

شبیه سازی عددی بیورآکتور غشایی بافت مجوف و بررسی پارامترهای مربوط به کشت سلول های حیوانی

سهراب ولدبیگی

فرزان قالیچی

رضا یگانی*

علی اکبری

کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

استاد، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

استاد، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

استادیار، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

چکیده

در طی دهه های اخیر توجه بسیاری از محققین به مهندسی بافت و سلول درمانی جلب شده است. بیورآکتورهای غشایی بافت مجوف یکی از روش های مدرن تولید ساختارهای سه بعدی بافت زنده می باشند. در مقاله حاضر، به شبیه سازی چهار رشته بافت مجوف در کنار یکدیگر با استفاده از بسته نرم افزاری ANSYS FLUENT پرداخته شده و اثرات همه آنها، بر روی محیط سلول ها به صورت سه بعدی مورد مطالعه قرار گرفته است. برای پیش بینی و طراحی بهینه بیورآکتور غشایی، پارامترهای جریان و توزیع غلظت های اجزای مهم شامل اکسیژن و گلوکز محاسبه و بررسی شده اند. نتایج حاصل از بررسی تاثیر غلظت سلولی و فاصله از ورودی بر روی غلظت های اکسیژن و گلوکز نشان داد که در غلظت های سلولی بالا (2×10^8 cells/ml)، با افزایش فاصله از ورودی، میزان غلظت اکسیژن و گلوکز کاهش چشمگیری پیدا می کند. همچنین با افزایش سرعت ورودی، افزایش چشمگیری در میزان غلظت اکسیژن و گلوکز مشاهده شد. نتایج مربوط به بررسی تغییرات طول بیورآکتور نشان داد که غلظت اکسیژن و گلوکز در طول رشته ها و در فواصل مختلف از ورودی، تغییر نکردند.

واژه های کلیدی: بیورآکتور غشایی بافت مجوف، مهندسی بافت، کشت سلول حیوانی، مدل سازی سه بعدی، دینامیک سیالات محاسباتی CFD.

Numerical Simulation of Hollow Fiber Membrane Bioreactor and Investigation of the Parameters Related to Animal Cells Culture

S. Valadbeigy

F. Ghalichi

R. Yegani

A. Akbari

Department of Mechanical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

Department of Mechanical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

Department of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

Department of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

Abstract

Tissue Engineering and animal cell culture have received considerable interest over the last few decades. Hollow fiber membrane bioreactor is one of the most modern and efficient type of bioreactors. In the present paper, four hollow fibers inside a bioreactor are simulated using ANSYS FLUENT software package and their effects on the cell environment were studied. In order to optimum design and predict of membrane bioreactor, the flow parameters and concentration distribution of important metabolites such as oxygen and glucose were studied. Investigation the effect of cell concentration and distance from inlet on oxygen and glucose concentrations showed that at high cell concentrations (2×10^8 cells/ml), by increasing the distance from inlet, caused to decrease the glucose and oxygen concentrations, considerably. Also, increasing the inlet velocity caused to increase the oxygen and glucose concentrations inside the bioreactor. The obtained results from investigation of the bioreactor lengths showed that the glucose and oxygen concentrations did not change along the fibers in different distances from inlet.

Keywords: Hollow Fiber Membrane Bioreactor, Tissue Engineering, Animal cell culture, 3D modeling, Computational Fluid Dynamics (CFD).

۱- مقدمه

در طی دهه های اخیر توجه بسیاری از محققین به مهندسی بافت و سلول درمانی جلب شده است. در این بین تولید بافت های زنده به صورت خارج بدنی و کارگذاری آن ها درون بدن اهمیت بسیاری پیدا کرده است. نتایج یافته های محققان نشان می دهد با کنترل شرایط کشت سلول ها و اضافه نمودن فاکتورهای رشد مناسب می توان سلول های بنیادی اولیه را به هر یک از انواع سلول های تمایز یافته تبدیل نمود. روش های مرسوم برای کشت سلول ها شامل استفاده از تی-فلاسک ها و انجام پاساژهای متعدد در طول کشت سلول، باعث ایجاد

تنش دمایی و استرس ناشی از افزایش یا کاهش ناگهانی مواد موجود در محیط کشت و یا اعمال تنش مکانیکی به آن ها می گردند. علاوه انجام پاساژهای متعدد باعث می شود که سلول ها وارد مرحله ای شوند که دیگر تمایل به تمایز نداشته باشند [۱]. امروزه برای کشت خارج بدنی سلول حیوانی، انواع مختلفی از بیورآکتورها مورد استفاده قرار می گیرند که هر یک مزایا و معایب خاص خود را دارند [۲-۴]. بیورآکتورها به عنوان یک ارگان مصنوعی عمل می کنند که سلول های مورد نظر را می توان درون آنها کشت داد تا عملکرد و زنده ماندن سلول را بهبود

* نویسنده مکاتبه کننده، آدرس پست الکترونیکی: ryegani@sut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۱۶

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۱۵

بخشیده و سطحی از تبادل متابولیت‌ها مشابه با آنچه در شرایط درون بدنی ایجاد می‌شود را بوجود آورد [۵، ۶].

مطالعه انجام شده توسط رودریگز و همکاران نشان می‌دهد که در بین بیوراکتورهای مختلف، بیوراکتور غشایی بافت مجوف از انواع مدرن بوده و کاربردهای وسیعی در زمینه‌های کشت سلول، محصولات سلولی و ساخت بافت زنده دارد [۴]. بیوراکتورهای غشایی بافت مجوف توانایی بالایی در ایجاد تعداد بالای سلولهای مورد نیاز برای کاربردهای مهندسی بافت، ارگان‌های مصنوعی و کاربردهای ژنتیک درمانی دارند [۷-۹]. عبدالله و همکاران در سال ۲۰۰۹ مقایسه‌ای میان بیوراکتورهای غشایی بافت مجوف با بیوراکتورهای مخزن اختلاطی^۱ و پرفیوژن محصور^۲ انجام دادند [۱۰]. در این مقایسه که به صورت شبیه‌سازی عددی انجام گرفته بود، کارایی بیوراکتور غشایی بافت مجوف از دیگر نمونه‌ها بهتر ارزیابی شد. یکی از مهمترین مزایای بیوراکتورهای غشایی بافت مجوف کاربردهای زیستی آنها می‌باشد [۱۱]. این بیوراکتورها به دلیل ساختار خاص خود، که از رشته‌های بافت مجوف تشکیل شده‌اند، شباهت فیزیولوژیکی بسیاری به شبکه‌ی عروقی دارند. به عبارت دیگر، این رشته‌های بافت مجوف همانند رگ‌های خونی، دیواره متخلخل داشته و می‌توانند به طور انتخابی مواد غذایی و اکسیژن را به سلول‌ها رسانده و همین‌طور مواد زائد حاصل از متابولیسم سلولی را از محیط دفع نمایند [۱۲]. در شکل ۱ طرحواره‌ای از کاربرد بیوراکتور غشایی بافت مجوف نمایش داده شده است.

پارامترهای مختلفی نظیر غلظت متابولیت‌ها، تنش برشی سیال، دما، فشار و ... درون یک بیوراکتور برای کشت سلول‌ها حائز اهمیت هستند. موضوعات مهمی مثل غذارسانی مناسب، خارج کردن مواد زائد، توزیع مناسب غلظت اکسیژن، شرایط استریل و تنش برشی پایین سیال بر روی سلول، باعث شده است تا ساخت و توسعه‌ی بیوراکتورها در تولید سلول‌های فعال و کارا به چالش بزرگی در مهندسی این دستگاه‌ها تبدیل شود [۱۳-۱۵] که سعی این تحقیق این است که با انجام یک شبیه‌سازی دقیق امکان بررسی این پارامترها را فراهم آورد.

