

MODELAGEM DE SISTEMAS DE MICROFLUÍDICA PARA ESTUDO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS

Eduardo Scarquette de Souza, UFVJM, eduardoscarquette@yahoo.com.br

Luiz Henrique Cordeiro Rocha, UFVJM, luizhcr1@hotmail.com

Elton Diêgo Bonifácio, UFVJM, elton.bonifacio@ict.ufvjm.edu.br

Libardo Andrés González Torres, UFVJM, l.gonzales@ict.ufvjm.edu.br

Resumo. Microfluídica é o nome dado ao estudo de propriedades com escoamento de fluidos em escala reduzida, em geral com dimensão menor que milímetros. Isso faz com que seja mais simples controlar e homogeneizar condições como temperatura, pressão e concentração de espécies diluídas. Sistemas baseados em microfluídica são empregados no estudo de processos biológicos, nos quais a migração de um grupo de células, por exemplo, é influenciada pelas características do meio ao seu redor. O estudo de sistemas baseados em microfluídica depende de equipamentos específicos, e de microscopias e reagentes, marcadores, entre outros, em pequenas quantidades, reduzindo assim seu custo de aplicação, porém que podem exigir qualificação de pessoal. Por esse motivo, para aprofundar na compreensão desses sistemas podem ser usadas técnicas de simulação computacional para representar no computador um experimento, o que pode ajudar a reduzir a quantidade de material utilizada em um experimento posterior, além de poder prever o que está para acontecer durante o experimento, variáveis e fatores importantes. O objetivo desta revisão é apresentar uma breve descrição sobre sistemas microfluídicos, suas aplicações em processos biológicos e uma forma de estudar esses sistemas aplicando o método dos elementos finitos.

Palavras chave: Microfluídica. Modelagem. Processos biológicos.

1. INTRODUÇÃO

O estudo de processos biológicos tem como objetivo compreender o funcionamento de organismos vivos, e como se comportam sob determinadas condições. Para isso, dispõe de algumas ferramentas clássicas como ensaios in vivo, ex vivo ou in vitro. No entanto, frequentemente, esses tipos de ensaios têm relevância fisiológica limitada (Boussommier-Calleja *et al.*, 2016), seja por não simular satisfatoriamente as condições, por exemplo ao usar células animais em lugar de células humanas, ou por não permitir uma boa observação dos resultados.

Nesse contexto, surgem os dispositivos de microfluídica como uma ferramenta, na qual é possível controlar o microambiente celular, permitindo assim novas descobertas e novas questões, de uma forma reprodutível (Velve-Casquillas *et al.*, 2010). O interesse nesses dispositivos têm aumentado, para entender como estímulos induzem resposta de células diversas em vários tecidos e processos (Polacheck *et al.*, 2013). Os dispositivos de microfluídica consistem em uma espécie de microlaboratório, no qual há canais para inserção de um meio de cultura e o controle diferentes variáveis, como o PH, fluxo intersticial, ou concentração de determinada substância como, por exemplo, fator de crescimento, quimiocina, entre outros.

A interferência de estímulos externos em processos celulares depende do estado bioquímico intrínseco à célula (Charras e Sahai, 2014) e, por isso, um mesmo estímulo pode interferir em um processo biológico de diferentes formas. Uma das principais causas dessa diferença é o fato de que o sistema engloba muitos processos interligados de natureza bioquímica e mecânica, dentre outros tipos (Danuser *et al.*, 2013), que modificam o estado da célula e conseqüentemente sua interação com o meio.

Uma forma de estudar os sistemas baseados em microfluídica, de forma simplificada e reprodutível, é a simulação computacional, na qual é possível prever determinados comportamentos, sem a necessidade de se possuir os sistemas fisicamente. Apesar de ser muito difícil de prever o comportamento preciso do sistema a partir de modelagem, o foco no estudo de diferentes aspectos do sistema pode permitir melhor entendimento de determinados fenômenos, o que por sua vez pode servir de guia para desenvolvimento de novos experimentos (Zamora e Kamm, 2013).

