

УДК 577.352

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ВЕЩЕСТВ ПРИ ЗАМОРАЖИВАНИИ КЛЕТОЧНОЙ СУСПЕНЗИИ**О.А.Стриха, Е.И.Смолянинова, Е.А.Гордиенко***Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, 61015, Украина
e-mail: oksana.strikha@mail.ru*

Поступила в редакцию 28 ноября 2013 года

Принята 13 декабря 2013 года

Построена физико-математическая модель переноса веществ между клетками и окружающей их жидкой фазой в процессе замораживания клеточной суспензии. Полученная система обыкновенных дифференциальных уравнений позволяет вычислить изменения мембранного потенциала, состава вне- и внутриклеточных сред и обезвоживания клеток при их замораживании – отогреве.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: физико-математическое моделирование, трансмембранный перенос веществ, клеточная суспензия, замораживание.

ТЕОРЕТИЧНА МОДЕЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСУ РЕЧОВИН ПРИ ЗАМОРОЖУВАННІ КЛІТИННОЇ СУСПЕНЗІЇ.**О.А. Стриха, Є.І. Смолянінова, Є.О. Гордієнко***Институт проблем криобіології та криомедицини НАН України, вул.Переяславська, 23, м.Харків, 61015*

Побудована фізико-математична модель переносу речовин між клітинами та оточуючою їх рідкою фазою в процесі заморожування клітинної суспензії. Отримана система звичайних диференціальних рівнянь дозволяє вирахувати зміни мембранного потенціалу, складу поза- та внутрішньоклітинних розчинів та зневоднення клітин при заморожуванні-відігріві.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фізико-математичне моделювання, трансмембранный перенос речовин, клітинна суспензія, заморожування.

THEORETICAL MODEL OF TRANSMEMBRANE MASS TRANSFER DURING FREEZING OF CELL SUSPENSION**O.A. Strikha, E.I. Smolyaninova, E.A. Gordienko***Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, NAS of Ukraine, 23 Pereyaslavskayast., Kharkov, 61015*

The article describes the physical-mathematical model of mass transfer between cells and liquid environment during freezing of cell suspension. The obtained system of ordinary differential equations allows to calculate the changes in membrane potential, composition of extra- and intracellular substances and level of dehydration of cells during freeze-thaw process.

KEY WORDS: physical-mathematical modeling, mass transfer, cell suspension, freezing.

Одной из актуальных задач современной науки является разработка способов длительного консервирования биологических объектов путем их глубокого замораживания. На сохранность криоконсервируемых клеток влияет большое количество факторов, действию которых они подвергаются в процессе замораживания и последующего плавления. С целью сокращения затрат, экономии времени и повышения эффективности научных исследований на этапе разработки способов криоконсервирования биообъектов целесообразно использовать метод численного моделирования процессов и явлений, которые происходят при их замораживании и последующем оттаивании. Большинство факторов, вызывающих повреждение клеток при низкотемпературном консервировании, непосредственно или косвенно связаны с образованием в клеточной суспензии кристаллов льда [1]. По мере замораживания все большая часть воды превращается в лед и концентрация растворенных веществ в межкристаллическом растворе соответственно возрастает. Это приводит к значительному обезвоживанию клеток, которые вытесняются кристаллами льда в

жидкую фазу, а также к перераспределению растворенных в клеточной суспензии электролитов между клетками и окружающей их жидкой фазой и, как следствие, к изменению мембранного потенциала клеток. Как значительное обезвоживание, так и чрезмерное увеличение (по абсолютной величине) мембранного потенциала приводит к повреждению клеток в процессе криоконсервирования [2,3]. Численное моделирование процессов, протекающих в течение цикла «замораживание-оттаивание» клеточных суспензий, позволяет на основании расчетов прогнозировать, какие протоколы криоконсервирования являются более эффективными, чем другие, и тем самым заменить часть реальных экспериментов теоретическими расчетами.

Целью данной работы является построение физико-математической модели, которая описывает изменение мембранного потенциала, состава вне- и внутриклеточной сред и обезвоживание клеток и при замораживании клеточной суспензии.

