

Trabajo Fin de Grado

Simulación por elementos finitos de la deformación
de un sólido inducida por el arrastre de un fluido en
movimiento

Autor

Francisco Serrano Alcalde

Directores

José Manuel García Aznar
María José Gómez Benito

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Universidad de Zaragoza
2016



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe acompañar al Trabajo Fin de Grado (TFG)/Trabajo Fin de Máster (TFM) cuando sea depositado para su evaluación).

D./D^a. Francisco Serrano Alcalde

con nº de DNI 73092087L en aplicación de lo dispuesto en el art.

14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,

Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster)
Grado _____, (Título del Trabajo)

Simulación por elementos finitos de la deformación de un sólido inducida por
el arrastre de un fluido en movimiento

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, a 20 de Septiembre de 2016

Fdo: Francisco Serrano Alcalde

RESUMEN

Simulación por elementos finitos de la deformación de un sólido inducida por el arrastre de un fluido en movimiento

En el presente trabajo se pretende calcular la deformación que sufre un sólido embebido en un canal de sección variable por el que fluye un fluido a una determinada velocidad. El sólido es una célula.

Los ensayos de microfluídica de deformación en tiempo real, junto con los estudios analíticos, son las formas habituales de calcular las propiedades mecánicas de las células. En los primeros se introduce un flujo de suero fisiológico a través de un canal de microfluídica, en el cual hay un cambio de sección brusco con el objetivo de que el fluido se acelere. Las células se encuentran embebidas en el suero y al atravesar el canal se deforman debido a la velocidad del fluido. Con esta deformación, mediante un cálculo inverso, se estiman las propiedades mecánicas de la célula. Hasta el momento para determinar las propiedades mecánicas se han utilizado modelos analíticos en los que la célula se considera un sólido homogéneo sin tener en cuenta sus partes.

Sin embargo, las células no son homogéneas sino que están formadas por citoplasma, núcleo y membrana entre otros, lo que se calcula con los métodos anteriores son unas propiedades promedio de todas ellas. El objetivo de este trabajo es simular un ensayo de deformación en tiempo real mediante el método de los elementos finitos, utilizando el programa comercial ABAQUS y realizar simulaciones considerando únicamente el citoplasma de la célula, citoplasma y núcleo, y citoplasma, núcleo y membrana. Con esto se pretende observar la influencia de las distintas partes de la célula en sus propiedades promedio.

Se considera para la simulación la interacción fluido-estructura a diferencia de trabajos anteriores en los que se considera que el perfil de velocidad alrededor de la célula se mantiene constante. Esta aproximación conlleva un error debido a que la deformación sufrida por la célula es considerable y el perfil de velocidad cambiará. Por ello, para minimizar el error se ha utilizado el módulo de interacción fluido-estructura (FSI) de Abaqus, el cual realiza un cálculo recurrente entre el fluido y el sólido.

Tabla de contenido

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
2.1. Geometría y materiales.....	6
2.2. Condiciones de contorno	7
2.3. Interacción fluido-estructura	8
3. RESULTADOS	9
3.1. Célula homogénea con módulo elástico de 3 KPa	9
3.2. Célula compuesta por citoplasma y membrana.....	11
3.3. Célula compuesta por citoplasma y núcleo	11
3.4. Célula compuesta por citoplasma, núcleo y membrana.....	12
3.5. Célula compuesta por citoplasma y núcleo grande	13
3.6. Célula homogénea con módulo elástico de 5 KPa	14
3.7. Tensiones y deformaciones en el núcleo	14
3.8. Geometría de la célula deformada.....	17
3.9. Coeficiente de Poisson	19
3.10. Perfil de velocidad	19
4. DISCUSIÓN.....	20
4.1. Efecto de la membrana	20
4.2. Efecto del núcleo.....	20
4.3. Efecto de membrana y núcleo	22
5. CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25

1.INTRODUCCIÓN

En la última década se ha visto un crecimiento sustancial en la investigación sobre las propiedades biomecánicas y biofísicas de las células y la influencia de las estructuras subcelulares, debido al impacto que esto tiene en la progresión de enfermedades en humanos. Con el fin de preparar el terreno para futuras investigaciones sobre alteraciones de la estructura subcelular, cambios en la deformación de células, citoadherencia, migración, metástasis y otros, se presenta la necesidad de estudiar la deformabilidad de las células.

Estos estudios pueden realizarse mediante diferentes métodos (figura 1), algunos de ellos son (Suresh, 2007):

- a) Microscopía de fuerza atómica (AFM); se induce una deformación local en la superficie celular a través de contacto físico con la punta afilada de un voladizo. A continuación, se calcula la fuerza aplicada midiendo la desviación de la punta en voladizo con un fotodiodo.
- b) Citometría magnética de girado (MTC); utilizando perlas magnéticas y un campo magnético, se consigue una deformación cuantificable de la superficie celular.
- c) Citoindentación, métodos de indentación sensibles a la profundidad.
- d) Pinzas ópticas (OT); un haz laser se dirige hacia una perla con alto índice de refracción dieléctrico unida a la célula. La fuerza de atracción resultante empuja a la perla hacia el haz laser. Otra perla colocada en el lado opuesto de la célula, con su correspondiente haz laser, provoca en la célula una fuerza uniaxial que puede ser de varios cientos de piconewtons.
- e) Camilla de microplacas mecánicas (MS); se induce una fuerza de tracción o cizalladura entre dos placas entre las cuales se ha unido una célula
- f) Deformación de micropostes (mPAD); se crea un sustrato formado por voladizos al cual se ata específicamente una célula. La deformación medida en los voladizos pueden usarse para medir la fuerza de adhesión.
- g) Aspiración con micropipeta (MA); una parte o toda la célula es aspirada por una pipeta aplicando vacío. Los cambios geométricos sufridos por la célula, con su correspondiente análisis pueden proporcionar las propiedades elásticas y viscoelásticas.
- h) Resistencia a cizalladura producida por un flujo de fluido; se aplica un flujo, laminar o turbulento, en una célula que se encuentra en una placa y produce esfuerzos de cizalla.
- i) Sustrato camilla; es un método similar al anterior en el que la célula se encuentra adherida a un sustrato polimérico.

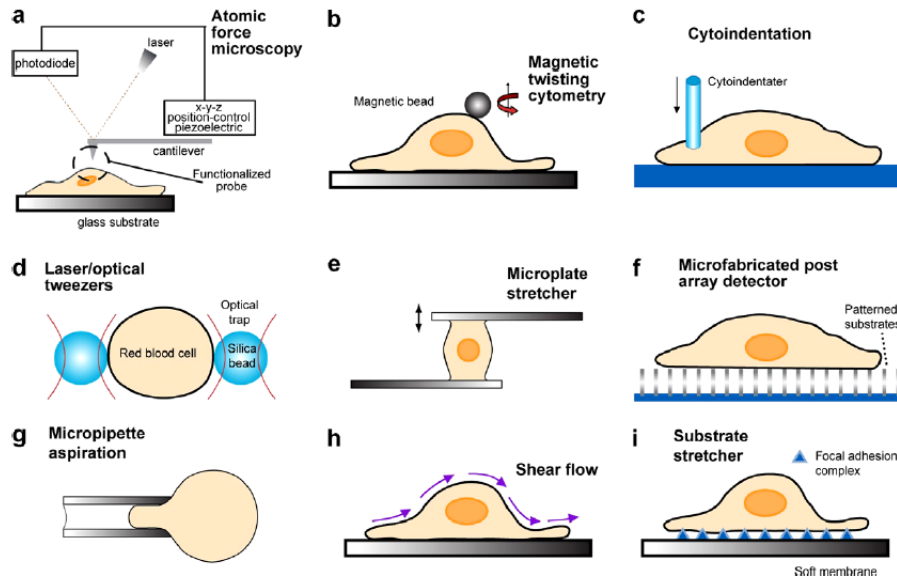


Figura 1: Ensayos utilizados para calcular las propiedades mecánicas de las células; (a) microscopía de fuerza atómica; (b) citometría magnética de girado; (c) citoindentación; (d) pinzas ópticas; (e) camilla de microplacas mecánicas; (f) deformación de micropostes ; (g) aspiración con micropipeta; (h) resistencia al cizallamiento por el flujo de fluido; (i) substrato camilla (imagen tomada de Suresh, 2007)

Todos estos métodos tienen en común la necesidad de aislar una sola célula para aplicar los procedimientos correspondientes.

2.MATERIALES Y MÉTODOS

El modelo simulado se basa en el ensayo de laboratorio realizado por Otto et al. (2015).

Otto et al. (2015) estudian las propiedades mecánicas de las células medidas por el método citometría de deformación en tiempo real (RT-DC). Las células se encuentran embebidas en suero fisiológico que fluye a través de un canal de microfluídica de sección variable y se deforman por la aceleración del fluido. Con esta técnica se pueden medir 1000 células/s y el número de células medidas, en principio, es ilimitado.

El canal de microfluídica es de sección cuadrada con 20 μm o 30 μm de lado, dependiendo del tamaño máximo de las células que deben ser entre 50% y 90% del tamaño del canal, y una longitud de 300 μm . A través de él fluye un flujo que varía de 0.02 $\mu\text{l/s}$ a 0.2 $\mu\text{l/s}$ según el caso estudiado. Para un flujo de 0.04 $\mu\text{l/s}$ y un diámetro de célula de 15 μm , la velocidad final de la célula en el interior del canal de 20 μm de lado es aproximadamente de 15 cm/s.

Las células a las que se les han medido las propiedades mecánicas han sido HL-60 (human promyelocytic leukemia cells), un tipo de células derivadas de una mujer con leucemia promielocítica aguda.

El procedimiento seguido para obtener las propiedades mecánicas con este método consta de dos partes, una experimental y otra analítica. La parte experimental consiste en captar mediante una cámara CMOS a 2000-4000 f.p.s. situada perpendicular al canal de microfluídica (*figura 2*), la deformación que sufre la célula cuando pasa por el estrechamiento y la forma que adopta una vez se encuentra estable dentro del canal de 20 μm . Una vez obtenida la imagen de la deformada se pasa a la segunda parte del método.

