

Микрогидродинамика крови при стенозе сосудов¹

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

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

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

*** Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

В работе отмечено, что гидродинамические условия течения в кровеносных сосудах со стенозом являются аномальными по отношению к общим гемодинамическим условиям течения крови в сосудистой системе человеческого организма. Разработанное микрожидкостное устройство со ступенчатым сужением для изучения течения крови в аномальных условиях позволило выявить структуру крови в микроканалах, моделирующих стеноз. При прохождении через сужение как нативной, так и разбавленной крови, обнаружено изменение её микроструктуры. Изучение гемореологических свойств позволило определить возрастающий вклад гидравлического сопротивления здоровой части сосуда при образовании в нём стеноза.

Ключевые слова: кровеносный сосуд, эритроцит, стеноз, реология, микрожидкостное устройство, микроканал

1. Введение

Сосудистая система человеческого организма устроена таким образом, что по мере удаления от сердца происходит ветвление сосудов и их сужение. При этом увеличение количества сосудов сопровождается значительным ростом суммарного сечения. Суммарное сечение капилляров на 3 порядка больше сечения аорты. Увеличение суммарного сечения сосудов сопровождается уменьшением скорости крови практически во столько же раз, однако скорость деформации сдвига изменяется незначительно и для сосудов кровеносной системы человеческого организма составляет величину порядка 100 с^{-1} [1].

В сосудах больного организма со стенозом (сужением) естественные условия течения крови нарушаются. В одном и том же кровеносном сосуде при прохождении через сужение скорость деформации сдвига многократно превышает её значение в здоровой части сосуда, что является аномаль-

ным по отношению к гемодинамике здорового организма. Для изучения микрогидродинамики крови при аномальных для человеческого организма условиях течения возникла необходимость разработки микрожидкостного устройства (МЖУ) с сужением. Наличие сужения существенно замедляет течение крови, что, в свою очередь, приводит к проявлению неньютоновских свойств крови, обусловленных уменьшением скорости деформации сдвига. Нативная (цельная) кровь наполовину состоит из форменных элементов, основную долю которых составляют эритроциты, имеющие форму двояковогнутого диска. Наличие эритроцитов, в основном, и определяет реологические свойства крови. Проведение расчётов объёмного расхода крови через плоский и цилиндрический микроканалы при образовании сужения потребовало детальных реологических исследований. Следует отметить, что в гидродинамических экспериментах с кровью особое внимание следует уделять проявлению седиментации эритроцитов и их способности к образованию, так называемых, монетных столбиков.

¹Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-01-97033-р_поволжье_а).

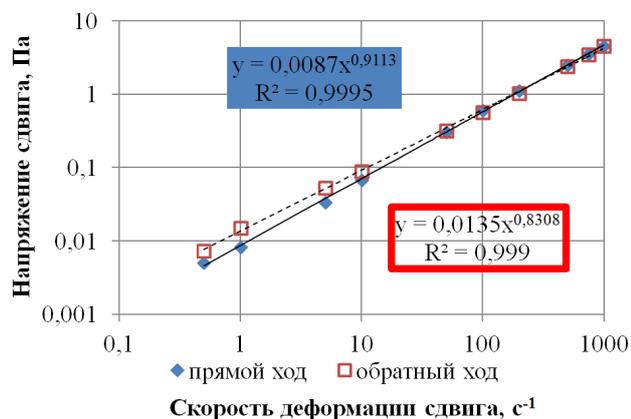


Рис. 1. Реологическая кривая, зависимость напряжения сдвига от скорости деформации сдвига $\tau = k\dot{\gamma}^n$, k — консистентность, n — показатель неньютоновского поведения

