

**ΑΜΕΣΗ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΟΜΙΩΣΗ ΤΗΣ ΡΟΗΣ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΑΡΤΗΡΙΕΣ:
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ
ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ**

Λ. Ι. Κολίτση και Σ. Γ. Γιάντσιος*

Τμήμα Χημικών Μηχανικών, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

(*yiantsio@auth.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Διεξάγονται άμεσες αριθμητικές προσομοιώσεις της ροής αίματος σε κανάλια υπό την επίδραση διαφοράς πίεσης. Το αίμα θεωρείται σύνθετο ρευστό που περιέχει παραμορφώσιμα ελαστικά σωματίδια με σχήμα, διαστάσεις και συγκεντρώσεις αντίστοιχες των ερυθροκυττάρων στα τριχοειδή, καθώς επίσης και μικρότερα σφαιρικά σωματίδια, π.χ. θεραπευτικά νανοσωματίδια. Αναπαράγονται γνωστά φαινόμενα, όπως η απουσία κυττάρων κοντά στα τοιχώματα (cell depletion layer), η διαφοροποίηση του μέσου πεδίου ταχύτητας από την παραβολική κατανομή που θα αντιστοιχούσε σε ένα απλό ρευστό, καθώς και η περιθωριοποίηση σωματιδίων, όπως συμβαίνει στα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια (margination). Παρότι επικρατούν συνθήκες έρπουσας ροής, υπάρχουν συνεχείς διαταραχές στις ταχύτητες και τις συγκεντρώσεις λόγω του πολυφασικού χαρακτήρα της ροής. Με τη βοήθεια της στατιστικής ανάλυσης της ροής ποσοτικοποιούνται μεγέθη όπως η διαχυτότητα ερυθροκυττάρων, νανοσωματιδίων και ιχνηθετών, καθώς και οι ταχύτητες των σωματιδίων. Τα αποτελέσματα δείχνουν μια άμεση εξάρτηση των παραπάνω μεγεθών από τη διάμετρο των αγγείων. Τέλος, γίνεται μια προσπάθεια κατανόησης των παρατηρήσεων με όρους των κυρίαρχων δομών της ροής, όπως είναι τα διατμητικά στρώματα κοντά στα τοιχώματα και οι δίνες κοντά στο κέντρο των καναλιών.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εμπάθυνση στη ρεολογία του αίματος και η συσχέτισή της με κυτταρικές ιδιότητες και αλληλεπιδράσεις προάγει τη θεμελιώδη κατανόηση ζητημάτων όπως η εκδήλωση παθολογικών καταστάσεων (δρεπανοκυτταρική αναιμία, στένωση αρτηριών), και την ανάπτυξη βιοϊατρικών εφαρμογών όπως η στόχευση φαρμάκων μέσω της μικροκυκλοφορίας. Τα φαρμακευτικά νανοσωματίδια τείνουν να συγκεντρώνονται κοντά στα αγγειακά τοιχώματα (margination), όπως τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια, επειδή ανταποκρίνονται σε παρόμοιο τύπο ερεθισμάτων, δηλαδή υδροδυναμικές δυνάμεις και αλληλεπιδράσεις κυρίως με τα ερυθροκύτταρα. Αντίθετα, τα ερυθροκύτταρα απομακρύνονται από τα τοιχώματα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός στρώματος χωρίς κύτταρα (φαινόμενο Fahraeus-Lindquist) [1]. Για την περιγραφή της κατανομής των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αιμοπεταλίων και λοιπών σωματιδίων στα τριχοειδή υιοθετείται ένα μοντέλο διάχυσης-παρέκκλισης, το οποίο περιλαμβάνει τρεις μηχανισμούς, ήτοι υδροδυναμικές "συγκρούσεις" και διακυμάνσεις, υδροδυναμική άνωση (lift) και κίνηση Brown [2]. Η υδροδυναμική διάχυση μοντελοποιείται σύμφωνα με τους όρους διάχυσης λόγω διάτμησης σε ελαιωρήματα άκαμπτων σωματιδίων [3]. Όπως είναι γνωστό, η κατανομή των μικρο- και νανοσωματιδίων εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως ο ρυθμός ροής, το σχήμα και η παραμορφωσιμότητα των σωματιδίων, ο αιματοκρίτης, καθώς και η διάμετρος των αγγείων [4]. Ενώ έχει διεξαχθεί σημαντική έρευνα σχετικά με το ρόλο της διαμέτρου στην ρεολογία του αίματος [1,4,5], το ίδιο δεν μπορεί να ειπωθεί όσον αφορά τις διεργασίες διασποράς των αιωρούμενων σωματιδίων. Τούτων λεχθέντων, ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της ροής του αίματος και της μεταφοράς σωματιδίων μέσω άμεσων αριθμητικών προσομοιώσεων, εστιάζοντας στη συσχέτιση αυτών με το μέγεθος του αγγείου.