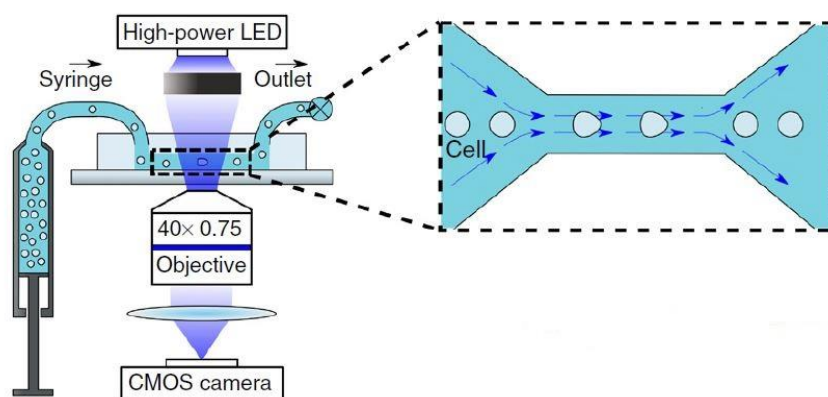


Figura 2: Preparación del ensayo de deformación de citometría en tiempo real (imagen tomada de Otto et al., 2015)

Cálculo analítico

Aplicando un modelo analítico se calcula el perfil de velocidad en el canal para una esfera (figura 3). Esto deriva en unas fuerzas hidrodinámicas en su superficie y aplicando la teoría de elasticidad lineal a la deformada obtenida experimentalmente se calculan las propiedades mecánicas.

El cálculo analítico utilizado de Mietke et al. (2015), desarrolla las ecuaciones de Stokes para calcular el flujo alrededor de una esfera en un canal cilíndrico. Las líneas de flujo obtenidas se usan para obtener las fuerzas hidrodinámicas en la superficie de la esfera, que se imponen como condiciones de contorno en el estudio de la deformación celular mediante la teoría de la elasticidad lineal. Para aplicar los cálculos al canal de sección cuadrada se utiliza el diámetro hidráulico.

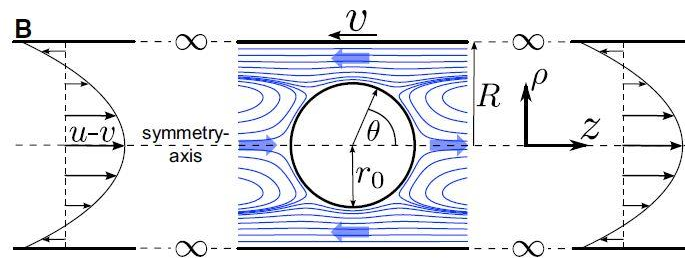


Figura 3: Perfil de velocidad entorno a una esfera (imagen tomada de Mietke et al., 2015)

2.1. Geometría y materiales

Para el desarrollo del trabajo se ha partido de unas dimensiones de canal y célula tomadas de la bibliografía (Otto et al., 2015).

En el caso de la simulación del canal de microfluídica, las secciones son cuadradas y van de una sección de $40\text{ }\mu\text{m}$ a $20\text{ }\mu\text{m}$ de lado, donde el cambio de sección es constante (figura 4).

El fluido que circula a través del canal, en el cual está embebida la célula, es un suero fisiológico de densidad 1000 kg/m^3 y viscosidad cinemática $15\text{ mPa}\cdot\text{s}$, considerado como fluido newtoniano.

Todas las células simuladas, independientemente de sus propiedades, parten siendo una esfera de $15\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro y dado que sufren grandes deformaciones dentro del canal se ha adoptado un modelo de comportamiento hiperelástico. En los casos en que se añade núcleo, el tamaño de éste es uno o dos tercios el diámetro total, dependiendo del caso estudiado. Para las células simuladas con membrana, el espesor de ésta es 5 nm (Nelson et al., 2009) y el material asignado un elástico lineal.

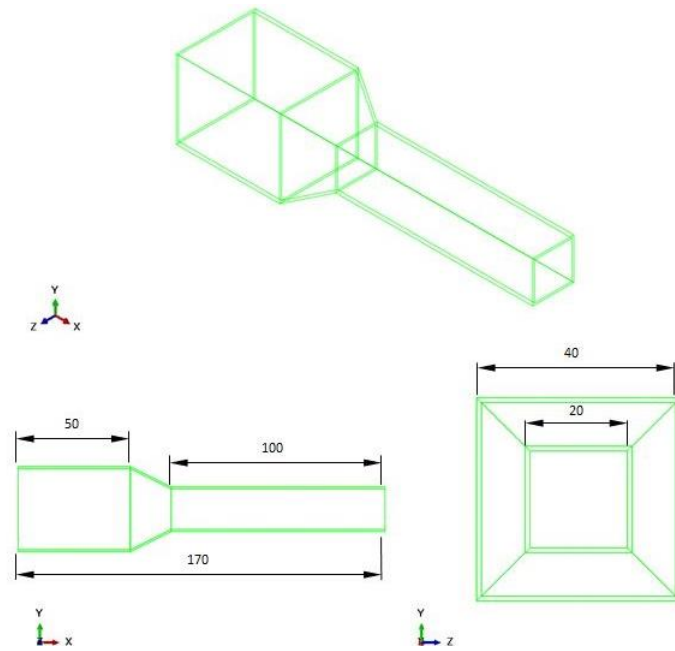


Figura 4 Geometría del canal en μm

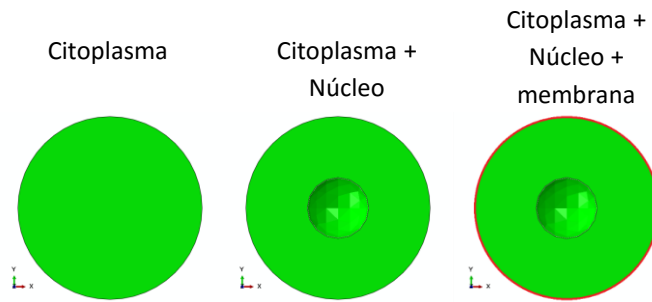


Figura 5 Tipos de células simuladas

2.2. Condiciones de contorno

Para que las simulaciones fueran lo más fidedignas al ensayo RT-DC se han impuesto una serie de condiciones de contorno.

El canal se ha considerado como un sólido rígido con la intención de reducir el coste computacional de las simulaciones, ya que para el estudio no son relevantes las solicitaciones que puedan producirse en éste.

Para simular correctamente el flujo en el interior del canal se ha seguido la ley de Hagen-Poiseuille, utilizando la aproximación de Purday para canales de sección cuadrada (Berthier et al., 2010). Esto es aplicable para régimen laminar. Las condiciones de contorno impuestas han sido fijar un perfil de velocidad en la sección de entrada del canal y un contacto tangencial rígido entre el fluido y los sólidos. El perfil de velocidad, siguiendo la aproximación de Purday, toma su valor máximo en el centro del canal y cero en los extremos:

$$v(y, z) = u_{\text{máx}} \cdot \left[1 - \left(\frac{y}{20} \right)^{2.2} \right] \cdot \left[1 - \left(\frac{z}{20} \right)^{2.2} \right]$$

Como todos los casos simulados han sido para un caudal de 0.04 $\mu\text{l/s}$ la velocidad máxima en el centro del canal es:

$$u_{\text{máx}} = 0.05289 \mu\text{m}/\mu\text{s}$$

2.3. Interacción fluido-estructura

En los casos estudiados, las células se deforman considerablemente en relación con su geometría inicial. Esto implica que el perfil de velocidad entorno a la célula cambia en función de su deformación y no lo podemos considerar constante. Por ello se ha utilizado un módulo de interacción fluido-estructura, en el cual se realiza un cálculo recurrente entre fluido y sólido. Las deformaciones que sufren los fluidos son muy elevadas, por lo que la malla asignada no puede ser igual que la utilizada en sólidos.

En el programa de elementos finitos utilizado (ABAQUS), se ha empleado el análisis acoplado Euleriano-Lagrangiano (CEL). Este tipo de análisis combinan malla euleriana para el fluido y malla lagrangiana para los sólidos.

La malla euleriana, es un tipo de malla fija en la cual los nodos mantienen su posición espacial permitiendo que el material fluya a través de los elementos. Por lo tanto las mallas no se deforman. El fluido no necesariamente ocupa todo el espacio euleriano, pudiendo estar los elementos llenos o no en un rango de 0 a 1. Este rango define el grado de ocupación de un elemento por el fluido. Las zonas de la malla que no contengan material, se llenan con material "void", es decir material que no interacciona con nada. En nuestro caso, la definición de la distribución del fluido depende de la geometría de la célula (*figura 6*), que recalcula en cada incremento. La desventaja de este método es la necesidad de una malla muy fina, con el coste computacional que supone, para disminuir el error. Todo el material que salga del dominio de la malla euleriana se excluye del cálculo.

La malla lagrangiana, al contrario que la euleriana es una malla deformable donde el material está ligado a los elementos de la malla y se deforma solidario a esta. La malla lagrangiana se utiliza para las partes sólidas, en nuestro caso la célula.

1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
1.0	0.68	0.09	0.09	0.68	1.0
1.0	0.09	0.0	0.0	0.09	1.0
1.0	0.09	0.0	0.0	0.09	1.0
1.0	0.68	0.09	0.09	0.68	1.0
1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Figura 6: Fracción de volumen euleriana.

3.RESULTADOS

Se han estudiado 6 casos con diferentes propiedades mecánicas de la célula y considerándola como un sólido homogéneo o compuesto de varias partes para comparar y analizar los resultados obtenidos.

Las condiciones de ensayo simuladas han sido las mismas en todos los casos, caudal constante de $0.04 \mu\text{l/s}$ (Otto et al., 2015) y suero fisiológico de viscosidad cinemática $15 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ (Otto et al., 2015), así como la geometría del canal.

