

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ

Том (A) XXIII

СОЕДИНЕНИЯ

№ 5

1981

УДК 541.64:547.96

**АДСОРБЦИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ГИДРОФОБНУЮ
ПОЛИМЕРНУЮ ПОВЕРХНОСТЬ В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ГИДРОДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ**

Норданский А. Л., Полищук А. Я., Заиков Г. Е.

Рассмотрено влияние гидродинамических условий на образование необратимого слоя белков плазмы крови на гидрофобной полимерной поверхности. Найдены критерии преобладания процессов адсорбции, денатурации и диффузии по отношению друг к другу в зависимости от величины констант скорости этих процессов, а также от параметров потока. С использованием этих критериев получены выражения, описывающие кинетику образования необратимого адсорбционного слоя. Результаты проведенного теоретического исследования хорошо согласуются с опубликованными в литературе экспериментальными данными.

В последние годы сформировалось направление исследований, указывающих на важную роль сорбции белков плазмы крови при тромбообразовании. Являясь поверхностно-активными веществами, белки сорбируются на поверхность раздела фаз кровь — трансплантант и при конформационных изменениях активируют форменные элементы крови прежде всего тромбоциты [1]. Адсорбционный слой, состоящий из белков, претерпевших конформационные изменения, становится необратимым и устойчивым к воздействиям. В экспериментальных исследованиях адсорбции белков плазмы крови в качестве модельных поверхностей используются, как правило, гидрофобные полимерные поверхности [1—4], являющиеся непроницаемыми для данных макромолекул. Это позволяет выделить адсорбцию молекул белков плазмы крови из процесса сорбции в целом и получить необходимые константы. Кинетика адсорбции на гидрофобную полимерную поверхность описывается следующей системой уравнений:

$$\frac{dc_{Sn}}{dt} k_1 \bar{c}_V (c_s^\infty - c_{Sn} - c_{Sk}) - k_2 c_{Sn} - k_3 c_{Sn} \quad (1)$$

$$\frac{dc_{Sk}}{dt} = k_3 c_{Sn}, \quad (2)$$

где c_{Sn} — концентрация нативного белка на поверхности, c_{Sk} — концентрация денатурированного белка на поверхности, c_s^∞ — приведенное количество свободных мест на поверхности в начальный момент времени, характеризующее максимальную концентрацию белка в необратимом слое, k_1 — константа скорости адсорбции, k_2 — константа скорости десорбции, k_3 — константа скорости денатурации, \bar{c}_V — усредненная по объему концентрация белка в растворе, причем

$$\bar{c}_V \gg \frac{c_s^\infty s}{V}$$

(S – площадь гидрофобной поверхности, V – характерный объем раствора, находящегося с ней в контакте).

Данное условие справедливо для всех кровеносных сосудов, поэтому целесообразно пользоваться им в экспериментальных и теоретических моделях.

В нашей работе мы остановимся на наиболее часто встречающемся случае, когда скорость денатурации много больше скорости десорбции. Тогда $k_3 \gg k_2$ и уравнение (1) можно переписать в виде

$$\frac{dc_{Sn}}{dt} = k_1 \bar{c}_V (c_S^\infty - c_{Sn} - c_{Sk}) - k_3 c_{Sn} \quad (1')$$

Наконец, введем обозначение c_s для полной концентрации белка на поверхности и запишем $c_s = c_{Sn} + c_{Sk}$.

Важно отметить, что сорбция белков на поверхности раздела фаз определяется не только свойствами самой поверхности, но и потоком падающих на нее макромолекул. Применим к нашей задаче поток белков, взаимодействующих с гидрофобной полимерной поверхностью, будет определяться их массопереносом в диффузационном пограничном слое. Адсорбция на поверхности раздела фаз определяет граничные условия диффузационной задачи и позволяет осуществить ее общую постановку и решение.