2. Динамика эритроцитов при реологических измерениях

В настоящих исследованиях использовалась нативная кровь с антикоагулянтом ЭДТА-КЗ. Реологические свойства измерялись методом конус–пластина на ротационном реометре НААКЕ MARS III в диапазоне скоростей деформации сдвига $1\text{--}1000\text{ с}^{-1}$, при температуре 37°C и температуре, при которой проводились гидродинамические эксперименты с МЖУ. Зависимость величины напряжения сдвига от скорости деформации сдвига принято называть реологической кривой [2]. Измерения напряжения сдвига происходят при ступенчатом увеличении скорости деформации сдвига (прямой ход), после достижения максимальной скорости происходит ступенчатое уменьшение (обратный ход). Полученные результаты приведены на рис. 1 в двойном логарифмическом масштабе. С высокой степенью достоверности аппроксимационная реологическая кривая описывается степенной функцией (рис. 1), что соответствует модели жидкости Оствальда-Вааля. Построенная на основе полученных параметров k и n зависимость эффективной вязкости от скорости деформации сдвига показана на рис. 2. Полученные при измерении значения для напряжения сдвига при прямом и обратном ходе несколько отличны друг от друга. Значения скорости деформации сдвига в области $\dot{\gamma} < 10\text{ с}^{-1}$ для обратного хода несколько выше значений при прямом ходе в том же диапазоне. При скоростях деформации сдвига $\dot{\gamma} > 10\text{ с}^{-1}$ — ниже значений прямого хода. Эти отклонения можно объяснить особенностями сложной биологической дисперсии,

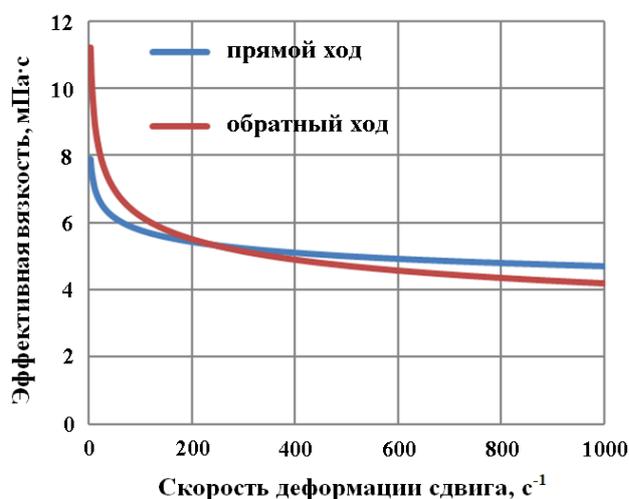


Рис. 2. Иллюстрация зависимости эффективной вязкости от скорости деформации сдвига, построенной на основе полученных параметров k и n

содержащей эритроциты.

Оценим, насколько успевают осесть эритроциты от поверхностей двойного конуса (рис. 3) до начала измерения, полагая скорость оседания эритроцитов СОЭ 10 мм/час (у изученных нами пациентов СОЭ, как правило, выше), что составляет $2,8\text{ мкм/с}$. За небольшой промежуток времени после заполнения измеряемого объема и началом измерений (20 секунд, в течение которых происходит настройка реометра), оседание составляет 56 мкм , что соответствует 7-ми характерным размерам эритроцита, то есть верхние поверхности в системе двойной конус (рис. 3, элемент 5) в начале измерений взаимодействуют с плазмой крови.

При обратном ходе, начинающемся с больших скоростей деформации, эритроциты в объеме перемешаны. Это различие, состоящее в наличии и отсутствии прослойки плазмы, объясняет то, что обратный ход лежит выше прямого при малых скоростях деформации сдвига (рис. 1, 2). Хотя отклонения в значениях касательного напряжения небольшие, но они сказываются на значении показателя степени, что становится существенным для эффективной вязкости при малых скоростях деформации сдвига.