МОДЕЛЬ

В общем случае в приближении неравновесной термодинамики прерывных систем [4] плотность (на единицу площади поверхности мембраны) диссипативной функции при трансмембранном переносе веществ между клеткой и окружающим ее раствором, равна

$$\Phi_m = \frac{1}{S} \Delta\mu_W \frac{dN_W^{in}}{dt} + \frac{1}{S} \sum_{k=1}^m \Delta\mu_k \frac{dN_k^{in}}{dt}, \quad (1)$$

где S – площадь поверхности клеточной мембраны, μ_W^{out} , μ_k^{out} и μ_W^{in} , μ_k^{in} – электрохимические потенциалы моля воды и k -го растворенного вне- или внутри клетки вещества соответственно, N_W^{in} и N_k^{in} – количество молей воды и k -го растворенного вещества во внутриклеточном растворе, t – время. Верхними индексами *out* и *in* в дальнейшем отмечены все величины, которые относятся соответственно ко вне- и внутриклеточному раствору. Величины, относящиеся к молекулам воды и k -му растворенному веществу, отмечены нижними индексами W и k . Символом Δg обозначены разности значений величины g во вне- и внутриклеточном растворах. В частности, $\Delta\mu_W = \mu_W^{out} - \mu_W^{in}$ и $\Delta\mu_k = \mu_k^{out} - \mu_k^{in}$. Сумма в правой части равенства (1) содержит m слагаемых, которые соответствуют только m проникающим через клеточную мембрану компонентам.

При обезвоживании клеток, контактирующих с гипертоническим раствором, мембраны клеток деформируются путем изгиба или сдвига в плоскости мембраны, а не путем изотропного растяжения. При этом площадь поверхности любого участка мембраны в процессе деформации не изменяется и перепадом давления на мембране можно пренебречь [5]. Как правило, даже при быстрых скоростях охлаждения клеточной суспензии характерный масштаб неоднородности температуры в охлаждаемом образце значительно превышает размеры клетки и перепадами температуры на мембране также можно пренебречь.

Пренебрегая перепадами давления и температуры на мембране клетки, вместо (1) получаем

$$\Phi_m = \frac{1}{S} (\Delta\mu_W)_{p,T} \frac{dN_W^{in}}{dt} + \frac{1}{S} \sum_{k=1}^m [(\Delta\mu_k)_{p,T} + z_k F \Delta\varphi] \frac{dN_k^{in}}{dt} \quad (2)$$

где p – давление, z_j – валентность j -го компонента раствора, $F = eN_A$ – число Фарадея, e – заряд протона, N_A – число Авогадро, $\Delta\varphi = \varphi^{out} - \varphi^{in}$ – перепад

электрического потенциала между внешней и внутренней поверхностями мембраны (мембранный потенциал).

Для идеальных растворов

$$\mu_j = RT \ln n_j + f_j(p, T) + z_j F \varphi \quad (3)$$

где $n_j = \frac{N_j}{N_W + \sum_{k=1}^n N_k}$ – мольная доля j – го компонента раствора, R – универсальная газовая постоянная, T – абсолютная температура [4].

В приближении n – компонентного слабого раствора ($\sum_{k=1}^n N_k \ll N_W$) молярный химический потенциал воды во вне- и внутриклеточном растворах равен

$$\begin{aligned} \mu_W &= RT \ln \frac{N_W}{N_W + \sum_{k=1}^n N_k} + f_W(p, T) = RT \ln \left(1 - \sum_{k=1}^n n_k \right) + f_W(p, T) \\ &\cong -RT \sum_{k=1}^n n_k + f_W(p, T) \end{aligned}$$

$$\text{Поэтому } (\Delta\mu_W)_{p,T} = -RT \sum_{k=1}^n \Delta n_k \text{ и } \frac{(\Delta\mu_W)_{p,T}}{v_W} \cong -RT \sum_{k=1}^n \Delta c_k \quad (4)$$

где

$$c_k = \frac{N_k}{N_W v_W} \quad (k = 1, 2, \dots, n) \quad (5)$$

– молярная концентрация раствора, v_W – молярный объем воды. В том же приближении

$$(\Delta\mu_k)_{p,T} = RT \ln \frac{n_k^{out}}{n_k^{in}} + z_k F \Delta\varphi = RT \left(\frac{c_k^{out}}{c_k^{in}} - 1 \right) + z_k F \Delta\varphi, \quad k=1, 2, \dots, n \quad (6)$$

С учетом (4) и (5) выражение для плотности функции диссипации в мембране (2) принимает вид

$$\Phi_m = -\frac{1}{s} RT \sum_{k=1}^n (\Delta c_k) \frac{v_W dN_W^{in}}{dt} + \frac{1}{s} RT \sum_{k=1}^n \left[\Delta c_k + \frac{z_k F c_k^{in} \Delta\varphi}{RT} \right] \frac{1}{c_k^{in}} \frac{dN_k^{in}}{dt} \quad (7)$$

