

**Raport științific (2020)**

**Proiecte de cercetare postdoctorală**

**Proprietățile mecanice de rigiditate și  
plasticitate ale țesuturilor în contextul terapiei  
cancerului prin hipertermie cu fluid magnetic  
(STIFFMAG)**

***Director proiect: Asist. univ. dr.  
Mariana PAVEL-TANASA***

**NR CONTRACT:  
VALOARE GRANT**

**135/2018  
299.910,13 RON / (2018-2020)**

DIRECTOR PROIECT,  
Asist. univ. dr. Mariana Pavel-Tanasa

---

IAȘI 2020

## Obiective/activități științifice în cadrul gantului

1	<b>Etapa 1</b>	<p><b>Tip Etapă:</b> Etapă unică</p> <p><b>Rezultate livrate pe etapă:</b>                      Participări și prezentări la conferințe, seminarii și festivități științifice.                      Realizarea paginii web a proiectului.                      Publicarea unui articol științific în reviste cotate ISI.                      Raport tehnic/științific cu principalele rezultate obținute.</p>	31/12/2018	77.582,37
2	<b>Obiectiv O1</b>	<p><b>Denumire Obiectiv:</b>                      Dezvoltarea unui model computațional teoretic pentru studiul distribuției nanoparticulelor magnetice injectate în țesuturi heterogene considerate ca sisteme poroase cu proprietăți elasto-plastice (continuare în 2019).</p>		
3	<b>Activitate 1.1</b>	<p><b>Denumire Activitate:</b>                      Realizarea unui model computațional: model teoretic.</p>		
4	<b>Activitate 1.2</b>	<p><b>Denumire Activitate:</b>                      Dezvoltarea unui model computațional: model numeric.</p>		
5	<b>Etapa 2</b>	<p><b>Tip Etapă:</b> Etapă unică</p> <p><b>Rezultate livrate pe etapă:</b>                      Participări și prezentări la conferințe, seminarii și festivități științifice.                      Reactualizarea paginii web a proiectului.                      Trimiterea spre evaluare a unui articol științific în revista cota ISI.                      Raport tehnic/științific cu principalele rezultate obținute.</p>	31/12/2019	168.245,00
6	<b>Obiectiv O1, O2, O3</b>	<p><b>Denumire Obiectiv:</b>                      O1: Dezvoltarea unui model computațional teoretic pentru studiul distribuției nanoparticulelor magnetice injectate în țesuturi heterogene considerate ca sisteme poroase cu proprietăți elasto-plastice (finalizare activitate) și O2: Compararea și identificarea unor relații noi între presiunea de injectare, porozitatea țesutului și distribuția nanoparticulelor magnetice în țesuturi normale și patologice (canceroase) folosind modelul descris mai sus (continuare în 2020) și O3: Validarea observațiilor deduse din analiza numerică prin intermediul unui dispozitiv experimental (continuare în 2020)</p>		
7	<b>Activitate 2.1</b>	<p><b>Denumire Activitate:</b>                      Investigarea distribuției particulelor magnetice sub efectul variației presiunii folosind modelul computațional.</p>		
8	<b>Activitate 2.2</b>	<p><b>Denumire Activitate:</b>                      Investigarea efectului mărimii particulelor magnetice în țesut normal și canceros folosind modelul computațional.</p>		

9	<b>Activitate 2.3</b>	<b>Denumire Obiectiv:</b> Realizarea componentei mecanice a dispozitivului experimental.		
10	<b>Activitate 2.4</b>	<b>Denumire Obiectiv:</b> Realizarea componentei optice a dispozitivului experimental.		
11	<b>Etapă 3</b>	<b>Tip Etapă:</b> Etapă unică <b>Rezultate livrate pe etapă:</b> Realizarea paginii web a proiectului. Publicarea unui articol științific (review) în reviste cotate ISI. Raport tehnic/științific cu principalele rezultate obținute.	14/07/2020	54.082,76
12	<b>Obiectiv O1</b>	<b>Denumire Obiectiv:</b> O2: Compararea si identificarea unor relatii noi intre presiunea de injectare, porozitatea tesutului si distributia nanoparticulelor magnetice in tesuturi normale si patologice (canceroase) folosind modelul computational (finalizare activitate) si O3: Validarea observatiilor deduse din analiza numerica prin intermediul unui dispozitiv experimental (finalizare activitate) si MO: Obiectiv managerial (finalizare activitate).		
13	<b>Activitate 1.1</b>	<b>Denumire Activitate:</b> Investigarea efectului porozitatii tesutului folosind modelul computational.		
14	<b>Activitate 1.2</b>	<b>Denumire Activitate:</b> Realizarea componentei biologice experimentale.		

a) Stadiul atins în derularea proiectelor în raport cu obiectivele prevăzute inițial

Obiectivele științifice prevăzute pentru acest proiect au fost realizate în totalitate. Astfel a fost realizat un model computațional pentru studiul țesuturilor heterogene modelate ca sisteme poroase având proprietăți elasto-plastice în vederea studierii distribuțiilor unor nanoparticule magnetice injectate în aceste țesuturi. S-a definitivat modelul teoretic-numeric pe baza căruia s-au identificat noi relații între presiunea de injectare, distribuția fluidului cu nanoparticule magnetice în țesuturi normale/ patologice și realizarea componentei mecanice, optice și biologice a setup-ului experimental în vederea validării observațiilor deduse.

b) Valoarea și nivelul științific al rezultatelor obținute până în stadiul respectiv;

Rezultatele obținute în acest stadiu al proiectului sunt foarte importante în contextul internațional actual al cercetărilor proprietăților de rigiditate și plasticitate a țesuturilor/ mediilor poroase necesare pentru o livrare eficientă a particulelor magnetice în terapia cancerului prin hipertermie. De aceea considerăm că valoarea și nivelul științific al rezultatelor obținute până acum sunt de nivel foarte ridicat și există premise pentru rezultate valoroase ce pot fi publicate în perioada următoare.

c) Măsura în care rezultatele au fost difuzate (articole cărți, comunicări, participări la conferințe) alte constatări;

## Articole științifice publicate:

Rezultatele obținute au fost incluse într-un articol publicat în prestigioasa revista *Nature Communications*, parte a grupului NATURE:

**1. Pavel, M**; Renna, M; Park, SJ; Menzies, FM; Ricketts, T; Fullgrabe, J; Ashkenazi, A; Frake, RA; Lombarte, AC; Bento, CF; Franze, K; Rubinsztein, DC. Contact inhibition controls cell survival and proliferation via YAP/TAZ-autophagy axis. NATURE COMMUNICATIONS, Volume: 9, Article Number: 2961, DOI: 10.1038/s41467-018-05388-x, 27 JULY 2018.

Observațiile generale ale efectului porozității țesutului asupra căilor celulare de metabolizare (precum autofagia) și importanța extinsă a acestuia și în alte domenii (ex. boli neurodegenerative) au fost detaliate într-un articol științific/ review publicat în revista ISI din zona roșie: *Journal of Molecular Biology*, co-first author:

2. Djajadikerta, A†; Keshri, S†; **Pavel, M**†; Prestil, R†; Ryan, L†; Rubinsztein, DC. Autophagy induction as a therapeutic strategy for neurodegenerative diseases. JOURNAL OF MOLECULAR BIOLOGY, Volume: 432(8), Pages: 2799-2821, DOI: 10.1016/j.jmb.2019.12.035, 3 APRIL 2020.