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ

Κάθε κύτταρο θεωρείται ότι απαρτίζεται από κόμβους που αντιπροσωπεύουν τα σημεία σύνδεσης μεταξύ γειτονικών πρωτεϊνών, οι οποίες μοντελοποιούνται ως ελατήρια [6]. Οι πρωτεΐνες παρουσιάζουν αντίσταση στην έκταση, συμπίεση, κάμψη και μεταβολή του όγκου της μεμβράνης τους. Ελαστική ενέργεια αποθηκεύεται στα ελατήρια λόγω μεταβολής του μήκους τους από ένα μήκος αναφοράς l_0 σε l , λόγω μεταβολής της γωνίας θ μεταξύ δύο γειτονικών ελατηρίων και λόγω αντίστασης στις παραμορφώσεις που τείνουν να τροποποιήσουν τον όγκο του κυττάρου V σε σχέση με τον όγκο ισορροπίας V_0 . Η ολική ελαστική ενέργεια της κυτταρικής μεμβράνης είναι το άθροισμα των προαναφερθεισών συνεισφορών:

$$E_s = \frac{1}{2} k_s \frac{(l - l_0)^2}{l_0^2} \quad (1)$$

$$E_b = \frac{1}{2} k_b \tan^2(\theta/2) \quad (2)$$

$$E_v = \frac{1}{2} k_v \frac{(V - V_0)^2}{V_0^2} \quad (3)$$

όπου k_s , k_b και k_v είναι ελαστικές σταθερές. Σε κάθε χρονική στιγμή, με δεδομένη διαμόρφωση, η συνολική δύναμη που ασκείται στον κόμβο i δίνεται από τη σχέση

$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial E}{\partial \mathbf{x}_i} \quad (4)$$

όπου E είναι η ολική ελαστική ενέργεια και \mathbf{x}_i το διάνυσμα θέσης του κόμβου.

Εφόσον οι κόμβοι και οι πρωτεΐνες-ελατήρια θεωρούνται οντότητες σχετικά μικρής μάζας και άρα και μικρής αδράνειας, η συνολική δύναμη που ενεργεί σε κάθε κόμβο κάθε χρονική στιγμή πρέπει να αντισταθμίζεται από μία ίσου μεγέθους και αντίθετης κατεύθυνσης υδροδυναμική δύναμη. Επομένως, στην εξίσωση Navier-Stokes της ορμής για το ρευστό λαμβάνεται υπόψη και η συμβολή των βυθισμένων κυττάρων, η οποία εντοπίζεται στα συγκεκριμένα σημεία του χώρου όπου τοποθετούνται στιγμιαία οι κόμβοι των κυττάρων.

$$\rho \left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right) = -\nabla P + \mu \nabla^2 \mathbf{u} + \sum_i \mathbf{F}_i \delta(\mathbf{x}_i) \quad (5)$$

όπου ρ η πυκνότητα, \mathbf{u} η ταχύτητα, P η πίεση και μ το ιξώδες.

