arXiv:2304.02919v1 [physics.flu-dyn] 6 Apr 2023

时变流动条件和稳态流动条件下受限微流控通道中的红细胞无细胞层

Steffen M. Recktenwald,[1,*] Katharina Graessel,[2] Yazdan Rashidi,[1] Jann Niklas Steuer,[1] Thomas John,[1] Stephan Gekle,[2] 和 Christian Wagner[1,3]
[1] *Dynamics of Fluids, Department of Experimental Physics, Saarland University, Saarbrücken, Germany*
[2] *Biofluid Simulation and Modeling, Department of Physics, University of Bayreuth, Bayreuth, Germany*
[3] *Physics and Materials Science Research Unit, University of Luxembourg, Luxembourg, Luxembourg*
（日期：2023年4月7日）

循环系统中的狭窄血管会严重影响红细胞（RBCs）的时空组织，从而导致各种生理并发症。在芯片实验室应用中，狭窄通常用于基于通道边界处无细胞层（CFL）的形成进行细胞分选和血浆分离。然而，此类设备通常采用稳态流动，尽管时变流动和脉动流动条件能够增强许多微流控操作，并且对于在具有生理相关性的流动条件下开展体外研究具有重要意义。在本研究中，我们考察了稳态和时变流动条件下狭窄微通道中的无细胞层动力学。因此，我们开发了一种图像处理流程，能够解析任意波形的时变流动驱动下无细胞层的时空演化。首先，我们在稳态流动条件下，对狭窄部前后的无细胞层和无细胞区域（CFA）进行了表征。其次，我们采用该方法，利用正弦压力曲线研究血细胞比容和流量调制参数对无细胞层和无细胞区域的影响。结果突出显示，红细胞浓度和施加的压力信号的振幅对CFA动态具有主导作用。此外，我们观察到，随着血细胞比容增加或压力振幅降低，CFA振幅逐渐减弱，并且在狭窄部前后CFA振荡出现了独特的相移。补充数值模拟揭示了时变CFA动态如何与狭窄部处不断变化的流场耦合。鉴于对时变流动条件下研究和应用的需求日益增加，本研究为非稳态微尺度流动中复杂流体的流动行为提供了重要见解。

一、引言

循环系统是一个复杂的血管网络，负责将血液输送至身体组织和器官。红细胞（RBC）是人体血液的主要成分，体积可占血液总量的 45%。在微循环中，红细胞会远离血管壁迁移，从而形成红细胞核心流和无细胞层（CFL）。这会影响红细胞的横向运动及其时空分布，并通过降低小血管中血液的表观黏度，显著影响血液流变学。[1, 2] 血管壁附近无细胞层的形成决定了血液在体内的独特流动特性，[3, 4] 并影响多种生理现象，例如血小板和白细胞边集、[5, 6] 内皮细胞感受到的壁面剪切应力，[7] 以及分支血管和网络中的异质性红细胞分布。[8–10]此外，红细胞的组织方式和无细胞层的形成，在用于细胞和血浆分离的生物医学芯片实验室应用以及流动聚焦微流控器件中发挥着关键作用。[11–16]因此，深入了解局部和随时间变化的红细胞分布如何影响血流和血液流变学至关重要。

红细胞的微观集体行为，例如其组织结构以及靠近血管壁处无细胞层的形成，已通过实验[10, 17–21] 以及数值方法[9, 22–25]进行了广泛研究。一般而言，微通道中的无细胞层取决于多种因素，包括悬浮液红细胞压积、通道尺寸、流量以及红细胞的生物物理特性，例如其变形能力。[16, 26]此外，稀释悬浮液中红细胞的组织结构或聚焦行为，也可能源于通道的几何特征，例如限域、[27, 28]分叉、 [29–31] 以及狭窄部。 [32–34] 通道横截面的突然变化与狭窄血管相似，会显著影响红细胞分布和无细胞层。在稳态流动条件下，人们已对红细胞通过简单及更复杂狭窄几何结构的流动进行了全面研究，主要是为了模拟和理解微循环中的病理性流动条件，并开发微流控血浆分离装置。[15, 21, 25, 32, 34–40]在微流控狭窄-扩张几何结构中，狭窄部会增强狭窄后的无细胞层厚度。在此过程中，狭窄部的长度和宽度主要影响这种无细胞层增强。[25, 32, 38, 40]Faivre等人 [32]表明，在稳态流动条件下，下游无细胞层的增长还取决于施加的流量、悬浮液黏度、红细胞浓度和红细胞变形能力。狭窄后，微流控

* steffen.recktenwald@uni-saarland.de

扩张部可形成具有再循环区和涡流的大面积无细胞区（CFA）。这种效应可用于根据细胞的刚度捕获或分离细胞，并可在微流控器件中从全血中连续提取血浆。[12, 34, 41] 近期，Sanchez 等人 [42] 研究了在稳态流动条件和有限惯性下，红细胞与静脉瓣体外微流控模型中的扩张流场之间的相互作用。通过检查稀释红细胞悬液通过狭窄部后的局部分布，他们发现狭窄后的局部血细胞比容分布在空间上并不均匀，且不同于入口血细胞比容。

迄今为止，微流控研究主要聚焦于稳态流动条件下红细胞悬浮液的流动行为，因为在微流控器件中产生精确的时变流动条件仍然颇具挑战。[43] 然而，时变流动在生理学研究中的仿生研究中发挥着至关重要的作用，尤其有助于理解心血管系统中的各种现象，并在非稳态流动中引发独特的非线性流体动力学不稳定性和湍流。[44] 此外，时变驱动流动日益受到关注，因为它能够增强多种操作和微流控应用的效果，例如混合、液滴生成、从全血中筛选特定细胞，以及对红细胞特性的生物力学评估。[45–49]

然而，关于红细胞和无细胞层动力学时变特性的详细实验研究仍然鲜有报道。实验研究中确定无细胞层的常见方法通常是构建红细胞核心流，并结合通道壁的位置。[9] 从技术角度来看，确定无细胞层时，通常会将通过高速视频显微镜获取的数百张独立图像进行合并，并生成最小强度 z-投影。若图像帧数足够多，便可以检测到红细胞核心流和通道壁的位置，从而计算稳态流动条件下特定感兴趣区域中的无细胞层。[17, 26] 然而，若流动在图像采集期间动态变化，这种方法便无法直接用于时变流动的情况，尤其是对于低浓度红细胞悬液。

因此，在本研究中，我们开发了一种技术，可用于确定颗粒悬浮液周期性时变流动期间的无细胞区。我们采用此方法，研究狭窄微流控器件中红细胞的瞬态 CFL 和 CFA 动态，涵盖从 1 %Ht 到 20%Ht 的广泛浓度范围。首先，我们表征通道流动方向上多个位置处 CFL 的演变，以量化所施加压降和血细胞比容对狭窄部上游及下游 CFL 和 CFA 的影响。此外，我们还研究了不同压力偏置和振幅下，狭窄部—扩张区内 CFL 和 CFA 在正弦流量调制下的动态。我们还对 1 %Ht 的红细胞悬浮液在稳态和时变流动条件下进行了补充性三维数值模拟，从而解析狭窄部处的时变流场。除详细阐述血细胞比容以及所施加压力调制参数对 CFL 和 CFA 动态的影响外，我们的研究还揭示了狭窄部上游瞬态 CFA 的相位反转，并为研究复杂微流控应用中低浓度和高浓度下的时变红细胞及 CFL 现象提供了框架。

II. 材料与方法

A. 实验

1. *Preparation of red blood cell suspensions*

经健康志愿者知情同意后采集血液。将血液以 1500 g 离心 5 分钟，分离红细胞和血浆。沉淀的红细胞用磷酸盐缓冲盐水溶液（Gibco PBS，Fisher Scientific，德国施韦特）洗涤三次，然后在含有 1 g L^{-1} 牛血清白蛋白（BSA，Sigma-Aldrich，德国陶夫基兴）的 PBS 溶液中，配制血细胞比容浓度为 1 %Ht、5 %Ht、10 %Ht 和 20 %Ht 的红细胞悬液。

采血、样本制备和实验均按照《赫尔辛基宣言》的指导原则进行，并经“萨尔州医师协会”伦理委员会批准（批准编号 51/18）。

2. *Microfluidic setup*

使用高精度压力装置（OB1-MK3，Elveflow，法国巴黎）将红细胞悬浮液泵送通过微流控通道。微流控器件采用聚二甲基硅氧烷（PDMS，RTV 615A/B，Momentive Performance Materials，美国纽约州沃特福德）通过标准软光刻工艺制成。[50] 直线微流控通道沿 y方向的宽度为 $W = 110\mu\text{m}$，沿 z方向的高度为 $H = 25\mu\text{m}$（纵横比 AR $= W/H = 4.4$），沿 x方向的总长度为 $L = 20\text{mm}$。芯片中部设有一处狭窄部，其宽度为 $W_\text{c} = 19\mu\text{m}$、长度为 $L_\text{c} = 86\mu\text{m}$，如图1所示。入口和出口分别通过硬质医用级聚乙烯管（内径.86 mm，Scientific Commodities，美国亚利桑那州哈瓦苏湖城）连接至样品容器和废液容器。微流控芯片安装在倒置显微镜（Eclipse TE2000-S，尼康，美国纽约州梅尔维尔）上，配备LED照明和高速摄像机（Fastec HiSpec 2G，FASTEC Imaging，美国加利福尼亚州圣

Diego，加利福尼亚州），以及一支 $20\times$ 空气物镜（Plan Fluor，尼康，梅尔维尔，纽约州），数值孔径 NA $= 0.45$。

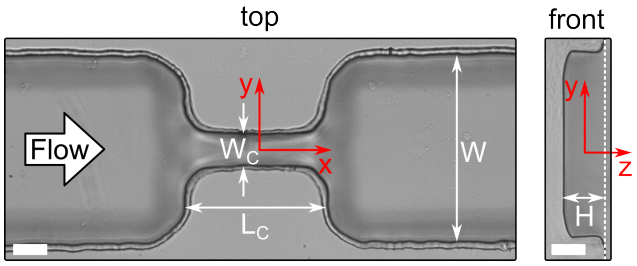

图 1. 微流控狭窄部的俯视图（左）和正视图（右）。通道为矩形横截面，宽度为 $W = 110\mu m$，高度为 $H = 25\,\mu m$。通道在长度为 $L_c = 86\mu m$ 的范围内收窄至宽度 $W_c = 19\,\mu m$。流动方向为从左向右。正视图中的白色虚线表示与聚二甲基硅氧烷芯片键合的载玻片位置。比例尺表示 20 μm。

本研究采用稳态压降以及正弦压力调制 $p(t) = p_0 + p_A \sin(\omega t)$，其中压力偏置为 p_0，压力振幅为 p_A，角频率为 $\omega = 2\pi f$。调制频率保持恒定在 $f = 1$Hz，同时采用$p_0 = 250$毫巴、375毫巴和500毫巴的压力偏置，并分别结合三种相对振幅：$p_A/p_0 = 20\%$、50%和80%。压力调制持续40–60个周期，并使用全局触发信号使压力装置与高速摄像机同步。

B. 数据分析

1. *Determination of the CFL*

本研究考察稳态和时变流动条件下红细胞核心流与壁面之间形成的 CFL。对于周期性流动调制（例如本文采用的正弦压力信号），必须考虑 CFL 随时间的变化。因此，我们提出一种方法，可推导任意周期波形下随时间变化的 CFL。为确定 CFL 随对应相位的变化，在压力调制期间采集 40–60 个周期的图像序列，见图 2A。为避免运动模糊，采用 2 ms 的短曝光时间。图像以 400 fps 的帧率记录。在每个周期中，将处于相同相位的 $N = 4$ 图像ϕ_i叠加。这使周期被划分为 100 个时间步。因此，单次图像采集期间的压力和速度变化可以忽略不计。整个压力调制周期均重复这一过程，如图 2B 所示。将整个图像序列中属于相同相位 ϕ_i 的图像堆栈合并为独立的图像堆栈，这些图像堆栈覆盖压力调制的一个完整周期

析见图 2C。随后按照图 2D 中对一个相位的示意，对这些图像序列进行统计分析和傅里叶方法分析。与计算每个像素强度的标准差不同，我们的快速傅里叶变换方法可避免将缓慢的照明强度波动误判为信号，并且对罕见的强烈强度变化更敏感；无论是细胞经过相应像素位置，还是连续细胞经过该像素时出现间隙，都会产生这种变化。前者和后者分别发生在细胞浓度极低或极高时。当细胞在图像序列的时间维度上经过某个像素位置时，该处像素强度会剧烈波动；而在这些区域之外，强度几乎保持不变。我们对每个像素的强度计算时间傅里叶变换（快速傅里叶变换），以量化其随时间发生的局部波动。对上半部分的高频部分进行积分，得到一个与原始图像尺寸相同的快速傅里叶变换积分矩阵。我们使用自动化且稳健的方法对该积分图像进行阈值处理。通过核密度估计计算积分图像中所有振幅的概率密度分布（概率密度函数），得到如图 2D 右图所示的双峰分布。其中一个峰对应较小的波动振幅，这是像素强度随时间几乎恒定时的相机噪声所致；另一个峰对应较大的振幅，这是细胞经过所致。我们将这两个峰之间概率密度函数的局部极小值用作阈值，对快速傅里叶变换积分图像进行二值化；相应的像素位置即表示红细胞流动的位置，见图 2E 中红色阴影区域。为检测脉动某一相位下的通道边界，我们根据相关图像序列计算第一四分位数，以排除离群值。对于沿 x 方向的每个位置，沿 y 方向的最低强度对应壁面位置，如图 2D 左图所示，其位置为 x，距 $x = 120\,\mu m$。我们发现，在脉动周期内，壁面仅发生小于一个像素的脉动；壁面像素位置处的振幅较小，且与施加的压力同相。对于施加压降组合中压力最高的情况，即 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$ 毫巴，我们观测到的壁面最大变形为 0.37 μm，如补充材料中的图 S1 所示。因此，我们将此值确定为实验研究时变流动条件下 CFL 的保守检测下限。图 2E 代表性地展示了一个周期内某一相位下红细胞及通道边界的检测结果。红色阴影区域对应红细胞流动区域，绿色虚线表示通道边界。检测到的细胞区域与壁面位置之间的垂直距离给出每个 x 位置处的 CFL(x)，如图 2E 下图所示。我们将此方法应用于实验数据，以提取沿流动方向变化的时变 CFL(x)。

