

DISPOSITIVO DE MICROFILTRACIÓN PARA EL AISLAMIENTO DE CÉLULAS
TUMORALES CIRCULANTES (MEMS)-(CTC'S).

ALAN JAVIER GONZALEZ DIAZ

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOMECAÑICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA MECÁNICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA MECÁNICA
BUCARAMANGA

2022

DISPOSITIVO DE MICROFILTRACIÓN PARA EL AISLAMIENTO DE CÉLULAS
TUMORALES CIRCULANTES (MEMS)-(CTC'S).

ALAN JAVIER GONZALEZ DIAZ

Trabajo de grado para optar al título de Magister en Ingeniería Mecánica

Director

Ing. MSc. PhD. CARLOS BORRÁS PINILLA

Codirector

Ing. MSc. Pedro José Díaz

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOMECAÑICAS
ESCUELA DE INGENIERIA MENCÁNICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA MECÁNICA
BUCARAMANGA

2022

DEDICATORIA

A mis padres Yazmin Díaz y Alfredo González, pilares en mi vida y mentores desde siempre, quienes me apoyaron en este proceso, motivándome y siendo soporte.

A Dios, por influir en mi actuar y conducirme de manera correcta.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al profesor y director del proyecto de tesis profesor Carlos Borrás por su asesoría y acompañamiento durante el curso de la maestría y desarrollo del proyecto, a la Universidad Industrial de Santander por brindar recursos y herramientas bibliográficas que permitieron llegar al conocimiento requerido para la culminación del proyecto.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. ANTECEDENTES, MARCO TEÓRICO, CONCEPTUAL Y SITUACIÓN ACTUAL	17
1.1. TAMAÑO Y DEFORMABILIDAD DE LA CÉLULA CANCERÍGENA (CTC)	18
1.2. LEUCOCITOS (GLÓBULOS BLANCOS).....	23
1.3. ERITROCITOS (GLÓBULOS ROJOS)	27
1.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS CÉLULAS MODELO TEÓRICO	33
1.4.1. PRESION DE LA GOTA DEBIDO AL FLUJO DEL MEDIO (ΔP_{flow})	33
1.5. SEPARACIÓN DE (CTCs)	36
1.6. HIDRODINÁMICA.	38
1.7. EFICIENCIA DE CAPTURA DE CTC.....	39
1.8. PORCENTAJE DE PURIFICACIÓN.....	39
1.8. MODELADO COMPUTACIONAL (VOLUME OF FLUID METHOD "VOF").....	40
2. OBJETIVOS	44
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	44
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
3. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO.....	45
3.1. Caracterizar el comportamiento de las células en fluido sanguíneo células rojas (RBCs), células blancas (WBCs) células cancerígenas (CTCs),.....	45
3.2. Modelar y diseñar el filtro de células cancerígenas (CTC)'s.....	49
3.3. Establecer la eficiencia del dispositivo de filtración para la filtración de células rojas (RBCs), células blancas (WBCs) y de células cancerígenas (CTCs).....	54

3.4. Validar del modelo de diseño mediante la comparación de la eficiencia de captura para las (CTC)'s	54
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
4.1. CARACTERIZACIÓN CELULAR.....	55
4.1.1. PREPROCESO (DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA DEL DOMINIO.....	55
4.1.2. PREPROCESO (GENERACIÓN DE LA MALLA).....	56
4.1.3. SOLVER.....	57
4.1.4. CARACTERIZACIÓN DE LA CÉLULA BLANCA.....	58
4.1.5. CARACTERIZACIÓN DE LA CÉLULA CANCERÍGENA.....	60
4.2. DISEÑO DEL DISPOSITIVO DE MICROFILTRACIÓN CELULAR	72
4.2.1. DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA.....	73
4.2.2. PREPROCESO DE MALLADO	75
4.2.3. ANÁLISIS DE CORRIENTE CRÍTICA.....	77
4.2.4. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CON CÉLULA BLANCA.	83
4.2.5. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CÉLULAS CANCERÍGENAS.....	87
4.2.6. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CÉLULAS ROJAS HEMATOCRITO 2-4%	95
4.2.7. SIMULACIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS, CÉLULAS BLANCAS Y ROJAS EN HEMATOCRITO 2-4%.....	100
4.2.8. EFICIENCIA Y PUREZA DE CAPTURA DEL DISPOSITIVO.....	103
5. CONCLUSIONES.....	106
6. RECOMENDACIONES	108
BIBLIOGRAFÍA	109
ANEXOS	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del método de caracterización de tubo de succión.	17
Figura 2. Célula cancerígena.	19
Figura 3. Migración de la célula sanguínea en un micro canal hacia las paredes.	23
Figura 4. Célula blanca, multilobulada (WBC).	24
Figura 5. Distribución radial de células blancas en microtubo.	27
Figura 6. Célula roja promedio reportada por Evans y Fung.	28
Figura 7. Agregación de eritrocitos en canales rectos y capa libre celular (Cell free layer)	29
Figura 8. Formación de banda de (RBCs) en bajo hematocrito.	30
Figura 9. Arreglo espacial de células rojas en canales rectos.	31
Figura 10. Separación de plasma y células rojas mediante vórtices.	32
Figura 11. Deformación de una célula a través del microfiltro.	35
Figura 12. Microfiltro basado en tecnología de vórtices.	38
Figura 13. Filtro con obturación de diámetro menor para célula cancerígena.	46
Figura 14. Filtro con obturación de diámetro menor para neutrófilo.	47
Figura 15. Diseño del microfiltro representación esquemática.	51
Figura 16. Geometría del dominio del filtro.	55
Figura 17. a) Mallado dispositivo de filtración. b) Elementos de mallado.	56
Figura 18. Solución de los residuales.	58
Figura 19. Deformación del neutrófilo durante filtración.	59
Figura 20. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.01 Pa \cdot s$	60
Figura 21. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.02 Pa \cdot s$	62
Figura 22. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.03 Pa \cdot s$	63
Figura 23. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.04 Pa \cdot s$. comparación y validación de resultados.	64
Figura 24. Contornos de presión.	65

Figura 25. Comparación y validación de resultados presión crítica vs viscosidad con datos de la literatura.....	66
Figura 26. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 100Pa.s$	67
Figura 27. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 140Pa.s$	68
Figura 28. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 160Pa.s$	69
Figura 29. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 200Pa.s$	70
Figura 30. Comparación presión crítica versus viscosidad celular.....	71
Figura 31. Simulaciones de glóbulos rojos en hematocrito Ht=2-4% y comparación de resultados.....	72
Figura 32. Geometría dispositivo microfiltro.	74
Figura 33. Mallado de elementos cuadrilaterales, microfiltro.	76
Figura 34. Mallado de elementos cuadrilaterales, entrada microfiltro.	77
Figura 35. Corriente crítica en la entrada de las células rojas en la bifurcación del filtro.	78
Figura 36. Corriente crítica en la salida de las células rojas en la bifurcación del filtro. .	79
Figura 37. Corriente crítica en la entrada y salida de células rojas.	81
Figura 38. Formación de vórtices laterales.....	82
Figura 39. a. Entrada de célula blanca al filtro b. Corriente crítica.....	83
Figura 40. a. salida de célula blanca del filtro b. Corriente crítica.....	84
Figura 41. Corriente crítica entrada y salida de célula blanca.....	86
Figura 42. a. Salida de célula blanca del filtro b. Corriente crítica.....	88
Figura 43. a. Salida de célula cancerígena CTC del filtro b. Corriente crítica	89
Figura 44. Corriente crítica en el paso de la CTC en el filtro.....	90
Figura 45. Presión sobre la célula CTC durante la entrada al filtro.....	92
Figura 46. Perfil de velocidades de las células (CTC, WBC RBC) en la constricción. ...	93
Figura 47. Clasificación celular.....	94
Figura 48. Simulación de células rojas en microfiltro con Hematocrito Ht=2-4%	95
Figura 49. a. Formación de vórtices y corriente con Hematocrito Ht=2-4%, b. Generación continua de vórtices.	97
Figura 50. Análisis de corrientes en canal principal.	98

Figura 51. Variación de la posición de las corrientes del canal y bifurcación.	99
Figura 52. Simulación en hematocrito 2 – 4% de a.) células cancerígenas $\mu = 20 Pa.s$, b.) célula blanca, c.) célula cancerígena $\mu = 10 Pa.s$	100
Figura 53. Clasificación de las células (CTC, WBC, RBC) en el microfiltro.	102

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades mecánicas de la CTC.	20
Tabla 2. Propiedades mecánicas de la célula blanca (WBC).	25
Tabla 3. Propiedades mecánicas de la célula roja (RBC).	28
Tabla 4. Dispositivos de filtración basados en tamaño y deformabilidad.	36
Tabla 5: Parámetros de simulación	48
Tabla 6: Parámetros de simulación	53
Tabla 7. Propiedades de malla.....	57
Tabla 8. Propiedades de malla microfiltro.	76
Tabla 9. Simulación microfiltro.	103
Tabla 10. Eficiencia y pureza del microfiltro.	105
Tabla 11. Comparación de resultados con otros dispositivos.....	105

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A.CÓDIGOS MATLAB.....	116

GLOSARIO

CTC: Célula tumoral circulante que se desprende de un tumor primario y viaja a otros órganos a través de del torrente sanguíneo¹.

MICROFILTRO: Dispositivo usado para la separación de las células sanguíneas tomando ventajas de las propiedades físicas de las células y propiedades hidrodinámicas del fluido sanguíneo².

RBC: (Red blood cell por sus siglas en inglés) son las células de mayor abundancia el fluido sanguíneo con alta tensión superficial y alta deformabilidad³.

TENSIÓN SUPERFICIAL: la tensión superficial está relacionada con la curvatura local y la diferencia de presión hidrostática por la ley de Laplace⁴.

VISCOSIDAD: Transporte de momento debido al gradiente de velocidad, resistencia a fluir de los líquidos⁵

WBC: (White blood cell por sus siglas en inglés) o células blancas encargadas de la protección contra agentes externos característica por sus propiedades de alta plasticidad⁶.

¹ PLAKS, Vicki et al. Circulating Tumor Cells. *Science*. 13 Sep 2013. vol 341(6151), 1186–1188. doi:10.1126/science.1235226.

² AGARWAL, Ashutosh et al. Circulating Tumor Cells: Strategies for Capture, Analyses, and Propagation. *Cancer journal (Sudbury, Mass.)*. Mar 1 2019 vol. 24,2 (2018): 70-77. doi:10.1097/PPO.0000000000000310

³ KUHN, Viktoria et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. May 1 2017. *Antioxidants & redox signaling* vol. 26,13 (2017): 718-742. doi:10.1089/ars.2016.6954.

⁴ FISCHER, Elisabeth et al. Quantification of surface tension and internal pressure generated by single mitotic cells. *Sci Rep*. Aug 5 2014. vol 4, 6213. <https://doi.org/10.1038/srep06213>.

⁵ RHA, Chokyun. Theories and Principles of Viscosity. In: Rha, C. (eds) *Theory, Determination and Control of Physical Properties of Food Materials*. Series in Food Material Science. 1975. vol 1. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-010-1731-2_3.

⁶ KING, William et al. Role of White Blood Cells in Blood- and Bone Marrow-Based Autologous Therapies. *BioMed research international*. Jul 10 2018 vol. 2018 6510842. doi:10.1155/2018/6510842

RESUMEN

TÍTULO: DISPOSITIVO DE MICROFILTRACIÓN PARA EL AISLAMIENTO DE CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES (MEMS)-(CTC'S)*

AUTOR: ALAN JAVIER GONZÁLEZ DÍAZ**

PALABRAS CLAVE: MICROFILTRO, CLASIFICACION CELULAR, CTC, RBC, WBC, MEMS.

DESCRIPCIÓN: Este documento propone el diseño y simulación de un dispositivo microfiltro para la captura de células cancerígenas o "células tumorales circulantes" (CTC), motivado por apoyar métodos de prevención y tratamiento contra el cáncer, contribuyendo a la línea de investigación en el campo de los microsistemas. o sistemas microelectromecánicos (MEMS), en el campo de la mecánica de fluidos y la mecánica de fluidos computacional (CFD), el objetivo de la propuesta es el diseño de un dispositivo para separar células cancerosas del fluido sanguíneo, con una eficiencia superior al 70%.

Para la caracterización de células cancerígenas, glóbulos blancos y rojos se definen las propiedades mecánicas de la membrana celular y la viscosidad de cada tipo según la literatura. Luego sometemos cada célula a una deformación midiendo la presión crítica, comparada y validada con modelos de micropipetas y simulaciones de celdas a través de microfiltros. Con los modelos de células establecidos, se diseña el dispositivo de filtración mediante una variación del caudal y geometría, se selecciona la mejor condición hidrodinámica que genere el comportamiento favorable de la clasificación celular, la primera etapa realiza un filtrado de (CTCs), en la segunda etapa se filtran las células (WBCs-RBCs).

Para las simulaciones se genera la malla en dos dimensiones utilizando elementos cuadrilaterales y el método VOF de fracción de volumen utilizando (FLUENT ANSYS). Para el diseño final del microfiltro, en la bifurcación, las células cancerígenas evaluadas con diámetros entre ($D = 14 - 20\mu m$) y viscosidades establecidas entre ($\mu = 20 - 200Pa \cdot s$) se logra una separación del fluido principal con eficiencia mayor a $e > 90\%$, Los vórtices generados en los canales laterales mantienen la pureza de la muestra evitando el desplazamiento lateral de las RBC y WBC y siguiendo la corriente principal generando pureza de 99.99%.

*Trabajo de grado

**Facultad de Ingenierías Fisicomecánicas. Escuela de Ingeniería Mecánica. Maestría en Ingeniería Mecánica. Director: Carlos Borrás Pinilla. Ingeniero Mecánico. MSc. PhD. Codirector: Pedro José Díaz. MSc. Ingeniero mecánico. MSc.

ABSTRACT

TITLE: MICROFILTRATION DEVICE FOR CIRCULATING TUMOR CELLS ISOLATION (MEMS)-(CTCS)*

AUTHOR: ALAN JAVIER GONZALEZ DÍAZ**

KEY WORDS: Microfilter, Cell Sorting, (MEMS), (RBC), (WBC), (CTC).

DESCRIPTION: This document proposes the design and simulation of a microfilter device for the capture of cancer cells or "circulating tumor cells" (CTC)'s, motivated by support prevention and treatment methods against cancer, contributing to the line of research in the field of microsystems or micro-electromechanical systems (MEMS), in the field of fluid mechanics and computational fluid mechanics (CFD), the objective of the proposal is the designed a device for separating cancer cells from blood fluid, with efficiency greater than 70%.

For the characterization of cancer cells and white and red blood cells, the mechanical properties of the cell membrane and the viscosity of each type are defined according to the literature. We then subject each cell to a strain by measuring the critical pressure, compared and validated with micropipette models and simulations of cells through microfilters. With the established cell models, the filtration device is designed by varying the flow rate and geometry, selecting the best hydrodynamic condition generated. the favorable behavior of cell sorting, the first stage performs a filtering of (CTCs), in the second stage the cancer cells are filtered (WBCs-RBCs). For the simulations, the mesh is generated in two dimensions using quadratics elements and the volumetric fraction VOF method using the ANSYS FLUENT solver.

For the final design of the microfilter, in the bifurcation, the cancer cells evaluated with diameters between ($D = 14 - 20\mu m$) and viscosities established between ($\mu = 20 - 200 Pa \cdot s$) a separation of the main fluid with efficiency greater than $\epsilon > 90\%$ is achieved. The vortices generated in the lateral channels maintain the purity of the sample avoiding the lateral displacement of the RBC and WBC and following the main current generating purity of 99.99%.

*Degree work

**Faculty of physical-mechanical engineering. School of mechanical engineering. Director: Director: Carlos Borrás Pinilla. PhD. MSc. Mechanical engineer. Co-director: Pedro José Díaz. MSc. Mechanical engineer.

INTRODUCCIÓN

La migración de las células tumorales circulantes (CTCs) en flujo sanguíneo a otros órganos se produce cuando la célula cancerígena se desprende del tumor primario se filtra a los vasos sanguíneos (intravasión) y migra en el torrente sanguíneo hacia otros órganos del cuerpo (extravasión)⁷, este proceso es una de las características mortíferas del cáncer conocida también como metástasis, la célula cancerígena se deposita en el siguiente órgano y puede generar la metástasis o permanecer inactiva por un tiempo y preparar el lugar para la afección⁸.

La intravasión y extravasión son eventos raros siendo posible encontrar una célula cancerígena por cada billón de células rojas⁹, a pesar de la baja probabilidad el 90% de la gravedad del cáncer es causado por las (CTCs), lograr aislar estas (CTCs) Identificarlas y caracterizarlas es importante en la identificación del tipo de cáncer y la selección del tratamiento adecuado.

La tomografía computacional es un método de detección que determina el tamaño del tumor y determina su crecimiento mediante seguimiento de imágenes el cual en tiempo el tratamiento puede tardar meses para cada toma y no es posible saber si el tumor está proliferando o durmiendo¹⁰.

⁷ LEONG, Stanley.; WILLIAM, Tseng. Micrometastatic cancer cells in lymph nodes, bone marrow, and blood: Clinical significance and biologic implications. *CA: a cancer journal for clinicians*. May-Jun 2014, vol 64(3):195-206. doi: 10.3322/caac.21217.

⁸ WU, Tong et al. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells in Pharmacotherapy: Challenges and Perspectives. *Molecular pharmacology*. Sep 2017, vol 92(3):232-239. doi: 10.1124/mol.116.108142.

⁹ MAHESWARAN, Shyamala.; DANIEL, Haber. Circulating tumor cells: a window into cancer biology and metastasis. *Current opinion in genetics & development*. Feb 2010. Vol 20(1):96-9. doi:10.1016/j.gde.2009.12.002.

¹⁰ GENETICLAB CO. Circulating Tumor Cells. Retrieved from Circulating Tumor. [Web Site]. United States. [DATE]. May 2021. [available]: <http://www.ctc-lab.info/english/ctc1/aboutctc.html>.

Los métodos de detección existentes como la biopsia de tejidos y la tomografía computarizada de tejidos carecen de efectividad o toman largo tiempo. Debido a esta problemática se hizo necesario el desarrollo tecnológico de métodos y dispositivos que apuntaran a medir la proliferación de tumores en un menor tiempo con mayor efectividad en la detección de las células cancerígenas y así poder seleccionar los tratamientos y terapias adecuadas del paciente.

El método de biopsia líquida es un método mínimamente invasivo que evalúa las células dentro del fluido sanguíneo¹¹, siendo un proceso que se ha venido desarrollando con la implementación de nuevas tecnologías tales como el desarrollo de dispositivos de micro filtración (MEMS) de (CTCs) que han demostrado alta eficiencia de captura de (CTCs) en menor tiempo de procesamiento de las muestras para la detección temprana de células cancerígenas (CTCs).

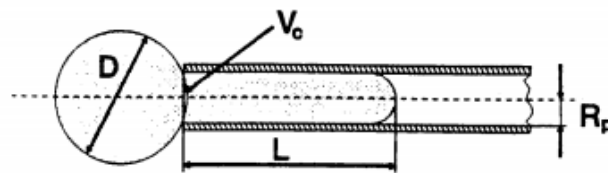
En este documento se propone el diseño de un dispositivo de filtración (MEMS) para la filtración y separación de (CTCs) mediante el uso de las propiedades hidrodinámicas del fluido sanguíneo y las propiedades de tamaño y deformabilidad de las distintas células para lograr el proceso de filtración.

¹¹ KOZMINSKY, Molly.; WANG, Yang y NAGRATH, Sunitha. The incorporation of microfluidics into circulating tumor cell isolation for clinical applications. *Curr Opin Chem Eng.* Feb 2016. Vol 11:59-66. doi: 10.1016/j.coche.2016.01.005.

1. ANTECEDENTES, MARCO TEÓRICO, CONCEPTUAL Y SITUACIÓN ACTUAL

El ensayo con micropipeta es un método ampliamente usado para desarrollar un modelo confiable de la membrana celular¹². El método consiste en la aplicación de una caída de presión de $\Delta P = 100 - 200 Pa$ en un microtubo con un diámetro interno de alrededor de $D_i = 2 \mu m$, esto causa una aspiración de la célula que toma una forma eje simétrica al tubo de succión. La célula toma la forma del tubo de radio R_p y longitud L ver figura 1. La extensión de la encapsulación es calculada desde el diámetro de la porción esférica y la profundidad de la encapsulación, entonces es conocido el corte de la membrana y el módulo de flexión elástica¹³.

Figura 1. Esquema del método caracterización de tubo de succión.



Fuente: PAULITSCHKE, M.; NASH, G.B. Micropipette Methods for Analysing Blood Cell Rheology and Their Application to Clinical Research. Journal: Clinical Hemorheology and Microcirculation. Jan 1 1993 vol: 407 – 434. Doi: 10.3233/CH-1993-13401.

¹² BOUDOU, Thomas et al. An extended modeling of the micropipette aspiration experiment for the characterization of the Young's modulus and Poisson's ratio of adherent thin biological samples: numerical and experimental studies. Journal of biomechanics. Jun 23 2006. vol. 39,9: 1677-85. doi:10.1016/j.jbiomech.2005.04.026.

¹³ PAULITSCHKE, M.; NASH, G.B. Micropipette Methods for Analysing Blood Cell Rheology and Their Application to Clinical Research. Journal: Clinical Hemorheology and Microcirculation. Jan 1 1993 vol: 407 – 434. Doi: 10.3233/CH-1993-13401

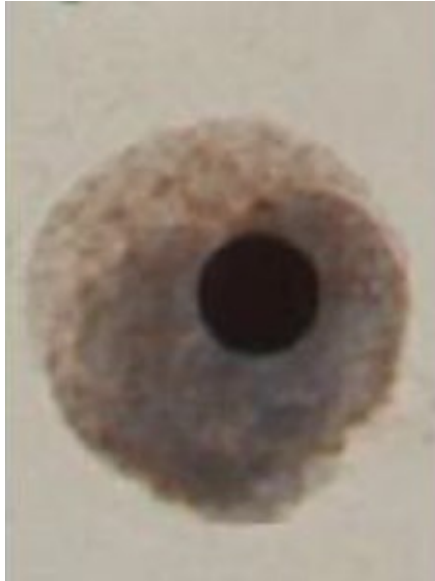
Con este método es posible establecer las propiedades mecánicas requeridas para el proceso de análisis y simulación de las distintas células presentes en el fluido sanguíneo. La figura 1, muestra el pandeo de membrana y el pliegue en experimentos tipo numéricos de microtubos de aspiración los cuales puede ser usado para desarrollar un modelo confiable de la membrana celular. Microtubos de succión es una muy efectiva herramienta para examinar ambos la dinámica y la estática del comportamiento de eritrocitos (glóbulos rojos) sobre una sola célula y especialmente útil para determinar los coeficientes citomecánicos.

1.1. TAMAÑO Y DEFORMABILIDAD DE LA CÉLULA CANCERÍGENA (CTC)

Según estudios de 38 tumores primarios de biopsia de tejidos¹⁴, las células cancerígenas son de mayor tamaño en comparación con los eritrocitos, pero pueden tener un tamaño similar a los glóbulos blancos con tamaños variables según el tipo de leucocito (monocito, granulocito), en exámenes de muestras de tejidos las células epiteliales (célula tumoral sólida) es siempre más grande que todas las células sanguíneas incluyendo los leucocitos.

¹⁴ HAROUAKA, Ramdane.; NISIC, Merisa. y ZHENG, Si-Yang. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties. *Journal of laboratory automation*. Jul 5 2013. vol. 18,6: 455-68. doi:10.1177/2211068213494391.

Figura 2. Célula Cancerígena.



Fuente. HOU, Jian-Mei et al. Circulating tumor cells, enumeration and beyond. *Cancers* Jun 9 2010. vol. 2,2 1236-50, doi:10.3390/cancers2021236.

Las células cancerígenas pueden ser variables y presentan un desafío en el modelado de estas, uno de los motivos es la tensión superficial la cual se puede encontrar en un rango desde 0.001 mNm^{-1} hasta 1000 veces este valor¹⁵, algunas células se comportan como una gota líquida dentro del fluido, por lo que presentan una tensión superficial característica, “tensión cortical” o (*The area expansion modulus*) con unidad de medida en ($\text{pN}/\mu\text{m}$). Por otro lado, las deformaciones de la membrana lipídica requieren tensiones mucho más grandes por lo cual podemos expresarla también en las siguientes unidades equivalentes ($1 \text{ nN}/\mu\text{m} = 1 \text{ mN/m} = 1 \text{ dyne/cm}$) siendo esta última la forma más común para medir la tensión superficial de membranas celulares. Las propiedades mecánicas de las CTC se presenta tabla siguiente.

¹⁵ AGHAAMOO, Mohammad et al. Deformability-based circulating tumor cell separation with conical-shaped microfilters: Concept, optimization, and design criteria. *Biomicrofluidics* Jun 3 2015. vol. 9,3 034106. doi:10.1063/1.4922081.

Tabla 1. Propiedades mecánicas de la CTC.

Parámetro	Valores
Diámetro ^{16 17 18}	14-40 μm
Área transversal	396-796 μm^2
Tensión superficial σ ^{19 20}	30 – 52.9 - 75 mN/m
Viscosidad ^{21 22 23}	0.001 - 1000 $\text{Pa} \cdot \text{s}$

Fuentes: Autoría propia

¹⁶ MEYSKENS, F L Jr et al. Quantitation of the number of cells within tumor colonies in semisolid medium and their growth as oblate spheroids. *Cancer research*. Jan 1984. vol. 44,1: 271-7. PMID: 6690038.

¹⁷ AHMAD, Sohrabi, Kashani.; MUTHUKUMARAN, Packirisamy. Cellular deformation characterization of human breast cancer cells under hydrodynamic forces[J]. *AIMS Biophysics*, June 12 2017, 4(3): 400-414. doi: 10.3934/biophy.2017.3.400.

¹⁸ GEISLINGER, Thomas M et al. Hydrodynamic and label-free sorting of circulating tumor cells from whole blood. *Applied Physics Letters*. November 20 2015 vol. 107(20), 203702–. doi:10.1063/1.4935563

¹⁹ Guo, Quan and McFaul, Sarah M. and Ma, Hongshen. Deterministic microfluidic ratchet based on the deformation of individual cells. *Physical Review E*. February 5 2011. vol 83(5), 051910–. doi:10.1103/PhysRevE.83.051910.

²⁰ PREETHA, A et al. Interfacial properties as biophysical markers of cervical cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy=Biomedecine & pharmacotherapie*. Oct 2005. vol. 59,9: 491-7. doi:10.1016/j.biopha.2005.02.005.

²¹ WANG, K et al. “Characterization of cytoplasmic viscosity of hundreds of single tumour cells based on micropipette aspiration.” *Royal Society open science*. Mar. 2019. vol. 6,3 181707. 20, doi:10.1098/rsos.181707.

²² LEONG, F.Y et al. Modeling cell entry into a micro-channel. *Biomech Model Mechanobiol*. November 8 2010. Vol: 10, 755–766. <https://doi.org/10.1007/s10237-010-0271-1>

²³ ZHANG, X et al. On passing a non-Newtonian circulating tumor cell (CTC) through a deformation-based microfluidic. *Theoretical and Computational Fluid Dynamics*. December 2018 vol. 32, no. 6, pp. 753–764. doi:10.1007/s00162-018-0475-z.

Según el estudio realizado por WANG, K et al²⁴ se obtuvo como resultado la viscosidad dinámica mediante el análisis de datos de miles de células cancerígenas usando reconocimiento de patrones por redes neuronales y el método de succión de micropipeta, se encontró que las células cancerígenas circulantes con diámetros entre $(14 - 17\mu m)$ presentaron los valores más altos de viscosidad entre $(100 - 1300 Pa \cdot s)$ mientras que CTC con diámetros entre $(18 - 25 \mu m)$ presentaron los valores de viscosidad entre $(10 - 200 Pa \cdot s)$.

Por otra parte en el trabajo desarrollado por HASHEM, M et al²⁵, determinaron la presión crítica necesaria para generar el paso de una CTC a través de un microfiltro, en este convenientemente se seleccionaron viscosidades menores a $1 Pa \cdot s$, con el objeto de validar los resultados con modelos teóricos de presión crítica, viscosa y superficial, para los propósitos de diseño de este proyecto se seleccionaron los datos de viscosidades mayores a $10 Pa \cdot s$ de acuerdo a los resultados obtenidos por WANG, K et al, el 100% de las células cancerígenas mostraron viscosidades mayores a $10 Pa \cdot s$ siendo datos reales de la naturaleza de la célula cancerígena.

XIAO, L et al ²⁶, evaluaron la afectación de condiciones como el nivel de hematocrito, tamaño del canal, y la velocidad de flujo en el comportamiento de una CTC en fluido sanguíneo, se evaluó el flujo de células rojas con hematocritos entre $Ht(0.1 - 0.3)$ en un canal recto de longitud de $L = 47\mu m$ y diámetros del canal entre $D(10 - 20\mu m)$. Después

²⁴ WANG, K et al. Characterization of cytoplasmic viscosity of hundreds of single tumour cells based on micropipette aspiration. Royal Society open science. Mar. 2019. vol. 6,3 181707. 20, doi:10.1098/rsos.181707.

²⁵ HASHEM, Mohammad Abul.; CHEN, Xiaolin y TAN, Hua. An adaptive mesh refinement-based simulation for pressure-deformability analysis of a circulating tumor cell. March 4 2019. vol Proc. SPIE 10875, Microfluidics, BioMEMS, and Medical Microsystems XVII, 108750L. doi: 10.1117/12.2507098.

²⁶ XIAO, L L et al. Effects of flowing RBCs on adhesion of a circulating tumor cell in microvessels. Biomechanics and modeling in mechanobiology. Oct 2016. vol. 16,2: 597-610. doi:10.1007/s10237-016-0839-5

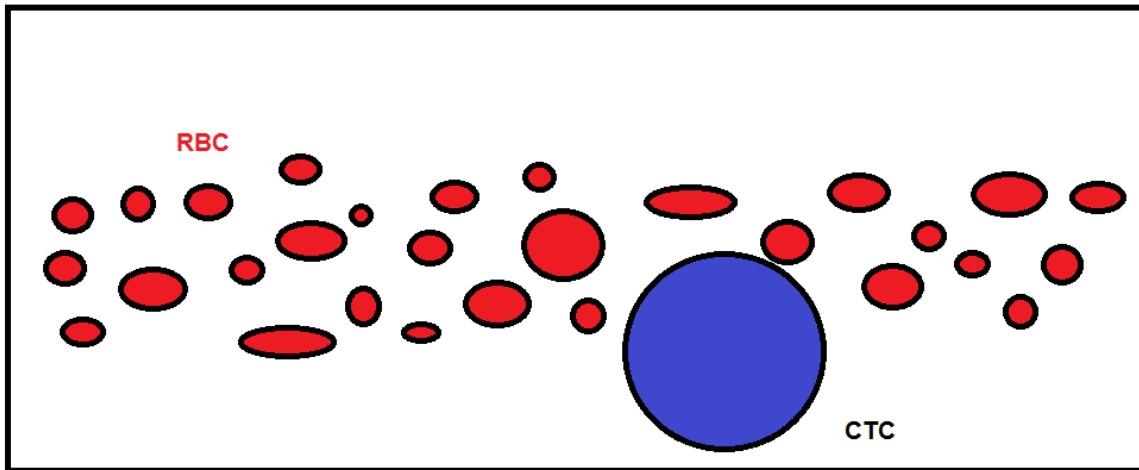
de evaluar la migración lateral de la CTC en el canal, se determinó que niveles altos de Hematocrito ($H_t > 0.3$) evitan la adhesión celular de la CTC a la pared, para un hematocrito menor (< 0.1 , < 0.2) la CTC se adhiere a la pared aproximadamente en un tiempo de ($t = 0.2s$) concluyendo que en niveles de hematocrito menores a (0.1) la adhesión celular de la CTC es mayor, con una respuesta rápida de adhesión a las paredes como se muestra en la figura 3. En la investigación se evaluaron dos canales con tamaño de diámetro D ($15 - 20\mu m$). Para un menor hematocrito (0.1) la respuesta de adhesión de la CTC hacia la pared fue más rápida en el canal de mayor diámetro $D = 20\mu m$ lo que concuerda con el nivel de confinamiento, en el cual si el confinamiento de la célula CTC es:

$$(D/D_T) < 2.0 \quad [1]$$

Donde D_T es el diámetro de la CTC, D es el diámetro del canal, si el nivel de confinamiento es menor a 2, la CTC se puede mantener alejada de la pared y mantenerse en el flujo principal, mientras que para $(D/D_T) > 2.0$ la célula CTC es desplazada hacia las paredes²⁷.

²⁷ TAKEISHI et al, Naoki. Flow of a circulating tumor cell and red blood cells in microvessels. Physical Review. 2015 vol, 92(6), 063011. doi:10.1103/PhysRevE.92.063011

Figura 3. Migración de la célula sanguínea en un micro canal hacia las paredes.



Fuente. Autoría propia.

Otro factor importante es la resistencia relativa al flujo, con el incremento del diámetro del canal, la resistencia relativa al flujo es menor para las células CTC, en las simulaciones encontraron que en tasa de flujo ($\gamma = 17,72 s^{-1}$), el CTC se desprende de la pared debido a la fuerza de elevación creciente pero después de un breve período de tiempo, los glóbulos rojos que fluyen hacia el centro del vaso expulsan el CTC del centro de glóbulos rojos e inician aún más la adhesión del CTC a la pared del vaso, concluyendo que en altas velocidades de flujo, diámetros de micro canales mayores al diámetro de la célula cancerígena y debido al efecto de agregación de los glóbulos rojos en el centro del canal de produce la migración de las células cancerígenas hacia las paredes, finalmente se concluye que con bajos niveles de hematocrito ($Ht < 0.1$), diámetros de canal mucho mayores al tamaño de las células cancerígenas (CTCs), y altas tasas de flujo producen la migración de la CTC hacia las paredes de los vasos sanguíneos.

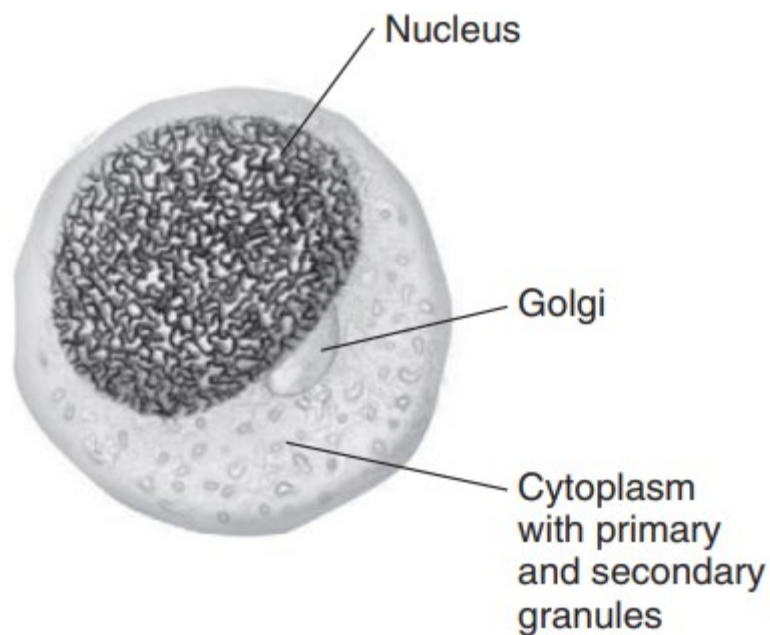
1.2. LEUCOCITOS (GLÓBULOS BLANCOS).

A diferencia de los eritrocitos, los leucocitos (WBC) (White blood cell) por sus siglas en inglés son parte del sistema inmune, ellos protegen el organismo de enfermedades o

agentes externos, estas tienen la capacidad de viajar a los tejidos a través de las paredes mediante adhesión para alcanzar la infección.

Los leucocitos se caracterizan por tener distintos tipos de células dentro de este grupo inicialmente tenemos los granulocitos con tamaño de diámetro entre $D(10 - 20\mu m)$, también están los linfocitos con tamaño de $D(5.2 - 10.1\mu m)$, seguido tenemos los monocitos con tamaño entre $D(12 - 20\mu m)$ siendo el tipo de célula inmune más grande dentro de los leucocitos.

Figura 4. Célula blanca, multilobulados (WBC).



Fuente. RODAK, Bernadette.; CARR, Jacqueline. Clinical Hematology Atlas 4th Editio. - Elsevier eBook on VitalSource. 2013. ISBN: 9781455708314.

Los neutrófilos²⁸ son los tipos de granulocitos más abundantes en todo el cuerpo humano con una cobertura entre el 40- 70% de todas las células blancas con tamaño entre 12 – 15 μm , como se aprecia en la figura 4, la diferencia viscosa entre el núcleo y el citoplasma

²⁸ ACTOR, Jeffrey K. Cells and Organs of the Immune. Elsevier's Integrated Review Immunology and Microbiology - Elsevier eBook on VitalSource (Retail Access Card), 2nd Edition. 2012. ISBN: 9781455755790.

celular y una tensión superficial baja comparadas con las células rojas o células CTC cancerígenas producen un comportamiento de fluido no-newtoniano. Por la alta viscosidad las células blancas son rígidas, pero poseen una baja tensión superficial lo que les brinda la capacidad de incrementar el área superficial y deformarse (mayor plasticidad) para superar los vasos sanguíneos de diámetro menor. La viscosidad de las células sanguíneas esta medida en ($1 \text{ poise} = 0.1 \text{ Pa} \cdot \text{s} = \text{dyn} \cdot \text{s}/\text{cm}^2$).