به دلیل فضای کوچک داخل بیوراکتورها و احتمال آلودگی آن، اندازه‌گیری همه این پارامترها از طریق نصب تجهیزات اندازه‌گیری امکان پذیر نخواهد بود. بنابراین، به عنوان روشی برای اندازه‌گیری پارامترهای موثر در نقاط مختلف یک بیوراکتور می‌توان از شبیه‌سازی عددی استفاده کرد. اگر چه نتایج حاصل از شبیه‌سازی عددی با تقریب همراه خواهند بود، ولی برای صرفه‌جویی در هزینه و زمان بسیار مفید هستند. با استفاده از شبیه‌سازی عددی می‌توان به پارامترهای موردنیاز در کلیه نقاط جریان دست پیدا نمود و رفتار سیال را مشاهده کرد. با دستیابی به این نتایج، امکان طراحی و ساخت بیوراکتور با سعی و خطای کمتری فراهم شده و هزینه‌های آن بسیار پایین خواهد آمد.

تاکنون شبیه‌سازی‌های مختلفی از محیط اطراف سلول‌ها درون بیوراکتور غشایی بافت مجوف انجام شده است که هر یک با طرح هندسه و صورت مساله خاصی به بررسی برخی از پارامترهای مهم مانند غلظت اکسیژن و گلوکز و همچنین پارامترهای جریان، برای

سلول‌های مختلف درون بیوراکتور غشایی بافت مجوف پرداخته‌اند. در این بین، مدل‌های مختلفی برای توصیف سرعت و فشار درون بیوراکتور غشایی بافت مجوف ارائه شده‌اند [۱۶-۲۵]. همچنین تأثیرات توسعه جریان و اثرات سرعت‌های بالای جریان در داخل مجرای غشا به طور تجربی در مراجع مختلف به اثبات رسیده‌اند [۲۶-۳۲].

اونیکریشن و همکاران در سال ۲۰۱۱ به شبیه‌سازی عددی بیوراکتور بافت مجوف با استفاده از روش المان محدود پرداختند [۳۲]. مدل مورد استفاده آن‌ها بصورت تک رشته بافت مجوف بوده و سرعت جریان سیال و غلظت اکسیژن را در نواحی مختلف در طول بیوراکتور مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها مقدار حداقل کسر غلظت اکسیژن نسبت به غلظت ورودی را $1/6$ برای غلظت سلولی $10^7 \times 2$ سلول در میلی‌لیتر را گزارش نمودند. داس در سال ۲۰۰۷ به ساخت یک بیوراکتور غشایی بافت مجوف و شبیه‌سازی عددی آن اقدام نمود [۳۳]. با وجود در نظر گرفتن معادلات ناپیراستوکس و انتقال جرم برای جریان درون مجرا، وی برای محیط خارج غشا معادلات ناپیراستوکس را حذف نمود و با فرض نبود جریان در محیط خارج غشایی یا جریان استارلینگ^۳، تنها معادلات انتقال جرم را در آن ناحیه در نظر گرفت. در حالی که در آزمایشات انجام شده توسط استر در سال ۲۰۱۱ بر روی کشت بافت استخوانی توسط بیوراکتور غشایی بافت مجوف، وجود جریان استارلینگ و جابجایی در ناحیه خارج غشایی کاملاً به اثبات رسیده و نتایج به دست آمده حاکی از افزایش میزان انتقال جرم و حتی اعمال نیروی پسا به سلول‌ها در آن ناحیه بود [۳۴].

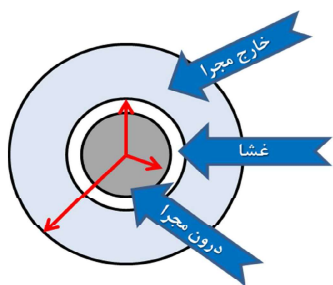
در کار دیگر توسط عبدالله و همکاران در سال ۲۰۰۷، مدل‌سازی انتقال اکسیژن و گلوکز در بیوراکتور غشایی بافت مجوف برای رشد بافت استخوانی انجام شد [۳۵]. مدل مورد مطالعه آن‌ها نیز مدل تک رشته‌ای بوده و غلظت اکسیژن و گلوکز در سرعت‌های مختلف ورودی و غلظت‌های سلولی مختلف را مورد مطالعه قرار دادند.

یی و همکارانش در سال ۲۰۰۶ به شبیه‌سازی عددی جریان برای بیوراکتور غشایی بافت مجوف پرداختند [۳۶]. کورسیو و همکاران در سال ۲۰۰۷ آزمایشی ترتیب دادند که در آن خواص جابجایی و انتشار ساده جریان در غشاهای بافت مجوف به صورت آزمایشگاهی و همچنین نظری را بررسی کردند [۳۷].

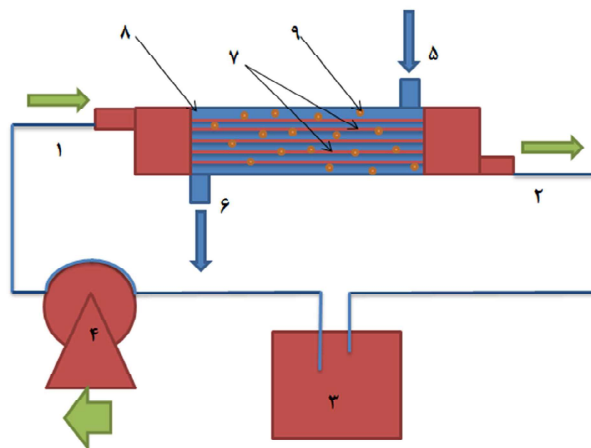
³ Starling flow

¹ Stirred Tank Bioreactor

² Confined Perfusion Bioreactor



(ب)



(الف)

شکل ۱- الف) طرحواره بیورآکتور غشایی بافت مجوف، ۱: محل ورود محیط کشت، ۲: محل خروج محیط کشت، ۳: مخزن محیط کشت تازه و هوادهی، ۴: پمپ پریستالتیک جهت چرخاندن محیط کشت درون بافت مجوفها، ۵: محل تلقیح سلولها در منطقه ی خارج غشایی، ۶: محل تخلیه ی سلولها از منطقه ی خارج غشایی، ۷: رشته های بافت مجوف، ۸: محفظه ی بیورآکتور، ۹: سلولها در منطقه ی خارج غشایی، ب) طرحواره تقسیم بندی بیورآکتور مورد نظر در این مقاله برای انجام شبیه سازی

می دهند. شرایط حاکم بر محیط متخلخل بر مبنای قانون دارسی (معادله (۱)) استوار است:

$$J = -K \frac{\partial H}{\partial s} \quad (1)$$

که در آن J شار حجمی سیال با واحد $[m^3/m^2.s]$ ، H فشار هیدرولیکی، s طول جریان بر واحد متر و K رسانایی هیدرولیکی می-باشد. برای حل جریان در نواحی مختلف درون بیورآکتور، از معادلات ناویراستوکس، پیوستگی و معادلات انتقال جرم استفاده می شود. معادله (۲) نشان دهنده فرم کلی برداری معادله ناویراستوکس برای سیال تراکم ناپذیر و نیوتنی است.

