

Экспериментальное изучение особенностей течения крови в микроканалах со стенозом и бифуркациями с помощью разработанных микрожидкостных устройств

© А.А. Рахимов, А.А. Валиев

Институт механики им. Р.Р. Мавлютова Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия
E-mail: ragar83@mail.ru

Поступило в Редакцию 3 мая 2025 г.

В окончательной редакции 26 июня 2025 г.

Принято к публикации 27 июня 2025 г.

Исследуется движение крови в микрожидкостных устройствах, изготовленных методом мягкой фотолитографии, имитирующих стеноз сосудов с различными параметрами сужений. Обнаружено, что при сужении шириной $50\text{ }\mu\text{m}$ эритроциты значительно ускоряются, а при $200\text{ }\mu\text{m}$ течение более равномерное. Тандемные стенозы демонстрируют „обтекаемую“ зону между сужениями, увеличивающуюся с ростом расстояния между ними. Результаты могут быть использованы для моделирования кровотока и разработки методов диагностики сосудистых патологий.

Ключевые слова: микрожидкостное устройство, стеноз, кровь, эритроцит.

DOI: 10.61011/PJTF.2025.18.61088.7995

В сосудистой системе человека ветвление и сужение сосудов сопровождаются увеличением суммарного поперечного сечения и снижением скорости крови [1]. Стеноз (патологическое сужение) приводит к резкому росту скорости деформации сдвига в зоне сужения, что провоцирует увеличение гидравлического сопротивления, снижение скорости кровотока [2] и риск внутрисосудистого свертывания [3], поэтому необходимо понимание процессов поведения кровотока при стенозе для определения путей борьбы с тромбообразованием. Геометрия стеноза, его длина, глубина и реологические свойства крови (неньютоновское поведение, достаточно хорошо описываемое моделью Оствальда—де Вааля в диапазоне скоростей деформации сдвига $0.1\text{--}500\text{ s}^{-1}$) критически влияют на гемодинамику [4]. Цель работы — экспериментальное изучение течения цельной крови в разработанных микрожидкостных устройствах (МЖУ), имитирующих одиночные, тандемные и бифуркационные стенозы с различным перекрытием основного канала. Исследование особенностей гемодинамики в данных МЖУ может внести существенный вклад в фундаментальное понимание поведения эритроцитов в условиях стеноза, а полученные результаты могут иметь важное научное значение благодаря возможности создания теоретической основы для разработки инновационных методов диагностики и терапии сосудистых патологий.

Для изучения кровотока при стенозе разработаны МЖУ в форме параллелепипеда. МЖУ с одиночным стенозом имеют глубину $2h = 50\text{ }\mu\text{m}$, длину около 10 mm (два канала длиной $l_1 = 5\text{ mm}$ с сужением между ними), ширину $b = 1\text{ mm}$ с сужением длиной $l_0 = 100\text{ }\mu\text{m}$ и шириной $a = 50, 100$ и $200\text{ }\mu\text{m}$ (рис. 1). Площадь поперечного сечения широкого канала примерно равна площади диаметром $250\text{ }\mu\text{m}$ цилиндрического сосуда, что соответствует артериолам. Формулы для

расчета объемного расхода при течении через плоский, цилиндрический канал, отношения перепадов давления в широкой и узкой частях канала приведены в работе [1]. Для ньютоновской жидкости отношение перепадов давления в широкой и узкой частях для МЖУ с сужением шириной $50\text{ }\mu\text{m}$ составляет 2.5, что для цилиндрического сосуда соответствует отношению радиусов сужения (r) и широкой части (R) $r/R = 0.47$. Для крови с показателем неньютоновского поведения $n = 0.8$ отношение перепадов давления составляет 4.55, $r/R = 0.494 \approx 0.5$, а значит, площадь поперечного сечения суженной части составляет 25 % от площади широкой части, т.е. перекрытие 75 %. Для сужений шириной 100 и $200\text{ }\mu\text{m}$ для крови при $n = 0.8$ отношение перепадов давления составляет 7.92 и 13.8 соответственно, значит, отношение радиусов аналогичных цилиндрических сосудов равно 0.582 и 0.685 соответственно, а площадь поперечного сечения суженной части составляет 34 % от площади широкой части (перекрытие 66 %) и 47 % (перекрытие 53 %). Таким образом, разработанные сужения охватывают значительную часть заболеваний с перекрытием каналов.

