



**CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS  
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**UNIDAD MONTERREY**

**Flujo de glóbulos rojos en una red de  
microcanales con vasos parcialmente obstruidos**

Tesis que presenta:

**Jorge Antonio Armenta Valenzuela**

Para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias  
en Ingeniería y Física Biomédicas**

Director de la Tesis:  
Dr. Jesús Manuel Santana Solano

Apodaca, Nuevo León México.

Agosto 2022



© Derechos reservados por  
Jorge Antonio Armenta Valenzuela  
2022



La tesis presentada por Jorge Antonio Armenta Valenzuela fue aprobada por:

---

---

Dr. Bruno Alfonso Escalante Acosta

---

Dr. Gabriel A. Caballero Robledo

---

Dr. Jesús Manuel Santana Solano, Director

Apodaca, Nuevo León México, Agosto del 2022.



A mi familia y amigos que me apoyaron y creyeron en mi incondicionalmente.





# Agradecimientos

Agradezco al personal de CINVESTAV-Unidad Monterrey que facilitó el trabajo diario dentro de las instalaciones.

Agradezco a CONACyT por el apoyo económico que me permitió dedicarme a mis estudios y perseguir mis ambiciones académicas.

Al Dr. Gabriel Caballero quien me facilitó el uso de un equipo de grabación para mis experimentos.

Al Dr. Carlos Ruiz quien me facilitó el uso de un equipo de medición del campo magnético para mis experimentos.

A mis sinodales, el Dr. Bruno Escalante y el Dr. Gabriel Caballero, cuyos conocimientos y consejos fueron de gran ayuda para poder terminar este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio que me compartieron de sus conocimientos y consejos, a los cuales les estoy muy agradecido.

A Oscar Águila que me acompañó a lo largo de este camino ayudándome y apoyándome.

Por último, agradezco al Dr. Jesús Santana por haberme dado la oportunidad de realizar mis estudios de maestría bajo su tutela. La ayuda y guía que me proporciono a lo largo de este camino me permitió terminar una meta más en mi vida.



# Índice General

<b>Índice General .....</b>	<b>I</b>
<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>IV</b>
<b>Índice de Tablas.....</b>	<b>VII</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>IX</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>XI</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1.1. Sistema Circulatorio.....	1
1.1.1. Microcirculación.....	2
1.1.2. Sangre.....	3
1.1.3. Flujo sanguíneo .....	4
1.2. Campo magnético .....	5
1.2.1. Materiales con propiedades magnéticas .....	5
1.2.2. Ferromagnético .....	6
1.2.3. Superparamagnético .....	6
1.2.4. Campo magnético generado por un imán .....	7
1.3. Fuerzas dominantes sobre partículas en dispositivos microfluídicos .....	8
1.3.1. Fuerza de arrastre .....	8
1.3.2. Fuerza magnética .....	9
1.4. Ley de Hagen Poiseuille en un canal rectangular .....	10
<b>2. Antecedentes .....</b>	<b>13</b>
2.1. Estudios de modelación de la microvasculatura .....	13
2.2. Modelos in vivo.....	14

2.3.	Planteamiento del problema .....	16
2.4.	Hipótesis .....	17
2.5.	Objetivos .....	17
2.5.1.	General .....	17
2.5.2.	Particulares.....	17
<b>3.</b>	<b>Materiales y métodos.....</b>	<b>18</b>
3.1.	Dispositivo Microfluídico .....	18
3.1.1.	Litografía óptica.....	18
3.1.2.	Litografía suave .....	19
3.2.	Obtención y uso de la sangre.....	21
3.3.	Partículas.....	22
3.3.1.	Superparamagnéticas.....	22
3.3.2.	Trazadoras .....	22
3.4.	Imán con geometría cilíndrica .....	23
3.5.	Arreglo experimental del campo magnético .....	23
3.5.1.	Campo magnético .....	23
3.5.2.	Cálculo de la susceptibilidad magnética .....	24
3.6.	Arreglo experimental con el dispositivo microfluídico .....	25
3.7.	Análisis de imágenes y videos.....	26
<b>4.</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>29</b>
4.1.	Inducción magnética.....	29
4.1.1.	Fuerza magnética aplicada a una partícula superparamagnética.....	30
4.2.	Dinámica del flujo de glóbulos rojos en microcanales parcialmente obstruidos a distintos flujos.....	32
4.2.1.	Relación del perfil de velocidad con respecto a la altura y ancho del microcanal ...	34
4.2.2.	Elección de condiciones del flujo y del campo magnético .....	36
4.2.3.	Flujo de glóbulos rojos a 0.2 $\mu$ l/min.....	37

4.2.4.	Flujo de glóbulos rojos a 0.4 $\mu\text{l}/\text{min}$ .....	39
4.2.5.	Comparación del flujo a 0.2 $\mu\text{l}/\text{min}$ con y sin glóbulos rojos .....	41
4.3.	Comportamiento de las partículas superparamagnéticas con la influencia de un campo magnético externo a diferentes flujos y condiciones.....	44
4.3.1.	Agregado de partículas a un flujo de 0.2 $\mu\text{l}/\text{min}$ .....	45
4.3.2.	Agregado de partículas a un flujo de 0.4 $\mu\text{l}/\text{min}$ .....	47
4.3.3.	Comparación del agregado de partículas a un flujo de 0.2 $\mu\text{l}/\text{min}$ con y sin glóbulos rojos	48
<b>5.</b>	<b>Discusión y Conclusiones .....</b>	<b>50</b>
5.1.	Perspectivas .....	53
	<b>Bibliografía .....</b>	<b>54</b>

# Índice de Figuras

Figura 1-1 Sistema circulatorio (Imagen tomada del libro Guyton página 170).....	2
Figura 1-2 Microcirculación. (Imagen obtenida de la red).....	3
Figura 1-3 a) Componente de la sangre. b) Glóbulo rojo. (Imagen obtenida de la red).....	4
Figura 1-4 Relación de las diferencias de presiones y resistencia que existen en cualquier vaso. (Imagen tomada del libro Guyton página 172). ....	5
Figura 1-5 Representación del campo magnético de un imán permanente. (Imagen obtenida de la red). ....	5
Figura 1-6 Dipolos tras la aplicación de un campo magnético (izquierda) y dipolos después de retirar el campo magnético (derecha). ....	7
Figura 1-7 Esquema de un imán cilíndrico y microcanal (Vista transversal). $dm$ representa el momento dipolar magnético del elemento del volumen $dV$ .....	7
Figura 1-8 Sección transversal de un canal rectangular de alto $h$ y ancho $w$ . ....	10
Figura 3-1 Pasos de la técnica de litografía óptica. (Imagen modificada de la referencia [16]). ....	19
Figura 3-2 Pasos para la fabricación de dispositivos microfluídicos. (Imagen modificada de la referencia [18]). ....	20
Figura 3-3 Arreglo experimental para el cálculo de la susceptibilidad magnética. Se localiza un punto donde la fuerza de arrastre ( $Fv$ ) tienen una magnitud similar a la proyección de la fuerza magnética ( $Fm$ ) en dirección opuesta a la dirección del flujo. Entre la fuerza magnética y su proyección se forma un ángulo $\theta$ .....	24
Figura 3-4 Arreglo experimental del dispositivo microfluídico.....	25
Figura 3-5 Representación de partículas en un video en campo de fluorescencia. A) Imagen original, B) Imagen del cuadrado rojo de la imagen A de una partícula. C) Valores de intensidad para cada píxel de la partícula. ....	26
Figura 4-1 Inducción magnética del imán y fuerza magnética sobre las micropartículas. A) Vista superior del sensor magnético (lado izquierdo) junto con un imán cilíndrico (lado derecho), obtenida con un microscopio Aigo. B) Simulación del campo magnético del imán	

cilíndrico obtenido mediante el software FEMM. C) Inducción magnética del imán en la configuración que se muestra en la **sección 3.5.1**. D) Fuerza magnética ejercida sobre las partículas tomando en cuenta una susceptibilidad magnética de 0.0833. .... 32

Figura 4-2 Dispositivo microfluídico utilizado. A) Diseño del dispositivo microfluidico con las dimensiones de cada microcanal (todos los valores están en micras). El círculo (de 1 mm de radio) delimita el área donde se coloca el imán cilíndrico. B) Imagen que indica la dirección del flujo y la zona que se analizó (cuadro rojo). C) Imagen ilustrativa de las tres ramas que se analizan. .... 34

Figura 4-3 Comparación de perfiles de velocidades de microcanales principal con un ancho de 250  $\mu\text{m}$  y una altura de 21  $\mu\text{m}$ . El flujo de entrada de los dos microcanales y el modelado del flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . .... 36

Figura 4-4 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos a diferentes grados con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de 250  $\mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de 160  $\mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán (Zona 3) con un ancho de 135  $\mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara los flujos de las diferentes distancias del imán a las ramas en las 3 zonas de interés. Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C..... 39

Figura 4-5 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos a diferentes grados con un flujo de entrada de 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$ . A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de 250  $\mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de 160  $\mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán (Zona 3) con un ancho de 135  $\mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara los flujos de las diferentes distancias del imán a las ramas en las 3 zonas de interés. Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C..... 41

Figura 4-6 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos. A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de 250  $\mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de 160  $\mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán

(Zona 3) con un ancho de 135  $\mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos en las 3 zonas de interés. La distancia al imán que se compara aquí es la de dis 2 (ver inicio de la **sección 4.2**). Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C. CGR= Con glóbulos rojos, SGR= Sin glóbulos rojos. .... 43

Figura 4-7 Comportamiento de agregados de partículas magnéticas con la influencia de un campo magnético externo en microcanales con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Las primeras dos columnas muestran el agregado en la rama principal (zona 1) y las últimas dos columnas muestran el agregado en la rama cercana al imán (zona 2). Cada fila representa una distancia diferente. Las imágenes se tomaron a los 5 minutos y 23 minutos con respecto a la colocación del imán. .... 45

Figura 4-8 Crecimiento temporal del agregado de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . A) Imagen de las zonas de interés tomada a los 5 minutos, B) a los 11 minutos, C) a los 17 minutos y D) a los 23 minutos después de la colocación del imán. La distancia al imán es dis 2 (ver inicio de **sección 4.2**). .... 46

Figura 4-9 Crecimiento temporal del agregado de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$ . A) Imagen de las zonas de interés tomada a los 5 minutos, B) a los 11 minutos, C) a los 17 minutos y D) a los 23 minutos después de la colocación del imán. La distancia al imán es dis 2 (ver inicio de **sección 4.2**). .... 48

Figura 4-10 Comparación del crecimiento temporal de agregados de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  con glóbulos y sin glóbulos. Las primeras dos columnas muestran el agregado en la rama principal (zona 1) y las últimas dos columnas muestran el agregado en la rama cercana al imán (zona 2). Las filas representan el tiempo en que se tomaron las imágenes con respecto a la colocación del imán. La distancia al imán es dis 2 (ver inicio de **sección 4.2**). CGR= Con glóbulos rojos, SGR= Sin glóbulos rojos. .... 49



# Índice de Tablas

Tabla 4-1 Tabla de magnitudes de los parámetros utilizados para determinar la fuerza magnética sobre las partículas superparamagnéticas. El valor de la susceptibilidad magnética fue determinado a 25°C. Los parámetros que no aparecen en la tabla son dependientes de la distancia entre el imán y las partículas. ....	31
--	----



# Resumen

En el presente trabajo se estudió el flujo de glóbulos rojos en una red de microcanales con vasos parcialmente obstruidos. Con esta finalidad, se creó un dispositivo microfluídico donde se hacen fluir glóbulos rojos, partículas superparamagnéticas y partículas trazadoras suspendidas en PBS (solución salina), los cuales se someten a la influencia de un campo magnético externo. En estas condiciones, se generan agregados de partículas superparamagnéticas que obstruyen parcialmente a los microcanales que se encuentran más cercanos al imán. El flujo de glóbulos rojos se analiza mediante el uso de microscopía óptica y procesamiento de imágenes. El procesamiento de imágenes se usa para calcular tanto el campo magnético del imán, así como el flujo del fluido y el perfil de velocidad en los microcanales parcialmente obstruidos. Por otro lado, el rango del flujo con que se trabajó fue de 0.2 y 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Dichos flujos fueron elegidos tomando en cuenta las velocidades del flujo en la microcirculación de ratón, las cuales fueron caracterizadas en la referencia [31]. Bajo estas condiciones de flujo, se determinó que la intensidad mínima de atrapamiento a las partículas superparamagnéticas por el campo magnético es de aproximadamente 0.2 T. Este valor fue determinado encontrando un sitio donde las fuerzas principales (fuerza de arrastre y fuerza magnética) que actúan sobre las partículas magnéticas tienen la misma magnitud. Esto último también permitió encontrar un valor estimado para la susceptibilidad magnética de las partículas superparamagnéticas de  $0.0833 \pm 0.034$ . Por último, los resultados demostraron que existen condiciones críticas que afectan el flujo de glóbulos rojos en microcanales con obstrucciones parciales, como sería el grado de oclusión, la distribución del flujo en bifurcaciones, la pérdida de simetría del perfil de velocidades y el flujo de entrada en el dispositivo. Esto demuestra la importancia de incluir a los eritrocitos ya que además de ser los encargados del transporte de oxígeno, estos influyen en gran medida en diversos fenómenos como lo son la focalización de partículas acarreadoras de fármacos y en el flujo en vasos parcialmente obstruidos en la microvasculatura.



# Abstract

In the present work, the flow of red blood cells in a network of microchannels with partially obstructed vessels was studied. To this end, a microfluidic device was created where red blood cells, superparamagnetic particles and tracer particles suspended in PBS (saline) are flowed, which are subjected to the influence of an external magnetic field. Under these conditions, aggregates of superparamagnetic particles are generated that partially obstruct the microchannels that are closest to the magnet. The flow of red blood cells is analyzed by using optical microscopy and image processing. Image processing is used to calculate both the magnet's magnetic field, as well as the fluid flow and velocity profile in the partially obstructed microchannels. On the other hand, the flow range with which we worked was 0.2 and 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$ . These flows were chosen taking into account the flow velocities in the mouse microcirculation, which were characterized in the reference [31]. Under these flow conditions, it was determined that the minimum intensity of entrapment of superparamagnetic particles by the magnetic field is about 0.2 T. This value was determined by finding a site where the main forces (drag force and magnetic force) acting on the magnetic particles have the same magnitude. The latter also made it possible to find an estimated value for the magnetic susceptibility of superparamagnetic particles of  $0.0833 \pm 0.034$ . Finally, the results showed that there are critical conditions that affect the flow of red blood cells in microchannels with partial obstructions, such as the degree of occlusion, the distribution of flow in bifurcations, the loss of symmetry of the velocity profile and the input flow on the device. This shows the importance of including erythrocytes since in addition to being responsible for the transport of oxygen, they greatly influence various phenomena such as the targeting of drug-carrying particles and the flow in partially obstructed vessels in the microvasculature.









# 1

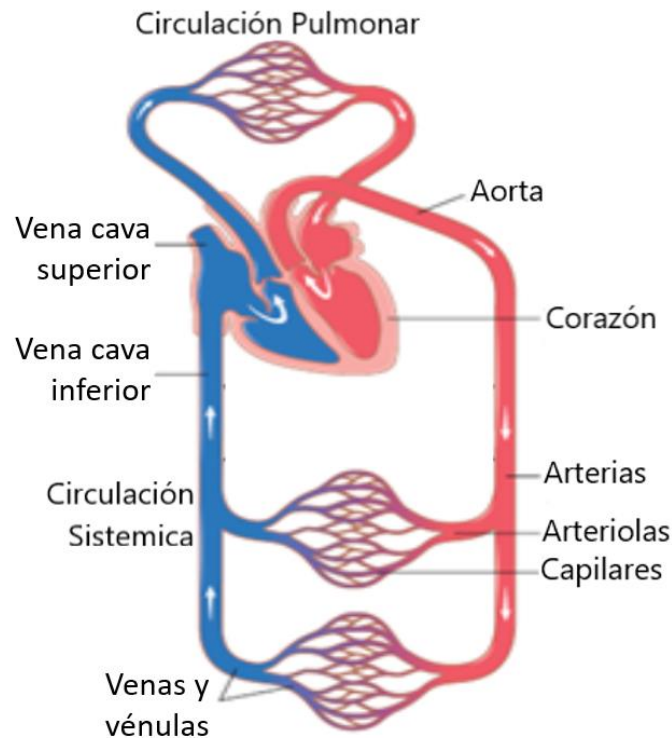
## Introducción

### 1.1. Sistema Circulatorio

El sistema circulatorio es el encargado de bombear, transportar y distribuir la sangre por todo el cuerpo. Este sistema se integra del corazón y una red de vasos sanguíneos: arterias, venas y capilares. El corazón es una bomba muscular y es considerado el más importante de dicho sistema circulatorio debido a que es el encargado de bombear la sangre hacia el resto del cuerpo. Las arterias transportan sangre oxigenada y nutrientes desde el corazón hasta los tejidos, mientras que las venas llevan la sangre menos oxigenada hacia el corazón (las arterias y venas pulmonares son la única excepción a esta regla). Por último, los capilares son el sitio donde tiene lugar el intercambio de nutrientes y gases entre la sangre y los tejidos.

Desde el punto de vista anatómico el sistema circulatorio se divide en sistémico y pulmonar, ambos se originan en el corazón y consisten en vasos sanguíneos que se dirigen hacia todo el cuerpo y los pulmones, respectivamente. El sistema circulatorio sistémico transporta sangre oxigenada a través de arterias desde el corazón hasta los tejidos y regresa sangre desoxigenada a través de venas de nueva cuenta al corazón. Por otro lado, el sistema circulatorio pulmonar transporta sangre desoxigenada mediante las arterias desde el corazón hasta los pulmones y devuelve sangre oxigenada a través de las venas otra vez al corazón. La función de la circulación consiste en atender las necesidades del organismo: Transporte

de oxígeno y nutrientes hacia los tejidos, transportar los productos de desecho y en general todo lo que el cuerpo ya no ocupe, y mantener un entorno apropiado en todos los tejidos tisulares del organismo para lograr la supervivencia y funcionalidad óptima de las células. En la **Figura 1-1** podemos observar un esquema del sistema circulatorio en donde el corazón se ubica en el centro, las arterias se pueden ver de rojo, las venas de azul, los capilares están en las uniones entre las vénulas y arteriolas.

