их суммы. Значения остальных параметров: а) $R_g = 200$, $k_1 = 0$, б) $\varepsilon_{max} = 0,05$, $k_1 = 0$; при $R_g = 200$, $\varepsilon_{max} = 0,05$ в) $k_2/k_1 = 10^{-3}$, $N' = 1$ г) $N' = 1$, $k_1 = 1$, д) $k_1 = 1$, $k_2 = 10^{-3}$.

В разделе 4.4 проведена верификация модели. Она включает в себя подраздел 4.4.1 — сравнение предсказаний модели с экспериментальными данными. В подразделе 4.4.2 некоторые результаты сравниваются с теоретическими выводами других моделей. Анализируется место настоящей модели среди существующих моделей транспорта молекул в циклически деформируемой ткани.

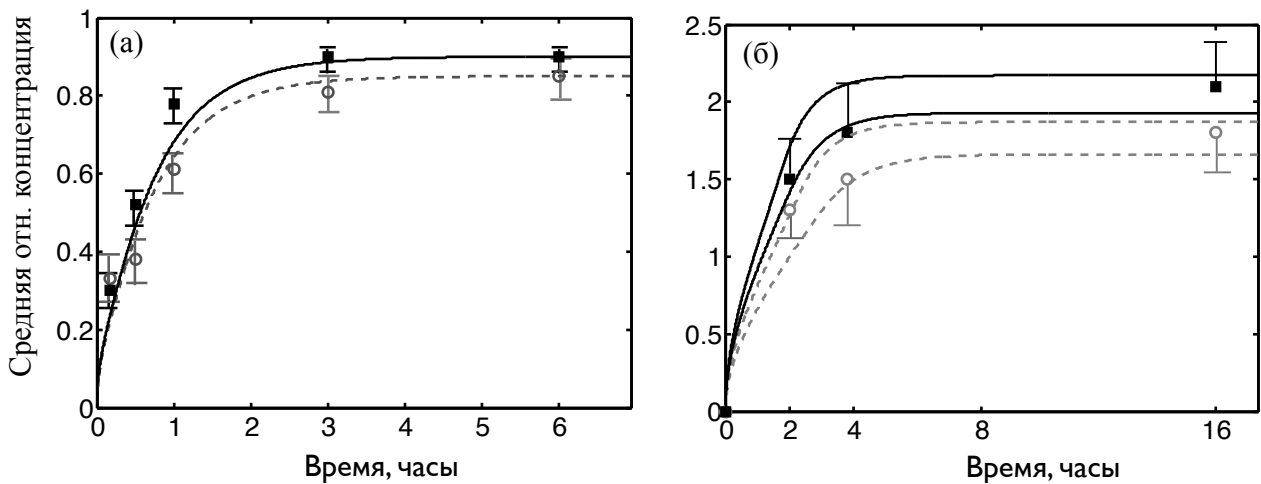


Рис. 5 а) Средняя по образцу концентрация декстрана 3 кДа, нормированная на концентрацию в растворе, в зависимости от времени по данным Chahine¹⁵ (символы: «■» — при циклической деформации, «○» — без ц.д.) и по результатам модели («—» при ц.д., «- - -» без ц.д.). В начальный момент времени концентрация декстрана в геле равнялась нулю. В модели приняты следующие параметры, соответствующие эксперименту: $\varepsilon_0 = 0,1$, $R_g = 15$, $k_1 = 0$, $f = 1$ Гц, $h = 2,5$ мм. б) Средняя по образцу концентрация IGF-I, нормированная на концентрацию в растворе, в зависимости от времени по данным Bonassar¹⁶ («■» — при ц.д., «○» — без ц.д.) и по результатам модели. Диапазон значений параметров, соответствующих эксперименту и принятых в модели: $\varepsilon_0 = 0,2$, $R_g = 70 \div 100$, $k_1 = 4$, $k_2 = 0,25$, $N' = 1,5$, $f = 0,1$ Гц, $h = 1,3 \div 1,5$ мм. В начальный момент времени концентрация IGF-I в хряще равнялась нулю. Предсказания модели для переноса при циклической деформации лежат в зоне, ограниченной кривыми «—», без деформации — в зоне, ограниченной кривыми «- - -».