Постановка задачи. Согласно работе [5], диффузационная скорость макромолекул в направлении к поверхности V_u оценивается для артериальной системы следующим соотношением:

$$-V_u = D/\delta, \quad (3)$$

где D – коэффициент диффузии данного соединения; δ – толщина диффузационного слоя, которая может быть определена по формуле

$$\delta_u = \delta_u / (\nu/D)^{1/2}, \quad (4)$$

где δ_u – толщина пограничного слоя; ν – кинематическая вязкость. Из выражения (4) видно, что для реальных $\nu \approx 10^{-6}$ м²/с, $D \approx 10^{-10} - 10^{-11}$ м²/с получим $\delta \ll \delta_u \leq R$ (R – характерный радиус нативного или модельного сосуда) и, следовательно, кривизной поверхности можно пренебречь. Общее уравнение диффузии записывается в виде

$$\frac{\partial c_V}{\partial t} + v_x \frac{\partial c_V}{\partial x} + v_y \frac{\partial c_V}{\partial y} + v_z \frac{\partial c_V}{\partial z} = D \Delta c_V, \quad (5)$$

где c_V – объемная концентрация белка ($c_V = c_V(x, y, z, t)$); v_x, v_y, v_z – составляющие линейной скорости потока в соответствующем направлении; t – время, x, y, z – декартовы координаты.

Далее сделаем некоторые упрощения в уравнении (5) исходя из следующих предположений: 1) вследствие перемешивания, характерного для модельных экспериментов, например, [2–4], и нативных сосудов $\partial c_V / \partial x = \partial c_V / \partial z = 0$; 2) для любого перемешивания существует ламинарный пограничный слой, характеризующийся условием $v_y = 0$, толщину которого можно определить из работы [5]

$$\delta_u = 2.4(\nu/\gamma)^{1/2}, \quad (6)$$

где γ – характеристическая скорость сдвига; $\gamma = Q/FR$ (Q – расход, м³/с, F – площадь поперечного сечения, R – характеристический радиус сосуда). Полагая число Рейнольдса $Re = \frac{QR}{F\nu}$, запишем

$$\delta_u = \frac{2.4R}{Re^{1/2}} \quad (6')$$

В этих предположениях уравнение (5) примет вид

$$\frac{\partial c_V}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c_V}{\partial y^2} \quad 0 < y < \delta \quad t > 0 \quad (7)$$

Запишем далее из баланса масс в диффузационном слое

$$-J|_{y=\delta} - J|_{y=0} = \frac{\partial c_S}{\partial t} \Big|_{\bar{c}_V=\text{const}} \quad (8)$$

где $J_{|y=\delta}$ – поток вещества на границе диффузионного слоя, $J_{|y=0}$ – на поверхности

$$\frac{\partial c_S}{\partial t} = \frac{\partial c_{Sn}}{\partial t} + \frac{\partial c_{Sk}}{\partial t},$$

где c_{Sn} и c_{Sk} определяется системой (1')–(2).

Далее будем рассматривать случай, когда исходная концентрация в диффузионном слое близка к нулю, в то время как концентрация того же белка в зоне перемешивания постоянна и равна c_V^0 . Этот случай соответствует как процессам в циркулирующей крови при интенсивном обновлении химического состава плазмы, так и модельным экспериментам. В уравнении (1) \bar{c}_V определяет количество вещества, которое вступает в контакт со стенкой. Имея в виду тенденцию к выравниванию концентраций в диффузионном слое и в зоне перемешивания, удобно выбрать $\bar{c}_V = c_V^0$. В этом случае уравнение (8) примет вид

$$J_{|y=\delta} - J_{|y=0} = \frac{\partial c_S}{\partial t} \quad (8')$$

Изменение знака перед $J_{|y=\delta}$ вызвано тем, что, принимая $\bar{c}_V = c_V^0$, мы фактически изменили и направление потока на границе диффузионного слоя.