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla \vec{v} \right) = -\nabla p + \mu \nabla^2 \vec{v} + \vec{f} \quad (2)$$

در معادله بالا ρ ، μ ، $\vec{v}$ ، p و $\vec{f}$ به ترتیب چگالی سیال، لزجت دینامیکی سیال، سرعت، زمان، فشار و نیرو می باشند. معادله ۲ در مختصات دکارتی باز نویسی می شود که شکل اسکالر آنها آورده شده است (معادلات (۳)).

$$\begin{aligned} \rho \left(\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial u}{\partial y} + w \frac{\partial u}{\partial z} \right) &= -\frac{\partial p}{\partial x} + \mu \left[\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \right] + \rho g_x \\ \rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + u \frac{\partial v}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} + w \frac{\partial v}{\partial z} \right) &= -\frac{\partial p}{\partial y} + \mu \left[\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial z^2} \right] + \rho g_y \\ \rho \left(\frac{\partial w}{\partial t} + u \frac{\partial w}{\partial x} + v \frac{\partial w}{\partial y} + w \frac{\partial w}{\partial z} \right) &= -\frac{\partial p}{\partial z} + \mu \left[\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right] + \rho g_z \end{aligned} \quad (3)$$

در معادلات بالا ρ ، μ ، $\vec{v}$ ، p و $\vec{g}$ به ترتیب چگالی در سه محور و سرعت در سه محور، چگالی سیال، لزجت سیال، زمان و

در شبیه سازی هایی که تاکنون انجام گرفته است، در ناحیه خارج مجرا جریان جابجایی در نظر گرفته نشده است. مهمترین نقص شبیه سازی تک رشته ای این است که در صورت تعمیم آن به کل رشته های یک مدول غشایی، ناحیه ای به شکل لوزی میان رشته های مجاور در محاسبات در نظر گرفته نمی شود و از بر هم کنش متغیرهای مختلف مربوط به رشته های مجاور در این ناحیه کاملاً چشم پوشی می شود. نظر به کوچک بودن سلولها نسبت به ناحیه لوزی شکل میان چهار رشته، صرف نظر کردن از مدل سازی این ناحیه فرضی باعث ایجاد خطا خواهد شد.

در مقاله حاضر، به شبیه سازی چهار رشته بافت مجوف در کنار یکدیگر پرداخته شده و بر هم کنش آنها که به عنوان نماینده ای از کل رشته های درون بیورآکتور هستند، بر روی محیط سلولها مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین، شبیه سازی به صورت سه بعدی انجام گرفته و غلظت های مختلف ورودی اکسیژن و گلوکز در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفته اند.

۲- روش شبیه سازی

در مقاله پیش رو شبیه سازی عددی توسط نرم افزار ANSYS و جعبه ابزار FLUENT آن انجام گرفت. در این شبیه سازی مطابق با شکل ۱، بیورآکتور به سه ناحیه شامل محدوده درون مجرا، محیط متخلخل غشا و ناحیه خارج مجرای^۱ تقسیم شده است. در واقع مواد غذایی از درون مجرا جاری شده و پس از عبور از سطح دیواره متخلخل وارد ناحیه خارج مجرای می شوند. سلولها نیز که در ناحیه خارج مجرای قرار دارند، از مواد نفوذ کرده از درون مجرا، تغذیه کرده و مواد زاید متابولیکی خود را از طریق همان غشا، به درون مجرا انتقال

¹ Lumen, Membrane Porous Media, Extra Capillary Space (ECS)

شتاب ثقل هستند. معادله کلی انتقال جرم برای ماده i به صورت انتشار ساده و جابجایی به صورت معادله (۴) می باشد:

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho Y_i) + \nabla \cdot (\rho \vec{v} Y_i) = -\nabla \cdot \vec{J}_i + R_i + S_i \quad (4)$$

که در آن Y غلظت ماده i ، $\vec{v}$ سرعت برداری جریان در نقطه مورد نظر، S نرخ تولید یا مصرف ماده، R نرخ واکنش شیمیایی، J شار انتقالی ماده i (که بر اثر گرادیان غلظت و دما رخ می دهد) و از معادله (۵) بدست می آید، می باشند:

$$\vec{J}_i = -\rho D_{i,m} \nabla Y_i - D_{T,i} \frac{\nabla T}{T} \quad (5)$$

که در آن T دما، ρ چگالی، D_T پخشندگی گرمایی سورت، و D_i پخشندگی جرمی برای ماده i می باشند.

۱-۲- فرضیات و شرایط مرزی اعمال شده در شبیه سازی

فرضیات و شرایط مرزی لازم برای شبیه سازی به شرح زیر هستند:

- جریان سیال درون تمامی نواحی، لایه ای در نظر گرفته شده است. در واقع به دلیل کوچک بودن ابعاد بافت مجوف و همچنین کم بودن سرعت جریان سیال که در حدود کمتر از ۱ متر بر ثانیه است، عدد رینولدز کوچک خواهد بود و می توان جریان سیال را به صورت لایه ای در نظر گرفت.
- مقادیر ضریب انتشار برای اکسیژن و گلوکز در سیال محیط کشت از مقالات مختلف و استاندارد برای محیط کشت مناسب سلول حیوانی بدست آمده اند تا امکان مقایسه نتایج نهایی وجود داشته باشد.
- دیواره های متقارن بعنوان شرط مرزی تقارن در نظر گرفته شدند.
- در ناحیه خارج مجرای، یا محل قرار گرفتن سلول ها، مطابق جدول ۱ مصرف کننده اکسیژن و گلوکز قرار داده شده است. این مقادیر بر اساس تعداد سلول موجود در آن ناحیه و نرخ مصرف اکسیژن و گلوکز توسط سلول ها بطور یکنواخت و برای دو حالت چگالی سلولی متوسط 2×10^7 cells/ml و زیاد 2×10^8 cells/ml محاسبه شده و وارد نرم افزار شدند. شکل (۲) نشان دهنده طرحواره مدل چهار رشته ای مورد استفاده در این مقاله می باشد که از ۹ ناحیه مختلف تشکیل شده است. چهار ناحیه از ۹ ناحیه مربوط به محیط داخلی مجرا است. چهار ناحیه دیگر، محیط متخلخل غشا و یک ناحیه نیز مربوط به محیط خارج مجرای می باشد. ناحیه مربعی آبی رنگ در شکل (۲)، ناحیه ساده سازی شده و متقارن بوده که برای شبیه سازی در نظر گرفته شده است.

۳- نتایج

شبیه سازی مدول چهار رشته ای با ۴ ورودی یکسان و متقارن در نظر گرفته شده است. برای جریان های ورودی، شرط مرزی سرعت و برای جریان های خروجی، شرط مرزی فشار نسبی صفر قرار داده شده اند. در شکل (۳)، هندسه مدل، صفحات نمونه گیری در طول رشته ها و خطی که مقادیر در راستای آن رسم شده اند، نمایش داده شده اند.

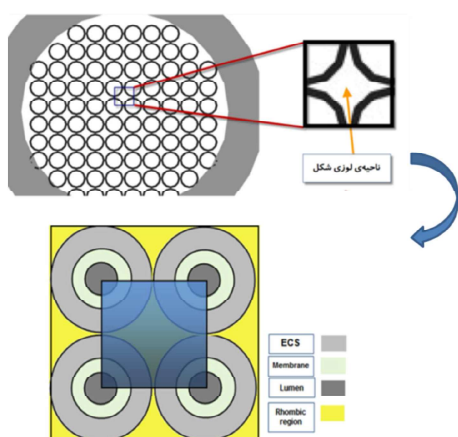
۳-۱- تاثیر غلظت سلولی

پروفیل های غلظت اکسیژن و گلوکز بدست آمده برای دو غلظت سلولی متوسط (2×10^7 cells/ml) و زیاد (2×10^8 cells/ml) درون بیوراکتور در شکل (۴) نشان داده شده است. به دلیل اینکه مقادیر غلظت سلولی کمتر در نتایج تعیین کننده نبودند، مورد استفاده قرار نگرفتند. مقاومت لزجی برای غشا در این حالت 3×10^{-15} m² (معادل تراوایی 1260 lit/(bar.hr.m²)) در نظر گرفته شده است.

