

**ŽILINSKÁ UNIVERZITA V ŽILINE
FAKULTA RIADENIA A INFORMATIKY**

**VÝVOJ A IMPLEMENTÁCIA BIOMEDICÍNSKÝCH MODELOV
VHODNÝCH NA MODELOVANIE MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ**

Dizertačná práca

Kód: 28360020163002

Študijný program: Aplikovaná informatika

Študijný odbor: 9.2.9 Aplikovaná informatika

Pracovisko: Katedra softvérových technológií

Fakulta riadenia a informatiky

Žilinská univerzita v Žiline

Školiteľ: doc. Mgr. Ivan Cimrák, Dr.

Žilina, 2016

Mgr. Renáta Tóthová

Anotácia

Typ práce:	Dizertačná práca
Akademický rok:	2015/2016
Názov práce:	Vývoj a implementácia biomedicínskych modelov vhodných na modelovanie mikrofluidických zariadení
Autor:	Mgr. Renáta Tóthová
Školiteľ:	doc. Mgr. Ivan Cimrák, Dr.
Jazyk:	Slovenčina
Počet strán:	113
Počet obrázkov:	40
Počet tabuliek:	16
Počet referencií:	57
Kľúčové slová:	strunové modely, elastické objekty, mikrofluidické zariadenia, model červenej krvinky, počítačové simulácie

Pod'akovanie

Ďakujem Vám.

Ďakujem doc. Ivanovi Cimrákovi, môjmu školiteľovi, za všetky cenné rady, za to, že si vždy našiel čas a správne usmernil moje ďalšie kroky.

Ďakujem doc. Kataríne Bachratej, ktorá bola mojou školiteľkou prvý rok štúdia, za to, že mi umožnila otvoriť dvere k vede.

Ďakujem mojej priateľke a kolegyni Ivete Jančigovej za jej rady a pomoc počas celého štúdia a za oporu, ktorú mi poskytovala.

Ďakujem všetkým ostatným kolegom z výskumnej skupiny Cell-in-fluid za výbornú priateľskú atmosféru počas celého štúdia.

Ďakujem manželovi Ľubošovi a deťom Onříkovi a Katke za ich trpezlivosť a psychickú podporu počas štúdia a najmä počas písania práce.

Čestné vyhlásenie

Prehlasujem, že som predloženú prácu vypracovala samostatne s použitím literatúry a zdrojov, ktoré sú uvedené v práci.

V Žiline, 15. Apríl 2016

Mgr. Renáta Tóthová

Abstract

RENÁTA TÓTHOVÁ: Development and implementation of biomedical models suitable for modeling microfluidic devices (Dissertation thesis) – University of Žilina, Faculty of Management Science and Informatics, Department of Software Technologies – Supervisor: doc. Mgr. Ivan Cimrák, Dr. – Qualification level: Doctor of Philosophy in Applied Informatics, April 2016 - 113 pages.

Currently, considerable attention is devoted to the research of blood, its features and functions of its parts. This kind of research may allow us to predict, diagnose early and treat various diseases. It is conducted in various ways, one of which is a computer (in silico) simulation. This method assumes the existence of a simulation model that simulates the behavior of the blood or blood samples in the considered environments with sufficient precision.

In this thesis, such simulation model is described, analyzed and used for specific analyses. This model allows investigation and analysis of flow of elastic objects in homogeneous fluid in microfluidic devices. Microfluidic devices are used mainly for sample examination and separation or capture of cells. Our simulation model is part of the free open-source software package ESPResSo.

In this work, we describe the calibration of red blood cell model using comparison with biological experiments. Next, we present our in silico experiments leading to the optimization of microfluidic devices for effective capture of selected cells in a periodic array of obstacles. The last part of the thesis is devoted to analysis of existing methods and proposal of a new method that can be used to evaluate the damage of cells passing through a microfluidic device.

Keywords: spring network models, elastic objects, microfluidic devices, computer simulation

Abstrakt

RENÁTA TÓTHOVÁ: Vývoj a implementácia biomedicínskych modelov vhodných na modelovanie mikrofluidických zariadení (dizertačná práca) – Žilinská univerzita v Žiline, Fakulta riadenia a informatiky, Katedra softvérových technológií – Školiteľ: doc. Mgr. Ivan Cimrák, Dr. – Stupeň odbornej kvalifikácie: philosophiae doctor v odbore Aplikovaná informatika, apríl 2016 - 113 strán.

V súčasnosti sa výskumu krvi, jej vlastností a funkcií jej jednotlivých častí venuje veľká pozornosť. Môže nám to umožniť predikciu, včasnú diagnostiku a liečbu rôznych ochorení. Tento výskum je vykonávaný rôznymi spôsobmi, jedným z nich sú počítačové (in silico) simulácie. Tento spôsob predpokladá existenciu simulačného modelu, ktorý bude dostatočne presne simulovať správanie sa krvi alebo krvnej vzorky v uvažovaných prostrediach.

V tejto práci je popísaný, analyzovaný a na konkrétnu analýzu použitý počítačový (simulačný) model. Umožňuje skúmanie a analýzu toku elastických objektov v homogénnej tekutine v mikrofluidických zariadeniach. Tieto zariadenia slúžia najmä na skúmanie vzorky, separáciu alebo záchyt buniek. Simulačný model je súčasťou voľne dostupného programového balíka ESPResSo.

V práci je popísaná kalibrácia modelu červenej krvinky porovnaním s biologickým experimentom. Ďalej sú popísané in silico experimenty, slúžiace k optimalizácii efektivity záchytu vybraných buniek v periodickom poli prekážok v mikrofluidických zariadeniach. Posledná časť je venovaná analýze existujúcich metód a návrhu nových metód, ktoré slúžia na ohodnotenie poškodenia buniek pri prechode mikrofluidickým zariadením.

Kľúčové slová: strunové modely, elastické objekty, mikrofluidické zariadenia, počítačová simulácia

Obsah

1	Úvod	19
1.1	Motivácia	19
1.2	Ciele práce	20
1.3	Prehľad práce	21
2	Simulačný model	23
2.1	Object-in-fluid modul	23
2.1.1	Modelovanie tekutiny	24
2.1.2	Elastické objekty	25
2.1.3	Interakcia objektov s tekutinou	28
2.1.4	Stručný prehľad iných modelov	29
2.2	Škálovateľnosť koeficientov	30
2.2.1	Analýza modulu pružnosti	32
2.2.2	Analýza modulu zachovania lokálnej plochy	35
2.3	\mathcal{F} metrika	37
2.3.1	Porovnanie elastických modulov	39
3	Model červenej krvinky	45
3.1	Biologická RBC	45
3.1.1	Stručný prehľad štúdií o biologickej RBC	46
3.1.2	Porovnanie modelu RBC s biologickou RBC	47
3.2	Analýza správania sa buniek v šmykovom toku	49
3.2.1	Návrh simulácie	51
3.2.2	Správanie sa buniek v šmykovom toku	52
3.2.3	Analýza citlivosti buniek	53
3.2.4	Analýza lokálneho napätia	54
3.3	Kalibrácia	57
3.3.1	Kalibrácia modelu RBC	57
3.3.1.1	Algoritmus	58
3.3.1.2	Kalibrácie nových sietí	60
3.3.2	Ďalšie možnosti validácie modelu RBC	62

4	Aplikácie OIF modulu	63
4.1	Tok buniek v periodickom poli prekážok	63
4.1.1	Popis modelu pre odhad miery záchytu buniek	64
4.1.2	Popis simulácií	66
4.1.3	Výstupy	67
4.2	Optimalizácia mikrofluidických zariadení z pohľadu minimalizácie poškodenia buniek	70
4.2.1	Teoretické princípy	71
4.2.2	Paralelizovateľnosť problému	73
4.2.2.1	Príklad paralelizácie simulačného boxu	75
4.2.3	Analýza navrhnutého indexu poškodenia	76
4.2.3.1	Nastavenie simulácií	77
4.2.3.2	Prvotná analýza dát	78
4.2.3.3	Hlbšie porovnanie dvoch geometrií	82
4.2.3.4	Porovnanie s BDI	85
4.2.4	Vplyv hustoty toku na poškodenie	87
4.2.4.1	Porovnanie prázdneho a plného kanála	87
4.2.4.2	Rôzny hematokrit v plnom kanáli	89
4.2.5	Budúce pokračovanie	95
5	Záver	97
5.1	Prínos práce	97
5.2	Budúci výskum	98
5.3	Publikované práce	99
5.3.1	Práce v tlači	100
	Literatúra	101
	Prílohy	107
A	Zoznam skratiek a definícií	109
A.1	Použité skratky	109
A.2	Definície	110
B	Kompaktný disk	113

Zoznam obrázkov

2.1	Náčrt súčastí modelu	24
2.2	Triangulácia gule, 126 a 1524 bodov	31
2.3	Závislosť zmeny tvaru objektu od modulu pružnosti	33
2.4	Závislosť zmeny tvaru objektu od nastavenia k_s	34
2.5	Zmena k_s pre rôzne metódy naťahovania	35
2.6	Závislosť zmeny tvaru gule od rôznych modulov pre zachovanie lokálnej plochy	36
2.7	Deformácie gule	40
2.8	Hodnoty \mathcal{F} metriky pri naťahovaní gule	41
2.9	Hodnoty \mathcal{F} metriky pri stláčaní gule	42
2.10	Hodnoty \mathcal{F} metriky pri nafukovaní gule	42
2.11	Bunka v kanáli	43
3.1	Rozmery biologickej RBC	46
3.2	Model RBC	49
3.3	Návrh simulácie pre analýzu lokálneho napätia	51
3.4	Graf zmeny plošného natiahnutia v čase	52
3.5	Tvar RBC v šmykovom toku	53
3.6	Graf závislostí zmeny k_{ag} od šmykového napätia a zmeny plošného natiahnutia pri rôznom k_{ag} a šmykovom napätí	54
3.7	Graf závislostí zmeny plošného natiahnutia od šmykového napätia	55
3.8	Graf zmeny lokálneho plošného natiahnutia v čase	56
3.9	Tvar RBC v šmykovom toku	57
3.10	Náčrt naťahovania RBC	58
3.11	Závislosť zmeny priemeru od aplikovanej sily	60
4.1	Náčrt periodického poľa prekážok a simulačného boxu	66
4.2	Rozmiestnenie RBC pri prechode okrajom simulačného boxu	68
4.3	Trajektórie pohybu CTC v simulačnom boxe	68
4.4	Mikrofluidické zariadenie s konektormi	70
4.5	Náčrt vzťahov medzi CDG a CDI	73
4.6	Paralelizácia simulačného boxu	75
4.7	Geometria kanálov pre testovanie indexu poškodenia	77
4.8	Histogram $CDG(cell)$ hodnôt	81

4.9	Graf $CDG(cell)$ a CDI hodnôt pre rôzne kanály	82
4.10	Histogramy rýchlostí buniek	83
4.11	Priebeh rýchlostí v čase pre vybrané bunky	84
4.12	Náčrt prázdneho a plného kanála	87
4.13	Závislosť rýchlosti bunky na polohe v kanáli	89
4.14	Histogram hodnôt $CDG(cell)$ pre prázdny a plný kanál	90
4.15	Histogram hodnôt $CDG(cell)$ pre pre kanál 1, hematokrit 5%, 10% a 15%	91
4.16	Snímka zo simulácií s hematokritom 5%, 10% a 15%	92
4.17	Závislosť rýchlosti "prvej" bunky a $CDG(cell)$ na polohe v kanáli . .	93
4.18	Závislosť rýchlosti "štvrtej" bunky a $CDG(cell)$ na polohe v kanáli .	95

Zoznam tabuliek

3.1	Geometrické parametre vybraných modelov RBC	49
3.2	Analýza senzitivity elastických koeficientov	60
3.3	Validácia predikcie elastických koeficientov	61
3.4	Hodnoty elastických koeficientov pre kalibrované a predikované siete .	62
4.1	Hodnoty P - odhad miery záchyty buniek	69
4.2	Doby trvania simulácii pri rôznych podmienkach	76
4.3	Hodnota CDG_{simNo} pre kanál 1	78
4.4	Hodnota CDI pre kanál 1	79
4.5	Hodnoty CDI a σ pre sady simulácií	79
4.6	Hodnoty priemerných $CDG(cell)$ pre jednotlivé simulácie	80
4.7	Počet buniek s veľkým $CDG(cell)$	85
4.8	Hodnoty CDI a BDI pre kanály 1, 2, 3 a 4	86
4.9	Hodnoty CDI pre kanály 1 - prázdny a plný	88
4.10	Parametre simulácií	90
4.11	Hodnoty CDI pre kanál 1, hematokrit 5%, 10% a 15%	91
4.12	Hodnoty CDI a BDI pre kanál 1, hematokrit 5%, 10% a 15%	96

1 Úvod

Pred necelým štvrtstoročím som fascinovane pozerala a počúvala, ako zo zvláštnych zvukov z prehrávača magnetofónových pások je zrazu detská hra na obrazovke niečoho, čo nazvali počítač. V súčasnosti si život bez počítačov viem predstaviť, ale nepovažujem ho za reálne uskutočniteľný v našej kultúre.

Jednou z mnohých oblastí využitia možností, ktoré nám počítače poskytujú, sú počítačové modely, resp. počítačové simulácie. Tie nám umožňujú skúmať a analyzovať rôzne deje a javy pred tým ako sa stanú alebo po tom ako sa stali.

V tejto práci je popísaný, analyzovaný a na konkrétnu analýzu použitý počítačový (simulačný) model, resp. simulácia, umožňujúca skúmanie a analýzu toku elastických objektov v homogénnej tekutine v mikrofluidických zariadeniach (definícia A.2).

1.1 Motivácia

Ľudskú krv môžeme formálne popísať ako kvapalné tkanivo, ktorého rôznorodé bunky sa voľne pohybujú v medzibunkovej tekutej látke - plazme. Jej hlavnou funkciou je dopravovať základné prvky, ako je napríklad kyslík, a živiny do tkanív celého tela. A naopak odvádzať odpadové látky, napríklad oxid uhličitý, z tkanív preč. Krv taktiež slúži na transport rôznych buniek a zlúčenín, napríklad bielych krviniek, do rôznych častí tela. V prípade, že v tele je nejaký problém, veľmi často sa to prejaví pri rozbere krvnej vzorky.

Výskumu krvi, biologických, fyzikálnych, či mechanických vlastností a funkcií jej jednotlivých častí sa venuje veľká pozornosť. Môže nám to umožniť predikciu, včasnú diagnostiku a liečbu rôznych ochorení.

Skúmanie krvi a jej vlastností prebieha na rôznych úrovniach. Z pohľadu veľkosti skúmaných častíc môžeme hovoriť o makroskopickej, mezoskopickej a mikroskopickej úrovni. Na makroskopickej úrovni vnímame krv ako homogénnu tekutinu, v ktorej

nerozlišujeme jednotlivé zložky a častice. Mezoskopickú úroveň môžeme označiť aj ako bunkovú, kedy sa na krv pozeráme na úrovni buniek. To znamená, že krv považujeme za zmes krvných buniek a homogénnej krvnej plazmy. Na mikroskopickej úrovni vnímame už molekuly a atómy, z ktorých sa jednotlivé častice krvi skladajú.

Z pohľadu spôsobu skúmania môžeme použiť hrubé delenie na skúmanie *in vivo*, *in vitro* a *in silico*. *In vivo* predpokladá skúmanie a vykonávanie experimentov s biologickými vzorkami v živých organizmoch. Skúmanie *in vitro* je uskutočňované s biologickými vzorkami v umelých zariadeniach, napr. v skúmavke, mikrofluidickom zariadení. *In silico* oblasť je relatívne mladá oproti predchádzajúcim dvom, skúmanie sa vykonáva pomocou simulačných modelov v počítači.

In silico prístup predpokladá existenciu simulačného modelu, ktorý bude dostatočne presne simulovať správanie sa krvi alebo krvnej vzorky v uvažovaných prostrediach - cievy alebo umelé zariadenia. Vytvorenie takého modelu predstavuje veľkú výzvu. Umožnil by nám vykonávanie prakticky neobmedzeného počtu simulácií, ktorých výsledky by mohli byť použité na rôzne účely. Model popísaný v tejto práci sa sústreďuje na analýzu zariadení, slúžiacich na testovanie a analýzu biologických vzoriek, záchyt a separáciu vybraných buniek a podobne.

1.2 Ciele práce

Predložená práca vznikla ako súčasť činnosti výskumnej skupiny Cell-in-fluid [1] a sčasti nadväzuje na dizertačnú prácu [40]. Cieľom výskumnej skupiny je vývoj robustného modelu, ktorý modeluje tok homogénnej tekutiny s vnorenými bunkami a umožní návrh a testovanie mikrofluidických zariadení *in silico*, ktoré by mali slúžiť najmä na záchyt a separáciu vybraných typov buniek.

Hlavné ciele práce sú:

- A) oboznámenie sa so súčasným stavom problematiky,
- B) navrhnuť zmeny existujúceho modelu vedúce k jeho vylepšeniu a implementovať ich,
- C) verifikácia a testovanie modelu červenej krvinky,
- D) návrh a realizácia *in silico* experimentov vedúcich k optimalizácii mikrofluidických zariadení.

Na začiatku práce bolo nevyhnutné oboznámiť sa so súčasným stavom problematiky - modelovaním elastických objektov v tekutine, s existujúcim simulačným modelom a jednotlivými nástrojmi, ktoré sú potrebné na prácu s ním - bod A). Bod B) z cieľov práce predstavuje analýzu simulačného modelu najmä z pohľadu elastických modulov. V bode C) sme sa zamerali na návrh modelu červených krviniek, testovali sme nakoľko sa náš model správa porovnateľne s biologickou krvinkou a bola vykonaná kalibrácia modelu na základe výsledkov experimentov. V poslednom bode D) boli navrhnuté a realizované *in silico* experimenty, resp. simulácie, ktoré demonštrujú využitie nášho modelu na optimalizáciu mikrofluidických zariadení. Detailnejšie popísanie cieľov, resp. ich príslušnosť k jednotlivým kapitolám práce je pre lepšiu prehľadnosť uvedená v nasledujúcej kapitole 1.3.

1.3 Prehľad práce

V kapitole 2 je stručne popísaný simulačný model. Uvedený model bol už popísaný vo viacerých článkoch a prácach, preto je táto kapitola venovaná len podrobnejšiemu popisu elastických modulov v podkapitole 2.1.2. Tie sú zodpovedné za elastické správanie sa objektov, ktoré boli skúmané a budú často spomínané v ďalších kapitolách. Preto ich bolo vhodné uviesť podrobnejšie aj v tejto práci. V podkapitole 2.2 sú moduly bližšie rozobrané z pohľadu ich škálovateľnosti. V ďalšej podkapitole 2.3 je popísaná vlastnosť modelu umožňujúca číselné ohodnotenie a grafické zobrazenie rôznych druhov veličín, ktoré vychádzajú z podobnosti k energiám. V tejto kapitole je zahrnutý cieľ A) a B) práce.

V kapitole 3 je úvodná podkapitola venovaná stručnému opisu biologickej červenej krvinky - RBC (z anglického red blood cell) a jej porovnaniu s naším modelom RBC. V podkapitole 3.2 analyzujeme správanie sa modelu RBC v šmykovom toku. V poslednej podkapitole 3.3 je popísaná kalibrácia modelu RBC na základe výsledkov experimentu s biologickou RBC, a teda aj čiastočná verifikácia nášho modelu. K tejto kapitole prislúcha cieľ C) práce.

V kapitole 4 sú popísané dve možné využitia nášho modelu pre optimalizáciu mikrofluidických zariadení. Uvedená je analýza toku buniek v periodickom poli prekážok s cieľom zachytiť bunky určitého typu a analýza toku RBC v mikrofluidických zariadeniach s cieľom minimalizovať ich poškodenia. Táto kapitola je súčasťou cieľa D) práce.

V kapitole 5 je zhrnutý prínos práce a návrh budúceho smerovania výskumu.

Uvedené sú publikované výsledky dosiahnuté v rámci štúdia.

Väčšina výsledkov počas štúdia bola publikovaná v anglickom jazyku. Dizertačná práca je písaná v slovenskom jazyku. Preto, z dôvodu prehľadnosti a jednoznačnosti, sú v uvedených vzorcoch a vzťahoch ponechané anglické názvy alebo skratky. Tie sú vždy vysvetlené v prislúchajúcom texte alebo v prílohe A.2. Taktiež je v číslach používaná anglická desatinná "bodka", nie desatinná "čiarka".

Celá práca je písaná v množnom čísle. Časť výsledkov bola dosiahnutá spoluprácou celej výskumnej skupiny, mnohé vykonala sama autorka. V kapitole 2.2 a 2.3 spolupracovala autorka s kolegami Ivetou Jančigovou a Ivanom Cimrákom. V kapitole 3.2 spolupracovala autorka s Ivanom Cimrákom, pričom vykonala väčšinu simulácií. V kapitole 3.3 autorka navrhla algoritmus kalibrácie a vykonala príslušné simulácie. Na štúdiu uvedenej v kapitole 4.1 spolupracovala s Ivetou Jančigovou a Martinom Bušíkom. V kapitole 4.2 autorka spolupracovala s Markusom Gusenbauerom, pričom analýzy a simulácie uvedené v kapitole vykonala samostatne.

2 Simulačný model

Simulácia, podľa určitých definícií, napodobňuje reálny systém. Umožňuje uskutočňovať experimenty mimo reálny systém alebo objekt a umožňuje získať predstavu o fungovaní systému (objektu) ešte skôr ako je systém vyrobený. Model by mal odrážať vlastnosti modelovaného systému, dôležité z hľadiska sledovaných cieľov. Simulačný model napodobňuje vybraný systém, resp. objekt pomocou počítačovej simulácie. Výhoda počítačových simulácií je napríklad v ich opakovateľnosti, v jednoduchej zmene vstupných podmienok a v relatívnej finančnej nenáročnosti. Obmedzenia sú dané napríklad kvalitou modelu, zvoleným algoritmom a výpočtovou náročnosťou modelu.

Cieľom nášho modelu je umožniť navrhovanie a testovanie mikrofluidických zariadení *in silico*, t.j. pomocou simulácií v počítači, dostatočne jednoduchým spôsobom, aby jeho použitie bolo možné v odbornej verejnosti. Model umožňuje simulovať tok elastických objektov v tekutine v kanáloch s pevnými stenami a prekážkami na mezoskopickú úroveň, t.j. na úrovni buniek. Rozmery uvažovaných objektov sú rádovo v μm a zariadení sú rádovo v desiatkách až stovkách μm .

2.1 Object-in-fluid modul

Object-in-fluid modul bol vyvinutý výskumnou skupinou Cell-in-fluid [1] ako súčasť programového balíka ESPResSo, bližšie v [4].

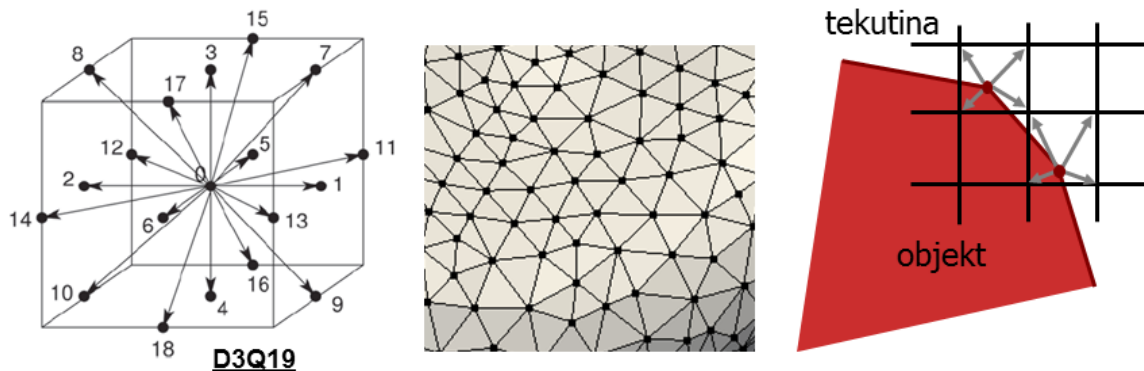
ESPResSo je primárne určené na vykonávanie simulácií dynamiky mnohočasticových systémov na úrovni molekúl a atómov. Medzi jednotlivými časticami je možné nastaviť rôzne typy interakcií. Častice ovplyvňujú okolitú tekutinu a naopak. ESPResSo je voľne dostupné, open-source, s aktívnou podporou vývojárov. Primárne je vyvíjané na Inštitúte výpočtovej fyziky Stuttgartskej univerzity, ale na vývoji sa podieľa aj viacero rôznych tímov z celého sveta. Je využívané viacerými výskumnými skupinami vo svete na rôzne účely. ESPResSo je vyvíjané a použí-

vané pod unixovými operačnými systémami. Má implementovanú paralelizáciu na CPU pre tekutinu aj objekty a paralelizáciu na GPU pre tekutinu. Jadro výpočtov je naprogramované v jazyku C++, samotné simulácie užívateľ nastavuje a spúšťa pomocou skriptov v jazyku Tcl (Tool command language).

Object-in-fluid modul je voľne dostupná a flexibilná súčasť ESPResSo-a. Umožňuje modelovanie uzavretých elastických objektov ponorených do tekutiny, ktoré sa skladajú z väčšieho množstva pôvodných častíc, definovaných v ESPResSo-e. Pomocou modulu je možné veľmi rýchlo a jednoducho definovať rôzne elastické objekty, vzťahy medzi časticami daného objektu a vzájomné interakcie.

V nasledujúcich kapitolách sú stručne popísané vybrané súčasti balíka ESPResSo: lattice-Boltzmannova metóda (LBM) pre tekutinu, modul Object-in-fluid pre elastické objekty (OIF) a metóda vnorenej hranice pre interakcie (IBM - z angl. immersed boundary method). Náčrt jednotlivých častí je uvedený na obrázku 2.1. Podrobnejšie popisy sú uvedené v [13, 15, 40].

Všetky vizualizácie z nášho simulačného modelu sú vytvorené vo voľne dostupnom softvéri Paraview [37].



Obrázok 2.1: Jednotlivé časti modelu - zľava doprava: pravidelná pevná sieť pre tekutinu - typ D3Q19, nepravidelná trojuhelníková sieť pre objekty a interakcia objekt - tekutina. Pre jednoduchšie znázornenie je zobrazená interakcia len v 2D.

2.1.1 Modelovanie tekutiny

Tekutina je modelovaná pomocou LBM [44], v ktorej je spojité tekutina diskretizovaná do bodov v pevnej kubickej sieti. Použitá je D3Q19 verzia LBM - trojrozmerný priestor, 19 diskretných smerov e_i , kde $i = 0, 1, \dots, 18$, viď obrázok 2.1. Definovaná je veličina $n_i(x, t)$, ktorá predstavuje hustotu častíc v priestore a čase, t.j. v bode

mriežky x a čase t . Pre jej zmenu platí vzťah

$$n_i(x + e_i \delta_t, t + \delta_t) = n_i(x, t) - \Delta_i(\mathbf{n}(x, t)) + f_i(x, t), \quad (2.1)$$

kde δ_t je časový krok, Δ_i je kolízny operátor, ktorý zahŕňa rozdiely medzi pred a po kolíznom stave a spĺňa podmienku zachovania hmotnosti a hybnosti, f_i je externá sila pôsobiaca na tekutinu. Makroskopické veličiny rýchlosť v a hustota ρ sú dané vzťahmi

$$\rho(x, t) = \sum_i n_i(x, t), \quad \rho(x, t)v(x, t) = \sum_i n_i(x, t)e_i. \quad (2.2)$$

Veľkosť časového kroku a priestorového kroku je v modeli voliteľná. Musia však spĺňať podmienky vyplývajúce z diskretizácie. Jednou z nich je $\delta_t < \delta_x/c_s$. Kde δ_t je časový a δ_x priestorový krok, c_s je tzv. rýchlosť zvuku v mriežke. Pre LBM s mriežkou D3Q19 je $c_s = \sqrt{3}$. Štandardne používame v našich simuláciách priestorový krok $\delta_x = 1\mu m$, z čoho dostávame podmienku $\delta_t < 0.577\mu s$. Ak nie je napísané inak, v simuláciách uvedených v tejto práci bola zvolená veľkosť časového kroku $0.1\mu s$.

2.1.2 Elastické objekty

Telesá, resp. objekty môžeme rozdeliť do troch základných skupín podľa toho, ako reagujú na pôsobenie vonkajších síl. Poznáme tuhé telesá, ktoré sú nedeformovateľné, t.j. nemenia svoj tvar pod účinkom vonkajších síl. Ďalej elastické (pružné) telesá, ktoré sa pod vplyvom síl deformujú - menia svoj tvar a po odstránení pôsobiacich síl sa vrátia do pôvodného relaxovaného tvaru. Treťou skupinou sú plastické (nepružné) telesá, ktoré sa pod vplyvom síl deformujú a po odstránení síl sa nevrátia do pôvodného tvaru, ale zostanú deformované. Prvou a treťou skupinou objektov sa v našom modeli nezaobráame.

Pomocou nášho modelu simulujeme tok elastických objektov - buniek. To znamená, že naše objekty sa deformujú pod vplyvom vonkajších síl a majú tendenciu sa vracieť do pôvodného relaxovaného tvaru. Elastické objekty sú tvorené nepravidel-nou trojuholníkovou sieťou hmotných bodov na ich povrchu, viď obrázok 2.1. Vnútri objektov sa nachádza tá istá tekutina ako v ich okolí. Pohyb jednotlivých bodov (častíc) siete na povrchu objektu sa riadi Newtonovskými rovnicami:

$$m \frac{d^2 \mathbf{x}_i}{dt^2} = \mathbf{f}_i, \quad (2.3)$$

kde m je hmotnosť bodu, \mathbf{x}_i je pozícia i -teho bodu a \mathbf{f}_i je sila pôsobiaca na i -ty bod. Sila \mathbf{f}_i je výslednica pôsobiacich elastických síl, ktoré sú popísané nižšie a síl z interakcií medzi objektom a tekutinou (bližšie v kapitole 2.1.3), jednotlivými objektami a objektom s prekážkami, resp. stenami (bližšie na konci tejto podkapitoly).

Elastické správanie zabezpečuje 5 modulov. Každý z nich má definovanú pôsobiacu silu, ktorá závisí od elastického koeficientu k_x (definícia A.2) a zmeny "polohy" bodu. Pôsobia v jednotlivých bodoch trojuholníkovej siete na povrchu objektu, pričom všetky pôsobiace sily v jednom bode sa vektorovo sčítavajú. Moduly sú definované nasledovne:

- **modul pružnosti** zachováva dĺžku hrán jednotlivých trojuholníkov. Tieto hrany si môžeme predstaviť ako pružiny. Membrána biologickej bunky je považovaná za hyperelastický materiál, čo v jednoduchosti znamená, že veľkosť pôsobiacej sily nie je lineárne závislá od natiahnutia (stlačenia). Koeficient pružnosti nie je konštantný, ale je funkciou zmeny dĺžky. V dvoch susedných bodoch A a B pôsobia navzájom opačné sily pružnosti $F_s(AB)$ (z anglického stretching), ktoré sú v modeli implementované vzťahom:

$$F_s(AB) = k_s \kappa(\lambda_{AB}) \Delta L_{AB} \mathbf{n}_{AB}; \quad \kappa(\lambda_{AB}) = \frac{\lambda_{AB}^{0.5} + \lambda_{AB}^{-2.5}}{\lambda_{AB} + \lambda_{AB}^{-3}}, \quad (2.4)$$

kde k_s je elastický koeficient pružnosti v jednotkách $[N/m]$, $\kappa(\lambda_{AB})$ je parameter neo-Hookean modelu pre hyperelastické materiály, $\lambda_{AB} = L_{AB}/L_{AB}^0$, L_{AB}^0 je pôvodná dĺžka hrany AB , L_{AB} je aktuálna dĺžka hrany AB , $\Delta L_{AB} = L_{AB} - L_{AB}^0$ je zmena dĺžky hrany, \mathbf{n}_{AB} je jednotkový vektor z bodu A do B , v prípade opačnej sily to bude vektor \mathbf{n}_{BA} z bodu B do A . Pre prípad lineárne elastického objektu je implementovaný aj lineárny modul pružnosti, v ktorom vzťah pre silu pružnosti je zjednodušený na

$$F_s(AB) = k_s \Delta L_{AB} \mathbf{n}_{AB}. \quad (2.5)$$

- **modul ohybu** zachováva uhol, ktorý zvierajú susedné trojuholníky. Majme ΔABC , sledujeme uhol θ , ktorý zvierá so susedným trojuholníkom so spoločnou hranou BC . V bode A bude pôsobiť sila $F_b(ABC)$ (z anglického bending) a v bodoch B a C bude pôsobiť polovičná sila opačného smeru. Sila $F_b(ABC)$

je definovaná ako:

$$F_b(ABC) = k_b \frac{\Delta\theta}{\theta^0} \mathbf{n}_{ABC}, \quad (2.6)$$

kde k_b je elastický koeficient ohybu v jednotkách $[N]$, θ^0 je pôvodný uhol, ktorý zvierajú medzi sebou trojuholníky so spoločnou hranou BC , θ je jeho aktuálna hodnota a $\Delta\theta = \theta - \theta^0$, \mathbf{n}_{ABC} je normálový vektor na plochu ΔABC .

- **modul zachovania lokálnej plochy** zachováva veľkosť plôch jednotlivých trojuholníkov. Mechanizmom je podobný modulu pružnosti. Sila $F_{al}(A)$ (z anglického area local) pôsobiaca vo vrchole A je daná vzťahom:

$$F_{al}(A) = -k_{al} \frac{\Delta S_{ABC}}{\sqrt{S_{ABC}^0}} \mathbf{w}_A, \quad (2.7)$$

kde k_{al} je elastický koeficient zachovania lokálnej plochy v jednotkách $[N/m]$, S_{ABC}^0 je pôvodná plocha ΔABC , $\Delta S_{ABC} = S_{ABC} - S_{ABC}^0$ je rozdiel medzi aktuálnou a pôvodnou plochou ΔABC , \mathbf{w}_A je jednotkový vektor z ťažiska ΔABC do vrcholu A . Sila F_{al} je teda čo do veľkosti rovnaká vo všetkých vrcholoch ΔABC , líši sa smerom podľa vektorov \mathbf{w}_A , \mathbf{w}_B a \mathbf{w}_C .

V [41] je uvedená analýza, z ktorej vyplýva, že je vhodnejšie zvoliť silu F_{al} tak, aby bola čo do veľkosti proporčne rozdelená medzi jednotlivé vrcholy daného trojuholníka. Významné rozdiely sú viditeľné hlavne v prípade veľkej deformácie plochy trojuholníka. Vzťah (2.7) sa zmení na:

$$F_{al}(A) = -\frac{t_A}{t_A^2 + t_B^2 + t_C^2} k_{al} \Delta S_{ABC} \mathbf{w}_A, \quad (2.8)$$

kde $t_A = |AT|$, $t_B = |BT|$, $t_C = |CT|$ a T je ťažisko ΔABC . Analogicky sú definované sily vo vrcholech B a C . Jednotky k_{al} zostávajú zachované $[N/m]$.

