

Влияние акустического излучения на течение крови в микроканале, моделирующем стеноз¹

Ахметов А.Т.* , Саметов С.П.*,** , Валиев А.А.* , Рахимов А.А.*

* Институт механики им. Р.Р. Мавлютова УНЦ РАН, Уфа

** Центр микро- и наномасштабной динамики дисперсных систем БашГУ, Уфа

Работа посвящена проблемам, связанным с образованием тромбов, и исследованиям особенностей течения крови в сосудах со стенозами. С помощью высокоскоростной съемки и визуализации на микроуровне выполнен анализ структуры потока биологической дисперсии (крови) в микроканале, изготовленном методом мягкой литографии, моделирующем кровеносный сосуд со стенозом, при влиянии акустического воздействия ниже порога кавитации. Течение организуется при постоянном перепаде давления, который обеспечивается гидростатическим насосом, в диапазоне 100–800 Па. Обнаружено значительное влияние акустического поля на динамику течения крови через микроканал в интервале частот 20–500 кГц и амплитуде ниже 50 кПа. Результаты показывают возвратно-поступательные движения потока в области сужения микроканала, обнаруживается возможность воздействия ультразвуковым полем на тромбы, образующиеся в области стенозов сосудов.

Ключевые слова: кровь, стеноз, микрожидкостное устройство, ультразвук, визуализация

1. Введение

Ультразвуковое поле используется в медицине для терапевтических целей уже длительное время. Ультразвук низкой интенсивности частотой порядка 1 МГц начали широко применять с 1950-х гг. в физической терапии тендинита и бурсита. В 1980-х гг. высокоамплитудные ударные волны давления начали использоваться для механического разбивания почечных камней, и цистолитотрипсия очень скоро пришла на замену хирургическому вмешательству. Области применения ультразвуковой энергии для терапии продолжают расширяться, и к настоящему моменту ультразвук используется для таких процедур, как: удаление фибромы матки, катаракты (факоэмульсификация), точечное удаление тканей и остановка кровотечения, трансдермальный перенос лекарственных средств, лечение

переломов костей, высокочастотное фокусированное УЗИ как бесконтактный способ лечения опухолей [1]. С тех пор, как ультразвуковое поле стало широко применяться в медицине в качестве диагностики и для лечения заболеваний, возрос интерес к исследованиям биомеханических явлений, происходящих с клетками и тканями в ультразвуковом поле [2]. Известны негативные последствия УЗИ на сосудистую систему легких, выражающиеся в локализованном кровоизлиянии из капилляров в альвеолярное пространство [3], которое, однако, исчезает после прекращения ультразвукового воздействия [4]. Первая работа о повреждении ультразвуковым полем легких датируется 1990 г., в ней сообщается о воздействии полем частотой 2 МГц, амплитудой порядка 1 МПа (пульсации длиной 10 мкс с частотой повторения 100 Гц и длительностью 3 минуты) [5]. Подобные наблюдения зафиксированы и в другом органе, содержащем пустоты, — кишечнике. Пороговые значения параметров поля для кровоизлияния в кишечнике варьируются от 1 до 4 МПа в области частот от 1–4 МГц [6]. Одиночные ультразвуковые пульсации высокой амплитуды могут влиять на сердечный ритм [7, 8].

При воздействии ультразвуком в живом орга-

¹Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-01-97033-р_поволжье_а) и АН РБ (договор № 40/15-П).