## Participări la conferințe și workshopuri:

Directorul de proiect a participat la diverse conferințe internaționale, după cum urmează:

1. **Mariana Pavel**, Alexandru Stancu, Petru Cianga, Daniela Constantinescu, Corina Cianga, David C. Rubinsztein *Mechanical cues bridging from cancer to autophagy* – IEEE ROMSC 2018 Iasi, Romania **INVITED**
2. **Mariana Pavel**, Radu Tanasa, Daniela Constantinescu, Corina Cianga, Petru Cianga, Alexandru Stancu. *Typical hysterons and interactions in a multiphase flow of a ferrofluid in a biological tissue* – HMM 2019 (12th International Symposium on Hysteresis Modeling and Micromagnetics), Heraklion, Crete, 19 – 22 mai 2019, **ORAL**
3. **Mariana Pavel**, Radu Tanasa, Petru Cianga, Corina Cianga, Daniela Constantinescu, Alexandru Stancu. *Mechanical and stiffness properties of tissues: experimental and theoretical models* – IEEE ROMSC 2019, 24 – 25 iunie 2019, **INVITED**
4. **Mariana Pavel**, Radu Tanasa, Daniela Constantinescu, Corina Cianga, Petru Cianga, Alexandru Stancu. *Typical interacting hysterons in multiphase flow ferrofluids in biological tissues* – IEEE ROMSC 2019, 24 – 25 iunie 2019, **POSTER**
5. **Mariana Pavel**, Petru Cianga, Corina Cianga, Daniela Constantinescu, Carla F. Bento, Maurizio Renna, Radu Tanasa, Alexandru Stancu, David C. Rubinsztein. *Mechanical cues control YAP/TAZ-dependent autophagy* – IEEE ROMSC 2019, 24 – 25 iunie 2019, **POSTER**
6. **Mariana Pavel-Tanasa**, Maurizio Renna, So Jung Park, Fiona Menzies, Thomas Ricketts, Jens Fullgrabe, Avraham Ashkenazi, Rebecca Frake, Carla Bento, Kristian Franze, David Rubinsztein. *Contact inhibition reduces cell survival and proliferation by repressing YAP/TAZ-dependent autophagy* – EMBO Workshop - Autophagy: From molecular principles to human diseases, Crieff, Scotland, 26 – 30 august 2019, **POSTER**

7. **Mariana Pavel**, RaduTanasa, Daniela Constantinescu, Corina Cianga, Petru Cianga, Alexandru Stancu. *Capillary hysteresis effects in magnetic hyperthermia cancer treatment* – 2019 MMM Conference (Annual Conference on Magnetism and Magnetic Materials), Las Vegas, S.U.A., 4 – 8 noiembrie 2019, **ORAL**

Directorul de proiect a participat la următoarele conferințe naționale:

8. Mariana Pavel, Petru Cianga, Corina Cianga, Daniela Constantinescu, Carla F. Bento, Maurizio Renna, David C. Rubinsztein, *Mechanical cues control cell survival and growth via YAP/TAZ-autophagy axis*- CONFER 2018 (Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 22-25 noiembrie 2018) **ORAL**
9. Mariana Pavel-Tanasa, Radu Tanasa, Daniela Constantinescu, Corina Cianga, Alexandru Stancu, Petru Cianga. *Tissue porosity and capillary hysteresis effects in magnetic hyperthermia cancer treatment* - CONFER 2019 (Conferințele Institutului Regional de Oncologie Iași, 21-23 noiembrie 2019) **POSTER**

În anul 2020, lucrarea *Magnetic fluid distribution in biological tissues for hyperthermia cancer therapy* a fost acceptată pentru prezentare la conferința internațională IEEE-AIM2020 (7-11 martie), Moena, Italy. Conferința a fost anulată ca urmare a pandemiei de SARS-CoV-2. De asemenea, prezentările din cadrul conferinței ROMSC 2020 au fost anulate tot din același motiv.

#### *Stagii de cercetare*

În cadrul acestui proiect, s-a efectuat un scurt stagiul de 5 zile la Universitatea Cambridge, Marea Britanie, unde au fost prezentate rezultatele preliminarilor și discutat direcțiile de colaborare (21 – 26 august 2019).

De asemenea, directorul de proiect a participat la Workshop-ul *Metodă avansată de diagnostic prin imagistică în domeniul Thz al neoplaziilor aflate în stadiu incipient* în cadrul Centrului Avansat de Cercetare-Dezvoltare în Medicina Experimentală (CEMEX) – UMF Iasi desfășurat în parteneriat cu mediul industrial (Societatea Națională de Gaze Naturale ROMGAZ SA).

- d) Pagina web a proiectului: <https://stiffmag.grant.umfiasi.ro>

## **Detalierea rezultatelor**

### **I. Model numeric computațional – curgerea fluidului printre elemente rigide**

#### **I.1. Model teoretic**

Curgerea unui fluid printr-un mediu poros, țesutul în cazul de față, poate fi studiată din punct de vedere teoretic și numeric prin mai multe metode. Într-o posibilă abordare, curgerea fluidului este văzută ca un proces continuu utilizându-se medieri ale proprietăților sistemului, ignorându-se informațiile microscopice cu privire la forma și orientarea fiecărei zone ce se opune curgerii; această zonă este delimitată de către membranele celulare în cazul țesutului. Un neajuns a

acestei aproximații îl reprezintă faptul că se pierde informațiile cu privire la curgerea efectivă a fluidului prin matricea extracelulară.

Atunci când sunt disponibile informații detaliate cu privire la structura mediului poros, curgerea fluidului poate fi studiată prin metoda elementului finit. Într-o primă abordare, celulele pot fi approximate ca niște obiecte solide, impermeabile la trecerea fluidului fiind suficient rezolvarea ecuațiilor Stokes doar în canale. În cazul unui fluid incompresibil și considerându-se cazul staționar, neglijându-se efectele inerțiale, ecuațiile fundamentale sunt:

$$-\nabla p + \nabla \cdot \mu (\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T) = 0 \quad (0.1)$$

și ecuația de continuitate

$$\nabla \cdot \vec{u} = 0 \quad (0.2)$$

unde  $p$  este presiunea,  $\vec{u}$  este vectorul viteză și  $\mu$  este viscozitatea dinamică a fluidului. De asemenea, se consideră că viteza fluidului este zero la interfața cu zonele impermeabile.

O a doua abordare constă în a atribui local, fiecărui element din sistem, caracteristicile specifice de porozitate și permeabilitate pe baza unei imagini binare a țesutului. Spre deosebire de cazul anterior unde celula se considera drept un obiect solid și perfect impermeabil, aici putem asocia o valoare mai realistă a permeabilității celulare. De asemenea, întreg țesutul (celulele împreună cu matricea extracelulară) este modelat ca un întreg iar ecuațiile ce descriu acest sistem sunt ecuațiile Brinkman pentru un fluid incompresibil și staționar, unde efectele inerțiale sunt neglijate:

$$-\nabla p + \nabla \cdot \frac{\mu}{\varepsilon_p} (\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T) - \frac{\mu}{\kappa} \vec{u} = 0 \quad (0.3)$$

și ecuația de continuitate (1.2). Similar ca în cazul ecuației Stokes,  $p$  este presiunea,  $\vec{u}$  este vectorul viteză,  $\mu$  este viscozitatea dinamică a fluidului,  $\varepsilon_p$  este porozitatea și  $\kappa$  este permeabilitatea mediului.

Ecuațiile Brinkman descriu fluidele în mediile poroase prin intermediul impulsului mecanic al fluidului datorită tensiunilor mecanice de forfecare (tangențiale). Acest model matematic extinde legea lui Darcy incluzând un termen generat de vâscozitate, tratând presiunea și vectorul viteză ca variabile independente.

În forma cea mai generală, pentru un fluid incompresibil (aproximație validă în cazul sistemelor studiate de noi) și neglijându-se termenul inerțial, ecuațiile Brinkman au forma:

$$\begin{aligned} \rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} &= \nabla \cdot [-pI + K] - \left( \frac{\mu}{\kappa} + \beta_F |\vec{u}| + \frac{Q_m}{\varepsilon_p^2} \right) \vec{u} + \vec{F} \\ \rho \nabla \cdot (\vec{u}) &= Q_m \\ K &= \mu \frac{1}{\varepsilon_p} (\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T) - \frac{2}{3} \mu \frac{1}{\varepsilon_p} (\nabla \cdot \vec{u}) I \end{aligned} \quad (0.4)$$