Не принимая во внимание пренебрежимо малые перекрестные эффекты между термодинамическими потоками $\frac{1}{s} v_W \frac{dN_W^{in}}{dt}$, $\frac{1}{s} \frac{dN_k^{in}}{dt}$ и термодинамическими силами $RT \sum_{k=1}^n (\Delta c_k)$, $\frac{RT}{c_k^{in}} \left(\Delta c_k + \frac{z_k F c_k^{in} \Delta\varphi}{RT} \right)$, получаем следующие феноменологические уравнения линейной неравновесной термодинамики:

$$\frac{dN_W^{in}}{dt} = -S L_p \frac{RT}{v_W} \sum_{k=1}^n (\Delta c_k) = -S p_W \sum_{k=1}^n (\Delta c_k) \quad (8)$$

$$\frac{dN_k^{in}}{dt} = S p_k \left(\Delta c_k + \frac{z_k F c_k^{in} \Delta\varphi}{RT} \right), \quad (k = 1, 2, \dots, n), \quad (9)$$

где L_p – коэффициент фильтрации клеточной мембраны, p_W – коэффициент проницаемости клеточной мембраны для молекул воды, p_k – коэффициент пассивной проницаемости клеточной мембраны для молекул – го компонента растворов.

Дифференцируя обе части равенства (5) по времени, для молярной концентрации внутриклеточного раствора получаем

$$\frac{d}{dt} c_k^{in} = \frac{1}{v_W N_W^{in}} \left(\frac{d}{dt} N_k^{in} - c_k^{in} v_W \frac{d}{dt} N_W^{in} \right), \quad (k = 1, 2, \dots, n).$$

Подставляя в это уравнение $\frac{d}{dt} N_k^{in}$ из (8) и $\frac{dN_k^{in}}{dt}$ из (9), получаем

$$\frac{d}{dt} c_k^{in} = \frac{1}{v_W N_W^{in}} \left[S p_k \left(c_k^{out} - c_k^{in} + \frac{z_k F c_k^{in} \Delta \varphi}{RT} \right) + S c_k^{in} L_p RT \sum_{i=1}^n (c_k^{out} - c_k^{in}) \right] \quad (10)$$

Замечая, что в растворе $v_W \approx const$, уравнение (8), можно представить в виде

$$\frac{d}{dt} (v_W N_W^{in}) = -S L_p RT \sum_{k=1}^n (c_k^{out} - c_k^{in}) \quad (11)$$

В квазистационарном приближении [6], когда заключенный внутри мембраны заряд не изменяется со временем, имеем

$$S \sum_{k=1}^m z_k F p_k \left(c_k^{out} - c_k^{in} + \frac{z_k F c_k^{in} (\varphi^{out} - \varphi^{in})}{RT} \right) = -\frac{\varepsilon_0 \varepsilon S}{h} \frac{d}{dt} (\varphi^{out} - \varphi^{in}) \quad (12)$$

где ε_0 — электрическая постоянная, ε — относительная диэлектрическая проницаемость мембраны, h — толщина клеточной мембраны.

Коэффициент пассивной проницаемости мембраны для k -го компонента раствора p_k связан с коэффициентом диффузии этого компонента внутри мембраны в поперечном к ней направлении D_k равенством $D_k = p_k h$, а коэффициент диффузии, в свою очередь, связан с подвижностью k -го компонента раствора u_k соотношением Эйнштейна–Смолуховского $u_k = \frac{D_k}{kT}$, где k — постоянная Больцмана. Поэтому плотность трансмембранного тока проводимости k -го компонента раствора можно представить в следующем виде:

$$I_k = e z_k p_k RT (c_k^{out} - c_k^{in}) + e z_k^2 F u_k c_k^{in} \Delta \varphi$$

Очевидно, концентрация не проникающих через клеточную мембрану веществ во внутриклеточном растворе равна

$$c_k^{in} = c_k^{in}(0) \frac{N_W^{in}(0) v_W}{N_W^{in} v_W} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (13)$$

В рассматриваемом приближении концентрацию всех не проникающих через клеточную мембрану веществ во внеклеточном растворе можно выразить через концентрацию одного из них, например, n -го, следующим образом. Поскольку

$$c_n^{out} = \frac{N_n^{out}(0)}{N_W^{out} v_W},$$

то

$$c_k^{out} = \frac{N_k^{out}(0)}{N_W^{out} v_W} = \frac{N_k^{out}(0)}{N_n^{out}(0)} c_n^{out} = \frac{c_k^{out}(0)}{c_n^{out}(0)} c_n^{out} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (14)$$