Como se ha explicado anteriormente, el método RT-DC calcula las propiedades mecánicas de la célula según la deformación que sufre. De esta forma lo que se obtienen son unas propiedades promedio considerando la célula homogénea. Sin embargo las células están compuestas por distintas partes, principalmente citoplasma, núcleo y membrana y conocer cómo afecta cada una de ellas a las propiedades promedio no es posible con el método experimental.

Por ello se han simulado varios casos tomando la célula como un sólido homogéneo, añadiendo diferentes tamaños de núcleo y membrana, para observar la influencia de cada parte en las propiedades totales puesto que utilizando la simulación por elementos finitos sí es posible.

3.1. Célula homogénea con módulo elástico de 3 KPa

En el primer caso se considera que toda la célula está compuesta por citoplasma, sin tener en cuenta núcleo ni membrana. Es el caso más parecido los ensayos analíticos de bibliografía puesto que la célula se considera homogénea.

El módulo elástico de las células vivas se ha establecido en el orden de 1 KPa , por lo que se ha considerado como módulo elástico del citoplasma 3 KPa (Trepap et al., 2008) y un coeficiente de poisson de $0,49$ (Otto et al., 2015).

El primer resultado analizado es la distancia longitudinal de la célula en el eje x respecto de su posición en el canal (figura 7), tomando el punto central de la célula como referencia para situarla.

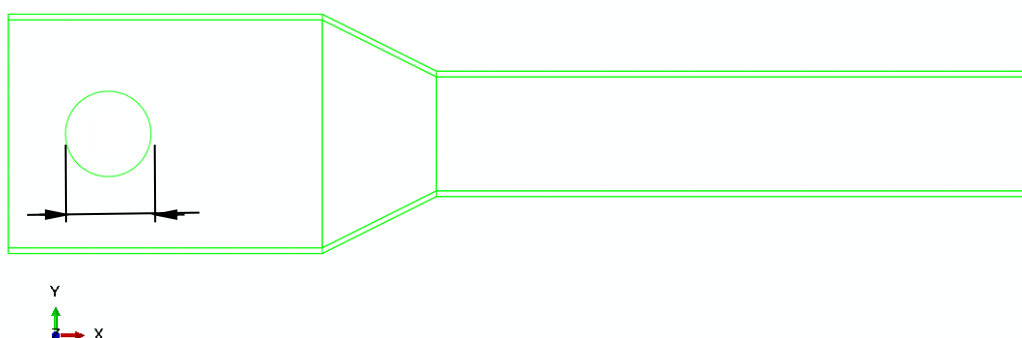


Figura 7 Distancia longitudinal de la célula

La gráfica de estas dos variables nos permite conocer cuándo la célula se ha estabilizado después de atravesar el cambio de sección (gráfico 1).

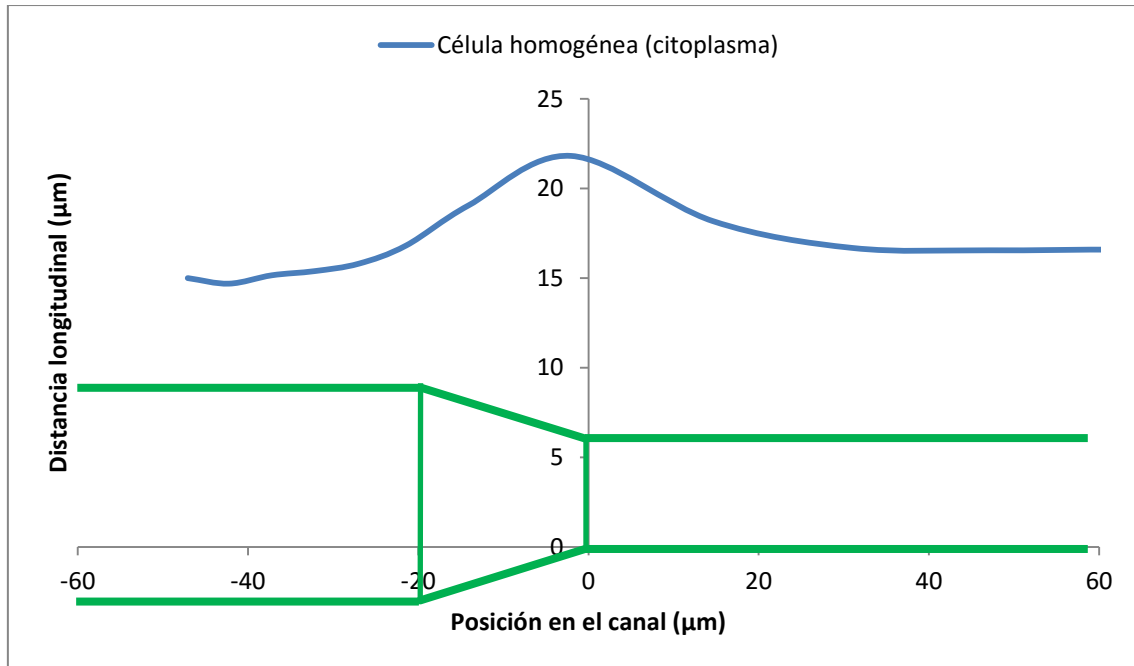


Gráfico 1 Variación de la distancia longitudinal de la célula en función de su posición para célula homogénea con módulo elástico de 3 KPa (unidades μm).

Observando el gráfico 1 se puede apreciar la pérdida de volumen inicial debida al acoplamiento de la malla lagrangia-euleriana, la distensión máxima de la célula y en qué punto del canal se produce y la zona posterior al cambio de sección donde la célula se estabiliza.

Con este primer resultado sabemos en qué momento podemos medir tensiones y deformaciones de la célula, ya que para poder comparar estas mediciones la célula debe estar estabilizada.

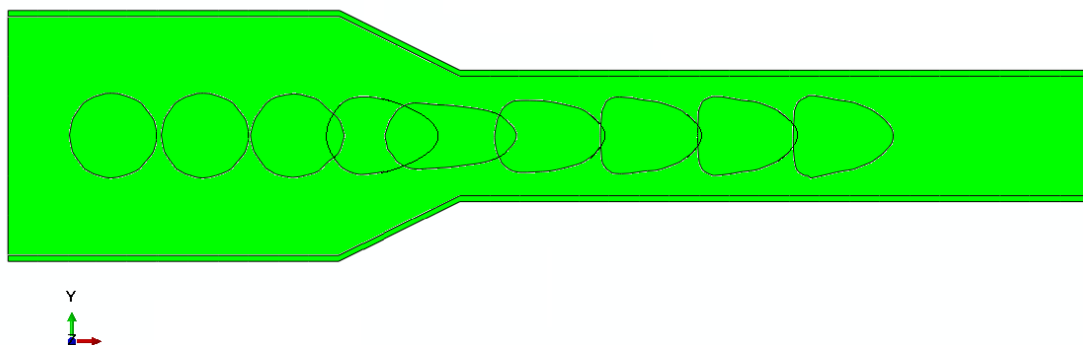


Figura 8 Deformación de la célula homogénea de módulo elástico 3 KPa en función de su posición

La figura 8 muestra cómo se va deformando la célula en el interior del canal según avanza en su interior.

3.2. Célula compuesta por citoplasma y membrana

En el segundo caso se pretende estudiar la influencia de la membrana en la deformación de la célula y por lo tanto en las propiedades promedio que se medirían en el ensayo analítico. A la célula del caso anterior, que sólo estaba compuesta por citoplasma, se le añade una membrana de 5nm de espesor (Nelson et al., 2009) y un módulo elástico de 1285 KPa (Jacobs et al. 2013).

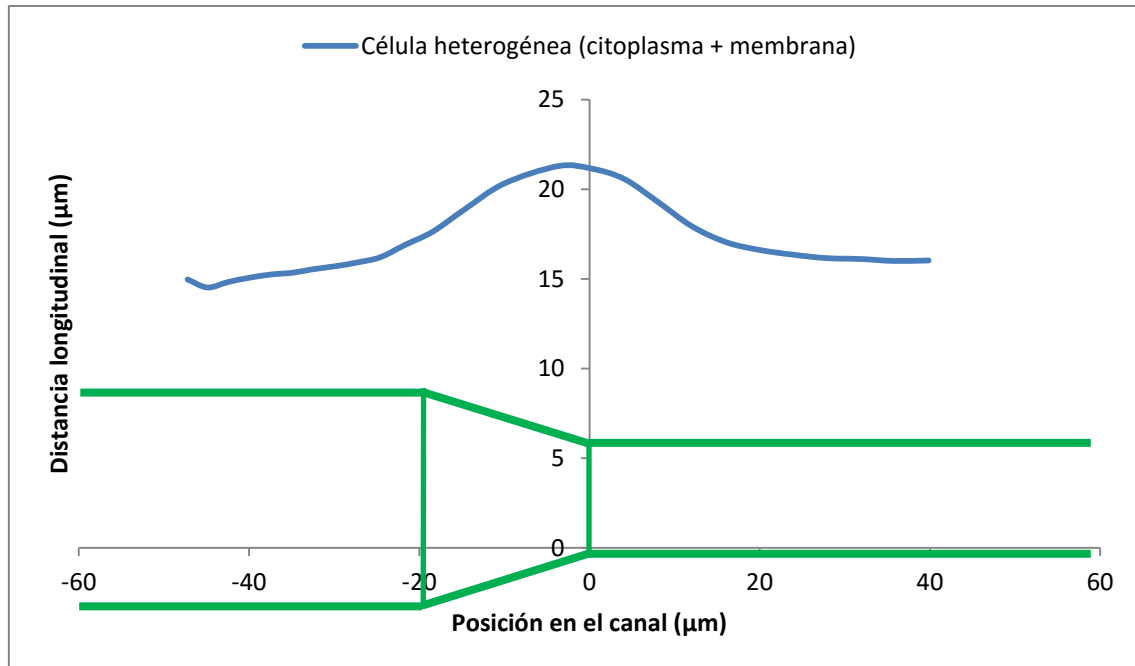


Gráfico 2 Variación de la distancia longitudinal de la célula en función de su posición para célula con citoplasma y membrana (unidades μm).