همان طور که مشاهده می شود، غلظت گلوکز در چگالی بالای سلولی، در مرکز خارج مجرای^۱ به صفر رسیده است، در حالی که مقدار غلظت اکسیژن به ۸۶٪ مقدار ورودی تنزل پیدا کرده است. مطابق با شکل ۴، در این حالت غلظت گلوکز کنترل کننده و تعیین کننده برای طراحی خواهد بود.

همانطور که در شکل نشان داده شده است، محور افقی میزان فاصله از مرکز یک رشته را نشان می دهد که برای رشته هایی با قطر خارجی ۱ میلی متر، موقعیت 0.004 متر، مربوط به سطح داخلی غشا و موقعیت 0.005 متر مربوط به سطح خارجی غشا هستند. محدوده 0.005 تا 0.008 متر نیز در ناحیه خارج رشته ای یا ECS واقع می شود. همچنین خطوط مختلف نشان داده شده در شکل (۴)، نماینده صفحات مختلف موازی با صفحه ورودی در فواصل مختلف می باشند.

مطابق با شکل (۴)، در غلظت های سلولی بالا (2×10^8 cells/ml)، با افزایش فاصله از ورودی، میزان غلظت اکسیژن و گلوکز کاهش چشم گیری پیدا می کند. در حالی که برای غلظت سلولی 2×10^7 cells/ml، افزایش فاصله تاثیر محسوسی بر روی پروفیل غلظت اکسیژن و گلوکز ندارد. با توجه به نتایج بدست آمده برای غلظت سلولی متوسط 2×10^7 cells/ml، سرعت 0.0745 m/s و تراوایی 1260 lit/(bar.hr.m²)، شرایط مناسبی برای سلول ها از نظر یکنواختی غلظت اکسیژن و گلوکز در طول بیوراکتور ایجاد می کند. در مورد غلظت های بیشتر سلولی نیز می توان گفت که برای ایجاد شرایط مناسب، نیاز به بالا بردن سرعت ورودی، میزان تراوایی غشا و یا کاهش طول رشته ها است.

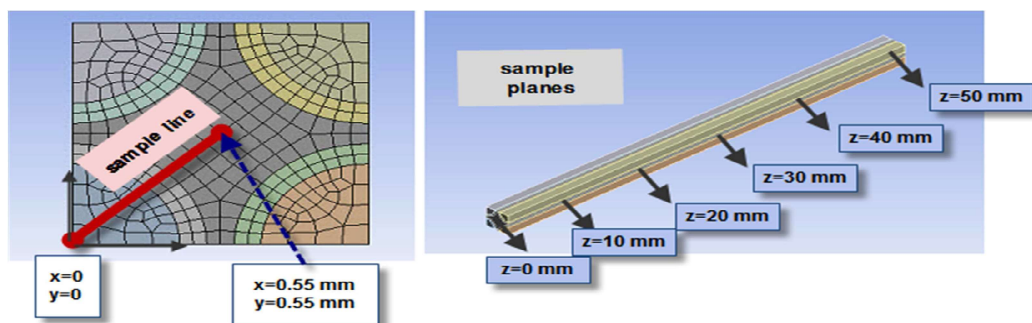


شکل ۲- طرحواره ناحیه شبیه سازی شده در مدول بافت مجوف

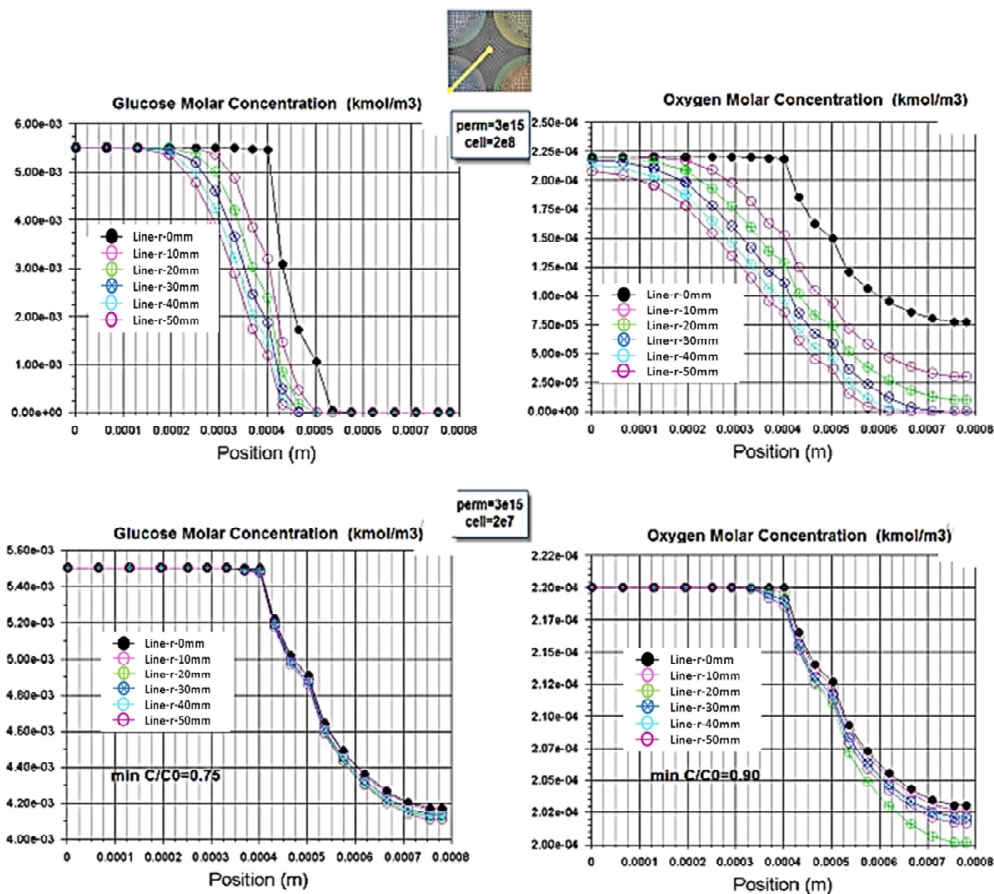
¹ Extra Cappelary Space (ECS)

جدول ۱- مقادیر مختلف بکار رفته در شبیه‌سازی به همراه مراجع استفاده شده: مقادیر نشان داده شده با * ارقامی هستند که در این شبیه سازی فرض شده اند.

