

Design of a Two-Stage Microfluidic System for Sperm Isolation in Azoospermic Patients for Application in In Vitro Fertilization (IVF)

Mohammadreza Maleki¹, Peiman Mosaddegh^{1*} , Reza Nosrati², Ahmadreza Pishavar¹

¹ Department of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

² Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Monash University, Melbourne, Australia

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Article History

Received: May 02, 2025

Revised: August 22, 2025

Accepted: September 07, 2025

ePublished: October 24, 2025

ABSTRACT

Infertility is an increasingly prevalent global issue, affecting approximately %15 of couples, with male factors accounting for half of these cases. The most severe form of male infertility is non-obstructive azoospermia (NOA), in which sperm production is drastically reduced. Sperm retrieval from testicular tissue samples in these patients is a time-consuming process that relies heavily on the operator's expertise. The presence of background cells and tissue debris further complicates the identification of sperm. In this study, a two-stage passive microfluidic system was designed and simulated, integrating an inertial spiral module with a deterministic lateral displacement (DLD) module. In the first stage, the spiral module utilizes inertial and Dean vortex forces to remove larger particles from the main flow, thereby preventing channel blockage in the second stage. In the subsequent stage, the high-resolution DLD module removes the remaining background cells, completing the sperm separation process. Simulation results demonstrate that particles smaller than 4.7 μm in diameter, corresponding to sperm cells and residual red blood cells, are efficiently separated from larger background cells, effectively preventing clogging in downstream microfluidic channels. Given the DLD module's high resolution, the system can isolate sperm cells from residual red blood cells with more than %95 efficiency.

Keywords: Azoospermia, Infertility, Sperm, Microfluidics, Separation

How to cite this article

Maleki M.R, Mosaddegh P, Nosrati R, Pishavar A.R, Design of a Two-Stage Microfluidic System for Sperm Isolation in Azoospermic Patients for Application in In Vitro Fertilization (IVF). Modares Mechanical Engineering; 2025;25(08):505-514..

*Corresponding author's email: mosaddegh@iut.ac.ir

*Corresponding ORCID ID: 0000-0002-3220-8864



Copyright© 2025, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.



طراحی یک سامانه میکروسیالی دو مرحله‌ای برای جداسازی اسپرم در بیماران مبتلا به بی‌نطفگی، جهت به‌کارگیری در لقاح آزمایشگاهی

محمدرضا ملکی^۱، پیمان مصدق^{۱*}، رضا نصرتی^۲، احمد رضا پیشه‌ور^۱

^۱ دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ دانشکده مهندسی مکانیک و هوافضا، دانشگاه موناخ، ملبورن، استرالیا

چکیده

ناباروری یکی از چالش‌های روبه‌رشد جهانی است که حدود ۱۵٪ از زوجها را درگیر کرده و در نیمی از این موارد، عوامل مردانه نقش اصلی را ایفا می‌کنند. شدیدترین شکل ناباروری مردان، بی‌نطفگی غیرانسدادی (NOA) است که در آن تولید اسپرم به شدت کاهش می‌یابد. بازیابی اسپرم از نمونه‌های بافت بیضه در این بیماران، فرآیندی زمان‌بر و وابسته به تجربه اپراتور است و حضور سلول‌های زمینه‌ای و بقایای بافتی، شناسایی اسپرم‌ها را دشوار می‌سازد. در این مطالعه، یک سامانه‌ی میکروسیالی دو مرحله‌ای غیرفعال طراحی و شبیه‌سازی شد که ترکیبی از یک مائول مارپیچ اینرسی و یک مائول DLD است. در مرحله نخست، مائول مارپیچ با بهره‌گیری از نیروهای اینرسی و گردابه دین، ذرات بزرگ‌تر را از جریان اصلی حذف کرده و از انسداد کانال در مرحله دوم جلوگیری می‌کند. در مرحله بعد، مائول DLD با تفکیک‌پذیری بالا، سلول‌های پس‌زمینه باقی‌مانده را حذف و جداسازی اسپرم را تکمیل می‌نماید. نتایج شبیه‌سازی نشان می‌دهند که ذراتی با قطر کمتر از ۴/۷ میکرومتر، که به‌عنوان نماینده‌ای از اسپرم‌ها و گلبول‌های قرمز باقی‌مانده در نظر گرفته شده‌اند، به‌طور مؤثر از سلول‌های بزرگ‌تر زمینه جدا می‌شوند و بدین ترتیب از انسداد کانال‌های میکروسیال در مرحله بعدی جلوگیری می‌گردد. با توجه به توانایی بالای سامانه DLD در جداسازی سلول‌ها با تفکیک‌پذیری بالا، این سامانه قادر است سلول‌های اسپرم را با راندمان بالای ۹۵٪ از گلبول‌های قرمز باقی‌مانده تفکیک کند.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله

مقاله پژوهشی

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۲

بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۳۱

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶

ارائه آنلاین: ۱۴۰۴/۰۸/۰۲

کلیدواژه‌ها: بی‌نطفگی، ناباروری، اسپرم، میکروسیال، جداسازی

نحوه ارجاع به این مقاله

ملکی محمدرضا، مصدق پیمان، نصرتی رضا و پیشه‌ور احمد رضا، طراحی یک سامانه میکروسیالی دو مرحله‌ای برای جداسازی اسپرم در بیماران مبتلا به بی‌نطفگی، جهت به‌کارگیری در لقاح آزمایشگاهی، مهندسی مکانیک مدرس. ۵۱۴-۵۰۵-۲۵(۰۸):۱۴۰۴.

* پست الکترونیکی نویسنده عهده‌دار مکاتبات: mosadegh@iut.ac.ir

* شناسه ارکید نویسنده عهده‌دار مکاتبات: ۸۸۶۴-۳۲۲۰-۰۰۰۰-۰۰۰۰



۱- مقدمه

ناباروری یکی از اختلالات سیستم تولید مثل در زنان و مردان است که به‌عنوان ناتوانی در بارداری پس از یک سال رابطه جنسی منظم بدون استفاده از روش‌های پیشگیری تعریف می‌شود. روند رو به افزایش ناباروری در سطح جهان، لزوم توجه فوری به این مسئله را بیش از پیش آشکار کرده و چالش‌های مهمی در زمینه هزینه‌های تشخیص و درمان و میزان دسترسی به این خدمات را نمایان می‌کند. وخامت وضعیت باروری مستلزم اقدام فوری از سوی جامعه علمی، صنایع مرتبط و سیاست‌گذاران در سطح جهانی است. بر اساس آمار، از هر شش زوج، یک زوج در سراسر دنیا با مشکل ناباروری مواجه است [1]. این بحران بهداشتی در حال گسترش، پیامدهای گسترده‌ای در ابعاد اجتماعی و اقتصادی دارد. تحقیقات نشان می‌دهند که کیفیت مایع منی و غلظت اسپرم طی چهار دهه اخیر به‌شدت کاهش یافته است؛ به‌طوری‌که از ۱۰۱/۲ میلیون اسپرم در هر میلی‌لیتر منی در سال ۱۹۷۳، به حدود ۴۹ میلیون در هر میلی‌لیتر در سال ۲۰۱۸ رسیده است [2]. این کاهش قابل‌توجه به عوامل مختلفی از جمله تغییر سبک زندگی، چاقی، مصرف دخانیات، مواجهه با آلاینده‌های زیست‌محیطی، عفونت‌های مقاربتی و برخی بیماری‌ها مانند سرطان نسبت داده می‌شود. علاوه بر این، نرخ کلی باروری در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته، از جمله ایالات متحده، کانادا و کشورهای عضو اتحادیه اروپا، بسیار کمتر از سطح مورد نیاز برای حفظ ثبات جمعیت است [3]. با وجود افزایش میزان ناباروری و پیشرفت‌های علمی در درک علل آن، توسعه روش‌های تشخیصی و درمانی ناباروری مردان همچنان با محدودیت‌هایی روبه‌رو است و فناوری‌های نوین به‌کندی از مراحل تحقیقاتی به حوزه درمان بالینی راه پیدا می‌کنند.

