

Estudo computacional da influência da matriz porosa de hidrogel no gradiente de glicose em um dispositivo de microfluídica destinado à análises biológicas

Elton Diêgo Bonifácio *, Marcília Valéria Guimarães, Libardo Andrés Gonzáles Torres, Cleudmar Amaral de Araújo

*Laboratório de Projetos Mecânicos LPM, elton.bonifacio@ict.ufvjm.edu.br

Palavras-chave

microfluídica, processos biológicos, gradiente químico, elementos finitos

1. INTRODUÇÃO

O microambiente celular é um sistema heterogêneo e altamente complexo, constituído de diferentes tipos de células imersas em uma matriz extracelular (MEC) que estão sujeitas a múltiplos sinais que variam no espaço e tempo (El-Ali; Sorger; Jensen, 2006). Esse gradiente de concentração molecular controla vários comportamentos celulares tais como o crescimento, proliferação e migração, que por sua vez regulam vários processos fisiológicos e patológicos como a cicatrização de feridas, inflamação, angiogênese, desenvolvimento e metástase do câncer, imunoterapia e efeito de fármacos. (Somaweera et al., 2016).

As abordagens convencionais *in vitro* são muito simples para proporcionar dados realísticos desta complexa rede de interações e, por outro lado, os estudos *in vivo* em animais fornecem dados muito complexos que podem ser ou não relevantes para humanos (Boussommier-Calleja et al., 2016). Os microchips permitem que sejam estudados com confiabilidade e reprodutibilidade pequenas quantidades de células, fornecendo dados relevantes para humanos e, assim, limitando o uso de animais na pesquisa. As limitações dos ensaios convencionais em controlar precisamente os estímulos bem como o microambiente celular, tem conduzido ao desenvolvimento de novas técnicas de ensaio usando tecnologia de microfabricação como os microchips e MEC 3D como os hidrogéis (Polacheck; Zervantonakis; Kamm, 2012). Os hidrogéis sintéticos são frequentemente usados como modelos de sistemas para o estudo de transporte de moléculas solúveis e a formação de gradiente químico em sistemas biológicos devida sua similaridade encontrada com a MEC (Moreno-Arotzena et al., 2015).

Nas últimas décadas, graças aos avanços na capacidade de processamento dos computadores, os modelos computacionais aliados aos modelos matemáticos e experimentais tem contribuído para o entendimento do comportamento biológico das células e tecidos. Assim, a possibilidade de modelar computacionalmente microchips destinados à análises biológicas representam um avanço no estudo do comportamento celular. Esses modelos podem contribuir para auxiliar nos ajustes das investigações experimentais usando microfluídica, uma vez que permitem simular diversas condições.

Este artigo é parte de uma pesquisa, em fase inicial, que visa investigar os mecanismos e os parâmetros que influenciam o comportamento celular. Nesta etapa inicial, é proposto um estudo, por meio de uma abordagem computacional, do gradiente de concentração de glicose em um microchip, destinado à análises biológicas, com meio poroso, similar a um modelo experimental da literatura usado para estudar o câncer. Serão avaliadas a influência do hidrogel na distribuição espaço-temporal da glicose, ou seja, a influência das propriedades da matriz porosa como a permeabilidade (κ) e porosidade (e_p).

2. METODOLOGIA

Para avaliar o gradiente de concentração de glicose em um dispositivo de microfluídica, foi desenvolvido um modelo computacional utilizando um *software* comercial de elementos finitos. A geometria do modelo foi baseada em um microchip utilizado em um experimento recente por Ayuso et al. (2016) na qual os autores estudaram a influência, dentre outros, do gradiente de concentração da glicose sobre células tumorais (glioblastoma e cólon). Este dispositivo é composto por dois canais laterais e uma câmara central, conforme mostra a Fig. 1. Os canais laterais exercem o papel dos vasos sanguíneos, isto é, permitem o fluxo independente de nutrientes, oxigênio, fármacos, fatores de crescimento e etc. A câmara central é o local onde é inserido hidrogel com uma cultura de células que se deseja estudar. Para determinar o gradiente de concentração de substâncias diluídas no microchip foi utilizado um modelo de reação-difusão:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c) + \mathbf{u} \cdot \nabla c = R \quad (1)$$

onde c é a concentração da substância diluída, D é o coeficiente de difusão (difusividade), R representa um termo de reação que pode ser uma taxa de consumo ou produção (0 na simulação) e $\mathbf{u}$ representa o campo de velocidade do solvente. O fluxo no meio poroso é governado pela equação de Brinkman, no entanto, como a vazão se dá nos primeiros 10 s, a contribuição da advecção é limitada nesta etapa, sendo desprezível com a evolução do tempo.

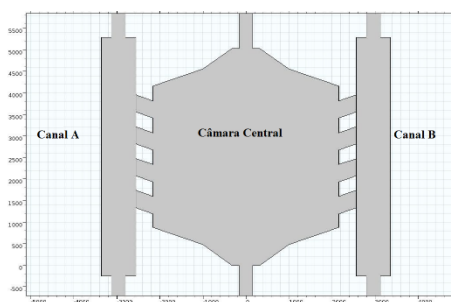


Figura 1 – Geometria do microchip utilizado na modelagem computacional.