По определению концентрация проникающих через клеточную мембрану веществ во внеклеточном растворе равна

$$c_k^{out} = \frac{N_k(0) - \chi N_k^{in}}{N_W^{out} v_W} = \frac{c_k^{out}(0) - H [c_k^{out}(0) - c_k^{in}(0)] - H c_k^{in} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}, \quad (k = 1, 2, \dots, m), \quad (15)$$

где $H = \frac{\chi N_W^{in}(0) v_W}{N_W(0)}$, $N_W(0)$ — полное количество молей воды в клеточной суспензии в исходном состоянии, χ — количество клеток в клеточной суспензии, которое считается неизменным.

Из (10)-(12) с учетом (13)-(15) получаем систему $m + 2$ обыкновенных дифференциальных уравнений, которая описывает изменение со временем мембранного потенциала $\Delta \varphi$, содержания внутриклеточной воды $v_W N_W^{in}$ и концентрации растворенных веществ в клетках (c_k^{in}) и во внеклеточном растворе (c_k^{out}):

$$\frac{\varepsilon_0 \varepsilon}{h} \frac{d}{dt} \frac{F(\varphi^{\text{out}} - \varphi^{\text{in}})}{RT} = - \frac{\sum_{k=1}^m \varepsilon_k F^2 \nu_k c_k^{\text{in}}(0)}{RT} \left(\frac{c_k^{\text{out}}(0) - H \left[\frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}}{1 - H \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}} - \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} + \right. \\ \left. z_k \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \frac{F(\varphi^{\text{out}} - \varphi^{\text{in}})}{RT} \right) \quad (16)$$

$$\frac{d}{dt} \frac{\nu_W N_W^{\text{in}}}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} = - \frac{SL_P RT c_k^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} \left[\sum_{k=1}^m \left(\frac{c_k^{\text{out}}(0) - H \left[\frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}}{1 - H \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}} - \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \right) - \right. \\ \left. \frac{SL_P RT c_k^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} \left[\sum_{k=m+1}^n \frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} \cdot \frac{c_n^{\text{out}}}{c_n^{\text{out}}(0)} - \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W} \right] \right] \quad (17)$$

$$\frac{d}{dt} \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} = \frac{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}} \left[\frac{S p_k c_k^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} \left(\frac{c_k^{\text{out}}(0) - H \left[\frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}}{1 - H \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}} - \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} + \right. \right. \\ \left. \left. + \frac{z_k F \Delta \varphi}{RT} \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \right) + \frac{SL_P RT c_k^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \sum_{k=1}^m \left(\frac{c_k^{\text{out}}(0) - H \left[\frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}}{1 - H \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}} - \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \right) - \right. \\ \left. \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \right) + \frac{SL_P RT c_k^{\text{in}}(0)}{\nu_W N_W^{\text{in}}(0)} \frac{c_k^{\text{in}}}{c_k^{\text{in}}(0)} \sum_{k=m+1}^n \left(\frac{c_k^{\text{out}}(0)}{c_k^{\text{in}}(0)} \cdot \frac{c_n^{\text{out}}}{c_n^{\text{out}}(0)} - \frac{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W}{N_W^{\text{in}}(0) \nu_W} \right) \quad (18)$$

Имея в виду использование системы уравнений (16)-(18) для описания процессов трансмембранного переноса, протекающих при замораживании клеточных суспензий, представим оператор дифференцирования по времени в виде $\frac{d}{dt} = \frac{dT}{dt} \frac{d}{dT} = \beta \frac{d}{dT}$, где β — скорость изменения температуры замораживаемой клеточной суспензии. Поскольку характерное время трансмембранного переноса криопротектора через клеточные мембраны, как правило, значительно превосходит значения характерных времен трансмембранного переноса для молекул воды и ионов, в первом приближении можно считать, что в процессе замораживания содержание криопротектора в клетках и в окружающей их жидкой фазе не изменяется. Кривая равновесия между жидкой и твердой фазами может быть представлена в виде зависимости между температурой плавления криозащитного раствора и концентрацией криопротектора в жидкой фазе, контактирующей с кристаллами льда, то есть в виде $c^* = c^*(T)$. Полагая, что криопротектором является n -й компонент раствора и что внеклеточные кристаллы льда в процессе замораживания клеточной суспензии в каждый момент времени находятся в термодинамическом равновесии с окружающим их внеклеточным раствором, можно представить указанную выше кривую равновесия в виде