متغیر	علامت	واحد	مقدار	مرجع
پخشندگی	گلوکز در آب	$D_{(glucose-water)}$	$5.40E-10$	[۳۶]
پخشندگی	اکسیژن در آب	$D_{(oxygen-water)}$	$3.00E-09$	[۳۶]
سلولی کم 2E6 [cell/ml] چگالی سلولی متوسط 2E7 [cell/ml] چگالی سلولی زیاد 2E8 [cell/ml]	اکسیژن	R_{low}	$2.40E-06$	[۳۵]
	گلوکز	R_{low}	$1.38E-04$	
	اکسیژن	R_{med}	$2.40E-05$	
	گلوکز	R_{med}	$1.38E-03$	
	اکسیژن	R_{high}	$2.40E-04$	
	گلوکز	R_{high}	$1.38E-02$	
سرعت ورودی خواص محیط کشت	مدل ۱	U_1	$7.45E-03$	[۳۵]
	مدل ۲	U_2	$7.45E-02$	[۳۵]
	مدل ۳	U_3	$7.45E-01$	[۳۵]
خواص محیط کشت غلظت ورودی	چگالی محیط کشت	ρ	993.37	[۳۴]
	ویسکوزیته محیط کشت	μ	$6.78E-04$	[۳۴]
	اکسیژن	C_{oxygen}	0.22	[۳۶]
غلظت ورودی خواص هندسی فایبر	گلوکز	$C_{Glucose}$	5.55	[۳۶]
	قطر داخلی فایبر	r_{inner}	0.8	*
	قطر خارجی فایبر	r_{outer}	1	*
طول فایبر	مدول ۱	L_1	0.02	*
	مدول ۲	L_2	0.05	*
	مدول ۳	L_3	0.1	*
جرم مولکولی	اکسیژن	MWCO oxygen	32	[۳۸]
جرم مولکولی	گلوکز	MWCO glucose	180	[۳۸]



شکل ۳- طرحواره مدل و مکان نقاط برداشت داده از نتایج



شکل ۴- نمودار پروفیل غلظت اکسیژن (سمت راست) و گلوکز (سمت چپ) بر روی خطوط شعاعی مختلف در ۶ صفحه در طول رشته‌ها (نشان داده شده در راهنما) برای دو غلظت سلولی متوسط و زیاد در سرعت ورودی ۰/۰۷۴۵ متر بر ثانیه

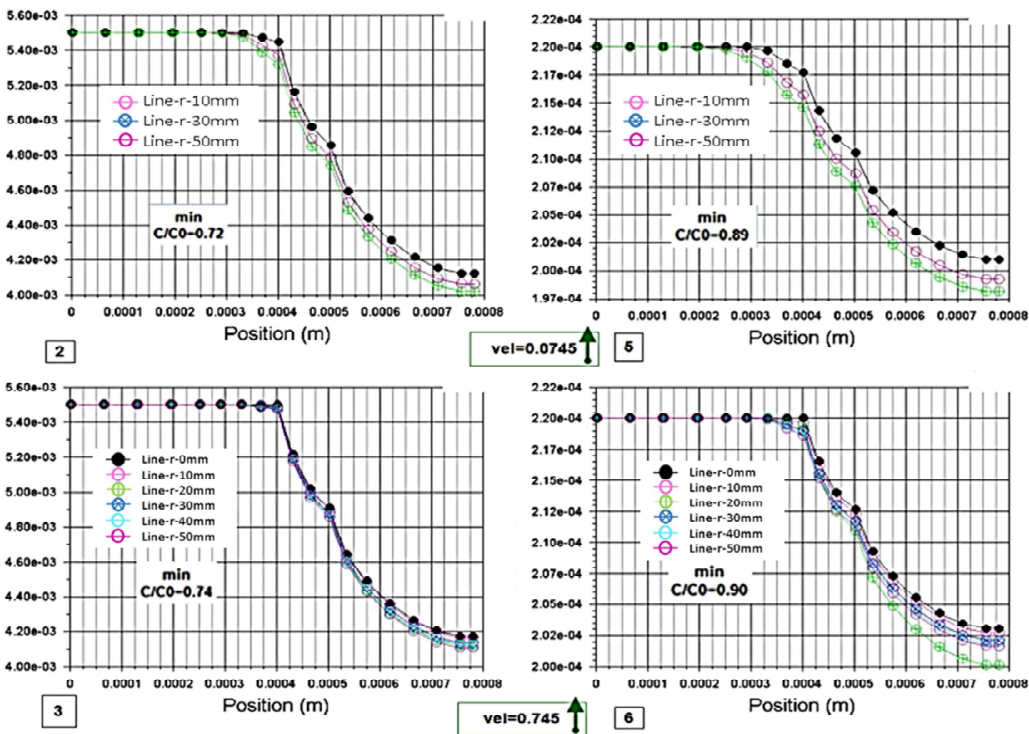
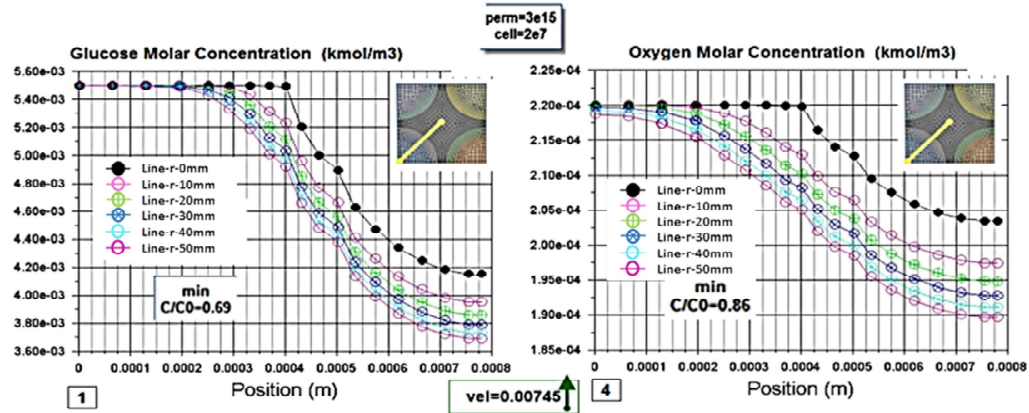
۳-۲- تاثیر سرعت ورودی

شکل (۵) نشان دهنده مقادیر غلظت اکسیژن و گلوکز برای سرعت‌های مختلف ورودی ۰/۰۷۴۵، ۰/۰۷۴۵ و ۰/۰۷۴۵ متر بر ثانیه می‌باشد. برای مقایسه بهتر میان شرایط مختلف مورد آزمایش، مقادیر غلظت در تمامی نمودارها بصورت بی‌بعد (حداقل کسر غلظت نسبت به غلظت ورودی (C/C_0)) در مرکز نمودار آورده شده‌است. همان‌طور که از شکل (۵) بر می‌آید، با افزایش سرعت ورودی، افزایش چشم‌گیری در میزان غلظت اکسیژن و گلوکز مشاهده می‌شود. دلیل این امر را می‌توان افزایش سرعت جریان و کاهش گرادیان غلظت درون مجرا بیان کرد که باعث افزایش سرعت نوسازی اکسیژن و گلوکز در جدار داخلی غشا شده‌است.