کاهش تعداد اسپرم معمولاً به دلیل نارسایی بیضه رخ می‌دهد. بی‌نطفگی، که بین ۱۰% تا ۲۰% از مردان نابارور و حدود ۱% درصد از جمعیت کلی مردان را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شدیدترین شکل ناباروری مردانه محسوب می‌شود. این وضعیت به‌صورت عدم وجود اسپرم در مایع منی سانتریفیوژ شده، در دست‌کم دو آزمایش مجزا، تعریف می‌شود. در برخی موارد، درمان‌های هورمونی می‌توانند به بهبود این اختلال کمک کنند، اما در بسیاری از بیماران، نیاز به جراحی و استخراج بافت بیضه برای به‌دست آوردن اسپرم زنده به‌منظور استفاده در روش‌های کمک‌باروری وجود دارد. بی‌نطفگی به دو دسته انسدادی و غیرانسدادی تقسیم می‌شود که نوع غیرانسدادی ۶۰% درصد از موارد را شامل می‌شود [4]. در بی‌نطفگی انسدادی، اسپرم در لوله‌های منی‌ساز تولید می‌شود، اما به دلیل وجود انسداد در مجاری تناسلی، در مایع منی مشاهده نمی‌شود. در مقابل، در بی‌نطفگی غیرانسدادی، تولید اسپرم مختل شده و میزان آن به‌شدت کاهش می‌یابد. درمان بی‌نطفگی انسدادی معمولاً از طریق جراحی برای باز کردن مسیرهای مسدودشده انجام می‌شود، اما مدیریت بی‌نطفگی غیرانسدادی چالش‌برانگیزتر است. در چنین مواردی، روش‌های درمانی شامل استخراج اسپرم زنده از بیضه یا اپیدیدیم و تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسمی است. دو روش جراحی متداول در این زمینه شامل میکرودیسیکشن برای استخراج اسپرم از بیضه و آسپیراسیون اسپرم بیضه هستند [5].

روش میکرودیسیکشن برای استخراج اسپرم از بیضه به‌عنوان یک روش مؤثر برای درمان بی‌نطفگی غیرانسدادی شناخته می‌شود. در این تکنیک، ابتدا برشی دقیق روی کیسه بیضه ایجاد می‌شود تا به بیضه دسترسی پیدا شود. سپس با استفاده از یک برش میکروسکوپی، لوله‌های اسپرم‌ساز بیضه بررسی می‌شوند. پس از شناسایی لوله‌ای که احتمال وجود اسپرم در آن بیشتر است، آن را به دقت از بافت بیضه جدا کرده و تحت میکروسکوپ قرار می‌دهند. اگر تأیید شود که لوله استخراج‌شده حاوی اسپرم است، بیضه مجدداً بخیه زده می‌شود. فرآیند پردازش نمونه استخراج‌شده، به‌دلیل پیچیدگی‌های فنی و نیاز به تجهیزات تخصصی، زمان‌بر و حساس است. این مرحله به شدت تحت تأثیر خستگی و خطای انسانی قرار دارد و از این رو، دقت و تجربه تیم پزشکی تأثیر زیادی در موفقیت روش دارد [3]. بافت به‌دست‌آمده از بیضه معمولاً علاوه بر اسپرم، حاوی گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و بقایای سلولی است. برای شناسایی دقیق‌تر اسپرم‌ها، این بافت به دقت خرد شده و در محیطی مخصوص که به‌طور ویژه برای حفظ و مشاهده اسپرم طراحی شده است، معلق می‌شود. در این مرحله، اسپرم‌های سالم و با مورفولوژی طبیعی به‌طور دستی جداسازی شده و برای انجام تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسمی آماده می‌شوند. این فرآیند که نیازمند دقت و مهارت بالای فرد متخصص است، معمولاً بین ۲ تا ۴ ساعت زمان می‌برد؛ اما در شرایطی که میزان اسپرم کمتر و یا نمونه دچار آلودگی باشد، ممکن است تا ۱۴ ساعت نیز به‌طول انجامد [6].

فرآیند بررسی و جداسازی اسپرم، طولانی، خسته‌کننده و به‌شدت وابسته به مهارت و تجربه فرد متخصص است. به همین دلیل، اسپرم‌های زنده ممکن است به‌دلیل عواملی مانند بی‌تجربگی، خستگی یا تراکم بالای سلول‌های اسپرم از دست بروند، که این امر باعث افزایش احتمال خطای انسانی در فرآیند می‌شود. این موضوع به‌ویژه برای بیماران مبتلا به بی‌نطفگی غیرانسدادی که تنها تعداد بسیار محدودی اسپرم در نمونه خود دارند، حائز اهمیت است. در صورتی که اسپرم‌ها به‌دلیل خطای انسانی شناسایی نشوند، ممکن است به‌اشتباه به‌عنوان ناباروری مطلق تشخیص داده شود. علاوه بر این، قرار گرفتن طولانی‌مدت اسپرم در معرض پرتوهای میکروسکوپ طی فرآیند بررسی، می‌تواند بر زنده‌مانی سلول‌ها تأثیر منفی گذاشته و در نهایت شانس موفقیت لقاح را کاهش دهد [6]. بنابراین، نیاز به یک روش کارآمدتر با توان عملیاتی بالاتر که بتواند اسپرم‌ها را از محیط ناهمگن سلولی جدا کند، بیش از پیش احساس می‌شود. به‌منظور رفع محدودیت‌های فنی روش‌های متداول جداسازی اسپرم، فناوری‌های میکروسیالی توسعه یافته‌اند. این فناوری‌ها که پیش‌تر در جداسازی ریزذرات، از جمله سلول‌های توموری در گردش خون یا ادرار، موفق عمل کرده‌اند، طی دو دهه اخیر فرصت‌های نویدبخشی را در درمان ناباروری به نمایش گذاشته‌اند. فناوری‌های میکروسیالی قادرند سرزندگی، تحرک، مورفولوژی و یکپارچگی DNA اسپرم را حفظ

کنند و زمان جداسازی اسپرم را از چندین ساعت به چند دقیقه کاهش دهند [7].

میکروسیال‌ها قابلیت مرتب‌سازی و جداسازی ذرات معلق درون سیالات را در مقیاس‌های زیرمیلی‌متری دارند و می‌توانند فرآیندهای پزشکی و زیستی را تسهیل کنند [8]. در دو دهه اخیر، فناوری‌های میکروسیالی به یکی از کارآمدترین روش‌های جداسازی ذرات زیستی تبدیل شدند و فرصت‌های نویدبخشی را در زمینه درمان ناباروری فراهم کرده‌اند [10]. جداسازی سلول‌های اسپرم از سایر سلول‌های پس‌زمینه، مرحله‌ای کلیدی در تمامی فناوری‌های کمک‌باروری محسوب می‌شود. روش‌های سنتی استخراج اسپرم از بافت بیضه معمولاً فرآیندی زمان‌بر است که ممکن است چندین ساعت طول بکشد. جداسازی دستی اسپرم از سلول‌ها و بقایای محیطی، عملیاتی دشوار، خسته‌کننده و وقت‌گیر است که می‌تواند با کمک فناوری‌های میکروسیالی بهینه‌سازی شود. استفاده از میکروسیال‌ها روشی مؤثر برای انتخاب اسپرم‌های باکیفیت بر اساس تحرک آن‌ها محسوب می‌شود. با این حال، روش‌های میکروسیالی مبتنی بر تحرک، قادر به جداسازی اسپرم‌های زنده اما غیرمتحرک استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم نیستند. از این رو، توسعه فناوری‌های میکروسیالی برای جداسازی سلول‌های اسپرم غیرمتحرک، یک رویکرد کارآمد در درمان بی‌نطفگی انسدادی و غیرانسدادی در مردان محسوب می‌شود [11].

ادغام میکروسیال‌ها یکی از روش‌های بهره‌گیری از ویژگی‌های متنوع آن‌ها به منظور دستیابی به عملکرد بهتر میکروسیال است. یکی از پرکاربردترین میکروسیال‌ها در زمینه جداسازی اسپرم ترکیب استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم، میکروسیال‌های اینرسی مارپیچ است. کارهای مختلفی در زمینه ادغام میکروسیال‌های اینرسی مارپیچ با انواع دیگر انجام شده است. ورکیانی و همکاران در پژوهشی به منظور جداسازی سلول‌های تخمدان همستر چینی و مخرم که دو نوع سلول اصلی مورد استفاده برای بیوراکتورهای مقیاس بزرگ هستند، تعداد زیادی میکروسیال اینرسی مارپیچی را به صورت موازی با یکدیگر ادغام کردند [13]. ژیانگ و همکاران یک میکروسیال اینرسی مارپیچ را با یک میکروسیال DLD به منظور جداسازی دقیق و پیوسته سلول‌ها بایکدیگر ادغام کردند [14]. چئون و همکاران دو میکروسیال اینرسی مارپیچ با مقاطع مستطیل و دوزنقه را به منظور جداسازی سلول‌های اسپرم از نمونه منی خام ارائه کردند [15]. نی و همکاران یک میکروسیال مغناطیسی اینرسی برای جداسازی سریع و با خلوص بالا سلول‌های تومور بدخیم ارائه کردند [16]. نوری و همکاران میکروسیال‌های اینرسی مارپیچ با مقاطع مستطیل و U شکل را به منظور جداسازی سلول‌های تومور در گردش با یکدیگر ادغام کردند [17].