На рис. 5 представлено сравнение предсказаний модели с результатами двух наиболее близких к моделируемой задаче экспериментов: по накоплению декстрана 3 кДа в 2% агарозном геле (нет связывания молекул с матриксом)¹⁵ и по накоплению белка IGF-I в хряще (молекулы связываются с матриксом)¹⁶.

В целом, можно заключить, что предсказания модели близки к экспериментальным данным как для не связывающихся молекул, так и для случая связывания. Отклонения результатов расчета от экспериментальных точек объясняются неточными данными о параметрах ткани и молекул, ошибкой

¹⁵N. Chahine et al., Biophys. J., 2009, 97(4), 968

¹⁶L. Bonassar et al., J. Orthop. Res., 2001, 19 (1), 11-17

эксперимента и тем, что относительная деформация в экспериментах несколько выше допустимой в приближении малых деформаций величины.

Таблица 2. Сравнение особенностей построенной модели с существующими моделями транспорта молекул в тканях и гелях, граничащих с жидким резервуаром, при их циклической деформации.

	M ² 2003	S ¹⁷ 2004	Z ¹⁸ 2005	Z ¹⁹ 2007	G ²⁰ 2007	U ¹⁴ 2008	Настоящая модель
Обобщенная модель/	•	•			•	•	•
Модель транспорта в хряще			○	○	○		
Учет связывания с матриксом							•
Есть сравнение с экспериментом	•			•			•
Приближение малых деформаций/	•	•	•	•	•	•	•
Результаты даны для $\varepsilon_{max} > 5\%$ (до 20%)	○	○	○	○		○	
Зависимость параметров ткани от отн. деф. ε :	•	•	•	•		•	
Нелинейная эластичность матрикса						○	
Коэффициент проницаемости зависит от ε	○	○	○	○		○	
Коэффициент диффузии зависит от ε			○	○		○	

Далее проводится сравнение с существующими моделями транспорта молекул в тканях и гелях при циклической деформации. Имеется шесть наиболее близких к данной работе моделей, опубликованных к настоящему времени. Краткое сравнение принятых приближений, особенностей и приложения моделей приведено в таблице 2. Настоящая модель, в отличие от предыдущих, учитывает связывание молекул с внеклеточным матриксом и является обобщенной, то есть рассматривает влияние значений параметров на решение. С другой стороны, модель применима для малых деформаций, при которых механические свойства ткани не зависят от величины деформации.

В заключающем **разделе 4.5** проводится краткое суммирование и обсуждение результатов, формулируются и обсуждаются соответствующие выводы (см. выводы 2-4 на стр. 22).

¹⁷B. Sengers et al., J. Biomech. Enging., 2004, 126, 82–91

¹⁸L. Zhang, A. Szeri, Proc. R. Soc. Lond. A, 2005, 461(2059), 2021–2037

¹⁹L. Zhang, A. Szeri, Comp. Math. Applic., 2007, 53, 232–246

²⁰B. Gardiner et al., Comp. Methods Biomech. Biomed. Eng., 2007, 10(4), 265–278

Глава 5. Примеры приложения модели.

Пятая глава посвящена расчету с помощью построенной модели скорости накопления белка плазмينا в фибриновом геле и белка фибронектина в коллагеновом геле. Для этих примеров подтверждаются закономерности, выведенные в обобщенной модели. Рассчитывается величина выигрыша в скорости накопления молекул в условиях циклической деформации с максимальной относительной деформацией 5% и дается оценка оптимальной частоты, при которой выигрыш достигает максимального значения. В заключении рассматриваются возможные приложения модели для решения медико-биологических задач.

В разделе 5.1 приводятся результаты расчета функции выигрыша для переноса плазмина в 1% фибриновом геле под действием циклической деформации. Формулируются выводы (см. вывод 5 на стр. 22).