Αρχικά υιοθετείται μια κλίμακα μήκους $L=10$ μm , περίπου ίση με τη διάμετρο ενός ερυθροκυττάρου σε ισορροπία και μια κλίμακα ταχύτητας $U_0 = \gamma L$, όπου γ ο ρυθμός διάτμησης. Για αρτηρίες μικρής διαμέτρου ο αριθμός Reynolds είναι μικρότερος της μονάδας [1] και ως εκ τούτου η επίδραση της αδράνειας μπορεί να αγνοηθεί και για το ρευστό. Αδιαστατοποιώντας την πίεση κατά $\mu U_0/L$ και την πυκνότητα ελαστικής δύναμης κατά $k_s(L/l_0)^2/L^4$ προκύπτουν οι αδιάστατες εξισώσεις ορμής

$$0 = -\nabla P + \nabla^2 \mathbf{u} + \frac{1}{G} \sum_i \hat{\mathbf{F}}_i \delta(\hat{\mathbf{x}}_i) \quad (6)$$

όπου εμφανίζεται η αδιάστατη παράμετρος G , η οποία εκφράζει την αναλογία μεταξύ των δυνάμεων ιξώδους που τείνουν να παραμορφώσουν τα κύτταρα και των ελαστικών δυνάμεων που τείνουν να αποκαταστήσουν το σχήμα τους και δίνεται από τη σχέση

$$G = \frac{\mu \gamma L^3}{k_s (L/l_0)^2} \quad (7)$$

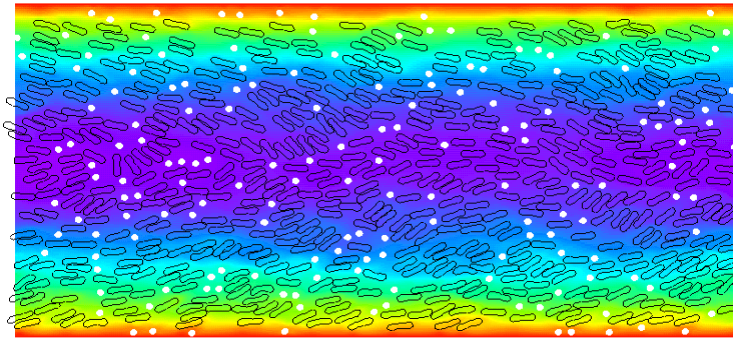
Μια εκτίμηση αυτής της παραμέτρου είναι $k_s \sim k_B T l_{max}/4\rho$, όπου k_B είναι η σταθερά Boltzmann, $l_{max} = 3.7l_0$ το μέγιστο μήκος επιμήκυνσης των πρωτεϊνών, $l_0 = 75$ nm και $\rho = 7.5$ nm το μήκος ανθεκτικότητας [6]. Συνεπώς προκύπτει $G \sim 10^{-3}\gamma$.

Προσομοιώσεις ροής υπό διαφορά πίεσης διεξήχθησαν σε κανάλια ύψους $H = 20, 40, 80, 120, 160$ και 200 μm με σταθερό κλάσμα όγκου κυττάρων 30%. Η πτώση πίεσης δίνεται από τη σχέση

$\Delta P/L = 2\mu\gamma_w/H$, με σκοπό να διατηρηθεί ο ίδιος ρυθμός διάτμησης, γ_w , στα τοιχώματα κάθε καναλιού.

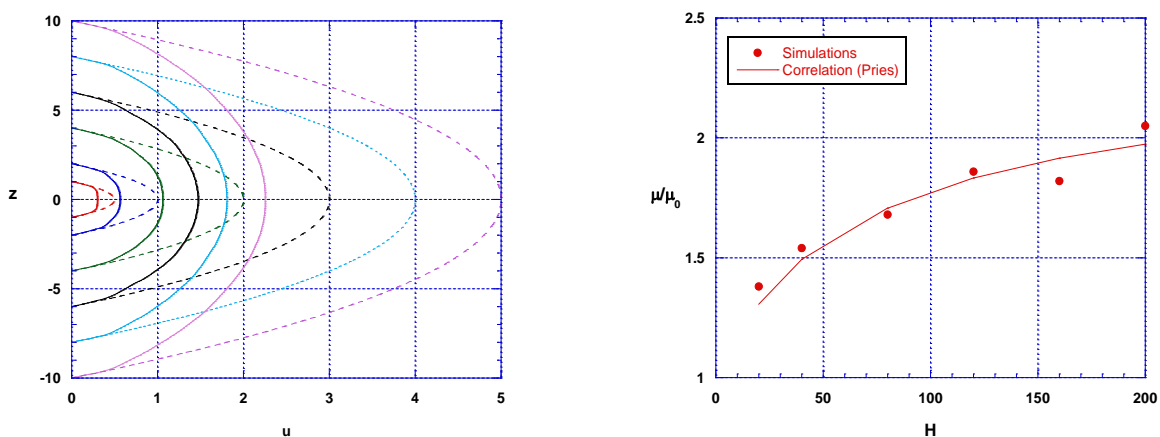
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ένα χαρακτηριστικό στιγμιότυπο των προσομοιώσεων των αιωρημάτων με χρωματική απεικόνιση του στιγμιαίου πεδίου ταχύτητας παρουσιάζεται στο Σχ. 1. Ειδικότερα, στην περιοχή κοντά στα τοιχώματα κυριαρχούν υψηλοί ρυθμοί διάτμησης, στους οποίους φαίνεται να προσαρμόζεται και ο προσανατολισμός των κυττάρων. Αντιθέτως, κοντά στο κέντρο του καναλιού επικρατούν οι μεγαλύτερες ταχύτητες και, καθότι οι ρυθμοί διάτμησης είναι χαμηλότεροι, ο προσανατολισμός των κυττάρων είναι πιο τυχαίος.