سوسپانسیون استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم معمولاً حاوی قطعات بافتی با اندازه‌های متغیر، از ده‌ها تا صدها میکرومتر، است که می‌توانند منجر به انسداد در کانال‌های میکروفلوئیدیک شوند. مطالعات پیشین در زمینه جداسازی اسپرم از این نوع سوسپانسیون‌ها عمدتاً بر روی سیستم‌های میکروسیالی متمرکز بوده‌اند که تنها قادر به تفکیک سلول‌های اسپرم از سوسپانسیون‌های ساختگی بدون قطعات

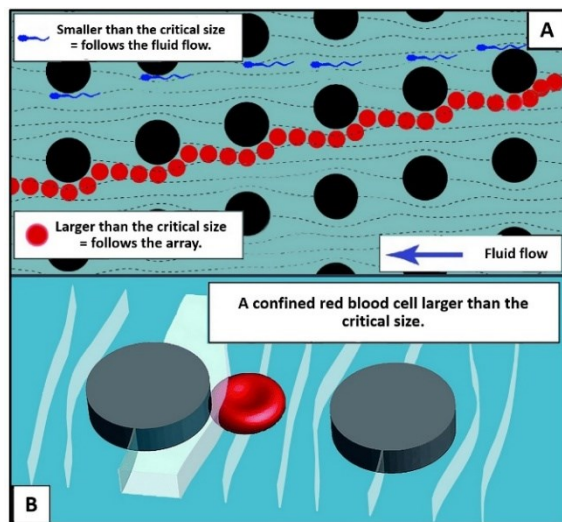
بافتی (شامل اسپرم، گلبول‌های قرمز و سفید) هستند، بدون در نظر گرفتن حضور قطعات بافتی بزرگ‌تر [18]. بنابراین، این سامانه‌ها در عمل برای جداسازی مؤثر اسپرم از سوسپانسیون‌های واقعی استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم قابل استفاده نیستند. هدف این پژوهش، ارائه یک سیستم میکروسیالی دو مرحله‌ای ادغام‌شده و غیر فعال است که قادر باشد به صورت مرحله‌ای اسپرم را از ترکیبات سلولی ناهمگن بازیابی کند، بدون اینکه دچار گرفتگی شود. این سیستم با هدف بهبود درمان بی‌نطفگی در آقایان و افزایش شانس موفقیت فرآیند لقاح آزمایشگاهی طراحی شده است. برای این منظور، یک سیستم میکروسیالی دو مرحله‌ای، شامل میکروسیال اینرسی مارپیچ و میکروسیال DLD طراحی شده است. میکروسیال اینرسی مارپیچ با عملکرد بالا به عنوان جداکننده مرحله اول عمل می‌کند و برای حذف اکثریت سلول‌های پس‌زمینه و قطعات بافتی، و کاهش خطر گرفتگی در مراحل بعدی استفاده می‌شود. این میکروسیال با سطح مقطع بزرگتر کانال، اکثر سلول‌های پس‌زمینه و قطعات بافتی را جدا می‌کند. نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهند که میکروسیال‌های اینرسی مارپیچ قادرند با بهره‌وری بین ۸۵٪ تا ۹۵٪، جداسازی مؤثری از سلول‌های اسپرم را از ترکیبات سلولی ناهمگن انجام دهند [18]. این سامانه‌ها در حذف مؤثر اغلب سلول‌های پس‌زمینه عملکرد موفقی دارند، هرچند در برخی موارد، مقادیر اندکی از گلبول‌های قرمز در نمونه نهایی باقی می‌مانند. میکروسیال DLD به عنوان جداکننده مرحله دوم، سلول‌های پس‌زمینه باقی‌مانده را حذف کرده و امکان جداسازی سلول‌های هدف با خلوص بالا را فراهم می‌آورد. ویژگی شاخص میکروسیال DLD قابلیت تفکیک بالا و دقیق است. مطابق گزارش‌های پیشین، سامانه‌های میکروسیالی DLD قادرند سلول‌های غیرکروی مانند باکتری‌ها، انگل‌ها و گلبول‌های قرمز خون RBC را با دقت بالا و حتی با راندمان نزدیک به ۱۰۰٪ از ترکیب‌های سلولی پیچیده جدا کنند [29]. بر این اساس، انتظار می‌رود سامانه میکروسیالی طراحی‌شده در این پژوهش بتواند سلول‌های اسپرم را با بازدهی بالا و جداسازی کامل از سایر اجزای سلولی، به طور مؤثر انجام دهد؛ که نتایج حاصل از شبیه‌سازی ردیابی ذرات نیز این موضوع را تأیید می‌کند. این سیستم به هیچ‌گونه برچسب‌گذاری سلول‌ها یا محرک خارجی نیاز ندارد و قادر است سلول‌ها را از یک جمعیت سلولی با تنوع بالا یا سلول‌هایی با ویژگی‌های مشابه و بقایای سلولی به طور مؤثر جدا کند. علاوه بر این، این روش از گرفتگی میکروسیال در مرحله بعدی جلوگیری کرده و امکان دستیابی به غلظت‌های بالا در فرآیند جداسازی را فراهم می‌آورد. از ویژگی‌های برجسته این میکروسیال می‌توان به کم‌هزینه بودن، عملکرد مؤثر در جداسازی سلول‌های غیرکروی، انتخاب اسپرم با یکپارچگی DNA بالا، مورفولوژی طبیعی سر و قابلیت تفکیک و کارایی بالا اشاره کرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- طراحی تراشه میکروفلوئیدیک

یک سیستم میکروسیالی دو مرحله‌ای، شامل میکروسیال اینرسی مارپیچ و میکروسیال DLD بوده که طراحی آن‌ها بر اساس قوانین مکانیک سیالات در میکروکانال‌ها انجام می‌گردد. میکروسیال اینرسی

می‌شوند. فرآیند جداسازی در دو مرحله انجام می‌شود. در مرحله نخست، میکروسیال اینرسی ماریپیچ وظیفه جداسازی سلول‌های اسپرم، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید را بر عهده دارد. در این فرآیند، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید به سمت خروجی زیاله هدایت می‌شوند (شکل ۴)، درحالی‌که سلول‌های اسپرم و مقدار اندکی از گلبول‌های قرمز باقی‌مانده از طریق خروجی پایینی کانال انبساط خارج شده و وارد مرحله دوم، یعنی کانال DLD می‌شوند. در این مرحله، با توجه به عمق کمتر میکروسیال (حدود ۳/۵ میکرومتر)، سلول‌های گلبول قرمز به دلیل ویژگی دیسکی‌شکل خود در کف کانال قرار گرفته و تحت تأثیر نیروهای هیدرودینامیکی قرار می‌گیرند. این ساختار باعث می‌شود که گلبول‌های قرمز به دلیل قطر بزرگ‌تر خود، در کانال DLD به‌صورت مورب حرکت کرده و از سلول‌های اسپرم جدا شوند (شکل ۲- الف). در نتیجه، تنها سلول‌های اسپرم در خروجی هدف میکروسیال باقی می‌مانند.



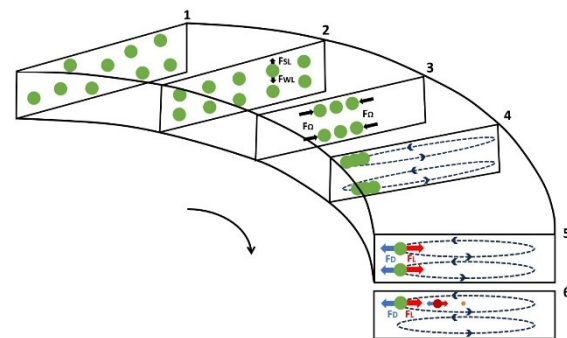
شکل ۲ عملکرد میکروسیال DLD در جداسازی سلولی. الف) سلول‌های با قطر بیشتر از قطر بحرانی، در راستای مورب حرکت کرده و مسیر آرایه را دنبال می‌کنند، درحالی‌که سلول‌های کوچک‌تر از قطر بحرانی از این مسیر منحرف و جدا می‌شوند. ب) یک گلبول قرمز محدودشده با قطر بزرگ‌تر از قطر بحرانی.