3.3. Célula compuesta por citoplasma y núcleo

Para el tercer caso la célula está compuesta de citoplasma y núcleo. El núcleo, en base a las imágenes (Otto et al., 2015), es una esfera concéntrica de diámetro un tercio el del citoplasma y módulo elástico un orden de magnitud mayor. Con esto se puede estudiar el efecto que tiene el núcleo en las propiedades promedio de la célula comparando los resultados con la célula homogénea.

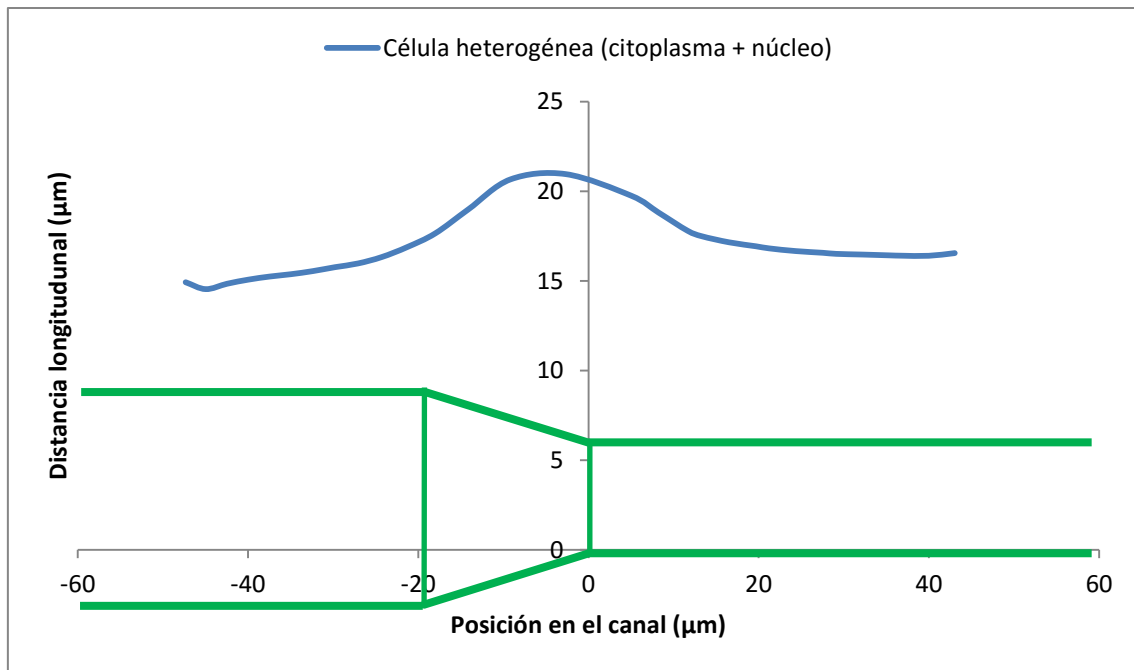
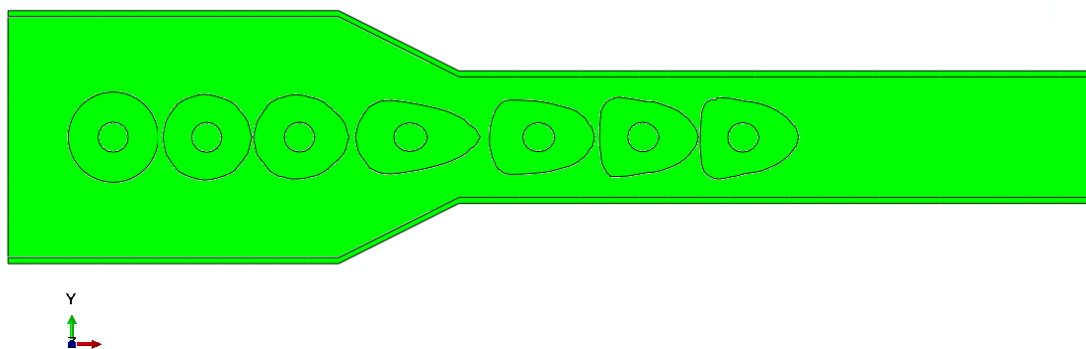


Gráfico 3 Variación de la distancia longitudinal de la célula en función de su posición para célula con citoplasma y núcleo (unidades μm).



En la figura 9 se ve cómo se va deformando la célula en el interior del canal y cómo el núcleo apenas cambia su geometría esférica.

3.4. Célula compuesta por citoplasma, núcleo y membrana

En este caso se estudia una célula compuesta por citoplasma, núcleo y membrana. Es el caso más parecido a la realidad donde la célula está compuesta por distintos elementos. En él se puede apreciar el efecto que tiene en las propiedades promedio la combinación de la membrana y el núcleo.

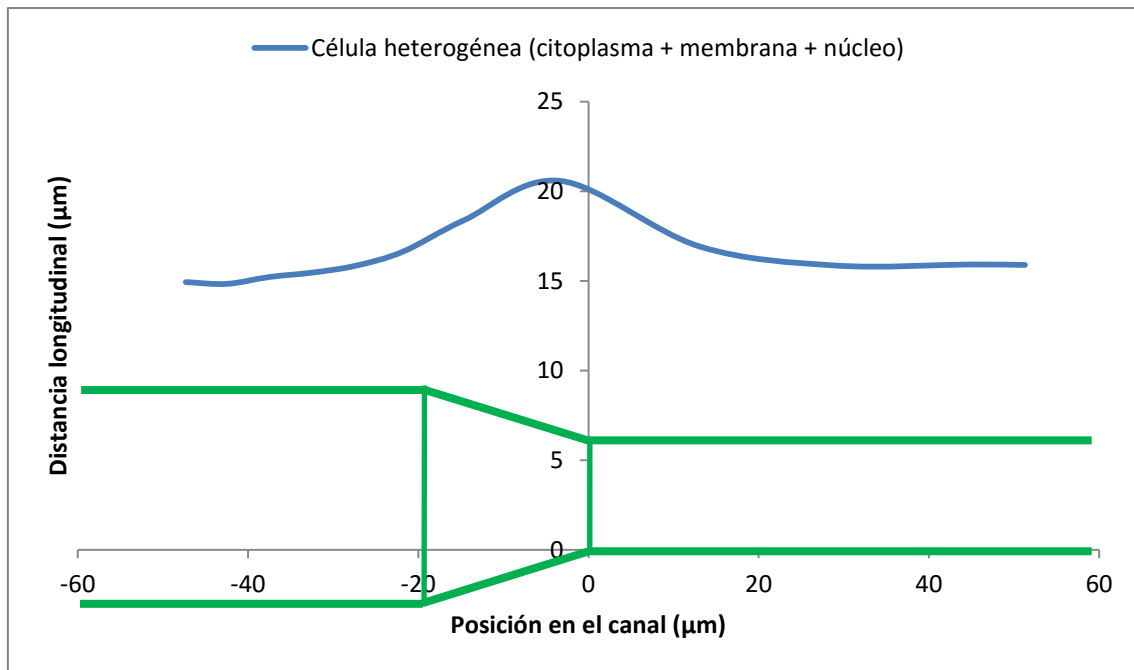


Gráfico 4 Variación de la distancia longitudinal de la célula en función de su posición para célula con citoplasma, núcleo y membrana (unidades μm).

3.5. Célula compuesta por citoplasma y núcleo grande

En el quinto caso se estudia la influencia del tamaño del núcleo en las propiedades ya que éste no es constante en todas las células. Para ello se ha simulado una célula igual que en el caso de célula heterogénea compuesta por citoplasma y núcleo, aumentándole el tamaño de un tercio a dos tercios del diámetro del citoplasma.

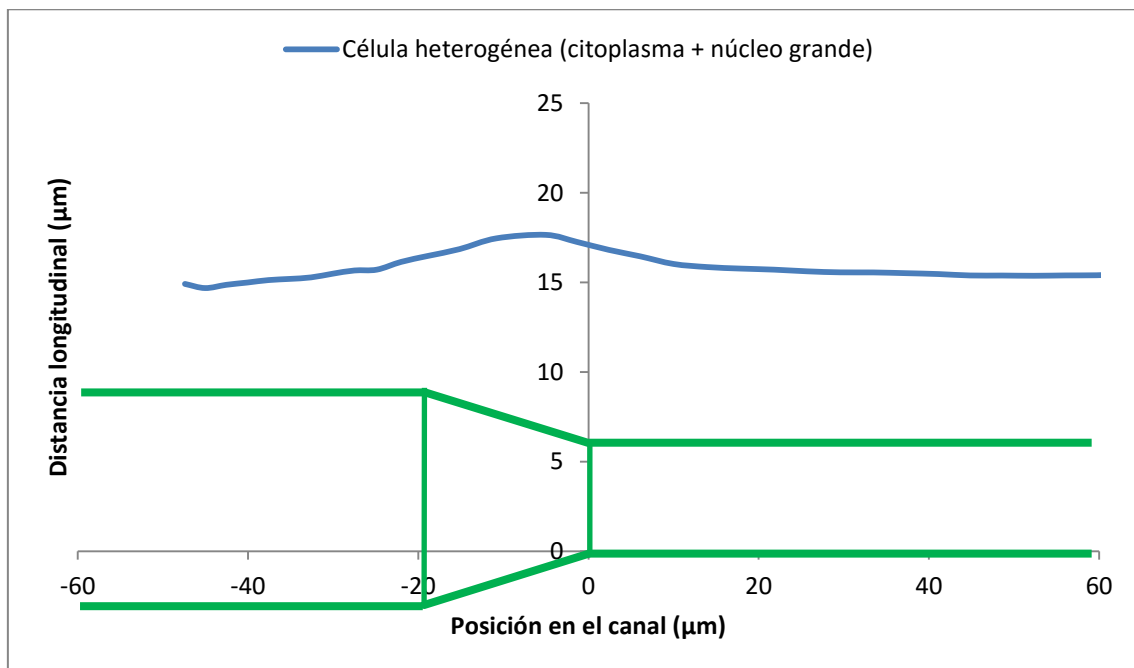


Gráfico 5 Deformación de la célula en función de su posición para célula con citoplasma y núcleo grande (unidades μm).