- **modul zachovania celkovej (globálnej) plochy** zachováva veľkosť povrchu objektu. Je globálnym modulom, to znamená, že naraz ovplyvňuje celý objekt, nie len jeho malú časť ako predchádzajúce moduly. Sila $F_{ag}(A)$ (z anglického area global) pôsobiaca vo vrchole A je definovaná vzťahom:

$$F_{ag}(A) = -k_{ag} \frac{\Delta S}{S^0} \mathbf{w}_A, \quad (2.9)$$

kde k_{ag} je elastický koeficient zachovania globálnej plochy v $[N]$, S^0 je pôvodná

plocha objektu, $\Delta S = S - S^0$ je rozdiel medzi aktuálnou a pôvodnou plochou objektu, \mathbf{w}_A je jednotkový vektor z ťažiska ΔABC do vrcholu A .

- **modul zachovania celkového (globálneho) objemu** zachováva celkový objem objektu. Sila $F_v(ABC)$ (z anglického volume) pôsobiaca vo vrchoch ΔABC je daná nasledovne:

$$F_v(ABC) = -k_v \frac{\Delta V}{V^0} S_{ABC} \mathbf{n}_{ABC}, \quad (2.10)$$

kde k_v je elastický koeficient zachovania objemu v jednotkách $[N/m^2]$, V^0 je pôvodný objem objektu, $\Delta V = V - V^0$ je rozdiel medzi aktuálnym a pôvodným objemom objektu, S_{ABC} je aktuálna plocha ΔABC , \mathbf{n}_{ABC} je normálový vektor na plochu ΔABC .

Pri pohybe objektov v tekutine dochádza ku kolíziám medzi objektami navzájom a medzi objektami a stenami zariadenia (simulačného boxu). Tieto interakcie sú modelované pomocou odpudivého potenciálu, na základe ktorého pôsobí v danom bode objektu odpudivá sila. Medzi bodmi objektu a stenou je nastavovaná tzv. "soft-sphere" interakcia s potenciálom V_s a medzi bodmi objektov jej modifikácia "membrane collision" interakcia s potenciálom V_m . Potenciály sú dané vzťahmi

$$V_s(d) = a \cdot d^{(-n)}, \quad V_m(d) = a \frac{1}{1 + e^{nd}}, \quad (2.11)$$

kde d je vzdialenosť bodov, a je škálovací parameter. Spolu s parametrom n určujú sklon nárastu, resp. poklesu hodnoty potenciálu. Konštanta $e = 2.71828$ je Eulerovo číslo. V oboch prípadoch platí, že odpudivý potenciál začne pôsobiť po prekročení nastaviteľnej hraničnej vzdialenosti d_{cut} . Jeden z rozdielov medzi "soft-sphere" a "membrane collision" interakciami je v tom, že "membrane collision" umožňuje čiastočný prekryv buniek. Napríklad pri počítačom umiestňovaní buniek v simulácií, pre dosiahnutie vyššieho hematokritu (A.2), bunky sa následne navzájom odpuďia, bližšie v [40]. Pri použití "soft-sphere" potenciálu bunky zostali zakliesnené.

2.1.3 Interakcia objektov s tekutinou

Interakcia objektov s tekutinou je modelovaná pomocou IBM. Interakcia je obojsmerná, objekty pôsobia na tekutinu a tekutina pôsobí na objekty. Kým v prípade tekutiny je použitý Eulerovský prístup - tekutina je modelovaná pevnou sieťou

bodov a sledujeme stav v jednotlivých bodoch siete, na objekty pozeráme cez Lagrangeovský prístup - sledujeme stav v bode, ktorý sa pohybuje v priestore. Na popísanie interakcie medzi týmito dvoma odlišnými sieťami je využitý tzv. "drag-force" prístup, bližšie je popísaný napríklad v [21]. V jednoduchosti môžeme povedať, že na bod objektu pôsobí sila \mathbf{F} , ktorej veľkosť a smer závisí od rozdielu vektorov rýchlostí bodu tekutiny \mathbf{v} a objektu \mathbf{u} :

$$\mathbf{F} = \xi(\mathbf{v} - \mathbf{u}), \quad (2.12)$$

kde ξ je koeficient trenia. V praxi je pôsobenie sily \mathbf{F} rozložené do okolitých bodov tekutiny, resp. bodov objektu, náčrt je uvedený na obrázku 2.1.

2.1.4 Stručný prehľad iných modelov

Ako bolo písané v úvode práce, výskumu krvi a jej vlastností sa venuje veľká pozornosť a počítačové simulácie môžu tento výskum len urýchliť. Simulačné modely, umožňujúce simulovať tok krvi v cievach alebo umelých zariadeniach, môžeme rozdeliť do rôznych kategórií podľa rôznych parametrov.

Krv môže byť v modeli vnímaná z makroskopického pohľadu ako homogénna tekutina, t.j. nepozeráme sa na ňu na úrovni buniek. V [29] je popísaná metóda na simulácie toku krvi v cievach v 3D. Autori uvažujú elastické steny ciev a interakcie krvi - tekutiny so stenami.

Na mezoskopickú úroveň vnímame krv ako homogénnu plazmu s bunkami. Existujú zjednodušené 2D modely, príkladom je práca [53]. V článku je popísaný 2D pružinový model elastických objektov a 2D pružinový model stien ciev. Cieľom článku bolo vyšetriť základné biofyzikálne parametre cirkulujúcich rakovinových buniek CTC (z anglického circulating tumor cell) použitím uvedeného modelu. Priľnavosť CTC k stenám ciev je taktiež modelovaná pomocou pružín.

Príkladom 3D modelu na mezoskopickú úroveň je [28]. Model slúži na modelovanie toku RBC v cievach. Taktiež ide o pružinový model. Autori modelujú mechaniku RBC a krvného toku v cievach pri malárii. RBC napadnuté parazitom spôsobujúcim maláriu sú až 10-krát tuhšie, menej deformovateľné, ako zdravé RBC. To môže spôsobiť, okrem iného, upchatie kapilár - vlásočníc a narušenie normálneho krvného obehu. Vyvinutý model, popísaný v tomto článku, je schopný správne zachytiť biofyzikálne vlastnosti a dynamické správanie sa napadnutých RBC.

V [52] sú porovnávané dva modely. Prvý je založený na tzv. multiškálovom opise,

kedy membrána RBC je tvorená stovkami až tisíckami častíc, podobne ako v našom modeli. Tie sú navzájom prepojené do trojuholníkovej siete tak, že jednotlivé trojuholníky majú snahu zachovať uhly ohybu so susednými trojuholníkmi. Druhý model je založený na nízko-dimenzionálnom opise, kedy RBC tvorí len 10 koloidálnych častíc. Záverom článku je, že multiškálový opis je vhodnejší pre modelovanie toku RBC v kapilárach a arteriolách s priemerom pod $100\mu m$. Nízko-dimenzionálny opis je vhodnejší pre arterioly nad $100\mu m$.

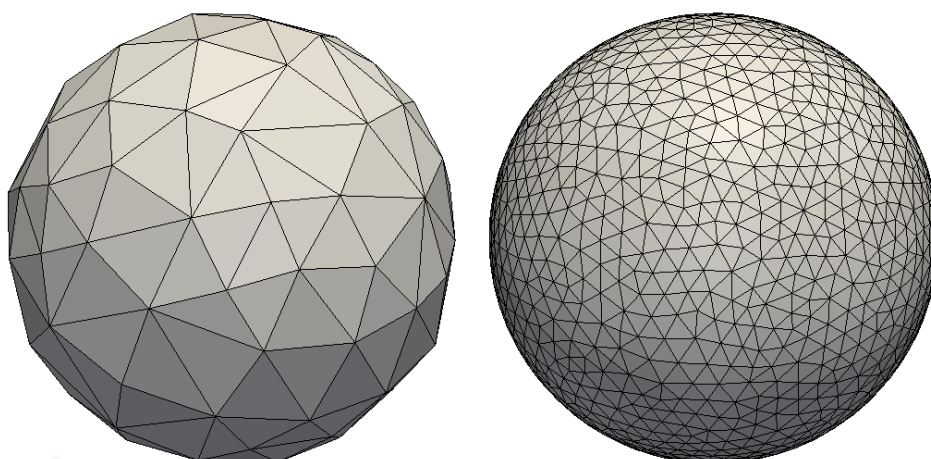
V [51] autori uvádzajú porovnanie medzi modelmi so sieťou pružín a konštitučnými zákonmi v kontinuu. Článok sa zaoberá koreláciou medzi mechanickými vlastnosťami rôznych pružinových modelov a konštitučnými zákonmi v kontinuu. Jedným z výsledkov je, že mechanické vlastnosti sú silne závislé na konfigurácii siete. Podobné výsledky dostávame aj pre náš model, ako je písané v ďalšej kapitole.

2.2 Škálovateľnosť koeficientov

V určitom zmysle môžeme slovo škálovateľnosť nahradiť slovom rozšíriteľnosť. V súčasnosti sa tento pojem často používa vo svete informačných technológií a webových aplikácií, kde sa od dobrej technológie či aplikácie očakáva, že bude škálovateľná, resp. rozšíriteľná. Inak povedané s nárastom veľkosti systému (napr. počtom užívateľov), bude systém pracovať rovnako dobre, rýchlo, spoľahlivo a pod.

V prípade nášho simulačného modelu môžeme na škálovateľnosť pozeráť rôznym spôsobom. Môžeme zvyšovať počet elastických objektov alebo zväčšovať rozmery simulačného boxu v simulácii a následne riešiť možnosti paralelizácie výpočtu (kapitola 4.2.2), aby na výpočet nebol potrebný dlhší výpočtový čas. Z iného pohľadu môžeme meniť počet bodov trojuholníkovej siete na povrchu objektu, príklad je na obrázku 2.2, kde tá istá guľa je modelovaná pomocou 126 bodov alebo 1524 bodov a očakávame, že ich správanie bude rovnaké alebo aspoň veľmi podobné. Ak v simulácii máme väčšie množstvo objektov (príklad takých simulácií je v kapitole 4), väčšinou sa zaujímame o globálne správanie objektov a postačí nám menší počet bodov na povrchu. Naopak, ak skúmame správanie sa jedného objektu a zaujímajú nás lokálne zmeny na povrchu (napríklad simulácia v kapitole 3.2), zvolíme väčší počet bodov. Rovnako, ako v prvom prípade, aj tu narastá výpočtová náročnosť, zároveň sa však mení aj hustota siete bodov na povrchu objektu, čo má vplyv na jednotlivé elastické moduly, popísané v kapitole 2.1.2, ktoré sú zodpovedné za správanie sa objektu. Zmenou počtu bodov sa nezmení celkový objem a povrch objektu.

Ďalej sa takmer nezmenia uhly, ktoré zvierajú susedné trojuholníky. Zmenia sa však dĺžky hrán medzi bodmi a tiež plochy trojuholníkov na povrchu. Z tohto pohľadu potom zmena počtu bodov by nemala mať vplyv na modul ohybu a zachovania globálnej plochy. Vplyv na modul zachovania globálneho objemu je otáznny, keďže vo vzťahu vystupuje aj plocha jednotlivých trojuholníkov. Významný vplyv bude mať na modul pružnosti a zachovania lokálnej plochy, pretože dĺžky hrán sa zmenou počtu bodov triangulácie výrazne menia.



Obrázok 2.2: Vľavo je triangulácia gule so 126 bodmi na povrchu, vpravo so 1524 bodmi na povrchu.

Predstavme si jednoduchú pružinu s tuhosťou k a dĺžkou l . Ak na ňu pôsobí sila F , predĺži sa o vzdialenosť Δl , podľa vzťahu $F = k \cdot \Delta l$. Teraz si zoberme dve pružiny, každú s dĺžkou $l/2$. Pýtame sa, akú tuhosť majú mať, aby pri pôsobení sily F dosiahli spolu predĺženie Δl . Predpokladáme, že tieto dve pružiny sú navzájom rovnaké. Ak pružiny zapojíme za sebou (sériovo), ich tuhosť k_1 musí byť dvojnásobná oproti pôvodnej k . Predĺženia sa sčítavajú, preto stačí, aby sa každá pružina predĺžila len o $\Delta l/2$. Ak ich zapojíme vedľa seba (paralelne), musia sa obe predĺžiť o Δl , zároveň však na každú pôsobí len polovičná sila $F/2$. Z toho dostávame, že tentoraz ich tuhosť k_2 musí byť polovičná oproti k .

V našom modeli máme trojuholníkovú sieť pružín v 3D priestore. Medzi pružinami nepôsobia len sily pružnosti, ale máme definovaných 5 elastických modulov. To predstavuje veľmi komplexný systém, v ktorom je problematické určiť, ako sa majú elastické koeficienty meniť pri zmene počtu bodov siete. Našou snahou bolo zvoliť vzťahy pre uvedené moduly tak, aby ich citlivosť na zmenu dĺžok hrán bola čo najmenšia.

2.2. ŠKÁLOVATEĽNOSŤ KOEFICIENTOV

Náš simulačný model vychádza z modelu popísaného v [22], v ktorom autor uvádza vzťah (2.4) normalizovaný, t.j. delí ho pôvodnou dĺžkou hrany L_{AB}^0 . Podobne vzťah (2.7) je delený S_{ABC}^0 a nie jeho odmocninou, ako je uvedené v kap. 2.1.2. V [14] sme hľadali vzťah medzi modulom pružnosti v šmyku μ bunkovej membrány (definícia A.2) a elastickým koeficientom modulu pružnosti k_s v našom modeli. V odvodenom vzťahu vystupovala dĺžka L pružín. Avšak predpokladali sme, že vo všeobecnosti koeficient k_s by nemal závisieť od L . Na základe štúdie uvedenej v [50] sme analyzovali vzťahy pre modul pružnosti a modul zachovania lokálnej plochy. Našou snahou bolo zvoliť vzťahy pre uvedené moduly tak, aby ich citlivosť na zmenu dĺžok hrán bola čo najmenšia.

V nasledujúcich podkapitolách sa pod "rôznymi sieťami" myslí modelovanie toho istého objektu trojuholníkovými sieťami, ktoré sa navzájom líšia počtom bodov.

2.2.1 Analýza modulu pružnosti

Ako už bolo spomenuté, simulačný model vychádza z práce [22]. V nej je modul pružnosti definovaný v normalizovanom tvare

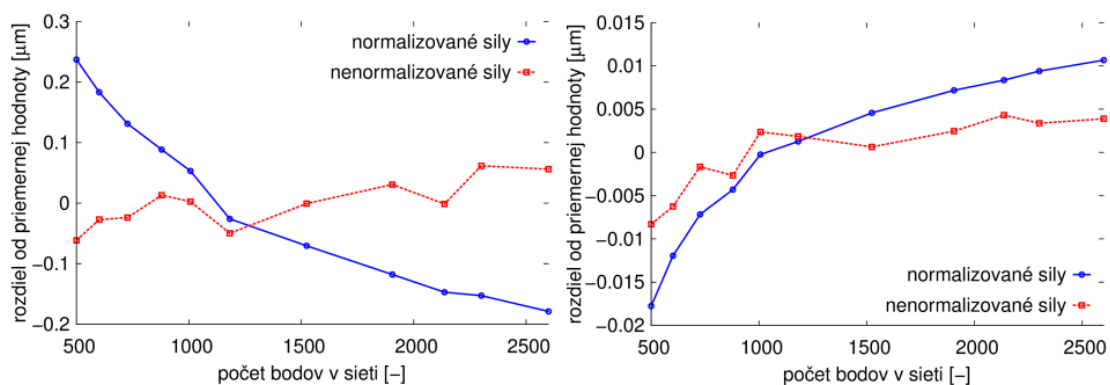
$$F_s(AB) = k_s \kappa(\lambda_{AB}) \frac{\Delta L_{AB}}{L_{AB}^0} \mathbf{n}_{AB}. \quad (2.13)$$

Pre porovnanie ako vplývajú na správanie sa elastického objektu moduly pružnosti podľa nenormalizovaného vzťahu (2.4) a normalizovaného (2.13), sme navrhli nasledovnú simuláciu. Guľa bola ťahaná pôsobením externých síl, pôsobiacich v opačných smeroch v dvoch protíľahlých bodoch na povrchu. Ponorená bola do homogénnej statickej tekutiny. V tomto prípade neuvažujeme o toku objektu v tekutine (čo je primárny účel nášho modelu), napriek tomu je tekutina prítomná. Jednak preto, že objekty v našom modeli sú štandardne vnorené do tekutiny a bunky v biologických experimentoch sú tiež vždy v tekutine. Druhým dôvodom je, že tekutina slúži ako tlmič rozkmitov jednotlivých častíc na povrchu objektu, tieto rozkmity vznikajú dôsledkom šírenia sa numerických nepresností.

Pre 11 rôznych sietí na povrchu gule s počtom bodov od 500 do 2600 sme spúšťali simulácie pre oba moduly, pričom externé ťahovacie sily mali rovnakú hodnotu pre všetky siete a taktiež aj všetky elastické koeficienty. Pôsobením týchto síl sa guľa deformovala (ťahovala do tvaru citróna). Simuláciu sme zastavili, keď bol dosiahnutý rovnovážny stav medzi pôsobiacimi externými silami a vnútornými elastickými silami (guľa sa už ďalej nedeformovala). Zmerali sme dosiahnutú finálnu

dĺžku natiahnutia a finálny priečný polomer deformovanej gule. Finálna dĺžka bola väčšia ako pôvodný polomer gule a finálny priečný polomer bol menší ako pôvodný. Pre obe veličiny sme vypočítali aritmetický priemer zo všetkých výsledkov (pre všetky siete) a následne sme určili rozdiel medzi nameranou hodnotou pre danú sieť a vypočítaným priemerom. Vypočítané rozdiely sú uvedené v grafoch na obrázku 2.3. Vidíme, že pre normalizovaný modul pružnosti (zobrazené modrou) sa obe sledované veličiny výrazne menia pri zmene počtu bodov siete. V prípade nenormalizovaného modulu (zobrazené červenou) sú ich variácie výrazne menšie, preto považujeme nenormalizovaný vzťah pre modul pružnosti za vhodnejší. Ten sme použili v ďalších simuláciách.

Teoretickým argumentom za nenormalizovaný vzťah je rozmerová analýza. V normalizovanom vzťahu (2.13) má koeficient k_s rozmer $[N]$, kým v nenormalizovanom (2.4) $[N/m]$. Tuhosť pružiny k má rozmer $[N/m]$, ako v prípade nenormalizovaného vzťahu.

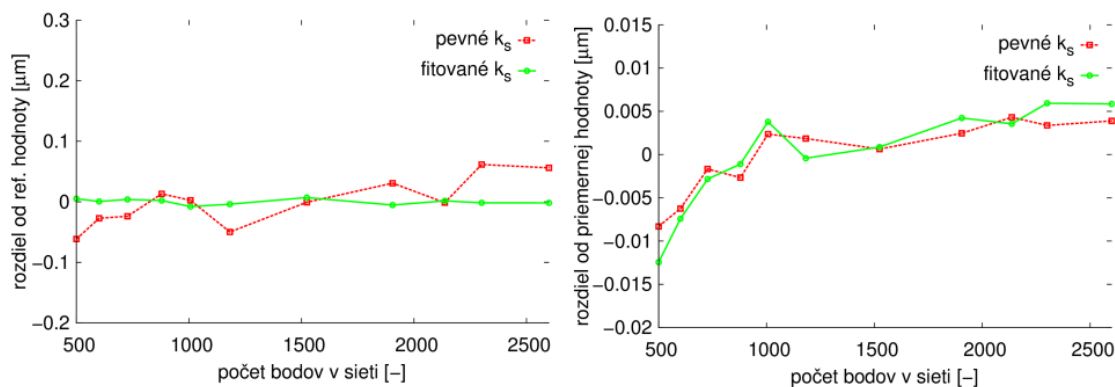


Obrázok 2.3: Vľavo je zobrazená závislosť rozdielu medzi nameranou dĺžkou natiahnutej gule a vypočítanou priemernou dĺžkou natiahnutia od počtu bodov siete, vpravo podobne rozdiely pre priečný polomer. Modrou sú zobrazené hodnoty zo simulácie s normalizovaným modulom pružnosti, červenou pre nenormalizovaný modul pružnosti.

V ďalšej sade simulácií sme zvolili jednu sieť ako referenčnú. Vzhľadom na to, že výber referenčnej siete neovplyvní výsledky, zvolili sme najčastejšie používanú sieť pri našich dovtedajších simuláciách - sieť so 601 bodmi na povrchu. Natiahli sme guľu rovnakým spôsobom ako v predchádzajúcom prípade a zaznamenali referenčnú hodnotu finálnej dĺžky. Pre ďalšie siete sme hľadali takú hodnotu k_s , aby dosiahnutá finálna dĺžka natiahnutia gule bola zhodná s referenčnou. Ostatné elastické koeficienty zostávali konštantné pre všetky siete, rovnako ako externé naťahovacie

2.2. ŠKÁLOVATEĽNOSŤ KOEFICIENTOV

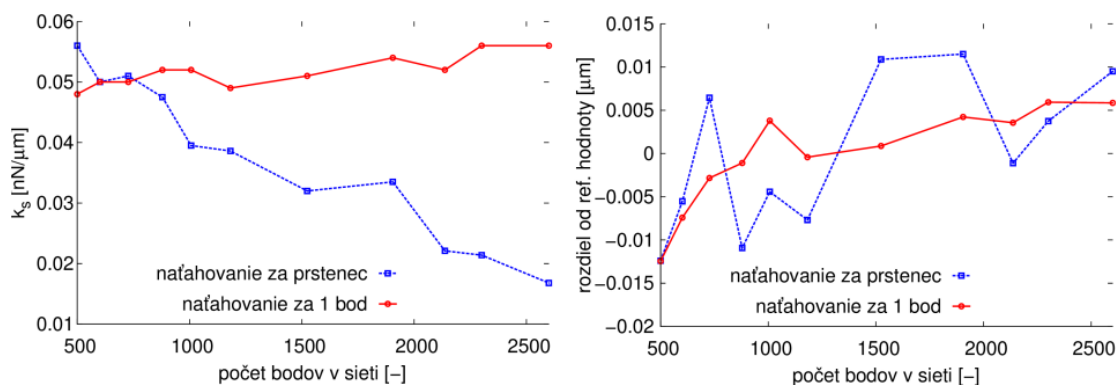
sily. Zároveň sme vypočítali priemernú hodnotu pričného polomeru pre rôzne siete a vypočítali rozdiel nameranej hodnoty od tohto priemeru. Výsledky sú zobrazené v grafe na obrázku 2.4. Hodnoty pre pevné, resp. konštantné k_s (zobrazené červenou) sú tie isté ako na obrázku 2.3. Zelenou sú zobrazené hodnoty pre simulácie s fitovanými k_s . Vidíme, že "fitovaním" alebo hľadaním vhodného k_s , môžeme dosiahnuť takmer nulové rozdiely v dĺžke natiahnutia gule pre rôzne siete. Avšak, čo sa týka pričného polomeru, fitovaním k_s sa rozdiely v nameraných hodnotách nezmenšili. Znamená to, že zmena k_s v tomto prípade má malý vplyv na zmenu pričného polomeru a bude nutná zmena aj ostatných elastických koeficientov, aby sme dosiahli rovnaké správanie objektu s rôznymi sieťami.



Obrázok 2.4: Vľavo je zobrazená závislosť rozdielu medzi nameranou dĺžkou natiahnutej gule a referenčnou hodnotou pre pevné (červená) a fitované (zelená) k_s od počtu bodov siete, vpravo závislosť rozdielu medzi nameraným pričným polomerom a vypočítanou priemernou hodnotou od počtu bodov siete.

V ďalšom kroku sme zmenili spôsob naťahovania gule. V experimentoch s biologickými bunkami sú tieto ťahané za silikónové guľôčky, ktoré sú nalepené na membráne bunky. Ak si predstavíme nalepenú elastickú guľôčku na guľi, vhodnejšie priblíženie v našom simulačnom modeli bude naťahovanie za skupinu bodov, ktoré sú umiestnené v prstenci na povrchu. Celková pôsobiaca externá sila zostala rovnaká, len bola prerozdelená medzi niekoľko bodov. Počet týchto bodov rástol s hustotou siete. Spustili sme dve sady simulácií - pre naťahovanie za jeden bod a za viacero bodov v prstenci. Zvolili sme referenčnú sieť so 601 bodmi na povrchu a jej hodnotu finálnej dĺžky natiahnutia za referenčnú dĺžku. Pre obe metódy naťahovania sme hľadali k_s pre rôzne siete také, aby sa finálne dĺžky rovnali referenčným. V grafoch na obrázku 2.5 sú uvedené namerané hodnoty. Vidíme, že pre dve metódy naťahovania dostávame dva rôzne trendy správania k_s . Kým pri naťahovaní za jeden

bod k_s mierne rastie s rastúcim počtom bodov na povrchu (pre zachovanie referenčnej dĺžky natiahnutia), pri ňaťahovaní za viacero bodov v prstenci k_s relatívne strmo klesá s rastúcim počtom bodov na povrchu. Jedným z pravdepodobných vysvetlení je, že ňaťahovanie gule za jeden bod môžeme hrubo aproximovať ňaťahovaním viacerých pružín zapojených sériovo. Vtedy pre výslednú tuhosť sústavy platí $\frac{1}{k} = \frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2} + \dots$. Naopak ňaťahovanie za viacero bodov môžeme hrubo aproximovať pružinami zapojenými paralelne, kde pre výslednú tuhosť platí $k = k_1 + k_2 + \dots$. Už z tejto hrubej aproximácie môžeme usúdiť, že správanie sa objektu nezávisí len od zvolenej hodnoty k_s , ale aj od mechanizmu ňaťahovania, resp. deformácie. Nie je možné kalibrovať osobitne každý elastický koeficient, ale je nutné brať do úvahy celú päťicu. Znalosti z tejto štúdie boli neskôr použité pri kalibrácii RBC, popísanej v kapitole 3.3.



Obrázok 2.5: Vľavo je závislosť k_s od počtu bodov v sieti pri simuláciách ňaťahovania gule, kde sa k_s volilo tak, aby sa guľa natiahla na referenčnú finálnu dĺžku. Vpravo je závislosť rozdielu finálneho pričného polomeru od referenčnej hodnoty pre rôzne siete v tých istých simuláciách. Červenou pre ňaťahovanie za jeden bod, modrou pre ňaťahovanie za viacero bodov v prstenci.

2.2.2 Analýza modulu zachovania lokálnej plochy

Rovnako, ako sme analyzovali modul pružnosti, sme analyzovali aj modul zachovania lokálnej plochy. V práci [22] je modul definovaný v normalizovanom tvare (rovnako ako modul pružnosti)

$$F_{al}(A) = -k_{al} \frac{\Delta S_{ABC}}{S_{ABC}^0} \mathbf{w}_A = -k_{al} \frac{(S_{ABC} - S_{ABC}^0)}{S_{ABC}^0} \mathbf{w}_A. \quad (2.14)$$

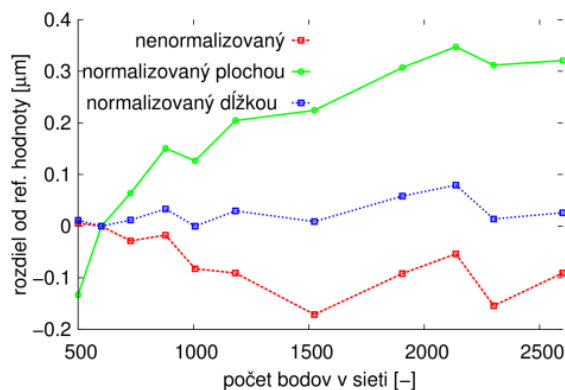
Výsledky z predchádzajúcej kapitoly 2.2.1 boli motiváciou uvažovať tvar modulu

2.2. ŠKÁLOVATEĽNOSŤ KOEFICIENTOV

v nenormalizovanom tvare

$$F_{al}(A) = -k_{al}\Delta S_{ABC}\mathbf{w}_A = -k_{al}(S_{ABC} - S_{ABC}^0)\mathbf{w}_A. \quad (2.15)$$

Tretou možnosťou bolo normalizovať vzťah charakteristickou dĺžkou. Motiváciou bol fakt, že v tomto prípade jednotka k_{al} bude rovnaká ako pre k_s [N/m]. Ako charakteristickú dĺžku sme zvolili odmocninu z pôvodnej plochy daného trojuholníka, viď vzťah (2.7). Pre analýzu vplyvu jednotlivých modulov, sme zvolili podobné simulácie ako v predchádzajúcej kapitole. V tomto prípade však guľa bola naťahovaná externými silami, pôsobiacimi v každom bode na jej povrchu v smere normály na plochu. Súčet veľkostí síl pre rôzne siete bol konštantný, to znamená, že veľkosť pôsobiacej sily v jednom bode sa menila s počtom bodov na povrchu. Guľa bola ponorená do homogénnej statickej tekutiny, ktorá slúžila ako tlmič. Simulácie boli spustené pre 11 sietí s počtom bodov od 500 do 2600. Merali sme finálny priemer, do ktorého bola guľa natiahnutá (pôsobiace sily boli v rovnováhe). V grafe na obrázku 2.6 je zobrazená závislosť rozdielu priemeru od referenčnej hodnoty na počte bodov v sieti. Ako referenčnú sieť sme opäť zvolili najčastejšie používanú sieť so 601 bodmi. Vidíme, že najmenšie rozdiely boli dosiahnuté v simulácii, v ktorej bol použitý modul normalizovaný charakteristickou dĺžkou podľa vzťahu (2.7). Preto sme tento typ modulu zvolili do nášho simulačného modelu.



Obrázok 2.6: Závislosť rozdielu od referenčnej hodnoty od počtu bodov siete pre tri rôzne tvary elastického modulu pre zachovanie lokálnej plochy.

Podobne ako pre koeficient modulu pružnosti aj v tomto prípade rozmerová analýza podporí náš výber modulu normalizovaného charakteristickou dĺžkou. V tomto prípade je rozmer k_{al} [N/m], čo je rovnaký rozmer ako pre koeficient pružnosti k_s . Zároveň sa rozmer zhoduje s rozmerom biologického modulu zmeny povrchu (an-

glicky area expansion modulus), ktorý hovorí o lokálnej zmene veľkosti membrány pôsobením sily, bližšie napríklad [45].

2.3 \mathcal{F} metrika

Pri modelovaní elastických objektov použitím trojuholníkovej siete bodov na ich povrchu, pričom body sú navzájom pospájané väzbami, môžeme použiť tzv. silový alebo energetický prístup. V silovom prístupe v jednotlivých bodoch siete definujeme pôsobiace sily. Tie pôsobia proti zmenám objektu, majú tendenciu vracieť objekt do pôvodného rovnovážneho stavu s pôvodným objemom, povrchom, tvarom atď. Tento prístup je použitý v našom modeli a tiež v [22, 51]. Iným prístupom je tzv. energetický prístup, v ktorom sa predpokladá, že objekt má v pokoji nulovú energiu, resp. energiu rovnovážneho stavu a pri zmenách má objekt snahu minimalizovať svoju energiu na pôvodnú hodnotu, napríklad [27, 49]. V oboch prístupoch sú používané elastické moduly podobné tým, popísaným v kapitole 2.1.2.

Vzťah medzi silou a energiou vo všeobecnosti môžeme vyjadriť nasledovne:

$$E = \int \mathbf{F} ds, \quad \mathbf{F}_i = -\frac{\partial E}{\partial \mathbf{r}_i}. \quad (2.16)$$

Energiu E vyjadrujeme ako integrál pôsobiacej sily \mathbf{F} . Energia deformácie objektu je rovná práci, ktorú musíme vynaložiť, aby sa objekt dostal z rovnovážneho stavu do daného deformovaného stavu. Druhý vzorec hovorí, že sila \mathbf{F} je rovná zápornému gradientu energie E , čo je možné interpretovať tak, že sila bude pôsobiť v opačnom smere ako je smer najstrmšieho rastu energie.

Pre náš model nás zaujímalo, aká časť energie objektu pripadá na deformáciu - zmenu dĺžky hrán, aká časť pripadá na zmenu tvaru - zmenu uhlov, ktoré zvierajú susedné trojuholníky siete a podobne. V prípade energie pružnosti E_s môžeme vychádzať zo zjednodušeného vzťahu

$$E_s = \frac{1}{2} k_s (\Delta L)^2. \quad (2.17)$$

Porovnanie elastických modulov so silovým prístupom s modulmi s energetickým prístupom nie je jednoduché. Moduly sa navzájom líšia a ich jednotlivé definície sú dané len intuitívne a neexistuje pre ne jednoznačná fyzikálna alebo biologická predstava. Ako príklad môže poslúžiť rôzne definovaná energia ohybu v modeloch

RBC od troch rôznych výskumných skupín. Všetky modely vychádzajú z rovnakého energetického prístupu, uvažujú 5 typov energií (rovnakých ako v našom modeli), tvar aj rozmery RBC sú porovnateľné, na povrchu je uvažovaná trojuholníková sieť bodov, vo všetkých definíciách vystupuje elastický koeficient ohybu k_b .

V [27] je energia ohybu definovaná ako

$$V_b = \sum_{j \in 1 \dots N_s} k_b [1 - \cos(\theta_j - \theta_0)], \quad (2.18)$$

kde N_s je počet hrán objektu, θ_j je aktuálny uhol medzi dvoma susedným trojuholníkmi, ktoré majú spoločnú hranu j a θ_0 je pôvodný uhol.

V ďalšom modeli [49] je energia ohybu definovaná, resp. modelovaná nasledovne

$$W_b = \frac{1}{2} k_b \sum_{l=1}^{N_b} L_l \tan^2\left(\frac{\theta_l}{2}\right), \quad (2.19)$$

kde N_b je počet "pružín ohybu", myslené je počet hrán, na ktorých sledujem zmenu uhla. L_l je dĺžka hrany a θ_l je aktuálny uhol, ktorý zvierajú normály na plochy susedných trojuholníkov.

V poslednom príklade modelu [43] je zjednodušený vzťah pre energiu ohybu definovaný ako

$$E_b = \frac{\sqrt{3}}{2} k_b \sum_{\langle i,j \rangle} (\theta_{ij} - \theta_{ij}^0)^2, \quad (2.20)$$

kde $\langle i, j \rangle$ sú všetky páry susediacich trojuholníkov, θ_{ij} je aktuálny uhol, ktorý zvierajú normály na plochy trojuholníkov i a j , θ_{ij}^0 je pôvodný uhol.

Hodnotu energie ohybu by bolo možné vyčíslieť podľa uvedených vzťahov z dát z nášho modelu. Mohli by sme však vykonať len kvalitatívne hodnotenie, t.j. porovnať relatívne zmeny energie počas určitej deformácie objektu.