Fig. 2 Performance of the DLD microfluidic device in cell separation. A) Cells with a diameter larger than the critical diameter migrate diagonally and follow the array path, whereas cells smaller than the critical diameter deviate from this path and are separated. B) A confined red blood cell with a diameter larger than the critical diameter.

کانال‌های خروجی به‌گونه‌ای طراحی شدند که در انتهای دستگاه میکروفلوئیدیک مقاومت هیدرولیک یکسانی ایجاد کنند. این طراحی جابجایی مؤثر ذرات به خروجی‌های مشخص‌شده را تضمین می‌کند. دقیق‌ترین معادله تحلیلی برای مقاومت هیدرولیک یک کانال با مقطع مستطیلی ($w > h$) توسط یک سری فوریه (معادله شماره ۲) نمایان می‌شود [37].

دیویس و همکارانش مقاومت آرایه دایره‌ای DLD را از طریق شبیه‌سازی جریان در کامسول مولتی‌فیزیکس تعیین کردند و متوجه شدند که مقاومت آرایه پست‌های دایره‌ای را می‌توان با استفاده از معادله ۳ محاسبه کرد [38].

ماریپیچ فرآیند جداسازی سلول‌های اسپرم، گلبول قرمز و گلبول سفید را انجام می‌دهد. شکل ۱، فرآیند مرتب کردن سلول‌ها را بر اساس اندازه توسط میکروسیال اینرسی ماریپیچ را نشان می‌دهد. ابتدا، ذرات پراکنده (۱) توسط نیروی برا ناشی از برش (FS) به دو طرف بالا و پایین کانال منتقل می‌شوند. زمانی که ذرات به فاصله حدود ۲۰٪ از ارتفاع میکروکانال تا دیواره بالا و پایین می‌رسند، در معرض نیروی برا ناشی از دیوار (FW) قرار می‌گیرند که باعث می‌شود در دو نوار مجزا مرتب شوند (۲). در نتیجه نیروی برا ناشی از چرخش (FΩ)، ذرات اکنون به صورت جانبی به سمت وسط دیواره میکروکانال حرکت می‌کنند (۳). هر جریان گردابی، دارای یک نقطه تمرکز در نزدیکی دیواره داخلی کانال، به دلیل تعادل بین نیروی برا خالص (FL) و نیروی پسا دین (FD) است (۵). به دلیل نیروی برا بزرگ‌تر، ذرات بزرگ‌تر بیشتر به دیواره داخلی کانال متمرکز می‌شوند. در حالی که کوچک‌ترین ذرات، به دیواره بیرونی کانال متمرکز می‌شوند. زیرا موقعیت تعادل ذرات در سیال کاملاً به اندازه آنها بستگی دارد [28].



شکل ۱ جابجایی ذرات در کانال ماریپیچی.

Fig. 1 Particle migration in a spiral channel.

متمرکزسازی جریان در کانال‌های ماریپیچی نیاز به تعادل بین نیروهای برا اینرسی (FL) دارد که ذرات را از دیوار دور می‌کند، و نیروی پسا دین (FD) که ناشی از جریان گردابی ثانویه جانبی در طول کانال ماریپیچی است. حداقل طول کانال ماریپیچ (Lf) لازم برای اینکه ذره در کانال متمرکز شود، با استفاده از معادله ۱ به‌دست آمد [18].

میکروسیال DLD فرآیند جداسازی سلول‌های گلبول قرمز باقی‌مانده از اسپرم را انجام می‌دهد. شکل ۲ عملکرد این میکروسیال را نشان می‌دهد. ذرات با اندازه‌های مختلف دارای مسیر و زوایای حرکت متفاوتی هستند. پارامتر قطر بحرانی (DC)، تغییر بین حالت زیگزاگ و جابجایی را براساس قطر ذره و در نتیجه مسیر حرکت ذرات را بیان می‌کند. با توجه به شکل ۲، سلول‌های با قطر کوچک‌تر از قطر بحرانی مانند اسپرم مسیر مستقیم و سلول‌های با قطر بزرگ‌تر از قطر بحرانی مانند گلبول قرمز محدود شده مسیر مورب را طی می‌کنند. از جمله ویژگی‌های شاخص این نوع میکروسیال، تفکیک‌پذیری بالا در جداسازی است که می‌توان به‌واسطه آن سلول‌های هدف را با غلظت بالا جداسازی کرد.

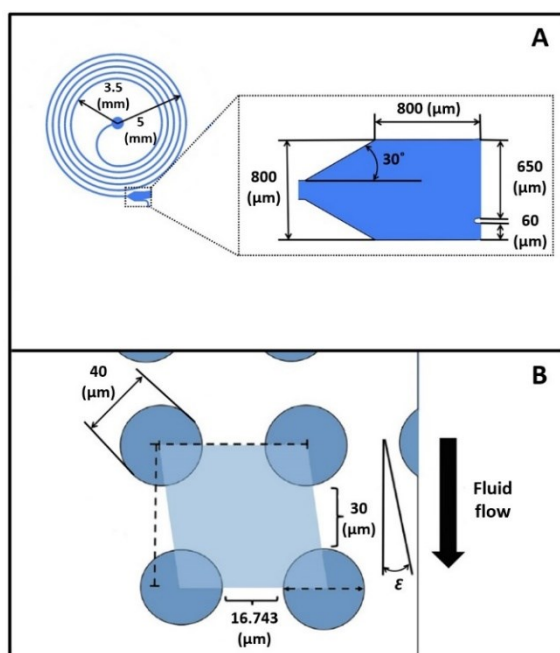
شکل ۳ طراحی میکروسیال پیشنهادی را نمایش می‌دهد، درحالی‌که شکل ۴ نمایانگر عملکرد آن است. در این سیستم، ابتدا سلول‌های اسپرم، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید به داخل میکروسیال تزریق

تنظیم شدند تا مقاومت هیدرولیک یکسانی را ایجاد کنند تا از ایجاد جریان های همگرا یا واگرا و همچنین، حرکت جانبی سلول ها جلوگیری می کند.

جدول ۱ مشخصات میکروسیال طراحی شده.

Table 1 Specifications of the designed microfluidic device.

Spiral channel specifications				
Cross-section			Rectangular	
Initial radius (mm)			3.5	
Final radius (mm)			5	
Channel width (μm)			150	
Channel height (μm)			50	
Number of turns			5	
Reynolds number			95	
Flow rate (mL/min)			0.975	
Minimum length (mm)			116	
Expansion channel				
Length (μm)	Width (μm)	Expansion angle (α _e)		Height (μm)
800	800	30°		50
DLD کانال				
Height (μm)	Post diameter (μm)	Gap (μm)	ε	Critical diameter (μm)
3.5	40	16.743	1/25	5
Outlet channels				
Channel number	Length (μm)	Width (μm)	Height (μm)	Hydraulic resistance (Pa·s/m ³)
1	6067	1569.75	3.5	1.08E+15
2	3750	650	3.5	1.08E+15
3	1425227	60	50	1.08E+15

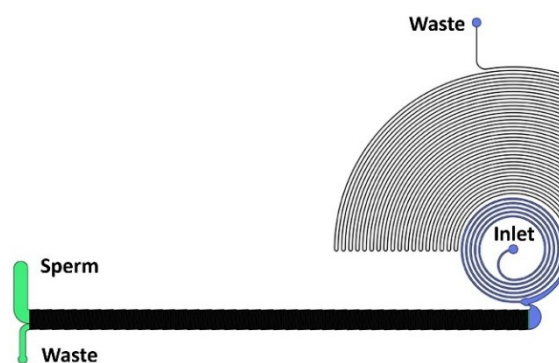


شکل ۵ قسمت های مختلف میکروسیال طراحی شده. الف) کانال مارپیچ و انبساط ب) کانال DLD.

Fig. 5 Different parts of the designed microfluidic device. A) Spiral and expansion channel, B) DLD channel.

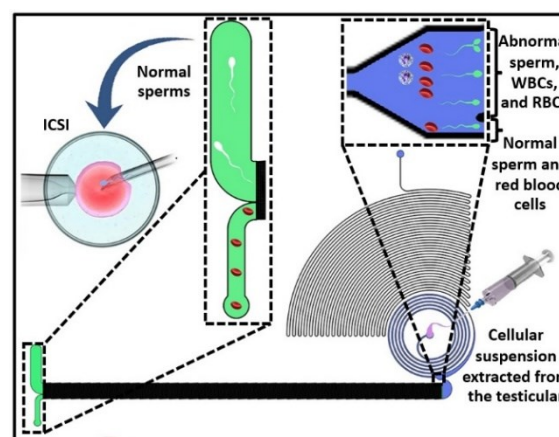
۲-۲- نرم افزار شبیه سازی

فرآیند شبیه سازی و آنالیز این میکروسیال در نرم افزار کامسول مولتی فیزیکس نسخه ۶/۱ انجام شد. شکل ۶، تصویر میکروسیال شبیه سازی و مش زده شده را نشان می دهد. برای این میکروسیال به منظور کاهش حجم محاسبات، حفظ نسبت انحنا و در نتیجه افزایش



شکل ۳ نمایی از میکروسیال طراحی شده. نواحی آبی رنگ نشان دهنده بخش هایی با عمق ۵۰ میکرومتر هستند، در حالی که نواحی سبز رنگ بیانگر بخش هایی با عمق ۳/۵ میکرومتر می باشند.