Tabela 1 – Parâmetros usados na análise do gradiente de concentração do microchip

Símbolo	Variável	Valor
D	Difusividade	$D_{\text{glic}} = 6,7 \times 10^{-10} \text{ (m}^2/\text{s)}$
κ	Permeabilidade	$\kappa_{\text{colageno}} = 1,0 \times 10^{-12} \text{ (m}^2)$; $\kappa_{\text{fibrina}} = 5,73 \times 10^{-13} \text{ (m}^2)$
μ	Viscosidade dinâmica	103 (Pa.s)
ρ	Densidade	103 (kg/m ³)
e_p	Porosidade	$e_{p\text{colageno}} = 0,8$; $e_{p\text{fibrina}} = 0,7$
Δc	Gradiente de concentração	1 (mol/m ³)

Os modelos foram desenvolvidos considerando-se que os canais A e B (Fig. 1) foram alimentados com uma solução aquosa de glicose a 1 mol/m^3 a uma vazão de $1 \mu\text{l/s}$ durante 10 s, tempo suficiente para o completo preenchimento dos canais. Neste estudo foi considerada a câmara central preenchida com em hidrogel de colágeno e fibrina (meio poroso). Neste trabalho, o gradiente de concentração da glicose foi estudada para duas matrizes de hidrogel, colágeno tipo I e fibrina. A difusão pode ser estudada como um fenômeno essencialmente plano dentro dos microchips. Dessa forma, foi empregado um modelo em elementos finitos 2D baseado numa geração de malha automática composta de elementos triangulares. O estudo de convergência foi realizada com uma malha denominada de *coarse* (grossa) com uma quantidade menor de elementos e uma malha *fine* (fina). A diferença dos resultados e no tempo de processamento não foram significativas e, por isso, optou pela malha fina com um total 4406 elementos. A simulação foi avaliada considerando-se um tempo total de 1000 s de análise. O passo de tempo foi de $\Delta t = 0,05 \text{ s}$ nos 10 primeiros (tempo da vazão da solução) segundos e $\Delta t = 5 \text{ s}$ até o final da análise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A simulação por MEF, conforme Fig.2, mostra que nos primeiros 1000 s a glicose não alcançou região central da matriz de hidrogel. Isso indica, do ponto de vista de análise experimental, que as células nessa região estarão desprovidas de nutrientes. Essa ausência de alimento pode provocar, por exemplo, a morte das células. Em outras palavras, esse modelo fornece um cenário para o pesquisador ajustar o experimento baseado na distribuição espaço-temporal de nutrientes, neste caso, a glicose. É importante ressaltar, que essa é uma avaliação inicial e, portanto, é necessário avaliar a evolução do gradiente de glicose com um tempo total maior. Ayuso et al. (2016), por exemplo, estudaram, experimentais, a variação glicose na matriz de hidrogel após 90 min.

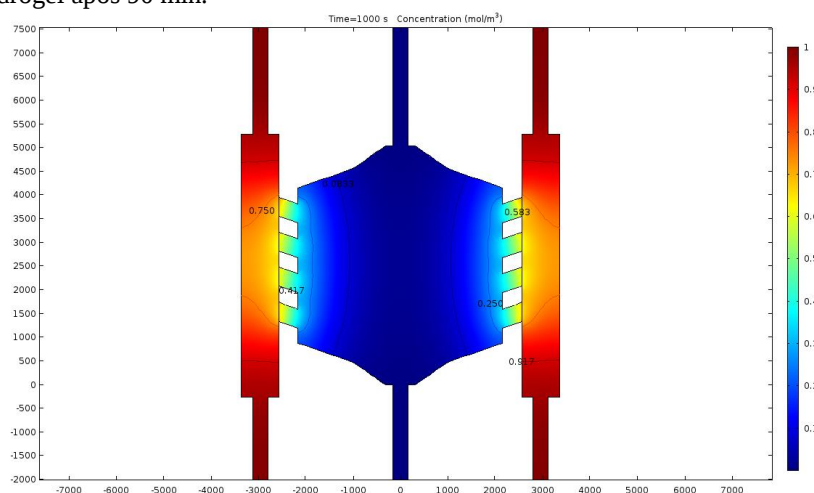


Figura 2: Distribuição de glicose no microchip para um tempo de 1000 s considerando uma matriz de colágeno. –

Para avaliar o gradiente de glicose ao longo do microchip foi tomado um caminho dado por uma reta que compreende à largura da câmara central conforme mostra a Fig. 3 a. Para efeito de nomenclatura vamos denominar essa reta de *cutline-2D*. Os gráficos da Figura 3 b e c apresentam a distribuição de glicose ao longo da linha *cutline-2D* considerando a câmara central preenchida com os hidrogéis de colágeno e fibrina. De acordo com esses gráficos, observa-se que o transporte da glicose para o interior da matriz porosa evolui mais rapidamente nos primeiros minutos (~200 s). Apesar da vazão ser contabilizada no modelo, observa-se neste modelo que após alguns segundos o efeito da advecção é minimizada e na medida que o tempo evolui o transporte molecular se dá essencialmente por difusão.

