

ESCOAMENTO EM MICROCANAIS DE FLUIDOS INOVADORES ANÁLOGOS AO SANGUE BASEADOS EM VESÍCULAS UNILAMELARES GIGANTES

Denise A. M. Carvalho¹, Ana Rita O. Rodrigues², Vera Faustino³, Diana Pinho⁴, Rui A. Lima^{1,5} e Elisabete M. S. Castanheira²

¹ ESTiG, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, 5301-857 Bragança, Portugal; denisemotacarvalho@gmail.com

² Centro de Física da Universidade do Minho (CFUM), Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal; ritarodrigues@fisica.uminho.pt; ecoutinho@fisica.uminho.pt

³ MEMS-UMinho Research Unit, DEI, Universidade do Minho, Campus de Azurém, 4800-058 Guimarães, Portugal; CEFT, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal; verafaustino@ipb.pt

⁴ ESTiG, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, 5301-857 Bragança, Portugal; CEFT, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal; diana@ipb.pt

⁵ MEtRICS, Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade do Minho, Campus de Azurém, 4800-058 Guimarães, Portugal; CEFT, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal; rl@dem.uminho.pt

PALAVRAS CHAVE: Análogos ao sangue, vesículas unilamelares gigantes, microfluídica, deformação de células, hemoreologia.

RESUMO: *Um dos maiores desafios em análogos ao sangue é a incorporação de componentes do tipo celular capazes de desempenhar funções fundamentais, tais como o transporte de gases e nutrientes, e a capacidade para se deformarem quando estes passam através de um capilar mais estreito. Neste trabalho procedeu-se ao desenvolvimento de um análogo ao sangue inovador baseado em Vesículas Unilamelares Gigantes (GUVs), para reproduzir o escoamento dos glóbulos vermelhos (GVs). Nos ensaios experimentais de escoamento verificou-se que os GUVs demonstraram, não só a capacidade de se deformarem, mas também um comportamento reológico idêntico às amostras contendo 5% de GVs humanos em soro fisiológico.*

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de fluidos análogos ao sangue continua a atrair a atenção de investigadores por todo o mundo, a fim de mimetizar as características físicas e reológicas do sangue real [1].

Neste trabalho foi desenvolvido um fluido inovador análogo ao sangue contendo Vesículas Unilamelares Gigantes (GUVs), para simular o escoamento dos GVs em microcanais. Os GUVs foram preparados por hidratação de um filme lipídico, seguida de extrusão através de membranas de policarbonato com 8 µm de diâmetro.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DOS GUVS

As soluções de GUVs foram preparadas usando uma mistura natural de lípidos, lecitina de soja (Stern, USA), pelo método de hidratação de filme lipídico. Após a obtenção do filme, adicionaram-se 8 ml de solução-tampão TRIS-HCl de pH=7.4 em água ultrapura. As dispersões assim obtidas foram levadas a um banho de ultrassons (Branson 320) durante 1 a 2 minutos, até se obter uma solução homogénea. Em seguida, realizou-se a extrusão (Extrusor LIPEXTM, Northern Lipids), usando membranas de policarbonato com poros de 8 µm de diâmetro, a uma pressão de 1,5 bar. Para finalizar, adicionou-se às soluções o corante Vermelho de Nilo (*Nile Red*) a uma concentração de 2×10^{-3} M, com o

objetivo de melhorar a visualização dos GUVs por microscopia.

2.2 DIMENSÕES DO MICROCANAL E VISUALIZAÇÕES DO ESCOAMENTO

As visualizações dos escoamentos e a análise do comportamento dos GUVs foram realizadas através de um microcanal em PDMS com uma contração hiperbólica (Fig.1).

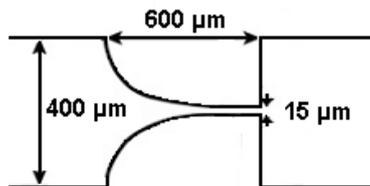


Fig. 1 Geometria e dimensões do microcanal.