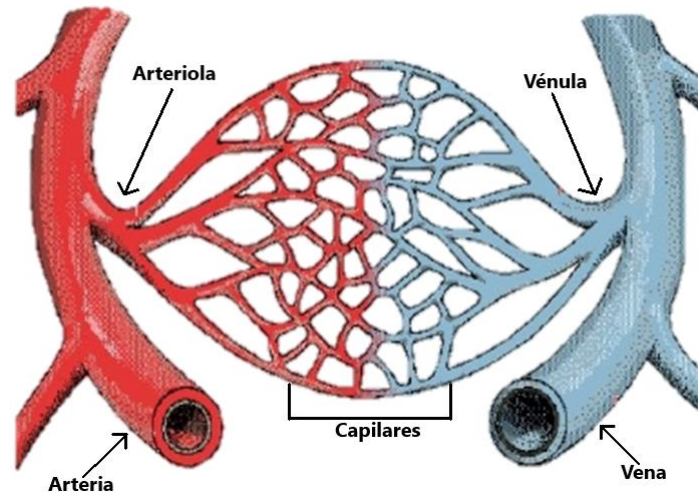


*Figura 1-1 Sistema circulatorio (Imagen tomada del libro Guyton página 170).*

### 1.1.1. Microcirculación

La función principal de la circulación tiene lugar en la microcirculación (capilares), la cual es el transporte de nutrientes hacia los tejidos y la eliminación de los restos celulares. Las paredes de los capilares son muy finas, y están constituidas con una sola capa de células endoteliales muy permeables, por lo que el agua, nutrientes de las células y los restos celulares pueden intercambiarse fácilmente entre los tejidos y la sangre circulante. La microcirculación de cada órgano está organizada específicamente para atender sus necesidades. Las arteriolas se ramifican de 6 – 8 veces antes de que sean lo suficientemente pequeñas para denominarse arteriolas, que en general, tienen diámetros internos de solo 10 –

100  $\mu\text{m}$ . Adicionalmente, las arteriolas se ramifican entre 2 y 5 veces, alcanzando diámetros de 5-9  $\mu\text{m}$  convirtiéndose en capilares. Por otro lado, las venas y vénulas tienen diámetros del mismo orden de magnitud que los de las arterias y arteriolas, respectivamente. Las vénulas también se ramifican como las arteriolas hasta convertirse en capilares, donde dichos vasos son la unión entre las vénulas y arteriolas (**Figura 1-2**), que pueden llegar a medir entre 5-9  $\mu\text{m}$ .



*Figura 1-2 Microcirculación [32].*

### 1.1.2. Sangre

La sangre es el fluido biológico más importante en el cuerpo humano. Consiste en una concentración de células, las cuales se dividen en células rojas (Glóbulos rojos o Eritrocitos), células blancas y plaquetas, donde dichas células están inmersas en un fluido llamado plasma (**Figura 1-3 a**). El plasma contiene un 90% de agua y varios solutos, tales como proteínas (principalmente fibrinógeno, colesterol, albumina y globulina). Las células más abundantes en la sangre son las rojas que constituyen aproximadamente el 99%. Los eritrocitos son células libres de núcleo y en cuestiones saludables y no sometidas a ninguna fuerza presentan una forma bicóncava con un diámetro aproximado de 6 – 8  $\mu\text{m}$ , un grosor de 2  $\mu\text{m}$  y un volumen promedio de 80 – 100  $\mu\text{m}^3$  (**Figura 1-3 b**). Estas células poseen características muy importantes, tales como: una alta flexibilidad y deformabilidad, lo cual les permite tener la habilidad de recuperar su forma de disco bicóncavo. La habilidad de flexibilidad y deformabilidad están dadas principalmente por tres razones: 1) Su estructura similar a una

bolsa llena de líquido, esto le da una gran relación superficie-volumen. 2) Dentro de estas, se encuentra una concentrada solución de hemoglobina, que se comporta como un fluido viscoso incompresible. 3) La estructura de la membrana celular está compuesta de una capa externa compuesta de glicocálix (funciona como barrera permeable limitando el paso de ciertas moléculas a la membrana celular), una bicapa lipídica capaz de resistir el doblado, y un esqueleto de membrana compuesto por una red de proteínas localizadas en la superficie interna de la bicapa lipídica. Esto le da las propiedades viscoelásticas.

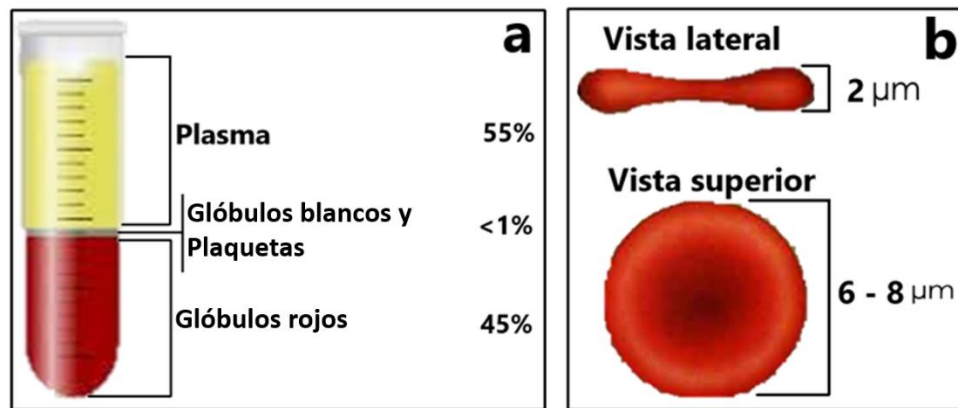


Figura 1-3 a) Componente de la sangre. b) Glóbulo rojo [33].

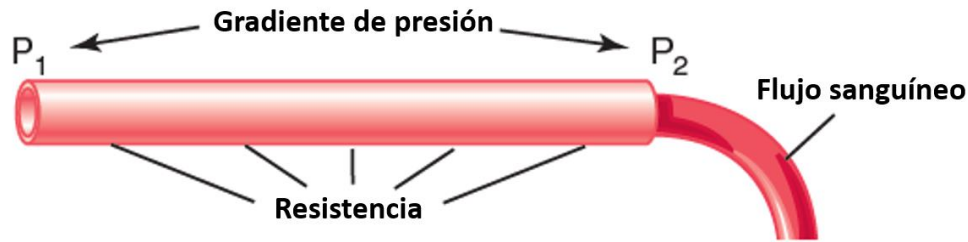
### 1.1.3. Flujo sanguíneo

Conceptualmente, el flujo sanguíneo es la cantidad de sangre que atraviesa un punto dado de la circulación en un periodo de tiempo determinado y se rige principalmente por dos factores, gradiente de presión (diferencia de presión entre los dos extremos de un vaso) y la resistencia vascular (oposición al flujo). En promedio el flujo sanguíneo total en humanos es aproximadamente de  $5000 \frac{ml}{minuto}$ . El flujo sanguíneo se puede calcular con la siguiente ecuación

$$Q = \frac{\Delta P}{R_H} \quad (1-1)$$

En la **ecuación (1-1)** se puede observar  $\Delta P$ ,  $R_H$  y  $Q$ , donde  $\Delta P$  es la diferencia de presión (también llamado gradiente de presión) de la sangre que existe entre dos extremos de un vaso, y  $R_H$  es la resistencia vascular. La relación entre estos tres factores se puede

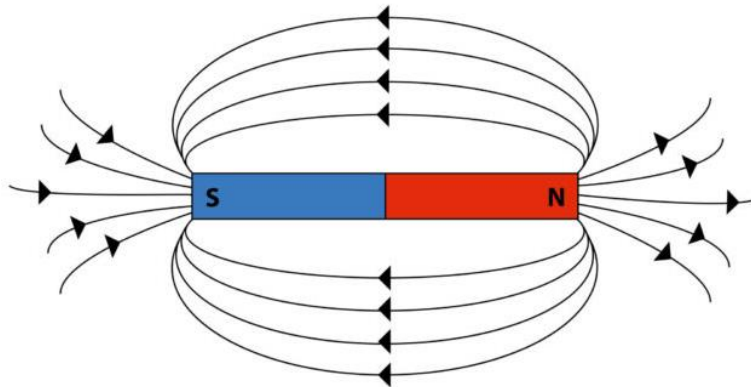
apreciar mejor en el esquema de la **Figura 1-4**. En este esquema  $P_1$  representa la presión en el origen del vaso, mientras que  $P_2$  es la presión en el otro extremo del mismo.



*Figura 1-4 Relación de las diferencias de presiones y resistencia que existen en cualquier vaso. (Imagen tomada del libro Guyton página 172).*

## 1.2. Campo magnético

El campo magnético es generado por una carga o un conjunto de cargas en movimiento. Es decir, se puede generar con el paso de corriente a través de un material conductor o por un imán permanente. Como en este trabajo se utiliza un imán permanente únicamente describiremos el segundo caso. Un imán permanente (**Figura 1-5**) genera un campo magnético adentro y fuera del mismo. El sentido del campo magnético va de su polo norte a su polo sur, generando fuerzas de atracción o repulsión a distintos tipos de materiales que poseen características magnéticas. El campo magnético es generado mediante el movimiento de algunos electrones atómicos, los cuales se mueven de forma coordinada generando un flujo de cargas que genera un campo magnético.



*Figura 1-5 Representación del campo magnético de un imán permanente [34].*

### 1.2.1. Materiales con propiedades magnéticas

Existen diferentes tipos de materiales con propiedades magnéticas, en este trabajo se utiliza los materiales ferromagnéticos (imán permanente) y superparamagnéticos (partículas magnéticas).

### 1.2.2. Ferromagnético

Los materiales ferromagnéticos están formados con iones de metales los cuales forman dominios magnéticos. En cada uno de los dominios, todos los momentos magnéticos están alineados. Al someter este tipo de materiales a un campo magnético intenso, los dominios se alinean con el campo magnético, de forma que aquellos dominios en los que los dipolos estaban orientados con el mismo sentido y dirección que el campo magnético dentro de sí mismo aumenta su tamaño. Por otro lado, al retirar el campo magnético, el campo magnético del material no desaparece por completo, formando un imán permanente. Algunos de estos materiales son hierro, níquel, cobalto, etc.

### 1.2.3. Superparamagnético

Los materiales superparamagnéticos son utilizados comúnmente en nanopartículas (ferromagnéticas o ferrimagnéticas), las cuales están constituidas de un material como el poliestireno y cristales con propiedades superparamagnéticas (como el óxido de hierro), estos cristales están constituidas por un solo dominio magnético. El diámetro típico de las nanopartículas está en el rango de 3-50 nm [30], dependiendo del material. En estos materiales existe una temperatura de transición conocida como temperatura de Curie. Este tipo de material ante la ausencia de un campo magnético externo se caracteriza por tener dipolos magnéticos que están orientados aleatoriamente, pero con la influencia de un campo magnético externo dichos dipolos se orientan en dirección a las líneas de campo, generando un campo magnético propio (**Figura 1-6**). Por otro lado, este material a temperaturas por debajo de esta temperatura de transición es posible magnetizarlo tal como ocurre con los materiales paramagnéticos con la diferencia que la susceptibilidad magnética es mucho más grande. Este tipo de nanopartículas con propiedades superparamagnéticas han sido utilizadas para el estudio del flujo en el sistema circulatorio [2,6].

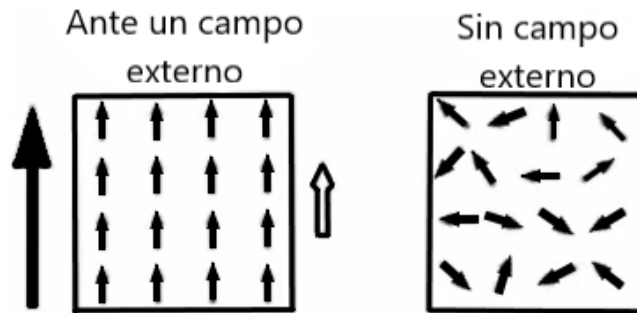


Figura 1-6 Dipolos tras la aplicación de un campo magnético (izquierda) y dipolos después de retirar el campo magnético (derecha).

### 1.2.4. Campo magnético generado por un imán

Para calcular el campo magnético en el punto de interés, en el presente trabajo se va a asumir que la distribución de los dipolos en el imán cilíndrico es continua y que estos ocupan un volumen " $dV$ " con lo que se tiene un momento dipolar magnético expresado por  $d\vec{m} = \vec{M}dV$ . Además, se considera que la magnetización ( $\vec{M}$ ) es constante en todo el volumen y que no es afectada por otro campo magnético.

El sistema de coordenadas que se propone en este trabajo se ve esquematizado en la **Figura 1-7**, donde  $\hat{n}$  es el vector unitario en dirección al punto de interés (P), el cual representa un microcanal (rectángulo en azul) que está en dirección del eje x. Este microcanal está entre 300 – 700  $\mu\text{m}$  al punto más cercano del imán.

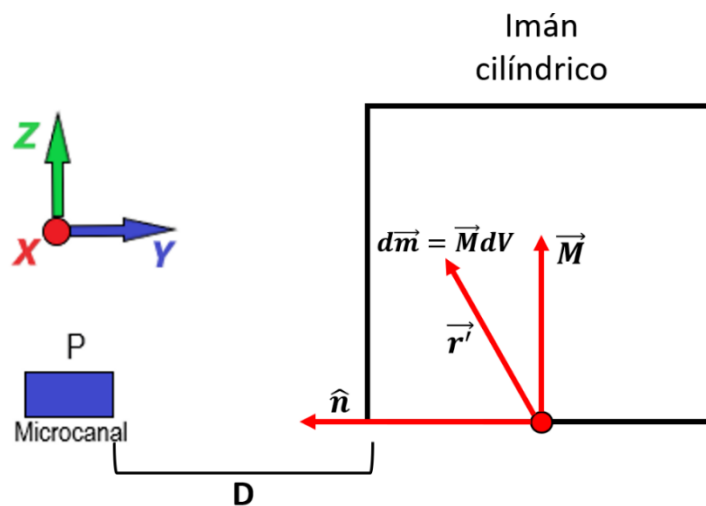


Figura 1-7 Esquema de un imán cilíndrico y microcanal (Vista transversal).  $d\vec{m}$  representa el momento dipolar magnético del elemento del volumen  $dV$ .

Debido a la posición del punto de interés respecto a la geometría cilíndrica del imán, no es posible determinar de forma analítica el campo magnético en dicha posición [1]. Para este tipo de sistemas se utiliza un software para resolver las ecuaciones numéricamente. Tomando en cuenta lo anterior, el campo magnético (este también será llamado  $B(y)$ ) se calcula utilizando FEMM (Finite Element Method Magnetics). Este software tiene diferentes tipos de herramientas las cuales facilitan el cálculo del campo magnético tanto en el vacío como en el aire. FEMM se ha utilizado en diferentes estudios para simular el campo magnético de imanes permanentes [11,8].

### 1.3. Fuerzas dominantes sobre partículas en dispositivos microfluídicos

La dinámica de las partículas dentro un canal depende de diferentes efectos como es el movimiento browniano, la sedimentación, la fuerza de arrastre, las colisiones con los glóbulos rojos. Por otro lado, en este trabajo también se utiliza partículas con propiedades magnéticas, las cuales fluyen dentro de los canales del dispositivo microfluídico y que son sometidas a un campo magnético externo. Las fuerzas dominantes sobre las partículas que se utilizan en este trabajo son la fuerza de arrastre viscoso, las colisiones con los glóbulos rojos y la fuerza magnética generada por un imán. A continuación, se explica cómo se determinan la fuerza de arrastre y la fuerza magnética generada por un imán.

#### 1.3.1. Fuerza de arrastre

La fuerza de arrastre tiene su origen en la fuerza que ejerce un fluido alrededor de una partícula en la dirección del flujo y cuya magnitud para una partícula esférica está dada por la ley de Stokes,

$$F_v = 6\pi\eta a u, \quad (1-2)$$

donde  $\eta$  es la viscosidad dinámica del fluido,  $a$  es el radio de la partícula y  $u$  es la velocidad del fluido. Al coeficiente  $6\pi\eta a$  se le conoce como coeficiente de fricción viscoso. En el caso de la circulación sanguínea, el fluido es un adelgazante. La viscosidad de la circulación sanguínea se puede determinar con el uso de un viscosímetro [29]. La viscosidad de la sangre con un hematocrito al 20% es aproximadamente  $2 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ , esta es mayor a la del agua que es de aproximadamente de  $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ .



**1.3.2. Fuerza magnética**

Para determinar la fuerza magnética aplicada a una partícula con propiedades magnéticas tras la aplicación de un campo magnético externo se sigue el procedimiento de Pengtao Yue y colaboradores [12] que parte de que la fuerza magnética está dada por

$$\vec{F}_m = \int_V \mu_0 (\vec{M} \cdot \nabla) \vec{H} dV, \quad (1-3)$$

donde  $\vec{M}$  es la magnetización de la partícula,  $\vec{H}$  es la intensidad del campo magnético externo aplicado,  $V$  el volumen de la partícula y  $\mu_0$  es la permeabilidad en el vacío. Tomando en cuenta que el tamaño de las partículas es muy pequeño en comparación con las dimensiones del imán, el campo magnético externo se puede considerar una constante dentro del volumen de las partículas, con lo cual la magnetización está dada por la fórmula de Clausius-Mosotti  $\vec{M} = \frac{3x}{3+x} \vec{H}$ , donde  $x$  es la susceptibilidad magnética del óxido de hierro ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), que es el material del que están hechas las partículas. Entonces la ecuación para la fuerza magnética se reduce a

$$\vec{F}_m = \frac{3\mu_0 x V}{3+x} (\vec{H} \cdot \nabla) \vec{H}. \quad (1-4)$$

Considerando que  $\vec{B} = \mu \vec{H}$  y tomando en cuenta el sistema de referencia de la **Figura 1-7**, la relación queda como

$$H_y = \frac{B(y)}{\mu}. \quad (1-5)$$

Sustituyendo  $\vec{H}$  en la **ecuación (1-4)** con estas consideraciones se puede aproximar la magnitud de la fuerza magnética como

$$F_m(y) = \frac{3\mu_0 x V}{(3+x)\mu^2} \left( \frac{\partial(B(y))}{\partial x} + \frac{\partial(B(y))}{\partial y} + \frac{\partial(B(y))}{\partial z} \right) B(y). \quad (1-6)$$

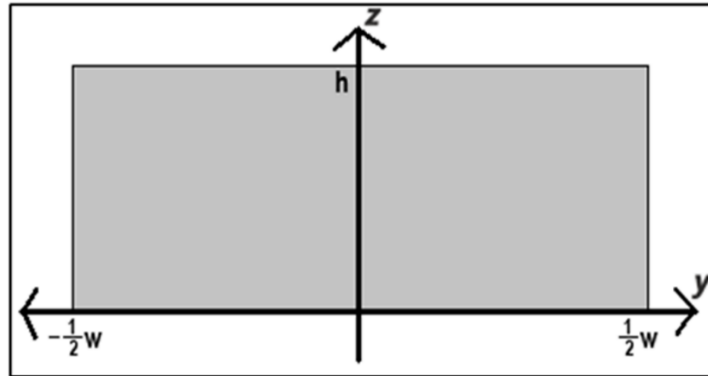
Tomando en cuenta la dependencia de  $B(y)$ , las derivadas parciales con respecto en  $x$  y  $z$  se eliminan, por lo que la ecuación de la fuerza magnética queda como

$$F_m(y) = \frac{3\mu_0 x V}{(3+x)\mu^2} \left( \frac{\partial(B(y))}{\partial y} \right) B(y), \quad (1-7)$$

donde  $B(y)$  es una función que es obtenida mediante una simulación de FEMM.