Кроме оседания эритроцитов, пока объем в покое или подвержен деформации при малых скоростях сдвига, происходит агрегация эритроцитов. После остановки течения крови в микроканале некоторая часть эритроцитов успевает собраться в структуры, называемые монетными столбиками (рис. 4). Учитывая промежуток времени между вы-

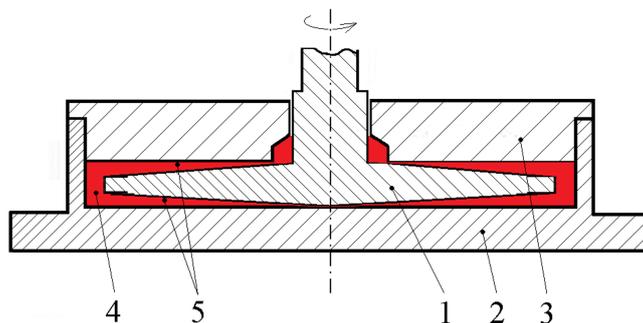


Рис. 3. Схематическое изображение системы двойной конус (1 — двойной конус, 2 — опорная пластина с цилиндрической стенкой, 3 — крышка, 4 — кровь, 5 — верхние поверхности)

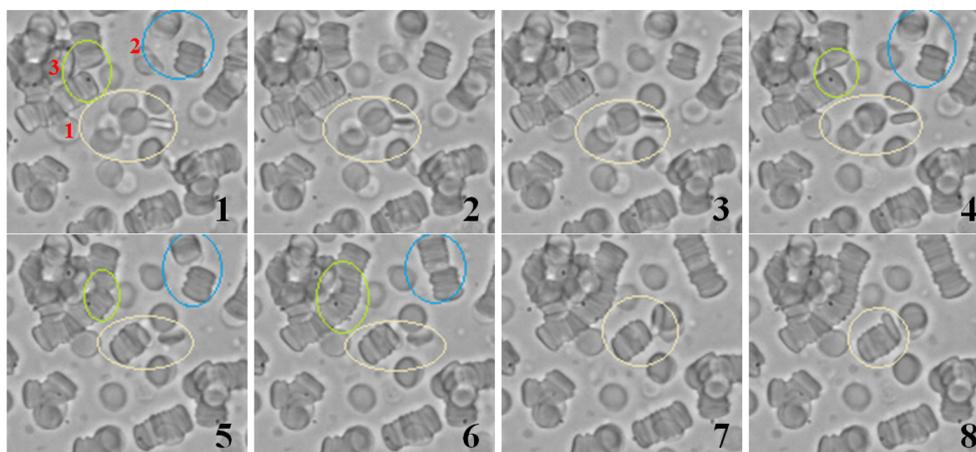


Рис. 4. Кадры из микросъёмки крови после остановки течения в микроканале

бранными кадрами (4 с), можно определить время «монетизации» эритроцитов. В трёх обведённых участках (рис. 4) на приведённых кадрах можно проследить за агрегацией эритроцитов: в первом — из хаотично ориентированных эритроцитов, во втором и третьем — уже из сформировавшихся частей монетных столбиков. Время образования монетного столбика из «хаоса» — 28 с, из двух столбиков (рис. 4, кадры 2, 3) образуется один большой на 8 секунд быстрее. Образование монетных столбиков и конгломератов из них приводит к увеличению эффективной вязкости. При возобновлении движения, вследствие увеличения скорости деформации сдвига, они начинают разваливаться. Таким образом, при прямом ходе измерения реологической кривой они сначала образуются, а потом разваливаются. При обратном ходе они уже развалились при больших скоростях деформации сдвига, и кривая проходит ниже (рис. 2).

Следует отметить, что при малых скоростях деформации сдвига ($0,5 \text{ с}^{-1}$) образуется тонкий слой плазмы у верхних поверхностей (рис. 3, эле-

мент 5). При $\dot{\gamma} = 5$ и 10 с^{-1} тонкий слой заполняется эритроцитами, напряжение сдвига в течение 5 минут возрастает в полтора раза. При больших скоростях деформации напряжение падает, что предположительно связано с разрушением монетных столбиков и изменением режима течения. При 37°C в целом наблюдается та же картина.

Отклонения измеряемой эффективной вязкости ($\tau/\dot{\gamma}$) от её характерного значения для кровеносной системы человеческого организма при $\dot{\gamma} = 100 \text{ с}^{-1}$ становятся существенными при снижении скоростей деформации сдвига ниже 10 с^{-1} . Для степенной функции существует модернизированная формула Пуазейля для течения в цилиндрических каналах и ячейке Хили–Шоу.