Tabla 2. Propiedades mecánicas de la célula blanca (WBC).

Parámetro	Valores
Diámetro^{29 30}	5.2-18μm
Área transversal³¹	140 μm^2
Tensión superficial σ³²	2.7 - 3.9x10⁻⁵ N/m
Viscosidad³³	135–200 $\text{Pa} \cdot \text{s}$

Fuente: Autoría propia.

²⁹ EVANS, E.; YEUNG, A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophysical Journal*. 1989. Vol. 56(1)151–160. doi:10.1016/s0006-3495(89)82660-8

³⁰ KING, Michael R et al. A physical sciences network characterization of circulating tumor cell aggregate transport. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2015. vol. 308,10. C792-802. doi:10.1152/ajpcell.00346.2014.

³¹ VONA, G et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *The American journal of pathology*. Jan 2000. vol. 156,1. 57-63. doi:10.1016/S0002-9440(10)64706-2.

³² DONG, Cheng.; ZAHIR, Nastaran y KONSTANTOPOULOS, Konstantinos. [Advances in Experimental Medicine and Biology] *Biomechanics in Oncology*. 2018. Volume 1092 || 10.1007/978-3-319-95294-9(), -. doi:10.1007/978-3-319-95294-9

³³ HOCHMUTH, Robert M. Measuring the Mechanical Properties of Individual Human Blood Cells. *Journal of Biomechanical Engineering*. November 1993. 115(4B), 515–. doi:10.1115/1.2895533.

El estudio llevado a cabo por (HOCHMUTH, Robert M³⁴), en el que después de someter neutrófilos con micropipeta con diferencias de presión desde ($\Delta P = 98 - 882 Pa$) con pipetas de diámetro de ($D=8-10\mu m$), arrojó que en la célula blanca la viscosidad citoplasmática es dependiente de la presión de succión aplicada, en específico dependiente de la tasa de corte del fluido, el estudio encontró que a medida que incrementa la presión de succión, la viscosidad citoplasmática promedio disminuye en una forma exponencial decreciente, siendo inicialmente una viscosidad de ($\mu = 500 Pa.s$) para una presión de ($P=98 Pa$) y una viscosidad promedio de ($\mu = 55 Pa.s$) para una succión de ($P=882 Pa$), estos datos indican que el citoplasma en el neutrófilo es un fluido no-Newtoniano.

Finalmente, del estudio se concluye que el comportamiento mecánico del neutrófilo puede ser aproximado como fluido de ley de potencia (Power-law fluid).

$$\mu = \mu_c \left(\frac{\dot{\gamma}_m}{\dot{\gamma}_c} \right)^{-b} \quad [2]$$

Donde μ es la viscosidad citoplasmática aparente, $\dot{\gamma}_m$ es la tasa de corte promedio durante el ingreso a la cámara de succión, μ_c es la viscosidad característica, $\dot{\gamma}_c$ es la tasa de corte característica y b es coeficiente del material, se establece por conveniencia³⁵ un b de 0.52 para, una viscosidad característica de $\mu_c = 130 \pm 23 Pa.s$, $\dot{\gamma}_c = 1 s^{-1}$.

NOBIS, U et al³⁶, llevaron a cabo la investigación con objetivo de medir la distribución radial de las células blancas (WBC) en el flujo sanguíneo en un canal de longitud $L=3,5 cm$ y diámetro ($D=69\mu m$), se evaluó la posición de salida para un intervalo de esfuerzo de corte de pared ($\tau = 0.1-2.0 Pa$) como se presenta en la figura 5, entre los resultados obtenidos se encontró que un incremento en el flujo y con esto en el esfuerzo de corte de pared conduce a un desplazamiento entre el (30-50%) de las células hacia el centro del

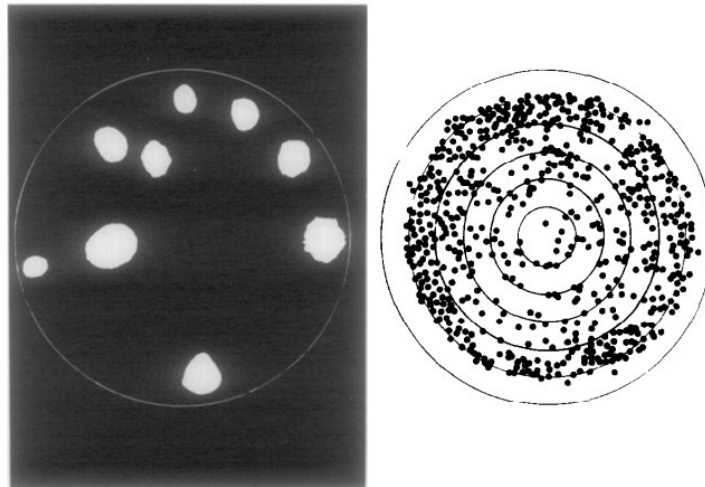
³⁴ HOCHMUTH, R M. Micropipette aspiration of living cells. Journal of biomechanics. Jan 2000 vol. 33,1: 15-22. doi:10.1016/s0021-9290(99)00175-x.

³⁵ TSAI, M A et al. Passive mechanical behavior of human neutrophils: power-law fluid. Biophysical journal. November 1993. vol. 65,5 (): 2078-88. doi:10.1016/S0006-3495(93)81238-4.

³⁶ NOBIS, U et al. Radial distribution of white cells during blood flow in small tubes. Microvascular research. May 1985. vol. 29,3: 295-304. doi:10.1016/0026-2862(85)90020-2

canal, mientras que la mínima distancia entre la pared del canal y las células es de (cell free layer= $5.8\mu m$).

Figura 5. Distribución radial de células blancas en microtubo



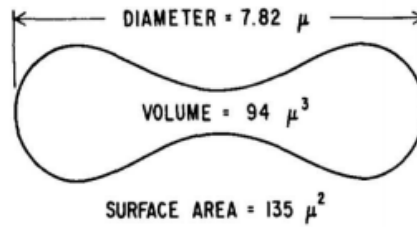
Fuente. NOBIS, U et al. Radial distribution of white cells during blood flow in small tubes. Microvascular research. May 1985. vol. 29,3: 295-304. doi:10.1016/0026-2862(85)90020-2

1.3. ERITROCITOS (GLÓBULOS ROJOS)

Los eritrocitos³⁷ son células sin núcleo, (red blood cell) (RBC) célula sanguínea de color rojo y forma discoidal bicóncava figura 6, se caracterizan por su alta deformabilidad y pueden desplazarse entre capilares con diámetros menores a ($D < 3\mu m$). La célula roja se diferencia por su característica de tener una membrana con alto módulo de deformación lo que la define casi incompresible, por lo tanto, posee una mayor tensión superficial, la baja viscosidad y la alta tensión superficial que permiten a la célula roja mantener la misma área superficial y con una alta plasticidad debido a la baja viscosidad, como se observa en la figura 6. Los eritrocitos tienen diámetro promedio entre 6-8.5 μm .

³⁷ KATANOV, D. Computer simulations of soft particles in flow ». der Universität zu Köln. 2016.

Figura 6. Célula roja promedio reportada por Evans y Fung



Fuente. ETIENNE, Gibaud. Numerical simulation of red blood cells flowing in a blood analyzer. Hematology. Université Montpellier, 2015. English. NNT: 2015MONT135. tel-01981003.

Tabla 3. Propiedades mecánicas de la célula roja (RBC).

Parámetro	Valores
Diámetro ³⁸	4-8,5 μ m
Área transversal ³⁹	135 μ m ²
Viscosidad ⁴⁰	0.006Pa. s
Tensión superficial σ ⁴¹	0.3 – 0.6 N/m

Fuente. Autoría propia.

Fahraeus y Lindqvist⁴² informaron un cambio en la composición de la sangre (y el consiguiente cambio en la viscosidad de la sangre) cuando la sangre fluye a través de un

³⁸ GUGLIETTA, Fabio et al. On the effects of membrane viscosity on transient red blood cell dynamics. Soft Matter. 30 May 2020. Vol. 10.1039.D0SM00587H-. doi:10.1039/D0SM00587H

³⁹ FUNG, Yuan-Cheng. Biomechanics-Mechanical properties of living tissues-Second edition. Springer Science+Business Media New York. 1993. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2257-4>.

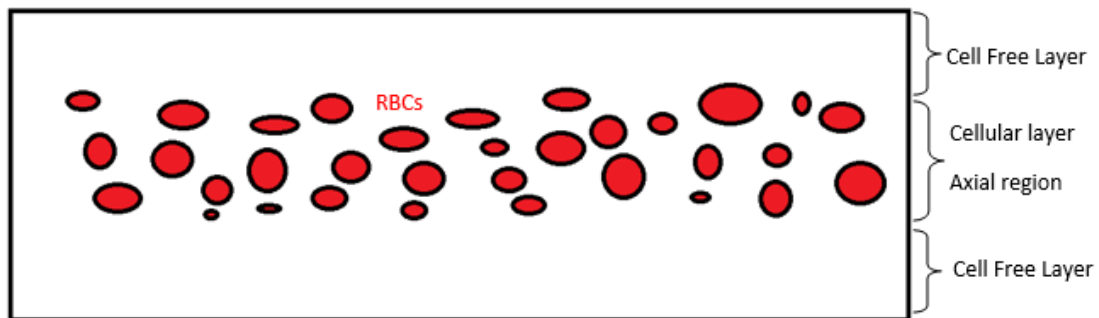
⁴⁰ OMORI, T et al. Tension of red blood cell membrane in simple shear flow. Physical Review. November 29 2012. E, 86(5), 056321-. doi:10.1103/PhysRevE.86.056321.

⁴¹ BOUDOU, Thomas et al. An extended modeling of the micropipette aspiration experiment for the characterization of the Young's modulus and Poisson's ratio of adherent thin biological samples: numerical and experimental studies. Journal of biomechanics. 2006. vol. 39,9: 1677-85. doi:10.1016/j.jbiomech.2005.04.026

⁴² FÅHRÆUS, Robin.; LINDQVIST, Torsten. THE VISCOSITY OF THE BLOOD IN NARROW CAPILLARY TUBES. American Journal of Physiology-Legacy Content. 1931. Vol. 96(3), 562-568. doi:10.1152/ajplegacy.1931.96.3.562

tubo capilar con diámetro menor de $D < 0,3$ mm, lo que también se conoce como efecto Fahraeus. Explican que las células sanguíneas se transportan en el flujo axial rápido mientras que el plasma se mueve en una corriente marginal lenta o capa libre celular ver figura 7. Entonces la velocidad promedio de las células sanguíneas es mayor que la de las partículas de plasma.

Figura 7. Agregación de eritrocitos en canales rectos y capa libre celular (Cell free layer)

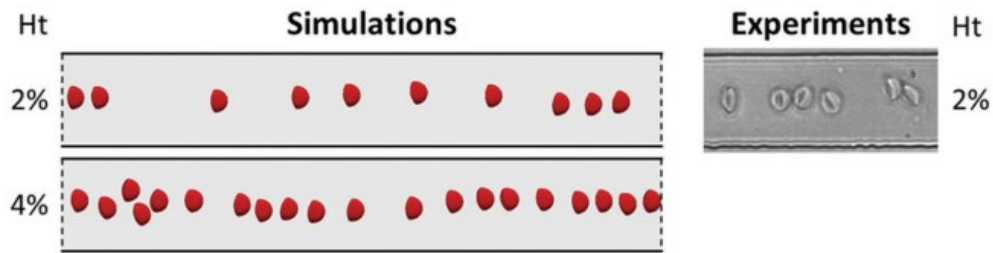


Fuente. Autoría propia.

La formación de la capa libre⁴³ de células como se presenta en la figura 7, se genera en la medida que las células rojas se desplazan hacia la zona central del canal formando una zona con escaso número de (RBCs) en la pared del vaso, para niveles altos de hematocrito la capa libre tiende a reducirse, mientras que con bajos niveles de hematocrito la capa libre incrementa, en canales rectos o vasos sanguíneos la reducción del hematocrito también se produce con la reducción en el diámetro del canal causando un incremento en el tamaño de la capa libre celular, adicionalmente es posible obtener reducciones de hematocrito e incremento de la zona libre celular mediante incrementos en la velocidad de flujo en el canal.

⁴³ TRIPATHI, Siddhartha et al. Blood plasma separation in elevated dimension T-shaped microchannel. Biomedical microdevices. Jun 2013. vol. 15,3: 415-25. doi:10.1007/s10544-013-9738-z.

Figura 8. Formación de banda de (RBCs) en bajo hematocrito.

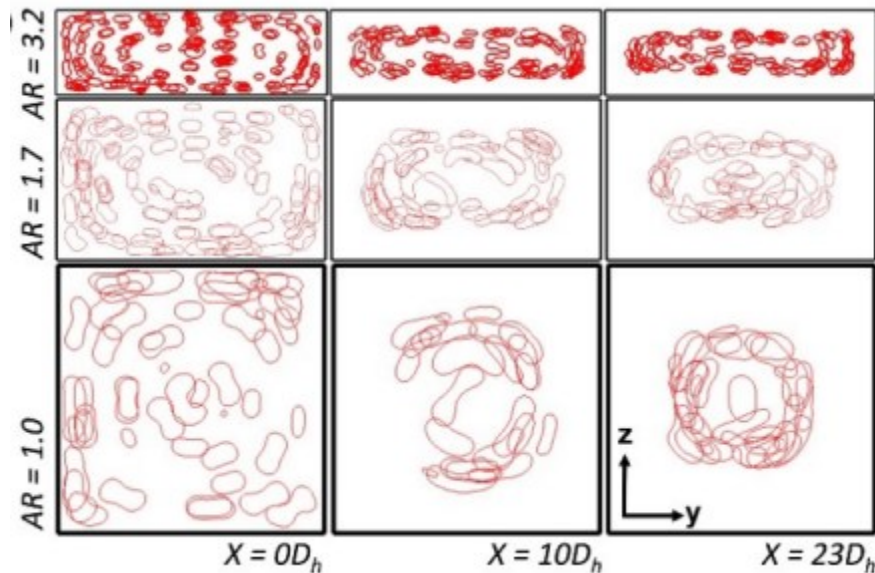


Fuente. ISS, Cécile et al. Self-organization of red blood cell suspensions under confined 2D flows. *Soft Matter*. Mar 2019. 10.1039/C8SM02571A.doi:10.1039/c8sm02571a.

ISS, Cécile et al⁴⁴ encontraron que el confinamiento lateral o flujo en canal induce otro fenómeno también asociado con la deformabilidad de las partículas: la migración de los glóbulos rojos alejándose de la pared. La fuerza de sustentación asociada es suficiente para hacer que un RBC aislado vaya al centro en el canal de $D = 30\mu\text{m}$ de ancho, ver figura 8. El fuerte confinamiento lateral en el canal de $D = 30\mu\text{m}$ de ancho tiene un tremendo impacto en la formación y estabilidad de la estructura, las velocidades del fluido fueron entre $v(0.0008 - 0.004\text{ m/s})$ para un canal recto con longitud de $(L = 6000\mu\text{m})$. Con bajo hematocrito y ancho de canal de $D = 30\mu\text{m}$ se forman bandas regulares y estables ya que el efecto de la pared lateral se siente en todo el ancho del canal, como se muestra en la figura 8 para hematocritos entre (2 y 4%) se forma una sola banda de células rojas centradas, para hematocritos entre (5 y 9%) se empiezan a generar más bandas de glóbulos en el canal conservando una (cell free layer) capa libre celular de $Cfl = 10\mu\text{m}$.

⁴⁴ ISS, Cécile et al. Self-organization of red blood cell suspensions under confined 2D flows. *Soft Matter*. Mar 2019. 10.1039/C8SM02571A-.doi:10.1039/c8sm02571a.

Figura 9. Arreglo espacial de células rojas en canales rectos.



Fuente. Zhou, Qi et al. Spatiotemporal Dynamics of Dilute Red Blood Cell Suspensions in Low-Inertia Microchannel Flow. May 2020. Biophysical journal vol. 118,10: 2561-2573. doi:10.1016/j.bpj.2020.03.019.

Zhou, Qi et al⁴⁵ llegaron a la conclusión que en canales rectos las células rojas empiezan el arreglo central o la migración hacia el centro después de una distancia de diez veces el diámetro ($X=10D_h$) del canal, tal como se aprecia en la figura 9, después de una distancia de ($X=23D_h$) se presenta una migración completa de las células hacia el centro. Estudios han demostrado que en bifurcaciones en micro canales se produce un incremento en la resistencia al paso de la célula roja debido a la producción de vórtices⁴⁶, debido a esto el ingreso de la célula dentro de esta bifurcación puede ser evitado. En la investigación llevada a cabo por (MARIA, M Sneha et al)⁴⁷ desarrollaron un dispositivo

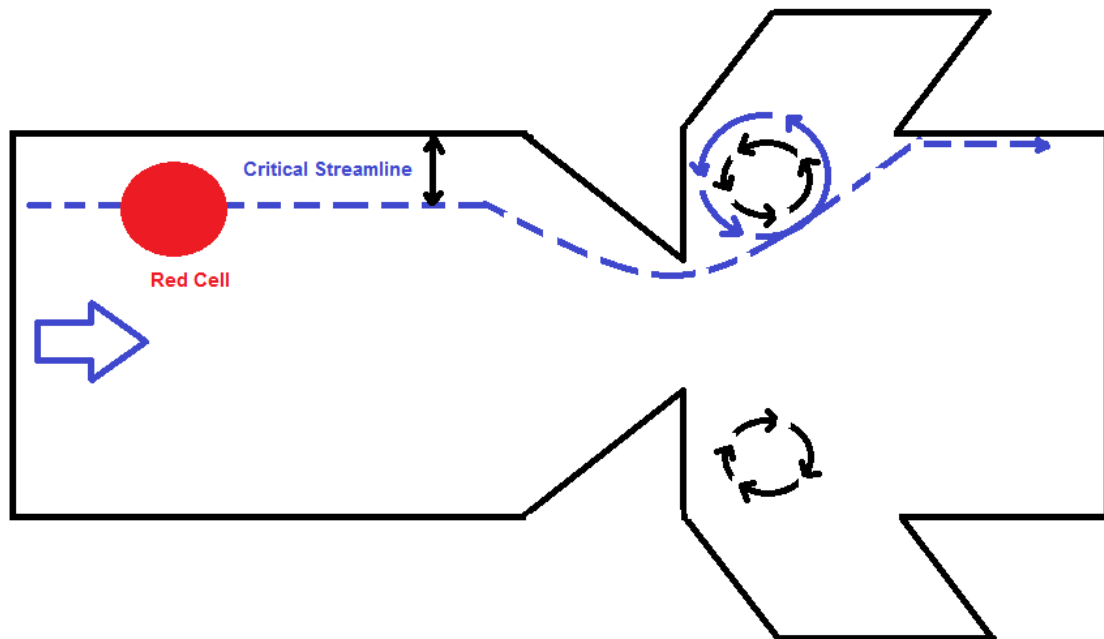
⁴⁵ ZHOU, Qi et al. Spatiotemporal Dynamics of Dilute Red Blood Cell Suspensions in Low-Inertia Microchannel Flow. May 2020. Biophysical journal vol. 118,10: 2561-2573. doi:10.1016/j.bpj.2020.03.019.

⁴⁶ SIDDHARTHA, Tripathi et al. Performance study of microfluidic devices for blood plasma separation—a designer's perspective. Journal of Micromechanics and Microengineering. July 22 2015. Vol. 25 084004.

⁴⁷ MARIA, M Sneha et al. Development of a microfluidic device for cell concentration and blood cell-plasma separation. Biomedical microdevices. December 2015. vol. 17,6: 115. doi:10.1007/s10544-015-0017-z

microfiltro para la separación de plasma sanguíneo de las células rojas, alcanzando una alta eficiencia $e > 80\%$ y una alta pureza, durante el desarrollo determinaron el efecto que produce la aplicación de una obstrucción como la que se muestra en la figura 10, en el ancho de la corriente crítica (critical stream width) al ubicarlo justo en el lugar de la bifurcación para la captura del plasma, determinaron que una obstrucción con inclinación en la bifurcación, el ancho de la corriente crítica la forma de rampa potencia la formación de zonas de recirculación (vórtices) lo que aumenta la resistencia al paso de células rojas por los canales laterales.

Figura 10. Separación de plasma y células rojas mediante vórtices.



Fuente. Autoría propia.

En el estudio se realizaron simulaciones de células rojas de diámetro de ($D=5\mu m$) a través del canal con bifurcación y obstrucción como la que se muestra en la figura 10, se evaluaron dos formas, con obstrucción y sin obstrucción en la bifurcación, se encontró que la célula ubicada cerca de la pared del canal se desplaza hacia al canal lateral

mientras que con la obstrucción consigue desplazarse por el centro del canal saltando la bifurcación manteniendo la corriente principal en el fluido.

En diseños de microfiltro se han aplicado métodos como generador de gotas (droplets) o aplicando células individualmente mediante el método (Patching de ANSYS) usando simulaciones en dos dimensiones con el software ANSYS-Fluent con resultados exitosos en el momento de capturar el comportamiento de la célula roja en el fluido, usando aceite mineral como la fase primaria con (densidad $\rho = 840 \text{ kg/m}^3$), (viscosidad dinámica $\mu = 0.05 \text{ Pa}\cdot\text{s}$) y agua como fase secundaria con (densidad $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$), (viscosidad dinámica $\mu = 0.001003 \text{ Pa}\cdot\text{s}$) asumiendo un flujo incompresible, laminar, solucionando las ecuaciones de gobierno implementado en método (VOF volumen of fraction).

1.4. CARACTERIZACIÓN DE LAS CÉLULAS MODELO TEÓRICO

Para una muestra de sangre fluyendo a través de un dispositivo, la presión total aplica al dispositivo P_{Total} debe superar los dos principales componentes de la gota, la presión debido al fluido del medio y la presión de la gota debido a la tensión superficial de la célula cuando ellas están en contacto con las paredes del microfiltro.

$$\Delta P_{total} = \Delta P_{flow} + \Delta P_{surface\ tension} \quad (3)$$

1.4.1. PRESION DE LA GOTA DEBIDO AL FLUJO DEL MEDIO (ΔP_{flow})

La caída de presión debido al flujo del medio depende de la viscosidad de la gota (ΔP_{hyd}) y la expansión-contracción del microfiltro ($\Delta P_{contraction-expansion}$)

$$\Delta P_{flow} = \Delta P_{hyd} + \Delta P_{contraction-expansion} \quad (4)$$

La disipación viscosa de la energía mecánica del fluido debido a la presión interna resulta en una caída de presión en la dirección del flujo, dicha presión puede ser calculada usando la ecuación Hagen-Poiseuille la cual relaciona la caída de presión viscosa y la

tasa de flujo del fluido mediante la introducción de un factor de resistencia, la ecuación Hagen-Poiseuille⁴⁸.

$$\Delta P_{hyd} = R_{hyd} \times Q_v \quad (5)$$

Donde ΔP_{hyd} es la caída de presión viscosa del canal, R_{hyd} es la resistencia hidráulica, y Q_v es el flujo de volumen del fluido, R_{hyd} es calculada usando la ecuación desarrollada por (AKBARI et al)⁴⁹. Para predecir la caída de presión en canales no uniformes de bajo número Reynold.

$$R_{hyd} = 16\pi^2\mu \int_{x_1}^{x_2} \frac{I_P^*}{A(x)} dx \quad (6)$$

Donde μ es la viscosidad del fluido, $A(x)$ es la sección transversal del área, y I_P^* es el momento de inercia polar específico⁵⁰.

$$I_P^* = \frac{1 + \epsilon^2}{4\pi\epsilon} \quad (7)$$

Donde $\epsilon = 1$, para canales de sección transversal circular.

$$I_P^* = \frac{2}{\pi} \quad (8)$$

Teniendo en cuenta que el flujo en volumen puede ser establecido como $Q_v = A \times v$, donde A , área de sección transversal y v es la velocidad lineal del flujo, tenemos.

$$\Delta P_{hyd} = \frac{8\mu Lv}{r^2} \quad (9)$$

Adicionalmente, $\Delta P_{contraction-expansion}$ es causada por una rápida contracción en la entrada del filtro y rápida expansión a la salida de la misma, que puede ser calculada usando la siguiente relación:

⁴⁸ SAJEESH, P.; DOBLE, M and SEN, A. K. Hydrodynamic resistance and mobility of deformable objects in microfluidic channels. *Biomicrofluidics*. 2014. vol 8(5), 054112–. doi:10.1063/1.4897332.

⁴⁹ AKBARI, M. et al. Viscous flow in variable cross-section microchannels of arbitrary shapes. April 11 2011. Vol. 54(17-18), 3970–3978. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2011.04.028.

⁵⁰ BAHRAMI, Majid; YOVANOVICH, M. Michael and CULHAM, J. Richard A novel solution for pressure drop in singly connected microchannels of arbitrary cross-section. July 2007. 50(13-14), 2492–2502. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2006.12.019.

$$\Delta P_{contraction-expansion} = K_1 \frac{\rho U_1^2}{2} + K_2 \frac{\rho U_2^2}{2} \quad (10)$$

Donde U_1 y U_2 son las velocidades del flujo en la entrada y la salida de la cámara de filtración, K_1 y K_2 , son los coeficientes de constricción y expansión respectivamente. Estos coeficientes son establecidos como 0.5 y 1 respectivamente.

La presión viscosa es finalmente expresada como:

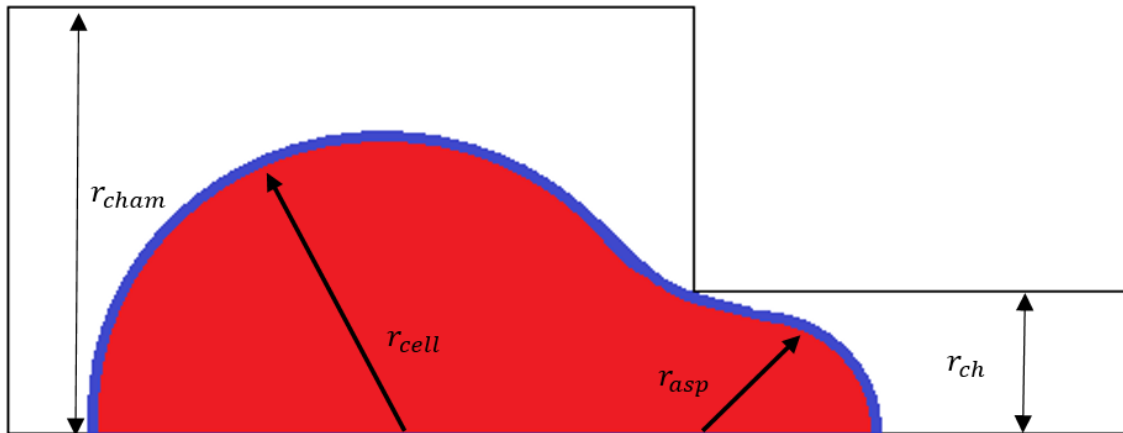
$$\Delta P_{flow} = \frac{8\mu Lv}{r^2} + K_1 \frac{\rho U_1^2}{2} + K_2 \frac{\rho U_2^2}{2} \quad (11)$$

La presión generada por la tensión superficial $\Delta P_{surface\ tension}$, puede ser determinada usando la ecuación Young-Laplace, si el flujo en un microfiltro es muy bajo el proceso de aspiración de la célula en la cámara de filtración puede ser aproximado por un proceso cuasi estático asumiendo que la parte aspirada y la no aspirada tiene formas circulares entonces la presión superficial tiene la siguiente expresión.

$$\Delta P_{surface\ tension} = 2\sigma \left(\frac{1}{r_{ch}} - \frac{1}{r_{cell}} \right) \quad (12)$$

Donde σ es la tensión superficial, r_{ch} es el radio de la cámara de aspiración y r_{cell} es el radio de la célula de la parte no aspirada durante la deformación.

Figura 11. Deformación de una célula a través del microfiltro.

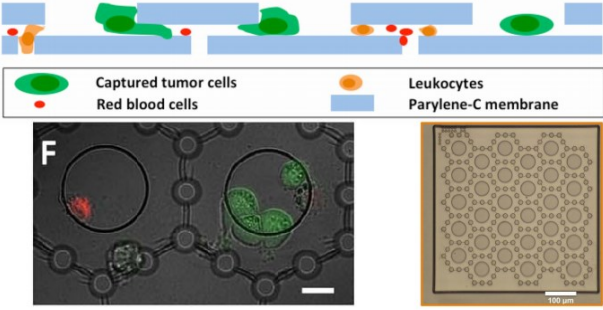
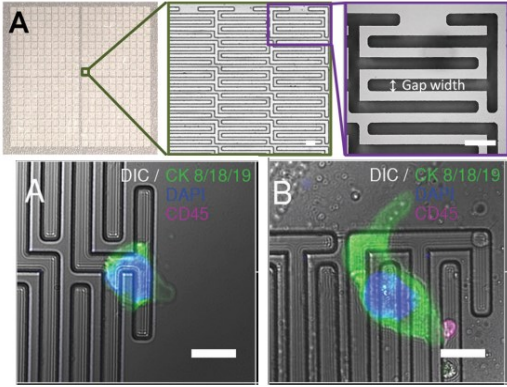


Fuente. Autoría propia

1.5. SEPARACIÓN DE (CTCs)

Dependiendo de las propiedades físicas (tamaño, deformabilidad, densidad, hidrodinámica, compresibilidad, propiedades eléctricas y magnéticas) varias estructuras se fabrican para la separación de células cancerígenas⁵¹.

Tabla 4. Dispositivos de filtración basados en tamaño y deformabilidad.

TECNOLOGY	
<p>S.B MICROFILTER EFFICIENCY 78-83% (ZHOU, Ming-Da et al)⁵².</p>	
<p>FMSA MICROFILTER EFFICIENCY 92.6% (HAROUAKA, RA et al)⁵³.</p>	

⁵¹ HUGH, Z. Circulating Tumor Cells: Isolation and Analysis. Chemical Analysis a Series of Monographs of Analytical Chemistry and Its Applications. April 2016. ISBN: 978-1-119-24455-4

⁵² ZHOU, Ming-Da et al. CORRIGENDUM: Separable Bilayer Microfiltration Device for Viable Label-free Enrichment of Circulating Tumour Cells. Scientific reports. Jan. 2015 vol. 5 7967. 27, doi:10.1038/srep07967

⁵³ HAROUAKA, RA et al. Flexible micro spring array device for high-throughput enrichment of viable circulating tumor cells. Clinical Chemistry. 2014 Feb;60(2):323-333. DOI: 10.1373/clinchem.2013.206805. PMID: 24132944.

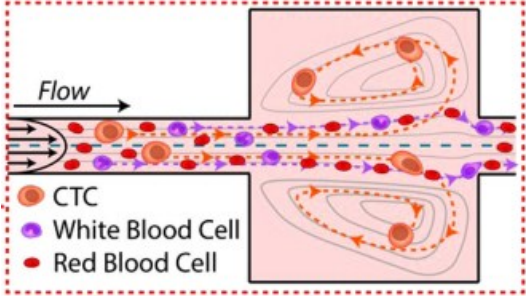
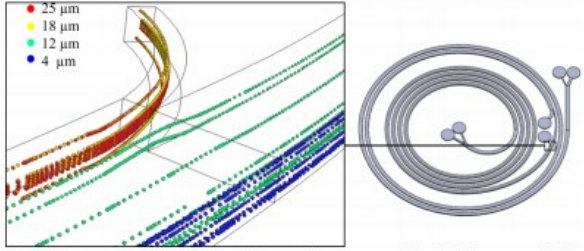
<p>VORTEX TECHNOLOGY EFFICIENCY 10-20% (RENIER, Corinne et al)⁵⁴</p>	 <p>The diagram illustrates the Vortex Technology. It shows a flow of fluid from left to right through a channel containing obstacles. The flow is divided into two paths, each forming a vortex. The legend indicates: CTC (orange circle), White Blood Cell (purple circle), and Red Blood Cell (red circle). The CTCs are shown being captured in the vortices, while the other cells pass through.</p>
<p>SPIRAL TECHNOLOGY EFFICIENCY >85% (GONZÁLEZ, Daniel et al)⁵⁵.</p>	 <p>The diagram illustrates the Spiral Technology. It shows a spiral channel with a legend for particle sizes: 25 μm (red), 18 μm (yellow), 12 μm (green), and 4 μm (blue). The spiral channel is shown in a 3D perspective and a 2D top-down view. The particles are shown being separated based on their size as they travel through the spiral.</p>

Tabla 4. (Continuación)

Fuente. Elaboración propia.

El tamaño y deformabilidad son los criterios de separación comúnmente empleados para aislamiento de (CTCs), el diámetro es un parámetro de clasificación, debido a que la célula cancerígena es en promedio mayor a las células sanguíneas, entre los dispositivos diseñados basados en el tamaño tenemos los que comprenden la fabricación de chips, los cuales son matrices de barras verticales que obstaculizan el paso de las células resultando en una clasificación por tamaño debido a que estratégicamente los postes permiten el paso transversal de las partículas de menor tamaño y el paso diagonal de las partículas mayores, esta respuesta clasifica las partículas del fluido⁵⁶.

⁵⁴ RENIER, Corinne et al. Label-free isolation of prostate circulating tumor cells using Vortex microfluidic technology. NPJ precision oncology. 8 May. 2017. vol. 1,1 15., doi:10.1038/s41698-017-0015-0

⁵⁵ GONZÁLEZ, Daniel et al. Design and Modeling of a Microfluidic Device with Potential Application for Isolation of Circulating Tumor Cells, 2019 IEEE International Conference on Engineering Veracruz (ICEV), 2019, pp. 1-7, doi: 10.1109/ICEV.2019.8920484.

⁵⁶ SARIOGLU, A Fatih et al. A microfluidic device for label-free, physical capture of circulating tumor cell clusters. Nature methods. 2015 vol. 12,7: 685-91. doi:10.1038/nmeth.3404.

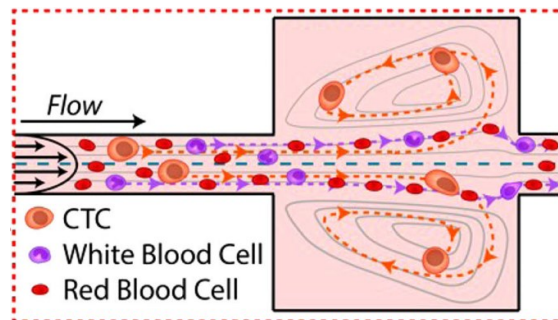
1.6. HIDRODINÁMICA.

Este método hace referencia a la combinación de fuerzas inerciales para la separación de (CTCs), para un flujo de un fluido laminar en un canal lineal, las células suspendidas dentro están sujetas a fuerzas de sustentación debido el efecto de la pared y el gradiente de cizallamiento, bajo este efecto las células de diferente tamaño generan diferentes características de flujo.

Cuando la muestra fluye a través de un micro canal, las células son afectadas por la fuerza de elevación del gradiente de cizallamiento, una vez se da el flujo a través del depósito, la fuerza de elevación por el efecto de la pared es debilitado y la célula tumoral con el diámetro mayor se somete a un mayor efecto del gradiente de fuerza de sustentación provocando que la (CTC) se aleje del centro del micro canal y las células rojas permanecen en el centro del flujo. Usando este sistema las (CTCs) son exitosamente separadas y enumeradas.

Basado en el desplazamiento lateral determinístico (DLD), varias estructuras de microfluidos se diseñan para la separación de muestra sanguínea. En un microcanal las células de diferente tamaño presentan trayectorias diferentes durante el desplazamiento, las células con tamaño mayor son lateralmente desplazadas, las células con menor tamaño se moverán siguiendo la trayectoria original.

Figura 12. Microfiltro basado en tecnología de vórtices.



Fuente. RENIER, Corinne et al. Label-free isolation of prostate circulating tumor cells using Vortex microfluidic technology. NPJ precision oncology. 8 May. 2017. vol. 1,1 15., doi:10.1038/s41698-017-0015-0

(RENIER, Corinne et al) diseñaron y construyeron un dispositivo de microfiltración para clasificar células cancerígenas basados en la generación de vórtices, como muestra la imagen de la figura 12, en un canal recto la ubicación de bifurcaciones laterales puede generar vórtices donde quedan atrapadas las células de mayor tamaño o de mayor rigidez, la evaluación del dispositivo demostró que la tecnología de vórtices para la captura de células es más rápida tomando menos de una hora en el procesamiento de muestras sanguíneas, la eficiencia alcanzada fue de 73%, en la investigación se hace observación de mejorar el diseño de este método de captura ya que requiere un preproceso denominado (Buffy-coat) para separar la mayor cantidad de leucocitos antes de someter la muestra a filtración.