Rozhodli sme sa využiť priamo náš model a definovali sme tzv. \mathcal{F} metriku, ktorá nám jednoduchým spôsobom umožňuje ohodnotiť, aký podiel na deformácii majú jednotlivé elastické moduly v našom simulačnom modeli. Označme ν bod trojuholníkovej siete a $\mathbf{F}_s(e_i)$ pôsobiacu silu pružnosti v danom bode ν od hrany e_i . Potom príspevok od modulu pružnosti v danom bode $\tilde{\mathbf{F}}_s(\nu)$ vypočítame ako vektorový súčet jednotlivých síl pružnosti:

$$\tilde{\mathbf{F}}_s(\nu) = \sum_{i=1}^n \mathbf{F}_s(e_i). \quad (2.21)$$

Počet sčítancov n v sume závisí od počtu hrán daného vrchola. Ak sčítame príspevky vo všetkých bodoch objektu, dostávame príspevok pružinového modulu pre celý objekt:

$$\mathcal{F}_s = \sum_{\nu} |\tilde{\mathbf{F}}_s(\nu)|. \quad (2.22)$$

Rovnaký postup použijeme aj pre ostatné moduly. Celkovú hodnotu \mathcal{F} metriky pre daný objekt v danom čase vypočítame ako sumu jednotlivých príspevkov od elastických modulov:

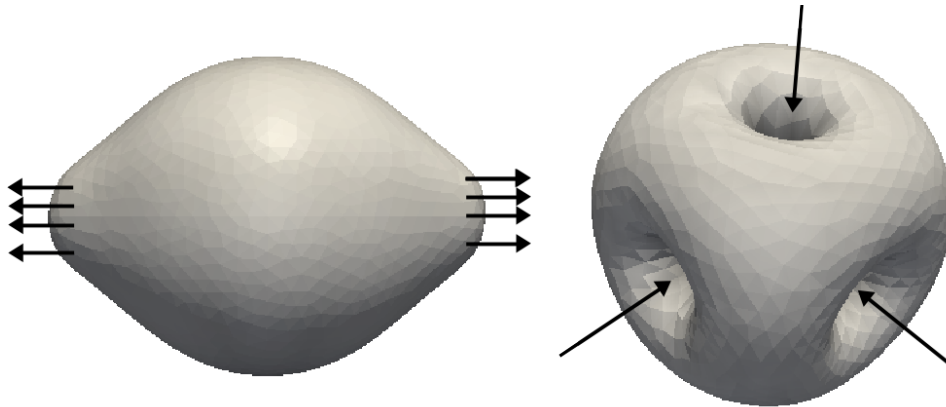
$$\mathcal{F} = \mathcal{F}_s + \mathcal{F}_b + \mathcal{F}_{al} + \mathcal{F}_{ag} + \mathcal{F}_v. \quad (2.23)$$

2.3.1 Porovnanie elastických modulov

Pre potvrdenie predpokladu, že hodnota \mathcal{F} metriky kvalitatívne popisuje energetický stav objektu sme spustili tri rôzne simulácie, pri ktorých sme rôznym spôsobom deformovali elastickú guľu. Sledovali sme, ako sa v čase mení hodnota jednotlivých príspevkov \mathcal{F} metriky, vypočítaných podľa vzťahu (2.21) a hodnota energie pružnosti, vypočítaná podľa vzťahu (2.17). Použili sme model gule s 1524 bodmi na povrchu, obrázok 2.2 vpravo. Hodnoty elastických koeficientov k_s , k_b , k_{al} , k_{ag} a k_v boli nastavené na rovnakú hodnotu 0.01, keďže nám išlo najmä o kvalitatívne ohodnotenie. Guľa bola umiestnená v homogénnej statickej tekutine, ktorá slúžila ako tlmič.

Prvou simuláciou bolo natiahovanie gule. Zvolili sme na povrchu gule dva protifaľé prstence, ktorých roviny boli kolmé na horizontálnu os gule. Do bodov siete, ktoré sa nachádzali v týchto prstencoch, sme nastavili pôsobenie rovnako veľkých externých síl v navzájom opačnom smere, obrázok 2.7 vľavo. V prvej časti simulácie uvedené externé sily spôsobili natiahnutie. V druhej časti sme ich pôsobenie "vypli", guľa sa začala vracat' do pôvodného tvaru a v tretej časti simulácie sme pôsobenie síl opäť zapli.

Na obrázku 2.8 je graf s časovým priebehom jednotlivých príspevkov \mathcal{F} metriky a energie pružnosti. V hornom grafe sú zobrazené všetky príspevky, vidíme, že príspevok od modulu ohybu je významne vyšší od ostatných. Preto je vykreslený aj spodný graf, kde je zmenšený rozsah na y -ovej osi. Príspevky \mathcal{F}_s (modul pružnosti), \mathcal{F}_b (modul ohybu), \mathcal{F}_{al} (modul zachovania lokálnej plochy), \mathcal{F}_{ag} (modul zachovania globálnej plochy) a E_s (energia pružnosti) majú rovnaký priebeh. V prvej časti simulácie pri natiahovaní ich hodnota rastie - narastá deformácia telesa, v druhej



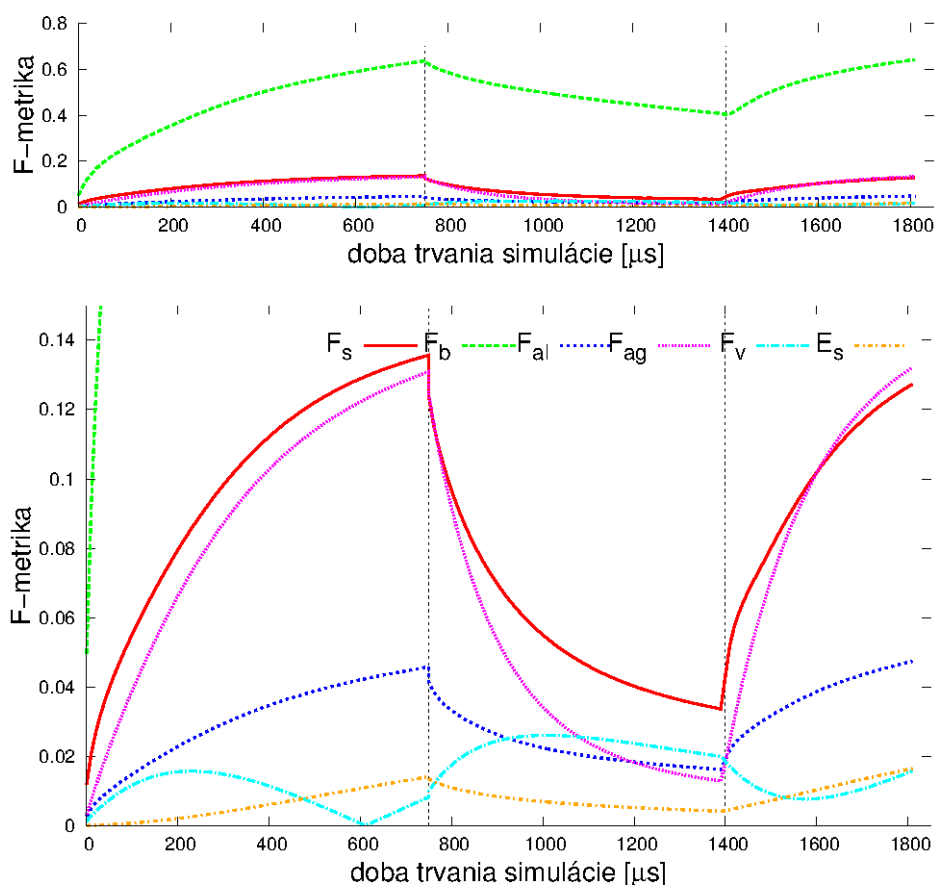
Obrázok 2.7: Vľavo natáhaná guľa silami pôsobiacimi v dvoch prstencoch bodov, vpravo stlačená guľa silami pôsobiacimi v 6 malých plochách na jej povrchu.

časti klesá - deformácia sa znižuje a opäť narastá v tretej časti. Príspevok \mathcal{F}_v (modul zachovania objemu) sa líši, zdanlivo nesúvisle s priebehom simulácie. Hodnota tohto príspevku závisí od zmeny objemu telesa. Ten pri natáhaní najskôr narastá, ako sa zväčšuje pozdĺžny priemer. Zároveň sa však znižuje priečný priemer a rozdiel medzi aktuálnym objemom a pôvodným sa znižuje, približne v čase $600\mu s$ má teleso pôvodný objem (samozrejme iný tvar), a preto $\mathcal{F}_v = 0$.

V druhej simulácii sme guľu stlačili pôsobením síl v niekoľkých bodoch na povrchu, ktoré boli umiestnené v 6 malých protifaľných plochách "vpredu" a "vzadu", "na vrchu" a "na spodku", "vpravo" a "vľavo" na povrchu gule, viď obrázok 2.7. Sily pôsobili v smere do ťažiska gule. Rovnako, ako v prvej simulácii, sme v prvej časti nechali sily pôsobiť, guľa sa zdeformovala. V druhej časti sme sily "vypli", guľa sa začala vracieť do pôvodného tvaru a v tretej časti sme sily opäť zapli, guľa sa opäť deformovala.

Na obrázku 2.9 je typovo rovnaký graf ako pre prvú simuláciu. Opäť je príspevok od modulu ohybu výrazne vyšší. V tejto simulácii sme to však očakávali, pretože v danom type deformácií gule dochádza k výraznej zmene tvaru, t.j. uhlov medzi trojuholníkmi siete na povrchu. Príspevky \mathcal{F}_s , \mathcal{F}_b , \mathcal{F}_{al} , \mathcal{F}_{ag} a E_s očakávane rastú, klesajú a opäť rastú. Príspevok \mathcal{F}_v sa líši. V prvej časti rastie, ale nie konkávne. Objem telesa sa v tejto časti simulácie znižuje, do \mathcal{F}_v však vstupuje len zmena objemu v absolútnej hodnote. V druhej časti simulácie príspevok neklesá, ale jemne rastie.

V poslednej simulácii sme guľu "nafukovali" pôsobením externých síl, ktoré pôsobili vo všetkých bodoch trojuholníkovej siete na povrchu a v danom bode mala

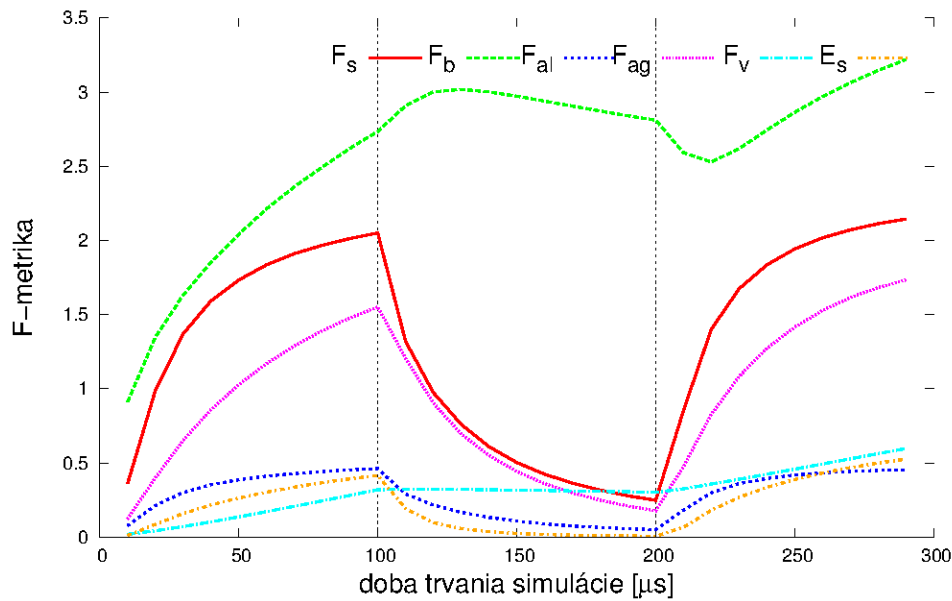


Obrázok 2.8: Vývoj v čase jednotlivých príspevkov \mathcal{F} metriky a energie pružnosti E_s pre simuláciu nafukovania. Grafy zobrazujú výsledky jednej simulácie, líšia sa rozsahom na y -ovej osi. Čiarkované zvislé čiary indikujú dobu, v ktorej boli pôsobiace sily "vypnuté" a opätovne "zapnuté".

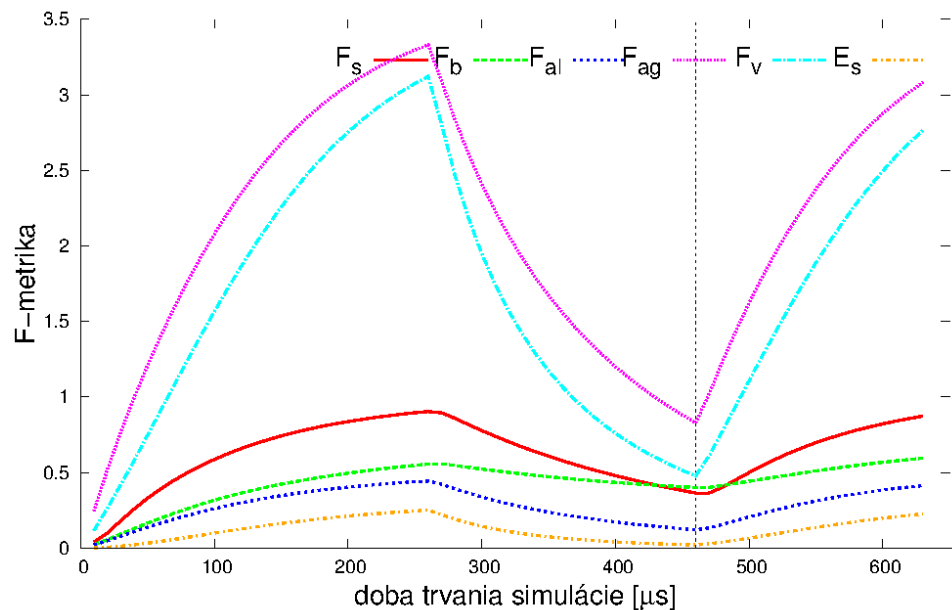
sila smer normály na povrch. Rovnako, ako v predchádzajúcich dvoch simuláciách, sme pôsobenie síl "zapli", "vypli" a opätovne "zapli".

Na obrázku 2.10 je typovo rovnaký graf ako pre prvú simuláciu. V tejto simulácii vidíme dominanciu príspevkov \mathcal{F}_{ag} a \mathcal{F}_v od globálnych modulov, keďže "nafukovaním" meníme hlavne celkový objem a plochu telesa. Na druhú stranu príspevok \mathcal{F}_b je od nich výrazne nižší, pri "nafukovaní" sa nemení významne tvar telesa, t.j. ani uhly medzi trojuholníkmi na povrchu.

Vo všetkých troch typoch simulácií príspevok E_s bol výrazne nižší ako \mathcal{F}_s , ale kvalitatívne si boli veľmi podobné. To nás oprávňuje na použitie \mathcal{F} metriky ako alternatívy ku kvalitatívnemu ohodnoteniu energetického stavu telesa, minimálne čo sa týka energie pružnosti. Ďalšie príspevky \mathcal{F} metriky sa správajú podľa našich



Obrázok 2.9: Vývoj v čase jednotlivých príspevkov \mathcal{F} metriky a energie pružnosti E_s pre simuláciu stláčania gule. Čiarkované zvislé čiary indikujú dobu, v ktorej boli pôsobiacie sily "vypnuté" a opätovne "zapnuté".

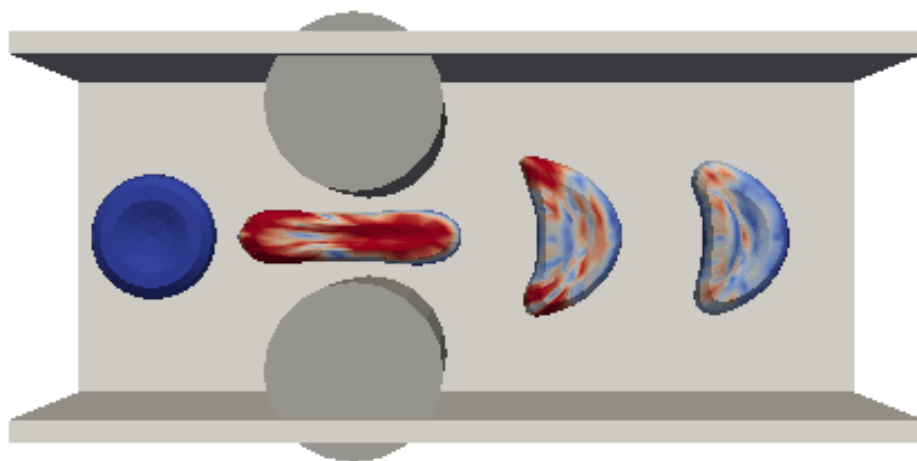


Obrázok 2.10: Vývoj v čase jednotlivých príspevkov \mathcal{F} metriky a energie pružnosti pre simuláciu nafukovania gule. Čiarkované zvislé čiary indikujú dobu, v ktorej boli pôsobiacie sily "vypnuté" a opätovne "zapnuté".

predpokladov.

Zaujímavým využitím \mathcal{F} metriky môže byť grafické zobrazenie jednotlivých prís-

pevkov alebo celkovej hodnoty \mathcal{F} . Poskytuje nám informáciu o lokálnom stave na povrchu. Ilustračne je uvedený obrázok 2.11. Bunka prechádza zúženou časťou kanála, dochádza k deformácii. Farby zodpovedajú príspevku \mathcal{F}_s metriky. Môžeme vidieť, že veľkosť príspevku (a teda aj veľkosť pôsobiacich síl pružnosti) sa mení a je rozložená nerovnomerne na povrchu. Po prejdení zúženým miestom sa deformácia objektu znižuje, rovnako aj hodnota \mathcal{F}_s .



Obrázok 2.11: Uvedený je ilustračný obrázok grafického využitia \mathcal{F} metriky. Bunka prechádza zúženou časťou kanála. Zafarbenie zodpovedá veľkosti príspevku \mathcal{F}_s od modrej najmenej po červenú najväčšiu.

3 Model červenej krvinky

Jedna z hlavných oblastí použitia nášho modelu je modelovanie toku RBC v mikrofluidickom zariadení. Je dôležité, aby náš model RBC bol tvarovo podobný biologickej RBC a elastické správanie sa bolo porovnateľné so správaním sa biologickej RBC.

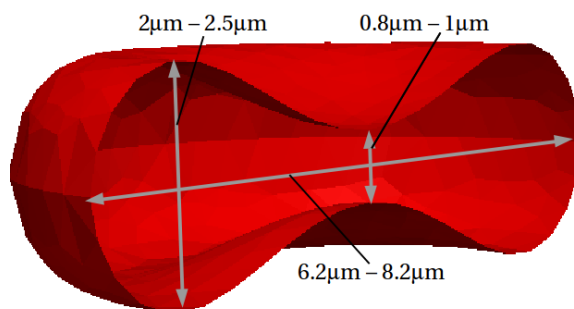
3.1 Biologická RBC

Červené krvinky sú dôležité, úzko špecializované krvné bunky. Nachádzajú sa v krvi všetkých stavovcov a ich hlavnou úlohou je prenos kyslíka z pľúc do tkanív a späťne oxidu uhličitého z tkanív do pľúc. RBC majú okrúhly až elipsovité diskovitý tvar. U rýb, obojživelníkov, hadov a vtákov majú jadro, u cicavcov sú to bezjadrové bunky bez väčšiny organel. Krvinky u cicavcov sú navyše v strede preliačené, ich tvar označujeme ako bikonkávny. Špeciálny tvar zvyšuje kontaktnú plochu na prenos plynov, zároveň sa predpokladá, že strata jadra umožnila lepšiu priľnavosť buniek ku tkanivám a tiež vyššiu elasticitu. Rozmery RBC sa u jednotlivých druhov líšia, pričom všeobecne platí, že čím menší druh, tým menšie krvinky a zároveň väčšie množstvo.

RBC sú u ľudí najpočetnejšie krvné bunky, resp. telieska. Spolu s bielymi krvinkami a krvnými doštičkami tvoria cca 41%-45% krvného objemu v pomere 600:1:40. Krvná plazma, ktorú môžeme na úrovni buniek považovať za homogénnu tekutinu, tvorí 55%. Ako bolo spomenuté vyššie, zdravé RBC majú bikonkávny tvar s priemerom v rozsahu $6.2\mu m - 8.2\mu m$ a hrúbkou približne $2\mu m - 2.5\mu m$, v strede s hrúbkou $0.8\mu m - 1\mu m$, vid' obrázok 3.1. Plocha povrchu RBC je približne $136\mu m^2$, objem $90fL(90 \cdot 10^{-18}m^3)$ a hmotnosť $110pg$. Membránu RBC tvorí viacero rôznych častí. Pre potreby tejto práce nám stačí vedieť, že súčasťou membrány je aj lipidová dvojvrstva so sieťou viacerých proteínov, ktoré tvoria akúsi nosnú konštrukciu membrány a sú zodpovedné za elastické správanie sa krvinky. Hlavný proteín tejto

3.1. BIOLOGICKÁ RBC

siete sa nazýva spektrín. Môžeme si ho predstaviť ako sieť pružín na povrchu membrány, ktoré sa môžu natahovať, stláčať a ohýbať pod vplyvom vonkajšej síly. Ak na bunku žiadne sily nepôsobia, sieť pružín vráti membránu bunky do pôvodného relaxovaného tvaru. RBC sa pri prechode úzkymi kapilárkami dokáže zdeformovať približne na polovicu svojho priemeru bez poškodenia membrány. [6, 8]



Obrázok 3.1: Rez membránou RBC s priemernými rozmermi biologickej bunky.

3.1.1 Stručný prehľad štúdií o biologickej RBC

V tejto kapitole je uvedený stručný prehľad štúdií biologickej RBC a experimentov *in vitro*, ktoré nás inšpirovali na začiatku štúdia.

V [48] autori popisujú cirkulujúce nádorové bunky - CTC v krvnom obeh, ich vznik a význam, resp. funkciu. V článku uvádzajú výsledky, z ktorých vyplýva, že existuje súvislosť medzi množstvom CTC buniek a veľkosťou nádoru a taktiež typom CTC a typom rakoviny. Efektívna detekcia týchto buniek v mikrofluidických zariadeniach môže slúžiť na skoré stanovenie diagnózy, charakterizovanie a monitorovanie nehematologických nádorov, bez invazívnych vyšetrení pacienta.

V [18, 19, 47] sú popísané experimenty s RBC *in vitro*, v ktorých natahovali RBC pomocou silikónových guľčiek prilepených na RBC. Bola známa pôsobiaca sila a boli zmerané zmeny tvaru RBC. Autori porovnávali správanie sa reálnej RBC pri natahovaní s ich predikciou tvaru RBC. Okrem iného uvažovali, že elastický koeficient pružnosti nie je konštanta, ale závisí od aktuálneho predĺženia. Ich predikcia tvaru RBC po natiahnutí bola v dobrej zhode s výsledkami z experimentov s biologickou RBC.

V [33] sa autori zaoberajú dynamikou RBC v mikrokapilárnom toku. Deformovateľnosť RBC hrá významnú rolu pri výmene kyslíka medzi krvou a tkanivom. V článku sa uvádza, že bolo vykonaných veľa štúdií *in vitro* správania sa toku RBC v mikrokapilárach v stabilnom stave - v lineárnom toku. V tomto článku sú popísané

experimenty in vitro s tokom RBC v kremíkových mikrokapilárach v Poiseuillovom toku. RBC nie sú štandardné bunky, neobsahujú jadro, ktoré je väčšinou tuhšie ako zvyšok bunky. Preto ich tvar môže byť významne zdeformovaný.

V [7] popisujú autori špeciálny pohyb RBC, tzv. tank-treading, kedy vonkajší obal - membrána RBC rotuje okolo vnútra RBC. K danému pohybu dochádza, keď je RBC v šmykovom toku, tzv. shear flow (bližšie v kapitole 3.2). V článku sú popísané experimenty s RBC in vitro, ktorá je držaná v šmykovom toku za rôznych vonkajších podmienok.

V [30] autor skúma tvarovú pamäť RBC. Ak je RBC vystavená šmykovému toku, tvar bunky sa zdeformuje a zároveň sa vonkajšia membrána posunie voči vnútru pri tank-treadingu. Po zastavení pôsobenia šmykového toku nadobudne RBC veľmi rýchlo svoj pôvodný bikonkávny tvar, rádovo do niekoľkých sekúnd. V článku je skúmaná tvarová pamäť bunky, čo znamená, že po tom ako sa bunka vráti do bikonkávneho tvaru, tank-treadingom sa membrána dotočí na pôvodné miesto na povrchu bunky. Tento pohyb, resp. návrat do pôvodného stavu, je pomalší, rádovo trvá niekoľko hodín.

3.1.2 Porovnanie modelu RBC s biologickou RBC

Bikonkávny tvar RBC je popísaný analytickou funkciou $z(x, y)$ v [25]:

$$z = \pm 0.5R_0 \left[1 - \frac{x^2 + y^2}{R_0^2}\right]^{0.5} \cdot \left[C_0 + C_1 \frac{x^2 + y^2}{R_0^2} + C_2 \left(\frac{x^2 + y^2}{R_0^2}\right)^2\right], \quad (3.1)$$

kde $R_0 = 3.91\mu m$ je priemerný pozdĺžny priemer bunky a hodnoty konštánt sú $C_0 = 0.207161$, $C_1 = 2.002558$ and $C_2 = -1.122726$.

Na pokrytie vybraného povrchu trojuholníkmi, tzv. triangulácia, je možné použiť viacero voľne dostupným softvérov. Siete použité v tejto práci boli vytvorené voľne dostupným softvér Gmsh [32].

Bikonkávny tvar elastického telesa s trojuholníkovou sieťou na povrchu v našom modeli môžeme dosiahnuť viacerými spôsobmi. Jedným z najjednoduchších je pokrytie gule pravidelnými trojuholníkmi a ich vrcholy premietnuť na povrch, ktorý je popísaný vzťahom (3.1). Táto triangulácia však má nepravidelnú hustotu bodov na povrchu. Ďalšou možnosťou je pokryť trojuholníkmi priamo povrch daný vzťahom (3.1). Tretia možnosť vychádza z faktu, že biologické RBC majú v prvotných štádiách guľový tvar, neskôr stratou určitého objemu sa ich tvar mení na bikonkávny.

Náš model umožňuje vytvorenie modelu RBC z gule postupným zmenšovaním objemu pri fixnom povrchu alebo postupným zväčšovaním povrchu pri fixnom objeme, bližšie v [16]. Sféru pokryjeme trojuholníkovou sieťou a následne ju vyfúkame alebo nafúkame. Modely RBC získané druhým a tretím spôsobom dosahujú porovnateľné výsledky, bližšie v [42].

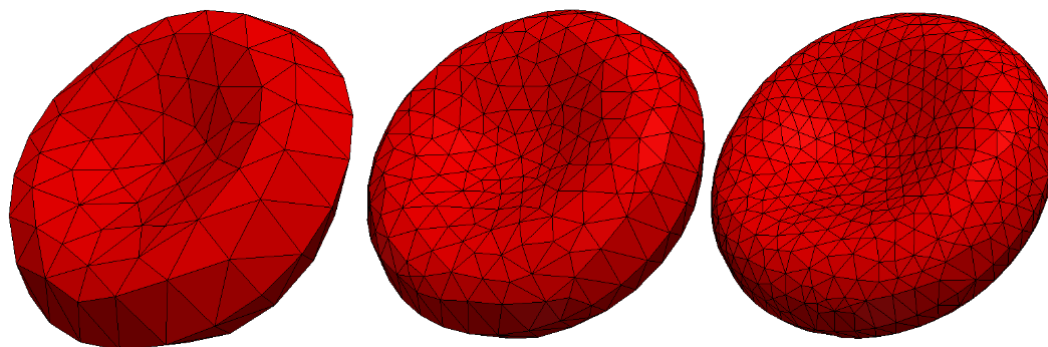
V simuláciách najčastejšie využívame modely RBC vytvorené druhým spôsobom, t.j. trojuholníkmi je pokrytý povrch vyjadrený analytickým tvarom podľa vzťahu (3.1). Jednotlivé objekty (bunky) môžeme generovať na rôznych pozíciách, s rôznym natočením a tým simulovať náhodné rozmiestnenie buniek v tekutine. V prípade, že chceme simulovať tekutinu s vysokým hematokritom, je vhodné použiť modely buniek vytvorené tretím spôsobom. Vo zvolenom simulačnom boxe vygenerujeme elastické objekty v tvare gule, ktoré sa môžu aj čiastočne prekrývať. V ďalšom kroku budeme zväčšovať ich povrch do požadovanej hodnoty. Jednotlivé objekty dosiahnu bikonkávny tvar a vzájomnou interakciou sa deformujú, čím získame vysoký hematokrit a zároveň náhodné usporiadanie aj deformácie jednotlivých objektov - buniek, tak ako v biologických experimentoch.

Porovnanie geometrických parametrov modelov RBC pre rôzny počet bodov na povrchu je uvedené v tabuľke 3.1. So zvyšujúcou sa hustotou siete, t.j. s jemnejšou diskretizáciou povrchu sa globálne parametre (objem a povrch) blížia k priemerným hodnotám biologickej RBC. Zároveň platí, že priemerná dĺžka hrán a plocha trojuholníkov sa významne mení, kým priemerná veľkosť uhlov nie.

Obmedzením pri voľbe hustoty siete, t.j. počtu bodov na povrchu je pomer medzi priemernou dĺžkou hrany elastického objektu a dĺžkou hrany mriežky tekutiny. Objekt aj tekutina sú diskretizované do vrcholov (bodov), ktoré navzájom interagujú. Tieto vrcholy sú v navzájom rôznych sieťach. Pre tekutinu máme pravidelnú kubickú sieť (mriežku), pre objekty je to nepravidelná trojuholníková sieť na povrchu objektu. V tejto práci sú uvedené simulácie s priestorovým krokom, t.j. vzdialenosťou dvoch bodov tekutiny, rovným $1\mu m$. Priemerné dĺžky hrán trojuholníkovej siete objektu sú uvedené v tabuľke 3.1. V prípade, že v jednej kocke tekutiny sa nachádza príliš veľa vrcholov objektu (sieť je príliš hustá), ich interakcia je problematická a dochádza k nefyzikálnemu správaniu sa modelu. Problém nastáva aj v opačnom prípade, ak sieť objektu je riedka.

Náš model RBC tvorí vlastne len model membrány RBC. Pri biologickej RBC má vnútro bunky iné fyzikálne vlastnosti (hustota, viskozita) ako okolitá krvná plazma. V prípade nášho modelu vo vnútri elastického objektu sa nachádza tá istá tekutina

ako v jeho okolí. Určenie hmotnosti objektu, ktorá vstupuje ako parameter do simulácií, preto nie je triviálna záležitosť, bližšie je popísaná v [39]. V simuláciách je potom zadávaná len hmotnosť membrány bunky (objektu). Pre model RBC je vypočítaná hmotnosť membrány $8.4pg$. Táto hmotnosť je rovnomerne rozpočítaná na jednotlivé body - častice, tvoriace trojuholníkovú sieť na povrchu objektu.



Obrázok 3.2: Vľavo model RBC so 141 bodmi na povrchu, uprostred s 374 bodmi a vpravo so 786 bodmi na povrchu.

počet vrcholov	141	374	786
počet Δ	278	744	1568
počet hrán	417	1116	2352
max. priemer [μm]	7.92	7.82	7.82
priemerná dĺžka hrany [μm]	1.06	0.65	0.45
priemerná veľkosť uhla (medzi 2 Δ) [rad]	2.96	3.03	3.06
priemerná veľkosť plochy Δ [μm^2]	0.47	0.18	0.09
objem [μm^3]	86.41	90.74	92.48
plocha [μm^2]	129.5	132.9	134.1

Tabuľka 3.1: Základné geometrické parametre modelov RBC, ktoré sa líšia počtom bodov na povrchu.

3.2 Analýza správania sa buniek v šmykovom toku

Naším modelom vieme zachytiť zmeny celkového povrchu, objemu a tvaru bunky, resp. elastického objektu. Zároveň máme informáciu o tom, čo sa deje na lokálnej úrovni. To znamená, že vieme sledovať zmenu dĺžok jednotlivých hrán trojuholníkov, zmenu uhlov, ktoré zvierajú susedné trojuholníky a zmenu veľkosti plochy jednotlivých trojuholníkov, ktoré sú v sieti na povrchu objektu.

3.2. ANALÝZA SPRÁVANIA SA BUNIEK V ŠMYKOVOM TOKU

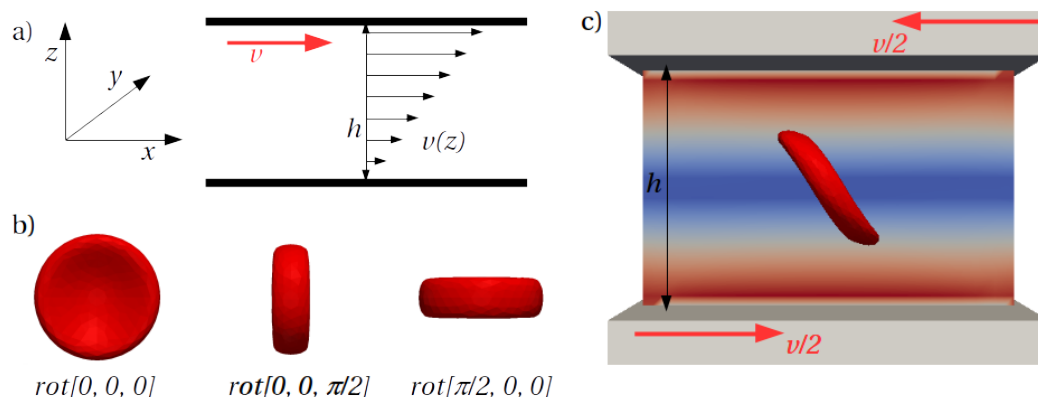
V experimentoch s biologickými bunkami sa zvyčajne experimentuje s daným objemom buniek a výstupom sú štatistické údaje typu: "pri zvolenej záťaži došlo k deštrukcii $X\%$ zo všetkých buniek". V tomto zmysle sme našli v [26] informáciu, že pri relatívnej zmene povrchu RBC o 4% dochádza k okamžitej deštrukcii - roztrhnutiu bunky a pri dlhodobejšej zmene o 2% taktiež môže dôjsť k deštrukcii bunky. Zaujímalo nás, čo sa deje na lokálnej úrovni. Ako sa v našom modeli relatívne zmení plocha jednotlivých trojuholníkov, ak celková plocha sa zmení o 4% ? Analógiou nám môže byť nafúknutý balón, ktorý v strede stlačíme. Celkový povrch sa nemusí výrazne zmeniť, ale budú existovať lokálne plochy, ktoré sa významne zväčšili.

K poškodeniu alebo až k deštrukcii RBC môže dochádzať v umelých zariadeniach, kde sú bunky vystavené väčšiemu napätiu, a teda aj natiahnutiu, ako nastáva v cievach. Chceli sme preskúmať, k akým deformáciám dochádza, keď na bunku pôsobí určité napätie. Relatívne jednoduché riešenie je umiestniť bunku do tzv. Couette-ovho (šmykového) toku. Pod týmto pojmom sa označuje laminárny tok tekutiny medzi dvoma rovnobežnými rovinami, pričom jedna sa voči druhej pohybuje danou rýchlosťou, náčrt je uvedený na obrázku 3.3 a). Rýchlosť toku sa lineárne mení s výškou od nulovej hodnoty po rýchlosť hornej platne. Vo zvolenej vodorovnej rovine je veľkosť rýchlosti konštantná. Šmykové napätie τ [Pa] v kanáli môžeme vypočítať ako $\tau = \mu \cdot \frac{\partial v(y)}{\partial y} = \mu \cdot \frac{v}{h}$, kde μ [Pa · s] je dynamická viskozita tekutiny, v [m/s] rýchlosť hornej platne, h [m] vzdialenosť platní (definícia A.2).

Skúmali sme vplyv počiatočného natočenia RBC, vplyv zmeny rýchlosti platní, t.j. zmeny šmykového toku v kanáli a zmeny hodnoty elastického koeficientu k_{ag} pre zachovanie celkovej plochy na ďalší vývoj tvaru, resp. deformácie bunky v toku.