Физиологически обратный ход в какой-то мере аналогичен артериальному течению крови. Перемешанная в сердце кровь со значительной скоростью нагнетается в аорту и далее распределяется по сосудам, общее сечение которых по мере удаления от сердца увеличивается, скорость течения падает.

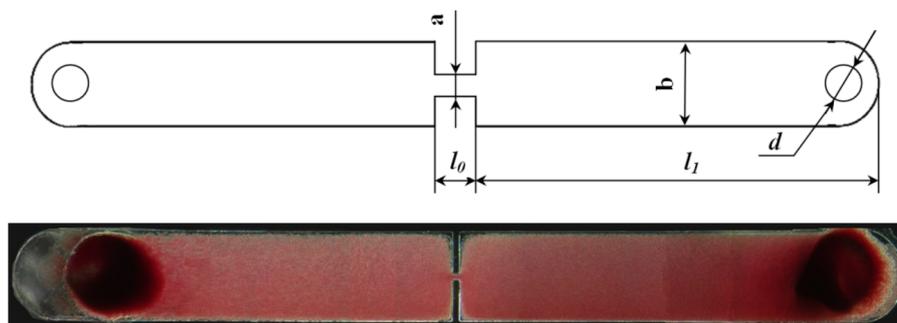


Рис. 5. Схематическое изображение МЖУ со ступенчатым сужением, и фотография при течении в нём крови (общая длина 10 мм, $b = 1$ мм, глубина $2h = 50$ мкм; сужение: $a = 50$ мкм, длина $l_0 = 100$ мкм)

3. Гидродинамика крови при стенозе

В сосудах больного организма со стенозом естественная структура течения нарушается: в одном и том же кровеносном сосуде скорость деформации сдвига в сужении может на несколько порядков превышать её значение в здоровой части сосуда. Гидродинамические условия течения крови в сосудах со стенозом аномальны для здорового человеческого организма. Для изучения структуры течения при наличии стеноза методом мягкой фотолитографии было разработано и изготовлено МЖУ, состоящее из плоского микроканала со ступенчатым сужением (рис. 5).

Течение организуется с помощью гидростатического насоса в диапазоне давлений 50–1000 Па. В узкой части микроканала скорость течения по кинематическим соотношениям в 20 раз выше по сравнению с широкой, соответственно и скорость деформации сдвига выше. Наличие сужения приводит к уменьшению расхода при заданном перепаде давления. Расход уменьшается не только из-за сокращения сечения, но и за счет увеличения вязкости крови в широкой части канала вследствие снижения скорости деформации сдвига.

МЖУ геометрически состоит из двух симметричных секций ячеек Хили–Шоу и прямоугольного канала, соединяющего их. Без учёта концевых эффектов можно составить уравнения в «пуазейлевском» приближении, где используются две эффективные вязкости на основе реологической кривой:

$$Q_0 = \frac{\Delta P_0 \chi h^4 f(\chi)}{3\mu(bl_0 + 2al_1)}, \quad (1)$$

$$Q_1 = \frac{2h^3 b \Delta P_1}{3\mu l_1}, \quad (2)$$

где подстрочный индекс «1» соответствует ячейке Хили–Шоу (широкая часть МЖУ), индекс «0» — прямоугольному каналу (сужению); Q — расход;

ΔP — перепад давления, создаваемый гидростатическим насосом; μ — вязкость жидкости; l — длина микроканала; h — половина высоты микроканала; b — ширина микроканала; a — ширина сужения. Исходя из соотношения сторон h/a получено $\chi = 5$, $f(\chi) = 4,7$ [3]. Для жидкости Оствальда-де Вааля выражение (1) переходит в модернизированную формулу Пуазейля:

$$Q = 2h^2 b \frac{n}{2n+1} \left(\frac{\Delta P h}{kl} \right)^{\frac{1}{n}}, \quad (3)$$

где k и n — коэффициенты, обозначающие соответственно консистенцию и показатель неньютоновского поведения, находятся из степенной модели Оствальда-де Вааля (рис. 1).