1.7. EFICIENCIA DE CAPTURA DE CTC

La eficiencia de un dispositivo de microfiltración se puede medir por la siguiente ecuación.

$$EFICIENCIA DE CAPTURA (CTC) = \frac{\text{Número de CTC capturadas salida}}{\text{Número total de CTC evaluadas}} \times 100 \quad (13)$$

1.8. PORCENTAJE DE PURIFICACIÓN

El porcentaje de pureza de la muestra capturada se puede determinar mediante la siguiente expresión.

$$\% \text{ Pureza muestra (CTC)} = \left(1 - \frac{(N_{WBCs} + N_{RBCs})}{(N_{WBCs} + N_{RBCs} + N_{CTCs})} \right) \times 100 \quad (14)$$

La expresión mide la pureza de la muestra capturada, eso es determinado el volumen de células rojas y células blancas que no son filtradas. N_{WBCs} es el número de células blancas medidos en la salida CTC, N_{RBCs} número de células rojas medido en la salida CTC, N_{CTCs} el número de CTC capturado.

1.8. MODELADO COMPUTACIONAL (VOLUME OF FLUID METHOD “VOF”).

Los fluidos incompresibles en movimiento son descritos mediante las ecuaciones de Navier-Stokes⁵⁷ que solucionan en comportamiento a múltiples problemas en fluidos. Cualquier método para (CFD), de flujos incompresibles transitorios de dos fases necesita resolver la continuidad y las ecuaciones de Navier-Stokes junto con las condiciones de salto interfacial.

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (15)$$

$$\frac{\partial \rho u}{\partial t} + \nabla \cdot \rho u \mathbf{u} = -\frac{\partial P}{\partial x} + \nabla \cdot (\mu(\nabla u + \nabla^T u)) + F_{sx} \quad (16)$$

$$\frac{\partial \rho v}{\partial t} + \nabla \cdot \rho v \mathbf{u} = -\frac{\partial P}{\partial y} + \nabla \cdot (\mu(\nabla v + \nabla^T v)) + F_{sy} \quad (17)$$

$$\frac{\partial \rho w}{\partial t} + \nabla \cdot \rho w \mathbf{u} = -\frac{\partial P}{\partial z} + \nabla \cdot (\mu(\nabla w + \nabla^T w)) + F_{sz} \quad (18)$$

$$\frac{\partial F}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla F = 0 \quad (17)$$

La ecuación 16 representa la segunda ley de Newton en el que la tasa de momento es igual a la sumatoria de fuerzas sobre la partícula fluida.

$$\rho \frac{Du}{Dt} = \frac{\partial(-p + \tau_{xx})}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} + F_{sx} \quad (18)$$

$$\rho \frac{Dv}{Dt} = \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial(-p + \tau_{yy})}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} + F_{sy} \quad (19)$$

$$\rho \frac{Dw}{Dt} = \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial(-p + \tau_{zz})}{\partial z} + F_{sz} \quad (20)$$

⁵⁷ JAFARI, A et al. Numerical investigation of blood flow. Part II: In capillaries. Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulations. 2009. vol. 14, no. 4, pp. 1396–1402, 2009. doi:10.1016/j.cnsns.2008.04.007.

En fluidos Newtonianos el estrés viscoso es proporcional a la tasa de deformación, la ley de Newton de la viscosidad en tres dimensiones para flujo involucra dos constantes de proporcionalidad, la viscosidad dinámica μ , que relaciona el estrés por la deformación lineal, y la segunda viscosidad λ para relacionar el estrés a la deformación volumétrica. Para los gases una buena aproximación puede ser obtenida para $\lambda = -\frac{2}{3}\mu$, los líquidos se toma como incompresible entonces la ecuación de conservación de la masa es $\text{div}(u) = 0$ dado en la ecuación 15, y los estreses viscosos son sólo dos veces la tasa de deformación lineal por la viscosidad dinámica μ . Tenemos los nueve estreses viscosos.

$$\tau_{xy} = \tau_{yx} = \mu \left(\frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \right) \quad (21)$$

$$\tau_{xz} = \tau_{zx} = \mu \left(\frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} \right) \quad (22)$$

$$\tau_{yz} = \tau_{zy} = \mu \left(\frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \right) \quad (23)$$

$$\tau_{xx} = 2\mu \frac{\partial u}{\partial x} \quad (24)$$

$$\tau_{yy} = 2\mu \frac{\partial v}{\partial y} \quad (25)$$

$$\tau_{zz} = 2\mu \frac{\partial w}{\partial z} \quad (26)$$

Remplazando estos términos en las ecuaciones anteriores, tenemos:

$$\rho \frac{Du}{Dt} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \text{div}(\mu \text{grad } u) + F_{sx} \quad (27)$$

$$\rho \frac{Dv}{Dt} = -\frac{\partial p}{\partial y} + \text{div}(\mu \text{grad } v) + F_{sy} \quad (28)$$

$$\rho \frac{Dw}{Dt} = -\frac{\partial p}{\partial z} + \text{div}(\mu \text{grad } w) + F_{sz} \quad (29)$$

Teniendo en cuenta que la tasa de incremento de una propiedad ϕ del elemento de fluido más la tasa de salida ϕ del elemento del fluido es igual a la tasa de incremento de ϕ de una partícula de fluido.

$$\rho \frac{Du}{Dt} = \frac{\partial(\rho u)}{\partial t} + \text{div}(\rho uu) \quad (30)$$

Las ecuaciones 27, 28, 29 y 30 se compactan en la ecuación 19 para representan la ecuación de Navier-Stokes para un fluido Newtoniano⁵⁸.

La ecuación 17 representa la forma conservativa de la ecuación de transporte para F, donde u es la velocidad del flujo, P es la presión compartida por las dos fases, y F es la fracción de volumen en una célula la cual se califica entre 0 y 1. Para una célula completamente llena con la fase secundaria la fase F=1, mientras que para una célula completamente llena con la fase primaria F=0, si existe una interfase entre las dos fases la fracción de la fase tiene valores entre 0 y 1, todas las propiedades físicas incluyendo densidad ρ y viscosidad μ , son promediadas mediante la fracción de volumen de cada fase y F_s es la fuerza de tensión superficial adherida a la ecuación de momento como termino fuente.

En el modelo VOF, la fuerza de tensión superficial es calculada mediante el uso del modelo fuerza de superficie continua, donde la curvatura de la superficie es calculada del gradiente de la superficie normal a la interface.

Para la ecuación 17. El movimiento de dos interfaces inmiscibles de diferentes densidad y viscosidad es descrito usando una función discreta.

$$F = (x, y, z, t) \quad (31)$$

Cuyo valor en cada célula del mallado computacional es la fracción de la célula en el fluido.

Como en los trabajos clásicos de (Hirt y Nichols)⁵⁹ la variación del tiempo de esta función es gobernada por:

⁵⁸ VERSTEEG H. K.; MALALASEKERA. W. The finite volume method - An Introduction to Computational Fluid Dynamics -Second Edition. Pearson Education Limited. 2007.

⁵⁹ HIRT, C.W.; NICHOLS, B.D). Volume of fluid (VOF) method for the dynamics of free boundaries. November 1 1981 39(1), 201–225. doi:10.1016/0021-9991(81)90145-5.

$$\frac{\partial F}{\partial t} + \frac{\partial(uF)}{\partial x} + \frac{\partial(vF)}{\partial y} + \frac{\partial(wF)}{\partial z} = 0 \quad (32)$$

Considerando dos interfaces entre fluidos inmiscibles con constante de tensión superficial, la fuerza de tensión superficial por unidad interfacial de área puede ser escrita como:

$$F_s(x_s) = \sigma \kappa(x_s) \hat{n}(x_s) \quad (33)$$

Donde $\kappa(x_s)$ es la curvatura, tomada positiva si el centro de curvatura está en el fluido 2, y $\hat{n}(x_s)$ es la unidad normal de la superficie en x_s asumida apuntar al fluido 2. Considere dos fluidos, fluido 1 y fluido 2, separados por una interfaz en tiempo t , los dos fluidos se distinguen por alguna función característica $c(x)$, c_1 en el fluido 1, c_2 en el fluido 2, que cambia discontinuamente en la interfaz $\langle c \rangle = (c_1 + c_2)/2$ en la interfaz.

La fuerza volumétrica en la zona de transición, donde el color varía suavemente de c_1 a c_2 , es diseñada para simular la presión superficial en la interfaz entre los fluidos, así la integral de línea de $F_s(x)$ a través de la región de transición por ejemplo P_1 a P_2 es igual a la presión superficial convencional.

$$F_{SV}(x) = \sigma \kappa(x) \frac{\nabla \tilde{c}(x)}{[c]} \quad (34)$$

$$\int_{P_1}^{P_2} F_{SV}(X) d(\hat{n} \cdot x) \quad (35)$$

$$\begin{aligned} &= \int_{c_1}^{c_2} \sigma \kappa(x) \hat{n}(x) \frac{d\tilde{c}(x)}{[c]} \\ &\cong \sigma \kappa(x_s) \hat{n}(x_s) \end{aligned}$$

Para $h > 0$.

La curvatura κ de la superficie en x_s puede ser calculada como sigue.

$$\kappa = \frac{1}{|n|} \left[\left(\frac{n}{|n|} \cdot \nabla \right) |n| - (\nabla \cdot n) \right] \quad (36)$$

Cuyas normales son gradientes de la función de color.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar un dispositivo para clasificar y separar células tumorales circulantes (MEMs)- (CTCs) en fluido sanguíneo mediante el uso de herramienta computacional de dinámica multifísica bidimensional con tecnología (MEMs) para lograr el aislamiento de (CTCs) en la muestra y lograr una eficiencia mayor al 70% de captura y separación celular.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar el comportamiento de las células en fluido sanguíneo células rojas (RBC)'s, células blancas (WBC)'células cancerígenas (CTC)'s, usando software de dinámica de fluidos computacional (CFD), definiendo el modelo dinámico, condiciones de frontera, tipos de fluido multifase y velocidad de flujo.
- Modelar y diseñar el filtro de células cancerígenas (CTC)'s mediante simulaciones usando software de dinámica de fluidos computacional (CFD) definiendo el modelo dinámico, geometría y dimensiones del dispositivo, condiciones de frontera, tipos de fluido multifase y velocidad de flujo.
- Establecer la eficiencia del dispositivo de filtración para la filtración de células rojas (RBCs), células blancas (WBCs) y de células cancerígenas (CTCs).
- Validar del modelo de diseño mediante la comparación de la eficiencia de captura para las (CTC)'s para una eficiencia igual o mayor comparada con otros modelos de diseño de filtración de investigaciones previas.

3. METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

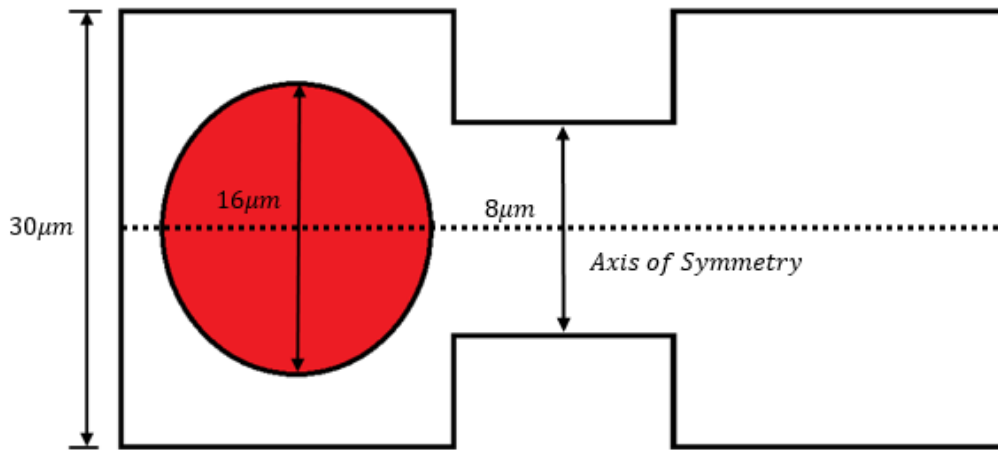
3.1. Caracterizar el comportamiento de las células en fluido sanguíneo células rojas (RBCs), células blancas (WBCs) células cancerígenas (CTCs), usando software de dinámica de fluidos computacional (CFD), definiendo el modelo dinámico, condiciones de frontera, tipos de fluido multifase y velocidad de flujo.

Para la caracterización celular se emplea dos métodos, el método gotas (Droplets) para simular las células rojas y el microfiltro basado en deformación para simular las células blancas y cancerígenas midiendo la presión crítica de deformación, se caracterizó el comportamiento de las células en el fluido sanguíneo glóbulos rojos (RBC), glóbulos blancos (WBC) y células cancerígenas (CTC), definiendo el modelo dinámico, condiciones de frontera, tipos de fluido multifásico y velocidad de flujo, se define las propiedades mecánicas de la membrana celular y la viscosidad de cada tipo, para las células cancerígenas según la literatura, se exprime la célula a través del filtro y se analiza la presión crítica comparada y validada con datos de investigaciones previas.

- **Microfiltro basado en deformación.**

Usando el método (Patching) de ANSYS, definimos la célula cancerígena como segunda fase del modelo (VOF), se somete la célula al paso a través del filtro causando la deformación de la misma, a medida que transita la célula se mide la presión o la presión crítica que es la máxima presión sobre la célula durante la deformación. La figura 13 muestra el esquema del modelo de filtro y célula.

Figura 13. Filtro con obturación de diámetro menor para célula cancerígena.



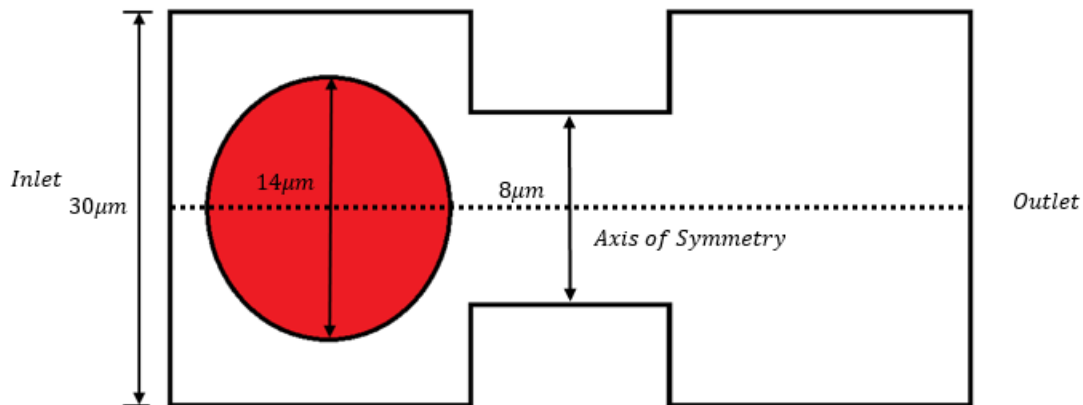
Fuente. Autoría propia.

La geometría del filtro es la que se muestra en la figura 13, con dimensiones en la entrada de $D = 30\mu m$ y una obstrucción de $D = 8\mu m$ de acuerdo con la referencia literaria, definimos la entrada y la salida del filtro como entrada y salida (velocity Inlet, pressure Outlet) respectivamente y definimos un eje de simetría respecto a la línea horizontal para el ahorro de tiempo y carga computacional.

La definición de la geometría y el tamaño de la célula se establece de acuerdo a los datos disponibles en la literatura. La célula (CTC) se especifica con un diámetro de $D = 16\mu m$, Para la caracterización de las células cancerígenas se definen las propiedades mecánicas de la membrana celular y la viscosidad según la literatura con viscosidad entre $\mu = 10 - 200 Pa \cdot s$, con diámetro $D = 14 - 20\mu m$, y tensión superficial de $\sigma = 0.05 N/m$.

Para las células blancas se definen las propiedades mecánicas de la membrana celular y la viscosidad de los neutrófilos con viscosidad entre $\mu = 107 - 147 Pa \cdot s$, implementando la ecuación para fluido no-Newtoniano (Power-law) con diámetro $D = 14\mu m$ y tensión superficial de $\sigma = 2.9 \times 10^{-5} N/m$. Se define la geometría del filtro la cual someterá la célula a una deformación midiendo la presión crítica.

Figura 14. Filtro con obturación de diámetro menor para neutrófilo.



Fuente. Autoría propia.

En el microfiltro basado en deformación, la célula blanca y la CTC se desplazan a través del canal de filtración por la presión impuesta en la entrada del microfiltro denominada presión del sistema, y su variación con respecto al tiempo se denomina perfil de presión. La presión del sistema se usa para vencer la resistencia en el microfiltro, y es máxima cuando la célula comienza a introducirse en el canal de filtración. La presión máxima del sistema generalmente se denomina presión crítica, que es un factor importante para garantizar un proceso de paso de células exitoso. En este estudio, modelamos la célula como una simple gota líquida de fluido newtoniano para la CTC y no newtoniano para la WBC. El flujo multifásico emplea un único CTC y célula blanca como fase secundaria y plasma sanguíneo como fluido portador o fase primaria, las condiciones empleadas en la simulación de pueden apreciar en la tabla 5.

Empleando el software (Gambit) que presenta alto desempeño y facilidad de trabajo para la generación de la geometría del filtro y generación de mallado en dos dimensiones usando elementos cuadrilaterales, la independencia del mallado establece para el tamaño de elemento que genere el error admisible de la presión crítica para la célula, respecto a otras investigaciones desarrolladas en la literatura.

Se define la geometría del filtro la cual someterá la célula a una deformación midiendo la presión crítica comparada y validada con modelos de simulaciones de células a través de microfiltros.

Tabla 5: Parámetros de simulación

Solver	Ansys-Fluent (2D)
Model	Pressure- Based (transient) (VOF)
Boundaries	Velocity Inlet($v=0.02\text{m/s}$) Pressure Outlet(Gauge pressure=0) Symmetry Wall
wall	Contact angle= 180° , stationary, no slip
Phase	Phase1=Oil Phase2=water
Surface Tension force modeling	Wall Adhesion
Surface Tension Coefficient	CTC=0.05 N/m, WBC=0.000029N/m
Viscosity	WBC=130Pa.s, CTC=(0.01-0.04pa.s), CTC=(100-200Pa.s)
Marc Cell	CTC D= $8\mu\text{m}$, WBC D= $7\mu\text{m}$.
Patch	Patching= Phase 2
Algorithm	PISO
Initialization	Standar Initialization
Calculation	Time step size= $1\mu\text{s}$

Fuente: autoría propia

- **Aplicación del método de gotas (Droplets) para la (RBC).**

La definición de la geometría o el dominio se realiza definiendo una entrada de fluido agua como la fase discreta y tomando el aceite como la fase continua,

La fuerza gravitacional es despreciada debido que no es relevante en el caso de flujos en micro escala. Se definen la tensión interfacial que es tomada de los experimentos reportados en la literatura $\sigma = 0.005N/m$ para células rojas,

El efecto de mojado del fluido en la pared es tratado dando un ángulo de contacto estático en la condición de frontera de la pared. El ángulo de contacto se toma de la literatura ($\theta = 180^\circ$).

Para las simulaciones se usa (Pressure Implicit with Split of operator "PISO") como el esquema de acople de la presión y velocidad y (Pressure Staggering Option "PRESTO") se usa en el esquema de interpolación de presión para calcular la presión superficial de cada célula. Usamos simulaciones en dos dimensiones (2D) para predecir el proceso de generación de la gota (Droplet) de diámetro entre ($D=5\mu m$ y $8\mu m$).

3.2. Modelar y diseñar el filtro de células cancerígenas (CTC)'s mediante simulaciones usando software de dinámica de fluidos computacional (CFD) definiendo el modelo dinámico, geometría y dimensiones del dispositivo, condiciones de frontera, tipos de fluido multifase y velocidad de flujo.

El dispositivo microfiltro se diseña usando el modelo y simulaciones numéricas presentada en el marco teórico (Droplets) en (VOF) (Volume of fluid), la geometría de los canales del dispositivo de filtración se define teniendo en cuenta el efecto (Fahraeus-Lindqvist) es efectivo en canales de tamaño entre $D(40 - 300\mu m)$ y el efecto es pronunciado para canales de tamaño menor. Canales pequeños conducen a grandes cambios de obstrucción y canales más grandes conducen a la debilidad del efecto y ofrecen un mayor volumen muerto, atendiendo esto se selecciona un diámetro del canal de ($D = 42\mu m$), adicionalmente y según la literatura tamaños menores de canal conducen a la reducción del hematocrito debido al efecto de migración de las células rojas hacia el centro del canal.

Se especifica una entrada de canal recto, con una longitud de ($L = 100\mu m$) que permita la migración y separación de las distintas células (WBCs,RBCs,CTCs), para el diseño y operación del microfiltro se toma un hematocrito de operación entre ($H=2-4\%$), que de

acuerdo con la literatura genera migración celular de (RBCs) hacia el centro del canal y la formación de una banda de células rojas en el centro, con bajos porcentajes de hematocrito la respuesta de migraciones de las (CTCs) hacia la pared es más rápida.

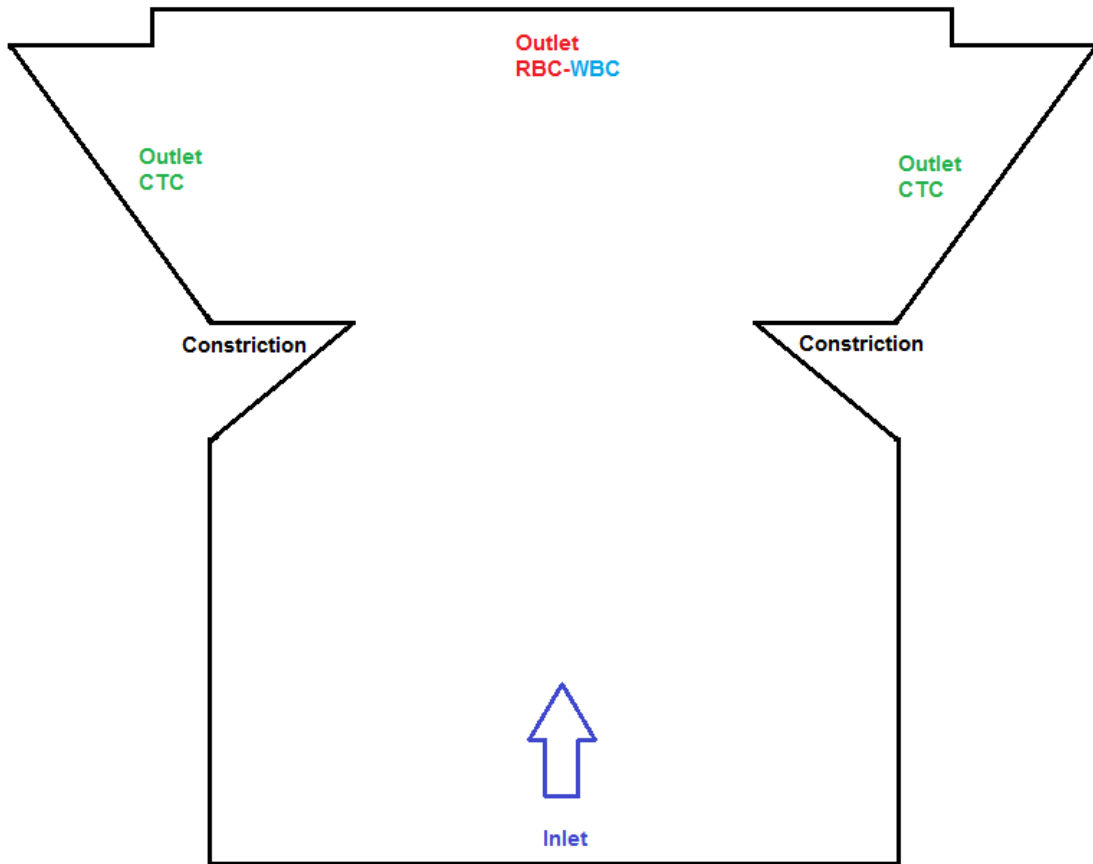
Como se muestra en la figura 15. En la primera etapa se realiza la separación de las células cancerígenas de los eritrocitos y leucocitos. La definición de la geometría o el dominio se realiza estableciendo una entrada de fluido agua como la fase discreta con ($\rho = 1000\text{kg}/\text{m}^3$), con intervalo de viscosidades de ($\mu = 5 - 200 \text{ Pa. s}$) para los distintos tipos de células cancerígenas y el aceite como la fase continua (*densidad* $\rho = 840\text{kg}/\text{m}^3$, *viscosidad dinámica* $\mu = 0.05 \text{ Pa. s}$).

Se suministra aceite desde una misma fuente con velocidad de flujo de entrada v_i , El flujo sanguíneo es simulado usando gotas individuales para simular las células cancerígenas, blancas y rojas.

Las fuerzas de arrastre generadas en las corrientes de alta velocidad tienen una influencia en la trayectoria de las partículas debido a que esta se puede equilibrar con las fuerzas de sustentación. Las partículas de diámetro mayor son más influenciadas por fuerzas de sustentación, mientras las fuerzas de arrastre tienen más efecto en partículas de diámetro menor, siendo esto las células rojas tienden a posicionarse en el centro de la corriente de alta velocidad mientras que las partículas de mayor tamaño y mayor rigidez se desplazan a la zona de baja velocidad hacia la pared del canal.

La propuesta del diseño del microfiltro se basa en aplicar las propiedades de captura de células mediante la generación de vórtices y análisis de las corrientes del fluido (análisis de corriente crítica) presentado un diseño mejorado de microfiltros usando tecnología de vórtices para la separación eficiente de células rojas y células blancas mejorando la pureza y eficiencia de captura.

Figura 15. Diseño del microfiltro representación esquemática.



Fuente. Autoría propia.

La bifurcación se diseña para la separación de (CTCs) de los leucocitos y glóbulos rojos. Después de haber sometido las células a fuerzas de arrastre en el canal recto, las células rojas entran a la bifurcación posicionadas en el centro del canal en una hilera, las células cancerígenas ingresan posicionadas cerca a la pared del canal, debido a la migración, las células blancas finalmente se posicionan en una distancia mínima de la pared de ($Str = 6\mu m$) los neutrófilos no tocan las paredes del canal, en canales rectos y en altas velocidades de flujo tienden a migrar hacia el centro del canal.

En la bifurcación se emplea una constricción tipo rampa, lo que nos permite generar vórtices en la salida dispuesta para la CTC, la generación de vórtices en el canal lateral que generan resistencia al paso de las células blancas y rojas, que se ven obligadas a

seguir la corriente principal por la acción del arrastre. Las células cancerígenas en cambio de mayor tamaño colisionan con la constricción, dicho efecto hace que la célula se desplace la célula hacia la salida lateral, la distancia de la contracción a la pared del canal se determina de anchura menor a la (cell free layer) capa libre celular determinada en la literatura la cual es de ($Str = 6\mu m$) para permitir el paso libre de las células blancas

Las células CTC de menor tamaño, pero con alta rigidez y resistencia al flujo como se describe en la literatura se desplazan hacia las zonas laterales del canal, la constricción genera una diferencia entre las velocidades del fluido en ambos extremos del canal lo que causa que la célula se desplace hacia la zona de menor velocidad de corriente en este caso hacia la salida lateral.

La segunda salida es dispuesta para el flujo de eritrocitos (RBC) y leucocitos (WBC), dada las propiedades mecánicas de las células como viscosidad alta y baja tensión superficial causan un comportamiento plástico de las células lo que hace complejo la manipulación de estas en el fluido, el microfiltro con constricción y bifurcación permite la circulación libre de los neutrófilos hasta la salida final dispuesta evitando así la contaminación de las CTC, adicionalmente los eritrocitos al saltar la bifurcación se disponen a desplazarse hacia la última salida.

Se usa un mallado de elementos cuadrilaterales con (GAMBIT), usando el FLUENT de ANSYS. Se especifican las condiciones de entrada y salida (inlet-outlet) de los flujos de la fase primaria y secundaria. Mediante una representación de partículas para muestras de partícula y fluido bombeadas desde la entrada hacia la salida, se especifica para una variación del flujo para la mejor condición hidrodinámica que genere el comportamiento favorable de clasificación de células, para un intervalo de flujos se realizan las simulaciones y se toman los datos de las posiciones de salida de cada célula en las zonas de clasificación seguido se grafican la posición de salida en el canal versus las velocidades de flujo, para cada tamaño de célula se determina la condición de flujo óptima que genere una separación de capas por tamaño de célula, los parámetros con detalles de la simulación se presentan en la tabla 6.

Tabla 6: Parámetros de simulación

Solver	Ansys-Fluent (2D)
Model	Pressure- Based (transient) (VOF)
Boundaries	Velocity Inlet(v=0.03m/s) Pressure Outlet(Gauge pressure=0) Wall
wall	Contact angle=180°, stationary, no slip
Phase	Phase1=Oil Phase2=water
Surface Tension force modeling	Wall Adhesion
Surface Tension Coefficient	CTC=0.05 N/m, WBC=0.000029N/m, RBC=0.5N/m.
Viscosity	WBC=130Pa.s, CTC=(0.01-0.04pa.s), CTC=(100-200Pa.s), RBC=0.006Pa.s
Marc Cell	CTC D=8µm, WBC D=7µm. RBC D=4µm
Patch	Patching= Phase 2
Algorithm	COUPLE
Initialization	Standar Initialization
Calculation	Time step size= 0.01s

Fuente: autoría propia

3.3. Establecer la eficiencia del dispositivo de filtración para la filtración de células rojas (RBCs), células blancas (WBCs) y de células cancerígenas (CTCs).

Para la eficiencia de captura se determina el porcentaje de (CTC) capturadas en la salida establecida para separación de estas respecto al número total de células evaluadas, el porcentaje de pureza mide la pureza de la muestra capturada determinado el porcentaje de células rojas y células blancas que no son filtradas. N_{WBCs} es el número de células blancas medidos en la salida CTC, N_{RBCs} número de células rojas medido en la salida CTC, N_{CTCs} el número de CTC capturado, aquí el grado de pureza es la unidad menos la fracción deferente a N_{CTCs} .

3.4. Validar del modelo de diseño mediante la comparación de la eficiencia de captura para las (CTC)'s para una eficiencia igual o mayor comparada con otros modelos de diseño de filtración de investigaciones previas.

Los datos de la eficiencia y pureza se comparan con los diseños disponibles en la literatura, se grafican los datos y se valida el modelo demostrando una eficiencia superior de captura, el volumen de procesamiento de muestra se compara con la literatura y se valida el diseño.

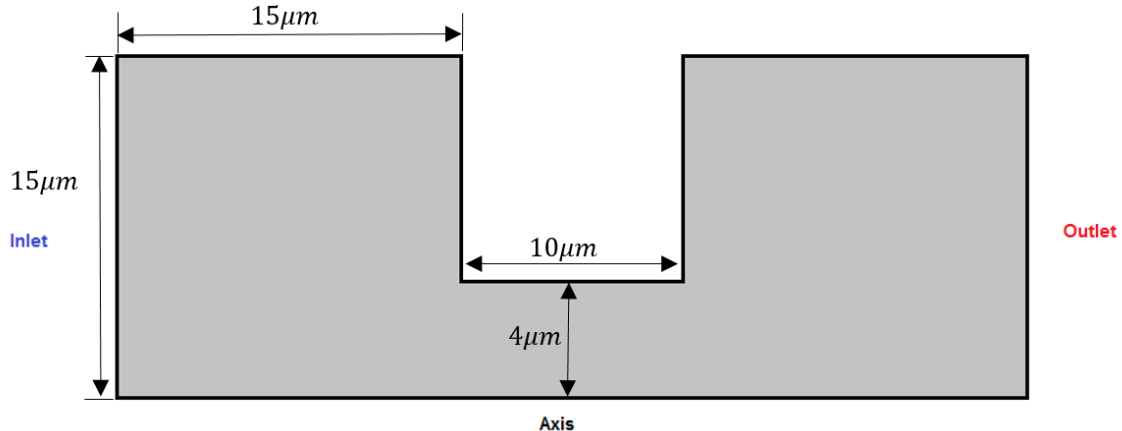
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACIÓN CELULAR.

4.1.1. PREPROCESO (DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA DEL DOMINIO).

La geometría del dominio en 2D dos dimensiones presenta las dimensiones del filtro, para las condiciones de frontera se define, (velocity inlet) como velocidad de entrada, (Pressure Outlet) para la presión de salida y se define un eje horizontal para definir una condición de simetría reduciendo tiempo de cómputo. El filtro está constituido por tres cámaras, la primera cámara con la velocidad de entrada se ubica la célula evaluada, la segunda cámara es la cámara de filtración en la cual se somete la célula a deformación durante el paso a través de esta, la tercera cámara es la salida del filtro.

Figura 16. Geometría del dominio del filtro.



Fuente. Autoría propia.

La entrada del filtro posee una radio de ($15\mu m$), y longitud ($15\mu m$), la cámara de deformación radio de ($4\mu m$) con longitud ($10\mu m$), la cámara de salida posee las mismas dimensiones que la cámara de entrada, se define un eje simétrico en la arista horizontal inferior para generar un ahorro en carga de cómputo, tamaño de mallado.

4.1.2. PREPROCESO (GENERACIÓN DE LA MALLA)

Para la generación de la malla usamos el software Gambit, especializado en mallados cuadrilaterales, la malla presentada en la figura 17 (a), muestra la geometría del domino dividida en nodos y elementos, el mallado posee 196.000 elementos con un número de nodos 197.321, la calidad de los elementos que ofrece el mallado es la máxima siendo de $c=1$, la figura 17 (b), muestra los elementos del mallado y la calidad de estos. Para el mallado se usa un tamaño de elemento mínimo de $size = 0.2\mu m$.

Figura 17. a) Mallado dispositivo de filtración. b) Elementos de mallado.

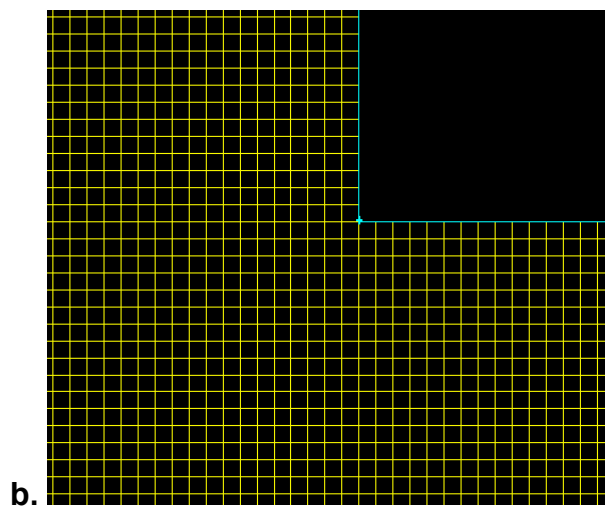
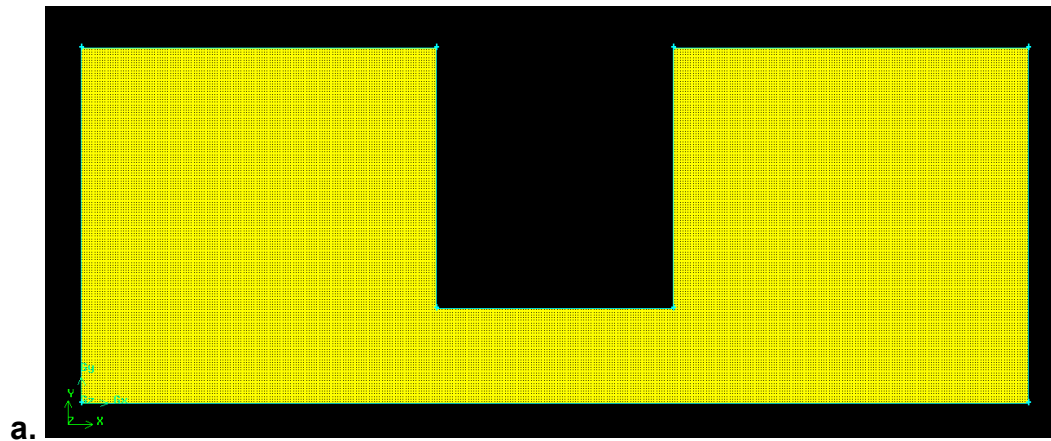


Tabla 7. Propiedades de malla

Tipo Mallado	Calidad de elemento mínima	Calidad de elemento máxima	Tamaño de elemento (μm)	Número de elementos
Mallado cuadrilateral	1	1	0.02	196000

Teniendo en cuenta que la calidad del mallado es importante se debe mantener un acuerdo entre la calidad y el gasto de cómputo esto es las simulaciones con mayor número de elemento y menor tamaño de elemento requieren mayor gasto en tiempo y computo para la conveniencia el mallado genera un buen resultado, finalmente el mejor acuerdo con el menor número de elementos y alta calidad de elementos muestra resultados tan exactos como los otros mallados de mayor complejidad siendo mejor en lo que respecta a acuerdo en gasto de cómputo y calidad de resultados.