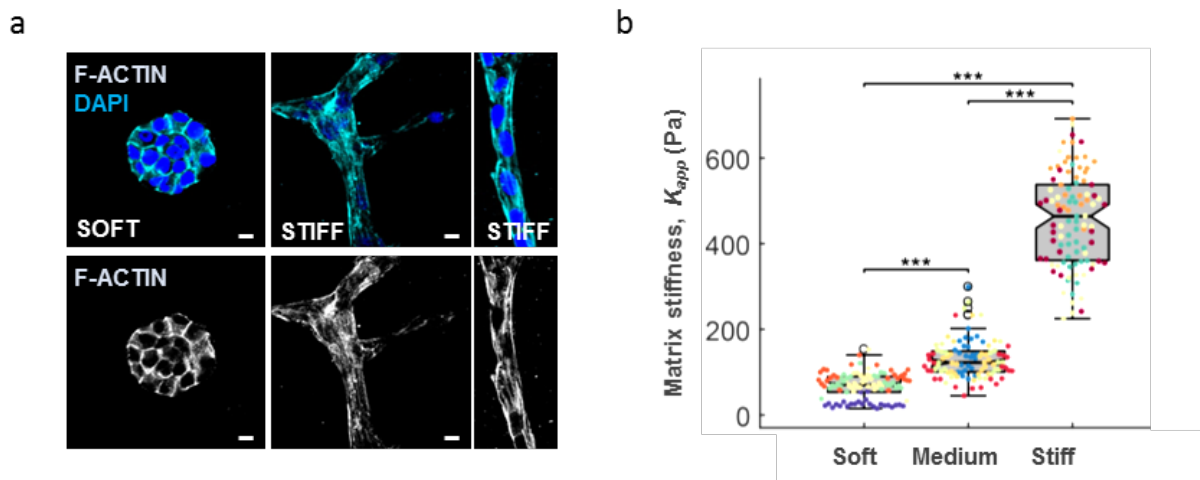
unde  $Q_m$  este o sursă de masă (creată sau anihilată) din interiorul domeniului,  $\vec{F}$  conține forțe distribuite în volum precum gravitația,  $\beta_F$  este coeficientul Forchheimer care introduce o forță de natură vâscoasă proporțională cu pătratul vitezei fluidului. Când se neglijează gravitația, sursa de masă precum și coeficientul Forchheimer, ecuațiile Brinkman dependente de timp devin:

$$-\nabla p + \nabla \cdot \frac{\mu}{\varepsilon_p} (\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T) - \frac{\mu}{\kappa} \vec{u} = \rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} \quad (0.5)$$

întrucât  $\nabla \cdot (\vec{u}) = 0$ .

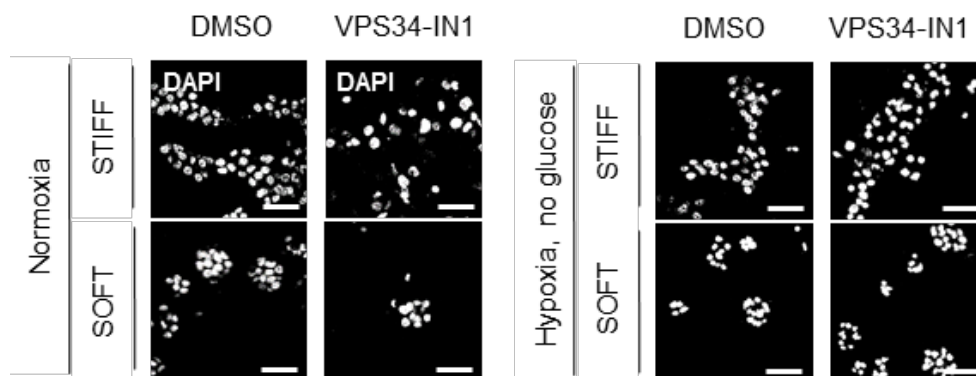
## I.2. Modelul experimental: studiul dimensiunii organoizilor celulari.

Modelul numeric s-a realizat prin implementarea computațională a modelului teoretic descris anterior folosind metoda elementului finit. Pentru a defini cu acuratețe parametrii inițiali necesari simulărilor numerice, celulele epiteliale MCF10A au fost crescute în matrici de colagen de diferite rigidități: soft (1 mg/ml) și stiff (3 mg/ml) – rezultate publicate de *Pavel, M et al. Nature Communications 2018*. În situația de țesut moale (corespunzător țesutului sănătos), celulele formează structuri sferice (acinare), iar în condițiile de rigiditate crescută, celulele se depărtează unele de altele formând structuri mari dezordonate – Fig.1a. Rigiditatea tisulară a fost măsurată folosind AFM (Atomic Force Microscope) – Fig. 1b.

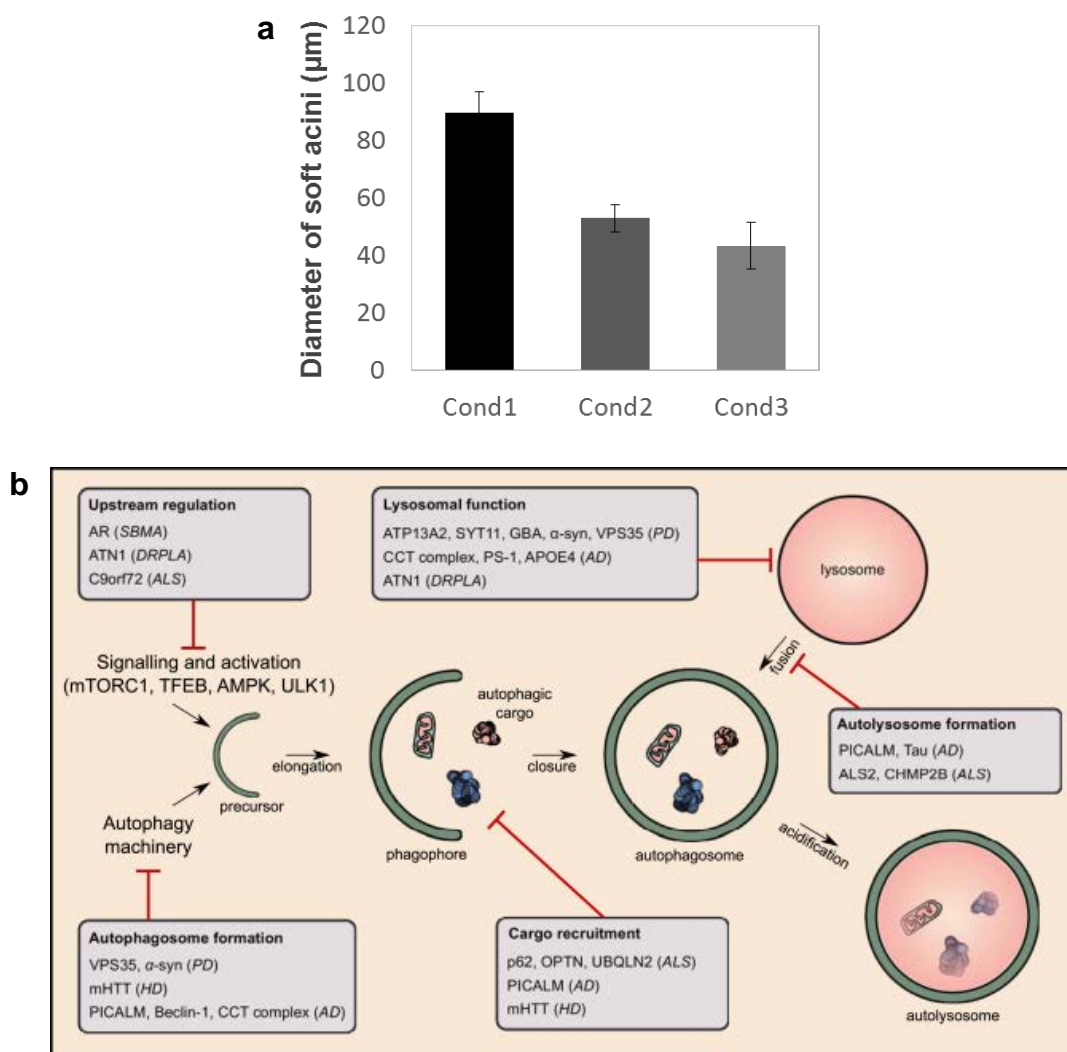


**Fig.1. (a) Structuri celulare crescute în matrici de colagen de diferite rigidități (moale – caracteristic țesutului sănătos și rigid – caracteristic țesutului patologic/ canceros). Scala = 10  $\mu$ m. (b) Rigiditatea matricilor extracelulare pentru diferite concentrații de colagen (moale / mediu / rigid).**

Dimensiunea structurilor celulare a fost măsurată în diferite condiții corespunzătoare situațiilor: sănătos și patologic – Fig. 2 și Fig. 3. Posibilele căi de inhibare a autofagiei sunt ilustrate în Fig. 3b. Obiectivul acestor experimente a fost obținerea dimensiunilor acestor structuri celulare care constituie elementele rigide necesare realizării mediului poros din modelul computațional.