Следует отметить, что объёмные расходы, рассчитанные для жидкости Оствальда-де Вааля (3) и для ньютоновской жидкости с эффективной вязкостью, полученной из её реологической кривой при соответствующей скорости деформации сдвига (1), заметно отличаются. Это обусловлено различием в распределении скоростей по сечению в ячейке Хили–Шоу

$$v = \frac{n}{n+1} h^{\frac{n+1}{n}} \left(\frac{\Delta P}{kl} \right)^{\frac{1}{n}} \left[1 - \left(\frac{y}{h} \right)^{\frac{n+1}{n}} \right],$$

где y — текущая координата от середины микроканала, изменяющаяся в пределах от 0 до h .

Проведение экспериментов с нативной кровью требует выполнения условий, обеспечивающих постоянный гематокрит поступающей в микроканал крови. Для достижения этой цели в МЖУ на входе просверливалось отверстие диаметром, соответствующим диаметру выходной трубки шприца. Ёмкость с кровью в шприце закреплялась в слое ПДМС в МЖУ и содержимое перемешивалось магнитной мешалкой. Выполнение описанных условий привело к хорошему соответствию экспериментально полученной зависимости расхода от перепада

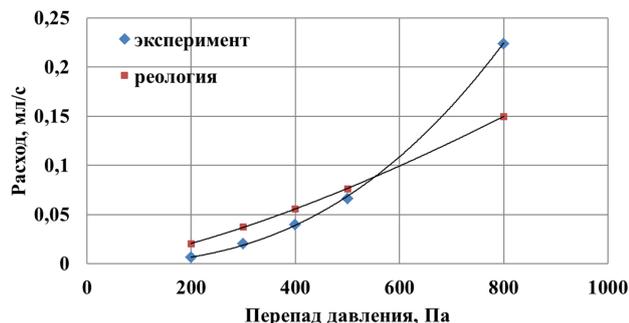


Рис. 6. Зависимость расхода от перепада давления, экспериментальные значения и расчётная линия на основе реологической кривой

давления с рассчитанной (рис. 1) при значениях перепада давления ниже 600 Па (рис. 6). При больших значениях перепада давления сказывается степенной характер жидкости Оствальда-де Вааля.

В случае цилиндрической формы канала при уменьшении диаметра микроканала в 4,5 раза, сечение меняется в 20 раз в отличие от плоского канала. Уравнения в узкой и широкой части становятся однотипными и описываются модернизированной формулой Пуазейля:

$$Q = \frac{n}{3n+1} \pi R^{\frac{3n+1}{n}} \left(\frac{\Delta P_1}{2kl_1} \right)^{\frac{1}{n}},$$

$$Q = \frac{n}{3n+1} \pi r^{\frac{3n+1}{n}} \left(\frac{\Delta P_1}{2kl_1} \right)^{\frac{1}{n}},$$

где R — радиус широкой части микроканала; r — радиус сужения.

Благодаря однотипности формул, легко оценить относительный вклад участка кровеносного сосуда и образовавшегося в нем сужения:

$$\frac{\Delta P_1}{\Delta P_0} = \left(\frac{l_1}{l_0} \right) \left(\frac{r}{R} \right)^{3n+1}. \quad (4)$$

При $n = 1$ выражение (4) переходит в соотношение, вытекающее из формул Пуазейля для ньютоновской жидкости:

$$\frac{\Delta P_1}{\Delta P_0} = \left(\frac{l_1}{l_0} \right) \left(\frac{r}{R} \right)^4. \quad (5)$$

Как видно из выражений (4)–(5), вклад участка кровеносного сосуда определяется соотношением длин и радиусов узкой и широкой частей сосуда цилиндрической формы. Значение n для дисперсных сред, в том числе и крови, обычно меньше 1, поэтому в жидкости Оствальда-де Вааля вклад широкой части микроканала становится больше по срав-