### 1.4. Ley de Hagen Poiseuille en un canal rectangular

La ley de Poiseuille permite determinar el flujo laminar de un fluido incompresible y newtoniano (viscosidad constante) a través de un tubo de longitud infinita (**Figura 1-8 a**). Aunque este no es el caso de la circulación de la sangre (fluido adelgazante) en los vasos sanguíneos, nos permite realizar una comparación con el perfil de velocidad del flujo sanguíneo.



*Figura 1-8 Sección transversal de un canal rectangular de alto  $h$  y ancho  $w$ .*

Debido a las condiciones de frontera en una geometría rectangular, no es posible obtener una solución analítica para el problema de flujo de Poiseuille con una sección transversal rectangular. Para solución de este problema Bruus y colaboradores [14] propusieron un método que consiste en el uso de las series de Fourier para encontrar la solución del perfil de velocidad.

En la **Figura 1-8** se puede observar una vista transversal del canal donde  $w$  es el ancho y  $h$  es la altura. Las ecuaciones de Navier-Stokes están dadas por

$$[\partial_y^2 + \partial_z^2]u_x(y, z) = -\frac{\Delta p}{\eta L}, \quad (1-8)$$

$$u_x(y, z) = 0. \quad (1-9)$$

donde  $\eta$  es la viscosidad de corte y  $L$  es el largo del canal. La condición asociada para la **ecuación (1-8)** es  $-\frac{1}{2}w < y < \frac{1}{2}w, 0 < z < h$ . Por otro lado, la condición asociada para la condición de no deslizamiento en **ecuación (1-9)** ocurre en  $y = \pm \frac{1}{2}w, z = 0, z = h$ .

Considerando lo anterior, se comienza expandiendo todas las funciones del problema como series de Fourier a lo largo de la dirección  $z$ . Para asegurar el cumplimiento de la condición de no deslizamiento  $u_x(y, 0) = u_x(y, h) = 0$  se usan sólo términos proporcionales a  $\sin(n\pi z/h)$ , donde  $n$  es un entero positivo. Una expansión de Fourier de la constante en el lado derecho en la **ecuación (1-8)** produce,

$$-\frac{\Delta p}{\eta L} = -\frac{\Delta p}{\eta L} \frac{4}{\pi} \sum_{n, \text{odd}} \frac{1}{n} \sin\left(n\pi \frac{z}{h}\right), \quad (1-10)$$

donde la sumatoria contiene únicamente enteros impares,  $n$ . Los coeficientes  $f_n(y)$  de la expansión de Fourier en la coordenada  $z$  de la velocidad son constantes en todo  $z$ , pero funciones en las coordenadas  $y$ :

$$u_x(y, z) = \sum_{n=1}^{\infty} f_n(y) \sin\left(n\pi \frac{z}{h}\right). \quad (1-11)$$

Al sustituir esta serie en el lado izquierdo de la **ecuación (1-8)** conduce a

$$[\partial_y^2 + \partial_z^2]u_x(y, z) = \sum_{n=1}^{\infty} [f_n''(y) - \left(\frac{n\pi}{h}\right)^2 f_n(y)] \sin\left(n\pi \frac{z}{h}\right). \quad (1-12)$$

La solución al problema debe satisfacer que para todos los valores de  $n$  el coeficiente  $n\pi h$  en el término de presión de la **ecuación (1-10)** debe ser igual al coeficiente  $n\pi h$  en el término de la velocidad **ecuación (1-12)**. Por lo tanto, las funciones  $f_n(y)$  están dadas por

$$f_n(y) = 0, \quad \text{para } n \text{ par}, \quad (1-13)$$

$$f_n''(y) - \left(\frac{n\pi}{h}\right)^2 f_n(y) = -\frac{\Delta p}{\eta L} \frac{4}{\pi n}, \quad \text{para } n \text{ impar}. \quad (1-14)$$

Para determinar  $f_n(y)$ , para todas las  $n$  impares, necesitamos resolver la ecuación diferencial de segundo orden no homogénea (**ecuación (1-14)**). Una solución general se puede escribir como

$$f_n(y) = f_n^{\text{inhom}}(y) + f_n^{\text{homog}}(y), \quad (1-15)$$

donde  $f_n^{\text{inhom}}(y)$  es una solución particular a la ecuación no homogénea y  $f_n^{\text{homog}}(y)$  es una solución general a la ecuación homogénea. Al sustituir la función de prueba  $f_n^{\text{inhom}}(y) = \text{constante}$  en la **ecuación (1-14)** y al resolver la ecuación algebraica da como resultado

$$f_n^{homog}(y) = -\frac{4h^2\Delta p}{\pi^3\eta L} \frac{1}{n^3}, \quad \text{para } n \text{ impar.} \quad (1-16)$$

La solución general a la ecuación homogénea,  $f_n''(y) = (n\pi/h)^2 f_n(y) = 0$  es la combinación lineal

$$f_n^{homog}(y) = A \cosh\left(\frac{n\pi}{h} y\right) + B \sinh\left(\frac{n\pi}{h} y\right) \quad (1-17)$$

La solución  $f_n(y)$  que satisface las condiciones de contorno de no deslizamiento  $f_n\left(\pm\frac{1}{2}w\right) = 0$  es

$$f_n(y) = \frac{4h^2\Delta p}{\pi^3\eta L} \frac{1}{n^3} \left[ 1 - \frac{\cosh\left(n\pi\frac{y}{h}\right)}{\cosh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)} \right], \quad \text{para } n \text{ impar,} \quad (1-18)$$

que conduce al campo de velocidad para el flujo de Poiseuille en un canal rectangular. Sustituyendo  $f_n(y)$  de la **ecuación (1-18)** en la **ecuación (1-11)** se obtiene

$$u_x(y, z) = \frac{4h^2\Delta p}{\pi^3\eta L} \sum_{n, \text{ odd}}^{\infty} \frac{1}{n^3} \left[ 1 - \frac{\cosh\left(n\pi\frac{y}{h}\right)}{\cosh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)} \right] \sin\left(n\pi\frac{z}{h}\right). \quad (1-19)$$

## 2

## Antecedentes

En esta sección se mostrarán algunos estudios que se han realizado tanto in vitro como in vivo con el fin de tener un mejor entendimiento sobre los efectos que tiene el atrapamiento de nano/micropartículas en vasos sanguíneos mediante el uso de un campo magnético externo.

### 2.1. Estudios de modelación de la microvasculatura

En 2019 Sandor I. Bernad y colaboradores [8] implementaron un arreglo experimental in vitro que les permite modelar la arteria femoral común de un humano. Este estudio investiga la viabilidad de utilizar un imán permanente para atrapar partículas magnéticas que circulan dentro de un sistema vascular con una bifurcación. El objetivo principal es entender como ocurre la focalización de fármacos en una bifurcación con una lesión. Estos autores presentan un análisis cuantitativo del atrapamiento de partículas ferromagnéticas dentro de la bifurcación de la arteria, en donde se busca mejorar la eficiencia de acumulación de dichas partículas. La modelación in vitro de la arteria se diseñó en una escala milimétrica (vaso principal = 10 mm de ancho, ramas = 6 mm). Esta escala se relaciona directamente con los vasos sanguíneos grandes y medianos (como la arteria femoral) donde la hidrodinámica de la sangre tiene una fuerte influencia en el atrapamiento de partículas. La focalización de partículas magnéticas se realiza mediante el análisis de los tamaños y posiciones del agregado

de partículas, y la influencia del campo magnético. El imán permanente que genera dicho campo magnético se coloca a diferentes distancias con respecto a la pared de la bifurcación, lo que permitió determinar la eficiencia del atrapamiento de partículas con respecto a dicha distancia. Los resultados que obtuvieron muestran que la disminución de la distancia entre el imán permanente y la región objetivo conduce a una mejora de la eficiencia de captura de partículas. Adicionalmente, se comprobó que la ubicación de la fuente del campo magnético y la naturaleza del fluido son factores importantes que influyen en la eficiencia de la captura de partículas. Por último, este estudio es esencial desde el punto de vista de la focalización de partículas porque con un imán como el usado en este trabajo se puede utilizar para la focalización de partículas en vasos sanguíneos situados a una mayor profundidad en el cuerpo. Cabe señalar que en este trabajo se utilizó una mezcla de agua y glicerol como fluido análogo de la sangre. Esto implica que no se está considerando la interacción entre glóbulos rojos y partículas, lo cual pudiera modificar la dinámica de atrapamiento de dichas partículas.

## **2.2. Modelos in vivo**

En 2019 Chien-Yu Chiu y colaboradores [6] estudiaron las variaciones del flujo sanguíneo en vasos del músculo cremáster de rata al inducir la formación de agregados de nano/micropartículas superparamagnéticas mediante el uso de un campo magnético externo. En particular, estos autores estudiaron el efecto que tiene el cubrir las partículas magnéticas (de 50 y 250 nm de diámetro) con Polietilenglicol (PEG). Para esto utilizaron un método conocido como moteado láser, el cual sirve para monitorear los cambios en el flujo sanguíneo del tejido en tiempo real. Con este método se observaron las fluctuaciones que ocurren en el flujo sanguíneo al colocar el imán cerca del músculo por un período de 14 minutos. Es importante denotar que el tamaño de las partículas también tiene una fuerte influencia en la recuperación del flujo una vez que el imán es retirado. En el caso de las partículas de 250 nm cubiertas con PEG, el flujo retorna a los valores basales cuando se deja de aplicar el campo magnético, mientras que en el caso donde se utilizan partículas sin PEG el flujo se recuperó únicamente al 70%. Por otro lado, para las partículas de 50 nm, el flujo se recuperó en un 85% mientras que en el caso donde no se utilizó PEG el flujo solo se incrementó ligeramente debido a que no se formaron agregados de partículas. Cabe mencionar que, tras las oclusiones, tanto con partículas de 50 nm como de 250 nm se aprecian distintas oscilaciones

del flujo, las cuales no son explicadas por los autores de este artículo. Estos resultados implican que el PEG mejora la captura de las nano/micropartículas magnéticas y reduce el riesgo de oclusión de la microvasculatura por partículas pegadas a la pared endotelial una vez que se retira el imán.

Adicionalmente, en 2016 Jie-Min Jia y colaboradores [2] desarrollaron un nuevo método para poder estudiar la isquemia cerebral en vasos sanguíneos en el cerebro de ratón y lo llamaron SIMPLE, 'Stroke Induced with Magnetic Particles' (Accidente cerebrovascular isquémico inducido con partículas magnéticas). Esta técnica utiliza nanopartículas superparamagnéticas para la formación de agregados de dichas partículas dentro de los vasos sanguíneos por medio de microimanes de diferentes dimensiones. Esto permite inducir un accidente cerebrovascular isquémico focalizado en ratones, así como controlar la duración de la oclusión, lo cual lo convierte en un método reversible en la oclusión de vasos en la microvasculatura. Con este método se logra una nueva forma de imitar un ataque isquémico transitorio, sin tener que hacer uso de métodos invasivos. Esto facilita el estudio del daño causado a diferentes células por la obstrucción parcial o total del flujo sanguíneo.

Por otro lado, SIMPLE se utilizó en 2018 por Jie-Min Jia y colaboradores [7] para modelar un accidente cerebrovascular perinatal isquémico en ratones perinatales y neonatales. Este método proporciona una estrategia conveniente para producir isquemia focal en ratones en una edad temprana. Esto es debido a que las cirugías para ratones a una edad temprana no son tan efectivas. Estos autores utilizaron nanopartículas magnéticas para ocluir la arteria cerebral media distal de las crías de ratones. Los resultados que obtuvieron muestran que el método SIMPLE permite el estudio perinatal y neonatal del accidente cerebrovascular de una manera que es conveniente y potencialmente puede ampliar la escala de investigación de un accidente cerebrovascular perinatal isquémico. Combinando con crías de ratón genéticamente modificados, proporciona una profunda visión mecanicista de la patología de un accidente cerebrovascular perinatal isquémico.

### **2.3. Planteamiento del problema**

Lo comentado en las secciones anteriores deja claro que el estudio del atrapamiento de partículas magnéticas en microcanales y la consecuente formación de agregados de dichas partículas con la influencia de un campo magnético externo depende de múltiples factores como son las propiedades magnéticas de las partículas, la naturaleza del fluido, la geometría de la red vascular, las interacciones entre glóbulos rojos y partículas, etc. Así mismo, como se describió anteriormente la formación de agregados de partículas en vasos sanguíneos tiene una gran relevancia debido a diversas aplicaciones como lo son la focalización de fármacos y como un medio para modificar el flujo sanguíneo en diferentes sitios. En los modelos in vivo no ha sido posible estudiar con detalle el flujo sanguíneo y su modificación cuando existe la presencia de agregados de partículas, particularmente cerca de las bifurcaciones. Por otro lado, en estudios de modelado de la microvasculatura con el uso dispositivos microfluídicos con obstrucciones solamente se ha estudiado el comportamiento del flujo, pero sin tomar en cuenta explícitamente los glóbulos rojos u otras células (glóbulos blancos y plaquetas). Actualmente, hay algunos estudios de simulaciones computacionales del flujo de glóbulos rojos a través de canales con obstrucciones [9] enfocados a de entender la dinámica compleja que surge en estas circunstancias. En general se ha determinado que los glóbulos rojos tienden a concentrarse antes de pasar la obstrucción (estenosis), para posteriormente deformarse a lo largo de la obstrucción y finalmente recuperar su configuración al pasar la obstrucción. Estas obstrucciones se pueden modelar con el uso de nano\micropartículas magnéticas y un campo magnético externo de una forma muy eficaz y más general, lo que puede ayudar a entender los cambios en el flujo sanguíneo en redes vasculares con vasos parcialmente obstruidos.



## **2.4. Hipótesis**

El análisis del flujo de glóbulos rojos en un arreglo de microcanales con obstrucciones parciales de agregados de partículas permitirá identificar condiciones críticas que afectan el flujo de los eritrocitos en la microcirculación.

## **2.5. Objetivos**

### **2.5.1. General**

Estudiar el flujo de glóbulos rojos en una red de microcanales con obstrucciones parciales de agregados de partículas magnéticas inducidos por un campo magnético externo.

### **2.5.2. Particulares**

1. Determinar un rango de velocidad de flujo característico de la microcirculación y de campo magnético de tal forma que se puedan generar obstrucciones parciales de agregados de partículas magnéticas dentro del arreglo microfluídico.
2. Determinar el valor de la susceptibilidad magnética de las partículas en base a las fuerzas más importantes que actúan sobre las partículas magnéticas.
3. Caracterizar los cambios de flujo de glóbulos rojos en los diferentes flujos de la red de microcanales al generar agregados de partículas magnéticas con diferentes grados de obstrucción.

## 3

## Materiales y métodos

### 3.1. Dispositivo Microfluídico

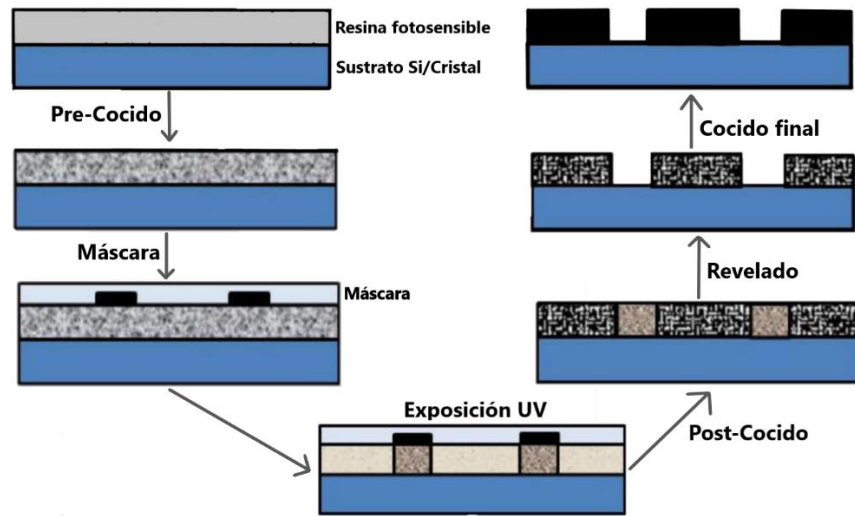
Para realizar los objetivos planteados anteriormente se utiliza la técnica de litografía suave para la creación de los dispositivos microfluídicos.

#### 3.1.1. Litografía óptica

La técnica de litografía suave que se utiliza se basa en la litografía óptica (o fotolitografía). La fotolitografía es el proceso en el cual se transfieren formas geométricas de una máscara a la superficie de una oblea de silicio (molde).

El proceso involucrado en esta técnica consiste en la limpieza del sustrato que soportara al molde, el cual es normalmente una oblea de silicio en la cual se deposita la resina fotosensible (SU-8 serie 2007, MicroChem), previamente calentada por 20 min a 60 °C. La resina ya en el sustrato se hace girar en un spinner a 2000 rpm para crear una capa con altura uniforme de 22  $\mu\text{m}$ , cuidando que la superficie tenga la menor cantidad de irregularidades para obtener suficiente espacio para el diseño deseado. El siguiente paso es un pre-cocido de la resina a 95 °C por 10 min. Después de esto la resina se encuentra lista para la exposición de 1 min a radiación UV que polimeriza las regiones expuestas a este tipo de radiación, mientras que la resina que se encuentra en las regiones no irradiadas permanece sin polimerizar. Un post-

cocido igual al pre-cocido es aplicado para posteriormente realizar un proceso de revelado (SU-8 developer MicroChem) donde el dibujo queda finalmente impreso en la oblea. El último paso para garantizar la evaporación del solvente y residuos el molde es calentado por 10 min a 120 °C. Por último, se expone el molde a silano (SiH<sub>4</sub>) durante 30 minutos. Esto último es para garantizar que las réplicas no se peguen al molde. Después de esto el molde está listo para crear un gran número de réplicas en un material elastomérico, en este caso Polidimetilsiloxano (PDMS). En la **Figura 3-1** se muestra un esquema de la litografía óptica con este tipo de resina.



*Figura 3-1 Pasos de la técnica de litografía óptica. (Imagen modificada de la referencia [16]).*

**3.1.2. Litografía suave**

La Litografía suave es una colección de técnicas, que ofrecen herramientas para crear microcanales de manera complementaria y extendida a la fabricación convencional de microdispositivos (fotolitografía), la cual fue optimizada por George Whitesides [17]. El resultado ofrece dos ventajas principales, el uso de material elastomérico en el cual se graban patrones de un molde y que permite el uso de bioquímicos ya que el elastómero no afecta estos compuestos que son esenciales para mantener un ambiente adecuado en el estudio de muestras biológicas.

El corazón de la técnica reside en tres partes: En primer lugar, la creación de una máscara utilizando un software (AutoCAD) que mantiene la precisión requerida de micrómetros. En segundo lugar, un molde con el diseño del microdispositivo fabricado con litografía óptica

(descrita en la sección anterior) y, por último, las réplicas en elastómero como producto final. La máscara se genera a través de AutoCAD que cuenta con suficiente precisión para poder generar diseños en la escala de micrómetros. El diseño también debe ser impreso garantizando un error muy bajo, del orden de 1  $\mu\text{m}$ . La máscara contiene regiones oscuras y transparentes para bloquear selectivamente la luz UV en diferentes regiones para obtener el patrón deseado.

