

А.В. Муравьев, А.А. Маймистова, С.В. Булаева, П.В. Михайлов, А.А. Муравьев

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ

Важным свойством эритроцитов, характеризующим их способность продвигаться по сосудам, диаметр которых порой меньше размеров клетки, является деформируемость. Применение современных методов регистрации микрореологических характеристик эритроцитов позволило создать математические модели, достаточно точно отражающие зависимость величины деформируемости клеток от напряжения сдвига.

Red blood cell deformability is a very important cellular property. It gives possibility red cells travel through small vessels which diameter is less than cell size. Numerical data that obtained with digital technology were used for a mathematical modeling. It was shown that red cell deformability depends on value of shear stress. It was approximated quiet correct with regression equation.

### Введение

Механическое поведение клеток крови, отдельных клеточных структур, молекулярные, коллоидные изменения в крови изучает микро-реология [1, 4, 6, 7]. Если диаметр сосудов приближается к размерам клеток, то кровь нельзя рассматривать как однородную жидкость [3]. В этом случае потоковую ситуацию называют двухфазной, поскольку течение определяется реологическим поведением форменных элементов крови и текучестью плазмы [8, 10]. Одной из задач микрореологии является объяснение реологического поведения сложной системы (эритроцита) на основе изучения механического поведения ее компонентов, то есть решить задачу «структурного анализа». Для описания сложного реологического поведения эритроцитов используют термин «деформируемость». Для того чтобы пройти через микрососуды, диаметр которых порой меньше размеров клетки, последние должны изменить свою форму, то есть деформироваться [9]. Деформируемость эритроцитов определяется тремя группами факторов [11]:

- вязкоэластическими свойствами мембраны;
- вязкостью внутриклеточной жидкости;
- размерами и формой клеток.

Кровь или суспензия эритроцитов являются неньютоновской жидкостью [2], их кривая течения может быть описана разными моделями и в том числе моделью жидкости степенного закона [5]. В любом случае при увеличении напряжения сдвига при течении крови наблюдается уменьшение ее вязкости [4]. Если для цельной крови это явление «сдвигового разжижения» объясняют уменьшением агрегации эритроцитов [6], то этот феномен, выявленный в суспензии эритроцитов при отсутствии агрегации, можно объяснить только повышением потоковой деформации каждой клетки

в суспензии в ответ на прирост сдвигового напряжения.

С учетом вышесказанного целью данного исследования было изучение и математическое моделирование изменений эластичности и деформации эритроцитов.

### Материал и методы исследования

Деформируемость эритроцитов исследовали двумя методами:

1) регистрировали вязкость суспензий эритроцитов с Hct=40% на полуавтоматическом капиллярном вискозиметре при шести напряжениях сдвига (от 0,20 до 2,00 Нм-2). Все измерения выполнены при комнатной температуре. Вязкость суспензионной среды (изотонический раствор хлорида натрия с 5,0 мМ глюкозы) была постоянной и составила 1,08 мПа·с. Коэффициент вариации при измерении вязкости не превышал 1,0%.

2) определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере (рис. 1. Размеры: длина микрокамеры – 3,5 см, ширина – 0,95 см, а высота – 120 мкм).

Ее заполняли суспензией эритроцитов (Hct=0,5%) в изотоническом растворе NaCl, содержащем 5,0 мМ глюкозы и 0,1% альбумина, и помещали на предметный столик микроскопа. В микрокамеру подавали давление, которое создавало в ней определенную величину напряжения сдвига. Величину напряжения сдвига ( $\tau$ ) в камере рассчитывали по формуле [2]:

$$\tau = \frac{6\eta Q}{Wh^2},$$

где  $\eta$  – вязкость суспензии (примерно – 1,08 мПа·с),  $Q$  – объемная скорость в микрокамере,  $W$  – ширина проточного канала микрокамеры,  $h$  – высота канала, равная толщине прокладки

(стандартная полиэтиленовая пленка от 100 до 120 мкм).