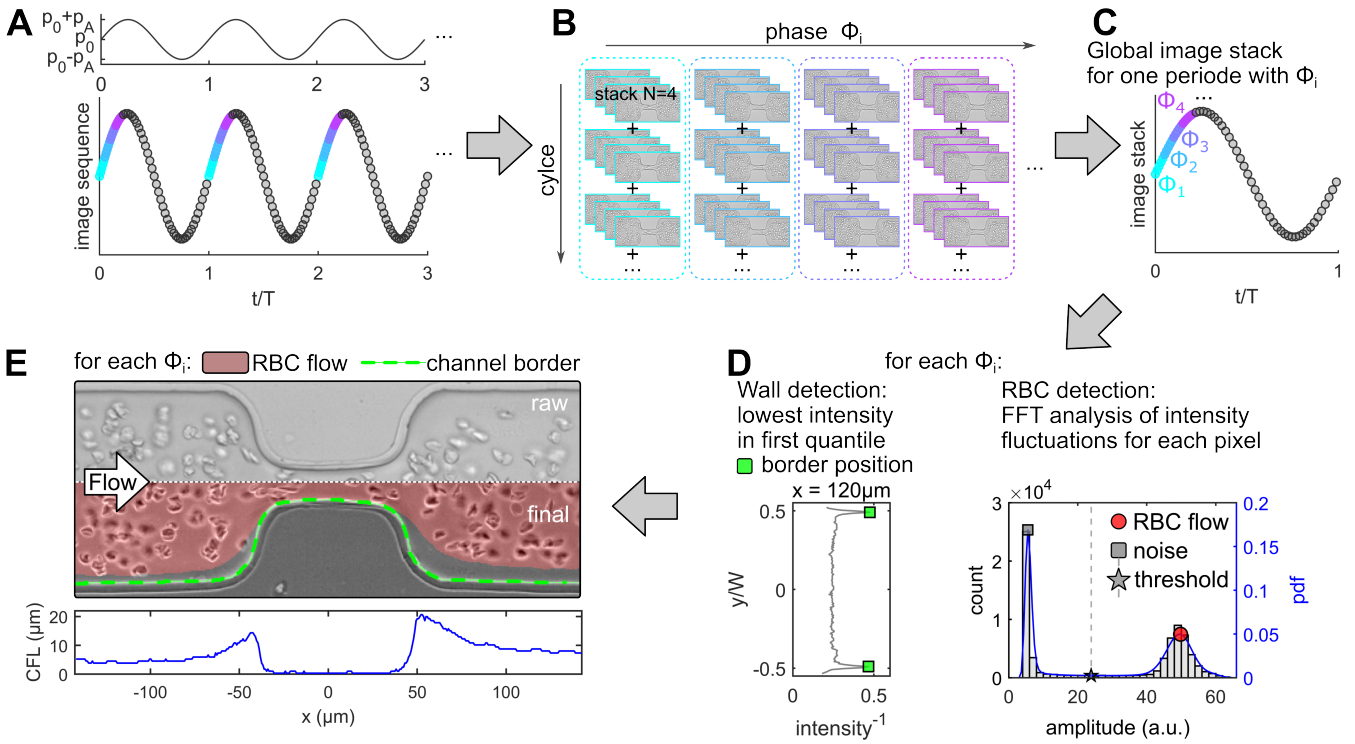

图 2. 时间依赖性红细胞流动中 CFL 的检测方法。(A) 三个周期的正弦压力调制（上）及相应的示意图像序列（下）。彩色符号示意性地标出了 $N = 4$ 堆叠的图像，这些图像对应于不同周期中的同一相位 ϕ_i。请注意，记录 $N = 4$ 图像所覆盖的实时持续时间为 $t = 10$ 毫秒。(B) 对于每个相位 ϕ_i，将 60 个调制周期内的各个图像堆栈进行堆叠。(C) 由此得到的全局图像堆栈覆盖了压力调制的一个完整周期。对于该图像堆栈中的每个相位 ϕ_i，均采用统计方法和傅里叶方法进行分析。(D) FFT积分图像中强度波动振幅的代表性直方图和概率密度函数（右），由此得到用于将 FFT积分图像二值化并检测红细胞流动区域的阈值。$x = 120$ 微米处反转强度随归一化通道宽度变化的代表性曲线（左）。其中，最大值位置对应于该 x位置处的通道边界，如绿色符号所示。(E) 在压力为 $p_0 = 250$ 毫巴和 $p_A = 200$ 毫巴的调制过程中，代表性地展示一个相位 ϕ_i 下红细胞流动及边界检测叠加在一幅 5% Ht 红细胞悬液原始图像（上）上的结果（下）。(E) 中的下图显示了 CFL，即红细胞核心流与边界之间的区域，随 x位置的变化。

2. *Flow velocimetry*

我们采用粒子图像测速（PIV），在$x = -5$mm狭窄部上游处确定给定压降下的悬液速度。红细胞被用作流动示踪粒子，无需添加其他粒子。[34, 51, 52]测量深度 δz_{m}，在该深度范围内可检测到细胞，并利用这些细胞确定速度场；对于 20×透镜，该深度为 $\delta z_{\mathrm{m}} \approx 44$ μm。[53]因此，红细胞速度是在通道深度（$\delta z_{\mathrm{m}}/H \approx 1.76$）上取平均得到的。我们使用开源粒子图像测速软件[54] 计算跨越通道宽度的速度分布。不同浓度和压降下红细胞悬浮液的代表性速度分布以及最大速度 $v_{\max}$ 如补充材料中的图S2所示。

基于在 $y = 0$ $v_{\max}$ 给定压降下的速度，我们计算雷诺数Re，该数将系统中的惯性力与黏性力联系起来，表示为 $\mathrm{Re} = v_{\max} D_{\mathrm{h}} \rho/\eta$，其中流体密度 $\rho = 1\mathrm{g\ cm^{-3}}$、流体的动力黏度 η，以及矩形微流控通道 $D_{\mathrm{h}} = 2WH/(W + H)$的水力直径。我们按照Horner等人 [55] 的方法进行稳态剪切测量，以评估红细胞悬液的黏度。因此，使用配备同轴圆筒几何结构（CC20，Anton Paar，奥地利格拉茨，内径 $r_{\mathrm{i}} = 10$ mm，半径比 $\delta = r_{\mathrm{a}}/r_{\mathrm{i}} = 1.1$）的应力控制型流变仪（MCR702，Anton Paar，奥地利格拉茨），并将温度恒定在 $T = 20\,^{\circ}\mathrm{C}$。不同悬液的黏度随剪切速率变化的关系见补充材料中的图 S3。当剪切速率高于 $\dot{\gamma} = 10\mathrm{s}^{-1}$ 时，黏度保持恒定，并随红细胞浓度增加而略微上升，如图 S3 插图所示。对于微流控芯片，我们估算直通道中的名义壁面剪切速率为 $\dot{\gamma} \approx 6v_{\max}/H \gg 1000\mathrm{s}^{-1}$。因此，我们采用补充材料表 S1 中列出的黏度值，计算各红细胞悬液及所施加压降下的雷诺数。

在脉动流中，无量纲沃默斯利数[56] Wo 表示瞬态惯性效应与黏性力的相对关系，其定义为 Wo$= D_{\mathrm{h}}/2\sqrt{\omega\,\rho/\eta}$。当 Wo $\ll 1$ 时，黏性效应主导流动，且脉动频率足够低，能够形成稳态速度分布。然而，当 Wo > 1 时，瞬态惯性力主导流动动力学，可能导致平均速度显著偏离泊肃叶流速度分布。在脉动流中，这种效应可能导致通道壁附近发生流动反转。[57] 在本研究进行的实验中，我们发现 Wo ≈ 0.05，因此可以忽略瞬态惯性力对流动的影响。

C. 数值模拟

我们对血细胞比容为 1 %Ht 的红细胞进行数值模拟，考察其在狭窄部通道中、稳态和时变流动条件下的行为，所用雷诺数与实验中的相近。为避免三角剖分的细胞膜在狭窄部高剪切速率下可能出现的不稳定性，我们在数值模拟中将通道几何尺寸扩大为微流控通道的两倍。因此，模拟中的通道在狭窄部前后均具有恒定的高度 $H = 50\mu$m 和宽度 $W = 211\mu$m。模拟通道的总长度为 $L = 832\mu$m。狭窄部长度为 $L_{\mathrm{c}} = 142\mu$m，宽度为 $W_{\mathrm{c}} = 38\mu$m，如补充材料中的图 S4 所示。

为模拟实验中流体储液器的流入情况，我们以随机的入口位置将细胞送入通道。进样机制经过设置，使通道入口处的血细胞比容为 1%Ht，与实验情况相近。细胞到达通道出口时即从模拟中移除。

红细胞被建模为二维弹性膜，其依据 Skalak 定律表现出抗剪切和抗面积膨胀特性[58, 59]，并依据 Helfrich定律[60–63]表现出抗弯曲特性。剪切模量设为 $\kappa_{\mathrm{S}} = 25\times10^{-6}$N/m，相较于文献中的数值大 3 至 5倍。[64–66]尽管预计这一修改对细胞的集体行为影响可以忽略不计，但它提高了细胞在高剪切应力下的稳定性，尤其是在狭窄部入口处；这是达到所需速度和雷诺数所必需的。面积膨胀的经验模量设为 $\kappa_{\mathrm{A}} = 40\times\kappa_{\mathrm{S}}$，弯曲模量为 $\kappa_{\mathrm{B}} = 2\times10^{-19}$ Nm，[67, 68] 弯曲参考形状为平面。在静止状态下，模拟红细胞处于其特征性双凹形状时的长半径为$R = 3.91\mu$m。其表面积为 $A = 133.5\,\mu\mathrm{m}^2$，体积为 $V = 93.5\mu\mathrm{m}^3$。[69–71]在我们的数值模拟中，每个细胞的红细胞表面被离散为 162 个平坦三角形。通道内的流体被 simu-

将其视为动力黏度为$\eta = 1.2$ mPa s、[72] 密度为 $\rho = 1000$ kg/m^{3}的牛顿流体。红细胞内充满了与周围流体黏度相同的牛顿流体。

采用三维格子玻尔兹曼方法（LBM）模拟流体流经通道。[74–76] 我们使用软件包 ESPResSo 中的LBM实现。[77–79] 细胞膜通过浸入边界法（IBM）与流动耦合。[80–82]。

在稳态流动条件下，以80 mm/s、120 mm/s和 160 mm/s 的流速进行模拟，所得Re ≈ 5.3、8和11，分别对应于这些流速。在数值模拟中，Re使用与实验相同的方程计算，并且对于1%Ht，其数量级与实验相同（见表S1）。我们进一步模拟了恒定频率为 $f = 20$ Hz（Wo ≈ 0.4）的正弦流动振荡下通过狭窄部的流动。我们没有模拟接近实验$f = 1$Hz 的更低频率，因为这将导致计算时间大幅增加。狭窄部上游具有代表性的速度分布如补充材料中的图 S5 所示，这表明瞬态惯性力对流动没有影响。

为计算稳态流动条件下数值模拟中的 CFL，我们基于模拟数据的图形表示，采用与实验相同的图像堆叠方法（见图 2）。此外，我们还采用了第二种方法，该方法基于离散化红细胞表面的数值数据。使用此方法时，我们将通道沿 x 方向划分为宽度约为 10 µm 的区间。在每个区间中，选取距离通道壁最近的红细胞表面节点来计算其与壁面的距离。对数值模拟中的每一帧重复此过程，并取整个序列中每个区间沿 x 方向的最小距离作为 CFL(x)。为便于后文引用，我们将这种数值方法称为细胞轮廓法。对于时变流动模拟，由于周期数有限，无法直接应用图像堆叠方法来确定随时间变化的 CFL。因此，将数值模拟中流动振荡的每个周期划分为 50 个时间区间。对于不同周期中相位相同的每个时间区间，我们确定各个 x 位置到壁面的最小距离，从而得到每个时间区间的 CFL(x)。