В таблице 3 приведены значения параметров фибринового геля и плазмина, используемые в модели, и значения функции выигрыша в накоплении свободного плазмина для четырех частот. Значение в таблице — это G_{av} на 100-ом цикле нагрузки. На частоте 1 Гц усредненная функция выигрыша имеет максимум. Величина выигрыша в максимуме в 3 раза выше по сравнению с выигрышем для не связывающихся молекул того же размера. График, показывающий рассчитанные значения выигрыша для накопления свободного плазмина, связанного и суммарного количества плазмина, представлен на рис. 6.

Таблица 3. Параметры и результаты моделирования накопления плазмина в фибриновом геле и фибронектина в коллагеновом геле для различных частот циклической нагрузки.

	Параметры						Результаты		
	ε_{max}	R_g	N'	k_2/k_1	$f, Гц$	k_1	$\tilde{h}, мм$	G_{av} (100 циклов) есть связывание	G_{av} (100 циклов) нет связывания
Фибриновый гель 1% + плазмин	0,05	200	50	0,001	10	0,1	0,03	0,15	0,08
					1	1	0,1	0,23	0,08
					0,1	10	0,3	0,2	0,08
					0,01	100	1	0,14	0,08
Коллагеновый гель 1% + фибронектин	0,05	200	1	0,1	1	0,01	0,06	0,09	0,08
					0,1	0,1	0,2	0,14	0,08
					0,01	1	0,6	0,15	0,08
					0,001	10	2	0,10	0,08

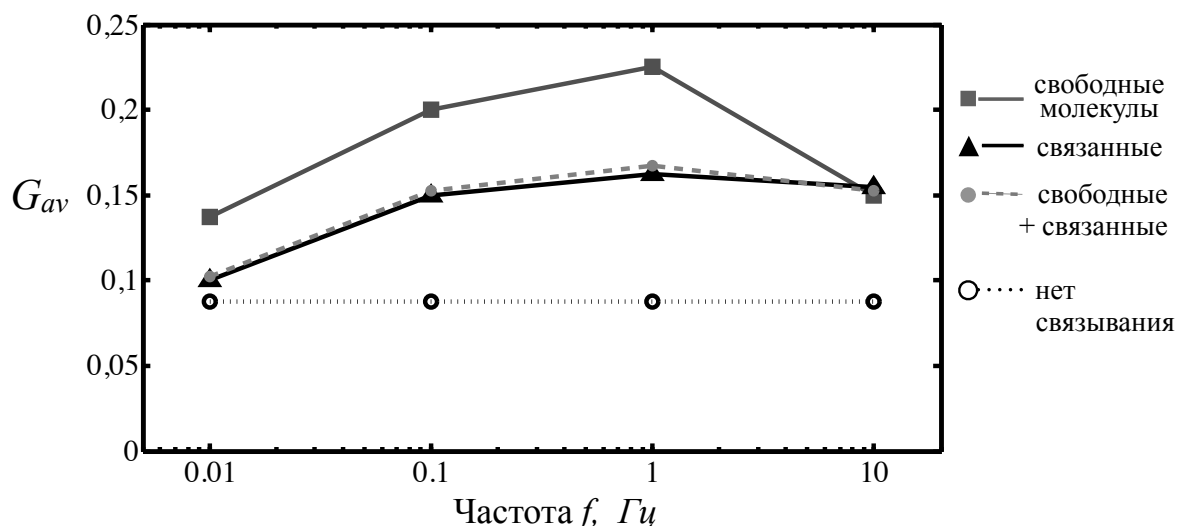


Рис. 6 Зависимости среднего значения функции выигрыша от частоты в момент времени, соответствующий 100 циклам нагрузки, для свободного плазмина, связанного, их суммы, и случая если бы плазмин не связывался с матриксом.

Раздел 5.2 посвящен моделированию транспорта фибронектина в 1% коллагеновом геле под действием циклической деформации. Результаты представлены в Таблице 3. Максимальное увеличение скорости накопления белка достигается на частоте 0,01 Гц. (см. вывод 6 на стр. 22).

В **разделе 5.3** обсуждаются варианты применения настоящей модели: в задаче проектирования гидрогелевых покрытий имплантатов, в задаче предсказания фармакокинетики лекарств внутри глаза, в задаче моделирования растворения тромба.