**Fig.2. Structuri celulare crescute în matrici de colagen de diferite rigidități în diferite condiții: sănătos (stânga) și patologic (hipoxie și deprivare de glucoză - dreapta). Scala = 50  $\mu$ m. VPS34-IN1 este un inhibitor de autofagie.**



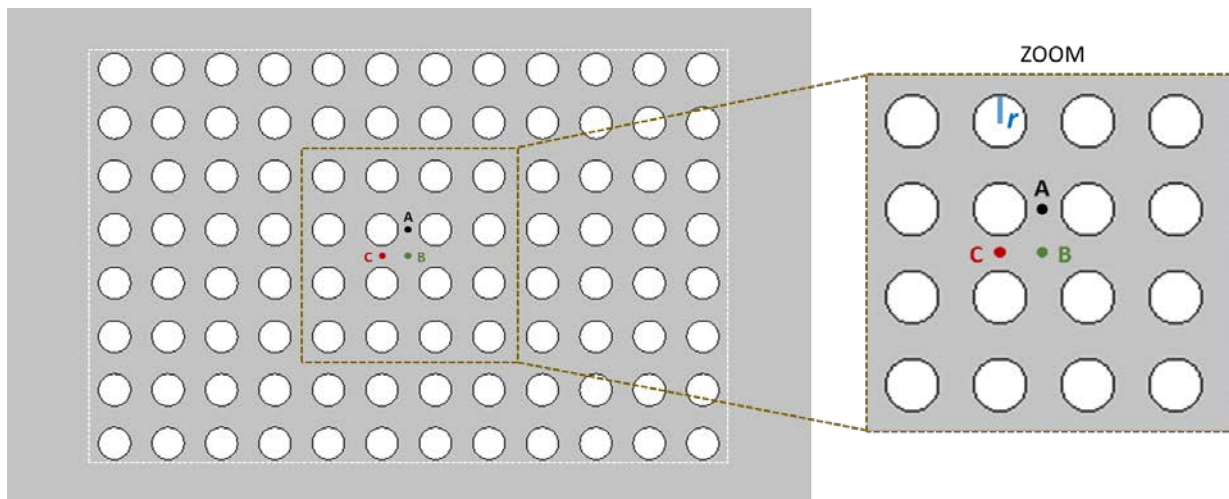
**Fig.3. (a) Diametrul structurilor celulare crescute în matrici de colagen de rigiditate scăzută (caracteristic țesutului sănătos) în diferite condiții de mediu (Cond1= Ctrl; Cond2/3 =Inhibitori de autofagie). (b) Reprezentare schematică a acțiunii potențialilor inhibitori de autofagie (Djajadikerta, A; Keshri, S; Pavel, M et al, JMB 2020).**

### I.3. Model numeric computațional

Pornind de la aceste observații experimentale, am putut realiza modelul computațional utilizat pentru obținerea curbelor numerice de variație. Astfel, țesutul a fost modelat ca un mediu poros ce cuprinde 96 de elemente rigide (corespunzătoare structurilor celulare), fluidul curgând prin porii matricii, de la stânga la dreapta.

Au fost definite trei puncte de control: A (între 2 elemente așezate de-a lungul direcției de curgere a fluidului magnetic), B (în centrul sistemului format de 4 elemente) și C (între 2 elemente așezate perpendicular pe direcția de curgere a fluidului magnetic) – Fig. 4.





**Fig.4. Modelul teoretic-numeric cu 96 de elemente rigide. Punctele A, B, C sunt puncte de control. Elementele rigide sunt reprezentate prin cercuri, de rază  $r$ .**

Prin variația razei elementelor rigide se obțin medii de diferite porozități (30% – 95%). Mediile obținute pot fi omogene (toate elementele rigide având aceeași rază) sau heterogene (elementele au raze diferite).

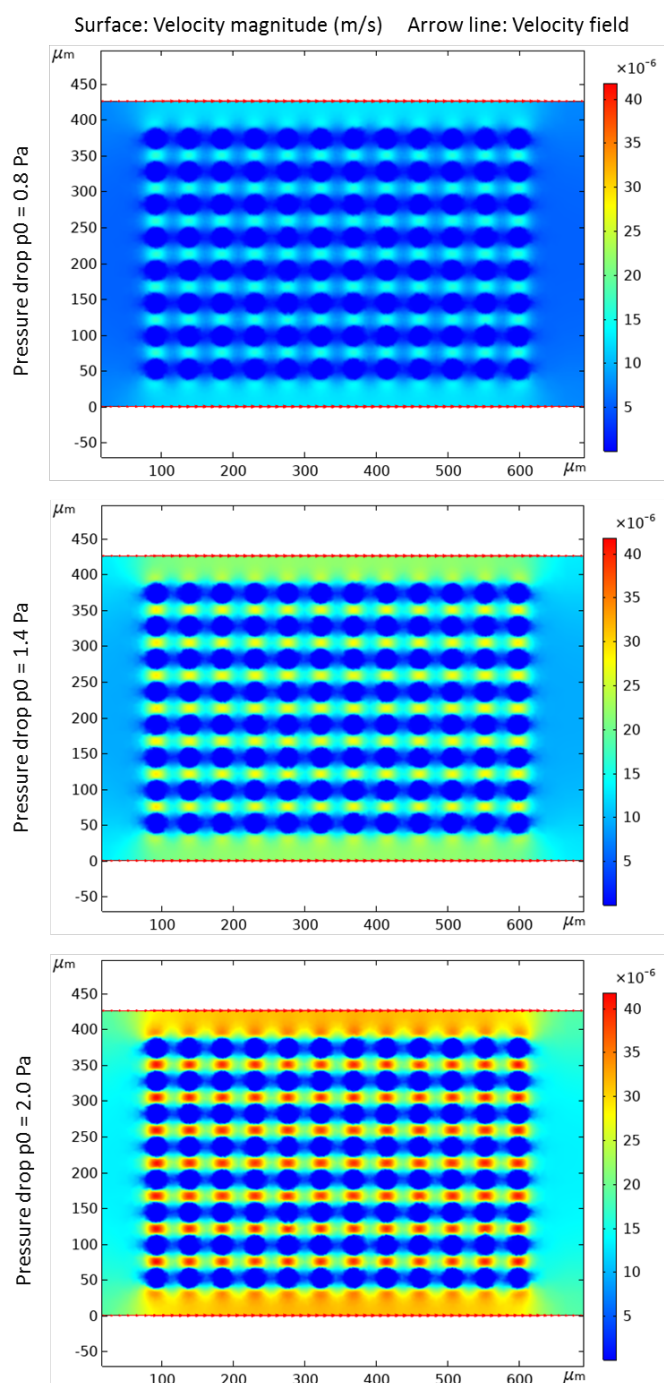
### *1.3.1. Medii omogene*

#### Studiul vitezei de curgere a fluidului

Acest model ne-a permis studiul dependenței vitezei de curgere a fluidului magnetic în funcție atât de diferența de presiune, cât și de porozitatea și permeabilitatea tisulară. În curbele de variație obținute se observă faptul că viteza de curgere a fluidului magnetic crește liniar cu diferența de presiune în toate cele trei puncte de control.

Diagrama variației spațiale a viteze de curgere a fluidului este reprezentată în Fig. 5 pentru diferite diferențe de presiune și porozitatea de 70%. Direcția de curgere este reprezentată prin săgeți: fluidul curge de la stânga la dreapta.

În ceea ce privește dependența vitezei de curgere cu porozitatea țesutului (invers proporțională cu raza elementelor rigide), se observă o creștere neliniară de-a lungul direcției de curgere (punctul A) și o variație nemonotonă cu un maxim corespunzător porozității de 60% pe direcția perpendiculară de curgere (punctul C). În punctul B se observă o creștere a vitezei cu porozitatea.