III. 结果与讨论

A. 稳态流动条件下的研究

1. *RBC distribution along the flow direction*

首先，我们考察红细胞沿通道流动方向的分布演变，以便理解

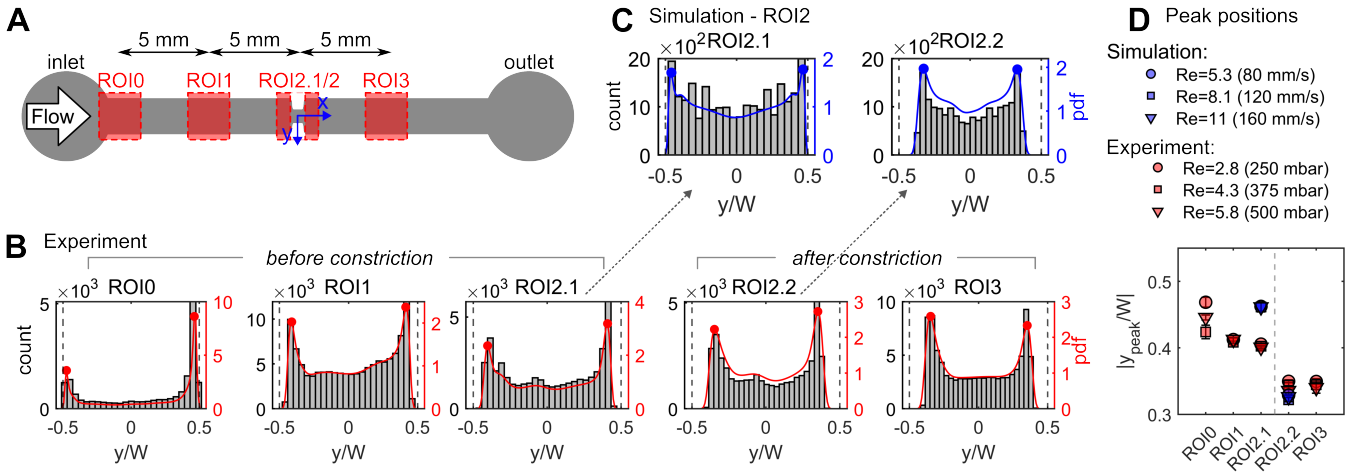

图 3. 恒定流动条件下，1 %Ht 红细胞悬液的红细胞分布。(A) 实验中感兴趣区域的位置示意图。(B) 压力为 250 毫巴（Re $=2.8$）时，实验中各感兴趣区域内红细胞沿归一化通道宽度的分布。红线表示概率密度函数（pdf），竖直虚线表示通道壁。(C) 模拟中，狭窄部处感兴趣区域2内红细胞沿归一化通道宽度的分布，流速为 $v=80\,\mathrm{mm/s}$（Re $=5.3$）。(D) 不同 Re 下，各感兴趣区域内红细胞分布峰值位置的归一化绝对值。竖直虚线将狭窄部上游位置与狭窄后位置分隔开。

稳态流动条件下红细胞的时空组织。因此，我们通过实验探测了1 %Ht红细胞悬液在五个特定感兴趣区域（ROI）中的红细胞流动，如图3A所示。图3B显示了压力恒定为250毫巴时，各实验中红细胞在通道宽度方向上的分布 W 及相应的概率密度函数（pdf），此压力对应的最大速度为$v_{\max}=80\mathrm{mm/s}$，Re为 $=2.7$。在微流控芯片入口储液池之后的感兴趣区域0处，我们观察到红细胞分布呈现出两个峰值，靠近通道壁，而通道中心的红细胞较少。在我们的实验中，这种特殊的红细胞分布在直通道内最初几百微米范围内就已形成，如补充材料中的图S6所示。因此，这种分布是较大的圆形入口储液池中的入口流动所致；该储液池直径为2 mm，并通向宽度较窄的 $W=110\mu\mathrm{m}$直通道。随着与流体入口距离的增加，红细胞分布的定性形态在狭窄部上游（感兴趣区域1和感兴趣区域2.1）以及狭窄后（感兴趣区域2.2和感兴趣区域3）均保持不变。同时，直方图中可见狭窄后靠近壁面的明显无细胞区域。

模拟中狭窄部前后的红细胞分布（分别对应感兴趣区域2.1和感兴趣区域2.2）如图 3C 所示。在模拟中，我们在距狭窄部上游约 410 μm 处输入细胞。因此，与实验中细胞在到达狭窄部前行进约 10 mm 不同，模拟中的细胞在感兴趣区域2.1更靠近壁面流动。狭窄后，血细胞比容分布仍然存在，并在通道壁附近形成了一个较大的无细胞区，这与实验结果一致，如图 3C 中的感兴趣区域2.2所示。

图 3B 和 C 中红细胞分布峰值位置的归一化绝对值汇总于图 3D。红细胞在感兴趣区域0进入通道时聚集于 $|y/W|\approx 0.44$。沿流动方向进一步向下游，在实验中，峰值位置略微向内移动，在感兴趣区域1和感兴趣区域2.1中分别移动至 $|y/W|\approx 0.41$ 和 0.4。经过狭窄部后，峰值位置继续向内移动，朝向 $|y/W|\approx 0.34$ 处的通道中心，这与先前的实验研究结果相似。[32] 在所研究的范围内，这些观测到的不同感兴趣区域内红细胞聚焦峰值位置不受所施加压降的影响。数值模拟中，我们发现狭窄部后的峰值位置相似，而狭窄部上游的峰值位置更靠近壁面，这是因为模拟中的感兴趣区域2.1紧邻进样区域。

在直矩形通道中，红细胞悬浮液也呈现出类似的特征性细胞分布，即偏心双峰分布（OCTP），不过此时惯性可忽略不计。Zhou 等人 [20] 近来通过数值模拟和微流控实验，研究了 Re $<2\times10^{-4}$ 条件下稀释红细胞悬浮液的时空动力学。在一个类似的直矩形通道（纵横比为 $=3.2$）中，他们观察到形成了双峰位于 $|y/W|\approx 0.35-0.4$附近的 OCTP，并且该分布在下游约 $1-2\,\mathrm{mm}$ 处趋于稳定。作者发现，血细胞比容分布主要由悬浮液中流体动力升力的衰减所决定。此外，他们还表明，通道中的初始流入构型也共同决定了所观察到的红细胞排列现象。[20]

在低雷诺数微流控剪切流中，红细胞跨流线迁移主要由三种机制诱导：1）与边界壁面的相互作用产生排斥性升力，推动红细胞朝向通道中心；2）由流动剖面曲率引起的剪切梯度诱导运动，同样将红细胞推向中心方向；3）细胞之间的流体动力学相互作用，即剪切诱导弥散，其净效应是使红细胞沿浓度梯度降低的方向、朝向通道壁运动。[4] 然而，在图3所示的结果中，双峰红细胞浓度分布在感兴趣区域0的入口之后便已直接出现。在雷诺数 ≈ 2 已经出现。因此，所观察到的血细胞比容分布实际上体现为较大储液池中初始细胞分布的结果，而已有研究表明，该分布会影响下游红细胞分布。[20]

2. *RBC flow and CFL at the constriction*

为了解时变流动调- 制对狭窄部处红细胞流动行为和CFL动- 力学的影响，我们首先研究通道横截面的突然变化如何影响稳态流动条件下红细胞的组- 织。图4显示了在250毫巴（雷诺数 $= 2.8$）恒定流动下，1 %Ht红细胞悬- 浮液流动的代表性快照，其中（A）为实验结果，（B）为相应的数值模拟结果，模拟参数为 $v = 80$ mm/s（雷诺数 $= 5.3$）。

沿流动方向的无细胞层厚度数据如图4A所示，绘制于图4C中。在位于 $x \leq -75$μm处的狭窄部上游（对应感兴趣区域2.1）之前，我们在实验中观察到无细胞层厚度保持恒定，约为5.3 μm。在 -75μm与 $\leq x < -40$μm之间，我们观察到在收缩部喉部之前，无细胞层厚度有所增加。通过狭窄部后，红细胞流紧邻通道壁流动。因此，在 -40μm与 $\leq x < 40$ μm之间的通道区域内，我们未检测到无细胞层。随后，强射流区域导致通道扩张后40 μm至 $\leq x < 100$μm之间的无细胞层厚度急剧增加。在 $x \geq 100$μm处，无细胞层厚度达到10.5 μm的平台值，相当于狭窄部上游无细胞层厚度的两倍。

在数值模拟中，我们观察到与图4D所示定性相似的CFL 行为。在这里，我们同时使用图像堆叠方法和细胞轮廓方法来提取 CFL(x)。在 $x \leq -180$μm处的狭窄部之前，CFL 非常小。然而，随着红细胞在进流区域之后被推离通道壁面，它沿流动方向略有增加。在狭窄部之前，-180 μm $\leq x < -80$μm，CFL 在接近狭窄部入口处的零值之前有所增加。与实验相比，我们观察到在 -80 μm $\leq x < 80$ μm 之间的狭窄部中，CFL略有增加，这可能是由于相对于实验而言，模拟中的相对狭窄部尺寸更大，

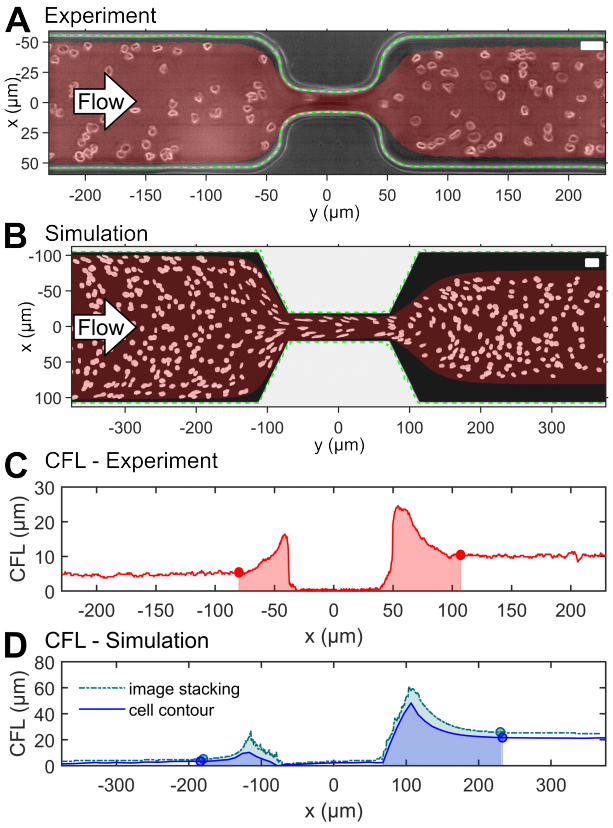

图4. 恒定流动条件下，1 %Ht 红细胞悬液流经狭窄部时的红细胞流动。(A) 和 (B) 分别为在 250 毫巴下进行的实验和以 $v = 80$ mm/s 进行的模拟中，狭窄部红细胞流动的代表性快照。红细胞核心流以红色区域表示，通道边界以绿色虚线标出。比例尺为 20 μm。(C) 实验和 (D) 模拟中，狭窄部沿 x 方向的 CFL，分别对应 (A) 和 (B)。(C) 和 (D) 中的阴影区域表示狭窄部上游和狭窄部下游的 CFA。(C) 和 (D) 中的圆形符号对应于 CFL 与 CFA 区域之间沿 x 方向的过渡点。

红细胞尺寸。狭窄部之后，数值模拟还显示，CFL(x)在达到稳定的平台值之前有所增加。由于狭窄部的角部和边缘形状不同，模拟中 CFL(x)的形状与实验结果略有不同。此外，细胞轮廓法得到的 CFL(x) 更小。在该方法中，每个红细胞都会对CFL(x)的检测产生影响。因此，如果单个红细胞沿着靠近壁面的流线流动，它就会决定该 x-位置处的最小 CFL(x)。相反，如果实验中发生了此类单一事件，例如，由于某个变形能力受损的红细胞在给定的 x-位置处更靠近通道壁流动，那么它对该像素位置处的快速傅里叶变换分析影响极小（见图2D）。因此，该位置不会被检测为红细胞核心流区域的一部分，与细胞轮廓法相比，使用图像堆叠方法得到的 CFL(x) 更大。

方法，此外，如果将图像堆叠方法应用于模拟数据。

图 4C 和 D 中的阴影区域对应狭窄前和狭窄后的 CFA。狭窄前的 CFL 偏离其平均值超过 10% 时，即为狭窄后的 CFA 的起点；终点则为狭窄入口。类似地，狭窄后的 CFA 从狭窄出口开始，到狭窄后的 CFL 达到稳定值时结束。这些过渡点在图 4C 和 D 中以圆形符号标出。请注意，数值模拟中的 CFL，尤其是狭窄后的 CFL，约为微流控实验中的两倍，这是由于模拟中的通道尺寸较大。

