

Математическая морфология.  
Электронный математический и медико-биологический журнал. - Т. 20. -  
Вып. 1. - 2021. - URL:  
<http://www.sci.rostelecom67.ru/user/sgma/MMORPH/TITL.HTM>  
<http://www.sci.rostelecom67.ru/user/sgma/MMORPH/N-69-html/TITL-69.htm>  
<http://www.sci.rostelecom67.ru/user/sgma/MMORPH/N-69-html/cont.htm>

УДК 611+611-013(001.8)

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАТФОРМЫ НА ОСНОВЕ МИКРОФЛЮИДНОГО ЧИПА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ АНГИОГЕНЕЗА EX VIVO ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

© 2021 г. Витчук К. М., Силкин М. С., Фомин В. Д., Шантуров А. А., Деревцова А. В.,  
Герлах М. А., Худовекова А. С.

*Платформа предназначена для изучения ангиогенеза in vitro и представляет собой уникальную экспериментальную установку для всестороннего изучения феномена возникновения и развития в культуре эндотелия in vitro функционирующих саморазвивающихся эндотелиальных капиллярных сетей и может быть успешно применена для гистофизиологических исследований микроциркуляции крови.*

**Ключевые слова:** микрофлюидика, микрофлюидный чип, эндотелиальные клетки, микроциркуляция крови, гистофизиология.

**Введение.** Для успешного моделирования in vitro гистофизиологических процессов, которые возникают в системе микроциркуляции крови in vivo, необходимы сложнейшие научно-исследовательские платформы, позволяющие не только контролировать, но и управлять физиологическими параметрами экспериментальных сред, а также имитировать биологические феномены микроциркуляции. Разработка таких платформ является сложнейшей научно-инженерной задачей, требующей системного подхода к решению и затратного финансирования, сопоставимого с финансированием разработок небольших спутников.

В 2020 году на кафедре анатомии человека Смоленского государственного медицинского университета была выполнена НИОКР при поддержке Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере: Проект НТИ-50323 «Разработка платформы на базе микрофлюидного чипа для исследования ангиогенеза ex vivo» [1, 2, 3]. В платформе был применён оригинальный микрофлюидный чип (МФЧ) нового типа, позволяющий совмещать (или организовать сопряжение) развивающейся культуры эндотелиальных клеток с генерируемыми микропотоками питательной среды в одном тканевом микропространстве.

Платформа обеспечивает циркуляцию питательной культуральной среды в МФЧ через матрицу ангиогенеза и генерацию микропотоков через перфорированные микротрубочки; приемку дренажной жидкости, поступающей по дренажным микротрубочкам, пассаж эффективной популяции эндотелиальных клеток и доставку химических факторов ангиогенеза в реакторную зону через матрицу ангиогенеза, термостатирование МФЧ, техническое зрение. Автономная кибернетизированная платформа содержит несколько модулей: систему термостатирования, перистальтический насос, систему управления, резервуары для питательных сред, электрогидродинамические шины, коннекторы, систему технического зрения, позволяющую визуализировать процессы, происходящие в реакторной зоне МФЧ.

**Цель исследования.** Изучить возможность применения платформы на базе микрофлюидного чипа для исследования ангиогенеза *ex vivo* для моделирования гистофизиологических процессов, возникающих в системе микроциркуляции крови.

**Материалы и методы.** В ходе эксперимента была использована система коммутации каналов и управления потоками. Она состояла из перистальтического насоса, шприцевого насоса для подачи факторов (индикаторов) и клапана селектора для подключения в основной тракт факторов (индикаторов). Исследуемый фактор (индикатор) подавался в тракт из накопительного резервуара шприцевым насосом через клапан-селектор. Перекачка культуральной среды производилась перистальтическим насосом из состава платформы. Также использовались система управления, система сбора и хранения данных, система микроскопического наблюдения, испытуемый микрофлюидный чип, специальная лабораторная оснастка (лабораторные штативы, шприц Жане, инъекционные шприцы и иглы, препаровальные иглы, спиртовка, электрическая плитка, лабораторная посуда), реактивы (Натрия хлорид – СОЛОфарм (стерильный раствор для инфузий внутривенно, рег. номер ЛП-002485), 400 мл), Эозин БА (индикатор), ТУ-6-09-3782-74, Масло силиконовое ПМС 200, кинематическая вязкость 200 мм<sup>2</sup>/с – 15 мл, Желатин пищевой (быстрорастворимый) (ООО «Доктор Оеткер»), 10 г), дополнительные технические средства: цифровой фотоаппарат Canon Power ShotA 480 и фотоштативы для ведения видеозаписи эксперимента. Во время опыта микрофлюидный чип подключался к платформе, контейнер для культуральной среды, расположенный внутри платформы, заполнялся раствором Натрия хлорида. После этого происходило включение системы микроскопического наблюдения и системы сбора и хранения данных, а также совершалась настройка перистальтического насоса согласно следующим значениям: расход культуральной среды – 3,2 мл/мин., диаметр микротрубочки – 0,6 мм, объем прокачиваемой через микрофлюидный чип культуральной среды – 1,3 мл. После этого включался перистальтический насос и шприцевый насос для