V tejto kapitole pod plošným natiahnutím rozumieme relatívnu odchýlku aktuálnej celkovej plochy bunky od počiatočnej hodnoty. Zaznamenávaná bola len kladná odchýlka, t.j. natiahnutie. Predpokladáme, že najmä natiahnutie má vplyv na poškodenie membrány, kým stlačenie vplyv nemá, resp. jeho vplyv je zanedbateľný voči natiahnutiu. Kritickým šmykovým napätím τ_{krit} budeme nazývať napätie, pri ktorom dosiahne plošné natiahnutie kritickú hodnotu 4% . Zmena napätia bolo nastavovaná zmenou rýchlosti toku tekutiny v kanáli.

Všetky výsledky v tejto kapitole majú len kvalitatívny charakter, keďže uvedená analýza bola vykonaná pred kalibráciou modelu RBC. V budúcnosti bude vhodné túto analýzu zopakovať s modelom s nakalibrovanými elastickými koeficientami.



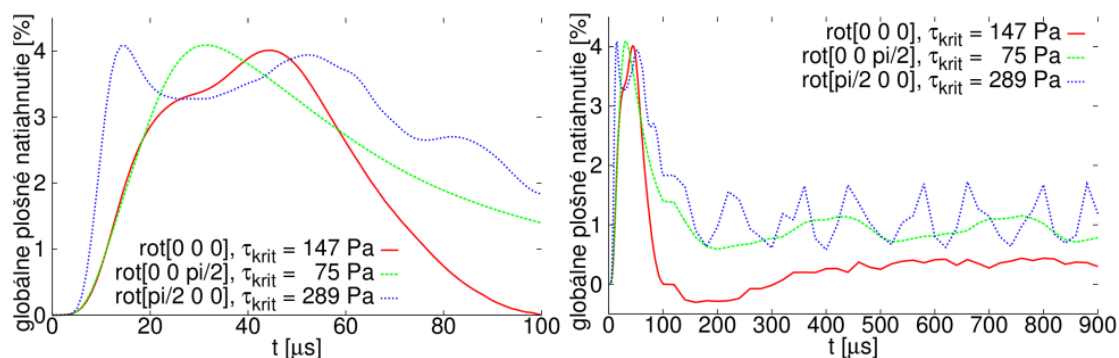
Obrázok 3.3: V a) je náčrt Couette-ovho toku v kanáli, kde horná platňa sa pohybuje rýchlosťou v a spodná sa nehýbe. Vnútri kanála je rýchlosť toku funkcia výšky z . V b) sú zobrazené zvolené natočenia RBC vzhľadom na smer toku tekutiny a k nim prislúchajúce označenia. V c) je zobrazená samotná simulácia RBC v šmykovom toku. Obe platne sa navzájom opačne pohybujú rýchlosťou $v/2$. Farba tekutiny zodpovedá jej rýchlosti od červenej - najväčšej hodnoty po modrú - najmenšiu.

3.2.1 Návrh simulácie

V simulácii sme do stredu kanála so štvorcovým prierezom umiestnili jednu RBC, viď obrázok 3.3 c). Napätie τ je úmerné rozdielu rýchlostí dvoch platní. To isté šmykové napätie dosiahneme, ak miesto jednej statickej platne a druhej platne s rýchlosťou v budeme uvažovať, že obe platne sa hýbu rýchlosťou $v/2$ v navzájom opačnom smere, viď obrázok 3.3 c). V tomto prípade sa bunka nebude v kanáli pohybovať, takže nie je nutné voliť dlhý simulačný box. Výška kanála bola $h = 14\mu\text{m}$, s homogénnou tekutinou s hustotou $\rho = 1000\text{kg}/\text{m}^3$ a viskozitou $\mu = 0.0015\text{Pa} \cdot \text{s}$. Zvolené rýchlosti boli v rozmedzí od $0.35\text{m}/\text{s}$ do $2.1\text{m}/\text{s}$. Stred bunky bol vycentrovaný na stred kanála, zvolený bol model so 601 bodmi a 1198 trojuholníkmi na povrchu s rozmermi $6\mu\text{m} \times 6\mu\text{m} \times 2\mu\text{m}$. Analyzované boli tri význačné natočenia (rotácie) bunky vzhľadom na súradnicovú sústavu a smer toku tekutiny, náčrt spolu so zvoleným označením je na obrázku 3.3 b). Natočenie $\text{rot}[0, 0, 0]$ je v smere toku a zvislo. Natočenie $\text{rot}[0, 0, \pi/2]$ je kolmo na tok a zvislo, vzniklo z prvého natočenia otočením bunky okolo z -ovej osi. V natočení $\text{rot}[\pi/2, 0, 0]$ je bunka umiestnená vodorovne, vzniklo z prvého natočenia otočením bunky okolo x -ovej osi.

3.2.2 Správanie sa buniek v šmykovom toku

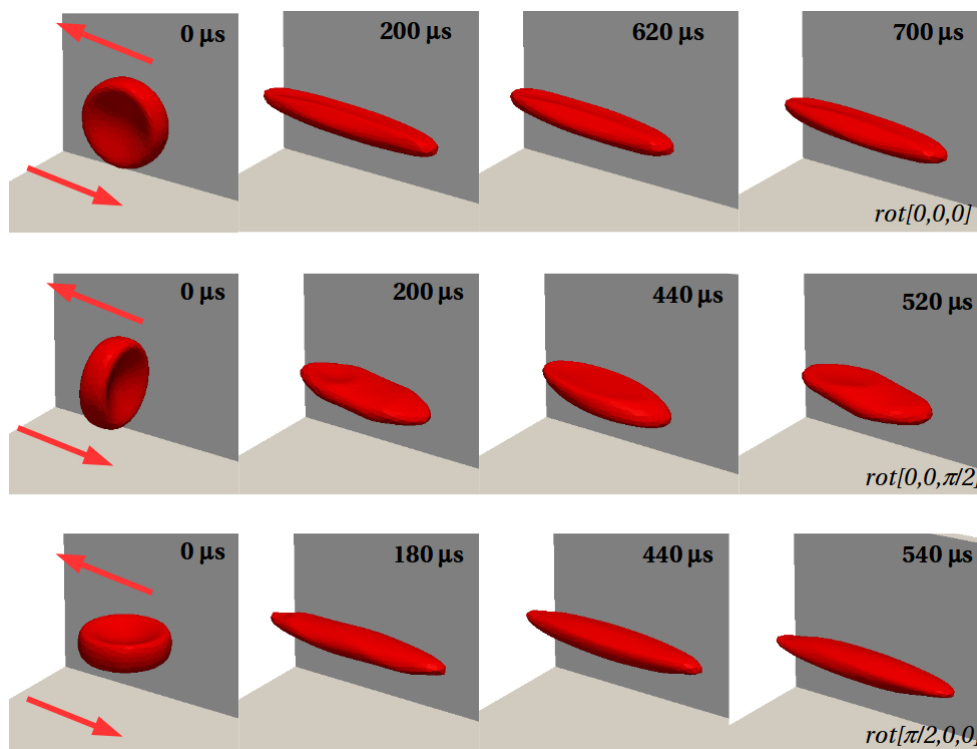
Na začiatok nás zaujímalo, ako sa v čase mení plošné natiahnutie bunky. V úvodnej kapitole sme uviedli hraničnú hodnotu relatívnej zmeny celkovej plochy 4%. Analyzovali sme, pri akom šmykovom toku dosiahne bunka túto hraničnú hodnotu. Okrem iného sme zistili, že správanie sa buniek v šmykovom toku závisí od jej počiatočnej rotácie vzhľadom na smer toku. Na obrázku 3.4 sú dva grafy zmeny plošného natiahnutia v čase. V oboch grafoch sú uvedené výsledky z tých istých simulácií, vľavo je detailné krátke časové okno, vpravo je zobrazený dlhý časový úsek. Pre každé natočenie bunky je zobrazená hodnota šmykového napätia τ pre dosiahnutie kritického natiahnutia. Vo všeobecnosti sa bunka najprv prudko natiahne na začiatku simulácie - graf vľavo. Kritickú hodnotu natiahnutia dosiahne pre rôzne natočenia v rôznom čase a pri významne rôznej hodnote šmykového napätia. Následne natiahnutie poklesne a bunka začne v toku rotovať. Pri rotácii sa periodicky mení relatívne plošné natiahnutie ako vidno na grafe vpravo. To znamená, že sa bunka nedostane do stabilného rovnovážneho stavu. Amplitúda a perióda zmien závisí opäť od počiatočného natočenia bunky.



Obrázok 3.4: Vľavo je zobrazená relatívna odchýlka globálnej plochy - plošného natiahnutia v čase pre rôzne počiatočné natočenia bunky. Vpravo je ten istý graf, ale pre dlhšie časové okno.

Na obrázku 3.5 sú vyobrazené zmeny tvaru bunky počas simulácie v závislosti na čase a počiatočnom natočení. Čísla pri jednotlivých obrázkoch znamenajú približný čas v μs , totožný s časom na x -ovej osi v grafoch na obrázku 3.4. Prvý stĺpec zobrazuje počiatočné natočenia buniek, v druhom stĺpci je zobrazený tvar zhruba v okamihu dosiahnutia lokálneho minima po prvotnom maximálnom natiahnutí, tretí a štvrtý stĺpec zobrazujú tvar v lokálnom maxime a v minime, ktoré sa periodicky opakujú. Tvar bunky v okamihu dosiahnutia maximálneho plošného natiahnutia je

zobrazený na obrázku 3.9. Jednotlivé riadky prislúchajú vždy jednému natočeniu, červené šípky znázorňujú smer toku tekutiny.



Obrázok 3.5: Tvar bunky v toku v rôznom čase a pre rôzne natočenia. Obrázky a zaznačené časy zodpovedajú postupne tvaru na začiatku simulácie, v okamihu dosiahnutia minima (po predchádzajúcom globálnom maxime), v okamihu dosiahnutia lokálneho maxima a minima. Posledné dva tvary sa periodicky opakujú. Tvary prislúchajú k simuláciám, ktorých výsledky sú zobrazené v grafe na obrázku 3.4. Červené šípky znázorňujú smer toku tekutiny.

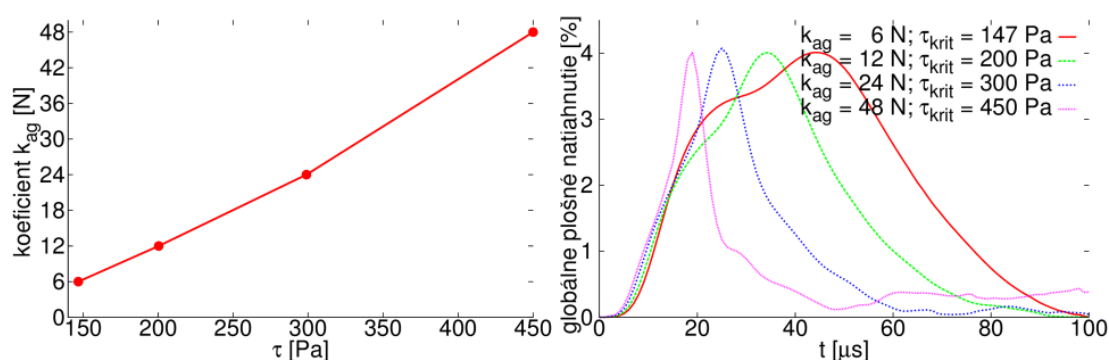
Uvedenými výsledkami simulácií sme potvrdili, že natočenie bunky vzhľadom na smer toku tekutiny má významný vplyv na jej deformáciu v toku, t.j. na zmenu tvaru aj na relatívnu zmenu veľkosti povrchu.

3.2.3 Analýza citlivosti buniek

Chorá RBC, napríklad napadnutá parazitom, má výrazne vyššiu tuhosť ako zdravá RBC [17]. Zaujímalo nás, ako sa zmení závislosť plošného natiahnutia od šmykového napätia, ak zvýšime tuhosť nášho modelu RBC. Analyzovali sme len zmenu celkovej plochy, menili sme preto len hodnotu koeficientu k_{ag} , ostatné elastické koeficienty zostali fixované. Zvolili sme len jedno natočenie bunky $rot[0,0,0]$.

3.2. ANALÝZA SPRÁVANIA SA BUNIEK V ŠMYKOVOM TOKU

Ako prvé sme zvolili štyri rôzne hodnoty k_{ag} , nasledujúca hodnota bola vždy dvojnásobok predchádzajúcej. Pre každú hodnotu k_{ag} sme našli šmykové napätie τ_{krit} , pri ktorom dosiahla bunka maximálne plošné natiahnutie 4%. Na obrázku 3.6 v grafe vľavo je zobrazená závislosť τ_{krit} od k_{ag} . Vidíme, že je takmer lineárna. Znamená to, že čím je bunka tuhšia (tuhosť rastie so zvyšovaním k_{ag}), tým je nutné väčšie napätie na dosiahnutie rovnakého plošného natiahnutia. Na obrázku vpravo vidíme, ako sa v daných simuláciách vyvíjala zmena plošného natiahnutia. Z grafu vyplýva, že čím je bunka tuhšia a pri vyššom šmykovom napätí, je maximálne natiahnutie dosiahnuté skôr a zároveň rýchlejšie poklesne.

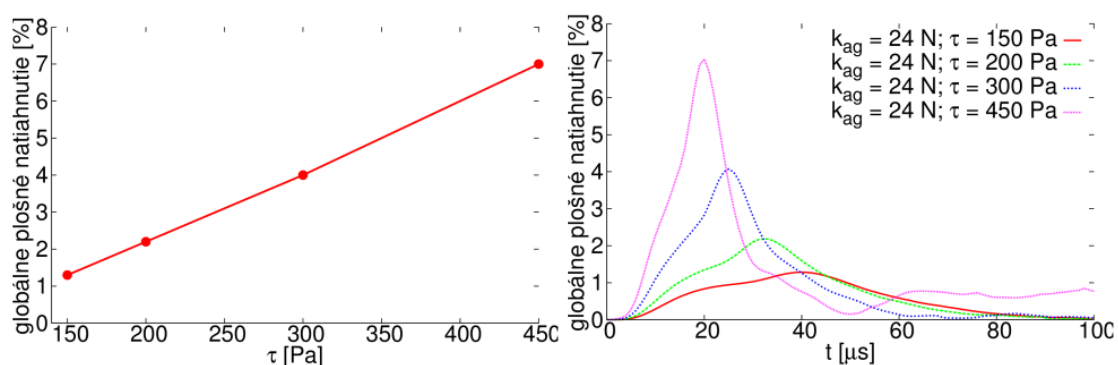


Obrázok 3.6: Vľavo sú v grafe zobrazené hodnoty τ_{krit} , potrebné pre dosiahnutie kritického natiahnutia pre nastavené k_{ag} . Vpravo je zmena plošného natiahnutia v čase pre rôzne hodnoty k_{ag} a k nim prislúchajúce τ_{krit} .

Je pravdepodobné, že pre rôzne typy buniek, bude hodnota kritického plošného natiahnutia rôzna. Preto sme v ďalšom kroku analyzovali, ako sa zmení hodnota maximálneho natiahnutia pri zmene šmykového napätia pri fixovanej hodnote k_{ag} . Na obrázku 3.7 vľavo je zobrazená závislosť maximálneho plošného natiahnutia od šmykového napätia. Vidíme, že rovnako ako v predchádzajúcom prípade, je takmer lineárna. Znamená to, že čím vyššie šmykové napätie, tým väčšie plošné natiahnutie, resp. deformácia bunky. Vpravo je zobrazený priebeh plošného natiahnutia v čase pre rôzne šmykové napätie. Čím vyššie napätie, tým skôr a väčšie je maximálne natiahnutie dosiahnuté. Zároveň vidíme, že pri vyššom napätí je nielen nárast, ale aj pokles natiahnutia strmší.

3.2.4 Analýza lokálneho napätia

Náš model umožňuje sledovanie aj lokálnych zmien objektov. V ďalšej analýze sme sa zamerali na relatívne zmeny plochy jednotlivých trojuholníkov na povrchu



Obrázok 3.7: Vľavo je v grafe zobrazená závislosť maximálneho plošného natiahnutia od šmykového napätia τ . Vpravo je zmena plošného natiahnutia v čase pre dané k_{ag} a rôzne τ .

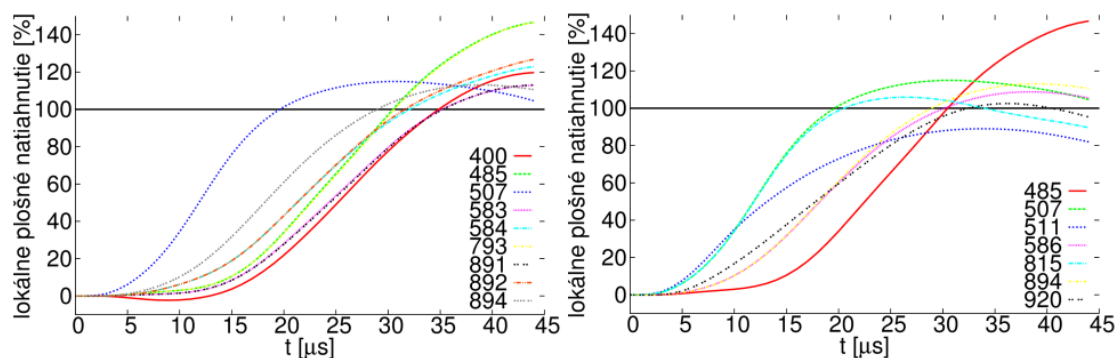
bunky. K analýze sme zvolili natočenie bunky $rot[0,0,0]$, najnižšie použité k_{ag} a τ_{krit} . Dĺžku trvania simulácie sme obmedzili po dosiahnutí maximálneho plošného natiahnutia, keďže z predchádzajúcich dvoch kapitol vidíme, že ku maximálnemu plošnému natiahnutiu dochádza na začiatku simulácie.

Ako už bolo písané v úvodnej kapitole 3.2, v štúdiu [26] je uvedené, že k roztrhnutiu bunky môže dôjsť okamžite pri prekročení 4% hranice alebo po určitom čase, keď trvá 2% plošné natiahnutie. V súlade s tým sme definovali dve rôzne poškodenia membrány. Prvým je okamžité poškodenie membrány ε_{imm} (z anglického immediate membrane degradation). Sleduje sa len okamžitá relatívna zmena lokálnej plochy (v našom prípade zmena plochy jednotlivých trojuholníkov). Doba pôsobenia, resp. trvanie natiahnutia, nemá vplyv na ε_{imm} . Druhým je kumulatívne poškodenie membrány Υ , ktoré berie do úvahy aj dĺžku trvania natiahnutia. Definovali sme ho ako $\Upsilon = \sum_{time} \varepsilon_{imm}^{\Delta}$, pre daný trojuholník Δ sme sčítavali jeho okamžité relatívne natiahnutie ε_{imm} počas trvania simulácie $time$.

Napriek tomu, že globálne (celkové) plošné natiahnutie bunky dosiahlo maximálne 4%, lokálne časti povrchu bunky (membrány) sa natiahli významne viac. Zaznamenali sme niekoľko trojuholníkov, ktorých plocha sa zväčšila o 100%. Nemáme k dispozícii žiadne údaje z biologických experimentov o kritickom lokálnom natiahnutí membrány, preto sme vyhodnotili najviac natiahnuté, resp. poškodené trojuholníky v zmysle okamžitého ε_{imm} a kumulatívneho poškodenia Υ . Na obrázku 3.8 sú v grafoch zobrazené relatívne odchýlky aktuálnej lokálnej plochy od počiatočnej hodnoty pre vybrané trojuholníky v čase. Vľavo sú to krivky pre trojuholníky, ktorých okamžité natiahnutie ε_{imm} počas simulácie prekročilo 100%. Vpravo sú hodnoty pre trojuholníky, ktorých hodnota Υ bola väčšia ako 90% z maximálnej

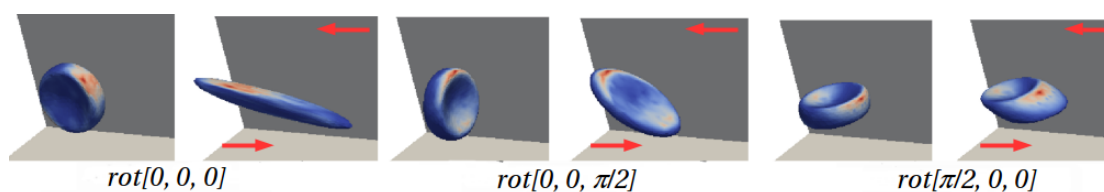
3.2. ANALÝZA SPRÁVANIA SA BUNIEK V ŠMYKOVOM TOKU

dosiahnutej hodnoty. Treba pripomenúť, že rovnako, ako v prípade analýzy globálneho natiahnutia, aj v tomto prípade sme uvažovali len s kladnou zmenou plochy, t.j. natiahnutím. Zmenšenie, stlačenie sme zanedbávali. V oboch grafoch je čiernou priamkou znázornená hranica natiahnutia o 100%, v legende sú zaznačené identifikačné čísla jednotlivých trojuholníkov. Vidíme, že tretina trojuholníkov z prvej skupiny sa nachádza aj v druhej skupine. Môžeme z toho usúdiť, že oba spôsoby hodnotenia lokálneho poškodenia by mohli byť v budúcnosti použité, prípadne nejaká ich kombinácia.



Obrázok 3.8: Priebeh relatívnej zmeny lokálneho plošného natiahnutia v čase pre vybrané trojuholníky na povrchu bunky. Trojuholníky sú určené ich identifikačným číslom. Vľavo krivky pre 9 trojuholníkov, ktorých relatívna zmena plochy ε_{imm} počas simulácie prekročila 100%. Vľavo krivky pre 7 trojuholníkov s najväčšou hodnotou Υ - kumulatívnou zmenou plochy.

Na obrázku 3.9 sú zobrazené bunky z rovnakých simulácií, ako na obrázku 3.5. Pre dané natočenie je zobrazený tvar bunky na začiatku simulácie a v okamihu dosiahnutia kritického plošného natiahnutia. Červenými šípkami je znázornený smer toku tekutiny. Tento okamih nastane v rôznom čase pre rôzne natočenia, ako vyplýva aj z grafu na obrázku 3.4. Zafarbenie membrány na obrázku reprezentuje hodnoty Υ pre jednotlivé trojuholníky od najnižšej modrej po najvyššiu červenú. Týmto spôsobom vieme lokalizovať najviac natiahnuté (deformované) oblasti. Zafarbenie na obrázkoch pre začiatok simulácie zodpovedá hodnotám Υ v okamihu dosiahnutia kritického natiahnutia. Takto vieme, kde sa nachádzali najviac natiahnuté trojuholníky, resp. oblasti na začiatku simulácie. Tieto najviac natiahnuté oblasti sú vždy dve, symetricky umiestnené oproti sebe, tak ako je symetrická rýchlosť toku tekutiny v kanáli. Pre rôzne natočenia bunky sa nachádzajú v rovnakých častiach membrány vzhľadom na tok tekutiny.



Obrázok 3.9: Pre každé počiatkové natočenie bunky je uvedený obrázok pre jej tvar na začiatku simulácie a v okamihu dosiahnutia kritického plošného natiahnutia. Vyfarbenie zodpovedá hodnote Υ pre jednotlivé trojuholníky od najnižšej modrej po najvyššiu červenú v okamihu kritického natiahnutia. Červené šípky znázorňujú smer toku tekutiny.

3.3 Kalibrácia

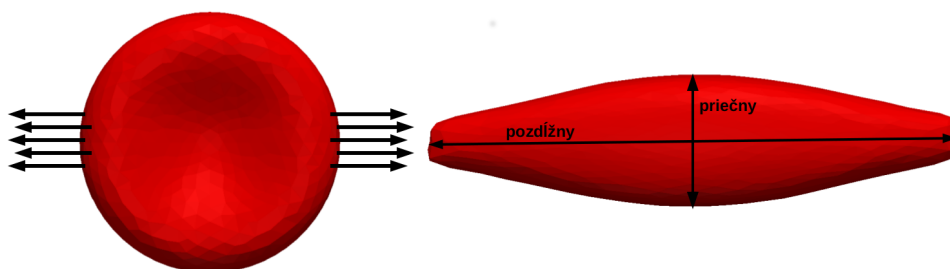
Kalibráciou môžeme chápať proces, pri ktorom sa snažíme nastaviť náš model (nástroj, prístroj) tak, aby zodpovedal vybranému štandardu, resp. etalónu. V našom prípade pôjde o kalibráciu elastických koeficientov modelu RBC tak, aby výsledky simulácií boli porovnateľné s pozorovanými výsledkami z experimentov s biologickou RBC.

3.3.1 Kalibrácia modelu RBC

Pre kalibráciu modelu RBC sme použili výsledky tzv. ťahovacieho experimentu s biologickou RBC, ktorý je popísaný v [18, 19]. Jednoduchý popis experimentu je nasledovný: na opačné strany membrány bunky boli prilepené dve silikónové guľôčky. Jedna z nich bola pevne uchytená, druhú ťahali externou silou známej veľkosti. Meraná bola zmena pozdĺžneho a priečneho priemeru bunky. Experiment bol opakovaný pre viaceré hodnoty sily a opakovane bol vykonaný pre rôzne červené krvinky.

Uvedený biologický experiment sme zopakovali v našom modeli *in silico*. Model bunky so zvolenou trianguláciou sme umiestnili do homogénnej statickej tekutiny, ktorá v tomto prípade plnila len úlohu tlmieča. Na povrchu bunky sme zvolili body, v ktorých boli aplikované externé sily. Tieto body sa nachádzali v dvoch prstencoch na opačných stranách bunky, ktorých polomer bol približne $2\mu\text{m}$, čo zodpovedá polomeru guľôčok z biologického experimentu. Množstvo bodov v prstencoch bolo zhruba 8% zo všetkých bodov siete. Súčet aplikovaných síl v jednotlivých bodoch zodpovedal hodnote celkovej sily z experimentu. Náčrt simulácie je na obrázku 3.10.

Následne sme zvolili sadu piatich hodnôt elastických koeficientov a bunku natiah-



Obrázok 3.10: Naťahovanie RBC. Vľavo je začiatok simulácie, bunka bola naťahovaná aplikovaním sily v niekoľkých bodoch siete na povrchu bunky, znázornené sú čiernymi šípkami. Vpravo je tvar bunky v relaxovanom stave na konci simulácie, pôsobiace sily sú v rovnováhe. Merané boli znázornené priemery.

li zvolenou silou. Po dosiahnutí rovnováhy, t.j. bunka prestala meniť tvar, sme zaznamenali hodnotu pozdĺžneho a priečného priemeru. Krok sme zopakovali pre ďalšie hodnoty sily a výsledky zaznamenali do grafu ako závislosť zmeny priemerov od aplikovanej sily. Následne sme "naťahovacie" simulácie zopakovali pre inú sadu elastických koeficientov. Výsledky sme porovnali s experimentálnymi dátami. Na kvantitatívne ohodnotenie, ako dobre kopírujú dáta zo simulácií experimentálne dáta, sme použili súčet najmenších štvorcov chyby, konkrétne sme zaviedli veličinu SE (z anglického square errors):

$$SE = \sum_i ((d_i^a - e_i^a)^2 + (d_i^b - e_i^b)^2), \quad (3.2)$$

kde d_i^a je finálna hodnota pozdĺžneho priemeru a d_i^b je finálna hodnota priečného priemeru zo simulácie pre i -tu aplikovanú silu, e_i^a a e_i^b sú zodpovedajúce hodnoty z experimentov.

3.3.1.1 Algoritmus

Pre vybranú trianguláciu, resp. sieť s vybraným množstvom bodov bol zvolený počiatočný rozsah elastických koeficientov. Tento rozsah je zdola ohraničený nulou. Horná hranica bola určená spustením niekoľkých "naťahovacích" simulácií, pri ktorých bol nenulový len koeficient pre modul pružnosti a postupne zvlášť každý ďalší koeficient. Zaznamenávalo sa, kedy si model objektu ešte zachová integritu. Pre algoritmus kalibrácie boli do počiatočného setu koeficientov zvolené stredy z týchto rozsahov.

Vzhľadom na skúsenosti z predchádzajúcej kapitoly 3.2 sme požadovali, aby

okamžitá relatívna zmena celkovej plochy a objemu bola menšia 2 %. Táto hodnota bola kontrolovaná počas procesu naťahovania a v prípade, že bola prekročená, simulácia sa ukončila a daný set koeficientov bol označený za nevyhovujúci.

Samotný algoritmus pre vykonanie kalibrácie modelu RBC, t.j. nájdenie takého setu elastických koeficientov, pre ktorý hodnota SE nadobúda minimum, sa skladá z troch častí:

- *hrubá kalibrácia* - bol zvolený počiatočný set elastických koeficientov. Pre každú kombináciu 4, 2, 1, 0.5 a 0.25 -násobku koeficientov sme spustili sadu simulácií, to znamená spolu 5^5 sád. V tomto prípade pod sadou simulácií sú myslené simulácie pre jeden set koeficientov, ale pre viacero hodnôt aplikovanej externej sily. Následne sa zvolil set koeficientov s najnižšou hodnotou SE .

- *analýza senzitivity* - analýza slúžila na overenie senzitivity, resp. citlivosti zmeny hodnoty SE pri zmene jednotlivých koeficientov. Pre analýzu sme zvolili set koeficientov, pri ktorých bola SE minimálna v hrubej kalibrácii. Spustili sme ďalšie sady simulácií, v ktorých sme menili vždy len jeden koeficient, pričom zvyšné 4 zostali fixované. Pre 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2 -násobky zvoleného koeficientu sme opäť spustili sadu simulácií, vypočítané odchýlky SE v % od minimálnej hodnoty SE z hrubej kalibrácie sú uvedené v tabuľke 3.2. Čím menšia hodnota v tabuľke, tým sa výsledky simulácií pre zmenený set koeficientov menej líšili od pôvodných. Z nameraných a vypočítaných hodnôt vyplýva, že model RBC je veľmi citlivý na zmenu koeficientov k_s a k_b v porovnaní s ostatnými koeficientami. Preto v ďalšom kroku sme menili len hodnoty k_s a k_b .

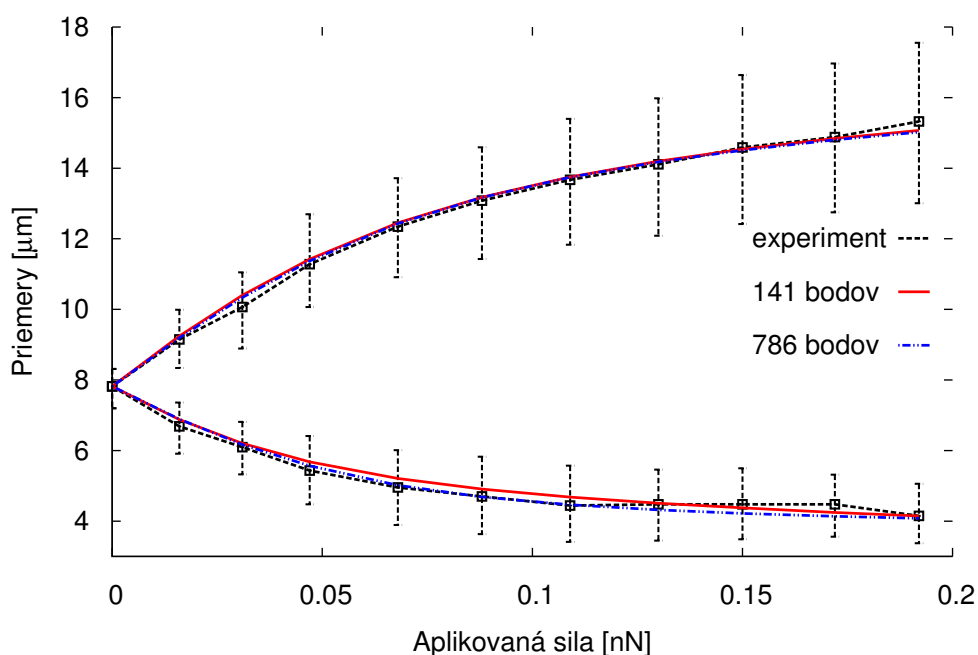
- *jemná kalibrácia* - z najlepšieho setu koeficientov z hrubej kalibrácie sme zvolili fixné hodnoty pre k_{al} , k_{ag} a k_v na základe analýzy senzitivity. Pre každú kombináciu 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3 -násobkov k_s a k_b sme spustili sadu simulácií a určili set koeficientov s najmenším SE .

Závislosť zmeny pričného a pozdĺžneho priemeru od aplikovanej sily, t.j. namerané hodnoty priemerov zo simulácií pre najlepší set koeficientov v porovnaní s experimentom sú uvedené na obrázku 3.11 so $SE_{141} = 0.56$ pre sieť so 141 bodmi a $SE_{786} = 0.40$ pre sieť so 786 bodmi. Zo zobrazeného grafu vidíme, že uvedeným postupom je možné nájsť takú sadu koeficientov, pre ktoré sa model RBC v simulácii správa takmer totožne s priemernou biologickou RBC.

3.3. KALIBRÁCIA

násobok	sieť - 141 bodov					sieť - 786 bodov				
	k_s	k_b	k_{al}	k_{ag}	k_v	k_s	k_b	k_{al}	k_{ag}	k_v
0.8	103	72	1	-1	-1	154	162	2	1	1
0.9	18	15	-1	-1	0	39	53	1	0	0
1.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.1	41	17	3	2	0	29	-9	0	0	0
1.2	136	59	9	2	1	119	15	1	-1	0

Tabuľka 3.2: Analýza senzitivity elastických koeficientov pre siete so 141 a 786 bodmi: relatívne odchýlky v % od minimálnej hodnoty SE získanej z hrubej kalibrácie pre 0.8 až 1.2 násobok každého koeficientu, menený bol vždy len jeden koeficient.



Obrázok 3.11: Závislosť zmeny priečného a pozdĺžneho priemeru od aplikovanej externej sily. Čiernou krivkou sú znázornené výsledky z experimentu spolu s rozptylom hodnôt (biologické RBC sa navzájom líšia), červenou namerané hodnoty zo simulácie so sieťou so 141 bodmi triangulácie a modrou pre sieť so 786 bodmi. Zná-zornené krivky predstavujú najmenšie dosiahnuté hodnoty SE pre dané siete.

3.3.1.2 Kalibrácie nových sietí

Uvedený postup v predchádzajúcej kapitole je pomerne zdĺhavý. Naším cieľom bolo nájsť spôsob, ako rýchlo a jednoducho získať set koeficientov pre iné siete, s iným počtom bodov na povrchu. V kapitole 2.2 je popísané, že nemáme k dispozícii jednoduchý vzorec pre prepočet elastických koeficientov. Vzťahy medzi koeficien-

tami rôznych sietí nie sú lineárne. Náš predpoklad však bol, že na rozumne malom intervale môžeme túto aproximáciu použiť. Ak máme k dispozícii sady elastických koeficientov pre dve rôzne siete, pomocou lineárnej interpolácie je možné dopočítať vhodné koeficienty pre ďalšiu sieť.