3. *Effect of RBC concentration and pressure drop on the CFL and CFA*

在微流控实验中，我们进一步研究了稳态流动条件下红细胞浓度对 CFL 和 CFA 大小的影响。图5A显示了恒定压降为 500 毫巴时，血细胞比容分别为 1 %Ht、5 %Ht、10 %Ht 和 20 %Ht 的情况下，五个不同感兴趣区域中的 CFL（见图3A）。紧接入口处（感兴趣区域0），所有研究的红细胞浓度下 CFL 均为零（1 %Ht 的情况见图 S6）。随后，我们观察到狭窄部上游的感兴趣区域1处 CFL 逐渐形成：1 %Ht 时平均值为 4.5 µm，而 20 % Ht 悬浮液的 CFL 仅为 2 µm。之后，在狭窄部正前方的感兴趣区域2.1内，接下来的 5 mm 范围内厚度仅略有增加，显然达到一个平台值，对应于实验中的平衡无细胞层厚度。狭窄部后，对于所有红细胞浓度，我们都观察到 CFL 明显增厚。1 %Ht 时，狭窄部后的 CFL 增至约 11.5 µm，而 20 %Ht 样本的 CFL 增至约 6 µm。如补充材料中的图 S7A 所示，狭窄部后与狭窄部上游的 CFL 之比随悬浮液血细胞比容增加而增大，在 1 %Ht 至 20 %Ht 之间由 2 增至约 4。此外，在所研究的范围内，该比值似乎不受施加压降的影响。如图5A所示，在狭窄部下游更远处的感兴趣区域3，CFL 再次变薄。血细胞比容增加会导致各感兴趣区域中的 CFL 厚度减小，这与先前的研究一致。[10, 16, 22]此外，与先前仅观察到 CFL 随流量变化很小的研究类似，我们未发现所研究范围内施加的压降对狭窄部上游不同感兴趣区域中的 CFL 厚度有显著影响。[16, 32] 仅在浓度为 ≤ 5%Ht 时，我们观察到狭窄部后的 CFL 随压降略有增加，如补充材料中的图 S8 所示。由于狭窄部后的 CFL 大于平衡无细胞层，低速运动的红细胞在经过狭窄部后有更多时间回流至通道壁面。

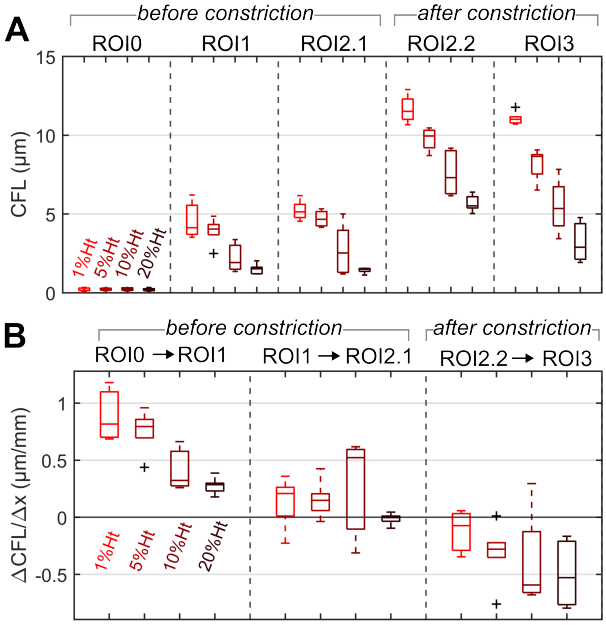

图5. 在恒定压降为 $p = 500$毫巴的实验中，红细胞浓度对无细胞层的影响。(A) 狭窄部前后不同感兴趣区域（见图3A）中不同红细胞浓度下的无细胞层厚度。(B) 狭窄部前后通道直线段不同感兴趣区域之间的无细胞层形成速率（ΔCFL/Δx）。

为评估微流控通道直线段中 CFL 的形成速率，我们计算相邻感兴趣区域中的 CFL 差值，并除以它们在 x方向 ΔCFL/Δx 上的距离。图5B显示了在恒定压降为 500 毫巴时，不同红细胞浓度对应的形成速率。从入口（ROI0）到感兴趣区域1的过程中，所有红细胞悬液均表现出 CFL 的累积，其累积速率随血细胞比容增加而降低。在狭窄部上游直通道的第二段，即感兴趣区域1与感兴趣区域2.1之间，CFL 的增幅小得多；部分测量结果甚至显示 CFL 达到饱和（ΔCFL/$\Delta x \approx 0$）或有所减小（ΔCFL/$\Delta x < 0$）。在狭窄后直通道段，CFL 厚度再次减小，且红细胞浓度越高，减小得越快（ΔCFL/$\Delta x < 0$）。这与感兴趣区域0至感兴趣区域1之间的观测结果形成鲜明对比：在那里，血细胞比容最低时，CFL 形成得最快。狭窄后直通道中，高血细胞比容时 CFL 形成得更快，这是因为红细胞碰撞增强，将红细胞核心中大量聚集的红细胞推向管壁，并使其重新回到平衡位置。相比之下，在红细胞浓度较高时，这些碰撞会阻碍狭窄部上游感兴趣区域1和感兴趣区域2.1中明显 CFL 的形成。

因此，我们观察到 CFL 的绝对变化量较大（ $|\Delta \mathrm{CFL}/\Delta x|$ ）：血细胞比容较低时出现在狭窄部上游，而血细胞比容较高时则出现在狭窄后。此外，红细胞浓度较低时，狭窄后 CFL 缓慢减小，这与先前研究在定性上相符；那些研究表明，几何形状诱导的 CFL 增强可在狭窄部下游持续超过 1 cm。[31, 32] 请注意，在所研究的范围内，CFL 沿流动方向的变化速率不依赖于所施加的压降，如补充材料中的图S9所示。不过，本研究中所施加的最高压力仅为最低压力的两倍。若采用更大的压力范围，CFL 最终会表现出对 p 的依赖关系，这一点已有其他研究报道。[34]

我们的狭窄部上游实验观察结果与其他直管和通道实验研究中报道的平衡无细胞层相似。[39]然而，Zhou 等。 [20] 最近通过数值模拟和微流控实验，研究了可比的直矩形通道（纵横比 $= 3.2$）在 $\ll 1$ 雷诺数下稳态流动条件中的无细胞层增长。在低红细胞浓度下，他们在模拟中观察到无细胞层按照幂律行为逐渐形成。无细胞层沿长度为 $28 \times L/D_\mathrm{h}$ 的区域增加至 $6-9\mu\mathrm{m}$。然而，作者发现实验中的无细胞层形成速度要慢得多，并持续到其最大检测距离 $46 \times L/D_\mathrm{h}$。在狭窄部上游的直通道部分，我们仅发现感兴趣区域1与感兴趣区域2.1之间的无细胞层略有增加，这表明无细胞层厚度已达到饱和。由于感兴趣区域2.1的位置对应于约 $120 \times L/D_\mathrm{h}$ 的距离，我们推测，实验中的平衡无细胞层在红细胞进入狭窄部之前就已形成。

在感兴趣区域2中，我们进一步研究红细胞浓度对狭窄部CFA尺寸的影响。图6A显示，在固定压降为 $p = 250$毫巴时，狭窄部前后实验中的CFA尺寸随血细胞比容的变化。如图4A的快照所示，在压降和血细胞比容相同的情况下，狭窄部上游的CFA小于狭窄后的CFA。此外，CFA尺寸随红细胞浓度增加而减小，这与图5所示的CFL厚度变化相似。如补充材料中的图 S7B所示，狭窄后与狭窄部上游的CFA尺寸比值随血细胞比容增加而增大：对于1 %Ht，该比值约为3；对于20 %Ht的红细胞悬液，该比值为4。该增幅与狭窄后与狭窄部上游的CFL比值随血细胞比容增加的增幅相近。然而，与CFL比值不同，在所研究的范围内，CFA比值似乎随压降增加而增大。图6B也展示了这一效应。随着施加的压降增加，狭窄部上游的CFA没有显著变化，而狭窄后的CFA则有所增大。随着施加的流量或压降增加，狭窄后的CFA也出现类似的增大

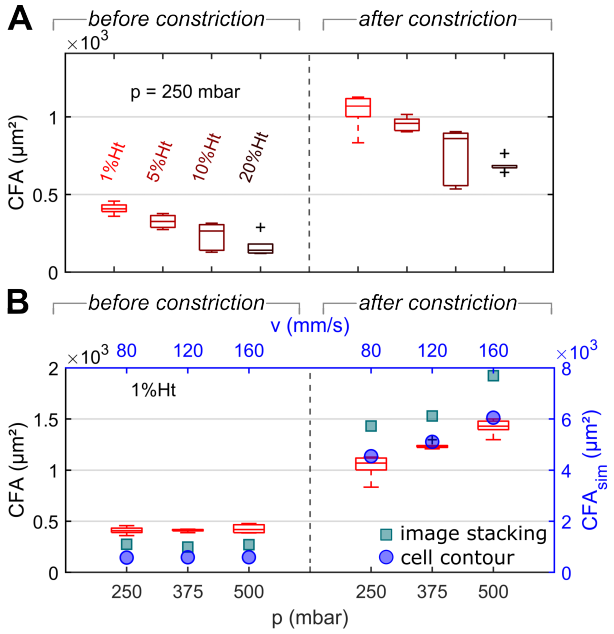

图 6。红细胞浓度和压降对 CFA 的影响。（A）在恒定压降 $p = 250$毫巴下进行实验时，狭窄部前后不同红细胞浓度对应的 CFA。（B）1% 血细胞比容红细胞悬液在狭窄部前后对应不同压降的 CFA。红色箱线图表示实验数据。蓝色圆圈和青绿色方块分别表示采用细胞轮廓和图像堆叠方法分析的数值模拟结果。面板（B）中的右侧 y-轴 $\mathrm{CFA}_\mathrm{sim}$ 对应数值数据。

在其他狭窄微通道的稳态流动条件下也报道了压降 [21, 34] 。在此，我们进一步发现，随着压强增加，CFA 尺寸的增幅在较低血细胞比容下更加明显，如补充材料中的图 S10 所示。

在我们的数值模拟中，我们发现CFA在狭窄部上游和狭窄后的行为随流量变化呈现出定性相似的特征，如图6B中的圆形和方形符号所示。在狭窄部上游，CFA与流速无关 v。然而，在狭窄后观察到CFA尺寸随 v 显著增加。与图4D所报告的结果类似，图像堆叠方法得到的CFA大于细胞轮廓法得到的CFA。请注意，图6B中模拟结果的CFA标度是实验结果的四倍。然而，由于狭窄部几何结构的尺寸在每个方向上都增大了两倍，我们预计模拟中会得到大得多的CFA。CFA的绝对值还受到收缩和扩张通道部分形状的影响，而这些形状在实验和数值模拟中有所不同（见图4A和B）。

B. 狭窄部处的时间依赖性红细胞流动

1. Overview and definition of the CFLs and CFAs at the constriction during the sinusoidal pressure modulation

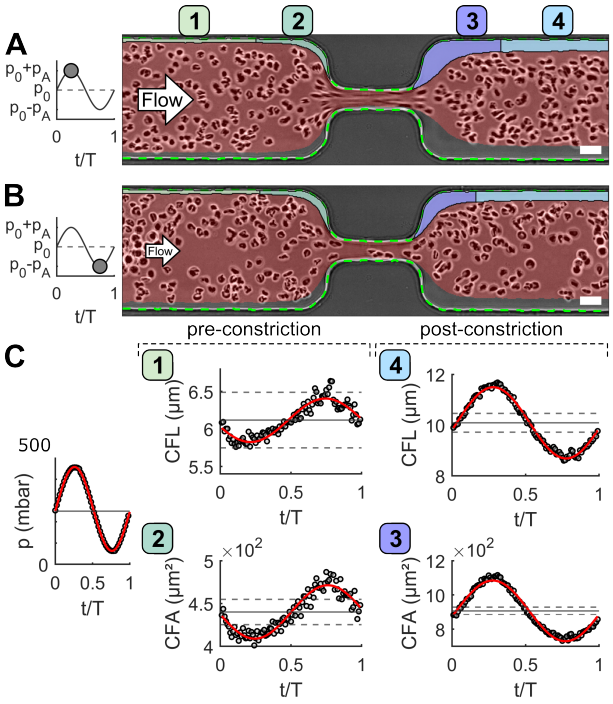

图 7. 实验中进行时间依赖性压力调制期间 CFL 和 CFA 的测定。(A) 和 (B) 分别展示了在压力最大值 ($t/T = 1/4$) 和最小值 ($t/T = 3/4$) 时，使用偏置压力为 $p_0 = 250$ 毫巴、振幅为 $p_A = 200$ 毫巴的正弦调制得到的 5 %Ht 红细胞悬液流动的代表性实验快照。比例尺表示 20 μm。(A) 和 (B) 中快照里的彩色区域 (1-4) 表示狭窄部前后 CFL 和 CFA 区域。(C) 显示了在 $p_0 = 250$ 毫巴和 $p_A = 200$ 毫巴下，(A) 和 (B) 中四个彩色区域的 CFL 和 CFA 随时间的变化。灰色符号表示实验数据，红线表示正弦拟合。水平实灰线表示每个 CFL 或 CFA 正弦拟合的偏置值。水平虚线表示各参数偏置值周围实验误差的估计值，详见 II B 1 节。

如图5所示，狭窄部在稳态流动条件下显著增强了CFL。在此，我们采用时变流动研究细胞贫化区域的时间动力学，重点关注狭窄部区域（图3A中的感兴趣区域2）。因此，我们施加正弦压力调制 $p(t) = p_0 + p_A \sin(\omega t)$，并使用我们的图像处理程序确定时变流动条件下红细胞核心流和壁面的位置。图7A和B展示了不同红细胞浓度下，在一个周期内最大（$p_0 + p_A$）和最小（$p_0 - p_A$）压力时红细胞核心流的实验快照，分别-