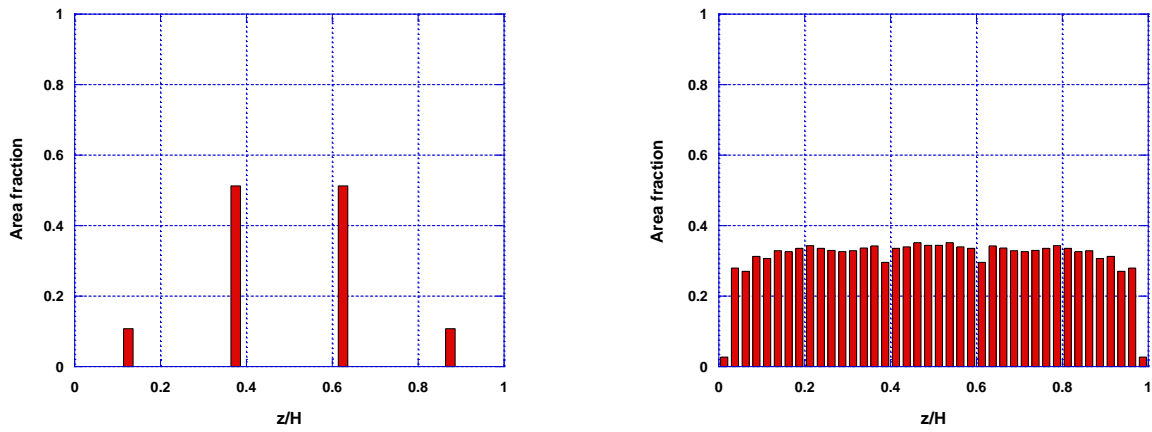
Σχήμα 1. Στιγμιαία απεικόνιση των θέσεων κυττάρων και μικροσωματιδίων και της αξονικής ταχύτητας.

Αναλυτικότερα απεικονίζεται στο Σχ. 2α η χρονικά μέση ταχύτητα για όλα τα ύψη καναλιών ως συνάρτηση της θέσης μεταξύ των τοιχωμάτων, σε συνδυασμό με τα θεωρητικά προφίλ που αντιστοιχούν στη ροή ρευστού χωρίς κύτταρα. Οι καμπύλες σχεδόν συμπίπτουν πολύ κοντά στα τοιχώματα, όπου οι ρυθμοί διάτμησης ταυτίζονται λόγω της τοπικής απουσίας κυττάρων, ενώ σημειώνεται άμβλυση του παραβολικού προφίλ σε κάποια απόσταση από τα τοιχώματα λόγω της παρουσίας κυττάρων. Η άμβλυση αυτή είναι εντονότερη στα στενότερα κανάλια. Συγκρίνοντας τους ρυθμούς ροής καθαρού ρευστού και αιωρήματος κυττάρων υπολογίζεται το φαινομενικό ιξώδες. Όπως φαίνεται στο Σχ 2β, οι προκύπτουσες τιμές συνάδουν ικανοποιητικά με την εμπειρική σχέση των Pries et al. [7] η οποία συσχετίζει το ιξώδες με τον αιματοκρίτη και τη διάμετρο σωλήνα με βάση πειραματικά δεδομένα ροής αίματος σε γυάλινους σωλήνες.