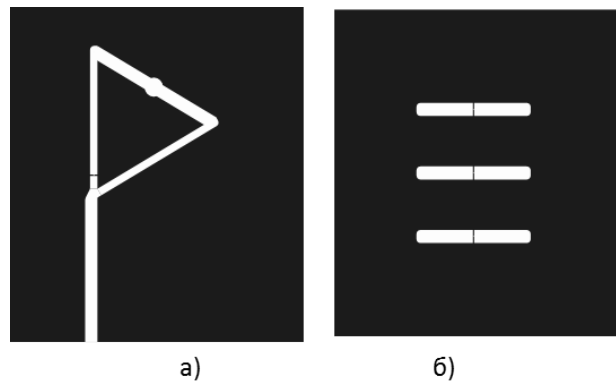


Рис. 1. Геометрия микроканалов, моделирующих сосуд с бифуркационным участком (а) и со стенозом (б)

низме здоровых млекопитающих гемолизис (процесс разрушения эритроцитов, при котором гемоглобин попадает в плазму крови) замечен не был. Гемолизис может возникать при наличии в крови кавитационных зародышей: в кровеносных сосудах мышцей эритроциты разрушаются при достижении значений поля 1,1 МГц (пульсации длиной 10 мкс с частотой повторения 100 Гц) и отрицательным давлением около 2 МПа [9].

Наибольший интерес к манипуляциям биологическими объектами акустическим воздействием возник после публикации работы [10], в которой описано обратимое явление остановки движения эритроцитов в кровеносных сосудах эмбриона цыпленка посредством стоячих волн ультразвукового поля частотой 3 МГц. Согласно исследованиям авторов этой работы, подобный биомеханический эффект может вызывать явления схожие с тромбозом [11]. Также отмечена сильная зависимость эффекта от взаимного положения кровеносного сосуда и ультразвукового резонатора. Кроме того, низкочастотное ультразвуковое поле применяется для разрушения тромбов крови [12].

2. Методика эксперимента

В настоящей работе для изготовления микрожидкостных устройств (МЖУ) использовался известный метод мягкой фотолитографии. Процесс состоит в следующем: на стекло наносится фоторезист, толщина слоя которого определяет глубину получаемых микроканалов. Производится экспонирование фоторезиста через фотошаблон. Засвеченные участки становятся нерастворимыми (негативный фоторезист), они используются для тиражирования микроканалов в полидиметилсилоксане (ПДМС).

Отличительной чертой таких МЖУ является то, что стекло, на которое наклеивается ПДМС, может быть как предметным, так и покровным, что

позволяет получить изображение высокого разрешения с использованием иммерсионного масла.

Изготовлены МЖУ с микроканалами разной геометрии, моделирующими сосуды с бифуркационным участком и со стенозами. Процесс изготовления микрочипов требует особой тщательности и чистоты при подготовке образцов, а технология изготовления нуждается в индивидуальном подборе многих параметров.

Для моделирования течения крови в сосудах со стенозами разработаны микроканалы с сужением: простейший случай с резким изменением сечения канала (рис. 1(б)) и имитация сосуда с бифуркационным участком со ступенчатым сужением (рис. 1(а)). Для моделирования сосуда с бифуркационным участком использовалось соотношение для сечений разветвляющихся цилиндрических сосудов [13]:

$$\frac{r_1^2 + r_2^2}{r_0^2} = 1,2,$$

где r_0 — радиус основной артерии; r_1, r_2 — радиусы дочерних артерий.

Для исследований воздействия акустического поля на динамику течения крови к предметному стеклу МЖУ приклеен акустический излучатель — пьезокерамический элемент (STEMiNC) с собственной частотой 1 МГц (с использованием резонансных частот колебаний пьезоэлемента) (рис. 2). Сигнал переменного напряжения подается на пьезокерамический элемент с помощью генератора сигналов WFG 33522A (Agilent Technologies) и усиливается по амплитуде усилителем сигналов AG 1012 (T&C Power Conversion). Измерение поля давлений, создаваемого пьезоэлементом, производится игольчатым гидрофоном HNR-1000 (Onda) с осциллографом HRO 66Zi (LeCroy). Для этой цели на поверхность предметного стекла помещается капля дистиллированной воды, куда опускается наконечник гидрофона (рис. 3). Течение крови происхо-