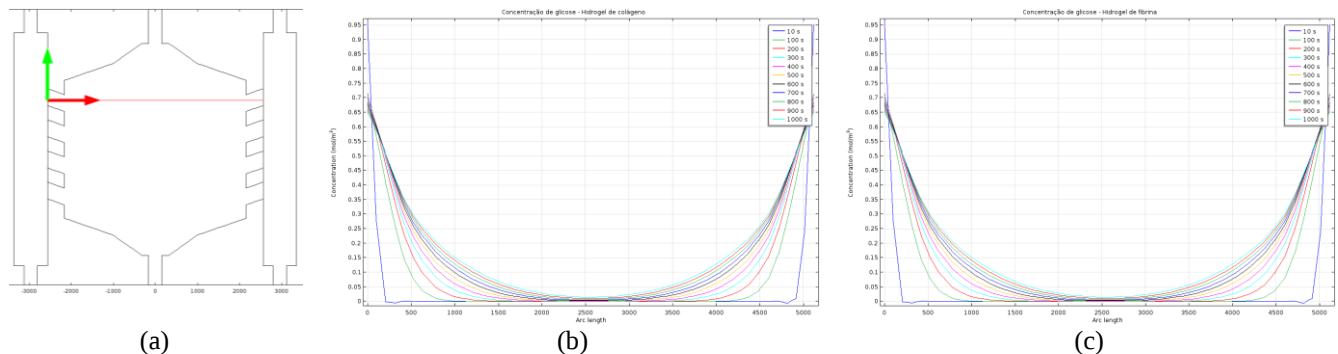


Figura 3: Gradiente de concentração de glicose ao longo da linha *cutline-2D* (a), para hidrogel de colágeno (b) hidrogel de fibrina (c), nos tempos de 10, 100, 200, 300, ... 1000 s.

O gráfico da Fig.4 apresenta, comparativamente, o gradiente de concentração da glicose ao longo da linha *cutline-2D* no interior da matriz de hidrogel de colágeno e fibrina após 1000 s de análise. As curvas se sobrepõem, indicando, portanto, que não existe diferença na distribuição de nutrientes no interior desses hidrogéis, dada as condições iniciais e de contorno deste caso.

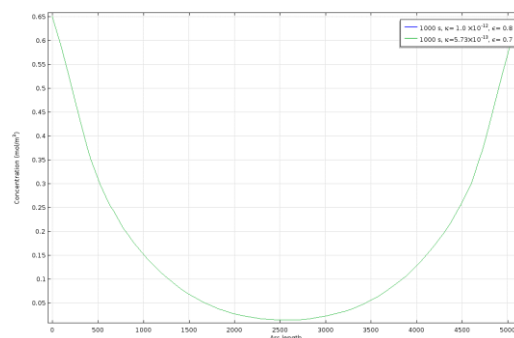


Figura 4: Gradiente de concentração de glicose ao longo da linha *cutline-2D* para uma matriz de colágeno e fibrina.

Com este modelo é possível prever como se dá a distribuição de nutrientes no microchip na ausência de células e, assim, contribuir para ajustes experimentais. É importante salientar que a presença de células irá alterar o perfil da distribuição molecular, seja nutrientes, fatores de crescimento, oxigênio e etc. Isso se dá pois, as células consomem esses nutrientes e, além disso, existe reações entre os agentes químicos e a matriz porosa. Este trabalho retrata a primeira etapa da pesquisa que visa estudar o comportamento celular em dispositivos de microfluídica. Pretende-se com isso, entender os processos envolvidos em diversos fenômenos biológicos bem como prever os fatores importantes, visando a otimização durante a implementação experimental desses sistemas.

4. AGRADECIMENTOS

À FEMEC/UFU ao LPM/UFU e a UFVJM.

5. REFERÊNCIAS

- Ayuso, J.M.et al. Development and characterization of a microfluidic model of the tumour microenvironment. *Scientific Reports*, Vol.6, 2016 pp. 1-16.
- Boussommier-Calleja, A. et al. Microfluidics: A New Tool for Modeling Cancer-Immune Interactions. *Trends In Cancer*, Vol.2, 2016 pp.6-19.
- El-Ali, J; Sorger, P. K.; Jensen, K.F. Cells on chips. *Nature*, Vol.442, 2006, pp.403-411.
- Moreno-Arotzena, O. et al. Characterization of Fibrin and Collagen Gels for Engineering Wound Healing Models. *Materials*, Vol.8, 2015, pp.1636-1651.
- Polacheck, W.J; Zervantonakis, I. K; Kamm, R. D. Tumor cell migration in complex microenvironments. *Cellular And Molecular Life Sciences*, Vol. 70, 2012, pp.1335-1356.
- Somaweera, H.; Ibragimov, A.; Pappas, D. A review of chemical gradient systems for cell analysis. *Analytica Chimica Acta*. Vol.907, 2016, pp.7-17.