Найдем значения расходов для МЖУ с сужением шириной $50\text{ }\mu\text{m}$ при перепаде давления $\Delta p = 500\text{ Pa}$. Для ньютоновской жидкости при отсутствии стеноза при расчете ($n = 1$, вместо консистентности k берется динамическая вязкость $\mu = 5\text{ mPa} \cdot \text{s}$, используется длина 10 mm) расход составляет $0.104\text{ }\mu\text{l/s}$, а со стенозом уже $0.087\text{ }\mu\text{l/s}$. Для крови с реологическими показателями $n = 0.8$, $k = 0.013$ без стеноза расход составляет $0.116\text{ }\mu\text{l/s}$, а при учете стеноза отношение перепадов давления равно 4.55, расход составляет $0.102\text{ }\mu\text{l/s}$. Исходя из расхода жидкости (Q) и площади поперечного сечения (S) рассчитали значение скорости ($v = Q/S$) и скорости деформации сдвига (v/h). Расчет расходов для крови с

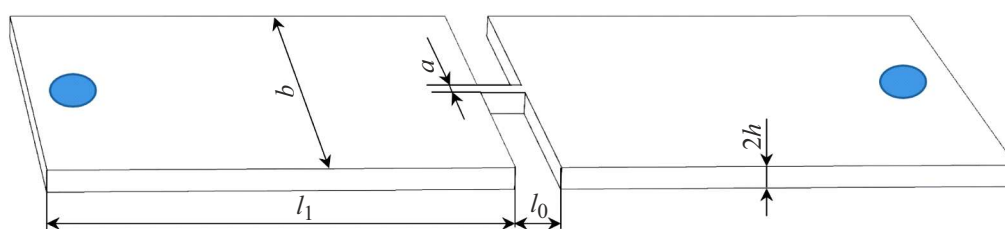


Рис. 1. Схематическое изображение МЖУ с сужением, отверстия для подводящих трубок выделены кружками.

показателями $n = 0.8$, $k = 0.013$ при $\Delta p = 500$ Па для сужений (ширина $Oy \times$ длина Ox) 50×100 , 100×100 и $200 \times 100 \mu m$ дает значения 0.102, 0.107 и $0.111 \mu l/s$ соответственно, т.е. с увеличением размера сужения получаем незначительное увеличение расхода. Скорости в широкой части канала составляют 2.03, 2.15 и 2.22 mm/s , а скорости деформации сдвига — 81, 86 и 89 s^{-1} . Скорость деформации сдвига сопоставима со скоростью деформации сдвига при течении в артериолах (100 s^{-1}). Внутри сужений скорость и скорость деформации сдвига для МЖУ с сужениями 50×100 , 100×100 и $200 \times 100 \mu m$ соответственно в 20, 10 и 5 раз больше.

Разработаны МЖУ с тандемным стенозом — двумя идущими друг за другом одинаковыми сужениями. Геометрия и размеры МЖУ такие же, как и для одиночного стеноза, с расстояниями между сужениями 200, 300, 400, 500, 1000 и $1500 \mu m$. Расчет показывает, что в случае близкого расположения сужений ($200 \mu m$) расход для сужения шириной $50 \mu m$ составляет $0.0885 \mu l/s$, при расположении сужений на отдалении расход аналогичный при учете, что общая длина одинаковая. Разработаны бифуркационные МЖУ: канал шириной в 1 mm делился под углом в 20° на два канала с ширинами 0.6 mm, в одном из которых было одиночное или двойное сужение. Отношение размеров основного и делящихся каналов подобрано так, чтобы скорость снижалась аналогично снижению скорости при разветвлении сосудов в человеческом организме.