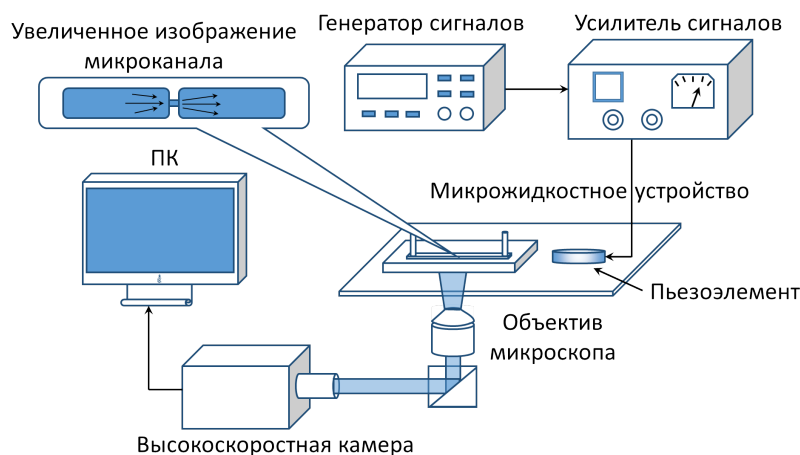


Рис. 2. Схема экспериментальной установки

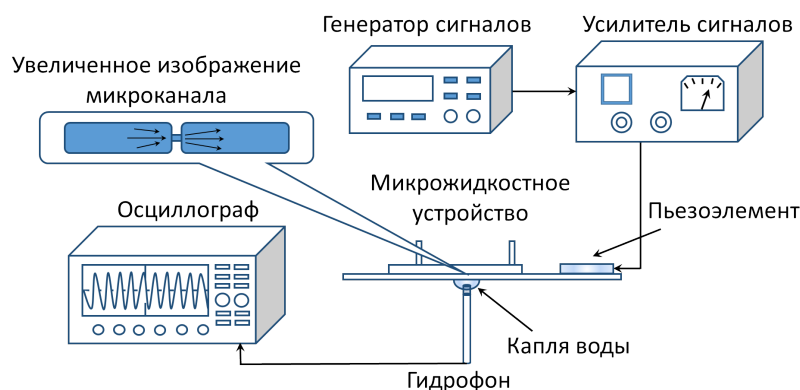


Рис. 3. Схема измерения поля давления с помощью гидрофона на микрофлюидном чипе

дит при постоянном перепаде давления, обеспечиваемом гидростатическим насосом с высотой столба крови 1–8 см, что соответствует перепаду 100–800 Па. Инвертный микроскоп IX71 (Olympus) и высокоскоростная камера FASTCAM SA5 (Photron) используются для визуализации течения крови.

3. Результаты

В терапевтической практике ультразвук используют в диапазоне частот 800–3000 кГц, однако, в настоящей работе проверен отклик системы на акустическое воздействие в диапазоне 1–5000 кГц (рис. 4). Видно, что наибольшая амплитуда давления находится в области 400–600 кГц, при этом, исходя из значений давления, можно говорить о кавитации (>100 кПа) в этом диапазоне.

Воздействие акустического поля на динамику течения крови в сужении, имитирующем стеноз в кровеносном сосуде с бифуркационным участком, показало активное возмущение ламинарного потока крови. В масштабе бифуркационного участка

сосуда возмущений замечено не было. Исходя из амплитудно-частотной характеристики МЖУ ультразвуковое воздействие исследуется в диапазоне частот 1–500 кГц при одинаковом входном напряжении на пьезоэлементе. Исследования характера потока в ультразвуковом поле проведены при разных перепадах давления, создаваемых водным столбом крови равным 1 и 8 см. Наблюдения проводились при различных масштабах таким образом, что на 1 мкм изображения приходится от 0,3 до 3 пикселей. В соответствии с амплитудно-частотной характеристикой наблюдаются возмущения потока в следующих диапазонах частот: 25–30 кГц, 70–100 кГц и выше. Возмущения течения проявляются в резком снижении скорости эритроцитов, а также колебаниях потока в области сужения с нелинейной частотой. В области частот 25–30 кГц наблюдается активное хаотическое движение эритроцитов, не соответствующее линиям тока при ламинарном течении крови через сужение канала. В диапазоне частот 70–100 кГц можно отметить нелиней-