нению с ньютоновской жидкостью (5). Неньютоновские свойства сказываются лишь при изменении диаметра, а соотношение длин является линейным коэффициентом. Для плоского МЖУ (рис. 4) при соотношении сечений 1/20 для ньютоновской жидкости отношение перепада давления в широкой части к узкой равно 0,25. Для крови с показателем $n = 0,88 - 0,43$ неньютоновские свойства крови увеличивают сопротивление широкой (здоровой) части сосуда на 72%, а с показателем $n = 0,80 - 0,60$ — на 140%. Таким образом, большее отклонение свойств крови от ньютоновского поведения оказывает влияние на замедление течения в широкой (здоровой) части сосуда (до и после сужения) и приводит к увеличению его гидравлического сопротивления и, соответственно, к замедлению кровотока.

4. Микроструктура потока при стенозе крови

Поскольку эритроциты, представляющие собой двояковогнутые диски, составляют основную часть дисперсной фазы, то можно ожидать некоторую анизотропию в течении крови. Ранее, при течении эмульсии в микроканале со ступенчатым сужением, была обнаружена асимметрия структуры течения [4], по всей видимости, обусловленная деформацией микрокапель. Подобная асимметрия наблюдалась и при течении крови [5]. Для более детального изучения особенностей течения крови в МЖУ со ступенчатым сужением, чтобы найти поле скоростей и изучить структуру течения при различных перепадах давления, была использована высокоскоростная камера (Photron Fastcam SA5) в сочетании с инвертным микроскопом Olympus IX71. Увеличение чёткости достигалось использованием фазового контраста. В зависимости от перепада давления и скорости течения подбиралась частота кадров видеозаписи: 1000 кадров/с при перепаде давления 100 Па и 7000 кадров/с при перепаде давления 800 Па (рис. 7). В обоих случаях проявляется асимметрия картины течения. Если у входа в сужение ярко выражены линии тока, то после выхода в расширение наблюдаются концентрические линии «наплыва». Клетки крови перед входом в сужение выстраиваются вдоль линий тока, после выхода располагаются поперёк линий тока, то есть эритроциты меняют ориентацию по отношению к линиям тока во входной и выходной зонах на 90° . Поле скоростей асимметрично, по оси канала после прохождения через сужение скорость меньше, чем перед входом в аналогичных точках, по краям — больше. Если провести оценку различия скоростей, приведенных в векторном виде (рис. 7), то получим: при малых скоростях вблизи канала (100 мкм от центра) раз-

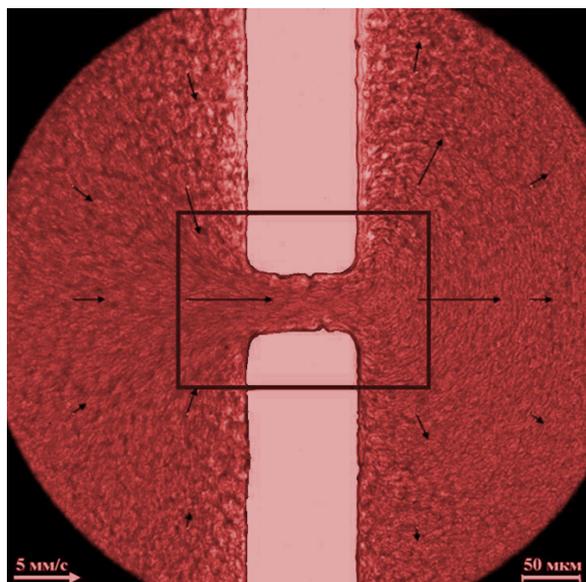


Рис. 7. Структура течения при прохождении крови через сужение, перепад давления 800 Па, 7000 кадров/с

личие отношения скоростей (36% и 4%), при удалении (300 мкм от центра) различия больше при большем перепаде давления (22% и 40%). То есть, в зоне с поперечной ориентацией эритроцитов, фронтальная скорость меньше, чем в симметричных точках в зоне с продольной ориентацией. Изменение структуры потока крови более чётко проявляется при большей скорости течения. Дальнейшее электронное увеличение центральной зоны (рис. 7) позволяет более детально продемонстрировать область переориентации эритроцитов относительно линий тока после выхода из сужения (рис. 8).