Для изготовления маски фотошаблона разработан векторный рисунок в программе CorelDRAW для перечисленных выше сужений. Маски из фотоэмульсионной пленки напечатаны по разработанному векторному рисунку на принтере с высоким разрешением. МЖУ изготовлены с использованием метода мягкой фотолитографии, стекло и реплика каналов из полидиметилсилоксана прозрачные, что позволяет использовать микроскопические методы визуализации.

Для выявления особенностей течения были проведены эксперименты с цельной кровью здорового человека (с антикоагулянтom ЭДТА К3) в изготовленных МЖУ при постоянном перепаде давления 500 Па. Микросъемка производилась камерой Chronos 1.4 с частотой съемки 1500 fps через инвертированный биологический микроскоп BDS500 (наблюдение снизу) при комнатной температуре. Съемка одного измерения (около 200 кадров) занимала доли секунды, обеспечивая точность измере-

ния (давление не успевало меняться за это время). Изготовленное МЖУ перед экспериментом промывали физраствором для удаления пузырей воздуха, затем на водный контакт сажали коническую пробирку и заполняли кровью. Стабильность потока обеспечивается постоянством перепада давления, задаваемого гидростатическим насосом — столбом жидкости, рассчитанным через гидростатическое давление ($P = \rho gh$). Эксперимент носил качественный, а не количественный характер, поэтому погрешностью определения величины перепада давления в зависимости от колебания температур пренебрегается. Поскольку объем ячейки МЖУ значительно меньше объема конической пробирки, задаваемый столб жидкости способен держаться значительное время, в случае необходимости производили перемешивание крови. Для калибровки глубины и размеров изготовленных микроканалов использовали видеосъемку и расход по течению дистиллированной воды.

Проведены эксперименты по течению крови для изготовленных МЖУ с сужениями 50×100 , 100×100 , $200 \times 100 \mu m$: одиночных, тандемных и бифуркационных. Для визуального сравнения ориентации и изучения особенностей движения эритроцитов воспользовались встроенным в программу Matlab модулем PIVlab_App. Для анализа выбирали 30 кадров из видео, программа распознает смещение частиц (эритроцитов) между двумя кадрами, заменяет частицы стрелками с направлением смещения. Для нахождения размера и скорости приравнивали величину в пикселях по ширине кадра к величине реальной ширины канала 1 mm, а время считали исходя из скорости съемки 1519 fps. На рис. 2 приведен участок МЖУ с одиночным стенозом при перепаде давления $\Delta p = 500$ Па с нанесенными стрелками скоростей движения эритроцитов, размеры сужения соответствуют приведенному масштабному отрезку, длина стрелок соответствует масштабной стрелке, т.е. если уменьшить длину стрелки в определенное число раз, то и обозначаемая ею скорость уменьшится пропорционально во столько же раз. Наблюдение происходит снизу, поэтому в основном там видны только эритроциты в нижней плоскости, в зоне ускорения перед сужением часть эритроцитов переходит с нижней в плоскость повыше. Сравнение скоростей течения для одиночного стеноза (рис. 2) показывает значительное ускорение перед входом в сужение для канала с сужением $50 \mu m$. Для канала с сужением $200 \mu m$ наблюдается более