Z nájdených koeficientov pre siete so 141 a 786 bodmi sme lineárnou interpoláciou určili koeficienty pre siete so 374 a 670 bodmi. Závislosť zmeny priemerov od aplikovanej sily bola porovnateľná s výsledkom zobrazeným na obrázku 3.11 a hodnoty SE boli porovnateľné s hodnotami pre siete so 141 a 786 bodmi. Vzhľadom na výsledok analýzy senzitivity v kap. 3.3.1.1 sme pre validáciu výsledku spustili sadu simulácií pre kombinácie násobkov koeficientov k_s a k_b , podobne ako v prípade jemnej kalibrácie v kap. 3.3.1.1. Koeficienty k_{al} , k_{ag} a k_v sme ponechali fixné na vypočítaných hodnotách z lineárnej interpolácie. Vypočítané hodnoty SE pre sieť so 670 bodmi sú uvedené v tab. 3.3. Farby zodpovedajú hodnote SE od zelenej najnižšej chyby, cez svetlozelenú, žltú, oranžovú až po červenú najvyššiu. Uprostred tabuľky je hodnota pre priamo predikované koeficienty, ktorá je zároveň minimálna hodnota. V prípade 374-bodovej siete bola minimálna hodnota dosiahnutá pre 1.1-násobok k_s a 1.0-násobok k_b , avšak hodnota pre priamo predikované koeficienty bola taktiež zo "zelenej" oblasti.

k_b/k_s	sieť - 670 bodov								
	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4
0.6	14.96	11.47	8.65	6.32	4.5	3.15	2.18	1.6	1.35
0.7	10.72	7.87	5.63	3.84	2.52	1.63	1.09	0.91	1.03
0.8	7.63	5.32	3.55	2.22	1.32	0.81	0.63	0.77	1.21
0.9	5.4	3.54	2.18	1.23	0.68	0.49	0.61	1.03	1.72
1.0	3.8	2.33	1.32	0.7	0.45	0.53	0.92	1.57	2.48
1.1	2.7	1.55	0.85	0.51	0.52	0.84	1.45	2.3	3.41
1.2	1.96	1.12	0.68	0.59	0.83	1.36	2.16	3.19	4.45
1.3	1.53	0.94	0.73	0.87	1.31	2.02	2.99	4.17	5.58
1.4	1.33	0.97	0.97	1.3	1.92	2.79	3.92	5.24	6.78

Tabuľka 3.3: Hodnoty SE pre kombinácie násobkov predikovaných hodnôt elastických koeficientov pre sieť so 670 bodmi. Tučným písmom je zvýraznená minimálna hodnota. Farba položiek sa mení od červenej - najvyššej hodnoty chyby po zelenú - najnižšia hodnota. Uprostred tabuľky je hodnota pre predikované koeficienty.

V tabuľke 3.4 sú uvedené hodnoty elastických koeficientov pre kalibrované siete so 141 a 786 bodmi a predikované hodnoty pre siete so 374 a 670 bodmi, ktoré sú

3.3. KALIBRÁCIA

dostatočne presné.

	k_s	k_b	k_{al}	k_{ag}	k_v
141	0.00495	0.0605	0.005	1	1.25
786	0.0052	0.0936	0.0216	1.8	3.2
374	0.00504	0.0725	0.011	1.29	1.95
670	0.00516	0.0877	0.0186	1.66	2.85

Tabuľka 3.4: Hodnoty elastických koeficientov pre kalibrované siete s 141 a 786 bodmi. Pre siete so 374 a 670 bodmi sú uvedené predikované hodnoty koeficientov.

Pre naše simulácie je dostatočné, aby sa nakalibrovaný model RBC správal v rozsahu rozptylu hodnôt získaných z experimentu (viď "error bars" v grafe na obrázku 3.11). Biologické RBC sa jemne navzájom líšia v tvare aj rozmeroch, ako je uvedené v kap. 3.1.

Náš model kalibrujeme na štatisticky priemernú biologickú RBC a všetky RBC v našich simuláciách sú totožné, preto si môžeme dovoliť malé odchýlky od experimentálnych hodnôt, ktoré rýchly postup kalibrácie zabezpečuje. Náš model umožňuje definovať rôzne typy, resp. vzory buniek, ktoré sa navzájom líšia tvarom, veľkosťou, hmotnosťou a hodnotami elastických koeficientov. V budúcnosti by mohlo byť zaujímavé testovať tok nielen identických RBC, ale tok zmesi rôznych RBC, ktoré sa budú líšiť v rovnakom rozsahu a pomere ako biologické RBC.

3.3.2 Ďalšie možnosti validácie modelu RBC

Uvedená kalibrácia testuje, resp. porovnáva len statické vlastnosti modelu s experimentom jedného typu. Bolo by vhodné otestovať a porovnať správanie sa modelu v toku, t.j. jeho dynamické vlastnosti a použiť aspoň dva rôzne typy experimentov.

Prirodzeným pokračovaním validácie modelu RBC by bolo porovnanie výsledkov simulácií s výsledkami experimentov s bunkami v toku tekutiny. Vhodnými by mohli byť napríklad experimenty, pri ktorých bunky prechádzajú zúženým miestom mikrofluidického kanála a pozoruje sa zmena ich tvaru v čase [31, 33]. Ďalšou možnosťou sú experimenty s prechodom RBC štrbinou a sledovanie pri akých rýchlostiach, rozdieloch tlakov pred a za štrbinou a tuhosti membrány, bunka prejde alebo neprejde štrbinou. Experimenty tohto typu sú popísané napríklad v [35].

4 Aplikácie

Náš simulačný model si môžeme predstaviť ako aplikáciu, ktorá umožňuje simulovať pohyb elastických objektov v toku homogénnej tekutiny v umelých kanáloch. Jej využitie je pomerne široké, ako bolo spomínané už v úvode tejto práce. Homogénnou tekutinou nemusí byť nutne krv, ale tekutina iných parametrov a vlastností. Elastické objekty môžu mať rôzne tvary (guľa, elipsoid, bikonkávny tvar), veľkosť, hmotnosť. Hodnotou elastických koeficientov meníme ich tuhosť, resp. elasticitu.

V nasledujúcich kapitolách sú uvedené dve štúdie, ktoré načrtávajú možnosti nášho modelu. Máme ambíciu, aby model bol v praxi využiteľný na relatívne rýchle a lacné štúdium dizajnu (geometrie) mikrofluidických zariadení, za účelom ich optimalizácie. Rýchlosť závisí hlavne od výpočtového výkonu dostupných počítačov, resp. klastrov počítačov. Pod lacnou cenou chápeme fakt, že k štúdiám nie je potrebné fyzicky vyrábať dané zariadenie, nie sú potrebné ani vzorky tekutiny. Zároveň je možné spustiť v praxi ľubovoľný počet opakovaní a obmien simulácií.

V kapitole 4.1 je uvedená analýza pohybu buniek v periodickom poli prekážok. Analyzovaná je tiež miera pravdepodobnosti záchytu zriedkavo sa vyskytujúcich buniek, vzhľadom na veľkosť prekážok a množstva buniek (hematokritu) v zariadení. V ďalšej kapitole 4.2 je uvedená analýza návrhu indexu pre ohodnotenie pravdepodobného poškodenia buniek pri prechode daným zariadením.

4.1 Tok buniek v periodickom poli prekážok

Jednou z motivácií pre vytvorenie nášho simulačného modelu bola štúdia uvedená v [48]. Autori v nej popisujú mikrofluidické zariadenie pozostávajúce z mikro kanála s poľom pravidelne usporiadaných stĺpikov. Tie sú potiahnuté biologicky aktívnou látkou, ktorá pôsobí lepivo na vybraný druh buniek. Celé zariadenie slúži na záchyt zriedkavo sa vyskytujúcich tzv. cirkulujúcich rakovinových buniek CTC zo vzorky krvi. Tieto bunky sa dostávajú do krvného obehu uvoľňovaním z primárnych rakovi-

nových nádorov a majú vplyv na vznik metastáz v iných častiach tela. Ich výskyt v krvnom obehú môže byť zaznamenaný skôr, ako je primárny nádor viditeľný štandardnými medicínskymi technikami. Preto záchyt týchto buniek môže viesť k včasnej diagnostike a liečbe rakovinových ochorení. V uvedenej štúdií je popísané funkčné zariadenie, s ktorým boli vykonané viaceré experimenty. Otvorenou otázkou zostáva efektivita záchytu vybraných buniek. V pomere k ostatným bunkám v krvnom obehú je výskyt CTC veľmi zriedkavý, na 1 CTC pripadá približne miliarda RBC. Preto je potrebné uvedené zariadenia navrhovať s maximálnou efektivitou záchytu. Záchyt buniek závisí jednak od biologicky aktívnej látky, jej správneho navrhnutia pre vybrané bunky, ale tiež aj od geometrie zariadenia, rozmiestnenia a parametrov prekážok, hustoty vzorky, resp. hematokritu, rýchlosti toku tekutiny vnútri zariadenia a podobne.

Samotné periodické pole prekážok môže mať rôzne usporiadanie, tvar prekážok sa môže líšiť. Aj bez potiahnutia prekážok biologicky aktívnou látkou umožňuje účinnú separáciu alebo záchyt buniek. Príkladom môže byť práca [36], kde autori popisujú experimenty s pravidelne usporiadanými stĺpkami, pričom menia uhol natočenia podľa vzhľadom na tok tekutiny. Často je používané periodické pole, v ktorom je vždy ďalšia vrstva stĺpkov posunutá voči predošlej, napríklad [38]. Prekážky nemusia byť nutne len stĺpiky, ako dokazuje práca [56], kde je použité periodické pole prekážok s trojuholníkovým prierezom.

Uvedené bolo motiváciou pre nasledujúcu štúdiu, v ktorej sme sa zamerali jednak na potvrdenie hypotézy, že väčší hematokrit (väčšia hustota buniek vo vzorke) vplýva na trajektóriu CTC buniek v zariadení a tým pádom aj na pravdepodobnosť záchytu týchto buniek a na návrh modelu pre odhad miery záchytu buniek.

4.1.1 Popis modelu pre odhad miery záchytu buniek

Pod adhéziou (prilnavosťou) buniek si môžeme predstaviť schopnosť buniek "prilepiť sa" k inému povrchu pomocou mechanizmov nachádzajúcich sa na povrchu membrány. Hovoríme o ligand-receptorovej väzbe, kde ligandy na povrchu nejakého materiálu vytvárajú väzby s receptormi na povrchu bunkovej membrány. Na vytvorenie väzby musia byť splnené viaceré podmienky, ako napríklad dostatočné priblíženie sa ligandu a receptoru na dostatočné dlhú dobu, či vzájomná aktivácia ligandu a receptoru, keďže väzby sú vytvárené len medzi určitými typmi receptorov a ligandov. Silu väzby charakterizuje asociačná konštanta. Pod silou väzby rozumieme

schopnosť udržať väzbu medzi receptorom a ligandom pod vplyvom vonkajších podmienok.

Náš model má implementovaný modul pre adhéziu (prilnavosť buniek), ktorý je založený na elastických väzbách medzi receptormi (body na povrchu bunky) a ligandami (body na stene, prekážke). Väzby sú modelované ako pružiny s určitou tuhosťou k , rovnako ako v prípade elastických modulov, popísaných v kap. 2.1.2. Väzby však vznikajú a zanikajú s určitou pravdepodobnosťou, resp. istotou po prekročení určitých prahových hodnôt, bližší popis je uvedený v [12]. Tak ako bolo potrebné kalibrovať elastické koeficienty v elastických moduloch 3.3, je potrebná aj kalibrácia koeficientov vystupujúcich v module pre adhéziu. Problémom zostáva veľká variabilita, keďže parametre adhézie sú špecifické pre kontrétny typ buniek a kontrétny typ biologicky aktívnej látky.

V tejto kapitole sa nebudeme zaoberať modulom pre adhéziu. Bude popísaná štúdia, ktorej cieľom bolo len kvalitatívne ohodnotiť mieru predpokladaného záchytu buniek pri určitých podmienkach (priblíženie sa bunky k stĺpiku na dostatočne malú vzdialenosť a dostatočne dlhý čas pre vznik väzby). Na to je potrebné definovať model, podľa ktorého bude odhad miery záchytu počítaný. V [55] autori popisujú experiment so špecifickými bunkami, kde skúmali závislosť hustoty záchytu buniek [počet buniek/mm²] od šmykového napätia (definícia v prílohe A.2). Pri presnom modelovaní jednotlivých väzieb vstupuje do hry väčšie množstvo ťažko ohodnotiteľných premenných pre záchyt zriedkavo sa vyskytujúcich buniek. V [20] je uvedený zjednodušený model pre výpočet pravdepodobnosti záchytu bunky v jednoduchom kanáli ako

$$P_a \simeq m_r m_l K_a^0 A_c \exp \left[-\frac{\lambda f}{k_b T} \right], \quad (4.1)$$

kde m_r a m_l sú povrchové hustoty receptorov a ligandov, K_a^0 je asociačná konštanta pre ligand-receptorový pár, A_c je veľkosť plochy interakcie medzi bunkou a funkčným povrchom, f sila na jednotku ligand-receptorového páru, λ je charakteristická dĺžka ligand-receptorovej väzby a $k_b T$ je Boltzmannova tepelná energia.

Hodnota f je pomerne komplikovane vyjadriteľná a býva aproximovaná použitím hydrodynamickej sily F_h , potrebnej na odtrhnutie bunky pôsobením daného šmykového napätia. Ak predpokladáme rovnomernú distribúciu tejto sily cez všetky ligand-receptorové páry, silu f možno vyjadriť ako

$$f = \frac{F_h}{m_r A_c}. \quad (4.2)$$

4.1. TOK BUNIEK V PERIODICKOM POLI PREKÁŽOK

Ak uvažujeme jednoduchý kanál s tokom s lineárnym šmykovým napätím, môžeme F_h v blízkosti stien linearizovať a tým pádom je proporčne zameniteľná s veľkosťou šmykového napätia τ . Ďalším uvažovaným zjednodušením je, že pre daný typ buniek a daný typ funkčného povrchu budeme považovať parametre m_r , m_l , K_a^0 , λ , k_b a T za konštanty, môžeme ich zlúčiť do spoločných konštánt a a b . Potom vzťah (4.1) prejde do zjednodušeného tvaru, kde P_a je funkciou τ a A_c :

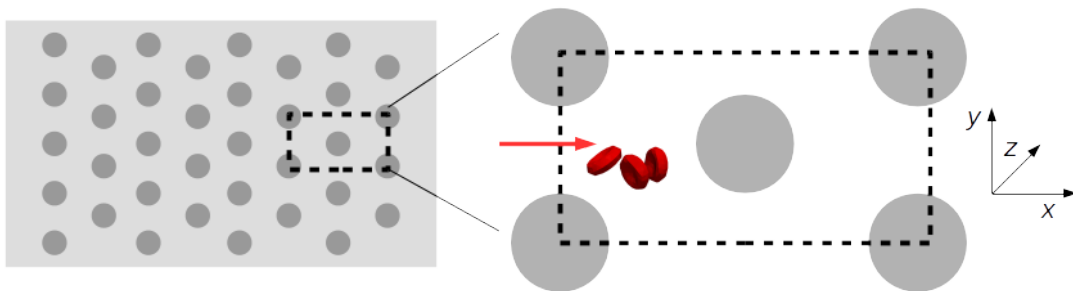
$$P_a(\tau, A_c) = aA_c \exp \left[-b \frac{\tau}{A_c} \right], \quad (4.3)$$

kde konštanty a a b môžu byť určené empiricky z experimentu pre konkrétny typ buniek a povrchov, príkladom je štúdia [55].

Navrhli sme sadu simulácií toku buniek v periodickom poli prekážok - stĺpikov na overenie vzťahu (4.3). V simuláciách boli zvolené rôzne polomery stĺpikov a rôzny hematokrit, t.j. množstvo buniek v zariadení.

4.1.2 Popis simulácií

Mikrofluidické zariadenia s periodickým poľom prekážok pre záchyt zriedkavých buniek majú hrúbku rádovo len v desiatkach μm , ale šírku a dĺžku rádovo v stovkách až tisíckach μm . Simulácia takto veľkého zariadenia by bola extrémne výpočtovo náročná, preto sme zvolili jeden blok daného zariadenia a predpokladali periodické podmienky v dvoch smeroch, viď obrázok 4.1. Ako prekážky sú uvažované stĺpiky so zvoleným polomerom, ktoré sa používajú aj v reálnych zariadeniach.



Obrázok 4.1: Vľavo je náčrt periodického poľa prekážok. Vpravo je náčrt simulačného boxu, červená šípka znázorňuje smer toku tekutiny, čierna čiarkovaná krivka znázorňuje hranice boxu s periodickými okrajovými podmienkami.

Rozmery simulačného boxu boli $100\mu m \times 50\mu m \times 30\mu m$, uvažované boli stĺpiky s polomerom $7\mu m$, $9\mu m$, $11\mu m$ a $13\mu m$. Model RBC mal 141 bodov na povrchu,

hlavný priemer $7.82\mu m$, hmotnosť membrány $8.4 \times 10^{-15}kg$, elastické koeficienty boli zvolené podľa nakalibrovaných hodnôt z tabuľky 3.4. Ako model CTC bola zvolená guľa so 727 bodmi na povrchu, priemerom $17.5\mu m$ a hmotnosťou membrány $43.3 \times 10^{-15}kg$ (hmotnosť častice na povrchu CTC bola totožná s hmotnosťou častice na povrchu RBC), elastické koeficienty boli zvolené tak, aby bola tuhšia ako RBC.

Pre každý polomer stĺpikov boli spustené sady simulácií s rôznym počtom buniek, t.j. s 10, 50 a 100 RBC, ktoré boli náhodne umiestnené v simulačnom boxe. Veľkosťou stĺpika sa mení celkový objem a tým pádom aj hematokrit, ktorý bol počítaný ako pomer objemu, ktorý zaberajú bunky (všetky RBC a CTC) a voľného objemu vnútri boxu. Pre 10 buniek mal hodnotu 2.8% - 3.3%, pre 50 buniek 5.4% - 6.5% a pre 100 buniek 8.7% - 10.4%. Pre každú kombináciu polomeru stĺpika a počtu buniek bolo zvolených 10 počiatočných umiestnení CTC na ľavej strane simulačného boxu (pre $x = 1\mu m$), boli rovnomerne rozmiestnené medzi dvoma stĺpikmi. Pre každé umiestnenie CTC sme spustili 10 simulácií s rôznym náhodným umiestnením RBC. V súčte to znamená $4 \times 3 \times 10 \times 10 = 1200$ simulácií.

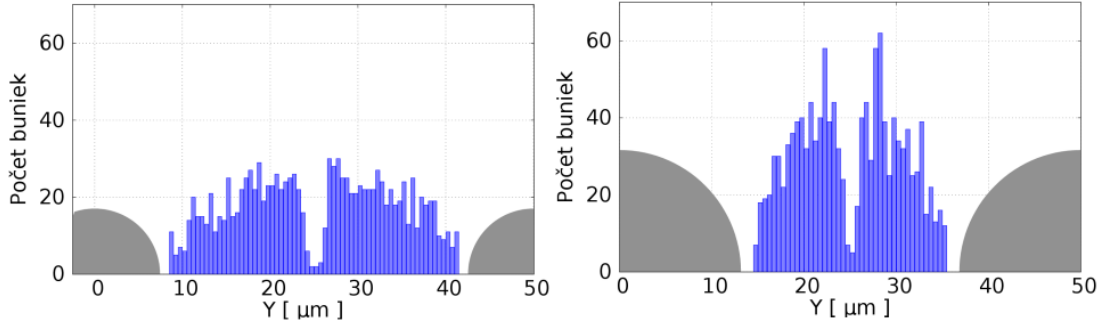
Ukázalo sa, že dôležitým parametrom je rýchlosť toku tekutiny vnútri simulačného boxu a s ňou súvisiace zachovanie konštantného objemového prietoku v $[m^3/s]$, t.j. za daný čas prejde zariadením rovnaký objem vzorky. Zväčšovaním polomeru prekážok sa znižuje objem voľného priestoru v boxe, tým pádom sa musí zvyšovať rýchlosť toku tekutiny. V biologických experimentoch sa rýchlosť tekutiny pohybuje rádovo v jednotkách až desiatkách mm/s . Typickým príkladom môže byť štúdia [10], kde rýchlosť tekutiny bola $0.007m/s - 0.008m/s$. V našich simuláciách sme zvolili referenčnú hodnotu rýchlosti toku $5mm/s$ pre simulácie s polomerom stĺpikov $7\mu m$. Rýchlosť bola meraná v strede medzi dvoma stĺpikmi. Tejto rýchlosti zodpovedal vypočítaný referenčný objemový prietok pre jeden simulačný box $2.77 \times 10^{-12}m^3/s$, resp. $2.77nL/s$. V simuláciách s väčšími stĺpikmi sme zvolili rýchlosť toku tak, aby bol zachovaný konštantný objemový prietok. Pre simulácie so stĺpikom s polomerom $13\mu m$ bola maximálna rýchlosť toku $8mm/s$.

4.1.3 Výstupy

V prvom kroku nás zaujímali trajektórie RBC aj CTC medzi prekážkami. Na obrázku 4.2 je distribúcia, resp. rozmiestnenie RBC na pravom okraji simulačného kanála ($x = 100\mu m$), zaznamenali sme y -ovú súradnicu polohy stredu RBC pri prechode okrajom boxu. Pre najmenší ($r = 7\mu m$) aj najväčší ($r = 13\mu m$) stĺpik

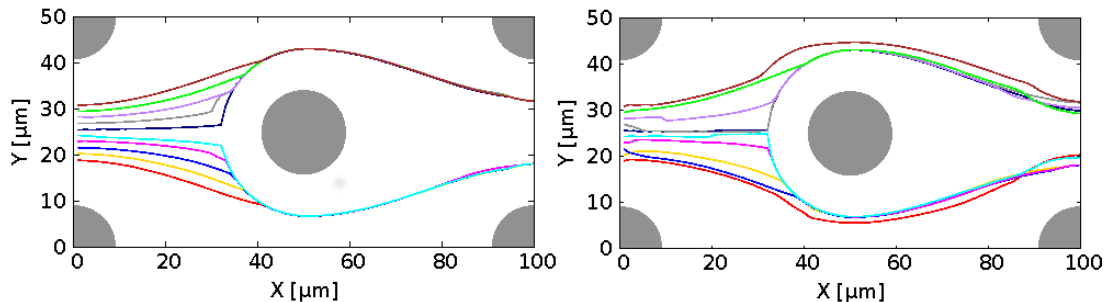
4.1. TOK BUNIEK V PERIODICKOM POLI PREKÁŽOK

vidíme rovnaké správanie, charakteristické rozmiestnenie na dve polovice. Prúdnice, obtekajúce stredový stĺpik, strhávajú so sebou aj RBC.



Obrázok 4.2: Rozmiestnenie RBC na okraji simulačného boxu pre $x = 100\mu m$. Vľavo pre simulácie so stĺpikom $r = 7\mu m$, vpravo s $r = 13\mu m$. Na x -ovej osi grafu je znázornená y -ová súradnica polohy stredov RBC a na y -ovej osi grafu je početnosť RBC na danej pozícii (zaznamenané boli polohy všetkých RBC, ktoré v simuláciách vykonali jeden obchod simulačného boxu).

Na obrázku 4.3 sú zobrazené vybrané trajektórie CTC pozdĺž celého boxu. Vľavo pre simulácie s 10 RBC, vpravo pre simulácie so 100 RBC. Kým v prvom prípade trajektórie CTC nie sú ovplyvnené, nedochádza ku kontaktu medzi bunkami a bez ohľadu na počiatočné umiestnenie CTC sa po prechode menej ako polovice boxu usporiadajú do dvoch typických symetrických trajektórií. V simulácii so 100 bunkami dochádza ku kontaktu, ktorý ovplyvňuje trajektórie CTC.



Obrázok 4.3: Typické trajektórie CTC v simuláciách s 10 RBC - vľavo a so 100 RBC - vpravo. Každá krivka korešponduje s polohou stredu CTC pri rôznom počiatočnom umiestnení. Na oboch osiach grafu sú znázornené μm , ale v rôznej mierke.

Zo zaznamenaných údajov o prechode CTC simulačným boxom sme vyčíslili odhad miery záchyty podľa vzťahu (4.3). Nešlo nám o vyjadrenie pravdepodobnosti záchyty, čo pri veľkom množstve neznámych empiricky odhadnutých veličín je takmer nemožné. Zamerali sme sa na kvalitatívne ohodnotenie jednotlivých konfigurácií - 4 rôzne polomery prekážok/stĺpikov a 3 rôzne počty buniek.

Ako bolo písané vyššie, dĺžka mikrofluidických zariadení s periodickým poľom prekážok môže byť až v tisíckach μm . To znamená, že zariadenie sa môže skladať z desiatok až stoviek za sebou položených simulačných boxov. Alebo inak povedané desiatky až stovky obbehov buniek v našom simulačnom boxe budú simulovať prechod buniek celým zariadením, čo je s našimi súčasnými výpočtovými možnosťami časovo náročné.

Pokusmi sme zistili, že už po prvom prechode boxom sa CTC rozmiestnia po význačných dráhach, ktoré zostávajú zachovávané, ako to je vidno na obrázku 4.3. Pre jednu kombináciu polomeru stĺpika a počtu buniek sme mali dáta zo simulácií pre 10 rôznych počiatočných polôh CTC a ku každej jednej počiatočnej polohe 10 rôznych koncových polôh CTC (spustili sme 10 simulácií s navzájom rôznym náhodným umiestnením RBC). Môžeme na to nahliadať tak, že k vektoru počiatočných polôh prislúcha vektor koncových polôh. Každú možnú koncovú polohu môžeme ohodnotiť váhou, ktorá bude vyjadrovať, ako často bunka skončila v danej koncovej polohe. Jednotlivé koncové pozície budú predstavovať počiatočné pozície nasledujúceho prechodu boxom - ďalšej iterácie. Počet iterácií bude zodpovedať počtu prechodov simulačným boxom, resp. veľkosti zariadenia. V tabuľke 4.1 sú uvedené ilustračné hodnoty P pre všetky kombinácie polomerov r stĺpikov a počtu buniek pre vybraný počet prechodov. Uvedené hodnoty majú len kvalitatívny charakter, neuvádzame žiadne jednotky. Bližší popis výpočtu a výsledkov je uvedený v práci [11]. Môžeme z nich vyčítať, že pri najmenšom stĺpiku miera záchytu rastie s počtom buniek. Čím viac buniek, tým je pravdepodobnejšie, že CTC sa dostane do blízkosti stĺpika. Naopak, pri väčších polomeroch miera záchytu klesá. V tomto prípade pravdepodobne do hry vstupuje fakt, že pre menej voľného priestoru RBC môžu CTC pritláčať k stĺpikom, ale zároveň sa aj dostať medzi stĺpik a CTC, a tak naopak znemožniť jej priblíženie.

	$P(r=7)$	$P(r=9)$	$P(r=11)$	$P(r=13)$
10 b.	1.43	13.75	38.12	76.48
50 b.	1.78	12.54	36.59	77.33
100 b.	2.01	12.13	34.93	73.38

Tabuľka 4.1: Hodnoty P (miera záchytu buniek) pre rôzne kombinácie polomerov r prekážok - stĺpikov a hemotokritu - počtu buniek. Hodnoty majú kvalitatívny charakter.

V ďalšej štúdii je možné sa zamerať na analýzu, ako sa zmení miera záchytu

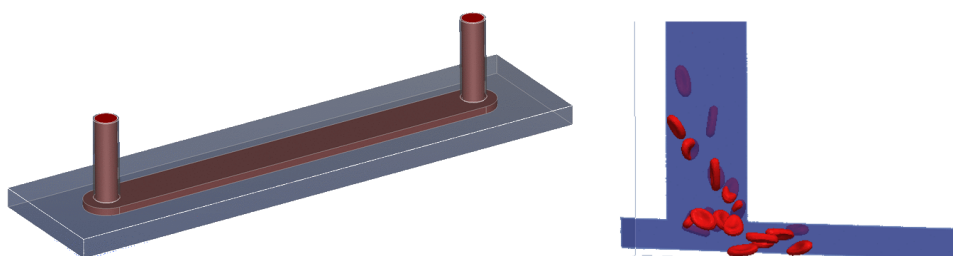
4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

pri zmene geometrie, napr. vzájomný posun stĺpikov, alebo pri zmene parametrov CTC, napr. rozmery, tuhosť a pod. Taktiež by bolo vhodné spustiť simulácie a analyzovať výsledky pre vyšší hematokrit, to znamená väčší počet buniek. Následne pustiť rozsiahlejšie simulácie - výpočet niekoľkých obehov CTC v simulačnom boxe (bez paralelizácie dĺžka výpočtu simulácie pre jeden obeh CTC so 100 RBC trvala rádovo v dňoch), v ktorých CTC vykoná viac obehov a overiť správnosť výpočtu podľa odhadu miery záchytu.

4.2 Optimalizácia mikrofluidických zariadení z pohľadu minimalizácie poškodenia buniek

Pri rôznych experimentoch s krvou, resp. krvnými vzorkami in vitro alebo pri manipulácii s krvou mimo tela pacienta v rámci medicínskych úkonov, môže dochádzať k poškodeniu jednotlivých krvných buniek. Čo môže viesť jednak k poškodeniu až zničeniu danej vzorky alebo k ohrozeniu zdravia pacienta, napríklad v kardiovaskulárnych zariadeniach pre podporu činnosti srdca. V štúdiu [34] sú popísané experimenty, pri ktorých skúmali zmeny v deformovateľnosti RBC v závislosti od veľkosti napätia a doby jeho pôsobenia na RBC. V [5] je popísaný matematický model, ktorý by mohol umožniť navrhovanie kardiovaskulárnych zariadení tak, aby poškodenie RBC bolo minimálne.

V tejto kapitole bude popísaná štúdia, v ktorej sme sa zamerali na analýzu správania sa buniek pri prechode mikro kanálom, špeciálne vstupným konektorom tohto zariadenia. Typické zariadenie je zobrazené na obrázku 4.4 vľavo. Vpravo je uvedený príklad simulácie toku buniek konektorom. Výsledky z tohto typu simulácií môžu tiež pomôcť v navrhovaní dizajnu zariadení pre štúdium elastických vlastností rôznych buniek.



Obrázok 4.4: Vľavo dizajn mikrofluidického zariadenia s konektormi, vpravo príklad simulácie buniek pretekajúcich konektorom.

Motiváciou pre nás boli práce [46, 57]. Autori v nich uvádzajú popis a výpočet tzv. indexu poškodenia krvi BDI (z anglického blood damage index). Tento index pre vybranú geometriu je počítaný sčítaním lokálnych šmykových napätí pozdĺž prúdnic toku tekutiny vnútri zariadenia. Slúži na odhad možného mechanického napätia, ktoré vedie k deformácii, poškodeniu až k deštrukcii (hemolýze) červených krviniek. Konvenčný výpočet BDI používa metódu konečných prvkov pre riešenie Navier-Stokesových rovníc pre odhad rozloženia šmykového napätia v celom objeme zvoleného zariadenia. Pre výpočet indexu sú používané viaceré poloempirické vzťahy, typickým príkladom je

$$BDI = \sum_{vstup}^{výstup} K \cdot \Delta t^a \cdot \tau^b, \quad (4.4)$$

kde sa sčítavajú zložky od vstupu po výstup zariadenia v čase t , τ je šmykové napätie, K , a a b sú empirické konštanty [57].

Do uvedeného výpočtu nevstupujú informácie o bunkách v toku, o ich deformáciách a vzájomných interakciách. Informácia o bunkách v toku je len čiastočne zahrnutá v hodnote hematokritu, ktorý cez konštanty vstupuje do výpočtu. Keďže náš simulačný model poskytuje informácie o zmene jednotlivých objektov v toku tekutiny, zaujímalo nás, či je možné navrhnúť rozšírený index poškodenia buniek CDI (z anglického cell damage index), kde by boli zahrnuté vzájomné interakcie medzi bunkami, medzi bunkami a tekutinou a stenami zariadenia.

4.2.1 Teoretické princípy

Náš simulačný model nám umožňuje sledovanie relatívne veľkého množstva parametrov buniek, ako napríklad rýchlosť a pozíciu bunky, zmeny jej objemu a povrchu, zmeny v tvare - zakrivení povrchu. Tieto parametre môžeme sledovať aj na lokálnej úrovni, t.j. dĺžky hrán, plochy jednotlivých trojuholníkov, uhly medzi trojuholníkmi. Môžeme sledovať relatívne a absolútne zmeny, kladné alebo záporné.

Z biologických experimentov však nemáme žiadne informácie, čo sa deje s membránou bunky na lokálnej úrovni, ak je bunka deformovaná. Preto je tieto lokálne informácie problematické validovať a ohodnotiť ich vplyv na membránu.

Ďalšou možnosťou je sledovanie zmeny tvaru, zakrivenia povrchu bunky, keď je vystavená pôsobeniu napätia v toku, napríklad [31]. Avšak v našom prípade chceme sledovať nejakú spoločnú priemernú veličinu pre bunky s rôznou trajektóriou a de-

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

formáciami vnútri kanála. Kvantifikovať veličinu typu priemerná zmena tvaru, resp. priemerná deformácia z dát pre viaceré bunky by bolo prinajmenšom problematické a nejednoznačné.

Vychádzajúc zo skúseností získaných pri analýze popísanej v kapitole 3.2, sme zvolili za sledovaný parameter relatívnu odchýlku (zmenu) celkovej (globálnej) plochy. V tejto analýze sme zaznamenávali absolútnu relatívnu odchýlku, to znamená nielen natiahovanie bunky - celková plocha narastá, ale aj stláčanie bunky - celková plocha sa znižuje. Na rozdiel od analýzy v kapitole 3.2, v tomto prípade uvažujeme o budúcom porovnaní našich výsledkov s výsledkami z experimentov, v ktorých poškodenie, resp. deformácia RBC bude hodnotená pomocou tzv. aktivácie Ca^{2+} , bližšie napr. v [23]. Preto chceme mať vo výsledkoch zahrnutú akúkoľvek deformáciu bunky. Opäť sme vychádzali zo štúdie [26], kde je uvedené, že deštrukcia membrány môže byť okamžitá po prekročení určitej prahovej hodnoty relatívneho nárastu plochy. Zároveň k deštrukcii môže dôjsť aj pri menšej hodnote nárastu plochy, ak je bunka natiahnutá určitý čas. Z tohto dôvodu sme uvedené zmeny plochy sčítavali počas doby, keď bunka prechádzala vybranou záujmovou oblasťou, a tak kvantitatívne ohodnotili nielen veľkosť zmeny, ale aj dobu trvania zmeny.

Definovali sme nasledovné veličiny, ktorých vzťahy sú znázornené na obrázku 4.5:

- kumulatívna odchýlka globálnej plochy pre jednu bunku $CDG(cell)$ (z anglického cumulative damage global for 1 cell)

$$CDG(cell) = \sum_{time} \frac{|S - S_0|}{S_0}, \quad (4.5)$$

kde $time$ je doba, počas ktorej bunka prechádza sledovanou (záujmovou) oblasťou kanála, S je aktuálna veľkosť plochy bunky, S_0 je pôvodná plocha bunky a $\frac{|S-S_0|}{S_0}$ je okamžitá absolútna relatívna zmena globálnej plochy. Táto hodnota je počítaná pre všetky sledované bunky v danej simulácii.