**Fig.5. Viteza de curgere a fluidului introdus în matricea cu 96 de elemente rigide (porozitate de 70%) pentru diferite valori ale diferenței de presiune (0.8, 1.4 și 2.0 Pa).**

**Fluidul curge de la stânga la dreapta.**

### Studiul dependenței volumului de fluid cu presiunea

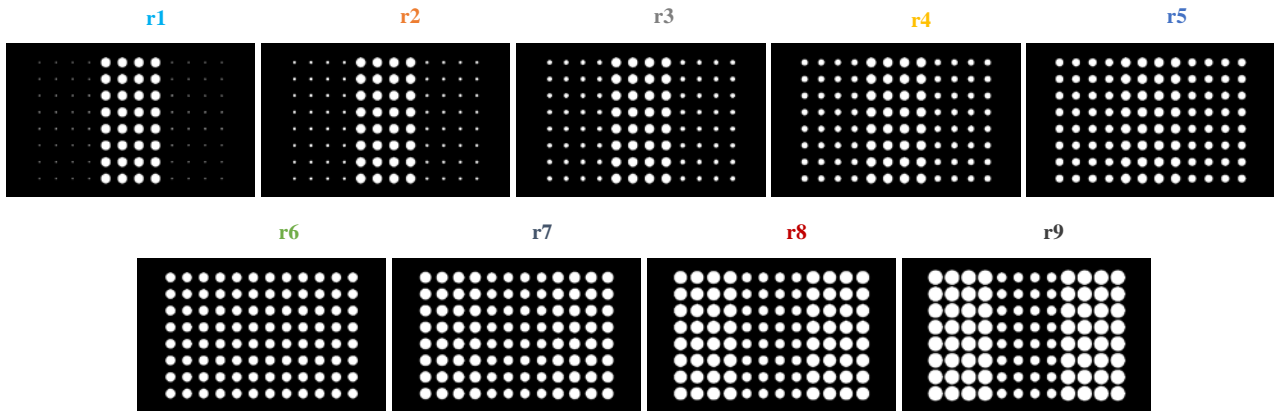
În modelul *mediilor omogene*, elementele rigide sunt complet impermeabile. Variația volumului de fluid introdus pe unitate de timp în matricea cu 96 de elemente rigide variază linear cu diferența de presiune, dar nelinier în funcție de porozitate.

### *1.3.2. Medii heterogene*

Pentru studiul mediilor heterogene au fost simulate trei situații:

*a. Medii heterogene formate din regiuni omogene*

Situațiile diferite de heterogenitate sunt afișate în Fig. 6.



**Fig.6. Conformațiile de porozități folosite în Fig. 7:**  $r_1 = 1/3 (r=0.1) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.1)$ ;  $r_2 = 1/3 (r=0.2) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.2)$ ;  $r_3 = 1/3 (r=0.3) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.3)$ ;  $r_4 = 1/3 (r=0.4) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.4)$ ;  $r_5 = 1/3 (r=0.5) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.5)$ ;  $r_6 = 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.6)$ ;  $r_7 = 1/3 (r=0.7) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.7)$ ;  $r_8 = 1/3 (r=0.8) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.8)$ ;  $r_9 = 1/3 (r=0.9) + 1/3 (r=0.6) + 1/3 (r=0.9)$ .

Studiul vitezei de curgere a fluidului

Studiul situațiilor heterogene formate din regiuni omogene este reprezentat în Fig. 9. Spre deosebire de modelul omogen, introducerea heterogenității duce la pierderea caracterului neliniar al vitezei de curgere a fluidului cu porozitatea. Mai precis, viteza de curgere a fluidului crește cu porozitatea în toate punctele din spațiul mediului poros.

Studiul dependenței volumului de fluid cu presiunea

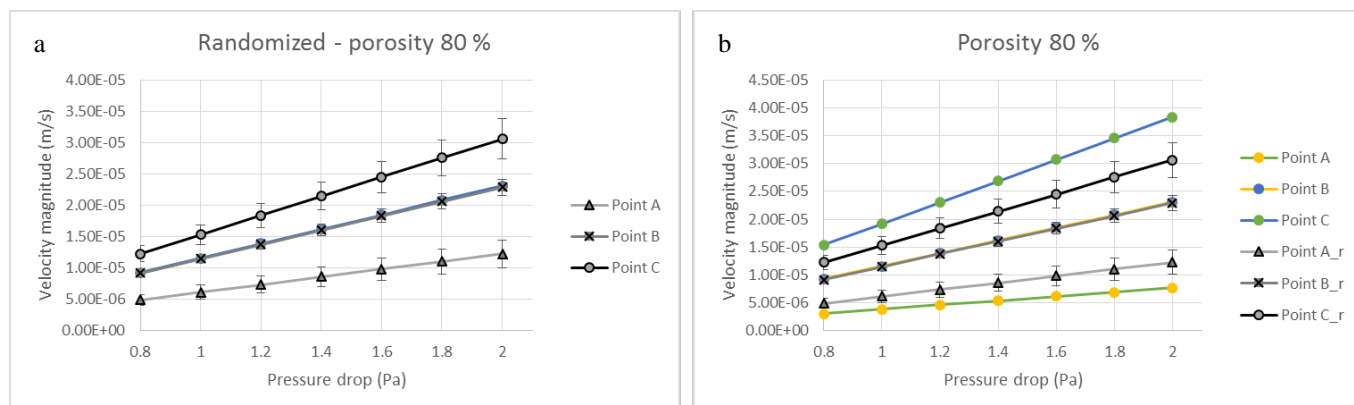
Prin comparație, în cazul *mediilor heterogene formate din regiuni omogene*, volumul de fluid introdus în matrice crește liniar cu diferența de presiune și porozitatea mediului.

*b. Medii heterogene cu elemente rigide de dimensiuni aleatorii*

Multiple situații aleatorii (cel puțin 10 la număr) au fost simulate folosind elemente rigide de dimensiuni diferite pentru a obține variația porozității.

Studiul vitezei de curgere a fluidului

Folosind 10 situații diferite, am investigat dependența vitezei cu diferența de presiune în cele trei puncte și am comparat valorile obținute cu rezultatele corespunzătoare modelului omogen pentru aceeași valoare a porozității. În punctul B, valorile obținute cu cele două modele (omogen și heterogen) au coincis. De-a lungul direcției de curgere, viteza a crescut cu presiunea în mediile heterogene cu elemente aleatorii față de cele omogene, dar nu și pe direcția perpendiculară (pe sensul de curgere) – Fig. 7.



**Fig.7. (a) Viteza de curgere a fluidului introdus în matricea cu 96 de elemente rigide de dimensiuni aleatorii (porozitate 80%) în funcție de diferența de presiune în cele trei puncte A, B, C. (b) Compararea vitezei de curgere a fluidului în matricea de elemente aleatorii de la (a) (curbele Point A\_r, Point B\_r și Point C\_r) cu valorile obținute în cazul unei matrice de 96 elemente rigide uniforme. Graficele reprezintă valorile medii ± s.e.m. (n = 10).**

Studiul a fost ulterior extins luând în considerare situații aleatorii de diferite porozități. Scăderea porozității a dus la diminuarea vitezei de curgere, similar situațiilor heterogene descrise la punctul a) (formate din multiple regiuni de elemente omogene).

### Studiul dependenței volumului de fluid cu presiunea

De asemenea, am investigat dependența distribuției volumului de fluid în funcție de diferența de presiune și porozitate și am comparat valorile obținute cu rezultatele corespunzătoare modelului heterogen format din regiuni omogene pentru aceeași valoare a porozității. Interesant, pentru aceleași valori ale porozității nu au fost observate diferențe semnificative în ceea ce privește cantitatea de fluid introdus în țesut atunci când au fost comparate cele două cazuri.

În concluzie, variația vitezei de curgere și a volumului fluidului magnetic cu diferența de presiune depinde atât de porozitatea/ permeabilitatea tisulară, cât și de omogenitatea acestuia.

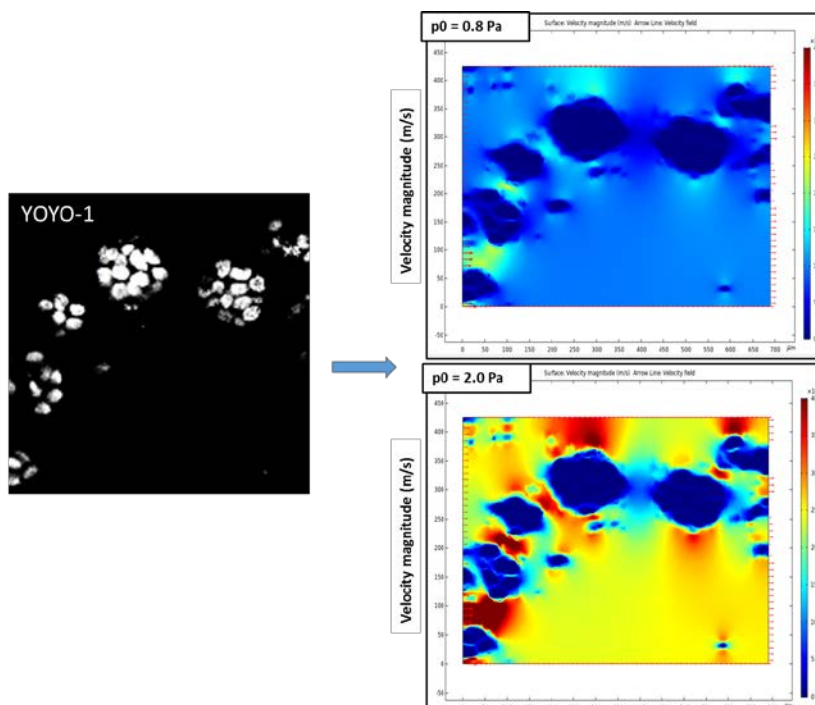
#### *c. Medii heterogene – regiuni celulare*

Pentru a defini cu acuratețe parametrii inițiali necesari simulărilor numerice (localizarea și dimensiunea structurilor celulare, precum și permeabilitatea acestora), a fost studiat, în următoarea etapă, efectul diferenței de presiune asupra volumului de fluid introdus în țesut pornind de la imagini de microscopie optică a celulelor primare epiteliale mamare de șorică (pMECs) sau celule epiteliale mamare umane imortalizate (MCF10A). Aceste celule au fost crescute în matrice de colagen de diferite rigidități (vezi și Fig.1): soft (1 mg/ml) și stiff (3 mg/ml) – rezultate publicate de Pavel, M et al. *Nature Communications* 2018.