De forma a realizar-se a observação e captação dos vídeos dos escoamentos foi utilizado um microscópio invertido (IX71, Olympus) e uma câmara de alta velocidade (FastCAM SA3, Photron). Os vídeos obtidos foram analisados recorrendo ao *software* de análise de imagem *ImageJ*, sendo assim possível medir o índice de deformação, $ID = (X-Y) / (X + Y)$, dos GUVs, tendo se seguido a estratégia usada por Faustino *et al.* em [2].

2.3 CARATERIZAÇÃO REOLÓGICA

As curvas de viscosidade das soluções contendo GUVs foram obtidas através de um reómetro de tensão controlada (Bohlin CVO, Malvern), utilizando um geometria cone-prato de 50 mm de diâmetro. Os testes foram realizados à temperatura de 22 °C correspondendo à temperatura ambiente verificada durante a realização das visualizações de escoamento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por intermédio das visualizações dos escoamentos nos microcanais com contração hiperbólica observou-se que os GUVs apresentaram um ID de 0.687, sendo que GVs humanos em condições de escoamento equivalentes apresentam um índice de deformação de 0.61 [2].

A curva de viscosidade da suspensão de 5% de GVs humanos em soro fisiológico a baixas taxas de deformação apresenta um suave declive da curva de viscosidade, ou seja, uma

ligeira descida da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, torna-se depois evidente um comportamento Newtoniano. A suspensão de GUVs apresenta também um claro comportamento Newtoniano em todo o intervalo de taxas de deformação, (Fig. 2).

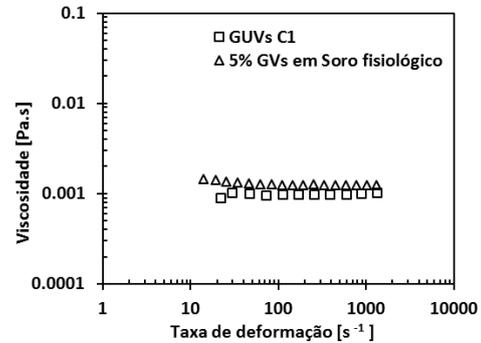


Fig. 2 Viscosidade da solução de GUVs C1 (solução de GUVs com uma concentração de 1×10^{-3} M) e de 5% de GVs em soro fisiológico.

4 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram desenvolvidas soluções contendo GUVs a uma concentração de 1×10^{-3} M. Recorrendo às visualizações dos escoamentos dos GUVs pode-se concluir que os mesmos têm um comportamento idêntico aos GVs humanos, apresentando uma elevada capacidade de deformação aquando da passagem por uma contração de dimensão reduzida. Verificou-se também uma boa concordância entre o análogo e uma amostra contendo 5% de GVs humanos em soro fisiológico. Estes resultados indicam que a introdução destas vesículas em análogos ao sangue poderá possibilitar uma melhor mimetização do sangue real.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi suportado pela Fundação Portuguesa para a Ciência e a Tecnologia (FCT) no âmbito do financiamento estratégico UID/FIS/04650/2013. Os autores também agradecem o financiamento da FCT através do projeto PTDC/QEQ-FTT/4287/2014 e BD SFRH/BD/89077/2012 e à Professora Olga Ferreira pela ajuda prestada no desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- [1] P. C. Sousa, F. T. Pinho, M. S. N. Oliveira, and M. A. Alves, "Extensional flow of blood analog solutions in microfluidic devices," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 1, pp. 1–19, 2011.
- [2] V. Faustino, D. Pinho, T. Yaginuma, R. C. Calhelha, I. C. F. R. Ferreira, and R. Lima, "Extensional flow-based microfluidic device: Deformability assessment of red blood cells in contact with tumor cells," *Biochip J.*, vol. 8, no. 1, pp. 42–47, 2014.