4.1.3. SOLVER.

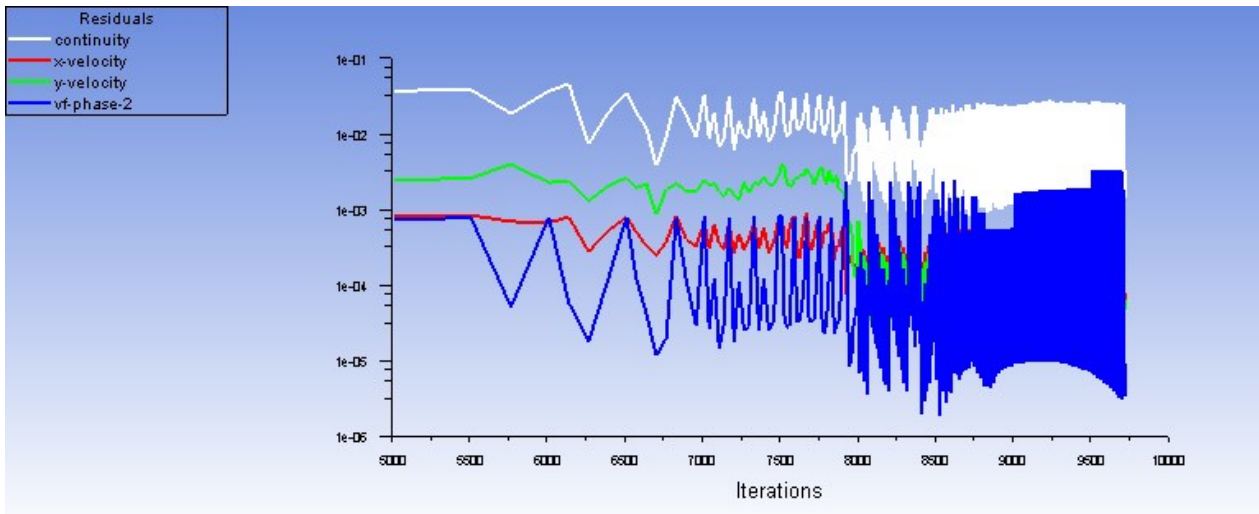
Las simulaciones numéricas en (2D) dos dimensiones son realizadas usando el modelo (Volumen of fluid – VOF) en (ANSYS-Fluent), asumiendo que la fase primaria es newtoniana, continua y el flujo es incompresible laminar completamente desarrollado en un modelo transiente, Implementamos (Patching) para marcar la célula en la entrada del filtro con diámetro de ($D=16\mu\text{m}$).

En el modelo (VOF) la tensión de superficie es modelada seleccionando fuerza de tensión superficial (Surface Tension Force Modeling), se especifica una tensión superficial constante con valor de, $\sigma = 2.7e^{-5}N/m$, para la célula blanca, $\sigma = 0.05N/m$, para la célula cancerígena, $\sigma = 0.005N/m$ para la celula roja, el modelo (Continuum Surface Force) y el modelo (WALL Adhesión), la fuerza gravitacional es despreciada al no ser relevante en la microescala, para las condiciones de frontera se establece velocidad de entrada de ($v=0.02\text{m/s}$), para la condición de salida se establece presión atmosférica para la salida con frontera simétrica para reducción de carga y tiempo computacional.

En adhesión de pared se establece un ángulo de contacto de la fase secundaria y la pared y fase primaria de 180° en acuerdo con la literatura, especificando una condición de corte en la pared (No slip), definiendo la pared estacionaria.

Se emplea el algoritmo (PISO) para la solución de las ecuaciones de gobierno para la presión y velocidad usando (PRESTO) como esquema de interpolación para la presión en las caras de los elementos, usando mínimos cuadrados para los gradientes, (second order upwind) para la ecuación de (momentum) y geo reconstrucción para la fracción de volumen. Se evalúa el (Time Step) óptimo determinado en $tstep = 1\mu s$, definiendo ($i=20$) iteraciones para la solución de los residuales ver figura 18.

Figura 18. Solución de los residuales.

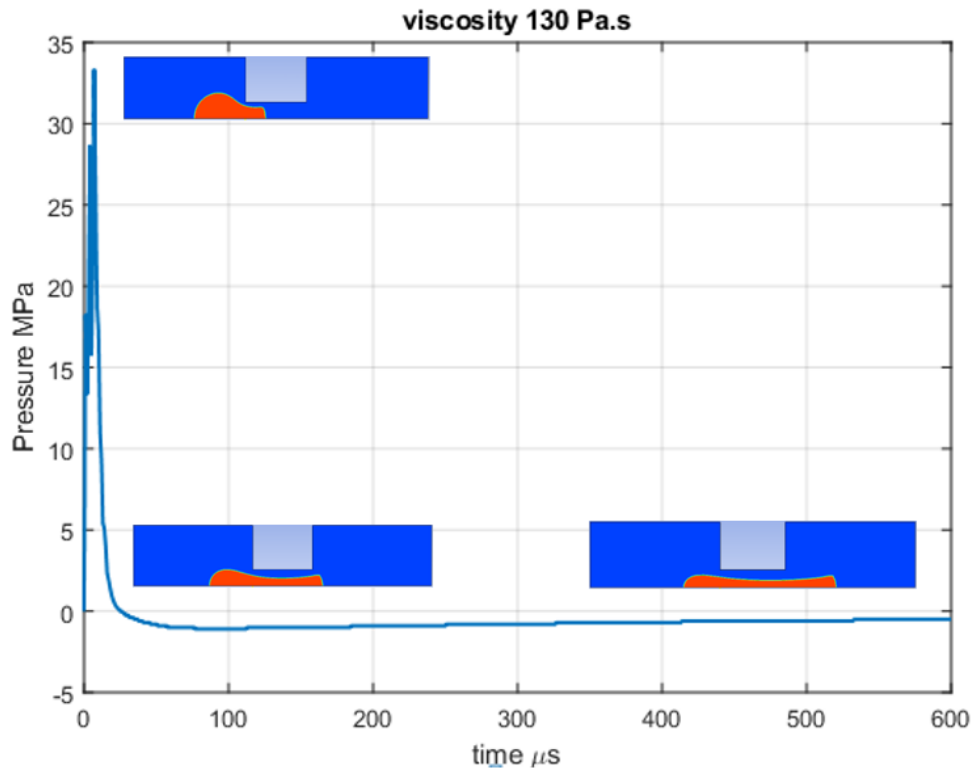


4.1.4. CARACTERIZACIÓN DE LA CÉLULA BLANCA

Los resultados obtenidos del proceso de deformación de la célula blanca demuestran una deformación plástica que alcanza la máxima presión crítica seguido por una alta deformabilidad, la célula se extiende hasta superar la obstrucción, la simulación se llevó a cabo mediante el comportamiento celular usando (Power-Law), que simula el comportamiento no-Newtoniano del neutrófilo. La baja tensión superficial comparada con

otras células y su deformabilidad permite a la célula se desplazada por la corriente principal y pasar a través de obturaciones evadiendo contacto con las paredes de la cámara de deformación.

Figura 19. Deformación del neutrófilo durante filtración.



La figura 19, representa el perfil de presión sobre el neutrófilo durante el proceso de deformación, las etapas de filtrado en la gráfica muestran el comportamiento no Newtoniano, la presión crítica se alcanza rápidamente siendo de $P_{cr} = 33\text{MPa}$, después se presenta un descenso rápido en la presión esto es debido a la viscosidad promedio de la célula al ser no Newtoniana y de acuerdo a lo descrito en la literatura, a presiones mayores a (0.9kPa) sobre la célula la viscosidad promedio es menor a 100Pa.s, después de alcanzar la presión crítica la tasa de deformación lineal incrementa durante el proceso de filtración.

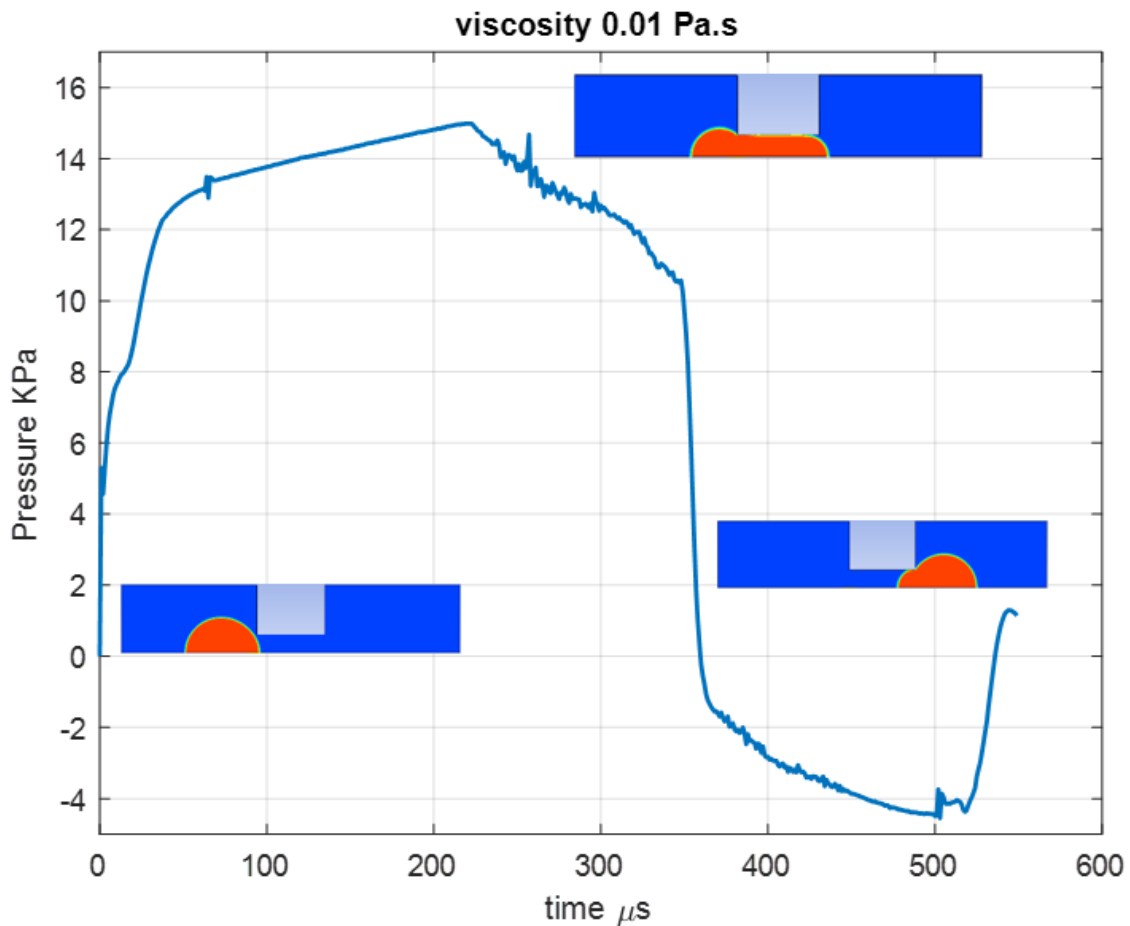
Los neutrófilos sometidos a deformación presentan una alta resistencia inicial a la deformación, lograda la presión crítica la tasa de deformación longitudinal se incrementa

junto con una reducción de la resistencia viscosa de la célula, la ecuación Power-Law presenta un buen acuerdo con el comportamiento real del neutrófilo.

4.1.5. CARACTERIZACIÓN DE LA CÉLULA CANCERÍGENA

La célula con viscosidad $\mu = 0.01 Pa \cdot s$, inicialmente se desplaza hacia la cámara de menor diámetro, en el ingreso a la cámara la presión corriente arriba genera un aumento en la presión sobre la célula incrementando hasta la presión máxima, la deformación celular se extiende hasta la salida del canal, seguido la presión decrece hasta hacerse cero, la máxima resistencia a la deformación en células de menor viscosidad está dada mayormente por la propiedad de la membrana o tensión superficial.

Figura 20. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.01 Pa \cdot s$.

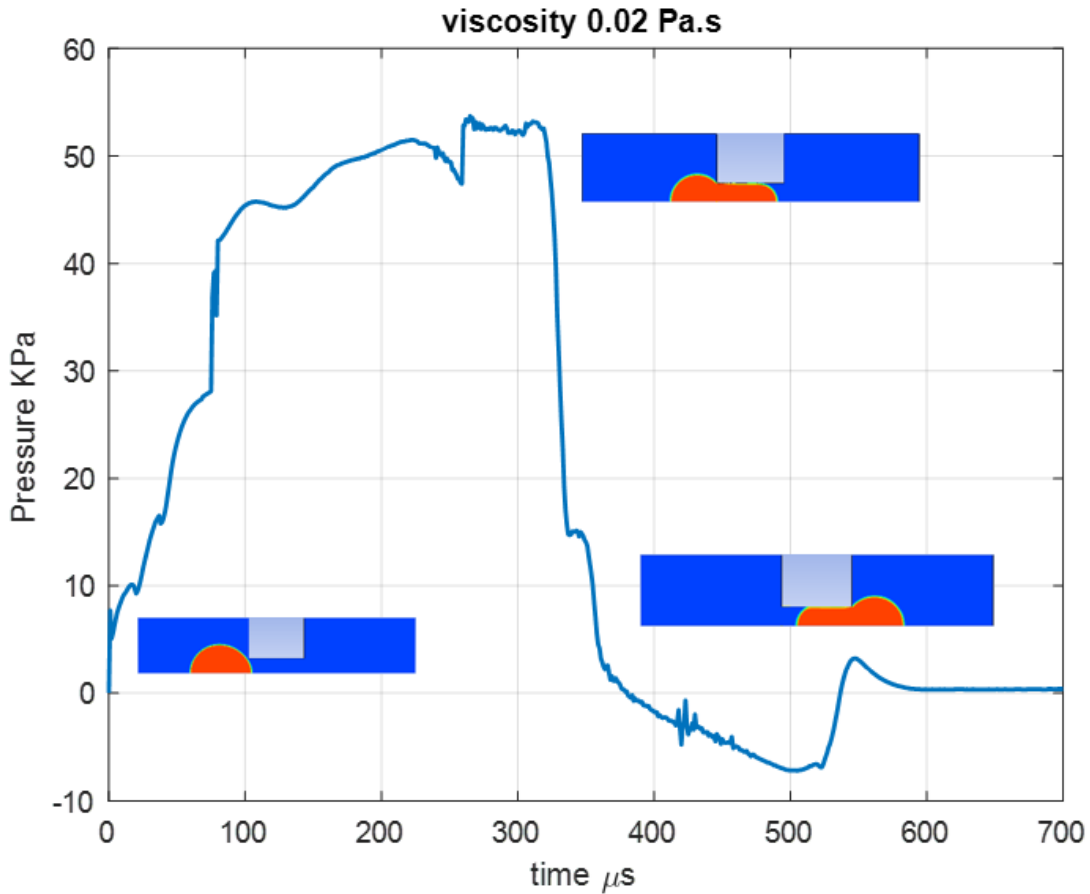


La presión crítica sobre la célula es de $P_{cr} = 14.5kPa$ en un tiempo de $t = 219\mu s$, la célula entra en la cámara de filtración y sigue su proceso de deformación por la presión del fluido hasta alcanzar la presión crítica después de esta la presión desciende hasta $P_{cr} = -4.5kPa$ en un tiempo de $t = 503\mu s$ debido a la fuerza sobre la superficie de la célula la cual cambia de dirección forzando hacia la salida lo que causa una reducción de la presión , seguido se desplaza a la salida derecha del filtro.

Durante el acercamiento de la célula a la cámara de diámetro menor, la presión del sistema se mantiene constante hasta alcanzar el microcanal de filtración, en la entrada la célula se somete a una alta deformación producida por la elevación de la presión, durante el ingreso la fracción celular ingresando al canal toma una deformación radial con radio del tamaño del canal después de esto la deformación radial pasa a ser longitudinal como se muestra en las etapas de deformación durante este tiempo el radio exterior de la célula que aún está en la cámara de entrada al filtro presenta una reducción del radio de la célula, seguido de vencer la resistencia a la deformación se produce un deslizamiento a través del canal tomando una forma cilíndrica la célula, seguido la célula se dispone a la última etapa que es la salida del canal, la deformación completa de la célula se alcanza cuando los dos radios son iguales el radio en la entrada y el radio en la salida del filtro.

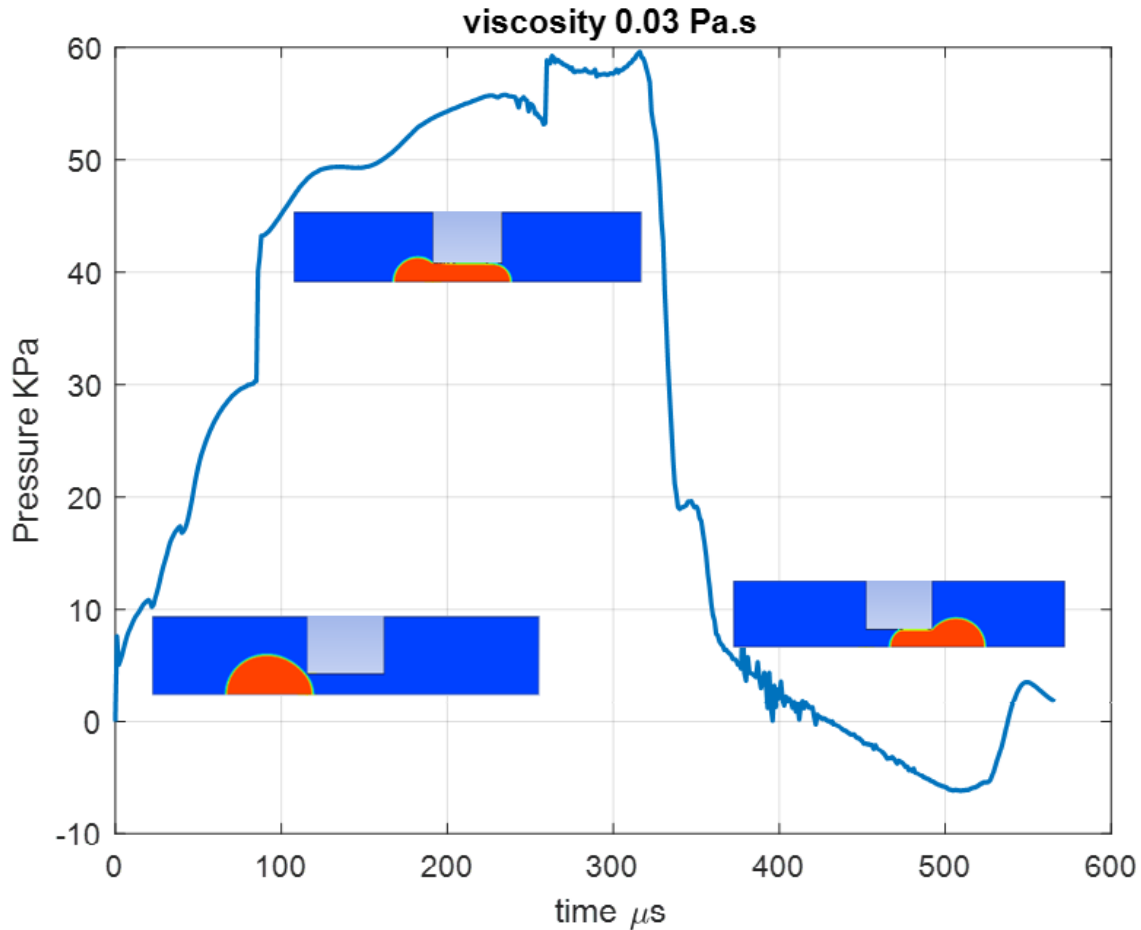
Cuando la célula esta apunto de salir del filtro se observa la generación de un pico de presión con menor magnitud que la presión crítica, éste máximo la presión local surge debido al rebote de la parte trasera de la célula por efectos de inercia.

Figura 21. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.02Pa.s$.



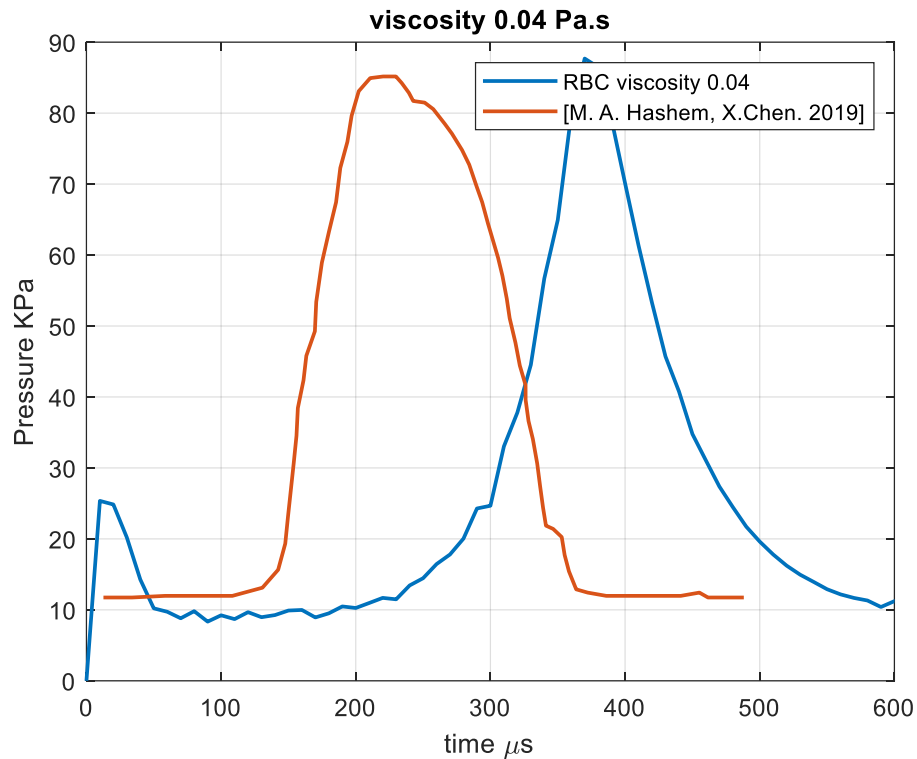
La figura 21, representa la presión ejercida sobre la célula, que se desarrolla en un tiempo de $t = 540\mu s$ ingresa en la cámara de filtración con el incremento de la presión ejercida por el fluido sobre la célula, este empuje genera el paso y la deformación a través del filtro, incrementando hasta una presión crítica de $P_{cr} = 40kPa$ que es la máxima presión ejercida sobre la célula, seguido la célula se desplaza a la cámara de salida del filtro, la presión en el fluido disminuye hasta alcanzar $P = -7kPa$ en un tiempo de $t = 500\mu s$.

Figura 22. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.03 Pa.s$.



La figura 22, presenta el proceso de deformación de la célula con viscosidad $\mu = 0.03 Pa.s$ al paso del filtro y la presión ejercida por el fluido sobre la misma, la presión de entrada empuja la CTC hacia la cámara de filtración generando contacto con la entrada del filtro, la presión corriente arriba genera la deformación celular incrementando hasta $P_{cr} = 44 kPa$ que es la presión crítica o máxima presión ejercida sobre la célula, y la cual ocurre en un tiempo de $t=508 \mu s$, el proceso de deformación continua hasta alcanzar la célula la cámara de salida, después de la presión crítica continua un descenso en la presión sobre la célula hasta salir completamente de la cámara de filtración. El descenso alcanza el punto mínimo de $P=-6 kPa$ en un tiempo de $t=509 \mu s$ lo que indica disposición a la salir de la célula de la cámara de filtración, el tiempo en el proceso de paso de la célula toma $t=566 \mu s$.

Figura 23. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 0.04 Pa.s$. comparación y validación de resultados



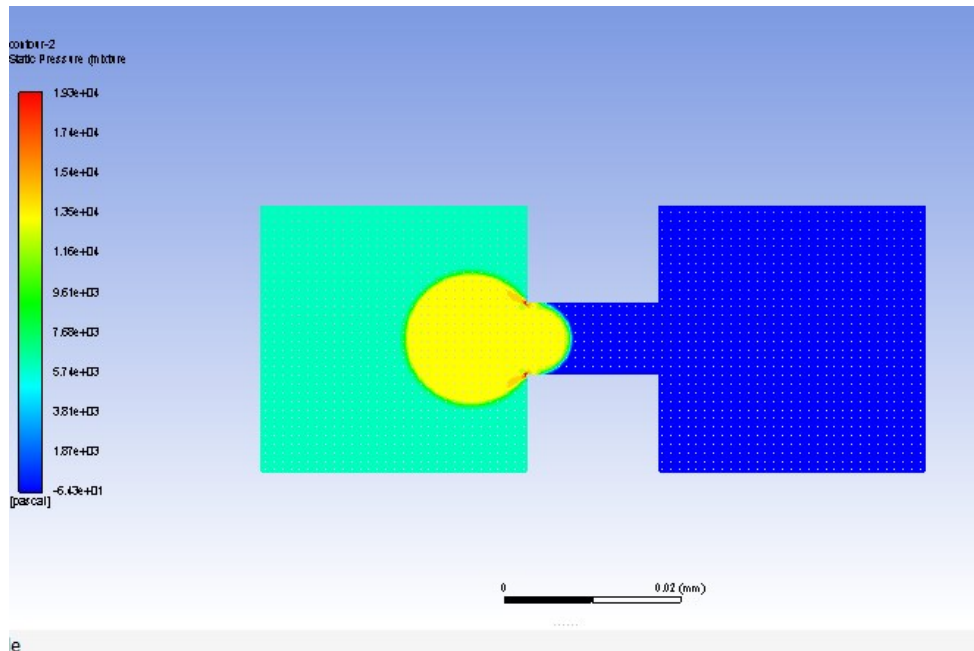
Se comparan los resultados de filtración de una célula CTC de viscosidad $\mu = 0.04 Pa.s$ con los resultados encontrados por (M.A. Hashem y X. Chen) el cual las simulaciones se realizaron empleando el software (ANSYS fluent), las simulaciones se desarrollaron bajo los mismo parámetros de esta referencia, parámetros descritos en la metodología, en la gráfica la presión crítica P_{cr} determinada en nuestro modelo es acorde a los datos obtenidos en esta referencia literaria, nuestro modelo acorde con la presión del sistema y la deformación celular con diferencia en la presión máxima y error de $e = 3.53\%$. En la gráfica se presenta un desplazamiento respecto a la referencia, debido a la posición inicial de la célula no es igual a la posición inicial establecida en la referencia, lo cual nuestro modelo toma mayor tiempo en llegar a la entrada de la cámara de filtración con una diferencia de $\Delta t = 100 \mu s$ en el desarrollo de la filtración, siendo una condición que

no afecta en el resultado final que es el pico de presión del sistema y la deformación celular.

Se evalúan las presiones desarrolladas durante el proceso de filtración o paso de la célula por la obturación, la figura 23 muestra el perfil de presión en el fluido durante la entrada de la célula en el filtro, sufre una deformación hasta alcanzar el pico máximo de presión requerida para el paso a través de éste, la presión máxima se alcanza en tiempo $t = 9\mu s$ después de entrar en deformación, indicando que la célula presenta mayor resistencia a la deformación a mayor viscosidad.

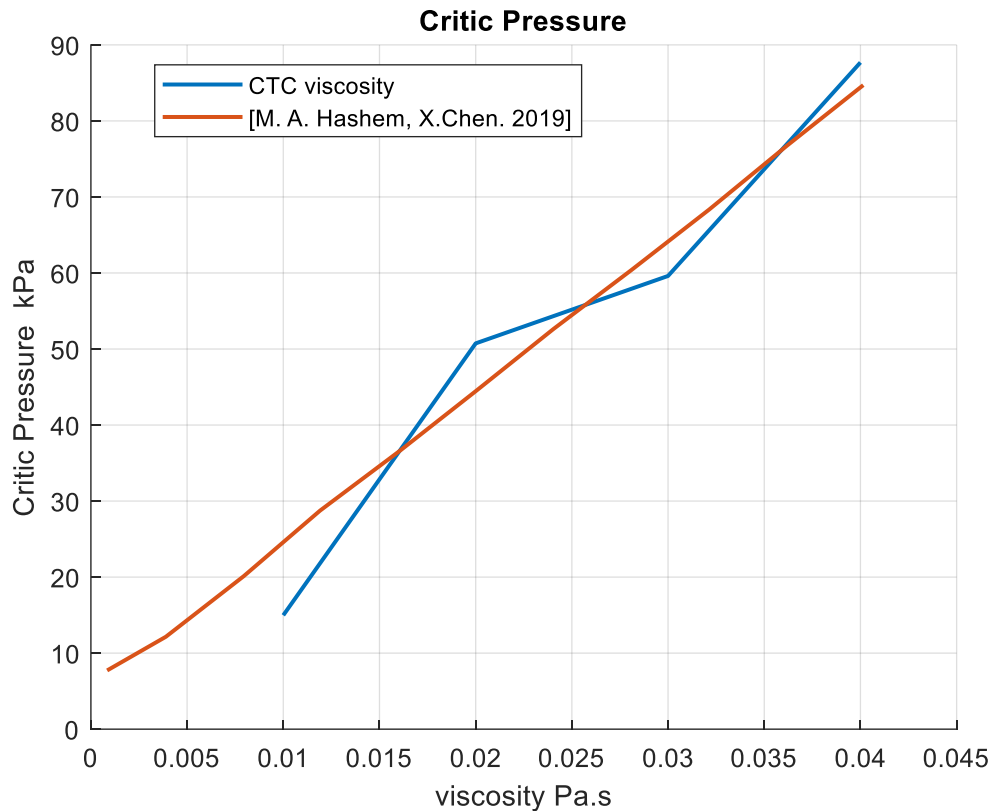
La gráfica muestra la presión inicialmente venciendo la tensión superficial la cual es $\sigma = 0.05 N/m$, la presión continúa hasta vencer la resistencia viscosa de la célula y alcanzar el pico máximo, la presión del sistema continúa después del pico máximo deformando la célula y haciéndola desplazarse hacia la salida y la cámara derecha del filtro el perfil de presión presenta una disminución hasta que la célula sale completamente de la cámara de filtración por deformación, los contornos de presión de la célula durante el ingreso se puede apreciar en la figura 24.

Figura 24. Contornos de presión.



En primer lugar se realizan simulaciones para determinar la presión crítica de las viscosidades entre (0.01-0.04 Pa.s), para una tensión superficial $\sigma = 0.05N/m$ los resultados se muestran en la figura 24.

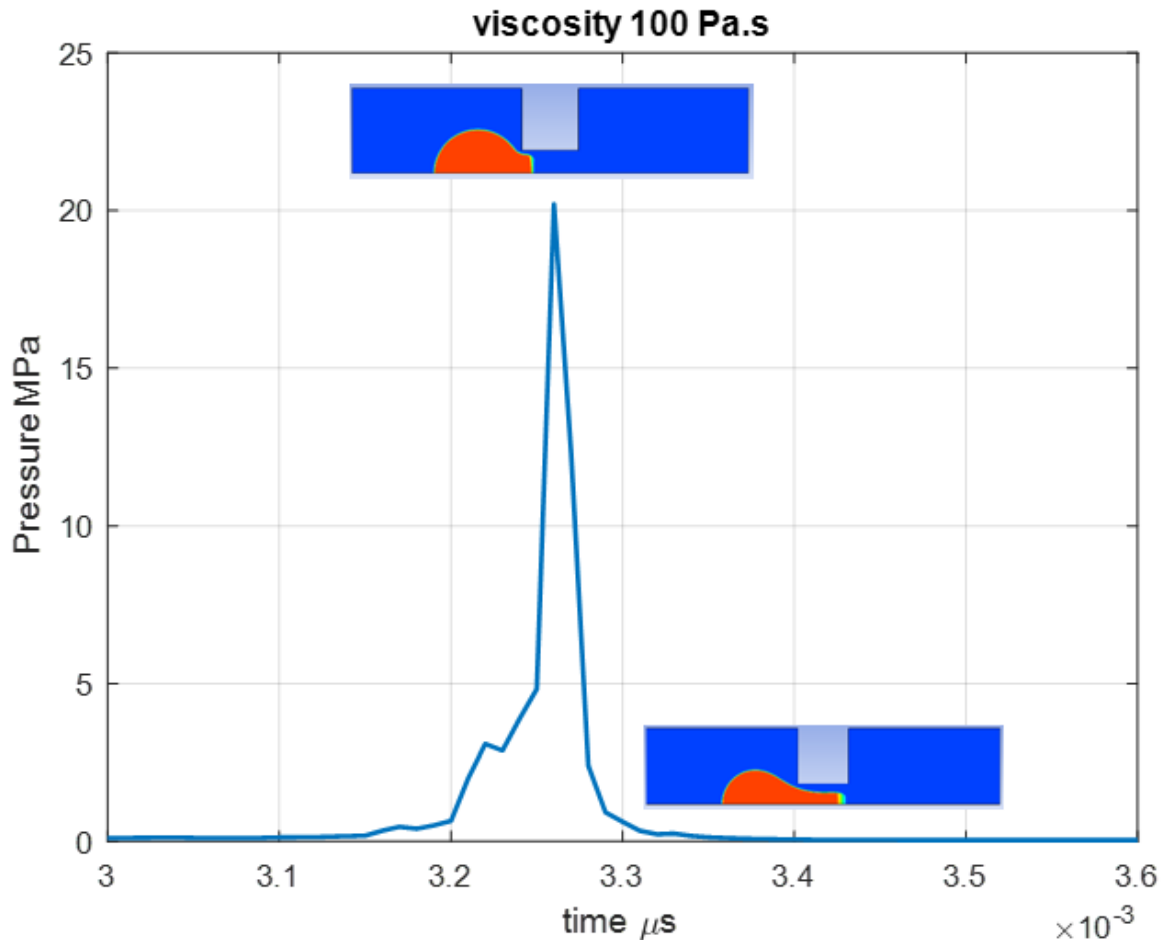
Figura 25. Comparación y validación de resultados presión crítica vs viscosidad con datos de la literatura.



La figura 25 representa la comparación de datos obtenidos para el conjunto de células cancerígenas (CTC) con viscosidades entre ($\mu = 0.01 - 0.04 Pa.s$), los resultados de presión crítica son comparados con los resultados obtenidos por (M.A. Hashem, X. Chem), el error obtenido para la célula de viscosidad ($v = 0,01 Pa.s$) $e = 39.2\%$, para la viscosidad evaluada de ($v = 0.02 Pa.s$) el error es $e = 14.17\%$, mientras que para la célula de viscosidad ($v = 0.03 Pa.s$), error es de ($e = 7.7\%$), finalmente para la CTC evaluada

con viscosidad de ($\nu = 0.04 Pa.s$) el error obtenido es $e = 3.53\%$, resultando en un porcentaje promedio de error de $\bar{e} = 15.1\%$.

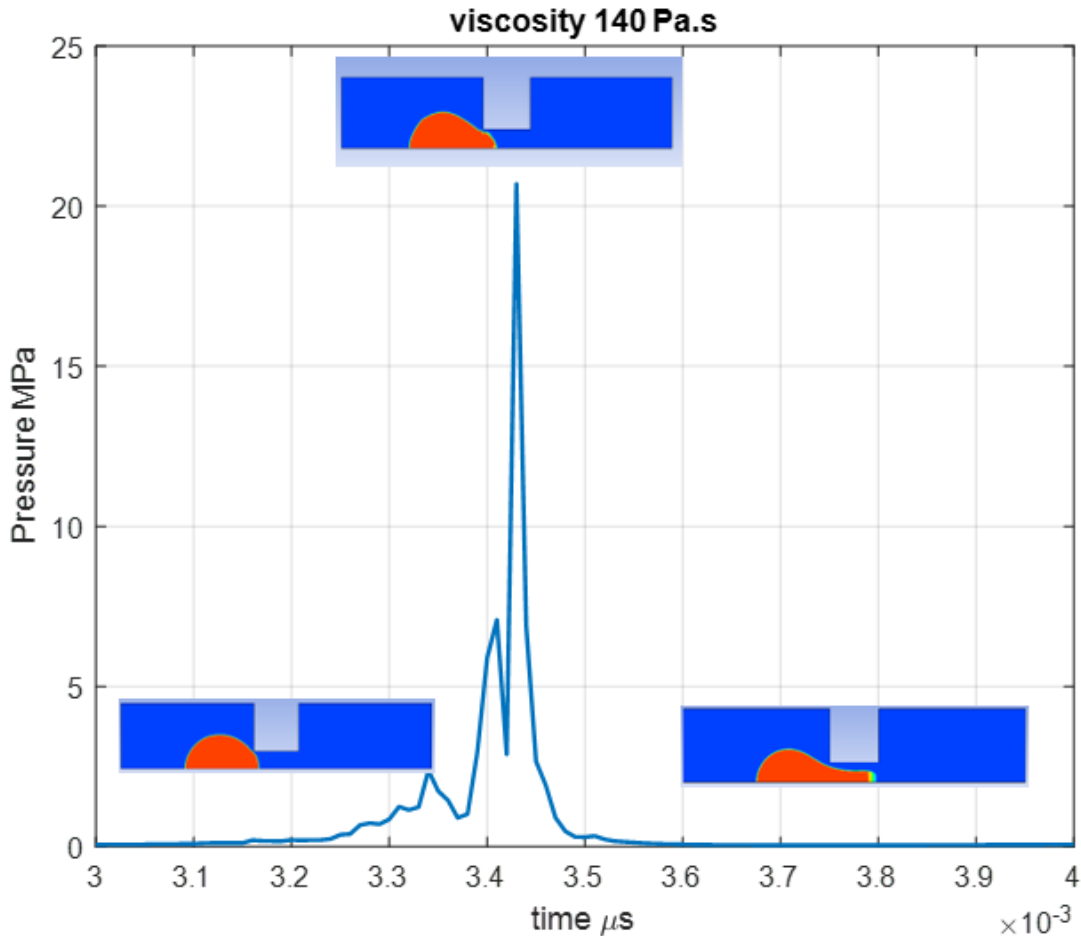
Figura 26. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 100 Pa.s$.