### Studiul dependenței vitezei de curgere și a volumului de fluid cu presiunea

Astfel, pentru ambele linii celulare, am observat o creștere mai lentă a volumului de fluid introdus pe unitate de timp cu diferența de presiune în sistemul cu matrice de colagen mai rigidă (cu porozitate mai scăzută). Rigiditatea tisulară a fost măsurată folosind AFM (Atomic Force Microscopy) – Fig.1b. Am observat că viteza de variație a volumului de fluid cu presiunea inițială este mai scăzută în cazul țesuturilor rigide (patologice), comparativ cu situația celor moi (normale), atât pentru culturile de celule.

De asemenea, au fost investigate și imagini obținute prin microscopie confocală ce au pus în evidență localizarea celulelor și a diferitelor structuri ale acestora prin marcarea cu fluorocromi – Fig. 8. Aceste imagini s-au realizat în colaborare cu Universitatea Cambridge, Marea Britanie.

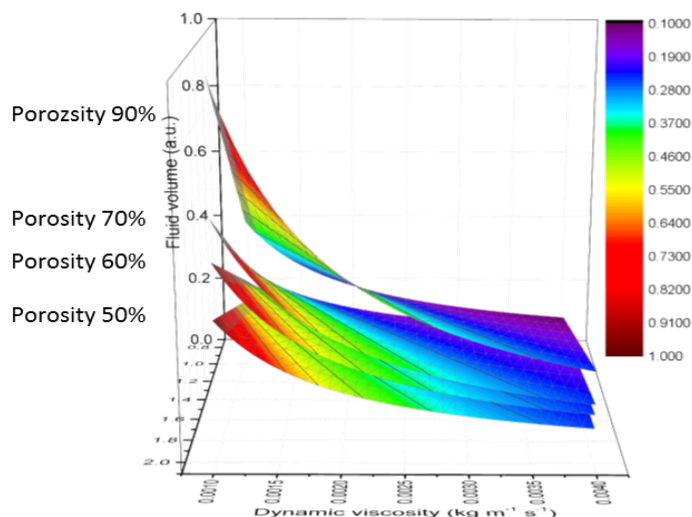


**Fig.8. Viteza de curgere a fluidului magnetic injectat în matrici de colagen de diferite rigiditate scăzută. Celule MCF10A au fost crescute în matricile de colagen menționate și vizualizate cu un microscop confocal, fiind evidențiați nucleii (YOYO-1).**

#### Studiul efectului dimensiunii/ concentrației de nanoparticule din fluid

Așa cum menționasem anterior, dimensiunea și concentrația nanoparticulelor în fluidul magnetic influențează direct vâscozitatea dinamică. Prin urmare, am determinat mai departe efectul variației vâscozității dinamice (pe baza valorilor descrise în literatură pentru diferite fluide magnetice) - N. G. Gui, et al., Int. J. Comp. Meth. and Exp. Meas., Vol. 6, No. 2 (2018) și A. Malekzadeh et al. JAFM, Vol. 9, No. 2 (2016).

Inițial, am determinat variația volumului de fluid în funcție de presiune și porozitate pe baza modelului heterogen cu elemente de dimensiuni aleatorii – Fig. 9.



**Fig.9. Variația volumului de fluid introdus în matricea heterogenă (situații aleatorii) în funcție de vâscozitatea dinamică, diferența de presiune și porozitate.**

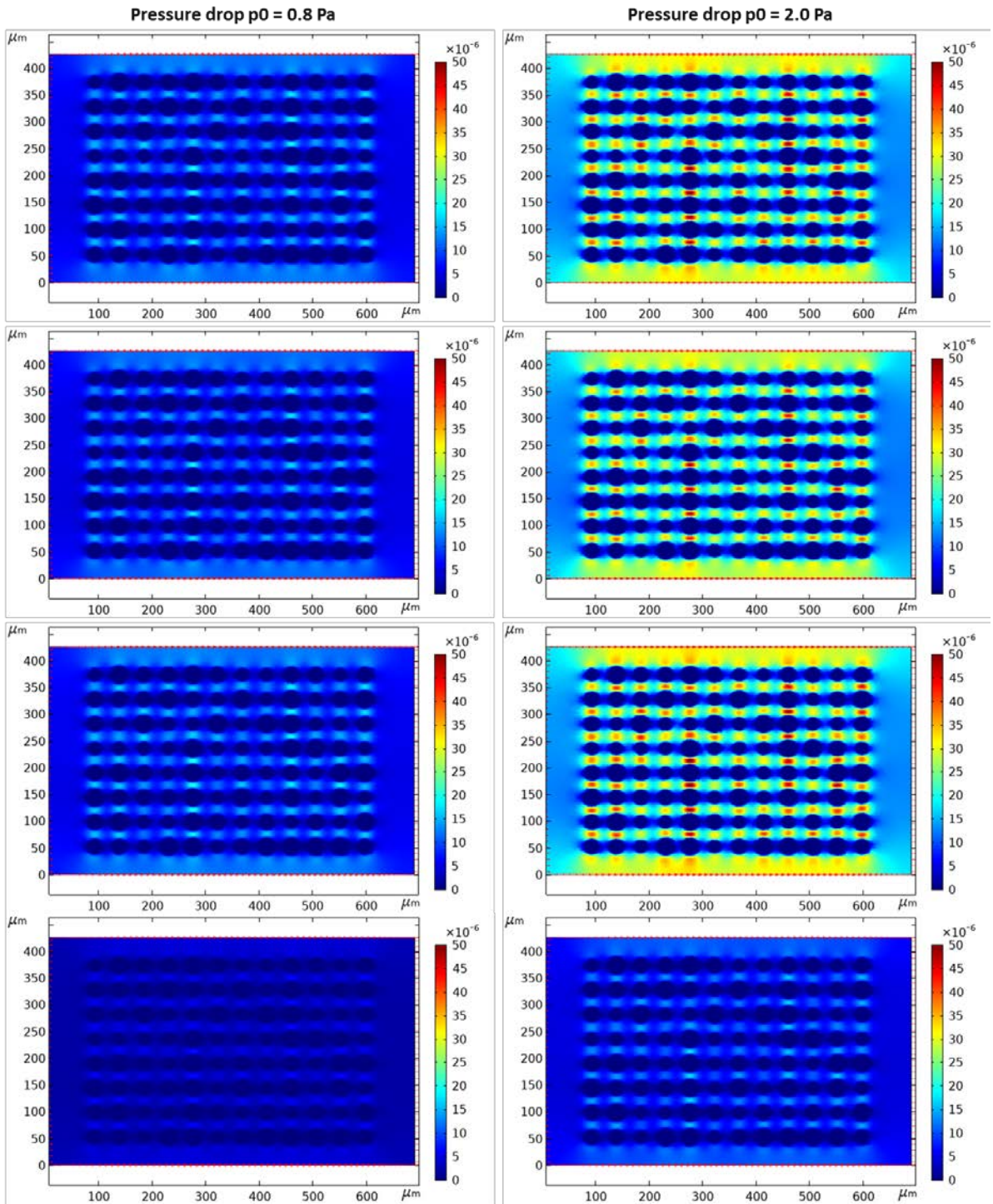
Ulterior, am studiat în paralel și comparat rezultatele obținute prin simulări numerice pentru mediul omogen și heterogen. Astfel, am constatat, că pe măsura creșterii vâscozității dinamice, variația volumului de fluid cu presiunea scade, efect accentuat cu diminuarea porozității matricii, atât pentru mediile omogene, cât și cele heterogene – Fig. 21.