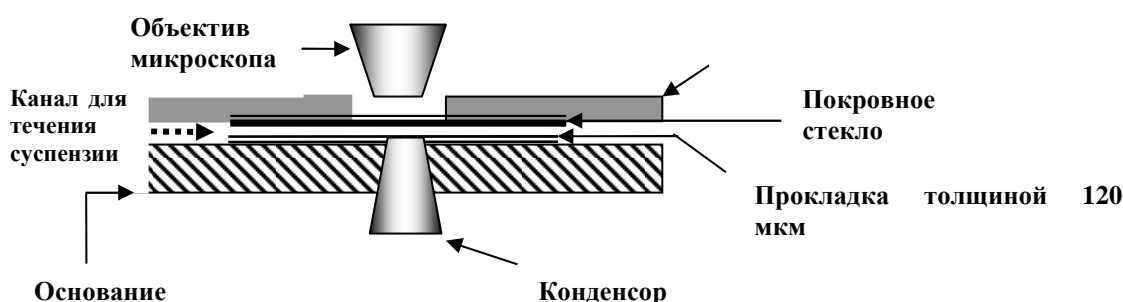


Рис. 1. Схема проточной микрокамеры для регистрации степени деформации эритроцитов в сдвиговом потоке

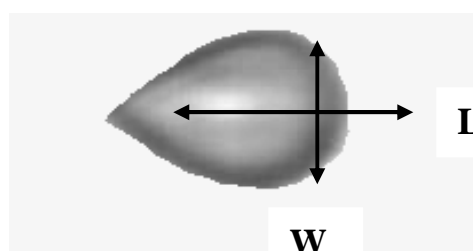


Рис. 2. Эритроцит, закрепленный одной точкой и деформированный в сдвиговом потоке ( $\tau = 0,78 \text{ Нм}^{-2}$ )

Изображение растянутых потоком жидкости, прикрепленных одной точкой к поверхности микроканала эритроцитов (рис. 2) передавалось через USB порт в компьютер с использованием цифрового окуляра (модель DCM500). После «захвата» и записи изображения его анализировали с помощью программы Adobe Photoshop, где определяли длину и ширину деформированных клеток (около 100) и рассчитывали индекс удлинения эритроцитов как показатель их деформации:

$$ИУЭ = \frac{L - W}{L + W},$$

где L – длина деформированной клетки, W – ее ширина

Вся установка для точной регистрации степени деформации эритроцитов, прикрепленных одной точкой с помощью человеческого альбумина (альбумин в концентрации 1,0% добавлен в раствор 0,9% NaCl) к дну микрокамеры, изображена на рис. 3.

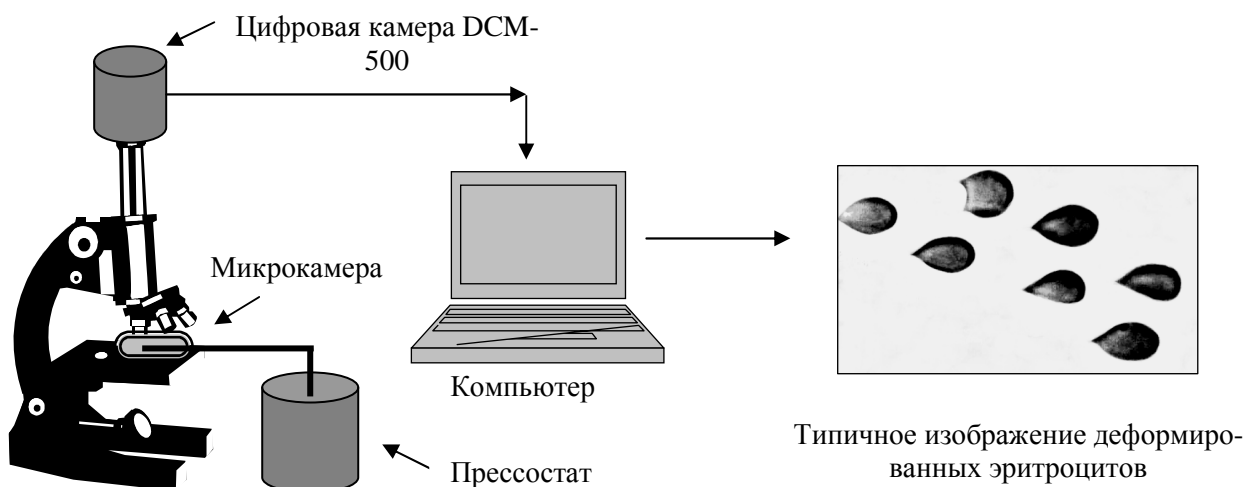


Рис. 3. Схема установки для регистрации изменения деформируемости эритроцитов

Гематокрит (Hct) определяли путем центрифугирования на гематокритной центрифуге СМ-70.

Статистическую обработку, цифрового материала проводили, используя табличный редактор Microsoft Excel.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Анализ экспериментальных данных измерения вязкости цельной крови при шести величинах приложенного сдвигового давления показал выраженный прирост величины вязкости с уменьшением напряжения сдвига (рис. 4).