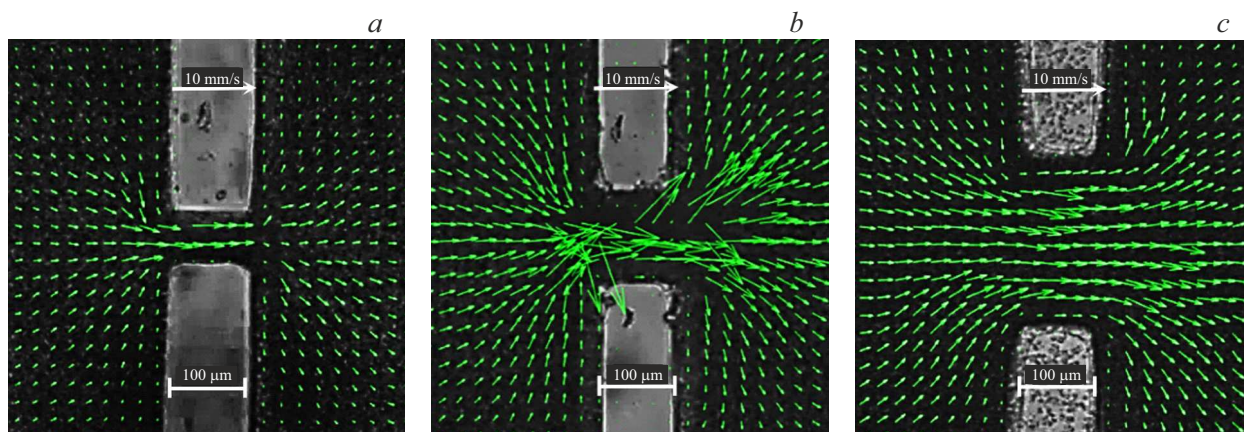


Рис. 2. Оцифрованные стрелками скорости эритроцитов в МЖУ с одиночным стенозом при $\Delta p = 500$ Па. Длина стрелок соответствует приведенному масштабу скорости. Размеры сужений ($Oy \times Ox$), μm : 50×100 (a), 100×100 (b) и 200×100 (c).

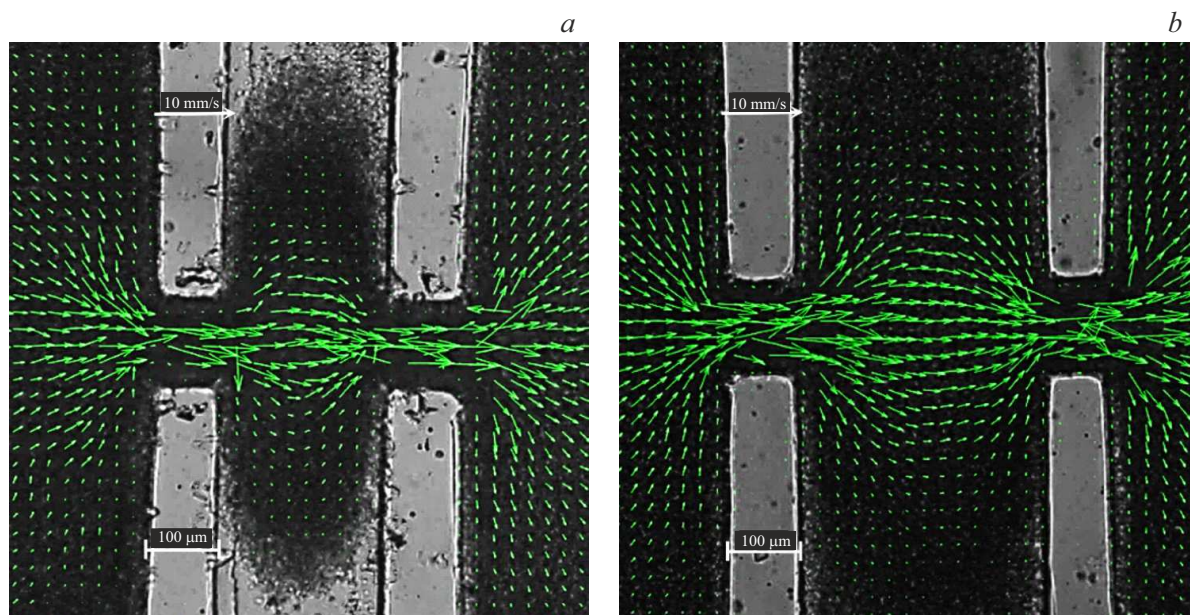


Рис. 3. Оцифрованные стрелками скорости эритроцитов в МЖУ с tandemным стенозом с размером сужений $100 \times 100 \mu m$, $\Delta p = 500$ Па. Длина стрелок соответствует масштабу скорости. Расстояния между сужениями 200 (a) и $300 \mu m$ (b).