分别采用 $p_0 = 250$ 毫巴和 $p_A = 200$ 毫巴的调制。

为量化 CFA 的尺寸及其随时间的演变，我们根据稳态流动条件下的情况定义狭窄区域中的 CFL和 CFA，如图 7A 和B中通道顶部各部分的不同颜色区域所示，其中以 5%Ht红细胞悬液为代表。需要注意的是，在时变流动条件下，压力调制期间，x-方向上(1) 与 (2) 之间以及 (3)与 (4) 之间的过渡点会沿流动方向发生变化，这与稳态流动下的测量结果不同。因此，在时变流动调制期间，CFA的尺寸不仅在 y-方向上变化，也在 x-方向上变化。

图 7C展示了使用 5%Ht红细胞悬液并施加 $p_0 = 250$ 毫巴和 $p_A = 200$毫巴的压力调制时，四个不同区域中 CFL 和CFA 随时间变化行为的代表性数据。实验数据采用正弦函数进行拟合，并使用快速傅里叶变换，如图 7D中的红线所示。基于这些拟合结果，提取随时间变化信号的偏移量、振幅和相位，并用于进一步分析狭窄部处 CFL 和 CFA 动态。

对于 CFL（图 7 中的区域 1 和 4），我们按照 II B 1 节所述，根据通道壁变形引入了保守误差估计。图 7C 面板 (1) 和 (4) 中的灰色虚线表示相对于平均 CFL 的 $\pm 0.37\mu$m 误差。狭窄后随时间变化的 CFL 大于这一误差估计，而狭窄部上游的 CFL 则处于该误差范围内。为估计壁面移动导致的 CFA 计算误差，我们将施加的最大压降下观测到的最大壁面变形（即 0.37 μm）乘以 CFA 在狭窄部上游和狭窄后的最大长度。这为实验 CFA 测量提供了一个以 μm^2 为单位的保守误差估计，并以灰色水平虚线标示在图 7C 的面板 (2) 和 (3) 中。与 CFL 类似，狭窄后随时间变化的 CFA 信号远大于这一误差估计，而在狭窄部上游，两者处于相同的数量级。

在以下各节中，我们重点讨论 III B 2 节中的 CFL 偏移量 CFL_0 和振幅 CFL_A，以及 III B 3 节中的 CFA 偏移量 CFA_0 和振幅 CFA_A。在这些章节中，CFL 和 CFA 分析均采用了这两种误差估计。III B 4 节讨论了时间变化的 CFL 和 CFA 演化相对于施加的压力信号的相位行为。

2. CFL dynamics at the constriction

图 8 展示了 CFLoffsetCFL_0(A) 和振幅CFL_A (B) 对红细胞浓度和正弦压力调制参数（p_0 和 p_A）的依赖关系。图 8A 中左侧和右侧面板

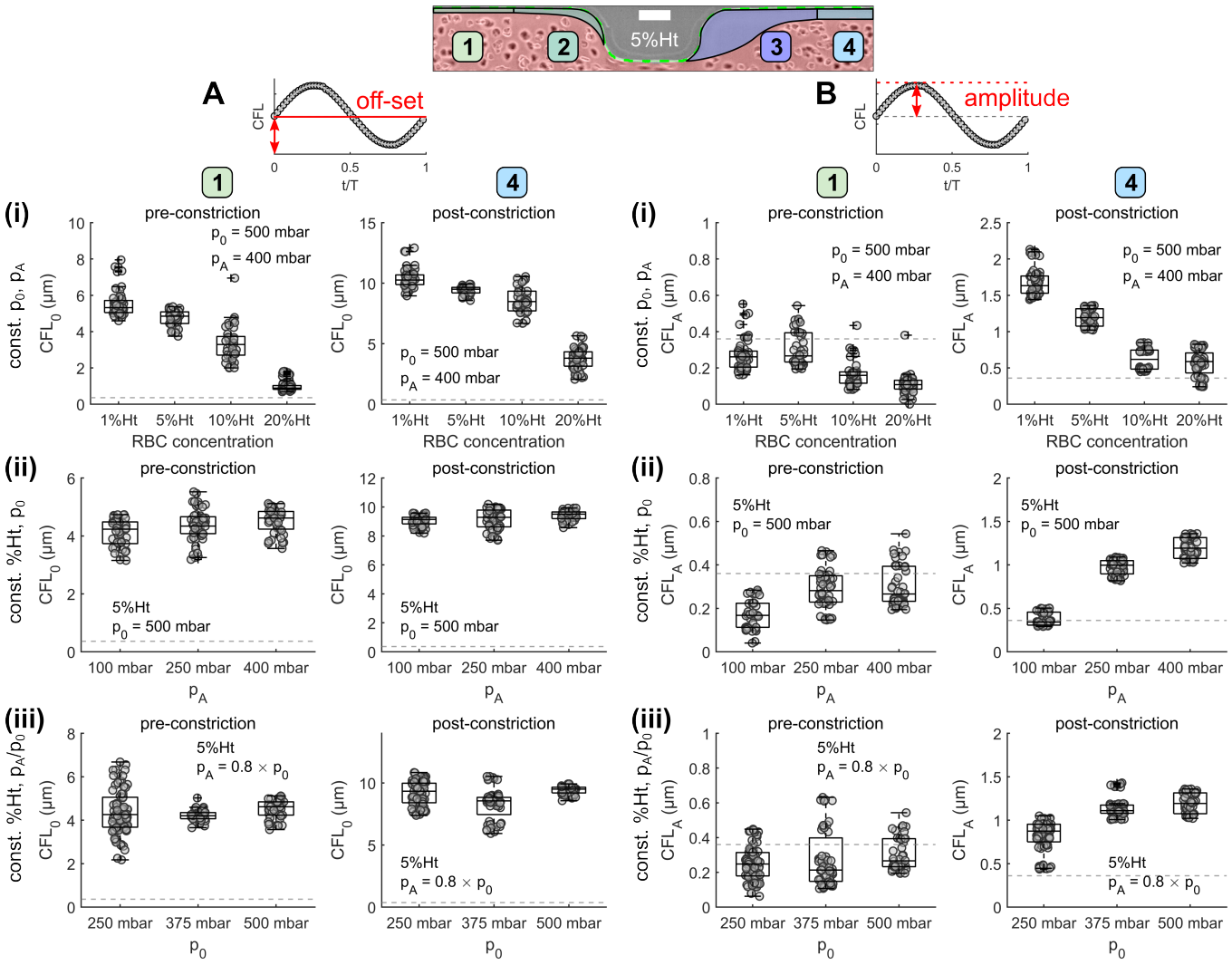

图 8. 在狭窄部、狭窄部上游和狭窄后进行正弦压力调制时，CFL 的偏移量$_0$（A）和振幅$_A$（B）。比例尺代表 20 μm。（A）和（B）中的顶部图显示了在 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$ 毫巴下不同红细胞浓度对应的 CFL_0 和 CFL_A。中部图显示了在 $p_0 = 500$ 毫巴下，对 5 %Ht 红细胞悬液施加压力振幅 p_A 的影响。底部图显示了对于 5 %Ht 红细胞悬液，在不同偏移压力 p_0下、当 $p_A/p_0 = 0.8$ 保持恒定时的 CFL_0 和 CFL_A。水平虚线表示所施加最大压降对应的误差估计。

A 和 B 分别对应狭窄部上游（1）和狭窄部下游（4）区域。

图8顶行展示了在固定$p_0 = 500$毫巴和 $p_A = 400$毫巴条件下，红细胞浓度增加对CFL_0 和CFL_A 的影响。与稳态流动条件下的观察结果类似，随着红细胞浓度增加，CFL 偏移量CFL_0 在狭窄部上游和狭窄后均减小。CFL_0 的幅度与稳态流动条件下的结果高度吻合，如图5A所示。狭窄后/狭窄部上游CFL_0 的比值与 p_A无关，如补充材料中的图S11所示。然而，随着红细胞浓度增加，该比值也随之增大：对于5 %Ht悬浮液，比值为2；对于20 % Ht悬浮液，比值介于 $3-4$ 之间。这种依赖关系与稳态流动条件下的观察结果类似（见图S7A）。我们进一步观察到，该比值仅随 p_0略有增加。在稳态流动条件下，已有研究报道了狭窄后/狭窄部上游CFL比值对血细胞比容以及所施加流量或 p_0 的类似依赖关系。[32, 38] 然而，这些观察结果仅针对低Re和低红细胞浓度$\leq$ 2.6% Ht进行了报道。

虽然CFL 振荡CFL_A 狭窄部上游的振幅非常小，处于已确定的 CFL振荡误差范围内（图 8B(i)中的竖直虚线），但我们发现，狭窄后随着血细胞比容的增加，CFL_A 会降低。图S11B显示，CFL_A狭窄后/狭窄部上游的比值约为 5，且不依赖于红细胞浓度。

保持红细胞浓度和 p_0 不变并改变压力信号的振幅 p_A，不会导致狭窄部上游和狭窄后 CFL_0 出现显著变化，如补充材料中的图 8A(ii) 和图 S12A 所示。然而，增加 p_A 会导致所有血细胞比容下狭窄部上游和狭窄后的 CFL 振幅 CFL_A 增加（图 8B(ii) 和图 S12B）。对于低于 10%Ht 的红细胞浓度，CFL_A 狭窄后/狭窄部上游的比值会随着 p_A 的增加而增加（图 S11D）。与稳态流动条件下的结果类似，在正弦驱动下，CFL 偏移量 CFL_0，以及振幅 CFL_A 在固定 p_A 的情况下，不受所施加压力偏置 p_0 的系统性影响，且在所研究范围内如图 8(iii) 所示。

图8 所示结果表明，时变流动条件下的无细胞层动力学主要受红细胞浓度和压力调制振幅的影响。进一步研究的 p_0-p_A-组合和血细胞比容如图S12所示，并表现出相同的行为。CFL 振荡的振幅CFL_A 狭窄部上游处于所用装置的实验检测限内。然而，狭窄部下游的振荡可以得到合理分辨，并且可以确定压力振幅和血细胞比容对 CFL_A 的显著影响。图8A所示的观测偏移值CFL_0 及其对流动参数的依赖性与图 5A 的结果以及稳态流动条件下的类似实验研究一致。[10, 34, 35] 值得注意的是，Faivre 等。 [32] 发现，其狭窄通道中的 CFL随血细胞比容增加而增加，这与本研究的结果相反。然而，作者仅涵盖了 $0.1-2.6$%Ht的较小红细胞浓度范围。在红细胞浓度较高的悬浮液中，红细胞之间的流体动力学相互作用逐渐变得重要。因此，我们认为，我们的观测结果与 Faivre 等。 [32] 关于血细胞比容对CFL 影响的研究之间存在差异，是由于所研究的红细胞状态不同所致。此外，我们注意到，狭窄部引起的 CFL 幅度变化在定性上与微通道网络造成的变化相似。[10]

3. CFA dynamics at the constriction

与CFL 分析的结果类似，图 9显示了CFA偏移量 CFA_0 (A) 和振幅CFA_A (B) 对红细胞浓度以及正弦压力调制的参数（p_0 和p_A）的依赖关系。图9A和 B 中的左侧和右侧面板分别对应狭窄部上游（2）和狭窄后（3）区域。

如图 9A(i) 所示，在固定条件下，随着红细胞浓度增加，CFA 的尺寸以及 CFA_0 均在狭窄部上游和狭窄后减小 $p_0 = 500$毫巴和 $p_A = 400$毫巴。与 CFL 的观察结果相似，狭窄后/狭窄部上游的 CFA_0 比值不依赖于 p_A，但会随着血细胞比容增加而增大，如补充材料中的图 S13A 和 C 所示。在血细胞比容从 1% 增至 20% 的过程中，该比值约增大两倍。与 CFL 比值不同，CFA 比值对 p_0 的依赖关系更明显，并且会随着施加的压力偏移量增加。这与图 S7B 所示稳态流动条件下 CFA 比值的观察结果相似。CFA 振幅 CFA_A 也会随着红细胞浓度增加而减小（图 9B(i)）。然而，如图 S13B 和 D 所示，无论红细胞浓度和 p_A如何，狭窄后/狭窄部上游的 CFA_A 比值都比 CFA_0 比值大一个数量级以上。

CFA 偏移量 CFA_0 不受压力调制振幅的显著影响（图9A(ii)）。相比之下，我们观察到 CFA 振幅 CFA_A 随 p_A急剧增加，如图9B(ii)中5%Ht的结果所示。虽然 CFA_0 和 CFA_A 似乎不受所施加的压力偏置 p_0 狭窄部上游的影响，但如图 9(iii) 所示，我们观察到狭窄部之后这两个量均随 p_0 增加。对于所有其他研究的 p_0-p_A-组合和红细胞浓度，我们观察到关于 CFA 动态的相同定性行为，如补充材料中的图 S14 所述。

与 CFL 类似，图 9 中以 CFA_0 和 CFA_A 为特征的 CFA 动态，主要受红细胞浓度影响。最显著的特征是，随着正弦压力调制振幅的增大，CFA 振荡的振幅 CFA_A 也大幅增加。