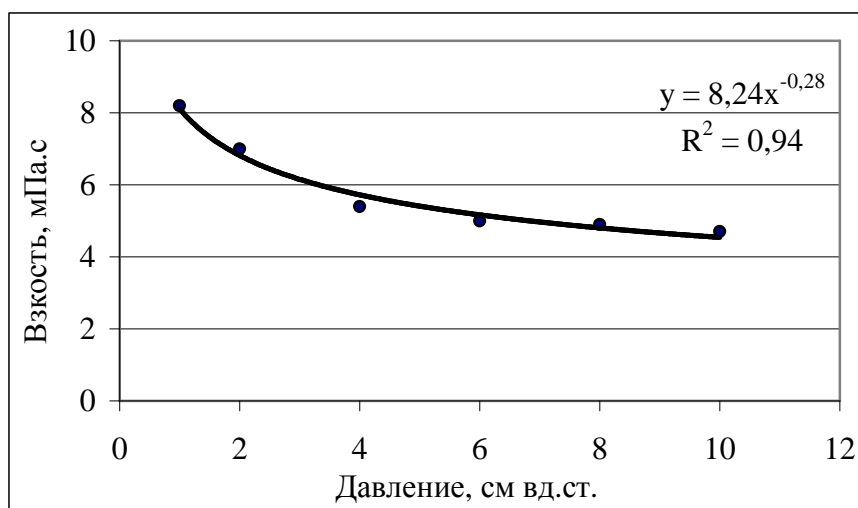


Рис. 4. Моделирование деформационного течения крови моделью жидкости степенного закона вида  $y = ax^{-n}$ , где  $y$  – вязкость жидкости,  $n$  – показатель степени, характеристика степени неньютоновского поведения жидкости,  $R^2$  – величина достоверности представления экспериментальных данных

Как правило, увеличение вязкости крови при низких скоростях сдвига объясняют увеличением интенсивности агрегатообразования [6]. Однако нами было показано (рис. 5), что практически сходный эффект сдвигового «разжи-

жения» наблюдался и при вискозиметрическом течении суспензии эритроцитов (Hct=40%) в изотоническом растворе NaCl (где отсутствует агрегация эритроцитов).

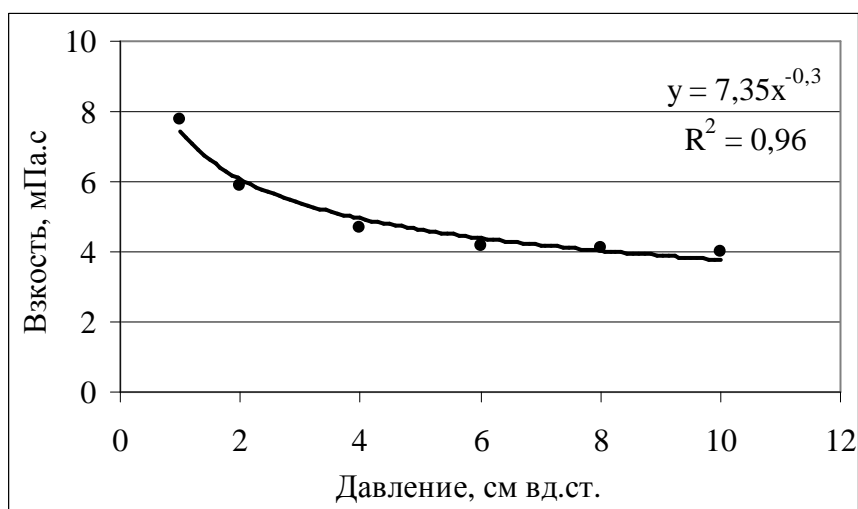


Рис. 5. Моделирование деформационного течения суспензии эритроцитов (Hct=40%) моделью жидкости степенного закона вида  $y = ax^{-n}$

Таким образом, было показано, что в суспензии эритроцитов, при отсутствии агрега-

ции, наблюдается сходное течение с таковым цельной крови. Моделирование показало, что

уравнения жидкости степенного закона [5] для цельной крови ( $Hct=39\%$ ) и суспензии эритроцитов ( $Hct=40\%$ ) сходны:  $y = 8,24x-0,28$  – кровь;  $y = 7,35x-0,3$  – суспензия.

Следовательно, можно полагать, что ведущей причиной снижения вязкости крови и суспензии при нарастании сдвига является потоковая деформация эритроцитов. Подтверждением этому может служить практически линейная зависимость степени деформации отдельных клеток в сдвиговом потоке при нарастании его величины (рис. 4 и 5).