De asemenea, am constatat că volumul de fluid introdus în matrice nu depinde de dimensiunea elementelor rigide și de localizarea acestora pentru situațiile cu porozitate mare (nu s-au observat diferențe între cele doua medii: omogen și heterogen). În schimb, pe măsura scăderii porozității, mediile heterogene absorb mai mult fluid magnetic pe unitatea de timp față de mediile omogene.

- *Fluide magnetice de concentrații și dimensiuni diferite*

Pe baza informațiilor din literatură (date experimentale privind vâscozitatea dinamică și densitate), am analizat rolul concentrației de particule magnetice din fluidul magnetic introdus în țesut și se observă că pe măsură ce probele sunt mai concentrate (1 % comparativ cu 0.1%) volumul de fluid acumulat în țesut scade cu presiunea și vâscozitatea dinamică, indiferent de porozitatea țesutului. Dacă reprezentăm aceste variații în funcție de temperatura indusă și intensitatea câmpului magnetic utilizat (pe baza efectului lor asupra valorii vâscozității dinamice), variația volumului de fluid cu temperatura pentru câmpuri magnetice mari (550G) se anulează la concentrații crescute de nanoparticule (mai mari de 0.5 %). Porozitatea nu schimbă profilul curbelor de variație ale volumului de fluid cu temperatura. Caracteristicile studiate au fost ale nanofluidelor magnetice  $Fe_3O_4$ -apă, conținând nanoparticule de 20-30 nm, descrise în A. Malekzadeh et al. JAFM, Vol. 9, No. 2 (2016).

Pentru a analiza efectul unor fluide formate din nanoparticule de dimensiuni mai mici (aprox. 10 nm) am luat în considerare caracteristicile de densitate și vâscozitate ale fluidelor EMG Ferrotec (<https://ferrofluid.ferrotec.com/>). Distribuția vitezei fluidului de curgere în aceste circumstanțe este redată în Fig. 10.



**Fig.10. Viteza de curgere a fluidului pentru diferite fluide magnetice la diferentele de presiune indicate.**

## II. Modelul numeric computațional – curgere capilară

### II.1. Model teoretic

Primul model descrie cum multiple aglomerări celulare (considerate în ansamblu ca elemente rigide) pot influența în funcție de dimensiunea și localizarea lor, distribuția fluidului magnetic injectat în țesut.

Pentru a analiza mai în profunzime interacțiunea dintre elementele celulare individuale, matricea extracelulară și fluid, propunem un model ce ia în considerare efectele capilare.

Dinamica curgerii a două fluide este guvernată de **ecuația Cahn-Hilliard**. Mai exact, ecuația descrie dinamica interfeței difuze care separă cele două faze imiscibile. Interfața difuză este definită drept regiunea în care variabila câmpului de fază  $\phi$  (adimensională) este între -1 și 1.

**Ecuația Cahn-Hilliard** este împărțită în două ecuații după cum urmează:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \bar{u} \cdot \nabla \phi = \nabla \cdot \frac{\gamma \lambda}{\varepsilon_{pf}^2} \nabla \psi \quad (2.1)$$

$$\psi = -\nabla \cdot \varepsilon_{pf}^2 \nabla \phi + (\phi^2 - 1) \phi \quad (2.2)$$

unde:  $\lambda = \frac{3\varepsilon_{pf}\sigma}{\sqrt{8}}$  este densitatea energiei de mixare,  $\gamma = \chi\varepsilon_{pf}^2$  reprezintă mobilitatea care determină timpul propriu a difuziei Cahn-Hilliard,  $\phi$  este variabila câmpului de fază,  $\psi$  este variabila suplimentară a câmpului de fază,  $\sigma$  este coeficientul tensiunii superficiale,  $\chi$  este parametrul pentru ajustarea mobilității.

**Curgerea laminară** a unui fluid incompresibil Navier Stokes dependentă de timp:

$$\rho \frac{\partial \bar{u}}{\partial t} + \rho (\bar{u} \cdot \nabla) \bar{u} = \nabla \cdot [-pI + K] + \bar{F}_{st} + \rho \bar{g} \quad (2.3)$$

$$\rho \nabla \cdot (\bar{u}) = 0 \quad (2.4)$$

$$K = \mu (\nabla \bar{u} + (\nabla \bar{u})^T) \quad (2.5)$$

$$\bar{F}_{st} = \left( \frac{\lambda}{\varepsilon_{pf}^2} \psi \right) \nabla \phi \quad (2.6)$$

unde:  $\rho$  este densitatea,  $\mu$  este vâscozitatea dinamică,  $p$  este presiunea,  $\bar{u}$  este câmpul de viteze,  $\bar{g}$  este accelerația gravitațională,  $\bar{F}_{st}$  este tensiunea superficială care acționează la interfața dintre fluidul 1 și fluidul 2,  $I$  este matricea identitate.

Parametrii corespunzători interfeței sunt:

$\rho = \rho_1 V_{f,1} + \rho_2 V_{f,2}$  - densitatea interfeței;  $\mu = \mu_1 V_{f,1} + \mu_2 V_{f,2}$  - vâscozitatea dinamică a interfeței



$$V_{f,1} = \frac{1-\phi}{2} - \text{fracția volumică a fluidului 1; } V_{f,2} = \frac{1+\phi}{2} - \text{fracția volumică a fluidului 2;}$$

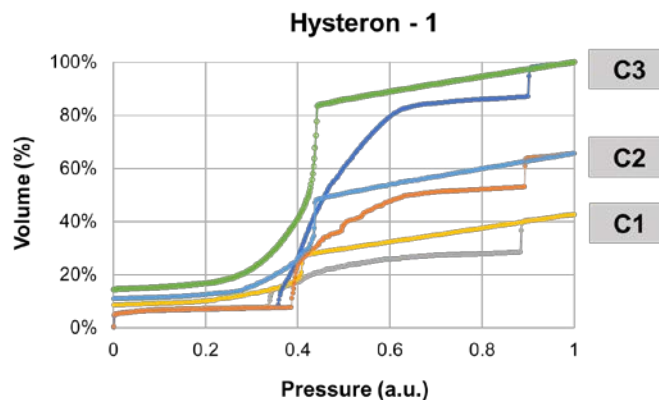
$$V_{f,1} + V_{f,2} = 1$$

## II.2. Model numeric computațional

### II.2.1. Sistem cu un histeron

Astfel, am analizat curba de variație volum-presiune la umplerea și golirea unui sistem format din 2 cilindri și o cavitate, obținând un ciclu major de histerezis. Inițial, a fost analizat cazul în care lungimea cilindrului este mai mare decât înălțimea Jurin ( $h_j$ ). Platourile orizontale descrise de variația volum-presiune corespund schimbării concavității la interfața dintre cele două fluide (ex: fluid magnetic-aer). Salturile verticale se datorează efectului de capilaritate conform legii Jurin. Sistemul consideră un reziduu de fluid în cavitate de 5-10%.

Ulterior, dimensiunea cavității a fost modificată pentru a putea identifica rolul acesteia în determinarea formei și ariei ciclului de histerezis. Astfel am observat că pe măsură ce crește volumul cavității, cele 2 curbe (de umplere și golire) se depărtează una de alta, în consecință crescând aria ciclului de histerezis - Fig. 11.



**Fig. 11. Histeroni tipici pentru sistemul format din doi cilindri și o cavitate. Mărimea cavității a fost variată: C1 (semiaxa mare  $a$ ), C2 (semiaxa mare  $1.5 a$ ) și C3 (semiaxa mare  $2 a$ ).**

### II.2.2. Sistem cu doi histeroni în interacțiune

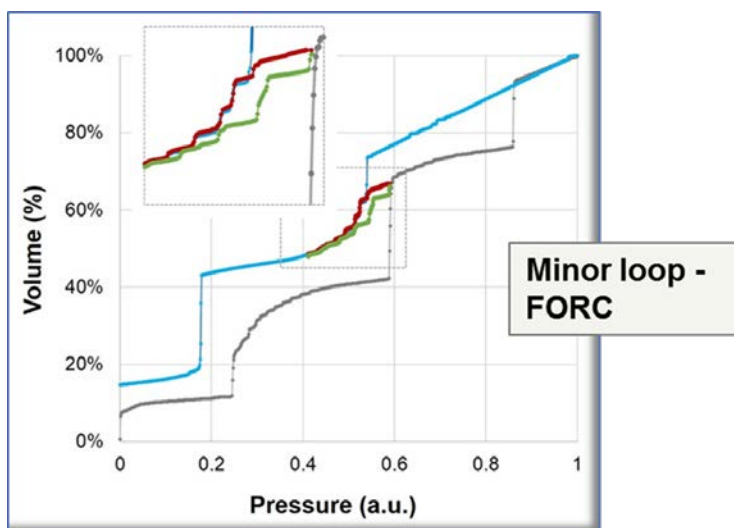
Pentru studiul histeronilor în interacțiune am analizat două situații:

- histeroni cuplați în serie
- histeroni cuplați în paralel

#### a. Histeroni cuplați în serie

Pentru acest studiu, s-a construit un sistem format din 3 cilindri și 2 cavități. Lungimea cilindrului dintre cavități a fost variată în funcție de  $h_j$  (lungimea  $L$  mai mare, egală, sau mai mică decât înălțimea Jurin).