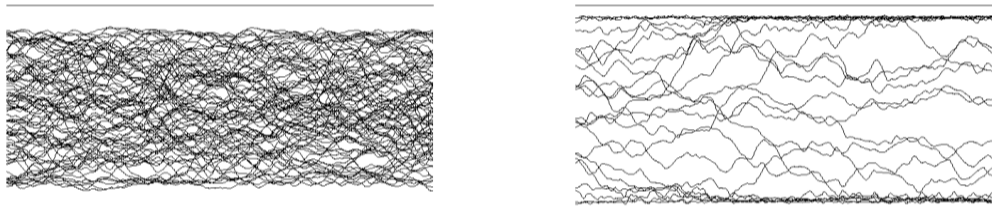
Σχήμα 2. (α) Κατανομές μέσης ταχύτητας του αιωρήματος και του καθαρού ρευστού για όλα τα κανάλια. (β) Μακροσκοπικό ιξώδες σαν συνάρτηση του ύψους του καναλιού.

Οι χρονικά μέσες κατανομές συγκέντρωσης των κυττάρων που παρουσιάζονται στα Σχ. 3 υποδεικνύουν ότι με αύξηση του ύψους του καναλιού αποκαθίσταται μια σχετική ομοιομορφία. Ξεκάθαρα φαίνεται επίσης σε όλες τις περιπτώσεις ο σχηματισμός ενός στρώματος ελεύθερου από κύτταρα της τάξης μερικών μικρομέτρων πλησίον των τοιχωμάτων.



Σχήμα 3. Κατανομές συγκέντρωσης ερυθροκυττάρων για κανάλια ύψους 20 και 200 μm.

Ακολουθώς σχεδιάζονται στο Σχ. 4 οι τροχιές κίνησης των κυττάρων και των σωματιδίων όπως πρότειναν οι Crowl και Fogelson [8]. Κατ’ αυτόν τον τρόπο γίνεται αντιληπτή αφενός η ανάπτυξη του στρώματος χωρίς κύτταρα και αφετέρου η σταδιακή τάση συγκέντρωσης των μικροσωματιδίων σε αυτό, με συνέπεια την εκδήλωση του φαινομένου της περιθωριοποίησης.

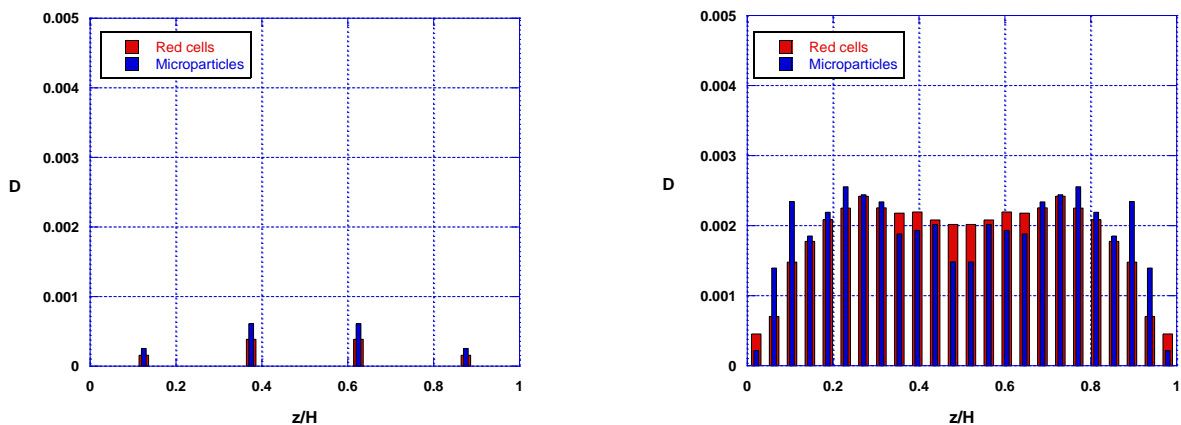


Σχήμα 4. Στιγμαία κατακόρυφη θέση ερυθροκυττάρων και μικροσωματιδίων συναρτήσει του χρόνου.