- priemerná kumulatívna odchýlka globálnej plochy zo všetkých sledovaných buniek v jednej simulácii CDG_{simNo}

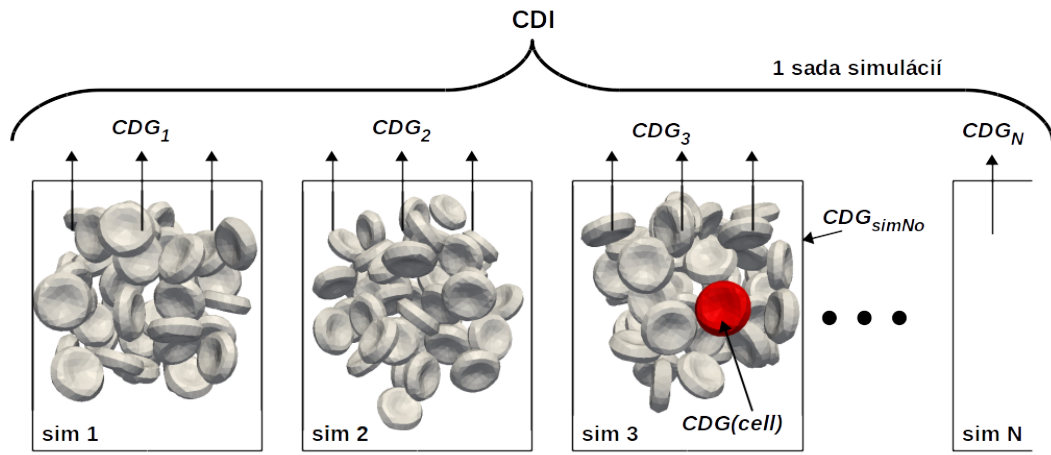
$$CDG_{simNo} = \frac{1}{n_{cell}} \sum_{cell} CDG(cell), \quad (4.6)$$

kde n_{cell} je počet buniek v simulácii, pre ktoré sledujeme $CDG(cell)$.

- rozšírený CDI je navrhnutý ako aritmetický priemer hodnôt CDG_{simNo} z jednej sady simulácií:

$$CDI = \frac{1}{N} \sum_{simNo} CDG_{simNo}, \quad (4.7)$$

kde N je počet simulácií v danej sade, z ktorých počítame index. Jednotlivé simulácie v sade sa líšia počiatočným umiestnením buniek.



Obrázok 4.5: Náčrt vzťahov medzi CDI , CDG_{simNo} a $CDG(cell)$.

4.2.2 Paralelizovateľnosť problému

Pri riešení tejto štúdie bol potrebný výpočet simulácie so simulačným časom rádovo v ms , s počtom buniek rádovo v desiatkach a s rozmermi simulačného boxu rádovo v desiatkach μm . Na priemerne výkonnom procesore trvá daný výpočet rádovo v dňoch. Preto bolo našou snahou jednotlivé simulácie paralelizovať.

Daná úloha alebo problém je dobre, resp. efektívne paralelizovateľný vtedy, ak čas potrebný na ukončenie úlohy alebo nájdenie riešenia problému sa zmenší, pri použití viacerých paralelne (vedľa seba) pracujúcich "riešiteľov", ktorí budú vykonávať rovnaké alebo veľmi podobné inštrukcie.

Z tohto pohľadu modelovanie tekutiny lattice-Bolzmannovou metódou je dobre a relatívne jednoducho paralelizovateľná úloha. V jednotlivých diskretizačných bodoch tekutiny sa vykonávajú rovnaké inštrukcie a jeden bod komunikuje - je v spojení len s 18 susednými bodmi (použitá je 3D mriežka s 19 smermi rýchlosti, tzv. D3Q19, viď obrázok 2.1).

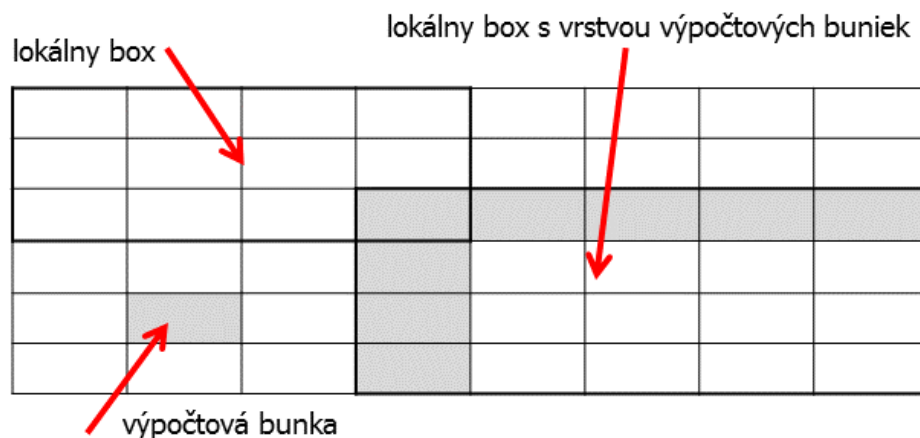
4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

Pri modelovaní objektov je paralelizovateľnosť problému náročnejšia. ESPResSo je primárne určené pre modelovanie samostatných častíc, napr. molekúl alebo atómov. V našom simulačnom modeli sme tieto samostatné častice spojili väzbami do objektov. Jednotlivé body trojuholníkovej siete na povrchu objektov sú pôvodné samostatné častice. V prípade modulu pružnosti musí navzájom komunikovať vždy dvojica bodov so spoločnou hranou, v module ohybu sú to 4 body (dva trojuholníky s jednou spoločnou hranou), v module zachovania lokálnej plochy sú to tri body. Pre globálne moduly pre zachovanie celkovej plochy a objemu je potrebné, aby všetky body daného objektu navzájom komunikovali.

ESPResSo má implementovanú paralelizáciu pre tekutinu na GPU použitím CUDA výpočtovej platformy. Skupiny bodov tekutiny sú počítané zvlášť na grafických procesoroch. Bližší popis implementácie je uvedený v [54]. V prípade relatívne veľkého simulačného boxu je časová úspora významná. Klesá však s počtom objektov v simulácii, ktoré sú počítané len na jednom CPU.

Ďalej má ESPResSo implementovanú paralelizáciu pre tekutinu aj objekty použitím platformy MPI. Simulačný box (definícia A.2) je možné deliť na tzv. lokálne boxy. Lokálne boxy musia vyplniť celý simulačný box a navzájom sa neprekrývať. Jednotlivé lokálne boxy však musia mať informácie aj zo svojho blízkeho okolia. Vyplýva to hlavne z faktu, že jednotlivé samostatné častice sú navzájom prepojené väzbami, ktoré ovplyvňujú ich správanie v rovnakom čase. Preto pri paralelizácii je simulačný box zároveň rozdelený na tzv. výpočtové bunky, viď obrázok 4.6. Lokálne boxy potom majú informácie z jednej vrstvy výpočtových buniek okolo seba. Veľkosť (rozmer) výpočtovej bunky určuje veľkosť okolia lokálneho boxu, z ktorého sú informácie posielané do tohto lokálneho boxu. Vrstva výpočtových buniek jedného lokálneho boxu sa môže prekrývať s inou vrstvou. V pôvodnom využití ESPResSo-a rozmery týchto výpočtových buniek boli relatívne malé v rozsahu dĺžky interakcií medzi časticami. V našom simulačnom modeli je nutné, aby výpočtová bunka mala veľkosť minimálne najväčšieho elastického objektu, ktorý vstupuje do simulácie, plus určitá rezerva vzhľadom na jeho možnú deformáciu, predĺženie. Je to preto, že v globálnych elastických moduloch pre výpočet pôsobiacich síl musíme poznať globálne parametre objektu. Z uvedeného vyplýva, že nie vždy sa nám oplatí simulačný box paralelizovať, resp. že paralelizácia prinesie významnú časovú úsporu. Napríklad majme simulačný box s rozmermi 100 x 50 x 30 dĺžkových jednotiek (z každej strany je ohraničený pevnou stenou a neuvažujeme periodicitu na hraničiach), rozdeľme ho na 4 lokálne boxy s rozmermi 50 x 25 x 30. V simulácii bude

objekt s rozmermi 20 dĺžkových jednotiek, potom veľkosť výpočtovej bunky by mala byť minimálne 20 x 20 x 20. Tým pádom na jednom procesore bude prepočítavaná oblasť pre jeden lokálny box s rozmermi 50 x 25 x 30, zároveň však bude pracované s dátami z oblasti 70 x 45 x 30. Čo pri celkovej veľkosti simulačného boxu 100 x 50 x 30 už neprináša významné zrýchlenie.



Obrázok 4.6: Simulačný box sa celočíselne delí na lokálne boxy. Zároveň sa zvolí veľkosť výpočtovej bunky, každý lokálny box má informácie zo svojej oblasti spolu s vrstvou hrúbky jednej výpočtovej bunky.

4.2.2.1 Príklad paralelizácie simulačného boxu

Pre ilustráciu bolo spustených niekoľko simulácií s rôznou paralelizáciou a počtom elastických objektov. Ako simulačný box bola zvolená geometria kanála 2 na obrázku 4.7 s rozmermi $40\mu m \times 141\mu m \times 141\mu m$. Simulácie boli spustené bez paralelizácie (1,1,1), s paralelizáciou na 3 lokálne boxy (1,1,3) s rozmermi $40\mu m \times 141\mu m \times 47\mu m$ a s paralelizáciou na 9 lokálnych boxov (1,3,3) s rozmermi $40\mu m \times 47\mu m \times 47\mu m$. Veľkosť výpočtovej bunky bola $10\mu m \times 10\mu m \times 10\mu m$. Ako elastické objekty boli zvolené RBC so 141 bodmi na povrchu, v simuláciách bolo 0, 50 alebo 100 RBC. Všetky RBC boli v jednom lokálnom boxe (50, 100 / 1) alebo v dvoch rôznych lokálnych boxoch (100 / 2). Porovnávali sme doby potrebné na výpočet 5000 časových (integračných) krokov. V tabuľke 4.2 sú uvedené výsledky. Keďže nemá zmysel uvádzať doby výpočtu v [s] (rôzne stroje majú rôzny výkon), sú v tabuľke zobrazené hodnoty v pomere k referenčnej hodnote. V ľavej časti tabuľky sme zvolili ako referenčnú dobu na výpočet v simuláciách bez paralelizácie - prvý stĺpec. V druhom a treťom stĺpci sú uvedené hodnoty v pomere k tejto hodnote. V jednotlivých stĺpcoch potom vidíme pokles doby výpočtu vďaka paralelizácii. V simuláciách bez

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

objektov pri paralelizácii na 3 časti výpočet trval len 0.47-násobok pôvodnej doby, pri paralelizácii na 9 častí 0.29-násobok. Vzhľadom na to, že lokálne boxy si musia odovzdávať informácie, nemôžeme očakávať pokles na $1/3$ alebo $1/9$. V prípade simulácií s elastickými objektami úspora času klesá, keďže rastú nároky na prenos informácií medzi lokálnymi boxami. Zaujímavým poznatkom je, že je rozdiel, či sa elastické objekty nachádzajú v rovnakom čase v jednom lokálnom boxe alebo vo viacerých - rozdiel medzi výsledkami pre $100 / 1$ a $100 / 2$. Ak objekty nie sú rovnomerne rozdelené v lokálnych boxoch, úspora času klesá, pretože sa vždy čaká na "najpomalší" box. V pravej časti tabuľky sme za referenčné zvolili doby na výpočet v simuláciách bez objektov - prvý riadok. V ďalších riadkoch potom vidíme nárast doby výpočtu s nárastom počtu objektov. Poznamenajme opäť, že ak simulácia nie je paralelizovaná, výpočet simulácie so 100 objektami nezávisí od ich rozloženia. V prípade paralelizácie prináša významné rozdiely. V prípade paralelizácie je vhodné, ak sú objekty rovnomerne rozmiestnené v simulačnom boxe.

ref. simulácia bez paralel.				ref. simulácia bez RBC			
↑ počet l. boxov \implies ↓ výp. čas				↑ počet RBC \implies ↑ výp. čas			
počet RBC	paralelizácia x, y, z			počet RBC	paralelizácia x, y, z		
	1, 1, 1	1, 1, 3	1, 3, 3		1, 1, 1	1, 1, 3	1, 3, 3
0	1.00	0.47	0.29	0	1.00	1.00	1.00
50	1.00	0.60	0.44	50	1.15	1.48	1.72
100 / 2	1.00	0.46	0.35	100 / 2	1.69	1.66	2.03
100 / 1	1.00	0.67	0.53	100 / 1	1.64	2.35	2.97

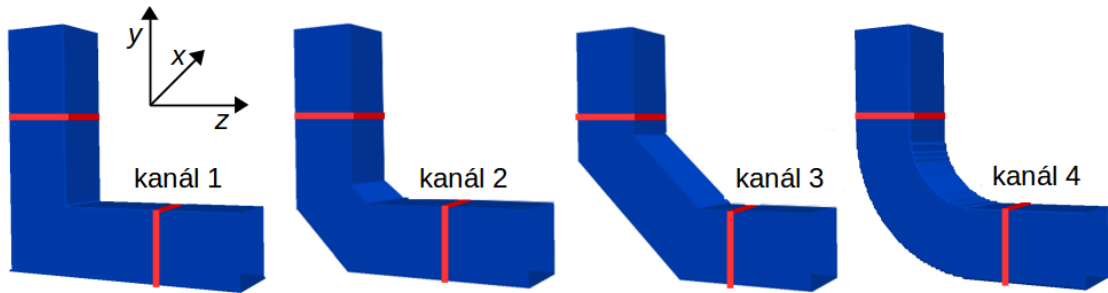
Tabuľka 4.2: Uvedené sú pomery dôb potrebných na výpočet pre rôzne nastavenia paralelizácie a rôzny počet elastických objektov. Vľavo sú zvolené ako referenčné doby na výpočet bez paralelizácie, v jednotlivých stĺpcoch sú potom násobky referenčnej doby. Vpravo sú referenčné doby na výpočet bez elastických objektov - RBC, v riadkoch sú násobky potrebnej výpočtovej doby. Označenie "100 / 1" znamená 100 RBC v jednom lokálnom boxe, podobne "100 / 2" 100 RBC v dvoch nesusediacich lokálnych boxoch.

4.2.3 Analýza navrhnutého indexu poškodenia

Cieľom prvotnej analýzy bolo overenie, resp. potvrdenie, že vzťah (4.7) možno použiť na ohodnotenie poškodenia buniek pri prechode daným zariadením. Pre tento účel sme spustili viacero simulácií toku tekutiny v rôznych geometriách s rôznym počtom buniek a analyzovali sme získané dáta. Tieto sme tiež porovnali s vypočítanou hodnotou BDI pre dané geometrie.

4.2.3.1 Nastavenie simulácií

Pre prvé analýzy sme zvolili štyri veľmi jednoduché geometrie pre ohyb kanála, vid' obrázok 4.7, ktoré môžu reprezentovať konektory mikrofluidických zariadení. Uvedené kanály sú dostatočne jednoduché na to, aby sme mohli vysloviť predpoklady o hodnotách CDI a porovnať ich s dátami. Rozmery kanálov sú $40\mu m \times 141\mu m \times 141\mu m$, čo zodpovedá rádovo aj reálnym zariadeniam. Vstupná a výstupná časť kanálov má tvar kvádra so štvorcovým prierezom $40\mu m \times 40\mu m$, vnútorný prierez je $38\mu m \times 38\mu m$. Kanály sa navzájom líšia prostrednou časťou, ktorá je rôzne zalomená alebo zakrivená, avšak zostáva zachovaný štvorcový prierez. Sledovaná (záujmová) oblasť je ohraničená rovinami $y < 85.0\mu m$ a $z < 100.0\mu m$, na obrázku 4.7 je znázornená červenými čiarami.



Obrázok 4.7: Náčrty 4 zvolených geometrií a súradná sústava. Jednotlivé kanály sa líšia ohybom strednej časti. Sklon kanála 2 a 3 je 45° . Červenými čiarami sú znázornené oblasti, pri prechode ktorých boli bunky sledované.

Tekutina reprezentuje homogénnu krvnú plazmu s hustotou $\rho = 1.06 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$ a kinematickou viskozitou $\nu = 3.302 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$. Rýchlosť toku tekutiny v podobných biologických experimentoch býva rádovo v jednotkách až desiatkach mm/s , napríklad [10, 24]. Pre naše simulácie sme zvolili rýchlosť z hornej hranice. Keďže išlo o prvotnú analýzu, volili sme vyššiu rýchlosť pre kratší výpočtový čas (bunka rýchlejšie pretečie kanálom). Veľkosť rýchlosti na vstupe do kanála bola nastavená na $v_{in} = 0.02 \text{ m/s}$. V kanáli sa ustálil Poiseuillov tok s maximálnou rýchlosťou $v_{max} \doteq 0.095 \text{ m/s}$.

V simuláciách boli použité modely RBC so 141 bodmi na povrchu, s hlavným priemerom $7.82\mu m$ a hmotnosťou membrány $8.4 \times 10^{-15} \text{ kg}$. Elastické koeficienty boli zvolené podľa nakalibrovaných hodnôt uvedených v tabuľke 3.4.

Pre každý kanál bola spustená sada 10 simulácií s rovnakým počtom buniek, v jednotlivých simuláciách mali bunky rôzne náhodné počiatkové usporiadanie. Boli

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

spustené sady simulácií s 10, 30 a 50 bunkami. Pre kanál 3 boli spustené aj sady so 60, 70, 80 a 90 bunkami. Pre všetky simulácie bola zvolená jedna oblasť vo vrchnej časti kanála nad hranicu $y > 90.0\mu m$. Jej poloha a rozmery sa nemenili. Do tejto oblasti boli všetky bunky danej simulácie náhodne umiestnené, zvyšok kanála bol prázdny.

4.2.3.2 Prvotná analýza dát

Ako prvý sme chceli overiť predpoklad, že $CDG(cell)$ závisí od počiatočnej polohy a natočenia bunky, k čomu nás viedli výsledky uvedené v kapitole 3.2. Analyzovali sme sadu simulácií v kanáli 1 s 10 bunkami. Pre jednu simuláciu sme vypočítali jej CDG_{simNo} , výberovú štandardnú odchýlku $\sigma(cell)$, minimum a maximum z hodnôt $CDG(cell)$, zapísané sú v tabuľke 4.3. Vidíme, že hodnota $\sigma(cell)$ je viac ako 70% z CDG_{simNo} . Znamená to, že rozptyl $CDG(cell)$ je veľký, o čom svedčí aj hodnota dosiahnutého minima a maxima. Bunka s minimálnym poškodením (v zmysle CDG) mala len 0.27 násobok priemernej hodnoty, kým bunka s maximálnym poškodením mala 2.85 násobok priemernej hodnoty. Z uvedeného vyplýva, že hodnota $CDG(cell)$ silne závisí od počiatočnej polohy a natočenia bunky. Preto sme následne analyzovali priemerné hodnoty z viacerých simulácií.

CDG_{simNo}	$\sigma(cell)$	$\frac{\sigma(cell)}{CDG_{simNo}}$	min	$\frac{min}{CDG_{simNo}}$	max	$\frac{max}{CDG_{simNo}}$
0.084	0.062	0.73	0.023	0.27	0.241	2.85

Tabuľka 4.3: Uvedená je hodnota CDG_{simNo} pre kanál 1 pre jednu simuláciu. Ďalej je uvedená výberová štandardná odchýlka $\sigma(cell)$, minimum min a maximum max zo všetkých $CDG(cell)$ a ich pomer ku hodnote CDG_{simNo} .

V tabuľke 4.4 sú uvedené podobné hodnoty ako v predchádzajúcej tabuľke s tým rozdielom, že sme analyzovali jednu sadu s 10 simuláciami s rôznym počiatočným umiestnením 10 buniek, mali sme teda k dispozícii 10 hodnôt CDG_{simNo} . Z nich vypočítaná štandardná odchýlka σ je len 6% hodnoty CDI , taktiež minimum a maximum je významne bližšie k priemernej hodnote CDI . Usúdili sme, že spriemerovaním výsledkov viacerých simulácií dostaneme relatívne presný odhad CDI pre danú geometriu a parametre jednej sady simulácií. Naopak pozeranie sa len na jednotlivé bunky môže priniesť veľmi nepresné odhady.

V ďalšom kroku sme overili predpoklad, že CDI bude rôzne pre rôzne geometrie a rôzne počty buniek v kanáli. Predpoklad bol, že z pohľadu poškodenia buniek je

CDI	σ	$\frac{\sigma}{CDI}$	min	$\frac{min}{CDI}$	max	$\frac{max}{CDI}$
0.148	0.009	0.06	0.131	0.88	0.163	1.10

Tabuľka 4.4: Uvedená je hodnota CDI pre kanál 1 pre jednu sadu simulácií. Ďalej je uvedená výberová štandardná odchýlka σ , minimum min a maximum max zo všetkých CDG_{simNo} a ich pomer ku hodnote CDI .

usporiadanie geometrií postupne od najhoršieho kanálu 1 po najlepší kanál 4 a so zvyšujúcim sa počtom buniek bude CDI narastať. Vypočítané hodnoty CDI spolu s výberovými štandardnými odchýlkami σ sú uvedené v tabuľke 4.5. Odchýlka σ bola počítaná z hodnôt CDG_{simNo} .

CDI	počet buniek						
	10	30	50	60	70	80	90
kanál 1	0.087	0.116	0.148				
σ	0.016	0.012	0.009				
kanál 2	0.093	0.107	0.138				
σ	0.028	0.008	0.01				
kanál 3	0.082	0.097	0.129	0.143	0.157	0.168	0.19
σ	0.017	0.008	0.01	0.008	0.006	0.006	0.005
kanál 4	0.072	0.108	0.132				
σ	0.011	0.014	0.01				

Tabuľka 4.5: Hodnoty CDI a odchýlky σ pre jednotlivé sady simulácií. V stĺpcoch sa mení počet buniek v simuláciách, v riadkoch typ kanála.

Vidíme, že hodnota CDI narastá s počtom buniek v kanáli. To súhlasí s našim predpokladom, že v hustejšom toku buniek dochádza častejšie k vzájomným interakciám medzi bunkami a tým k ich deformáciám. Zároveň platí, že $CDI(kanál\ 1) < CDI(kanál\ 2) < CDI(kanál\ 3)$ pre sady s 30 a 50 bunkami. Tento výsledok môžeme taktiež označiť za očakávaný: čím je zahnutie kanála "hladšie", tým k menšiemu poškodeniu buniek dochádza. Pre sadu 10 buniek je tok pravdepodobne dostatočne riedky, aby sa bunky pohybovali len po vhodných (ideálnych) trajektoriách, kde je ich deformácia minimálna, aj napriek zahnutiu kanála.

CDI pre kanál 4 je naopak väčší ako CDI pre kanál 3. Pravdepodobne v tomto prípade hrá rolu nielen "hladkosť" zahnutia kanála, ale aj celková dráha, ktorú musia bunky prekonať, keďže hodnotu $CDG(cell)$ sumujeme počas toku bunky záujmovou oblasťou. V budúcnosti bude vhodné vykonať analýzu vplyvu polomeru zakrivenia

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

kanála na hodnotu CDI .

Pre kanál 3 sme spustili sady simulácií aj s väčším počtom buniek pre overenie, ako sa bude správať hodnota CDI . Vidíme, že CDI s počtom buniek rastie približne lineárne.

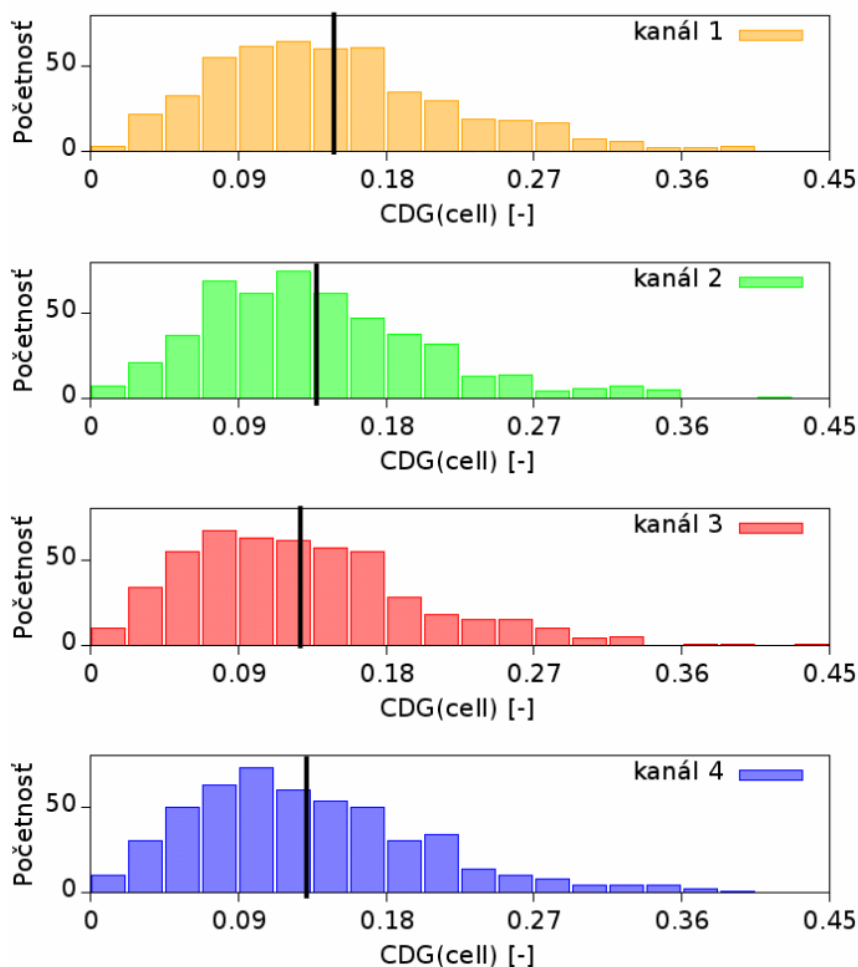
Pre odchýlku σ zhruba platí, že s počtom buniek klesá, t.j. s počtom buniek v simulácii klesá rozptyl hodnôt CDG_{simNo} .

Na obrázku 4.8 sú znázornené histogramy pre sady s 50 bunkami v jednej simulácii pre všetky 4 kanály, t.j. mali sme dáta z 500 buniek pre každý kanál. Na x -ovej osi histogramu je znázornená vypočítaná hodnota $CDG(cell)$, na y -osi je počet buniek s hodnotou $CDG(cell)$ z daného intervalu. Čiernou čiarou je naznačená hodnota CDI . Vidíme, že rozdelenie buniek sa podobá na normálne rozdelenie, zároveň rozdelenia početností pre jednotlivé kanály sú porovnateľné.

V tabuľke 4.6 sme analyzovali dáta z jednotlivých simulácií zo sád s 50 bunkami. Vypočítali sme priemernú hodnotu CDG_{simNo} pre každú simuláciu a výberovú štandardnú odchýlku σ pre 10 hodnôt CDG_{simNo} v jednej sade. Ďalej hodnotu CDI a relatívnu odchýlku Δ_{CDG} jednotlivých CDG_{simNo} od CDI . Štandardná odchýlka σ sa významne nemení pre rôzne kanály. S výnimkou kanála 4 do intervalu $\pm 1\sigma$ padne 8 z 10 hodnôt CDG_{simNo} . Preto je vhodné na určenie CDI spustiť simulácie s väčším množstvom buniek, ako to potvrdzuje trend σ (rozptyl hodnôt) v tabuľke 4.5 pre kanál 3.

CDG	kanál 1	Δ_{CDG}	kanál 2	Δ_{CDG}	kanál 3	Δ_{CDG}	kanál 4	Δ_{CDG}
CDG_1	0.143	-3.7%	0.148	7.4%	0.139	7.3%	0.127	-4.2%
CDG_2	0.151	1.7%	0.133	-3.7%	0.128	-1.2%	0.146	10.3%
CDG_3	0.152	2.4%	0.136	-1.3%	0.119	-8.4%	0.132	0.2%
CDG_4	0.131	-11.6%	0.148	7.1%	0.120	-7.0%	0.150	13.2%
CDG_5	0.163	10.2%	0.145	5.3%	0.127	-1.7%	0.127	-3.6%
CDG_6	0.153	3.5%	0.128	-7.1%	0.121	-6.8%	0.122	-8.0%
CDG_7	0.142	-4.2%	0.138	0.3%	0.137	5.9%	0.146	10.7%
CDG_8	0.155	4.9%	0.138	-0.2%	0.130	0.6%	0.116	-11.9%
CDG_9	0.139	-6.0%	0.118	-14.6%	0.149	15.4%	0.132	-0.1%
CDG_{10}	0.152	2.7%	0.147	6.8%	0.124	-4.0%	0.123	-6.6%
CDI	0.148		0.138		0.129		0.132	
σ	0.0094		0.0099		0.0098		0.0114	

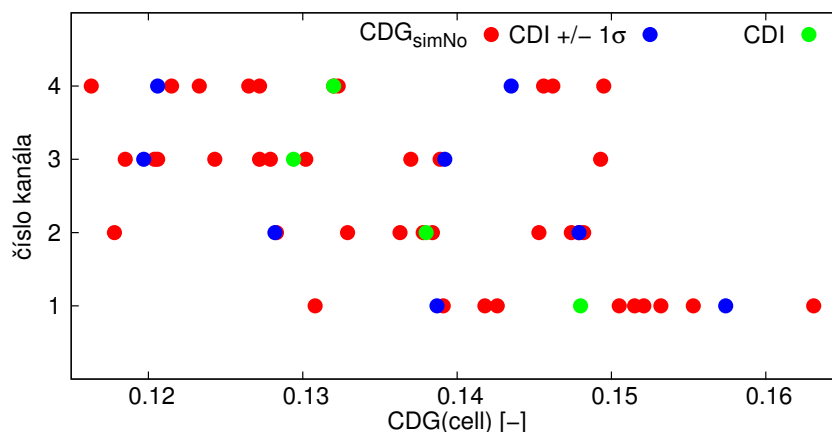
Tabuľka 4.6: Hodnoty priemerných CDG_{simNo} vypočítané pre bunky v jednej simulácii, ich celkový priemer CDI , výberová štandardná odchýlka σ a relatívna odchýlka Δ_{CDG} jednotlivých CDG_{simNo} od CDI .



Obrázok 4.8: Histogramy - grafy početností pre jednotlivé kanály pre sady s 50 bunkami v jednej simulácii (t.j. $50 \cdot 10 = 500$ hodnôt). Na x -ovej osi sú dosiahnuté hodnoty $CDG(cell)$, na y -ovej osi je počet buniek z daného intervalu. Čiernou čiarou je naznačená hodnota CDI .

V grafe na obrázku 4.9 je znázornený rozptyl jednotlivých hodnôt pre sady simulácií s 50 bunkami pre všetky kanály, graficky je spracovaná informácia z tabuľky 4.6. Pre daný kanál sú zobrazené tieto hodnoty: uprostred je celkový priemer, t.j. CDI - zelený bod; červené body sú jednotlivé hodnoty CDG_{simNo} a modrými bodmi sú znázornené hodnoty $(CDI - \sigma)$ a $(CDI + \sigma)$. Predpokladáme, že čím menšia hodnota CDI , tým je poškodenie buniek v danej geometrii menšie. Ak by sme však považovali rozdelenie uvedených dát za normálne, čomu nasvedčujú tvary histogramov na obrázku 4.8, už intervaly $\pm 1\sigma$ sa navzájom prekrývajú. Preto je otázne, či jednotlivé hodnoty CDI sa štatisticky významne odlišujú, t.j. či môžeme vysloviť tvrdenia o vhodnejšej a menej vhodnej geometrii z pohľadu poškodenia buniek.

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK



Obrázok 4.9: Na grafe sú pre jednotlivé kanály znázornené hodnoty CDG_{simNo} - pre 10 simulácií v jednej sade, červené body; CDI - aritmetický priemer CDG_{simNo} , zelený bod; hodnoty $(CDI - \sigma)$ a $(CDI + \sigma)$, kde σ je výberová štandardná odchýlka z hodnôt CDG_{simNo} , modré body.

4.2.3.3 Hlbšie porovnanie dvoch geometrií

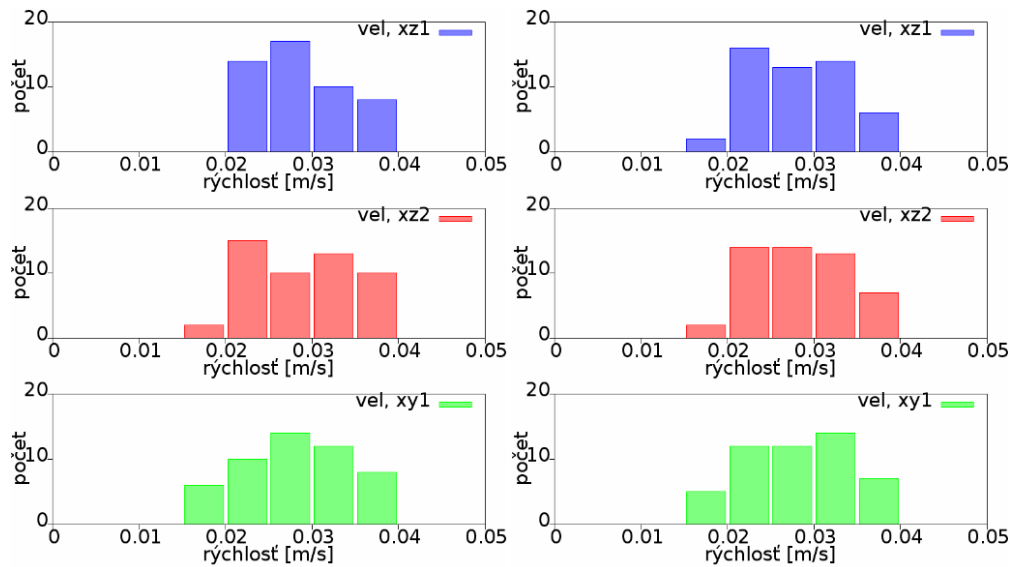
Z predchádzajúcej kapitoly môžeme výsledky pre kanál 3 a 4 označiť za najzaujímavejšie. Z obrázka 4.9 vidíme, že intervaly, v ktorých sa nachádzajú vypočítané hodnoty CDG_{simNo} pre jednotlivé simulácie pre oba kanály, sa prekrývajú. Nevieme preto s istotou rozhodnúť, ktorý kanál je vhodnejší z hľadiska minimalizácie poškodenia buniek. V tejto kapitole sú popísané dve analýzy získaných dát, ktoré môžu poskytnúť doplnkové informácie k hodnote CDI . Pre oba kanály sme analyzovali sady simulácií s 50 bunkami.

Pôvodný index BDI vychádza z lokálnych zmien rýchlostí toku pozdĺž prúdnic, preto sme sa aj my zamerali na rýchlosť buniek počas prechodu ohybom (záujmovou oblasťou).

Aktuálna rýchlosť bunky závisí jednak od jej počiatočnej polohy a tiež od aktuálnej pozície v kanáli. Počas prechodu bunky kanálom sa môže významne meniť. Z tohto dôvodu sme neuvažovali o výpočte priemernej rýchlosti bunky, resp. priemernej rýchlosti viacerých buniek. Zvolili sme dva iné spôsoby. V prvom sme zaznamenali aktuálnu rýchlosť každej bunky pri prechode zvolenou rovinou - prierezom. V druhom sme vybrali päťicu buniek s význačnými pozíciami na začiatku simulácie a zobrazili sme ich zmenu rýchlosti v čase.