равномерное течение в сужении, чем в случае сужения $100 \mu m$, поскольку скорости в сужении ниже, ускорение не столь сильное.

На рис. 3 показано течение в tandemном стенозе для сужения $100 \times 100 \mu m$ при перепаде давления 500 Па, расстояние между сужениями 200 (a) и $300 \mu m$ (b). Расстояние в $200 \mu m$ (рис. 3, a) соответствует зонам длиной в $100 \mu m$: 1) торможения — остаточного быстрого движения после выхода из первого сужения; 2) ускорения перед вторым сужением, т.е. эритроциты, „вылетая“ из сужения, вновь ускоряются для попадания во второе сужение. С увеличением ширины сужения до $200 \mu m$ увеличивается область „расползания“ эритроцитов, поскольку область расширяется и эритроциты „вылетают“ с большой скоростью в разных направле-

ниях. При увеличении расстояния между сужениями до $300 \mu m$ (рис. 3, b) наблюдается более равномерное заполнение промежутка между сужениями, „обтекаемая“ зона растет с увеличением ширины сужения, причем для сужения $200 \mu m$ она получилась более плавной, чем в предыдущем случае. Дальнейшее увеличение расстояния между сужениями приводит к разрастанию „обтекаемой“ зоны, движение при ширине между стенозами при 1000 и $1500 \mu m$ практически такое же, как для одиночного сужения: высокая скорость до и после сужения (зоны ускорения и торможения) и последующее охватывание всего видимого фронта устройства.

Для каналов с бифуркациями наблюдается аналогичная картина: при одиночном стенозе полный охват с зонами ускорения и торможения; при tandemном стенозе