Fig. 3 View of the designed microfluidic device. The blue regions represent sections with a depth of 50 μm , while the green regions indicate sections with a depth of 3.5 μm .



شکل ۴ نمایی از فرآیند استخراج ترکیب سلولی از بافت بیضه، تزریق آن به داخل میکروسیال طراحی شده، عملکرد این سیستم در جداسازی سلول های اسپرم و در نهایت، تزریق اسپرم به داخل سیتوپلاسم تخمک.

Fig. 4 Schematic view of the process of extracting the cell suspension from testicular tissue, injecting it into the designed microfluidic device, the operation of this system in separating sperm cells, and finally, the injection of sperm into the oocyte cytoplasm.

جدول ۱ مشخصات میکروسیال طراحی شده شامل کانال مارپیچ، انبساط، DLD و کانال های خروجی را نشان می دهد. همچنین، شکل ۵ قسمت های مختلف میکروسیال طراحی شده را روی شکل نشان می دهد. با استفاده از معادله ۱ حداقل طول کانال مارپیچ برای حالت رینولدز ۹۵ و با توجه به اندازه سلول اسپرم بدست آمد. در انتها کانال مارپیچ یک کانال انبساط با زاویه انبساط ۳۰ درجه در نظر گرفته شد که باعث افزایش فاصله بین خطوط سلول های مرتب شده و در نهایت افزایش دقت جداسازی می شود. طول و عرض این کانال با توجه به نتایج شبیه سازی ردیابی ذرات ۸۰۰ در ۸۰۰ میکرومتر در نظر گرفته شد. برای کانال DLD کسر تغییر ردیف ۱/۲۰ و قطر ستون ۴۰ میکرومتر در نظر گرفته شد و با استفاده از معادله ۴ گپ ۱۶/۷۴۳ میکرومتر بدست آمد [۴۰]. عمق این کانال ۳/۵ میکرومتر در نظر گرفته شد. سلول های گلبول قرمز به دلیل ویژگی دیسکی شکل خود در کف کانال قرار می گیرند و از قطر بزرگتر جدا می شوند. در نهایت طول کانال های خروجی طوری

$$L_f = \frac{U_F}{U_L} L_M \quad (۱)$$

$$U_L = 0.5 \frac{\rho U_m^2 a_p^3}{3\pi\mu D_h^2} \quad (۱-الف)$$

$$L_m = W + H + \frac{3}{4}W \quad (۱-ب)$$

$$R_h = \frac{12\eta L}{Wh^3} \left[1 - \frac{192h}{\pi^5 W} \sum_{i, odd}^{\infty} \frac{\tanh(\frac{i\pi W}{2h})}{i^5} \right]^{-1} \quad (۲)$$

$$R_{Circle Array} = 4.6 \left(\frac{\mu L}{WG^2 E} \right) \quad (۳)$$

$$D_C = 1.4G\varepsilon^{0.48} \quad (۴)$$

$$\rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + v \cdot \nabla v \right) = -\nabla p + v \nabla^2 \mu + F_{body} + F_{surface} \quad (۵)$$

$$\nabla \cdot v = 0 \quad (۶)$$

$$F_{D surface} = \frac{1}{\tau_p} m_p M(u - v) \quad (۷)$$

$$\tau_p = \frac{\rho_p d_p^2}{18\mu} \quad (۷-الف)$$

$$M = \frac{1}{1 - \frac{9}{16}\alpha + \frac{1}{8}\alpha^3 - \frac{45}{256}\alpha^4 - \frac{1}{16}\alpha^5} (1 - p(n)) + \frac{1}{1 - \frac{9}{8}\alpha + \frac{1}{2}\alpha^3} P(n) \quad (۷-ب)$$

$$\alpha = \frac{r_p}{L} \quad (۷-ج)$$

$$F_{L surface} = \rho \frac{r_p^4}{D^2} \beta (\beta G_1(s) + \gamma G_2(s)) n \quad (۸)$$

$$\beta = |D(n, \nabla) u_{||}| \quad (۸-الف)$$

$$\gamma = \left| \frac{D^2}{2} (n, \nabla)^2 u_{||} \right| \quad (۸-ب)$$

$$u_{||} = (I - n \otimes n) u \quad (۸-ج)$$

جدول ۲، مقادیر مورد استفاده در معادلات ۱ تا ۸ را نشان می‌دهد.

جدول ۲ مقادیر مورد استفاده در معادلات ۱ تا ۸

Table 2 Values used in Equations 1 to 8.

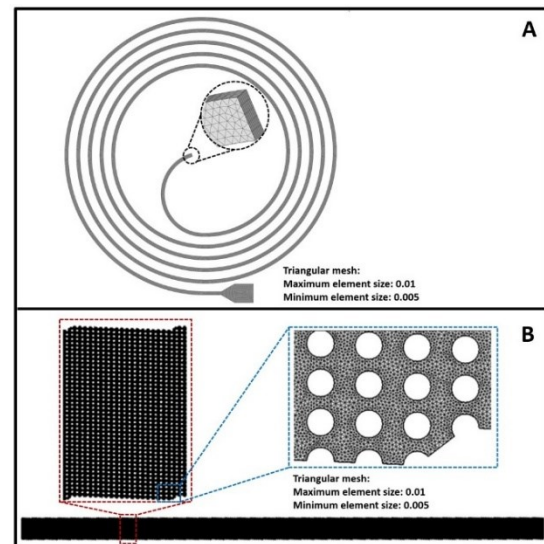
Channel height	h	Flow velocity	U_F
Fluid viscosity	η	Lateral particle velocity	U_L
Channel length	L	Displacement length	L_M
Dynamic viscosity	μ	Fluid density	ρ
Depth	E	Maximum fluid velocity	U_m
Gap	G	Particle diameter	a_p
Post diameter	D_c	Dynamic viscosity	μ
Row shift fraction	ε	Hydraulic diameter	D_h
Velocity	u, v	Channel width	W
Stokes drag force	F_D	Pressure	p
Particle mass	m_p	Particle velocity response time	τ_p
Velocity	u	Wall correction factor	M
Particle diameter	d_p	Particle density	ρ_p
Distance between channel walls	D	Particle radius	r_p
Normalized wall distance function	G_r	Normalized wall distance function	G_l
Identity matrix (dimensionless)	I	Normal vector of the wall at the closest point to the reference wall (dimensionless)	n
Particle velocity	u_p	Fluid velocity	u

۳- نتایج

۳-۱- فشار سیستم

شکل ۷ فشار ایجاد شده داخل کانال ماریپیج و DLD را نشان می‌دهد. بیشترین فشار ایجاد شده داخل کانال ماریپیج حدود ۱/۲ بار و داخل کانال DLD حدود ۴ بار است که به راحتی توسط پمپ‌های سرنگ موجود در بازار تامین می‌شوند.