Os modelos simulados podem ser resolvidos utilizando o Método dos Elementos Finitos (MEF) ou outro método numérico apropriado. O MEF é um dos métodos mais populares para solucionar problemas envolvendo equações diferenciais parciais, que podem representar diversos fenômenos em meios contínuos usando modelos matemáticos (Gockenbach, 2006). O método consiste em transformar o problema diferencial em um sistema linear, resolvendo de forma aproximada as equações para pequenos subdomínios chamados elementos. A união das respostas obtidas para todos os elementos será a solução aproximada das equações diferenciais.

A possibilidade de simular computacionalmente o efeito de um estímulo externo em um ambiente de microfluídica pode representar um avanço no estudo de comportamento biológico de células em tecidos. Iniciar o estudo como um modelo computacional pode poupar trabalho em laboratório economizando material e permitindo entender e analisar os resultados de estudos experimentais.

Este trabalho tem como objetivo fazer um paralelo entre os experimentos em laboratório e as simulações computacionais desses experimentos usando, para isto, modelos computacionais que representam os dispositivos de microfluídica resolvidos pelo método dos elementos finitos.

2. MICROFLUÍDICA

O dispositivo de microfluídica (Fig. 1) também denominado de “Chip” mais básico pode ser caracterizado por uma rede de microcanais com microbombas e microválvulas para a manipulação do fluido, acoplado a um mecanismo de detecção dos dados (Mahesh e Vaidya, 2017). Estes chips possuem uma vasta aplicação estando presentes desde a pesquisa básica até diagnóstico de doenças (Polacheck *et al.*, 2013) e (Mahesh e Vaidya, 2017).



Figura 1. Exemplo de um “Chip”, dispositivo para realização de experimentos em microfluídica, BE-GRADIENTE - Beonchip.

Os chips permitem uma melhor aproximação dos estímulos externos ao qual um processo biológico está submetido. Essa possibilidade se dá pelos equipamentos que permitem controle de gradientes de concentração, esforços mecânicos e fluxos de fluidos com alta precisão. Ainda, a dimensão reduzida faz com que as reações se estabilizem rapidamente, atingindo assim o estado de regime permanente em um intervalo de tempo menor. Esses chips podem inclusive ser facilmente integrados a sistemas de detecção, uma vez que essa instrumentação em geral é limitada à superfície ou a um ponto, e em sistemas em escala reduzida essa limitação não é tão relevante. Isso é muito significativo para a compreensão dos processos que ocorrem nos seres vivos. Além disso, por trabalhar com pequenas quantidades de fluidos a microfluídica proporciona uma diminuição do tempo de processamento e custos das pesquisas (Mahesh e Vaidya, 2017).

Alguns fatores limitam o uso dos dispositivos de microfluídica, como a tecnologia de fabricação que ainda não está amplamente difundida, e a complexidade dos sistemas por integrar vários subsistemas acoplados que exigem pessoal altamente qualificado. Apesar disso, o uso da ferramenta apresenta grande potencial para o estudo de processos biológicos e está crescendo em relevância, tanto em pesquisa acadêmica quanto em aplicações de laboratório.

3. PROCESSOS BIOLÓGICOS

Os processos biológicos são os fenômenos que ocorrem, naturalmente, como resultado de interações que acontecem dentro de um organismo vivo. Assim, o desenvolvimento de métodos e tecnologias para conhecer tais relações leva à criação de um ramo na tecnologia chamado biotecnologia. Segundo Carvalho (1993, apud Borzani, 2001), “entende-se por biotecnologia o conjunto de conhecimentos, técnicas e métodos, de base científica ou prática, que permite a utilização de seres vivos como parte integrante e ativa do processo de produção industrial de bens e serviços”. Nesse contexto, processos biológicos são tratados como ferramenta tecnológica, e assim faz sentido aplicar foco em seu desenvolvimento.

A aplicação da biotecnologia é um processo multidisciplinar, pois seu desenvolvimento exige a participação de profissionais de múltiplas áreas (Borzani, 2001), como sistemas de informação, bioquímica, biologia, engenharia, dentre outros. Ainda por essa característica de inter-relação, é possível estudar um fenômeno biológico a partir de múltiplos pontos de vista, possibilitando que uma abordagem comprove, complemente ou contradiga outra.