迄今为止，大多数实验研究都聚焦于稳态流动条件下的下游涡旋和细胞贫化区，因为这些区域有利于血浆提取。[12, 16, 36, 39] 近期有研究报告称，在稳态流动条件下，狭窄后 CFA 也会随施加的流量或压降增加而增大。[21] 本研究采用对称的收缩-扩张几何结构，其弯曲壁面逐渐收窄后再逐渐扩张。值得注意的是，带尖角的扩张部可能导致狭窄后凹角附近形成唇部涡旋；这种现象已在红细胞悬浮液和血液模拟流体中观察到。[21, 83, 84] 随着惯性增强，这些涡旋沿下游方向逐渐增大，直至涡旋和 CFA 朝通道侧壁延伸，[34]这与我们的观察结果类似。

除了有关静态CFA 尺寸的观察结果外，我们在时变流动条件下的研究使我们能够将CFA 的振荡与施加的压力信号联系起来。因此，我们将CFA_A/CFA_0振荡的相对振幅与压力调制的相对振幅（p_A/p_0）进行比较。由于只有在较大的压力振幅下，CFA_A 狭窄部上游才大于我们的误差估计，例如，在 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$毫巴

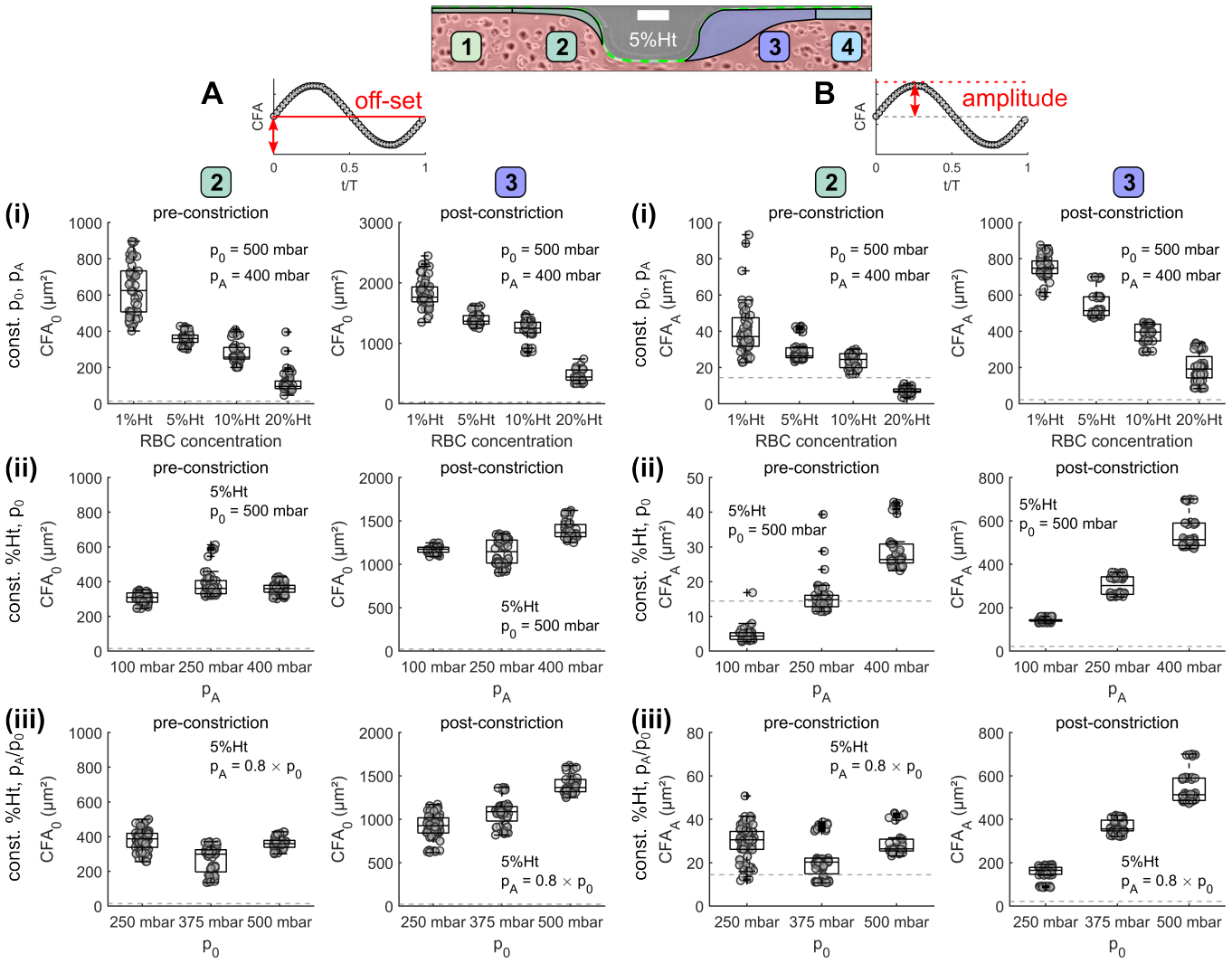

图 9. 在狭窄部上游、狭窄处及狭窄后施加正弦压力调制时，CFA 的偏移量$_0$ (A)和振幅$_A$ (B)。比例尺代表 20 µm。(A)和(B)中的上排图分别显示了在 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$ 毫巴下，不同红细胞浓度对应的 CFA_0 和 CFA_A。中排图显示了对 5 %Ht 红细胞悬液施加 p_A 压力振幅的影响，压力为 $p_0 = 500$ 毫巴。下排图显示了 5 %Ht 红细胞悬液在不同偏置压力 p_0下、$p_A/p_0 = 0.8$ 保持恒定时的 CFA_0 和 CFA_A。虚线水平线表示所施加的最大压降对应的误差估计。

如图9B(ii)所示，我们仅针对狭窄后区域计算两个参数之间的比值（CFA_A/CFA_0）/（p_A/p_0）。在狭窄后区域，我们发现，相对振幅比值（CFA_A/CFA_0）/（p_A/p_0）随着血细胞比容的增加而降低，如图10A所示。因此，我们推测，悬浮介质中可变形红细胞的存在会导致显著的CFA振荡减弱。

此外，随着相对压力振幅（p_A/p_0）减小，该比值增大，如图 10B 中≤ 1%Ht 的结果所示。因此，我们发现，对于所研究的最低红细胞浓度 1%Ht 和最小相对压力振幅 $p_A/p_0 = 0.2$，相对振幅比（CFA_A/CFA_0）/（p_A/p_0）在狭窄后趋近于 1。这一观察可能表明——表明瞬态惯性效应在$Re > 1$下的影响，尽管 $Wo \ll 1$。由于目前对红细胞或其他复杂颗粒系统的时变流动研究十分有限，这些现象仍未得到充分理解，尤其是使用商用压力控制器在高频率下生成微流控中的流动振荡仍然具有挑战性，并可能导致与期望波形存在显著偏差。[43]然而，利用管道振荡[85, 86]在微流控系统中生成动态涡旋的最新进展，未来可与我们的 CFL 检测方法结合，用于研究较高频率下的此类瞬态惯性效应。

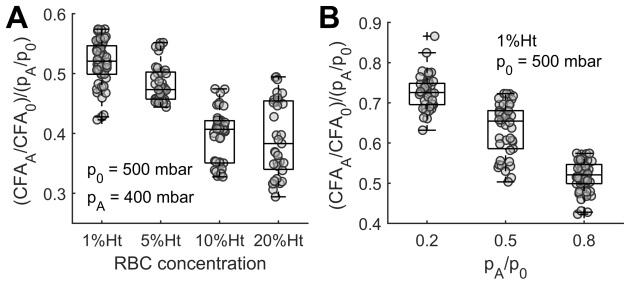

图 10. 狭窄后 CFA 振幅与压力振荡相对振幅之比（CFA_A/CFA_0）/（p_A/p_0）。(A) 在 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$ 毫巴下，该比值随红细胞浓度的变化。(B) 在 $p_0 = 500$ 毫巴和 1 %Ht 下，该比值随 p_A/p_0 的变化。

4. Phase shift of the CFA before and after the constriction

在IIIB 2节和 III B 3 节中，我们表征了狭窄部处正弦压力调制期间随时间变化的 CFL 和CFA 的偏移量与振幅。此处，我们考察时间变化 CFA 相对于施加的压力信号的相位。由于狭窄部上游随时间变化的 CFL信号处于误差估计范围内，并且 CFL和 CFA会随着血细胞比容增加以及压力降低而减小，因此我们将相移分析限制在最高压力调制（$p_0 = 500$毫巴和$p_A = 400$毫巴）以及最低红细胞浓度（1%Ht和 5 %Ht）下的 CFA 数据。图11 A示意性地展示了随时间变化的压力信号（顶部），以及狭窄部上游（中部）和狭窄后（底部）CFA 信号的代表性评估结果。基于图 11A中红线所示的信号正弦拟合，我们确定相移 $\varphi = \phi_p - \phi_i$，其中压力调制的相位为 ϕ_p ，CFA 信号在狭窄部上游或狭窄后的相位为 ϕ_i 。图 11A中的青绿色箭头示例性地表示了狭窄部上游 CFA 的相移 φ_{pre} 以及狭窄后 CFA 的相移 φ_{post}。

图 11B 总结了对所研究的 1%Ht 和 5 %Ht 红细胞浓度下狭窄部上游和狭窄后的相移分析。狭窄后的 CFA 随时间变化与施加的压力调制同相，而狭窄部上游的 CFA 则出现相位反转。狭窄部前方的 CFA 信号与压力不同相，相移为 180°。

为理解实验中的这种相移，我们在流量随时间变化的驱动条件下进行了数值模拟。模拟中，我们发现狭窄后 CFA 呈现同相行为（见图 11B 中 1 %Ht 处的蓝色符号），这与微流控实验结果一致；而狭窄部上游的 CFA 随时间大幅波动，无法用正弦函数拟合该信号，如补充材料中的图 S15 所示。此外，我们从三维数值模拟中提取了正弦流量调制期间流体的速度场。在狭窄部上游，存在朝向中心线的流动，而

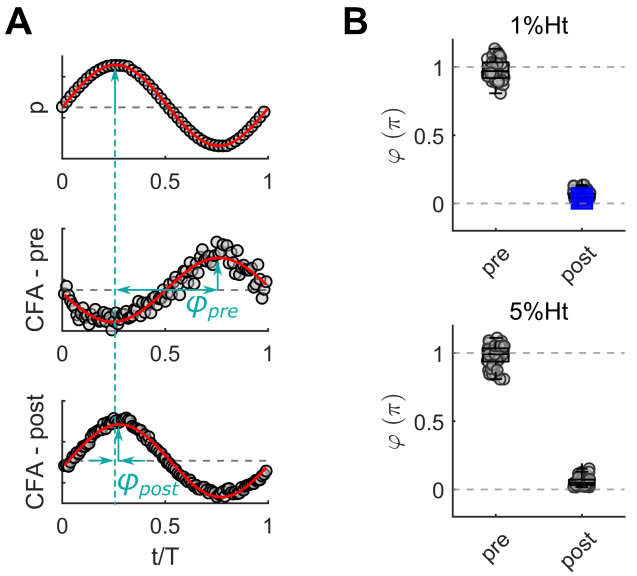

图 11. CFA 的相移。(A) 图中展示了压力调制下随时间变化的压力（上），以及狭窄部上游（中）和狭窄后（下）CFA 的代表性测量结果。灰色符号表示实验数据，红线表示正弦拟合。狭窄部上游 φ_{pre} 和狭窄后 φ_{post} 的相位差以青绿色箭头示意。(B) 在 $p_0 = 500$ 毫巴和 $p_A = 400$ 毫巴下，1 %Ht 和 5 %Ht 红细胞悬浮液中狭窄部上游与狭窄后 CFA 的相位差 φ。图 (B) 中的蓝色符号对应 1 %Ht 下的数值模拟。

狭窄后则有一个指向通道壁的 y-分量。图 12A 展示了水平通道切片在 $z = H/2$ 处沿狭窄部的归一化速度分量 v_y。在 $y = 0$ 处，流场相对于通道中心线对称，因此，图 (A) 的上半部分显示了 $v_{\max}$ 时狭窄部上半部分的流动（正弦振荡期间的最大流速），图 (A) 的下半部分则显示了 $v_{\min}$ 时狭窄部下半部分的流动（正弦振荡期间的最小流速）。从图 12A 可以看出，狭窄后的横向流动分量存在明显差异。随着流速在周期内增至 $v_{\max}$，高-v_y 区域向下游延伸得更远；而在 $v_{\min}$ 时，该区域则更多地朝通道壁延伸。此外，对于 $v_{\min}$，归一化横向流动的最大强度更大。

此外，我们在图 12B 中绘出了 $v_{\max}$ 和 $v_{\min}$ 处对应的流线，两者均位于通道下半部，并且还绘出了 $z = H/2$处的流线。每对流线都从通道起始处相同的 y 位置出发。狭窄后 $v_{\min}$ 处的流线弯曲得更靠近通道壁。因此，图 12B 中两种速度之间存在显著差异。狭窄部之前，$v_{\min}$ 和 $v_{\max}$ 之间的差异较小