Para la creación de las réplicas se sigue el siguiente procedimiento. Se prepara una mezcla de base y agente curante de PDMS en una relación de 10:1, el cual se introduce en un horno de vacío durante 20 minutos para asegurar que no tenga burbujas. El siguiente paso consiste en verter el PDMS líquido encima del molde cubriendo completamente el área del dispositivo con una altura aproximada de 7mm. Posteriormente, se coloca dentro un horno a 60 °C durante 4 horas, esto para que el PDMS se polimerice. El siguiente paso consiste en desprender el PDMS del molde asegurándose de no romperlo. En este paso se obtiene la réplica con el dibujo del dispositivo impreso en PDMS. El siguiente paso consiste en hacer la entrada y salida de la réplica utilizando un sacabocados. Por último, la réplica se pega mediante plasma de oxígeno a un portaobjetos y se le colocan mangueras en la entrada y salida. En la **Figura 3-2** se muestra un esquema de los pasos más importantes en la creación de las réplicas de PDMS.

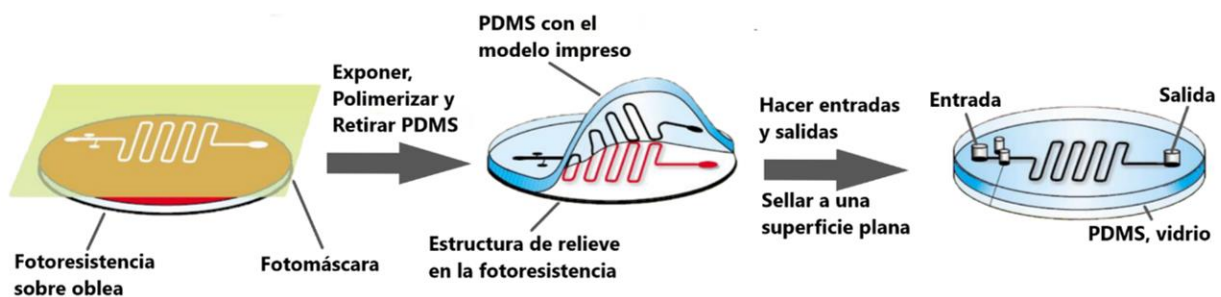


Figura 3-2 Pasos para la fabricación de dispositivos microfluídicos. (Imagen modificada de la referencia [18]).

### **3.2. Obtención y uso de la sangre**

La sangre que se utiliza para este trabajo se obtiene de voluntarios de la misma institución. Para la obtención de la sangre se realiza el siguiente protocolo [19,20]: Se realiza un procedimiento de esterilización a los materiales de uso (agujas de 21 g) y al área de donde se obtendrá la sangre. En este caso los pasos a seguir son: 1) La colocación del torniquete para localizar la vena y esterilización del área donde se obtendrá la sangre mediante un algodón con alcohol. 2) Introducir la aguja al tubo de vacío que contiene anticoagulante etilendiaminotetraacétato (EDTA). 3) y por último quitar el torniquete para que la sangre fluya hacia el tubo de vacío. Por otro lado, para el almacenamiento de la sangre se guarda en un refrigerador a 4°C. La sangre se utiliza con un máximo de 4 horas después de la obtención. Después de este tiempo los glóbulos rojos comienzan a degradarse y por lo tanto sus propiedades mecánicas comienzan a cambiar. En este trabajo únicamente se utilizaron glóbulos rojos, por esto es necesario separar los componentes sanguíneos (**Figura 1-3 a**). Para lograr lo anterior se utiliza una centrifugadora, donde mediante una centrifugación suave con 2000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente se separa la sangre en tres componentes: Glóbulos rojos, plasma y capa leucocítica. Posteriormente, se retira con una micropipeta la capa leucocítica y el plasma dejando únicamente glóbulos rojos. Por último, los glóbulos rojos son lavados 2 a 3 veces con PBS (Solución Salina), donde se centrifugan a 2000 rpm durante 5 minutos y se retira con una micropipeta el excedente. Este último paso permite asegurar que se eliminaron por completo el plasma y la capa leucocítica. Una vez que los glóbulos rojos son lavados, estos son diluidos con PBS a un hematocrito del 20% y se hacen fluir aproximadamente durante 25 minutos (tiempo que dura el experimento). El PBS que se utiliza en este trabajo tiene aproximadamente una osmolaridad del 310 mOsm/kgH<sub>2</sub>O y un pH del 7.4, estas son las condiciones que se recomiendan [27] para que los glóbulos no pierdan propiedades mecánicas. Por otro lado, el PBS es permeable al oxígeno lo cual favorece a que los glóbulos rojos se mantengan en buenas condiciones durante el tiempo que dura el experimento. Este procedimiento para la obtención de sangre se llevó a cabo bajo las directrices internacionales establecidas para el estudio en poblaciones humanas de la Declaración de Helsinki.

### **3.3. Partículas**

En este trabajo se usan dos tipos de partículas: superparamagnéticas y trazadoras. Las superparamagnéticas se utilizan para la generación de la obstrucción en los microcanales mediante un campo magnético externo. Por otro lado, las partículas trazadoras se utilizan para medir la velocidad del flujo y el efecto que causan los glóbulos rojos en el flujo de los microcanales. En la siguiente sección se hablará de las características de estas partículas.

#### **3.3.1. Superparamagnéticas**

Las partículas superparamagnéticas fluorescentes que se utilizan en este trabajo son fabricadas por “Bangs Laboratories, Inc” y tienen una concentración del 1% (v/v). Estas partículas cuentan con cristales de óxido de hierro dispersos en un polímero de poliestireno y tienen un diámetro medio de 0.9  $\mu\text{m}$  que varía entre 0.4  $\mu\text{m}$  y 1.2  $\mu\text{m}$ . Cabe mencionar que la distribución de tamaños obedece a una distribución Gaussiana. A pesar de que estas partículas son fluorescentes, su presencia en la formación de los agregados se cuantificó únicamente con campo claro. Cabe recalcar que estas partículas tienen una densidad en el rango de 1.5-2.1  $\text{g}/\text{cm}^3$ .

#### **3.3.2. Trazadoras**

Las partículas fluorescentes marcadoras de trayectorias que se utilizan son fabricadas por “Molecular Probes”. Estas partículas se forman a partir de un polímero amorfo como el poliestireno y tienen un diámetro de 2  $\mu\text{m}$ . Cabe mencionar que este diámetro puede variar en 2-3% de su tamaño. La fluorescencia de este tipo de partículas se debe a un etiquetado interno que consiste en hinchar microesferas poliméricas en una solución orgánica de tinte/solvente, donde el tinte se difunde en la matriz del polímero atrapándolo cuando el solvente es removido. Esto tiene distintos beneficios como permitir la funcionalización de las partículas, protección contra blanqueamiento, y un amplio rango de tamaños (20nm - 90 $\mu\text{m}$ ). La longitud de onda de excitación/emisión es de 580/605, respectivamente.

### **3.4. Imán con geometría cilíndrica**

El imán que se utiliza fue fabricado por “SM Magnetics (<https://supermagnetman.com/collections/neo-cylinders/products/d1006>)”. Este imán tiene geométrica cilíndrica y cuenta con Neodimio 35. Este imán tiene un diámetro y altura de 2 mm. El campo magnético máximo de este imán esta entre 0.7 – 0.8 T. Este tipo de imanes ya han sido utilizados por diferentes estudios para la manipulación de nano-micropartículas [2,10].

### **3.5. Arreglo experimental del campo magnético**

#### **3.5.1. Campo magnético**

Para este arreglo experimental esquematizado en la **Figura 1-7** donde se indica que el campo magnético se aplica a un microcanal que se encuentra a la misma altura que la parte inferior del canal y a una distancia  $D$  del punto más cercano al imán (la distancia  $D$  varía entre  $50\ \mu\text{m}$  y  $1\ \text{mm}$ ). Para determinar el campo aplicado se realizaron mediciones experimentales y de simulaciones computacionales. Los datos simulados se obtuvieron mediante un software llamado FEMM (Finite Element Method Magnetics), el cual ayudó a obtener los valores de campo magnético en la configuración que se propone en este trabajo. Por otro lado, los datos experimentales fueron obtenidos mediante el uso de un gaussímetro y procesamiento de imágenes.

### 3.5.2. Cálculo de la susceptibilidad magnética

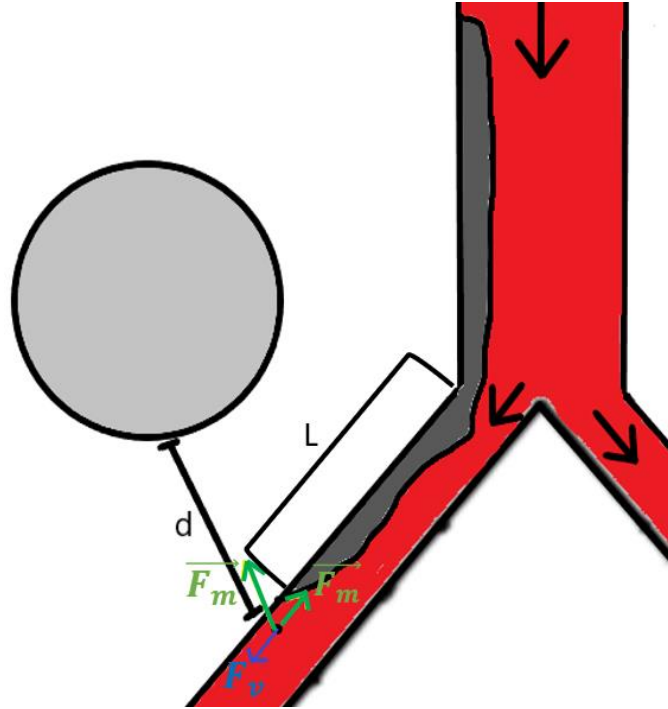


Figura 3-3 Arreglo experimental para el cálculo de la susceptibilidad magnética. Se localiza un punto donde la fuerza de arrastre ( $\vec{F}_v$ ) tienen una magnitud similar a la proyección de la fuerza magnética ( $\vec{F}_m$ ) en dirección opuesta a la dirección del flujo. Entre la fuerza magnética y su proyección se forma un ángulo  $\theta$ .

Para el cálculo de la susceptibilidad magnética asumimos que es posible encontrar una región en el microcanal donde la fuerza de arrastre tenga una magnitud similar a la de la proyección de la fuerza magnética en dirección opuesta al flujo. Como se puede observar en la **Figura 3-3** la región que se busca se encuentra sobre la rama cercana al imán a una longitud  $L$  del vértice de la bifurcación. Esta longitud  $L$  experimentalmente es de  $1988 \pm 195 \mu\text{m}$ . Teniendo esta región ubicada es posible igualar la **ecuación (1-2)** y la **ecuación (1-7)**, y despejar la susceptibilidad magnética ( $\chi$ ) dando la **ecuación (3-1)**. Para lograr lo anterior tenemos que conocer los siguientes parámetros: El volumen de la partícula, permeabilidad magnética en el vacío, permeabilidad magnética del fluido, el campo magnético, la viscosidad del fluido, el radio, la velocidad que tiene en esa región la partícula y el ángulo ( $\theta$ ) de proyección de la fuerza magnética. Para el valor de la permeabilidad magnética y viscosidad del fluido se tomó como referencia la del agua. El volumen de la partícula, radio de la partícula y la



permeabilidad magnética en el vacío ya es conocida. Por otro lado, el campo magnético se obtiene como se describió anteriormente. Y, por último, la velocidad de la partícula y el ángulo de proyección se obtendrán experimentalmente. El resultado de la susceptibilidad magnética se va a comparar con el reportado en otros estudios [13] anteriormente para el óxido de hierro. Finalmente, determinando el valor dicha susceptibilidad se procederá a calcular la fuerza magnética aplicada a una partícula.

$$x = \frac{3}{\frac{3\mu_0 V}{(6\pi\eta a u)\mu^2} \frac{\partial(B(y))}{\partial y} B(y) \cos \theta - 1} \quad (3-1)$$

### 3.6. Arreglo experimental con el dispositivo microfluídico

El arreglo experimental se muestra esquematizado en la **Figura 3-4**, donde se puede apreciar que el dispositivo se coloca sobre la platina de un microscopio (Olympus BX-51). Una vez que el imán se insertó en el dispositivo, se le hace fluir glóbulos rojos, partículas trazadoras (Fluorescentes), partículas magnéticas suspendidas en PBS (Solución salina), esto mediante el uso de una bomba de infusión de jeringa. Por último, se toman videos de campo claro y de fluorescencia en diferentes ramas del dispositivo por medio de una cámara rápida (FASTCAM SA3 modelo 60K-M1), utilizando un objetivo de 10X.

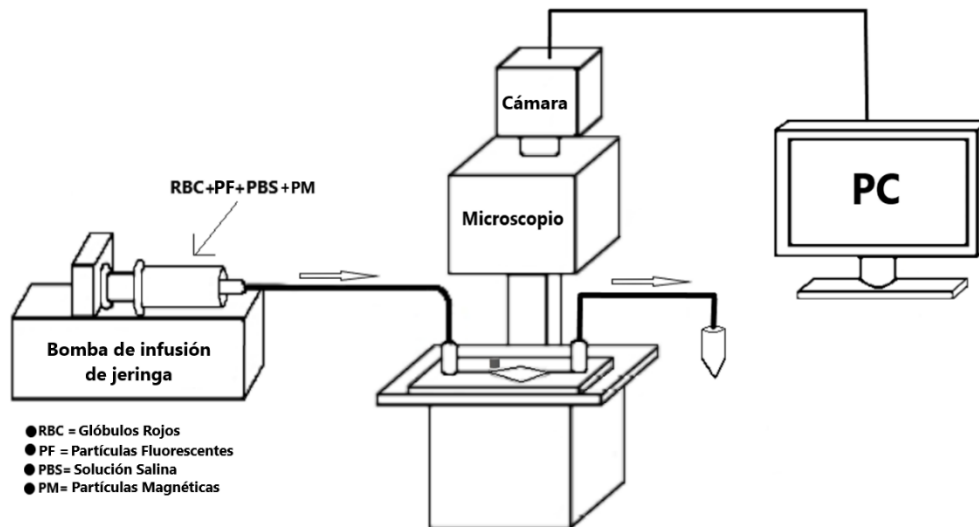
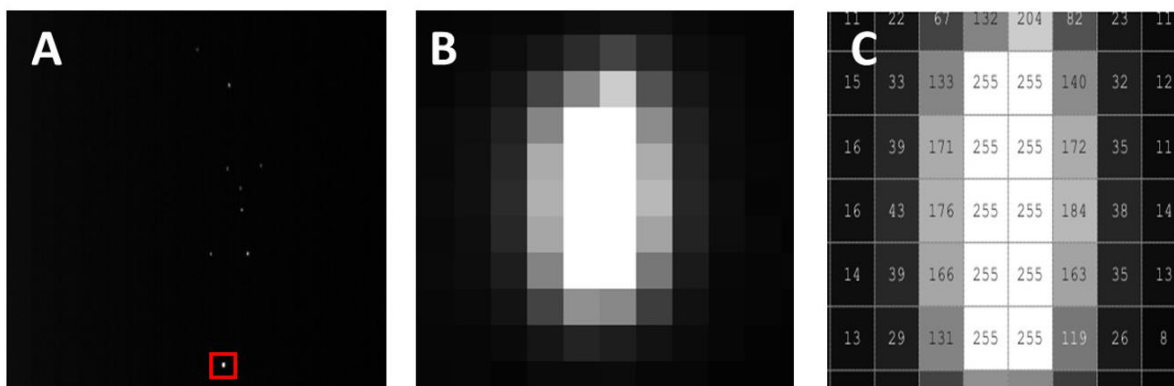


Figura 3-4 Arreglo experimental del dispositivo microfluídico.

### 3.7. Análisis de imágenes y videos

Los videos son una secuencia de imágenes que son tomadas a una frecuencia específica. Las imágenes de cada video tienen un formato y resolución en específico. Esto depende de las condiciones que se grabó el video y las necesidades en las cuales se utilizará. En este trabajo se utilizan videos a escala de grises con una profundidad de imagen 8 bits. Las imágenes en escala de grises es una representación donde en cada píxel se representa con un valor numérico individual que está determinado por la intensidad de la luz capturada en un determinado tiempo por un elemento de área del sensor, donde la escala se extiende entre blanco y negro. Así mismos, la profundidad de 8 bits tiene valores entre 0 y 255, donde el 0 se muestra como color negro y el 255 como el color blanco (**Figura 3-5**).



*Figura 3-5 Representación de partículas en un video en campo de fluorescencia. A) Imagen original, B) Imagen del cuadrado rojo de la imagen A de una partícula. C) Valores de intensidad para cada píxel de la partícula.*

El análisis de estos videos se hace mediante procesamiento de imágenes, el cual utiliza diversos procesos. Antes de iniciar el análisis, se debe de conocer el tamaño de los píxeles que conforman la imagen en micras. Para obtener este valor, se utilizó una regla micrométrica que contiene líneas oscuras en un fondo transparente con una separación de  $10\ \mu\text{m}$  a la cual se le toma una imagen para medir la distancia entre dichas líneas. Con esto se determinó una relación de  $1\ \text{pixel} = 0.584\ \mu\text{m}$ .

Los videos se tomaron a una frecuencia de 125 cuadros por segundo, adquiriendo 5445 imágenes de un video de 43 segundos. Utilizamos un objetivo de larga distancia focal de

10X. Cada video tiene una resolución de 512x512 pixeles los cuales equivalen a 876x876  $\mu\text{m}^2$ . Estos videos se tomaron en campo de fluorescencia para una óptima visualización de las trayectorias de las partículas.

Para la detección de las partículas y sus trayectorias se utilizó un algoritmo basado en el método de Crocker y Grier [23] con el fin de calcular las trayectorias y velocidades de las partículas en los canales del dispositivo microfluídico. Este algoritmo consiste en 5 etapas para el seguimiento de las trayectorias. Estas 5 etapas son:

1. Eliminación de partículas pegadas. Se eliminan las partículas que no se mueven más de 10 cuadros seguidos. Esto se hace siguiendo las etapas 2,3 y 4 que se explican a continuación.
2. Restauración de la imagen. Con el fin de mejorar la imagen se hace una matriz de convolución con kernels que resaltan regiones que contengan niveles de gris que conforman gaussianas de revolución que corresponden a las partículas mientras que el fondo es suavizado.
3. Localización de partículas. Se realiza una dilatación en escala de grises a la imagen con el fin de resaltar más las partículas.
4. Detección de los centroides de las partículas. Se detecta cada partícula de forma individual y se toma un área alrededor del píxel más brillante de cada una (se asume que esa región es el centro de la partícula).
5. Ligando ubicaciones para construir las trayectorias. Al encontrar las posiciones de las partículas en cada cuadro del video se ligan las ubicaciones de cada cuadro con la de los cuadros subsecuentes para generar las trayectorias de las partículas. Para esto se busca la ubicación más probable en 2 cuadros consecutivas. En el caso de que las partículas sean indistinguibles, la trayectoria se determina con la proximidad entre 2 cuadros. El algoritmo para ligar trayectorias fue realizado considerando la dinámica de partículas Brownianas que no interactúan entre sí y que tienen asociado un coeficiente de difusión  $D$ . Entonces, la probabilidad de que una partícula Browniana se desplace a una distancia en el plano (2D) al tiempo  $\tau$  está dada por

$$P(\delta|\tau) = \frac{1}{4\pi D\tau} \exp\left(-\frac{\delta^2}{4D\tau}\right). \quad (3-2)$$

Para que esta parte sea fácil de implementar es necesario que los desplazamientos de las partículas entre 2 cuadros sucesivos del video sean menores a la distancia típica entre las distintas partículas, de otra manera se pueden tener errores en la construcción de las trayectorias. Con todo esto se logra obtener las trayectorias de las partículas y proceder a correlacionarlas con los canales del dispositivo microfluídico.