La figura 26, representa la presión ejercida sobre la CTC, la máxima presión requerida para generar la deformación y el paso a través de filtro es de $P_{cr} = 20.2 MPa$, la presión crítica es una suma de las presiones viscosa y superficial, para altas viscosidades la presión viscosa es mayor que la presión superficial, el máximo pico en la gráfica en un tiempo de $t=0.0033\mu s$, las presiones críticas están dominadas por presión superficial en cuerpos de baja viscosidad, para este caso la célula se deforma dentro del canal, el sesgo hacia la derecha del pico máximo de presión en la gráfica es un comportamiento por la

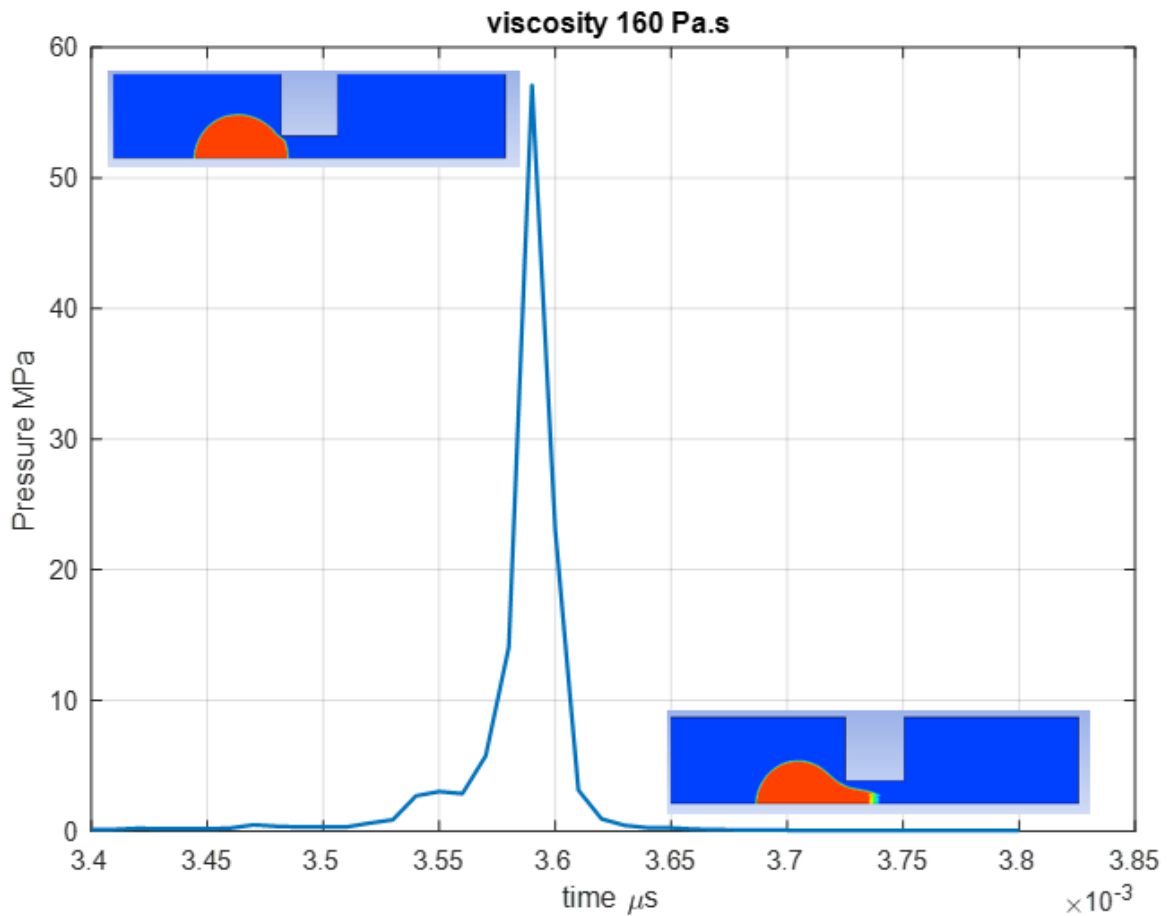
alta viscosidad, en células de baja viscosidad el pico de presión máxima tiende a posicionarse hacia la izquierda o en la entrada del filtro por la acción de la tensión en la membrana.

Figura 27. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 140 Pa.s$



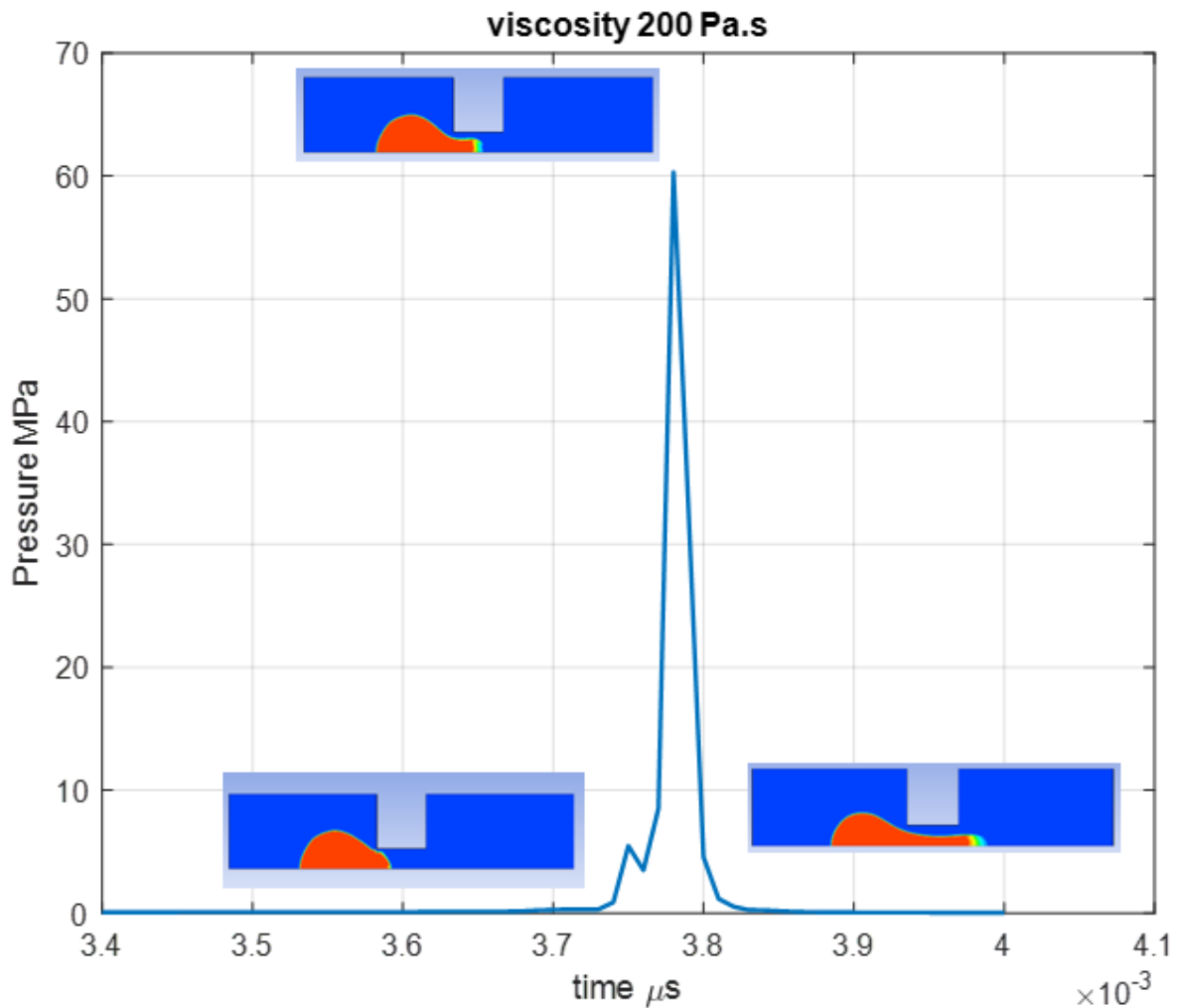
Para la CTC con viscosidad $\mu = 140 Pa.s$ la máxima presión crítica es $P_{cr} = 20.7 MPa$, con un tiempo de $t = 0.0034 \mu s$, el tiempo de desarrollo de deformación de la célula es $t = 0.0036 \mu s$, nuevamente después del pico la presión debido al empuje empieza a reducirse en la medida que la célula sale de la cámara de filtración hacia la cámara derecha del filtro tal como se muestra en la imagen izquierda superior de la gráfica.

Figura 28. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 160Pa.s$



La figura 28 representa la célula CTC deformándose a través del filtro, la presión máxima es $P_{cr} = 57.1MPa$, en un tiempo $t = 0.0036\mu s$, después la presión cae, la gráfica muestra un comportamiento de mayor resistencia por la mayor viscosidad, el sesgo hacia la derecha del pico de la gráfica indica que se requiere de una deformación celular para alcanzar la presión crítica siendo causado por la resistencia viscosa , la célula tarda más tiempo deformándose hasta alcanzar la presión máxima.

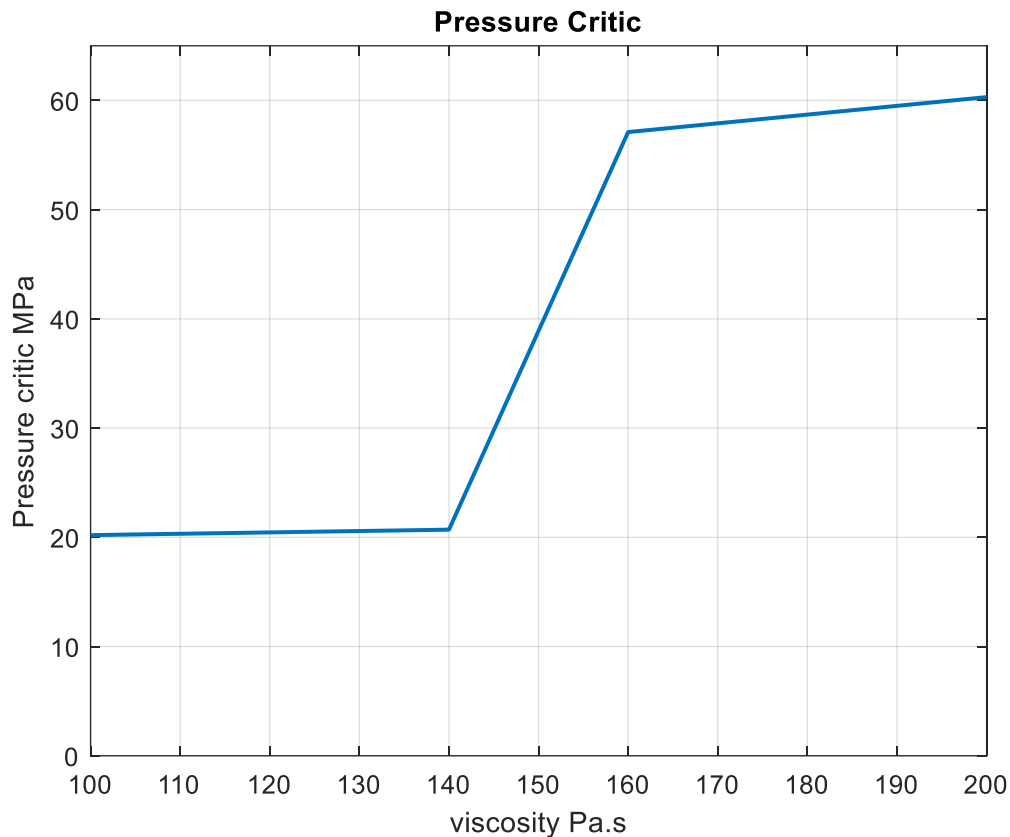
Figura 29. Deformación de CTC viscosidad, $\mu = 200 Pa.s$



Para la CTC con viscosidad $\mu = 200 Pa.s$, el máximo empuje presentado es de $P_{cr} = 60.3 MPa$ según la gráfica anterior con un mayor tiempo de deformación o desplazamiento de la célula a través del canal de filtro $t = 0.0038 \mu s$ lo que indica que la presión mayormente ejercida es presión viscosa dada la alta viscosidad que presenta la célula y la máxima presión no se presenta de forma inmediata a la entrada del canal, sino que proporcionalmente a la deformación incrementa hasta alcanzar el punto máximo, a medida que la viscosidad se hace mayor, la resistencia que presenta la tensión superficial se hace despreciable en comparación con la resistencia producida a causa de la

viscosidad celular, el tiempo de proceso de paso de la célula por el canal es de $t = 0.001\mu s$.

Figura 30. Comparación presión crítica versus viscosidad celular.



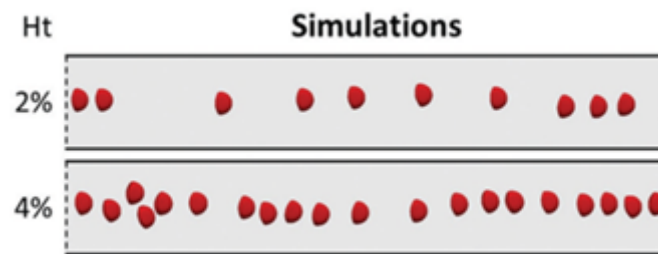
En la figura anterior, figura 30, muestra que la presión crítica incrementa con el aumento de la viscosidad, con esto se puede afirmar que la presión crítica es proporcional a la viscosidad, siendo dominada mayormente por los efectos de presión viscosa y no por los efectos de la presión superficial siendo de $P_{cr} = 20.2MPa$ para una viscosidad de $\mu = 100Pa.s$ hasta $P_{cr} = 60.3MPa$ para una viscosidad de $\mu = 200Pa.s$. los efectos de resistencia por la tensión superficial de la membrana se hacen despreciables en comparación con la presión viscosa. En este proyecto se evalúa la célula cancerígena (CTC) como fluido newtoniano, dada las altas viscosidades que pueden presentar, lo que

representa alta rigidez en comparación con otras células del fluido sanguíneo, células blancas (WBC), células rojas (RBC).

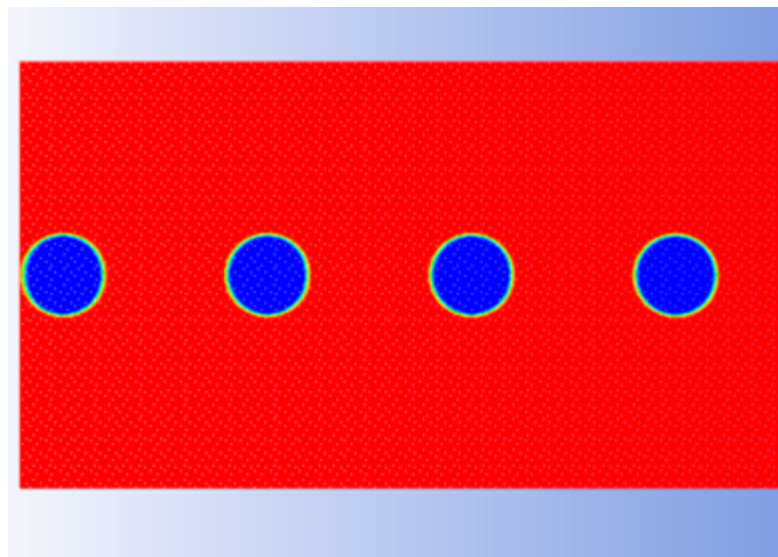
4.2. DISEÑO DEL DISPOSITIVO DE MICROFILTRACIÓN CELULAR

La geometría del dispositivo es seleccionada teniendo en cuenta el efecto Fahraeus y Lindqvist, la dimensión es determinada tomando los datos obtenidos por (Cécile y Dorian, 2019) para canales con ancho entre 30-60 μm se generan dos y una banda respectivamente de glóbulos rojos en el centro del canal, seleccionado finalmente una dimensión de ancho de canal de $D=42 \mu m$ en hematocrito $Ht=2-4\%$.

Figura 31. Simulaciones de glóbulos rojos en hematocrito $Ht=2-4\%$ y comparación de resultados.



a. Banda de glóbulos rojos en $Ht=2-4\%$ (Cécile y Dorian).



b. Simulación de glóbulos rojos en canal recto en Hematocrito $Ht=2-4\%$.

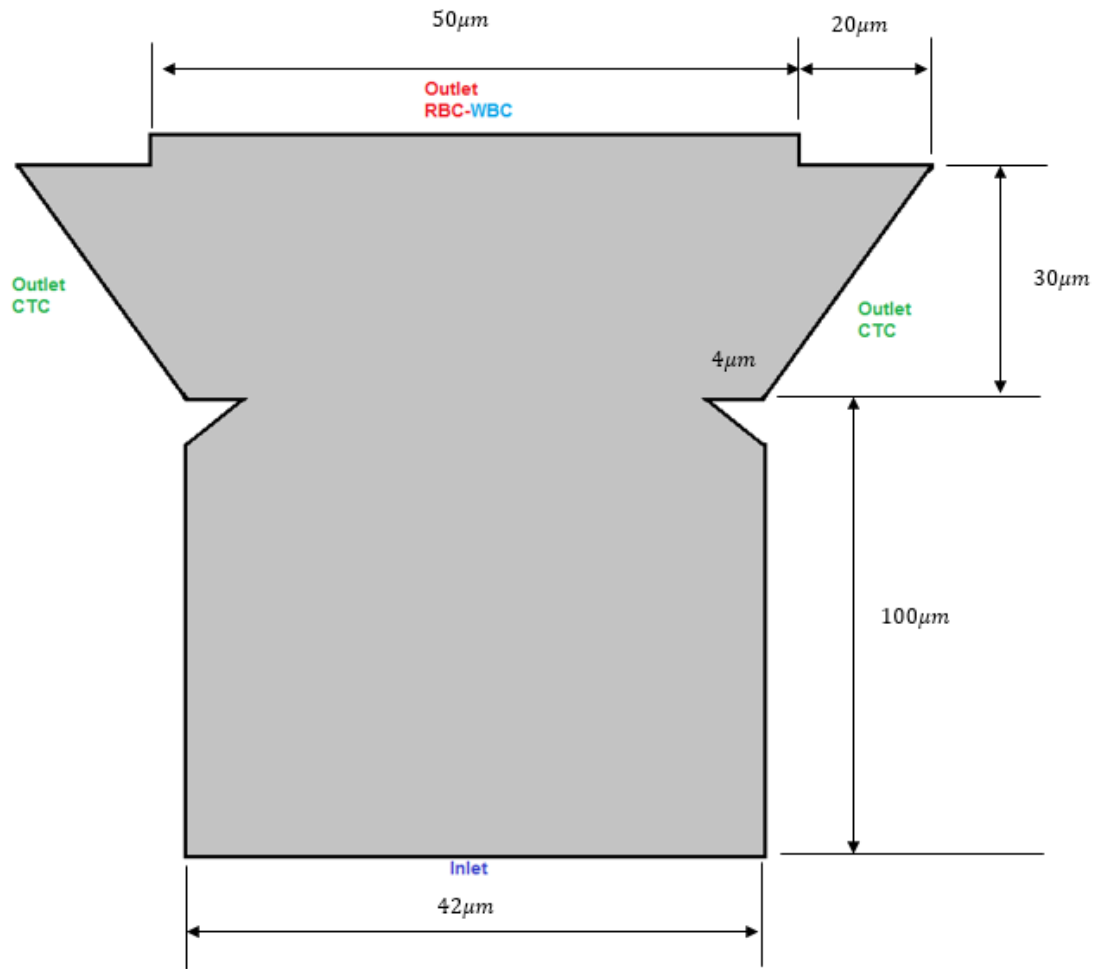
Los glóbulos rojos en el canal se simulan tomando un hematocrito $Ht=2-4\%$ para el diámetro de canal escogido se acumulan en el centro del canal formando una sola fila o banda de glóbulos para ancho de $A=42\mu m$. Los resultados obtenidos por (Cécile y Dorian. 2019), en la figura 31 b, se simulan los glóbulos en agrupaciones centradas en el canal que homologan la formación de banda central usando (droplets), el método de gotas no captura los tipos de movimiento o deformación de la célula roja en el fluido, pero ha sido empleado en el diseño de microfiltro en la literatura con resultados favorables por la capacidad de este método de analizar las corrientes críticas y homologar las células en el canal, por tal motivo es seleccionado para el diseño.

4.2.1. DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA

La geometría del dispositivo microfiltro es la que se presenta en la figura 32, con dimensiones de ancho del canal $D = 42\mu m$, longitud del canal recto o canal de entrada de $L = 100\mu m$, se establecen la condición del microfiltro para filtración (CTC) de fluidos sanguíneos con bajo hematocrito $Ht= 2-4\%$.

La longitud de salida de las células cancerígenas es de $Out_{CTC} = 30\mu m$, la salida permite la captura de células de tamaño de hasta $D = 30\mu m$, la salida esta diseñada para capturar tamaños estándar de células cancerígenas de los cuales el máximo tamaño es de diámetro $D = 24\mu m$, el tamaño de células que serán evaluadas en las simulaciones son los tamaños de diámetro $D = 14, D = 20\mu m$, estos son los tamaños de célula cancerígena promedio CTC.

Figura 32. Geometría dispositivo microfiltro.



En el microfiltro las longitudes de las paredes laterales en la bifurcación se establecen de diferente tamaño, la pared de la bifurcación en la parte inferior es de menor tamaño con el propósito de generar una rápida evacuación de las células CTC de la salida lateral, a mayor viscosidad la celular presenta mayor rigidez, una menor longitud de pared en la entrada permite que las células de mayor rigidez sean liberadas en la salida lateral evitando adhesión o detención de la célula en la salida del canal.

Se establece un ancho de canal de salida para las células rojas y blancas (RBC) de $Outlet = 50\mu\text{m}$, con un tamaño mayor al canal de entrada con una diferencia de $\Delta W =$

$4\mu m$, la salida de mayor tamaño permite un mejor desarrollo de la corriente crítica cerca de la pared del canal.

Para el ancho del canal se tiene en cuenta el efecto de confinamiento de la célula ecuación (1). Para el máximo tamaño de CTC a evaluar ($D_{CTC} = 20\mu m$) y para el diámetro de canal seleccionado de $D_c = 42\mu m$, el confinamiento es de.

$$\left(\frac{D_{CTC}}{D_c}\right) = 2,1$$

Para el tamaño de CTC mínimo de $D_{CTC} = 14\mu m$, el confinamiento es de:

$$\left(\frac{D_{CTC}}{D_c}\right) = 3$$

De acuerdo con la literatura si el nivel de confinamiento es menor a 2, la CTC de puede mantener alejada de la pared y mantenerse en el flujo principal, mientras que para $\left(\frac{D_{CTC}}{D_c}\right) > 2.0$ la célula CTC es desplazada hacia las paredes, garantizando con esto la adhesión de la CTC hacia las paredes.

La geometría seleccionada es lo suficientemente pequeña para mantener el efecto Fahraeus-Lindqvist y conseguir una banda de glóbulos rojos en el centro del canal y lo suficientemente grande respecto al tamaño de la célula cancerígena (CTC) y permitir la migración de estas hacia la pared del canal.

4.2.2. PREPROCESO DE MALLADO

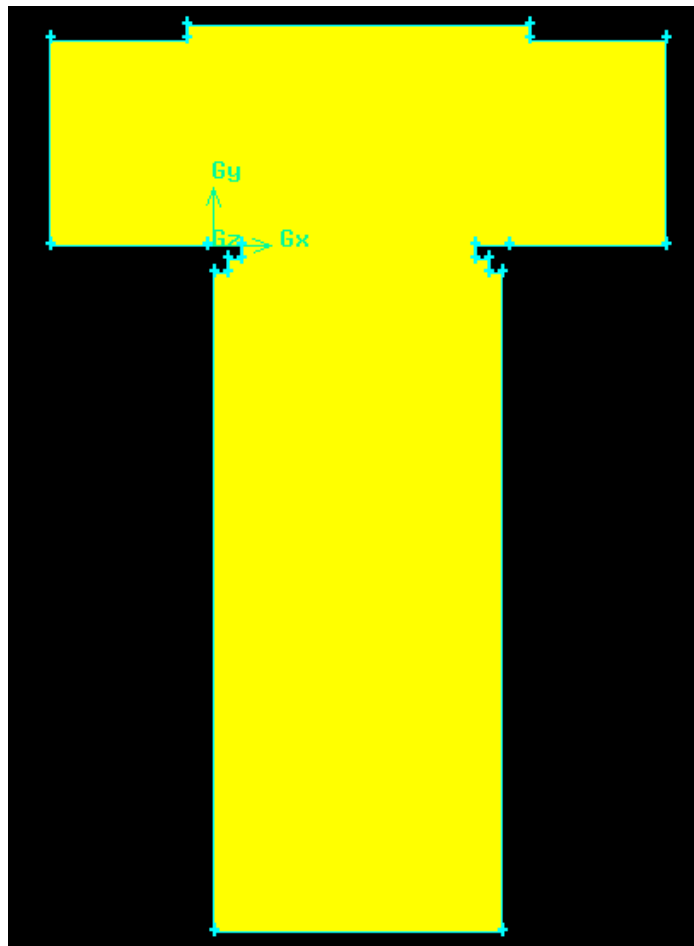
El mallado de la geometría del filtro en dos dimensiones se realiza implementando el software GAMBIT, el tipo de mallado implementado es un mallado cuadrilateral en dos dimensiones, la calidad de los elementos es (1), el tamaño mínimo de los elementos es de ($size = 0.2\mu m$), el número de nodos empleados es de $Nodos=175.551$ y el número de elementos es de $N=174.400$ tal como se aprecia en la tabla 8. Se implementa un tipo de mallado cuadrilateral que presenta mejor desempeño para la implementación del modelo (Volumen of fluid, VOF). Se selecciona este tamaño de elementos tomado del mínimo

tamaño de elemento obtenido de la caracterización celular que generó un resultado favorable de error en la medición de la presión crítica.

Tabla 8. Propiedades de malla microfiltro.

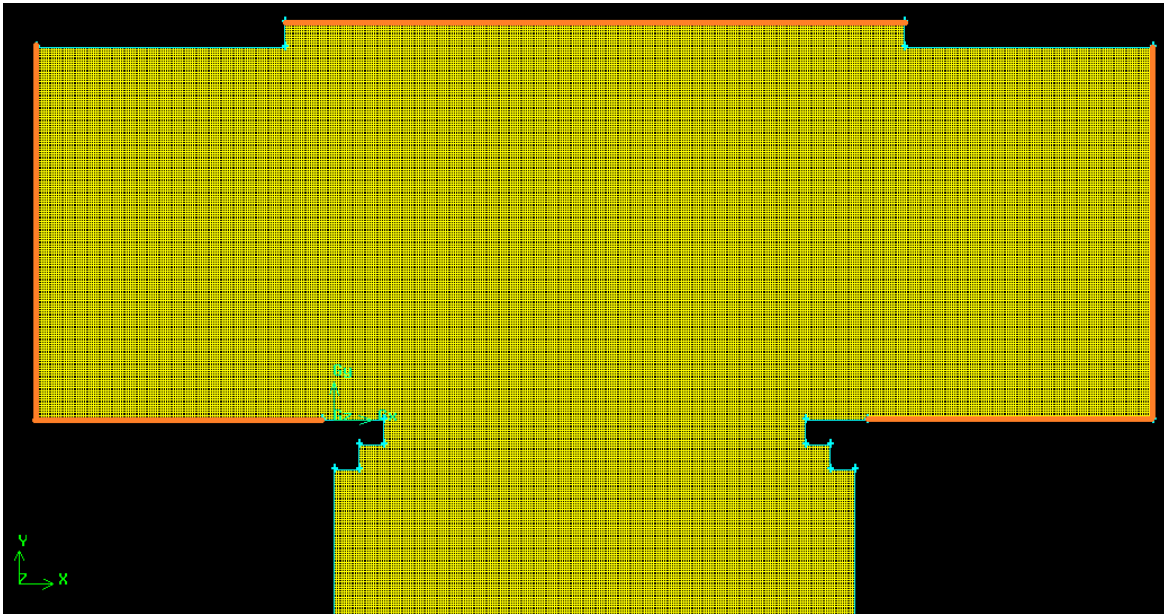
Tipo Mallado	Calidad de elemento mínima	Calidad de elementos máxima	Tamaño de elemento (μm)	Número de elementos	Nodos
Mallado cuadrilateral	1	1	0.2	174.400	175.551

Figura 33. Mallado de elementos cuadrilaterales, microfiltro.



La figura 34 muestra un acercamiento del mallado cuadrilateral, la salida lateral de CTC, en la geometría de dominio la pared lateral que sigue a la obstrucción es de menor longitud (ver figura 32), para el dominio y generación del mallado se decide extender estas aristas laterales y hacer un canal de igual longitud en los lados en la salida de la CTC, para la pared más corta en la salida lateral, la longitud restante se define como salida (Outlet), seguido la salida frontal y la salida lateral, definida por las aristas naranjas laterales, esta configuración se realiza para garantizar la generación de elementos cuadrilaterales en el mallado, se decide crear una obstrucción escalonada para mantener la formación cuadrangular de elementos de mallado, este cambio de la geometría no afecta la formación de flujos de recirculación laterales.

Figura 34. Mallado de elementos cuadrilaterales, entrada microfiltro.



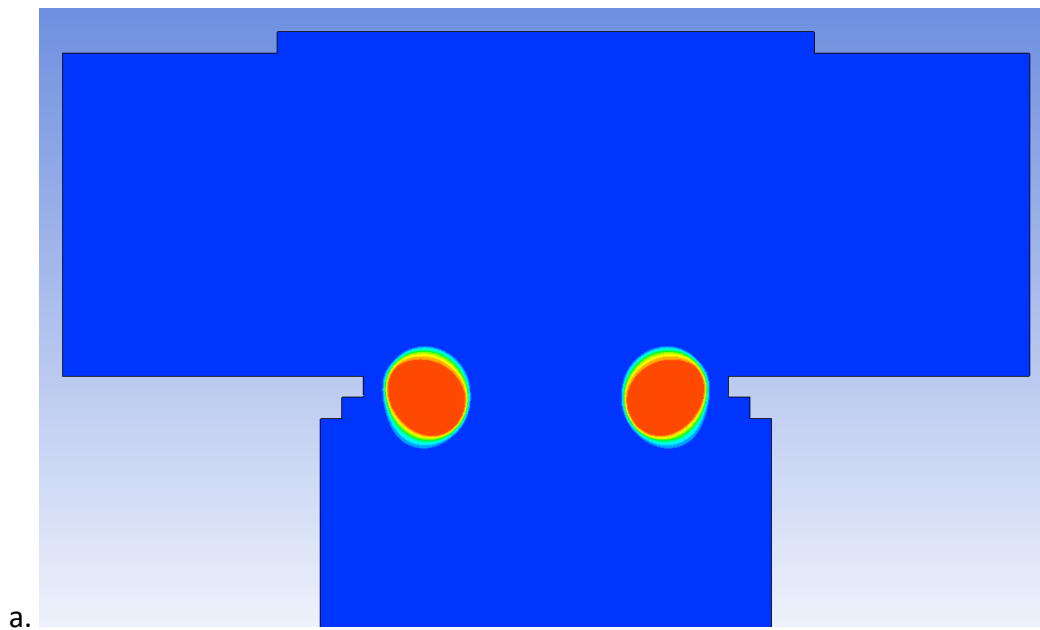
4.2.3. ANÁLISIS DE CORRIENTE CRÍTICA

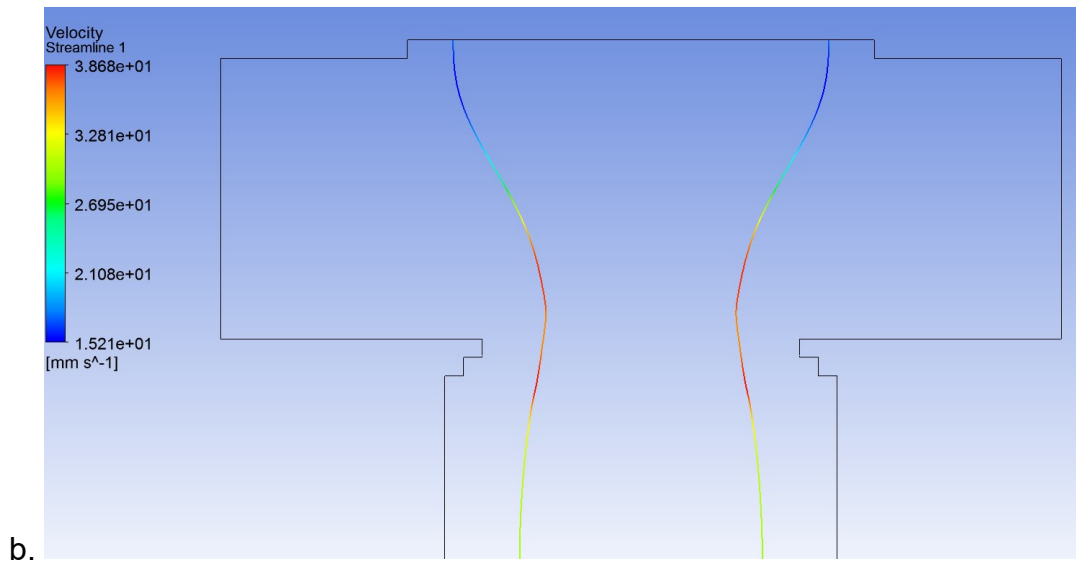
El espesor de la capa libre de células es igual a la mitad del tamaño de la célula, por lo tanto, para lograr una eficiencia de purificación del 100%, la línea de corriente crítica para

una relación de caudal debe estar por debajo $Str = 4\mu m$ donde Str es el total del espesor de la capa libre entre la pared y la superficie celular como se muestra en las figuras 35 y figura 36.

De los resultados obtenidos en todas las bifurcaciones el ancho de la línea de corriente crítica es mucho mayor, ver figura 35 b, Por lo tanto, una célula que se encuentra cerca de la pared (lo cual es posible particularmente a altas concentraciones (hematocrito) la célula entraría en los canales de células cancerígenas (CTC).

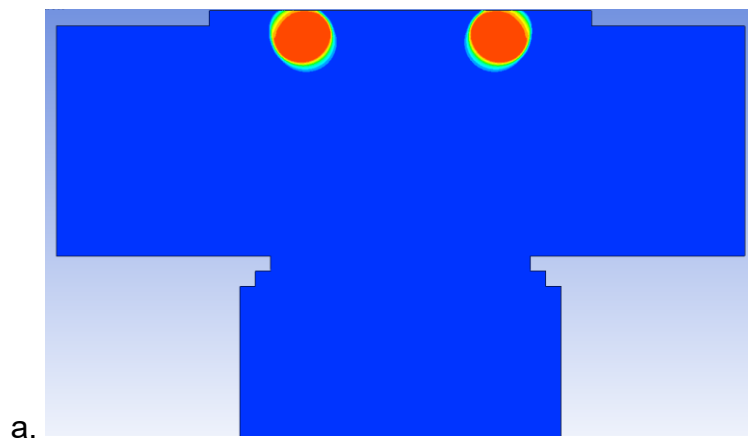
Figura 35. Corriente crítica en la entrada de las células rojas en la bifurcación del filtro.