3.6. Célula homogénea con módulo elástico de 5 KPa

En el último caso se hace una simulación de una célula homogénea de citoplasma, aumentándole el valor del módulo elástico de 3 a 5 KPa para comparar los resultados de un módulo elástico mayor en una célula homogénea con las simulaciones de células heterogéneas con menor módulo elástico del citoplasma.

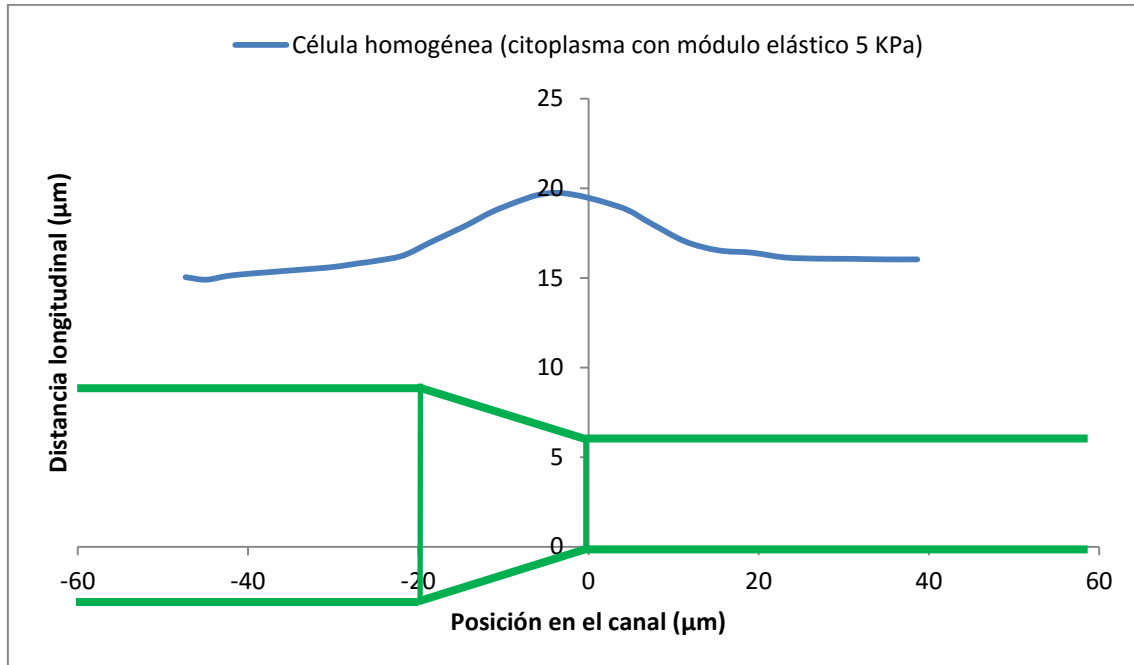


Gráfico 6 Variación de la distancia longitudinal de la célula en función de su posición para célula homogénea con módulo elástico de 5 KPa (unidades μm).

3.7. Tensiones y deformaciones en el núcleo

Una medida importante es conocer las tensiones y deformaciones que sufre el núcleo una vez la célula se ha estabilizado, las sollicitaciones mecánicas de las células se pueden relacionar con otros procesos celulares tales como la diferenciación, proliferación y muerte.

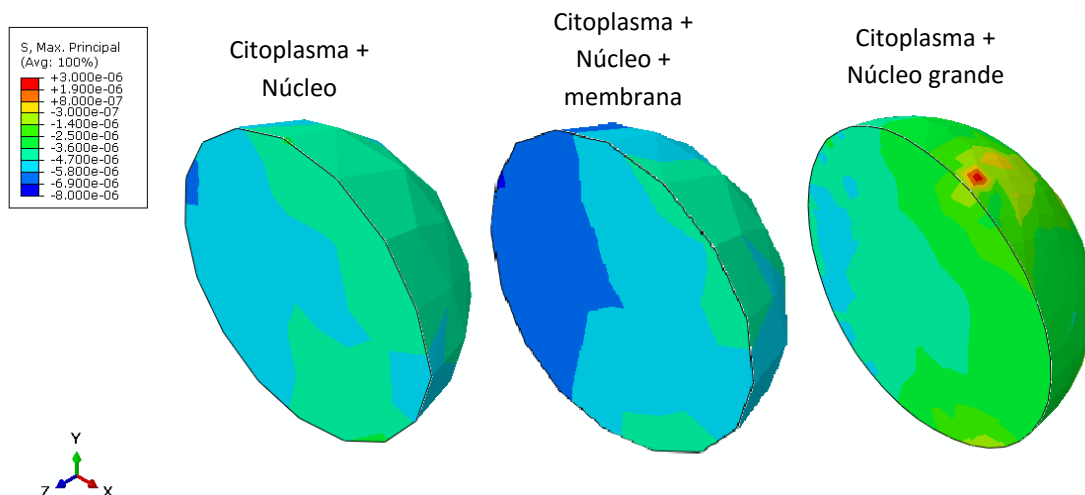


Figura 10 Distribución de tensiones máximas a tracción en el núcleo (unidades GPa).

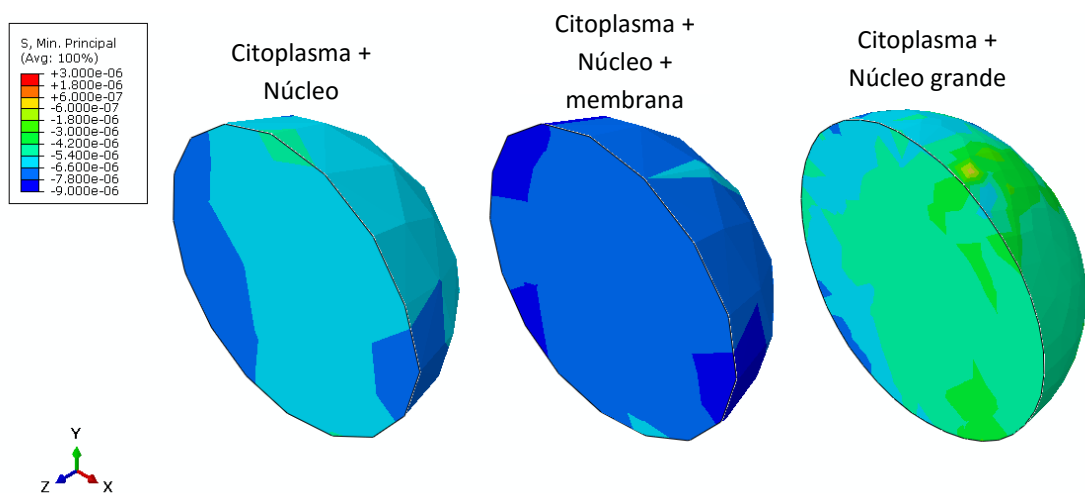


Figura 11 Distribución de tensiones máximas a compresión en el núcleo (unidades GPa).

En las figuras 10 y 11 se aprecia como las tensiones son mayores para el caso con núcleo de mayor tamaño y menores cuando se añade membrana.

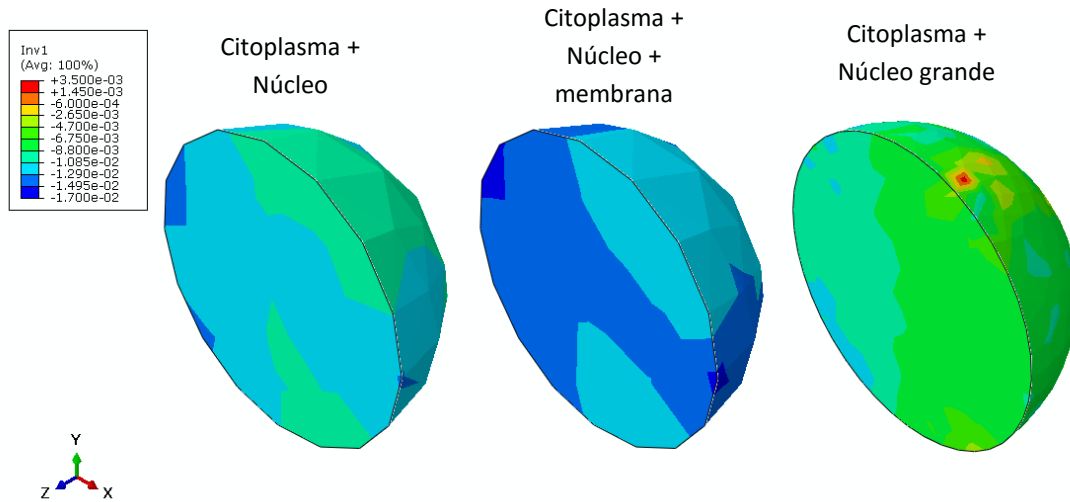


Figura 12 Primer invariante del tensor deformación ($J1 = \epsilon_1 + \epsilon_2 + \epsilon_3$).