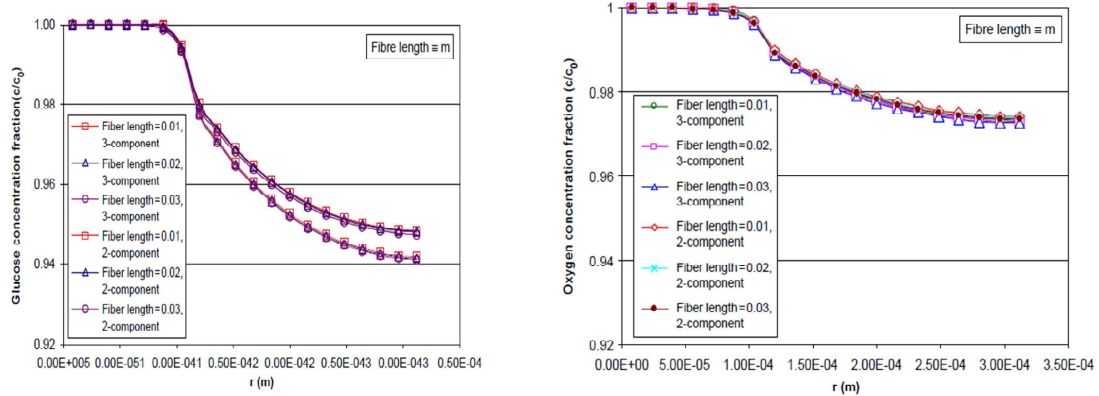
برای ارزیابی نتایج این کار با شبیه سازی مشابه در کارهای پیشین، مقادیر اولیه با پیشفرض‌های مشابه با آن‌ها مدلسازی ای انجام شده

است که نتایج آن همان‌طور که در شکل (۵) نشان داده شده در مطابقت خوبی با نتایج کار عبدالله و همکارانش [۳۵] و بی و همکارانش [۳۶]. در غلظت سلولی 2×10^7 cells/ml و مقادیر غلظت ورودی مشابه (جدول (۱)) مشاهده می‌شود که پروفیل غلظت اکسیژن و گلوکز کار پیشین و این کار، منحنی مشابهی دارند ولی غلظت‌ها در نواحی مرکزی این مقاله کمی متفاوت هستند که این مساله به علت نظر گرفتن جریان جابجایی در انتقال اکسیژن و گلوکز در این کار می‌باشد.

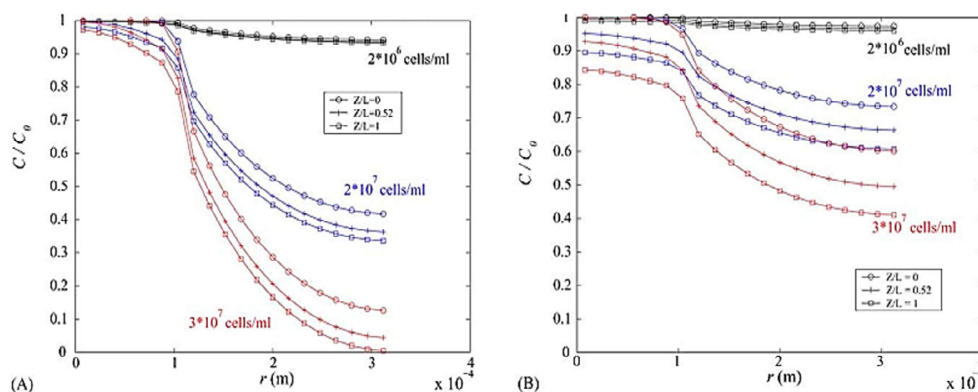
در شکل (۶) کانتور جریان درون محیط بین رشته‌ای مشاهده می‌شود، که این جریان بر اثر تراوش از دیواره غشا به سمت محیط بین رشته‌ای و ناحیه قرار گیری سلول‌ها می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، سرعت جریان جابجایی در مرکز رشته‌ها به حداکثر رسیده است که این امر حاصل برهم‌کنش جریان‌های تراوش شده از رشته‌ها است.



(الف)



(ب)



(ج)

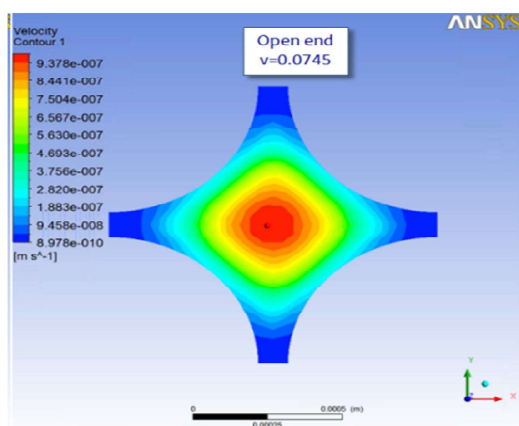
شکل ۵- الف) پروفیل غلظت گلوکز و اکسیژن برای مدل با خروجی‌های باز، در سرعت‌های مختلف 0.00745 ، 0.0745 و 0.745 متر بر ثانیه در غلظت سلولی 2×10^7 cells/ml و مقاومت لزجته $3 \times 10^{-15} \text{ m}^2$ ، ب) پروفیل غلظت گلوکز محاسبه شده توسط عبدالله و همکارانش [۳۵]، ج) پروفیل شعاعی غلظت اکسیژن (سمت راست) و گلوکز (سمت چپ)، در چگالی‌های مختلف سلولی و در سه نقطه‌ی ابتدایی، میانی و انتهای بیورآکتور در طول ۳ سانتیمتر (A,B) انجام شده به وسیله‌ی حل عددی با FEMLAB توسط یی و همکارانش [۳۶]

۳-۳- تاثیر طول رشته ها

با افزایش و یا کاهش طول بیورآکتور، پروفیل‌های غلظت اکسیژن و گلوکز درون بیورآکتور تغییر می‌کنند (شکل (۷)). مطابق با شکل (۷)، با افزایش طول بیورآکتور از ۲ به ۵ و ۱۰ سانتیمتر، کاهش محسوسی در غلظت مواد درون بیورآکتور مشاهده می‌شود. طول مناسب برای رشته‌هایی به قطر خارجی ۱ میلی‌متر، ضخامت ۱۰۰ میکرون و تراوایی $1360 \text{ lit}/(\text{bar} \cdot \text{hr} \cdot \text{m}^2)$ حدود ۲ سانتیمتر می‌باشد که غلظت اکسیژن و گلوکز در آن بصورت تقریباً یکنواخت توزیع شده است. نکته دیگری که می‌توان به آن اشاره کرد این است که غلظت اکسیژن و گلوکز در طول رشته‌ها و در فواصل مختلف از ورودی، یکنواخت هستند (شکل‌های ۷-۳ و ۷-۴)، در حالی که در راستای شعاعی (شکل‌های ۷-۱ و ۷-۲)، با نزدیک شدن به مرکز ناحیه بین رشته ای ECS، غلظت‌ها کاهش پیدا می‌کنند. دلیل این امر، فاصله ثابت این نقاط از منبع اکسیژن و گلوکز یعنی فضای داخل رشته ای می‌باشد که با این میزان تراوایی و سرعت ورودی، وضعیت مناسبی را می‌توانند ایجاد کنند. با توجه به نتایج بدست آمده برای هر دو ماده اکسیژن و گلوکز با افزایش طول بیورآکتور، کاهش در غلظت مواد مختلف در طول و همین‌طور در مقطع بیورآکتور قابل مشاهده خواهد بود.