دقت از مش منشوری شکل استفاده شد. همانطور که در تصویر مشخص است، به‌منظور ساده‌سازی، میکروسیال اینرسی ماریپیج و میکروسیال DLD جداگانه شبیه‌سازی شدند. طرح دستگاه میکروفلوئیدی به کامسول مولتی‌فیزیکس نسخه ۶/۱ برای شبیه‌سازی وارد شد. در ابتدا، معادلات ناویر-استوکس (Navier Stokes) (معادله ۵) و بقای جرم (معادله ۶) با استفاده از مازول جریان آرام در حالت ایستا حل شدند که شرایط مرزی عدم لغزش در دیواره‌های کانال اعمال شد. بر خلاف فناوری‌های رایج میکروفلوئیدیک که در آن‌ها به دلیل عدد رینولدز بسیار پایین ($Re < 1$) اثرات اینرسی نادیده گرفته می‌شوند، در سامانه‌های میکروفلوئیدیک اینرسی، جریان در بازه‌ای از اعداد رینولدز متوسط ($1 < Re < 100$) قرار می‌گیرد. در این بازه، لختی و ویسکوزیته سیال هر دو نقش مهمی ایفا می‌کنند و منجر به بروز پدیده‌های دینامیکی قابل توجهی همچون مهاجرت ذرات ناشی از اثرات اینرسی و جریان‌های ثانویه می‌شوند [28]. در شبیه‌سازی‌های ما، عدد رینولدز تقریباً ۹۵ برای کانال ماریپیجی انتخاب شد تا حداکثر نرخ جریان در سراسر سیستم میکروفلوئیدیک حاصل شود. سپس، معادلات نیروی پسا استوکس (معادله ۷) و نیروی برا دیوار (معادله ۸) با استفاده از مازول ردیابی ذرات برای جریان سیال در حالت وابسته به زمان حل شدند. بر اساس نتایج مطالعه جریان آرام، رفتار ردیابی ذرات در دیواره‌ها مورد بررسی قرار گرفت. ذرات به اندازه‌های ۴، ۲/۵ و ۴/۷ میکرومتر به عنوان اسپرم‌های طبیعی تزریق شدند. همچنین، ذرات با اندازه‌های ۶، ۷ و ۸ میکرومتر به عنوان اسپرم‌های غیرطبیعی، گلبول قرمز و سفید تزریق شدند. خواص فیزیکی سلول‌ها در شبیه‌سازی تعریف شدند تا توانایی سیستم میکروفلوئیدی در جداسازی این اجزا تأیید شود.



شکل ۶ میکروسیال مش زده شده در نرم افزار کامسول. (الف) مش زده شده برای کانال ماریپیج. (ب) مش زده شده برای میکروسیال DLD.

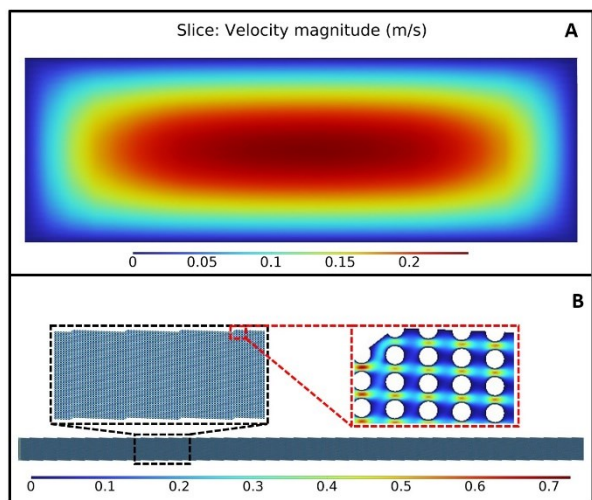
Fig. 6 Meshed microfluidic device in COMSOL software. A) Meshing of the spiral channel, B) Meshing of the DLD microfluidic device.

۳-۲- معادلات حاکم بر طراحی و شبیه‌سازی تراشه میکروفلوئیدیک

در این قسمت معادلات حاکم بر طراحی و شبیه‌سازی تراشه میکروفلوئیدیک آورده شدند.

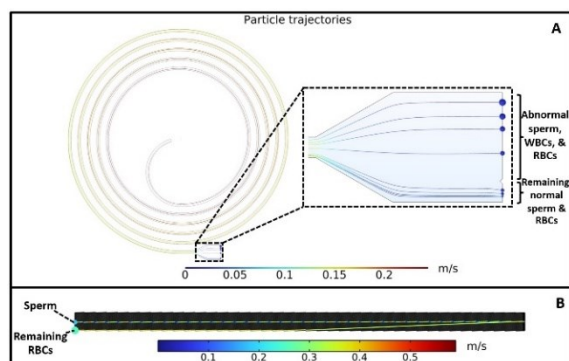
۳-۲- سرعت سیال

سیستم میکروفلوئیدیک پیشنهادی از سه بخش اصلی تشکیل شده است: کانال مارپیچی، کانال انبساطی، و کانال DLD. کانال مارپیچی با مقطع مستطیلی به تدریج سلول‌های اسپرم را از محلول سلولی جدا می‌کند. در کانال مارپیچی، گردابه‌های دین در قسمت‌های بالایی و پایینی مقطع ایجاد می‌شوند. شکل ۸-الف، این گردابه‌های دین را در نواحی بالایی و پایینی مقطع مارپیچی و همچنین میدان سرعت را نشان می‌دهد. در طول هندسه مقطع، گردابه‌های ثانویه دین به طور مداوم سلول‌ها را از یکدیگر جدا می‌کنند. به طوری که سلول‌های بزرگ‌تر (مانند گلبول‌های سفید) به سمت دیواره داخلی و سلول‌های کوچک‌تر (مانند اسپرم‌ها) به سمت دیواره خارجی هدایت می‌شوند. شبیه‌سازی‌ها با نرخ جریان ۰/۹۷۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و عدد رینولدز ۹۵ برای کانال مارپیچی انجام شد. همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده است، حداکثر سرعت سیال در هر مقطع از کانال مارپیچی به حدود ۰/۲۵ متر بر ثانیه و در میکروسیال DLD به حدود ۰/۷ متر بر ثانیه می‌رسد که باعث جداسازی سلول‌ها با سرعت بالا و توان عملیاتی بالا سیستم می‌شود. در حالی که بیشترین فشار، حدود ۱/۲ بار، در ورودی کانال مارپیچی و داخل کانال DLD حدود ۴ پاسکال است.



شکل ۸ تغییرات میدان سرعت سیال در میکروکانال‌های مارپیچ و DLD. (الف) تغییرات میدان سرعت سیال در مقطع کانال مارپیچ. فلش‌های با جهات متفاوت نشان‌دهنده دو جریان دین ایجاد شده با راستا متفاوت می‌باشند. (ب) تغییرات میدان سرعت سیال در کانال DLD.

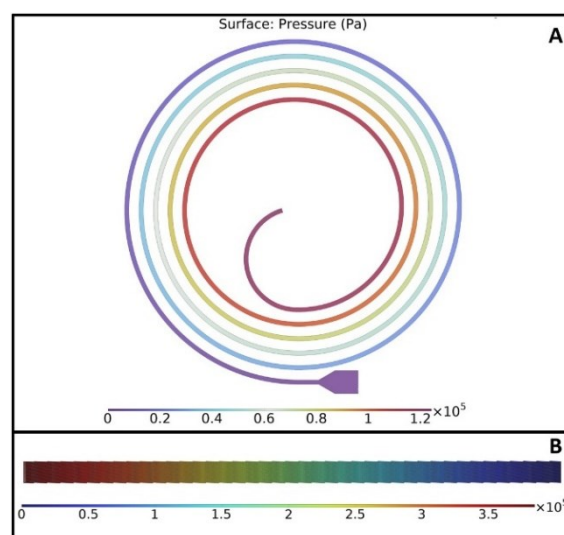
Fig. 8 Variations of the fluid velocity field in spiral and DLD microchannels. A) Variations of the fluid velocity field in a cross-section of the spiral channel. Arrows in different directions indicate two secondary flows generated with different orientations. B) Variations of the fluid velocity field in the DLD channel.



شکل ۹ مسیر حرکت سلول‌های اسپرم، گلبول قرمز و گلبول سفید داخل میکروکانال از ورودی تا خروجی.

Fig. 9 Trajectories of sperm cells, red blood cells, and white blood cells inside the microchannel from the inlet to the outlet.

کانال انبساطی می‌تواند این چالش را به طور مؤثر برطرف می‌کند. زیرا با ایجاد فاصله کافی بین مسیرهای حرکتی اسپرم و گلبول قرمز، امکان جداسازی کارآمدتر را فراهم می‌کند. کانال انبساطی سلول‌ها را به دو خروجی با مقاومت هیدرولیکی برابر هدایت می‌کند و از این طریق، انتقال سلول‌ها به خروجی‌های تعیین شده را بهینه می‌سازد. این طراحی مانع از حرکت جانبی سلول‌ها به سمت خروجی‌های ناخواسته شده و موقعیت نسبی آن‌ها را در حین انتقال حفظ می‌کند. شکل ۹، نتایج شبیه‌سازی ردیابی ذرات را برای کانال‌های مارپیچی-انبساطی و DLD نشان می‌دهد.



شکل ۷ توزیع فشار سیال در میکروسیال طراحی شده. (الف) توزیع فشار ایجاد شده توسط سیال در کانال مارپیچ. (ب) توزیع فشار ایجاد شده توسط سیال در کانال DLD.

Fig. 7 Fluid pressure distribution in the designed microfluidic device. A) Pressure distribution generated by the fluid in the spiral channel, B) Pressure distribution generated by the fluid in the DLD channel.