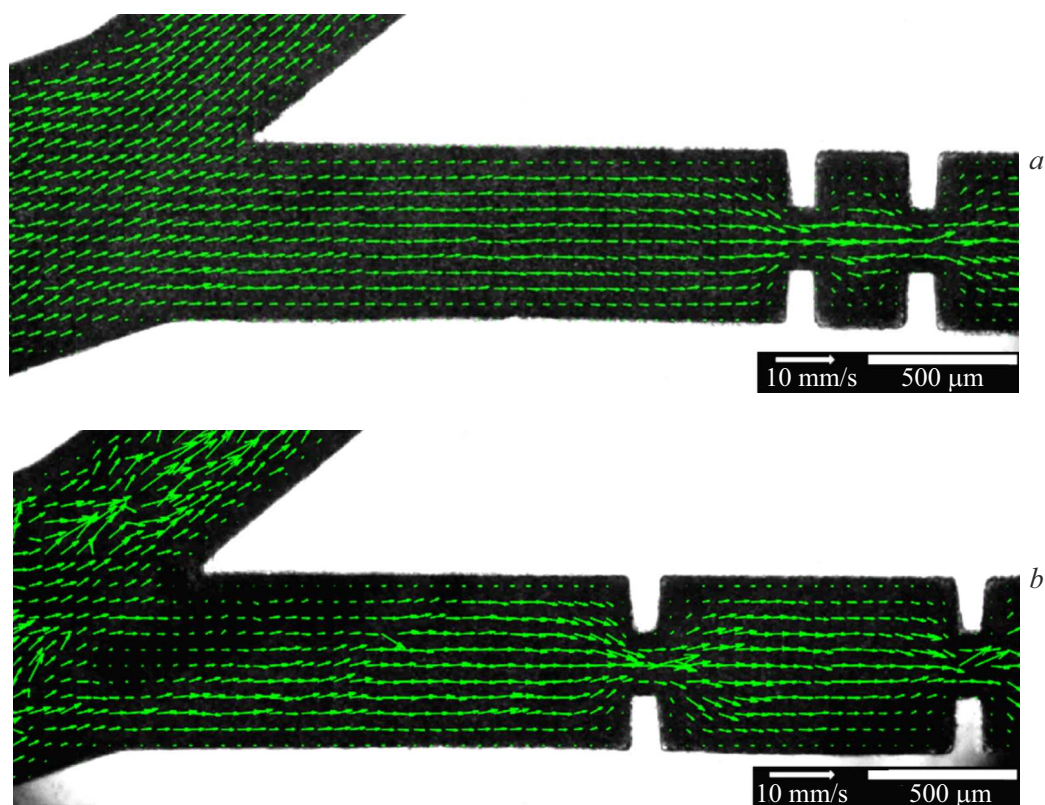


Рис. 4. Оцифрованные стрелками скорости эритроцитов в МЖУ с бифуркационным каналом с тандемным стенозом размером $200 \times 100 \mu\text{m}$, $\Delta p = 500 \text{ Pa}$. Длина стрелок соответствует масштабу скорости. Расстояние между сужениями 300 (a) и $1000 \mu\text{m (b)}$.

с малым расстоянием между сужениями ($300 \mu\text{m}$) видна обтекаемая зона (рис. 4, *a*), которая разрастается и пропадает при увеличении расстояния между сужениями до 1 mm (рис. 4, *b*). Во всех случаях с бифуркациями скорость в канале без сужения примерно на 30–40 % выше скорости в канале с сужением.

Эксперименты с цельной кровью визуализированы высокоскоростной съемкой (1500 fps) и обработаны в Matlab. Результаты демонстрируют влияние геометрии стеноза на гемодинамику. Сужение $50 \mu\text{m}$ вызывает максимальное ускорение эритроцитов, а сужение $200 \mu\text{m}$ — более плавный поток; более выраженные сужения (с меньшей площадью просвета) генерируют значительно более высокие скорости и скорости деформации сдвига внутри себя. Исследование выявило критическое влияние расстояния между последовательными сужениями: при расстояниях, сопоставимых с длиной самих сужений ($200\text{--}500 \mu\text{m}$), возникает зона динамического взаимодействия потоков. „Выброшенные“ из первого сужения с высокой скоростью эритроциты немедленно попадают в зону ускорения перед вторым сужением, не успевая восстановить ламинарный поток с формированием между сужениями „обтекаемых“ областей. Такое движение приводит к формированию зоны турбулентности между стенозами, что потенциально увеличивает риск клеточных повреждений и активации тромбообразования. С увеличением расстояния между сужениями „обтекаемые“

области разрастаются, и при значительном расстоянии (свыше $1000 \mu\text{m}$) течение становится аналогичным течению в случае одиночного стеноза. Полученные данные могут быть полезны для моделирования кровотока в патологических условиях и разработки методов ранней диагностики сосудистых заболеваний.

Финансирование работы

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-21-00403 (<https://rscf.ru/project/24-21-00403/>).

Соблюдение этических стандартов

Проведенное исследование не противоречит международным этическим нормам и одобрено Комитетом по биоэтике ИБГ УФИЦ РАН (протокол № 1 от 17.04.2025 г.). Образцы крови брались у здоровых людей с их информированного добровольного согласия на проведение исследований. Результаты приведены без указания личных данных, исследование соответствует этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] A.A. Рахимов, A.A. Валиев, A.T. Ахметов, Письма в ЖТФ, **50** (23), 65 (2024). DOI: 10.61011/PJTF.2024.23.59404.6490k [A.A. Rakhimov, A.A. Valiev, A.T. Akhmetov, Tech. Phys. Lett., **50** (12), 59 (2024). DOI: 10.61011/TPL.2024.12.60353.6490k].
- [2] O. Prakash, O.D. Makinde, S.P. Singh, N. Jain, D. Kumar, Int. J. Biomath., **8** (1), 1550010 (2015). DOI: 10.1142/S1793524515500102
- [3] O.S. Rukhlenko, O.A. Dudchenko, K.E. Zlobina, G.Th. Guria, PloS One, **10** (7), e0134028 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0134028
- [4] S. Sriyab, Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets, **20** (1), 16 (2020). DOI: 10.2174/1871529X19666190509111336