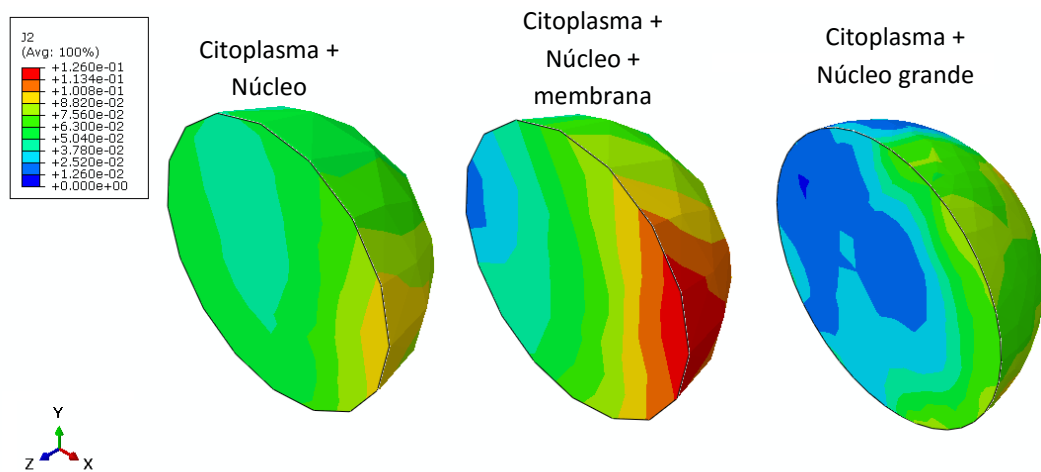


Figura 13 Segundo invariante del tensor desviador de deformación ($J2 = \sqrt{\frac{(\epsilon_1 - \epsilon_2)^2 + (\epsilon_2 - \epsilon_3)^2 + (\epsilon_3 - \epsilon_1)^2}{2}}$).

Podemos ver como el estímulo mecánico en el que mayores diferencias se muestran en las distintas simulaciones es el segundo invariante del tensor desviador de deformaciones (figura 13), pudiendo apreciar el efecto que tiene la membrana y el tamaño del núcleo.

3.8. Geometría de la célula deformada

En la tabla 1 se pueden ver las diferentes geometrías que adopta la célula una vez estabilizada después de pasar por el cambio de sección en el canal para los casos con citoplasma de módulo elástico 3 KPa.

Los modelos de célula homogénea, célula con citoplasma y membrana, célula con citoplasma y núcleo de un tercio del diámetro total y célula con citoplasma, núcleo y membrana son los que la deformada tiene mayor parecido con la deformada del ensayo en laboratorio (figura 14).

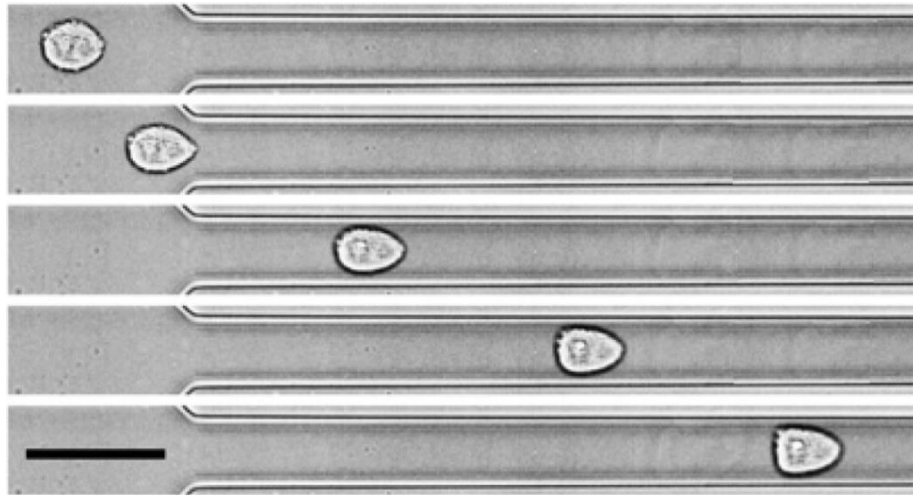


Figura 14 Deformada de la célula en ensayo de laboratorio, escala 50 μm (imagen tomada de Otto et al, 2015)

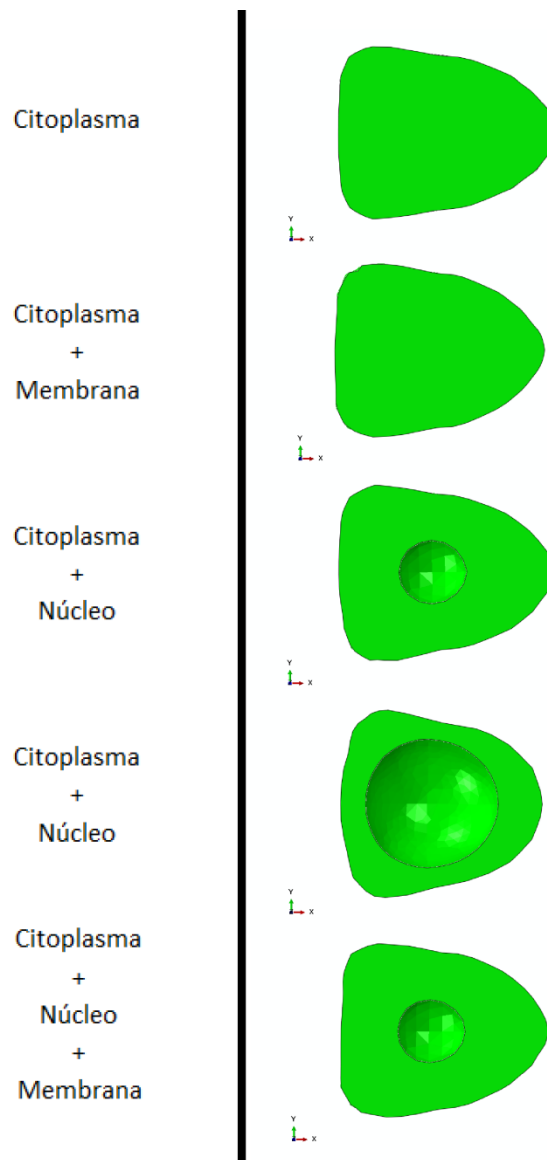


Tabla 1 Geometría de las células con citoplasma de módulo elástico 3 KPa

El caso con citoplasma de módulo elástico 5 KPa (tabla 2), tiene una forma más esférica que las imágenes del ensayo en laboratorio (figura 14).



Tabla 2 Geometría de células homogéneas con distinto módulo elástico

3.9. Coeficiente de Poisson

Otro parámetro importante es el coeficiente de Poisson que se ha tomado en todos los casos anteriores 0,49 (Otto et al, 2015). Sin embargo también se ha simulado un caso con coeficiente 0,4999 considerando la célula cuasi incompresible para observar su influencia.

Al tratarse de un método inverso el que estamos utilizando y comprobar visualmente que la deformada para $\nu = 0,4999$ (figura 15) se parece menos que para $\nu = 0,49$ a la deformada real (figura 11) no se han realizado más casos con este coeficiente de Poisson para disminuir el coste computacional que conlleva cada cálculo, entre 10 y 20 días.

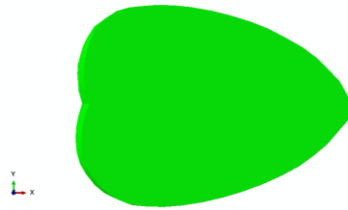


Figura 15 Deformada para $\nu = 0,4999$

3.10. Perfil de velocidad

La razón principal por la que se ha utilizado el modelo de interacción fluido-estructura es la variación del perfil de velocidad del fluido entorno a la célula a medida que ésta se deforma. En la tabla 3 se puede ver el perfil de velocidad cuando no hay célula, entorno a una esfera rígida y entorno a la célula homogénea con módulo elástico 3 KPa deformada.

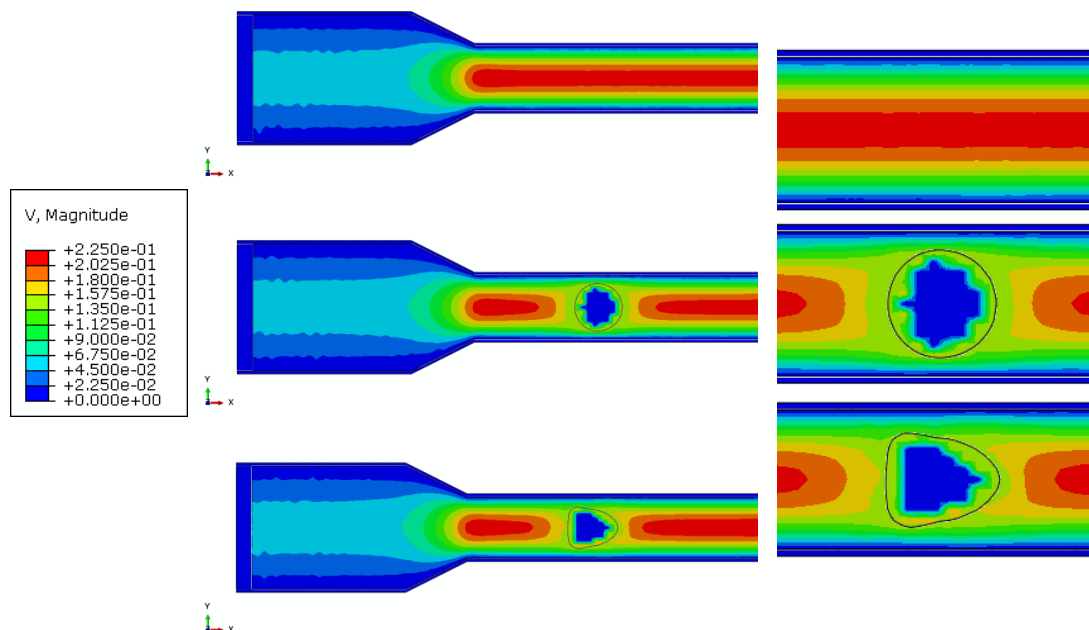


Tabla 3 Perfil de velocidad sin célula, con esfera rígida y con célula (unidades $\mu\text{m}/\mu\text{s}$).