但在流线图中仍然可见，流线的方向相反，即 $v_{\max}$ 处的流线略微更靠近通道壁。

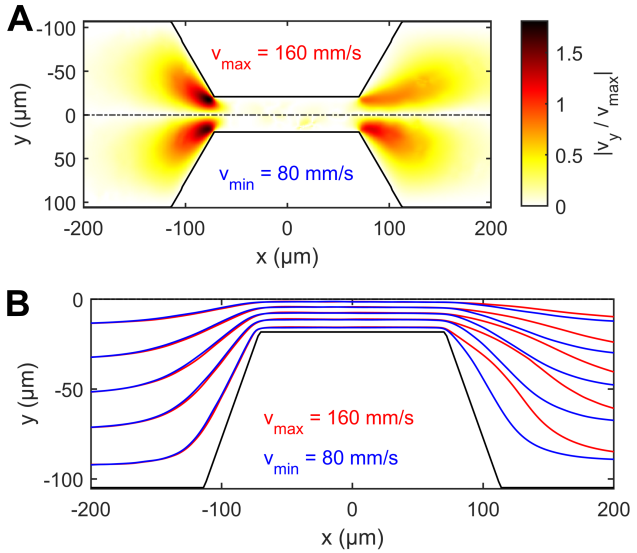

图12.流量调制期间，在最大 $v_{\max}$ 和最小 $v_{\min}$ 速度下进行时间相关流动数值模拟的结果。(A)狭窄部处横向 y-方向上归一化速度分量 v_y 的绝对值。面板(A) 的上半部分显示了 $v_{\max}$处狭窄部的上半部分，而面板的下半部分显示了 $v_{\min}$处狭窄部的下半部分。(B)狭窄部下半部分在 $v_{\max}$ 和 $v_{\min}$ 处的流线。每对流线均在通道起始处的相同 y-位置开始。

在更高的速度下，差异（$\Delta v = v_{\max} - v_{\min}$）会增大，因此 ΔRe也会更高。需要注意的是，数值模拟是在实验中最低压降组合（$p_0 = 250$毫巴和$p_A = 200$毫巴）所对应的速度下进行的，在这些条件下，狭窄部上游CFA的相移处于实验误差范围内。对于图11中报告的更高压降，我们假设，在实验中压力于一个周期内升高时，红细胞会沿着流线运动，而这些流线在狭窄部上游弯向收缩的狭窄部壁面。因此，狭窄部前方CFA的尺寸减小。在压力周期的回落阶段，这些区域会略微松弛并再次扩张，导致狭窄部上游CFA尺寸增大。因此，在实验中，我们观察到狭窄部上游CFA动态存在 $180°$ 相移。相比之下，在压力周期的高压阶段，狭窄后CFA的尺寸增大。在此过程中，红细胞通过狭窄部的狭窄喉部时会迅速加速，并且在扩张段下游的角落处观察到伴有涡旋的增强射流。[34]这会导致CFA尺寸增大。在压力周期的回落阶段，涡旋和射流的强度减小，使红细胞能够更靠近通道壁面流动，从而减小狭窄后CFA的尺寸。因此，紧接狭窄部之后的CFA与施加的压力信号同相。

为了验证这一实验假设，需要在更高流量和更大速度振幅下进行数值模拟。然而，使用当前的模拟设置，我们无法实现高于 ≈ 170mm/s 的速度（Re ≈ 10）。速度超过这一数值会导致狭窄部高剪切速率区域内离散化红细胞膜出现不稳定。

在时变微流控流动的背景下，实验中观察到的狭窄部相移现象也可在其他复杂流体中进行研究，例如血液模拟液以及悬浮于血浆中的红细胞。由于这类流体具有非牛顿流动特性，表现为显著的剪切变稀，与本研究所用的恒黏度流体形成对比（见图 S3），且具有有限的弛豫时间，因此会产生上游和下游涡旋及再循环区域。[83, 84, 87]结合能够模拟复杂体内情境的微流控设计（例如涡旋流与静脉瓣膜中红细胞的相互作用）[42]，，我们的 CFL 检测方法可直接用于推动生理条件下血液流变学领域的发展。

IV. 结论

研究红细胞的微流控流动行为，有助于深化我们对体内血流的认识，对于理解循环系统中的病理变化至关重要。此外，微流控研究是用于诊断和生物医学应用的芯片实验室设计的基础。在这类装置以及心血管系统的血管中，狭窄和血管横截面的突然变化都会显著影响细胞时空组织和红细胞流动。

本研究通过微流控实验，探究了血细胞比容最高达 20%Ht 的广泛范围内，狭窄微通道中的红细胞流动行为和 CFL 现象。除了研究稳态流动下的情况，我们还考察了时变流动条件下狭窄部的红细胞和 CFL 动力学。由于时变流动有望提升各种微尺度操作的效果，并可用于模拟生物过程，近年来微流控领域对其关注日益增加。

为研究非定常流动中的无细胞层动力学，我们首先开发了一种后处理程序，可根据光学显微镜拍摄的图像序列检测时间依赖性红细胞核心流和通道边界的位置。在本研究中，我们采用正弦压力调制来产生时间依赖性红细胞流动。不过，所提出的方法可用于任意周期性

波形，例如血压波形，既可用于压力驱动流，也可通过施加时间依赖性体积流量实现。利用该方法，我们展示了狭窄部前后无细胞层和 CFA 的时间动力学如何受到血细胞比容以及所施加流量调制的偏置和振幅的影响。

我们的研究结果凸显了理解时变流动条件下含颗粒流现象的重要性。特别是，CFA 的振幅以及狭窄部前 CFA 与压力信号之间的相移，与狭窄部后 CFA 的同相行为形成对比，为新型芯片实验室血浆分离装置提供了有趣的可能性。此外，还可在狭窄部的涡旋和再循环区内捕获刚性颗粒或变形能力受损的红细胞，以此研究这一现象；这类红细胞见于多种疾病，例如疟疾、糖尿病、镰状细胞病或棘形红细胞增多症，[88–92] 。[34] 此外，我们的方法可直接用于研究其他复杂几何结构中的时变红细胞流动，例如已知会影响连续血管中 CFL 的微通道网络。[8–10, 93]

此外，我们的实验结果使我们能够解析狭窄部处的时变流场，并为后续研究非稳态流动中的流动现象提供依据。

我们的稳态流动条件下的初步模拟结果表明，在红细胞分布以及 CFL 和 CFA 行为方面，与实验结果在定性上吻合良好。尽管我们的数值结果仅限于 $\mathrm{Re} < 10$，但我们观察到狭窄部前后时变流动行为存在差异。尽管如此，仍应开展更高 $\mathrm{Re} > 10$ 条件下的稳健模拟，以检验这些实验假设。

我们认为，本文提出的工作可作为新兴的非定常微尺度流动领域中未来实验和数值研究的方法学框架，[48] 许多研究人员已开始在液滴生成、混合、颗粒-细胞分离、堵塞缓解以及生理学研究中的仿生实验中加以应用。

致谢

本研究由德国研究联合会（DFG）资助，项目编号为 349558021（RE 5025/1-2、WA 1336/13-1 和 GE 2214/2-1）。K.G. 感谢德国人民奖学金基金会提供的经济支持。

[1] R. F˚ahraeus，《血液悬浮稳定性》，《生理学评论》**9**，241（1929）。[2] R. F˚ahræus 和 T. Lindqvist，《窄毛细管中的血液黏度》，《美国生理学杂志》正文 **96**，562（1931）。[3] A. R. Pries 和 T. W. Secomb，《微血管网络中的血流》，载于 *Microcirculation*（爱思唯尔，2008），第 3–36 页。[4] T. W. Secomb，《微循环中的血流》，《流体力学年度评论》**49**，443（2017）。[5] J. B. Freund，《模型微血管中的白细胞边集》，《流体物理》**19**，023301（2007）。[6] H. Zhao、E. S. G. Shaqfeh 和 V. Narsimhan，《细胞悬液中的剪切诱导颗粒迁移与边集》，《流体物理》**24**，011902（2012）。[7] P. F. Davies 和 S. C. Tripathi，《机械应力机制与细胞：一种内皮范式》，《循环研究》**72**，239（1993）。[8] D. Bento、A. I. Pereira、J. Lima、J. M. Miranda 和 R. Lima，《微流控网络中体外血流的无细胞层测量：自动与手动方法》，《生物力学、生物医学工程与医学影像视觉计算方法》**6**，1（2017）。[9] P. Balogh 和 P. Bagchi，《模拟微血管网络中的无细胞层》，《流体力学杂志》**864**，768（2019）。[10] D. Bento、C. Fernandes、J. Miranda 和 R. Lima，《微通道网络中体外血流可视化与无细胞层（CFL）测量》，《实验热流体科学》**109**，109847（2019）。[11] S. Yang、A. ¨ Undar 和 J. D. Zahn，《用于连续实时血浆分离的微流控器件》，《实验室》《芯片》**6**, 871 (2006). [12] E. Sollier、M. Cubizolles、Y. Fouillet 和 J.-l. Achard，基于扩展无细胞层器件从全血中快速连续提取血浆，《生物医学微器件》**12**, 485 (2010). [13] M. G. Lee、S. Choi、H.-J. Kim、H. K. Lim、J.-H. Kim、N. Huh 和 J.-K. Park，收缩—扩张阵列微通道中的惯性血浆分离，《应用物理快报》**98**, 253702 (2011). [14] M. G. Lee、S. Choi 和 J.-K. Park，收缩—扩张阵列微通道中的惯性分离，《色谱学报 A》**1218**, 4138 (2011). [15] D. Pinho、T. Yaginuma 和 R. Lima，用于部分细胞分离及变形能力评估的微流控器件，《生物芯片期刊》**7**, 367 (2013). [16] S. Tripathi、Y. V. B. Varun Kumar、A. Prabhakar、S. S. Joshi 和 A. Agrawal，微尺度被动血浆分离：设计原理与微器件综述，《微机械与微工程学报》**25**, 083001 2015( ). [17] G. Bugliarello 和 J. Sevilla，细玻璃管中稳态和脉动血流的速度分布及其他特性1，《生物流变学》**7**, 85 (1970). [18] B. M. Fenton、R. T. Carr 和 G. R. Cokelet，20 至 100 μm 分叉处红细胞的非均匀分布，《微血管研究》**29**, 103 (1985). [19] R. Lima、T. Ishikawa、Y. Imai、M. Takeda、S. Wada 和 T. Yamaguchi，血液流经玻璃毛细管时红细胞的径向扩散：血细胞比容和几何形状的作用，《生物力学杂志》**41**, 2188 (2008). [20] Q. Zhou、J. Fidalgo、L. Calvi、M. O. Bernabeu、P. R.

Hoskins、M. S. Oliveira 和 T. Kr¨uger，低惯性微通道流动中稀释红细胞悬液的时空动力学，《生物物理学杂志》**118**, 2561 (2020). [21] A. I. Rodr´ıguez-Villarreal、M. Carmona-Flores 和 J. Colomer-Farrarons，温度和流量对微流控通道无细胞区域的影响，《膜》（巴塞尔）**11**, 109 (2021). [22] D. A. Fedosov、B. Caswell、A. S. Popel 和 G. E. Karni-adakis，微血管中的血流与无细胞层，《微循环》**17**, 615 (2010). [23] X. Yin 和 J. Zhang，微血管中无细胞层和壁面剪切应力的变化，《生物流变学》**49**, 261 (2012). [24] D. Katanov、G. Gompper 和 D. A. Fedosov，微血管血流阻力：红细胞迁移与扩散的作用，《微血管研究》**99**, 57 (2015). [25] M. Gracka、R. Lima、J. M. Miranda、S. Student、B. Melka 和 Z. Ostrowski，双曲收缩微通道中的红细胞追踪与无细胞层形成：CFD 模型验证，《生物医学计算方法与程序》**226**, 107117 (2022). [26] S. Kim、P. K. Ong、O. Yalcin、M. Intaglietta 和 P. C. Johnson，微血管血流中的无细胞层，《生物流变学》**46**, 181 (2009). [27] G. Tomaiuolo、L. Lanotte、G. Ghigliotti、C. Misbah 和 S. Guido，泊肃叶微毛细管流中的红细胞聚集，《流体物理》**24**, 051903 (2012). [28] C. Iss、D. Midou、A. Moreau、D. Held、A. Charrier、S. Mendez、A. Viallat 和 E. Helfer，受限二维流动中红细胞悬液的自组织，《软物质》**15**, 2971 (2019). [29] J. M. Sherwood、D. Holmes、E. Kaliviotis 和 S. Bal-abani，红细胞空间分布显著改变局部血流动力学，《公共科学图书馆·综合》**9**, e100473 (2014). [30] Z. Shen、G. Coupier、B. Kaoui、B. Polack、J. Hart-ing、C. Misbah 和 T. Podgorski，微流控分叉处血细胞比容分配的逆转，《微血管研究》**105**, 40 (2016), 1601.02770. [31] C. B¨acher、A. Kihm、L. Schrack、L. Kaestner、M. W. Laschke、C. Wagner 和 S. Gekle，分支血管附近微粒和血小板的抗边集现象，《生物物理学杂志》**115**, 411 (2018), 1801.08708. [32] M. Faivre、M. Abkarian、K. Bickraj 和 H. A. Stone，微流控器件中的细胞几何聚焦：一种分离血浆的方法，《生物流变学》**43**, 147 (2006). [33] C. B¨acher、L. Schrack 和 S. Gekle，受限血流中微观颗粒的聚集，《物理评论·流体》**2**, 013102 (2017). [34] A. Abay、S. M. Recktenwald、T. John、L. Kaestner 和 C. Wagner，受限微流控通道中红细胞的横截面聚焦，《软物质》**16**, 534 (2020), 1912.00631. [35] H. Fujiwara、T. Ishikawa、R. Lima、N. Matsuki、Y. Imai、H. Kaji、M. Nishizawa 和 T. Yamaguchi，高血细胞比容血液流经狭窄微通道时红细胞的运动，《生物力学杂志》**42**, 838 (2009). [36] M. Kersaudy-Kerhoas、D. M. Kavanagh、R. S. Dhariwal、C. J. Campbell 和 M. P. Y. Desmulliez，通过生物标志物检测验证血浆分离系统，《Lab Chip》**10**, 1587 (2010). [37] A. I. Rodr´ıguez-Villarreal、M. Arundell、M. Carmona 和 J. Samitier，采用多种温度条件进行血浆分离的高流量微流控器件