Pre oba kanály sme vybrali jednu simuláciu, ktorej CDG_{simNo} sa najmenej líšil od priemeru CDI . Pre kanál 3 to bola simulácia č. 8 a pre kanál 4 č. 9. Na obrázku 4.10 sú histogramy rýchlostí buniek v okamihu prechodu daným prierezom

z týchto simulácií, t.j. 50 buniek pre každú, vľavo pre kanál 3 a vpravo pre kanál 4. Zvolené boli tri prierezy: rovina xz pre $y = 80\mu\text{m}$ označená ako "xz1", rovina xz pre $y = 40\mu\text{m}$ označená ako "xz2" a rovina xy pre $z = 80\mu\text{m}$ označená ako "xy1". Na x -ovej osi histogramov je veľkosť rýchlosti, na y -ovej je počet buniek s danou rýchlosťou. Vidíme, že početnosti pre dané hodnoty rýchlosti sa mierne líšia medzi kanálmi. Pre kanál 4 sú všetky tri histogramy pre tri rôzne prierezy podobné, kým pre kanál 3 vidíme jasné rozdiely. Pravdepodobne to súvisí s "hladkosťou" kanála 4, kde nie sú ostré ohyby ako v prípade kanála 3.

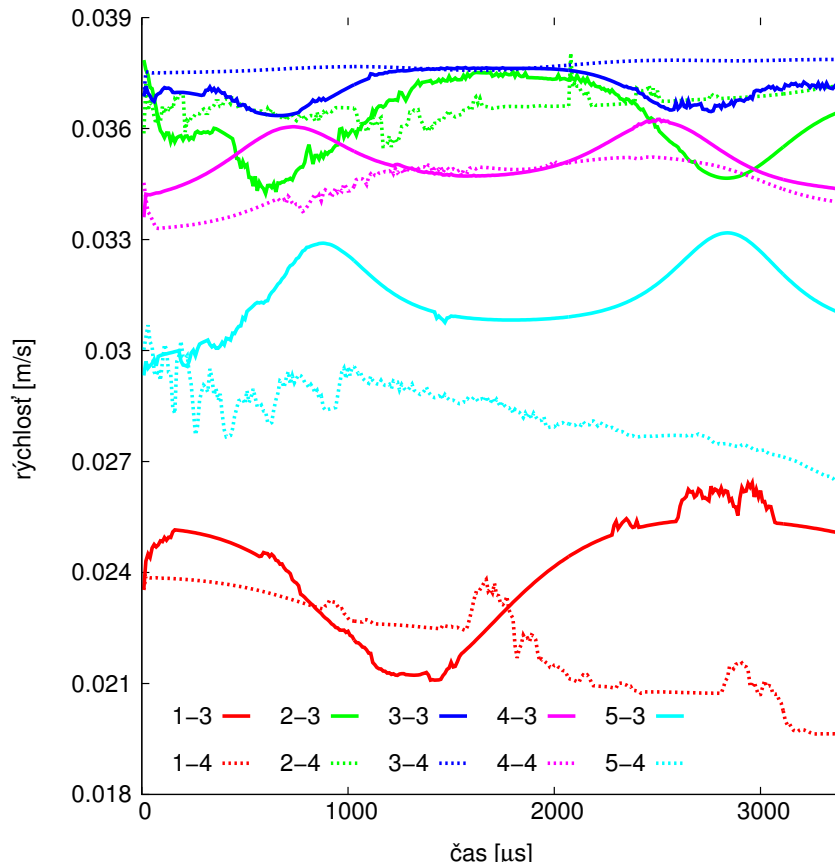


Obrázok 4.10: Histogramy pre rýchlostí buniek pri prechode daným prierezom: "xz1" - rovina xz pre $y = 80\mu\text{m}$, "xz2" - rovina xz pre $y = 40\mu\text{m}$ a "xy1" - rovina xy pre $z = 80\mu\text{m}$, vľavo pre kanál 3 a vpravo pre kanál 4. Na x -ovej osi je hodnota rýchlosti, na y -ovej početnosť buniek s danou rýchlosťou.

V ďalšom kroku sme zvolili 5 význačných polôh na priamke so súradnicami $x = 20\mu\text{m}$ (prechádza stredom kanála) a $y = 100\mu\text{m}$, z -ovú súradnicu sme zvolili tak, aby boli zastúpené bunky z celej šírky kanála, t.j. $z_1 = 11\mu\text{m}$, $z_2 = 16\mu\text{m}$, $z_3 = 20\mu\text{m}$, $z_4 = 24\mu\text{m}$ a $z_5 = 29\mu\text{m}$. Zo všetkých 50-bunkových simulácií pre oba kanály sme určili päťicu buniek, ktorých pozícia na začiatku bola najbližšia k vybraným polohám. Pripomíname, že bunky boli v kanáli umiestňované náhodne. Na obrázku 4.11 je graf závislosti rýchlosti na čase. Každá prislúchajúca dvojica (bunka z kanála 3 a 4) je zobrazená inou farbou, pričom plné čiary sú pre bunky z kanála 3, prerušované z kanála 4. Vidíme zreteľný rozdiel v tvare čiar. Kým pre kanál 3 sú to vždy dva výrazné vrcholy, bunka buď spomalila alebo zrýchli na ostrom ohybe kanála. Pre kanál 4 tieto vrcholy nevidíme. Veľkosť rýchlostí buniek

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

pre oba kanály je porovnateľná, ako už bolo vidno aj z histogramov na obrázku 4.10. Zároveň aj rozdiely medzi minimom a maximom dosiahnutej rýchlosti pre jednu bunku sú rádovo porovnateľné pre oba kanály. Z tohto dôvodu ani táto analýza v tomto prípade nám nedáva odpoveď na otázku, ktorý z kanálov je lepší.



Obrázok 4.11: Zmena rýchlosti v čase pre vybraných 5 buniek z kanála 3 - plné čiary a 4 - prerušované čiary. Prislúchajúca dvojica buniek má rovnakú farbu čiar. Bunky sa líšia počiatočnou z -ovou súradnicou v kanáli.

Ako jednu z ďalších možností pre porovnanie kanálov môžeme zvoliť počet buniek s veľkým $CDG(cell)$. Na hodnotenie kanála môže mať vplyv nielen priemerná hodnota CDI , ale aj počet buniek s veľkou mierou poškodenia. Určité geometrie by mohli byť špecifické v tom, že časť buniek by mala nízku mieru poškodenia a časť vysokú. Potom by priemerná hodnota CDI mohla byť prijateľná, a napriek tomu časť buniek by mohla byť poškodená až zničená, čo je nežiadúce. V tabuľke 4.7 sú uvedené počty buniek s veľkou hodnotou $CDG(cell)$ pre kanál 3 a 4. V prvom riadku je uvedený počet buniek, ktorých $CDG(cell)$ bol väčší ako dvojnásobná hodnota CDI príslušného kanála a v druhom riadku je počet buniek s $CDG(cell)$

väčším ako 0.3. Celkový počet buniek bol 500 (10 simulácií po 50 buniek). Vidíme, že počet buniek s veľkým $CDG(cell)$ je porovnateľný.

poškodenie	kanál 3	kanál 4
$2 \times CDI$	29 (5.8%)	24 (4.8%)
0.3	12 (2.4%)	13 (2.6%)

Tabuľka 4.7: Počty buniek s veľkým $CDG(cell)$ v simuláciách v kanáli 3 a 4.

Z uvedeného porovnania CDI , porovnania rýchlostných profilov v priereze a rýchlostí vybraných buniek pozdĺž celého kanála a porovnania počtov buniek s veľkou hodnotou $CDG(cell)$ môžeme skonštatovať, že medzi kanálom 3 a 4 nie je významný rozdiel z hľadiska poškodenia buniek.

4.2.3.4 Porovnanie s BDI

Výsledky z predchádzajúcich kapitol môžeme čiastočne validovať porovnaním s hodnotami BDI , jeho popis je uvedený v kapitole 4.2. Pre tento účel boli vo voľne dostupnom (open-source) softvéri Salome [2] vygenerované geometrie kanálov 1, 2, 3 a 4 spolu s parametrami a diskretnou sieťou pre tekutinu. Následne boli informácie o sieti vložené do voľne dostupného softvéru Elmer [3], ktorý používa metódu konečných elementov na výpočet rôznych simulácií z oblasti dynamiky tekutín, akustiky, elektromagnetizmu a podobne. V tomto prípade bol použitý na výpočet jednotlivých prúdnic toku tekutiny pomocou Navier-Stokesových rovníc. Z týchto prúdnic sme dostali informácie o šmykovom napätí vnútri kanála. Pozdĺž každej prúdnice bol vypočítaný čiastkový BDI a spriemerovaním týchto hodnôt pre zvolený počet prúdnic (zvolili sme určitú hustotu prúdnic na prierez kanála) bol určený BDI pre daný kanál podľa vzťahu (4.4).

Tabuľka 4.8 má dve časti. V prvej sú uvedené hodnoty CDI pre sady simulácií s 50 bunkami. V druhej časti sú uvedené hodnoty BDI pre dané kanály. Pre lepšiu prehľadnosť sú tieto hodnoty vynásobené $\times 10^5$.

V prvom stĺpci sú uvedené vypočítané hodnoty CDI , resp. BDI pre jednotlivé kanály, vedľa pomer hodnôt k referenčnej hodnote (ako referenčná bola vzatá hodnota pre kanál 1). Vidíme, že rozdiel medzi kanálom 1 a 2 je pre CDI aj BDI rovnaký, odstup medzi kanálmi 1, 2 a 3, 4 je výraznejší pre BDI .

V treťom stĺpci je uvedená maximálna individuálna dosiahnutá hodnota $CDG(cell)$ zo všetkých buniek v danej sade a maximálna dosiahnutá hodnota čiastkového BDI .

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

kanál	CDI	$\frac{CDI}{CDI_{ref}}$	max	$\frac{max}{CDI}$	$\frac{max}{max_{ref}}$
1	0.1480	1.000	0.3879	2.6205	1.00
2	0.1380	0.932	0.4088	2.9621	1.05
3	0.1294	0.874	0.4366	3.3737	1.13
4	0.1320	0.892	0.3984	3.0177	1.03

kanál	BDI	$\frac{BDI}{BDI_{ref}}$	max	$\frac{max}{BDI}$	$\frac{max}{max_{ref}}$
1	2.4355	1.000	6.006	2.4660	1.00
2	2.2762	0.935	5.8453	2.5680	0.97
3	1.9844	0.815	5.5478	2.7957	0.92
4	2.0267	0.832	5.624	2.7750	0.94

Tabuľka 4.8: Uvedené sú hodnoty CDI a BDI pre kanály 1, 2, 3 a 4 a ich pomer vzhľadom na referenčnú hodnotu (index pre kanál 1). Nasledujú maximálne dosiahnuté hodnoty $CDG(cell)$ zo všetkých buniek v sade a čiastkových BDI . Všetky hodnoty pre BDI sú vynásobené $\times 10^5$ pre lepšiu prehľadnosť.

V štvrtom stĺpci je ich pomer vzhľadom na CDI , resp. BDI . V piatom stĺpci je pomer k referenčnej hodnote, ako referenčná bola vzatá maximálna hodnota pre kanál 1. V tejto časti dostávame informáciu o najviac poškodenej bunke, resp. o najviac poškodzujúcej prúdnici. Zaujímavé je, že kým pre BDI sú všetky maximálne hodnoty menšie od referenčnej, v prípade CDI je to naopak. Pre kanál 3 pre BDI je absolútna hodnota maxima najmenšia zo všetkých, kým pre CDI je to práve naopak. Tu sa pravdepodobne prejavuje pridaná hodnota nášho rozšíreného indexu CDI , ktorý môže odhaliť určitú význačnú kombináciu počiatkovej polohy a natočenie bunky, ktorá môže viesť k významne väčším deformáciám a poškodeniu v porovnaní s priemernými hodnotami.

Z uvedených dát môžeme usúdiť, že vieme kvalitatívne ohodnotiť jednotlivé geometrie - kanály pomocou nami definovaného CDI . Tieto hodnotenia sa významne nelíšia od hodnôt BDI pre tieto kanály. Máme však navyše informáciu o poškodení jednotlivých buniek.

V budúcnosti by bolo vhodné vykonať analýzu vplyvu rýchlosti tekutiny na hodnoty CDI a BDI . Zaujímavou by mohla byť aj analýza vplyvu počiatkovej natočenia bunky. Vieme, že natočenie vzhľadom na smer toku má vplyv na deformáciu bunky, ako je uvedené v kapitole 3.2. Kým pre danú prúdnicu môžeme hodnotu čiastkového BDI považovať za konštantu, hodnota $CDG(cell)$ by mala závisieť nie-

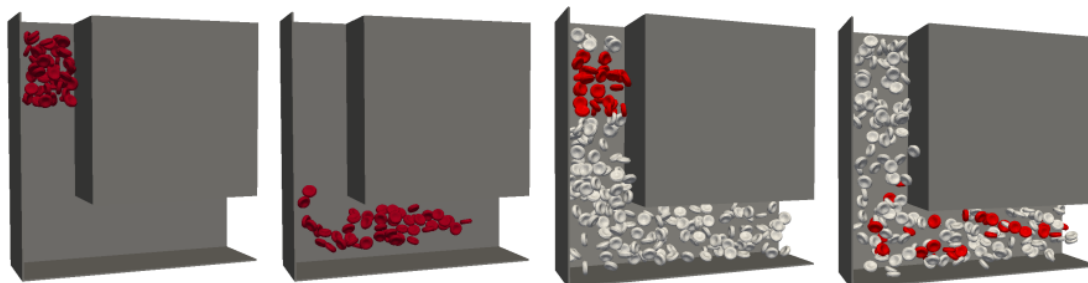
len na počiatkovej polohe bunky, ale aj na jej natočení. Taktiež by budúce analýzy mali zahŕňať komplikovanejšie geometrie (modely reálnych zariadení, používaných v experimentoch) a vyhodnotenie rozdielov medzi oboma indexami.

4.2.4 Vplyv hustoty toku na poškodenie

V predchádzajúcej kapitole boli popísané simulácie, kedy bunky boli umiestnené len na začiatku kanála a zvyšok kanála bol prázdny. Keďže výpočet uvedených simulácií aj s paralelizáciou trvá v rádovo dňoch, volili sme čo najmenší počet buniek pre prvotné overenie vhodnosti definície CDI podľa (4.7). V ďalšom kroku sme bunky rozmiestnili náhodne v celom objeme kanála, tak aby sme simulovali reálny experiment.

4.2.4.1 Porovnanie prázdneho a plného kanála

Predpokladali sme, že ak budú bunky rovnomerne rozmiestnené v celej dĺžke kanála, ovplyvní to hodnotu CDI . V tejto kapitole sú porovnané výsledky pre prázdny a plný kanál s hematokritom približne 5%, pre geometriu kanála 1. Na obrázku 4.12 je náčrt uvedených kanálov, vľavo prázdny kanál a vpravo plný kanál.



Obrázok 4.12: Vľavo prázdny kanál - začiatok a stred simulácie, vpravo plný kanál - začiatok a stred simulácie. Sledované bunky sú vyznačené červenou farbou.

Pod prázdny kanálom budeme rozumieť počiatkové umiestnenie buniek len na začiatok kanála, ako bolo popísané v kapitole 4.2.3.1. Bunky boli náhodne rozmiestnené vo zvolenej oblasti s daným hematokritom. V plnom kanáli sú bunky rovnomerne rozmiestnené v celom kanáli s daným hematokritom. Zvolili sme bunky, ktoré budú sledované, na obrázku 4.12 sú zobrazené červenou. Nachádzajú sa v porovnateľnej oblasti ako pre prázdny kanál. V tomto prípade však bunky cirkulujú v kanáli. Bunky, ktoré dosiahnúť koniec kanála sú prenesené na jeho začiatok pre zachovanie stabilného hematokritu. Preto oblasť pre sledované bunky je nižšia

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

ako v prípade prázdneho kanála a tým pádom počet sledovaných buniek v plnom kanáli je o niečo nižší ako počet sledovaných buniek v prázdnom kanáli. Pre plný kanál sme rovnako ako pre prázdny kanál spustili sadu 10 simulácií, ktoré sa líšili len rozmiestnením buniek na začiatku simulácie. Na obrázku je okrem počiatocnej pozície buniek, zobrazená aj pozícia buniek uprostred simulácie. Vidíme, že v prázdnom aj plnom kanáli sa sledované bunky podobne rozptýlia - v strede kanála je rýchlosť tekutiny, a teda aj buniek, väčšia. Na okrajoch kanála je rýchlosť menšia.

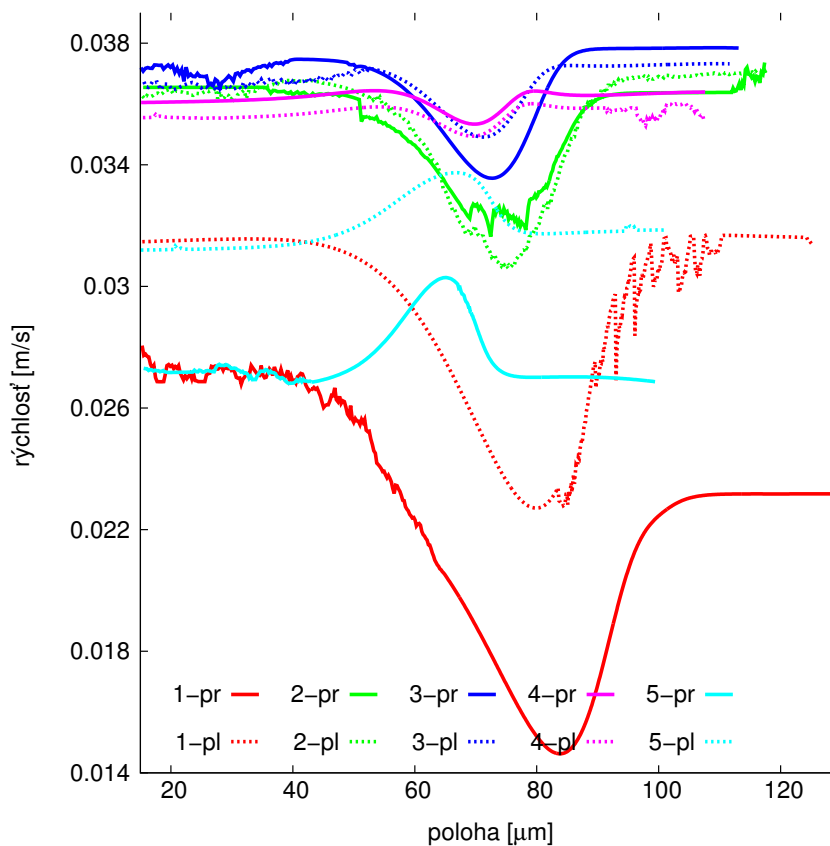
Na základe obrázka 4.12 sme predpokladali, že rýchlosť sledovaných buniek v prázdnom aj plnom kanáli je porovnateľná, t.j. okolité bunky neovplyvnia ich rýchlosť. Preto sme, podobne ako v kapitole 4.2.3.3, obrázok 4.11, porovnali rýchlosť vybraných buniek počas prechodu kanálom. V tomto prípade však porovnávame bunky v rovnakom kanáli, v rovnakej geometrii, a tak sme zobrazili závislosť aktuálnej veľkosti rýchlosti na polohe bunky v kanáli (pod polohou rozumieme polohu ťažiska bunky). Daný graf je na obrázku 4.13. Vidíme, že tvar kriviek pre prislúchajúcu dvojicu je takmer totožný. Posunutie, t.j. rozdielna veľkosť rýchlosti je spôsobená tým, že prislúchajúce bunky nemajú totožnú počiatočnú polohu, vzhľadom na to, že boli generované náhodne.

Napriek tomu, že priebeh rýchlostí vybraných buniek je porovnateľný, hodnoty CDI pre prázdny a plný kanál sa líšia, uvedené sú v tabuľke 4.9. Rozptyl hodnôt, t.j. výberová štandardná odchýlka σ , minimum a maximum z hodnôt CDG_{simNo} v pomere ku CDI sú porovnateľné.

kanál 1	CDI	$\frac{CDI}{CDI_{ref}}$	σ	$\frac{\sigma}{CDI}$	min	$\frac{min}{CDI}$	max	$\frac{max}{CDI}$
prázdny	0.1480	1.000	0.0094	0.063	0.1308	0.884	0.1631	1.102
plný	0.1851	1.251	0.0153	0.083	0.1626	0.878	0.2096	1.132

Tabuľka 4.9: Hodnoty CDI pre kanál 1 prázdny a plný, ich pomer vzhľadom na referenčnú hodnotu. Ďalej sú uvedené výberové štandardné odchýlky σ a ich pomer ku hodnote CDI . V ďalších stĺpcoch sú uvedené minimálne a maximálne dosiahnuté hodnoty z CDG_{simNo} .

Zdôvodnenie výrazného rozdielu v hodnote CDI vidíme na obrázku 4.14. Zobrazené sú histogramy pre prázdny (červený) a plný (modrý) kanál pre všetky bunky zo sady 10 simulácií. Vzhľadom na to, že porovnávame rôzny počet buniek, histogramy sú normalizované na daný počet buniek. Vidíme, že v prípade plného kanála má výrazne väčší počet buniek väčšiu hodnotu $CDG(cell)$, čo sa odrazí na



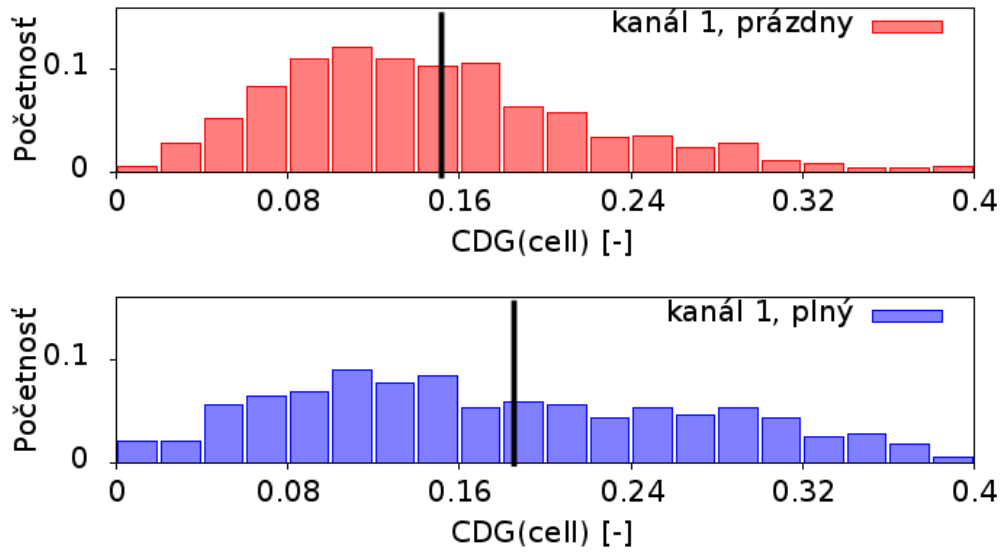
Obrázok 4.13: Závislosť rýchlosti na polohe v kanáli pre vybraných 5 buniek z prázdneho kanála 1 - plné čiary a plného kanála 1 - prerušované čiary. Prislúchajúca dvojica buniek má rovnakú farbu čiar. Bunky sa líšia počiatočnou z -ovou súradnicou v kanáli. Poloha je počítaná ako vzdialenosť od počiatočnej polohy.

celkovom priemere CDI , ktorý je znázornený zvislou čiernou čiarou. Môžeme zhodnotiť, že v plnom kanáli dochádza ku častejším interakciám medzi bunkami a tým pádom aj k väčším deformáciám buniek.

4.2.4.2 Rôzny hematokrit v plnom kanáli

Pre porovnanie vplyvu hematokritu (množstva buniek v kanáli) na poškodenie buniek sme spustili tri sady simulácií v kanáli 1. Parametre buniek a tekutiny zostali nezmenené. V každej sade bolo 10 simulácií, ktoré sa líšili len počiatočnou polohou náhodne umiestnených buniek. Bunky boli umiestnené s rovnakou hustotou v celom kanáli, viď obrázok 4.12 vpravo. Simulácie navzájom sa líšili hematokritom, resp. počtom buniek. Ako sledované bunky, resp. bunky pre ktoré bola počítaná hodnota $CDG(cell)$ boli zvolené všetky bunky, ktorých y -ová súradnica ťažiska na začiatku

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK



Obrázok 4.14: Histogramy - grafy početností pre kanál 1, prázdny (červený) a plný (modrý). Na x -ovej osi sú dosiahnuté hodnoty $CDG(cell)$. Na y -ovej osi je početnosť buniek z daného intervalu, normalizovaná na celkový počet buniek z danej sady simulácií. Zvislou čiernou čiarou sú znázornené hodnoty CDI .

simulácie bola v rozmedzí ($86.0\mu m$, $120.0\mu m$). V tabuľke 4.10 sú zobrazené hodnoty hematokritu a k nemu prislúchajúce počty buniek v celom kanáli a približný počet sledovaných buniek (ten sa mení, pretože bunky sú stále náhodne umiestňované).

simulácia	hematokrit	počet všetkých buniek	počet sledovaných buniek
1	5%	191	cca 31
2	10%	381	cca 60
3	15%	572	cca 90

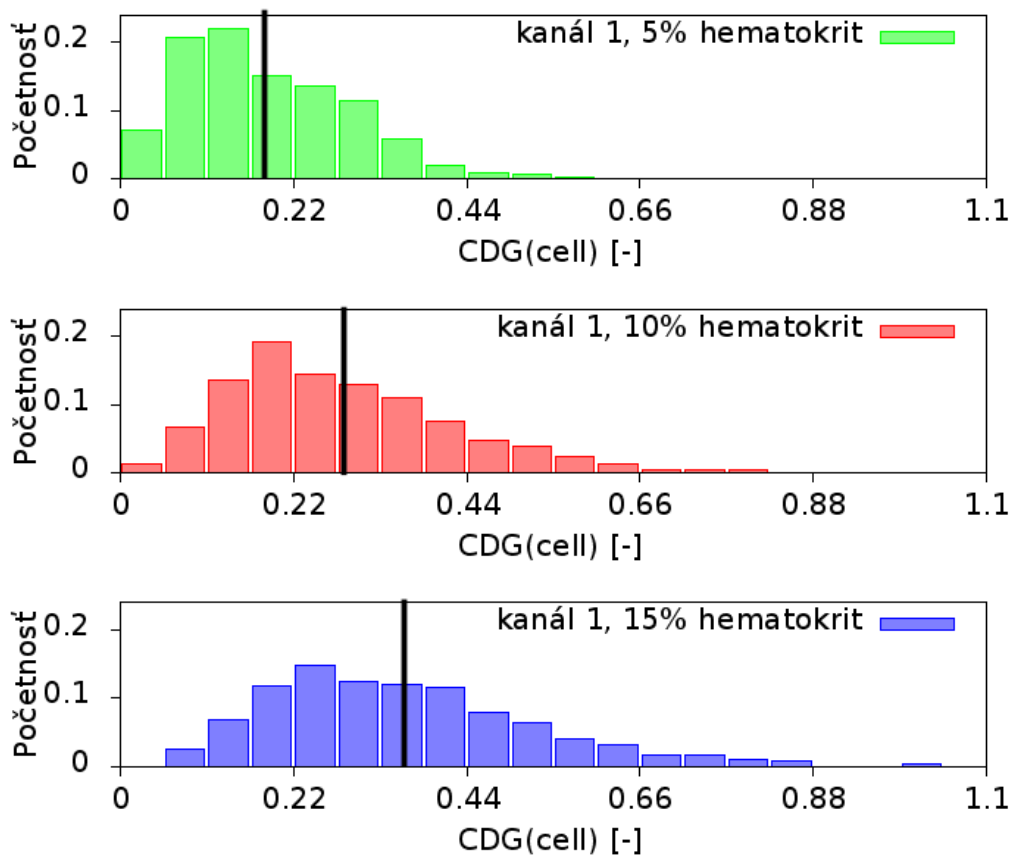
Tabuľka 4.10: Hematokrit a k nemu prislúchajúce počty buniek - počet všetkých buniek v kanáli, počet sledovaných buniek - počet buniek s danou polohou na začiatku simulácie, pre ktoré sme sledovali zmeny celkovej plochy, t.j. $CDG(cell)$.

Tabuľka 4.11 je podobná tabuľke 4.9 pre prázdny a plný kanál, ale v tomto prípade pre simulácie s hematokritom 5%, 10% a 15%. Vidíme, že s rastúcim hematokritom sa zvyšuje aj hodnota CDI a zároveň klesá rozptyl hodnôt CDG_{simNo} , t.j. rozdiel medzi jednotlivými hodnotami CDG_{simNo} a CDI . Z toho môžeme usúdiť, že čím vyšší hematokrit v simuláciách použijeme, tým menej simulácií je potrebné spustiť, aby sme dosiahli dostatočnú presnosť hodnoty CDI .

Jednotlivé hodnoty $CDG(cell)$ pre všetky sledované bunky sú zobrazené v his-

kanál 1	CDI	$\frac{CDI}{CDI_{ref}}$	σ	$\frac{\sigma}{CDI}$	min	$\frac{min}{CDI}$	max	$\frac{max}{CDI}$
5% hem.	0.1851	1.000	0.0153	0.083	0.1626	0.878	0.2096	1.132
10% hem.	0.2783	1.504	0.0166	0.06	0.2581	0.927	0.3023	1.086
15% hem.	0.3603	1.946	0.0069	0.019	0.3504	0.972	0.3688	1.024

Tabuľka 4.11: Hodnoty CDI pre kanál 1 pre hematokrit 5%, 10% a 15% a ich pomer vzhľadom na referenčnú hodnotu. Ďalej sú uvedené výberové štandardné odchýlky σ počítané z 10 hodnôt CDG_{simNo} a ich pomer ku hodnote CDI . V ďalších stĺpcoch sú uvedené minimálne a maximálne dosiahnuté hodnoty zo všetkých CDG_{simNo} .



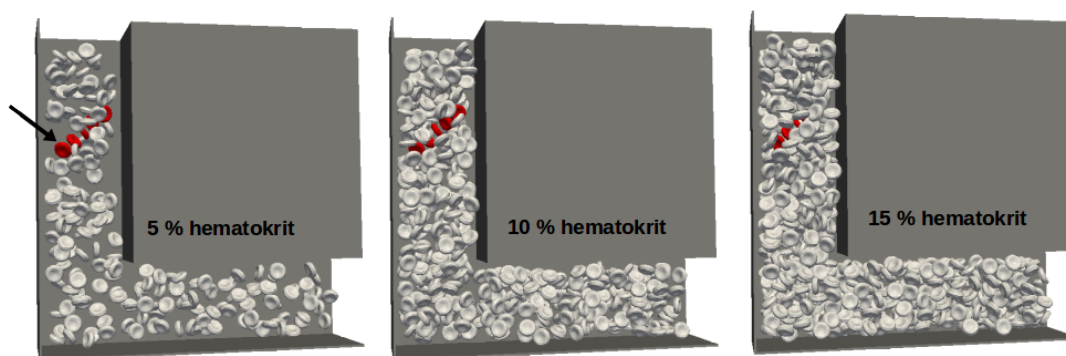
Obrázok 4.15: Histogramy pre kanál 1, hematokrit 5% (zelený), 10% (červený) a 15% (modrý). Na x -ovej osi sú dosiahnuté hodnoty $CDG(cell)$. Na y -ovej osi je početnosť buniek z daného intervalu, normalizovaná na celkový počet buniek z danej sady simulácií. Tento počet sa pre rôzne hematokrit líši.

togramoch na obrázku 4.15. Počet sledovaných buniek pre jednotlivé hematokrity je rôzny, preto početnosti v histogramoch sú normalizované na počet buniek. Čím

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

vyšší hematokrit, tým bola dosiahnutá maximálna početnosť pre väčšiu hodnotu $CDG(cell)$ a taktiež bola zaznamenaná väčšia maximálna hodnota. Z čoho môžeme usúdiť, že pri vyššom hematokrite dochádza k väčším deformáciám buniek.

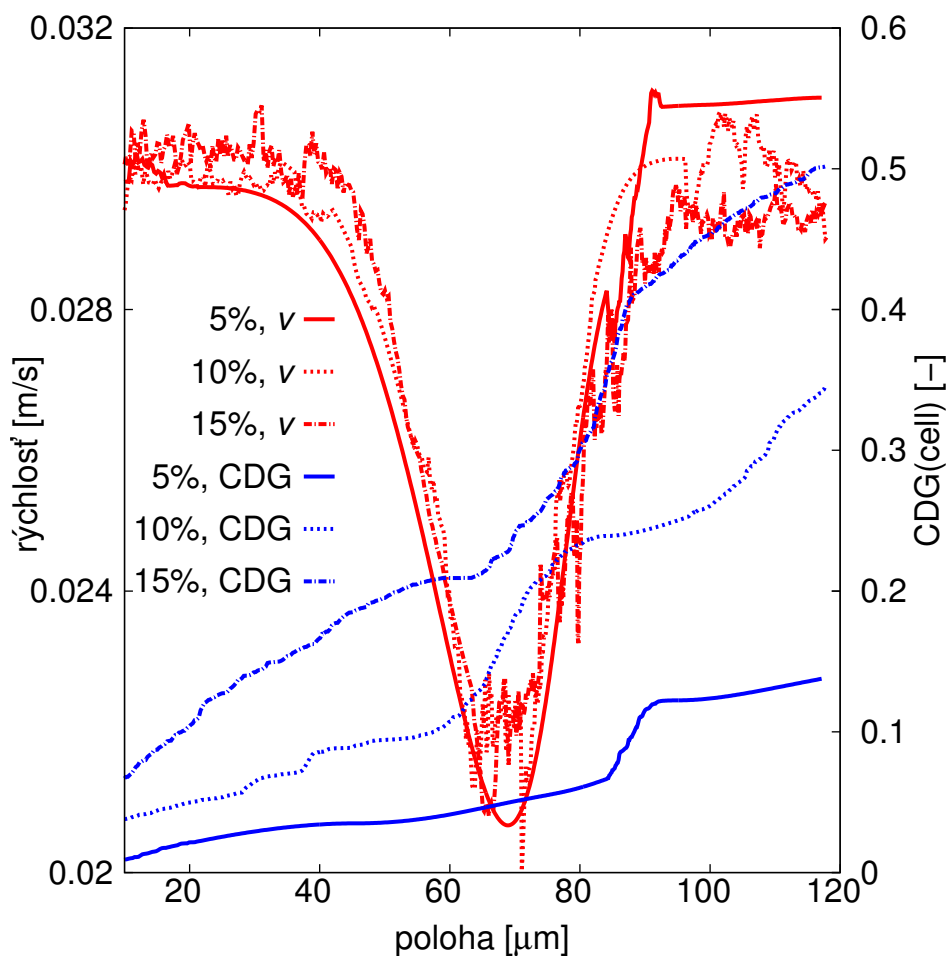
Opäť sme porovnali rýchlosti vybraných buniek v kanáli. Zvolili sme 5 počiatkových pozícií a natočení buniek. Spustili sme 3 simulácie, v ktorých boli tieto zvolené bunky na totožných pozíciách a ostatné bunky boli náhodné umiestnené s hematokritom 5%, 10% a 15%. Snímky z uvedených simulácií sú na obrázku 4.16. Červenou sú znázornené vybrané bunky. Množstvo buniek bolo zvolené tak, aby pokrývali v jednej priamke celý prierez kanála. Čierna šípka označuje prvú bunku v poradí.