## 4

## Resultados

### 4.1. Inducción magnética

Para determinar la inducción magnética en la configuración que se propuso en la **sección 3.5.1**, se utilizaron dos tipos de mediciones: experimental y de simulación. 1) Para las mediciones de simulación se utilizó FEMM el cual permite simular el campo magnético de un imán con geometría cilíndrica. Este tipo de software para el cálculo del campo magnético utiliza librerías ya preestablecidas de imanes con geometrías en donde su campo magnético ya es bien conocido (cilíndrica, cónica, cubica, etc.). Con estas librerías se hacen aproximaciones al campo magnético del imán con una geometría específica y para diferentes tipos de materiales como el que se utiliza en este trabajo (Neodimio 35). Por último, las mediciones se tomaron desde la esquina del lado izquierdo superior (**Figura 4-1 A**) hasta el punto P tomando datos cada  $50\ \mu\text{m}$  hasta llegar a  $1.4\text{mm}$ . Cabe aclarar que esta simulación se hizo tomando en cuenta el aire. 2) Para la medición experimental se tomaron imágenes ( $N=50$ ) a diferentes distancias entre el extremo de un sensor axial de campo magnético de un gaussímetro (Gaussmetro digital Lakeshore modelo 410) y el extremo de abajo del imán cilíndrico de Neodimio (**sección 3.4**) utilizando un microscopio Aigo, equipado con un objetivo de 4X (**Figura 4-1 B**). Para poder comparar la medición experimental con la de simulación, la medición experimental fue promediada cada  $50\ \mu\text{m}$  y se les aplicó un escalamiento de 1.75 debido a que los valores máximos de inducción magnética eran diferentes a los que daban la simulación y los que proporcionaba el fabricante de  $0.7\ \text{T}$  a  $0.8$

T. Un caso similar ocurre en el trabajo de Jie-Min Jia y colaboradores [2] donde también fue necesario hacer un escalamiento, con el fin de calcular la fuerza magnética. Comparando las mediciones experimentales y simuladas (**Figura 4-1 C**) se puede observar que ambas mediciones tienen la misma tendencia como función de la distancia entre el extremo del imán y el punto de interés (ver **Figura 1-7**). Esto nos confirma que la simulación está dando los valores correctos del campo magnético. Esto nos permite calcular la fuerza magnética aplicada a una partícula superparamagnética con las mediciones obtenidas mediante la simulación.

#### 4.1.1. Fuerza magnética aplicada a una partícula superparamagnética

Para determinar la fuerza magnética aplicada a una partícula superparamagnética se siguió el procedimiento que se describe en la **sección 3.5.2**, donde primero se obtuvo el valor de la susceptibilidad magnética. Para el cálculo de la susceptibilidad magnética se hizo fluir una mezcla de partículas superparamagnéticas y partículas trazadoras suspendidas en PBS a un flujo de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con la influencia de un campo magnético externo como se muestra en la **Figura 3-3**. Después de 23 minutos se localiza un área donde la fuerza de arrastre tiene la misma magnitud que la proyección de la fuerza magnética en dirección opuesta a la dirección del flujo. Cuando se localiza esta área se grababa un video en campo de fluorescencia y se toma una foto en campo claro para determinar la distancia entre la parte más cercana del imán a la zona de interés del microcanal. (**Figura 3-3**). Teniendo estos datos se utilizó la **ecuación (3-1)** para el cálculo de la susceptibilidad magnética dando un valor promedio de  $0.0833 \pm 0.034$ . Este valor es cercano ( $0.041$ ) al que se determinó en la referencia [13] mediante la utilización de un magnetómetro de muestra vibrante a temperatura ambiente ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Una explicación de porque el resultado de susceptibilidad obtenido en este trabajo y la que se midió la referencia [13] no son más aproximadas, es debido a que las partículas que se utilizan no son completamente de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , estas partículas solo tienen un 45% de este material. Por otro lado, la medición de la susceptibilidad del otro estudio fue con un material con 100% de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Por último, se calculó la fuerza magnética utilizando la **ecuación (1-7)** con la permeabilidad magnética y la viscosidad del agua a temperatura ambiente ( $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). El resultado de la fuerza magnética aplicada a las partículas superparamagnéticas se muestra en

la **Figura 4-1 D**. Así mismo, en la **Tabla 4-1** se muestran las magnitudes de los parámetros utilizados.

<i>Parámetros</i>	<i>Magnitud</i>
$\mu_0$	$4\pi \times 10^{-7} \text{ N/A}^2$
$x$	<b>0.0833 (<math>\pm 0.034</math>)</b>
$\mu$	$1.26 \times 10^{-6} \text{ N/A}^2$
$a$	$4.5 \times 10^{-7} \text{ m}$
$\eta$	<b>0.001 Pa * s</b>
$B(y)$	<b>Simulación FEMM</b>

*Tabla 4-1 Tabla de magnitudes de los parámetros utilizados para determinar la fuerza magnética sobre las partículas superparamagnéticas. El valor de la susceptibilidad magnética fue determinado a 25°C. Los parámetros que no aparecen en la tabla son dependientes de la distancia entre el imán y las partículas.*

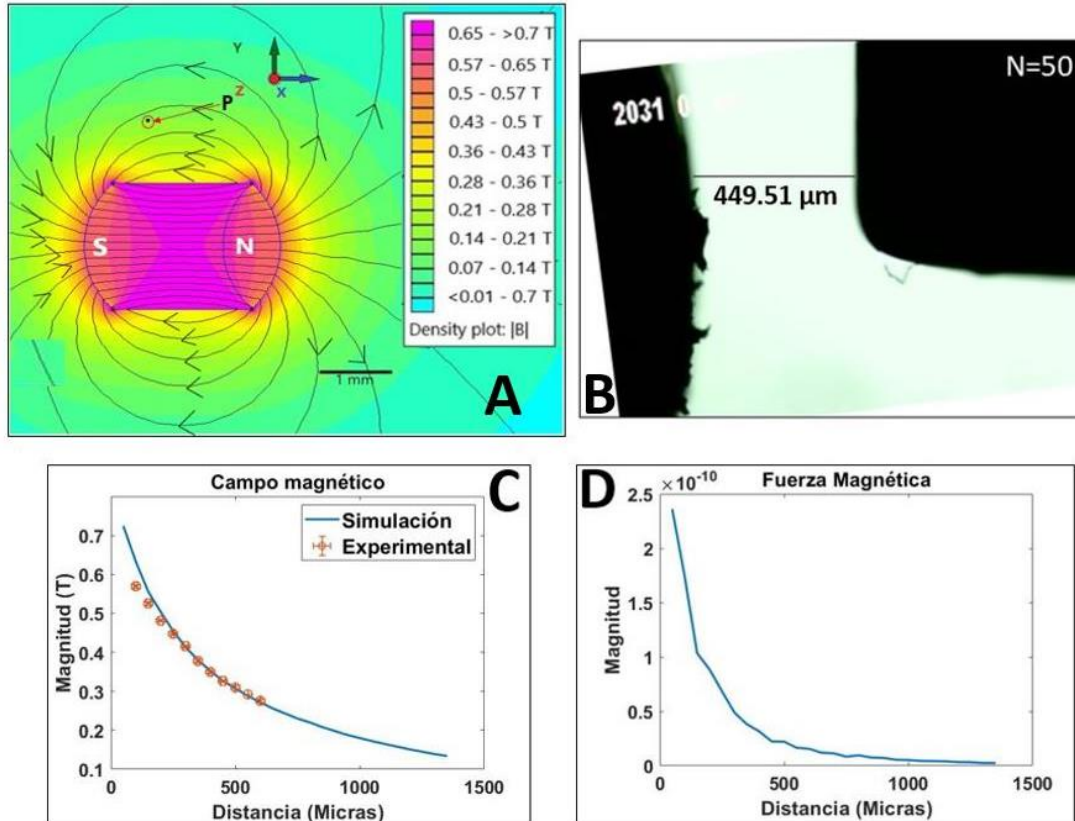


Figura 4-1 Inducción magnética del imán y fuerza magnética sobre las micropartículas. A) Vista superior del sensor magnético (lado izquierdo) junto con un imán cilíndrico (lado derecho), obtenida con un microscopio Aigo. B) Simulación del campo magnético del imán cilíndrico obtenido mediante el software FEMM. C) Inducción magnética del imán en la configuración que se muestra en la sección 3.5.1. D) Fuerza magnética ejercida sobre las partículas tomando en cuenta una susceptibilidad magnética de 0.0833.

## 4.2. Dinámica del flujo de glóbulos rojos en microcanales parcialmente obstruidos a distintos flujos

Antes de presentar los resultados de esta sección se describen las zonas de interés y las condiciones experimentales. El dispositivo microfluídico que se utiliza en este trabajo se muestra en la **Figura 4-2 A**, donde se puede observar las dimensiones de los microcanales y la marca de referencia donde se coloca el imán, así como la zona de interés (cuadro rojo). El flujo en este dispositivo es de derecha a izquierda como se muestra en la **Figura 4-2 B**. Esta zona de interés se divide en tres ramas (**Figura 4-2 C**): 1) La rama principal (zona 1) marcada de color verde, 2) la rama cercana al imán (zona 2) marcada de color azul y 3) la rama lejana al imán (zona 3) marcada de color naranja. Los experimentos tienen una duración



aproximadamente de 23 minutos, en los cuales se tomaron los datos necesarios para el análisis (ver **capítulo 3**) de los resultados que se mostraran en esta sección. Estos experimentos se dividieron en tres etapas: 1) Flujo con glóbulos rojos a 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ , 2) Flujo con glóbulos rojos a 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$  y 3) Flujo sin glóbulos rojos a 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . El fluido que se utilizó en las etapas 1 y 2 está compuesto en su mayoría por PBS (79.6%), glóbulos rojos (20%), partículas superparamagnéticas (0.2%) y partículas trazadoras (0.2%). Por otro lado, el fluido que se utilizó en la etapa 3 está compuesto de PBS (99.6%), partículas superparamagnéticas (0.2%) y partículas trazadoras (0.2%). Por último, debido a que no es posible colocar el imán en la misma posición en todos los experimentos, la distancia más próxima del imán respecto al canal principal y a la rama más cercana se dividió en tres grupos los cuales son: 1) 500-300  $\mu\text{m}$  de la rama principal y la rama cercana al imán, respectivamente (Dis 1, color azul). 2) 600-400  $\mu\text{m}$  de la rama principal y la rama cercana al imán, respectivamente (Dis 2, color negro). 3) 700-500  $\mu\text{m}$  de la rama principal y la rama cercana al imán, respectivamente (Dis 3, color verde). Estas tres distancias serán comparadas con un grupo control (control, color rojo) donde la única diferencia es la ausencia de un campo magnético externo. En las gráficas del perfil de velocidad de las tres zonas de interés que se mostraran en las siguientes secciones el -0.5 indica la pared cercana al imán y 0.5 indica la pared lejana al imán, esto con referencia a la **Figura 4-2**. Los resultados de estas tres etapas se muestran en las siguientes secciones.

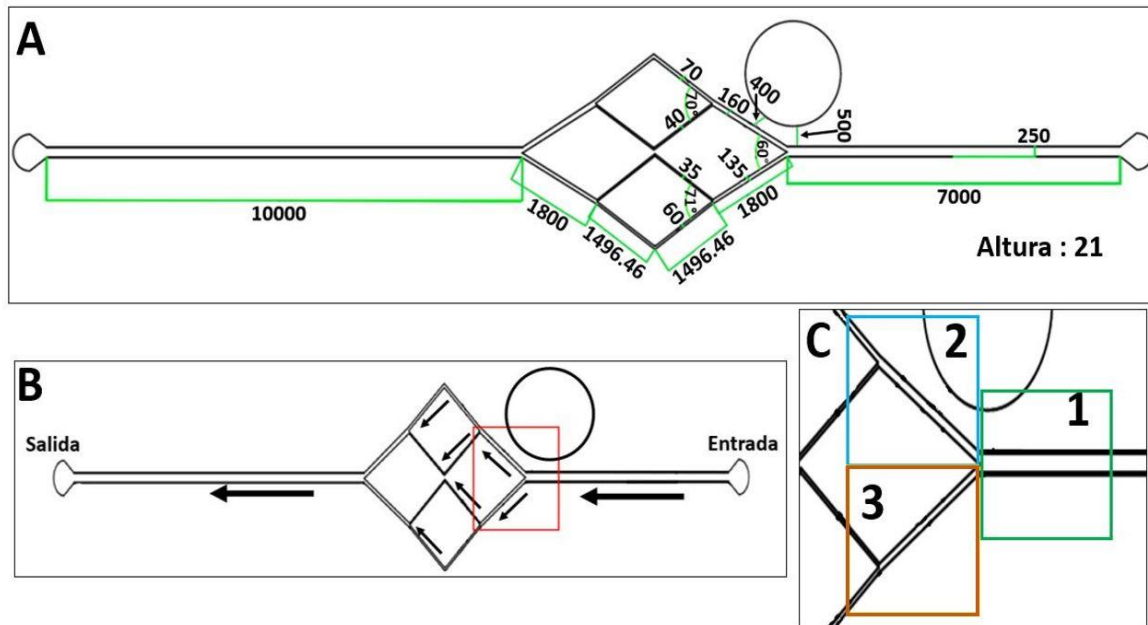


Figura 4-2 Dispositivo microfluídico utilizado. A) Diseño del dispositivo microfluídico con las dimensiones de cada microcanal (todos los valores están en micras). El círculo (de 1 mm de radio) delimita el área donde se coloca el imán cilíndrico. B) Imagen que indica la dirección del flujo y la zona que se analizó (cuadro rojo). C) Imagen ilustrativa de las tres ramas que se analizan.

#### 4.2.1. Relación del perfil de velocidad con respecto a la altura y ancho del microcanal

En este trabajo se estudia el perfil de velocidad de microcanales con un ancho mucho más grande que su altura. Para esto se utilizaron los grupos control del flujo  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con glóbulos, sin glóbulos y un modelado. Los grupos control se tomaron de la zona 1 (**Figura 4-2 C**) que tiene un ancho de  $250 \mu\text{m}$  y una altura de  $21 \mu\text{m}$ .

El modelado del flujo se llevó a cabo bajo las siguientes consideraciones: 1) un canal rectangular con una sección transversal igual que la del dispositivo y con una longitud de  $X \mu\text{m}$  tomando en cuenta condiciones periódicas en la dirección del flujo y 2) no hay interacciones entre glóbulos rojos. Aunque esta última condición es poco realista porque en modelos in vivo las interacciones entre glóbulos influyen en el comportamiento del perfil de velocidad, pero para fines de este trabajo se tomó así para poder comparar con los perfiles obtenidos con las partículas trazadoras. Para la implementación se utilizó la **ecuación (1-19)**, la cual genera un perfil de velocidad 3D del canal. Esta ecuación depende del gradiente de presión, la resistencia hidráulica y el área transversal de un canal rectangular. Como en este

trabajo solamente conocemos el flujo de entrada que tiene dicho canal, se hizo una modificación a la ecuación. Para esta modificación se utilizó la relación que hay entre el flujo, la resistencia hidráulica y el gradiente de presión (**ecuación (1-1)**), en donde se cambiaron los valores de la resistencia y el gradiente de la **ecuación (1-19)** por el del flujo. Por último, como la ecuación genera un perfil de velocidad en 3D, las velocidades en el eje z fueron promediadas para obtener un perfil de velocidad en 2D y así poder compararlas con las obtenidas experimentalmente.

En la **Figura 4-3** se muestran los perfiles de velocidad de un microcanal con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  donde se compara 3 grupos: con glóbulos rojos, sin glóbulos rojos y un modelado del flujo. En los tres perfiles se puede observar que ninguno de ellos tiene un perfil parabólico como se esperaría, esto es debido a la gran diferencia que tienen el ancho y la altura del canal, lo cual es causado por promediar velocidades altas y pequeñas a diferentes alturas del microcanal. Por último, en la simetría de los datos experimentales con glóbulos y sin glóbulos rojos se puede ver una diferencia de velocidades, en donde las velocidades más grandes las tiene el grupo sin glóbulos, esto es debido al aumento en la viscosidad que provocan los glóbulos rojos en los microcanal. Ya que, al aumentar la viscosidad, la resistencia del canal aumenta, y a su vez las velocidades disminuyen. Lo comentado anteriormente es muy importante tener en cuenta para los resultados de las siguientes secciones.

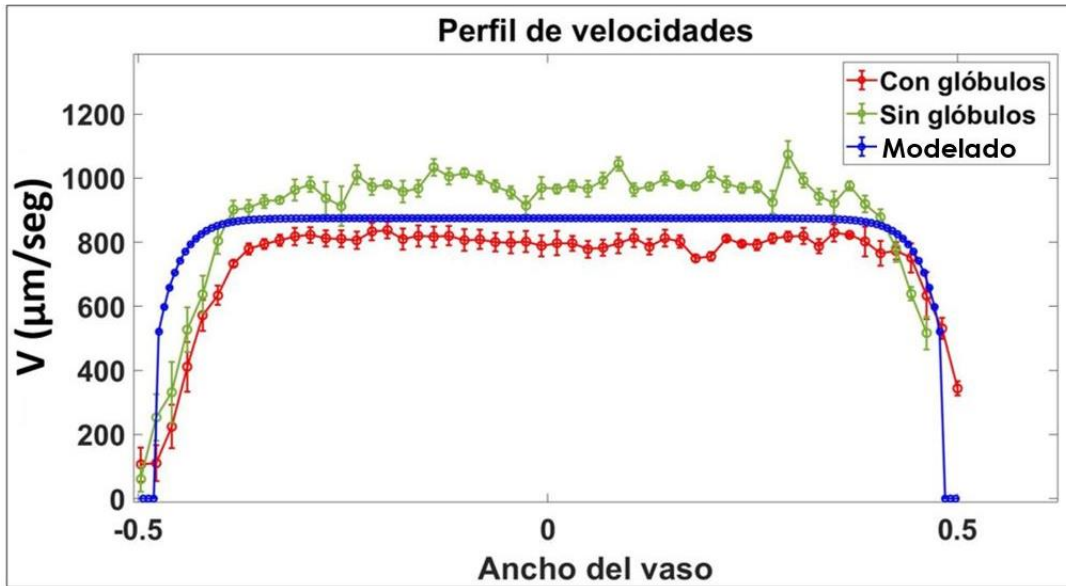


Figura 4-3 Comparación de perfiles de velocidades de microcanales principal con un ancho de 250  $\mu\text{m}$  y una altura de 21  $\mu\text{m}$ . El flujo de entrada de los dos microcanales y el modelado del flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ .

#### 4.2.2. Elección de condiciones del flujo y del campo magnético

Para la elección de las velocidades de flujo que se utilizaron en este trabajo, se tomó como referencia un estudio previo [31] donde caracterizaron los perfiles de velocidades en vasos sanguíneos en el musculo cremáster de ratón cuyos vasos tienen un diámetro entre 10 y 50  $\mu\text{m}$ . Por otro lado, se determinó que el campo magnético mínimo para que se forme el agregado de partículas magnéticas en el rango de flujos estudiados es del orden de 0.2 T. Este valor se obtuvo tomando en cuenta el sitio donde la magnitud de la fuerza de arrastre es comparable a la magnitud de la proyección de la fuerza magnética en dirección contraria del flujo, lo cual ocurre a una distancia de  $998 \pm 140 \mu\text{m}$  con respecto al imán. Cabe aclarar que estos valores fueron calculados tomando en cuenta la fuerza de arrastre y sin la influencia de los glóbulos rojos. Tomando en cuenta esto, se realizaron diferentes experimentos con la influencia de un campo magnético en donde se varió el flujo desde 0.1  $\mu\text{l}/\text{min}$  hasta 100  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Lo anterior se realizó con el fin de determinar el proceso de formación del agregado de partículas magnéticas. Los resultados que se obtuvieron indican que en cuanto se coloca el imán una parte del agregado de partículas se forma rápidamente en la pared más cercana al imán mientras que en la parte más lejana al imán pequeños cúmulos de partículas

magnéticas se forman cerca de la pared más próxima al imán, los cuales van siendo arrastrados por el flujo hacia el agregado más grande de partículas. Debido a esto último, la forma del agregado es muy variable conforme se va aumentando el flujo por lo que se eligió trabajar con flujos bajos como se describe más adelante.

#### **4.2.3. Flujo de glóbulos rojos a 0.2 $\mu\text{l}/\text{min}$**

En el presente trabajo se analizó el perfil de velocidad y el flujo en microcanales parcialmente obstruidos. Estos microcanales tienen las dimensiones que se muestran en la **Figura 4-2**. Dado que la dimensión característica de los microcanales es de 21  $\mu\text{m}$  y que las velocidades del flujo son menores a 3000  $\mu\text{m}/\text{s}$ , el número de Reynolds ( $Re$ )  $< 1$ , lo que implica que se trata de un flujo laminar. El área que se analizó para todos los grupos es la que se explicó en la **sección 3.7** de 876  $\mu\text{m}$  x 876  $\mu\text{m}$ . Cabe aclarar que las tres ramas que se analizan están conectadas y conforman una sola bifurcación (**Figura 4-2 C**) con la cual se pretende modelar una bifurcación en una arteriola.

En la **Figura 4-4** se muestran los resultados obtenidos para un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ . En la **Figura 4-4 A** se muestra el perfil de velocidad de la zona 1 donde se puede observar que al comparar el grupo control con los grupos experimentales hay un incremento en la velocidad en los grupos experimentales de casi el doble en comparación al grupo control cerca de la pared opuesta a donde se forma el agregado de partículas. En estos perfiles también se pierde la simetría en comparación con un flujo de Poiseuille (**sección 1.4**) en donde las velocidades más grandes se mantienen en el centro del canal. Esto se debe a que el agregado de partículas es poroso e irregular a lo largo del canal, lo que causa un aumento en la velocidad perpendicular al flujo de los glóbulos rojos que fluyen cerca del agregado de partículas. Las fluctuaciones de la velocidad que se observan en el perfil de velocidad cerca de la pared cercana al imán son debidas a que el agregado no es uniforme a lo largo de todo el canal. Por otro lado, en la **Figura 4-4 B** se muestra el perfil de velocidad de la zona 2 donde se puede observar que los grupos experimentales tienen el mismo comportamiento que en la zona 1, excepto en el aumento de velocidad, el cual ya no es del doble si no de aproximadamente de 1.85. Así mismo, en la **Figura 4-4 C** se muestra el perfil de velocidad de la zona 3 donde se puede observar que en comparación con la zona 1 y 2 los grupos experimentales no pierden mucho su simetría, pero sigue habiendo un aumento de velocidad

del doble en comparación del grupo control. En esta zona el perfil de velocidad las velocidades más grandes también aparecen en la pared lejana al imán, esto es debido a que también se genera un pequeño agregado de partículas en la pared más cercana al imán, así como al perfil de velocidad del canal principal. Aunque esta zona es la más lejana al imán, el campo magnético externo. Por último, en la **Figura 4-4 D** se muestra los resultados de los flujos de cada zona donde se puede observar que en el grupo control el flujo en la zona 1 es de 0.22  $\mu\text{l}/\text{min}$ , en la zona 2 de 0.12  $\mu\text{l}/\text{min}$  y en la zona 3 de 0.09  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Cabe aclarar que la resistencia hidráulica de los microcanales depende de la viscosidad del fluido y las dimensiones del canal. Esta resistencia es importante debido a que influye directamente en el comportamiento del flujo y el perfil de velocidad (**sección 1.1.3**). Por otro lado, en los grupos experimentales la resistencia varía en cada uno, ya que esta depende del área que abarca el agregado de partículas, pero en todos los grupos experimentales el flujo de la zona 2 disminuye y el flujo de la zona 3 aumenta. Esto último es debido a que la resistencia de la zona 2 se hace mayor a la resistencia 3. Teniendo en cuenta lo anterior como el flujo en la zona 2 y su área transversal disminuyeron esto hace que el perfil de velocidad en los grupos experimentales en comparación al grupo control no aumenten el doble como en la zona 1. Así mismo, en la zona 3 el flujo aumentó y su área transversal disminuyó, esto provocando que el perfil de velocidad de los grupos experimentales aumentara el doble sin tener un agregado tan grande como en la zona 1 y 2. Para ver más información sobre el agregado de partículas superparamagnéticas ver **sección 4.3.1**.

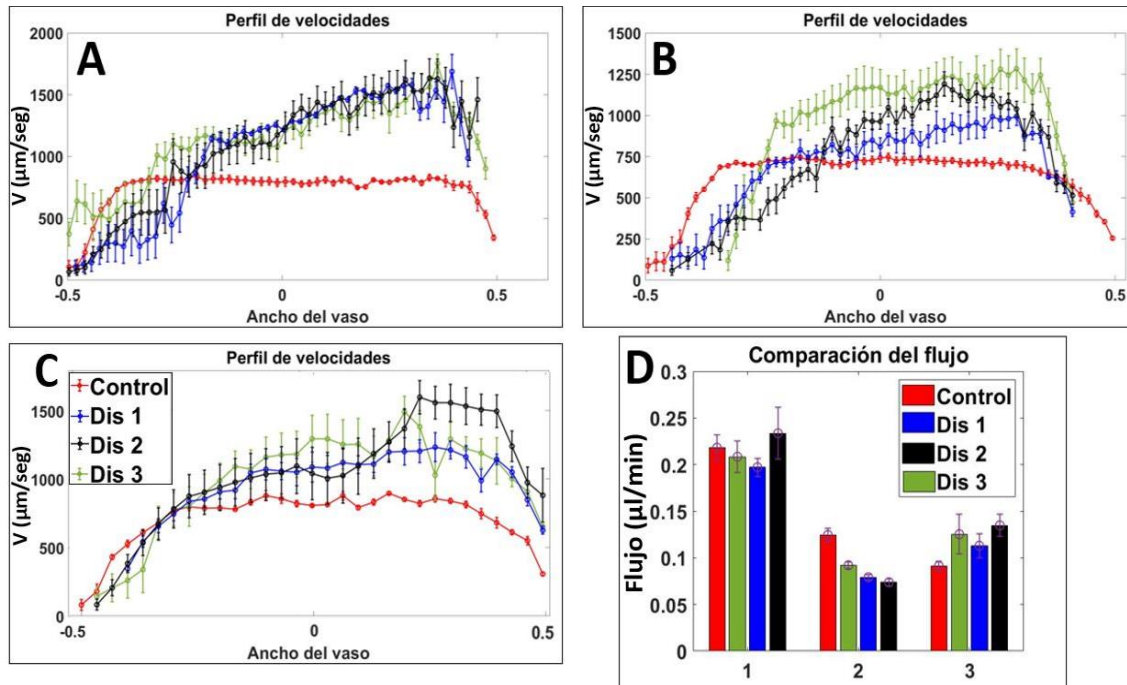


Figura 4-4 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos a diferentes grados con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ . A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de  $250 \mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de  $160 \mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán (Zona 3) con un ancho de  $135 \mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara los flujos de las diferentes distancias del imán a las ramas en las 3 zonas de interés. Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C.

#### 4.2.4. Flujo de glóbulos rojos a $0.4 \mu\text{l}/\text{min}$

Igualmente, que en la **sección 4.2.3** se analizó tanto el perfil de velocidad como el flujo en microcanales parcialmente obstruidos. Las condiciones experimentales y la zona de análisis de los experimentos son las mismas que las de la sección anterior, pero con la única diferencia de que el flujo de entrada es de  $0.4 \mu\text{l}/\text{min}$ .

En la **Figura 4-5 A** se muestra el perfil de velocidad de la zona 1 donde se puede observar que al comparar el grupo control con los grupos experimentales hay un incremento de 1.5 con respecto al grupo control. Comparando este resultado con el del flujo de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  (**sección 4.2.3**) el incremento de la velocidad es menor y la simetría del perfil de velocidad

se sigue perdiendo, pero en menor proporción. Adicionalmente, otras partes siguen siendo similares, como lo es el sitio donde se ubica el máximo del perfil de velocidad. Por otro lado, en la **Figura 4-5 B** se muestra el perfil de velocidad de la zona 2 donde se puede observar que en los grupos experimentales hay un incremento en las velocidades aproximadamente de 1.5 con respecto al grupo control. También la simetría se pierde con mayor medida que en la zona 1. Las fluctuaciones de velocidad que se ven cerca de la pared cercana al imán se deben a que el ancho del agregado de partículas varía mucho a lo largo del canal. Comparando esta zona con la del flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  (**sección 4.2.3**) tienen el mismo comportamiento excepto en el incremento de velocidad ya que en este flujo es menor el incremento de las velocidades y las fluctuaciones de velocidad son más notorias. Esto debido a que el agregado es mucho más ancho. Así mismo, en la **Figura 4-5 C** se muestra el perfil de velocidad de la zona 3 donde se puede observar que hay un incremento en las velocidades de aproximadamente 1.3 con respecto al grupo control, en este caso la asimetría del perfil de velocidad es menor en comparación con la del flujo de 0.2  $\text{ml}/\text{min}$ . Por último, en la **Figura 4-5 D** se muestra los resultados de los flujos de cada zona donde se puede observar que en el grupo control el flujo en la zona 1 es de 0.48  $\mu\text{l}/\text{min}$ , en la zona 2 de 0.27  $\mu\text{l}/\text{min}$  y en la zona 3 de 0.24  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Comparando los flujos del grupo control con el flujo de los grupos experimentales vemos que el flujo en la zona 2 y 3 se invirtieron, esto es debido a que la resistencia de la zona 2 es mayor a la de la zona 3. Comparando esto con los resultados que dieron en el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  (**sección 4.2.3**) los flujos de las zonas 2 y 3 también se invirtieron, pero en magnitud el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  tiene una mayor diferencia con respecto a este flujo. Estas diferencias entre este flujo y el de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  probablemente se deban a que el agregado de partículas no era tan compacto en el centro del canal. Para ver más información sobre el agregado de partículas superparamagnéticas ver **sección 4.3.2**.



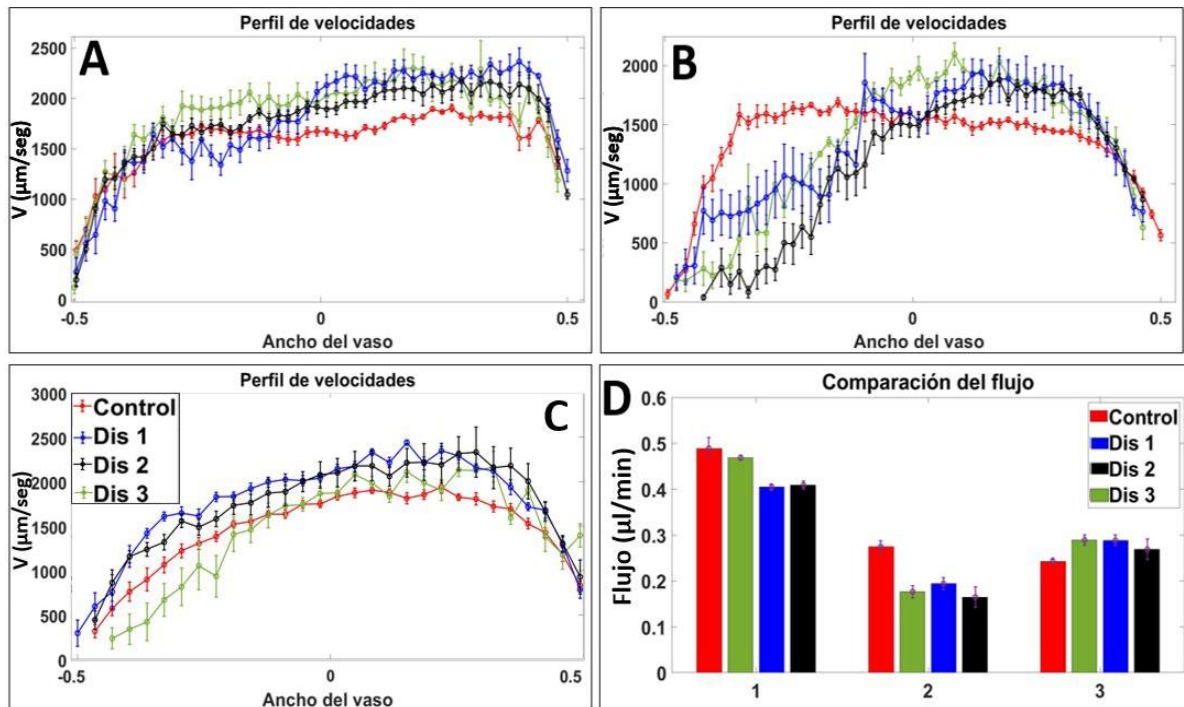


Figura 4-5 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos a diferentes grados con un flujo de entrada de  $0.4 \mu\text{l}/\text{min}$ . A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de  $250 \mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de  $160 \mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán (Zona 3) con un ancho de  $135 \mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara los flujos de las diferentes distancias del imán a las ramas en las 3 zonas de interés. Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C.

#### 4.2.5. Comparación del flujo a $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ con y sin glóbulos rojos

Por último, en esta sección también se analiza el perfil de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos. En esta parte de los resultados se compara el flujo de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos tomando en cuenta solamente una de las tres distancias que se utilizan. La distancia que se compara es dis 2 ( $600 \mu\text{m}$  a la rama principal y  $400 \mu\text{m}$  a la rama cercana al imán), la cual es la distancia media con respecto a las otras distancias que se utilizan. Las condiciones experimentales y la zona de análisis de los experimentos sin glóbulos rojos son las mismas de la **sección 4.2.3**.

En la **Figura 4-6** se muestran los resultados obtenidos para un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con globulos y sin glóbulos rojos. En la **Figura 4-6 A** se muestra el perfil de velocidad de la zona 1 donde se puede observar que al comparar los grupos control con glóbulos y sin glóbulos, el grupo control sin glóbulos tiene velocidades mayores que las de con glóbulos. Esto es debido a que al tener una concentración de hematocrito del 20% hace que aumente la viscosidad del fluido y esto aumenta la resistencia del canal, haciendo que las velocidades disminuyan. Esto se puede observar en las tres ramas. Así mismo, comparando los grupos experimentales con glóbulos y sin glóbulos se puede observar que el grupo experimental con glóbulos tiene mayores velocidades, la simetría se pierde por completo y las fluctuaciones de velocidad de lado de la pared cercana al imán se notan más. Por otro lado, el grupo experimental con glóbulos tiene velocidades mayores con respecto a los que no tienen glóbulos. Así mismo, el grupo experimental sin glóbulos no pierde la simetría por completo y las fluctuaciones de velocidad son menores con respecto a el grupo que tiene glóbulos. Todo esto es debido a que el agregado de partículas en los grupos experimental sin glóbulos no es tan grande y uniforme como el de con glóbulos. Por otro lado, en la **Figura 4-6 B** se muestra el perfil de velocidad de la zona 2 donde se puede observar al comparar el grupo control y grupo experimental sin glóbulos estos dos son muy similares, esto es lo contrario de lo que sucede con glóbulos. Lo anterior es debido a que el agregado de partículas sin glóbulos no es lo suficientemente grande para que se encuentre una diferencia entre sus grupos control y experimental. Lo anterior se puede ver más claramente en la **sección 4.3.3**. Así mismo, en la **Figura 4-6 C** se muestra el perfil de velocidad de la zona 3 donde se puede observar que al comparar los grupos control y experimental sin glóbulos se puede ver que no hay casi diferencia, esto es debido al mismo motivo que en la zona 2. Tomando en cuenta solamente los grupos experimentales con y sin glóbulos se observa una gran diferencia en las velocidades, ya que las velocidades del grupo experimental con glóbulos en la pared lejana al imán son mucho más grandes que en el sin glóbulos. Por último, en la **Figura 4-6 D** se muestran los resultados de los flujos de cada zona donde se puede observar que al comparar el flujo de los grupos control, el flujo más grande es el grupo control sin glóbulos debido a que hay menos resistencia en su canal. Por otro lado, comparando los grupos experimentales podemos observar que el grupo sin glóbulos la zona 2 mantuvo la resistencia menor con respecto a la zona 3, esto es lo contrario que sucedió al grupo con glóbulos. Con todos estos

resultados se puede decir que los glóbulos rojos ayudan a que el agregado de partículas se forme haciéndolo más grande y uniforme. Para ver más información sobre el agregado de partículas superparamagnéticas ver **sección 4.3.3**.