4.DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la membrana

Tomando como referencia el primer caso, en el que toda la célula está compuesta únicamente por citoplasma de módulo elástico 3 KPa, y comparándola con el segundo, en el que a la misma célula se le añade membrana, se puede observar el efecto que tiene ésta en la deformación de la célula.

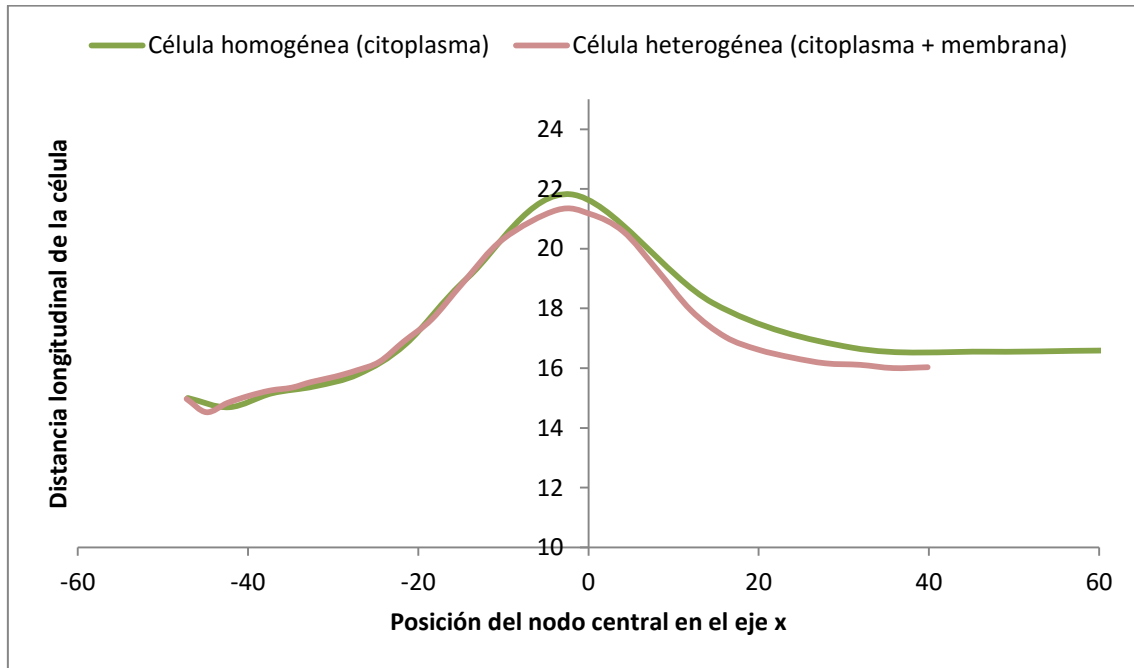


Gráfico 7 Comparación de la variación longitudinal entre los casos de célula homogénea con módulo elástico 3KPa y célula compuesta por citoplasma y membrana (unidades μm).

De la gráfica se ve como la máxima deformación de la célula se produce en el mismo punto en ambas, pero la deformación es mayor para célula homogénea. Además el espacio que tarda la célula en alcanzar una geometría estable y la deformación final también es mayor para el primer caso, cuando la célula no sólo está compuesta por citoplasma.

4.2. Efecto del núcleo

Para ver la influencia que tiene en las propiedades promedio considerar o no que la célula tiene núcleo, se compara el caso primero (célula homogénea con módulo elástico 3 KPa) con el tercero (célula compuesta por citoplasma y núcleo de diámetro un tercio del total de la célula).

Se puede observar de la gráfica 8 que en la simulación con núcleo, al igual que ocurría cuando tenía membrana, la deformación máxima sufrida y el espacio que tarda en estabilizarse es menor. Sin embargo, en este caso la deformación final con o sin núcleo es la misma.

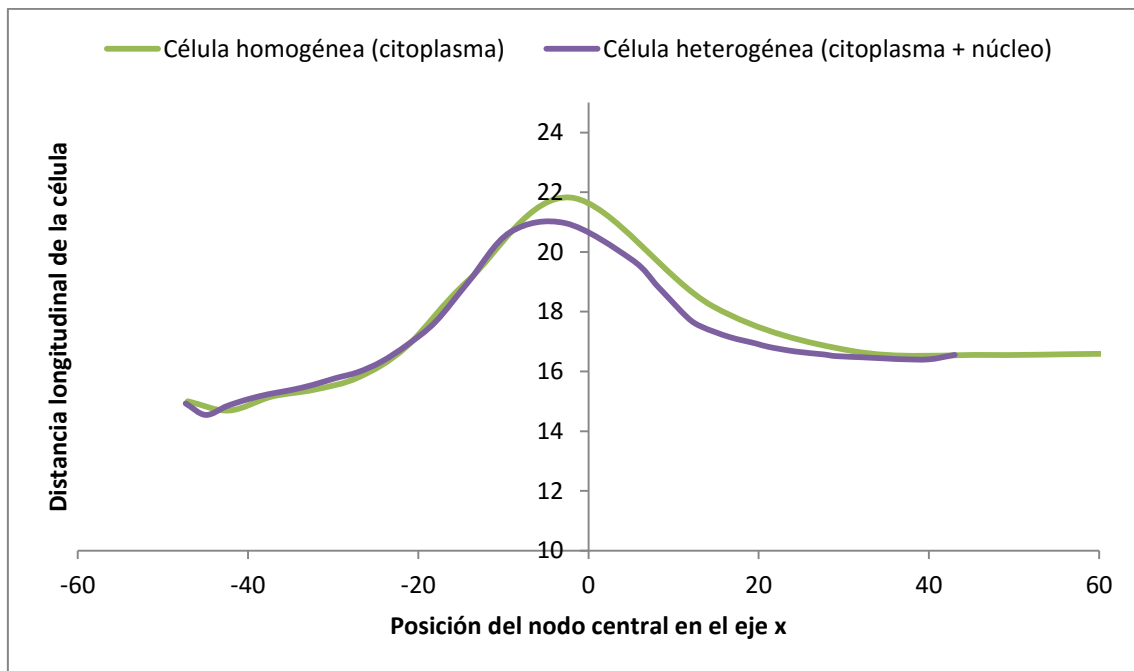


Gráfico 8 Comparación de la variación longitudinal entre célula homogénea con módulo elástico 3 KPa y célula compuesta por citoplasma y núcleo (unidades μm).

Si cambiamos el tamaño del diámetro del núcleo de un tercio a dos tercios del total, la deformación máxima, el espacio que la célula tarda en adoptar una geometría estable y la deformación final se reducen considerablemente (gráfico 9).

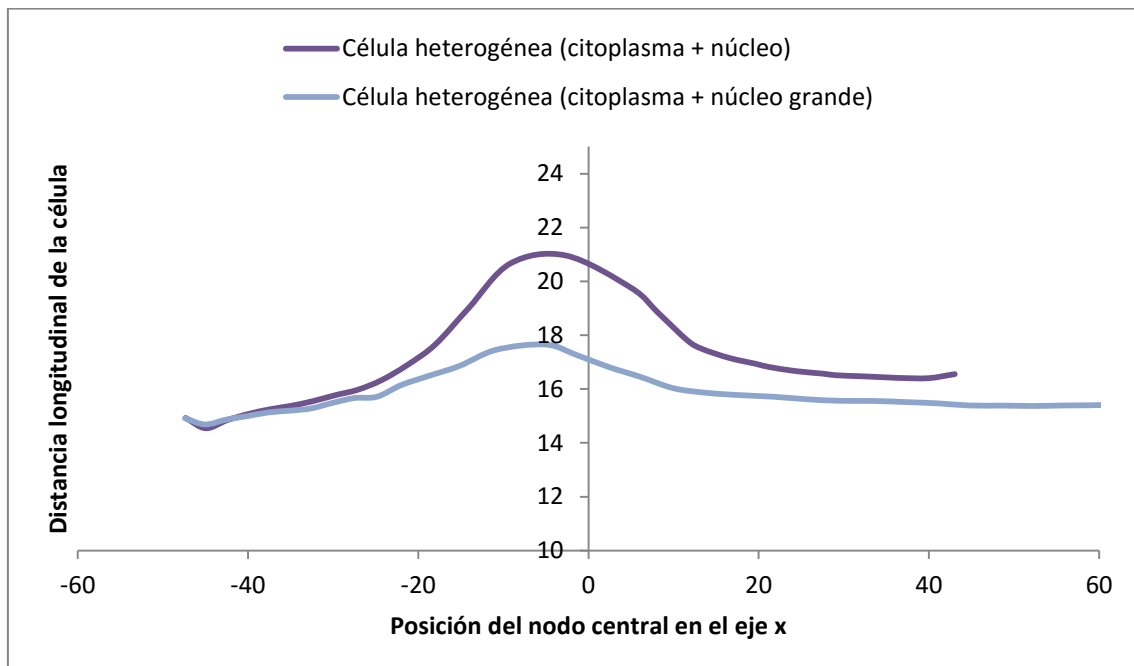


Gráfico 9 Comparación de la variación longitudinal entre célula con citoplasma y núcleo y célula compuesta por citoplasma y núcleo grande (unidades μm).

4.3. Efecto de membrana y núcleo

Comparando la simulación más realista en la que la célula está compuesta por citoplasma, núcleo y membrana, con la simulación más parecida a los ensayos RT-DC en la que la célula se considera homogénea y sólo está compuesta por citoplasma, se puede observar el efecto que tiene la combinación de ambas y las posibles diferencias en las medidas tomadas en dicho ensayo con respecto a los valores reales.