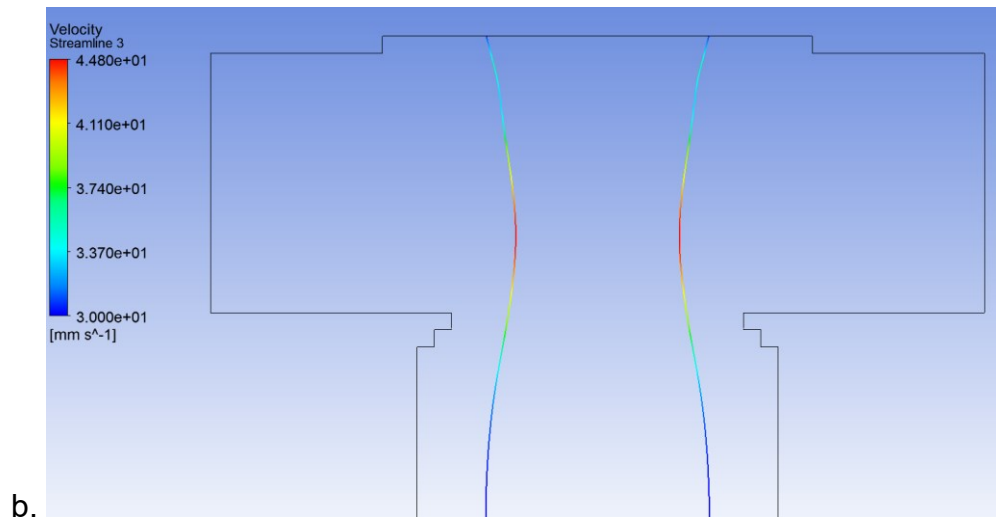




Para optimizar la pureza, se mejoró el diseño del dispositivo mediante la introducción de constricciones antes de la bifurcación ver figura 35. Se espera que las constricciones dirijan las células rojas que fluyen más cerca de las paredes laterales hacia el centro del canal junto con la corriente. Las constricciones se diseñaron de manera que las líneas de corriente críticas (Str) se ubicarán a una distancia menor o igual al ancho de la constricción, la figura 35 b. presenta el gráfico de la línea de corriente crítica $Str = 4\mu m$, en el microfiltro, se captura el comportamiento de esta en el momento de entrar la célula roja en la bifurcación ver figura 35.a,

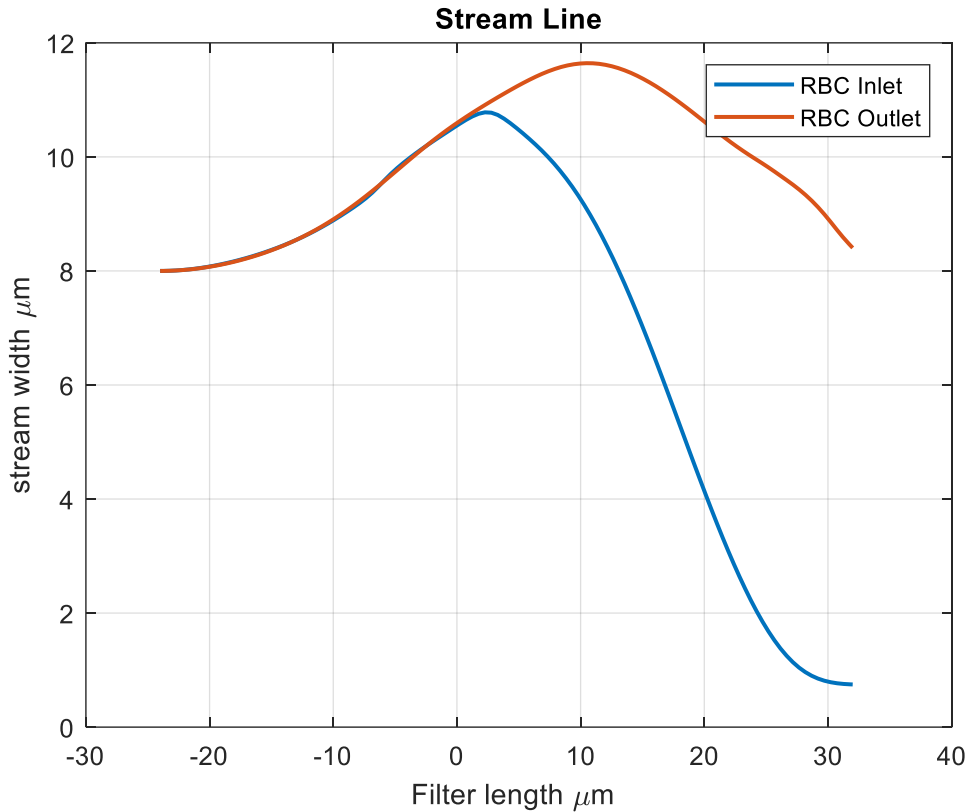
Figura 36. Corriente crítica en la salida de las células rojas en la bifurcación del filtro.





En la figura 36a. Se aprecia el salto de las células en la división del canal, logrando mantener en la corriente principal del canal y dirigiéndose a la salida dispuesta para células blancas y rojas (RBCs-WBCs), éste análisis realizado para la posición más cercana de la célula roja a la pared de la corriente o corriente crítica, el efecto que genera la constricción sobre la corriente es la compresión del flujo generando un incremento en el ancho de la corriente crítica como se aprecia en la figura, la rampa de la constricción expulsa en flujo hacia el centro del canal incrementando la distancia de la corriente crítica y contribuyendo a la formación de vórtices en la división de canal, el efecto produce un incremento en la velocidad pasando de $V_{inlet} = 0.03m/s$ incrementando hasta $V_{max} = 0.044m/s$, en la bifurcación, la velocidad en la salida del canal después de la división sufre una reducción esto debido al efecto de expansión del flujo, debido al incremento en el diámetro de salida del canal.

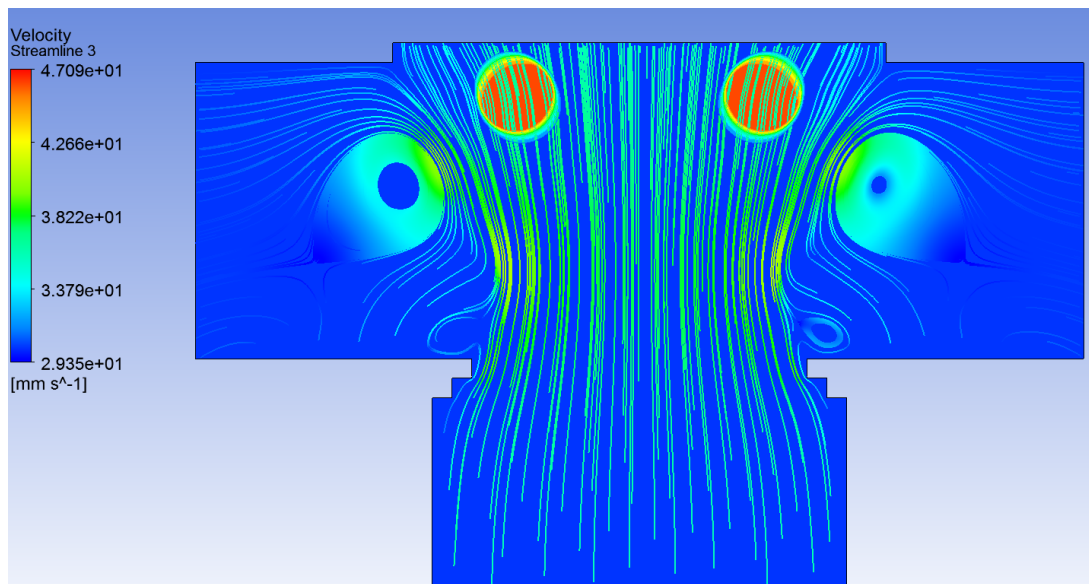
Figura 37. Corriente crítica en la entrada y salida de células rojas.



Se evaluó el comportamiento dinámico de una célula roja ubicada a ($Str = 4\mu m$) de la pared del filtro, la gráfica de la figura 37 muestra la longitud del microfiltro versus el desplazamiento lateral que sigue la célula roja, en la entrada de la bifurcación, el desplazamiento lateral de la corriente inicialmente se produce por la constricción que conduce el flujo hacia el centro del canal, seguido desplazando hacia el centro del filtro por la acción de los vórtices alcanzando el máximo desplazamiento lateral de ($Str = 12\mu m$) que es la máxima amplitud de la corriente crítica, la célula roja supera la bifurcación manteniéndose en la corriente principal hasta la salida (Outlet-RBC-WBC), la corriente crítica se desplaza desde ($Str = 4\mu m$) hasta ($Str = 9.17\mu m$) en la salida de la célula roja, la figura 38 presenta el efecto de la formación de vórtices en el canal principal durante el paso de las células rojas, en la entrada del canal recto la corriente es igual en toda ocasión hasta llegar a la constricción ampliando el ancho de la corriente crítica, en

la figura 37 la línea de la gráfica de color azul presenta la célula roja en la entrada, la línea de corriente se mantiene en el canal saltando cerca de la pared del canal, durante el cruce en la división, las velocidades del flujo se elevan propiciando la formación de vórtices ver figura 38, los vórtices incrementan el ancho de la corriente crítica hasta $Str = 9.17\mu m$ como se aprecia en la gráfica de la línea de corriente en la salida de la célula, la formación continua de vórtices durante el paso de células mantiene esta línea de corriente crítica alejada de la pared en la salida y alejando las células rojas de las salidas laterales.

Figura 38. Formación de vórtices laterales.

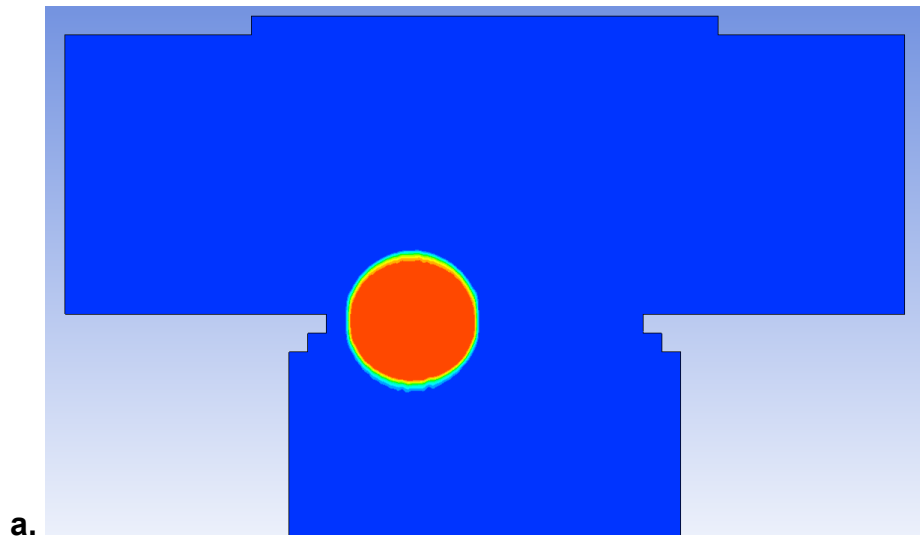


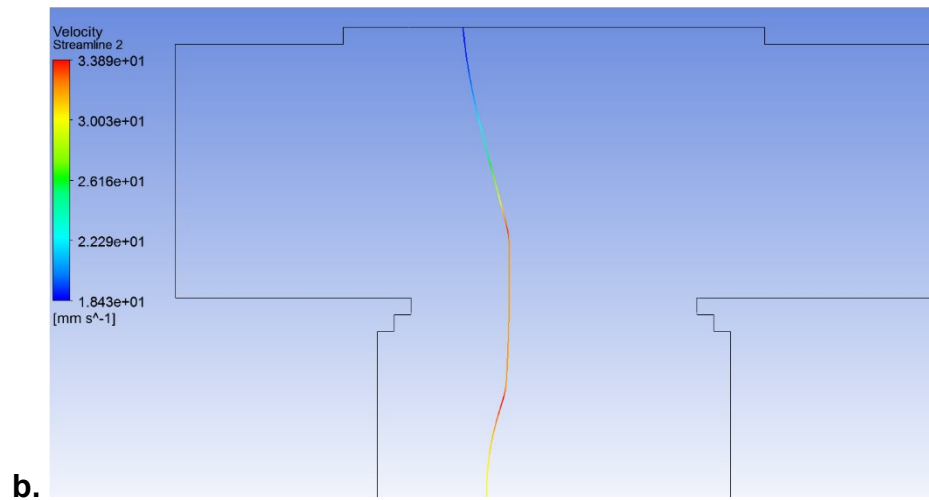
La figura 38 presenta la imagen gráfica de la formación de vórtices laterales, con el ingreso de la célula en la constricción también se genera un incremento en la velocidad del flujo, este incremento sumado a la formación de flujos en recirculación por la constricción genera la formación de vórtices, con el paso de la primera célula se generan vórtices que incrementan en tamaño con la energía de flujo, el incremento en tamaño presiona las líneas de corriente hacia el centro del flujo alejando las células de la bifurcación y conduciéndolas hacia la salida frontal, el proceso de formación de vórtices es continuo durante el paso de células rojas en el canal, los vórtices se generan en la entrada y se disipan en la pared de la salida posterior, el proceso de formación y disipación de vórtices se mantiene durante la circulación de los glóbulos rojos.

4.2.4. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CON CÉLULA BLANCA.

Tomando los estudios presentados en la literatura se selecciona una línea de corriente crítica de $Str = 6\mu m$, para la célula blanca (WBC), la mínima distancia de la pared a la cual se ha detectado esta célula en estudios de canales rectos, para el diseño evaluado el ancho de la constricción es de $C = 4\mu m$, en cada lado de la pared, esta longitud establecida permite el paso libre de la célula blanca (WBC), la cual no alcanza la pared del canal como se aprecia en la figura 39a. las células rojas son las células de mayor abundancia en el flujo sanguíneo siendo posible analizar las células blancas individualmente, ya que, para personas con niveles sanguíneos normales, puede existir una célula blanca por cada 400 células rojas. Las células blancas tienden a centrarse en el canal principal a altas velocidades de flujo y bajos niveles de hematocrito.

Figura 39. **a.** Entrada de célula blanca al filtro **b.** Corriente crítica.

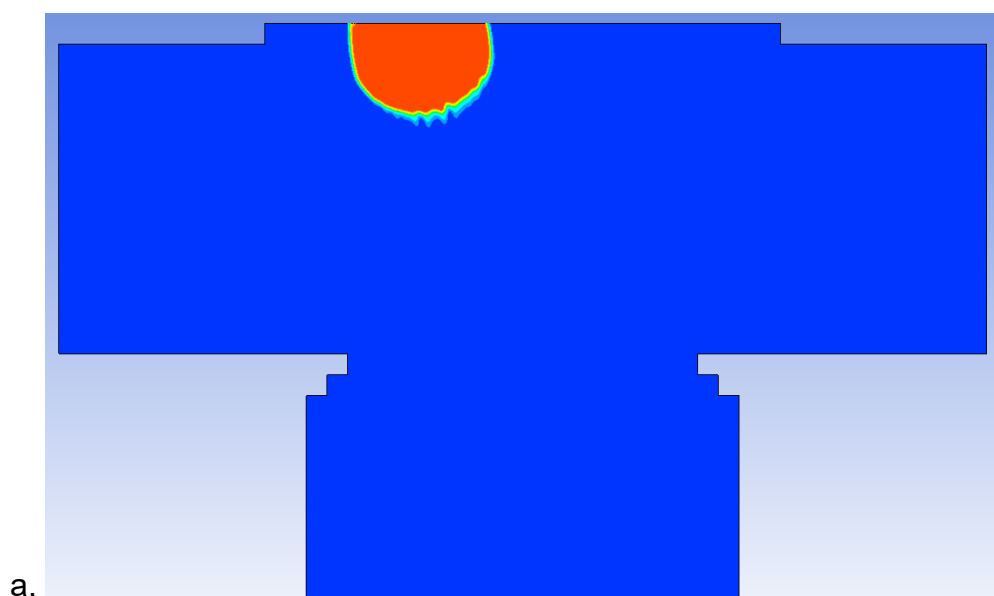


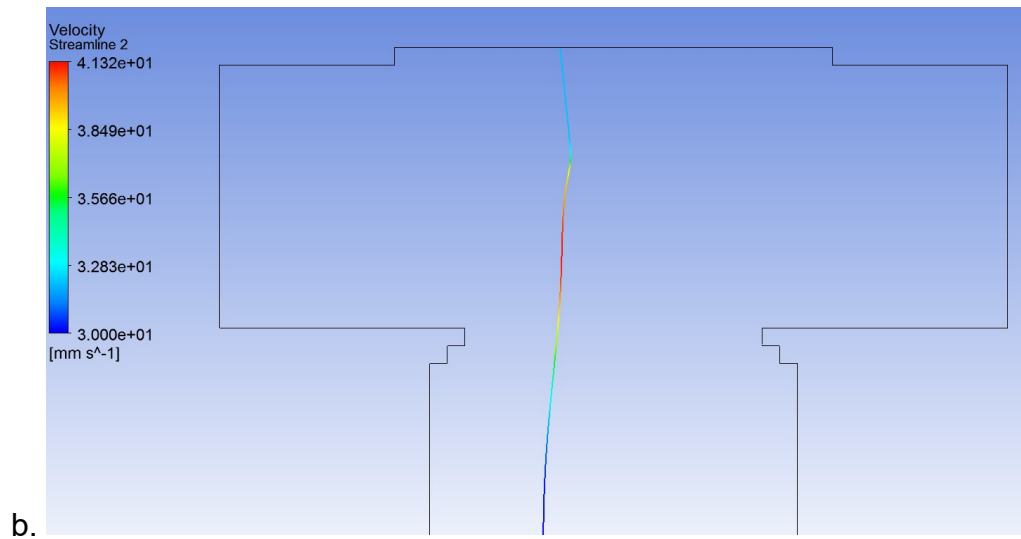


La distancia de la célula blanca de la pared es mayor al ancho de la constricción permite el paso libre de la célula (WBC), la línea de corriente presentada en la figura 39b. se aprecia el incremento en el ancho de la línea de corriente seguido la superación de la división, manteniéndose en el canal principal.

La entrada de la WBC en la bifurcación, en la constricción se aleja de la pared con la línea de corriente, seguidamente logra saltar por el efecto de los vórtices laterales hacia la salida dispuesta (WBC-RBC-outlet).

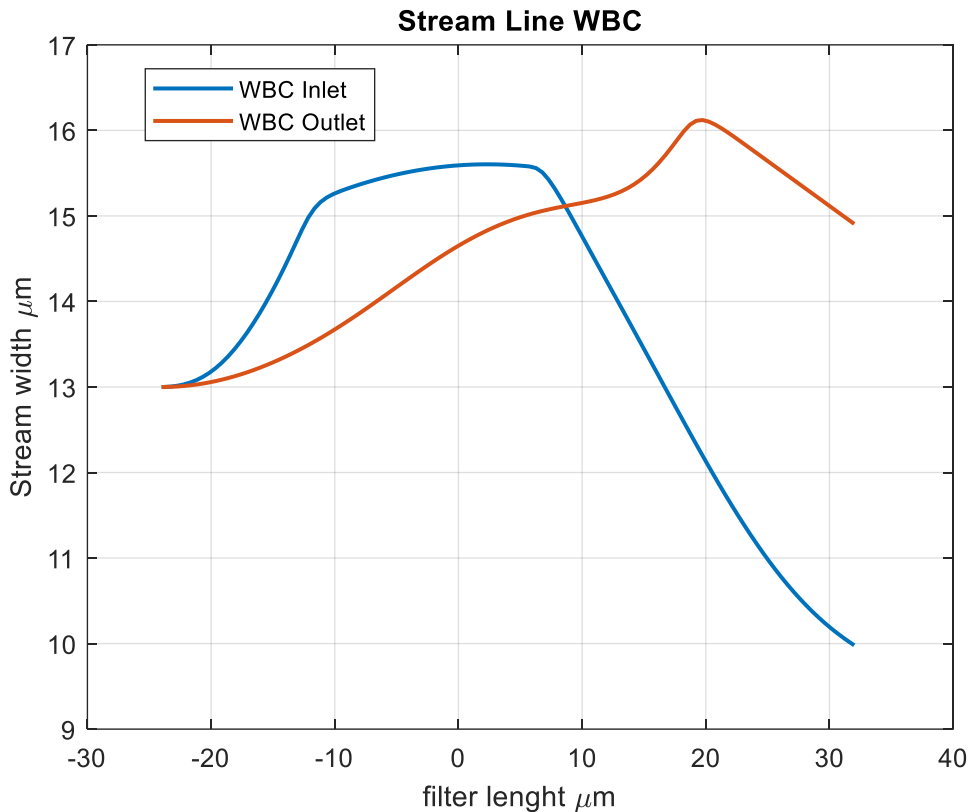
Figura 40. **a.** salida de célula blanca del filtro **b.** Corriente crítica.





El efecto de vórtice funciona de igual forma para las células blancas manteniéndolas en el flujo principal hasta la salida frontal dispuesta (WBC-RBC outlet), durante el paso de la célula de mayor tamaño en la obstrucción, genera en el canal un incremento en la velocidad pasando de $V_{inlet} = 0.03m/s$ hasta $V_{max} = 0.041m/s$, la constricción causa una compresión del fluido en el canal incrementando el ancho de la línea de corriente.

Figura 41. Corriente crítica entrada y salida de célula blanca.



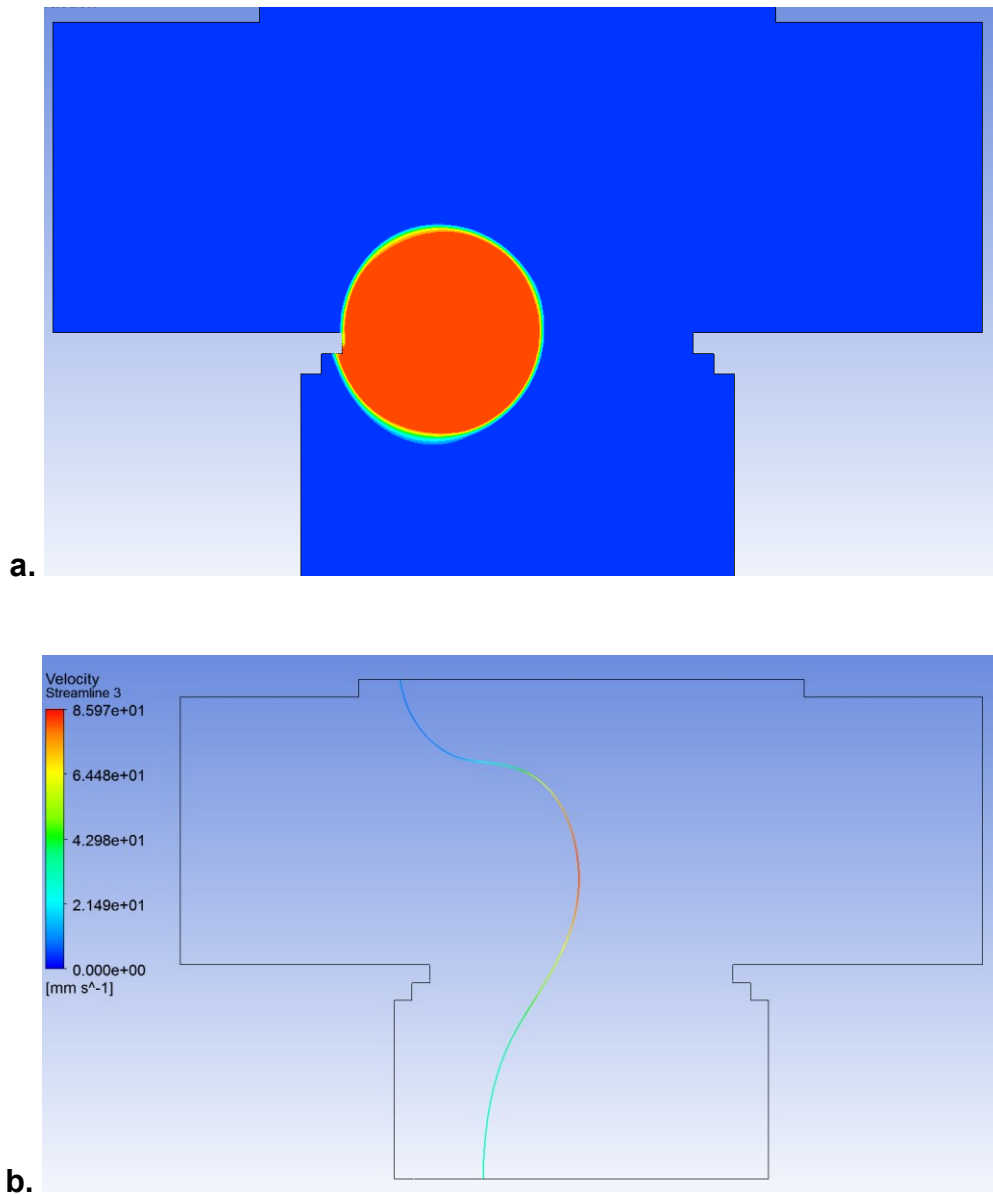
La célula blanca (WBC) se ubica a una distancia de la pared de ($str = 6\mu\text{m}$) simulando la distancia mínima registrada de la célula con la pared en canales rectos, la célula se mantiene en la corriente principal, logrando saltar la bifurcación alcanzando el extremo superior de salida de (RBC-WBC), la célula se desplaza hacia el centro del canal inicialmente por la constricción alcanzando una distancia máxima de la pared de ($Str = 16\mu\text{m}$) de desplazamiento generado por los vórtices laterales, en la salida de la corriente la célula se encuentra a una distancia de la pared ($Str = 15\mu\text{m}$) lo que garantiza el paso de la WBC hacia la (WBC-outlet), el tamaño de la célula blanca influye en el comportamiento de las corrientes, el tamaño genera obstrucción en paso del flujo incrementando la velocidad de salida en las paredes, la alta velocidad conduce a una mayor concentración del flujo hacia el centro del canal después de la constricción como se puede apreciar en la figura 41, línea de corriente de salida, para el canal diseñado, es

posible separar células blancas con una distancia de pared de $Str = 5\mu m$ garantizando el salto en la bifurcación, esta característica de la línea de corriente de moverse hacia el centro del canal evita la salida de las células blancas hacia las salida lateral, la anchura suficiente pequeña de la contracción permite el paso de la célula siendo menor a la distancia mínima registrada, el efecto del diseño del microfiltro sobre la corriente comprime el ancho del flujo reduciendo el ancho de salida en $Str = 5\mu m$ un fenómeno deseado para mantener la célula lejos de la pared en la salida.

4.2.5. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CÉLULAS CANCERÍGENAS

Se evalúa la entrada de la célula cancerígena (CTC) al microfiltro tal como se aprecia en la figura 42a y b, para el análisis individual de las células, la entrada en la bifurcación en posición cerca de la pared, las constricciones se ubican para redireccionar el desplazamiento de la CTC, la célula colisiona con la constricción a diferencia de las células blancas y rojas por la posición de entrada al filtro y la alta rigidez colisiona con la constricción provocando una desviación hacia las salidas laterales del canal. La línea de corriente principal muestra la célula cancerígena adhiriéndose a la pared durante el desplazamiento durante este proceso la corriente se desplaza en la dirección de la superficie celular libre. Con la obstrucción de la célula cancerígena de mayor tamaño se genera una mayor resistencia al paso del flujo causando con eso un incremento de la velocidad de $V_{inlet} = 0.03m/s$ hasta $V_{max} = 0.085m/s$.

Figura 42. a. Salida de célula blanca del filtro b. Corriente crítica.



La CTC por su alta rigidez presenta resistencia al flujo lo que genera desplazamiento lateral, al acercarse a la constricción colisiona con la pared produciendo el desplazamiento lateral hacia la salida dispuesta para las células cancerígenas (CTC-outlet) como se aprecia en la figura 43 a, en la figura 43 b, se presenta la línea de corriente con un incremento en ancho de la corriente respecto a la pared del canal, la superficie de

la célula actúa como pared desplazando la corriente sobre esta y dirigiéndola hacia el centro del canal, durante la salida por los canales laterales la CTC actúa como barrera reduciendo el tamaño del canal lateral e incrementando el ancho de la corriente crítica manteniendo el flujo principal en su trayecto original sin fuga hacia las salidas laterales.

Figura 43. a. Salida de célula cancerígena CTC del filtro b. Corriente crítica

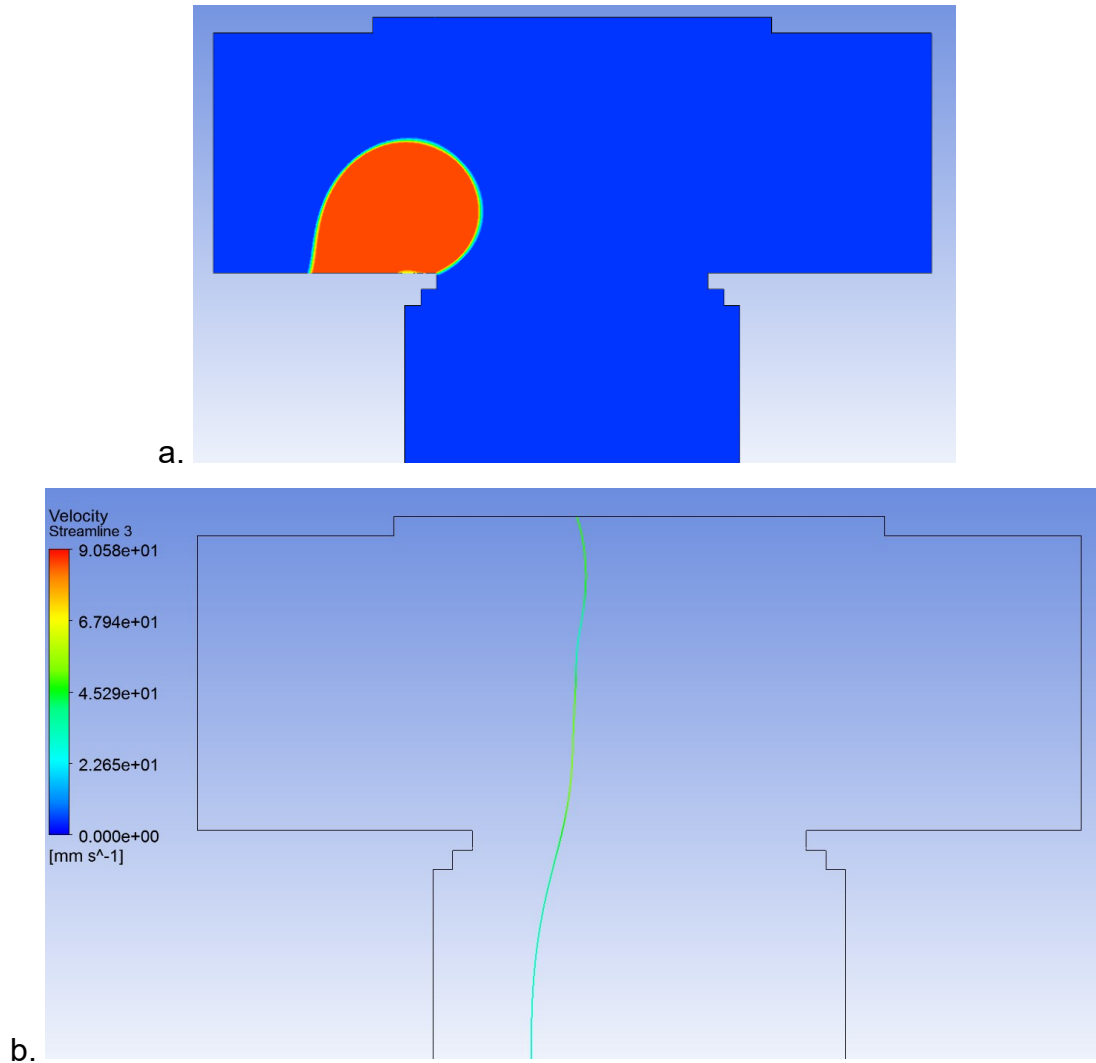
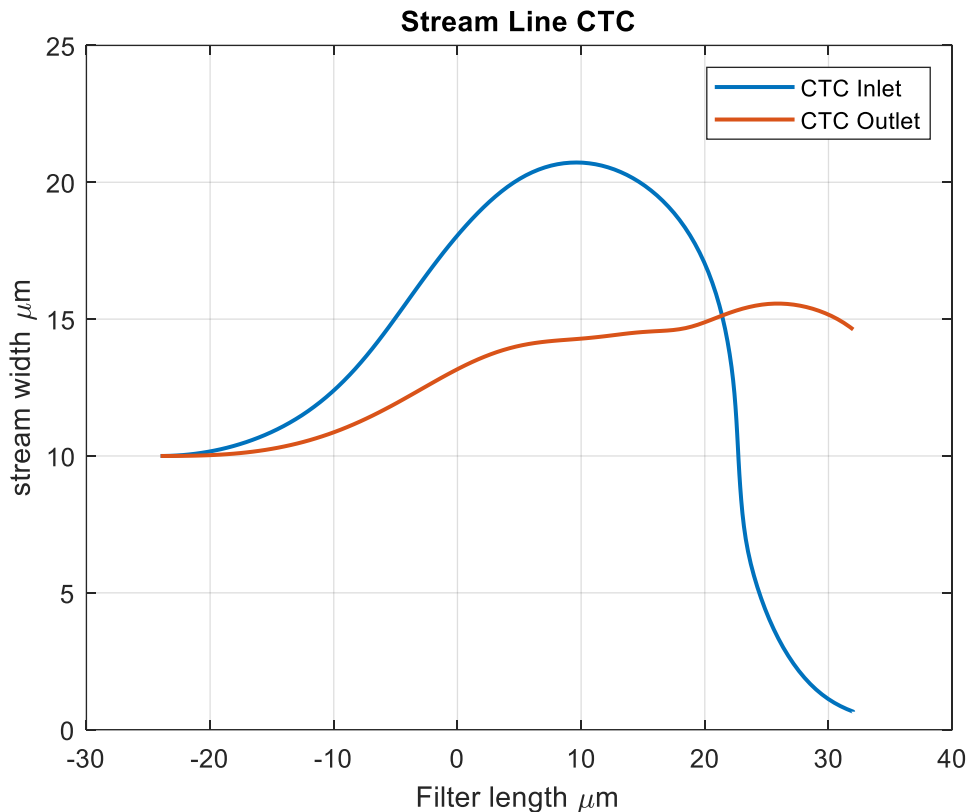


Figura 44. Corriente crítica en el paso de la CTC en el filtro.

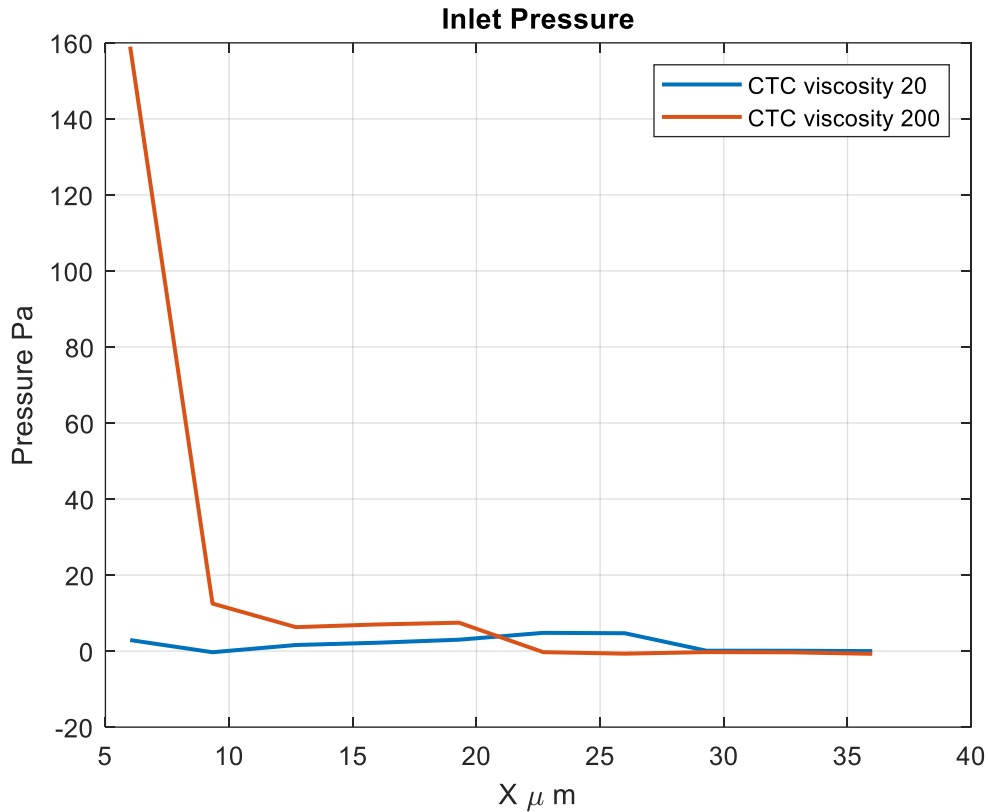


Se ubica la célula cancerígena cerca de la pared del canal en la salida del canal recto, la distancia mínima CTC de la célula a la pared del canal es de $Str = 2\mu\text{m}$, la célula se dirige hacia la constricción y colisiona con la pared del filtro, la gráfica de la figura 44 muestra el desplazamiento de la línea de corriente crítica $Str = 20.6\mu\text{m}$ desde la pared en la reducción, lo que indica que la corriente está circulando sobre la superficie celular, por la adhesión de la célula en la pared, esta adhesión se incrementa con el desplazamiento de la célula a través de la constricción y por la presión generada del flujo sobre la célula al alcanzar la salida de la constricción, seguido en la separación de la CTC del canal principal hacia la (CTC-outlet) la corriente toma una distancia de la pared de $Str = 16\mu\text{m}$,

lo que permite el paso de las células lejos de la bifurcación, en el momento de la salida de la célula cancerígena en la gráfica de la figura 44 se aprecia la reducción del ancho en la línea de corriente en la constricción por la corriente que se desplaza hacia la pared del canal la línea de corriente crítica para la célula cancerígena evaluada es de $Str = 10\mu m$ en la entrada del canal, se mantiene después del paso de la célula en $Str = 13.32\mu m$ en la constricción, el ancho de la corriente incrementa durante el salto en la división alcanzando un ancho máximo en la línea de corriente respecto a la pared $Str = 15,56\mu m$ en la salida frontal, este efecto mantiene el flujo principal lejos de las salidas laterales, fenómeno favorable que evita la contaminación durante la captura de células cancerígenas.