Um exemplo de um processo biológico de interesse biotecnológico é a migração celular. Trata-se de um fenômeno complexo, que é influenciado por estímulos químicos, biológicos e físicos, cuja ação depende da microestrutura e das propriedades mecânicas da célula (Zamora e Kamm, 2013). O estudo desse processo é relevante, pois dele dependem fenômenos como desenvolvimento embrionário, a inflamação e a metástase. Esse estudo pode ser dirigido por vários rumos, como:

- Influência do ambiente microbiológico na vizinhança da célula estudada;
- influência de concentrações de determinadas substâncias, como medicamentos;

- influência de gradientes de pressão de fluidos;
- influência de forças mecânicas no processo;
- comportamento da estrutura celular durante a migração.

O processo de migração envolvendo estímulos mecânicos e químicos, foi modelado matematicamente pelo Método dos Elementos Finitos por Zamora e Kamm (2013). Nesse trabalho é elaborada uma análise tridimensional da migração celular em função do mecanismo mecanosensor e de múltiplos estímulos, além da resposta temporal da migração.

4. MODELOS

A modelagem representa um meio para prever o comportamento de sistemas por meio do estudo de equações matemáticas. Uma das possibilidades é descrever o fenômeno de interesse por equações parciais diferenciais, que permitem traduzir a situação real para a linguagem matemática. Posteriormente, aplica-se uma técnica numérica, tal como o Método dos Elementos Finitos, e então os resultados do modelo são validados através de comparação com o fenômeno físico, em experimentos de laboratório (Devloo, 2005).

4.1. Problemas de Valor de Contorno (PVC)

As equações diferenciais descrevem um sistema a partir de taxas de variação, seja com relação ao tempo, à posição ou outras variáveis. As variáveis são comumente estudadas dentro de um domínio Ω , que representa a geometria que quer ser estudada (Gockenbach, 2006). A forma mais comum de um PVC é a Equação de Laplace, dada pela Eq. (1) dada a seguir

$$-\Delta u = 0 \quad (1)$$

No qual o primeiro termo é dado por

$$-\Delta u = \nabla \cdot (\nabla u) = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \quad (2)$$

Ou, ainda, a forma não-homogênea, chamada de Equação de Poisson,

$$-\Delta u = f \quad (3)$$

Mas a equação de Laplace é insuficiente para determinar uma solução única para o problema. Gockenbach (2006) indica que para que a solução seja única, são necessárias condições de contorno. O “contorno” é a região que limita o domínio, e a condição de contorno deve ser uma função conhecida.

Mesmo que esse sistema tenha solução única, nem sempre ela pode ser obtida por meio de métodos analíticos. Em aplicações de Engenharia, é muito comum buscar solução numérica, de modo que possa ser implementada em um computador para encontrar a solução aproximada do problema.

4.2. Método dos Elementos Finitos (MEF)

Os Problemas de Valor de Contorno são, como definidos anteriormente, sistemas de equações diferenciais e condições de contorno. Na modelagem de problemas reais, esses problemas são compostos em geral por equações que não possuem solução analítica. Para resolver esse problema, foram desenvolvidos métodos que aproximam a solução buscada. O Método dos Elementos Finitos (MEF) aparece como a técnica mais popular, contando com diversos softwares comerciais, como o COMSOL, ABAQUS e o ANSYS.

Gockenbach (2006) define os passos para resolução a partir do algoritmo chamado de “Método dos Elementos Finitos de Galerkin”, listando três passos fundamentais para resolução:

1. O PVC pode ser transformado em uma forma equivalente chamada *Forma Variacional*, e a partir dela é possível atingir a *Formulação Fraca* do problema, no qual o PVC é transformado em um problema integral;
2. o *Método de Galerkin* produz a melhor aproximação, em um subespaço de aproximação, para a solução real. Essa aproximação é a solução aproximada em um espaço de dimensão finita, normalmente formado por funções polinomiais;
3. Quando o subespaço de aproximação é escolhido como *funções polinomiais definidas por partes*, o algoritmo é *eficiente e efetivo*. O sistema então pode ser formado e solucionado e resultar em uma solução aproximada que seja altamente acurada.

O MEF fornece soluções aproximadas para diversas classes de problemas que descrevem o mundo real.