Полагая концентрацию на границе диффузионного слоя постоянной и равной c_V^0 , запишем начальные и граничные условия для уравнения (7)

$$\begin{aligned} t=0 & \quad c_{Sn}=0 \quad c_{Sk}=0 \quad c_V=0 \\ y=0 & \quad D \frac{\partial c_V}{\partial y} = \frac{\partial c_S}{\partial t} + J_{k|y=\delta} \\ y=\delta & \quad D \frac{\partial c_V}{\partial y} = J_k, \end{aligned} \quad (9)$$

где J_k – поток вещества из зоны перемешивания, который определяется из уравнения

$$\begin{aligned} \frac{dc_V}{dt} &= - \frac{\partial J_k}{\partial y} \quad 0 < y < \infty \\ t=0 & \quad c_V=c_V^0 \\ y=0 & \quad J_k = - \frac{\partial c_S}{\partial t} \end{aligned}$$

Решение уравнения (7) с начальными и граничными условиями (9) ищем с помощью прямого и обратного преобразований Лапласа. В результате получим

$$\begin{aligned} c_V &= c_V^0 \left(1 - \int_1^{y/\delta} v_1 \left(u, \frac{Dt}{\delta^2} \right) du \right) - \frac{c_S^\infty k_1 c_V^0}{\sqrt{\pi D}} \times \\ &\times \exp(-k_1 c_V^0 t) \int_0^t \exp \left(k_1 c_V^0 \tau - \frac{(x-\delta)^2}{4D\tau} \right) \frac{d\tau}{\sqrt{\tau}}. \end{aligned} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} c_S &= c_S^\infty \left(1 - \Phi \left(\frac{\delta}{\sqrt{2Dt}} \right) \right) - \frac{\delta}{2\sqrt{\pi D}} \exp(-k_1 c_V^0 t) \times \\ &\times \int_0^t \exp \left(k_1 c_V^0 \tau - \frac{\delta^2}{4D\tau} \right) \frac{d\tau}{\sqrt{\tau^3}}, \end{aligned} \quad (11)$$

где $v_1(u, Dt/\delta^2)$ – тэта-функция, $\Phi(\delta/\sqrt{2Dt})$ – интеграл вероятности. Кроме того, в частности, получим

$$c_{Sk} = k_3 \exp(-k_3 t) \int_0^t c_S(\xi) \exp(k_3 \xi) d\xi \quad (12)$$

$$c_{Sn} = c_S(t) - k_3 \exp(-k_3 t) \int_0^t c_S(\xi) \exp(k_3 \xi) d\xi \quad (13)$$

При изучении исключительно процессов необратимой адсорбции основное внимание следует уделить анализу выражений (11) – (13), поскольку в отсутствие проницаемости через поверхностную мембрану влияние различных параметров на концентрацию белка в диффузационном слое скажется лишь на скорости ее выравнивания с концентрацией в зоне перемешивания, что в рамках данной работы специального интереса не представляет. Рассмотрим теперь влияние характеристик потока, а также констант скорости адсорбции и денатурации на величину необратимого адсорбционного слоя.

Как видно из формул (11) и (12), скорость образования необратимого адсорбционного слоя увеличивается с уменьшением δ . Из формул (4) и (6) легко заметить, что скорость адсорбции находится в прямой зависимости от числа Рейнольдса и скорости сдвига. Это косвенным образом согласуется с данными работы [6], где наблюдалось увеличение скорости адгезии тромбоцитов при росте сдвиговой скорости в физиологических пределах. Далее для более вязких сред характерно уменьшение скорости адсорбции. Из сравнения формул (4) и (6) следует также, что скорость адсорбции выше для сосудов меньшего диаметра. Однако это замечание в основном справедливо для модельных экспериментов, поскольку в нативных сосудах наблюдается значительное увеличение числа Рейнольдса с увеличением диаметра сосуда.