La figura 45 se presenta la presión sobre el eje horizontal durante el cruce la célula cancerígena CTC en la constricción ver figura 42 a, con el incremento de la viscosidad, la presión sobre la célula incrementa, como se aprecia en la gráfica para la CTC con viscosidad de $\mu = 200Pa.s$ la máxima presión registrada es de $P = 160Pa$ mayor respecto a la presión registrada sobre la célula de viscosidad $\mu = 20Pa.s$ la máxima presión sobre esta registrada es de $P = 4.7Pa$, el incremento de la presión sobre la célula en la pared del canal con incremento de la viscosidad conduce a una rápida evacuación hacia la salida lateral en la bifurcación, a mayor viscosidad mayor presión sobre la pared, para el dispositivo diseñado la longitud de la pared lateral en la salida de la contracción es de menor longitud para una evacuación de la células de mayor rigidez.

Figura 45. Presión sobre la célula CTC durante la entrada al filtro.



El microfiltro diseñado permite el paso de las células blancas y rojas (WBC, RBC) hacia la salida frontal, el ancho de la constricción $C = 4\mu m$ es menor a la corriente crítica determinada para la célula blanca $Str = 6\mu m$ y las células rojas en bajo hematocrito de operación $H=2-4\%$ se mantienen centradas en el canal en una banda lejos de la pared del canal, este bajo nivel de hematocrito genera el desplazamiento de la célula CTC hacia la pared, como se aprecia en la figura 46, la CTC, en la pared la velocidad $V_{ctc} = 0m/s$, mientras que la velocidad en la superficie celular cercana al centro del canal $V_{ctc} = 0.025m/s$ la diferencia de velocidades en la pared y el extremo cerca al canal central causa el desplazamiento lateral al final de la constricción.

El tamaño de la célula es suficientemente grande para causar una reducción en el canal, de esta forma el paso de la célula causa una reducción del flujo, incrementando la velocidad de éste, alcanzando velocidades de $V = 0.0947m/s$ para la célula evaluada

con viscosidad $\mu = 200 Pa \cdot s$ mientras que para la célula de menor viscosidad $\mu = 20 Pa \cdot s$ la velocidad pico en el canal es menor $V = 0.054 m/s$, la célula roja evaluada en la corriente crítica $Str = 4 \mu m$ mantiene la dirección de la corriente principal con una velocidad de $V_{RBC} = 0.04 m/s$ en la constricción, para la célula blanca la velocidad se mantiene igual que la velocidad de entrada $V_{WBC} = 0.03 m/s$, superando la bifurcación.

Figura 46. Perfil de velocidades de las células (CTC, WBC RBC) en la constricción.

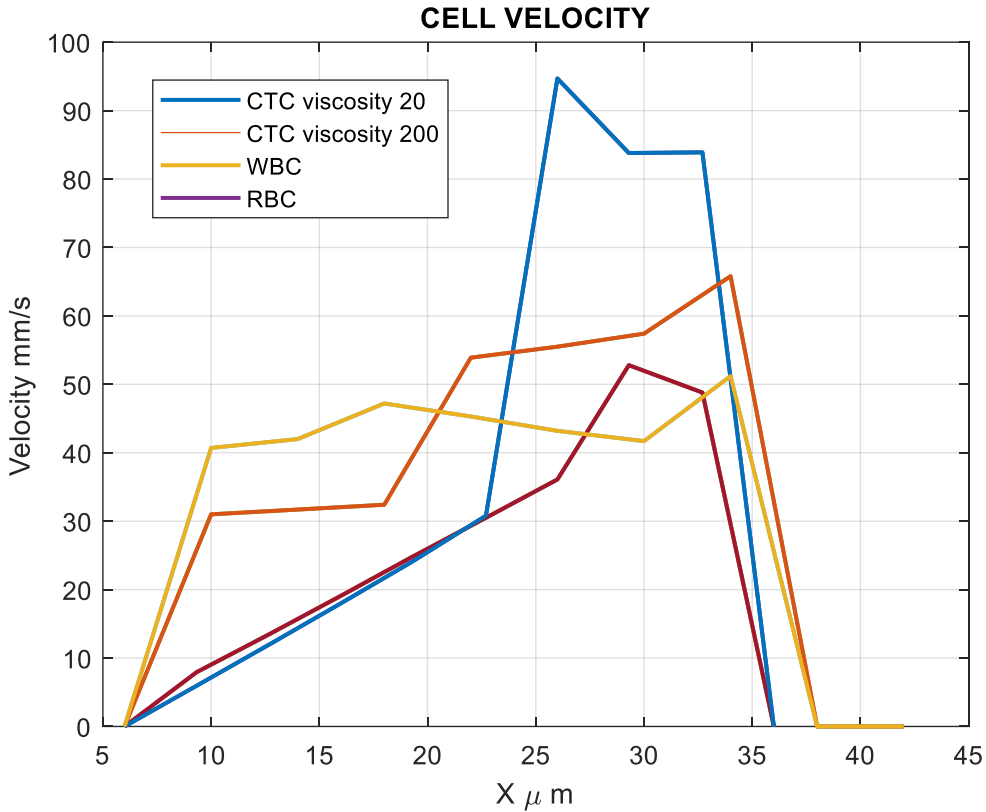
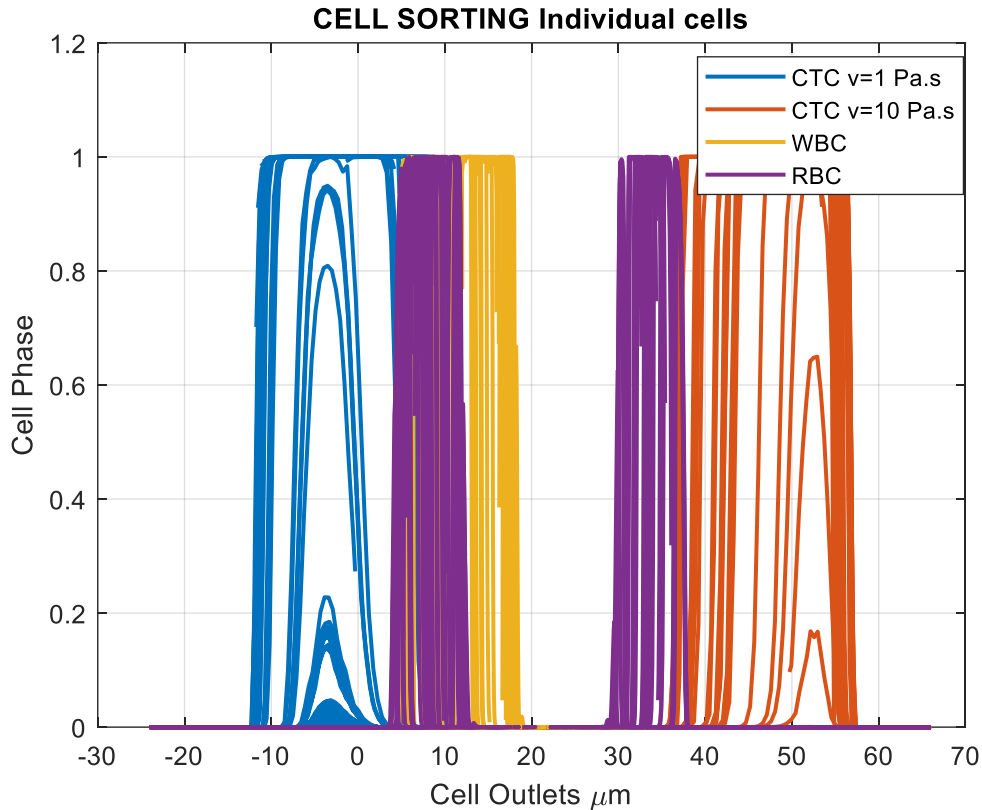


Figura 47. Clasificación celular



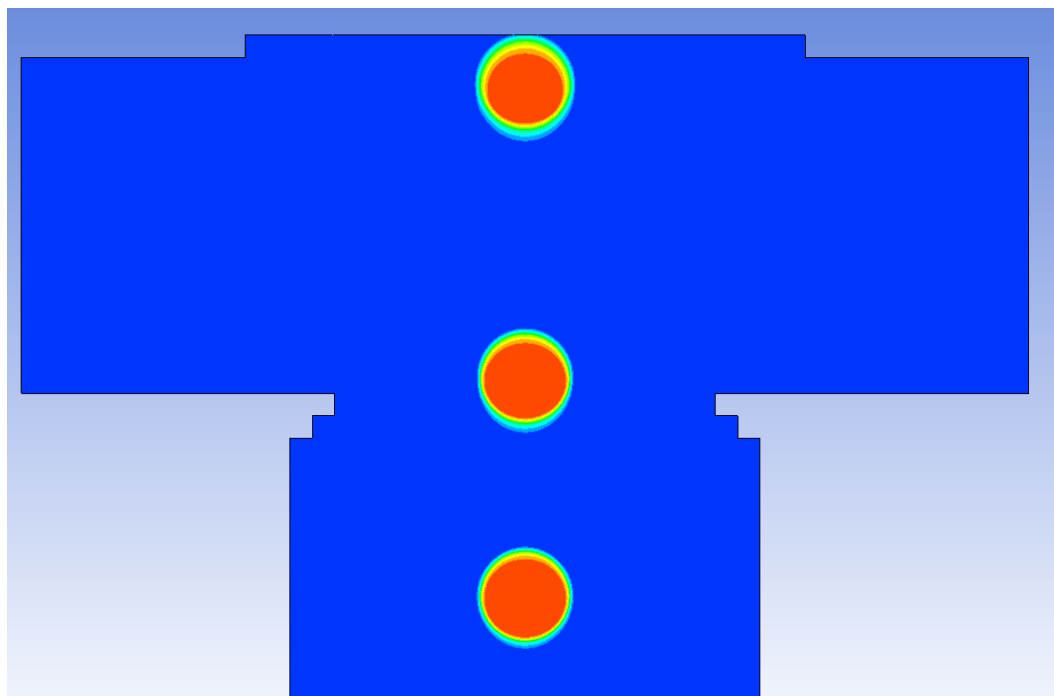
En las simulaciones realizadas para las células (CTC), (WBC), (RBC) y los grupos de células (CTC $\mu = 10 \text{ Pa}\cdot\text{s} + \text{RBC}$), (WBC + RBC), (CTC $\mu = 1 \text{ Pa}\cdot\text{s} + \text{RBC}$), se mide la fase discreta en cada salida (CTC-outlet), (RBC-WBC-outlet), los resultados se aprecian en la gráfica de la figura 47, el dispositivo microfiltro realiza la clasificación de CTC satisfactoriamente ubicando las células cancerígenas en la posición salida lateral salida de (CTC-outlet) y registrando las WBC y RBC en la longitud posición de salida (RBC-WBC outlet), se aprecia el desplazamiento de las células cancerígenas hacia las salidas laterales, mientras que las células blancas y rojas mantiene su posición en el canal principal siendo afectadas por la constricción y los efectos de la formación de vórtices, se evaluaron grupos de células conformadas por (CTC y RBCs) las células rojas logran mantener un trayecto recto en el canal durante la evacuación de la célula cancerígena gracias a la obstrucción que ejerce la CTC sobre el canal, incrementan las velocidades

lo que conduce a una rápida evacuación de células rojas y a la formación de vórtices, para los grupos de células blancas y rojas, las células WBC y RBCs mantienen la dirección recta en el canal saltando la bifurcación dirigiéndose hacia la salida (CTC-RBC outlet)

4.2.6. ANÁLISIS DE LA CORRIENTE CRÍTICA CÉLULAS ROJAS HEMATOCRITO 2-4%

Se realiza simulación de flujo sanguíneo con hematocrito entre (2-4%) y banda de células rojas centradas en el canal, la figura 48, representa las células rojas pasando por la bifurcación, se simulan células rojas con diámetro de $D = 8\mu m$, en una banda centrada en el canal para el hematocrito de operación, las células rojas mantiene la posición central establecida en la bifurcación, el salto de todas las células de un extremo hacia la salida del filtro manteniendo la corriente principal muestra que en el bajo hematocrito simulado el proceso de filtración garantiza una alta pureza de separación, al mantenerse los glóbulos alejados de la pared y las salidas de las células cancerígenas CTC.

Figura 48. Simulación de células rojas en microfiltro con Hematocrito Ht=2-4%



En el análisis de corriente presentado en la figura 49, la velocidad de entrada de suministro es de $V_{inlet} = 0.03m/s$, lo que también representa para el volumen de entrada un caudal de entrada de $Q=0.0025ml/min$, la máxima velocidad de flujo presentada es de $V_{max} = 0.051m/s$, en la bifurcación, en la velocidad evaluada se generan los vórtices laterales tal como se aprecia en la figura, los vórtices se generan cuando la célula alcanza la entrada de la cámara, debido a la posición central de la célula, las velocidades de corriente cerca de la pared se incrementan, desde $V_{p1} = 0.0129m/s$ cerca de la pared en el canal recto hasta una velocidad en la constricción cerca de la pared de $V_{p2} = 0.038m/s$ como se aprecia en la escala de velocidades de la figura 49-a. La diferencia de velocidades de corrientes en la entrada a la bifurcación cerca a la pared de la rampa de constricción conduce a la formación de vórtices, se generan entre la pared lateral de entrada de la bifurcación y la salida de la rampa, el paso continuo de células rojas mantiene constante la alta velocidad cerca de la pared contribuyendo a formación continua de vórtices, estos se generan y se desplazan hacia el extremo de la pared superior de la bifurcación, en la medida que circulan las células rojas en el centro, los vórtices ganan energía y crecen incrementando en tamaño, seguido se desplazan hasta el otro extremo de la bifurcación hasta colisionar con la pared lateral en la salida, ver figura 49-b, los vórtices pierden energía al colisionar con la pared, y continuamente se renuevan en la entrada manteniendo el ciclo de formación durante todo el proceso de filtración de la muestra sanguínea.

Figura 49. a. Formación de vórtices y corriente con Hematocrito Ht=2-4%, b. Generación continua de vórtices.

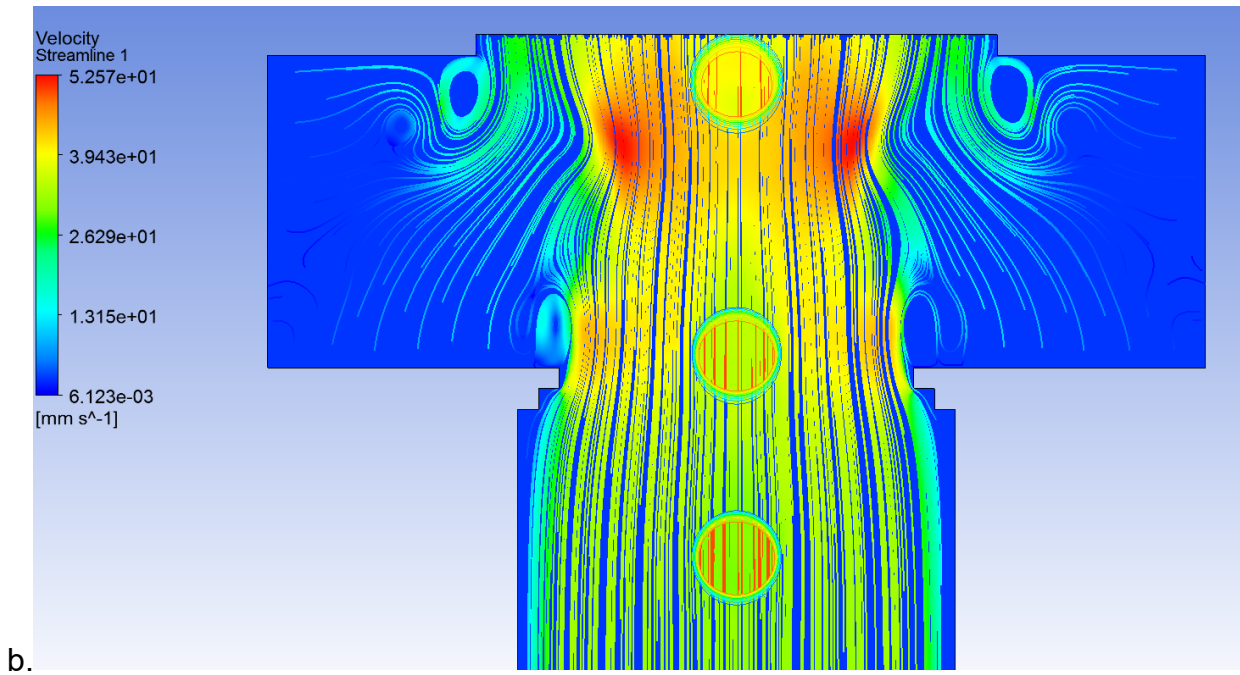
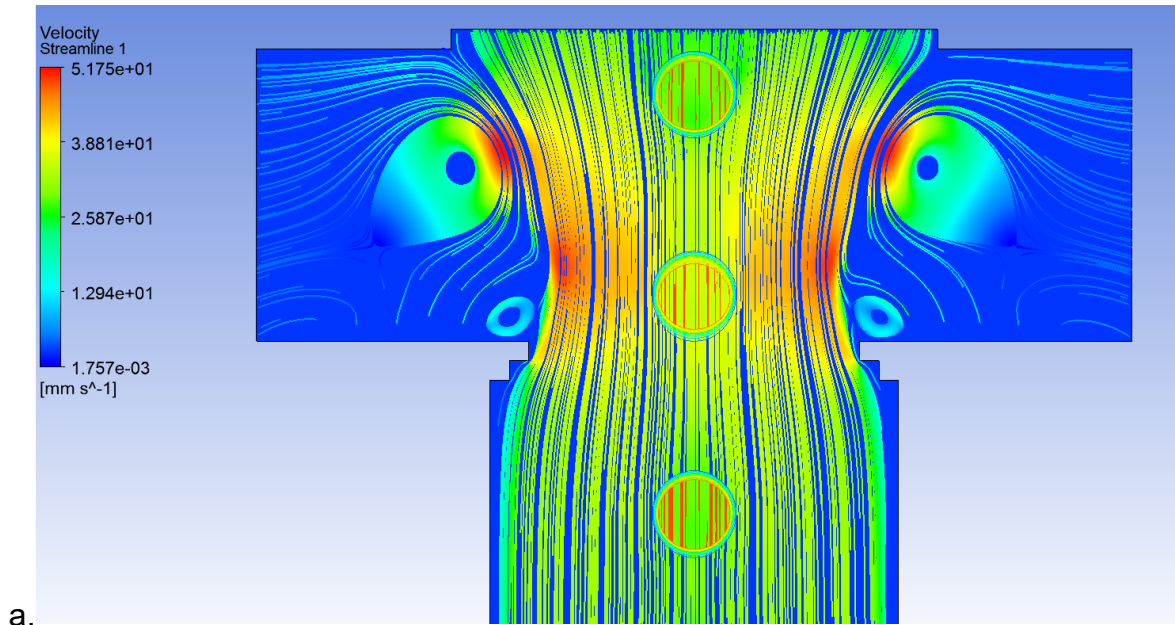
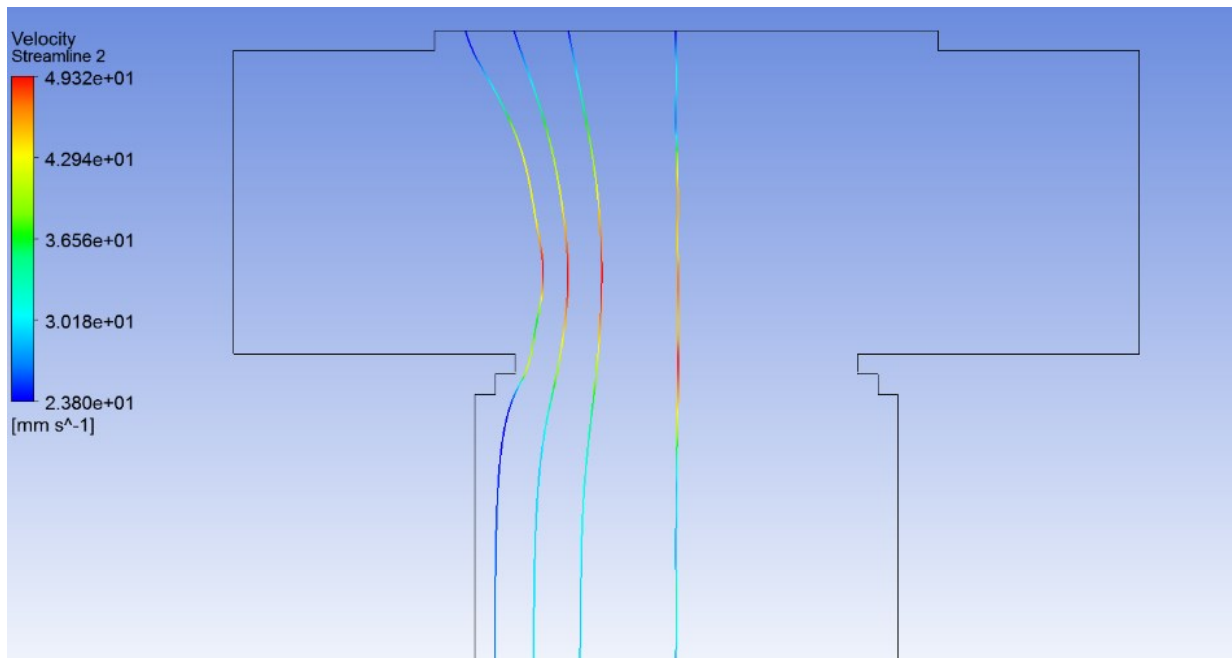


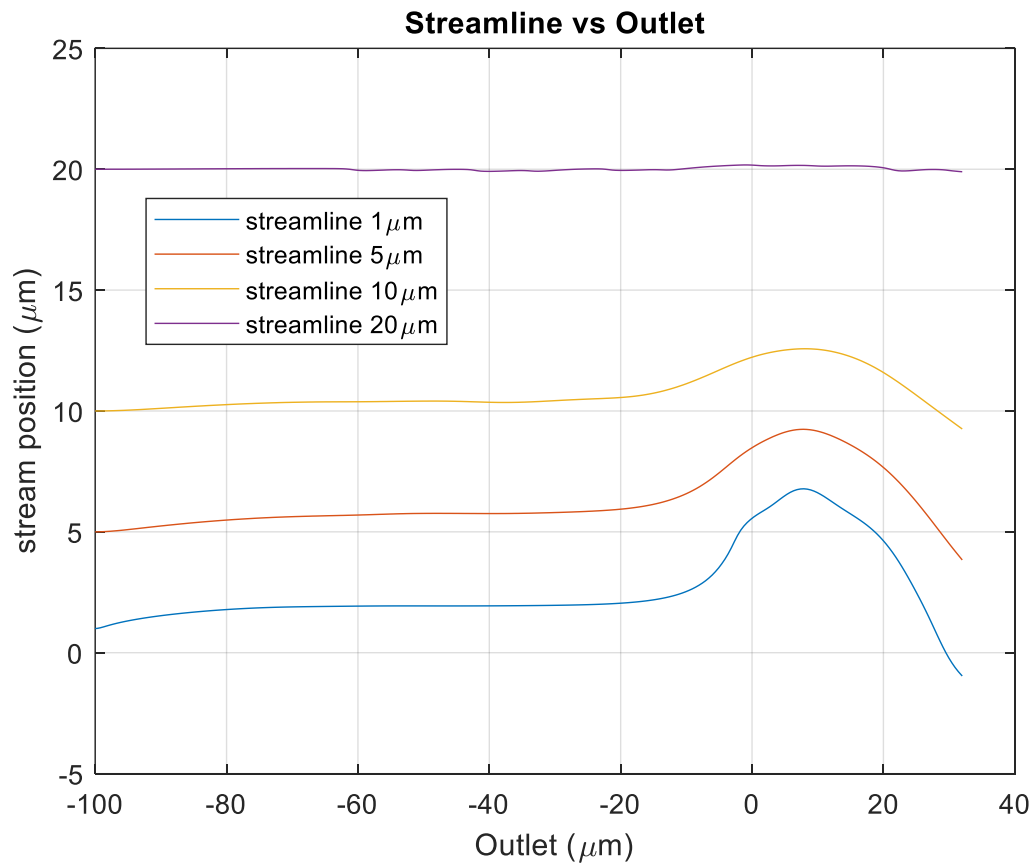
Figura 50. Análisis de corrientes en canal principal.



En la figura 50 se presenta un análisis de las corrientes del fluido principal en diferentes posiciones, $Str_1 = 1\mu m$, $Str_2 = 5\mu m$, $Str_3 = 10\mu m$, $Str_4 = 20\mu m$, la primera posición representa la distancia más cercana a la pared del canal, en la figura se aprecia que la corriente en la bifurcación presenta una curvatura hacia el centro del canal esta deformación en la corriente es generada por el efecto de la constricción la cual proyecta la corriente hacia el centro del canal, seguido a la bifurcación la corriente mantiene la curvatura y ésta se mantiene en el fluido principal no desplazándose hacia la salida lateral por la formación de vórtices que mantienen la corriente Str_1 en el canal principal, en la medida que se posiciona la corriente hacia el centro del canal las posiciones Str_2 , Str_3 la corriente se estabiliza hasta alcanzar una dirección recta en el canal principal Str_4 . La figura 51 presenta en forma gráfica el comportamiento de las líneas de corriente en cada posición, la formación de vórtices y la constricción comprimen el flujo de tal forma que la corriente $Str_1 = 1\mu m$ de distancia de la pared desplaza aproximadamente $\Delta Str = 5\mu m$ hacia el centro del canal, la compresión de $\Delta Str = 10\mu m$ en el flujo principal causa un incremento en la velocidad en la bifurcación pasando de $V_{inlet} = 0.03m/s$ hasta

$V_{streamline} = 0.04932m/s$, el incremento en la velocidad conduce a la formación constante de vórtices durante el paso de las células rojas evitando el paso de glóbulos hacia los laterales y manteniendo la pureza de filtración con las células rojas lejos de la pared, las líneas de corriente de $Str_2 = 5\mu m$, $Str_3 = 10\mu m$ se desplazan hacia el centro del canal en $\Delta Str = 5\mu m$ y $\Delta Str = 3\mu m$ respectivamente mientras que la línea de corriente central se mantiene sin perturbación alguna por la bifurcación, para el hematocrito de operación las células rojas que se encuentran en la línea de corriente central, conservan la dirección de esta corriente garantizando el tránsito hacia la salida (RBC-outlet).

Figura 51. Variación de la posición de las corrientes del canal y bifurcación.

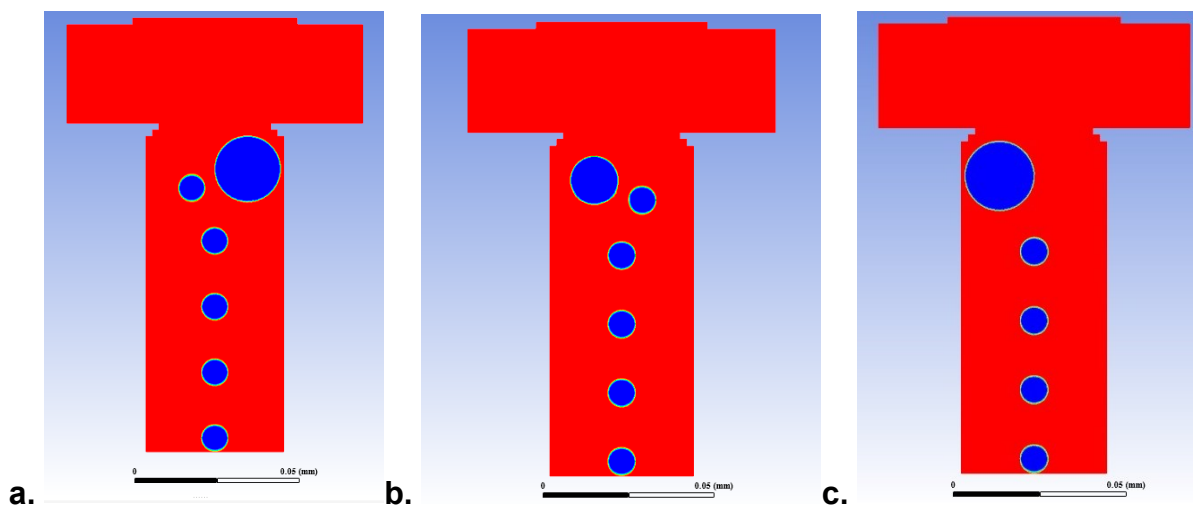


4.2.7. SIMULACIÓN DE CÉLULAS CANCERÍGENAS, CÉLULAS BLANCAS Y ROJAS EN HEMATOCRITO 2-4%

En la figura 52 se simulan la entrada de las células en la bifurcación del microfiltro, las células cancerígenas en bajo hematocrito entran en posición cercana a la pared mientras que las células rojas se posicionan en una banda central, se simulan la célula cancerígena en diferentes viscosidades $\mu = 10 Pa.s$, $\mu = 20 Pa.s$ ver figura 52 a-c, la célula blanca figura 52 b, se modela de acuerdo un fluido no-Newtoniano, (Power-law) en un grupo de células rojas que representan el bajo hematocrito en el canal y el efecto de migración hacia el centro baja para canales de diámetro ($D=40-30\mu m$), la célula blanca se posiciona dentro del grupo de células rojas a una distancia de la pared $Str = 6\mu m$ distancia mínima.

La velocidad de entrada se especifica en $v_{inlet} = 0.03m/s$ lo que representa un caudal de procesamiento de la muestra de $0.0024ml/min$, los diámetros para las células CTC se establecen en $D_{cell} = 14\mu m$, $D_{cell} = 20\mu m$, diámetros estándar de CTC, para la célula blanca WBC un tamaño de $D_{cell} = 14\mu m$. Tamaño estándar reportados para neutrófilo, las células rojas RBC se establecen con tamaño de $D_{cell} = 8\mu m$ en diámetro.

Figura 52. Simulación en hematocrito 2 – 4% de a.) células cancerígenas $\mu = 20 Pa.s$, b.) célula blanca, c.) célula cancerígena $\mu = 10 Pa.s$.



Las salidas para cada tipo de célula (CTCs, WBC, RBCs) fueron registradas y graficadas como se aprecia en la figura, se grafica la fase celular en la posición de la salida de cada célula en el microfiltro, para capturar la fase celular, se implementa un análisis de corrientes, con un número de 250 líneas de corriente se registra la fase en cada salida, la gráfica está compuesta por líneas que representan la corriente que en conjunto capturan la posición de la célula.

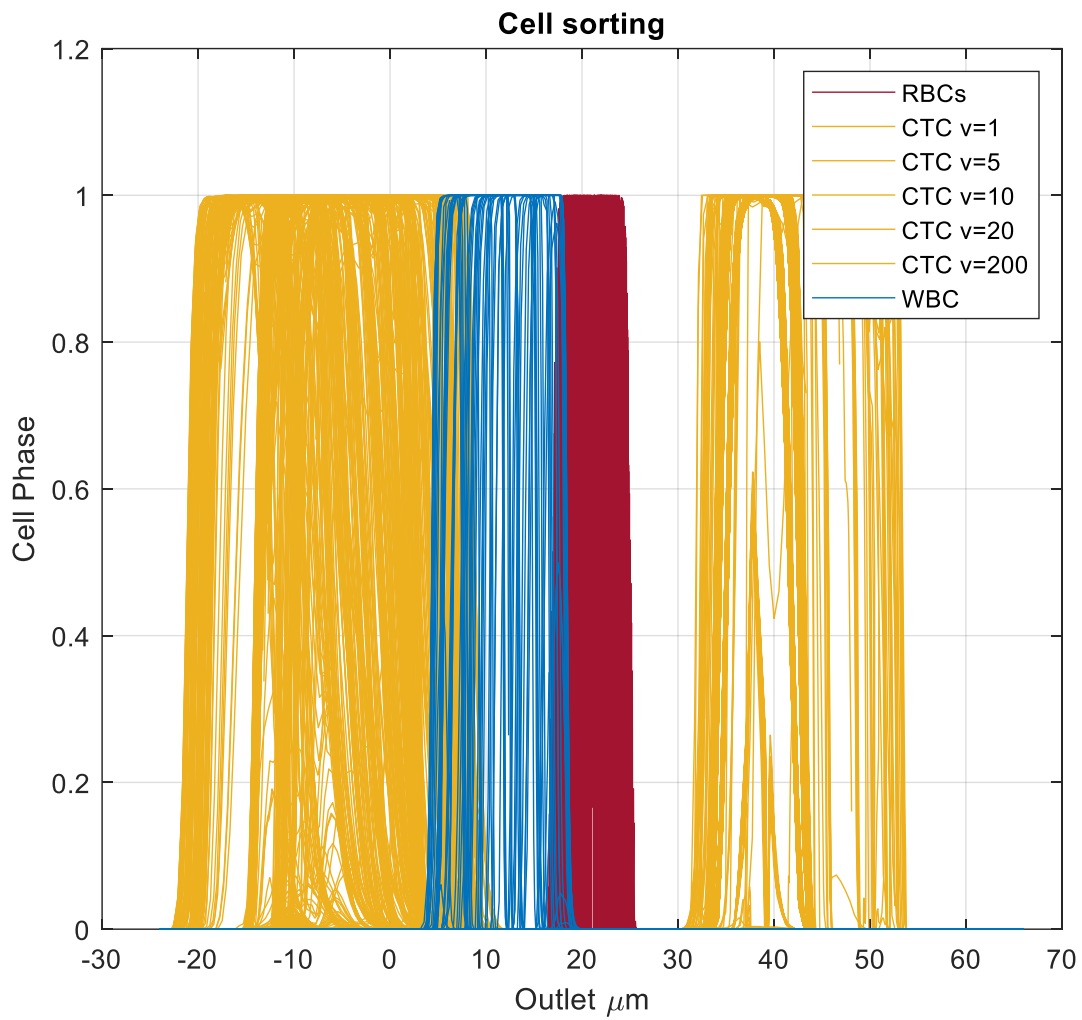
Las células rojas (RBCs) en bajo hematocrito permanecen en la corriente centrada en el flujo principal del canal, los glóbulos rojos se mantienen en el centro, las líneas de fase registradas en rojo representan las células, el comportamiento de estos glóbulos en hematocrito $Ht = (2-4\%)$ proporciona óptimas condiciones para una filtración con alta pureza de la muestra.

Para la célula tumoral circulante CTCs, la captura en la salida se da en la bifurcación, se evaluaron células con viscosidades $\mu = 1Pa.s, \mu = 5Pa.s, \mu = 10Pa.s, \mu = 20Pa.s, \mu = 200 Pa.s$, la gráfica presenta el registro, la fase de las células está marcada por las líneas de corriente de color naranja, por las condiciones del canal las células entran a la bifurcación en posición cerca de la pared del canal, la constricción obstruye el paso de estas y desvía su dirección hacia los laterales, en la gráfica se muestra que todas las células cerca de la pared evaluadas son capturadas en la salida laterales lo que demuestra la alta eficiencia de captura del dispositivo, el bajo porcentaje de hematocrito y el tamaño de canal mucho mayor al tamaño de las células propician el desplazamiento de las células cancerígenas hacia la pared garantizando con esto la captura en la bifurcación.

Para la figura 53 las líneas de fase de célula (WBC) blanca cruzan entre líneas de fase de células cancerígenas, esto es principalmente por el tamaño de la salida frontal, el diámetro de salida es de $D_{Outlet} = 50\mu m$, las líneas de fase se interceptan ya que la salida es $\Delta D_{out} = 8\mu m$ mayor, por lo tanto la célula blanca no muestra una salida lateral, en cambio presenta el salto de la bifurcación y el desplazamiento hacia la salida frontal adicional el desplazamiento hacia la pared del canal en la salida. Las células cancerígenas se desplazan a los laterales, la longitud de la pared lateral en la entrada al filtro es menor a la pared lateral en la salida esto evita la detención de las células en las

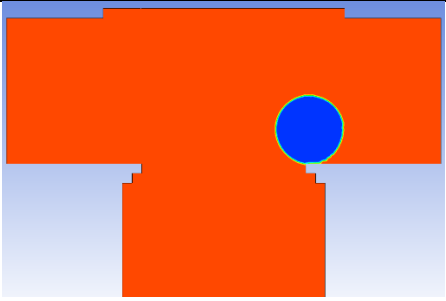
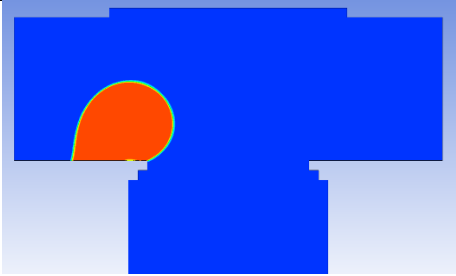
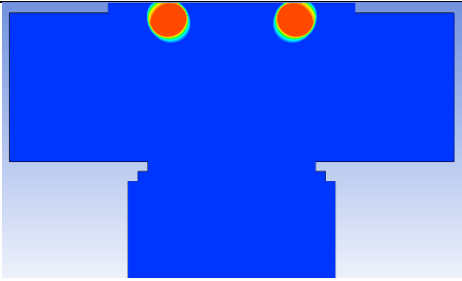
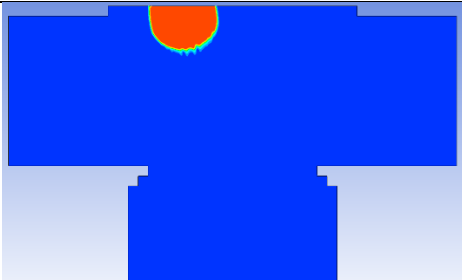
paredes, la célula cancerígena recorre menor distancia lateral para salir del filtro respecto a la célula blanca la cual migra hacia la pared posterior del canal con mayor desplazamiento lateral que se representa como la intersección de las fases.