4.3. Estudo de caso preliminar

O estudo de fluxos intersticiais, juntamente com o transporte de químicos, é de grande importância para a representação de processos biológicos. Esses processos podem ser estudados com auxílio de plataformas de microfluídica. Os dispositivos de microfluídica, também denominado de microchips, são ferramentas úteis e versáteis no estudo dos processos biológicos devido à capacidade de simular com fidelidade a dinâmica do microambiente biológico permitindo, por exemplo, a variação do fluxo intersticial, variação das propriedades mecânicas do meio, variação do gradiente de concentração de fármacos ou fatores de crescimento, dentre outros.

Por meio de um software de elementos finitos e utilizando uma geometria similar a um chip comercial semelhante ao da Fig. 1. Este equipamento é chamado de BE-GRADIENT, fabricado pela empresa Beonchip. Virumbrales-Muñoz (2017) utilizou um chip semelhante, e indicou que os canais possuem diâmetro de 90 μm , e para essa revisão foi possível supor o restante de dimensões. O componente central do chip, que pode ser visto na Fig. 2, tem dimensões de 1 mm x 0,4 mm, com espessura de 90 μm .

Foi estudado o gradiente de concentração gerado por um fluxo laminar com velocidade de 0,001m/s e concentração de 10 mol/m³ na canal superior e no canal inferior um fluxo de laminar com velocidade de 0,001m/s e concentração zero. Essa dimensão de velocidade permite que os fluxos se apresentem em regime laminar. Essa conclusão se dá pela análise da Eq. 04 que define o número de Reynolds

$$Re = \frac{\rho v D}{\mu} \quad (4)$$

Essa equação relaciona um parâmetro adimensional que depende da massa específica ρ do fluido, a velocidade v de escoamento, um diâmetro característico D e a viscosidade dinâmica μ do fluido. Como este último parâmetro não depende da dimensão do escoamento, esse adimensional depende da velocidade e do diâmetro e resulta em uma ordem de grandeza muito baixa. O comportamento de um escoamento descrito por $Re < 1$ é facilmente previsível, e isso é uma vantagem da aplicação em dimensão reduzida.

Foi realizado para estado estacionário e o resultado obtido para a concentração da substância de estudo está apresentado na Fig. 2.