Obrázok 4.16: Snímka zo simulácií, v ktorých bola sledovaná vybraná päťica buniek - znázornené sú červenou. Čierna šípka označuje prvú bunku v poradí.

Rýchlosti a trajektórie buniek, pri rôznych hematokritoch, sú porovnateľné. Významne sa líšia hodnoty $CDG(cell)$, čo ilustruje graf na obrázku 4.17. Na grafe sú namerané a vypočítané hodnoty pre "prvú" bunku z obrázka 4.16 (bunka označená čiernou šípkou). Červenou je znázornená závislosť aktuálnej rýchlosti bunky od polohy v kanáli. Poloha je počítaná ako vzdialenosť od počiatkovej polohy. Súradnice počiatkovej polohy bunky v grafe boli ($19\mu m$, $88\mu m$, $11\mu m$), bunka bola blízko vonkajšieho okraja kanála. Pre každý hematokrit sú krivky rozlíšené typom - plná čiara pre 5%, bodkovaná pre 10% a bodko-čiarkovaná pre 15% hematokrit.

Vidíme, že sa navzájom líšia len veľmi mierne, najmä v lokálnych fluktuáciách. Tie sú pravdepodobne spôsobené interakciami medzi bunkami. Ak sa bunky priblížia k sebe na vzdialenosť menšiu ako je nastavená hodnota, začnú sa odpudzovať silami, ktoré prislúchajú k odpudivému potenciálu (popísaný bol v kapitole 2.1.2). Zároveň je rýchlosť bunky počítaná ako priemerná rýchlosť všetkých bodov na jej povrchu. Tieto dve skutočnosti môžu spôsobiť, že v simulácií síce vidíme plynulý tok bunky



Obrázok 4.17: Závislosť rýchlosti na polohe v kanáli pre prvú bunku z päťice vybraných buniek (viď obrázok 4.16) v kanáli 1 pre hematokrit 5%, 10% a 15% - červené krivky. Modrým krivkami je znázornená závislosť $CDG(cell)$ na polohe v kanáli. Poloha je počítaná ako vzdialenosť od počiatkovej polohy.

kanálom, v detailnejšom pohľade však zaznamenávame prudké, ale malé, zmeny smeru a veľkosti rýchlosti.

Modrou farbou na grafe sú znázornené krivky pre $CDG(cell)$, typ kriviek je rovnaký ako pre rýchlosti. Ako sme očakávali, kumulatívna hodnota relatívnej odchýlky celkovej plochy s časom, resp. s prejdenou dráhou, rastie. Vo všeobecnosti je hodnota $CDG(cell)$ závislá od polohy, trajektórie a okolia danej bunky. Pod okolím rozumieme ďalšie bunky, resp. prekážky. Pre väčšinu buniek však platí, že s vyšším hematokritom je hodnota $CDG(cell)$ vyššia (histogramy na obrázku 4.15), tak ako to vidíme aj na tomto grafe.

Zaujímavý poznatok sme získali porovnaním tvaru kriviek pre rýchlosť a hodnotu

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

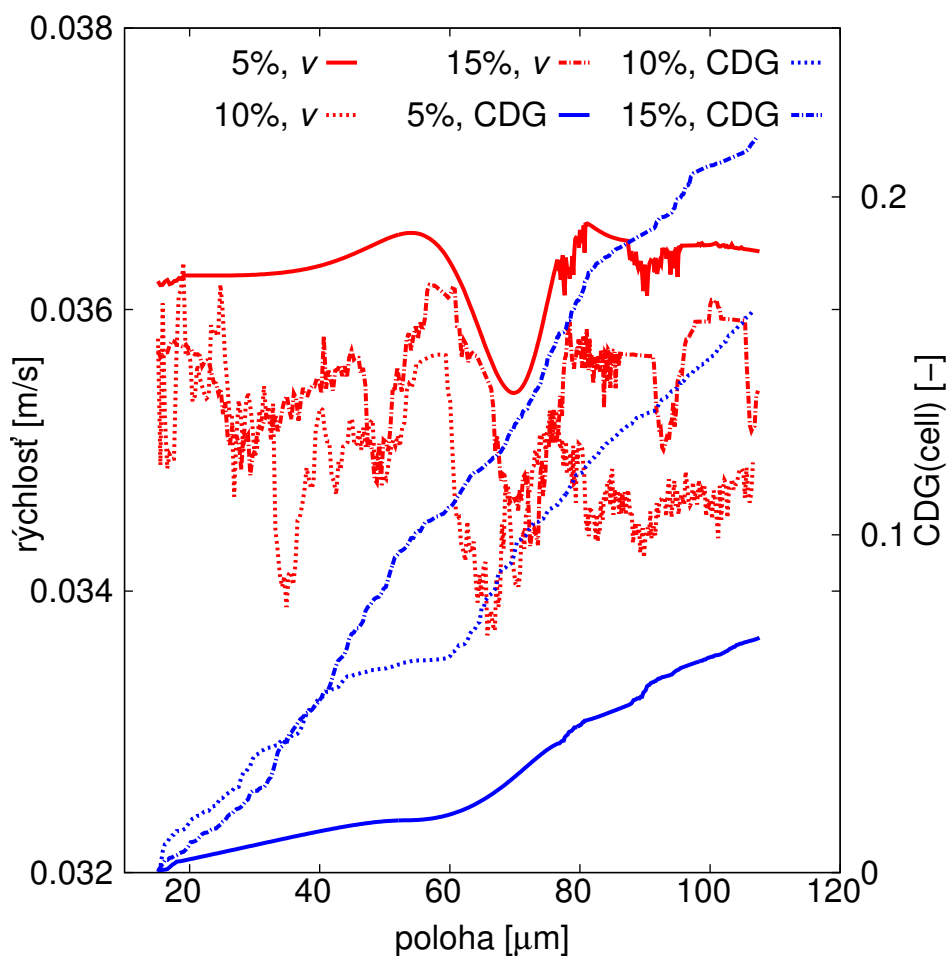
$CDG(cell)$. Tam, kde nastali fluktuácie v rýchlosti, a teda predpokladáme, že došlo k interakcii s inou bunkou, resp. bunkami, nastal tiež prudký nárast $CDG(cell)$. Zreteľné je to pre bunku v simulácii s 5% hematokritom - plné krivky. Modrá krivka jemne rastie až do vzdialenosti cca $90\mu m$, kde pozorujeme krátky prudký nárast. Rovnako červená krivka je hladká, až do danej vzdialenosti, kde pozorujeme fluktuácie.

Poznamenajme ešte, že rozdiel medzi maximálnou a minimálnou rýchlosťou bunky je zhruba $0.1m/s$ a výrazné spomalenie bunky nastalo pri prechode ohybom kanála. Bunka sa nachádzala na vonkajšej strane kanála a najnižšie rýchlosti toku boli práve v miestach vonkajšieho rohu kanála.

Ilustráciou toho, že poškodenie, resp. deformácia bunky a jej rýchlosť v toku nezávisia len od počiatočnej polohy a natočenia, ale aj od rozmiestnenia okolitých buniek, je graf na obrázku 4.18. Ide o bunku z rovnakých simulácií ako v predchádzajúcom prípade, ale so súradnicami počiatočnej polohy ($21\mu m, 100\mu m, 24\mu m$), t.j. "štvrtú" bunku podľa obrázka 4.16. Nachádzala sa významne bližšie k vnútornému okraju kanála ako predchádzajúca bunka.

Vidíme, že pre hematokrit 5% bola zmena rýchlosti bunky hladká, kým pre vyšší hematokrit pozorujeme fluktuácie počas celého toku bunky kanálom. Z vizuálnej analýzy simulácie môžeme povedať, že v simuláciách s hematokritom 10% a 15% bunka jednak interagovala s ostatnými okolitými bunkami a zároveň v toku rotovala, čo spôsobilo zmeny rýchlosti viditeľné v grafe. Je treba však poznamenať, že rozdiel medzi minimálnou a maximálnou rýchlosťou bunky je výrazne nižší (cca 5 krát) ako v predchádzajúcom prípade, zhruba len $0.02m/s$. Na druhú stranu veľkosť rýchlosti je vyššia. Ak porovnáme hodnoty pre $CDG(cell)$, pre prvú bunku sú vyššie (pre všetky hematokrity) ako pre druhú bunku. Môžeme z toho skonštatovať, že zmeny rýchlosti bunky vplyvajú na hodnotu $CDG(cell)$, čo sme aj očakávali. Naopak vyššia stabilná hodnota rýchlosti neznamena vyššiu hodnotu $CDG(cell)$.

V predchádzajúcich kapitolách sme z rôzneho pohľadu analyzovali náš návrh indexu poškodenia bunky CDI pri prechode mikrofluidickým zariadením. Ukazuje sa, že zdokumentované výsledky sú v dobrej zhode s už používaným indexom BDI , vo výpočte ktorého nie je priamo zahrnuté správanie sa buniek v toku.



Obrázok 4.18: Závislosť rýchlosti na polohe v kanáli pre štvrtú bunku z päťice vybraných buniek (viď obrázok 4.16) v kanáli 1 pre hematokrit 5%, 10% a 15% - červené krivky. Modrým krivkami je znázornená závislosť $CDG(cell)$ na polohe v kanáli. Poloha je počítaná ako vzdialenosť od počiatkovej polohy.

4.2.5 Budúce pokračovanie

Hodnoty BDI máme k dispozícii pre rôzne hodnoty hematokritu. Bude vhodné porovnať tvar kriviek závislostí CDI a BDI od hematokritu. V našich simuláciách náhodným rozmiestňovaním buniek (s podmienkou minimálneho prekryvu) vieme dosiahnuť 15% hematokrit. Inými metódami vieme dosiahnuť hematokrit zhruba 45%, čo je na úrovni hematokritu ľudskej krvi. Avšak tieto simulácie budú časovo náročné vzhľadom na množstvo buniek. Pri 15% hematokrite sme v simulácii v geometrii kanála 1 mali 572 buniek a pri paralelizácii na 9 lokálnych boxov simulácie trvali rádovo 10 dní.

V tabuľke 4.12 sú uvedené hodnoty CDI a BDI pre rôzne hematokrity spolu

4.2. OPTIMALIZÁCIA MIKROFLUIDICKÝCH ZARIADENÍ Z POHĽADU MINIMALIZÁCIE POŠKODENIA BUNIEK

s pomerom k referenčnej hodnote. Vidíme, že na rozdiel od tabuľky 4.8, v ktorej boli hodnoty pre kanály 1, 2, 3 a 4, tentoraz sú väčšie rozdiely v hodnotách CDI v porovnaní s BDI .

hematokrit	CDI	$\frac{CDI}{CDI_{ref}}$	BDI	$\frac{BDI}{BDI_{ref}}$
5%	0.1851	1.000	0.3259	1.000
10%	0.2783	1.504	0.3694	1.133
15%	0.3603	1.946	0.4205	1.29

Tabuľka 4.12: Uvedené sú hodnoty CDI a BDI pre kanál 1 pre hematokrit 5%, 10% a 15% a ich pomer vzhľadom na referenčnú hodnotu.

V ďalšom kroku je potrebné porovnať výsledky popísané v kapitole 4.2.4.2 s výsledkami pre geometriu kanála 3 a 4. Následne porovnať vypočítané hodnoty CDI a BDI pre reálne geometrie a výsledky porovnať s experimentom.

5 Záver

5.1 Prínos práce

Mikrofluidické zariadenia majú široké využitie v rôznych oblastiach ľudských činností. V tejto práci sú bližšie popísané zariadenia, slúžiace na analýzu buniek vo vzorke krvi. Parametre týchto zariadení priamo ovplyvňujú ich vlastnosti ako napríklad efektívnosť záchytu, resp. identifikáciu vybraných buniek alebo ich poškodenie. Testovanie týchto zariadení *in vitro* je relatívne náročné z finančného aj časového hľadiska. Simulácie *in silico* môžu dať odpovede na mnohé otázky oveľa rýchlejšie a lacnejšie. Predpokladom je však existencia dobrého simulačného modelu.

Táto práca je venovaná popisu, vývoju a použitiu simulačného modelu, ktorý umožňuje simulovať tok buniek v homogénnom prostredí v umelých zariadeniach. Tento model vzniká ako súčasť výskumnej práce skupiny Cell-in-fluid [1].

Medzi hlavné prínosy tejto práce patrí

- návrh, analýza a implementácia nového tvaru modulu pružnosti a modulu pre zachovanie lokálnej plochy, popísaná v kapitole 2.2.
- kalibrácia modelu červenej krvinky - návrh algoritmu kalibrácie a jej vykonanie pre siete s rôznym počtom bodov, popísaná v kapitole 3.3
- návrh a realizácia simulácií *in silico*, ktoré využívajú simulačný model na analýzu správania sa toku buniek v tekutine. V kapitole 4.1 bol model využitý na analýzu miery záchytu vybraných buniek v zariadení v závislosti od geometrie zariadenia a hustoty vzorky. V kapitole 4.2 bol navrhnutý nový prístup ohodnotenia geometrie zariadenia z hľadiska poškodenia buniek. Tento prístup bol testovaný a analyzovaný z viacerých pohľadov sériou väčšieho množstva simulácií.

Všetky publikované výsledky, ktoré boli dosiahnuté v rámci doktorandského štúdia, sú uvedené v kapitole 5.3.

5.2 Budúci výskum

Simulačný model, popísaný v tejto práci, je možné v tejto dobe považovať za funkčný nástroj na modelovanie toku elastických objektov v toku homogénnej tekutiny. Jeho využitie je možné nielen na modelovanie toku RBC a krvnej plazmy v mikrofluidickom zariadení. Môžeme uvažovať o mikrofluidických zariadeniach pre rôzne účely, taktiež tok rôznych elastických objektov, ktoré nemusia byť nutne bunky.

Náš model len napodobňuje reálny systém. Za neúplnosť modelu možno považovať skutočnosť, že tekutina vnútri bunky (elastického objektu) má rovnaké vlastnosti ako vonkajšia tekutina. V krvi sa hustota aj viskozita tekutiny vnútri RBC líši od hustoty a viskozity krvnej plazmy. Otázkou zostáva, nakoľko by implementácia rôznej tekutiny spomalila výpočet a či by bol pozorovaný významný rozdiel v správaní sa modelu. V prípade modelu CTC je potrebné vyriešiť otázku nakoľko tuhšie jadro vnútri bunky ovplyvňuje jej správanie a či je možné tento typ bunky modelovať dostatočne presne len pomocou bodov na povrchu membrány.

Čo sa týka modelu RBC, je vhodné vykonať kalibráciu porovnaním s experimentom, ktorý bude odlišný od naťahovacieho experimentu, popísaného v kapitole 3.3. Ideálne validovať aj dynamické vlastnosti modelu.

Ako bolo uvedené v kapitolách 2.1.4 a 2.3 sú vyvíjané podobné simulačné modely ako je náš. Bolo by zaujímavé vykonať porovnania výsledkov získaných pomocou rôznych simulačných modelov. V tomto smere naša výskumná skupina už vykonala prvé kroky.

Následne je potrebná validácia simulačného modelu porovnaním s výsledkami experimentu, v ktorom by v mikrofluidickom zariadení tiekla tekutina s bunkami.

V neposlednom rade je nutné vykonať optimalizáciu použitého algoritmu pre modelovanie elastických objektov hlavne v oblasti časovej zložitosti. Vzhľadom na to, že výpočtový čas niektorých simulácií, uvedených v tejto práci, bol rádovo v dňoch, prípadná úspora výpočtového času by bola hodnotná.

5.3 Publikované práce

- [1] Jančígová, I., Tóthová, R.: 'Scalability of forces in mesh-based models of elastic objects', *ELEKTRO 2014: 10th International Conference*, IEEE, pp. 562-566, 2014, ISBN 978-1-4799-3720-2
- [2] Tóthová, R., Jančígová, I., Cimrák, I.: 'Energy contributions of different elastic moduli in mesh-based modeling of deformable object', *ELEKTRO 2014: 10th International Conference*, IEEE, pp. 634-638, 2014, ISBN 978-1-4799-3720-2
- [3] Cimrák, I., Jančígová, I., Tóthová, R.: 'Recent advances in mesh-based modeling of individual cells in biological fluids', *Digital technologies: the 10th international conference*, IEEE, pp. 25-31, 2014, ISBN 978-1-4799-3301-3
- [4] Tóthová, R.: 'Comparison of different formulas for local area conservation modulus in spring network models', *MiST 2014: proceedings of Mathematics in Science and Technologies 2014 conference*, 2014, ISBN 978-1500136413
- [5] Tóthová, R.: 'Method of calibration of red blood cell model by stretching experiments', *MiST 2015: proceedings of Mathematics in Science and Technologies 2014 conference*, 2015, ISBN 978-1514866382
- [6] Tóthová, R., Jančígová, I., Bušík, M., 'Calibration of elastic coefficients for spring-network model of red blood cell', *Information and Digital Technologies (IDT) 2015, International Conference*, IEEE, pp. 376-380, 2015, ISBN 978-1-4673-7185-8
- [7] Tóthová, R., Cimrák, I., 'Local stress analysis of red blood cells in shear flow', *AIP Conference Proceedings*, Vol. 1648, eid: 210003, 2015, ISBN 978-0-7354-1287-3
- [8] Cimrák, I., Jančígová, I., Tóthová, R., Gusenbauer, M.: 'Mesh-based modeling of individual cells and their dynamics in biological fluids', R. Bris, J. MAjernik, K. Pancarz, E. Zaitseva, eds., *Applications of Computational Intelligence in Biomedical Technology, vol. 606 of Studies in Computational Intelligence*, Springer International Publishing, 2015, ISBN 978-3-319-19146-1
- [9] Cimrák, I., Bachratá, K., Bachratý, H., Jančígová, I., Tóthová, R., Bušík, M., Slavík, M., Gusenbauer, M.: 'Object-in-fluid framework in modeling of

blood flow in microfluidic channels', *Communications, Scientific Letters of the University of Žilina*, vol. 18/1a, pp. 13-20, 2016, ISSN 1335-4205

5.3.1 Práce v tlači

- [1] Bušík, M., Jančígová, I., Tóthová, R., Cimrák, I.: 'Simulation study of rare cell trajectories and capture rate in periodic obstacle arrays', *DSFD 2015*, zaslaný do *Journal of Computational Science*, po zapracovaní pripomienok od recenzentov

- [2] Tóthová, R.: 'Analysis of cell damage in microfluidic devices using in-silico simulations', *MiST 2016: proceedings of Mathematics in Science and Technologies 2016 conference*, zaslaný

Literatúra

- [1] ‘Cell-in-fluid research group’, <http://cell-in-fluid.fri.uniza.sk>, online, prevzaté: apríl 2016
- [2] ‘softvér elmer’, <https://www.csc.fi/web/elmer>, online, prevzaté: marec 2016
- [3] ‘softvér salome’, <http://www.salome-platform.org/>, online, prevzaté: marec 2016
- [4] Arnold, A., Lenz, O., et al.: ‘ESPReso 3.1 — Molecular dynamics software for coarse-grained models’, M. Griebel, M.A. Schweitzer, eds., *Meshfree Methods for Partial Differential Equations VI*, vol. 89 of *Lecture Notes in Computational Science and Engineering*, pp. 1–23, Springer, 2013
- [5] Arora, D., Behr, M., Pasquali, M.: ‘A tensor-based measure for estimating blood damage’, *Artificial Organs*, vol. 28, no. 11, pp. 1002–1015, 2004
- [6] Baskurt, O.K.: *Handbook of hemorheology and hemodynamics*, IOS Press Inc., 2007
- [7] Basu, H., Dharmadhikari, A., et al.: ‘Tank treading of optically trapped red blood cells in shear flow’, *Biophysical Journal*, vol. 101, no. 7, pp. 1604–1612, 2011, ISSN 0006-3495
- [8] Boal, D.: *Mechanics of the Cell*, Cambridge University Press, 2001, ISBN 9780511810954, Cambridge Books Online
- [9] Brinson, H.F., Brinson, L.C.: *Polymer engineering science and viscoelasticity*, Springer, 2008
- [10] Bukowska, D.M., Derzsi, L., et al.: ‘Assessment of the flow velocity of blood cells in a microfluidic device using joint spectral and time domain optical coherence tomography’, *Opt. Express*, vol. 21, no. 20, pp. 24025–24038, 2013

- [11] Bušík, M., Jančígová, I., et al.: ‘Simulation study of rare cell trajectories and capture rate in periodic obstacle arrays’, DSFD 2015, zaslané Journal of Computational Science
- [12] Cimrák, I.: ‘A simplified model for dynamics of cell rolling and cell-surface adhesion’, *AIP Conference Proceedings*, vol. 1648 (1), 2015
- [13] Cimrák, I., Gusenbauer, M., Jančígová, I.: ‘An ESPResSo implementation of elastic objects immersed in a fluid’, *Computer Physics Communications*, vol. 185, no. 3, pp. 900–907, 2014, ISSN 0010-4655
- [14] Cimrák, I., Jančígová, I., et al.: ‘On elasticity of spring network models used in blood flow simulations in ESPResSo’, M. Bisschoff, E. Oñate, D. Owen, E. Ramm, P. Wriggers, eds., *III International Conference on Particle-based Methods – Fundamentals and Applications PARTICLES 2013*, pp. 133–144, 2013
- [15] Cimrák, I., Jančígová, I., et al.: ‘Mesh-based modeling of individual cells and their dynamics in biological fluids’, R. Bris, J. Majernik, K. Pancarz, E. Zaitseva, eds., *Applications of Computational Intelligence in Biomedical Technology*, vol. 606 of *Studies in Computational Intelligence*, pp. 1–28, Springer International Publishing, 2015, ISBN 978-3-319-19146-1
- [16] Cimrák, I., Bachratá, K nad Bachratý, H., et al.: ‘Object-in-fluid framework in modeling of blood flow in microfluidic channels’, *Communications, Scientific Letters of the University of Žilina*, vol. 18, no. 1a, pp. 13–20, 2016, ISSN 1335-4205
- [17] Cranston, H.A., Boylan, C.W., et al.: ‘Plasmodium falciparum maturation abolishes physiologic red cell deformability’, *Science*, vol. 223, no. 4634, pp. 400–403, 1984
- [18] Dao, M., Li, J., Suresh, S.: ‘Molecularly based analysis of deformation of spectrin network and human erythrocyte’, *Materials Science and Engineering: C*, vol. 26, no. 8, pp. 1232–1244, 2006
- [19] Dao, M., Lim, C., Suresh, S.: ‘Mechanics of the human red blood cell deformed by optical tweezers’, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, vol. 51, no. 11, pp. 2259–2280, 2003

-
- [20] Decuzzi, P., Ferrari, M.: ‘The adhesive strength of non-spherical particles mediated by specific interactions’, *Biomaterials*, vol. 27, no. 30, pp. 5307–5314, 2006
- [21] Dunweg, B., Ladd, A.J.C.: ‘Lattice-Boltzmann simulations of soft matter systems’, *Advances in Polymer Science*, vol. 221, pp. 89–166, 2009
- [22] Dupin, M., Halliday, I., et al.: ‘Modeling the flow of dense suspensions of deformable particles in three dimensions’, *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.*, vol. 75, 2007
- [23] Dyrda, A., Cytlak, U., et al.: ‘Local membrane deformations activate Ca²⁺-dependent K⁺ and anionic currents in intact human red blood cells’, *PLoS ONE*, vol. 5, pp. 1–14, 2010
- [24] Edel, J.B., Hill, E.K., de Mello, A.J.: ‘Velocity measurement of particulate flow in microfluidic channels using single point confocal fluorescence detection’, *Analyst*, vol. 126, no. 11, pp. 1953–1957, 2001
- [25] Evans, E., Fung, Y.C.: ‘Improved measurements of the erythrocyte geometry’, *Microvascular Research*, vol. 4, no. 4, pp. 335–347, 1972, ISSN 0026-2862
- [26] Evans, E., Waugh, R., Melnik, L.: ‘Elastic area compressibility modulus of red cell membrane’, *Biophysical Journal*, vol. 16, no. 6, pp. 585–595, 1976
- [27] Fedosov, D.A., Caswell, B., Karniadakis, G.E.: ‘A multiscale red blood cell model with accurate mechanics, rheology, and dynamics’, *Biophysical Journal*, vol. 98, no. 10, pp. 2215–2225, 2010, ISSN 0006-3495
- [28] Fedosov, D.A., Lei, H., et al.: ‘Multiscale modeling of red blood cell mechanics and blood flow in malaria’, *PLoS Comput Biol*, vol. 7, no. 12, p. e1002270, 2011, doi:10.1371/journal.pcbi.1002270
- [29] Figueroa, C.A., Vignon-Clementel, I.E., et al.: ‘A coupled momentum method for modeling blood flow in three-dimensional deformable arteries’, *Computer methods in applied mechanics and engineering*, vol. 195, no. 41, pp. 5685–5706, 2006
- [30] Fischer, T.M.: ‘Shape memory of human red blood cells’, *Biophysical Journal*, vol. 86(5), pp. 3304–3313, 2004

- [31] Forsyth, A.M., Wan, J., et al.: ‘The dynamic behavior of chemically “stiffened” red blood cells in microchannel flows’, *Microvascular research*, vol. 80, no. 1, pp. 37–43, 2010
- [32] Geuzaine, C., Remacle, J.F.: ‘Gmsh: A 3-d finite element mesh generator with built-in pre- and post-processing facilities’, *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, vol. 79, no. 11, pp. 1309–1331, 2009, ISSN 1097-0207
- [33] Giovanna, T., Stefano, G.: ‘Start-up shape dynamics of red blood cells in microcapillary flow’, *Microvascular Research*, vol. 82, no. 1, pp. 35–41, 2011, ISSN 0026-2862
- [34] Goedhart, P.T., Hardeman, M.R.: ‘Shear induced damage of red blood cells monitored by the decrease of their deformability’, *Korea-Australia Rheology Journal*, vol. 16, no. 3, pp. 141–146, 2004
- [35] Guo, Q., Duffy, S.P., et al.: ‘Microfluidic analysis of red blood cell deformability’, *Journal of biomechanics*, vol. 47, no. 8, pp. 1767–1776, 2014
- [36] Hanasoge, S., Devendra, R., et al.: ‘Electrokinetically driven deterministic lateral displacement for particle separation in microfluidic devices’, *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 18, no. 5-6, pp. 1195–1200, 2015
- [37] Henderson, A.: ‘ParaView guide, A Parallel Visualization Application’, Tech. rep., Kitware Inc., 2007
- [38] Holm, S., Beech, J., et al.: ‘Simplifying microfluidic separation devices towards field-detection of blood parasites’, *Analytical Methods*, 2016
- [39] Jančigová, I.: ‘On mass distribution in ESPResSo simulations of elastic objects’, *MiST 2014: proceedings of Mathematics in Science and Technologies 2014 conference*, 2014, ISBN 978-1500136413
- [40] Jančigová, I.: ‘Modeling elastic objects in fluid flow with biomedical applications’, Ph.D. thesis, University of Žilina, 2015
- [41] Jančigová, I., Cimrák, I.: ‘Non-uniform force allocation for area preservation in spring network models’, *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 2015, ISSN 2040-7947

-
- [42] Kotus, M., Bušík, M., Slavík, M.: ‘Data management system for computational experiments in blood cell modelling: mesh analysis showcase’, *zaslané ELEKTRO 2016: 11th International Conference, IEEE*
- [43] Kruger, T., Gross, M., et al.: ‘Crossover from tumbling to tank-treading-like motion in dense simulated suspensions of red blood cells’, *Soft Matter*, vol. 9, no. 37, pp. 9008–9015, 2013
- [44] Ladd, A.J.C.: ‘Numerical simulations of particulate suspensions via a discretized Boltzmann equation. Part 2. Numerical results’, *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 271, pp. 311–339, 1994, ISSN 1469-7645
- [45] Lenormand, G., Hénon, S., et al.: ‘Direct measurement of the area expansion and shear moduli of the human red blood cell membrane skeleton’, *Biophysical Journal*, vol. 81, no. 1, pp. 43–56, 2001
- [46] Li, H., Ruan, X., et al.: ‘Numerical estimation of hemolysis from the point of view of signal and system’, *Artificial Organs*, vol. 38, no. 12, pp. 1065–1075, 2014, ISSN 1525-1594
- [47] Mills, J.P., Qie, L., et al.: ‘Nonlinear elastic and viscoelastic deformation of the human red blood cell with optical tweezers’, *Mechanics & chemistry of biosystems : MCB*, vol. 1, no. 3, pp. 169–180, 2004
- [48] Nagrath, S., Sequist, L.V., et al.: ‘Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology’, *Nature*, vol. 450, pp. 1235–1239, 2007, ISSN 0028-0836
- [49] Nakamura, M., Bessho, S., Wada, S.: ‘Spring network based model of a red blood cell for simulating mesoscopic blood flow’, *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, vol. 29, no. 1, pp. 114–128, 2013
- [50] Odenthal, T., Smeets, B., et al.: ‘Analysis of initial cell spreading using mechanistic contact formulations for a deformable cell model’, *PLoS Comput Biol*, vol. 9, no. 10, p. e1003267, 2013
- [51] Omori, T., Ishikawa, T., et al.: ‘Comparison between spring network models and continuum constitutive laws: Application to the large deformation of a capsule in shear flow’, *Phys. Rev. E*, vol. 83, p. 041918, 2011

- [52] Pan, W., Fedosov, D.A., et al.: ‘Predicting dynamics and rheology of blood flow: A comparative study of multiscale and low-dimensional models of red blood cells’, *Microvascular Research*, vol. 82, no. 2, pp. 163–170, 2011, ISSN 0026-2862
- [53] Rejniak, K.A.: ‘Investigating dynamical deformations of tumor cells in circulation: predictions from a theoretical model’, *Frontiers in Oncology*, vol. 2, no. 111, 2012, ISSN 2234-943X
- [54] Roehm, D., Arnold, A.: ‘Lattice-Boltzmann simulations on GPUs with ESPResSo’, *The European Physical Journal Special Topics*, vol. 210, no. 1, pp. 89–100, 2012, ISSN 1951-6355
- [55] Santana, S., Liu, H., et al.: ‘Immunocapture of prostate cancer cells by use of anti-psma antibodies in microdevices’, *Biomedical Microdevices*, vol. 14, no. 2, pp. 401–407, 2012
- [56] Sarioglu, A.F., Aceto, N., et al.: ‘A microfluidic device for label-free, physical capture of circulating tumor cell clusters’, *Nature methods*, vol. 12, no. 7, pp. 685–691, 2015
- [57] Taskin, M.E., Fraser, K.H., et al.: ‘Evaluation of Eulerian and Lagrangian models for hemolysis estimation’, *Asaio Journal*, vol. 58, no. 4, pp. 363–372, 2012

Prílohy

A Zoznam skratiek a definícií

A.1 Použité skratky

ΔABC		trojuholník s vrcholmi A, B a C
BDI	Blood Damage Index	index poškodenia krvi, počítaný z prúdnic toku
CDG	Cumulative Damage Global	kumulatívna hodnota relatívnych odchýliek globálnej plochy elastického objektu počas simulácie
CDI	Cell Damage Index	index poškodenia bunky, počítaný z deformácií buniek
CPU	Central Processing Unit	procesor základnej jednotky
CTC	Circulating Tumor Cell	cirkulujúca rakovinová bunka / bunky alebo zriedkavo sa vyskytujúca bunka / bunky
CUDA	Compute Unified Device Architecture	platforma umožňujúca paralelné spúšťanie procesov na grafických procesoroch
GPU	Graphics Processing Unit	grafický procesor
IBM	Immersed Boundary Method	metóda vnorených hraníc
LBM	Lattice Boltzmann Method	lattice-Boltzmannova metóda
MPI	Message Passing Interface	platforma umožňujúca komunikáciu medzi procesmi spustenými na rôznych procesoroch

OIF	Object In Fluid	modul slúžiaci na modelovanie elastických objektov, súčasť programového balíka ESPResSo
RBC	Red Blood Cell	červená krvinka / krvinky

A.2 Definície

CDG(cell) kumulatívna hodnota relatívnej odchýlky globálnej (celkovej) plochy jednej bunky počas simulácie, resp. počas prechodu záujmovou oblasťou. Kumulatívna znamená, že hodnota je postupne nasčítavaná.

CDG_{simNo} priemerná hodnota zo $CDG(cell)$ zo všetkých sledovaných buniek v danej simulácii.

CDI priemerná hodnota CDG_{simNo} zo všetkých simulácií v danej sade.

ESPReSo **E**xtensible **S**imulation **P**ackage for **R**esearch on **S**oft matter - voľne dostupný, open-source programový balík určený pre výskum "soft matter" (vo všeobecnosti materiál, ktorý je deformovateľný teplom alebo mechanicky).

experiment v tejto práci sa rozumie in-vitro experiment, t.j experiment vykonaný v umelom prostredí s biologickým materiálom.

hematokrit pomer medzi objemom bunkovej časti krvi a celkého objemu krvi. Bunkovú časť tvoria najmä červené krvinky. Normálny hematokrit u mužov je približne 46%, u žien 41%. V experimentoch in vitro sa často používa zriedená vzorka, s nižším hematokritom.

k_x kde $x \in \{s, b, al, ag, v\}$ sú elastické koeficienty v elastických moduloch. Vstupujú do výpočtov síl, ktoré pôsobia v bodoch siete na povrchu elastického objektu. Prvotná idea vychádza z koeficientu tuhosti pružiny k , medzi pôsobiacou silou F a zmenou dĺžky pružiny x platí vzťah $F = k \cdot x$.

mikrofluidické zariadenie v tejto práci sa rozumie zariadenie, ktoré má aspoň jeden z rozmerov v jednotkách až desiatkách mikrometrov. Vnútri zariadenia sa nachádza jeden alebo viacero kanálov, s alebo bez prekážok rôznych tvarov. Zariadením preteká tekutina s bunkami. Slúži najmä na skúmanie vzorky, separáciu alebo záchyt buniek. Vo všeobecnosti sa pod týmto pojmom rozumejú zariadenia so širokým využitím v rôznych vedeckých aj priemyselných oblastiach.

modul pružnosti v šmyku označujeme μ alebo G , je definovaný ako pomer medzi šmykovým napätím a ním spôsobenou deformáciou v [Pa]. Slúži na charakteristiku mechanických vlastností daného materiálu.

modul pružnosti v ťahu alebo Youngov modul, označujeme E , je definovaný ako pomer medzi napätím v ťahu a ním spôsobenou deformáciou, resp. natiahnutím v [Pa]. Slúži na charakteristiku mechanických vlastností daného materiálu.

simulácia v tejto práci sa rozumie in-silico experiment, t.j experiment vykonaný pomocou simulačného modelu v počítači.

simulačný box je virtuálny priestor, v ktorom je vykonávaná simulácia. Môže, ale nemusí mať periodické okrajové podmienky. Celý simulačný box je pokrytý mriežkou s bodmi tekutiny, sú v ňom umiestnené steny, prekážky a elastické objekty.

šmykové napätie je jednou zo zložiek mechanického napätia, označované je aj ako tangenciálne napätie. Mechanické napätie vzniká, ak na teleso pôsobia sily. Napätie je tenzor 2. rádu, čo znamená, že v 3D má vo všeobecnosti 9 zložiek. Delíme ho na normálové napätie - sila pôsobí kolmo na sledovanú plochu, v smere normálového vektora a tangenciálne napätie - sila pôsobí rovnobežne so skúmanou plochou, jej smer je lineárnou kombináciou dvoch zložiek (vektorov) tangenciálneho napätia. Bližšie napríklad v [9].

B Kompaktný disk