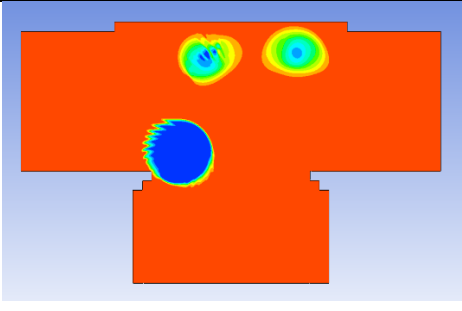
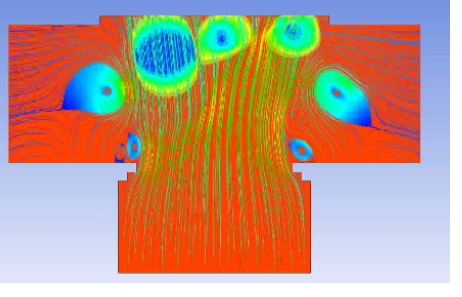
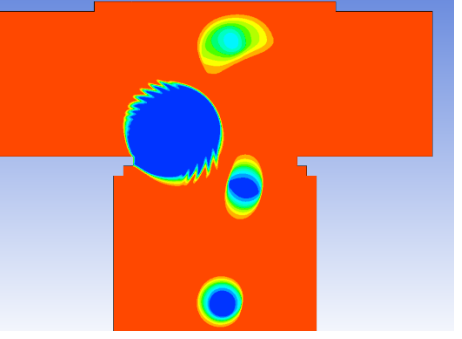
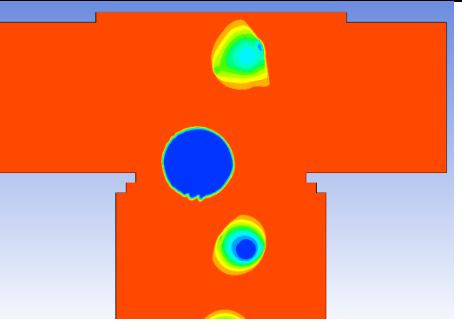
Figura 53. Clasificación de las células (CTC, WBC, RBC) en el microfiltro.



4.2.8. EFICIENCIA Y PUREZA DE CAPTURA DEL DISPOSITIVO

Tabla 9. Simulación microfiltro.

Simulation	WBC-RBC outlet	CTC Outlet	Simulations
Single CTC v=200pa.s	0	1	
Single CTC v=20pa.s	0	1	
RBC critical stream	2	0	
Single WBC	1	0	

CTC + 2 RBC	2	0	
WBC + 2 RBC	3	0	
CTC+Ht 2-4%	4	1	
WBC+Ht2-4%	5	0	

La tabla 9 presenta las simulaciones, se evaluaron células individuales de CTC con viscosidad 20 Pa.s y 200 Pa.s célula blanca y célula roja, adicional se simularon grupos de células RBC+CTC y WBC + RBC los resultados de filtración se aprecian en la tabla 9 cada célula es filtrada en la salida dispuesta.

Tabla 10. Eficiencia y pureza del microfiltro.

Porcentaje de Aislamiento		
Partícula	Eficiencia	Pureza
CTC	>90%	>90%

En la primera fase de bifurcación, se capturan células cancerígenas (CTCs) con diámetros entre $14 - 20\mu m$ y viscosidad entre $(20 - 200Pa \cdot s)$ con una eficiencia de captura >90%, el método de vortex mantiene la pureza de la muestra separada al mantener las WBC y RBC en la corriente principal generando una pureza de la muestra >90%. siendo las células blancas y células rojas desplazadas hacia la salida situada al final del canal.

La tabla 11 presenta la comparación con otros diseños de dispositivos microfiltros basados en vórtices e hidrodinámica.

Tabla 11. Comparación de resultados con otros dispositivos.

Porcentaje de Aislamiento		
Dispositivo	Eficiencia	Referencia
Microfilter	>90%	
Vortex microfluidic technology	1.8 % - 75%	(Renier, C. 2017)
spiral technology microfilter	99%	(González. Daniel. 2019)

La eficiencia alcanzada puede ser comparada con otros dispositivos que implementan vórtices para la separación, el dispositivo diseñado tiene la capacidad de filtrar con mayor eficiencia y pureza, el método de filtración con vórtices y constricción incrementa la capacidad de captura y la eficiencia mientras que el análisis de corriente crítica mantiene la pureza de la muestra. Se compara el dispositivo con otros diseños realizados como la tecnología de espirales para la clasificación de células, la ventaja del microfiltro diseñado

es la capacidad de captura de células de tamaño similar a una célula blanca, pero con mayor rigidez algo que la tecnología de espirales no logra realizar.

5. CONCLUSIONES

La caracterización celular para la célula blanca muestra la baja resistencia a la deformación y la capacidad para mantenerse en la corriente principal del fluido siendo afectada por el arrastre, el método (Power-law) refleja el comportamiento real de una célula blanca la cual presenta viscosidades menores a la viscosidad nominal de 130Pa.s y alta tasa de deformación en altas velocidades de corte.

Las células cancerígenas se tomaron como fluido Newtonianas al ser de alta viscosidad y alta rigidez, al incrementar la viscosidad incrementaba proporcionalmente la presión crítica reflejando con esto que a mayor viscosidad la presión crítica se da mayormente por la presión viscosa en la célula.

El dispositivo microfiltro diseñado se llevó a cabo mediante el estudio análisis dinámico del fluido y los diferentes tipos de células sanguíneas (RBC, WBC) y células tumorales circulantes (CTC), el análisis de la corriente crítica, se determinó la velocidad de flujo y las dimensiones en la bifurcación diámetro del canal y tamaño de constricción requeridos para mantener las células blancas, rojas dentro del canal principal y desplazar las células CTC hacia las salidas laterales en la bifurcación.

El modelo de simulación bidimensional (2D) presentó resultados favorables en el análisis de corriente crítica y filtración de la (CTC) en el hematocrito de operación, logrando verificar la capacidad del modelo (droplet) de representar las distintas células sanguíneas en la corriente crítica establecida y el paso de éstas a través del filtro. Los dispositivos de microfiltración de células sanguíneas y cancerígenas generalmente son de una alta relación de aspecto en el cual la anchura es mucho mayor a la altura del canal por lo tanto el modelo bidimensional se puede representar como un modelo acorde.

En la bifurcación, las células cancerígenas evaluadas con diámetros entre ($D=14-20\mu\text{m}$) y viscosidades establecida entre ($\mu =20-200\text{Pa}\cdot\text{s}$) son separadas del fluido principal con eficiencia mayor al $>90\%$, la constricción aprovecha la difusión de las células rígidas y de mayor tamaño logrando diferenciar las células cancerígenas de tamaño similar a las células blancas pero con mayor rigidez al igual que las células CTC con tamaño mayor usando la constricción como obstáculo para generar el desplazamiento de la célula CTC hacia la salida lateral.

Los vórtices generados en los laterales mantienen la pureza de la muestra separada evitando el desplazamiento lateral de las RBC y WBC y siguiendo la corriente principal generando pureza mayor al $>90\%$.

Finalmente dada las limitaciones del modelo multifase (VOF) con el método (droplets), las limitaciones en capturar el comportamiento del arrastre sobre cada tipo de célula impidieron realizar el seguimiento completo desde el suministro de células al canal recto, y seguido el ordenamiento de las células en el canal por las fuerzas de arrastre, la posterior entrada al filtro y la separación de las (CTCs), en cambio para el diseño se estableció el análisis de corriente crítica tomando la posición de cada célula en la entrada al filtro y hematocrito de operación (2-4%) como banda de células rojas centrada en el canal según la referencia literaria, finalmente se concluye que este proyecto realiza una simulación conceptual del dispositivo microfiltro propuesto con alta eficiente de captura y separación celular.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda implementar nuevos métodos de simulación para el dispositivo propuesto que tengan en cuenta los efectos de deformación de la membrana celular debido al arrastre y los fenómenos de migración y difusión para las células rojas, blancas y cancerígenas para lograr una simulación más detallada del proceso de filtración.

Se recomienda la continuación del proyecto en la etapa de construcción y la realización de experimentos que determine la eficiencia experimental del dispositivo comparada con la eficiencia de los estudios de las simulaciones.

BIBLIOGRAFÍA

ACTOR, Jeffrey K. Cells and Organs of the Immune. Elsevier's Integrated Review Immunology and Microbiology - Elsevier eBook on VitalSource (Retail Access Card), 2nd Edition. 2012. ISBN: 9781455755790.

AGARWAL, Ashutosh et al. Circulating Tumor Cells: Strategies for Capture, Analyses, and Propagation. Cancer journal (Sudbury, Mass.). Mar 1 2019 vol. 24,2 (2018): 70-77. doi:10.1097/PPO.0000000000000310.

AGHAAMOO, Mohammad et al. Deformability-based circulating tumor cell separation with conical-shaped microfilters: Concept, optimization, and design criteria. Biomicrofluidics Jun 3 2015. vol. 9,3 034106. doi:10.1063/1.4922081.

AHMAD, Sohrabi, Kashani.; MUTHUKUMARAN, Packirisamy. Cellular deformation characterization of human breast cancer cells under hydrodynamic forces[J]. AIMS Biophysics, June 12 2017, 4(3): 400-414. doi: 10.3934/biophy.2017.3.400.

AKBARI, M. et al. Viscous flow in variable cross-section microchannels of arbitrary shapes. April 11 2011. Vol. 54(17-18), 3970–3978. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2011.04.028.

BAHRAMI, Majid; YOVANOVICH, M. Michael and CULHAM, J. Richard A novel solution for pressure drop in singly connected microchannels of arbitrary cross-section. July 2007. 50(13-14), 2492–2502. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2006.12.019.

BOUDOU, Thomas et al. An extended modeling of the micropipette aspiration experiment for the characterization of the Young's modulus and Poisson's ratio of adherent thin biological samples: numerical and experimental studies. Journal of biomechanics. 2006.

BOUDOU, Thomas et al. An extended modeling of the micropipette aspiration experiment for the characterization of the Young's modulus and Poisson's ratio of adherent thin biological samples: numerical and experimental studies. *Journal of biomechanics*. Jun .

DONG, Cheng.; ZAHIR, Nastaran y KONSTANTOPOULOS, Konstantinos. [Advances in Experimental Medicine and Biology] *Biomechanics in Oncology*. 2018. Volume 1092 || 10.1007/978-3-319-95294-9(), -. doi:10.1007/978-3-319-95294-9.

ETIENNE, Gibaud. Numerical simulation of red blood cells flowing in a blood analyzer. *Hematology*. Université Montpellier, 2015. English. NNT: 2015MONT135. tel-01981003.

EVANS, E.; YEUNG, A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophysical Journal*. 1989. Vol. 56(1)151–160. doi:10.1016/s0006-3495(89)82660-8.

FÅHRÆUS, Robin.; LINDQVIST, Torsten. THE VISCOSITY OF THE BLOOD IN NARROW CAPILLARY TUBES. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1931. Vol. 96(3), 562–568. doi:10.1152/ajplegacy.1931.96.3.562.

FISCHER, Elisabeth et al. Quantification of surface tension and internal pressure generated by single mitotic cells. *Sci Rep*. Aug 5 2014. vol 4, 6213. <https://doi.org/10.1038/srep06213>.

FUNG, Yuan-Cheng. *Biomechanics-Mechanical properties of living tissues-Second edition*. Springer Science+Business Media New York. 1993. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2257-4>.

GEISLINGER, Thomas M et al. Hydrodynamic and label-free sorting of circulating tumor cells from whole blood. *Applied Physics Letters*. November 20 2015 vol. 107(20), 203702–. doi:10.1063/1.4935563.

GENETICLAB CO. Circulating Tumor Cells. Retrieved from Circulating Tumor. [Web Site]. United States. [DATE]. May 2021. [available]: <http://www.ctc-lab.info/english/ctc1/aboutctc.html>.

GUGLIETTA, Fabio et al. On the effects of membrane viscosity on transient red blood cell dynamics. *Soft Matter*. 30 May 2020. Vol. 10.1039.D0SM00587H-. doi:10.1039/D0SM00587H.

Guo, Quan and McFaul, Sarah M. and Ma, Hongshen. Deterministic microfluidic ratchet based on the deformation of individual cells. *Physical Review E*. February 5 2011. vol 83(5), 051910-. doi:10.1103/PhysRevE.83.051910.

HAROUAKA, Ramdane.; NISIC, Merisa. y ZHENG, Si-Yang. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties. *Journal of laboratory automation*. Jul 5 2013. vol. 18,6: 455-68. doi:10.1177/2211068213494391.

HASHEM, Mohammad Abul.; CHEN, Xiaolin y TAN, Hua. An adaptive mesh refinement-based simulation for pressure-deformability analysis of a circulating tumor cell. March 4 2019. vol Proc. SPIE 10875, Microfluidics, BioMEMS, and Medical Microsystems XVII, 1087.

HIRT, C.W.; NICHOLS, B.D). Volume of fluid (VOF) method for the dynamics of free boundaries. November 1 1981 39(1), 201–225. doi:10.1016/0021-9991(81)90145-5.

HOCHMUTH, R M. Micropipette aspiration of living cells. *Journal of biomechanics*. Jan 2000 vol. 33,1: 15-22. doi:10.1016/s0021-9290(99)00175-x.

HOCHMUTH, Robert M. Measuring the Mechanical Properties of Individual Human Blood Cells. *Journal of Biomechanical Engineering*. November 1993. 115(4B), 515-. doi:10.1115/1.2895533.

HOU, Jian-Mei et al. Circulating tumor cells, enumeration and beyond. *Cancers* Jun 9 2010. vol. 2,2 1236-50, doi:10.3390/cancers2021236.

ISS, Cécile et al. Self-organization of red blood cell suspensions under confined 2D flows. *Soft Matter*. Mar 2019. 10.1039/C8SM02571A–.doi:10.1039/c8sm02571a. .

JAFARI, A et al. Numerical investigation of blood flow. Part II: In capillaries. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulations*. 2009. vol. 14, no. 4, pp. 1396–1402, 2009. doi:10.1016/j.cnsns.2008.04.007.

KATANOV, D. Computer simulations of soft particles in flow ». der Universität zu Köln. 2016.

KING, Michael R et al. A physical sciences network characterization of circulating tumor cell aggregate transport. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2015. vol. 308,10. C792-802. doi:10.1152/ajpcell.00346.2014.

KING, William et al. Role of White Blood Cells in Blood- and Bone Marrow-Based Autologous Therapies. *BioMed research international*. Jul 10 2018 vol. 2018 6510842. doi:10.1155/2018/6510842.

KOZMINSKY, Molly.; WANG, Yang y NAGRATH, Sunitha. The incorporation of microfluidics into circulating tumor cell isolation for clinical applications. *Curr Opin Chem Eng*. Feb 2016. Vol 11:59-66. doi: 10.1016/j.coche.2016.01.005. .

KUHN, Viktoria et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. May 1 2017. *Antioxidants & redox signaling* vol. 26,13 (2017): 718-742. doi:10.1089/ars.2016.6954.

LEONG, F.Y et al. Modeling cell entry into a micro-channel. *Biomech Model Mechanobiol*. November 8 2010. Vol: 10, 755–766. <https://doi.org/10.1007/s10237-010-0271-1>.

LEONG, Stanley.; WILLIAM, Tseng. Micrometastatic cancer cells in lymph nodes, bone marrow, and blood: Clinical significance and biologic implications. *CA: a cancer journal for clinicians*. May-Jun 2014, vol 64(3):195-206. doi: 10.3322/caac.21217.

MAHESWARAN, Shyamala.; DANIEL, Haber. Circulating tumor cells: a window into cancer biology and metastasis. *Current opinion in genetics & development*. Feb 2010. Vol 20(1):96-9. doi:10.1016/j.gde.2009.12.002.

MARIA, M Sneha et al. Development of a microfluidic device for cell concentration and blood cell-plasma separation. *Biomedical microdevices*. December 2015. vol. 17,6: 115. doi:10.1007/s10544-015-0017-z.

MEYSKENS, F L Jr et al. Quantitation of the number of cells within tumor colonies in semisolid medium and their growth as oblate spheroids. *Cancer research*. Jan 1984. vol. 44,1: 271-7. PMID: 6690038.

NOBIS, U et al. Radial distribution of white cells during blood flow in small tubes. *Microvascular research*. May 1985. vol. 29,3: 295-304. doi:10.1016/0026-2862(85)90020-2.

OMORI, T et al. Tension of red blood cell membrane in simple shear flow. *Physical Review*. November 29 2012. E, 86(5), 056321–. doi:10.1103/PhysRevE.86.056321.

PAULITSCHKE, M.; NASH, G.B. Micropipette Methods for Analysing Blood Cell Rheology and Their Application to Clinical Research. *Journal: Clinical Hemorheology and Microcirculation*. Jan 1 1993 vol: 407 – 434. Doi: 10.3233/CH-1993-13401.

PLAKS, Vicki et al. Circulating Tumor Cells. *Science*. 13 Sep 2013. vol 341(6151), 1186–1188. doi:10.1126/science.1235226.

PREETHA, A et al. Interfacial properties as biophysical markers of cervical cancer. *Biomedicine & pharmacotherapy=Biomedecine & pharmacotherapie*. Oct 2005. vol. 59,9: 491-7. doi:10.1016/j.biopha.2005.02.005.

RHA, Chokyun. Theories and Principles of Viscosity. In: Rha, C. (eds) *Theory, Determination and Control of Physical Properties of Food Materials*. Series in Food

Material Science. 1975. vol 1. Springer, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-010-1731-2>.

RODAK, Bernadette.; CARR, Jacqueline. Clinical Hematology Atlas 4th Editio. - Elsevier eBook on VitalSource. 2013. ISBN: 9781455708314.

SAJEESH, P.; DOBLE, M and SEN, A. K. Hydrodynamic resistance and mobility of deformable objects in microfluidic channels. *Biomicrofluidics*. 2014. vol 8(5), 054112-. doi:10.1063/1.4897332.

SIDDHARTHA, Tripathi et al. Performance study of microfluidic devices for blood plasma separation—a designer's perspective. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. July 22 2015. Vol. 25 084004.

TAKEISHI et al, Naoki. Flow of a circulating tumor cell and red blood cells in microvessels. *Physical Review*. 2015 vol, 92(6), 063011. doi:10.1103/PhysRevE.92.063011.

TRIPATHI, Siddhartha et al. Blood plasma separation in elevated dimension T-shaped microchannel. *Biomedical microdevices*. Jun 2013. vol. 15,3: 415-25. doi:10.1007/s10544-013-9738-z.

TSAI, M A et al. Passive mechanical behavior of human neutrophils: power-law fluid. *Biophysical journal*. November 1993. vol. 65,5 (): 2078-88. doi:10.1016/S0006-3495(93)81238-4.

VERSTEEG H. K.; MALALASEKERA. W. The finite volume method - An Introduction to Computational Fluid Dynamics -Second Edition. Pearson Education Limited. 2007.

VONA, G et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *The American journal of pathology*. Jan 2000. vol. 156,1. 57-63. doi:10.1016/S0002-9440(10)64706-.

WANG, K et al. "Characterization of cytoplasmic viscosity of hundreds of single tumour cells based on micropipette aspiration." Royal Society open science. Mar. 2019. vol. 6,3 181707. 20, doi:10.1098/rsos.181707.

WU, Tong et al. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells in Pharmacotherapy: Challenges and Perspectives. Molecular pharmacology. Sep 2017, vol 92(3):232-239. doi: 10.1124/mol.116.108142.

XIAO, L L et al. Effects of flowing RBCs on adhesion of a circulating tumor cell in microvessels. Biomechanics and modeling in mechanobiology. Oct 2016. vol. 16,2: 597-610. doi:10.1007/s10237-016-0839-5.

ZHANG, X et al. On passing a non-Newtonian circulating tumor cell (CTC) through a deformation-based microfluidic. Theoretical and Computational Fluid Dynamics. December 2018 vol. 32, no. 6, pp. 753–764. doi:10.1007/s00162-018-0475-z.

ZHOU, Qi et al. Spatiotemporal Dynamics of Dilute Red Blood Cell Suspensions in Low-Inertia Microchannel Flow. May 2020. Biophysical journal vol. 118,10: 2561-2573. doi:10.1016/j.bpj.2020.03.019.

ANEXOS

Anexo A. CODIGOS MATLAB

```
% WBC White blood cell- Grafica viscosidad=130 Pa.s
clear, clc
W=load('WBC_viscosity_130.mat') % Datos presión vs tiempo
                                % Pc= Critic Pressure

% table2array funcion que convierte de matriz de datos a números

Pcrwbc=table2array(W.WBCsurface2(:,5))

twbc=table2array(W.WBCsurface2(:,4))

figure(1)
Pcwbc=plot(twbc,Pcrwbc)          % Generación de gráfica
xlabel('time \mus' )            % Titulo eje x
ylabel('Pressure MPa' )        % Título eje y
grid on
title('viscosity 130 Pa.s')     % Tirulo de la gráfica
set(Pcwbc,'LineWidth', 1.5)
axis([0 600 -5 35])
%-----

% CTC circulating tumor cell - Grafica viscosidad 0.01 Pa.s
clear, clc
N=load('viscosity0_01_matlab.mat') % Datos viscosidad
                                % Pc= Critic Pressure

% table2array funcion que convierte de matriz de datos a números
Pcn00=table2array(N.rbc0(:,4))
```

```

t00=table2array(N.rbc0(:,3))

figure(1)
PcN00=plot(t00,Pcn00)           % Generación de gráfica
xlabel('time \mus' )           % Titulo del eje x
ylabel('Pressure KPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 0.01 Pa.s')   % Titulo gráfica
set(PcN00,'LineWidth', 1.5)
axis([0 600 -5 17])
[a,b]=max(Pcn00)
T1=t00(b)
%-----

% CTC circulating tumor cell- Grafica viscosidad 0.02 Pa.s
clear, clc
N=load('viscosity0_02_matlab.mat') % Datos presión vs tiempo
                                   % Pc= Critic Pressure

% table2array funcion que convierte de matriz de datos a números
Pcn=table2array(N.rbc0(:,6))

t1=table2array(N.rbc0(:,3))

figure(1)
PcN1=plot(t1,Pcn)               % Gráfica
xlabel('time \mus' )           % Titulo eje x
ylabel('Pressure KPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 0.02 Pa.s')   % Titulo gráfica

```

```

set(PcN1,'LineWidth', 1.5)
[a,b]=max(Pcn)
T1=t1(b)
%-----

% CTC circulating tumor cell - Grafica viscosidad 0.03 Pa.s
J=load('viscosity0_03_matlab.mat') % Datos presión vs tiempo
clear, clc

                                % Pc= Critic Pressure
% table2array funcion que convierte de matriz de datos a números
Pcj=table2array(J.RBC0(:,6))

t=table2array(J.RBC0(:,3))

figure(2)
Pcj1=plot(t,Pcj)                % Gráfica
xlabel('time \mus' )           % Titulo eje x
ylabel('Pressure KPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 0.03 Pa.s')   % Titulo gráfica
set(Pcj1,'LineWidth', 1.5)
[a,b]=max(Pcj)
T1=t(b)
%-----

% CTC circulating tumor cell- Grafica viscosidad 0.04 Pa.s
clear, clc
H=load('viscosity0_04_matlab.mat') % Datos presión y tiempo
                                % Pc= Critic Pressure
% table2array funcion que convierte de matriz de datos a números

```

```
Pc=table2array(H.RBC0(:,7))
```

```
t=table2array(H.RBC0(:,5))
```

```
Pc1=plot(t,Pc) % Generación de gráfica
```

```
xlabel('time \mus' ) % Título eje x
```

```
ylabel('Pressure KPa' ) % Título eje y
```

```
grid on
```

```
title('viscosity 0.04 Pa.s') % Título gráfico
```

```
set(Pc1,'LineWidth', 1.5)
```

```
hold on
```

```
[a,b]=max(Pc)
```

```
T1=t(b)
```

```
load('Data001.mat') % Datos tomados de la literatura
```

```
Pc2=plot(Data001(1:68,1),Data001(1:68,2)) % Gráfica
```

```
set(Pc2,'LineWidth', 1.5)
```

```
legend('RBC viscosity 0.04','[M. A. Hashem, X.Chen. 2019]') % Referencia literaria
```

```
hold off
```

```
% Análisis Presion crítica y comparación con literatura
```

```
clear all, clc
```

```
V=[0.01,0.02,0.03,0.04];
```

```
%Pcr=[double(max(P11)),double(max(P22)),double(max(P3)),max(P44),double(max(P5  
5)),double(max(P66))];
```

```
Pcritic= [14.98 40 43 87.69]
```

```

L=load('Data001')

hold on
PP1=plot(V,Pcritic)           % Gráfica
xlabel('viscosity Pa.s' )    % Título eje x
ylabel('Critic Pressure kPa' ) % Título eje y
grid on
title('Critic Pressure')     % Gráfica
set(PP1,'LineWidth', 1.5)
PP2=plot(L.Data001(:,1),L.Data001(:,2))
set(PP2,'LineWidth', 1.5)
legend('CTC viscosity','[M. A. Hashem, X.Chen. 2019]')

```

```
hold off
```

```
%-----
```

```

% Grafica viscosidad 100 Pa.s
M=VISCOSITY100R8umvelocity2e1
P11=table2array(M(:,4))      % Datos de presión

t=table2array(M(:,3))        % Datos de tiempo

P1=plot(t,P11)
xlabel('time \mus' )         % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )     % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 100 Pa.s')
set(P1,'LineWidth', 1.5)

% Grafica viscosidad 120 Pa.s

```

```

M1=VISCOSITY120R8umvelocity2e1
P22=table2array(M1(:,4))      % Datos de presion

t=table2array(M1(:,3))        % Datos de tiempo

P2=plot(t,P22)
xlabel('time \mus' )          % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 120 Pa.s')   % Titulo grafica
set(P2,'LineWidth', 1.5)

% Grafica viscosidad 140 Pa.s
M2=VISCOSITY140R8umvelocity2e1
P33=table2array(M2(:,4))      % Datos d epresion

t=table2array(M2(:,3))        % Datos de tiempo

P3=plot(t,P33)
xlabel('time \mus' )          % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 140 Pa.s')   % Titulo de grafica
set(P3,'LineWidth', 1.5)

% Grafica viscosidad 160 Pa.s
M3=VISCOSITY160R8umvelocity2e1
P44=table2array(M3(:,4))      % Datos de presion

t=table2array(M3(:,3))        % Datos de tiempo

```

```

P4=plot(t,P44)
xlabel('time \mus' )           % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )       % Ttulo eje y
grid on
title('viscosity 160 Pa.s')    % Titulo gráfica
set(P4,'LineWidth', 1.5)

% Grafica viscosidad 180 Pa.s
M4=VISCOSITY180R8umvelocity2e1
P55=table2array(M4(:,4))      % Datos de presion

t=table2array(M4(:,3))        % Datos de tiempo

P5=plot(t,P55)
xlabel('time \mus' )           % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )       % Titulo eje y
grid on
title('viscosity 180 Pa.s')    % Titulo de grafica
set(P5,'LineWidth', 1.5)

% Grafica viscosidad 200 Pa.s
M6=VISCOSITY200R8umvelocity2e1
P66=table2array(M6(:,4))      % Datos de presion

t=table2array(M6(:,3))        % Datos de tiempo

P7=plot(t,P66)
xlabel('time \mus' )           % Titulo eje x
ylabel('Pressure GPa' )       % Titulo eje y

```

```

grid on
title('viscosity 200 Pa.s')      %Titulo de grafica
set(P7,'LineWidth', 1.5)
%-----
% Presion critica viscosidad 100-200 Pa.s

V=[100,120,140,160,180,200];
%Pcr=[double(max(P11)),double(max(P22)),double(max(P3)),max(P44),double(max(P5
5)),double(max(P66))];
Pcr1= max(P11)
Pcr2= max(P22)
Pcr3= max(P33)
Pcr4= max(P44)
Pcr5= max(P55)
Pcr6= max(P66)

P8=plot(V,[Pcr1,Pcr2,Pcr3,Pcr4,Pcr5,Pcr6])
xlabel('viscosity Pa.s' )      % Titulo eje x
ylabel('Pressure critic GPa' ) % Titulo eje y
grid on
title('Pressure Critic')      % Titulo de grafica
set(P8,'LineWidth', 1.5)

```

```

% 1.----- DISEÑO DEL MICROFILTRO -----
clear, clc

%-- 1.1 Analisis de corriente crítica corriente de RBC
STRBC1=load('stream line rbc inlet.mat')      % Corriente en la entrada RBCs
X=table2array(STRBC1.streamlinerbcinlet(:,2)) % Longitud del filtro

y=table2array(STRBC1.streamlinerbcinlet(:,1)) % Posición lateral de corriente

S=plot(y,X)
xlabel('Filter length \mum ' )                % Titulo eje x
ylabel('stream width \mum' )                  % Titulo eje y
grid on
title('Stream Line')                          % Titulo de gráfica
set(S,'LineWidth', 1.5)
hold on
STRBC2=load('stream line rbc outlet.mat') % Datos de línea de corriente salida RBCs
X2=table2array(STRBC2.streamlinerbcoutlet(:,2))

y=table2array(STRBC2.streamlinerbcoutlet(:,1))
S2=plot(y,X2)
set(S2,'LineWidth', 1.5)
legend('RBC Inlet','RBC Outlet')
hold off

%-----
% corriente crítica de WBC
clear, clc
STWBC1=load('stream line WBC inlet.mat')      % Datos entrada de la WBC
X=table2array(STWBC1.streamlineWBCinlet(:,2))

```

```

y=table2array(STWBC1.streamlineWBCinlet(:,1))

WBC=plot(y,X)           % Corriente en la entrada WBC
xlabel('filter length \mum' ) % Titulo eje x
ylabel('Outlet \mum' )   % Titulo eje y
grid on
title('Stream Line WBC') % Titulo gráfica
set(WBC,'LineWidth', 1.5)
hold on
STWBC2=load('stream line WBC outlet.mat') % Datos salida de la WBC
X2=table2array(STWBC2.streamlineWBCoutlet(:,2))

y=table2array(STWBC2.streamlineWBCoutlet(:,1))
WBC2=plot(y,X2)           % Corriente en la salida WBC
set(WBC2,'LineWidth', 1.5)
legend('WBC Inlet','WBC Outlet')
hold off

%-----
clear, clc
% corriente crítica de CTC viscosity 10
STCTC1=load('stream line INLET CTC.mat') %Datos en la entrada de la CTC
X=table2array(STCTC1.streamlineINLETCTC(:,2)) % Posición de la corriente

y=table2array(STCTC1.streamlineINLETCTC(:,1)) % Longitud del filtro

CTC=plot(y,X)
xlabel('Filter length \mum' ) % Titulo del eje x
ylabel('stream width \mum' ) % Titulo del eje y

```

```

grid on
title('Stream Line CTC')      % Titulo de la gráfica
set(CTC,'LineWidth', 1.5)

hold on
STCTC2=load('stream line OUTLET CTC.mat')      % Datos de la salida de la CTC
X=table2array(STCTC2.streamlineOUTLETCTC(:,2)) % Posición de la corriente

y=table2array(STCTC2.streamlineOUTLETCTC(:,1)) % Longitud del filtro

CTC2=plot(y,X)
set(CTC2,'LineWidth', 1.5)
hold off
legend('CTC Inlet','CTC Outlet')

%-----
% -----Análisis(streamline ) hematocrito H 2-4%-----
clear, clc

ST1=load('RBC streamline 1um')      % Corriente 1um de la pared
stl1=table2array(ST1.RBCstreamline1um)

ST5=load('RBC streamline 5um')      % Corriente 5um de la pared
stl5=table2array(ST5.RBCstreamline5um)

ST10=load('RBC streamline 10um')    % Corriente 10um de la pared
stl10=table2array(ST10.RBCstreamline10um)

ST20=load('RBC streamline 20um')    % Corriente 20um de la pared
stl20=table2array(ST20.RBCstreamline20um)

```

```

plot(stl1(:,1),stl1(:,2))      % Grafica 1

hold on
plot(stl5(:,1),stl5(:,2))      % Grafica 2
plot(stl10(:,1),stl10(:,2))    % Grafica 3
plot(stl20(:,1),stl20(:,2))    % Grafica 4

xlabel('Outlet (\mum)')        % Titulo eje x
ylabel('stream position (\mum)') % Titulo eje y
title('Streamline vs Outlet')   % Título gráfica

grid on

legend ('streamline 1\mum','streamline 5\mum','streamline 10\mum','streamline 20\mum')
%-----
% Analisis(streamline ) hematocrito H 2-4%
clear, clc

ST1=load('RBC streamline 1um')      % Corrient a 1um de la pared
stl1=table2array(ST1.RBCstreamline1um)

ST5=load('RBC streamline 5um')      % Corrient a 5um de la pared
stl5=table2array(ST5.RBCstreamline5um)

ST10=load('RBC streamline 10um')    % Corrient a 10um de la pared
stl10=table2array(ST10.RBCstreamline10um)

ST20=load('RBC streamline 20um')    % Corrient a 20um de la pared
stl20=table2array(ST20.RBCstreamline20um)

```

```

plot(stl1(:,1),stl1(:,2))          % Grafica 1

hold on
plot(stl5(:,1),stl5(:,2))        % Grafica 2
plot(stl10(:,1),stl10(:,2))     % Grafica 3
plot(stl20(:,1),stl20(:,2))     % Grafica 4

xlabel('Outlet (\mum)')          % Titulo eje x
ylabel('stream position (\mum)') % Titulo eje y
title('Streamline vs Outlet')   % Título gráfica

grid on

legend ('streamline 1\mum','streamline 5\mum','streamline 10\mum','streamline 20\mum')

clear, clc
% CELULAS CANCERIGENAS Y BLANCAS EN HEMATOCRITO 2-4%

%Grafica células rojas

RBCH14=load('RBC H 1-4.mat')      % Datos de glóbulos rojos en H 1-4%
rbch14=table2array(RBCH14.RBCH14)

plot(rbch14(:,1),rbch14(:,2),'r') % Grafica
hold on

%grafica celulas CANCERIGENAS
%CTC VISCOSIDAD 1Pa.s

```

```
CTC1H1=load('CTC 1 H 1-4.mat') % Datos de entrada de CTC en H 1-4%
ctc1h14=table2array(CTC1H1.CTC1H14)
```

```
plot(ctc1h14(:,1),ctc1h14(:,2),'g') % Gráfica
```

```
%CTC VISCOSIDAD 5Pa.s
```

```
CTC5H1=load('CTC 5 H 1-4.mat') % Datos de CTC en H 1-4%
ctc5h14=table2array(CTC5H1.CTC5H14)
```

```
plot(ctc5h14(:,1),ctc5h14(:,2),'g') %Grafica
```

```
%CTC VISCOSIDAD 10Pa.s
```

```
CTC10H1=load('CTC 10 H 1-4.mat') % Datos de CTC en H 1-4%
ctc10h14=table2array(CTC10H1.CTC10H14)
```

```
plot(ctc10h14(:,1),ctc10h14(:,2),'g') %Grafica
```

```
%CTC VISCOSIDAD 20Pa.s
```

```
CTC20H1=load('CTC 20 H 1-4.mat') % Datos de CTC en H 1-4%
ctc20h14=table2array(CTC20H1.CTC20H14)
```

```
plot(ctc20h14(:,1),ctc20h14(:,2),'g') %Grafica
```

```
%CTC VISCOSIDAD 200Pa.s
```

```
CTC200H1=load('CTC 200 H 1-4.mat') % Datos de CTC en H 1-4%
ctc200h14=table2array(CTC200H1.CTC200H14)
```

```
plot(ctc200h14(:,1),ctc200h14(:,2),'g') %Grafica
```

```
% Graficas celulas blancas
```

```
WBCH1=load('WBC H 1-4.mat') % Datos de WBC en H 1-4%
```

```
wbch14=table2array(WBCH1.WBCH14)
```

```
plot(wbch14(:,1),wbch14(:,2),'b') % Grafica
```

```
xlabel('Outlet \mum') % Titulo eje x
```

```
ylabel('Cell Phase') % Titulo eje y
```

```
title('Cell sorting') % Titulo grafica
```

```
legend('RBCs','CTC v=1','CTC v=5','CTC v=10','CTC v=20','CTC v=200','WBC')
```

```
grid on
```

```
hold off
```