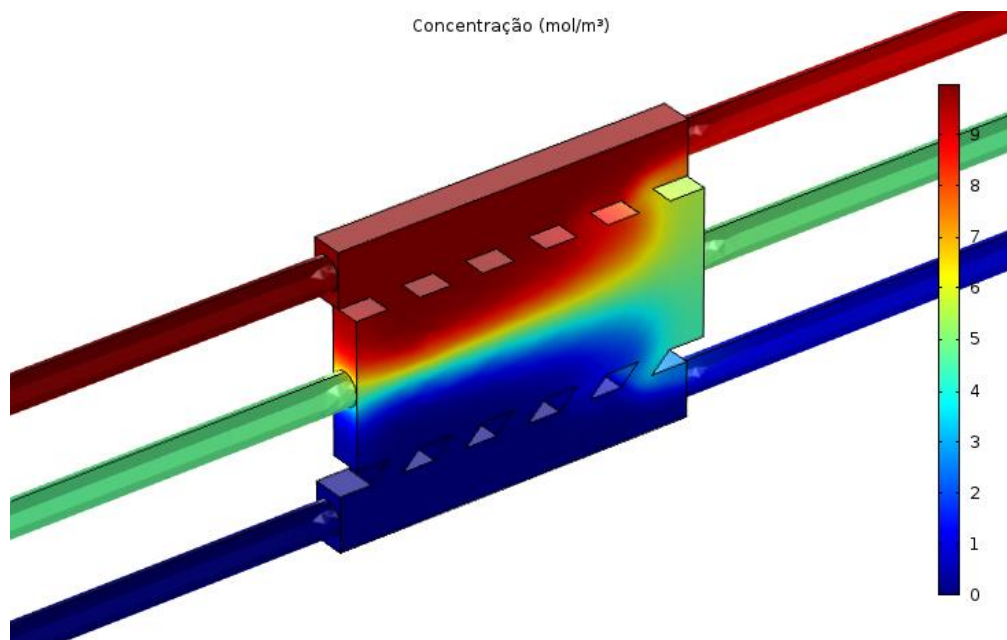


Figura 2. Exemplo de uma simulação pelo MEF, autoral.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de modelos computacionais, de modo geral, depende de um alto nível de compreensão do sistema estudado, além de uma boa capacidade de selecionar parâmetros para a implementação do modelo. Aplicações de microfluídica requerem o conhecimento dos processos biológicos envolvidos, bem como os conceitos de mecânica de fluidos, transporte de massa e transferência de calor. O avanço nos modelos computacionais, bem como a capacidade de processamento aliado ao emprego da microfluídica como ferramenta experimental no estudo dos processos biológicos, tem se mostrado bastante promissor.

Considerando o foco deste trabalho, para uma melhor compreensão dos processos biológicos, as condições de fluxo intersticial e de difusão de substâncias, que podem ser obtidas em uma simulação computacional, são importantes para a interpretação de resultados de experimentos e também para a modelagem computacional dos processos biológicos.

O resultado obtido por simulação computacional se aproxima do resultado real tão bem quanto for bem feita a descrição do sistema real. Mesmo assim, a precisão do modelo pode superar a experimentação, uma vez que esta depende da precisão de equipamentos e é afetada por condições externas nem sempre manipuláveis, como variações de temperatura ou correntes de ar.

A simulação citada nesta revisão foi de análise de concentração de um químico, uma substância qualquer. Como trabalho futuro, aplicar um modelo semelhante para estudar migração celular, como Zamora e Kamm (2013). Porém, a implementação não se dá da mesma forma que a difusão química, pois a célula possui interações importantes. Dependendo de concentrações de certas substâncias, a célula pode ser atraída ou repelida. Uma célula também se comporta de modo diferente com gradientes de tensão. Essa implementação depende de conhecer tais parâmetros e entender o que cada um gera de influência no comportamento da célula.

6. REFERÊNCIAS

- BE-GRADIENT - Beonchip. Disponível em: <<https://beonchip.com/be-gradient/>>. Acesso em: 09 nov. 2017.
- BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Blucher, 2001.
- BOUSSOMMIER-CALLEJA, A.; LI, R.; CHEN, M. B.; WONG, S. C.; KAMM, R. D. Microfluidics: A New Tool for Modeling Cancer–Immune Interactions. **Trends in Cancer**, v. 2, p. 6–19, 2016.
- CHARRAS, G.; SAHAI, E. Physical influences of the extracellular environment on cell migration. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, P. 813–824, 2014.
- DANUSER, G.; ALLARD, J.; MOGILNER, A. Mathematical Modeling of Eukaryotic Cell Migration: Insights Beyond Experiments. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 29, 2013.
- DEVLOO, P. R. B. Simulação Numérica. **A Linguagem da Ciência**, v. 4, 2005.
- GOCKENBACH, M. S. **Understanding and implementing the finite element method**. Philadelphia, PA, USA: Society for Industrial and Applied Mathematics, 2006.
- VELVE-CASQUILLAS, G.; LE BERRE, M.; PIEL, M.; TRAN, P. T. Microfluidic tools for cell biological research. **Nano Today**, v. 5, p. 28–47, 2010.
- MAHESH, K.; VAIDYA, S. Microfluidics: a boon for biological research. **CURRENT SCIENCE**, v. 112, 2017.
- POLACHEK, W. J.; LI, R.; UZEL, S. G. M.; KAMM, R. D. Microfluidic platforms for mechanobiology. *Lab on a Chip*, v. 13, p. 2252, 2013.
- VIRUMBRALES-MUÑOZ, M. et al. Multiwell capillarity-based microfluidic device for the study of 3D tumour tissue-2D endothelium interactions and drug screening in co-culture models. **Scientific Reports**, v. 7, 2017.
- ZAMORA, C. B.; KAMM, R. D.. **Multiscale computational modeling of single cell migration in 3D**, 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Universidad de Zaragoza, 2013.

7. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o importante apoio da FAPEMIG, Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais.

8. RESPONSABILIDADE PELAS INFORMAÇÕES

Os autores são os únicos responsáveis pelas informações incluídas neste trabalho.