Ποσοτικές πληροφορίες είναι δυνατόν να εξαχθούν υπολογίζοντας τις διαχυτότητες και τις ταχύτητες παρέκκλισης μέσω δεδομένων χρονικά μέσων μετατοπίσεων με τις εκφράσεις ([5],[8])

$$D = \frac{\langle [z(t + \Delta t) - z(t)]^2 \rangle}{2\Delta t}, \quad u_{drift} = \frac{\langle z(t + \Delta t) - z(t) \rangle}{\Delta t} \tag{8}$$

Αποτελέσματα για τις υπολογισθείσες διαχυτότητες παρουσιάζονται στο Σχ. 5.

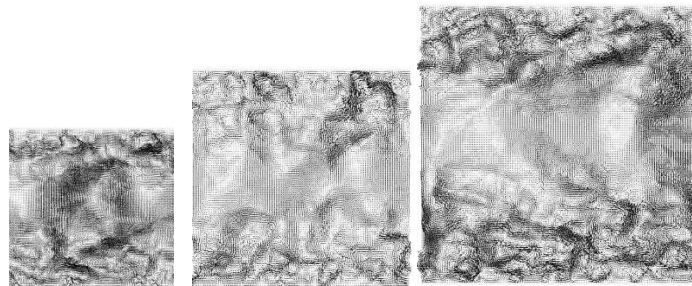


Σχήμα 5. Κατανομές διαχυτότητας ερυθροκυττάρων και μικροσωματιδίων για κανάλια 20 και 120 μm.

Αρχικά, σημειώνεται ότι οι διαχυτότητες των μικροσωματιδίων είναι παραπλήσιες με αυτές των ερυθροκυττάρων, γεγονός εύλογο αφού τα τελευταία αποτελούν την πλειονότητα των αιωρούμενων ειδών και άρα οι αλληλεπιδράσεις τους καθορίζουν τις διαταραχές της ταχύτητας που χαρακτηρίζουν τη διασπορά. Επιπλέον παρατηρείται ξεκάθαρη αύξηση στις τιμές των

διαχυτοτήτων με την αύξηση του μεγέθους των καναλιών. Εξίσου σαφής είναι η αύξηση της διαχυτότητας με αυξανόμενη απόσταση από τα τοιχώματα λόγω μείωσης των υδροδυναμικών περιορισμών που αυτά επιβάλλουν. Ειδικά για τα μεγαλύτερα κανάλια εμφανίζεται ένα μέγιστο μακριά από το κέντρο καναλιών, όπου οι επικρατούντες ρυθμοί διάτμησης είναι μικροί.

Στο Σχ. 6 απεικονίζονται στιγμιότυπα των διαταραχών των πεδίων ταχύτητας που λαμβάνονται με αφαίρεση της μέσης ταχύτητας από τη στιγμιαία. Η κύρια δραστηριότητα, υπό μορφή δινών, εντοπίζεται στην περιοχή κοντά στα τοιχώματα όπου οι υψηλότεροι ρυθμοί διάτμησης οδηγούν σε συχνότερες διακυτταρικές συγκρούσεις. Το μέγεθος της περιοχής αυτής, καθώς και των δινών αυξάνεται με αύξηση του ύψους του καναλιού. Αντιθέτως, η κεντρική περιοχή εμφανίζεται σχετικά ήρεμη λόγω των χαμηλών ρυθμών διάτμησης. Εντούτοις, σαρώσεις μεγάλης κλίμακας φανερώνουν την ύπαρξη διαταραχών που οδηγούν σε συντονισμένη κίνηση από τη μία περιοχή τοιχώματος στην άλλη. Έτσι, φαίνεται ότι οι διαταραχές στην κεντρική περιοχή οφείλονται στις αλληλεπιδράσεις των δινών που παράγονται από τα δύο ξεχωριστά τοιχώματα.