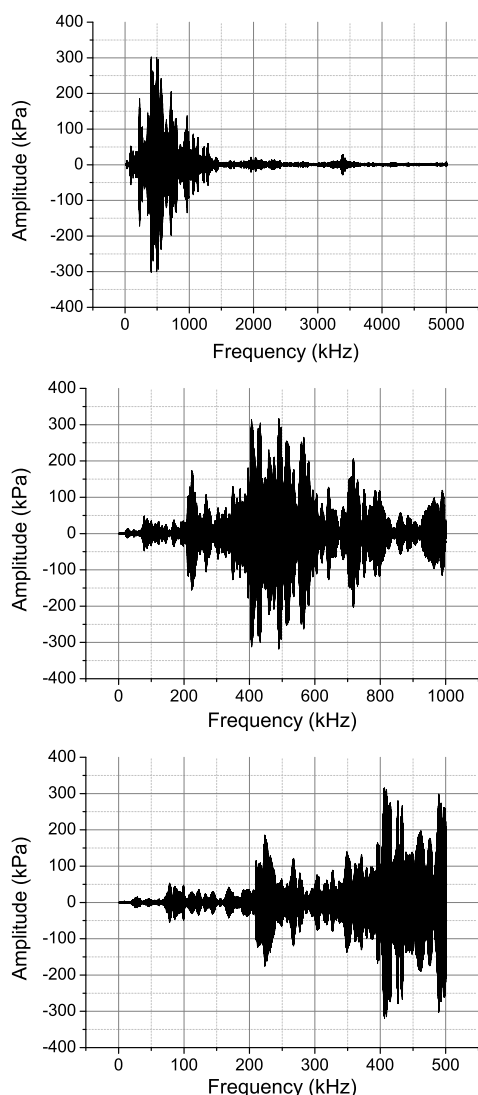


Рис. 4. Амплитудно-частотная характеристика МЖУ, снятая в различных диапазонах частот

ное пульсирующее движение крови в области сужения микроканала с направлением преимущественно в противоположную сторону относительно потока, со скоростью порядка 5 мм/с, частотой около 1–2 Гц и амплитудой 200 мкм (рис. 5).

Начиная с частоты 110 кГц течение фактически не меняется, даже испытывая нелинейные пульсирующие движения вдоль и против течения с амплитудой порядка 40 мкм. При перепаде давления 800 Па картина течения аналогична рис. 5, в сужении наблюдается возвратно-поступательное движение. Наблюдаемое воздействие ультразвукового излучения хорошо иллюстрируется видеозаписью и не обнаруживается при давлениях поля ниже порогового (50 кПа).

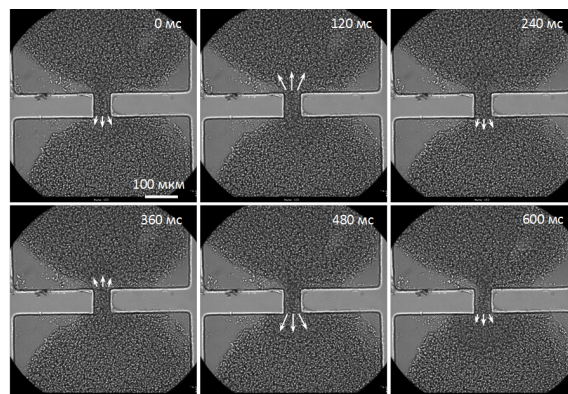


Рис. 5. Серия фотоизображений при ультразвуковом воздействии в диапазоне частот 70–100 кГц при течении крови при перепаде давления 100 Па

4. Заключение

В результате можно отметить значительное влияние ультразвукового поля на характер потока крови в области сужений микроканалов, имитирующих сосуды со стенозами. При акустическом воздействии с частотой менее 100 кГц протекающая кровь испытывает возвратно-поступательные движения со скоростью, превышающей скорость потока, обеспеченного стационарным перепадом давления. Таким образом, обнаруживается возможность воздействия ультразвуковым полем на тромбы, образующиеся в области стеноза сосудов.