۳-۴- استقلال از شبکه‌بندی

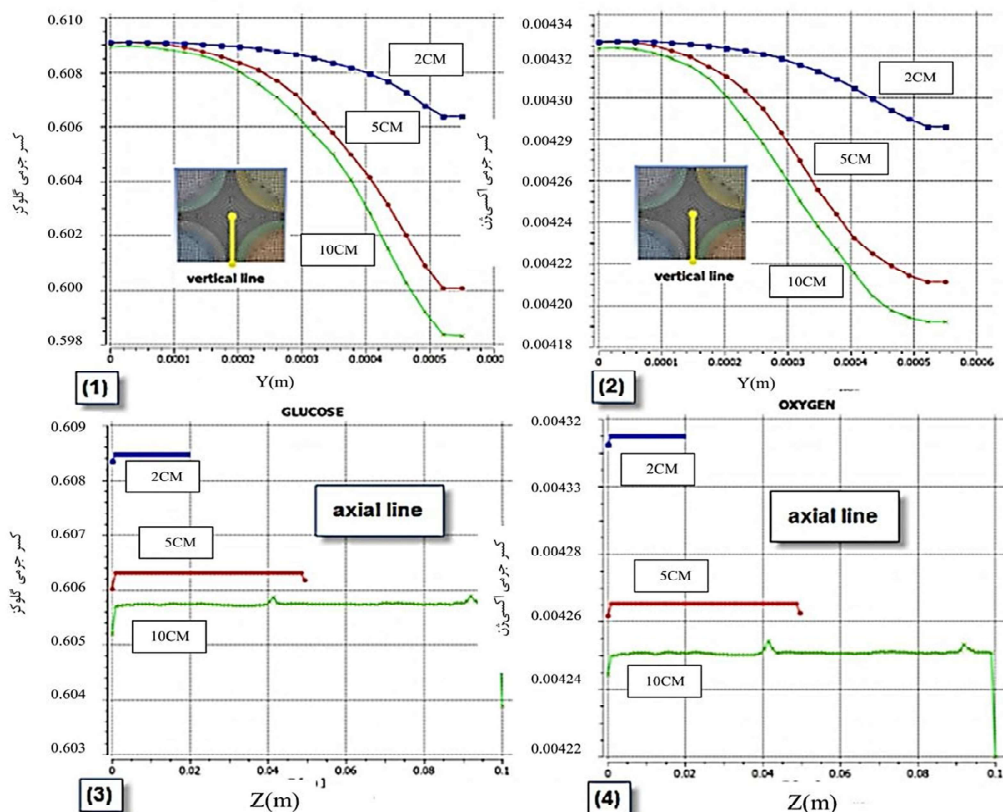
برای اطمینان از صحت نتایج شبیه‌سازی و محاسبات، استقلال از شبکه‌بندی مورد بررسی قرار گرفت. در شکل (۸) کیفیت شبکه‌بندی‌های انجام شده برای مدل ۴ رشته‌ای در چهار مقدار شبکه بندی ۶۶ هزار المانی، ۳۴۰ هزار المانی، ۴۷۰ هزار المانی، ۸۰۰ هزار المانی و یک میلیون المانی نشان داده شده است. مقدار درصد اختلاف نتایج حاصل از شبکه‌بندی ۳۴۰ هزار المانی با شبکه بندی یک میلیون المانی حداکثر ۵ درصد از بازه نتایج را شامل می‌شود که مقداری قابل



شکل ۶- کانتور پروفیل سرعت در فاصله ۳۰ میلی‌متری از خروجی (با حذف صفحات ورودی ربع دایره) در سرعت ورودی 0.0745 متر بر ثانیه و مقاومت لزجته $3 \times 10^{-15} \text{ m}^2$

قبول برای استفاده از این تعداد المان می‌باشد. جهت بررسی استقلال نتایج از شبکه بندی، در شکل (۸) مقادیر غلظت اکسیژن که مهمترین پارامتر اندازه گیری شده در این تحقیق است نسبت به تعداد المانهای مش ترسیم شده است که به خوبی استقلال آنرا از میزان شبکه بندی نشان می‌دهد. بطوری که با افزایش تعداد المان‌ها بیش از ۳۴۰ هزار عدد، مقدار غلظت اکسیژن حول عدد 0.004347 همگرا می‌شود.

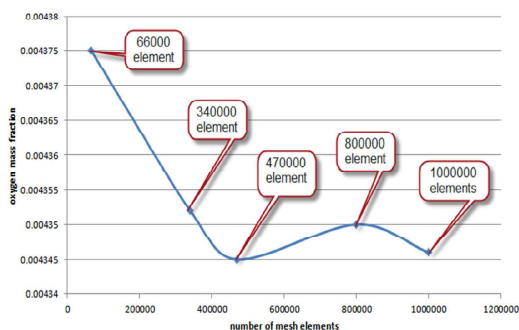
از میان این تعداد شبکه‌بندی با در نظر گرفتن بالاترین دقت نتایج و کمترین تعداد المان و حجم محاسبات، شبکه‌بندی با تعداد ۳۴۰ هزار المان از سایر شبکه بندی‌ها مناسب‌تر ارزیابی شد و در شبیه‌سازی‌ها از این تعداد المان استفاده گردید.



شکل ۷- نمودار کسر جرمی اکسیژن و گلوکز در راستای خط عمودی در ۵ میلی متری خروجی مجرا (۱ و ۲) و در راستای محور افقی (۳ و ۴) برای بیورآکتورهای با طول ۲، ۵ و ۱۰ سانتیمتر در تراوایی $3 \times 10^{-15} \text{ m}^2$ و سرعت ورودی 0.0745 m/s متر بر ثانیه

۴- نتیجه گیری

در مقاله حاضر به بررسی شبیه سازی عددی ماژول بافت مجوف بیورآکتور غشایی توسط دینامیک سیالات محاسباتی پرداخته شده است. با بررسی غلظت های سلولی زیاد و متوسط در تراوایی $1360 \text{ lit}/(\text{bar} \cdot \text{hr} \cdot \text{m}^2)$ و سرعت های مختلف مشاهده شد که سرعت ورودی 0.0745 m/s برای این غلظت سلولی نامناسب است. همچنین با ارزیابی سرعت های مختلف ورودی، سرعت 0.0745 m/s به عنوان سرعت ورودی محیط کشت پیشنهاد می شود. با توجه به نتایج بدسن آمده در این تحقیق، به منظور دستیابی به شرایط مناسب برای رشد سولها در بیورآکتور غشایی بافت مجوف، می توان از غشاهایی با تراوایی بالا و سرعت های ورودی زیاد استفاده کرد و یا با انجام تدابیری فشار داخل رشته ها را بیشتر نمود.



شکل ۸- نمودار استقلال از شبکه بندی با تعداد المان های مختلف برای کسر جرمی اکسیژن

۵-مراجع

- [1] Freshney R.I., *Basic Principles of Cell Culture, in Culture of Cells for Tissue Engineering*. Wiley, 2005.
- [2] Goncalo J.M., Hematopoietic stem cells: from the bone to the bioreactor. *TRENDS in Biotechnology*, Vol. 21, No. 5, pp. 233-240, 2003.
- [3] Kresnowati M.T.A.P., Forde G.M., Chen X.D., *Model-based analysis and optimization of bioreactor for hematopoietic stem cell cultivation*. Springer, 2011.
- [4] Carlos A.V., Rodrigues, T.G.F., Maria Margarida D., da Silva C.L., M.S.Cabral J., Stem cell cultivation in bioreactors. *Biotechnology Advances*, Vol. 29, No. 6, pp. 815-829, 2011.
- [5] Hanga M.P., Pacek M.H., Nienow A.W., Coopman K., Hewitt C.J., Expansion of bone marrow-derived human mesenchymal stem/stromal cells (hMSCs) using a two-phase liquid/liquid system. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. Vol. 92, pp. 1577-1589, 2017.
- [6] Carpentier B., Legallais C., Artificial and bioartificial liver devices: present and future. *Gut*, Vol. 58, pp. 1690-1702, 2009.
- [7] Powers M.J., Kaazempur-Mofrad M.R., Kalezi A., Capitano A., Upadhyaya A., A microfabricated array bioreactor for perfused 3D liver culture. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 78, pp. 257-269, 2002.