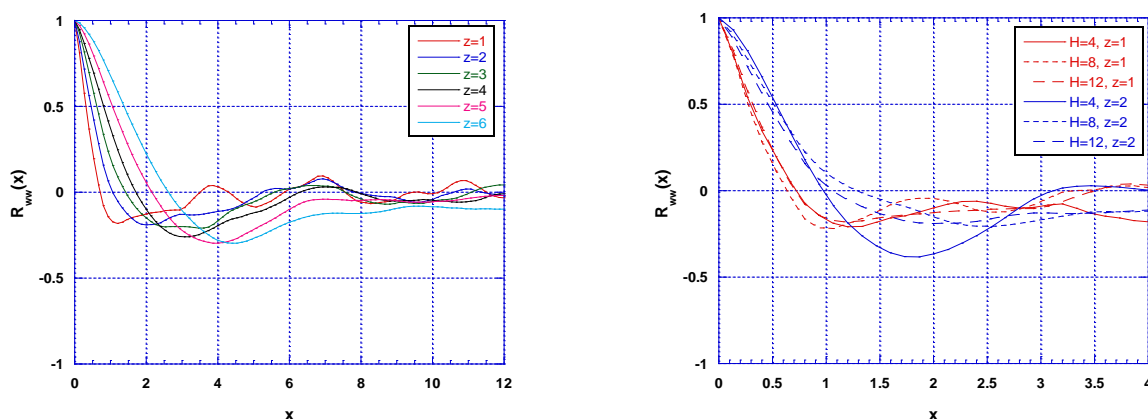


Σχήμα 6. Στιγμιαία πεδία διαταραχών ταχύτητας για κανάλια 80, 120 και 160 μm .

Οι παραπάνω ποιοτικές παρατηρήσεις επιβεβαιώνονται μέσω των συναρτήσεων συσχετισμού της ταχύτητας που παρουσιάζονται στο Σχ. 7α και λαμβάνονται από εκφράσεις της μορφής

$$R(x, z) = \frac{\langle w(x_0, z)w(x_0 + x, z) \rangle}{\langle w(x_0, z)w(x_0, z) \rangle} \quad (10)$$

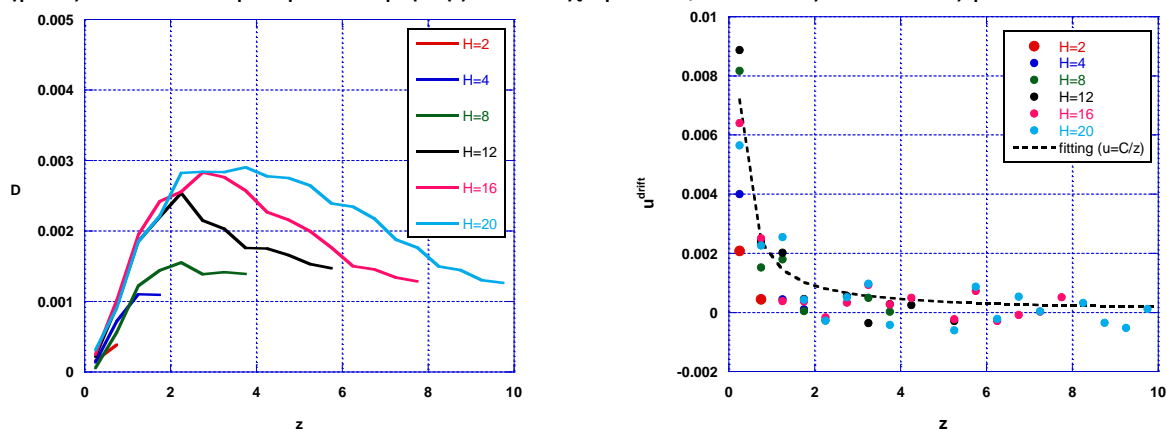
Μια σύγκριση των συσχετίσεων για διαφορετικά ύψη καναλιών στην ίδια απόσταση κοντά στο τοίχωμα φαίνεται επίσης στο Σχ. 7β. Είναι προφανές ότι κοντά στο τοίχωμα όλες οι συσχετίσεις είναι παρόμοιες, γεγονός που καθιστά τον τοπικό ρυθμό διάτμησης και την απόσταση από τα τοιχώματα κυρίαρχους παράγοντες.



Σχήμα 7. (α) Η συνάρτηση της κατά μήκος ετεροσυσχέτισης ταχυτήτων σε κανάλι 120 μm , για διάφορες αποστάσεις από το τοίχωμα. (β) Η συνάρτηση για διάφορα κανάλια, σε όμοιες αποστάσεις από το τοίχωμα.