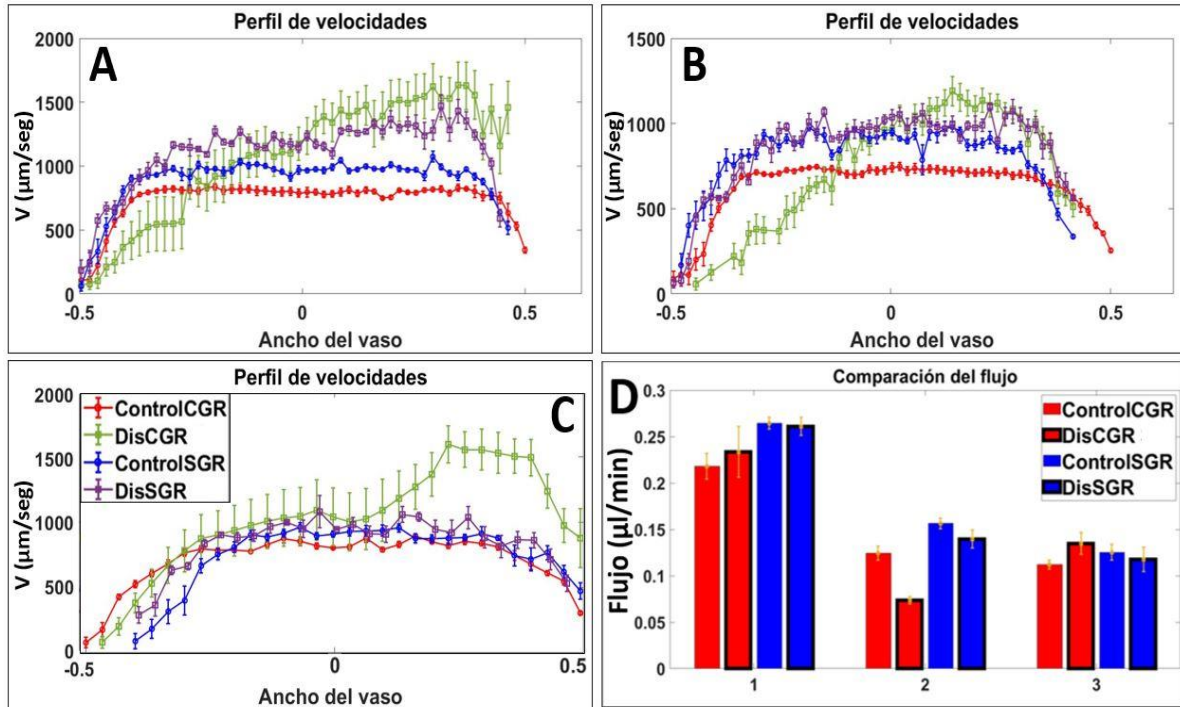


Figura 4-6 Perfiles de velocidad y el flujo de microcanales parcialmente obstruidos con un flujo de entrada de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos. A) Perfil de velocidad de la rama principal (Zona 1) con un ancho de 250  $\mu\text{m}$ . B) Perfil de velocidad de la rama cercana al imán (Zona 2) con un ancho de 160  $\mu\text{m}$ . C) Perfil de velocidad de la rama lejana al imán (Zona 3) con un ancho de 135  $\mu\text{m}$ . D) Gráfica de barras que compara el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos en las 3 zonas de interés. La distancia al imán que se compara aquí es la de dis 2 (ver inicio de la sección 4.2). Se realizaron 5 experimentos para el grupo control y 4 experimentos para los grupos experimentales. Las etiquetas de los paneles A y B son iguales que las del panel C. CGR= Con glóbulos rojos, SGR= Sin glóbulos rojos.

### 4.3. Comportamiento de las partículas superparamagnéticas con la influencia de un campo magnético externo a diferentes flujos y condiciones

En esta sección se describe con más detalle del comportamiento del agregado de partículas superparamagnéticas en las condiciones que se comenta en la **sección 4.2**. Antes de describir los resultados, se tiene que tomar en cuenta que las imágenes que se muestran en esta sección fueron tomadas junto con los videos, los cuales se analizan para poder obtener el perfil de velocidad y el flujo. Además, los tiempos que se muestran en las imágenes son con respecto a la colocación del imán. En la **Figura 4-7** se muestran los resultados del agregado de partículas a un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  en donde se compara las tres diferentes distancias, en las cuales se tomaron imágenes después de 5 y 23 minutos con respecto a la colocación del imán. En estas imágenes se puede observar que el agregado en ninguna de las tres distancias llega obstruir más del 60% del canal. Así mismo, se puede observar que el agregado con mayor obstrucción es dis 1 (ver inicio de **sección 4.2**), el cual tiene la distancia más cercana al imán. Por otro lado, el de menor obstrucción fue dis 3, el cual tiene la distancia más lejana al imán. Estos resultados eran de esperarse ya que entre más cerca se encuentre el imán, un mayor número de partículas van a ser atrapadas cerca de la pared más próxima al imán. El crecimiento temporal del agregado es muy similar en las tres distancias en donde lo único que cambia es el área que abarca al final del experimento y para fines de este trabajo en las siguientes secciones solamente se mostraran resultados de la distancia dis 2.

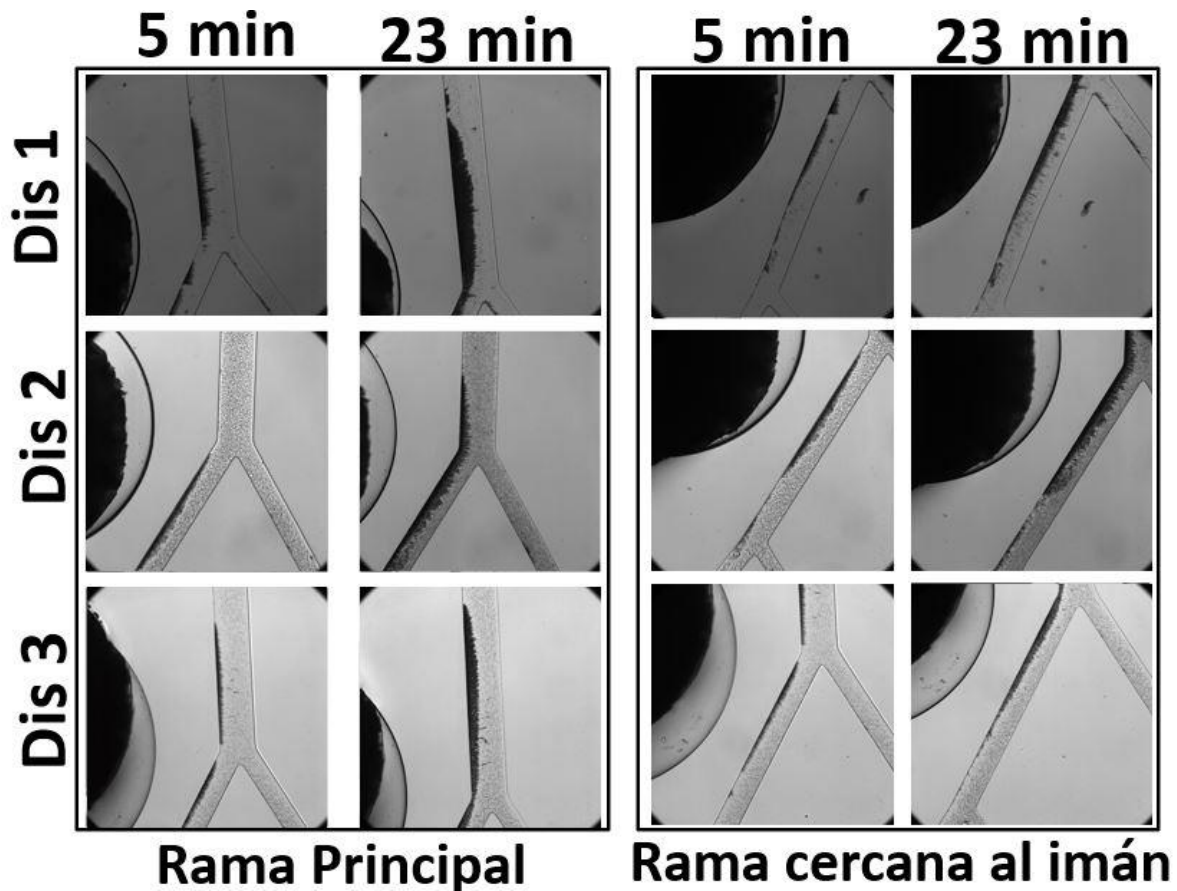
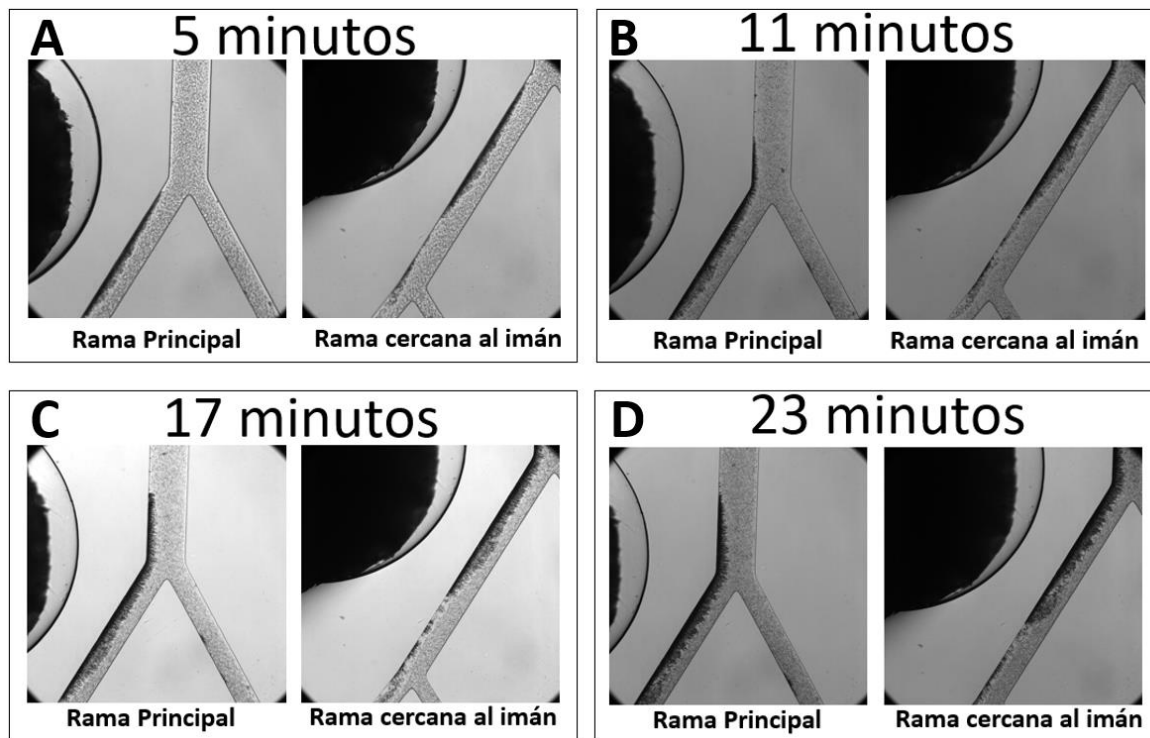


Figura 4-7 Comportamiento de agregados de partículas magnéticas con la influencia de un campo magnético externo en microcanales con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ . Las primeras dos columnas muestran el agregado en la rama principal (zona 1) y las últimas dos columnas muestran el agregado en la rama cercana al imán (zona 2). Cada fila representa una distancia diferente. Las imágenes se tomaron a los 5 minutos y 23 minutos con respecto a la colocación del imán.

#### 4.3.1. Agregado de partículas a un flujo de $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$

Una vez analizado el comportamiento del agregado a diferentes distancias se prosiguió a estudiar con más detalle su crecimiento temporal a una distancia en específica (dis 2). En la **Figura 4-8** se muestra el crecimiento temporal del agregado en las zonas de interés con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  en donde se muestran imágenes del agregado a diferentes tiempos (5,11,17 y 23 minutos). Lo primero que se puede observar es que el agregado crece tanto en largo como en ancho, y que la formación de este inicia desde la zona 2, esto sucede porque el imán está más cerca de esta zona. El agregado a los 11 minutos ya abarco la zona

1, en los minutos 17 y 23 el agregado ya casi no crece a lo largo, pero si sigue aumentando su ancho. Adicionalmente, en la zona 3 se genera un pequeño agregado que abarca menos del 5% del canal (**Figura 4-8 C y D**), el cual contribuye al aumento de la velocidad en la pared lejana al imán en los resultados de la **sección 4.2.3**. Por último, se puede observar que el ancho del agregado no es uniforme a través de los canales ya que fluctúa a lo largo de los microcanales. Estas fluctuaciones son debido a la dirección del flujo y las líneas de campo magnético, Estos efectos provocan que las partículas se desplacen por las paredes hasta juntar un agregado suficientemente grande para que el flujo ya no los mueva. Las fluctuaciones provocan que las velocidades en la pared cercana al imán de la zona 1 y 2 cambien a lo largo del canal (**Figura 4-4 A y B**).



*Figura 4-8 Crecimiento temporal del agregado de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ . A) Imagen de las zonas de interés tomada a los 5 minutos, B) a los 11 minutos, C) a los 17 minutos y D) a los 23 minutos después de la colocación del imán. La distancia al imán es  $dis\ 2$  (ver inicio de **sección 4.2**).*

#### **4.3.2. Agregado de partículas a un flujo de 0.4 $\mu\text{l}/\text{min}$**

Una vez analizado el crecimiento temporal del agregado a un flujo de entrada 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  se prosiguió a estudiar el mismo crecimiento temporal, pero ahora con un flujo de entrada de 0.4  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Esto se hizo con el fin de ver que el agregado tenga el mismo comportamiento con un flujo más alto. En la **Figura 4-9** se muestra el crecimiento temporal del agregado en las zonas de interés en donde se muestran imágenes del agregado a diferentes tiempos (5,11,17,23 minutos). Lo primero que se puede observar es que el agregado crece tanto en largo y como en ancho como sucedió en el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$ , pero con la diferencia que en este segundo caso crece más rápido, tiene mayor área y el agregado empieza creciendo en la zona 1 y 2. Esto es debido a que hay un mayor flujo de partículas superparamagnéticas. Adicionalmente, se observa que al igual que el flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  (**sección 4.3.1**) este también tiene un agregado que no es uniforme y cualitativamente parece ser menos uniforme que el anterior. Por otro lado, el agregado parece que abarca el 90% del ancho de la zona 1 y el 50% del ancho de la zona 2. Así mismo, las velocidades del perfil aumentaron con respecto al grupo control, la simetría del perfil se pierde y hay fluctuaciones de velocidad de la pared cercana al imán (**sección 4.2.4**). Por último, viendo el comportamiento de los resultados del flujo de 0.2  $\mu\text{l}/\text{min}$  (**sección 4.2.3**) se esperaba que las velocidades de este flujo aumentaran más, las velocidades más grandes ocurrieran más cerca de la pared lejana al imán y, por último, la variabilidad de las velocidades cerca de la pared cercana al imán fuera más notoria. Lo que probablemente causo que estos resultados no dieran lo que se esperaba, fue debido a que el agregado de partículas en el centro del canal no estuviera completamente lleno en altura, esto se puede observar en las **Figura 4-9 C y D** donde se pueden ver pedazos en blanco entre medio del agregado, ya que cuando el agregado está completamente lleno en altura, este se ve completamente negro. Esto ocasiono que los glóbulos rojos pudieran pasar entre esa área sin partículas haciendo que la resistencia hidráulica no aumentara mucho.



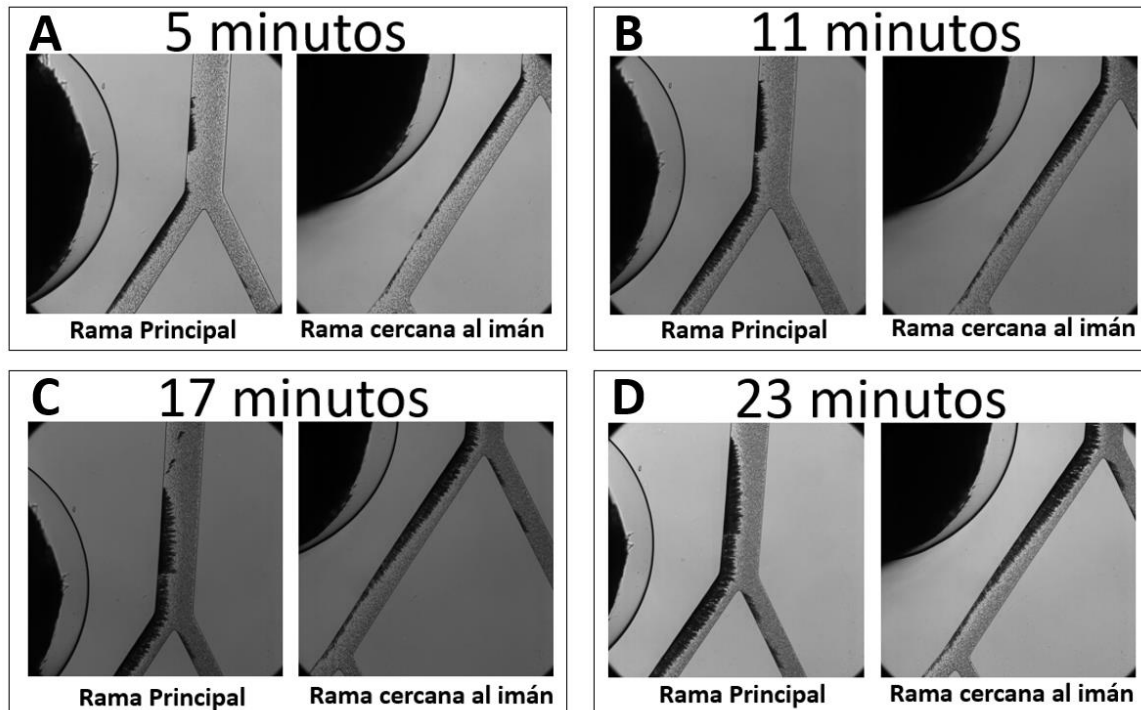


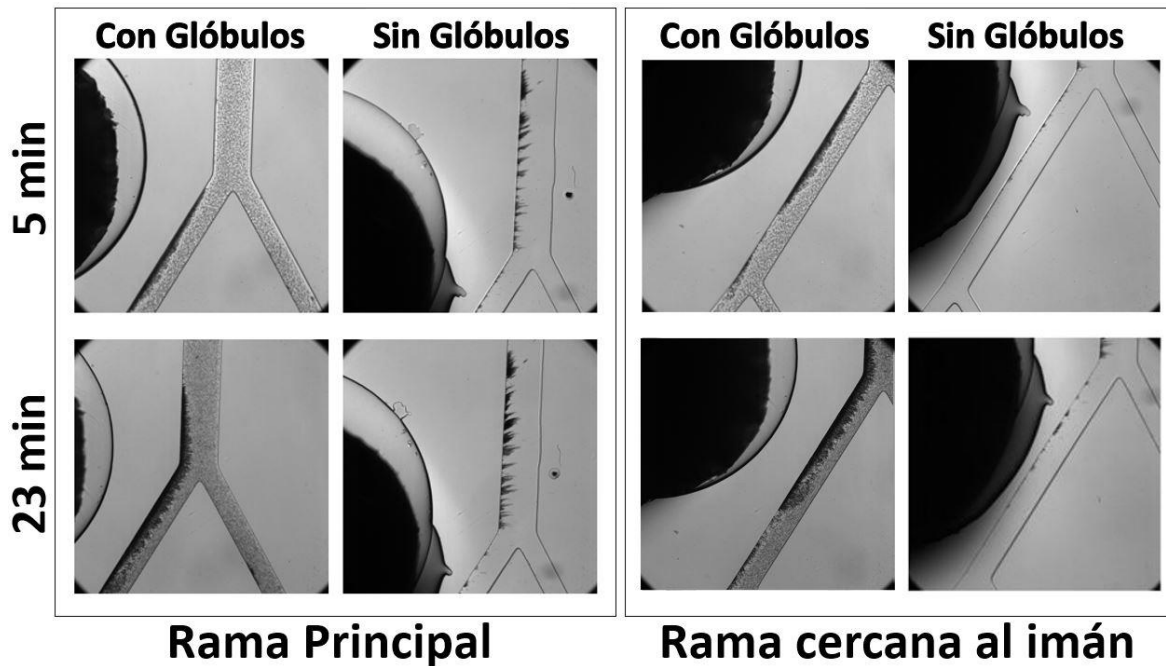
Figura 4-9 Crecimiento temporal del agregado de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de  $0.4 \mu\text{l}/\text{min}$ . A) Imagen de las zonas de interés tomada a los 5 minutos, B) a los 11 minutos, C) a los 17 minutos y D) a los 23 minutos después de la colocación del imán. La distancia al imán es  $\text{dis } 2$  (ver inicio de sección 4.2).