При моделировании течения линейной функцией было получено уравнение вида:  $y = -1,92x + 14,6$ . Однако уровень достоверности презентации экспериментальных данных на основе этой модели не превышает 63%.

Таким образом, если экспериментальные данные, полученные при измерении вязкости суспензии эритроцитов, представить моделью жидкости степенного закона, то можно заключить, что данная модель удовлетворяет статистическим требованиям достоверности презентации данных (рис. 5).

Результаты измерений нескольких тысяч клеток показали, что их индекс деформации увеличивается почти линейно с нарастанием приложенного напряжения сдвига (рис. 6, 7). Прирост степени удлинения эритроцитов хорошо описывается уравнением линейной регрессии:  $y = 0,12x + 0,14$ , с достоверностью аппроксимации данных 99% ( $R^2 = 0,99$ ).

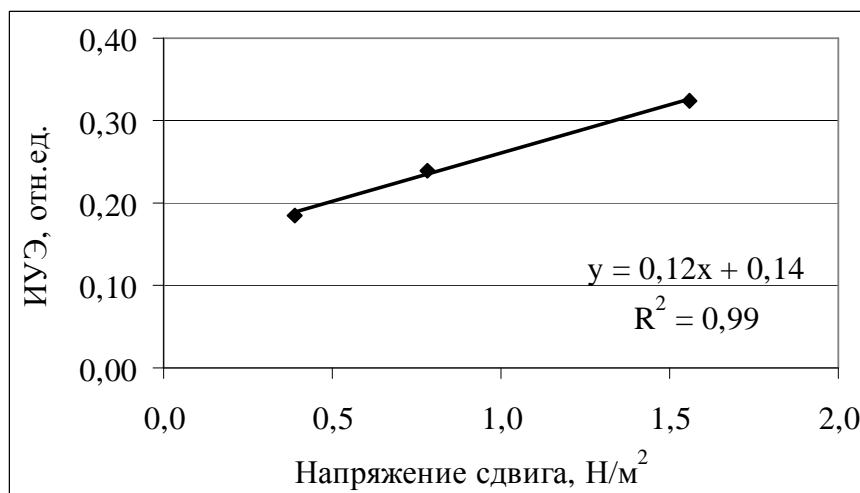


Рис. 6. Изменение индекса удлинения эритроцитов при повышении напряжения сдвига от 0,39 до 1,56 Н/м<sup>2</sup>

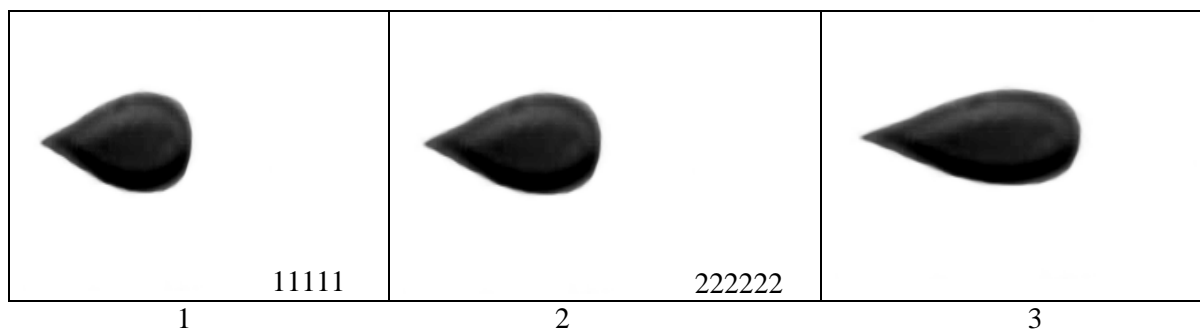


Рис. 7. Иллюстрация разной степени удлинения эритроцитов при приложении повышающихся напряжений сдвига в микрокамере: 1 – 0,39 Н/м<sup>2</sup>; 2 – 0,78 Н/м<sup>2</sup>; 3 – 1,56 Н/м<sup>2</sup>

При параллельной регистрации вязкости суспензии эритроцитов и индекса удлинения эритроцитов в одних и тех же пробах крови была получена достоверная отрицательная корреляция с коэффициентом, равным -0,91 ( $p < 0,01$ ; рис. 8).