Приведённая картина (рис. 8) соответствует течению дисперсии с концентрацией дисперсной фазы около 50% и с выраженной неньютоновской реологией. Для изучения структуры течения разбавленной дисперсии с ньютоновской реологией использованная проба с нативной кровью была разбавлена её плазмой.

Поскольку вязкость плазмы втрое меньше вязкости крови, то при выбранном перепаде давления (рис. 9) скорости на рис. 7 и 9 сопоставимы. В этом случае четко различаются отдельные эритроциты. После прохождения через сужение их основная ориентация переходит в горизонтальную плоскость.

Во входной зоне также видны горизонтально расположенные эритроциты (нерезкие пятна), они удалены от фокальной плоскости и находятся в центре канала. Их скорость выше в соответствии с распределением скоростей в зазоре ячейки Хили–Шоу. Асимметрия скоростей в зонах перед входом и по-

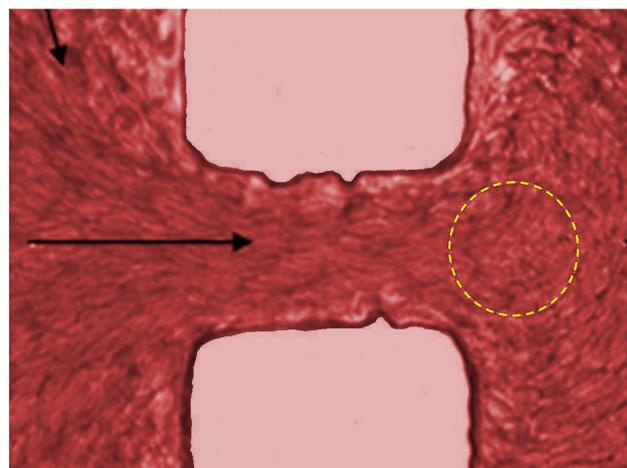


Рис. 8. Изменение ориентации эритроцитов в потоке крови при прохождении крови через сужение, штриховой линией обведена область переориентации эритроцитов

сле выхода из сужения не обнаруживается, различие в ориентации кровяных клеток очевидно, но отличается от случая с нативной кровью.

В проведенной серии экспериментов с кровью в МЖУ при гидродинамических условиях, близких к сосудистой системе человеческого организма, использование методов микроскопии в сочетании с высокоскоростной съёмкой позволило обнаружить у входа и выхода в сужение асимметрию скоростей и структуры течения крови. При большом увеличении обнаруживается, что во входной зоне в сужение и в нем самом кровяные клетки (эритроциты) ориентированы вдоль линий тока. Непосредственно после выхода из сужения наблюдается зона переориентации (размером порядка ширины сужения), по мере удаления от сужения эритроциты выстраиваются поперек линий тока. По мере формирования зоны с поперечным расположением эритроцитов скорость течения во фронтальной зоне, по сравнению с симметричной точкой у входа, уменьшается почти вдвое. Предполагается, что вероятность тромбообразования в этой зоне повышена.

Известно, что при стационарном обтекании ньютоновской жидкостью симметричных препятствий, в том числе и сужений, при малых числах Рейнольдса (в нашем случае $Re = 0,1$) линии тока и поле скоростей течения до и после препятствия симметричны. Обнаружено, что гидродинамика биологических дисперсных (клеточных) систем характеризуется нарушением симметрии поля скоростей, структуры течения и ориентации несферических красных кровяных клеток при обтекании препятствия.