- [27] Zahm A.M., Bucaro M.A., Ayyaswamy P.S., Srinivas V., Shapiro I.M., Adams C.S., Mukundakrishnan K., Numerical modelling of oxygen distribution in cortical and cancellous bone: oxygen availability governs osteonal and trabecular dimensions. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, Vol. 299, No. 5, pp. 922-929, 2010.
- [28] Windhaber R.A., Wilkins R.J., Meredith D., Functional characterization of glucose transport in bovine articular chondrocytes. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, Vol. 446, No. 5, pp. 572-577, 2003.
- [29] Ma T., Grayson W.L., Fröhlich M., Vunjak-Novakovic G., Hypoxia and set-cell based engineering of mesenchymal tissues. *Biotechnology Progress*, Vol. 25, No. 1, pp. 32-42, 2009.
- [30] Cechowska-Pasko M., Surazyński A., Bańkowski E., The effect of glucose deprivation on collagen synthesis in fibroblast cultures. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Vol. 327, No. 1-2, pp. 211-218, 2009.
- [31] Das D.B., Hanspal N.S., Nasschi V., Analysis of hydrodynamic conditions in adjacent free and heterogeneous porous flow domain. *Hydrogeol.Processes*, Vol. 19, No. 14, pp. 2775-2799, 2005.
- [32] Unnikrishnan G.U., Unnikrishnan V.U., Reddy J.N., Finite element model for nutrient distribution analysis of a hollow fiber membrane bioreactor. *International Journal of Numerical Methods in Biomedical Engineering*, Vol. 28, No. 2, pp. 229-238, 2012.
- [33] Das D.B., Multiscale simulation of nutrient transport in hollow fibre membrane bioreactor for growing bone tissue: Sub-cellular scale and beyond. *Chemical Engineering Science*, Vol. 62, No. 13, pp. 3627-3639, 2007.
- [34] Ester De Napoli I., S.S., Giannoni P., Quarto R., Catapano G., Mesenchymal stem cell culture in convection-enhanced hollow fibre membrane bioreactors for bone tissue engineering. *Journal of Membrane Science*, Vol. 379, No. 1-2, pp. 341-352 2011.
- [35] Abdullah N.S., Das D.B., Modelling nutrient transport in hollow fibre membrane bioreactor for growing bone tissue with consideration of multi-component interactions. *Chemical Engineering Science*, Vol. 62, No. 21, pp. 5821-5839, 2007.
- [36] Hua Y., B.Das D., T.Triffitt J., Cui Z., Modelling nutrient transport in hollow fibre membrane bioreactors for growing three-dimensional bone tissue. *Journal of Membrane Science*, Vol. 272, No. 1-2, pp. 169-178, 2006.
- [37] Curcio E., De Bartolo L., Barbieri G., Rende M., Giorno L., Morelli S., Drioli E., Diffusive and convective transport through hollow fiber membranes for liver cell culture. *Journal of Biotechnology*, Vol. 117, No. 3, pp. 309-321, 2005.
- [38] Don W. Green, R.H.P., *Perry Chemical Engineers' Handbook*. 1997.
- [8] Tzanakakis E.S., Sielaff T.D., Hu W-S, Extracorporeal tissue engineered liver-assist devices. *BioMedical Engineering*, Vol. 2, pp. 607-632, 2000.
- [9] Garza-Garcia L.D., Camacho-Leon S., del Refugio Rocha-Pizana M., Lopez-Pacheco F., Lopez-Meza J., Continuous flow micro-bioreactors for the production of biopharmaceuticals: the effect of geometry, surface texture, and flow rate. *Lab on a Chip*, Vol. 14, pp. 1320-1329, 2014.
- [10] Abdullah N.S., Jones D.R., Das D.B., Nutrient transport in bioreactors for bone tissue growth: Why do hollow fibre membrane bioreactors work. *Chemical Engineering Science*, Vol. 64, No. 1, pp. 109-125, 2009.
- [11] Cadwell, J.J.S., New Developments in Hollow-Fiber Cell Culture. *American biotechnology laboratory*, Vol. 22, No. 8, 2004.
- [12] Griffith L.G., Tissue engineering- current challenges and expanding opportunities. *Science*, Vol. 295, No. 5557, pp. 1009-1014, 2002.
- [13] Khakpour S., D.R.A., Curcio E., Di Maio F.P., Giorno L., De Bartolo L., Oxygen transport in hollow fiber membrane bioreactors for hepatic 3D cell culture: a parametric study. *Membrane Science*, Vol. 544, pp. 312-322, 2017.
- [14] Mavri-Damelin D., D.L., Eaton S., Rees M., Selden C., Hodgson H.J., Cells for bioartificial liver devices: the human hepatoma-derived cell line C3A produces urea but does not detoxify ammonia. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 99, pp. 644-651, 2008.
- [15] De Bartolo L., S.S., Curcio E., Piscioneri A., Rende M., Morelli S., Human hepatocyte functions in a crossed hollow fiber membrane bioreactor. *Biomaterials*, Vol. 30, pp. 2531-2543, 2009.
- [16] Kelsey L.J., M.R.P., Zydney A.L., Theoretical analysis of convective flow profiles in a hollow-fiber membrane bioreactor. *Chemical Engineering Science*, Vol. 45, No. 11, pp. 3211-3220, 1990.
- [17] Boyd R. F., Lopez M., Stephens C. L., Velez G. M., Ramirez, C. A., Zydney A. L., Solute wash-out experiments for characterizing mass transport in hollow fiber immunoisolation membranes. *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 26, No. 4, pp. 618-626, 1998.
- [18] Heath C.A., Belfort G., Hammer B.E., Mirrer S.D., Pimbley J.M., Magnetic resonance imaging and modelling of flow in hollow-fiber bioreactors. *AIChE Journal*, Vol. 36, No. 4, 1990.
- [19] Piret J.M., Cooney C.L., Mammalian cell and protein distributions in ultrafiltration hollow fiber bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 36, No. 9, pp. 902-910, 1990.
- [20] Ronco C., Orlandini G., Brendolan A., Lupi A., La Greca G., Enhancement of convective transport by internal filtration in a modified experimental hemodialyzer. *Kidney International*, Vol. 54, No. 3, pp. 979-985, 1998.
- [21] Legallais C., Catapano G., von Harten B., Baumeister U., A theoretical model to predict the in vitro performance of hemodiafilters. *Journal of Membrane Science*, Vol. 168, No. 1-2, pp. 3-15, 2000.
- [22] Catapano G., Legallais C., von Harten B., Baurmeister U., Use of a predictive model of HD/HDF based on a cascade of communicating CSTs to design modules with enhanced HMW solute clearance. *Desalination*, Vol. 145, No. 1-3, pp. 233-235, 2002.
- [23] De Napoli I.E., Catapano G., Perfusion enhances solute transfer into cell compartment of hollow fibre membrane bioreactors for bone tissue engineering. *The International Journal of Artificial Organs*, Vol. 33, No. 6, pp. 381-391, 2010.
- [24] Bruining W.J., A general description of flows and pressure in hollow fiber membrane modules. *Chemical Engineering Science*, Vol. 44, No. 6, pp. 1441-1447, 1989.
- [25] Labecki M., Piret J.M., Bowen B.D., Two-dimensional analysis of fluid flow in hollow-fibre modules. *Chemical Engineering Science*, Vol. 50, No. 21, pp. 3369-3384, 1995.
- [26] Ehrhardt M., *An introduction to fluid-porous interface coupling*, Progress in Computational Physics, in: Bergische University, 2010.