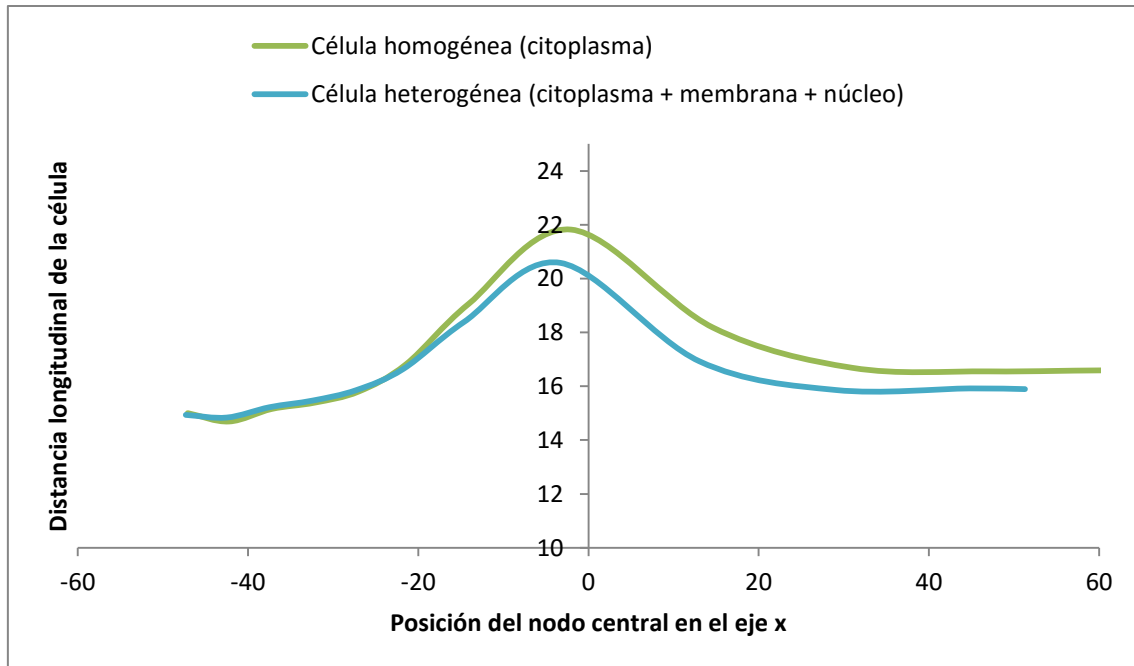


Gráfico 10 Comparación de la variación longitudinal entre célula homogénea con módulo elástico de 3 KPa y célula compuesta por citoplasma, núcleo y membrana (unidades μm).

Los resultados obtenidos son una menor distancia longitudinal máxima, menor espacio de estabilización y menor deformación final, es decir, una combinación de los efectos que ambas producen por separado.

Por lo tanto, si consideramos una célula que está compuesta por citoplasma, núcleo y membrana, como una célula homogénea compuesta únicamente por citoplasma, el módulo elástico obtenido va a ser un promedio que no coincidirá con ningún valor real.

En la siguiente gráfica se añaden los valores de célula homogénea con módulo elástico 5 KPa a los de la gráfica anterior.

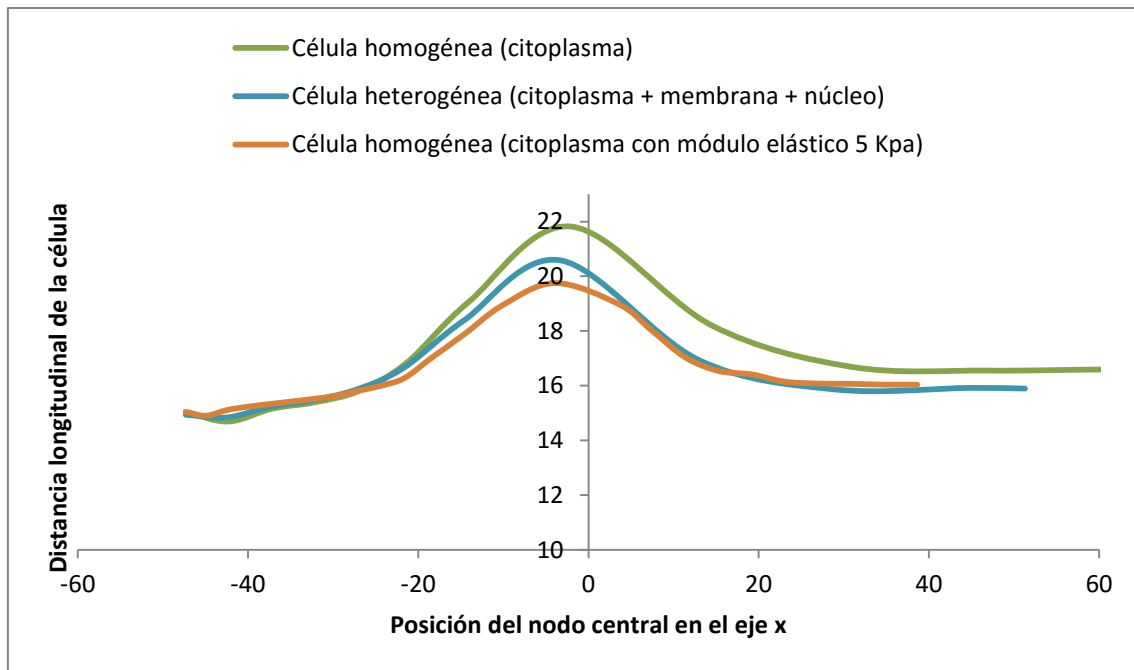


Gráfico 11 Comparación de la variación longitudinal entre célula homogénea con módulo elástico 3 KPa, célula compuesta por citoplasma, núcleo y membrana y célula homogénea con módulo elástico 5 KPa (unidades μm).

Observándola, se aprecia que aunque las deformaciones máximas para citoplasma, membrana y núcleo y citoplasma con módulo elástico 5 KPa son distintas, el espacio de estabilización de la célula así como en la deformación final se aproxima más el modelo de célula heterogénea al de homogénea con módulo elástico 5 KPa que al homogénea con módulo elástico 3 KPa.

5.CONCLUSIONES

La célula sufre una deformación importante en el interior del canal, el cambio que provoca en el perfil de velocidad entorno a ésta, hace necesaria la utilización del módulo de interacción fluido-estructura para minimizar el error en el cálculo de las propiedades mecánicas.

En este trabajo se ha observado la influencia que tiene en las citometrías en tiempo real considerar las distintas partes de la célula en el cálculo de sus propiedades mecánicas. Considerar las células como homogéneas nos induce a obtener unas propiedades medias distintas de las reales.

Además, mediante el método de los elementos finitos se pueden estimar las tensiones y deformaciones sufridas por la célula durante su deformación. En particular, es de gran interés, determinar el estado de tensiones y deformaciones que experimenta el núcleo celular, ya que son muchos los autores en la bibliografía que inciden en el papel regulatorio que estos estímulos mecánicos sobre el núcleo ejercen en fenómenos biológicos tan relevantes como la proliferación, diferenciación o muerte celular.

También se ha comprobado que considerando la célula cuasi incompresible, la deformación sufrida por ésta es diferente a la deformación real. Por tanto, el coeficiente de Poisson debería ser menor de 0.5 y no parece adecuado considerar el cuerpo celular como completamente incompresible.

Para tamaños de núcleo grandes la deformada final de la célula es muy distinta a la deformación real, de modo que no puede considerarse real.

Por último, el efecto de la membrana no es despreciable debido a las importantes propiedades mecánicas que tiene a pesar de su pequeño espesor.

BIBLIOGRAFÍA

- Bazilevs Y, Takizawa K, Tezduyar TE. Computational fluid-structure interaction: methods and applications. Hoboken: Wiley; 2012.
- Berthier, J., and Silberzan, P. Microfluidics for Biotechnology. 2ª edición. Norwood. Artech House: 2010
- Hur, S. C., H. T. K. Tse, and D. Di Carlo. Sheathless inertial cell ordering for extreme throughput flow cytometry. En: *Lab Chip*. Noviembre 2009, 274–280.
- Haberman, L., and R. Sayre. Motion of Rigid and Fluid Spheres in Stationary and Moving Liquids inside Cylindrical Tubes (David W. Taylor Model Basin. Report). David Taylor, editor. Department of the Navy, Bethesda, MD, 1958
- Jacobs, C., Huang, H., and Kwon, R., Introduction to Cell Mechanics and Mechanobiology. Garland Science, 2013
- Lincoln, B., H. M. Erickson, Schinkinger, S., Wottawah, F., Mitchel, D., Ulvick, S., J. Guck. Deformability-based flow cytometry. En: *Cytometry*. 2004, 203–209.
- Mietke, A., Otto, O., Girardo, S., Rosendahl, P., Taubenberger, A., Golfier, S., Ulbricht, E., Aland, S., Guck, J., and Fischer-Friedrich, E. Extracting Cell Stiffness from Real-time deformability cytometry: Theory and Experiment. En: *Biophysical Journal*. Septiembre 2015, 2023-2036.
- Nelson, D., and Cox, Michael. Lehninger: Principios de bioquímica. 5ª edición. Barcelona. Omega: 2009
- Otto, O., Rosendahl, P., Mietke, A., Golfier, S., Herold, C., Klaue, D., Girardo, S., Pagliara, S., Ekpinyong, A., Jacobi, A., Wobus, M., Töpfer, N., Keyser, U., Mansfeld, J., Fischer-Friedrich, E., and Guck, J. Real-time deformability cytometry: on-the-fly cell mechanical phenotyping. En: *Nature Methods*. Marzo 2015, vol.12,no.3, 199-202
- Suresh, S. Biomechanics and biophysics of cancer cells. En: *ScienceDirect*. Abril 2007, 413-438
- Simulia ABAQUS®6.13, ABAQUS Abaqus/CAE User's Manual
- Tarbell JM, Weinbaum S, Kamm RD. Cellular fluid mechanics and mechanotransduction. *Ann Biomed Eng*. 2005;33:1719–23
- Trepat, Xavier and Lenormand, Guillaume and Fredberg, and Jeffrey J. Universality in cell mechanics. En: *Soft Matter*. Mayo 2008, vol.4, no.3, 1750-1759.
- Kuriakose, S., and P. Dimitrakopoulos. Motion of an elastic capsule in a square microfluidic channel. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys*. 2011