Список литературы

- [1] Miller D.L. et al. Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations //Journal of Ultrasound in Medicine. 2012. V. 31, No 4. Pp. 623–634.
- [2] Dalecki D. Mechanical bioeffects of ultrasound //Annu. Rev. Biomed. Eng. 2004. V. 6. Pp. 229–248.
- [3] Penney D.P. et al. Morphological effects of pulsed ultrasound in the lung //Ultrasound in medicine & biology. 1993. V. 19, No 2. Pp. 127135.
- [4] Zachary J.F. et al. Temporal and spatial evaluation of lesion reparative responses following superthreshold exposure of rat lung to pulsed ultrasound //Ultrasound in medicine & biology. 2001. V. 27, No 6. Pp. 829–839.
- [5] Child SZ, Hartman CL, McHale LA, Carstensen EL. Lung damage from exposure to pulsed ultrasound //Ultrasound in medicine & biology. 1990. V. 16, No 8. Pp. 817–825.

- [6] Dalecki D. et al. Thresholds for intestinal hemorrhage in mice exposed to a piezoelectric lithotripter // *Ultrasound in medicine & biology*. 1995. V. 21, No 9. Pp. 1239–1246.
- [7] Dalecki D. et al. Effects of pulsed ultrasound on the frog heart: I. Thresholds for changes in cardiac rhythm and aortic pressure // *Ultrasound in medicine & biology*. 1993. V. 19, No 5. Pp. 385–390.
- [8] MacRobbie A.G. et al. Thresholds for premature contractions in murine hearts exposed to pulsed ultrasound // *Ultrasound in medicine & biology*. 1997. V. 23, No 5. Pp. 761–765.
- [9] Dalecki D. et al. Hemolysis in vivo from exposure to pulsed ultrasound // *Ultrasound in medicine & biology*. 1997. V. 23, No 2. Pp. 307–313.
- [10] Dyson M., Woodward B., Pond J.B. Flow of red blood cells stopped by ultrasound // *Nature*. 1971. No 232. Pp. 572–573.
- [11] Dyson M. et al. The production of blood cell stasis and endothelial damage in the blood vessels of chick embryos treated with ultrasound in a stationary wave field // *Ultrasound in medicine & biology*. 1974. V. 1, No 2. Pp. 133–148.
- [12] Tr?bestein G. et al. Thrombolysis by ultrasound // *Clinical Science*. 1976. V. 51, No 3. Pp. 697–698.
- [13] Rossitti S., Lofgren J. Vascular dimensions of the cerebral arteries follow the principle of minimum work // *Stroke*. 1993. V. 24, No 3. Pp. 371–377.

Effect of acoustic exposing on blood flow in microchannel simulating stenosis

Akhmetov A.T.* , Sametov S.P.*, , Valiev A.A.* , Rakhimov A.A.***

* Mavlyutov Institute of Mechanics, Ufa

** Center for Micro- and Nanoscale Dynamics of Dispersed Systems, Bashkir State University, Ufa

The work is dedicated to problems connected with blood clot formation and study of blood flow features in vessels with stenosis. Using high-speed recording an analysis of flow structure of biological dispersion (blood) in acoustic field of mild intensity is made. It carried out in microchannel simulating a blood vessel with stenosis made and using soft lithography technology. The flow is arranged at constant pressure drop provided by hydrostatic pump in a range of 100 – 800 Pa. It was found a strong influence of acoustic field on a dynamics of blood flow in a microchannel at the range of frequencies 20 – 500 kHz and amplitudes below than 50 kPa. Results show reciprocating movements of flow in a region of microchannel narrowing. It is found a possibility of ultrasound field impact on blood clots formed in region of vessels stenosis.

Keywords: blood, stenosis, microfluidic device, ultrasound, visualisation