Сравнивая формулы (4) и (11) заметим, что влияние коэффициента D на скорость адсорбции неоднозначно, поскольку увеличение коэффициента диффузии, с одной стороны, увеличивает толщину диффузационного слоя, а с другой – скорость образования необратимого адсорбционного слоя. После подстановки формулы (4) в выражение (11) можно заметить, что следует ожидать некоторого преобладания второго процесса.

Из формул (11) и (12) также следует, что с увеличением констант скорости адсорбции и денатурации увеличиваются соответственно и скорости этих процессов. Подобный вывод согласуется с физическим смыслом данных констант и убеждает в корректности описания процессов адсорбции и денатурации системой (1') – (2).

Поскольку выражения (11), (12) и (13) достаточно сложны для их непосредственного использования, возникает необходимость введения критериев преобладания процессов адсорбции, денатурации и диффузии по отношению друг к другу.

Если время денатурации много меньше времени адсорбции, то мы можем записать следующее соотношение:

$$\frac{1}{k_3} \ll \frac{1}{k_1 c v^0}, \quad (14)$$

откуда $k_3 \gg k_1 c v^0$, и из выражений (12) и (13)

$$c_{sh} \approx c_s \quad c_{sn} \approx 0$$

Формула (14) является критерием лимитирования процессов денатурации процессами адсорбции. Следует заметить, что в физиологических условиях и модельных экспериментах [2–4] $c v^0 = 1 - 10^{-3}$ кг % и потому соотношение (14) можно переписать в виде

$$k_3 \gg 10^{-2} k_1 \quad (14')$$

Согласно работе [7], для белков плазмы крови характерны соотношения, подчиняющиеся критерию (14'), следовательно, им можно пользоваться для оценки скорости образования необратимого адсорбционного слоя. При меньших концентрациях необходимо учитывать константу скорости денатурации. Наиболее важным представляется вопрос о преобладании в зависимости от указанных выше параметров диффузационного или адсорбционного процессов в образовании необратимого адсорбционного

слоя. Если времена диффузии много больше времени адсорбции, то лимитирующей является диффузионная стадия, в этом случае получим

$$\frac{\delta^2}{4D} \gg \frac{1}{k_1 c_V^0} \quad (15)$$

$$k_1 \gg \frac{4D}{\delta^2 c_V^0} \quad (15')$$

Для времен $t \gg \frac{1}{k_1 c_V^0}$ можно записать формулу (11) в виде

$$c_s = c_s^\infty \left(1 - \Phi \left(\frac{\delta}{\sqrt{2Dt}} \right) \right) \quad (16)$$

Если же, наоборот, лимитирующим является процесс адсорбции, то в этом случае получим

$$k_1 \ll \frac{4D}{\delta^2 c_V^0} \quad (17)$$

и

$$c_s = c_s^\infty (1 - \exp(-k_1 c_V^0 t)) \quad (18)$$

Если критерий (14) не выполняется, то кинетика образования денатурированного белка на поверхности может быть получена из формул (16) или (18) с использованием выражения (12).

К настоящему времени в литературе существует определенное несоответствие друг другу экспериментальных данных о скорости образования необратимого адсорбционного слоя. При этом фактически не обсуждается вопрос о гидродинамическом подобии эксперимента, а также о существовании каких-либо критериальных оценок процесса в целом.

В частности, в работе [4] априори полагается, что кинетика образования необратимого слоя подчиняется уравнению типа (18), откуда соответственно подбираются константы скорости. В результате по сравнению с другими экспериментами [2, 3] создается впечатление, что параметр, определяющийся свойствами только белков и поверхности, зависит от гидродинамических условий. Это кажущееся противоречие с нашей точки зрения легко устранимо, если учесть наличие диффузионного слоя, накладывающего ограничения на процесс адсорбции. Таким образом, несмотря на то что данный процесс подчиняется уравнению, близкому к экспоненциальному, полученные константы скорости адсорбции будут соответствовать только данному эксперименту, если он проведен без учета критерия (17).