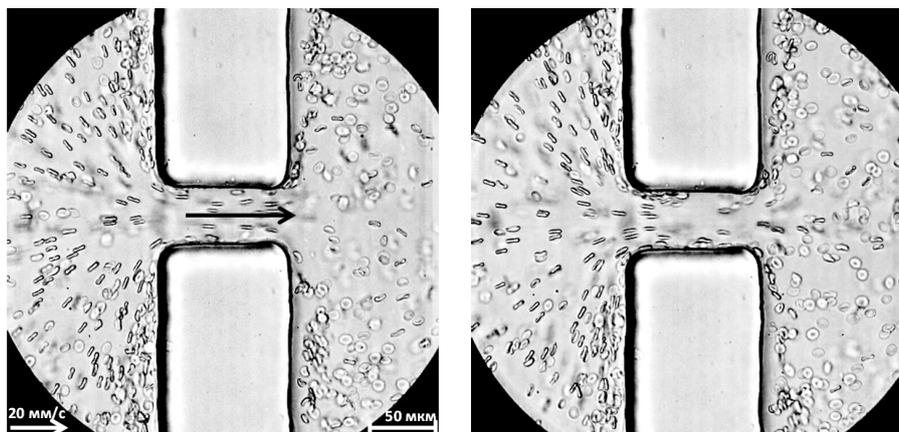


Рис. 9. Изменение ориентации эритроцитов после выхода из сужения при течении разбавленной плазмой крови (течение слева-направо, $\Delta P = 200$ Па, 1000 кадров/с, время между кадрами — 2 мс)

5. Заключение

Анализ особенностей сложной биологической дисперсии, содержащей эритроциты, позволил обосновать методику измерения реологических свойств крови на прецизионном реометре, учитывающую седиментацию эритроцитов и образование монетных столбиков. Выявлено синергетическое возрастание гидравлического сопротивления при стенозе кровеносного сосуда за счет двух факторов: 1) замедление течения из-за уменьшения сечения в районе стеноза; 2) замедление течения из-за увеличения вязкости крови в здоровой части сосуда.

Использование МЖУ со ступенчатым сужением, моделирующим гидродинамические условия течения крови в сосудах со стенозом, аномальные для сосудистой системы здорового организма, позволило выявить структуру течения вблизи сужения, его асимметрию и изменение ориентации эритроцитов после прохождения через сужение.

В разбавленной крови наблюдается асимметрия структуры потока у входа и выхода в сужение.

Список литературы

- [1] Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. Реология крови // М.: Медицина. 1982. 272 с.
- [2] Шрамм Г. Основы практической реологии и реометрии // М.: КолосС. 2003. 312 с.
- [3] Лойцянский Л.Г. Механика жидкости и газа. – Учеб. Для вузов. Изд. 6-е, перераб. Доп. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат.лит. 1987. 840 с.
- [4] Саметов С., Ахметов А. Гидродинамические эффекты при течении обратных эмульсий в микроканалах // Lambert Academic Publishing. 2011. 113 с.
- [5] Ахметов А.Т., Рахимов А.А., Валиев А.А., Нигматзянова Р.Р. Течение эмульсий и крови в микроканалах различной конфигурации // Труды Института механики им. Р.Р. Мавлютова Уфимского научного центра РАН // Уфа: Нефтегазовое дело. 2014. Вып. 10. С. 19–26.

Microfluidics of blood in blood vessels stenosis

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

* Mavlyutov Institute of Mechanics, Ufa

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

*** Bashkir State Medical University, Ufa

It is mentioned in the paper that hydrodynamic conditions of a flow in blood vessels with the stenosis are abnormal in relation to the total hemodynamic conditions of blood flow in a vascular system of a human body. A microfluidic device developed with a stepped narrowing for studying of the blood flow at abnormal conditions allowed to reveal blood structure in microchannels simulating the stenosis. Microstructure change is observed during the flow of both native and diluted blood through the narrowing. The study of hemorheological properties allowed us to determine an increasing contribution of the hydraulic resistance of the healthy part of the vessel during the stenosis formation.

Keywords: blood vessel, red blood cell, stenosis, rheology, microfluidic device, the microchannel