$c_n^{out} = c_n^*(T)$. С учетом приведенных соображений можно представить систему уравнений (16 - 18) в виде

$$\frac{\varepsilon_0 \varepsilon d}{h} \frac{d}{dT} \frac{F(\varphi^{out} - \varphi^{in})}{RT} = - \frac{\sum_{k=1}^m z_k F^2 p_k c_k^{in}(0)}{RT\beta} \left(\frac{\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - H \left[\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}} - \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} + z_k \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{F(\varphi^{out} - \varphi^{in})}{RT}}{\right)} \quad (19)$$

$$\frac{d}{dT} \frac{v_W N_W^{in}}{v_W N_W^{in}(0)} = - \frac{SL_p RT c_k^{in}(0)}{v_W N_W^{in}(0)} \cdot \frac{1}{\beta} \left[\sum_{k=1}^m \left(\frac{\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - H \left[\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}} - \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \right) - \frac{SL_p RT c_k^{in}(0)}{v_W N_W^{in}(0)} \cdot \frac{1}{\beta} \left[\sum_{k=m+1}^n \frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} \frac{c_n^*(T)}{c_n^*(T_0)} - \frac{N_W^{in}(0) v_W}{N_W^{in} v_W} \right] \right] \quad (20)$$

$$\frac{d}{dT} \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} = \frac{v_W N_W^{in}(0)}{v_W N_W^{in}} \cdot \frac{1}{\beta} \left[\frac{Sp_k}{v_W N_W^{in}(0)} \left(\frac{\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - H \left[\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}} - \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} + \frac{z_k F \Delta \varphi}{RT} \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \right) + \frac{SL_p RT c_k^{in}(0)}{v_W N_W^{in}(0)} \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \sum_{k=1}^m \left(\frac{\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - H \left[\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} - 1 \right] - H \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}} - \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \right) + \frac{SL_p RT c_k^{in}(0)}{v_W N_W^{in}(0)} \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \sum_{k=m+1}^n \left(\frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)} \frac{c_n^*(T)}{c_n^*(T_0)} - \frac{N_W^{in}(0) v_W}{N_W^{in} v_W} \right) \right] \quad (21)$$

где T_0 – температура, при которой начинается кристаллизация в замораживаемой клеточной суспензии. Из (13)-(15) следует

$$\frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} = \frac{N_W^{in}(0) v_W}{N_W^{in} v_W} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (22)$$

$$\frac{c_k^{out}}{c_k^{out}(0)} = \frac{c_n^{out}}{c_n^{out}(0)} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (23)$$

$$\frac{c_k^{out}}{c_k^{out}(0)} = \frac{1 - H + H \frac{c_k^{in}(0)}{c_k^{out}(0)} \left(1 - \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)} \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W} \right)}{1 - H \frac{N_W^{in} v_W}{N_W^{in}(0) v_W}}, \quad (k = 1, 2, \dots, m). \quad (24)$$

Переходя к безразмерной температуре $T^* = \frac{T}{T_0}$ и введя обозначения $\theta_k = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon RT}{z_k F^2 p_k h c_k^{in}(0)}$, $\tau_k = \frac{v_W N_W^{in}(0)}{S p_k}$, $\tau_W = \frac{v_W N_W^{in}(0)}{S L p RT c_k^{in}(0)}$ для величин, имеющих размерность времени, можно представить систему уравнений (19)-(24) в безразмерном виде:

$$\frac{d}{dT^*} u = - \sum_{k=1}^m \frac{\tau_0}{\beta \theta_k} \left(\frac{A_k - H[A_k - 1] - H s_k y}{1 - H y} - s_k + z_k s_k u \right) \quad (25)$$

$$\frac{d}{dT^*} y = - \frac{\tau_0}{\beta \tau_W} \left[\sum_{k=1}^m \left(\frac{A_k - H[A_k - 1] - H s_k y}{1 - H y} - s_k \right) \right] - \frac{\tau_0}{\beta \tau_W} \left[\sum_{k=m+1}^n A_k \frac{c_n^*(T^*)}{c_n^*(T_0)} - \frac{1}{y} \right] \quad (26)$$