Регрессионная модель вида  $y = ax - b$ , где  $a = 3,84$  и  $b = 0,05$ , описывает зависимость эффективности деформационного течения большей популяции эритроцитов (величина вязкости суспензии эритроцитов) от степени деформации и эластичности отдельных клеток. Ана-

лиз уравнения регрессии показывает, что изменение эластичности эритроцитов на 0,05 приведет к приросту текучести всего массива эритроцитов на 0,24 отн. ед.

О высокой надежности данных вискозиметрии свидетельствовало достаточно точное описание течения суспензии эритроцитов мо-

делью жидкости степенного закона [1]. Достоверность представления экспериментальных данных, полученных при измерении вязкости суспензии эритроцитов, при 6 величинах напряжения сдвига составляла более 99% ( $R^2 = 0,99$ , рис. 4).

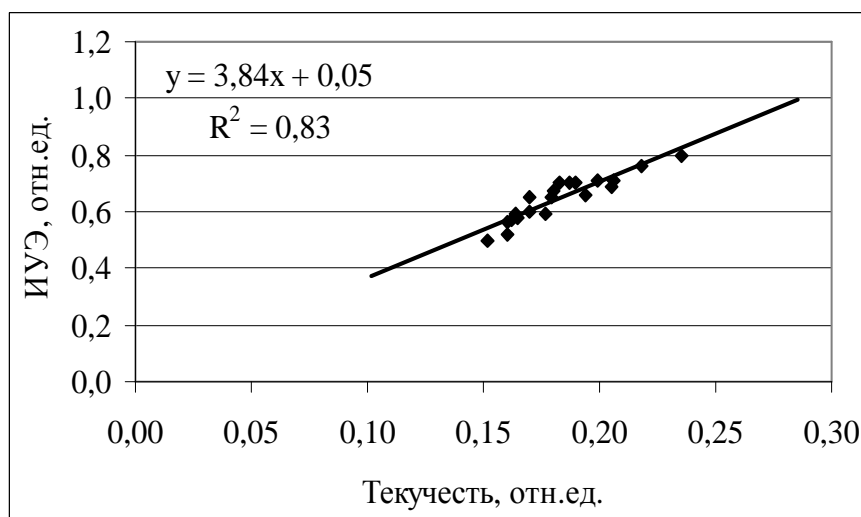


Рис.8. Величина корреляции между показателями деформации эритроцитов (ИУЭ) и вязкостью их суспензии (с постоянными величинами  $H_{ст}=40\%$  вязкости суспензионной среды)

При регистрации степени удлинения эритроцитов в условиях приложения разной величины напряжения сдвига были получены данные, которые хорошо описывались регрессионным уравнением с высокой достоверностью представления экспериментальных данных. Регист-

рация и анализ величин ИУЭ при приложении трех уровней напряжения сдвига (0,39; 0,78 и 1,56 Н/м<sup>2</sup>) позволяют заключить, что существует почти линейная зависимость между степенью деформации эритроцитов и приложенным напряжением сдвига.

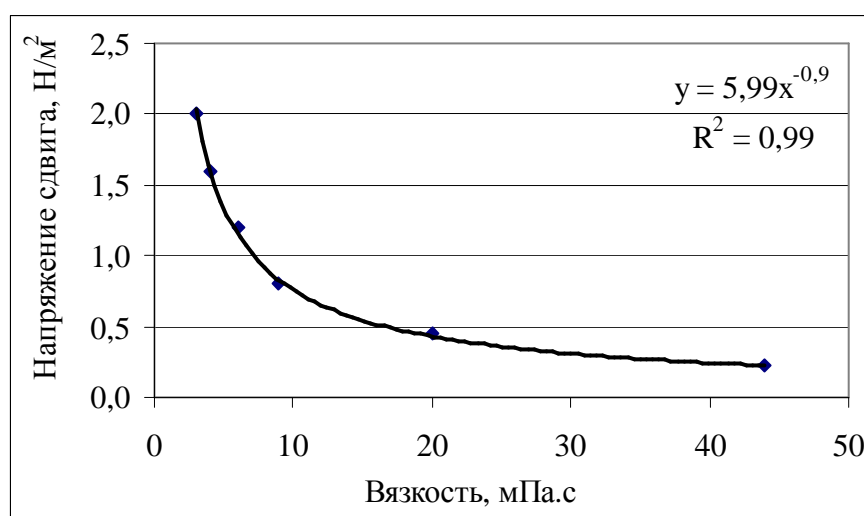


Рис. 9. Кривая течения суспензии эритроцитов ( $H_{ст}=40\%$ ), представленная кривой течения жидкости степенного закона вида:  $y = ax^{-n}$ .