#### 4.3.3. Comparación del agregado de partículas a un flujo de $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ con y sin glóbulos rojos

Por último, ya estudiado el crecimiento temporal del agregado a diferentes flujos se procede a analizar el crecimiento temporal del agregado con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  sin glóbulos rojos y compáralo con los resultados que dieron en el flujo de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con glóbulos rojos (sección 4.3.1). Este análisis se hizo con el fin de ver si los glóbulos rojos tienen alguna influencia sobre el comportamiento y crecimiento del agregado. En la **Figura 4-10** se muestra el crecimiento temporal del agregado en las zonas de interés con un flujo de entrada  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con y sin glóbulos rojos en donde se muestran imágenes del agregado al inicio (5 minutos) y al final de los experimentos (23 minutos). Lo primero que se puede observar en el flujo sin glóbulos es que el agregado empieza crecer desde la zona 1 y se va haciendo más ancho, además al final del experimento en la zona 2 el agregado es demasiado pequeño que apenas se aprecia ver, este agregado abarca menos del 5% del área total de la



zona 2 y en la zona 3 no se crea ningún agregado. En este flujo sin glóbulos la fluctuación del agregado a lo largo del canal de la zona 1 es más grande y el grosor es menor con respecto a los casos anteriores. Estos resultados explican el por qué no hay una gran diferencia entre los perfiles de velocidad o cambio en el flujo de la **sección 4.2.5**. Por otro lado, comparando los agregados que se generaron con y sin glóbulos se pueden observar una gran diferencia entre los dos, ya que el agregado con glóbulos es mucho más grande y uniforme que el caso sin glóbulos. Estos resultados se muestran en la **Figura 4-6**. Por último, estos resultados indican que las interacciones de los glóbulos rojos con las partículas superparamagnéticas ayudan a la generación de un agregado más grande y uniforme a lo largo de las zonas de interés.



*Figura 4-10 Comparación del crecimiento temporal de agregados de partículas superparamagnéticas en microcanales con un flujo de entrada de  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  con glóbulos y sin glóbulos. Las primeras dos columnas muestran el agregado en la rama principal (zona 1) y las últimas dos columnas muestran el agregado en la rama cercana al imán (zona 2). Las filas representan el tiempo en que se tomaron las imágenes con respecto a la colocación del imán. La distancia al imán es dis 2 (ver inicio de **sección 4.2**). CGR= Con glóbulos rojos, SGR= Sin glóbulos rojos.*

## 5

## Discusión y Conclusiones

En este trabajo se diseñó y fabricó un dispositivo microfluídico que modela una red vascular con el fin de estudiar el flujo sanguíneo alrededor de una bifurcación formada por canales parcialmente obstruidos. La obstrucción parcial de los microcanales se llevó a cabo induciendo agregados de partículas superparamagnéticas de  $0.9\ \mu\text{m}$  con el uso de un campo magnético externo generado por un imán permanente (neodimio 35) con geometría cilíndrica de 2 mm tanto de altura como de diámetro. Los agregados de partículas superparamagnéticas que se forman a lo largo de los microcanales es dependiente de su cercanía con el imán y de la fuerza de arrastre que actúa sobre ellas. Adicionalmente, la formación de los agregados es significativamente diferente con el flujo de glóbulos rojos en comparación de cuando únicamente se hacen fluir partículas trazadoras. Para determinar el efecto de los agregados de las partículas en el flujo sanguíneo, se realizaron mediciones del perfil de velocidad y del flujo en los microcanales mediante el uso de partículas trazadoras de látex de  $2\ \mu\text{m}$ . Así mismo, este arreglo experimental permitió determinar el valor de la susceptibilidad magnética de las partículas. Los resultados obtenidos muestran que, bajo las condiciones trabajadas, el flujo y las velocidades cambian completamente a las basales. Esto es debido al aumento de la resistencia en las ramas analizadas, lo cual es provocado por el agregado de partículas superparamagnéticas que se genera cerca de una de las paredes laterales del microcanal. Así mismo, los diferentes grados de obstrucción que se implementaron

demonstraron que para observar un gran cambio en el flujo y perfil de velocidad el agregado tiene que ocupar aproximadamente más del 20% del canal. La formación del agregado posiblemente implica una mayor interacción entre glóbulos rojos, lo que provoca un aumento en la resistencia, una disminución del flujo y a su vez un ligero aumento en la velocidad máxima del perfil de velocidad (debido a la disminución del área del canal) del área afectada por dicho agregado.

Por otro lado, la formación de agregados de partículas magnéticas en tubos in vitro debido a la influencia de un campo magnético externo y a un flujo ya han sido caracterizado en diferentes estudios [12,24,25]. Este tipo de estudios implementaron modelos que les permitieron estudiar la acumulación de partículas al variar la distancia del imán a la zona de interés, la concentración de partículas magnéticas, la geometría del imán permanente y el flujo. Estos trabajos dejaron de lado la influencia de los glóbulos rojos. Sin embargo, como se mostró en este trabajo, las interacciones de los glóbulos rojos con el agregado de partículas también ayudan en gran medida al crecimiento de dicho agregado y modifican significativamente su morfología. Una posible explicación de esto es que la interacción de los glóbulos rojos con las partículas promueva una migración de partículas hacia las paredes del canal, lo cual es conocido como marginación de partículas. En este proceso, las partículas se desplazan a una menor velocidad lo cual facilita que queden atrapadas cerca de la pared por el efecto del campo magnético. Adicionalmente, es probable que las colisiones de los glóbulos rojos que van fluyendo rompan las cadenas de partículas inducidas por el campo magnético, lo cual da lugar a la formación de un agregado de partículas más uniforme a lo largo de los microcanales.

Aunque aún se necesita estudiar con más detalle el efecto que causa la formación de agregados de partículas en vasos sanguíneos, a nivel fisiológico puede ocurrir: 1) un daño a la pared endotelial debido al cambio de presión tan repentino, 2) un aumento en las interacciones entre glóbulos rojos y entre ellas y las paredes de los vasos y 3) una insuficiencia de nutrientes a la zona que esta obstruida. Esto último, ya se ha comprobado en otros estudios [2,6,7]. Estos tipos de afectaciones se pueden presentar en diferente medida dependiendo de la arteria o vena que se obstruya.

## **Conclusiones**

Los resultados demostraron que el arreglo experimental propuesto en este trabajo permite obstruir parcialmente una o varios canales del dispositivo microfluídico. Adicionalmente, se demostró que las obstrucciones generan cambios significativos en el flujo de los glóbulos y el perfil de velocidad de los microcanales analizados, en donde las condiciones basales de los microcanales cambian completamente. El flujo de los canales que se bifurcan se invierte con respecto a las basales y la simetría del perfil de velocidades de las tres zonas de análisis se pierde, provocando que las velocidades máximas se encuentren en el lado contrario del agregado. Así mismo, se demostró que la susceptibilidad magnética de una partícula superparamagnética se puede calcular al encontrar un área en donde la magnitud de las fuerzas principales (fuerza de arrastre y magnética) son iguales dando una buena aproximación de dicho valor. Por otro lado, también se demostró que los glóbulos rojos tienen una gran influencia en la generación del agregado de partículas haciéndolo más grande en la dirección transversal al flujo, más uniforme a lo largo del canal y más compacto. La compactación del agregado es influenciada directamente por las interacciones de los eritrocitos con las cadenas de partículas haciendo que éstas se deslicen en dirección del flujo hacia el agregado más grande. Por último, se demostró que existen condiciones críticas que afectan el flujo de glóbulos rojos en microcanales con obstrucciones parciales, como sería el grado de oclusión, la distribución del flujo en bifurcaciones, la pérdida de simetría del perfil de velocidad y el flujo de entrada en el dispositivo. En un futuro es necesario lograr un arreglo experimental más realista que nos permita modelar con más detalle el flujo en la microvasculatura con canales parcialmente obstruidos.

**5.1. Perspectivas**

Como perspectivas a futuro, se considera lo siguiente:

1. Realizar un arreglo experimental que nos permita tener una obstrucción más puntual y a su vez permita aumentar el tiempo de filmación de cada experimento para que nos permita analizar más secciones del dispositivo microfluídico.
2. Aumentar el grado de obstrucción de tal forma que únicamente se permita el paso de eritrocitos individuales.
3. Aplicar diferentes flujos de entrada mayores a los utilizados en este trabajo para determinar si el comportamiento que se obtuvo en este trabajo se mantiene a flujos más grandes.

# Bibliografía

- [1] Camacho, J. M., Sosa, V., *Alternative Method to Calculate the Magnetic Field of Permanent Magnets with Azimuthal Symmetry*, Revista Mexicana de Física, Sección: Educación 59.1 (2013), pp. 8-17. ISSN: 0035-001X.
- [2] Jia, Jie-Min, Chowdary, Praveen D., ET. AL., *Control of Cerebral Ischemia with Magnetic Nanoparticles*, Nature America Inc. 14.2 (2017), pp. 160-171. DOI: 10.1038/NMeth.4105.
- [3] Bento, David, Rodriguez, Raquel O., Faustino, Vera, Pinho, Diana, Fernandes, Carla S., Pereira, Ana I., Garcia, Valdemar, Miranda, João M., Lima, Rui, *Deformation of Red Blood Cells, Air Bubbles, and Droplets in Microfluidic Devices: Flow Visualizations and Measurements*, Micromachines 9.151 (2018), pp. 1-18. DOI: 10.3390/mi9040151.
- [4] Antonio Fasano and Adelia Sequeira, *Hemomath*, vol. 18, Springer (2007).
- [5] Kwang W. Oh, Kangsun Lee, a Byungwook Ahn and Edward P. Furlan, *Design of Pressure-Driven Microfluidic Networks Using Electric Circuit Analogy*, Lab Chip 12.3 (2012), pp. 515-545. DOI: 10.1039/c2lc20799k.
- [6] Chiu, Chien-Yu, Chung, Tze-Wen, ET. AL., *Effects of PEGylation on Capture of Dextran-Coated Magnetic Nanoparticles in Microcirculation*, International Journal of Nanomedicine, Dovepress 14 (2019), pp. 4767-4780. DOI: 10.2147/IJN.S204844.
- [7] Jie-Min Jia, Chuanqi Peng, Yihui Wang, Jie Zheng, Woo-Ping Ge, *Control of Occlusion of Middle Cerebral Artery in Perinatal and Neonatal Mice with Magnetic Force*, Molecular Brain 11.1 (2018), pp. 11-47. DOI: 10.1186/s13041-018-0389-0.
- [8] Sandor I. Bernad, Daniela Susan-Resiga, Elena S. Bernad, *Hemodynamic Effects on Particle Targeting in the Arterial Bifurcation for Different Magnet Positions*, Molecules 24.13 (2019). DOI: 10.3390/molecules24132509.

- [9] K. Firoozbakhsh, M.T. Ahmadian, M. Hasanian, *Simulation of Red Blood Cell Passing Through Constrictions Using Modified Moving Particle Semi-Implicit Method*, Volume 6: Fluids and Thermal Systems; Advance for Process Industries (2011), Parts A and B. DOI: doi:10.1115/imece2011-63535.
- [10] Bangs Laboratories, Inc, *Fluorescent/Dyed microspheres*, Bangs Laboratories, Inc (2013).
- [11] Yang K, Lu C, Zhao X, Kawamura R., *From Bead to Rod: Comparison of Theories by Measuring Translational Drag Coefficients of Micron-Sized Magnetic Bead-Chains in Stokes Flow*, PLoS ONE 12.11 (2017). DOI: 10.1371/journal.pone.0188015.
- [12] Pengtao Yue, Shernita Lee, Shahriar Afkhami and Yuriko Renardy, *On the motion of superparamagnetic particles in magnetic drug targeting*, SpringerWien NewYork, Acta Mechanica 223 (2011), pp. 505-527. DOI: 10.3791/2874.
- [13] Ping Hu, Tian Chang, Wen-Jing Chen, Jie Deng, Shi-Lei Li, Ye-Gai Zuo a, Lu Kang, Fan Yang, Megan Hostetter, Alex A. Volinsky, *Temperature effects on magnetic properties of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles synthesized by the sol-gel explosionassisted method*, Journal of Alloys and Compounds 773 (2018), pp. 605-611. DOI: 10.1016/j.jallcom.2018.09.238.
- [14] H. Bruus, *Theoretical microfluidics*, MIC, Technical University of Denmark, Denmark (2004).
- [15] Joanna Aizenberg, John A. Rogers, Kateri E. Paul, and George M. Whitesides, *Imaging Profiles of Light Intensity in the Near Field: Applications to Phase-Shift Photolithography*, Applied Optics 37.11 (2018), pp. 2145-2152. DOI: 10.1364/ao.37.002145.
- [16] Sosa Hernández, J. E., *Motilidad y quimiotaxis de E. coli en constricción generada por un dispositivo microfluídico*. Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Monterrey (2012).

- [17] Dong Qin, Younan Xia, and George M Whitesides, *Soft Lithography for Micro- and Nanoscale Patterning*, Nature Protocols 5.3 (2018), pp. 491-502. DOI: 10.1038/nprot.2009.234.
- [18] George M. Whitesides, and Abraham D. Stroock, *Flexible Methods for Microfluidics*, Physics Today 54.6 (2001), pp. 42-48. DOI: 10.1063/1.1387591.
- [19] Mehmet Uyklu, Melike Cengiz, Pinar Ulker, Timea Hever, Julien Tripette, Philippe Connes, Norbert Nemeth, Herbert J. Meiselman and Oguz K. Baskurt, *Effects of Storage Duration and Temperature of Human Blood on Red Cell Deformability and Aggregation*, Clinical Hemorheology and Microcirculation 41.4 (2009), pp. 269-278. DOI: 10.3233/ch-2009-1178.
- [20] Oguz K. Baskurt, Michel Boynard, Giles C. Cokelet, Philippe Connes, Brian M. Cooke, Sandro Forconi, Fulong Liao, Max R. Hardeman, Friedrich Jung, Herbert J. Meiselman, Gerard Nash, Norbert Nemeth, Björn Neu, Bo Sandhagen, Sehyun Shin, George Thurston and Jean Luc Wautier. *New Guidelines for Hemorheological Laboratory Techniques*, Clinical Hemorheology and Microcirculation 42.2 (2009), pp. 75-97. DOI: 10.3233/ch-2009-1202.
- [21] Jaan Maennik, Rosalie Driessen, Peter Galajda, Juan E. Keymer, and Cees Dekker, *Bacterial Growth and Motility in Sub-Micron Constrictions*, Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America 106.35 (2009), pp. 14861-14866. DOI: 10.1073/pnas.0907542106.
- [22] Yang K, Lu C, Zhao X, Kawamura R., *From Bead to Rod: Comparison of Theories by Measuring Translational Drag Coefficients of Micron-Sized Magnetic Bead-Chains in Stokes Flow*, PLoS ONE 12.11 (2017). DOI: 10.1371/journal.pone.0188015
- [23] Crocker, John C., Grier, David G., *Methods of Digital Video Microscopy for Colloidal Studies*, Journal of Colloid and Interface Science 179.217 (1995), pp. 298-310. DOI: 10.1006/jcis.1996.0217.
- [24] Sandor I. Bernad, Daniela Susan-Resiga, Ladislau Vekas, Elena S. Bernad, *Drug Targeting Investigation in the Critical Region of the Arterial Bypass Graft*, Journal



- of Magnetism and Magnetic Materials 475 (2019), pp. 14-23 DOI: 10.1016/j.jmmm.2018.11.108.
- [25] A. V. Minakov, D. V. Guzei, V. A. Zhigarev, M. I. Pryazhnikov and A. A. Shebelevaa, *Experimental Investigation of Magnetic Particle Transport in a Circular Minichannel in a Constant Magnetic Field*, Journal of Engineering Physics and Thermophysics 92.5 (2019), pp. 1239-1247. DOI: 10.1007/s10891-019-02039-w.
- [26] Peter Balogh and Prosenjit Bagchi, *Analysis of Red Blood Cell Partitioning at Bifurcations in Simulated Microvascular Networks*, Physics of Fluids 30.5 (2018), pp. 0511902. DOI: 10.1063/1.5024783.
- [27] Son M, Lee YS, Lee MJ, Park Y, Bae H-R, Lee SY, ET. AL., *Effects of Osmolality and Solutes on the Morphology of Red Blood Cells According to Three-Dimensional Refractive Index Tomography*, PLoS ONE 16.12 (2021), ID. e0262106. DOI: 10.1371/journal.pone.0262106.
- [28] I. Kokalari, T. Karaja, and M. Guerrisi, *Review on Lumped Parameter Method for Modeling the Blood Flow in Systemic Arteries*, Journal of Biomedical Science and Engineering 6.1 (2013), pp. 92–99. DOI: 10.4236/jbise.2013.61012.
- [29] Mariana Suárez-Bagnasco and Roberto Suárez-Ántola, *Contribuciones al Estudio de las Posibles Consecuencias Fisiológicas y Fisiopatológicas de la Acumulación Axial de los Elementos Formes de la Sangre. Segunda Parte: Discusión Biomecánica Ampliada*, Revista de la Sociedad Científica del Paraguay 21.1 (2016), pp. 25-46. <http://sociedadcientifica.org.py/ojs/index.php/rscopy/article/view/26>.
- [30] Vahak Marghussian, *Nano-Glass Ceramics*, School of Metallurgy and Materials Engineering, Iran University of Science and Technology (IUST), Tehran, Iran (2015).
- [31] Águila, Oscar, ET. AL., *Captura y marginación de partículas en la microvasculatura de un modelo in vivo*, Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Monterrey (2019).
- [32] Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E, eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine* (2007), 8th ed. St. Louis, Mo; WB Saunders;

- [33] Marieb, Elaine N, *Fisiología de Anatomía & humana (Séptimo ed.)*. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings (2007).
- [34] W. K. H. Panofski y M. Philips, *Classical electricity and magnetism*, New York, Dover (2005), p. 143.