Отсутствием гидродинамического подобия можно объяснить разницу во времени образования необратимого слоя, полученного в модельных экспериментах, например в работе [2] и экспериментах *in vivo* [8]. Так, в первом случае эксперимент проводился при $Re=8$, а для бедренной артерии собаки [8] характерно значение $Re=100$. В результате время образования необратимого слоя составляло соответственно 6000 и 20 с. Для этих времен из выражения (16) нами получены $c_s=0,97 c_s^\infty$ и $c_s=0,92 c_s^\infty$, что хорошо укладывается в ошибки данных экспериментов.

Таким образом, проведенное исследование и сравнение с некоторыми экспериментами, условия проведения которых соответствовали принятым нами допущениям, позволяют сделать следующие выводы.

Процесс образования необратимого адсорбционного слоя неоднозначен и включает в себя диффузию макромолекул в растворе, их адсорбцию на гидрофобной полимерной поверхности и последующую денатурацию. При этом преобладание того или иного механизма можно оценить с помощью полученных критерии, которые необходимо учитывать при описании процесса в целом. Кроме того, на основании полученного решения уравнения (7) с начальными и граничными условиями (9) показано, что в опреде-

ленных условиях, которые прежде всего соответствуют физиологическим, определяющей становится диффузионная стадия, и кинетика образования необратимого слоя на гидрофобной полимерной поверхности задается уравнением (16). Поэтому при моделировании процессов адсорбции белков плазмы крови возникает необходимость учета ряда гидродинамических факторов и соблюдения их подобия в эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kim S. W., Wisnewski S., Lee E. S., Winn M. L.* Bole of Protein and Fatty Acid Adsorption on Platelet Adhesion and Aggregation at the Blood — Polymer Interface.— *J. Biomed. Mater. Res.*, 1977, v. 8, № 1, p. 23.
2. *Brynda E., Houska M., Pokorna Z., Cepalova N. A., Moiseev Yu. V., Kalal J.* Adsorption of human serum albumin and fibrinogen onto a polyethilen film.— *J. Bioengng*, 1978, v. 2, № 5, p. 411.
3. *Brynda E., Houska M., Pokorna Z., Kalal J.* Irreversible adsorption of human serum albumin onto a polyethilen film.— In: *Medical Polymers: Chemical Problems. 17th microsymposium on macromolecules*. Prague, 1977, p. 61.
4. *Моисеев Ю. В., Боровкова Н. К., Цепалова Н. А.* Метод исследования адсорбции альбумина на поверхности синтетических полимеров.— Высокомолек. соед. Б, 1977, т. 19, № 1, с. 3.
5. *Back L. H.* Theoretical Investigation of Mass Transport to Arterial Walls in Various Blood Flow Regions.— *Math. Biosci.*, 1975, v. 27, № 3, p. 231.
6. *Попов Е. Г.* Исследование влияния гемодинамики на функциональные свойства кровяных пластинок методом лазерной фотометрии: Дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. М.: ВКНЦ АМН СССР, 1979, 175 с.
7. *Жоли М.* Физическая химия денатурации белков. М.: Мир, 1968, с. 238.
8. *Vroman L.* Blood. Garden City N. Y.: Natural history press, 1967, p. 77.

Институт химической
физики АН СССР

Поступила в редакцию
13.III.1980

ADSORPTION OF BLOOD PLASMA PROTEINS ONTO HYDROPHOBIC POLYMER SURFACE DEPENDING ON HYDRODYNAMIC CONDITIONS

Tordanskii A. L., Poltsevichuk A. Ya., Zaikov G. Ye.

Summary

The influence of hydrodynamic conditions on the formation of irreversible layer of blood plasma proteins on hydrophobic polymer surface is discussed. The criteria of relative predominance of adsorption, denaturation and diffusion processes depending on the rate constants of these processes and parameters of the flow are found. The expressions describing the kinetics of the formation of irreversible adsorption layer are obtained using these criteria. The results of this theoretical study agree with experimental data reported in literature.