Lab Chip **10**, 211 (2010). [38] T. Yaginuma, M. S. N. Oliveira, R. Lima, T. Ishikawa, 和 T. Yamaguchi, 均匀拉伸流动作用下人红细胞在双曲线形微通道中的行为, 《生物微流体》**7**, 054110 (2013). [39] J. Marchalot, Y. Fouillet, 和 J.-L. Achard, 用于血浆分离的多级微流控系统：架构与分离效率, Microfluid. Nanofluidics **17**, 167 (2014). [40] R. O. Rodrigues, R. Lopes, D. Pinho, A. I. Pereira, V. Garcia, S. Gassmann, P. C. Sousa, 和 R. Lima, 双曲线形微通道中的体外血流与无细胞层：可视化与测量, BioChip J. **10**, 9 (2016). [41] S. Yang, S. S. Lee, S. W. Ahn, K. Kang, W. Shim, G. Lee, K. Hyun, 和 J. M. Kim, 利用介质黏弹性在矩形微通道中实现基于变形能力选择的颗粒捕获与分离, Soft Matter **8**, 5011 (2012). [42] Z. A. C. Sanchez, V. Vijayananda, D. M. Virassammy, L. Rosenfeld, 和 A. K. Ramasubramanian, 静脉瓣膜仿生结构中涡流与红细胞的相互作用, 《生物微流体》**16**, 024103 (2022). [43] S. M. Recktenwald, C. Wagner, 和 T. John, 微流控器件中压驱脉动流的优化, Lab Chip **21**, 2605 (2021). [44] D. Xu, A. Varshney, X. Ma, B. Song, M. Riedl, M. Avila, 和 B. Hof, 脉动流中的非线性流体动力学失稳与湍流, Proc. Natl. Acad. Sci. **117**, 11233 2020( ). [45] K. Ward 和 Z. H. Fan, 微流控器件中的混合及其强化方法, J. Micromechanics Micro-engineering **25**, 094001 (2015). [46] Y. Yoon, S. Kim, J. Lee, J. Choi, R.-K. Kim, S.-J. Lee, O. Sul, 和 S.-B. Lee, 用于连续按尺寸分离微粒的无堵塞微流控技术, Sci. Rep. **6**, 26531 (2016). [47] P. Zhu 和 L. Wang, 微流控中的被动与主动液滴生成：综述, Lab Chip**17**, 34 (2017). [48] B. Dincau, E. Dressaire, 和 A. Sauret, 微流控系统中的脉动流, Small **16**, 1904032 (2020). [49] Y. J. Kang, 脉动血流中红细胞的生物力学评估, Micromachines **14**, 317 (2023). [50] J. Friend 和 L. Yeo, 使用聚二甲基硅氧烷制造微流控器件, 《生物微流体》**4**, 026502 (2010). [51] C. Poelma, A. Kloosterman, B. P. Hierck, 和 J. Westerweel, 精确的血流测量：是否需要人工示踪粒子？, PLoS One **7**, e45247 (2012). [52] A. Passos, J. M. Sherwood, E. Kaliviotis, R. Agrawal, C. Pavesio, 和 S. Balabani, 变形能力对红细胞悬浮液微尺度流动行为的影响, 《流体物理》**31**, 091903 (2019). [53] C. D. Meinhart, S. T. Wereley, 和 M. H. B. Gray, 用于二维粒子图像测速的体积照明, Meas. Sci. Technol. **11**, 809 (2000). [54] W. Thielicke 和 E. J. Stamhuis, PIVlab——迈向用户友好、经济实惠且准确的 MATLAB 数字粒子图像测速, J. Open Res. Softw. **2**, e30 (2014). [55] J. S. Horner, M. J. Armstrong, N. J. Wagner, 和 A. N. Beris, 稳态与瞬态剪切条件下人类血液黏弹性与触变性的测量及其本构建模, 《流变学杂志》（纽约）63, 799 (2019).

,

本构建模, 《流变学杂志》（纽约）63, 799 (2019). [56] J. R. Womersley, 已知压力梯度时计算动脉中的速度、流量和黏性阻力的方法, J. Physiol. 127, 553 (1955). [57] R. Blythman, T. Persoons, N. Jeffers, K. Nolan, 和 D. Murray, 矩形通道中层流脉动流的局部动态特性, Int. J. Heat Fluid Flow 66, 8 (2017). [58] R. Skalak, A. Tozeren, R. Zarda, 和 S. Chien, 红细胞膜的应变能函数, Biophysical Journal 13, 245 (1973). [59] D. Barth`es-Biesel, A. Diaz, 和 E. Dhenin, 二维膜本构定律对流动诱导囊泡变形的影响, Journal of Fluid Mechanics 460, 211 (2002). [60] P. Canham, 弯曲能最小值或可解释人类红细胞的双凹形状, Journal of Theoretical Biology 26, 61 (1970). [61] W. Helfrich, 脂质双分子层的弹性性质：理论与可能的实验, Zeitschrift f¨ur Naturforschung C 28, 693 (1973). [62] A. Guckenberger, M. P. Schraml, P. G. Chen, M. Leonetti, 和 S. Gekle, 关于流动中软物体的弯曲算法, Computer Physics Communications 207, 1 (2016). [63] A. Guckenberger 和 S. Gekle, 计算 Helfrich 弯曲力的理论与算法：综述, Journal of Physics: Condensed Matter 29, 203001 (2017). [64] R. M. Hochmuth 和 R. E. Waugh, 红细胞膜的弹性与黏性, 《生理学年度评论》49, 209 (1987). [65] J. P. Mills, L. Qie, M. Dao, C. T. Lim, 和 S. Suresh, 光镊作用下人类红细胞的非线性弹性与黏弹性变形, Mech Chem Biosyst 1, 169 (2004). [66] Y.-Z. Yoon, J. Kotar, G. Yoon, 和 P. Cicuta, 红细胞的非线性力学响应, Physical Biology 5, 036007 (2008). [67] E. Evans, 由微量移液管吸引测试中的屈曲失稳推导红细胞膜的弯曲弹性模量, Biophysical Journal 43, 27 (1983). [68] J. B. Freund, 流动血细胞的数值模拟, 《流体力学年度评论》46, 67 (2014). [69] E. Evans 和 Y.-C. Fung, 红细胞几何形态的改进测量, Microvascular Research 4, 335 (1972). [70] M. Diez-Silva, M. Dao, J. Han, C.-T. Lim, 和 S. Suresh, 健康与疾病状态下人类红细胞的形状与生物力学特征, MRS Bulletin 35, 382 (2010). [71] R. Skalak, N. Ozkaya, 和 T. C. Skalak, 生物流体力学, 《流体力学年度评论》21, 167 (1989). [72] S. Chien, S. Usami, H. M. Taylor, J. L. Lundberg, 和 M. I. Gregersen, 低剪切速率下血细胞比容和血浆蛋白对人类血液流变学的影响, Journal of Applied Physiology 21, 81 (1966). [73] Bronzino, Joseph D., 编, *Biomedical Engineering Fundamentals* 3 2006 版（CRC Press, ）。[74] T. Kr¨uger, H. Kusumaatmaja, A. Kuzmin, O. Shardt, G. Silva, 和 E. M. Viggen, *The Lattice BoltzmannMethod: Principles and Practice*, Graduate Texts in Physics (Springer International Publishing, 2017). [75] B. D¨unweg 和 A. J. C. Ladd

, 格子玻尔兹曼模拟-

软物质系统的应用，载于 *Advanced Computer Simulation Approaches for Soft Matter Sciences III*，C. Holm 和 K. Kremer 编（Springer Berlin Heidelberg，2009），第 89–166 页。[76] C. K. Aidun 和 J. R. Clausen，《复杂流动的格子玻尔兹曼方法》，《流体力学年度评论》**42**，439（2010）。[77] H. Limbach、A. Arnold、B. Mann 和 C. Holm，《ESPResSo——一种用于软物质系统研究的可扩展模拟软件包》，《计算机物理通信》**174**，704（2006）。[78] A. Arnold、O. Lenz、S. Kesselheim、R. Weeber、F. Fahrenberger、D. Roehm、P. Ko˘sovan 和 C. Holm，《ESPResSo 3.1：粗粒化模型分子动力学软件》，载于 *Meshfree Methods for Partial Dif-ferential Equations VI*，计算科学与工程讲义，第 89 卷，M. Griebel 和 M. A. Schweitzer 编（Springer Berlin Heidelberg，2013），第 1–23 页。[79] F. Weik、R. Weeber、K. Szuttor、K. Breitsprecher、J. de Graaf、M. Kuron、J. Landsgesell、H. Menke、D. Sean 和 C. Holm，《ESPResSo 4.0——用于模拟软物质系统的可扩展软件包》，《欧洲物理学杂志特刊》**227**，1789（2019）。[80] C. S. Peskin，《浸入边界法》，《数值学报》**11**，479（2002）。[81] R. Mittal 和 G. Iaccarino，《浸入边界方法》，《流体力学年度评论》**37**，239（2005）。[82] T. Kr¨uger、F. Varnik 和 D. Raabe，《采用浸入边界-格子玻尔兹曼-有限元组合方法，高效准确地模拟浸没于流体中的可变形颗粒》，《计算机与应用数学》**61**，3485（2011）。[83] P. C. Sousa、I. S. Pinho、F. T. Pinho、M. S. N. Oliveira 和 M. A. Alves，《血液模拟液流经微加工双曲收缩通道》，载于*Comput. Methods Appl. Sci.*，第 19 卷（Springer Nature，2011），第 265–279 页。[84] P. C. Sousa、F. T. Pinho、M. S. N. Oliveira 和 M. A. Alves，《微流控装置中血液模拟液的拉伸流动》，《生物微流体》**5**，014108（2011）。[85] P. Thurgood、C. Chheang、S. Needham、E. Pirogova、K. Peter、S. Baratchi 和 K. Khoshmanesh，《利用管道振荡，在包含狭窄障碍的微流控系统中产生动态涡旋》，Lab Chip**22**，1917（2022）。[86] P. Thurgood、S. Needham、E. Pirogova、K. Peter、S. Baratchi 和 K. Khoshmanesh，《利用管道振荡机制，在微流控中实现血液样本的动态涡旋生成、脉冲注射和快速混合》，《分析化学》10.1021/acs.analchem.2c05456（2023）。[87] M. Brust、C. Schaefer、R. Doerr、L. Pan、M. Garcia、P. E. Arratia 和 C. Wagner，《人血浆的流变学：黏弹性与牛顿行为》，《物理评论快报》**110**，078305（2013），1302.4102。[88] J. Stuart 和 G. Nash，《红细胞变形性与血液学疾病》，《血液评论》**4**，141（1990）。[89] A. Symeonidis、G. Athanassiou、A. Psiroyannis、V. Kyriazopoulou、K. Kapatais-Zoumbos、Y. Missirlis 和 N. Zoumbos，《红细胞黏弹性受损与糖尿病患者糖化血红蛋白水平相关。

，临床实验室血液学杂志 **23** ，103（2001）。

[90] A. Dondorp、M. Nyanoti、P. Kager、S. Mithwani、J. Vreeken 和 K. Marsh，《红细胞变形能力降低在重症恶性疟发病机制中的作用及其通过输血得以恢复》，Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. **96**, 282（2002）。[91] R. Mannino、D. R. Myers、Y. Sakurai、R. E. Ware、G. Barabino 和 W. Lam，《红细胞僵硬度增加足以导致镰状细胞病中的内皮功能障碍》，Blood **120**, 818（2012）。[92] F. Reichel、M. Kr¨ater、K. Peikert、H. Glaß、P. Rosendahl, M. Herbig、A. Rivera Prieto、A. Kihm、G. Bosman、L. Kaestner、A. Hermann 和 J. Guck，舞蹈病-棘红细胞增多症中血细胞变形能力的变化以及达沙替尼或锂治疗的影响，《生理学前沿》**13**，1（2022）。[93] G. Li、T. Ye、B. Yang、S. Wang 和 X. Li，微血管网络中血细胞比容的时间-空间异质性，《流体物理》**35**，021906（2023）。