По результатам построенной модели циклическая деформация небольшой амплитуды может приводить к увеличению скорости транспорта веществ в биологических тканях на несколько процентов. В особенности этот эффект проявляется при транспорте молекул, имеющих свойство связываться с матриксом. Таким свойством обладают факторы роста тканей и другие морфогенетические факторы. Также известно, что клетки чувствительны к малому изменению концентраций (на несколько процентов). Таким образом, результаты модели не опровергают гипотезу о том, что механизм чувствительности клеток к потоку жидкости может быть связан с изменением концентраций и градиентов молекул, поступающих в ткань извне или секретлируемых самими клетками.

Одним из примеров перестройки ткани при воздействии циклической деформации является процесс приживления костного имплантата. В медицине актуальна задача достижения наилучшего приживления за короткий срок.

Для этого используются гидрогелевые покрытия имплантатов на основе биополимеров, таких как коллаген. Также возможно применение факторов роста и регенерации в процессе приживления. Результаты настоящей модели позволяют учесть динамическую нагрузку на имплантат в процессе регенерации. Модель может быть использована для расчетов скорости проникновения лекарств внутрь покрытия или скорости выхода внесенных туда белковых факторов.

Массоперенос макромолекул за счет движения с потоком жидкости играет роль в тканях с ограниченным кровотоком, таких как хрящ или стекловидное тело. В частности, одной из актуальных медицинских задач является моделирование фармакокинетики лекарств внутри глаза, введенных в стекловидное тело. Такие расчеты необходимы для определения места и дозы вводимого лекарственного препарата. На потоки водянистой влаги внутри камер глаза и сквозь стекловидное тело к сетчатке влияют механические напряжения, оказываемые извне на стенку глаза. Настоящая модель может быть применена для расчетов распределения лекарств внутри глаза и скорости их выведения.

Следующий вариант приложения модели связан с задачей моделирования рассасывания тромбов, закупоривающих сосуд. Существующие в настоящее время модели не учитывают эластичность стенок сосудов и материала тромбов и не достаточно полно могут описать процесс лизиса. Вместе с тем, большинство протеаз, участвующих в растворении тромба, связываются с фибриновым матриксом, что существенно ограничивает проникновение их внутрь сгустка. По результатам построенной в работе модели можно предположить, что циклическая деформация вязкоэластичного тромба может влиять на транспорт протеолитических ферментов вблизи границы тромб/кровь. Модель предсказывает наилучшее ускорение транспорта белка с характеристиками плазмينا при циклической деформации с частотой 1 Гц , что совпадает с частотой пульсаций в сосудах. Модель, таким образом, может быть использована как основа для моделирования лизиса тромба с учетом его вязкоэластичности.

Результаты и выводы

1. Построена модель потоков внеклеточной жидкости в биологической ткани с нарушенным кровоснабжением, вызванных циклической деформацией ткани. Построена модель транспорта макромолекул в ткани под действием этих потоков с учетом связывания молекул с внеклеточным матриксом. Расчеты кинетики массопереноса некоторых молекул в хряще и агарозном геле, проведенные на основе модели, согласуются с экспериментальными данными.

2. С помощью модели показано, что скорость транспорта молекул увеличивается под действием циклической деформации ткани по сравнению с диффузионным переносом. Причем для белка с молекулярной массой порядка 100 кДа достигается двукратное увеличение скорости его накопления при деформации ткани с амплитудой 5%. При этом увеличение скорости накопления в ткани макромолекул, которые связываются с матриксом, еще в несколько раз выше, чем для не связывающихся молекул.

3. Для макромолекул, которые связываются с компонентами матрикса, в диапазоне физиологических частот ($0,001 - 10 \text{ Гц}$) существует оптимальная частота нагрузки, обеспечивающая максимальную скорость транспорта при постоянстве остальных параметров, характеризующих внешнюю нагрузку, механические свойства ткани и свойства молекул.