Στο Σχ.8 παρουσιάζονται οι διαχυτότητες και ταχύτητες παρέκκλισης συναρτήσεως της πραγματικής απόσταση από το τοίχωμα. Και για τα δύο μεγέθη όλες οι καμπύλες, με εξαίρεση του μικρότερου καναλιού, φαίνεται να επικαλύπτονται κοντά στο τοίχωμα. Η διαχυτότητα παρουσιάζει ένα αυξανόμενο μέγιστο σε αυξανόμενη απόσταση, ως αποτέλεσμα του τοπικού ρυθμού διάτμησης

που μειώνεται με την απόσταση. Ακόμη, κοντά στο κέντρο, όπου ο ρυθμός διάτμησης είναι πολύ μικρός, επιτυγχάνεται πεπερασμένη διαχυτότητα, αλλά η τιμή της δεν εξαρτάται μονοτονικά από το μέγεθος του καναλιού. Η ταχύτητα παρέκκλισης έχει νόημα να μελετηθεί σε μια σχετικά μικρή απόσταση από το τοίχωμα και είναι αμελητέα στην κυρίως μάζα του ρευστού. Συνεπώς επηρεάζεται από το ρυθμό διάτμησης των τοιχωμάτων, ο οποίος είναι ίδιος για όλα τα κανάλια.



Σχήμα 8. Συντελεστής διάχυσης και ταχύτητα παρέκκλισης σαν συνάρτηση της απόστασης από το τοίχωμα, για διάφορα κανάλια.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι άμεσες αριθμητικές προσομοιώσεις της ροής ερυθροκυττάρων σε κανάλια μικρού ύψους, παρά τη διδιάστατή τους φύση, δίνουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσο αφορά το μακροσκοπικό ιξώδες και την εξάρτησή του από τη διάμετρο των αρτηριών, καθώς επίσης και την εκδήλωση του φαινομένου Fahraeus-Lindquist. Η διασπορά ιχνηθετών, λευκοκυττάρων, μικροσωματιδίων κλπ. είναι παρόμοια με αυτή των ερυθροκυττάρων, που αποτελούν το κυρίαρχο συστατικό. Οι προσομοιώσεις δείχνουν ότι η διάμετρος των αρτηριών παίζει ρόλο στο μέγεθος της διαχυτότητας, μέσω της οποίας εκφράζεται η διασπορά. Επιπλέον, η τοπική τιμή της διαχυτότητας επηρεάζεται από την απόσταση από τα τοιχώματα λόγω μεταβολής αφενός της τοπικής διατμητικής τάσης αφετέρου της υδροδυναμικής κινητικότητας των σωματιδίων. Κοντά στο κέντρο των αρτηριών, όπου η διατμητική τάση είναι ασήμαντη, η διασπορά οφείλεται σε μεγάλης κλίμακας διαταραχές που δημιουργούνται λόγω της αλληλεπίδρασης δινών παραγόμενων στα δύο ξεχωριστά τοιχώματα.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε με μερική υποστήριξη από το ερευνητικό έργο «Καινοτόμοι Νάνο-ΥπερΠαραμαγνητικοί Πλοοδηγητές Ριβονουκλεοπρωτεϊνών για την εξατομικευμένη θεραπεία του καρκίνου του μαστού-[NY2Π]», το οποίο συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση και από εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνεΚ 2014-2020), Δράση ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ (κωδικός έργου: Τ1ΕΔΚ-02775).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] T. W. Secomb. Annu. Rev. Fluid Mech. 49 (2017) 443-461
- [2] H. Zhao, E. S. G. Shaqfeh, V. Narsimhan. Phys. Fluids 24 (2012)
- [3] D. Leighton, A. Acrivos. J. Fluid Mech. 181 (1987) 415-439
- [4] D.A. Fedosov, H. Noguchi, G. Gompper. Biomech Model Mechanobiol 13 (2014) 239-258
- [5] M. Mehrabadi, D.N. Ku, C.K. Aidun. PhysRevE 93 (2016)
- [6] I.V. Pivkin, G.E. Karniadakis. Phys. Rev. Lett. 101 (2008)
- [7] A.R. Pries, T.W. Secomb, P. Gaehtgens, J.F. Gross. Circ Res. 67 (1990) 826-834
- [8] L. Crowl, A.L. Fogelson. J. Fluid Mech. 676 (2011) 348-375