$$\frac{d}{dT^*} s_k = \frac{1}{y \beta} \left[\frac{1}{\tau_k} \left(\frac{A_k - H[A_k - 1] - H s_k y}{1 - H y} - s_k + z_k u s_k \right) + \frac{1}{\tau_W} s_k \sum_{k=m+1}^n \left(A_k \frac{c_n^*(T)}{c_n^*(T_0)} - \frac{1}{y} \right) + \frac{1}{\tau_W} s_k \sum_{k=1}^m \left(\frac{A_k - H[A_k - 1] - H s_k y}{1 - H y} - s_k \right) \right] \quad (27)$$

$$s_k = \frac{1}{y} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (28)$$

$$g_k = \frac{c_n^*(T^*)}{c_n(T_0)} \quad (k = m + 1, m + 2, \dots, n) \quad (29)$$

$$g_k = \frac{1 - H + H \frac{1}{A_k} (1 - s_k y)}{1 - H y}, \quad (k = 1, 2, \dots, m), \quad (30)$$

где введено обозначение

$$A_k = \frac{c_k^{out}(0)}{c_k^{in}(0)}.$$

Система безразмерных уравнений (25)-(27) и равенств (28)-(30) для безразмерных величин $u = \frac{F(\varphi^{out} - \varphi^{in})}{RT}$, $y = \frac{v_W N_W^{in}}{v_W N_W^{in}(0)}$ и $s_k = \frac{c_k^{in}}{c_k^{in}(0)}$, $g_k = \frac{c_k^{out}}{c_k^{out}(0)}$ при начальных условиях $u(1) = \frac{F[\varphi^{out}(0) - \varphi^{in}(0)]}{RT}$, $y(1) = 1$, $s_k(1) = 1$, $g_k(1) = 1$ ($k = 1, 2, \dots, m$) полностью решает поставленную задачу.

Обобщение полученных результатов на процесс плавления клеточных суспензии не представляет труда.

ВЫВОДЫ

1. Получена система обыкновенных дифференциальных уравнений, которая позволяет путем численного моделирования рассчитать кинетику обезвоживания клеток, изменение мембранного потенциала и состава вне- и внутриклеточных сред при замораживании клеточной суспензии, зная режим охлаждения $\beta = \beta(t)$ и диаграмму плавления криозащитного раствора $c_n^* = c_n^*(T)$. В построенной модели учитываются такие параметры протокола криоконсервирования, как количество клеток в замораживаемой клеточной суспензии x , состав криозащитной среды и исходное состояние клеток.
2. Созданная физико-математическая модель позволяет определить условия замораживания клеток, при которых мембранный потенциал клеток достигает

достаточных для электрического пробоя клеточных мембран значений и позволяет рассчитать степень обезвоживания клеток в процессе замораживания клеточной суспензии, что чрезвычайно трудно осуществить в эксперименте.

3. Модель позволяет рассчитывать также изменения ионной силы среды и pH в процессе кристаллизации клеточной суспензии, то есть факторов, которые сильно влияют на повреждение криоконсервированных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины / Под ред. А.Н. Гольцева. – Харьков, 2012. – 767 с. /Aktual'nye problemy kriobiologii i kriomeditsiny / Pod red. A.N. Gol'ceva. – Har'kov, 2012. – 767 s./
2. Гордиенко Е.А. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий / Е.А. Гордиенко, Н.С. Пушкарь. – К.: Наукова думка, 1994. – 143 с. /Gordienko E.A. Fizicheskie osnovy nizkotemperaturnogo konservirovanija kletocnyh suspenzij / E.A. Gordienko, N.S. Pushkar'. – K.: Naukova dumka, 1994. – 143 s./
3. Gordienko E.A. Electroporation as possible mechanism of cryodamage / E.A. Gordienko, O.A. Strikha // The international conference of the society for low temperature biology, October 6-9, 2013: Book of Abstract. – Hannover, Germany. 2013. – P. 49.
4. ДеГроот С. Неравновесная термодинамика / ДеГроот С., П. Мазур. – М.: Мир, 1964. – 456 с. /DeGroot S. Neravnovesnaja termodinamika / DeGroot S., P. Mazur. – M.: Mir, 1964. – 456 s./
5. Гордиенко Е. А. Физика биомембран / Е. А. Гордиенко, В. В. Товстяк. – К.: Наукова думка, 2009. – 272 с. /Gordienko E. A. Fizika biomembran / E. A. Gordienko, V. V. Tovstjak. – K.: Naukova dumka, 2009. – 272 s./
6. Тамм И. Е. Основы теории электричества / И. Е. Тамм. – М.: Наука, 1975. – 616 с. /Tamm I. E. Osnovy teorii jelektrichestva / I. E. Tamm. – M.: Nauka, 1975. – 616 s./