4. При построении модели проведено преобразование большого набора физиологических характеристик ткани, молекулы и внешней нагрузки к меньшему числу безразмерных коэффициентов. Полученные зависимости эффекта циклической деформации от значения этих коэффициентов позволяют оценить диапазон увеличения скорости транспорта макромолекул, достижимый в физиологических условиях.

5. На примере транспорта плазмينا в 1% фибриновом геле рассчитано максимальное увеличение скорости накопления в геле плазмина, которое достигается при частоте 1 Гц и составляет около 23% при относительной деформации 5%.

6. На примере транспорта фибронектина в 1% коллагеновом геле рассчитано максимальное увеличение скорости накопления в геле фибронектина, которое достигается при частоте $0,01 \text{ Гц}$ и составляет около 15% при относительной деформации 5%.

Список публикаций по теме диссертации

1. М.А. Ахманова, Н.В. Игнатова, С.П. Домогатский, В.Ю. Евграфов, Ю.Е. Батманов. Модель фармакодинамики кеналога при субтеноновом введении на коллагеновой гемостатической губке.// Вестник РГМУ, 2007, Т. 59(6), С. 41–44.
2. М.А. Ахманова, С.П. Домогатский, Э.К. Рууге. Ускорение транспорта макромолекул в биологических тканях под действием циклической деформации.// Сборник трудов X-ой Международной молодежной конференции ИБХФ РАН-ВУЗЫ «Биохимическая физика» (Москва), 2010, С. 15–16.
3. Ахманова М. А., Домогатский С. П. Ускорение транспорта макромолекул в мягких тканях под действием циклической деформации.// Сборник трудов 1-ой Международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург), 2010, Т. 2, С. 11–12.
4. Ахманова М.А., Домогатский С.П., Евграфов В.Ю. Моделирование потоков жидкости внутри человеческого глаза и их влияние на биораспределение лекарственных веществ.// Сборник трудов 1-ой Международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург), 2010, Т. 2, С. 10–11.
5. Ахманова М.А., Домогатский С.П. Модель транспорта макромолекул в биологических тканях под действием циклической деформации.// Тезисы XVIII-ой Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование» (Пущино), 2011, Т. 18, С. 20.
6. М.А. Ахманова, С.П. Домогатский, В.Ю. Евграфов. Компьютерная модель потоков жидкости внутри глаза человека.// Биофизика, 2011, Т. 56(1), С. 129–135.

Принятые обозначения

$u(x, z, t)$ — смещение элемента твердой фазы относительно его начального положения (x, z) ;

u_x, u_z — компоненты смещения твердой фазы по осям x и z ;

$\varepsilon(x, t)$ — относительная деформация твердой фазы по оси x ;

ε_{max} — максимальная относительная деформация твердой фазы по x ;

$\varepsilon_{\perp}(t)$ — отн. деф. ткани по z в следствие приложенной нагрузки на верхнюю пластину;

ε_0 — амплитуда относительная деформация ткани в направлении z ;

f — частота нагрузки;

$\tilde{u}(x, t) = u_x(x, t) + \varepsilon_{\perp}(t) \cdot x$;

$v(x, t)$ — скорость жидкости относительно твердой фазы;

$p(x, t)$ — давление в жидкости;

k — коэффициент проницаемости твердой фазы для жидкости;

H_A — модуль упругости ткани при ограниченной деформации;

ν — коэффициент Пуассона;

ϕ — пористость ткани (отношение объема жидкости ко всему объему ткани);

\tilde{h} — характерная глубина проникновения возмущения внутрь ткани;

$c_F(x, t)$ — концентрация свободных молекул в ткани;

$c_B(x, t)$ — концентрация связанных молекул в ткани;

c_0 — концентрация свободных молекул в резервуаре с жидкостью;

N — концентрация связывающих центров;

k_a — константа ассоциации;

k_d — константа диссоциации;

D — коэффициент диффузии;

$x', t', \tilde{u}', c'_{F,B}, f'$ — нормированные переменные, см. стр. 13;

R_g, k_1, k_2, N' — безразмерные коэффициенты, см. стр. 13;

$G(t)$ — функция выигрыша;

$G_{av}(t)$ — среднее значение функции выигрыша за один цикл нагрузки.