În consecință, ciclurile de histerezis diferă între cele 3 cazuri menționate. Pentru cazul  $L < h_j$ , cele două curbe (de umplere și golire) nu au puncte comune, pe când situațiile cu  $L \geq h_j$  duc la intersecția lor. Ca urmare a acestor observații, pentru cazul  $L < h_j$  se studiază și un ciclu minor de histerezis, similar curbelor FORC din magnetism – Fig. 12. Astfel, o analiză de tip FORC a curbelor volum-presiune poate ajuta la înțelegerea și descrierea porozității unui țesut.



**Fig.12. Curbă minoră pentru ciclul de histerezis corespunzător cazului  $L < h_j$ .**

*b. Histeroni cuplați în paralel*

Curba de histerezis volum-presiune obținută pentru un sistem format din doi histeroni cuplați în paralel este mai degrabă similară celei obținute pentru sistemul cu un singur histeron.

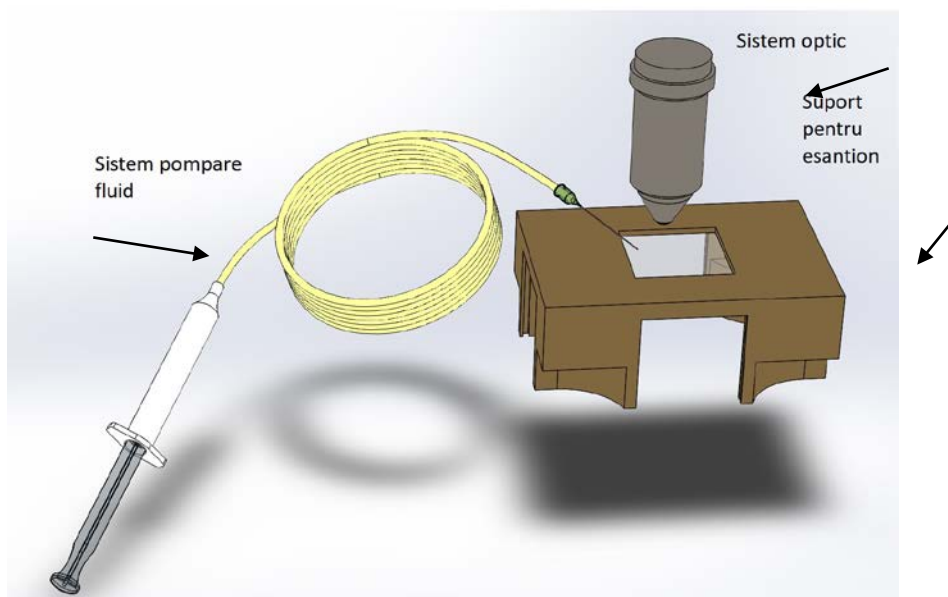
În concluzie, variația volumului de fluid introdus în țesut cu diferența de presiune depinde de porozitatea/ permeabilitatea tisulară, de omogenitatea acestuia și de efectele capilare de histerezis.

### III. Realizarea dispozitivului experimental.

Dispozitivul experimental este alcătuit dintr-un ansamblu de elemente reprezentate schematic în Fig.13 .

Componentele dispozitivului sunt:

- (i) *sistem optic* pentru observarea și cuantificarea în timp real a efectului injectării fluidului în materialul studiat;
- (ii) *sistem de injectare a fluidului*. Acesta este acționat manual în faza de testare a parametrilor experimentului. Controlul precis se obține cu ajutorul automatizării acestei componente prin intermediul unui motor pas-cu-pas;
- (iii) *suport mecanic pentru eșantion* produs prin tehnologie de tip aditiv (i.e. imprimare 3D).

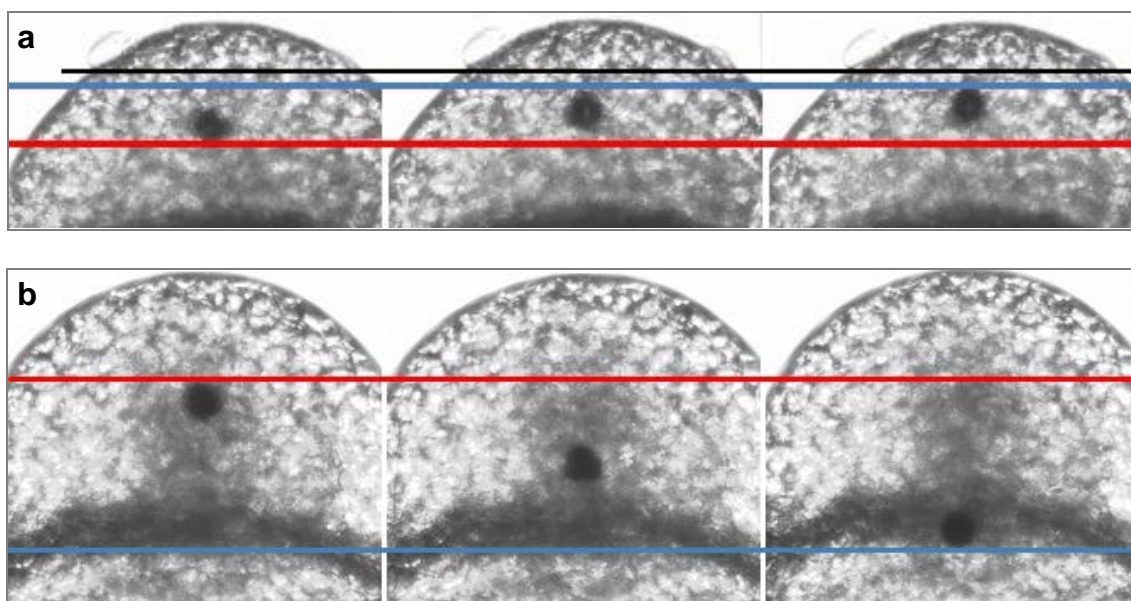


**Fig. 13. CAD – Sistem experimental**

### *Model biologic*

Utilizând dispozitivul experimental realizat în etapa anterioară, s-a studiat capacitatea de migrare a unei particule magnetice în diverse tipuri de țesuturi. Exemplificăm rezultatele obținute într-un țesut de tip stiff și unul de tip soft. Presiunea de injectare a particulei magnetice este tot timpul aceeași, însă se observă că aceasta se deplasează mai greu în țesutul stiff.

În Fig. 14a, particula magnetică (obiectul sferic de culoare neagră) se deplasează sub efectul unei forțe externe, din dreptul liniei roșii până în dreptul linie albastre. Linia neagră este tangentă la un defect inert de pe suprafața țesutului și a fost trasată pentru a ilustra faptul că particula magnetică s-a deplasat efectiv în interiorul țesutului și nu a avut loc o deplasare globală a țesutului.



**Fig. 36. Modelul biologic: particula magnetica (50  $\mu\text{m}$ ) se deplasează din dreptul liniei roșii spre linia albastră: a) țesut stiff și b) țesut soft.**

În Fig. 14b se observă deplasarea particulei magnetice într-un țesut soft. Distanța parcursă în acest țesut este vizibil mai mare decât în cazul țesutului stiff. Este important să menționăm că în ambele experimente ilustrate aici s-au utilizat particule magnetice de aceeași dimensiune (aprox. 50  $\mu\text{m}$ ), distanța de deplasare fiind ușor exprimată în număr de diametre.

30.06.2020

*Director de proiect,  
Asist. univ. dr. Mariana Pavel-Tanasa*