подачи факторов (индикаторов), а также клапан селектор для подключения в основной тракт факторов (индикаторов). Процесс движения культуральной среды в реакторной зоне микрофлюидного чипа визуализируется на дисплее компьютера и одновременно записывается на жесткий диск

Первые 3 опыта проводились с неперфорированными микротрубочками для оценки циркуляции и общей работоспособности системы. В первом опыте оценивалась циркуляция чистого физраствора в системе, во втором раствор подкрашивался и оценивалась его проходимость в микротрубочках, в третьем испытывалась технология промывки микротрубочек после их заполнения подкрашенным раствором. Далее микротрубочки были перфорированы. В четвертом опыте оценивался выход подкрашенного раствора из перфорированных микротрубочек в реакторную зону микрофлюидного чипа, заполненную физраствором, в пятом опыте реакторная зона заполнялась силиконом, в шестом — желатином.

**Результаты и их обсуждение.** Во всех опытах все задействованные системы платформы работали в штатном режиме. В первом эксперименте четко визуализировалось движение физиологического раствора и пузырьков воздуха по микротрубочкам, во втором — движение раствора с красителем по микротрубочкам. В третьем эксперименте была успешно применена на практике технология промывки микротрубочек от раствора с красителем. В четвертом эксперименте наблюдалось взрывное истечение культуральной среды в реакторную зону. После того, как реакторная зона заполнялась вытекшей из микроотверстий культуральной средой, в последней, около некоторых микроотверстий, наблюдались турбулентные пульсирующие микропотоки. В большей части микрофлюидных каналов МФЧ ток культуральной среды сильно замедлился или остановился полностью. При заполнении реакторной зоны силиконовым маслом наблюдалось появление шаров различного размера идеальной формы. При заполнении реакторной зоны желатиновым студнем наблюдалось появление шаровидных образований различного размера, окрашивание студня, пульсирующих потоков.

**Выводы.** Была показана возможность применения платформы на базе МФЧ для исследования ангиогенеза *ex vivo* для моделирования гистофизиологических процессов, возникающих в системе микроциркуляции крови. При оснащении МФЧ нового типа различными датчиками данная платформа может быть использована как экспериментальная установка для гистофизиологических исследований микроциркуляции *in vitro*, исследований в области биологической и технической микрофлюидики. В настоящее время других платформ, подобных разработанной, обладающих таким же спектром возможностей, в мире не существует. При коммерциализации настоящего проекта Россия может предложить мировому рынку первоклассное высокотехнологичное и наукоёмкое изделие для целей клеточной и тканевой инженерии, экспериментальной медицины.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Отчёт по проекту Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере НТИ-50323 «Разработка платформы на базе микрофлюидного чипа для исследования ангиогенеза *ex vivo*» (Заключительный). — 20.11.2020.
2. Глотов В. А. Перспективы получения саморазвивающихся и функционирующих капиллярных сетей. //Стволовые клетки и перспективы их использования в здравоохранении. Материалы конференции (Приложение к журналу «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины»). — М.: Издательство РАМН, 2003. — С. 64-68.
3. Демидов А. Л., Жилкин В. В. Экспериментальная исследовательская платформа для управления и автоматизации обработки данных моделирования микроциркуляций. — Смоленский медицинский альманах. — №1. — 2018. — С. 85-87.
4. Витчук К.М., Силкин М.С., Фомин В.Д., Шантуров А.А., Деревцова А.В., Герлах М.А., Худовекова А.С. Применение платформы на базе микрофлюидного чипа для исследования ангиогенеза *ex vivo* для моделирования гистофизиологических процессов, возникающих в системе микроциркуляции крови. — материалы V международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых «морфологические науки — фундаментальная основа медицины», посвященной 80-летию со дня рождения и 50-летию научно-педагогической деятельности заслуженного деятеля науки РФ, академика РАН, профессора В.Ф. Шкурупия. —2020. — С. 48-52.

### **USING A MICROFLUIDIC CHIP-BASED PLATFORM FOR EX VIVO ANGIOGENESIS RESEARCH TO MODEL HISTOPHYSIOLOGICAL PROCESSES**

**Vitchuk K. M., Silkin, M. S., Fomin V. D., Shanturov A. A., Derevtsova A. V., Gerlakh M. A., Khudovekova A. S.**

The platform is designed for the study of angiogenesis *in vitro* and is a unique experimental setup for a comprehensive study of the phenomenon of the emergence and development of endothelial endothelial capillary networks *in vitro* culture and can be successfully used for histophysiological studies of blood microcirculation.

**Key words:** microfluidics, microfluidic chip, endothelial cells, blood microcirculation, histophysiology.

Научный руководитель – д.м.н., профессор Глотов В.А.  
Смоленский государственный медицинский университет

Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28.  
[carina.grishina@yandex.ru](mailto:carina.grishina@yandex.ru) Витчук К.М.

Scientific supervisor – doctor of medical Sciences, Professor V. A. Glotov  
Smolensk State Medical University  
Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya str., 28.  
[carina.grishina@yandex.ru](mailto:carina.grishina@yandex.ru) Vitchuk K. M.

ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет»  
Минздрава России  
Кафедра анатомии человека  
Смоленск, Россия  
Поступила в редакцию 05.03.2021.