۳-۳- ردیابی ذرات در میکروسیال

شکل ۹ نتایج شبیه‌سازی ردیابی ذرات را در کانال مارپیچ و DLD نشان می‌دهد. شکل ۹-الف، نتایج شبیه‌سازی ردیابی ذرات را در کانال مارپیچ و DLD نشان می‌دهد. مایک کانال انبساطی را در انتهای بخش مارپیچی طراحی کردیم. این کانال باعث افزایش دقت جداسازی با افزایش فاصله بین مسیرهای حرکتی سلول‌ها می‌شود. یکی از چالش‌های کلیدی در غنی‌سازی اسپرم، جداسازی آن از گلبول‌های قرمز خون است. زیرا این دو دارای ابعادی نزدیک به هم هستند. یک گلبول قرمز طبیعی انسان دارای شکل دیسکی و ابعاد ۸/۷-۷/۵

نتایج شبیه‌سازی ردیابی ذرات صحت عملکرد و کارآمدی طراحی پیشنهادی را به‌خوبی تأیید می‌کنند.

تأییدیه اخلاقی: محتویات علمی این مقاله حاصل پژوهش نویسندگان است و در هیچ نشریه ایرانی و غیرایرانی منتشر نشده است.

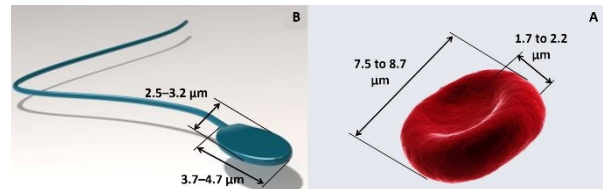
تعارض منافع: تعارض منافی برای اظهار وجود ندارد.

فهرست علائم

Pa	فشار (پاسکال)
m/s	سرعت (متر بر ثانیه)
mm	اندازه (میلی‌متر)
μm	اندازه (میکرومتر)

منابع

- [1] R. Nosrati et al., "Microfluidics for sperm analysis and selection," *Nat. Rev. Urol.*, vol. 14, no. 12, pp. 707–730, 2017. doi:10.1038/nrurol.2017.175
- [2] G. R. Dohle, "Male infertility in cancer patients: Review of the literature," *Int. J. Urol.*, vol. 17, no. 4, pp. 327–331, 2010. doi:10.1111/j.1442-2042.2010.02484.x
- [3] A. Agarwal, A. Mulgund, A. Hamada, and M. R. Chyatte, "A unique view on male infertility around the globe," *Reprod. Biol. Endocrinol.*, vol. 13, no. 37, pp. 1–9, 2015. doi:10.1186/s12958-015-0032-1
- [4] K. A. Frey, "Male reproductive health and infertility," *Prim. Care*, vol. 37, no. 3, pp. 643–652, 2010. doi:10.1016/j.pop.2010.04.005
- [5] M. Wosnitzer, M. Goldstein, and M. P. Hardy, "Review of Azoospermia," *Spermatogenesis*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, 2014. doi:10.4161/spmg.28218
- [6] G. Verheyen, B. P. Todorovic, and T. H. Tournaye, "Processing and selection of surgically-retrieved sperm for ICSI: a review," *Basic Clin. Androl.*, vol. 27, no. 6, pp. 745–752, 2017. doi:10.1186/s12610-017-0062-8
- [7] C. L. Mangum et al., "Towards a better testicular sperm extraction: novel sperm sorting technologies for non-motile sperm extracted by microdissection TESE," *Transl. Androl. Urol.*, vol. 9, no. 2, pp. 206–214, 2020. doi:10.21037/tau.2020.01.09
- [8] A. Barani, P. Mosaddegh, S. H. Javanmard, and S. Sepehrirahnama, "Designing and Manufacturing of a 2-Node Acoustofluidic Microchannel," *Modares Mech. Eng.*, vol. 21, no. 10, pp. 651–660, 2021.
- [9] S. Arbabi, M. Mafi, and M. Soltani, "Two-dimensional modeling of bio-particles separation by Inertia in micro-channel," *Modares Mech. Eng.*, vol. 18, no. 1, pp. 239–246, 2018.
- [10] G. Traini, M. E. Ragosta, L. Tamburrino, A. Papini, S. Cipriani, L. Vignozzi, E. Baldi, و S. Marchiani, "Microfluidic Sorting Can Be Applied for Assisted Reproduction Sperm Selection in Different Cases of Semen Abnormalities," *Life*, vol. 15, no. 5, 2025. doi:10.3390/life15050790
- [11] Y. Deruyver, D. Vanderschueren, and F. V. D. Aa, "Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: a systematic review," *Andrology*, vol. 2, no. 1, pp. 20–24, 2014. doi:10.1111/j.2047-2927.2013.00206.x
- [12] R. Samuel et al., "Microfluidics: The future of microdissection TESE?," *Syst. Biol. Reprod. Med.*, vol. 62, no. 3, pp. 161–170, 2016. doi:10.1080/19396368.2016.1140763



شکل ۱۰ ابعاد سلول‌های دیسکی شکل گلبول قرمز و اسپرم. الف) ابعاد گلبول قرمز. ب) ابعاد اسپرم [25].

Fig. 10 Dimensions of disc-shaped red blood cells and sperm cells. A) Dimensions of a red blood cell, B) Dimensions of a sperm cell [25].

همان‌طور که در شکل ۹-الف نشان داده شده است، ذرات با اندازه‌های مختلف به‌عنوان اسپرم گلبول قرمز و گلبول سفید در سیستم تزریق شدند. سلول‌های اسپرم گلبول قرمز باقی‌مانده در خروجی پایین قرار گرفتند. خروجی پایین ورودی کانال DLD است. این کانال سلول‌های گلبول قرمز باقی‌مانده را از اسپرم جدا می‌کند (شکل ۹-ب).

شبیه‌سازی‌های ردیابی ذرات در دو مرحله و برای دو نوع میکروسیال اینرسی ماریچ و DLD انجام شد. در مرحله اول خواص مکانیکی ذرات پلی‌استایرن و در مرحله دوم خواص مکانیکی سلول‌های زنده وارد شد. در هر دو حالت نتایج مشابهی مشاهده شد. برای میکروسیال اینرسی ماریچ، ذرات کوچک‌تر از $4/7$ میکرومتر که نشان‌دهنده اسپرم‌های طبیعی و اسپرم‌های غیرطبیعی کوچک بودند، به خروجی پایینی هدایت شدند. در مقابل، ذرات بزرگ‌تر از $4/7$ میکرومتر، که شامل اسپرم‌های غیرطبیعی بزرگ، گلبول‌های سفید و قرمز بودند، به خروجی بالایی هدایت شدند.

برای شبیه‌سازی ردیابی ذره در میکروسیال DLD، یک سلول اسپرم طبیعی و گلبول قرمز تزریق شدند که در نهایت گلبول قرمز از سلول اسپرم جداسازی شد و در خروجی زیاله پایین قرار گرفت.

۴- نتیجه‌گیری

مطالعات پیشین در زمینه جداسازی اسپرم از ترکیبات سلولی استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم عمدتاً بر جداسازی اسپرم از سوسپانسیون‌های ساختگی بدون حضور قطعات بافتی بزرگ (شامل اسپرم، گلبول‌های قرمز و سفید) متمرکز بوده‌اند [18]. این در حالی است که سوسپانسیون‌های واقعی استخراج‌شده از بیضه یا اپیدیدیم معمولاً حاوی قطعات بافتی با اندازه‌های متغیر هستند که می‌توانند منجر به انسداد کانال‌های میکروفلوئیدیک شوند. بنابراین، بسیاری از سامانه‌های موجود در عمل برای جداسازی مؤثر اسپرم از نمونه‌های واقعی مناسب نیستند.

در این پژوهش، سامانه میکروسیالی دو مرحله‌ای ارائه شده است که قادر به جداسازی مرحله‌ای اسپرم از ترکیبات سلولی ناهمگن با حداقل گرفتگی می‌باشد. در مرحله اول، اکثر سلول‌های پس‌زمینه و قطعات بافتی بزرگ‌تر توسط کانال ماریچی با سطح مقطع بزرگ حذف می‌شوند و تنها اسپرم‌ها و گلبول‌های قرمز باقی‌مانده به مرحله دوم منتقل می‌گردند. مرحله دوم که شامل کانال DLD است، به‌عنوان مرحله اصلی جداسازی، قادر است با راندمانی نزدیک به ۱۰۰٪ گلبول‌های قرمز باقی‌مانده را بدون ایجاد انسداد از نمونه حذف کند [29]. همچنین،

containing high concentrations of white blood cells using a spiral channel," *Biomicrofluidics*, vol. 11, no. 5, art. 054106, 2017. doi:[10.1063/1.4994548](https://doi.org/10.1063/1.4994548)

[27] M. Mou, Y. Guo, F. Luo, Y. Yu, and J. Zhang, "Model predictive complex system control from observational and interventional data," *Chaos*, vol. 34, no. 9, art. 093125, 2024. doi:[10.1063/5.0195208](https://doi.org/10.1063/5.0195208)

[28] S. Ramya, S. Praveen Kumar, G. Dinesh Ram, and D. Lingaraja, "A short review of spiral microfluidic devices with distinct cross-sectional geometries," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 26, art. 95, 2022. doi:[10.1007/s10404-022-02593-5](https://doi.org/10.1007/s10404-022-02593-5)

[29] J. P. Beech, B. D. Ho, G. Garriss, V. Oliveira, B. Henriques-Normark & J. O. Tegenfeldt, "Separation of pathogenic bacteria by chain length," *Anal. Chim. Acta*, vol. 1000, pp. 223–231, 2018. doi:[10.1016/j.aca.2017.11.050](https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.11.050)

[30] A. Sherbaz, B. M. K. Konak, P. Pezeshkpour, B. Di Ventura & B. E. Rapp, "Deterministic Lateral Displacement Microfluidic Chip for Minicell Purification," *Micromachines*, vol. 13, no. 3, 2022, Art. 365, doi:[10.3390/mi13030365](https://doi.org/10.3390/mi13030365)

[31] K. Matsuura & K. Takata, "Blood Cell Separation Using Polypropylene-Based Microfluidic Devices Based on Deterministic Lateral Displacement," *Micromachines*, vol. 14, no. 2, Art. 238, 2023. doi:[10.3390/mi14020238](https://doi.org/10.3390/mi14020238)

[32] E. Henry, S. H. Holm, Z. Zhang, J. P. Beech, J. O. Tegenfeldt et al., "Sorting cells by their dynamical properties," **Sci. Rep.**, vol. 6, Art. 34375, pp. –, 2016. doi:[10.1038/srep34375](https://doi.org/10.1038/srep34375)

[33] D.-H. Kuan, C.-C. Wu, W.-Y. Su, N.-T. Huang et al., "A Microfluidic Device for Simultaneous Extraction of Plasma, Red Blood Cells, and On-Chip White Blood Cell Trapping," *Sci. Rep.*, vol. 8, Art. 15345, 2018. doi:[10.1038/s41598-018-33738-8](https://doi.org/10.1038/s41598-018-33738-8)

[34] S. H. Holm, J. P. Beech, M. P. Barrett & J. O. Tegenfeldt, "Separation of parasites from human blood using deterministic lateral displacement," *Lab Chip*, vol. 11, no. 7, pp. 1326–1332, 2011. doi:[10.1039/C0LC00560F](https://doi.org/10.1039/C0LC00560F)

[35] S. H. Holm, J. P. Beech, M. P. Barrett & J. O. Tegenfeldt, "Simplifying microfluidic separation devices towards field-detection of blood parasites," *Anal. Methods*, vol. 8, pp. 3291–3300, 2016. doi:[10.1039/C6AY00443A](https://doi.org/10.1039/C6AY00443A)

[36] J. P. Beech, S. H. Holm, K. Adolfsen & J. O. Tegenfeldt, "Sorting cells by size, shape and deformability," *Lab Chip*, vol. 12, pp. 1048–1051, 2012. doi:[10.1039/C2LC21083E](https://doi.org/10.1039/C2LC21083E) 2019. doi:[10.1021/acs.analchem.9b02863](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02863)

[37] J. McGrath, M. Jimenez, and H. Bridle, "Deterministic lateral displacement for particle separation: a review," *Lab Chip*, vol. 14, no. 4, pp. 4139–4158, 2014. doi:[10.1039/C4LC00733E](https://doi.org/10.1039/C4LC00733E)

[38] K. K. Zeming et al., "Asymmetrical Deterministic Lateral Displacement Gaps for Dual Functions of Enhanced Separation and Throughput of Red Blood Cells," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 22934, 2016. doi:[10.1038/srep22934](https://doi.org/10.1038/srep22934)

[13] M. E. Warkiani, A. K. P. Tay, G. Guan, and J. Han, "Membrane-less microfiltration using inertial microfluidics," *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 11018, 2015. doi:[10.1038/srep11018](https://doi.org/10.1038/srep11018)

[14] N. Xiang et al., "Precise Size-Based Cell Separation via the Coupling of Inertial Microfluidics and Deterministic Lateral Displacement," *Anal. Chem.*, vol. 91, no. 15, pp. 10328–10334, 2019. doi:[10.1021/acs.analchem.9b02320](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02320)

[15] H. Jeon et al., "Multi-dimensional-double-spiral (MDDS) inertial microfluidic platform for sperm isolation directly from the raw semen sample," *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 4212, 2022. doi:[10.1038/s41598-022-07947-6](https://doi.org/10.1038/s41598-022-07947-6)

[16] C. Ni et al., "Inertia-magnetic microfluidics for rapid and high-purity separation of malignant tumor cells," *Anal. Chem.*, vol. 397, no. 15, 2023. doi:[10.1021/acs.analchem.3c02015](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c02015)

[17] M. Nouri et al., "Enhancing circulating tumor cells separation with integrated spiral and U-shaped cross-section microchannels using elasto-inertial microfluidics," **Anal. Chem.**, vol. 382, no. 1, 2025.

[18] J. Son, R. Samuel, B. K. Gale, D. T. Carrell, and J. M. Hotaling, "Separation of sperm cells from samples containing high concentrations of white blood cells using a spiral channel," *Biomicrofluidics*, vol. 11, no. 5, p. 054106, 2017. doi:[10.1063/1.4994548](https://doi.org/10.1063/1.4994548)

[19] S. Nepal, H. Feng, and B. K. Gale, "Optimization of a microfluidic spiral channel used to separate sperm from blood cells," *Biomicrofluidics*, vol. 14, no. 6, p. 064103, Nov. 5, 2020. doi:[10.1063/5.0029508](https://doi.org/10.1063/5.0029508)

[20] J. Son, K. Murphy, R. Samuel, B. K. Gale, D. T. Carrell, and J. M. Hotaling, "Non-motile sperm cell separation using a spiral channel," *Anal. Methods*, vol. 7, no. 19, pp. 8041–8047, 2015. doi:[10.1039/C5AY02205C](https://doi.org/10.1039/C5AY02205C)

[21] S. A. Vasilescu, S. Khorsandi, L. Ding, S. R. Bazaz, R. Nosrati, D. Gook, and M. E. Warkiani, "A microfluidic approach to rapid sperm recovery from heterogeneous cell suspensions," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 7917, pp. 1–11, 2021. doi:[10.1038/s41598-021-87046-9](https://doi.org/10.1038/s41598-021-87046-9)

[22] M. M. Naderi, H. Gao, J. Zhou, I. Papautsky, and Z. Peng, "Deciphering the unique inertial focusing behavior of sperm cells," *Lab Chip*, vol. 25, no. 12, pp. 2874–2886, 2025. doi:[10.1039/D5LC00047E](https://doi.org/10.1039/D5LC00047E)

[23] A. Rahi, M. Kazemi, E. Pishbin, S. Karimi, and H. Nazarian, "Cross flow coupled with inertial focusing for separation of human sperm cells from semen and simulated TESE samples," *Analyst*, vol. 146, no. 23, pp. 7230–7239, 2021. doi:[10.1039/D1AN01525G](https://doi.org/10.1039/D1AN01525G)

[24] R. Samuel, J. Son, T. G. Jenkins, A. Jafek, H. Feng, B. K. Gale, D. T. Carrell, and J. M. Hotaling, "Microfluidic system for rapid isolation of sperm from microdissection TESE specimens," *Urology*, vol. 140, pp. 70–76, 2020. doi:[10.1016/j.urology.2019.12.053](https://doi.org/10.1016/j.urology.2019.12.053)

[25] A. Jafek, H. Feng, H. Brady, K. Petersen, M. Chaharlang, K. Aston, B. Gale, T. Jenkins, and R. Samuel, "An automated instrument for intrauterine insemination sperm preparation," *Sci. Rep.*, vol. 10, art. 21385, 2020. doi:[10.1038/s41598-020-78390-3](https://doi.org/10.1038/s41598-020-78390-3)

[26] J. Son, R. Samuel, B. K. Gale, D. T. Carrell, and J. M. Hotaling, "Separation of sperm cells from samples